

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALFENAS**

**RACHELLE ETIENNE**

**SÍNTESE E AVALIAÇÃO FARMACOLÓGICA DE NOVOS COMPOSTOS  
HÍBRIDOS CAPSAICINA-CURCUMINA COM POTENCIAL PERFIL  
ANTINOCICEPTIVO E ANTI-INFLAMATÓRIO**

**ALFENAS/MG**

**2021**

**RACHELLE ETIENNE**

**SÍNTESE E AVALIAÇÃO FARMACOLÓGICA DE NOVOS COMPOSTOS  
HÍBRIDOS CAPSAICINA-CURCUMINA COM POTENCIAL PERFIL  
ANTINOCICEPTIVO E ANTI-INFLAMATÓRIO**

Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre do Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal de Alfenas.

Área de concentração: Química Orgânica.

Orientador: Prof. Dr. Cláudio Viegas Júnior.

Coorientadora: Dr<sup>a</sup>. Flávia Pereira Dias Viegas.

**ALFENAS/MG**

**2021**

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)  
Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal de Alfenas  
Biblioteca Central – Campus Sede

Etienne, Rachelle

E84s Síntese e avaliação farmacológica de novos compostos híbridos  
capsaicina-curcumina com potencial perfil antinociceptivo e anti-  
inflamatório / Rachelle Etienne – Alfenas, MG, 2021.  
140 f.: il. –

Orientador: Cláudio Viegas Júnior.  
Dissertação (Mestrado em Química) – Universidade Federal de  
Alfenas, 2021.  
Bibliografia.

1. Inflamação. 2. Atividade anti-inflamatória. 3. Dor. 4. Híbridos  
curcumina-capsaicina. 5. Analgésicos. I. Viegas Júnior, Cláudio. II. Título.

CDD- 547

**RACHELLE ETIENNE****SÍNTESE E AVALIAÇÃO FARMACOLÓGICA DE NOVOS COMPOSTOS HÍBRIDOS CAPSAICINA-CURCUMINA COM POTENCIAL PERFIL ANALGÉSICO E ANTI-INFLAMATÓRIO**

A Banca examinadora abaixo-assinada aprova a Dissertação apresentada como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Química pela Universidade Federal de Alfenas. Área de concentração: Química Orgânica.

Aprovada em: 20 de agosto de 2021

Prof. Dr. Claudio Viegas Júnior  
Instituição: Universidade Federal de Alfenas

Prof. Dr. Lucas Lopardi Franco  
Instituição: Universidade Federal de Alfenas

Dra. Kris Simone Tranches Dias  
Instituição: Universidade Federal de Alfenas



Documento assinado eletronicamente por **Cláudio Viegas Júnior, Professor do Magistério Superior**, em 23/08/2021, às 12:29, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Lucas Lopardi Franco, Professor do Magistério Superior**, em 23/08/2021, às 20:36, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Kris Simone Tranches Dias, Técnico Administrativo em Educação**, em 25/08/2021, às 09:28, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site [https://sei.unifal-mg.edu.br/sei/controlador\\_externo.php?acao=documento\\_conferir&id\\_orgao\\_acesso\\_externo=0](https://sei.unifal-mg.edu.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0), informando o código verificador **0572587** e o código CRC **348C1BAE**.

## AGRADECIMENTOS

A Deus que me deu a oportunidade de cumprir um dos meus sonhos: “fazer mestrado num país estrangeiro”.

Ao Prof. Dr. Cláudio Viegas Jr. por ter me aceito fazer parte do grupo de Pesquisa em Química Medicinal (PeQuiM), mesmo sabendo que não tinha experiência e nem era falante da língua Portuguesa, mas de forma paciente, foi um excelente professor e orientador.

À minha coorientadora Dr<sup>a</sup>. Flávia Pereira Dias Viegas e aos meus colegas em especial Vanessa, Graziella, Matheus e Cindy pela atenção especial e apoio incondicional. Sem a vossa ajuda, dedicação e paciência, não seria possível alcançar este feito. Ainda são extensivos aos meus colegas Januário, Caio e demais colegas de IC Thâmara, Isabela, Larissa, Priscila e Maria.

À Profa. Dra. Patrícia Dias Fernandes e seu aluno João Pedro Barros de Paiva da Universidade Federal do Rio de Janeiro pela sua contribuição na realização dos ensaios anti-inflamatórios e antinociceptivos *in vivo*.

À banca examinadora por ter aceito o convite e pelas valiosas contribuições para o aprimoramento deste trabalho.

À organização dos estados americanos (OEA) por ter me concedido a oportunidade de estudo e à Universidade Federal de Alfenas (UNIFAL) por ter me acolhido.

Ao Programa de Pós-Graduação em Química (PPGQ) da Universidade Federal de Alfenas.

À CAPES, pelo apoio financeiro, informando que o presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001. Também aos outros órgãos financiadores PRPPG-UNIFAL-MG, FAPEMIG, FINEP, CNPq e INCT-INOVAR.

Muito obrigada a todos!

## RESUMO

Na evolução do tempo pesquisadores confirmaram que a inflamação representa uma força motriz associada a várias doenças crônicas, incluindo a obesidade, diabetes, distúrbios neurodegenerativos, etc..., em seguimento, surgiu o interesse dos pesquisadores no desenvolvimento de fármacos anti-inflamatórios mais eficazes, e específicos para determinados quadros inflamatórios, com capacidades de atuarem sobre outros mediadores inflamatórios levando à descoberta de novos candidatos a fármacos com diferentes mecanismos de ação, podendo ainda atuarem em múltiplos alvos na inflamação. Por outro lado, a dor que é considerada como um dos 4 sinais cardinais da inflamação segundo o médico Aulus Cornelius Celsus, que está aumentando a cada vez, tornando-se considerar como um problema global, mesmo que ainda não foi alcançado um tratamento adequado. Assim, no presente trabalho descreve 7 novos compostos híbridos capsaicina-curcumina, denominados **PQM-310 (52a)**, **PQM-311 (52b)**, **PQM-331 (52c)**, **PQM-332 (52d)**, **PQM-334 (52e)**, **PQM-335 (52f)** e **PQM-336 (52g)** com padrão estrutural inédito, os quais foram sintetizados, caracterizados e avaliados por estudos *in silico* e farmacológicos. **PQM-310 (52a)**, **PQM-311 (52b)** e **PQM-332 (52d)** reduziram de forma significativa a quantidade de leucócitos. **PQM-310 (52a)**, **PQM-311 (52b)**, **PQM-331 (52c)**, **PQM-332 (52d)** e **PQM-336 (52g)** reduziram a produção do TNF- $\alpha$ . Logo se fez uma triagem de 2 desses compostos para ensaio de contagem de IL-1 $\beta$  e de edema de pata induzido por formalina, os quais foram **PQM-310** e **PQM-311** que são considerados como promissores candidatos a protótipos de fármacos multialvos anti-inflamatórios e analgésicos, potentes, e não tóxicos. Também estudo *in silico* das propriedades ADME sugeriu um perfil adequado de absorção e biodisponibilidade de **PQM-310** e **PQM-311**.

Palavras-Chave: Inflamação; Atividade anti-inflamatória; Dor; Híbridos curcumina-capsaicina; Analgésicos.

## ABSTRACT

In the course of time researchers have confirmed that inflammation represents a driving force associated with several chronic diseases, including obesity, diabetes, neurodegenerative disorders, etc..., in follow-up, researchers became interested in the development of more effective anti-inflammatory drugs, and specific for certain inflammatory conditions, with the ability to act on other inflammatory mediators, leading to the discovery of new drug candidates with different mechanisms of action, which could also act on multiple targets in inflammation. On the other hand, pain, which is considered as one of the 4 cardinal signs of inflammation according to the physician Aulus Cornelius Celsus, is increasing every time, becoming considered as a global problem, even though adequate treatment has not yet been reached. Thus, the present work describes 7 new hybrid capsaicin-curcumin compounds, named **PQM-310 (52a)**, **PQM-311 (52b)**, **PQM-331 (52c)**, **PQM-332 (52d)**, **PQM-334 (52e)**, **PQM-335 (52f)** and **PQM-336 (52g)** with novel structural pattern, which were synthesized, characterized and evaluated by *in silico* and pharmacological studies. **PQM-310 (52a)**, **PQM-311 (52b)** and **PQM-332 (52d)** significantly reduced the amount of leukocytes, **PQM-310 (52a)**, **PQM-311 (52b)**, **PQM-331 (52c)**, **PQM-332 (52d)** and **PQM-336 (52g)** reduced the production of TNF- $\alpha$ . then, 2 of these compounds were screened for IL-1 $\beta$  count and formalin-induced paw edema assay, which were **PQM-310** and **PQM-311**, are considered promising candidates for prototype anti-inflammatory multi-target drugs and analgesics, potent, and not toxic. Also a study *in silico* of ADME properties suggested an adequate absorption profile and bioavailability of **PQM-310** and **PQM-311**.

Keywords: Inflammation; Anti-inflammatory activity; Anti-inflammatory drugs; Pain; Curcumin-capsaicin hybrids; Analgesics.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 -	Estruturas dos produtos naturais bioativos, curcumina (1) e capsaicina (2) .....	18
Figura 2 -	Representação esquemática dos sinais cardinais da inflamação.....	19
Figura 3 -	Características do processo inflamatório agudo (A) e crônico (B).....	23
Figura 4 -	Diferentes vias e programas de morte celular associados ao estímulo e supressão da resposta inflamatória.....	24
Figura 5 -	Processo neuroinflamatório com ativação e transformação de micróglia e dano neuronal.....	26
Figura 6 -	O papel do estresse oxidativo na modulação de vias de sinalização do processo inflamatório.....	27
Figura 7 -	Esquema representativo da lesão tecidual, alteração da estrutura de membrana e instalação e progressão do processo inflamatório, com a transformação de células de defesa e produção de mediadores inflamatórios.....	31
Figura 8 -	Biossíntese das prostaglandinas e dos tromboxanos pela ação da enzima ciclooxigenases (COX), na cascata do ácido araquidônico.....	33
Figura 9 -	Biossíntese de Leucotrienos pela ação de lipoxigenase na cascata do ácido araquidônico.....	36
Figura 10 -	Estruturas do ácido acetilsalicílico (AAS, 3), ácido salicílico (AS, 4), salicina (5), ibuprofeno (6) e do diclofenaco (7).....	37
Figura 11 -	Estruturas químicas da indometacina (8), ácido meclofenâmico (9), ácido flufenâmico (10), ácido tolfenâmico (11), ácido mefenâmico (12), cetorolaco (13), do sulindaco (14), aceclofenaco (15), tolmetina (16), naproxeno (17), cetoprofeno (18) e do flurbiprofeno (19), representantes de diversas classes químicas de AINEs, com diferentes índices de seletividade na inibição de COX-1 e COX-2 utilizados na terapêutica atual.....	38
Figura 12 -	Estrutura química básica dos oxicams (20), piroxicam (21), meloxicam (22), ampiroxicam (23) e droxicam (24), exemplos de destaque de AINEs inibidores não-seletivos de COX-1 e COX-2.....	39

Figura 13 -	Estruturas químicas do celecoxibe (25), lumiracoxibe (26), rofecoxibe (27), nimesulida (28) e etodolaco (29), representantes do desenvolvimento dos COXIBEs como AINEs inibidores seletivos da COX-2.....	40
Figura 14 -	Estruturas químicas da licofelona (30) e da 15d-PGJ2 (31), formada pela $\beta$ -eliminação seguida de desidratação da PGD2.....	42
Figura 15 -	Estruturas de AINEs doadores de NO, representados pelo NO-ácido acetilsalicílico (32), NO-paracetamol (33), NO-flurbiprofeno (34), NO-prednisolona (35) e naproxinode (36).....	44
Figura 16 -	Estruturas dos novos AINEs liberadores de H <sub>2</sub> S, representados pelo ADT-OH (37) e seus sucessores híbridos ATB-337 (38), ATB-343 (39), ATB-345 (40) e atb-346 (41).....	45
Figura 17 -	Estruturas químicas do zafirlukast (42), montelukast (43) e pranlukast (44), exemplos recentes de ARLTs para uso clínico contra a asma brônquica.....	46
Figura 18 -	Esquema da via nociceptiva envolvendo os sistemas nervoso central e periférico .....	48
Figura 19 -	Esquema dos receptores $\mu$ , $\kappa$ e $\delta$ presentes no SNC e na medula espinhal .....	49
Figura 20 -	Estruturas da diidrocapsaicina (45), nordidrocapsaicina (46), homodidrocapsaicina (47) e homocapsaicin (48), zucapsaicina (49), capsazepina (50) .....	51
Figura 21 -	Estruturas químicas da capsaicina (2, Figura 1) e de seus análogos Palvanil (2a) e nonivamida (2b).....	53
Figura 22 -	Estruturas químicas dos análogos dicarbonílicos da curcumina (51, Figura 22).....	53
Figura 23 -	Planejamento estrutural da nova série de candidatos a protótipos de fármacos analgésicos e anti-inflamatórios (52), inspirados nas estruturas de capsaicina (2) e curcumina (1).....	56
Figura 24 -	Esquema da análise retrossintética para obtenção da série-alvo 52..	57
Figura 25 -	Esquema da rota sintética para a obtenção das moléculas-alvos PQM-310 (52a), PQM-311 (52b) e PQM-331 (52c).....	58
Figura 26 -	Proposta mecanística para redução do aldeído 53 ao álcool intermediário 54 .....	59

Figura 27 –	Espectro de absorção na região do IV do composto 4-(hidroximetil)-2-metóxfenol ( <b>54</b> , ATR).....	60
Figura 28 -	Espectro de RMN de $^1\text{H}$ (300 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) do 4-hidroxi-3-metoxibenzaldeído ( <b>53</b> ).....	61
Figura 29 -	Espectro de RMN de $^1\text{H}$ (300 MHz, $\text{CD}_3\text{OD}$ ) do 4-(hidroximetil)-2-metóxfenol ( <b>54</b> ).....	62
Figura 30 -	Espectro de RMN de $^1\text{H}$ (75 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) do 4-hidroxi-3-metoxibenzaldeído ( <b>53</b> ).....	63
Figura 31 -	Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ (75 MHz, $\text{CD}_3\text{OD}$ ) do 4-(hidróximetil)-2-metóxfenol ( <b>54</b> ) .....	64
Figura 32 -	Espectro de DEPT-135 (75 MHz, $\text{CD}_3\text{OD}$ ) do 4-(hidróximetil)-2-metóxfenol ( <b>54</b> ) .....	65
Figura 33 -	Equação química da reação de obtenção do 4-cloro-2-metóxfenol ( <b>55</b> ) e do 4- (azidometil)-2-metóxfenol ( <b>56</b> ) .....	65
Figura 34 -	Proposta mecanística da reação para formação do 4-cloro-2-metóxfenol ( <b>55</b> ) e do 4- (azidometil)-2-metóxfenol ( <b>56</b> ) a partir do álcool benzílico <b>54</b> .....	67
Figura 35 -	Espectro de absorção na região do IV do composto 4-(azidometil)-2-metóxfenol ( <b>56</b> , ATR).....	68
Figura 36 -	Espectro de RMN de $^1\text{H}$ (300 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) do 4-(azidometil)-2-metóxfenol ( <b>56</b> ) .....	69
Figura 37 -	Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ (75 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) do 4-(azidometil)-2-metóxfenol ( <b>56</b> ) .....	70
Figura 38 -	Espectro de DEPT-135 (75 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) do 4-(azidometil)-2-metóxfenol ( <b>56</b> ).....	71
Figura 39 -	Esquema da reação de redução da azida ( <b>56</b> ) para obtenção da amina benzílica ( <b>57</b> ).....	71
Figura 40 -	Espectro de absorção na região do IV do composto 4-(aminometil)-2-metoxifenol ( <b>57</b> , ATR).....	72
Figura 41 -	Espectro de RMN de $^1\text{H}$ (300 MHz, $\text{DMSO}-d_6$ ) do 4-(aminometil)-2-metóxfenol ( <b>57</b> ).....	73
Figura 42 -	Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ (75 MHz, $\text{DMSO}-d_6$ ) do 4-(aminometil)-2-metóxfenol ( <b>57</b> ).....	74

Figura 43 -	Espectro de DEPT-135 (75 MHz, DMSO-d <sub>6</sub> ) do 4-(aminometil)-2-metóxfenol ( <b>57</b> ) .....	74
Figura 44 -	Esquema da reação de acoplamento entre a amina-chave <b>57</b> e ácidos cinâmicos funcionalizados para obtenção das amidas-alvo <b>52a-c</b> .....	75
Figura 45 -	Proposta mecanística para a reação de formação das amidas-alvo <b>52a-c</b> via HOBT-EDAC.....	76
Figura 46 -	Espectro de absorção na região do IV do composto <b>PQM-310</b> ( <b>52a</b> , ATR).....	77
Figura 47 -	Espectro de RMN de <sup>1</sup> H (300 MHz, DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> ) do composto <b>PQM-310</b> ( <b>52a</b> ).....	78
Figura 48 -	Espectro de RMN de <sup>13</sup> C (75 MHz, DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> ) do composto <b>PQM-310</b> ( <b>52a</b> ).....	79
Figura 49 -	Esquema da reação de acoplamento entre a amina-chave <b>57</b> e ácidos cinâmicos <b>58</b> para obtenção das amidas-alvo <b>52d, 52e, 52f e 52g</b> .....	80
Figura 50 -	Esquema da reação de acoplamento entre a amina-chave <b>57</b> e cloreto dos ácidos cinâmicos funcionalizados para obtenção das amidas-alvo <b>52d, 52e, 52f e 52g</b> .....	81
Figura 51 -	Gráficos de contagem de leucócitos totais do modelo de migração celular induzido por carragenina.....	82
Figura 52 -	Gráfico de dosagem de TNF- $\alpha$ a partir do exsudato coletado da bolsa de ar subcutânea.....	84
Figura 53 -	Gráfico dos dados da avaliação da inibição de IL- $\beta$ oriunda do modelo de bolsa de ar por <b>PQM-310</b> ( <b>52a</b> ) e <b>PQM-311</b> ( <b>52b</b> ) nas doses de 1, 3 e 10 mg/Kg.....	85
Figura 54 -	Gráfico de efeito das substâncias <b>PQM-310</b> ( <b>52a</b> ) e <b>PQM-311</b> ( <b>52b</b> ) avaliadas nas doses de 1 (verde) e 10 (amarelo) mg/Kg no ensaio de edema de pata induzido por formalina em camundongos .....	86
Figura 55 -	Gráfico dos dados da análise quantitativa de diferentes células sanguíneas de animais tratados com <b>PQM-310</b> ( <b>52a</b> ) e <b>PQM-311</b> ( <b>52b</b> ).....	87
Figura 56 -	Esquema da reação de acetilação do ácido cinâmico <b>58'</b> .....	94

Figura 57 -	Esquema da reação de acoplamento entre a amina-chave <b>57</b> e ácidos cinâmicos <b>58</b> (ou ácido cinâmico acetilado <b>58'</b> ) funcionalizados para obtenção das amidas-alvo <b>52d, 52e, 52f, 52g</b> .....	96
Figura 58 -	Esquema do modelo de migração celular induzido por carragenina na bolsa de ar subcutânea.....	100
Figura 59 -	Espectro de absorção na região do IV do composto <b>PQM-311 (52b, ATR)</b> .....	118
Figura 60 -	Espectro de RMN de $^1\text{H}$ (300 MHz, $\text{DMSO-}d_6$ ) do composto <b>PQM-311 (52b)</b> .....	119
Figura 61 -	Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ (75 MHz, $\text{DMSO-}d_6$ ) do composto <b>PQM-311 (52b)</b> .....	120
Figura 62 -	Espectro de absorção na região do IV do composto <b>PQM-331 (52c, ATR)</b> .....	121
Figura 63 -	Espectro de RMN de $^1\text{H}$ (300 MHz, $\text{DMSO-}d_6$ ) do composto <b>PQM-331 (52C)</b> .....	122
Figura 64 -	Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ (75 MHz, $\text{DMSO-}d_6$ ) do composto <b>PQM-331 (52C)</b> .....	123
Figura 65 -	Espectro de absorção na região do IV do composto <b>PQM-334 (52d, ATR)</b> .....	124
Figura 66 -	Espectro de RMN de $^1\text{H}$ (75 MHz, $\text{DMSO-}d_6$ ) do composto <b>PQM-334 (52d)</b> .....	125
Figura 67 -	Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ (75 MHz, $\text{DMSO-}d_6$ ) do composto <b>PQM-334 (52d)</b> .....	126
Figura 68 -	Espectro de absorção na região do IV do composto <b>PQM- 335 (52e, ATR)</b> .....	127
Figura 69 -	Espectro de RMN de $^1\text{H}$ (300 MHz, $\text{DMSO-}d_6$ ) do composto <b>PQM-335 (52e)</b> .....	128
Figura 70 -	Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ (75 MHz, $\text{D}_2\text{O}$ ) do composto <b>PQM-335 (052e)</b> . .....	129
Figura 71 -	Espectro de DEPT-135 (75 MHz, $\text{DMSO-}d_6$ ) do composto <b>PQM-335 (52e)</b> .....	130
Figura 72 -	Espectro de absorção na região do IV do composto acetilado ( <b>58'</b> , ATR).....	131

Figura 73 -	Espectro de RMN de $^1\text{H}$ (300 MHz, $\text{DMSO-}d_6$ ) do composto acetilado (58').....	132
Figura 74 -	Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ (75 MHz, $\text{DMSO-}d_6$ ) do composto acetilado (58').....	133
Figura 75 -	Espectro de absorção na região do IV do composto <b>PQM-336 (52f)</b> , ATR).....	133
Figura 76 -	Espectro de RMN de $^1\text{H}$ (300 MHz, $\text{DMSO-}d_6$ ) do composto acetilado acoplado <b>PQM-336 (52f)</b> .....	134
Figura 77 -	Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ (75 MHz, $\text{DMSO-}d_6$ ) do composto acetilado acoplado <b>PQM-336 (52f)</b> .....	135
Figura 78 -	Espectro de absorção na região do IV do composto <b>PQM-332 (52g)</b> , ATR).....	136
Figura 79 -	Espectro de RMN de $^1\text{H}$ (300 MHz, $\text{DMSO-}d_6$ ) do composto <b>PQM-332 (52g)</b> .....	137
Figura 80 -	Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ (75 MHz, $\text{DMSO-}d_6$ ) do composto <b>PQM-332 (52g)</b> .....	138
Figura 81 -	Espectro de DEPT-135 (75 MHz, $\text{DMSO-}d_6$ ) do composto <b>PQM-332 (52g)</b> .....	139

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Parâmetros ADME previstos por estudos computacionais .....	89
Tabela 2 - Parâmetros ADME previstos por estudos computacionais.....	89

## LISTA DE ABREVIACOES, SIGLAS E SÍMBOLOS

AA	- cido araquidônico
c.	- cido
ARLTs	- Antagonistas de leucotrienos
BAS	- Bolsa de ar subcutânea
CAPZ	- Capsazepina
COX	- Cicloxigenases
CONCEA	- Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal
CEUA	- Comissão de tica de Uso de Animais
CCD	- Cromatografia em camada delgada
CC	- Cromatografia em coluna
DA	- Doença de Alzheimer
DH	- Doença de Huntington
DMF	- Dimetilformamida
DMSO	- Dimetilsulfóxido
DNs	- Doenças neurodegenerativas
DP	- Doença de Parkinson
EDAC	- 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil) carbodiimida
ELA	- Esclerose lateral amiotrófica
EO	- Estresse oxidativo
FAP	- Fator de ativao plaquetária
5-HT	- 5-hidroxitriptamina
HOBT	- 1-Hidrxibenzotriazol
IL	- Interleucinas
IV	-Infravermelho
IFN- $\gamma$	- Interferon $\gamma$
LOX	- Lipoxigenase
LPS	- Lipopolissacarídeo
MS	- Esclerose múltipla
NF- $\kappa$ B	- Factor nuclear kappa B
NSAIDs	- Anti-inflamatórios não-esteroidais
NO	- xido nítrico

PGs	- Prostaglandinas
ppm	- Partes por milhão
PPARs	- Receptores ativados por proliferadores de peroxissoma
Receptor $\kappa$	- Receptores Kapa
Receptor $\mu$	- Receptores Mu
RMN	- Ressonância magnética nuclear
SNP	- Sistema nervoso periférico
SNC	- Sistema nervoso central
TMS	- Tetrametilsilano
TNF	- Fator de necrose tumoral
TX	- Tromboxanos

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO.....</b>	<b>17</b>
<b>2</b>	<b>REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....</b>	<b>19</b>
2.1	INFLAMAÇÃO: UM POUCO DE HISTÓRIA.....	19
2.2	ASPECTOS CONCEITUAIS E FISIOPATOLÓGICOS DO PROCESSO INFLAMATÓRIO.....	20
2.3	MEDIADORES QUÍMICOS NA INFLAMAÇÃO.....	25
2.3.1	Citocinas.....	27
2.3.2	Aminas Vasoativas.....	29
2.3.3	Óxido nítrico (NO) e fator de ativação plaquetária (FAP).....	29
2.3.4	Eicosanoides: prostaglandinas, leucotrienos e tromboxanos.....	30
2.3.5	Um pouco sobre a Pesquisa e a Evolução dos Anti-Inflamatórios Não-Esteroidais (AINEs).....	36
2.3.6	Alguns Aspectos e Tendências Atuais no Planejamento de Novos Fármacos Anti-Inflamatórios.....	40
2.4	ASPECTOS CONCEITUAIS E FISIOPATOLÓGICOS DA DOR.....	46
2.5	A CURCUMINA E SUA IMPORTÂNCIA FARMACOLÓGICA.....	49
2.6	CAPSAICINA: ASPECTOS BIOLÓGICOS E FARMACOLÓGICOS...	50
<b>3</b>	<b>OBJETIVOS.....</b>	<b>55</b>
<b>4</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>57</b>
4.1	AVALIAÇÃO FARMACOLÓGICA.....	81
4.2	PREDIÇÃO <i>IN SÍLICO</i> DE PARÂMETROS ADME.....	88
<b>5</b>	<b>PARTE EXPERIMENTAL.....</b>	<b>90</b>
5.1	QUÍMICA.....	90
5.2	GENERALIDADES.....	90
5.2.1	Síntese dos intermediários sintéticos.....	91
5.3	AVALIAÇÃO FARMACOLÓGICA.....	98

5.4	MATERIAIS E MÉTODOS.....	98
5.4.1	Preparo e administração das substâncias PQM-310, PQM-311, PQM-331, PQM-332, PQM-334, PQM-335 e PQM-336 e dos fármacos de referência .....	98
5.4.2	Animais.....	99
5.4.3	Modelo de migração celular induzido por carragenina para bolsa de ar subcutânea (BAS).....	99
5.4.4	Quantificação de citocina IL-1 $\beta$ .....	100
5.4.5	Modelo de lambadura de pata induzido por formalina.....	101
5.5	PREDIÇÃO DE PROPRIEDADES ADME.....	101
6	CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS.....	102
	REFERÊNCIAS.....	103
	APÊNDICE.....	118

## 1 INTRODUÇÃO

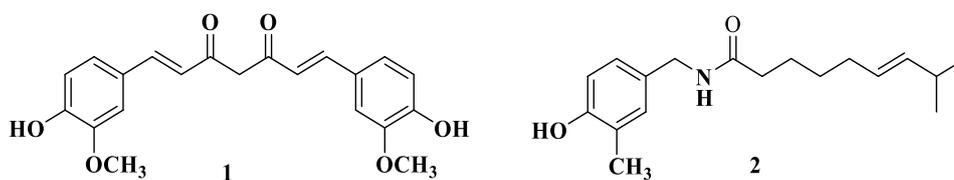
A inflamação faz parte da resposta biológica natural do organismo a danos teciduais e estímulos prejudiciais, como invasão por patógenos e injúria celular e tecidual, além de ser uma resposta protetora que envolve células imunes, vasos sanguíneos e mediadores moleculares. Nesse sentido, a inflamação é definida como uma consequência natural de algumas doenças que envolvem diferentes tipos de células e mediadores químicos interconectados (B. Gustafson, S. Gogg, S. Hedjazifar *et al.*, 2009), com o objetivo principal de limitar e eliminar as causas de danos celulares, além de eliminar células atrofiadas e de tecidos necróticos, iniciando, assim, o reparo tecidual (P. A. Singh, N. Brindavanam, G. Kimothi *et al.*, 2016). A inflamação é classificada de acordo com seu grau de intensidade como inflamação aguda autolimitada, de curta duração e benéfica ao hospedeiro e inflamação crônica, que ocorre no caso de doenças crônicas e complexas, de longa duração e que pode surgir em decorrência da infiltração direta e abundante de células imunes mononucleares, como monócitos, macrófagos, linfócitos e células plasmáticas, bem como a produção de citocinas inflamatórias, em um processo redundante (S. Ahmed, L. Luo, A. Namani *et al.*, 2017).

Dentre os produtos naturais, existe uma grande variedade de substâncias que, ao longo dos anos, foram utilizadas para tratar diferentes doenças pelas culturas populares. Um destes inúmeros exemplos é o açafrão-da-terra ou cúrcuma, também conhecido como tumérico, ou açafrão-da-índia, uma espécie endêmica e utilizada no continente asiático para preservar alimentos e como corante alimentar. A curcumina (**1**, Figura 1), é um produto natural, conhecido como o constituinte principal do açafrão-da-terra, tendo sido isolada pela primeira vez há aproximadamente dois séculos e sua estrutura determinada em 1910. Ao longo do tempo, a cúrcuma tem sido largamente descrita como uma planta medicinal, com várias propriedades farmacológicas, dentro as quais destacam-se suas propriedades antioxidante, antiviral, antibacteriana, antimutagênica, amiloidogênica e anti-inflamatórias (F. Ghasemi, H. Bagheri, G. Barreto *et al.*, 2019).

Outro composto natural interessante é a capsaicina (**2**, Figura 1), identificada como o principal constituinte, que confere o sabor apimentado, das pimentas (do inglês *chilli pepper*). Esta substância atua nos neurônios sensoriais, com o objetivo de transmitir informações dos estímulos externos (neste caso; sabor) ao sistema nervoso central (SNC), que interpreta e elabora uma resposta a esse estímulo inicial (M. Caterina, M. Schumacher, M. Tominaga *et al.*, 1997). A capsaicina (**2**, Figura 1) possui

duas propriedades fundamentais: analgésica e anti-inflamatória, além de possuir capacidade terapêutica no tratamento de artrite, neuropatia diabética e lesões gástricas. A capsaicina (**2**) também pode ser utilizada no controle efetivo de algumas doenças musculares, não apenas no alívio da dor, mas na redução de efeitos inflamatórios. Além disso, **2** tem a capacidade de aliviar a inflamação dos mioblastos induzida por lipopolissacarídeo (LPS) (K. Shang, T. Amna, M. Amina *et al.*, 2017).

Figura 1 - Estruturas dos produtos naturais bioativos, curcumina (**1**) e capsaicina (**2**).



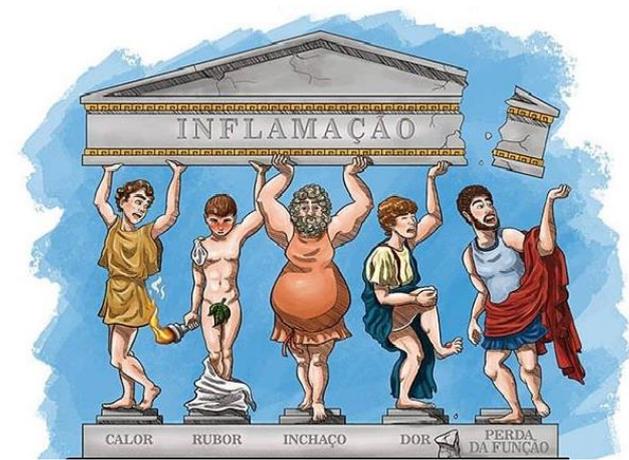
Fonte: Do autor

## 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 INFLAMAÇÃO: UM POUCO DE HISTÓRIA

Dados da literatura apontam que já em 1478 o médico romano Aulus Cornelius Celsus havia descrito o processo inflamatório por sinais característicos, que passaram a ser conhecidos como os quatro sinais cardinais da inflamação: dor, rubor, edema e calor (Figura 2) (B. Trancas, N. Santos, 2007). Na história mais recente, Henri Dutrochet, Rudolph Wagner, Rudolf Virchow, Julius Cohnheim e Carl Weigert foram os primeiros pesquisadores a estudarem as bases celulares da inflamação e a confirmarem suas manifestações cardinais. Em 1858, Rudolf Virchow, um médico patologista radicado em Berlim, identificou um quinto sinal cardinal, atribuído à perda de função (Figura 2). Em 1882, Ilya Metchnikoff, um bacteriologista russo, descreveu o processo de fagocitose, sugerindo que a inflamação não seria apenas um “evento líquido”, mas que tinha intensa presença de células (D. Wallach, T. Kang & A. Kovalenko, 2014).

Figura 2 - Representação esquemática dos sinais cardinais da inflamação.



**Fonte:** (adaptado de R. Etienne, F. Pereira Dias Viegas, C. Viegas, 2020)

Neste contexto, os diferentes eventos da inflamação foram observados por primeira vez pelo patologista alemão Julius Cohnheim (1839–1884), que identificou, ao microscópio, características e alterações singulares nos vasos sanguíneos de membranas

transparentes, em razão de lesões e resposta inflamatória. Além disso, foram observados outros eventos inter-relacionados, como o extravasamento de líquidos e a consequente formação de edema, e a migração de células de defesa e a resposta dessas células à agressão sofrida. Em 1910, uma série de estudos foram voltados ao entendimento dos fatores envolvidos na resposta inflamatória, os quais foram esclarecidos em 1927 por Thomas Lewis, que comprovou que substâncias químicas, tais como a histamina induzida localmente pela lesão, era um mediador das alterações vasculares que ocorrem na inflamação. A partir deste primeiro passo, outros mediadores químicos foram identificados e caracterizados por sua atuação na resposta inflamatória, servindo de base para a descoberta dos primeiros agentes anti-inflamatórios e seu uso clínico ( F. P. Luis, A. Aline, D. C. Milene *et al.*, 2010).

A partir de um vasto conhecimento acumulado por décadas de pesquisa e descobertas nos campos da fisiologia e biologia molecular, surge a partir da década de 1980 uma visão mais abrangente do processo inflamatório, passando a ser reconhecido como uma força motriz associada a diversas patologias, incluindo doenças crônicas, como a obesidade, diabetes, arteriosclerose, câncer e distúrbios neurodegenerativos, como as doenças de Parkinson (DP) e de Alzheimer (DA), que são, atualmente reconhecidas como grandes desafios e potencialmente responsáveis pela morte em larga escala da humanidade (J. Drouin-Ouellet & F. Cicchetti, 2012) (G. Salinas, U. Rangasetty, B. Uretsky, & Y. Birnbaum, 2007).

## 2.2 ASPECTOS CONCEITUAIS E FISIOPATOLÓGICOS DO PROCESSO INFLAMATÓRIO

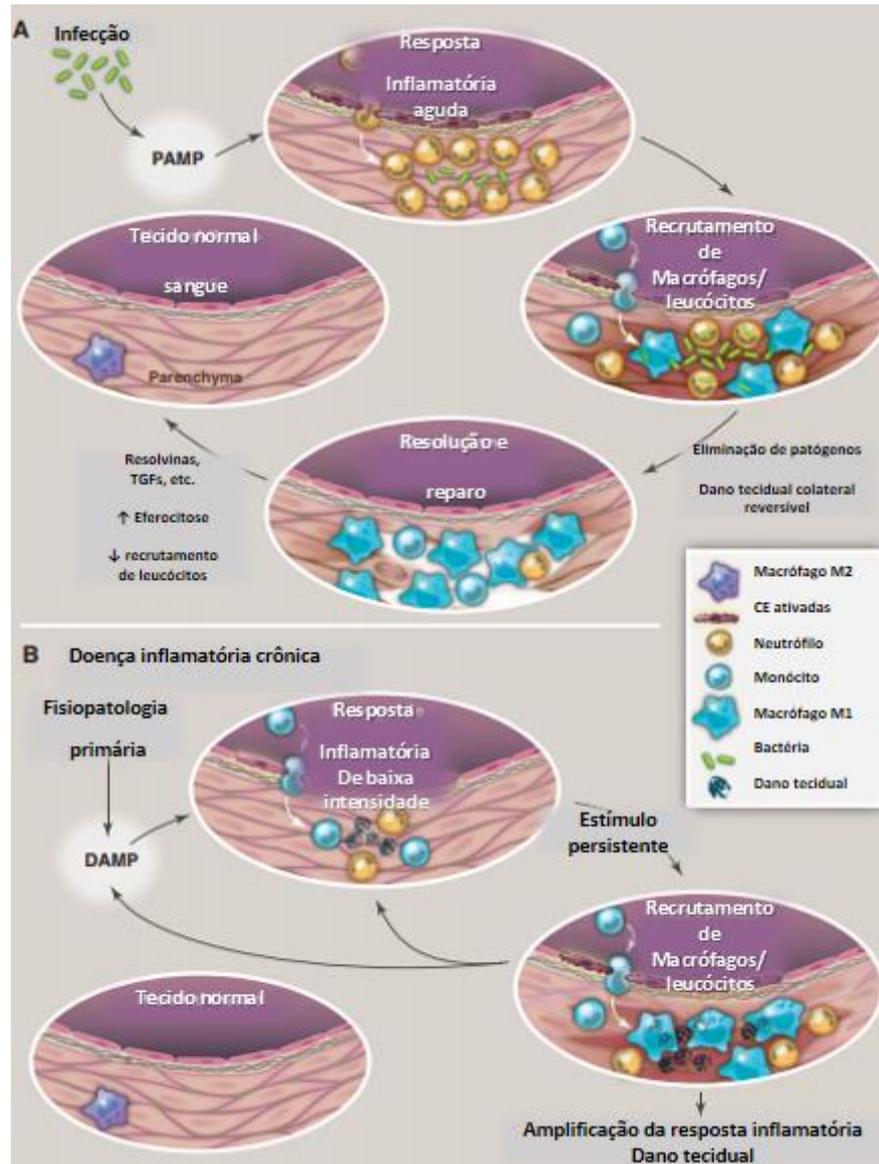
O processo inflamatório é uma reação natural do organismo a danos, injúria ou lesões teciduais devidas à presença de um corpo estranho, trauma (mecânico, químico ou térmico), infecções, reações imunológicas e necrose tecidual. Esta resposta está associada à liberação de substâncias químicas como as citocinas e quimiocinas (e.g. TNF- $\alpha$ , lipoxinas, cininas, prostaglandinas, leucotrienos) e proteínas de sinalização celular no ambiente tecidual e células migratórias com a função de bloquear, inativar ou eliminar o agente causador (V. Lamontain, T. Schmid, D. Weber-Steffens *et al.*, 2019). O processo inflamatório é caracterizado pela produção de fluidos, substâncias químicas

e células lesadas, com alterações vasculares, recrutamento e ativação de leucócitos para induzir o reparo celular, levando às alterações teciduais e funcionais que configuram os cinco sinais principais no processo inflamatório: calor, vermelhidão, inchaço (edema), dor e perda de função (Figura 2). O calor e a vermelhidão são consequências da vasodilatação, que aumenta a circulação sanguínea na área inflamada (hiperemia), devido à concentração de sangue e ao aumento da temperatura pelo maior fluxo sanguíneo. Já o inchaço é consequência do aumento da permeabilidade vascular que permite o extravasamento vascular de líquidos e, portanto, a formação do edema. A dor aparece, tanto pela compressão de terminações nervosas pelo edema, quanto pelas substâncias químicas (citocinas, quimiocinas e prostaglandinas) liberadas no corpo como resposta à injúria tecidual. Por último, surge a perda de função, que pode ser total ou parcial, em decorrência do edema e da dor, principalmente em articulações e tecidos ou membros relacionados ao movimento, limitando ou impedindo a rotina do indivíduo e dificultando atividades de maneira geral (E. Barnes, R. Kumar, & R. Davis, 2016).

A inflamação aguda (Figura 3) é classificada de acordo com as características do exsudato, de acordo com o tipo, duração e intensidade da agressão. Os mediadores envolvidos no processo agudo são as aminas vasoativas, metabólitos do ácido araquidônico, que incluem as prostaglandinas, tromboxanos e leucotrienos, o fator de ativação plaquetária (FAP), quimiocinas, fator de necrose tumoral (TNF), e citocinas, com as interleucinas (IL) IL-1 $\beta$ , IL-6 e IL-18 ) (P. A. Singh, N. Brindavanam, G. Kimothi *et al.*, 2016) (M. Verdam, F. Guilhon-Simplicio, K. Andrade *et al.*, 2017). Este processo é, na realidade, uma complexa resposta fisiológica do organismo para neutralizar, inativar e eliminar o agente causador da inflamação, substituindo os tecidos danificados por fibrose, culminando com o reparo tecidual e bloqueio da resposta inflamatória (P. A. Singh, N. Brindavanam, G. Kimothi *et al.*, 2016). Por outro lado, a inflamação crônica (Figura 3B) é caracterizada pela ocorrência simultânea da ativação inflamatória e destruição tecidual. Em geral, o processo inflamatório crônico evolui gradualmente, sendo dependendo do tempo da injúria, permanência do agressor e persistência de sucessivas inflamações agudas e da dificuldade do organismo em eliminar o dano tecidual ou celular, evoluindo e exacerbando a congestão, o aumento da permeabilidade vascular e a produção de exsudato inflamatório, juntamente com a produção de linfócitos (M. Verdam, F. Guilhon-Simplicio, K. Andrade *et al.*, 2017). O processo crônico também pode envolver interações complexas entre diferentes células e

seus mediadores secretados, tais como as citocinas IL-17, IL-12 e IL-23. Neste contexto, os macrófagos, que são células teciduais derivadas de monócitos circulantes no sangue e dominantes na inflamação crônica, desempenham papel central, estando dispersos em vários tecidos conjuntivos, além do fígado, baço, linfonodos e no sistema nervoso central (SNC). Os macrófagos constituem o sistema de fagócitos mononucleares, que atua como um filtro para materiais particulados, microrganismos e células senescentes, com função de eliminar microrganismos nas respostas imunes humorais e celulares (P. Calder, 2015).

Figura 3 - Características do processo inflamatório agudo (A) e crônico (B).

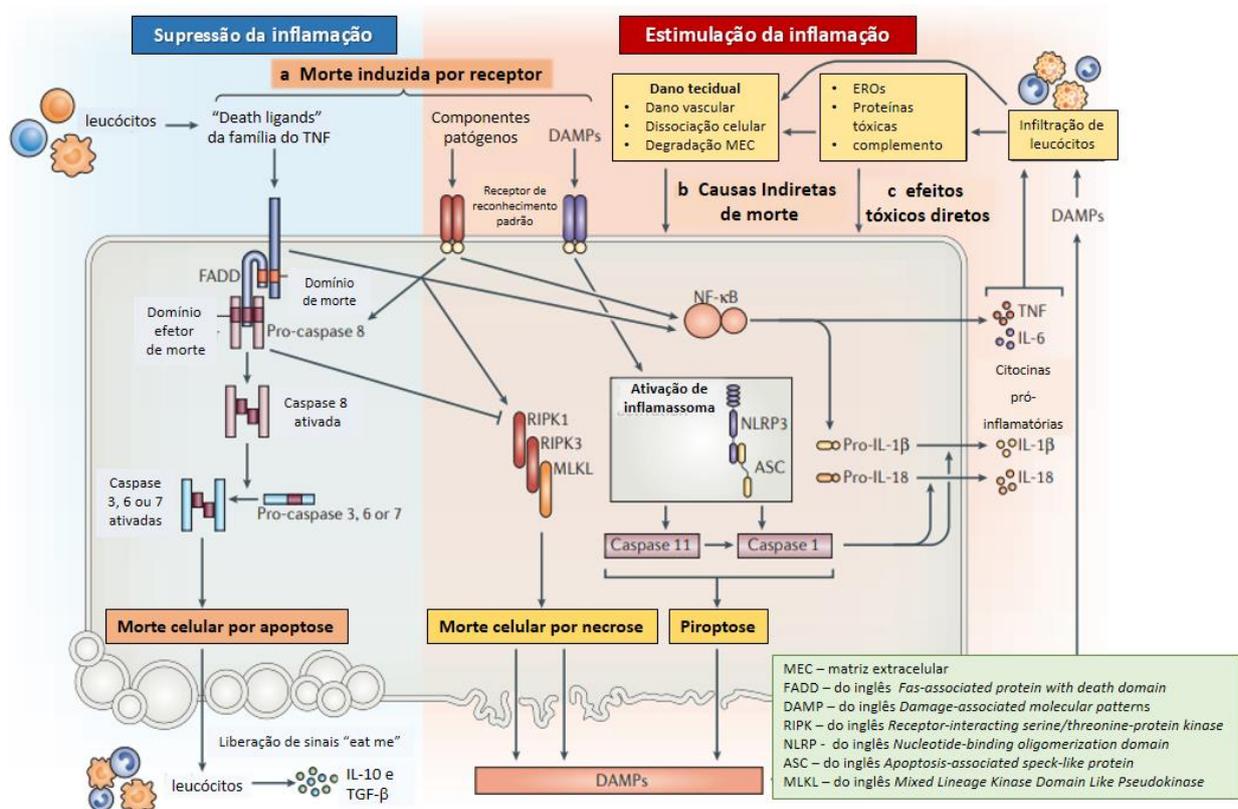


**Fonte:** Adaptado das referências: (F. Ghasemi, H. Bagheri, G. Barreto *et al.*, 2019)  
( R. Etienne, F. Pereira Dias Viegas, C. Viegas, 2020)

Durante uma resposta inflamatória, os macrófagos são ativados por duas vias diferentes: uma clássica e outra alternativa. Na via clássica, a ativação é induzida por endotoxinas, no caso de uma injúria por patógeno (bactérias, fungos, vírus, etc.). Uma vez ativados, os macrófagos produzem enzimas lisossomais como a NADPH-oxidase, aumentando sua capacidade de destruir organismos por fagocitose e secretar outras citocinas que estimulam a inflamação, sendo, portanto, células especialmente importantes na defesa do hospedeiro contra infecções microbianas. A ativação alternativa de macrófagos é induzida por citocinas, como as interleucinas IL-4 e IL-3, sintetizadas por linfócitos T. Os linfócitos são células sinalizadoras e os principais fatores de inflamação em várias doenças autoimunes e inflamatórias crônicas. A

ativação dos linfócitos B e T ocorre como parte da resposta imune adaptativa em infecções e doenças imunológicas, sendo que linfócitos B são abundantes no plasma e secretam anticorpos, enquanto que as células T CD4+ são ativadas para secreção de citocinas (P. Calder, 2015). No contexto da inflamação, o aumento de linfócitos, de células fagocíticas infectadas, a instalação de doenças autoimunes ou a incapacidade de amortecer a resposta imune, além da malignidade, são consideradas consequências das diferentes modalidades de programas de morte celular, tais como apoptose, necrose, necroptose, autofagia e piroptose (Figura 4) (D. Wallach, T. Kang & A. Kovalenko, 2014) (P. Broz & V. Dixit, 2016) (A. So, 2008).

Figura 4 - Diferentes vias e programas de morte celular associados ao estímulo e supressão da resposta inflamatória.

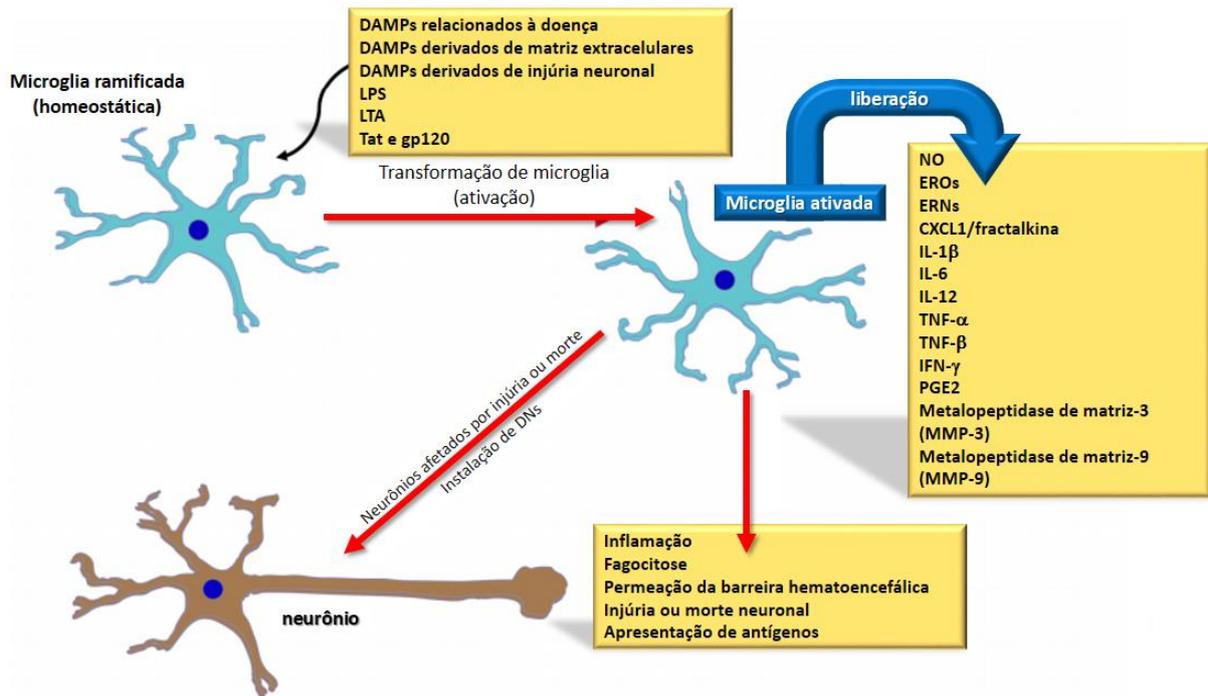


**Fonte:** Adaptado das refs.: (D. Wallach, T. Kang & A. Kovalenko, *et al.*, 2014; V. Lamontain, T. Schmid, D. Weber-Steffens *et al.*, 2019; R. Etienne, F. Pereira Dias Viegas, C. Viegas, 2020)

## 2.3 MEDIADORES QUÍMICOS NA INFLAMAÇÃO

No SNC, as micróglia são células de defesa, capazes de regular a homeostase, a defesa imunológica e a fagocitose de agentes nocivos aos neurônios. Quando as micróglia estão em repouso, podem ser ativadas para produzir mediadores inflamatórios, como citocinas, quimiocinas e prostanoídes (Figura 5) (F. Ghasemi, H. Bagheri, G. Barreto *et al.*, 2019). Uma vez ativada a produção de mediadores inflamatórios, inicia-se uma resposta inflamatória considerada como um estado pró-inflamatório no SNC ( S. Ahmed, L. Luo, A. Namani *et al.*, 2017), que pode se manifestar com febre, mal-estar e fadiga (Figura 5) (T. Zrzavy, R. Höftberger, T. Berger *et al.*, 2018). No SNC, a progressão da inflamação acarreta em maior quantidade de células neuronais danificadas, alterando substancialmente as funções cognitivas e motoras, afetando diferentes áreas do cérebro e diferentes tipos de neurônios, o que explica o processo neuroinflamatório reconhecidamente como uma das características mais marcantes e comuns nas doenças neurodegenerativas (DNs), a exemplo da doenças de Parkinson (DP), Alzheimer (DA) e Huntington (DH) e das esclerose múltipla (EM) e Esclerose Lateral Amiotrófica (ELA) (F. Ghasemi, H. Bagheri, G. Barreto *et al.*, 2019) (J. Santos, S. Bever, K. Sullivan *et al.*, 2019). Além disso, muitas outras doenças crônicas são atualmente compreendidas por seu marcante componente inflamatório, como a diabetes tipo 2, arteriosclerose e câncer, com muitos aspectos de sua origem e progressão ainda desconhecidos e de tratamento ainda pouco eficiente e de controle terapêutico desafiador (I. Tabas & C. Glass, 2013).

Figura 5 - Processo neuroinflamatório com ativação e transformação de micróglia e dano neuronal.

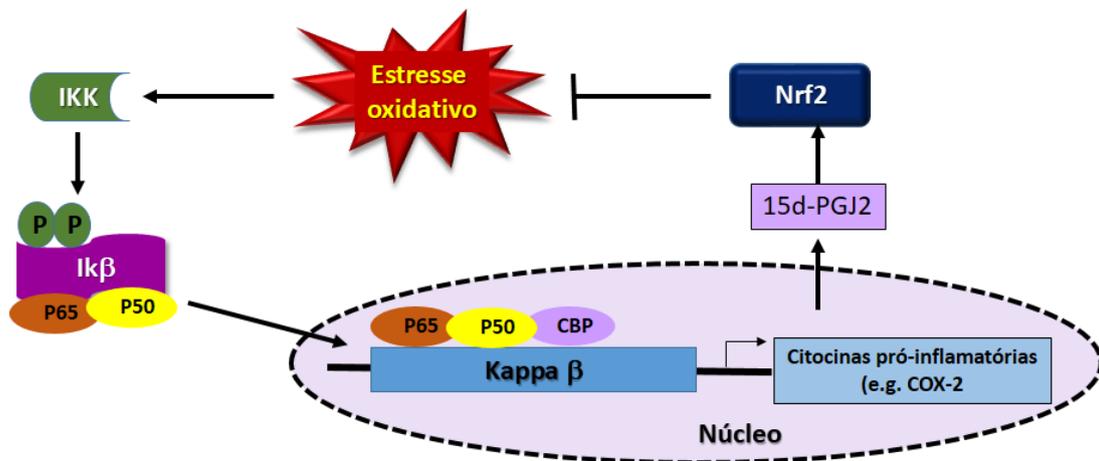


**Fonte:** Adaptado da ref.: (Z. Xing, G. Yu, C. Lv *et al.*, 2016) ( R. Etienne, F. Pereira Dias Viegas, C. Viegas, 2020)

No sistema periférico, a produção e liberação de mediadores químicos responsáveis pelas características da área inflamada podem suceder quando as células de defesa, (e.g. macrófagos, monócitos) são expostas a lesões teciduais e, ou a patógenos. Nesta condição, os principais mediadores envolvidos no processo inflamatório são a histamina, metabólitos do ácido araquidônico (e.g. prostaglandinas, tromboxanos e leucotrienos), FAP, bradicinina, óxido nítrico (NO), neuropeptídeos e citocinas (Figura 5) (M. Verdam, F. Guilhon-Simplicio, K. Andrade *et al.* 2017) (F. Ghasemi, H. Bagheri, G. Barreto *et al.*, 2019) (I. Tabas & C. Glass, 2013). Ademais, o fator de transcrição NF- $\kappa$ B pode ser ativado em decorrência de estresse oxidativo (EO) pró-inflamatório, levando à superprodução de citocinas (Figura 6) (S. Ahmed, L. Luo, A. Namani *et al.*, 2017). Uma vez instalado, o EO desempenha papel-chave na exacerbação da inflamação, modulando a atividade de enzimas quinase e a consequente fosforilação da IK $\beta$  pela ativação da IK $\beta$  quinase (IKK). O complexo Ik $\beta$  quinase (IKK) é constituído por 2 subunidades, IKKa e IKKb, que possuem a capacidade de diferenciar o IK $\beta$  complexado do IK $\beta$  livre, sendo que o IKK fica ativado nas células, onde a IK $\beta$  pode ser expresso. Portanto, a IK $\beta$  pode atuar como um inibidor de NF- $\kappa$ B, ativando a via jusante e liberando os heterodímeros p50 e p65 que são responsáveis pela atividade transcricional. Por este motivo, estes fatores heterodímeros são

considerados a forma de ligação mais comum para o complexo do NF- $\kappa$ B. Assim sendo, a via de sinalização do NF- $\kappa$ B desempenha função central na regulação da expressão de genes que são encontrados na maioria das células animais envolvidas nos processos de inflamação, apoptose e resposta imune, sendo ainda responsáveis pela produção de enzimas como óxido nítrico sintase (NOS), COX, superóxido dismutase e produção de interleucinas (Z. Xing, G. Yu, C. Lv *et al.*, 2016).

Figura 6 - O papel do estresse oxidativo na modulação de vias de sinalização do processo inflamatório.



**Fonte:** Adaptado das refs. S. Ahmed, L. Luo, A. Namani *et al.*, 2017; R. Etienne, F. Pereira Dias Viegas, C. Viegas, 2020

### 2.3.1 Citocinas

As citocinas são proteínas associadas às doenças inflamatórias e são liberadas por células como os monócitos e macrófagos, linfócitos T, linfócitos B e mastócitos, além de células endoteliais, fibroblastos e adipócitos. Existem citocinas que exercem ações pró-inflamatórias (Th1) que são responsáveis pela eliminação das lesões e citocinas anti-inflamatórias, (Th2) que são capazes de inibir o agravamento do processo inflamatório e os consequentes resultados indesejados do processo de cicatrização (P. Calder, 2015).

As quimiocinas pertencem a uma família de citocinas pró-inflamatórias e são classificadas em 4 subfamílias: Subfamília  $\alpha$  (CXC),  $\beta$  (CC),  $\delta$  (CX3C) e subfamília  $\gamma$  (XC). As quimiocinas exercem atividade de sinalização, atraindo células de defesa como leucócitos, monócitos, neutrófilos e outras células efetoras, com a função principal de orientação da migração de células inflamatórias (S. Ahmed, L. Luo, A. Namani *et al.*, 2017). Além disso, as quimiocinas exercem funções no controle da circulação homeostática dos leucócitos nos tecidos,

modulando a circulação de linfócitos no sangue e tecidos linfáticos até os linfonodos, onde ocorre a transformação dos antígenos. A partir de então, os linfócitos de memória migram para o tecido inflamado de modo a garantir a imunidade. Por esta função, as quimiocinas são consideradas potentes quimioatratores de eosinófilos e fatores liberadores de histamina, que são de grande importância em manifestações inflamatórias alérgicas (A. Luster, 1998).

O fator de necrose tumoral (TNF) é outra citocina pró-inflamatória, reconhecido como um dos principais membros da família das citocinas, com importantes funções patogênicas na progressão de processos inflamatórios crônicos, a exemplo da artrite reumatoide (AR). Devido à presença altos níveis de TNF- $\alpha$  em pacientes com AR, uma estratégia terapêutica em uso é baseada na interrupção do processo inflamatório com a inibição da ativação de células T, macrófagos e fibroblastos pelo TNF- $\alpha$  (M. Ratheesh, S. Sandya, C. Pramod *et al.*, 2016). Além disso, esta citocina exerce função importante na regulação da resposta de hospedeiros aos desafios microbianos em combate a infecções, amplificando e coordenando sinais pró-inflamatórios pela expressão de moléculas efetoras, podendo provocar a expressão de quimiocinas e moléculas de adesão fundamentais para o recrutamento de neutrófilos ao tecido danificado. Outra função do TNF- $\alpha$  é o favorecimento da regulação positiva das moléculas do complexo principal de histocompatibilidade (MHC), da produção de interferon  $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ) e da expressão de receptores de IL-2 (IL-2R) (H. Hop, A. Reyes, T. Huy *et al.*, 2017).

A IL-17 é uma vasta família de citocinas pró-inflamatórias, constituída por IL-17A, IL-17B, IL-17C, IL-17D, IL-17E (IL-25) e IL-17F, sendo todas moléculas estruturalmente relacionadas, variando em grau de homologia. Em particular, as IL-17A e IL-17F são produzidas por células imunológicas, especialmente por células T, enquanto que as outras IL-17 são produzidas por outras células não-T ativadas. Um exemplo desta especificidade são as IL-17 produzidas por Th17, que são células identificadas como subclasse de células T CD4 + auxiliares, que exercem funções importantes na proliferação de fibroblastos, na produção de colágeno e, também, na patogênese de muitas doenças inflamatórias mediadas por autoimunidade, incluindo a esclerose sistêmica (ES) (Z. Gerlicz-Kowalczyk, B. Dzionkowska-Bartkowiak, A. Wozniacka *et al.*, 2019). A IL-1 $\beta$ , pertencente a outra família da citocinas, é capaz de ativar alguns tipos de células como os astrócitos e microglias, ativando a liberação de outras citocinas como IL-1 $\beta$ , IL-6 e IL-18, que implicam na alteração funcional e na integridade neuronal (M. Saadi, A. Karkhah, F. Pourabdolhossein *et al.*, 2020). Em especial, a IL-1 $\beta$  que é produzida principalmente por neutrófilos, quando superexpressa, exerce função em processos de autoinflamação (D. Fanoni, L. Venegoni, B. Vergani *et al.*, 2019), além de efeitos na instalação e progressão de várias outras doenças inflamatórias, incluindo DNs como a DA e DP (M. Saadi, A.

Karkhah, F. Pourabdolhossein *et al.*, 2020). Em um estudo recente, evidenciou-se que citocinas pró-inflamatórias, tais como IL-1 $\beta$ , IL-6 e IL-12, exercem diferentes funções nas células Th1 e Th17, as quais exercem papel importante no desenvolvimento de doenças autoimunes humanas. Além disso, dados experimentais indicam que a IL-12 atua na diferenciação de células Th1, enquanto que IL-1 $\beta$ , IL-6 e IL-23 estão particularmente envolvidas no desenvolvimento, proliferação e sobrevivência de células Th17 (N. Gholijani, M. Yazdani, & L. Dastgheib, 2019). A bradicinina é outra citocina inflamatória (ou pró-inflamatória), com estrutura nonapeptídica e que conta com 2 receptores: B1 e B2. Os receptores B1 são estimulados por qualquer lesão tecidual, enquanto que os receptores B2, localizados na superfície das células endoteliais, liberam prostaglandinas e NO, quando ativados. A bradicinina atua como um potente vasodilatador, aumentando também a permeabilidade vascular, podendo contrair a musculatura brônquica com uma menor intensidade. Porém, a ativação destes receptores pode induzir inflamação pela liberação de citocinas pró-inflamatórias e aumento da permeabilidade vascular (Z. Gerlicz-Kowalczyk, B. Dzionkowska-Bartkowiak, A. Wozniacka *et al.*, 2019).

### **2.3.2 Aminas Vasoativas**

As aminas vasoativas constituem famílias de mediadores inflamatórios, caracterizadas basicamente pela histamina e pela serotonina. Ambas apresentam efeitos semelhantes e são encontradas pré-formadas em grânulos citoplasmáticos, sendo conhecidas como os primeiros mediadores inflamatórios liberados, responsáveis, em parte, pela vasodilatação e aumento da permeabilidade vascular. A histamina se diferencia da serotonina por ser uma molécula liberada por mastócitos, basófilos e plaquetas com objetivo de auxiliar o organismo na resposta direta a um agente nocivo, em meio à liberação de outros mediadores químicos como as citocinas. Já a serotonina, também conhecida como 5-hidroxitriptamina (5-HT), é produzida em grânulos plaquetários e sua liberação pelas plaquetas sanguíneas pode ocorrer durante o processo de agregação plaquetária (J. Oliveira Júnior, C. Portella Junior, & C. Cohen, 2016) (A. Nemmar, B. Nemery, P. Hoet *et al.*, 2003).

### **2.3.3 Óxido nítrico (NO) e fator de ativação plaquetária (FAP)**

O óxido nítrico (NO) é uma espécie radicalar, sintetizada em macrófagos, no músculo cardíaco e em células endoteliais por ação da enzima do NO sintase, a partir da biotransformação de *L*-arginina em *L*-citrulina. O NO, além de atuar como neurotransmissor e exercer várias outras

funções fisiológicas, incluindo o relaxamento vascular dependente do endotélio, citotoxicidade mediada por macrófagos, inibição da ativação, adesão e agregação plaquetária, relaxamento do corpo cavernoso peniano, regulação da pressão sanguínea basal, pode atuar durante o processo inflamatório no relaxamento do músculo liso vascular e na diminuição do recrutamento de leucócitos para os sítios inflamatórios (R. Flora Filho & B. Zilberstein, 2000) (E. Fernandes, A. Cerqueira, A. Soares *et al.*, 2016).

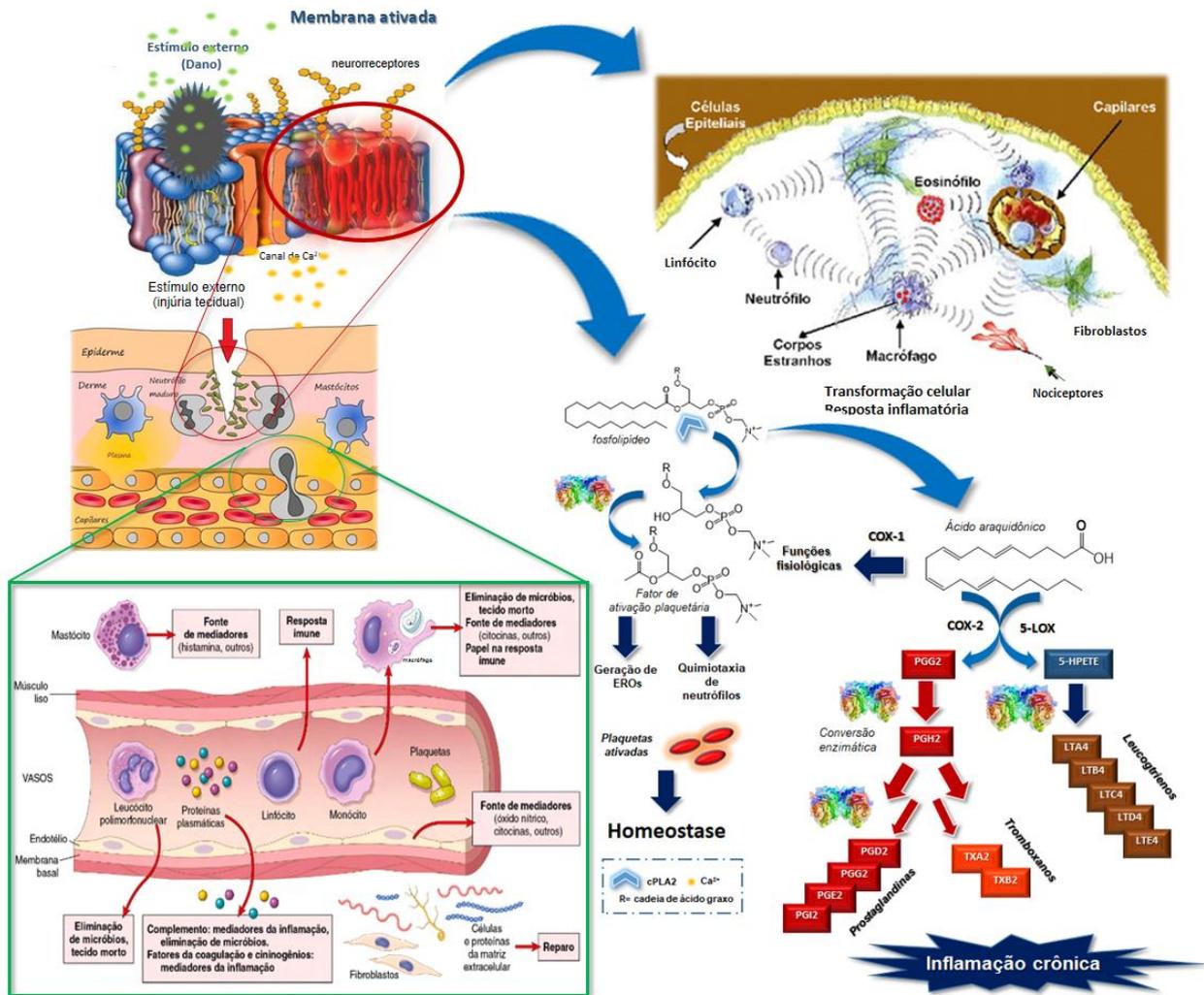
Já o fator de ativação plaquetária (FAP) é um potente mediador inflamatório lipídico, sintetizado na maioria das células do corpo, mas com expressão relevante em células relacionadas à inflamação, como granulócitos, basófilos, mastócitos, macrófagos, plaquetas e células endoteliais. O FAP atua como outro mediador químico da inflamação diretamente nas células alvo, que além de famílias de lipídeos do tipo FAP, inclui muitas moléculas que tem menor atividades biológicas semelhantes. O FAP exerce funções na patogênese de vários processos inflamatórios, incluindo aterogênese, alergias, asma, inflamações dérmicas e distúrbios autoimunes como a esclerose múltipla. Sua atuação pode ser autócrinas e parácrina, quando liga-se a um receptor acoplado à proteína G (FAPR), mobilizando  $Ca^{2+}$  e ativando várias vias de sinalização, como a sinalização mediada pela fosfolipase C17. O FAP também parece exercer papel importante na fisiologia vascular pela estimulação das plaquetas, participando da modulação na vasoconstrição e na broncoconstrição (P. Barnes & J. Drazen, 2009) (T. Kelesidis, V. Papakonstantinou, P. Detopoulou *et al.*, 2015).

#### **2.3.4 Eicosanoides: prostaglandinas, leucotrienos e tromboxanos**

A membrana celular é constituída, fundamentalmente, por fosfolipídios, além da presença estrutural de colesterol e proteínas. Na ocorrência de uma lesão à estrutura da membrana, os fosfolipídios são degradados pela ação da enzima fosfolipase A2, presente nos leucócitos e plaquetas, e ativadas pelas citocinas pró-inflamatórias, a exemplo da IL-1. Uma vez instalada a lesão tecidual, a liberação de mediadores inflamatórios e a degradação dos fosfolipídios de membrana ativam a produção de ácido araquidônico (AA), que passa a ser o substrato de diferentes enzimas, gerando as diferentes famílias de eicosanoides, por duas vias distintas. Em uma primeira via, o AA é substrato das prostaglandina-H sintases (PGHS), também conhecidas como cicloxigenases (COX), sofrendo ciclização e levando à formação em cascata de diversas prostaglandinas (PGs), além dos tromboxanos A2 e B2. Em uma segunda via metabólica, o AA é alvo da ação da lipoxigenase (LOX), gerando uma série de leucotrienos (Figura 7) (S.

Chakrabarti, Y. Wen, A. Dobrian *et al.*, 2011) (P. Prasher, H. Mudila, M. Sharma, & B. Khati, 2019).

Figura 7 - Esquema representativo da lesão tecidual, alteração da estrutura de membrana e instalação e progressão do processo inflamatório, com a transformação de células de defesa e produção de mediadores inflamatórios.



**Fonte:** Adaptado de figuras da internet e das ref.: (P. Prasher, H. Mudila, M. Sharma, & B. Khati, 2019) (R. Etienne, F. Pereira Dias Viegas, C. Viegas, 2020)

A principal função das prostaglandinas está relacionada à geração da resposta inflamatória, cuja produção é exacerbada pela ativação da cascata do ácido araquidônico (AA), oriundo da degradação fosfolipídica. Uma vez produzidos, os eicosanoides participam do aparecimento e progressão dos sinais cardinais da inflamação aguda, condição em que as prostaglandinas exercem uma vasta gama de funções em diferentes processos fisiológicos e patológicos, incluindo vasodilatação ou vasoconstrição, contração ou relaxamento da

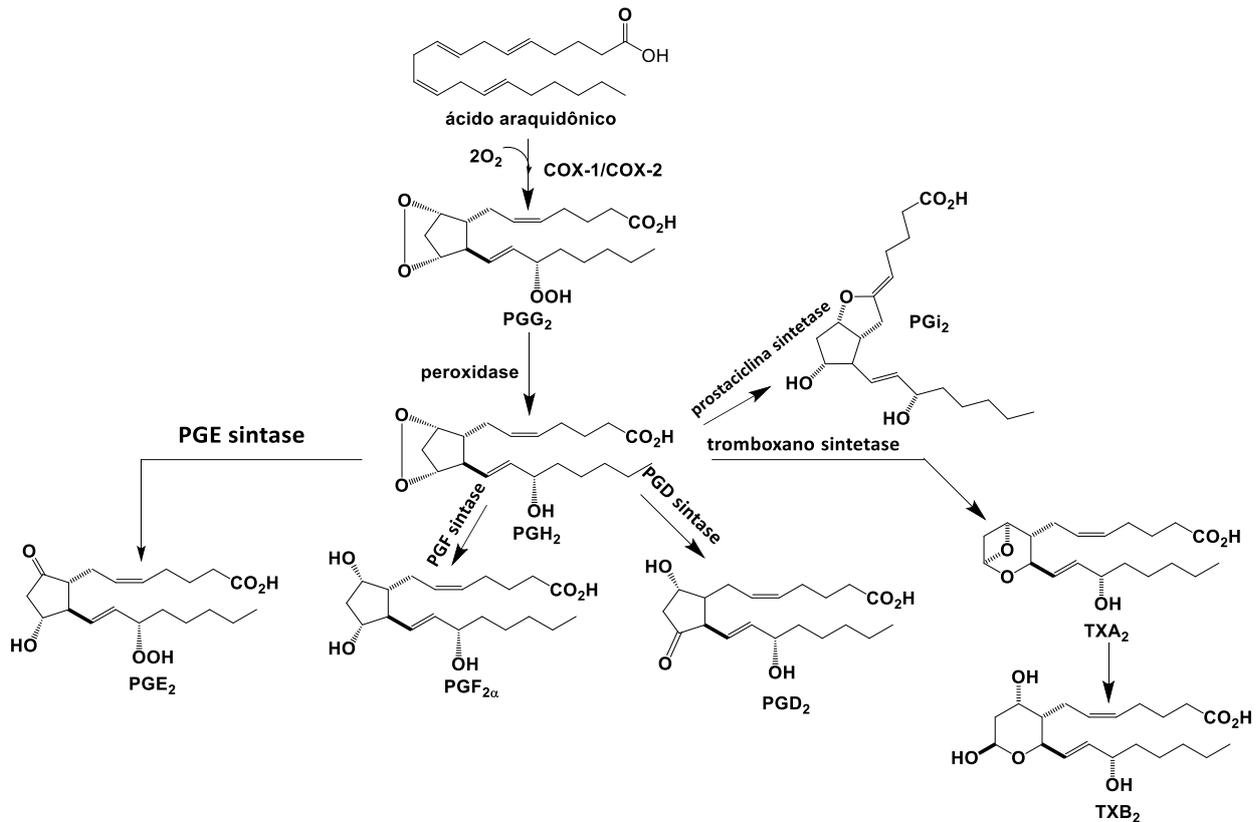
musculatura brônquica ou uterina, hipotensão, ovulação, metabolismo ósseo, aumento do fluxo sanguíneo renal, inibição da secreção gástrica, resposta imunológica, hiperalgesia, regulação da atividade quimiotática celular, resposta endócrina e angiogênese (M. Coutinho, M. Muzitano, & S. Costa, 2009). Até o momento são conhecidas três isoformas de PGHS (ou COX), sendo elas COX-1, COX-2 e COX-3. A COX-1 é uma enzima constitutiva, expressa em vários tecidos e formada por 17 aminoácidos na porção amino-terminal, que, sob condições fisiológicas, produz PGs necessárias à modulação das funções citoprotetores gastrintestinais, renais e a homeostase vascular, sendo a fonte dominante de prostanoídes, nome dado aos mediadores inflamatórios derivados de COX. A COX-2, por sua vez, apresenta 18 aminoácidos na porção carbóxi-terminal e está presente, predominantemente, no cérebro e medula espinhal. Atualmente, a maioria dos autores concordam que a COX-2 é uma enzima induzida na maioria dos tecidos, à exceção dos rins e no epitélio, ou seja, sua produção é dependente da reação de células inflamatórias, tais como fibroblastos, macrófagos, monócitos e células sinoviais, quando ativadas em resposta a vários agentes que incluem as citocinas, endotoxinas, fatores de crescimento e promotores de tumor. Desta forma, o processo inflamatório agudo ativa a expressão dos genes regulados pela NF- $\kappa$ B de COX-2, que se soma à COX-1 na produção de outros prostanoídes que atuam como potentes agentes vasodilatadores, aumentando a permeabilidade vascular. Neste processo de indução da COX-2, a bradicinina e a histamina desempenham papel-chave, exercendo seus efeitos por meio de receptores acoplados à proteína G e ativando diferentes vias de sinalização intracelular. Portanto, ambas isoformas, COX-1 e COX-2, podem participar na liberação de prostanoídes durante a inflamação, contribuindo para a geração de prostanoídes autorreguladores e homeostáticos (M. Coutinho, M. Muzitano, & S. Costa, 2009) (J. Mitchell, P. Akarasereenont, C. Thiemermann *et al.*, 1993).

Em 2002, Simmons e cols. Descreveram a COX-3, última isoforma de COX descoberta, como uma variante do gene da COX-1, sendo predominantemente expressa no cérebro, coração e medula espinhal (D. Simmons, R. Botting, M. Robertson *et al.*, 1999). Esta enzima é inibida por fármacos analgésicos e antipiréticos como o acetaminofeno (paracetamol), fenacetina, antipirina, dipirona e tem sido descrita como alvo particular de agentes anti-inflamatórios não-esteroidais, como o paracetamol. Entretanto, alguns estudos de metabolismo do paracetamol sugerem que este possa sofrer uma reação de desacetilação por ação de uma hidrolase de ácidos graxos, gerando um metabólito amino, que sofreria conjugação com AA no cérebro e na medula para produzir o *N*-aracdonoil-fenolamina (AM404), identificado como um potente agonista de receptores transientes de potencial vaniloide 1 (TRPV1, do inglês *Transient receptor potential vanilloid 1*). Foi descoberto que este metabólito pode ainda atuar no sistema endocanabinoide que, juntamente com a COX-1 e TRPV1, está presente em vias modulatórias da dor e de

termorregulação, sugerindo ser este um mecanismo mais provável de ação analgésica e antipirética do paracetamol (D. Barrière, C. Mallet, A. Blomgren *et al.*, 2013) (E. Högestätt, B. Jönsson, A. Ermund *et al.*, 2005). Outros estudos sugerem que outros fármacos, como a dipirona, possam atuar sobre a COX-3 e que este represente o mecanismo preferencial de seus efeitos analgésicos e antitérmicos, embora seja ainda controverso (D. Simmons, R. Botting, M. Robertson *et al.*, 1999) (D. Aronoff & E. Neilson, 2001).

De todas as prostaglandinas conhecidas, a PGE<sub>2</sub>, PGI<sub>2</sub> (prostaciclina), PGD<sub>2</sub> e PGF<sub>2</sub> $\alpha$  (Figura 8) são particularmente relevantes pelo seu papel na inflamação (Prasher *et al.*, 2019). A produção destes prostanoides é onipresente nos tecidos, mas são especialmente abundantes nos sítios de inflamação, agindo como mediadores lipídicos autócrinos (atuando na própria célula produtora) e parácrinos (atuando em células próximas), visando manter a homeostase local (M. Batlouni, 2010) (C. da Costa, R. Rufino, & J. E Silva, 2009).

Figura 8 - Biossíntese das prostaglandinas e dos tromboxanos pela ação da enzima cicloxigenases (COX), na cascata do ácido araquidônico.



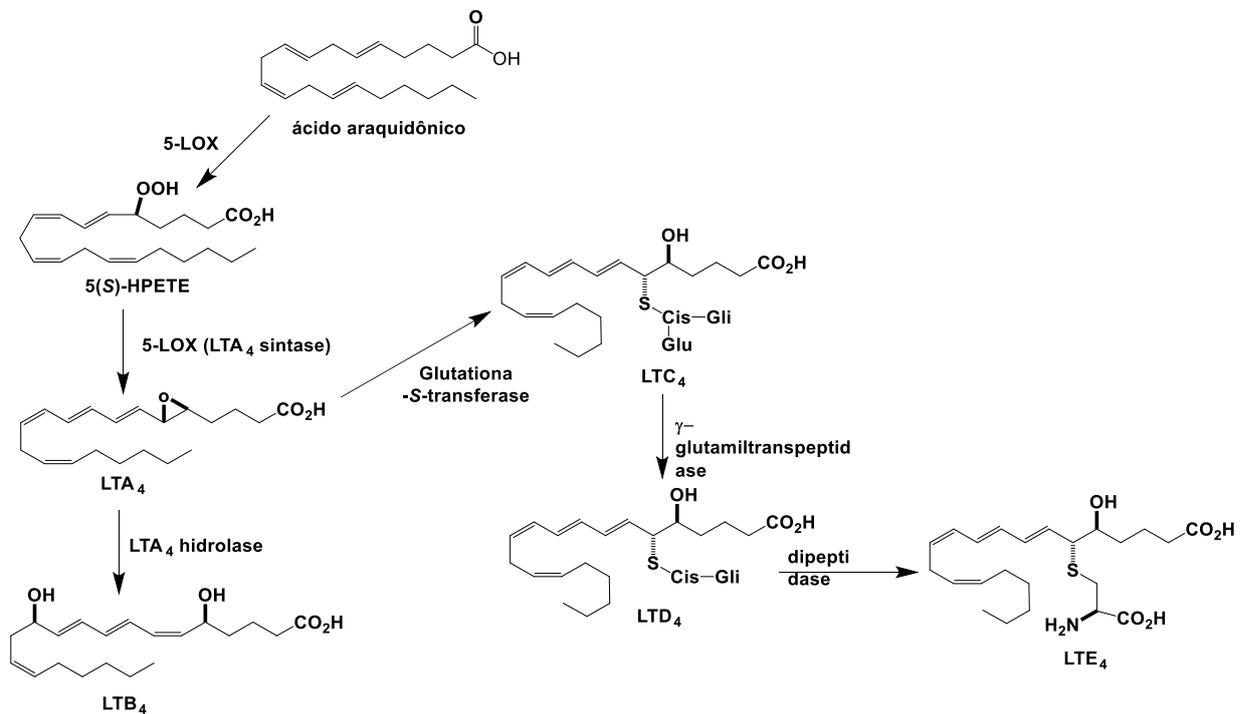
**Fonte:** Adaptado de figuras da internet e da ref.: (R. Etienne, F. Pereira Dias Viegas, C. Viegas, 2020)

Os tromboxanos (TX) são eicosanoides que, estruturalmente, resultam da substituição do anel ciclopentano encontrado nas prostaglandinas por um anel oxano de seis membros. Esta classe de metabólitos do AA é derivada da PGH<sub>2</sub>, pela ação da TXA<sub>2</sub> sintase, enzima presente no retículo endoplasmático e que é expressa, especialmente, nos pulmões e nas plaquetas. Os tromboxanos podem ser subdivididos em duas famílias dependendo dos substituintes do anel oxano: tromboxanos A (TXA) e tromboxanos B (TXB, Figura 8). Os TXA são sintetizados por várias células, incluindo os neutrófilos, plaquetas, macrófagos e fibroblastos pulmonares e células epiteliais (C. da Costa, R. Rufino, & J. E Silva, 2009) (S. Tilley, T. Coffman, & B. Koller, 2001). Uma vez formados, os TXA<sub>2</sub> exercem função central na ativação e proliferação de células T, facilitando o desenvolvimento de células T citolíticas efetoras, além de atuarem como potentes agentes vasoconstritores e de agregação plaquetária. Sobre as plaquetas, os TXA<sub>2</sub> induzem mudanças morfológicas, que levam à extensão de pseudópodes e adesão a outras plaquetas na superfície celular danificada, regulando o tônus vascular, além de contribuir para a formação de trombos. De forma semelhante às prostaglandinas, os TXA<sub>2</sub> têm uma meia-vida muito curta, de cerca de 30 segundos, sendo rapidamente metabolizado a TXB<sub>2</sub> (Figura 8), que constitui sua forma inativa. Além deste, são conhecidos outros tromboxanos derivados do TXA<sub>2</sub>, mas de menor relevância fisiológica (C. Rodrigues, 2020) (J. Ritter, R.J. Flower, H. Rang *et al.*, 2020). Em uma segunda via de metabolização do AA, paralela à via das COXs, a enzima lipoxigenase (LOX) promove a adição de uma função hidroperóxido à molécula de AA, gerando o ácido monoidroperóxido eicosotetraenoico (HPETE, Figuras 9), além do ácido hidróxi-eicosatetraenoico (HETE), que exerce função quimiotática, e dos leucotrienos (LTs), que, à semelhança dos prostanoídes, são mediadores lipídicos, porém eminentemente de ação pró-inflamatória. Uma vez formado, o HPETE pode ser alvo da ação de 3 isoformas de LOX, (e.g. 5-LOX, 10-LOX e 12-LOX) que funcionalizam o substrato em diferentes posições da cadeia oriunda do AA. No contexto da inflamação, o 5-HPETE tem merecido especial atenção, uma vez que é o principal produto em basófilos, leucócitos polimorfonucleados, macrófagos, mastócitos e qualquer tecido envolvido em uma resposta inflamatória. À semelhança do que ocorre com a COX, a enzima 5-LOX tem uma função dupla, sendo capaz de reagir tanto como desoxigenase, convertendo o AA em 5-HPETE, quanto como oxidase, gerando os leucotrienos A<sub>4</sub> (LTA<sub>4</sub>), como primeiros membros da série de LTs produzidos pela 5-LOX. Uma vez formado, o LTA<sub>4</sub> passa a ser substrato da LTB<sub>4</sub> sintetase (ou LTA<sub>4</sub> hidrolase) para ser convertido no derivado dihidroxilado LTB<sub>4</sub>, ou na presença de glutathione S-transferase 2 microssomal (MGST2, ou LTC<sub>4</sub> sintetase) é bioconvertido em LTC<sub>4</sub>. Adicionalmente, enzimas com ação de dipeptidase podem atuar sobre o LTC<sub>4</sub>, removendo um fragmento glutamato e produzindo LTD<sub>4</sub>, que, por sua vez, pode ter uma unidade de glicina removido para gerar o LTE<sub>4</sub>. No entanto, existem 2 classes de

leucotrienos: cisteinil-leucotrienos (LTC<sub>4</sub>, LTD<sub>4</sub>, LTE<sub>4</sub>) e leucotrieno B<sub>4</sub>. Estes 2 tipos de leucotrienos são, em geral, substâncias pró-inflamatórias, atuando como comunicadores celulares, sendo reconhecidos por receptores acoplados à proteína G, receptores nucleares e proteínas que facilitam a transferência de intermediários de uma célula a outra, podendo, também, atuar em receptores PPARs (do inglês *peroxisome proliferator-activated receptors*). Suas funções estão associadas à estimulação de leucócitos, em complemento à ação dos HETEs, à contração do músculo liso e ao aumento da permeabilidade vascular, contribuindo para a formação dos edemas característicos da resposta inflamatória (G. Folco & R. Murphy, 2006) (W. Smith & I. Song, 2002).

Os leucotrienos mais investigados são aqueles presentes e mais ativos em células inflamatórias, como leucócitos polimorfonucleares, neutrófilos, monócitos, basófilos, mastócitos, eosinófilos e macrófagos em diferentes órgãos como pulmão, baço, coração e no cérebro. De todos os leucotrienos conhecidos, o LTB<sub>4</sub> é o mais estudado como alvo terapêutico na inflamação, ocupando posição de destaque na literatura e descrito como o LT de papel central na patogênese de várias doenças inflamatórias, com destaque para as doenças alérgicas. O LTB<sub>4</sub> é produzido pelos leucócitos por ação de mediadores inflamatórios e é capaz de promover a adesão e ativação de outros leucócitos do endotélio, facilitando sua ligação e passagem pelos tecidos. Nos neutrófilos, o LTB<sub>4</sub> é reconhecido pelos receptores BLT1 e BLT2, atuando como potente agente quimiotático e promovendo a geração de espécies reativas de oxigênio (EROs) e a liberação de enzimas lisossomais (W. Smith & I. Song, 2002) (J. Sharma & L. Mohammed, 2006) (Smith e Song, 2002) (Sharma e Mohammed, 2006). Ademais, foi possível detectar o LTB<sub>4</sub> no fluido de lavado broncoalveolar de indivíduos asmáticos após estimulação com antígeno específico, porém sem uma conclusão clara do seu papel no processo asmático, uma vez que sua inalação não produziu alteração na função pulmonar, nem alteração na hiper-responsividade brônquica. Desta forma, a função do LTB<sub>4</sub> permanece, ainda desconhecida. Ao contrário, os LTC<sub>4</sub> e LTD<sub>4</sub> estão muito bem caracterizados por seus efeitos broncoconstritores de alta potência, que juntamente com LTE<sub>4</sub>, menos potente, são descritos como os responsáveis pelas ações biológicas da substância de reação lenta da anafilaxia (SRS-A). Além disso, estes 3 LTs são direcionados ao receptor LC1, presente na musculatura lisa do brônquio, podendo ser bloqueado pela maioria dos antagonistas de receptores de LTs (MK571, ONO1078, ICI-204-219) (L. Moreira Lima, C. Manssour Fraga, & E. Barreiro, 2002) (“2019 ALZHEIMER’S DISEASE FACTS AND FIGURES Includes a Special Report on Alzheimer’s Detection in the Primary Care Setting: Connecting Patients and Physicians”, 2019).

Figura 9 - Biossíntese de Leucotrienos pela ação de lipoxigenase na cascata do ácido araquidônico.



Fonte: Adaptado da Ref.: (R. Etienne, F. Pereira Dias Viegas, C. Viegas, 2020)

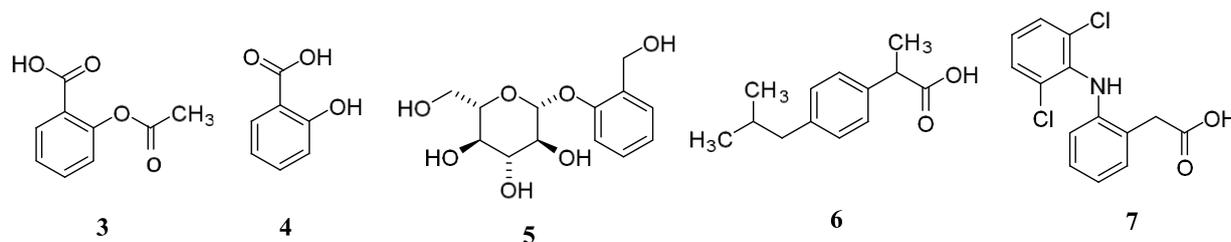
### 2.3.5 Um pouco sobre a Pesquisa e a Evolução dos Anti-Inflamatórios Não-Esteroidais (AINEs)

Atualmente, sabe-se que, ao contrário da COX-1 constitutiva, a COX-2 é uma enzima induzida, produzida em resposta à instalação de um processo inflamatório, mediada por sinalização química e associada a disfunções patológicas diversas, como carcinogênese, neoplasias, injúria tecidual, infecções diversas, reações a agentes químicos e biológicos, manifestações alérgicas, coágulos sanguíneos dentre outros. Porém existem relatos que apontam que a COX-2 também é uma enzima constitutiva, principalmente em tecidos do sistema cardiovascular (P. Patrignani & C. Patrono, 2015) (W. Asghar & F. Jamali, 2014). Portanto, muitas estratégias e regimes terapêuticos são baseados no uso de fármacos anti-inflamatórios que impedem ou controlam a fisiopatologia destas doenças pela inibição da COX-2. Neste contexto, os fármacos anti-inflamatórios não-esteroidais (AINEs), são considerados menos tóxicos e mais seguros do que os anti-inflamatórios esteroidais, sobretudo em tratamentos por longos períodos, sendo, portanto, considerados a classe terapêutica de primeira escolha visando à inibição da COX-2 e a consequente diminuição da formação de mediadores do processo inflamatório, principalmente prostaglandinas e tromboxanos (V. Lamontain, T. Schmid, D. Weber-Steffens *et al.*, 2019) (J.

Mitchell, P. Akarasereenont, C. Thiemermann *et al.*, 1993) (T. Kirichenko, I. Sobenin, D. Nikolic *et al.*, 2016).

Na ótica da Química Medicinal, o ácido acetilsalicílico (AAS, **3**, Figura 10) representa o primeiro fármaco racionalmente planejado e obtido por otimização molecular, visando à modulação das propriedades adversas de seu precursor, o ácido salicílico (AS, **4**, Figura 10). Além do AAS, a salicina (**5**), o ibuprofeno (**6**) e o diclofenaco (**7**) (Figura 10) são exemplos clássicos de fármacos utilizados na terapêutica para o tratamento da inflamação (J. Mitchell, P. Akarasereenont, C. Thiemermann *et al.*, 1993) (M. Batlouni, 2010) (A. Sallmann, 1986). No entanto, a maior desvantagem clínica desses fármacos está relacionada aos efeitos colaterais, que incluem ulceração gástrica e duodenal, hipersensibilidade, além da possibilidade de recorrência (M. Coutinho, M. Muzitano, & S. Costa, 2009).

Figura 10 - Estruturas do ácido acetilsalicílico (AAS, **3**), ácido salicílico (AS, **4**), salicina (**5**), ibuprofeno (**6**) e do diclofenaco (**7**).

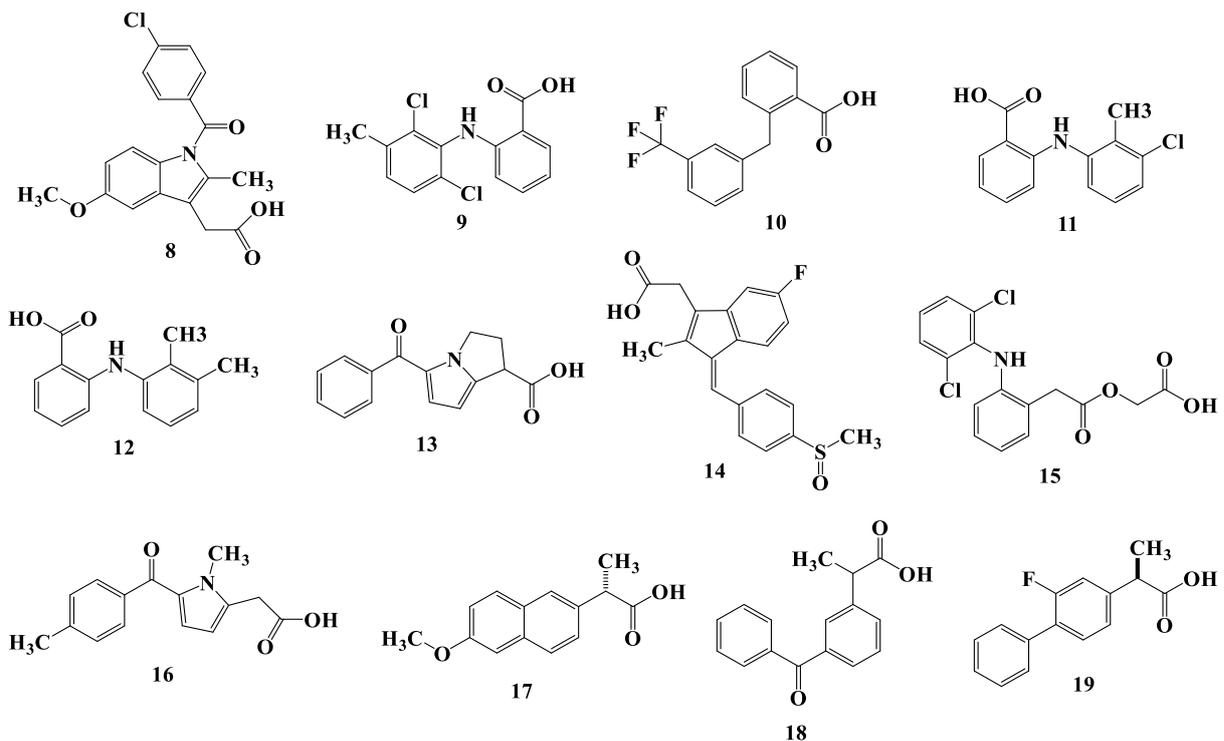


**Fonte:** Do autor

A busca por novos anti-inflamatórios, mais potentes, eficientes e menos tóxicos, estimulada pelo interesse de mercado da Indústria Farmacêutica Mundial, despertou vários estudos acadêmicos e na indústria voltados ao desenvolvimento de novos candidatos a fármacos, culminando com a descoberta de várias classes químicas, grupos e atributos funcionais e possíveis mecanismos de ação alternativos, desejáveis ao perfil terapêutico desejado. Um exemplo representativo deste desafio científico foi a descoberta da indometacina (**8**, Figura 11), lançada no mercado em 1963, sendo prescrita como fármaco antirreumático (M. Coutinho, M. Muzitano, & S. Costa, 2009) (M. Batlouni, 2010). Nesta mesma época, foram descobertos os derivados de ácidos antranílicos, ou fenematos, com propriedades anti-inflamatórias e analgésicas, levando ao desenvolvimento de fármacos indicados para o tratamento de artrite, dores musculares e dismenorrea, representados pelo ácido meclofenâmico (**9**), ácido flufenâmico (**10**), ácido tolfenâmico (**11**) e ácido mefenâmico (**12**) (Figura 11), que atuam como inibidores não-seletivos de COX-1 e COX-2 (D. Simmons, R. Botting, P. Robertson *et al.*, 1999)

(P. Pentikäinen, P. Neuvonen, & C. Backman, 1981) (P. Budoff, 1979). Entretanto, devido aos seus sérios efeitos adversos sobre a mucosa gástrica, muitos destes fármacos foram restritos ao uso humano, sendo mantida sua indicação preferencial para uso veterinário. Desta diversidade química, incluindo derivados indolacéticos, arilacéticos, pirazolonas, arilpropanoídeos, outros subgrupos de AINEs, com diferentes mecanismos de ação e graus de seletividade COX-1/COX-2, foram lançados no mercado, a exemplo do cetorolaco (**13**), sulindaco (**14**), aceclofenaco (**15**) tolmetina (**16**, Figura 11) (M. Batlouni, 2010) (P. Pentikäinen, P. Neuvonen, & C. Backman, 1981) (X. Polyana, 2012) (J. Grindel, 1981). Além destes, os fármacos mais ativos na inibição da COX-1 foram desenvolvidos como o naproxeno (**17**), cetoprofeno (**18**) e flurbiprofeno (**19**, Figura 11), ganhando destaque na terapêutica (D. Simmons, R. Botting, P. Robertson *et al.*, 1999) (M. Batlouni, 2010) (P. Pentikäinen, P. Neuvonen, & C. Backman, 1981) (N. Chandrasekharan, H. Dai, K. Roos *et al.*, 2002) (T. Shen, 1982).

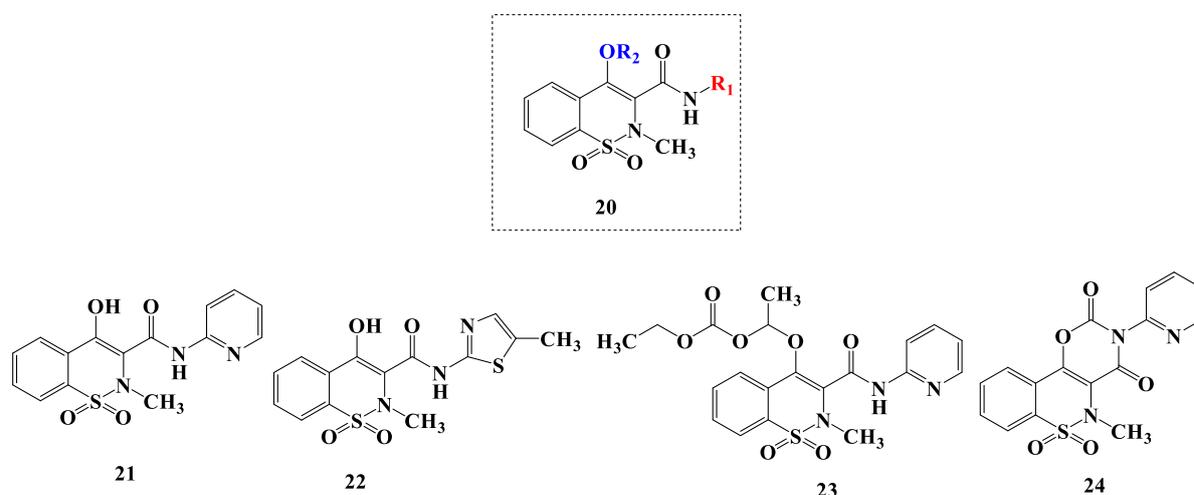
Figura 11 - Estruturas químicas da indometacina (**8**), ácido meclofenâmico (**9**), ácido flufenâmico (**10**), ácido tolfenâmico (**11**), ácido mefenâmico (**12**), cetorolaco (**13**), do sulindaco (**14**), aceclofenaco (**15**), tolmetina (**16**), naproxeno (**17**), cetoprofeno (**18**) e do flurbiprofeno (**19**), representantes de diversas classes químicas de AINEs, com diferentes índices de seletividade na inibição de COX-1 e COX-2 utilizados na terapêutica atual.



Fonte: Do autor

Uma outra classe de AINEs seletivos para COX-1, com destaque por sua importância terapêutica, foi da família dos oxicans (**20**), exemplificada pelo piroxicam (**21**). Entretanto, a despeito do piroxicam (**21**) e vários de seus derivados apresentarem efeitos analgésicos e antipiréticos pronunciados, foram evidenciados efeitos colaterais gastrointestinais relevantes, estimulando modificações e otimizações em seu padrão estrutural na busca por um perfil terapêutico mais adequado. Como resultado, foram desenvolvidos diversos outros oxicans, mais seguros e eficientes, levando à descoberta de diversos inibidores não-seletivos de COX-1 e COX-2, exemplificados pelo meloxicam (**22**), ampiroxicam (**23**) e droxicam (**24**) (Figura 12). À exceção do meloxicam (**22**), que foi identificado como um inibidor preferencial da COX-2, todos estes oxicans foram lançados no mercado com a promessa de maior eficácia e menos efeitos gástricos adversos (P. Prasher, H. Mudila, M. Sharma *et al.*, 2019) (M. Coutinho, M. Muzitano, & S. Costa, 2009) (M. Batlouni, 2010) (X. Polyana, 2012) (J. Grindel, 1981).

Figura 12 - Estrutura química básica dos oxicans (**20**), piroxicam (**21**), meloxicam (**22**), ampiroxicam (**23**) e droxicam (**24**), exemplos de destaque de AINEs inibidores não-seletivos de COX-1 e COX-2.

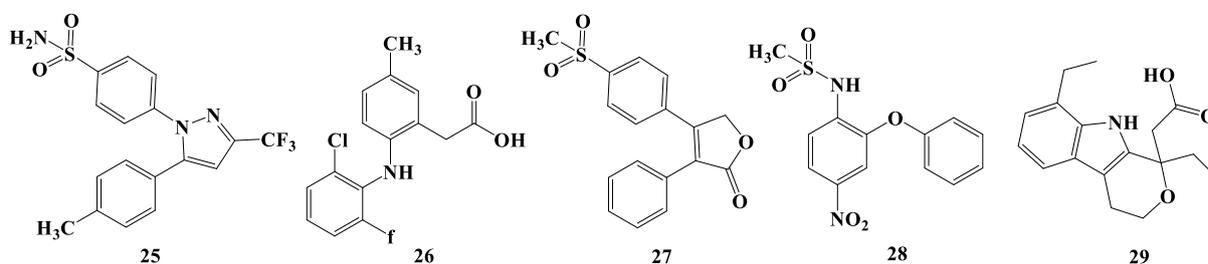


Fonte: Do autor

Com objetivo de contornar os efeitos adversos dos inibidores de COX-1, sobretudo sobre a mucosa gástrica, além do melhoramento da eficácia terapêutica, a partir da década de 1970 surgiu um esforço conjunto da academia e da indústria farmacêutica na busca por inibidores seletivos da COX-2. Neste novo panorama, foram descobertos e lançados no mercado novos AINEs, com diferentes graus de seletividade para COX-2, que receberam a classificação geral de COXIBES, exemplificada pelo celecoxibe (Celebrex®, **25**), lumiracoxibe (Prexige®, **26**) e

rofecoxibe (Vioxx®, **27**), além da nimesulida (**28**) e do etodolaco (**29**) (Figura 13) (M. Batlouni, 2010) (W. Smith & I. Song, 2002) (N. Chandrasekharan, H. Dai, K. Roos *et al.*, 2002) (L. Humber, 1987) (C. Vidal, A. Gómez-Hernández, E. Sánchez-Galán *et al.*, 2007). O desenvolvimento destes novos fármacos, representaram, à época, uma revolução no tratamento da inflamação e no planejamento de novos candidatos a fármacos. Entretanto, a despeito da evolução em termos de controle da inflamação de um modo geral, o monitoramento em fase IV, de farmacovigilância, destes novos inibidores seletivos de COX-2 revelou efeitos tóxicos importantes, principalmente no sistema cardiovascular e renal, levando a restrições de uso. Em casos mais graves, como ocorreu com o Prexige (**26**), responsável pela maior incidência de várias disfunções adversas como pancreatite, hepatite, hemorragia, arritmia e hipertensão, e com o Vioxx (**27**), responsável pela ocorrência de cardiopatias, ambos foram retirados do mercado (P. Prasher, H. Mudila, M. Sharma *et al.*, 2019) (M. Coutinho, M. Muzitano, & S. Costa, 2009).

Figura 13 - Estruturas químicas do celecoxibe (**25**), lumiracoxibe (**26**), rofecoxibe (**27**), nimesulida (**28**) e etodolaco (**29**), representantes do desenvolvimento dos COXIBEs como AINEs inibidores seletivos da COX-2.



Fonte: Do autor

### 2.3.6 Alguns Aspectos e Tendências Atuais no Planejamento de Novos Fármacos Anti-Inflamatórios

O reconhecimento dos efeitos adversos associados aos COXIBEs, e especialmente ao rofecoxibe (**27**), levou ao aumento no rigor de exigências e na forma de avaliação para a aprovação de novos AINEs seletivos por parte dos órgãos reguladores como o FDA (Food and Drug Administration) nos Estados Unidos. Além disso, os avanços da fisiologia e biologia molecular ocorridos nas 2 últimas décadas, e de um melhor entendimento da complexidade e da multifatorialidade de aspectos bioquímicos e celulares que norteiam o processo inflamatório,

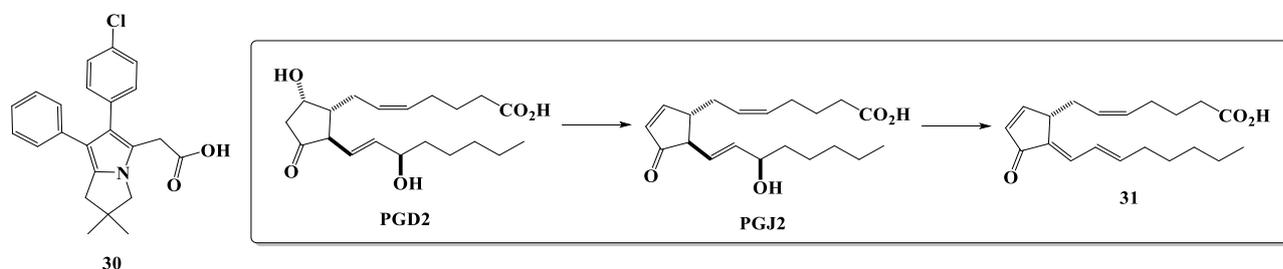
passaram a pavimentar o caminho para o surgimento de uma nova premissa de planejamento racional de candidatos a fármacos anti-inflamatórios, visando ao estudo de ligantes que fossem capazes de operar por mecanismos de ação novos ou, preferencialmente, em múltiplos alvos, ao contrário da alta seletividade explorada até então. Nesta nova abordagem, passou-se a preconizar ligantes que pudessem atuar, concomitantemente, em mais de um alvo molecular e, preferencialmente, em vias bioquímicas distintas associadas a uma mesma fisiopatologia, como uma forma mais eficiente de se modular a patogênese da inflamação (M. Bolós, J. Perea, & J. Avila, 2017) (T. de Melo, R. Chelucci, R. Pires *et al.*, 2014) (M. Heneka, M. O'Banion, & M. Obanion, 2007) (M. Katselou, A. Matralis, & A. Kourounakis, 2014) (R. Knowles, 2014). Nesta hipótese, considerando que a inflamação depende de uma série de eventos interconectados e interdependentes, poder-se-ia intervir em múltiplos eventos celulares e moleculares com a ação de uma única molécula bioativa, com maior eficácia terapêutica, menor risco de interação medicamentosa (associada ao uso de coquetéis de fármacos como previsto na polifarmacologia) e menor toxicidade. Desta nova estratégia, surgiram os ligantes anti-inflamatórios de ação dupla, capazes de modular a via das COXs, inibindo a produção de prostaglandinas pró-inflamatórias, concomitantemente à modulação da via da LOX, bloqueando a produção de leucotrienos, mas evitando interferir na produção de lipoxinas, resultando em menor efeito sobre a mucosa gástrica. Um exemplo de sucesso desta nova estratégia é a descoberta da licofelona (**30**, Figura 14), primeiro candidato a fármaco contra a osteoartrite, com propriedades anti-5-LOX e anti-COX-2. Entretanto, apesar dos resultados promissores em comparação aos AINEs já aprovados e do melhor perfil cardiovascular e gastrointestinal nos ensaios clínicos de fase II e III, até o momento não foi aprovada para comercialização (P. Prasher, H. Mudila, M. Sharma *et al.*, 2019) (L. Fischer, M. Hornig, C. Pergola *et al.*, 2007) (J. Li, C. Guo & J. Wu, 2019).

Um outro exemplo que merece destaque é a 15-desóxi-A<sub>12,14</sub>-prostaglandina J<sub>2</sub> (15d-PGJ<sub>2</sub>, **31**, Figura 14) descoberta por Fitzpatrick e Wynalda em 1983. Esta prostaglandina é obtida da conversão da PGD<sub>2</sub> em PGJ<sub>2</sub> pela  $\beta$ -eliminação do grupo hidroxila na posição C-9, seguida de desidratação independente da albumina que, em vários modelos animais, demonstrou atividade anti-inflamatória. Estudos subsequentes evidenciaram os efeitos potenciais desta nova PG sobre doenças inflamatórias, como artrite reumatoide, aterosclerose, infarto do miocárdio, lesão cerebral, pancreatite aguda e lesão gastrointestinal, capaz de reduzir as atividades fagocíticas dos macrófagos da medula óssea *in vitro* e a produção de citocinas secretadas pelos monócitos, regulando o recrutamento de monócitos da medula óssea durante a inflamação crônica do fígado (J. Li, C. Guo & J. Wu, 2019). Numa abordagem recente, estudos com nanocápsulas carregadas com **31** evidenciaram sua capacidade em reduzir a migração de

neutrófilos e modular, concomitantemente, a produção de IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$  e IL-12, diminuindo significativamente a inflamação. Já em fase clínica de avaliação, foi demonstrado que **31** é capaz, também, de ligar-se à I $\kappa$ B quinase (IKK), quinase capaz de fosforilar a I $\kappa$ B $\alpha$  que é considerada como principal inibidor da ativação de NF- $\kappa$  $\beta$ , sugerindo que possa desempenhar um papel importante na inibição da ativação de NF- $\kappa$  $\beta$  e em vias de proteínas quinase (J. Li, C. Guo & J. Wu, 2019) (K. Chen, J. Li, J. Wang *et al.*, 2014).

Os PPARs (do inglês *Peroxisome Proliferator-Activated Receptors*) são um subgrupo da família dos receptores nucleares, com maior atividade nas células cerebrais e imunológicas. De fato, a literatura os descreve como reguladores importantes da fisiologia cerebral, com funções na regulação dos processos inflamatórios e na expressão de genes relacionados ao metabolismo lipídico e glicêmico, incluindo a diferenciação celular. Pelos dados disponíveis, acredita-se que a combinação dos subtipos gama de PPAR (PPAR $\gamma$ ) e seus ligantes, a exemplo da 15d-PGJ2 (**31**), podem ser considerados alvos terapêuticos para o tratamento da maioria das doenças neuroinflamatórias (C. Vidal, A. Gómez-Hernández, E. Sánchez-Galán *et al.*, 2007) (H. Wang, W. Kan, T. Cheng *et al.*, 2014) (J. Scher & M. Pillinger, 2005).

Figura 14 - Estruturas químicas da licofelona (**30**) e da 15d-PGJ2 (**31**), formada pela  $\beta$ -eliminação seguida de desidratação da PGD2.



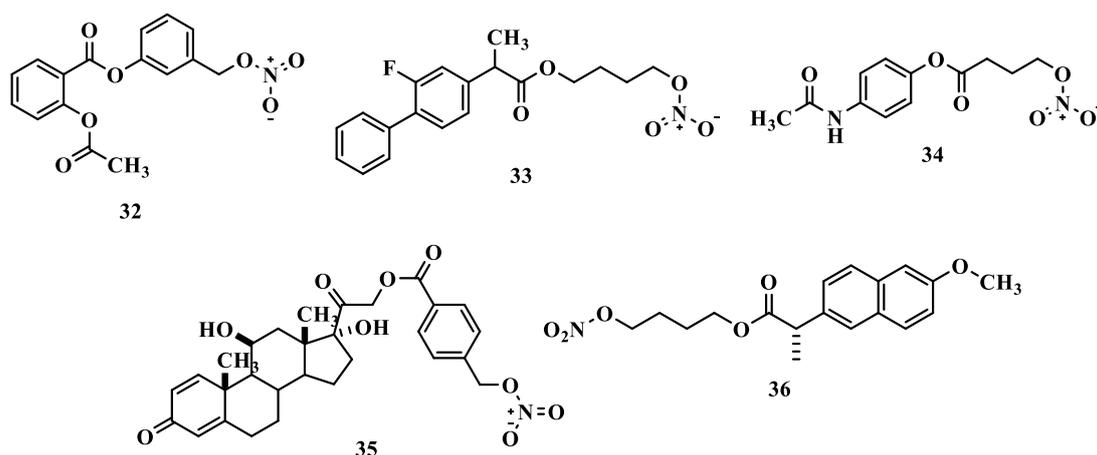
Fonte: Do autor

Uma busca na literatura científica no período dos últimos 10 anos, revelou numerosos trabalhos envolvendo o planejamento e descoberta de novos candidatos a AINEs sintéticos, porém evidenciou que a maioria destes trabalhos ainda está centrada em inibidores seletivos de alvos clássicos como COX-1, COX-2, 5-LOX, além de inibidores de citocinas e quimiocinas como interleucinas e TNF- $\alpha$ . De fato, estas enzimas e substâncias desempenham papel de destaque numa grande diversidade de eventos inflamatórios patológicos, incluindo doenças neurodegenerativas, câncer, diabetes, arteriosclerose, infecções microbianas e parasitárias, mas poucos trabalhos ainda exploram novos alvos ou perfis de ação multialvo inovadores, a exemplo de inibidores de proteínas quinase, ligantes do sistema endocanabinoide e de receptores opioides, moduladores de estresse oxidativo e produção de espécies radicalares de nitrogênio (ERNs) e oxigênio, modulação da resposta de micróglia e astrócitos no SNC, dentre outros (A. Vallée, Y. Lecarpentier, R. Guillevin, & J. N. Vallée, 2017) (E. Abdollahi, A. Momtazi, T. Johnston, & A. Sahebkar, 2018) (F. Iannotti, V. Di Marzo, & S. Petrosino, 2016) (S. Pisanti, A. Malfitano, E. Ciaglia *et al.*, 2017) (J. Paloczi, Z. Varga, G. Hasko, & P. Pacher, 2018).

No contexto da constante busca por novos anti-inflamatórios mais seguros e eficazes, foram desenvolvidos novos ligantes sem os inconvenientes de intolerância e toxicidade gástrica característicos dos AINEs. Estes novos candidatos a fármacos foram racionalmente planejados pela combinação de uma subunidade estrutural capaz de liberar óxido nítrico (NO) às subestruturas clássicas de AINEs não-seletivos. Esta nova classe de ligantes com perfil anti-inflamatório é conhecida como NO-AINEs, em reconhecimento ao NO como um dos agentes mais importantes na mediação do fluxo, neurotransmissão, reações imunes e na contração muscular. A importância do NO foi reconhecida pelo prêmio Nobel em Fisiologia e Medicina de 1998, concedido a Robert F. Furchgott, Louis J. Ignarro e Ferid Murad por seus estudos sobre o papel do NO na fisiologia do sistema cardiovascular, no controle da resistência periférica vascular, também na inibição da agregação plaquetária impedindo a formação de trombos e, conseqüentemente, prevenindo os processos de trombozes e doenças aterotrombóticas (R. Furchgott, L. Ignarro, & F. Murad, 1998). Mais tarde, na década de 2000, os AINEs liberadores de NO sanguíneo passaram a receber especial atenção, batizados como doadores de óxido nítrico inibidores de COX (CINODs, do inglês *COX-inhibiting nitric oxide donators*), cuja importância terapêutica foi proposta pela primeira vez por Wallace e cols. em 1994 (J. Wallace, C. Brian, C. Cicala *et al.*, 1994) (J. Wallace & G. Cirino, 1994) (J. Hoogstraate, L. Andersson, O. Berge *et al.*, 2003).

Dentre os representantes desta classe estão derivados de analgésicos e anti-inflamatórios clássicos como o NO-ácido acetilsalicílico (**32**), NO-paracetamol (**33**), NO-flurbiprofeno (**34**), NO-prednisolona (**35**, Figura 15) (F. Stefano & E. Distrutti, 2007), além de outros de estrutura inédita como o naproxinode (**36**, Figura 15) que foi desenvolvido para fornecer eficácia semelhante aos AINEs não seletivos e seletivos, ao mesmo tempo em que fornece um perfil de segurança aprimorado com base na liberação de NO, que é conhecido por ter efeitos favoráveis no sistema cardiovascular (CV) e efeitos gastrointestinais protetores (J. Wallace & G. Cirino, 1994) (M. Muscara & J. Wallace, 2008) (Schnitzer *et al.*, 2010) (W. White, T. Schnitzer, G. Bakris *et al.*, 2011).

Figura 15 - Estruturas de AINEs doadores de NO, representados pelo NO-ácido acetilsalicílico (**32**), NO-paracetamol (**33**), NO-flurbiprofeno (**34**), NO-prednisolona (**35**) e naproxinode (**36**).

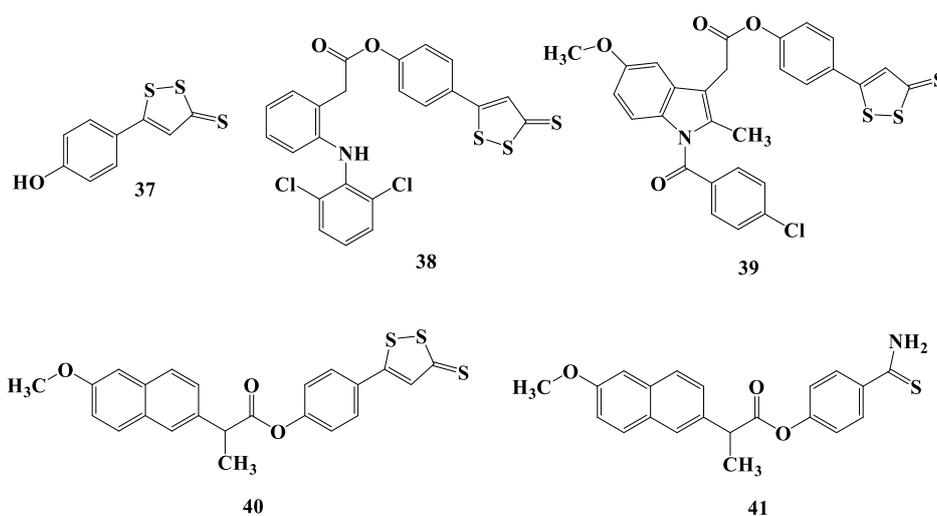


**Fonte:** Do autor

Além disso, também foi descoberta uma nova geração de AINEs híbridos capazes de atuarem como liberadores de sulfeto de hidrogênio ( $H_2S$ ), com efeito citoprotetor tendo a capacidade de proteger os tecidos após tratamento com fármacos antitumorais, incluindo a diminuição das reações adversas, além de efeitos anti-inflamatórios pela inibição da aderência de leucócitos ao endotélio vascular e a migração de leucócitos ao sítio da inflamação (J. Wallace, 2010) (S. Fiorucci & L. Santucci, 2011). Um exemplo desta nova classe é o 5-(4-hidróxifenil)-1,2-ditiol-3-tiona (ADT-OH, **37**, Figura 16), cujos estudos de mecanismo de ação revelaram ser capaz de liberar  $H_2S$  enzimaticamente em fluidos biológicos, e que este efeito sobre a mucosa gástrica poderia representar um mecanismo adicional, além da supressão da atividade da COX. Estudos de relação estrutura-atividade e de otimização farmacodinâmica, além da busca por novos protótipos

liberadores de H<sub>2</sub>S, levou os pesquisadores da empresa Antibe Therapeutics à utilização da subunidade farmacofórica ditioneona de **37** para o desenvolvimento de novos compostos híbridos do diclofenaco (ATB-337, **38**), da indometacina (ATB-343, **39**) e do naproxeno (ATB-345, **40**, Figura 16) (S. Fiorucci & L. Santucci, 2011), sendo que alguns destes encontram-se, ainda, em fase clínica de avaliação (J. Rogers, L. Kirby, S. Hempelman, *et al.*, 1993). Estudos em modelos animais demonstraram que a administração oral de (ATB-337, **38**) não produziu erupções hemorrágicas em ratos, mas aumentou significativamente os níveis séricos de H<sub>2</sub>S (>40%). Além disso, no modelo de inflamação de bolsão de ar, na dose de 1 µmol/Kg, **38** foi capaz de suprimir a atividade da COX-2 e da biossíntese de tromboxano (J. Wallace, G. Caliendo, V. Santagada *et al.*, 2007). Estudos clínicos de fase 2 com ATB-346 (**41**, Figura 16) evidenciaram de forma inequívoca seu efeito supressor da COX, com redução expressiva dos efeitos tóxicos sobre o trato gastrointestinal, quando comparado com o naproxeno (J. Wallace, P. Nagy, T. Feener *et al.*, 2020). No interesse de desenvolver fármacos que bloqueassem as ações pró-inflamatórias dos leucotrienos cisteínicos, 2 novas classes de fármacos foram descobertas: os inibidores da 5-LOX e os antagonistas de leucotrienos (ARLTs). Os ARLT têm demonstrado efeitos opostos aos dos LT, evitando que esses mediadores provoquem reações inflamatórias nas vias aéreas. Desta forma, os ARLTs são capazes de melhorar a obstrução das vias aéreas periféricas e de diminuir a migração de eosinófilos aos pulmões (W. Borges, 2000).

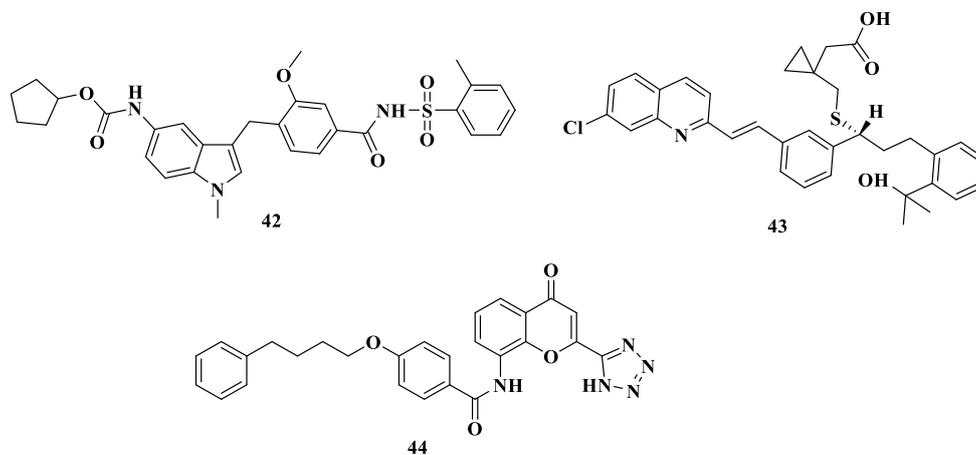
Figura 16 - Estruturas dos novos AINEs liberadores de H<sub>2</sub>S, representados pelo ADT-OH (**37**) e seus sucessores híbridos ATB-337 (**38**), ATB-343 (**39**), ATB-345 (**40**) E atb-346 (**41**).



Fonte: Do autor

Visando nova alternativa terapêutica à asma brônquica, recentemente foram lançados no mercado o zafirlukast (**42**, Accolate), montelukast (**43**, Singulair) e pranlukast (**44**, Figura 17, Ultair), exemplos de ARLTs de última geração que exercem seus efeitos por ação antagonista seletiva dos receptores de leucotrienos cisteínicos (L. Moreira Lima, C. Manssour Fraga & E. Barreiro, 2002) (W. Borges, 2000).

Figura 17 - Estruturas químicas do zafirlukast (**42**), montelukast (**43**) e pranlukast (**44**), exemplos recentes de ARLTs para uso clínico contra a asma brônquica.



**Fonte:** Do autor

## 2.4 ASPECTOS CONCEITUAIS E FISIOPATOLÓGICOS DA DOR

A dor considerada como um dos 4 sinais cardinais da inflamação de acordo com o médico Aulus Cornelius Celsus, é definida como uma experiência sensorial desagradável que, relacionando aos danos e/ou lesões nos tecidos, com função protetora dos tecidos. Porém se a sensação for repetida consecutivamente trás doenças crônicas, pode afetar psicologicamente e fisicamente a saúde corporal, tornando-se um estado crônico em que afeta tanto a vida pessoal quanto a vida social (P. Baral, S. Udit, & I. M. Chiu, 2019).

A dor pode ser dividida em 4 tipos: dor nociceptiva, é o tipo de dor relacionado aos danos nos tecidos que, resultando de doenças inflamatórias, como artrite ou entesite, portanto é considerada como a principal característica da inflamação. Em seguida a dor neuropática que está relacionado a danos ao sistema neurológico do corpo, que pode ocorrer após lesão nervosa, amputação, câncer e quimioterapia, etc. Logo, a dor nociplástica, que é identificada quando a dor se

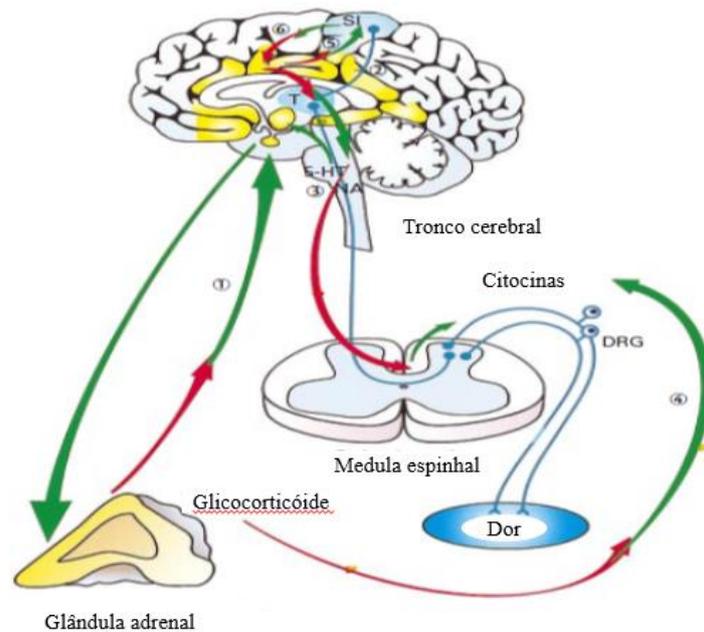
liga aos distúrbios nos sistemas reguladores da dor, representa um perfil característico da fibromialgia. Por último a dor psicogênica que é incomum e associada apenas com transtornos psicológicos (J. Lampa, 2019) (M. Aydede & A. Shriver, 2018).

A sensação de dor pode ser percebida por muitas células não neuronais, como células imunes, gliais, epiteliais, mesenquimais, também pode ser causado quando a maioria dos mediadores inflamatórios, como histamina e serotonina, citocinas, óxido nítrico e fator de ativação plaquetária, se ligam a seus receptores nos neurônios sensoriais nociceptivos primários no sistema nervoso periférico (SNP) (nociceptores). Eles inflamam os tecidos lesionados da pele, músculos e articulações (R. Ji, A. Chamessian, & Y. Zhang, 2016). Conseqüentemente, o processo doloroso (Figura 18) pode ser causado por um estímulo térmico, químico ou mecânico, causando ou não lesão tecidual; uma vez recebido esse estímulo, os nociceptores (e outros receptores sensoriais) transmitem informações periféricas para a área cortical dos dois grandes sistemas de fibras ascendentes: o sistema anterolateral responsável pela transmissão nociceptiva para a região do tronco e dos membros e o sistema trigeminal que está associado à sensação de dor na região da face. Ambos os sistemas ascendentes ativam o sistema inibidor da dor descendente, enviando informações para que o estímulo doloroso seja interrompido (G. Blackburn-Munro & R. Blackburn-Munro, 2001).

Basicamente, o processo de transmissão da dor pode ser dividido em 5 etapas: transdução, condução, transmissão, modulação e percepção. Transdução é a transformação de um estímulo prejudicial, mecânico, térmico ou químico, gerando um sinal elétrico nas terminações sensoriais. Condução é o processo pelo qual o potencial de ação viaja através dos axônios dos nociceptores para alcançar a medula espinhal. Quando o potencial de ação atinge o terminal do nociceptor, promove a abertura do canal de cálcio, permitindo e liberando o influxo de  $Ca^{2+}$  e o estímulo é ativado, transformado em potencial de ação e transmitido ao corno dorsal da medula espinhal, onde ocorrem sinapses com neurônios de segunda ordem (C. Pasero, 2004). Após esta sinapse com os neurônios de segunda ordem, as fibras aferentes de segunda ordem seguem o trato espinotalâmico e ascendem ao tálamo, onde o estímulo nocivo é transmitido, e as informações são transportadas para o córtex somatossensorial, onde esse estímulo será interpretado como doloroso, sendo este o caminho ascendente da dor. Já a modulação é o processo pelo qual a transmissão é facilitada ou inibida, bloqueio dos receptores de substâncias neurotransmissoras, inibição da liberação desses neurotransmissores ou impedimento ao processo de transmissão nociceptiva. Finalmente, a

percepção ocorre quando o sinal elétrico é reconhecido no cérebro e depois é percebido como dor (C. Whitten, M. Donovan, & K. Cristobal, 2005).

Figura 18 - Esquema da via nociceptiva envolvendo os sistemas nervoso central e periférico.

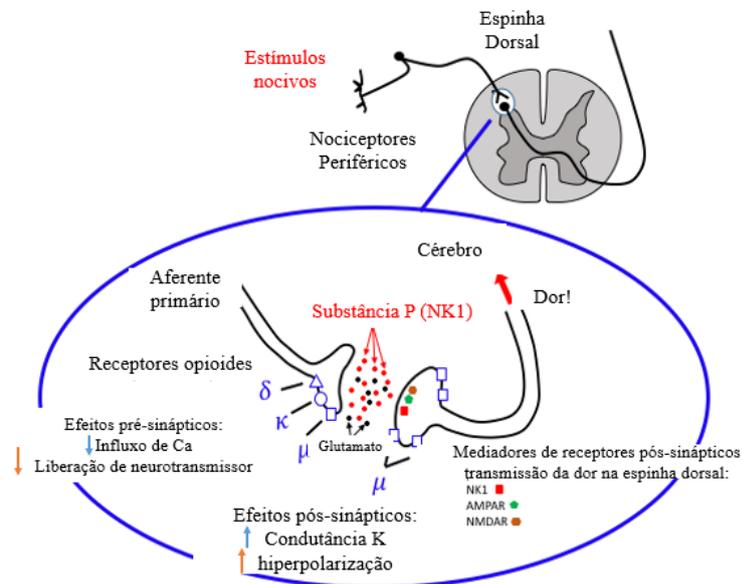


**Fonte:** Adaptado da ref. G. Blackburn-Munro & R. Blackburn-Munro, 2001

Os receptores delta ( $\delta$ ) são responsáveis pela analgesia, mas também podem modular as funções de dependência cognitiva e física, estando localizados nas amígdalas, nos neurônios sensoriais periféricos, bulbo olfativo e córtex cerebral profundo. Quanto aos receptores Kapa ( $\kappa$ ), eles têm funções de nocicepção, controle da diurese, termorregulação e secreção neuroendócrina, estando localizados no hipotálamo, substância cinzenta periâmbrica, substância gelatinosa na medula espinhal e neurônios sensoriais periféricos. Os receptores Mu ( $\mu$ ) regulam funções como nocicepção, ciclo respiratório e trânsito intestinal, estando localizados nas lâminas III e V do córtex cerebral, no tálamo, substância cinzenta periâmbrica, substância gelatinosa e trato gastrointestinal (Figura 19) (H. Pathan & J. Williams, 2012).

A dor é considerada um problema global que está aumentando a cada vez, até 30% dos adultos sofrem de dor crônica, com esse crescimento na porcentagem de pessoas com dor, o tratamento adequado ainda não foi alcançado. De fato, existem alguns fármacos usados no tratamento da dor, incluindo os anti-inflamatórios não-esteroidais, antidepressivos, anticonvulsivantes e anestésicos (C. Whitten, W. Donovan, K. Cristobal *et al.*, 2005).

Figura 19 - Esquema dos receptores  $\mu$ ,  $\kappa$  e  $\delta$  presentes no SNC e na medula espinhal.



Fonte: adaptado da ref. (C. Borghese, J. Hicks, D. Lapid et al., 2014)

## 2.5 A CURCUMINA E SUA IMPORTÂNCIA FARMACOLÓGICA

Navegadores europeus mencionaram pela primeira vez a utilização e importância comercial da cúrcuma em suas viagens de 1280 à China e Índia. Nesta mesma época a cúrcuma foi introduzida por comerciantes árabes na Europa, onde era conhecida por "açafão-da-Índia". No entanto, a Índia é considerada o principal exportador de cúrcuma devido ao seu uso tradicional como agente anti-inflamatório no tratamento de disfunções gastrointestinais, cólicas, dores de forma geral e dificuldades menstruais na Índia e na China. Além disso, é descrito para o tratamento auxiliar em pacientes com problemas estomacais e hepáticos, além de herpes, cicatrizante e como cosmético (B. Aggarwal, C. Sundaram, N. Malani, & H. Ichikawa, 2007). A cor amarela da cúrcuma é devida a propriedades fotoquímicas da curcumina (**1**), que constitui cerca de 2 a 5% da cúrcuma. A curcumina tem a capacidade de inibir a atividade de NF  $\kappa$ B e COX-2 (K. Mortezaee, E. Salehi, H. Mirtavoos-mahyari *et al.*, 2019). Também tem efeito no alívio das vias aéreas, pois está relacionado à prevenção do desenvolvimento de células BEAS-2B e à ativação da expressão de NF- $\kappa$ B e COX-2 (J. Yuan, R. Liu, Y. Ma, Zhang *et al.*, 2018). Na medicina tradicional, o açafão tinha várias propriedades terapêuticas em numerosas doenças da pele, pulmão e gastrointestinais, além de dores,

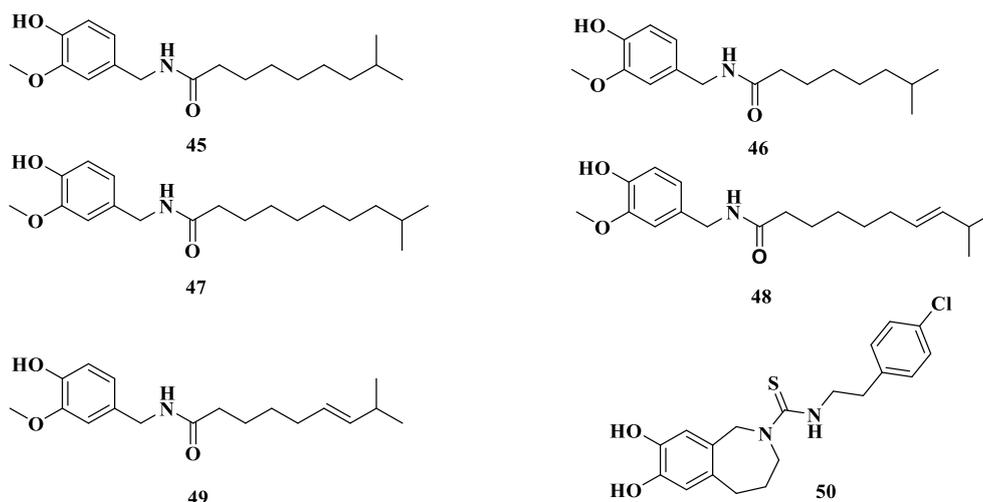
feridas, entorses e distúrbios hepáticos. No entanto, nos últimos 50 anos, vários estudos apontam que estas propriedades são devidas, pelo menos em parte, à curcumina, graças às suas capacidades antioxidantes, anti-inflamatórias, antivirais, antibacterianas, antifúngicas e anticâncer. Além disso, a curcumina tem sido descrita para o tratamento de várias doenças, incluindo o diabetes, alergias, artrite, DA e outras doenças crônicas (M. Sampath, R. Lakra, P. Korrapati, & B. Sengottuvelan, 2014).

## 2.6 CAPSAICINA: ASPECTOS BIOLÓGICOS E FARMACOLÓGICOS

A história da capsaicina (**2**, Figura 1) começou em 1876, quando foi isolada pela primeira vez, tendo sua estrutura descrita em 1919 e a primeira síntese em 1930 (E. Späth & S. Darling, 1930). A capsaicina é um composto encontrado nos frutos de plantas pertencentes ao gênero *Capsicum*, que é o principal composto encontrado nas pimentas, com a principal função de dar à fruta um sabor picante e ácido. Existe também uma família de compostos químicos chamados capsaicinoides encontrados em plantas deste mesmo gênero, estruturalmente relacionados à capsaicina e com atividades farmacológicas semelhantes, como: a diidrocapsaicina (**45**), nordidrocapsaicina (**46**), homodidrocapsaicina (**47**) e homocapsaicina (**48**, Figura 20), sendo a capsaicina a mais abundante, ocorrendo em cerca de 80% do conteúdo capsaicinoide das pimentas (N. Zahra, I. Kalim, S. Hina *et al.*, 2016). A capsaicina possui derivados agonistas e antagonistas com a capacidade de desenvolver os efeitos terapêuticos da capsaicina. No entanto, o interesse na manipulação farmacológica da capsaicina surgiu em 1997, quando a base molecular dos receptores TRPV1 foi reconhecida por Julius e seus colegas, que codificaram o receptor de capsaicina. Através de vários ativadores químicos exógenos e ativadores endógenos, o TRPV1 foi identificado como receptor permanente de  $\text{Ca}^{2+}$ , podendo ser ativado por alterações na tensão da membrana (+60 mV) e em temperaturas fisiologicamente nocivas, com limiares próximos a 43°C. Portanto, este receptor possui ação de detecção de calor em neurônios sensoriais periféricos com valor de Q10, de onde pode desempenhar um papel crítico no nociceptor e na sensação térmica inflamatória. A zucapsaicina (**49** Figura 20) é outro análogo da capsaicina, visto que o isômero *cis* da capsaicina possui capacidade potente contra a profilaxia episódica da enxaqueca, cefaleia episódica e alivia a dor neuropática, também a capsazepina (**50**, Figura 20) (CAPZ) é identificada como o primeiro antagonista com capacidade ao bloquear a ativação do TRPV1 deslocando o RTX de seu local de ligação, ele também tem a capacidade de inibir os canais nicotínicos e nicotínicos  $\text{Ca}^{2+}$ . Ao contrário do TRPV1, a capsazepina (CAPZ) ainda não foi formalmente avaliada por suas

capacidades terapêuticas, no entanto, eles ainda estão investigando porque mostraram atividade antihiperálgica e anti-inflamatória em modelos animais de dor inflamatória e neuropática (S. Basith, M. Cui, S. Hong *et al.*, 2016).

Figura 20 - Estruturas da diidrocapsaicina (45), nordihydrocapsaicina (46), homodihydrocapsaicina (47) e homocapsaicin (48), zucapsaicina (49), capsazepina (50).



**Fonte:** Do autor

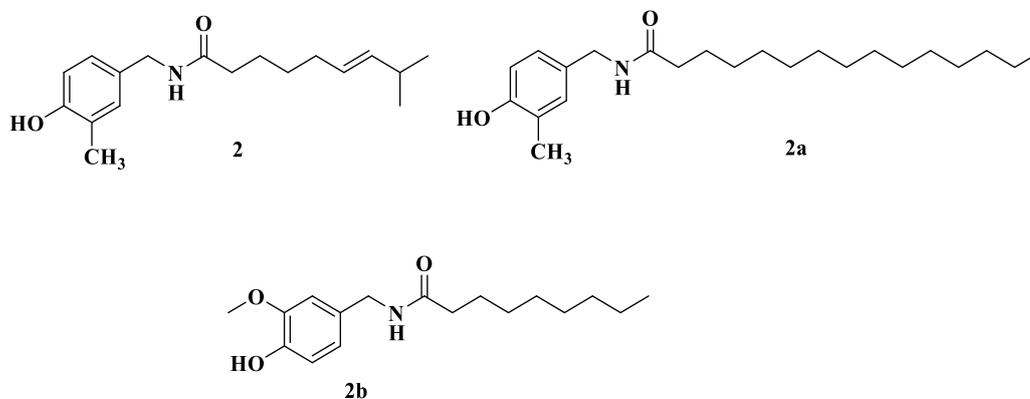
Neste contexto, produtos naturais como a curcumina e a capsaicina vêm sendo estudados como protótipos ou precursores de novos candidatos a fármacos analgésicos e anti-inflamatórios com melhor perfil terapêutico e com vantagens inovadoras frente aos fármacos disponíveis. Em uma investigação recente, a curcumina foi administrada em um veículo de nanopartículas, em modelo animal com ratos com doença periodontal experimental, essa administração foi testada em dois grupos diferentes de ratos. De acordo com a estimulação da doença periodontal experimental nos tecidos gengivais por quatro semanas com a mesma quantidade de açúcar por meio de injeções bilaterais de lipopolissacarídeo (LPS), em relação à tomografia computadorizada, o  $\mu$ CT aprovou que a administração local de curcumina pode inibir reabsorção óssea completamente inflamatória e diminuição da contagem de osteoclastos e infiltrado inflamatório. Por meio desse teste, foi possível deduzir que a curcumina possui propriedades biológicas, incluindo medicamentos anti-inflamatórios com capacidade de destruir o tecido conjuntivo relacionado à doença periodontal (L. Zambrano, D. Brandao, F. Rocha *et al.*, 2018). Em outro trabalho, foi realizada uma investigação com o objetivo de avaliar as capacidades terapêuticas

da curcumina na inflamação do trato respiratório em modelos murinos (camundongos) induzida por LPS e fumaça de cigarro (LC). Os animais foram expostos à fumaça do cigarro por 35 dias, sendo que após 10 dias do tratamento com curcumina, a inflamação e o remodelamento das vias aéreas foi significativamente atenuada de acordo com o exame histopatológico do pulmão. Além disso, foi observado que a curcumina foi capaz de inibir a proliferação de células BEAS-2B, sugerindo o efeito preventivo da curcumina na remodelagem progressiva das vias aéreas e na resposta inflamatória mediada pelas células epiteliais brônquicas (J. Yuan, R. Liu, Y. Ma *et al.*, 2018).

Em outras pesquisas clínicas e experimentais sobre capsaicina, usada na forma de creme e em soluções, foram testadas as capacidades terapêuticas da capsaicina em aliviar os sinais e sintomas de doenças crônicas associadas à dor crônica. A aplicação tópica de capsaicina foi encontrada para aliviar a dor da artrite na neuralgia pós-operatória, neuropatia diabética e psoríase. Além disso, a capsaicina possui muitas propriedades como: antioxidantes e anti-inflamatórios, possui também capacidade terapêutica na prevenção e tratamento de úlceras gástricas, no sistema gastrointestinal pode estimular a digestão e modular a ultraestrutura intestinal para melhorar a permeabilidade dos micronutrientes (Fernandes *et al.*, 2016). Em outra abordagem, a capsaicina e seu análogo *N*-palmitoil-vanilamida (Palvani, **2a**, Figura 21), encontrada minoritariamente em espécies de *Capsicum*, e conhecida como um capsaicinoide não-picante, foram investigadas quanto aos seus perfis farmacológicos em modelos animais de dor neuropática e inflamação. O teste foi realizado em camundongos que receberam a mesma quantidade de palvanil (**2a**) e capsaicina (**2**) (1 mg/kg), demonstrando que o palvanil (**2a**) teve o mesmo efeito analgésico da capsaicina. No entanto, o palvanil (**2a**) teve um efeito hipotérmico mais leve e de menor duração do que em grupos de animais tratados com capsaicina (L. Luongo, B. Costa, B. D'Agostino *et al.*, 2012).

Ademais, em outros estudos, foram confirmadas as propriedades anti-inflamatórias de outro análogo da capsaicina denominado nonivamida (**2b**, Figura 21). Esse ensaio foi realizado em células mononucleares do sangue periférico (PBMCs) saudáveis voluntários e macrófagos U-937, onde a inflamação foi induzida com 1 µg/mL de LPS de *Escherichia coli* (EC-LPS) e foi usado a dexametasona como o grupo controle antiinflamatório. Como resultado, foi comprovado o potencial antiinflamatório da nonivamida semelhante à capsaicina em PBMCs, e na inibição da ativação induzida por EC-LPS da via MAPK em macrófagos U-937, ademais, foi comprovado o envolvimento dos canais do TRPV1 na atividade antiinflamatória da capsaicina e da nonivamida (J. Walker, J. Ley, J. Schwerzler *et al.*, 2016).

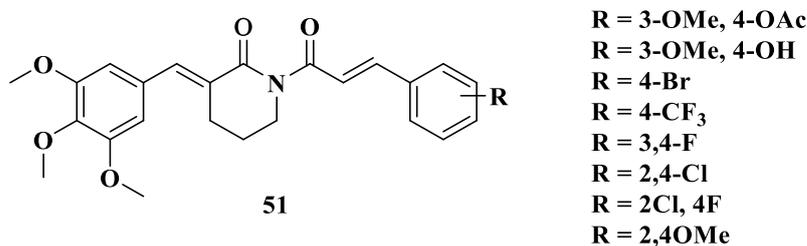
Figura 21 - Estruturas químicas da capsaicina (**2**, Figura 1) e de seus análogos Palvanil (**2a**) e nonivamida (**2b**).



Fonte: Do autor

Em outro estudo, Qian e colaboradores avaliaram uma série de análogos dicarbonílicos da curcumina (**51**, Figura 22) quanto a seus efeitos anti-inflamatórios. Os resultados indicaram que a maioria dos análogos da curcumina foram capazes de inibir de forma efetiva a produção de TNF- $\alpha$  e IL-6 induzida por lipopolissacarídeo (LPS). Além disso foram identificados análogos com maior potência anti-inflamatória, maior estabilidade e biodisponibilidade oral do que a curcumina (J. Qian, X. Chen, S. Shu *et al.*, 2019).

Figura 22 - Estruturas químicas dos análogos dicarbonílicos da curcumina (**51**, Figura 22).



Fonte: Do autor

Dados da literatura confirmaram a maior capacidade terapêutica das moléculas de curcumina e capsaicina combinadas do que o tratamento individual de cada molécula. Esse experimento foi realizado na expressão do gene inflamatório (COX-2, IL-6 e TGF- $\beta$ ) induzida por LPS

(lipopolissacarídeo) em células mononucleares do sangue periférico (PBMCs), favorecendo a formação de nitrito. Fizeram um ensaio de análise de RT-PCR (do inglês *Reverse Transcription-Polymerase Chain Reaction*) e métodos de docking *in silico*, no qual foi comprovado uma redução dos níveis de nitrito, e da expressão de COX-2, IL-6 e TGF- $\beta$  em PBMCs induzidas por LPS dos animais que foram tratados com as moléculas individual da curcumina e a capsaicina, do outro lado os animais tratados pela combinação das 2 moléculas demonstraram uma regulação negativa sinérgica na redução da expressão de COX-2, IL-6 e TGF- $\beta$  evidenciando uma maior energia de ligação, confirmando maiores benefícios de moléculas combinadas do que moléculas individuais (T. Vasanthkumar, M. Hanumanthappa e R. Lakshminarayana, 2019).

Em outros estudos, foram investigadas as propriedades da capsaicina e curcumina quanto à seus efeitos em combinação no estado oxidante-antioxidante testicular. Este ensaio foi realizado em um modelo de doença hepática gordurosa induzida por alimentos ricos (dieta rica em gordura) (HFD). Os animais utilizados foram Ratos Sprague-Dawley machos, os quais foram divididos em 5 grupos: O grupo controle que foi alimentado com uma dieta de controle normal (ração de laboratório padrão), o grupo HFD foi alimentado com HFD (60% do total de calorias da gordura), o grupo HFD + CUR foi o grupo que recebeu HFD suplementado com curcumina (1,5 g curcumina / kg HFD), o grupo HFD + CAP foi o seguinte grupo que recebeu HFD suplementado com capsaicina (0,15 g capsaicina / kg HFD), e o grupo HFD + CUR + CAP foi o último grupo que recebeu HFD suplementado com curcumina e capsaicina por 16 semanas. Foram medidas as substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico hepático e testicular (TBARS), espécies reativas de oxigênio (ROS), níveis de glutathione (GSH), atividade da glutathione transferase e Cu-Zn superóxido dismutase, glutathione peroxidase e expressão da proteína catalase e atividades enzimáticas, como resultado preliminar foi observado um ligeiro aumento dos parâmetros de estresse oxidativo hepático e testicular após o consumo de HFD, não identificou nenhuma mudança dos níveis de GSH entre os grupos, em comparação com o grupo HFD, foi comprovado uma redução significativamente dos níveis de TBARS e ROS no grupo HFD + CUR + CAP, também no tratamento da combinação da curcumina e capsaicina foi comprovado sua capacidade de atenuar o estresse oxidativo testicular e hepático, assim sendo capaz de melhorar o sistema de defesa antioxidante, também foi comprovado um aumento significativo da atividade e da expressão das enzimas antioxidantes do fígado e testículo. Como conclusão, foi confirmado as propriedades antioxidantes e anti-inflamatórias do tratamento combinado da curcumina e da capsaicina sendo capazes de regular o dano oxidativo induzido por HFD (S. Tanrıku-Küçük, C. Başaran-Küçükgergin, M. Seyithanoğlu *et al.*, 2019).

### 3 OBJETIVOS

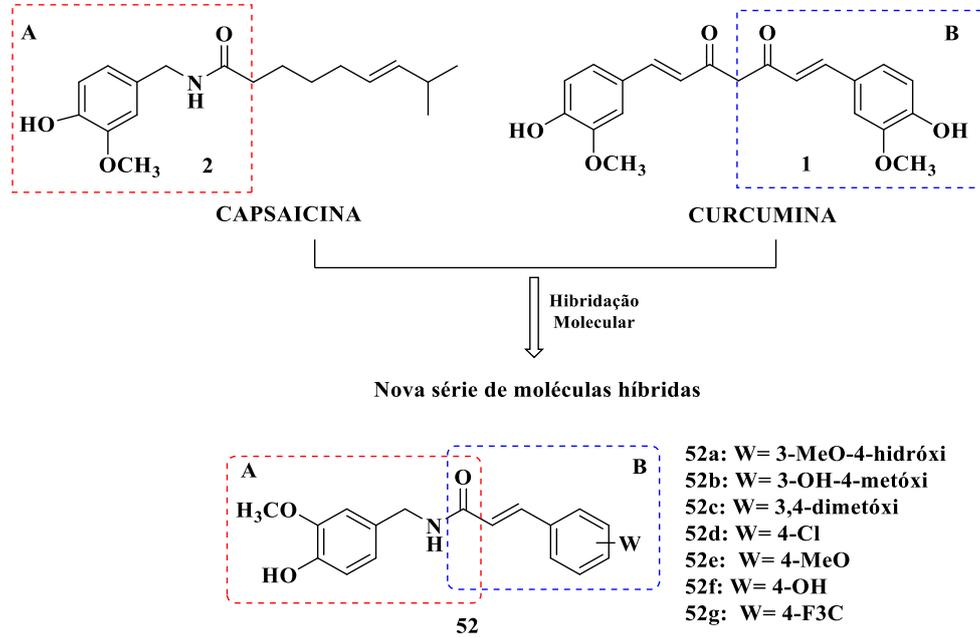
A terapêutica da dor e da inflamação continuam a representar enorme desafio à medicina moderna, assim como às ciências químicas voltadas ao desenvolvimento de novos fármacos mais eficientes e seguros e à fisiologia e biologia molecular no melhor entendimento do processo nociceptivo e inflamatório, seus mediadores, gatilhos e diferentes vias de sinalização. Apesar de várias doenças não apresentarem manifestações dolorosas, a inflamação está presente em inúmeros processos patológicos, muitos sem cura e de difícil controle. Neste contexto, o principal objetivo deste projeto é a identificação de novas substâncias com perfil analgésico e anti-inflamatório, com estruturas químicas inéditas e mecanismos de ação que representem inovação. Para tanto, as estruturas químicas da capsaicina e da curcumina, dois produtos naturais com propriedades analgésicas e anti-inflamatórias, respectivamente, foram eleitos como protótipos na inspiração e planejamento de uma nova série de compostos, desenhados com base na hibridação molecular de subunidades farmacofóricas de ambos protótipos bioativos.

O objetivo geral deste projeto foi a síntese e avaliação farmacológica de novas moléculas inspiradas na capsaicina e curcumina como novos protótipos com propriedades anti-inflamatórias e antinociceptivas. Desta forma, foi planejada uma nova série de híbridos moleculares capsaicina-curcumina (**52**), cujas subestruturas farmacofóricas seriam interligadas por um grupo espaçador amida, contendo diferentes substituintes na subunidade cinamoílica advinda da curcumina (Figura **21**), de modo a fornecer um estudo de relação estrutura-atividade, além de garantir diversidade estrutural.

Dentre os objetivos específicos tem-se:

- a) Síntese da série de híbridos moleculares inspirados em capsaicina e curcumina;
- b) Caracterização da série sintetizada;
- c) Avaliação farmacológica para determinar as propriedades antinociceptivas e anti-inflamatórias *in vivo* e *in vitro*, bem como potência, possíveis mecanismos de ação e toxicidade.

Figura 23 - Planejamento estrutural da nova série de candidatos a protótipos de fármacos analgésicos e anti-inflamatórios (**52**), inspirados nas estruturas de capsaicina (**2**) e curcumina (**1**).

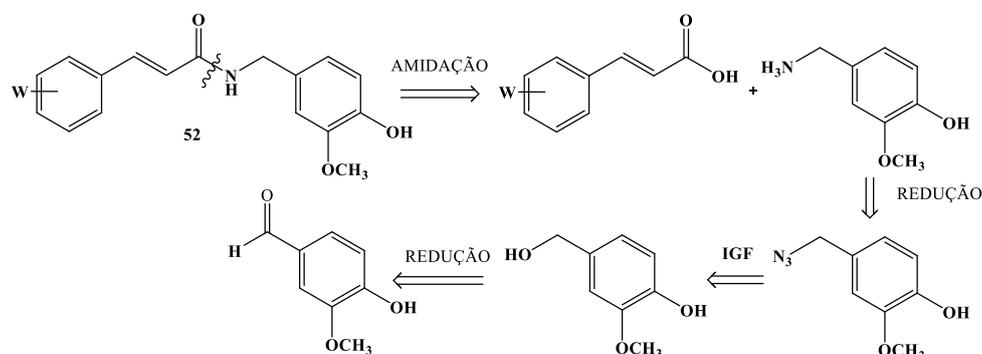


Fonte: Do autor

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A rota sintética para a série-alvo **52** foi delineada conforme a análise retrossintética mostrada na Figura 23. Nesta abordagem, a série-alvo poderia ser obtida por uma reação de amidação envolvendo uma série de ácidos cinâmicos funcionalizados comerciais e uma amina primária, obtida por redução de um intermediário azida. Esta azida intermediária, por sua vez, seria obtida por interconversão de grupos funcionais (IGF) a partir de álcool benzílico obtido pela redução do 4-hidróxi-3-metóxi-benzaldeído comercial, identificado como o material de partida mais adequado.

Figura 24 - Esquema da análise retrossintética para obtenção da série-alvo **52**.

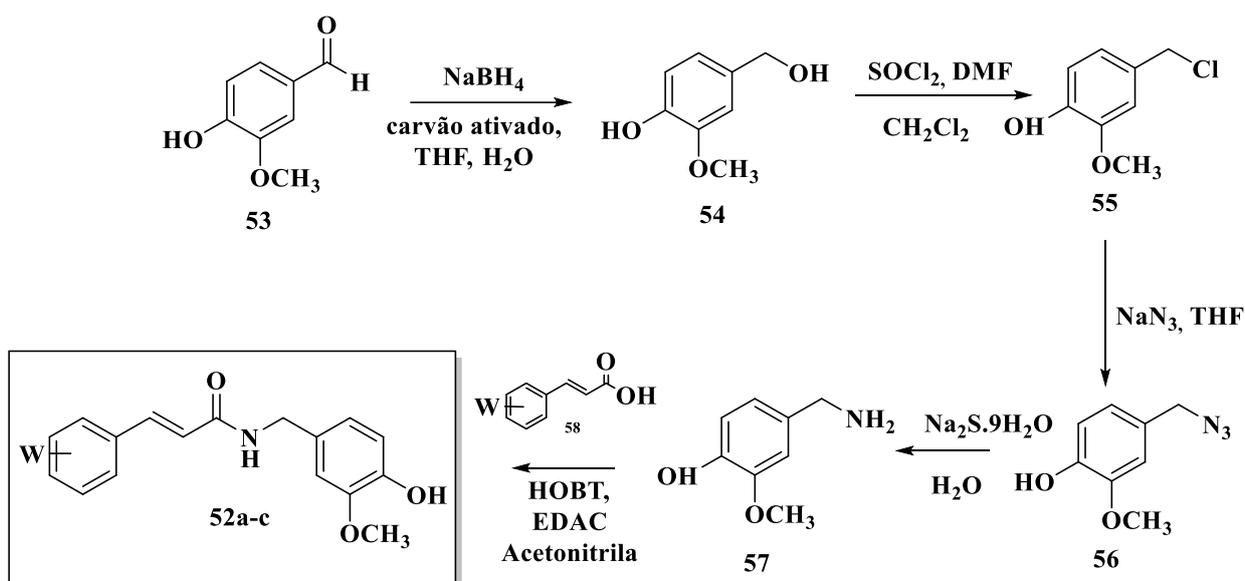


**Fonte:** Do autor

Conforme a análise retrossintética, partiu-se do 4-hidróxi-3-metóxi-benzaldeído (**53**) para obtenção do álcool benzílico correspondente **54** por reação com boroidreto de sódio ( $\text{NaBH}_4$ ), em meio etéreo e na presença de carvão ativado, com rendimento de 66% (D. Setamdideh & B. Zeynizadeh, 2006). Numa segunda etapa, o álcool benzílico **54** foi convertido no respectivo cloreto benzílico **55**, por reação com cloreto de tionila ( $\text{SOCl}_2$ ), sob catálise de *N,N*-dimetilformamida. Num processo sequencial, o cloreto benzílico **55** bruto foi submetido à reação com  $\text{NaN}_3$ , levando à formação da azida benzílica **56** em 76% de rendimento após duas etapas sintéticas (T. Martinu & W. Dailey, 2000). A amina benzílica **57**, intermediário-chave da rota de síntese convergente que levaria às amidas-alvo desejadas, foi então obtida a partir de **56**, via reação de redução do grupamento azida por ação de sulfeto de sódio nona-hidratado  $\text{Na}_2\text{S}\cdot 9\text{H}_2\text{O}$ , em 75% de rendimento, (A. Kale, N. Medishetti, K. Sirisha et al., 2015). Numa etapa final, a amina-chave **57** foi então submetida à reação de acoplamento com uma série de ácidos cinâmicos adequadamente

funcionalizados, na presença de HOBt e EDAC, conforme detalhado na figura 25 (S. Carvalho, L. Feitosa, M. Soares et al., 2012).

Figura 25 - Esquema da rota sintética para a obtenção das moléculas-alvos PQM-310 (**52a**), PQM-311 (**52b**) e PQM-331 (**52c**).

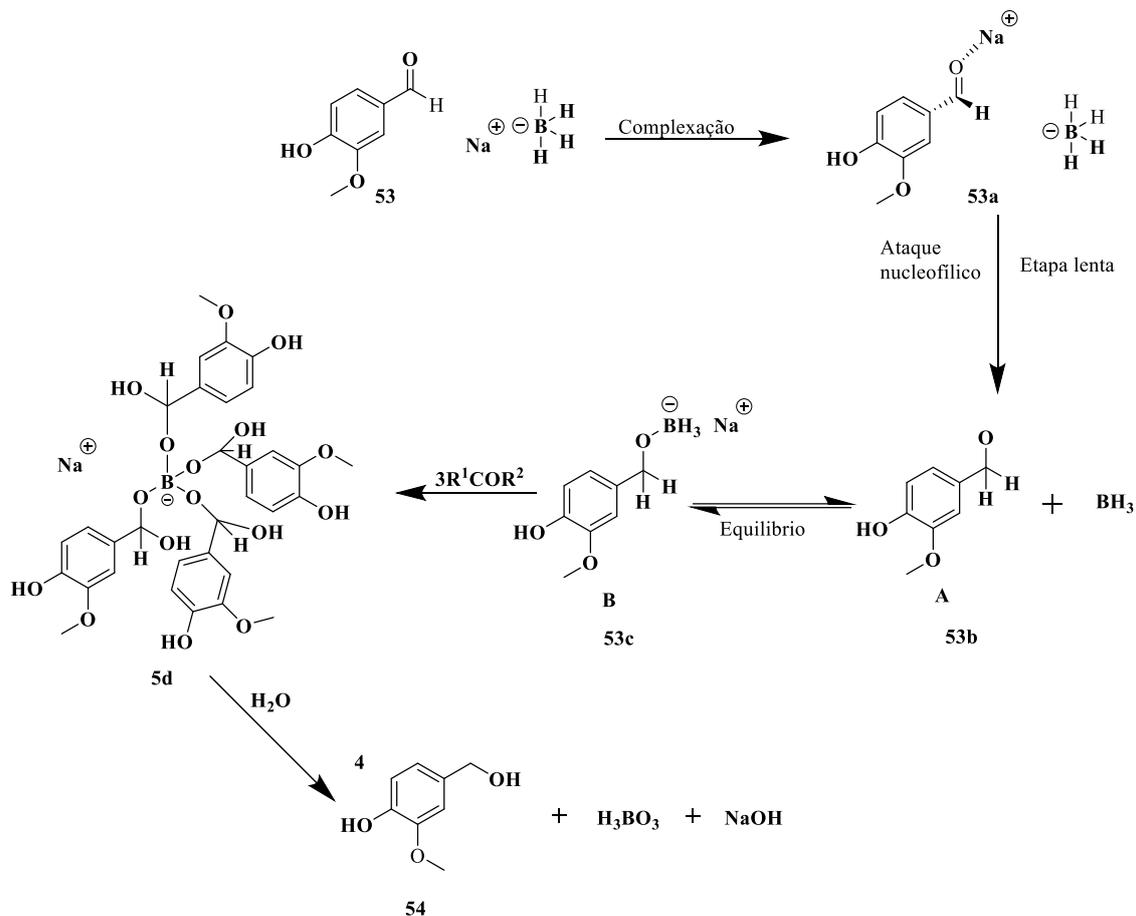


**52a:** W= 3-MeO-4-hidróxi  
**52b:** W= 3-OH-4-metóxi  
**52c:** W= 3,4-dimetóxi  
**52d:** W= 4-Cl  
**52e:** W= 4-MeO  
**52f:** W= 4-OH  
**52g:** W= 4-F3C

**Fonte:** Do autor

A primeira etapa reacional foi a partir do 4-hidróxi-3-metóxi benzaldeído (**53**), o qual é de fonte natural e amplamente usado devido ao seu baixo custo e maior interesse na síntese de química, realizou-se a redução do material de partida **53** com  $\text{NaBH}_4$  para a obtenção do álcool benzílico **54**. Apesar de outros agentes redutores disponíveis e classicamente utilizados na redução de aldeídos aos respectivos álcoois primários, a utilização do  $\text{NaBH}_4$  foi a primeira escolha, diante de seu custo relativamente baixo e da maior facilidade de manipulação, dispensando o uso de atmosfera inerte e condições anidras. O mecanismo desta reação é amplamente conhecido (Figura 25) e envolve a transferência de um hidreto ( $\text{H}^-$ ) para o carbono carbonílico, levando à ruptura da ligação  $\pi$  da  $\text{C}=\text{O}$ , e a formação de um intermediário alcóxido, que se coordena à borana ( $\text{BH}_3$ ). Este aduto alcóxiborana pode ainda reagir com outras moléculas de aldeídos presentes no meio para, ao final, ser clivada por ação de ácido de Lewis liberando o respectivo álcool primário.

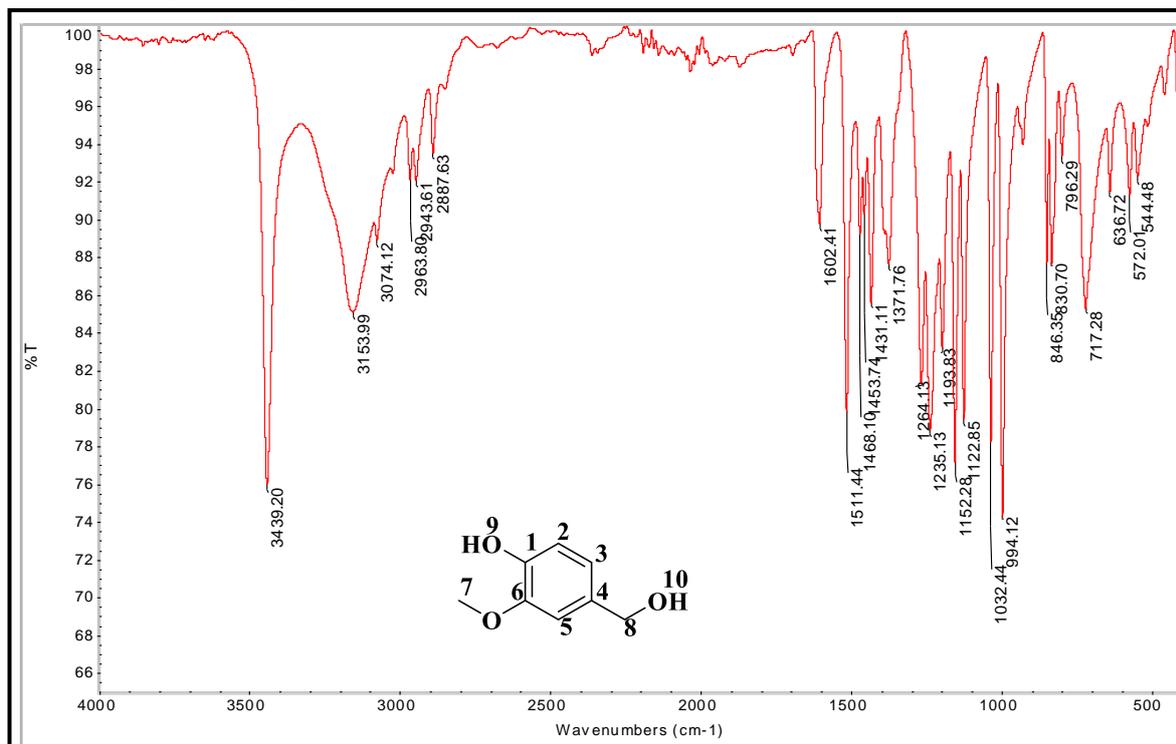
Figura 26 - Proposta mecanística para redução do aldeído **53** ao álcool intermediário **54**.



Fonte: Do autor

Na análise do espectro na região do IV (Figura 27) do intermediário 4-(hidróximetil)-2-metóxfenol (**54**), foram observadas as bandas em  $3439\text{ cm}^{-1}$ , referentes ao estiramento axial do grupo hidroxila,  $3153$  e  $3074\text{ cm}^{-1}$  referentes aos estiramentos axiais simétricos e assimétricos dos grupos metila e metileno,  $2963$ - $2943\text{ cm}^{-1}$  referentes ao estiramento axial de ligação C-H aromático, características da estrutura de **54**. Além destas, foram identificadas 2 bandas em  $1264$  e  $1193\text{ cm}^{-1}$ , referentes à ligação C-O do grupo éter ligado ao anel aromático.

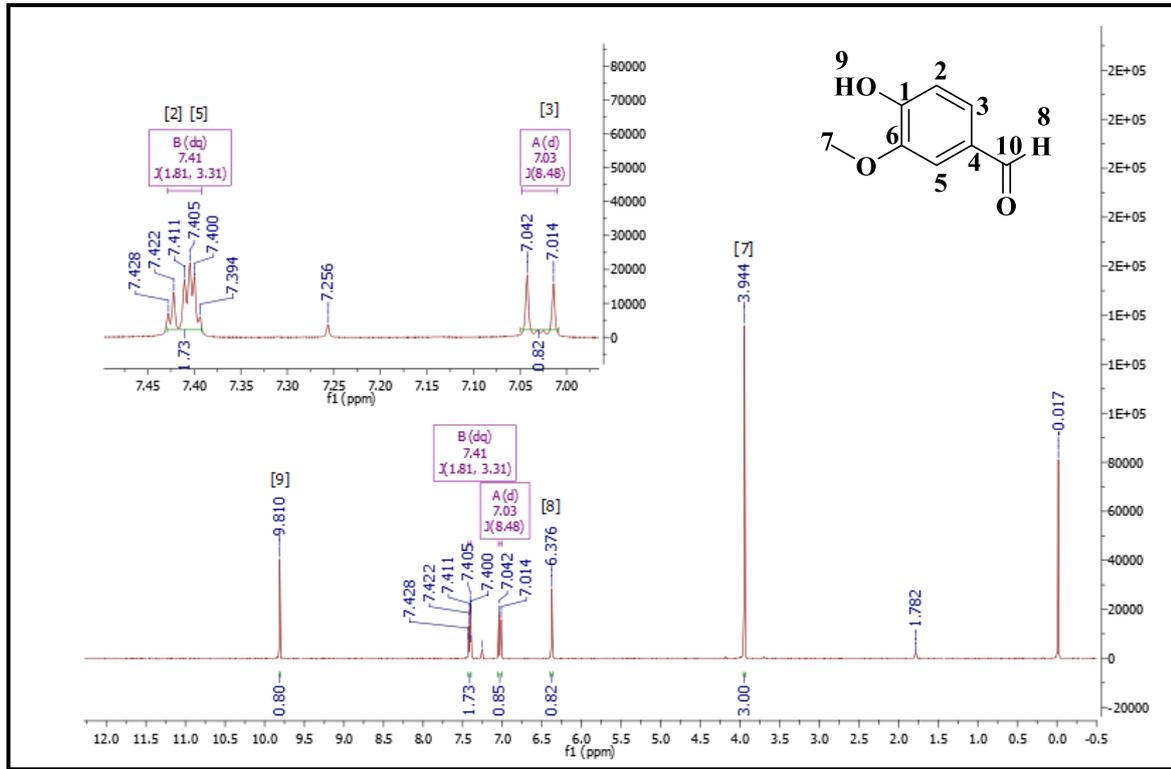
Figura 27 – Espectro de absorção na região do IV do composto 4-(hidroximetil)-2-metóxfenol (**54**, ATR).



Fonte: Do autor

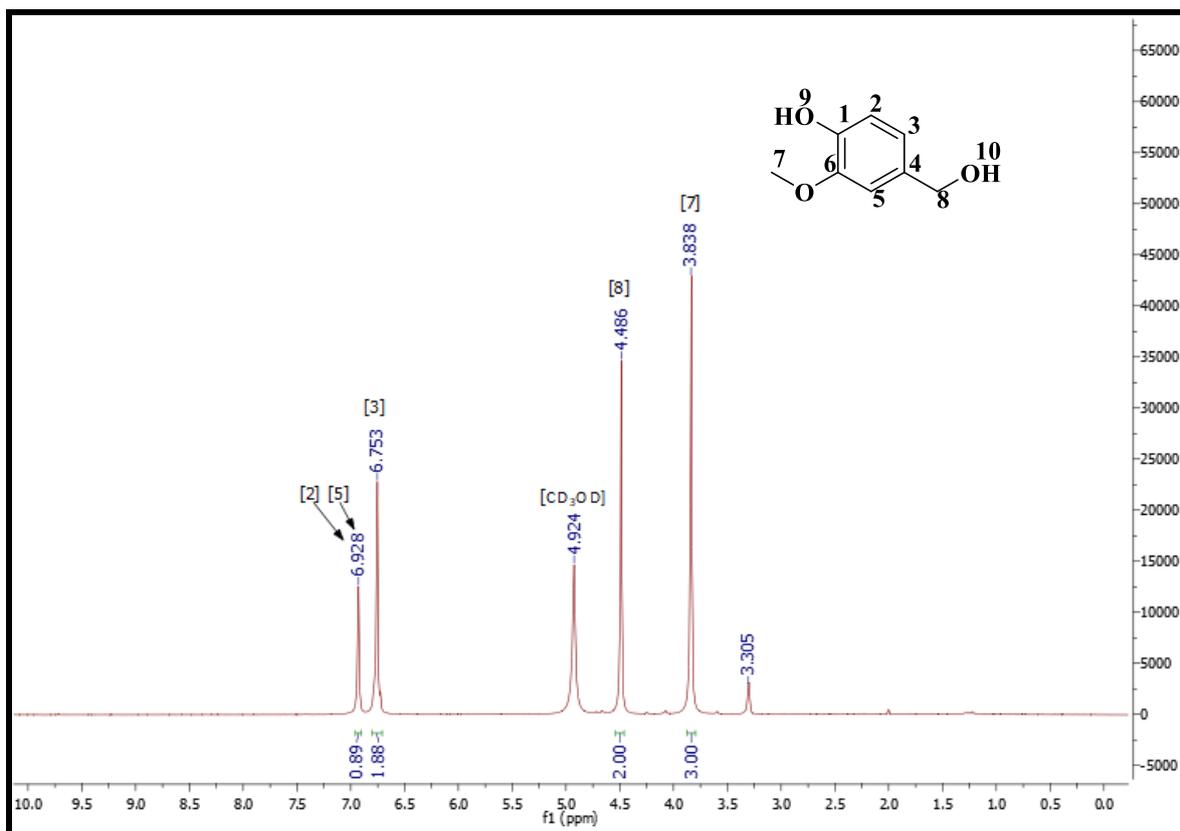
Na análise do espectro de RMN de <sup>1</sup>H (Figura 29) observou-se a presença dos seguintes sinais do composto 4-(hidróximetil)-2-metóxfenol (**54**): um simpleto em  $\delta$  3,84 (3H), atribuído aos hidrogênios metoxílicos H7, um simpleto em  $\delta$  4,49 (2H) atribuído aos hidrogênios metilênicos H8, o qual confirmou-se a formação do composto **54** pela transformação da C8 em H8 comparando o composto **54** com o **53** (Figura 28). Em relação ao núcleo aromático, foi identificado um simpleto em  $\delta$  6,75 (2H), atribuído ao H5 que, provavelmente está sobreposto ao duplete referente a H2 e um simpleto em  $\delta$  6,93, referente a H3.

Figura 28 - Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do 4-hidroxi-3-metoxibenaldeído (**53**).



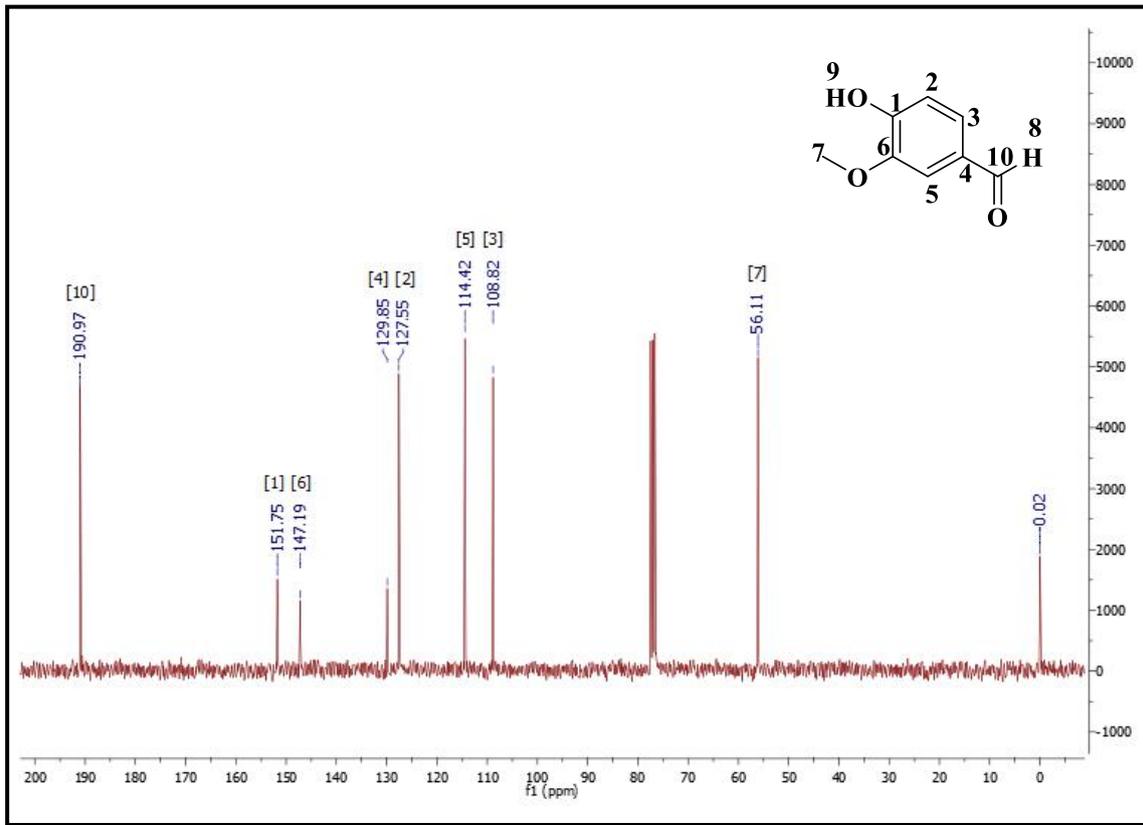
Fonte: Do autor

Figura 29 - Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) do 4-(hidroximetil)-2-metóxfenol (**54**).



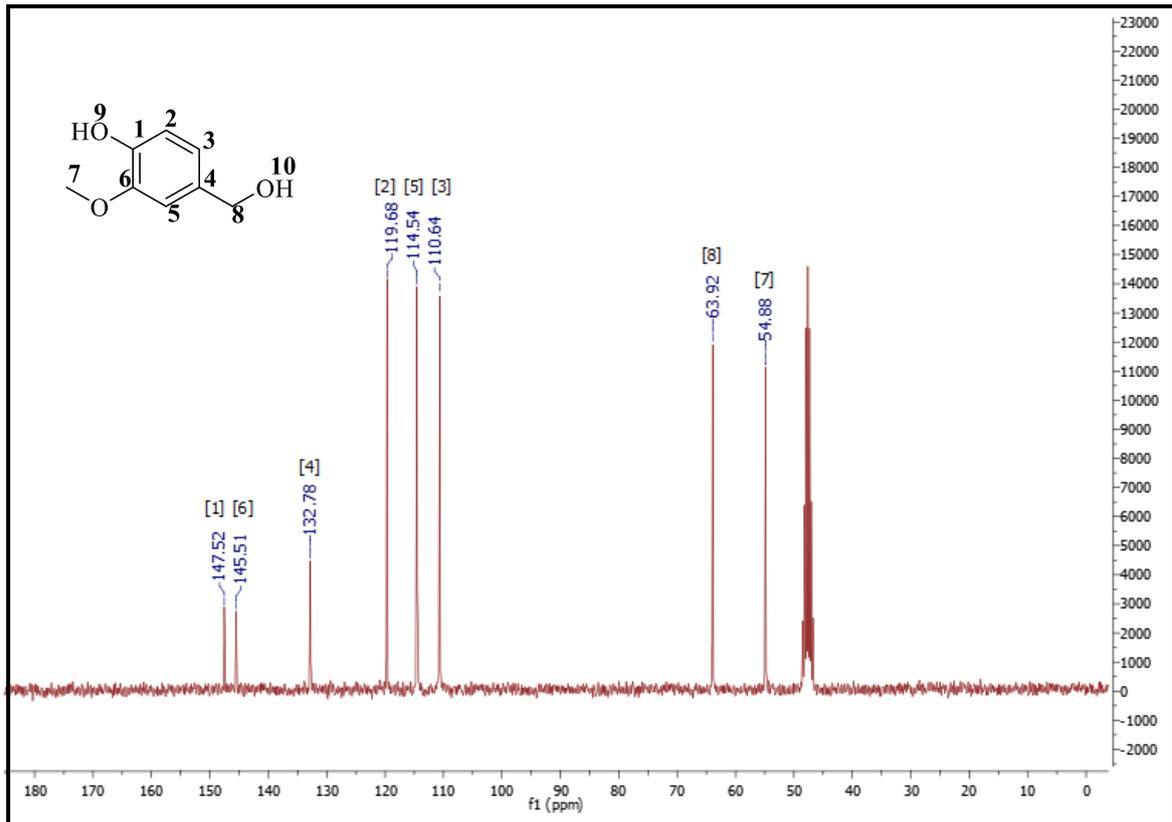
Fonte: Do autor

Na análise do espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (Figura 31) foram observados todos os sinais compatíveis à estrutura de 4-(hidroximetil)-2-metóxfenol (**54**), sendo eles os sinais referentes ao carbono metoxílico C7 em  $\delta$  54,8 e carbono metilênico C8 em  $\delta$  63,9, sinal confirmado no DEPT (Figura 32) o qual comprovou a formação do álcool **54** em comparação ao espectro do aldeído **53** (Figura 30). Logo os sinais referentes ao núcleo aromático em  $\delta$  110,6 e  $\delta$  114,5 atribuídos aos carbonos C5 e C2, em  $\delta$  119,6 e  $\delta$  132,7 aos carbonos C3 e C4, respectivamente, logo em  $\delta$  145,5 e  $\delta$  147,5 foram atribuídos aos carbonos C6 e C1.

Figura 30 - Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do 4-hidroxi-3-metoxibenzaldeído (**53**).

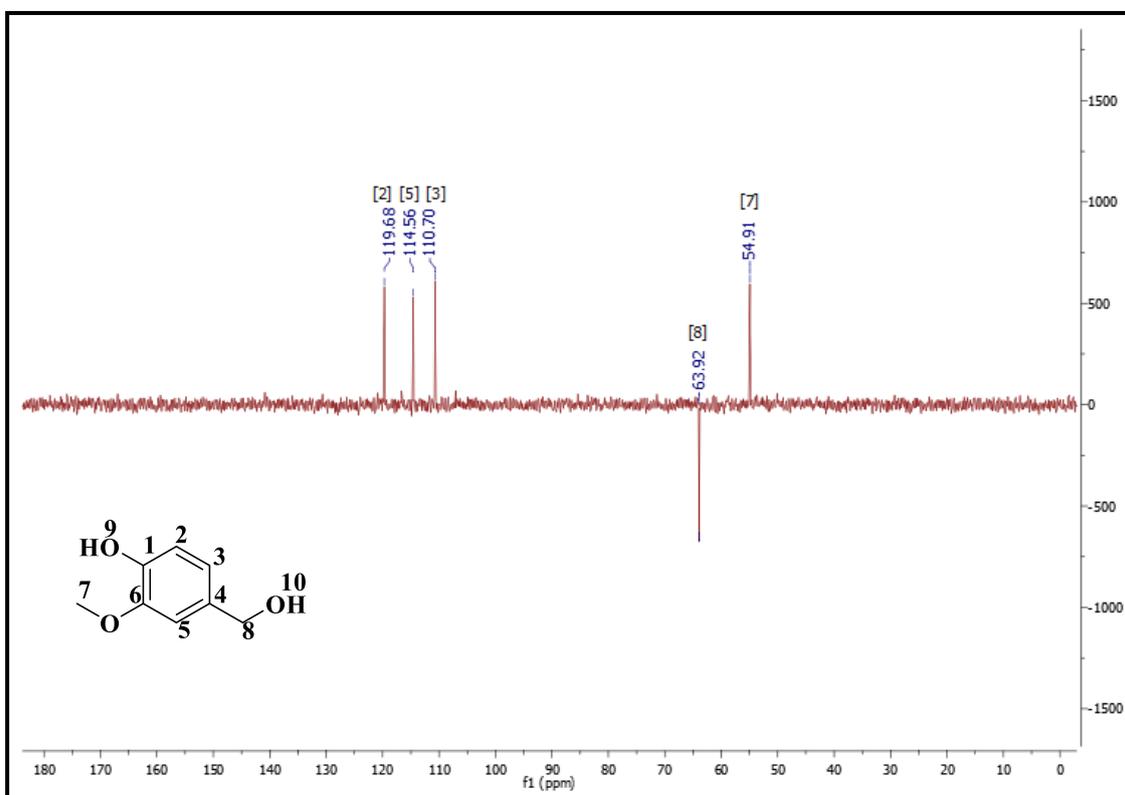
Fonte: Do autor

Figura 31 - Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) do 4-(hidróximetil)-2-metóxfenol (54).



Fonte: Do autor

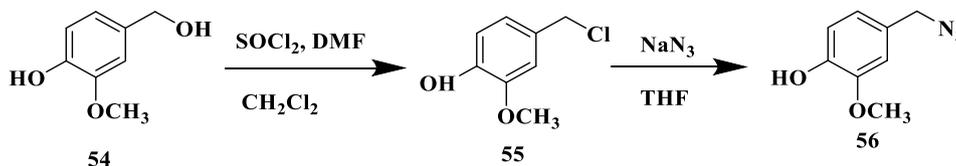
Figura 32 - Espectro de DEPT-135 (75 MHz, CD<sub>3</sub>OD) do 4-(hidróximetil)-2-metóxfenol (**54**).



Fonte: Do autor

Na segunda etapa da rota sintética, visando-se substituir o grupo hidroxila alcoólico por um grupo melhor abandonador e que viabilizasse a inserção de uma azida que pudesse ser reduzida ao grupo amino desejado, o álcool **54** foi convertido no respectivo cloreto, por uma reação de substituição nucleofílica com SOCl<sub>2</sub> e catálise por DMF (Figura 33).

Figura 33 - Equação química da reação de obtenção do 4-cloro-2-metóxfenol (**55**) e do 4-(azidometil)-2-metóxfenol (**56**).

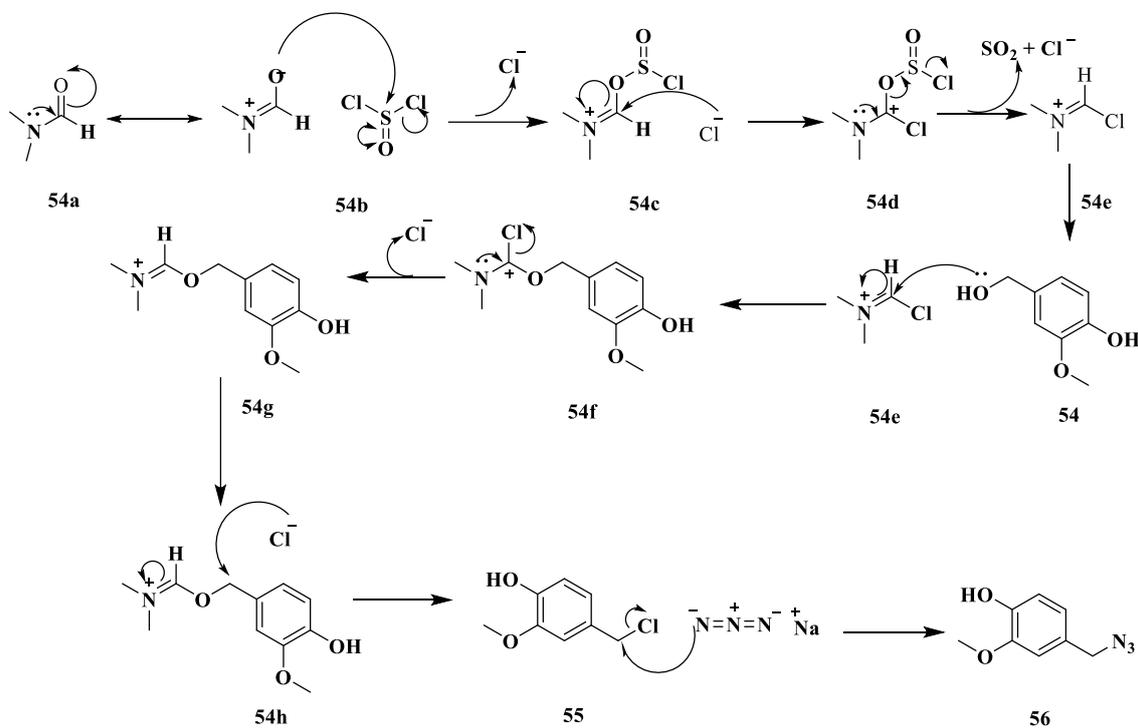


Fonte: Do autor

Reações de substituição nucleofílica envolvendo halogenetos como nucleófilo são amplamente conhecidas e várias metodologias são descritas na literatura. Particularmente, a utilização de cloreto de tionila e catálise por DMF foi escolhida por usualmente fornecerem bons rendimentos, baixo tempo reacional e facilidade de manipulação e elaboração. O mecanismo proposto para esta reação está detalhado na Figura 34 e envolve o ataque nucleofílico de um dos tautômeros da DMF ao  $\text{SOCl}_2$ , provocando um processo de adição e eliminação, liberando um íon  $\text{Cl}^-$  que volta a atacar o intermediário imínio formado, levando a um aduto carbocatiônico que se estabiliza pela liberação de  $\text{SO}_2$  e  $\text{Cl}^-$ , formando um intermediário cloroimínio altamente eletrofílico. Este eletrófilo, sofre então ataque do álcool presente no meio, levando ao rompimento da ligação  $\text{C}=\text{N}$  e a formação de um intermediário carbocatiônico que sofre estabilização pelo deslocamento de elétrons do N e eliminação de um  $\text{Cl}^-$ , gerando um outro intermediário oximínio. Por fim, ocorre uma etapa de substituição nucleofílica bimolecular ( $\text{S}_{\text{N}}2$ ), onde um íon  $\text{Cl}^-$  ataca o grupo metileno altamente eletrofílico do intermediário oximínio, que libera DMF.

Numa sequência reacional, a adição de  $\text{NaN}_3$  sobre o cloreto benzílico **55** gerado *one-pot* leva à outra reação de  $\text{S}_{\text{N}}2$ , agora com o grupo  $\text{N}_3^-$  agindo como nucleófilo e o  $\text{Cl}^-$  como grupo abandonador, levando ao intermediário azidobenzílico **56** desejado. Nas primeiras etapas, foi formado o intermediário **54e** (Figura 34), altamente eletrofílico, a partir da reação do cloreto de tionila com DMF (**54d**), liberando dióxido de enxofre e íon cloreto. Uma vez gerado, **54e** reage rapidamente com o álcool **54**, produzindo o aduto **54f**, acompanhado da liberação de outro íon cloreto para formar outro intermediário eletrofílico, o derivado oximínio **54g**, que serve de substrato para um ataque nucleofílico, via reação de  $\text{S}_{\text{N}}2$  pelo íon cloreto, formando o aduto clorobenzílico **55**, que é finalmente substituído pela azida presente no meio para formar o 4- (azidometil)-2- metóxifenol (**56**).

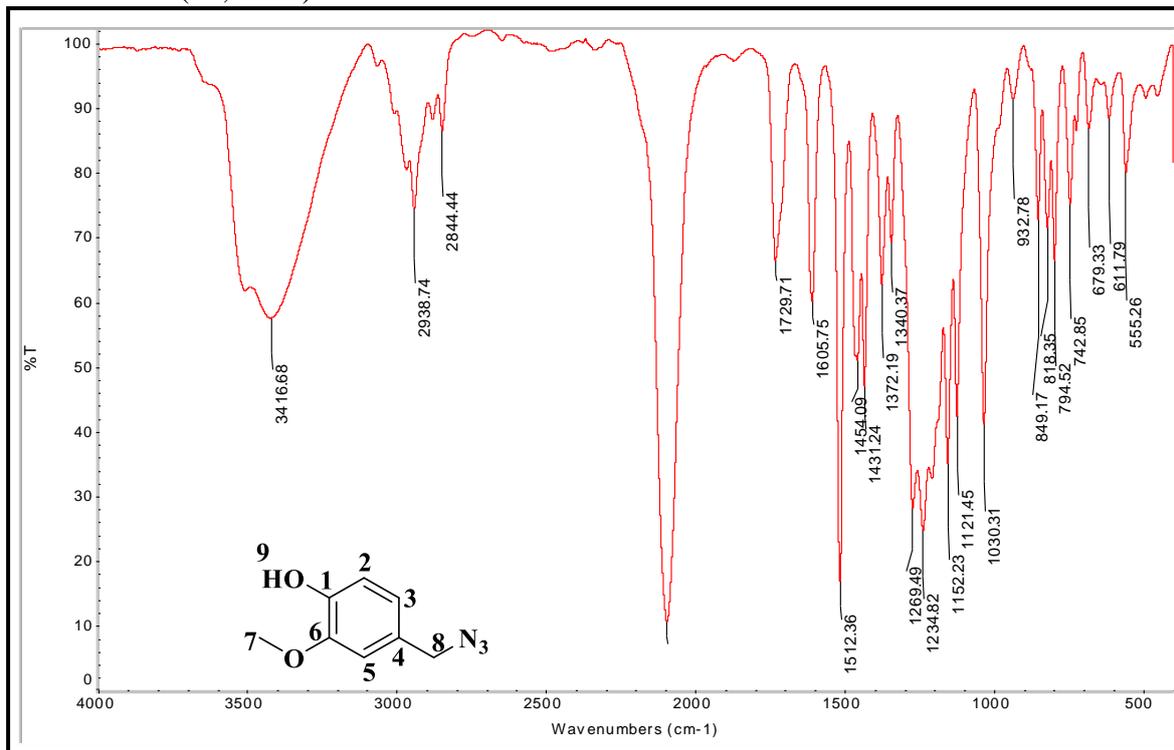
Figura 34 - Proposta mecanística da reação para formação do 4-cloro-2-metóxfenol (**55**) e do 4-(azidometil)-2-metóxfenol (**56**) a partir do álcool benzílico **54**.



Fonte: Do autor

Na análise do espectro de absorção na região do IV (Figura 35) foram identificadas as bandas compatíveis à estrutura de 4-(azidometil)-2-metoxifenol (**56**), a exemplo das bandas em  $3416$ ,  $2938$  e  $2844\text{ cm}^{-1}$ , referentes às estiramentos dos grupos OH, metila e azida, respectivamente. Além disso, a banda intensa em  $2100\text{ cm}^{-1}$ , referente ao estiramento C-N comprova a inserção do grupo azida.

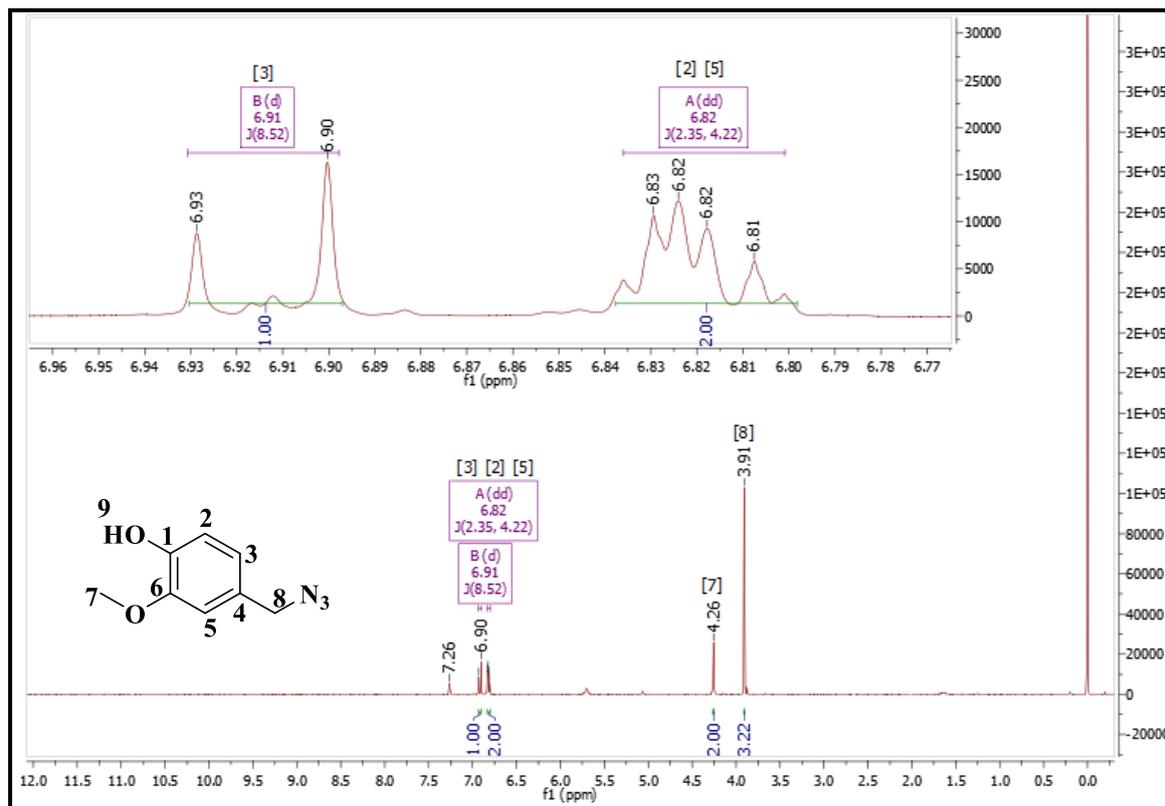
Figura 35 - Espectro de absorção na região do IV do composto 4-(azidometil)-2-metóxfenol (**56**, ATR).



Fonte: Do autor

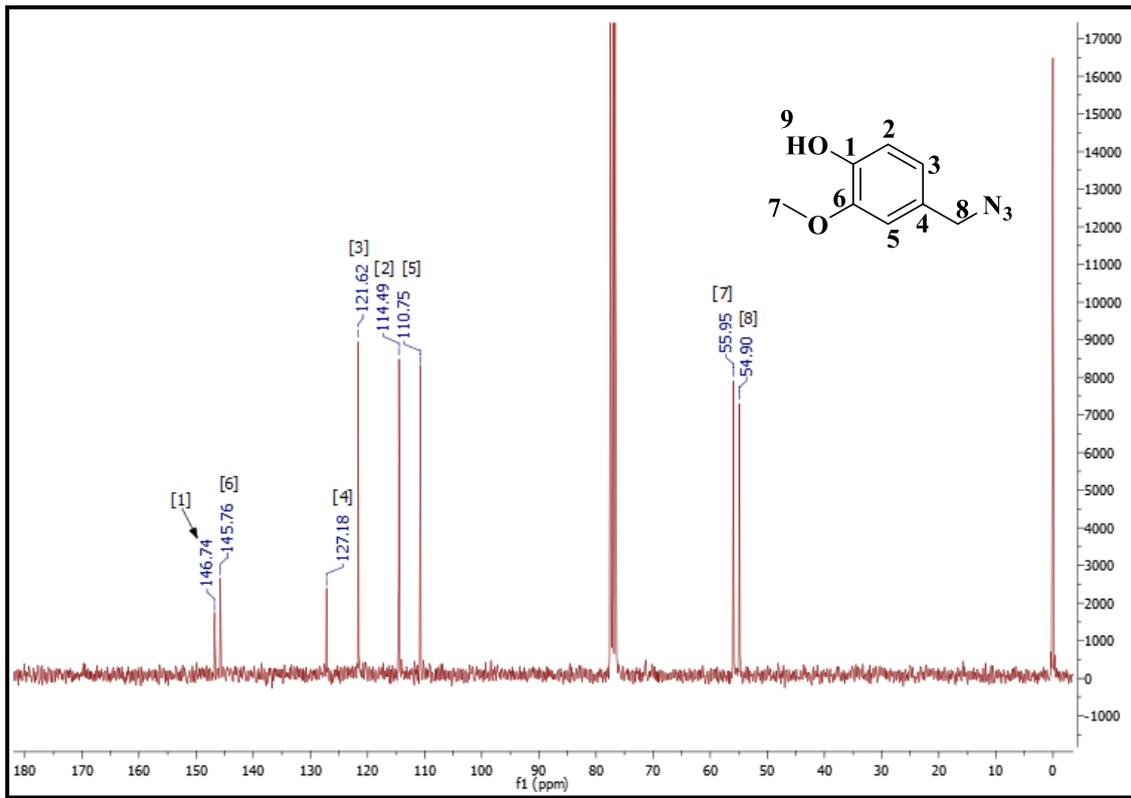
O espectro de RMN de  $^1\text{H}$  do 4-(azidometil)-2-metóxfenol (**56**, Figura 36), como esperado, tem um perfil muito semelhante ao do 4-hidróximetil-2-metóxfenol (**54**), uma vez que as estruturas diferem apenas na substituição do grupamento hidroxila (H10) por  $\text{N}_3$ . O sinal referente aos 2 hidrogênios benzilmetilênicos (H8) foram identificados como um simpleto em  $\delta$  3,91, um pouco mais blindados do que os hidrogênios análogos em **54**, em função do efeito menos intenso da eletronegatividade do N em relação ao O; um simpleto em  $\delta$  4,26 (3H) foi atribuído aos hidrogênios metoxilícos H7, um duplo-duplete em  $\delta$  6,82 ( $J = 2,35$  Hz;  $J = 4,22$  Hz) referente aos hidrogênios H5 e H2, também um duplete em  $\delta$  6,91 (1H) com  $J = 8,5$  Hz atribuído ao hidrogênio H3.

Figura 36 - Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do 4-(azidometil)-2-metóxfenol (**56**).



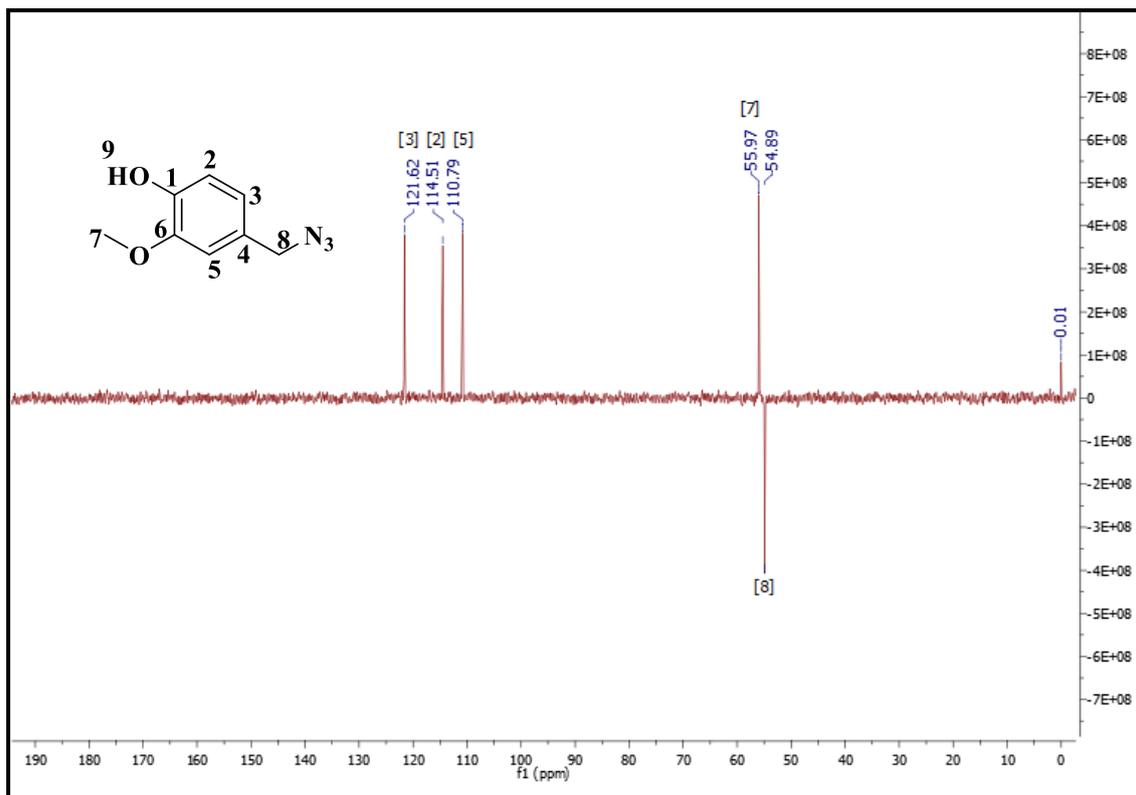
Fonte: Do autor

Na análise conjunta dos espectros de RMN de  $^{13}\text{C}$  (Figura 37) e DEPT-135 (Figura 38) do 4-(azidometil)-2-metóxfenol (**56**) foram identificados todos os sinais compatíveis ao composto **56**. Os sinais referentes ao núcleo aromático em  $\delta$  110,8, 114,5 e 121,6 foram atribuídos aos três carbonos hidrogenados C5, C2 e C3, respectivamente, enquanto que os sinais em  $\delta$  127,2, 145,8 e  $\delta$  146,7 foram atribuídos aos carbonos quaternários C4, C6 e C1, respectivamente. Por fim, os sinais  $\delta$  54,9 e 55,9 foram atribuídos ao C8 ( $\text{CH}_2$ ) e C7 ( $\text{CH}_3$ ), respectivamente.

Figura 37 - Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do 4-(azidometil)-2-metóxiifenol (**56**).

Fonte: Do autor

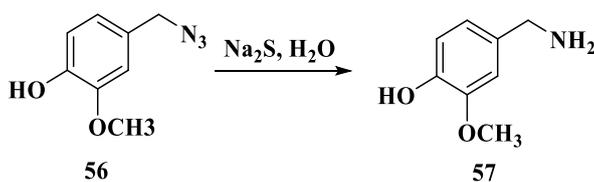
Figura 38 - Espectro de DEPT-135 (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>) do 4-(azidometil)-2-metóxfenol (**56**).



Fonte: Do autor

Uma vez obtida e caracterizada, a azida **56** foi então convertida na amina correspondente por reação de redução, mediada por Na<sub>2</sub>S (Figura 39).

Figura 39 - Esquema da reação de redução da azida (**56**) para obtenção da amina benzílica (**57**).

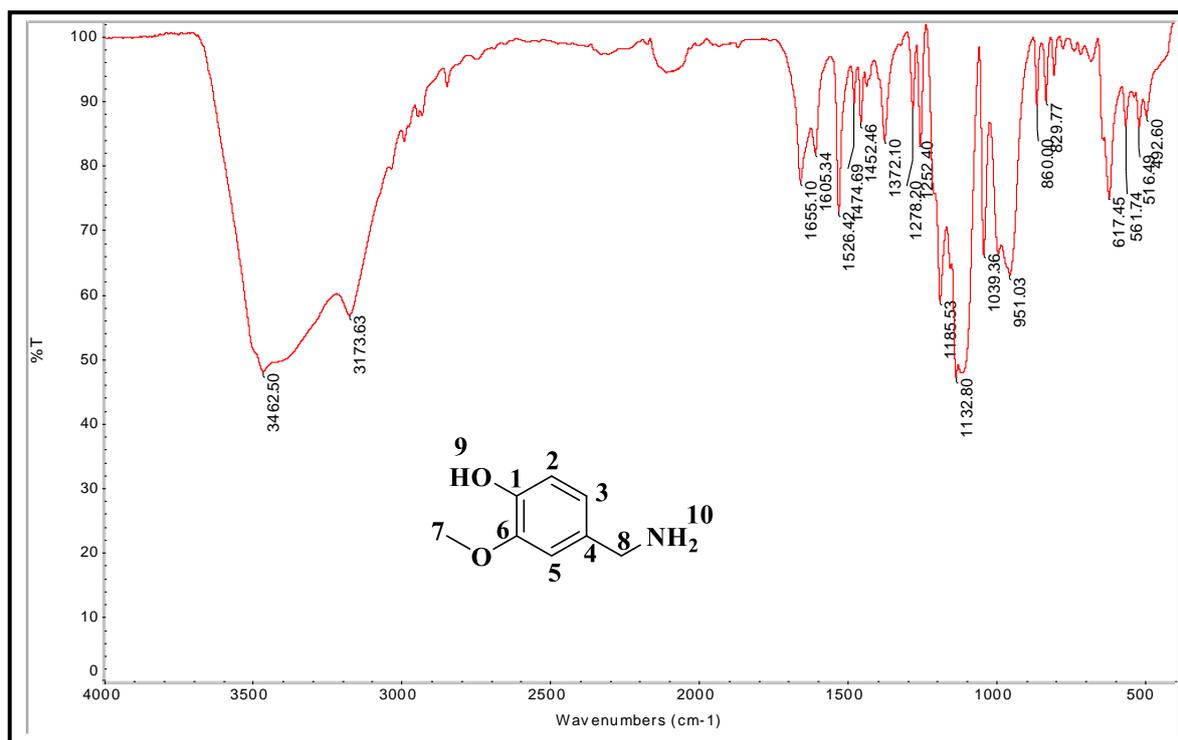


Fonte: Do autor

Quanto à caracterização estrutural, a análise de espectro no IV (Figura 40) do 4-aminometil-2-metóxfenol (**57**) foram observadas as principais bandas compatíveis com sua estrutura, com a banda relativa ao grupo OH bastante intensa e larga em 3462 cm<sup>-1</sup>, provavelmente encobrindo as bandas de estiramento simétrico e assimétrico de NH<sub>2</sub>, além da banda em 3173 cm<sup>-1</sup> referente ao estiramento axial de C-H aromático. Em 1655 cm<sup>-1</sup> foi identificada uma banda de média intensidade

atribuída à deformação fora do plano de  $\text{NH}_2$ , e em  $1132 \text{ cm}^{-1}$  uma banda bastante intensa relativa ao estiramento axial das ligações C-N de amina alifática, além de uma banda harmônica de vibração fora do plano em  $1605 \text{ cm}^{-1}$  e bandas em  $1526$  e  $1474 \text{ cm}^{-1}$  características de estiramento C=C de anel aromático.

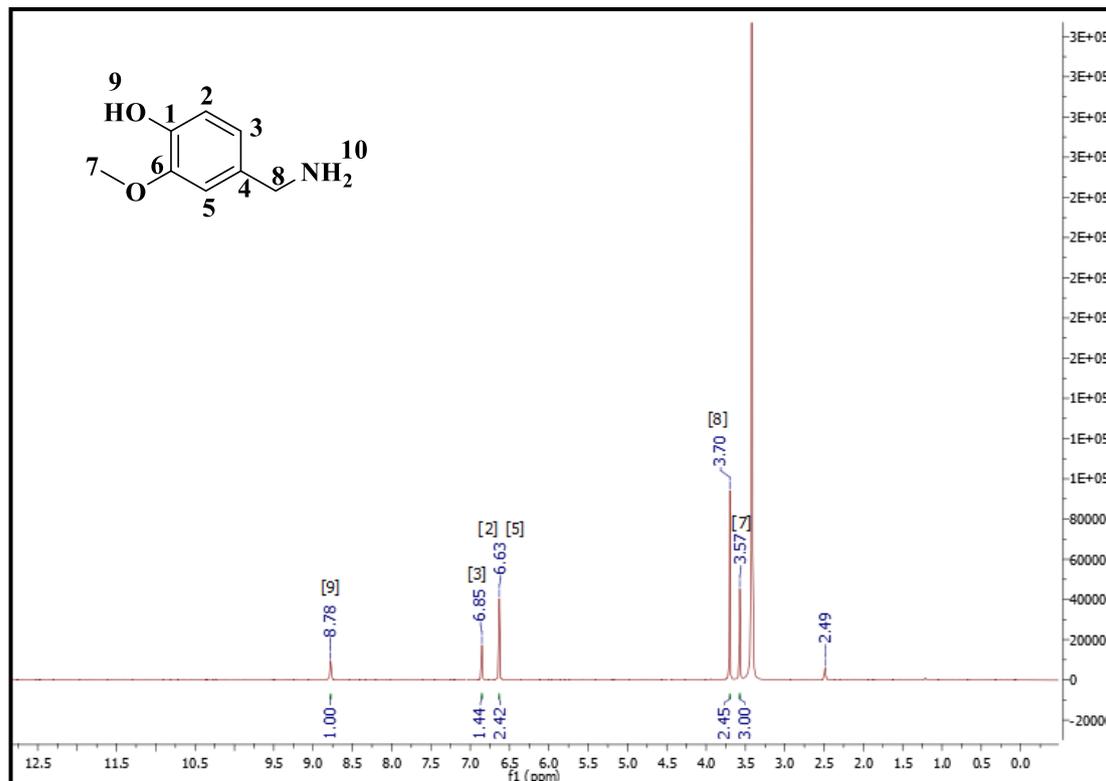
Figura 40 - Espectro de absorção na região do IV do composto 4-(aminometil)-2-metoxifenol (**57**, ATR).



Fonte: Do autor

Na análise de espectro de RMN de  $^1\text{H}$  do 4-(aminometil)-2-metóxfenol (**57**, Figura 41), foi comprovada sua estrutura, cujos sinais mais característicos são: um simpleto em  $\delta$  3,57, referente aos hidrogênios H7, um simpleto em  $\delta$  3,70 atribuído aos hidrogênios H8, além dos sinais referentes aos hidrogênios do anel aromático identificados como um simpleto em  $\delta$  6,63 (H5 e H2) e um simpleto em  $\delta$  6,85 (H3). Além destes, o simpleto em  $\delta$  8,78 foi atribuído ao hidrogênio H9 do grupo hidroxila.

Figura 41 - Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ ) do 4-(aminometil)-2-metóxfenol (**57**).



Fonte: Do autor

Na análise de espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (Figura 42) e DEPT-135 (Figura 43) da estrutura de 4-(aminometil)-2-metóxfenol (**57**), foram comprovados os sinais referentes à estrutura composto **57**. Foram observados os sinais referentes ao núcleo aromático em  $\delta$  114,8 e  $\delta$  115,0 dos carbonos C5/C2 e C3/C4, respectivamente em  $\delta$  123,1 e  $\delta$  126,6. Os sinais em  $\delta$  55,6 e  $\delta$  57,5 foram atribuídos a C7 e C8 respectivamente, enquanto que o sinal em  $\delta$  145,5 foi atribuído ao carbono C1 e em  $\delta$  147,1 referente a C6.

Figura 42 - Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ ) do 4-(aminometil)-2-metóxiifenol (**57**)

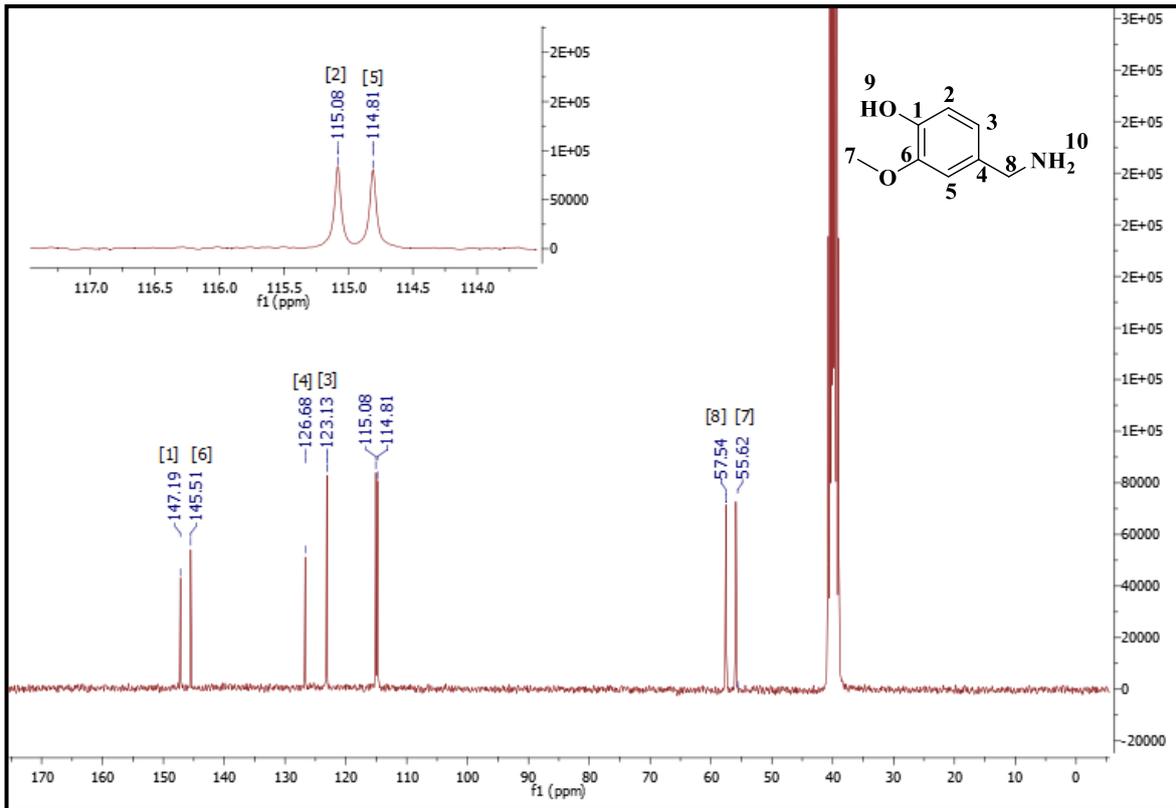
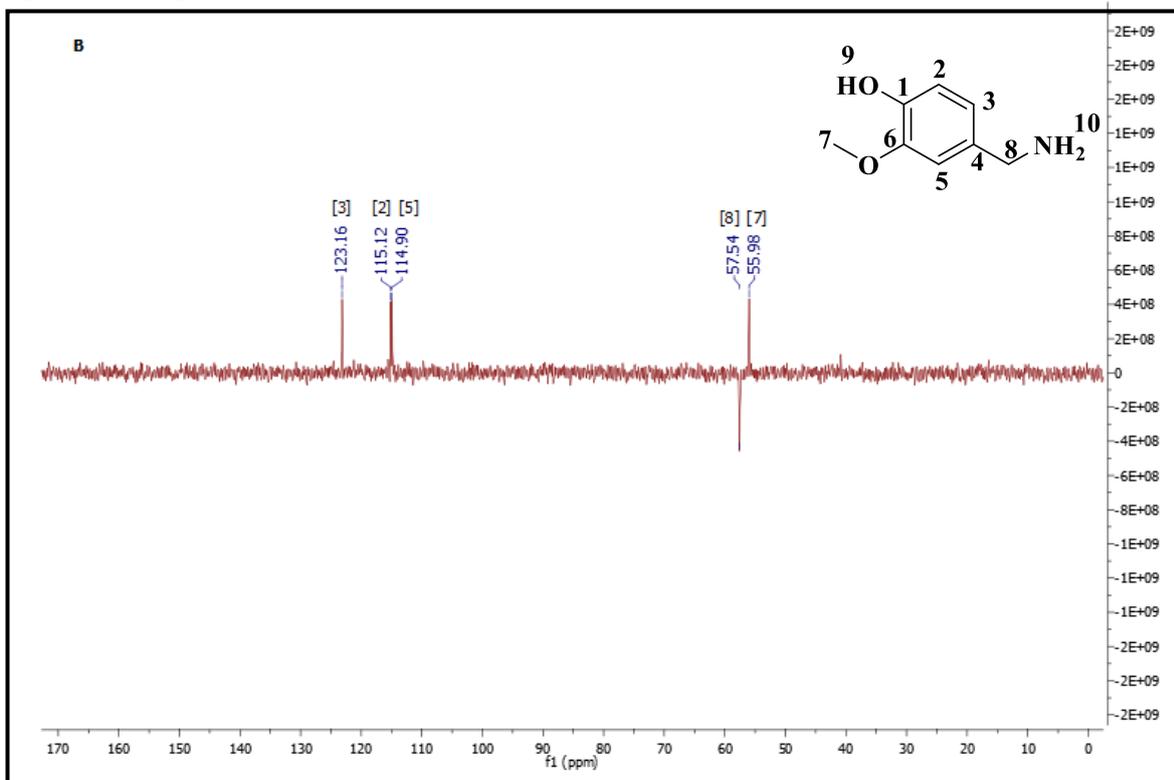


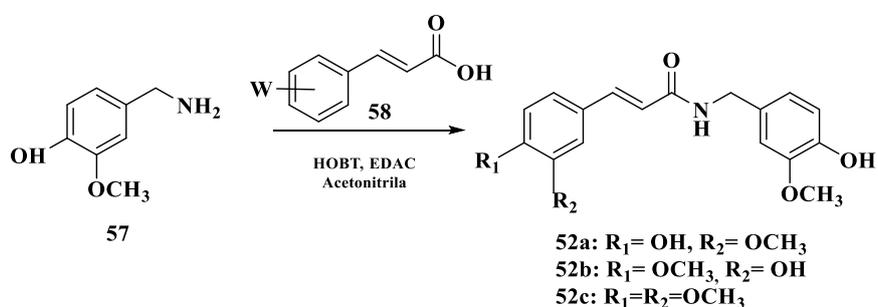
Figura 43 - Espectro de DEPT-135 (75 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ ) do 4-(aminometil)-2-metóxiifenol (**57**)



Fonte: Do autor

Tendo em mãos a amina benzílica **57**, intermediário-chave na rota sintética proposta, partimos para a obtenção das benzilamidas cinamoílicas-alvo. Dentre várias opções disponíveis na literatura, a metodologia escolhida foi pela utilização de HOBT/EDAC, que é um método clássico, que costuma fornecer bons rendimentos e reações relativamente limpas. Desta forma, a amina **57** foi submetida ao acoplamento com uma série de ácidos cinâmicos comerciais, levando à obtenção das amidas desejadas **52a-c** (Figura 44), com rendimentos de 56 a 94%, após purificação em coluna cromatográfica.

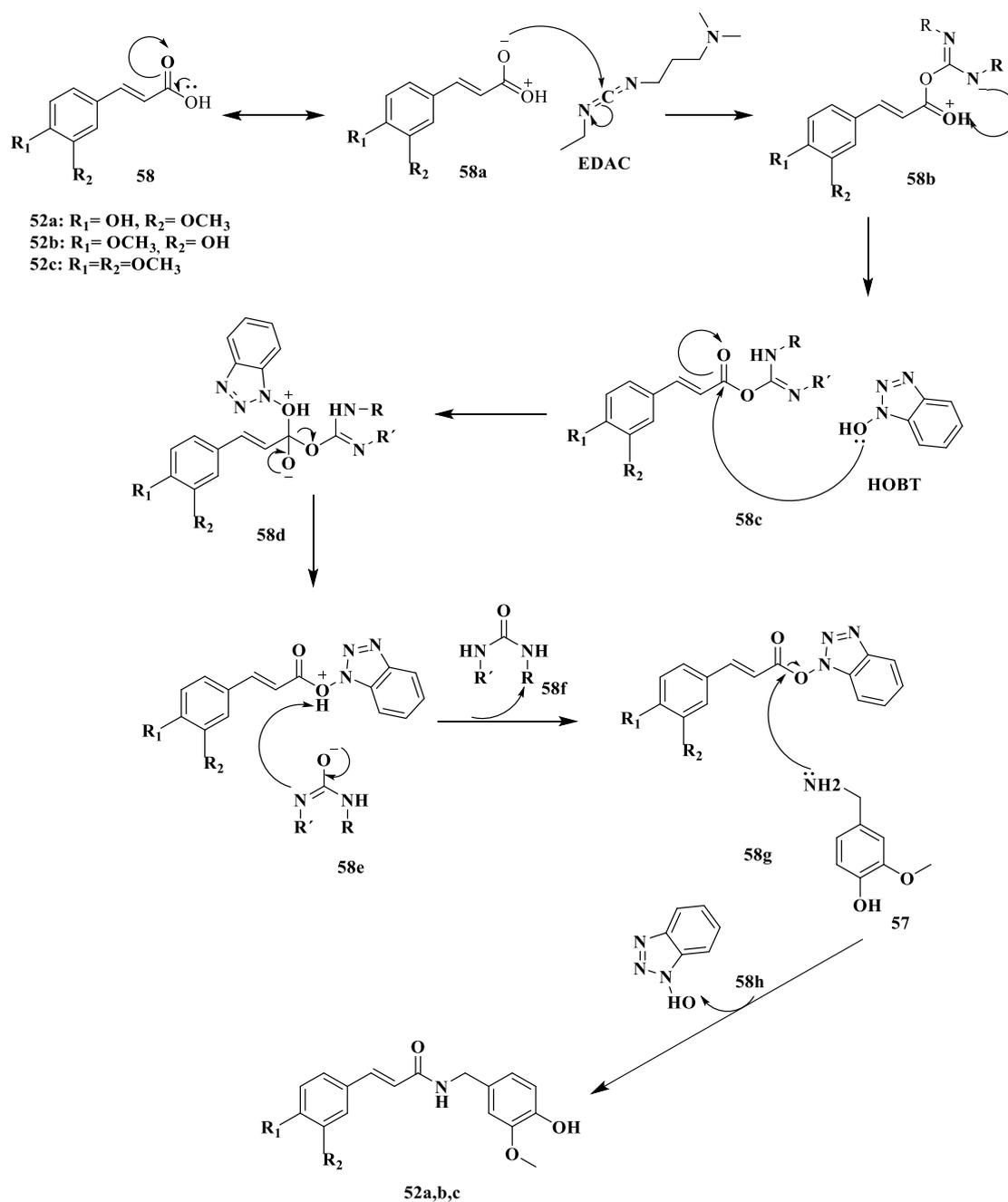
Figura 44 - Esquema da reação de acoplamento entre a amina-chave **57** e ácidos cinâmicos funcionalizados para obtenção das amidas-alvo **52a-c**.



Fonte: Do autor

A formação do intermediário **58b** foi obtida a partir do ataque nucleofílico do ácido com EDAC (**58a**), logo esse intermediário (**58b**) vai reagir com o HOBT formando ureia (**58d**), a qual vai ser liberada para formar éster (**58g**), que vai reagir com a amina liberando 1H-benzo [d] [1,2,3] triazol-1-ol (**58h**), e obtendo a amida correspondente (**52a, 52b, 52c**).

Figura 45 - Proposta mecanística para a reação de formação das amidas-alvo **52a-c** via HOBt-EDAC.

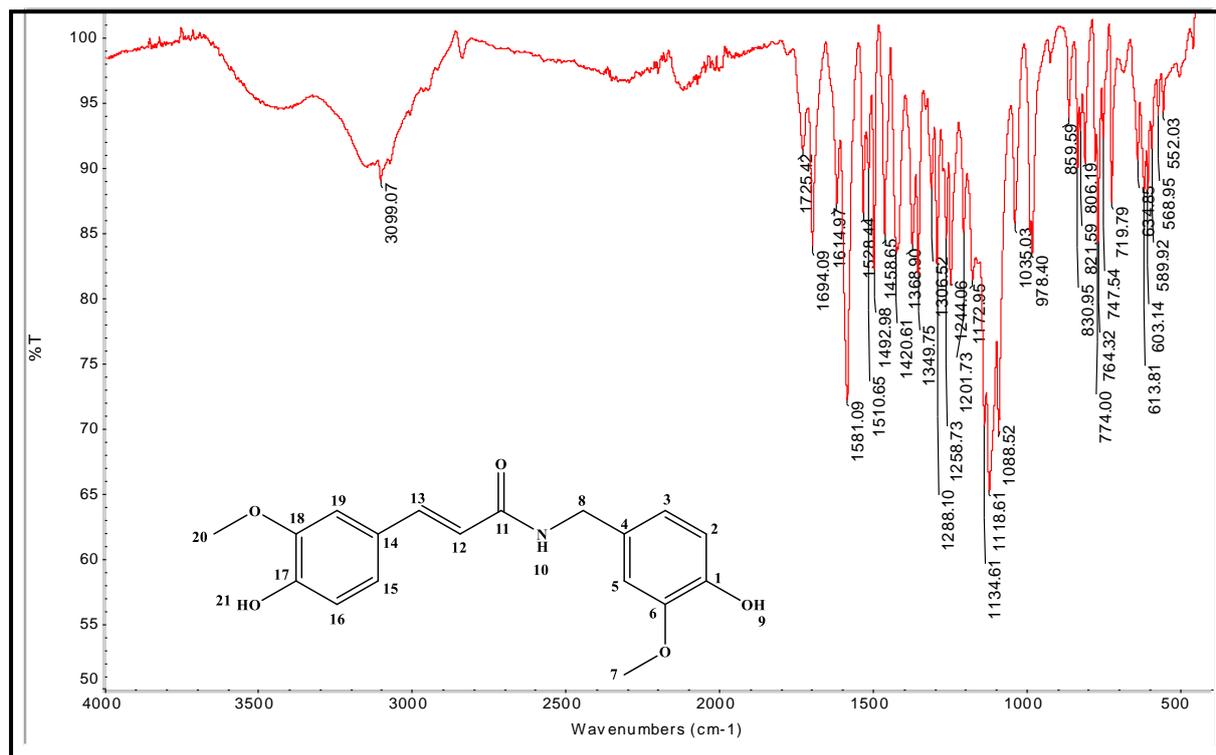


Fonte: Do autor

Na análise do espectro na região do IV (Figura 46), foram identificadas as bandas mais características e compatíveis com a estrutura do composto **PQM-310 (52a)**. O estiramento N-H de amida foi identificado em 3099 cm<sup>-1</sup>, uma banda forte de C=O em 1694 cm<sup>-1</sup>, a qual sobrepõe parcialmente a uma banda de dobramento N-H que aparece em 1725 cm<sup>-1</sup>, fazendo a banda C=O aparecer como um duplete. Em 1614, 1581 e 1510 cm<sup>-1</sup> foram identificadas bandas de intensidades

variadas referentes às ligações C=C de aromáticos, em 1458 e 1288  $\text{cm}^{-1}$  bandas de deformação axial de C-N; em 1201  $\text{cm}^{-1}$  foi observada banda de média intensidade referente à ligação C-O de fenol e, por fim, em 774 e 719  $\text{cm}^{-1}$  foram identificadas bandas de deformação angular referente a C-H de aromáticos tri-substituídos.

Figura 46 - Espectro de absorção na região do IV do composto **PQM-310 (52a, ATR)**.

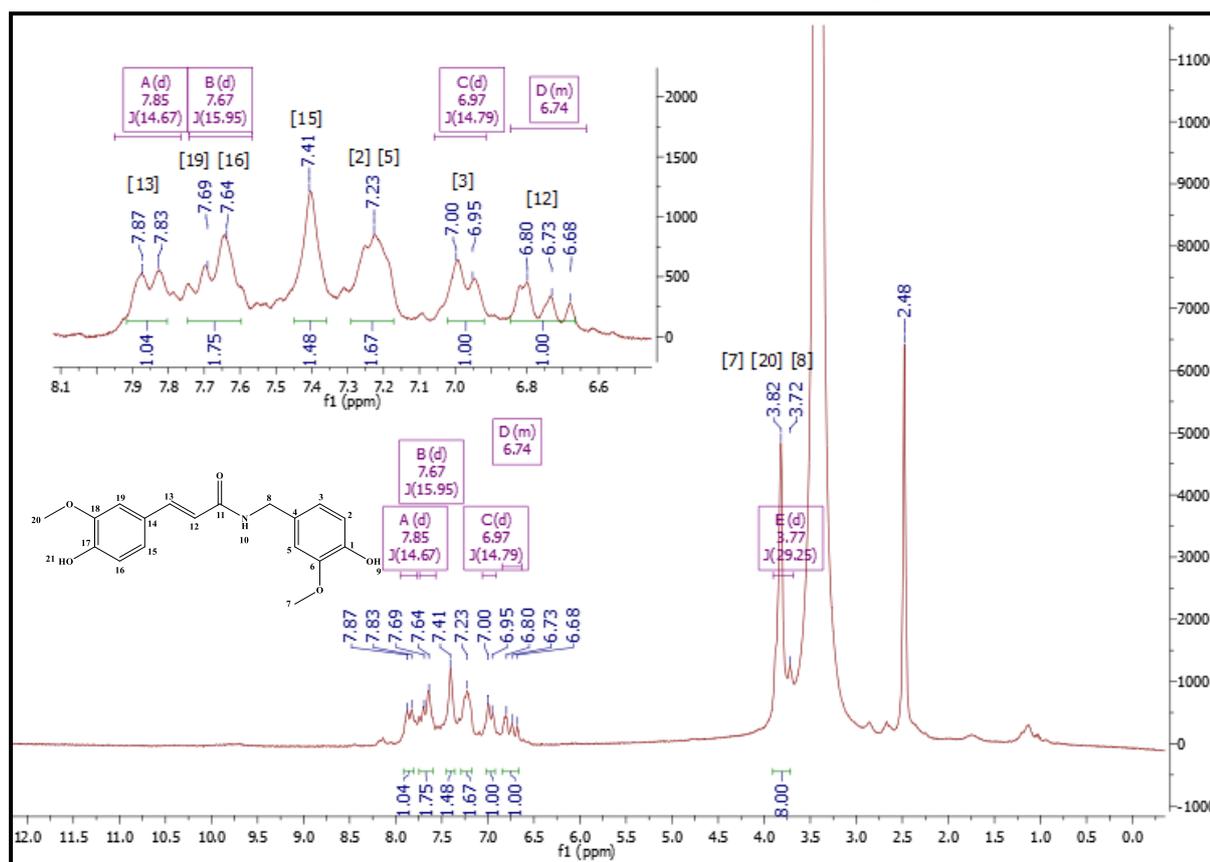


Fonte: Do autor

Na análise do espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (Figuras 47) do composto **PQM-310 (52a)**, foram comprovados os sinais referentes à estrutura do **52a**, pela presença dos seguintes sinais: um duplete em  $\delta$  7,85 ( $J = 14,67$  Hz) atribuído ao hidrogênio H13, também foi observado um duplete em  $\delta$  7,67 ( $J = 15,95$  Hz) referente aos hidrogênios H19 e H16. Salientamos que, devido à baixa frequência do equipamento de RMN (300 MHz), temos a presença de dupletos para os hidrogênios H19 e H16, os quais estão mais desblindados do que os demais hidrogênios do núcleo aromático pela proximidade com o átomo de oxigênio que é um elemento eletronegativo, apresentando maiores deslocamentos químicos. Um simpleto em  $\delta$  7,41 atribuído ao hidrogênio H15. Um simpleto em  $\delta$  7,23 atribuído aos hidrogênios H2 e H5, além de um duplete em  $\delta$  6,97 ( $J = 14,79$  Hz) referente ao hidrogênio H3. Um multipletto observado em  $\delta$  6,68 -  $\delta$  6,80 foi atribuído ao hidrogênio H12 e o duplete em  $\delta$  3,77

( $J = 29,25$  Hz) que foi atribuído aos hidrogênios H7, H20 e H8, sendo estes os hidrogênios mais blindados da molécula. Considerando que em moléculas com N de amida pode ocorrer o alargamento quadrupolar e desacoplamento por causa do átomo de nitrogênio e apresentar spin unitário ( $I=1$ ), o qual pode apresentar um momento de quadrupolo de tamanho moderado, acarretando em alargamento dos sinais (dupletos) os quais podem não aparecer.

Figura 47 - Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ ) do composto **PQM-310 (52a)**.

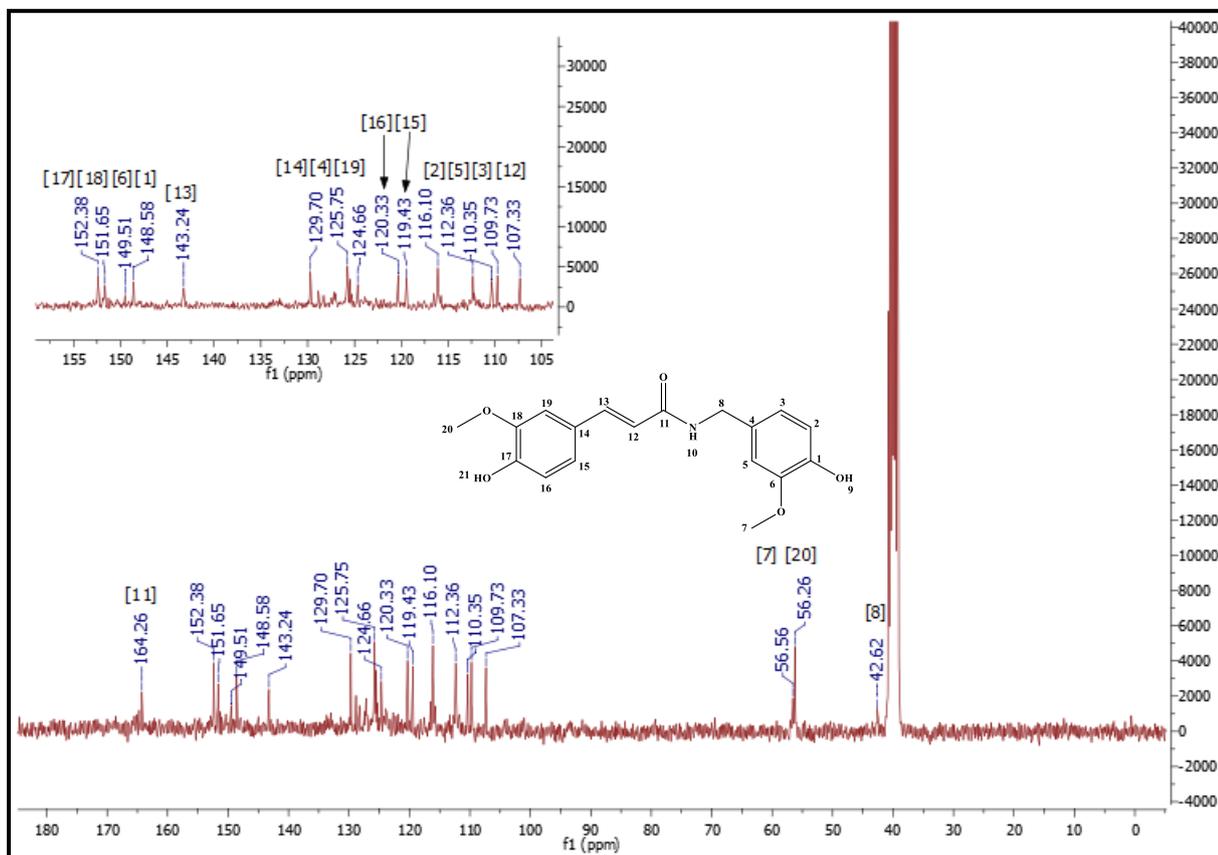


Fonte: Do autor

Na análise do espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (Figura 48) do composto **PQM-310 (52a)** foram observados os seguintes sinais compatíveis com a estrutura da molécula-alvo: em  $\delta$  164,2 referente ao carbono C11, em  $\delta$  152,3/  $\delta$ 151,6 e  $\delta$  149,5/  $\delta$  148,5 atribuídos, respectivamente, aos carbonos C17/C18 e C6/C1, cujos valores de deslocamento químico podem estar intercambiados. O sinal em  $\delta$  143,2 foi atribuído ao carbono olefínico C13, assim como os outros sinais referentes ao núcleo aromático foram identificados em  $\delta$  129,7/125,7 e  $\delta$  124,6/120,3 atribuídos aos carbonos C14/C4 e C19/C16, e em  $\delta$  119,4/116,1;  $\delta$  112,3/109,7 e  $\delta$  107,3 que foram atribuídos aos carbonos C15/C2;

C5/C3 e C12, respectivamente. Por fim, os sinais mais blindados do espectro, identificados em  $\delta$  56,5/56,2 e 42,6, foram atribuídos aos carbonos C7, C20 e C8, respectivamente.

Figura 48 - Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ ) do composto **PQM-310 (52a)**.

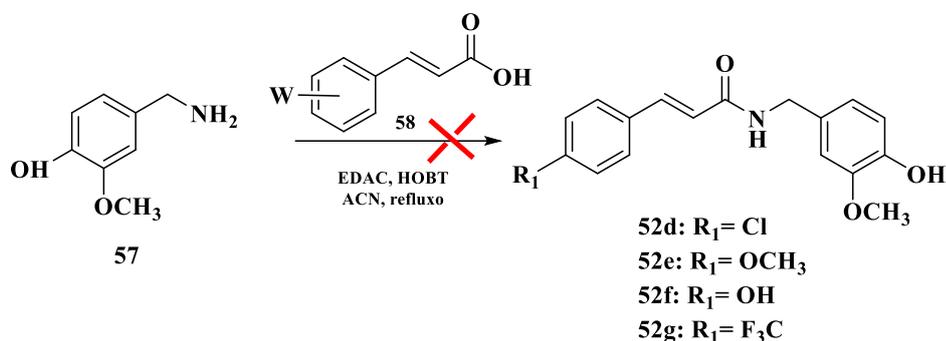


Fonte: Do autor

Na etapa de acoplamento foi observado que, dependendo dos substituintes dos ácidos cinâmicos **58**, as reações variavam muito em rendimento, tempo reacional e na formação de subprodutos, comprometendo a obtenção das moléculas-alvo desejadas. Diante disso, passamos a estudar sistematicamente diferentes condições reacionais, que incluíram variação no tempo reacional, tipo de solvente, temperatura e adição de  $\text{Et}_3\text{N}$  (como forma de catalisar o ataque da amina **57** aos ácidos cinâmicos **58**), e outras metodologias que viabilizassem a obtenção dos compostos finais desejados, com melhores rendimentos.

Mesmo após diversas tentativas, apenas as amidas-alvo **52a-c** foram obtidas em rendimentos globais razoáveis (21 a 35%), após purificação em CC de gel de sílica.

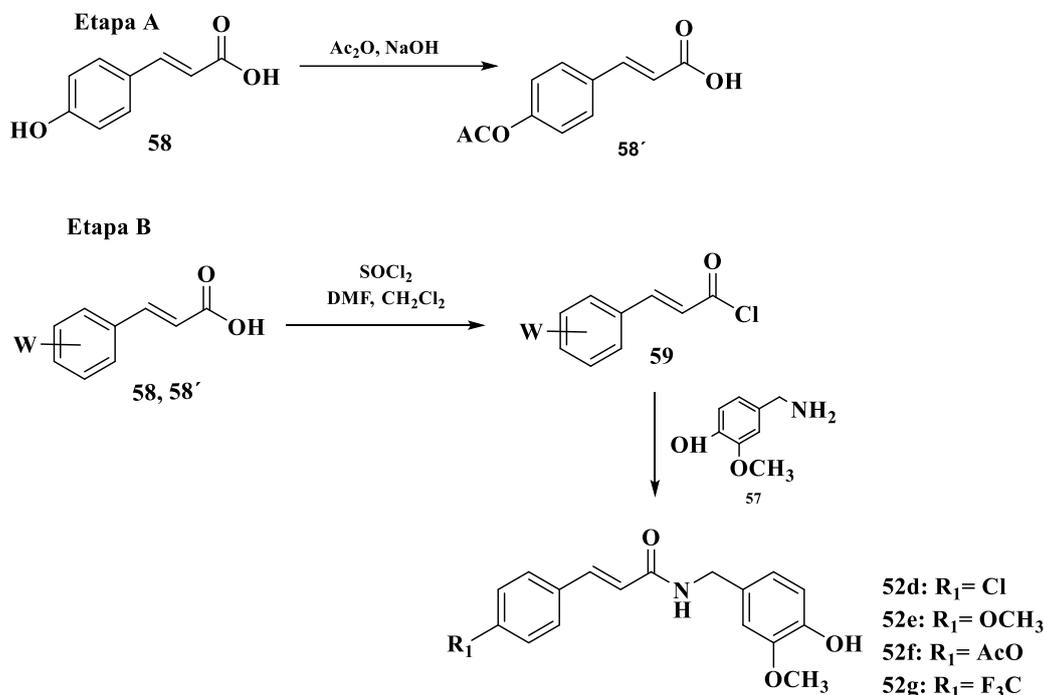
Figura 49 - Esquema da reação de acoplamento entre a amina-chave **57** e ácidos cinâmicos **58** para obtenção das amidas-alvo **52d**, **52e**, **52f** e **52g**.



**Fonte:** do autor

Diante destes resultados, buscamos outras alternativas sintéticas para a obtenção dos demais constituintes da série-alvo proposta, incluindo a utilização de cloretos dos ácidos cinâmicos **59** correspondentes como eletrófilos na etapa de acoplamento com a feruloil-benzilamina **57**, os quais foram preparados via reação com  $\text{SOCl}_2$ , com catálise por DMF. Uma vez obtidos, os cloretos dos ácidos 4-clorocinâmico, 4-metóxicinâmico, 4-hidróxicinâmico e 4-trifluormetilcinâmico foram utilizados, sem purificação prévia, para reagir com a amina **57**, resultando nas amidas-alvo **52d**, **52e** e **52g** em rendimentos globais 16 a 37%, após purificação via coluna em gel de sílica. Interessante notar que, ao contrário das demais, a reação do cloreto do ácido 4-hidróxicinâmico com **57** não levou à amida **52f** desejada, provavelmente pela influência do grupo OH fenólico na estabilidade do cloreto de ácido, ou mesmo na possibilidade deste grupo protonar a amina **57** e diminuir sua nucleofilicidade, influenciando negativamente na reação de  $\text{S}_\text{N}$  acílica sobre o sítio carboxílico do ácido reagente. Para confirmar nossa hipótese, realizamos a proteção do grupo hidroxila do ácido 4-hidróxicinâmico, via reação de acetilação, produzindo o intermediário **58'** (Figura 50), numa primeira etapa, seguida do acoplamento com a benzilamina **57**, resultando no composto **52f**, com rendimento global de 17%. Todas as substâncias intermediárias e finais foram caracterizadas por espectroscopia no IV e RMN, com todos os dados compatíveis às respectivas fórmulas estruturais, conforme os espectros e dados tabelados adiante e no material suplementar (Anexos). A caracterização de todos os compostos intermediários e finais foi realizada por espectroscopia no infravermelho (IV), RMN de  $^{13}\text{C}$  e de  $^1\text{H}$ .

Figura 50 - Esquema da reação de acoplamento entre a amina-chave **57** e cloreto dos ácidos cinâmicos funcionalizados para obtenção das amidas-alvo **52d**, **52e**, **52f** e **52g**.



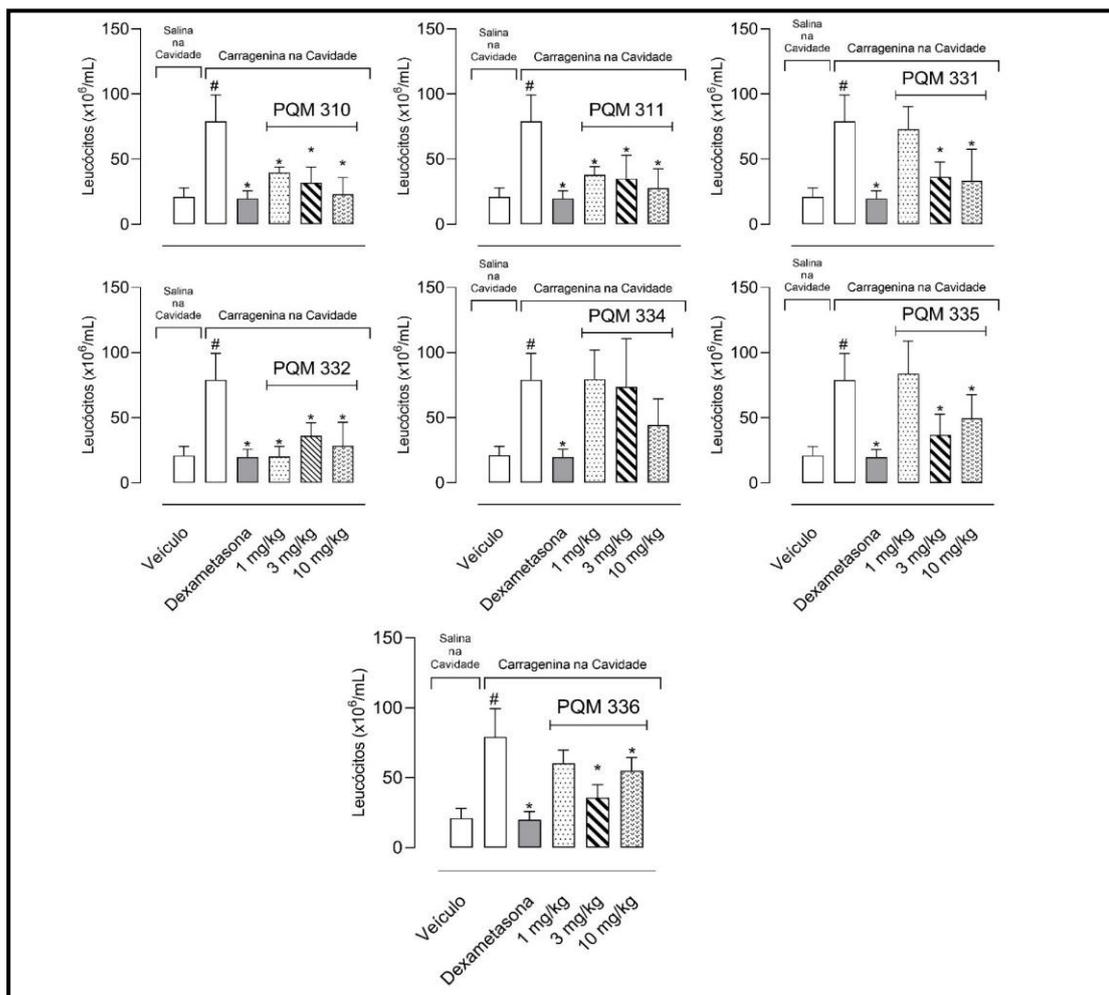
Fonte: do autor

#### 4.1 AVALIAÇÃO FARMACOLÓGICA

Uma vez obtida a série-alvo **52a-g** (**PQM-310**, **PQM-311**, **PQM-331**, **PQM-332**, **PQM-334**, **PQM-335** e **PQM-336**, respectivamente), nosso objetivo passou a ser a avaliação *in vivo* do possível efeito anti-inflamatório, para o qual elegemos o ensaio de migração celular induzida por carragenina para bolsa de ar subcutânea (BAS). Neste modelo animal, foi possível observar que as substâncias **PQM-310** (**52a**), **PQM-311** (**52b**) e **PQM-332** (**52d**) reduziram de forma muito significativa a quantidade de leucócitos que migraram para a cavidade, em todas as doses utilizadas (1, 3 e 10 mg/kg, Figura 51). Entretanto, não foi possível observar uma curva dose-resposta, o que pode ser explicado pela possibilidade de já estarmos utilizando doses responsáveis pelo efeito máximo. Para comprovar ou descartar esta hipótese, seria necessário fazer-se o experimento utilizando doses menores do que 1 mg/kg, o que ainda será realizado. Já as substâncias **PQM-331** (**52c**), **PQM-335** (**52f**) e **PQM-336** (**52g**) só reduziram de forma significativa a migração de células sob doses de 3 ou 10 mg/kg. É interessante notar que, na dose máxima utilizada de 10 mg/kg,

**PQM-335 (52f)** e **PQM-336 (52g)** mostraram um efeito aparentemente menor do que na dose intermediária de 3 mg/kg. Por outro lado, ao contrário das demais substâncias da série, **PQM-334 (52e)** não demonstrou inibição significativa na capacidade migratória de leucócitos para o sítio inflamatório em quaisquer doses utilizadas no ensaio (Figura 50).

Figura 51 - Gráficos de contagem de leucócitos totais do modelo de migração celular induzido por carragenina.

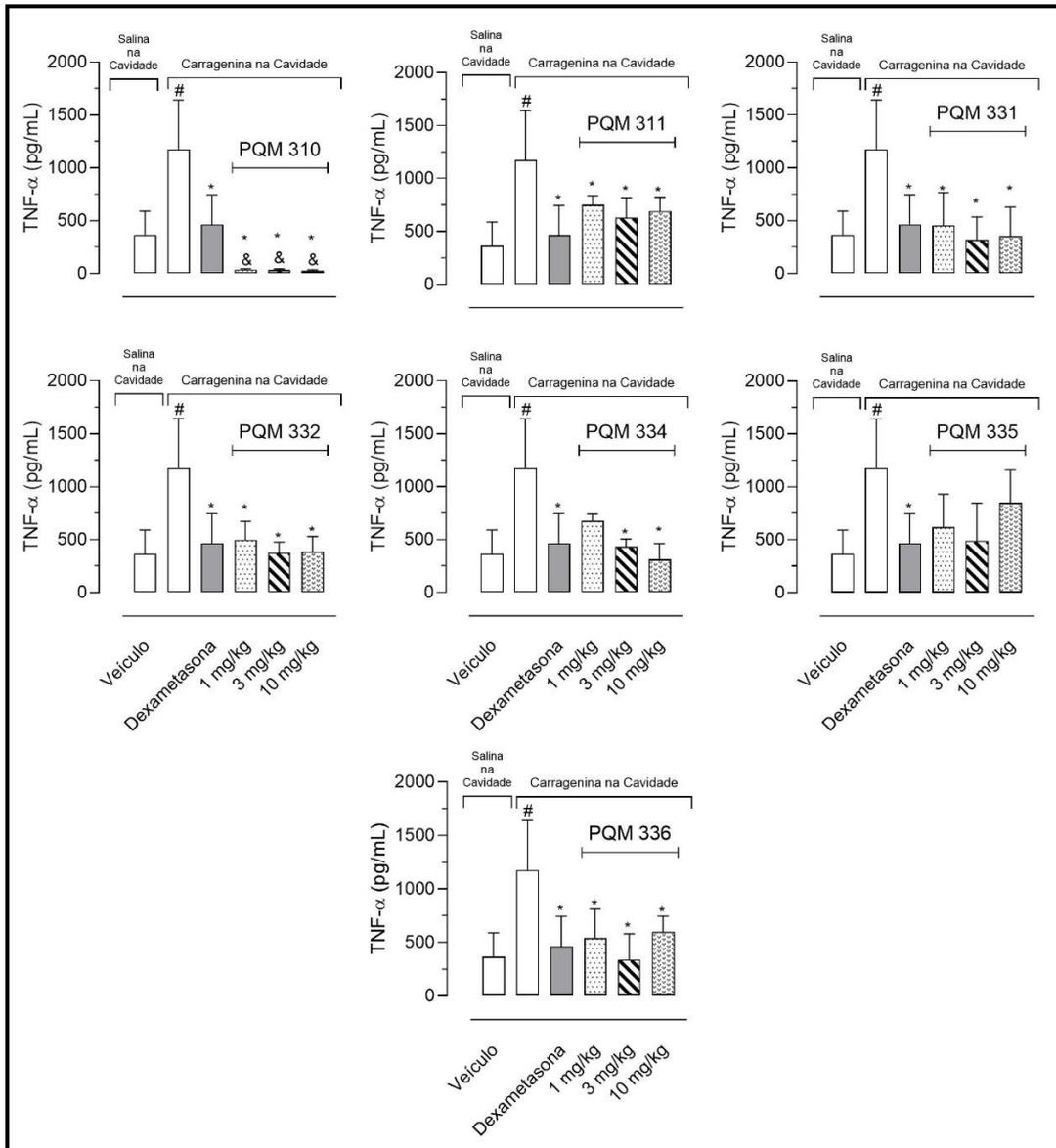


Os animais foram pré-tratados por via oral, 60 minutos antes da injeção de carragenina na cavidade (0,5%), com veículo (Tween 80) ou com as diferentes substâncias, nas doses 1, 3 ou 10 mg/kg. Dexametasona foi administrada i.p., 15 minutos antes da injeção de carragenina na BAS. Os resultados são expressos como média  $\pm$  desvio-padrão (n=5-8) e a análise estatística foi feita por ANOVA seguido do pós-teste Tukey ( $p < 0,05$ ). # $p < 0,005$  comparando-se o grupo que recebeu carragenina na BAS com o grupo que recebeu salina na BAS. \* $p < 0,005$  comparando-se os animais pré-tratados com dexametasona ou as substâncias antes da carragenina na BAS com o grupo que recebeu somente carragenina na BAS.

Uma análise da relação estrutura-atividade, ainda que preliminar, pela ausência dos dados de dose-resposta ( $IC_{50}$ ) dos resultados do efeito anti-inflamatório, evidenciado pela diminuição da migração leucocitária mostrada na Figura 51, parece indicar a importância de grupos hidroxila como substituintes em ambos os anéis aromáticos para assegurar a melhor atividade anti-inflamatória. De fato, das substâncias de melhor perfil no modelo de bolsa de ar, **PQM-310 (52a)**, **PQM-311 (52b)** e **PQM-332 (52d)**, somente **PQM-332** não possui grupo OH como substituinte na subunidade feruloílica, advinda da curcumina no planejamento estrutural, possuindo um átomo de Cl naquela posição. Outrossim, este fato parece ainda mais claro quando comparamos com **PQM-335 (52f)**, cujo OH na subunidade feruloílica foi modificado para acetila e o efeito sobre a migração de células inflamatórias foi significativamente reduzido em todas as doses. Assim como observado para **PQM-335 (52f)**, à exceção de **PQM-332**, a ausência do padrão *orto*-hidróxi-metóxi, independente da regioquímica, parece ser determinante para a manutenção do efeito anti-inflamatório deste padrão estrutural híbrido curcumina-capsaicina, representado pela série **52**.

Na sequência da avaliação do efeito anti-inflamatório, foi realizada a coleta do exsudato da BAS para quantificação da citocina TNF- $\alpha$ . Os dados apresentados na figura 52 evidenciam que mostram que **PQM-335 (52f)** não reduziu a quantidade da citocina produzida, enquanto **PQM-334 (52e)** só mostrou efeito significativo nas duas maiores doses (3 e 10 mg/Kg). Em contrapartida, todas as outras substâncias reduziram de forma significativa a produção do TNF- $\alpha$ . Vale a pena ressaltar que a inibição evidenciada por **PQM-311 (52b)**, que havia sido destacada na migração de leucócitos na BAS, aboliu quase que completamente a produção de TNF- $\alpha$ , o que reforça seu efeito anti-inflamatório. De fato, sob efeito desta substância, os níveis de TNF- $\alpha$  produzidos nos grupos tratados com quaisquer das 3 doses foram significativamente menores, mesmo quando comparados com o grupo tratado com dexametasona (Figura 52), considerada o padrão ouro de anti-inflamatório. Este conjunto de resultados, ainda que incompletos, sugerem fortemente que **PQM-311 (52b)** seja a molécula mais promissora da série.

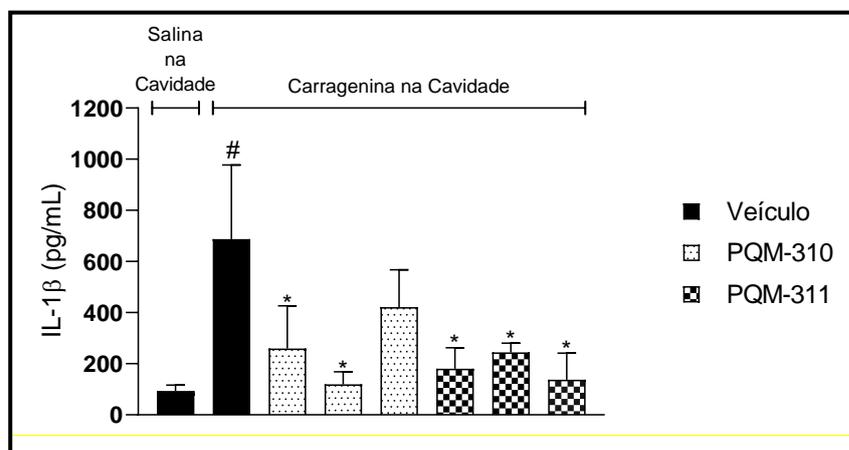
Figura 52 - Gráfico de dosagem de TNF- $\alpha$  a partir do exsudato coletado da bolsa de ar subcutânea.



Os animais foram pré-tratados oralmente, 60 minutos antes da injeção de carragenina na cavidade (0,5%), com veículo (Tween 80) ou com as diferentes substâncias, nas doses 1, 3 ou 10 mg/kg. Dexametasona foi administrada i.p. 15 minutos antes da injeção de carragenina na BAS. Os resultados são expressos como média  $\pm$  desvio-padrão (n=5-8) e a análise estatística foi feita por ANOVA seguido do pós-teste Turkey ( $p < 0,05$ ). # $p < 0,005$  comparando-se o grupo que recebeu carragenina na BAS com o grupo que recebeu salina na BAS. \* $p < 0,005$  comparando-se os animais pré-tratados com dexametasona ou as substâncias antes da carragenina na BAS com o grupo que recebeu somente carragenina na BAS. & $p < 0,001$  comparando-se os animais pré-tratados com as substâncias antes da carragenina na BAS com o grupo que recebeu dexametasona antes da carragenina na BAS.

Visando investigar o mecanismo de ação anti-inflamatória das substâncias-alvo mais promissoras, foi realizada um estudo *in vitro* sobre a inibição de IL-1 $\beta$ . Esta é uma das mais importantes citocinas inflamatórias, cuja produção ocorre em diversos tipos de células, incluindo macrófagos, linfócitos B, monócitos e leucócitos, e pode ser induzida por outros mediadores inflamatórios como o TNF- $\alpha$ , interferon (IFN)- $\alpha$ ,  $\beta$  e  $\gamma$ , além de patógenos bacterianos (e.g. LPS), vírus e antígenos. Neste contexto, considerando as evidências de efeitos anti-inflamatórios destacados para **PQM-310 (52a)** e **PQM-311 (52b)**, ambas foram submetidas à avaliação nos modelos *in vivo* de edema de pata e *in vitro* de migração leucocitária. Nossa hipótese é que, nesta etapa, a investigação da inibição de IL- $\beta$  poderia ser um indicativo de possível via de ação, além de comprovar os efeitos anteriormente observados. De fato, ambas as substâncias foram capazes de inibir fortemente a produção de IL-1 $\beta$  no exsudato da cavidade provocada no modelo de BAS com indução de resposta inflamatória por carragenina, num perfil aparentemente dose-dependente, conforme mostrado na figura 53.

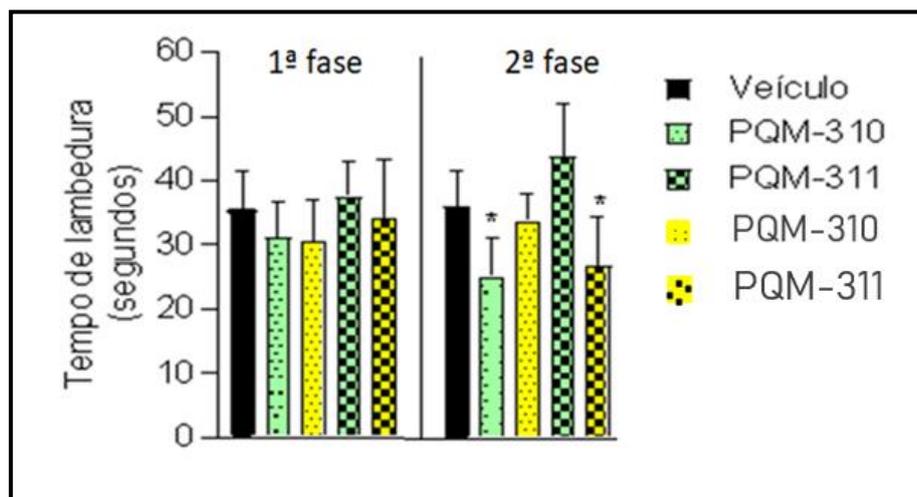
Figura 53 - Gráfico dos dados da avaliação da inibição de IL- $\beta$  oriunda do modelo de bolsa de ar por **PQM-310 (52a)** e **PQM-311 (52b)** nas doses de 1, 3 e 10 mg/Kg.



Uma vez confirmado o efeito anti-inflamatório de **PQM-310 (52a)** e **PQM-311 (52b)**, outro objetivo seria caracterizar um potencial efeito antinociceptivo, independente da atividade anti-inflamatória. Para tanto, ambas as foram avaliadas no modelo *in vivo* de edema de pata de camundongo induzido por administração intraplantar de formalina. Neste modelo observa-se duas fases distintas e bem características, sendo a primeira eminentemente nociceptiva, chamada de fase neurogênica (1ª fase), na qual é possível avaliar o efeito antinociceptivo por ação direta de sensibilização de nociceptores, sem a participação de mediadores inflamatórios. Numa segunda

fase, mais tardia, é possível avaliar o efeito sobre a nocicepção associada ao processo inflamatório agudo, com a participação de citocinas e quimiocinas inflamatórias sobre nociceptores, motivo pelo qual está é chamada de fase inflamatória. Neste ensaio, as substâncias **PQM-310 (52a)** e **PQM-311 (52b)** foram avaliadas em duas doses (1 e 10 mg/Kg), em comparação com o grupo controle, não-tratado, que somente recebeu o veículo. Os resultados apresentados na figura 54 são expressos em tempo de lambedura, que é uma reação do animal ao desconforto, avaliada visualmente, e que permite identificar quantitativamente o efeito nociceptivo induzido pela formalina, que gera uma reação dolorosa, acompanhada de edema.

Figura 54 - Gráfico de efeito das substâncias **PQM-310 (52a)** e **PQM-311 (52b)** avaliadas nas doses de 1 (verde) e 10 (amarelo) mg/Kg no ensaio de edema de pata induzido por formalina em camundongos.

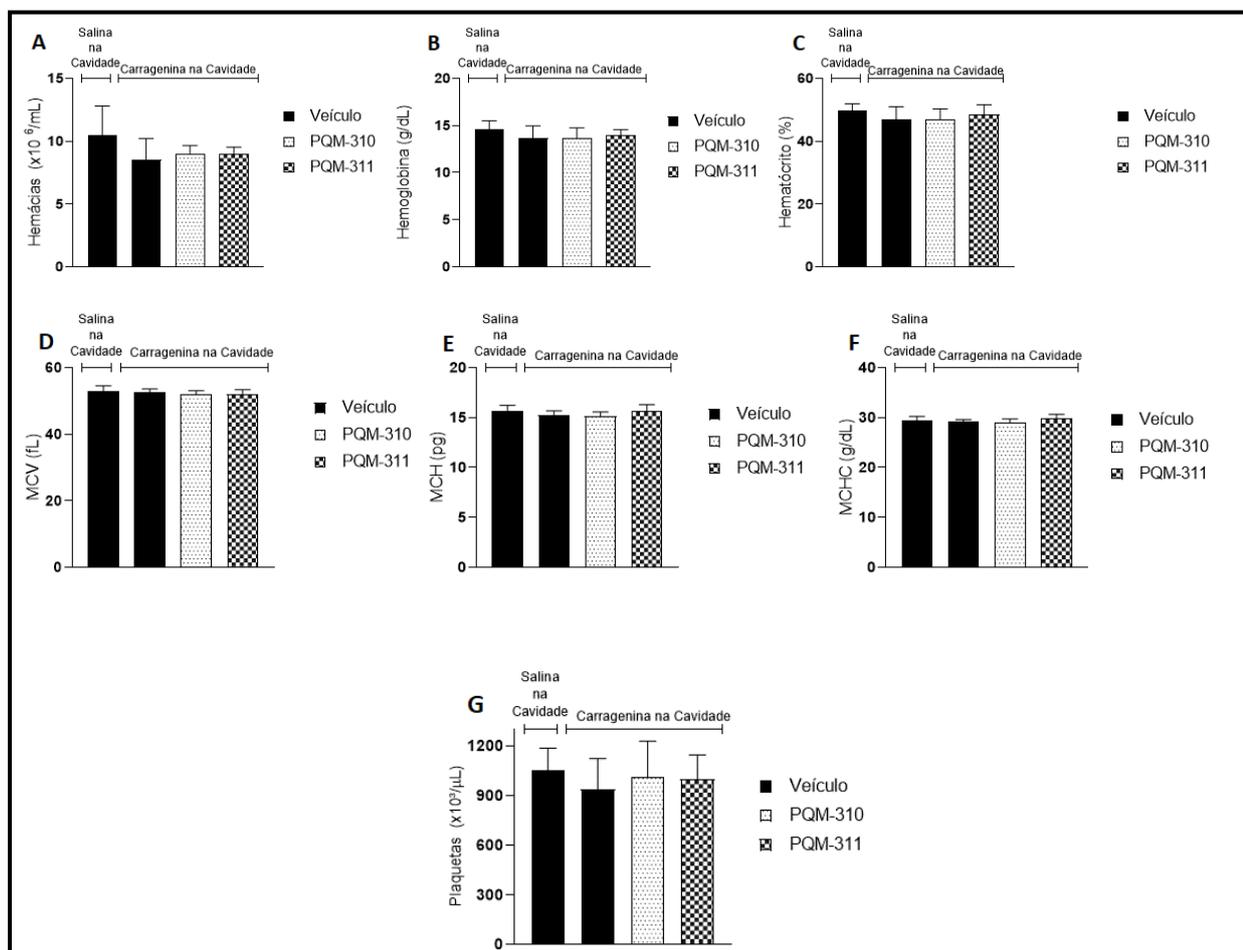


Os resultados obtidos neste ensaio evidenciaram que ambas substâncias apresentaram efeitos nas fases 1 e 2, revelando tanto propriedades antinociceptivas, como anti-inflamatórias. Na fase 1, **PQM-310** demonstrou melhor efeito do que **PQM-311**, com aparente efeito independente da dose, enquanto que **PQM-311** mostrou efeito discreto somente na dose mais alta. Por outro lado, ambos compostos demonstraram efeito significativo na fase inflamatória (fase 2), sendo que, **PQM-310** exerceu melhor efeito anti-inflamatório na menor dose de 1 mg/Kg, enquanto **PQM-311** teve seu melhor perfil anti-inflamatório evidenciado na maior dose (10 mg/kg).

Como forma de avaliação preliminar de toxicidade, foi realizado hemograma dos animais tratados com **PQM-310 (52a)** e **PQM-311 (52b)**, para análise do efeito sobre diferentes parâmetros

e número de células sanguíneas como hemácias, hemoglobina e hepatócitos (Figura 55 A-C), volume médio corpuscular (MCV, indicativo do tamanho médio de hemácias), concentração média de hemoglobina (MCH, referente à quantidade de hemoglobina numa única hemácia) e concentração média de hemoglobina corpuscular (MCHC, referente à quantidade de hemoglobina por unidade de volume em uma única hemácia) (Figura 55 D-F) e plaquetas (Figura 55 G). Como pode ser observado, não foi evidenciado qualquer efeito significativo sobre estas diferentes células e nem sobre o volume de hemácias e quantidade de hemoglobina, indicando ausência de citotoxicidade.

Figura 55 - Gráfico dos dados da análise quantitativa de diferentes células sanguíneas de animais tratados com **PQM-310 (52a)** e **PQM-311 (52b)**.



O conjunto de dados farmacológicos obtidos até o momento, parecem não deixar dúvidas quanto ao efeito anti-inflamatório de **PQM-310 (52a)** e **PQM-311 (52b)**, avaliados em vários modelos clássicos para atividade anti-inflamatória e antinociceptiva, porém não são conclusivos

quanto à potência relativa. Analisando comparativamente os dados de todos os ensaios *in vivo* e *in vitro*, **PQM-311** parece ter o perfil mais promissor anti-inflamatório e possível efeito analgésico, como sugerido nos modelos de BAS e formalina (1<sup>a</sup> e 2<sup>a</sup> fases), inibindo a migração de leucócitos, a produção de TNF- $\alpha$ , por um mecanismo provavelmente associado, pelo menos, à inibição da citocina IL-1 $\beta$  e sem efeitos tóxicos aparentes.

#### 4.2 PREDIÇÃO *IN SÍLICO* DE PARÂMETROS ADME

Como forma de prever um perfil adequado em relação a parâmetros farmacocinéticos e de metabolismo dos compostos da série **52**, foram realizados cálculos computacionais pelo programa QikProp (Schrödinger). Os principais parâmetros estudados foram positivos para a grande maioria das substâncias avaliadas, com obediência aos valores de referência em todos os casos, conforme detalhamento nas tabelas 1 e 2. A porcentagem prevista de absorção oral humana é muito satisfatória para todos os compostos sintetizados, variando de 85 a 100%. O coeficiente de partição (QPlogPo/wb), que determina a lipofilicidade dos compostos, parâmetro indispensável para atravessar as membranas biológicas, mostrou valores médios em relação ao intervalo de valores de referência para a maioria dos compostos, entre 2,76 e 4,3, demonstrando um comportamento adequado relativo ao equilíbrio de solubilidade na fase orgânica e aquosa, sugerindo uma boa biodisponibilidade. Outrossim, parâmetros que refletem a solubilidade e interação com solvente como volume, SASA, QPlogS, CIQPlogS também situam-se em faixa intermediária, sobretudo aos compostos considerados mais promissões **PQM-310** e **PQM-311**, o que sugere um perfil adequado de absorção e biodisponibilidade. Importante salientar que, com respeito à transposição da barreira hematoencefálica pelo coeficiente de partição cérebro/sangue (QPlogBB) e a capacidade de ligação à albumina de soro humano (QPlogKhsa), sugerem pouca facilidade de acesso ao SNC, o que pode ser benéfico quanto a eventuais efeitos centrais adversos. Por outro lado, uma atenção especial deverá ser endereçada à possibilidade de cardiotoxicidade, uma vez que os valores de CI<sub>50</sub> do bloqueio do canal HERG K<sup>+</sup> (QPlogHERG) para todos os compostos (-6,04 a -5,26) estão limítrofes em relação aos valores de referência (< -5), exigindo uma avaliação experimental de toxicidade.

Tabela 1 - Parâmetros ADME previstos por estudos computacionais.

Substância	#stars	mol_MW	CNS	dipolo	volume	QLogPo/w	QLogS	HBD	HBA	%HOA
PQM-310(52a)	0	329,352	-2	5,923	1079,645	2,758	-3,997	3	5,5	91,431
PQM-311(52b)	0	329,352	-2	4,435	1043,761	2,378	-3,593	3	5,5	85,345
PQM-331(52c)	0	343,379	-1	7,315	1121,605	3,506	-4,214	2	5,5	100
PQM-332(52g)	0	351,325	0	6,391	1083,99	4,339	-5,694	2	4	100
PQM-334(52d)	0	317,771	0	5,688	1020,467	3,769	-4,866	2	4	100
PQM-335(52e)	0	313,352	-1	3,855	1047,028	3,372	-4,325	2	4,75	100
PQM-336(52f)	0	341,363	-2	7,275	1126,196	2,776	-4,547	2	6,5	89,579
Reference values	0 - 5	130-725	-2 - +2	1 - 12,5	500-2000	-2 - 6,5	-6,5 - 0,5	0-6	2,0-20,0	>80: alto; <25: baixa

**#Stars:** Número de valores de propriedades (0 a 5); **mol\_MW:** peso molecular (130 a 725); **CNS:** Atividade prevista do sistema nervoso central (-2 a +2); **dipolo:** Momento de dipolo calculado da molécula (1 a 12,5); **Volume:** Volume total acessível por solvente em angstroms cúbicos usando uma sonda com um raio de 1,4 Å (500 a 2000); **QLogP o / w:** Coeficiente de partição octanol / água previsto (-2,0 a 6,5); **QLogS:** Solubilidade aquosa prevista (-6,5 a 0,5); **HBD:** Doador de ligação de hidrogênio (0 a 6); **HBA:** Aceptores de ligação de hidrogênio (2 a 20); **% HOA:** Porcentagem de absorção humana por via oral (<25% baixa;> 80% alta).

Tabela 2 - Parâmetros ADME previstos por estudos computacionais.

Substância	QLogBB	QLogKp	QLogS	#metab	PSA	QLogKhsa	QPPCaco
PQM-310(52a)	-1,35	-2,371	-3,997	5	94,382	0,006	501,793
PQM-311(52b)	-1,513	-2,845	-3,593	5	95,261	-0,069	305,36
PQM-331(52c)	-0,877	-1,569	-4,214	5	78,648	0,188	1300,786
PQM-332(52g)	-0,52	-1,601	-5,694	3	63,999	0,412	1363,379
PQM-334(52d)	-0,635	-1,596	-4,866	3	64,723	0,25	1268,027
PQM-335(52e)	-0,839	-1,518	-4,325	4	73,614	0,153	1341,699
PQM-336(52f)	-1,471	-2,572	-4,547	3	100,935	0,047	390,353
Reference values	-3 - 1,2	-8,0 - -1,0	-6,5 - 0,5	1 - 8	7,0 - 200	-1,5 - 1,5	<25: baixa; >500: alta

**QLogBB:** Permeabilidade na barreira hematoencefálica (-3,0 a 1,2); **QLogKp:** Permeabilidade cutânea prevista, log Kp (-8,0 a -1,0); **QLogS:** Solubilidade aquosa (-6,5 a 0,5); **#metab:** Número de reações metabólicas prováveis (1 a 8); **PSA:** Área de superfície de Van der Waals de átomos polares de nitrogênio e oxigênio (7 a 200); **QLogKhsa:** Previsão de ligação à albumina sérica humana (-1,5 a 1,5); **QPPCaco:** Permeabilidade no ensaio de células Caco-2, modelo para absorção intestinal (<25 – baixa; > 500 – alta).

## 5 PARTE EXPERIMENTAL

### 5.1 QUÍMICA

Neste tópico são descritas todas as etapas químicas para a obtenção da série de moléculas alvo.

### 5.2 GENERALIDADES

O laboratório de pesquisa em química medicinal (PeQuiM) da Universidade Federal de Alfenas (UNIFAL-MG) possui toda a infraestrutura básica necessária para o desenvolvimento químico da síntese das substâncias-alvo, onde foi possível a síntese das substâncias-alvo deste projeto. As etapas sintéticas foram acompanhadas por cromatografia em camada delgada (CCD), e purificados, quando necessário, por cromatografia em coluna (CC) ou recristalização. Para cromatografia em camada delgada (CCD) utilizou-se sílica-gel 60 G Merck® de 0,25 mm de espessura sobre lâminas de alumínio F<sub>254</sub>, da marca Merck e a visualização das substâncias foi feita em câmara escura com lâmpada de UV ( $\lambda = 254$  ou 365 nm).

As purificações foram feitas através da cromatografia em coluna que foi realizada com gel de sílica flash da marca Sigma-Aldrich (220-440 mesh, 0,035 mm – 0,075 mm). A maioria dos solventes utilizados foram utilizados sem prévia purificação e/ou destilação, porém os solventes puros e/ou anidros utilizados foram reparados seguindo a metodologia de Perrin e Armarego (1988). Metanol/Etanol anidro: foram secos com sulfato de magnésio anidro sob agitação por 2 horas, em seguida filtrado. O mesmo foi estocado em um recipiente adequado contendo peneira molecular do tipo A4 ativada. Peneira molecular A4: foi ativada em mufla a 350°C por 3 horas e posteriormente resfriada e mantida em um dessecador com CaCl<sub>2</sub>.

Os espectros de absorção na região do infravermelho (IV) foram gerados por um espectrômetro Nicolet iSso FTIR (Thermo Scientific USA) acoplado a Pike Gladi ATR Technologies (Instituto de Química – UNIFAL), para a inserção direta da amostra. Para a obtenção dos espectros de ressonância magnética nuclear de <sup>1</sup>H e de <sup>13</sup>C foi utilizado um espectrômetro Bruker AC-300 operado em 300 MHz (<sup>1</sup>H) e em 75 MHz (<sup>13</sup>C) do Laboratório de Ressonância Magnética Nuclear da UNIFAL-MG. Como referência interna foi utilizado o pico do tetrametilsilano (TMS). Os deslocamentos químicos ( $\delta$ ) são expressos em partes por milhão (ppm) e as constantes de

acoplamento (*J*) obtidos através do programa MestreNova, em Hertz (Hz). As multiplicidades estão abreviadas da seguinte maneira: s (simpleto), d (duplete), dd (duplo duplete), t (triplete), q (quarteto), m (multiplete).

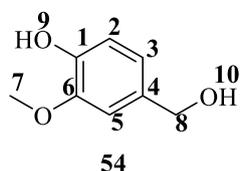
A numeração adotada para os átomos nas estruturas não corresponde à numeração da nomenclatura IUPAC. Isso foi feito para que os compostos com estruturas análogas pudessem ter seus dados de RMN comparados, quando necessário.

### 5.2.1 Síntese dos intermediários sintéticos

Em um balão monotubulado de 100 mL adicionou-se 13,378 mmols (2,036 g) de 4-hidroxi-3-metoxibenzaldeído (**53**), 5 mL de THF e após a solubilização, adicionou-se 13,378 mmols (0,161 g) de carvão ativo e 6,689 mmols (0,253 g) de borohidreto de sódio. Ao final da reação, adicionou-se lentamente 15 mL de água por um período de 3 minutos seguido de filtração. O filtrado foi submetido à uma extração com diclorometano (3 x 10 mL), a fase orgânica foi seca com MgSO<sub>4</sub> anidro e após filtração, o solvente foi retirado com o auxílio de um rotavaporador.

**Nome do composto:** 4-(hidróximetil)-2-metoxifenol (**54**)

**Estado físico:** sólido branco



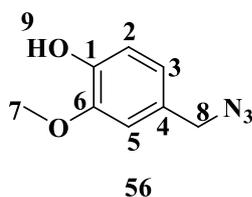
**Formula molecular:** C<sub>8</sub>H<sub>10</sub>O<sub>3</sub>

**Peso molecular:** 154,17 g/mol

**Rendimento:** 66% (2,068g)

Em um balão monotubulado de 100 mL adicionou-se 14,222 mmols (2,1911 g) 4-(hidróximetil)-2-metoxifenol (**54**), 10 mL de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> seco e sob agitação, adicionou-se 5 gotas de dimetilformamida (DMF) e 28,445 mmols (2,1 μL) de cloreto tionila (SOCl<sub>2</sub>). A reação foi mantida em agitação por 3 horas até que CCD indicou o término reacional. A mistura reacional foi seca em rota evaporador e em linha de alto-vácuo. Em um outro balão de 50 mL, adicionou-se 28,445 mmols (1,8492g) de azida sódica e 5 mL de THF, manteve-se em agitação por cerca de 30 min. Passado esse tempo, o conteúdo desse balão foi vertido no balão que continha o cloreto de ácido **55** e deixou-se agitar por 20 horas até que a análise por CCD indicou o término. A mistura reacional foi colocada em funil de separação e foi extraída com clorofórmio (4 x 20 mL). A fase orgânica foi seca com MgSO<sub>4</sub> anidro, filtrada e seca em rotavapor. Fez-se purificação em coluna cromatográfica de gel de sílica, eluída com hexano/acetato de etila (9:1).

**Nome do composto:** 4-(azidometil)-2-metóxfenol (**56**)



**Estado físico:** óleo

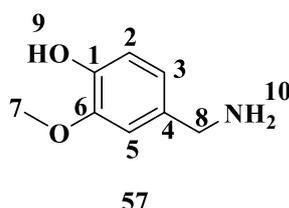
**Formula molecular:** C<sub>8</sub>H<sub>9</sub>N<sub>3</sub>O<sub>2</sub>

**Peso molecular:** 179,18 g/mol

**Rendimento:** 76% (1,947 g)

Num balão monotubulado de 100 mL adicionou-se 2,631 mmols (0,2054 g) de sulfeto de sódio e manteve-se em agitação em 10 mL de água destilada em seguida, adicionou-se 2,631 mmols (0,4715g) de 4-(azidometil)-2-metoxifenol (**56**) e manteve-se a reação sob em refluxo por 50 min. Após o resfriamento, a mistura reacional foi extraída com diclorometano (3 x 15 mL). A análise por CCD das duas fases indicou que o produto estava na fase aquosa e então, ajustou-se o PH para 7 com HCl. A fase aquosa foi lavada com etanol e seca em rotavapor. O produto foi obtido por recristalização feita com etanol seco.

**Nome do composto:** 4-(aminometil)-2-metóxfenol (**57**)



**Estado físico:** sólido branco

**Formula molecular:** C<sub>8</sub>H<sub>11</sub>NO<sub>2</sub>

**Peso molecular:** 153,18 g/mol

**Rendimento:** 75% (0,3036gr)

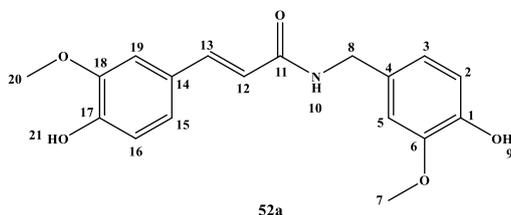
Num balão de 100 mL adicionou-se 1,2 equivalente do ácido cinâmico, 10 mL de acetonitrila e 1,2 equivalente de HOBT e também de EDAC e manteve-se em agitação por cerca de 3 horas quando CCD indicou o consumo do material de partida. Em seguida, adicionou-se 1,2 equivalente do intermediário-chave (**57**) e manteve-se em agitação no banho de gelo por cerca de 1 hora até 24 h. O solvente foi seco em rotavaporador e o produto foi recristalizado com etanol seco (coluna Acetato/Hexano 9/1).

**Nome do composto:** (*E*)-*N*-(4-hidróxi-3-metóxi-benzil)-3-(4-hidróxi-3-metóxi-fenil)acrilamida (**PQM-310, 52a**)

**Aspecto físico:** Sólido amarelo

**Formula molecular:** C<sub>18</sub>H<sub>19</sub>NO<sub>5</sub>

**Peso molecular:** 329,35 g/mol



**Faixa de fusão:** 250-255 °C

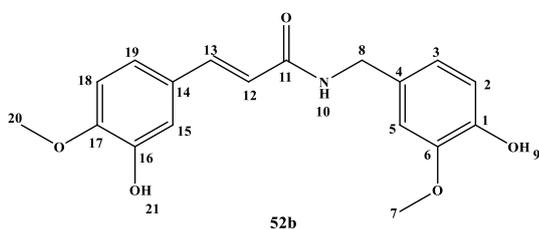
**Rendimento global:** 28%

**IV (v máx, cm<sup>-1</sup>):** 3099 (N-H), 1725/1694 (N-H/ C=O), 1614, 1581 e 1510 cm<sup>-1</sup> (C=C), 1458 e 1288 cm<sup>-1</sup> (C-N), 1201 (C-O), 774 e 719 cm<sup>-1</sup> (C-H).

**RMN de <sup>1</sup>H (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>), δ (ppm):** 7,85 (d, 1H, *J* = 14,67 Hz, H13), 7,67 (d, 2H, *J* = 15,95 Hz, H19, H16), 7,41 (s, 1H, H15), 7,23 (s, 2H, H2 H5), 6,97 (d, 1H, *J* = 14,79 Hz, H3), 6,68-6,80 (m, 1H, H12), 3,77 (d, 8H, *J* = 29,25 Hz, H7, H20, H8).

**RMN de <sup>13</sup>C (75 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>), δ (ppm):** 164,2 (C=O, C11), 152,3 (C-OH, C17), 151,6 (C-OH, C18), 149,5 (C-OH, C6), 148,5 (C-OH, C1), 143,2 (CH, C13), 129,7 (C, C14), 125,7 (C, C4), 124,6 (CH, C19), 120,3 (CH, C16), 119,4 (CH, C15), 116,1 (CH, C2), 112,3 (CH, C5), 109,7 (CH, C3), 107,3 (CH, C12), 56,5 (CH, C7), 56,2 (CH, C20), 42,6 (CH, C8).

**Nome do composto:** (*E*)-*N*-(4-hidróxi-3-metóxi-benzil)-3-(3-hidróxi-4-metóxi-fenil)acrilamida (PQM-311, 52b)



**Aspecto físico:** Sólido amarelo

**Formula molecular:** C<sub>18</sub>H<sub>19</sub>NO<sub>5</sub>

**Peso molecular:** 329,35 g/mol

**Faixa de fusão:** 265-270 °C

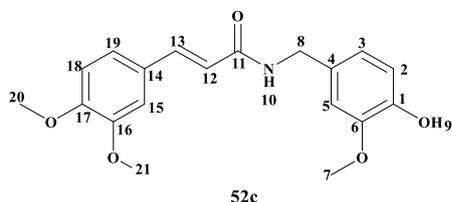
**Rendimento global:** 35%

**IV (v máx, cm<sup>-1</sup>):** 3177 (OH), 2883 (C-H), 1707 (C=O), 1588, 1530 e 1496 (C=C), 1456 e 1275 (C-N), 1219 (C-O), 776 (C-H)

**RMN de <sup>1</sup>H (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>), δ (ppm):** 9,40 (s, 1H, H10), 8,13 (d, 1H, *J*=8,44, H19), 8,00 (d, 1H, *J* = 15,91, H13), 7,82-7,90 (m, 1H, H15), 7,62-7,67 (m, 1H, H18), 7,49-7,54 (m, 1H, H2), 7,28-7,36 (m, 1H, H5), 7,02-7,05 (m, 1H, H3), 6,86 (d, 1H, *J* = 15,95, H12), 3,84 (d, 6H, *J* = 3,78, H7, H20), 3,74 (d, 2H, *J* = 19,87, H8).

**RMN de <sup>13</sup>C (75 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>), δ (ppm):** 168,2 (C=O, C11), 152,0 (C-OH, C17), 150,3 (C-OH, C16), 147,1 (C-OH, C6), 144,6 (C-OH, C1), 136,0 (CH, C19), 128,2 (CH, C13), 127,5 (C, C4), 124,8 (C, C14), 121,4 (CH, C15), 119,4 (CH, C18), 116,6 (CH, C2), 114,4 (C5), 112,4 (CH, C3), 110,2 (CH, C12), 56,2 (CH, C7), 56,0 (CH, C20), 44,8 (CH, C8).

**Nome do composto:** (*E*)-3-(3,4-dimetóxiifenil)-N-(4-hidróxi-3-metóxi-benzil)acrilamida (**PQM-331, 52c**)



**Aspecto físico:** Sólido amarelo

**Formula molecular:** C<sub>19</sub>H<sub>21</sub>NO<sub>5</sub>

**Peso molecular:** 343,38 g/mol

**Faixa de fusão:** 240-245 °C

**Rendimento global:** 21%

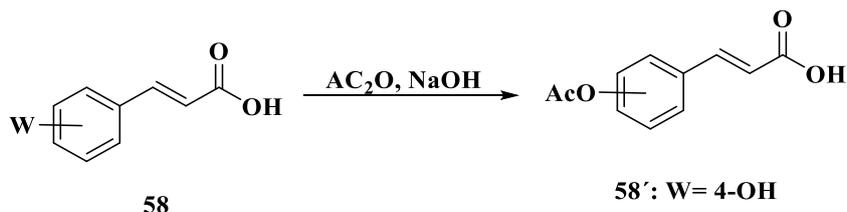
**IV (v máx, cm<sup>-1</sup>):** 2992 e 2943 (CH<sub>3</sub>), 2837 (CH<sub>2</sub>), 1691 (C=O), 1620, 1578, 1521 e 1458 (C=C), 1286 (C-N), 1261/1238 (d, C-O), 763 e 859 (C-H).

**RMN de <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>), δ (ppm):** 8,51 (d, 1H, *J* = 8,44, H19), 8,03 (d, 1H, *J* = 2,77, H15), 7,99 (d, 1H, *J* = 4,52, H18), 7,78 (t, 1H, H13), 7,58 (d, 1H, *J* = 8,16, H2), 7,53 (s, 1H, H5), 7,21 (d, 1H, *J* = 3,5, H3), 6,89 (d, 1H, *J* = 8,21, H12), 3,98 (s, 6H, H21, H20), 3,93 (s, 5H, H7, H8).

**RMN de <sup>13</sup>C (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>), δ (ppm):** 161,9 (C=O, C11), 152,4 (C-OH, C17), 149,4 (C-OH, C16), 149,3 (C-OH, C6), 132,8 (C-OH, C1), 132,7 (CH, C19), 126,9 (CH, C15), 126,7 (CH, C18), 124,9 (C, C14), 116,5 (C, C4), 115,4 (C-H, C13), 112,0 (C-H, C2 e C5), 110,9 (C-H, C3), 109,5 (C-H, C12), 56,1 (CH, C21 e C20), 56,0 (CH, C7), 29,7 (CH, C8).

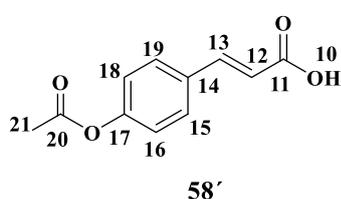
Num balão de 100 mL adicionou-se 2 equivalentes de hidróxido de sódio (NaOH) dissolvida em água destilada 1 equivalente do ácido cinâmico correspondente, manteve-se em agitação no banho de gelo por cerca de 10 min, quando adicionou-se 2 equivalentes de anidrido acético e manteve-se em agitação por cerca de 3 horas em temperatura ambiente. Depois, colocou-se a reação no banho de gelo por cerca de 5 min., ajustou-se o pH em 5 com HCl. O solvente foi seco em rotavaporador e o produto foi recristalizado com água destilada ( A. Hosoda, E. Nomura, K. Mizuno, & H. Taniguchi, 2001).

Figura 56 - Esquema da reação de acetilação do ácido cinâmico **58'**.



Fonte: Do autor

**Nome do composto:** Ácido (*E*)-3-(4-acetoxifenil) acrílico (**58'**)



**Aspecto físico:** Sólido branco

**Formula molecular:** C<sub>11</sub>H<sub>10</sub>O<sub>4</sub>

**Rendimento:** 73%

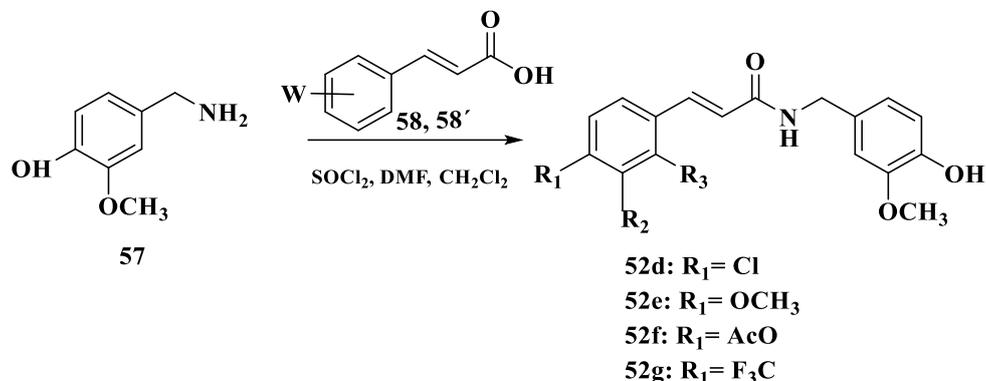
**IV (v máx, cm<sup>-1</sup>):** 1600, 1586, 1508, e 1450cm<sup>-1</sup>(C=C) ,1286 e 1169 (C-O-anel aromático), 1207 e 1311 (C-O Ac. Carboxílico).

**RMN de <sup>1</sup>H (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>), δ (ppm):** 7,71 (d, 2H, *J*= 8,53, H19, H15), 7,45-7,60 (m, 1H, H16), 7,15 (d, 2H, *J*= 8,48, H18, H12), 6,49 (d, 1H, *J*= 16,03, H13), 2,25 (s, 3H, H21).

**RMN de <sup>13</sup>C (75 MHz, DMSO), δ (ppm):** 169,5 (C=O, C11), 168,0 (C=O, C20), 152,2 (C, C17), 143,4 (CH, C19), 132,3 (CH, C15), 130,5 (C, C14), 129,8 (C-H, C16), 122,8 (C-H, C18), 119,7 (C, C12), 116,2 (C, C13), 21,3 (CH, C21).

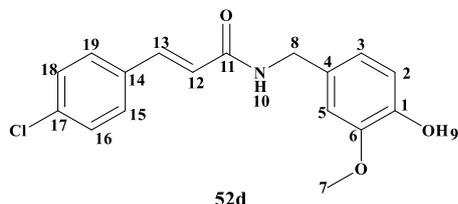
Num balão de 100 mL adicionou-se 1 equivalente do ácido cinâmico (ou ácido cinâmico acetilado) em 15mL de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> seco e sob agitação, logo adicionou-se 10 equivalentes de SOCl<sub>2</sub> e 5 gotas de dimetilformamida (DMF), manteve-se em agitação em temperatura ambiente por cerca de 4 horas até 7h. Logo o solvente foi seco e lavado 3 vezes com CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> seco em rotavaporador, e colocou-se em linha de alto-vácuo por cerca de 3 horas. Em seguida colocou-se a reação seca sob agitação com 15 mL de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> seco e 1,5 equivalentes de amina. A reação foi mantida em agitação por cerca 3 horas até 6h, logo ajustou-se o PH para 7 com NH<sub>4</sub>OH, adicionou-se hexano ou acetato/metanol para precipitar a reação e deixou-se no freezer por 1hora, o produto foi recristalizado com hexano ou acetato.

Figura 57 - Esquema da reação de acoplamento entre a amina-chave **57** e ácidos cinâmicos **58** (ou ácido cinâmico acetilado **58'**) funcionalizados para obtenção das amidas-alvo **52d**, **52e**, **52f**, **52g**.



Fonte: Do autor

**Nome do composto:** (*E*)-3-(4-clorofenil)-*N*-(4-hidróxi-3-metóxi-benzil)acrilamida (**PQM-334**, **52d**)



**Rendimento global:** 16%

**Aspecto físico:** Sólido branco

**Formula molecular:** C<sub>17</sub>H<sub>16</sub>ClNO<sub>3</sub>

**Peso molecular:** 317,77

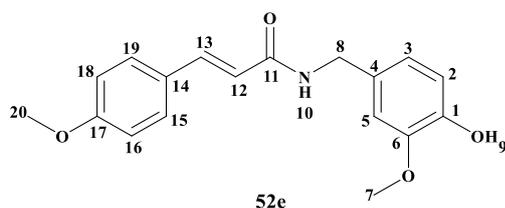
**Faixa de fusão:** 288-291 °C

**IV (v máx, cm<sup>-1</sup>):** 3384 (OH/NH), 1623 (C=O) /1673 (N-H), 1590, 1568, 1488 (C=C), 1282 (C-N), 1204 (C-O), 776 (C-H).

**RMN de <sup>1</sup>H (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>), δ (ppm):** 7,71 (s, 1H, H19), 7,69 (s, 1H, H15), 7,55 (d, 1H, *J*=16,08, 1H, H13), 7,46 (s, 1H, H16), 7,43 (s, 1H, H18), 6,84 (s, 1H, H2), 6,64 (s, 1H, H5), 6,57 (s, 1H, H3), 6,52 (s, 1H, H12), 3,69 (s, 3H, H7), 3,57 (s, 2H, H8).

**RMN de <sup>13</sup>C (75 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>), δ (ppm):** 167,8 (C=O, C11), 147,1 (C-OH, C6), 145,7 (C-OH, C1), 142,9 (C-Cl, C17), 135,1 (C-H, C19), 133,6 (C-H, C15), 130,4 (C, C13), 129,3 (C, C14 e C4), 126,6 (C-H, C16), 123,1 (C-H, C18), 121,5 (C-H, C2), 120,5 (C-H, C5), 115,1 (C-H, C3), 114,8 (C, C12), 57,5 (C-H, C7), 55,9 (C-H, C8).

**Nome do composto:** (*E*)-*N*-(4-hidróxi-3-metóxi-benzil)-3-(4-metoxifenil)acrilamida (**PQM-335**, **52e**)



**Aspecto físico:** Sólido branco

**Formula molecular:** C<sub>18</sub>H<sub>19</sub>NO<sub>4</sub>

**Peso molecular:** 313,35

**Faixa de fusão:** 245-250 °C

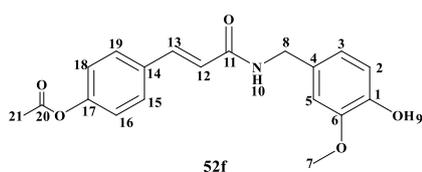
**Rendimento global:** 37%

**IV (v máx, cm<sup>-1</sup>):** 3200 (N-H), 1684 (C=O) /1638 (N-H), 1607, 1577 e 1512 cm<sup>-1</sup> (C=C), 1292 (C-N), 1325/1306 (C-O), 775 (C-H, monossubstituído), 827 (C-H).

**RMN de <sup>1</sup>H (300 MHz, D<sub>2</sub>O), δ (ppm):** 7,60 (d, 3H, *J*= 8,77, H19, H15 e H16), 7,51 (d, 2H, *J*= 15,97, H18 e H13), 6,94 (d, 2H, *J*= 8,77, H2 e H5), 6,64 (s, 1H, H3), 6,36 (d, 1H, *J*= 15,96, H12), 3,77 (s, 5H, H8 e H20), 3,58-3,72 (m, 2H, H7).

**RMN de <sup>13</sup>C (75 MHz, D<sub>2</sub>O), δ (ppm):** 176,0 (C=O, C11); 159,9 (C-OH, C6), 147,1 (C-OH, C1), 144,5 (C-OH, C17), 140,5 (C-H, C19 e C15), 129,3 (C, C4 e C14), 128,1 (CH, C16), 124,1 (CH, C18); 123,4 (C, C13), 121,9 (CH, C2 e C5), 115,3 (CH, C3), 114,3 (C, C12), 56,4 (CH, C8), 55,9 (CH, C20), 55,3 (CH, C7).

**Nome do composto:** Acetato de (*E*)-4-(3-((4-hidróxi-3-metóxi-benzil)amino)-3-oxoprop-1-en-1-il)fenila (**PQM-336, 52f**)



**Aspecto físico:** Sólido branco

**Formula molecular:** C<sub>19</sub>H<sub>19</sub>NO<sub>5</sub>

**Faixa de fusão:** 260-268 °C

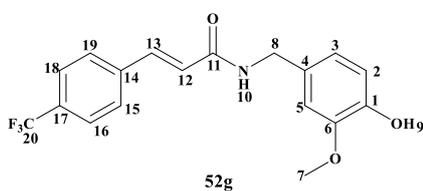
**Rendimento global:** 17%

**IV (v máx, cm<sup>-1</sup>):** 3034 (N-H), 2796 (C-H) (1637 (C=O), 1601, 1505, e 1471 (C=C), 1230 (C-N), 1415/1298 (d, C-O), 919, 882, 785 (C-H).

**RMN de <sup>1</sup>H (300 MHz, DMSO), δ (ppm):** 10,18 (s, 1H, H10); 7,48 (d, 2H, *J*= 2,17, H19 e H15); 7,44 (d, 2H, *J*= 9,67, H16 e H18); 6,79 (d, 3H, *J*= 8,58, H2, H5 e H3); 6,63 (s, 1H, H9); 6,26 (d, 2H, *J*= 15,92, H13 e H12), 3,69 (s, 6H, H7 e H21); 2,44 (d, *J*= 5,58, 2H, H8).

**RMN de <sup>13</sup>C (75 MHz, DMSO), δ (ppm):** 168,4 (C=O, C20), 160,1 (C=O, C11), 147,2 (C-OH, C6), 145,5 (C-OH, C1), 144,6 (C-OH, C17), 130,5 (CH, C19 e C15), 126,4 (CH, C16), 125,5 (CH, C18), 123,1 (C, C14), 122,9 (C, C4), 116,2 (CH, C2 e C5); 115,6 (CH, C3), 115,1 (C, C13), 114,8 (C, C12), 57,4 (CH, C7), 55,9 (CH, C21) 34,4 (CH, C8).

**Nome do composto:** (*E*)-*N*-(4-hidroxi-3-metóxi-benzil)-3-(4-(trifluorometil)fenil)acrilamida (**PQM-336, 52g**)



**Aspecto físico:** Sólido rosa

**Formula molecular:** C<sub>18</sub>H<sub>16</sub>F<sub>3</sub>NO<sub>3</sub>

**Peso molecular:** 351,33

**Faixa de fusão:** 268-273 °C

**Rendimento global:** 31%

**IV (v máx, cm<sup>-1</sup>):** 3475 (OH), 3147 (N-H), 1689 (C=O), 1639, 1576, 1556 e 1456 (C=C), 1286 (C-N), 1327/1286 (d, C-O), 859 (C-H, monossustituído), 835/697 (C-H, para-dissustituído/ C=C).

**RMN de <sup>1</sup>H (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>), δ (ppm):** 7,82-7,84 (m, 2H, H19 e H15), 7,74 (m, 3H, H16, H18 e H2), 7,49 (t, 2H, *J* = 15,81, H5 e H13), 6,81 (m, 1H, H3), 6,65 (s, 1H, H12), 3,70 (s, 2H, H8), 3,60 (s, 3H, H7).

**RMN de <sup>13</sup>C (75 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>), δ (ppm):** 168,5 (C=O, C11), 147,2 (C-OH, C1), 145,6 (C-OH, C6), 140,6 (CH, C19), 137,8 (CH, C15), 133,2 (CH, C16), 131,9 (CH, C18), 128,9 (C14), 128,6 (C4), 126,5 (C17), 126,2 (C-H, C2), 125,7 (CH, C5), 123,1 (CH, C13), 115,1 (C-F, C20); 114,9 (CH, C3), 99,9 (CH, C12), 57,5 (CH, C8), 55,9 (CH, C7).

### 5.3 AVALIAÇÃO FARMACOLÓGICA

A avaliação farmacológica foi realizada no ICB da Universidade Federal do Rio de Janeiro, por João Pedro Barros de Paiva orientado pela Profa. Dra. Patrícia Dias Fernandes.

### 5.4 MATERIAIS E MÉTODOS

#### 5.4.1 Preparo e administração das substâncias PQM-310, PQM-311, PQM-331, PQM-332, PQM-334, PQM-335 e PQM-336 e dos fármacos de referência

As substâncias foram preparadas em uma solução estoque de 100 mg/kg diluídos em dimetilsulfóxido (DMSO) e armazenados a -20°C. Para os ensaios *in vivo*, foram, então, preparadas soluções para administração aos animais nas doses de 1, 3 e 10 mg/kg, administradas por via oral

em volume final de 100 µL de veículo Polisorbato 80 (Tween 80) 1 hora antes dos ensaios. O fármaco de referência utilizado para os ensaios *in vivo* foi a dexametasona (2,5 mg/kg), administrada por via intraperitoneal 15 minutos antes dos ensaios.

#### 5.4.2 Animais

Foram utilizados camundongos Swiss Webster fêmeas, com peso médio de 30g, doados pelo Instituto Vital Brazil. Os animais foram mantidos no biotério do Programa de Pós-graduação em Farmacologia e Química Medicinal, do ICB, com ciclo claro/escuro de 12 h, temperatura ambiente controlada ( $20 \pm 22^{\circ}\text{C}$ ), em caixas forradas com maravalha, com livre acesso a ração e água. Para que não haja interferência dos alimentos na absorção das substâncias administradas aos animais, os mesmos foram mantidos em jejum por 3 horas antes da realização dos experimentos.

Os protocolos experimentais utilizados neste projeto seguiram as regras preconizadas pela Lei 11.794, de 08/10/2008, pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA) e foram aprovados pela Comissão de Ética de Uso de Animais (CEUA), do Centro de Ciências da Saúde/UFRJ, recebendo o seguinte número de protocolo 35/19.

#### 5.4.3 Modelo de migração celular induzido por carragenina para bolsa de ar subcutânea (BAS)

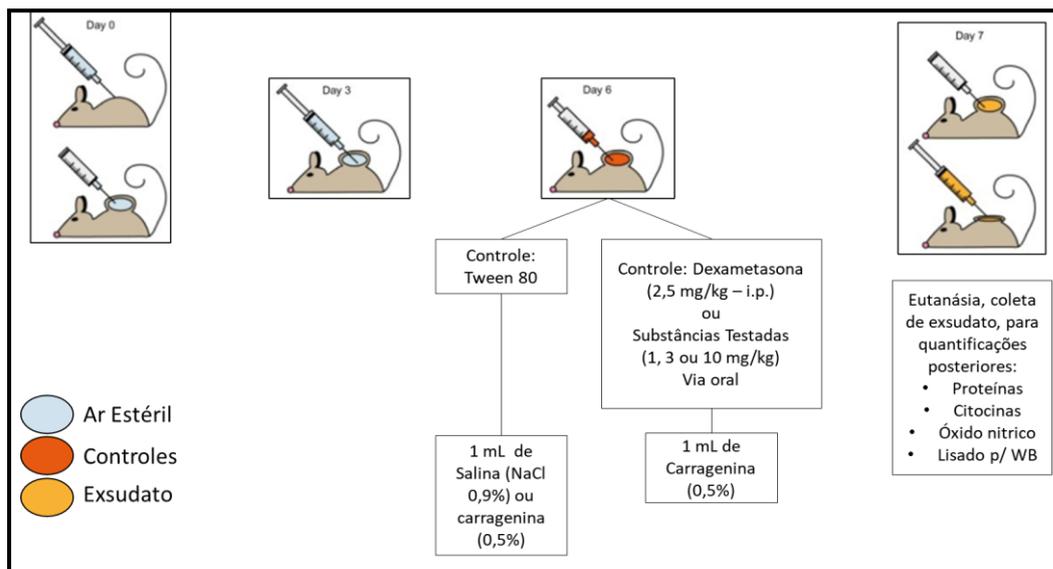
Este modelo consiste na formação de uma bolsa de ar no dorso do camundongo através da injeção de ar estéril. A injeção de uma solução de carragenina (0,5%), um agente flogístico, induz a migração celular e desenvolvimento de um processo inflamatório.

Como pode-se observar no esquema abaixo, a BAS foi formada no dorso dos animais através da injeção de 10 mL de ar estéril. Após 3 dias, com o objetivo de manter a cavidade, foram injetados mais 7 mL de ar estéril. No 6º dia, os animais foram tratados com as substâncias (**PQM-310, PQM-311, PQM-331, PQM-332, PQM-334, PQM-335** ou **PQM-336**) nas doses de 1, 3 ou 10 mg/kg e 60 minutos depois foi feita uma injeção de carragenina 0,5%.

O grupo controle positivo recebeu pré-tratamento com a dexametasona (2,5 mg/kg) 15 minutos antes da injeção de carragenina 0,5%, na BAS. O 2º grupo controle foi composto por animais que receberam pré-tratamento oral com veículo 1 hora antes da injeção da carragenina na BAS. Além disso, o grupo controle negativo foi composto por animais que receberam pré-tratamento oral com veículo 1 hora antes da injeção da salina na BAS.

Após 24 horas da injeção de carragenina ou salina, os animais foram sacrificados e a BAS foi lavada com 1 mL de salina. Do exsudato coletado da BAS foi realizada a contagem total dos leucócitos. O exsudato foi centrifugado a 1500 r.p.m., por 8 minutos a 4°C. O sobrenadante foi armazenado a -20°C para dosagens posteriores.

Figura 58 - Esquema do modelo de migração celular induzido por carragenina na bolsa de ar subcutânea.



#### 5.4.4 Quantificação de citocina IL-1 $\beta$

A quantificação de citocinas foi realizada utilizando kits específicos de ELISA, para TNF- $\alpha$ . Imunoplasmas de 96 poços foram incubadas durante a noite, a 4°C, com o anticorpo de captura específico para a citocina. No dia seguinte, as placas foram lavadas e incubadas com o tampão de bloqueio por uma hora, em temperatura ambiente. Em seguida, foram adicionados 25 $\mu$ L das amostras ou padrão específico e as placas foram mais uma vez incubadas. Após a incubação overnight, as placas foram lavadas com o tampão de lavagem e incubadas por 1 hora em temperatura ambiente com o anticorpo de detecção conjugado a uma enzima. As placas foram novamente lavadas e a solução de substrato foi adicionada. Após incubação por 30 minutos, ao abrigo da luz, adicionou-se H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> (1N), como solução de parada. A absorbância foi medida a 450nm, utilizando-se um leitor de microplacas.

#### 5.4.5 Modelo de lambedura de pata induzido por formalina

Os animais recebem uma injeção de 20µL de formalina (2,5% v/v) na superfície dorsal da pata traseira. O tempo de lambedura após a injeção foi contabilizado imediatamente. A resposta nociceptiva progride em duas fases: 0-5min após a injeção de formalina (primeira fase que é caracterizada pela resposta dolorosa neurogênica) e de 15-30 min (segunda fase que é caracterizada pela resposta dolorosa inflamatória). Os animais foram tratados por via oral com **PQM-310 (52a)** e **PQM-311 (52b)** nas doses de 1 e 10 mg/kg, 60 minutos antes da administração.

#### 5.5 PREDIÇÃO DE PROPRIEDADES ADME

Baseado em modelos estruturais 2D, desenhados no software ChemDraw Professional, versão 15.0, os compostos estudados foram submetidos ao Programa QikProp 3.1 (Schrödinger) para a predição de propriedades ADME e algumas propriedades físico-químicas relevantes para avaliação de provável perfil farmacocinético e de toxicidade.

## 6 CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS

No desenvolvimento deste projeto, foram sintetizados 7 novos compostos híbridos capsaicina-curcumina, **PQM-310 (52a)**, **PQM-311 (52b)**, **PQM-331 (52c)**, **PQM-332 (52d)**, **PQM-334 (52e)**, **PQM-335 (52f)** e **PQM-336 (52g)**, planejados como potenciais candidatos a protótipos de candidatos a fármacos com perfil analgésico e anti-inflamatório. A síntese química envolveu de 5 a 6 etapas, com rendimentos globais moderados, da ordem de 16 a 44%. A avaliação farmacológica *in vivo* foi baseada nos modelos de bolsa de ar subcutânea (BAS), com resposta inflamatória induzida por carragenina, modelo de edema de pata induzido por carragenina e por formalina, todos em camundongos. Os resultados evidenciaram os compostos **PQM-310 (52a)** e **PQM-311 (52b)**, com os melhores efeitos anti-inflamatórios da série-alvo, com destaque para **PQM-311**, que demonstrou ser o ligante mais promissor, capaz de inibir a migração leucocitária em BAS, inibindo a produção de TNF- $\alpha$ , por um mecanismo de ação que, pelo menos em parte, está associado à inibição da citocina IL-1 $\beta$ . Além disso, no modelo de edema de pata induzido por formalina, além do efeito anti-inflamatório, **PQM-311** também demonstrou atividade antinociceptiva significativa. A avaliação de possível toxicidade, tanto em exame de sangue como em predição *in silico* sugerem que as substâncias-alvo, sobretudo as mais promissoras, não são significativamente tóxicas. Apesar de incompletos, estes resultados apontam para **PQM-310** e **PQM-311** como potenciais candidatos a protótipos de fármacos anti-inflamatórios e analgésicos, potentes, pouco tóxicos e com um padrão molecular, até o momento, inédito e inovador. A caracterização do perfil farmacológico ainda carece de complementação, necessitando ainda da determinação de suas potências relativas, pelo cálculo de das curvas dose-resposta, bem como de um estudo mais aprofundado do mecanismo de ação envolvido, toxicidade e estabilidade química e plasmática. Todos estes dados estão sob avaliação em colaboração com o grupo da Profa. Dra. Patrícia Dias Fernandes, do ICB-UFRJ, cujos avanços e dados adicionais foram amplamente prejudicados pelos efeitos da pandemia de COVID-19.

## REFERÊNCIAS

- 1) 2019 ALZHEIMER'S DISEASE FACTS AND FIGURES Includes a Special Report on Alzheimer's Detection in the Primary Care Setting: Connecting Patients and Physicians. [s. l.], 2019.
- 2) A, H. *et al.* Preparation of a (+/-)-1,6-di-O-feruloyl-myo-inositol derivative: an efficient method for introduction of ferulic acid to 1,6-vicinal hydroxyl groups of myo-inositol. **The Journal of organic chemistry**, [s. l.], v. 66, n. 21, p. 7199–7201, 19 out. 2001.
- 3) ABDOLLAHI, E. *et al.* **Therapeutic effects of curcumin in inflammatory and immune-mediated diseases: A nature-made jack-of-all-trades?** **Journal of Cellular Physiology** Wiley-Liss Inc., [s. l.], fev. 2018.
- 4) AGGARWAL, B. B. *et al.* CURCUMIN: THE INDIAN SOLID GOLD. *In: The Molecular Targets and Therapeutic Uses of Curcumin in Health and Disease*. Boston, MA: Springer US, 2007. p. 1–75.
- 5) AHMED, S. M. U. *et al.* Nrf2 signaling pathway: Pivotal roles in inflammation. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Basis of Disease**, [s. l.], v. 1863, n. 2, p. 585–597, 1 fev. 2017.
- 6) ARONOFF, D. M.; NEILSON, E. G. **Antipyretics: Mechanisms of action and clinical use in fever suppression** **American Journal of Medicine**, [s. l.], set. 2001. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0002934301008348>. Acesso em: 22 abr. 2020.
- 7) ASGHAR, W.; JAMALI, F. **The effect of COX-2-selective meloxicam on the myocardial, vascular and renal risks: a systematic review** **Inflammopharmacology** Birkhauser Verlag AG, [s. l.], 2014. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25515365/>. Acesso em: 14 set. 2020
- 8) ASHOK KALE, NAGARAJU MEDISHETTI, K. SIRISHA, C. GANESH KUMAR,

AND KRISHNAIAH ATMAKUR, AND K. A. Na<sub>2</sub>S promoted reduction of azides in water: Synthesis of pyrazolopyridines in one pot and evaluation of antimicrobial activity. **J. Mater. Chem. C**, [s. l.], v. 3, p. 10715–10722, 2015.

- 9) AYDEDE, M.; SHRIVER, A. **Recently introduced definition of “nociplastic pain” by the International Association for the Study of Pain needs better formulation**PainNLM (Medline), [s. l.], 1 jun. 2018. Disponível em: <https://journals.lww.com/00006396-201806000-00022>. Acesso em: 3 abr. 2021.
- 10) BARAL, P., UDIT, S., & CHIU, I. M. (2019). PAIN AND IMMUNITY: IMPLICATIONS FOR HOST DEFENCE. NATURE REVIEWS IMMUNOLOGY, 1. [HTTPS://DOI.ORG/10.1038/S41577-019-0147-2](https://doi.org/10.1038/S41577-019-0147-2)PANKAJ; UDIT, S.; CHIU, I. M. Pain and immunity: implications for host defence. **Nature Reviews Immunology**, [s. l.], p. 1, 15 mar. 2019.
- 11) BARNES, E. C.; KUMAR, R.; DAVIS, R. A. The use of isolated natural products as scaffolds for the generation of chemically diverse screening libraries for drug discovery. **Natural Product Reports**, [s. l.], v. 33, n. 3, p. 372–381, 2 mar. 2016.
- 12) BARNES, P. J.; DRAZEN, J. M. Pathophysiology of asthma. *In: Asthma and COPD*. [s. l.] Elsevier Ltd, 2009. p. 399–423.
- 13) BARRIÈRE, D. A. *et al.* Fatty Acid Amide Hydrolase-Dependent Generation of Antinociceptive Drug Metabolites Acting on TRPV1 in the Brain. **PLoS ONE**, [s. l.], v. 8, n. 8, 2013.
- 14) BASITH, S. *et al.* Harnessing the Therapeutic Potential of Capsaicin and Its Analogues in Pain and Other Diseases. **Molecules**, [s. l.], v. 21, n. 8, p. 966, 23 jul. 2016.
- 15) BATLOUNI, M. **Artigo de Revisão Palavras-chave Anti-Inflamatórios Não Esteroides: Efeitos Cardiovasculares, Cérebro-Vasculares e Renais**. [s. l: s.n.], v. 94, n. 4, p. 556-563, 2010.

- 16) BLACKBURN-MUNRO, G.; BLACKBURN-MUNRO, R. E. Chronic Pain, Chronic Stress and Depression: Coincidence or Consequence? **Journal of Neuroendocrinology**, [s. l.], v. 13, n. 12, p. 1009–1023, 21 dez. 2001.
- 17) BORGES, W. G. Antileucotrienos. **Revista Brasileira de Alergia e Imunopatologia**, [s. l.], v. 9, n. 6, p. 200–205, 2000.
- 18) BORGHESE, C. M. *et al.* GABA<sub>A</sub> receptor transmembrane amino acids are critical for alcohol action: disulfide cross-linking and alkyl methanethiosulfonate labeling reveal relative location of binding sites. **Journal of Neurochemistry**, [s. l.], v. 128, n. 3, p. 363–375, fev. 2014.
- 19) BROZ, P.; DIXIT, V. M. Inflammasomes: Mechanism of assembly, regulation and signalling. **Nature Reviews Immunology**, [s. l.], v. 16, n. 7, p. 407–420, 2016.
- 20) BUDOFF, P. W. Use of Mefenamic Acid in the Treatment of Primary Dysmenorrhea. **JAMA: The Journal of the American Medical Association**, [s. l.], v. 241, n. 25, p. 2713–2716, 22 jun. 1979.
- 21) CALDER, P. C. Marine omega-3 fatty acids and inflammatory processes: Effects, mechanisms and clinical relevance. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular and Cell Biology of Lipids**, [s. l.], v. 1851, n. 4, p. 469–484, 1 abr. 2015.
- 22) CARVALHO, S. A. *et al.* Design and synthesis of new (E)-cinnamic N-acylhydrazones as potent antitrypanosomal agents. **European Journal of Medicinal Chemistry**, [s. l.], v. 54, p. 512–521, 2012.
- 23) CATERINA, M. J. *et al.* The capsaicin receptor: a heat-activated ion channel in the pain pathway. **Nature**, [s. l.], v. 389, n. 6653, p. 816–824, out. 1997.
- 24) CHAKRABARTI, S. K. *et al.* Evidence for activation of inflammatory lipoygenase pathways in visceral adipose tissue of obese Zucker rats. **American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism**, [Estados Unidos], v. 300, n. 1, p. E175–

E187, jan. 2011.

- 25) CHANDRASEKHARAN, N. V. *et al.* COX-3, a cyclooxygenase-1 variant inhibited by acetaminophen and other analgesic/antipyretic drugs: Cloning, structure, and expression. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, [Estados Unidos], v. 99, n. 21, p. 13926–13931, 15 out. 2002.
- 26) CHEN, K. *et al.* 15-Deoxy-  $\gamma$  12,14-prostaglandin J2 reduces liver impairment in a model of ConA-induced acute hepatic inflammation by activation of PPAR  $\gamma$  and reduction in NF-  $\kappa$ B activity. **PPAR Research**, [s. l.], v. 2014, 2014.
- 27) COSTA, C. H. DA; RUFINO, R.; E SILVA, J. R. L. Células inflamatórias e seus mediadores na patogênese da dpoc. **Revista da Associação Médica Brasileira**, [Brasil], v. 55, n. 3, p. 347–354, 2009.
- 28) COUTINHO, M. A. S. ; MUZITANO, M. F. ; COSTA, S. S. Flavonoids: Potential therapeutic agents for the inflammatory process. **Revista Virtual de Química**, [Brasil], v. 1, n. 3, p. 241–256, 2009.
- 29) DROUIN-OUELLET, J.; CICCHETTI, F. Inflammation and neurodegeneration: The story “retolled”. **Trends in Pharmacological Sciences**, [s. l.], v. 33, n. 10, p. 542-551, out. 2012.
- 30) ETIENNE, R.; PEREIRA, DIAS VIEGAS F.; VIEGAS, C. Aspectos Fisiopatológicos da Inflamação e o Planejamento de Fármacos: uma Visão Geral Atualizada. **Revista Virtual de Química**, [Brasil], v. 13, n. 1, Nov. 2020.
- 31) FANONI, D. *et al.* Evidence for a role of autoinflammation in early-phase psoriasis. **Clinical & Experimental Immunology**, [s. l.], v. 198, n. 3, p. 283–291, 17 dez. 2019.
- 32) FERNANDES, E. S. *et al.* Capsaicin and Its Role in Chronic Diseases. *In*: [s. l.] Springer, Cham, 2016. p. 91–125.

- 33) FIORUCCI, S.; SANTUCCI, L. Hydrogen sulfide-based therapies: Focus on H<sub>2</sub>S releasing NSAIDs. **Inflammation and Allergy - Drug Targets**, [s. l.], v. 10, n. 2, p. 133–140, 1 abr. 2011.
- 34) FISCHER, L. *et al.* The molecular mechanism of the inhibition by licofelone of the biosynthesis of 5-lipoxygenase products. **British Journal of Pharmacology**, [s. l.], v. 152, n. 4, p. 471–480, out. 2007.
- 35) FLORA FILHO, R.; ZILBERSTEIN, B. Nitric oxide: the simple messenger passing through complexity. Metabolism, synthesis and functions. **Revista da Associação Médica Brasileira**, [Brasil], v. 46, n. 3, p. 265-271, 2000.
- 36) FOLCO, G.; MURPHY, R. C. Eicosanoid transcellular biosynthesis: From cell-cell interactions to in vivo tissue responses. **Pharmacological Reviews**, [s. l.], v. 58, n. 3, p. 375-388, set. 2006. Disponível em: <http://pharmrev.aspetjournals.org/lookup/doi/10.1124/pr.58.3.8>. Acesso em: 22 abr. 2020.
- 37) FURCHGOTT, R. F.; IGNARRO, L. J.; MURAD, F. **The Nobel Prize in Physiology or Medicine**, [s. l.], out. 1998. Disponível em: <https://www.nobelprize.org/prizes/medicine/1998/press-release/>. Acesso em: 20 jun. 2020.
- 38) GERLICZ-KOWALCZUK, Z. *et al.* Serum concentrations of IL-17A, IL-17B, IL-17E and IL-17F in patients with systemic sclerosis. **Archives of Medical Science**, [s. l.], v. 15, n. 3, p. 706–712, 2019.
- 39) GHASEMI, F. *et al.* Effects of Curcumin on Microglial Cells. **Neurotoxicity Research**, [s. l.], p. 1–15, 4 abr. 2019.
- 40) GHOLIJANI, N.; YAZDANI, M. R.; DASTGHEIB, L. Predominant role of innate pro-inflammatory cytokines in vitiligo disease. **Archives of Dermatological Research**, [s. l.], v. 312, n. 2, p. 123–131, 1 mar. 2019.

- 41) GRINDEL, J. M. The pharmacokinetic and metabolic profile of the antiinflammatory agent tolmetin in laboratory animals and man. **Drug Metabolism Reviews**, [s. l.], v. 12, n. 2, p. 363–377, 22 jan. 1981.
- 42) GUSTAFSON, B. *et al.* Inflammation and impaired adipogenesis in hypertrophic obesity in man. **American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism**, [Estados Unidos], v. 297, n. 5, p. E999–E1003, nov. 2009.
- 43) HENEKA, M. T.; O'BANION, M. K.; OBANION, M. Inflammatory processes in Alzheimer's disease. **Journal of Neuroimmunology**, [s. l.], v. 184, n. 1–2, p. 69–91, mar. 2007.
- 44) HÖGESTÄTT, E. D. *et al.* Conversion of acetaminophen to the bioactive N-acetylphenolamine AM404 via fatty acid amide hydrolase-dependent arachidonic acid conjugation in the nervous system. **Journal of Biological Chemistry**, [s. l.], v. 280, n. 36, p. 31405–31412, 2005.
- 45) HOOGSTRAATE, J. *et al.* COX-inhibiting nitric oxide donors (CINODs) - A new paradigm in the treatment of pain and inflammation. **Inflammopharmacology**, [s. l.], v. 11, n. 4–6, p. 423–428, 2003.
- 46) HOP, H. T. *et al.* Activation of NF- $\kappa$ B-Mediated TNF-Induced Antimicrobial Immunity Is Required for the Efficient *Brucella abortus* Clearance in RAW 264.7 Cells. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, [s. l.], v. 7, n. OCT, p. 437, 9 out. 2017.
- 47) HUMBER, L. G. Etodolac: The chemistry, pharmacology, metabolic disposition, and clinical profile of a novel antiinflammatory pyranocarboxylic acid. **Medicinal Research Reviews**, [s. l.], v. 7, n. 1, p. 1–28, jan. 1987.
- 48) IANNOTTI, F. A.; MARZO, V. DI; PETROSINO, S. Endocannabinoids and endocannabinoid-related mediators: Targets, metabolism and role in neurological disorders. **Progress in Lipid Research** Elsevier Ltd, [s. l.], v. 62, p. 107-128, abr. 2016.

- 49) JI, R.-R.; CHAMESSIAN, A.; ZHANG, Y.-Q. Pain regulation by non-neuronal cells and inflammation. **Science (New York, N.Y.)**, [Nova york], v. 354, n. 6312, p. 572–577, 4 nov. 2016.
- 50) JINGJING LI, CHUANYONG GUO, J. W. 15-Deoxy- $\Delta$ -12,14-Prostaglandin J2 (15d-PGJ2), an Endogenous Ligand of PPAR-: Function and Mechanism. **PPAR Research**, [s. l.], v. 2019, p. 1–10. Disponível em: <https://www.hindawi.com/journals/ppar/2019/7242030/>. Acesso em: 19 jun. 2020.
- 51) KATSELOU, M. G.; MATRALIS, A. N.; KOUROUNAKIS, A. P. Multi-Target Drug Design Approaches for Multifactorial Diseases: From Neurodegenerative to Cardiovascular Applications. **Current Medicinal Chemistry**, [s. l.], v. 21, n. 24, p. 2743–2787, 2014.
- 52) KELESIDIS, T. *et al.* The role of platelet-activating factor in chronic inflammation, immune activation, and comorbidities associated with HIV infection. **AIDS Reviews** Publicaciones Permanyer, [s. l.], v. 17, n. 4, p. 191-201, 2015.
- 53) KIRICHENKO, T. V. *et al.* Anti-cytokine therapy for prevention of atherosclerosis. **Phytomedicine**, [s. l.], v. 23, n. 11, p. 1198–1210, 15 out. 2016.
- 54) KNOWLES, R. G. Development of Anti-Inflammatory Drugs - the Research and Development Process. **Basic and Clinical Pharmacology and Toxicology**, [s. l.], v. 114, n. 1, p. 7–12, 2014.
- 55) LAMONTAIN, V. *et al.* Stimulation of TNF receptor type 2 expands regulatory T cells and ameliorates established collagen-induced arthritis in mice. **Cellular & Molecular Immunology**, [s. l.], v. 16, n. 1, p. 65–74, 29 jan. 2019.
- 56) LAMPA, J. Pain without inflammation in rheumatic diseases. **Best Practice and Research: Clinical Rheumatology** Bailliere Tindall Ltd, [s. l.], v. 33, n. 3, p. 101439, 1 jun. 2019. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S152169421930124X>. Acesso em: 3 abr.

2021.

- 57) LUIS, F. P.; ALINE, A.; MILENE, D. C.; THIAGO, N. S.; DAIANE, P. C.; RENATA, B. C. Inflamação: História, Tipos e Causas. **Uningá Review**, [s. l.], p. 53–56, 2010.
- 58) LUONGO, L. *et al.* Palvanil, a non-pungent capsaicin analogue, inhibits inflammatory and neuropathic pain with little effects on bronchopulmonary function and body temperature. **Pharmacological Research**, [s. l.], v. 66, n. 3, p. 243–250, 1 set. 2012.
- 59) LUSTER, A. D. Chemokines — Chemotactic Cytokines That Mediate Inflammation. **New England Journal of Medicine**, [Massachusetts], v. 338, n. 7, p. 436–445, 12 fev. 1998.
- 60) MARTINU, T.; DAILEY, W. P. Facile one-pot preparation of 3-chloro-2-(chloromethyl)propene and an ab initio study of the deamination reaction of nitrosoaziridine. **Journal of Organic Chemistry**, [s. l.], v. 65, n. 20, p. 6784–6786, 2000.
- 61) MELO, T. R. F. DE *et al.* Pharmacological evaluation and preparation of nonsteroidal anti-inflammatory drugs containing an N-acyl hydrazone subunit. [s. l.], **International Journal of Molecular Sciences**, v. 15, n. 4, p. 5821–5837, 2014.
- 62) MITCHELL, J. A. *et al.* Selectivity of nonsteroidal antiinflammatory drugs as inhibitors of constitutive and inducible cyclooxygenase. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, [Estados Unidos], v. 90, n. 24, p. 11693–11697, 15 dez. 1993.
- 63) MOREIRA LIMA, L.; MANSSOUR FRAGA, C. A.; BARREIRO, E. J. **Modern antiasthmatic drugs: Cysteinyl leukotrienes receptors antagonists** *Quimica Nova* Sociedade Brasileira de Química, [Brasil], v. 25, n. 5, p. 825–834, 2002. Disponível em: [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0100-40422002000500019&lng=en&nrm=iso&tlng=pt](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-40422002000500019&lng=en&nrm=iso&tlng=pt). Acesso em: 14 set. 2020.
- 64) MORTEZAEE, K. *et al.* Mechanisms of apoptosis modulation by curcumin: Implications

for cancer therapy. **Journal of Cellular Physiology**, [s. l.], 8 jan. 2019.

- 65) MUSCARA, M.; WALLACE, J. COX-Inhibiting Nitric Oxide Donors (CINODs): Potential Benefits on Cardiovascular and Renal Function. **Cardiovascular & Hematological Agents in Medicinal Chemistry**, [s. l.], v. 4, n. 2, p. 155–164, 4 jul. 2008.
- 66) NEMMAR, A. *et al.* Pulmonary Inflammation and Thrombogenicity Caused by Diesel Particles in Hamsters: Role of Histamine. **Journal of Cellular Physiology**, [s. l.], v. 168, n. 11, p. 1366–1372, 1 dez. 2003.
- 67) OLIVEIRA JÚNIOR, J. O. DE; PORTELLA JUNIOR, C. S. A.; COHEN, C. P. Inflammatory mediators of neuropathic pain. **Revista Dor**, [Brasil], v. 17, p. 35–42, 2016.
- 68) PALOCZI, J. *et al.* Neuroprotection in Oxidative Stress-Related Neurodegenerative Diseases: Role of Endocannabinoid System Modulation. **Antioxidants and Redox Signaling**, [s. l.], v. 29, n. 1, p. 75–108, 2018.
- 69) PASERO, C. Pathophysiology of neuropathic pain. **Pain Management Nursing**, [s. l.], v. 5, p. 3–8, 1 dez. 2004.
- 70) PATHAN, H.; WILLIAMS, J. Basic opioid pharmacology: an update. **British journal of pain**, [s. l.], v. 6, n. 1, p. 11–6, fev. 2012.
- 71) PATRIGNANI, P.; PATRONO, C. **Cyclooxygenase inhibitors: From pharmacology to clinical read-outs** *Biochimica et Biophysica Acta - Molecular and Cell Biology of Lipids* Elsevier B.V., [s. l.], v. 1851, n. 4, p. 422-432, 2015. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25263946/>. Acesso em: 14 set. 2020.
- 72) PENTIKÄINEN, P. J.; NEUVONEN, P. J.; BACKMAN, C. Human pharmacokinetics of tolfenamic acid, a new anti-inflammatory agent. **European Journal of Clinical Pharmacology**, [s. l.], v. 19, n. 5, p. 359–365, set. 1981.

- 73) PISANTI, S. *et al.* **Cannabidiol: State of the art and new challenges for therapeutic applications** *Pharmacology and Therapeutics* Elsevier Inc., [s. l.], v. 175, p. 133-150, jul. 2017.
- 74) POLYANA, X. T. . M. A. A. B. **ESTRUTURA QUÍMICA E INTERAÇÃO MOLECULAR FARMACODINÂMICA ENTRE SALICILATOS E OXICANS**. [s. l.]: s.n.], v. 8, N. 14, p. 1537-2012, 2012. Disponível em: [http://pt.wikipedia.org/wiki/Intermediário\\_%28química%29](http://pt.wikipedia.org/wiki/Intermediário_%28química%29). Acesso em: 22 abr. 2020.
- 75) PRASHER, P. *et al.* Developmental perspectives of the drugs targeting enzyme-instigated inflammation: a mini review. **Medicinal Chemistry Research**, [s. l.], v. 28, n. 4, p. 417–449, 2 abr. 2019.
- 76) QIAN, J. *et al.* Design and synthesis novel di-carbonyl analogs of curcumin (DACs) act as potent anti-inflammatory agents against LPS-induced acute lung injury (ALI). **European Journal of Medicinal Chemistry**, [s. l.], v. 167, p. 414–425, 1 abr. 2019.
- 77) RATHEESH, M. *et al.* Anti-inflammatory and antioxidant effect of Kerabala: a value-added ayurvedic formulation from virgin coconut oil inhibits pathogenesis in adjuvant-induced arthritis. **Inflammopharmacology**, [s. l.], v. 25, n. 1, p. 41–53, 1 fev. 2016.
- 78) RITTER, J. M. *et al.* **Rang & dale's pharmacology, international edition**. 9th. ed. ELSEVIER HEALTH SCIENCES, [s. l.], 2020.
- 79) RODRIGUES, C. R. **METABOLISMO DAS PLAQUETAS 1**. [s. l: s.n.].
- 80) ROGERS, J. *et al.* Clinical trial of indomethacin in alzheimer's disease. **Neurology**, [s. l.], v. 43, n. 8, p. 1609–1611, 1 ago. 1993.
- 81) SAADI, M. *et al.* Involvement of NLRC4 inflammasome through caspase-1 and IL-1 $\beta$  augments neuroinflammation and contributes to memory impairment in an experimental model of Alzheimer's like disease. **Brain Research Bulletin**, [s. l.], v. 154, p. 81–90, 1

jan. 2020.

- 82) SALINAS, G. *et al.* The cyclooxygenase 2 (COX-2) story: it's time to explain, not inflame. **Journal of cardiovascular pharmacology and therapeutics**, [s. l.], v. 12, n. 2, p. 98–111, jun. 2007.
- 83) SALLMANN, A. R. The history of diclofenac. **The American Journal of Medicine**, [Estados Unidos], v. 80, n. 4 SUPPL. 2, p. 29–33, 28 abr. 1986.
- 84) SAMPATH, M. *et al.* Curcumin loaded poly (lactic-co-glycolic) acid nanofiber for the treatment of carcinoma. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, [s. l.], v. 117, p. 128–134, 1 maio 2014.
- 85) SANTOS, J. C. *et al.* Cancer and cancer survival modulates brain and behavior in a time-of-day-dependent manner in mice. **Scientific Reports**, [s. l.], v. 9, n. 1, p. 6497, 24 dez. 2019.
- 86) SCHER, J. U.; PILLINGER, M. H. **15d-PGJ2: The anti-inflammatory prostaglandin?** **Clinical Immunology** Academic Press Inc., [s. l.], v. 114, n. 2, p. 100–109, 1 fev. 2005.
- 87) SCHNITZER, T. J. *et al.* Efficacy and safety of naproxen in the treatment of patients with osteoarthritis of the knee: A 13-week prospective, randomized, multicenter study. **Osteoarthritis and Cartilage**, [s. l.], v. 18, n. 5, p. 629–639, 1 maio 2010.
- 88) SETAMDIDEH, D.; ZEYNIZADEH, B. Mild and convenient method for reduction of carbonyl compounds with the NaBH<sub>4</sub>/charcoal system in wet THF. **Zeitschrift für Naturforschung - Section B Journal of Chemical Sciences**, [s. l.], v. 61, n. 10, p. 1275–1281, 2006.
- 89) SHANG, K. *et al.* Influence of Capsaicin on Inflammatory Cytokines Induced by Lipopolysaccharide in Myoblast Cells Under In vitro Environment. **Pharmacognosy Magazine**, [s. l.], v. 13, n. Suppl 1, p. S26, 2017.

- 90) SHARMA, J. N.; MOHAMMED, L. A. **The role of leukotrienes in the pathophysiology of inflammatory disorders: Is there a case for revisiting leukotrienes as therapeutic targets?** *Inflammopharmacology* Springer, [s. l.], v. 4, n. 1-2, p. 10-16, mar. 2006.
- 91) SHEN, T. Y. The discovery of indomethacin and the proliferation of NSAIDs. **Seminars in Arthritis and Rheumatism**, [s. l.], v. 12, n. 2 SUPPL. 1, p. 89–93, nov. 1982.
- 92) SIMMONS, D. L. *et al.* Induction of an acetaminophen-sensitive cyclooxygenase with reduced sensitivity to nonsteroid antiinflammatory drugs. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, [Estados Unidos], v. 96, n. 6, p. 3275–3280, 16 mar. 1999.
- 93) SINGH, G. *et al.* Evaluation of Phenolic Content Variability along with Antioxidant, Antimicrobial, and Cytotoxic Potential of Selected Traditional Medicinal Plants from India. **Frontiers in Plant Science**, [s. l.], v. 7, 31 mar. 2016.
- 94) SINGH, P. A. *et al.* Evaluation of in vivo anti-inflammatory and analgesic activity of *Dillenia indica* f. *elongata* (Miq.) Miq. and *Shorea robusta* stem bark extracts. **Asian Pacific Journal of Tropical Disease**, v. 6, n. 1, p. 75–81, jan. 2016.
- 95) SMITH, W. L.; SONG, I. The enzymology of prostaglandin endoperoxide H synthases-1 and -2. **Prostaglandins and Other Lipid Mediators**, [s. l.], v. 68–69, p. 115–128, ago. 2002.
- 96) SO, A. Developments in the scientific and clinical understanding of gout. **Arthritis Research and Therapy**, [s. l.], v. 10, n. 5, p. 1–6, 2008.
- 97) SPÄTH, E.; DARLING, S. F. Synthese des Capsaicins. **Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft (A and B Series)**, v. 63, n. 3, p. 737–743, 5 mar. 1930.
- 98) STEFANO, F.; DISTRUTTI, E. Cyclo-Oxygenase (COX) Inhibiting Nitric Oxide

- Donating (CINODs) Drugs: A Review of Their Current Status. **Current Topics in Medicinal Chemistry**, [s. l.], v. 7, n. 3, p. 277–282, 1 fev. 2007.
- 99) TABAS, I.; GLASS, C. K. Anti-Inflammatory Therapy in Chronic Disease: Challenges and Opportunities. **Science**, [s. l.], v. 339, n. 6116, p. 166–172, 11 jan. 2013.
- 100) TANRIKULU-KÜÇÜK, S. *et al.* Effect of dietary curcumin and capsaicin on testicular and hepatic oxidant–antioxidant status in rats fed a high-fat diet. **Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism**, [Canadá], v. 44, n. 7, p. 774–782, Jul. 2019.
- 101) TILLEY, S. L.; COFFMAN, T. M.; KOLLER, B. H. Mixed messages: modulation of inflammation and immune responses by prostaglandins and thromboxanes. **Journal of Clinical Investigation**, [s. l.], v. 108, n. 1, p. 15–23, 1 jul. 2001.
- 102) TRANCAS, B.; SANTOS, N. B. Ética, conhecimento e psiquiatria - Em de Medicina de Aulo Cornélio Celso. **Acta Medica Portuguesa**, [s. l.], v. 20, n. 5, p. 431–437, 2007.
- 103) VALLÉE, A. *et al.* **Effects of cannabidiol interactions with Wnt/ $\beta$ -catenin pathway and PPAR $\gamma$  on oxidative stress and neuroinflammation in Alzheimer's disease** **Acta Biochimica et Biophysica Sinica**, [s. l.], v. 49, n. 10, 2017.
- 104) VASANTHKUMAR, T.; HANUMANTHAPPA, M.; LAKSHMINARAYANA, R. Curcumin and capsaicin modulates LPS induced expression of COX-2, IL-6 and TGF- $\beta$  in human peripheral blood mononuclear cells. **Cytotechnology 2019 71:5**, [s. l.], v. 71, n. 5, p. 963–976, 5 set. 2019.
- 105) VERDAM, M. C. DOS S. *et al.* Analgesic, Anti-Inflammatory, and Antioxidant Activities of *Byrsonima duckeana* W. R. Anderson (Malpighiaceae). **The Scientific World Journal**, [s. l.], v. 2017, p. 1–8, 6 mar. 2017.
- 106) VIDAL, C. *et al.* Licofelone, a balanced inhibitor of cyclooxygenase and 5-lipoxygenase, reduces inflammation in a rabbit model of atherosclerosis. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, [s. l.], v. 320, n. 1, p. 108–116, jan. 2007.

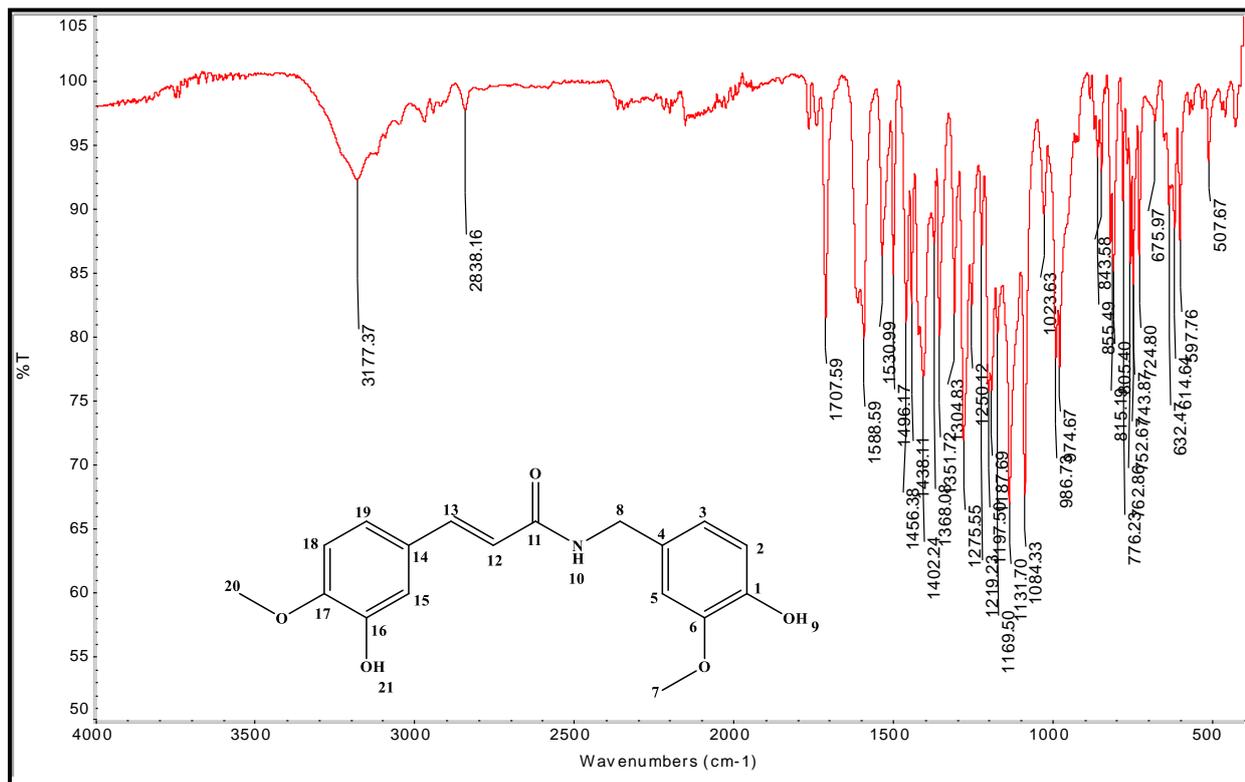
- 107) WALKER, J. *et al.* Nonivamide, a capsaicin analogue, exhibits anti-inflammatory properties in peripheral blood mononuclear cells and U-937 macrophages, [s. l.], 2016.
- 108) WALLACE, J. L. **Physiological and Pathophysiological Roles of Hydrogen Sulfide in the Gastrointestinal Tract | Antioxidants & Redox Signaling**, [s. l.], v. 12, n. 9, p. 1125-1133, 2010. Disponível em: <https://www.liebertpub.com/doi/10.1089/ars.2009.2900>. Acesso em: 20 jun. 2020.
- 109) WALLACE, J. L. *et al.* Novel nonsteroidal anti-inflammatory drug derivatives with markedly reduced ulcerogenic properties in the rat. **Gastroenterology**, [s. l.], v. 107, n. 1, p. 173–179, 1994.
- 110) WALLACE, J. L. *et al.* Gastrointestinal Safety and Anti-Inflammatory Effects of a Hydrogen Sulfide-Releasing Diclofenac Derivative in the Rat. **Gastroenterology**, [s. l.], v. 132, n. 1, p. 261–271, 2007.
- 111) WALLACE, J. L. *et al.* A proof-of-concept, Phase 2 clinical trial of the gastrointestinal safety of a hydrogen sulfide-releasing anti-inflammatory drug. **British Journal of Pharmacology**, [s. l.], v. 177, n. 4, p. 769–777, 11 fev. 2020.
- 112) WALLACE, J. L.; CIRINO, G. The development of gastrointestinal-sparing nonsteroidal anti-inflammatory drugs. **Trends in Pharmacological Sciences**, [s. l.], v. 15, n. 11, p. 405–406, 1 nov. 1994.
- 113) WALLACH, D.; KANG, T. B.; KOVALENKO, A. **Concepts of tissue injury and cell death in inflammation: A historical perspective** *Nature Reviews Immunology*, [s. l.], v. 14, n. 1, p. 51-59, jan. 2014.
- 114) WANG, H.-Y. *et al.* Differential anti-diabetic effects and mechanism of action of charantin-rich extract of Taiwanese *Momordica charantia* between type 1 and type 2 diabetic mice. **Food and Chemical Toxicology**, [s. l.], v. 69, p. 347–356, jul. 2014.

- 115) WHITE, W. B. *et al.* Effects of naproxen on blood pressure in patients with osteoarthritis. **American Journal of Cardiology**, v. 107, n. 9, p. 1338–1345, 1 maio 2011.
- 116) WHITTEN, C. E.; DONOVAN, M.; CRISTOBAL, K. Treating chronic pain: new knowledge, more choices. **The Permanente journal**, [s. l.], v. 9, n. 4, p. 9–18, 2005.
- 117) XING, Z. *et al.* **Activation of NF- $\kappa$ B by miR-129 and enhancement of neuroglioma growth** *Int J Clin Exp Pathol*. [s. l: s.n.]. Disponível em: [www.ijcep.com/](http://www.ijcep.com/). Acesso em: 14 fev. 2020.
- 118) YUAN, J. *et al.* Curcumin Attenuates Airway Inflammation and Airway Remodeling by Inhibiting NF- $\kappa$ B Signaling and COX-2 in Cigarette Smoke-Induced COPD Mice. **Inflammation**, [s. l.], v. 41, n. 5, p. 1804–1814, 30 out. 2018.
- 119) ZAHRA, N. *et al.* **Estimation of capsaicin in different chilli varieties using different Extraction Techniques and HPLC method: A Review** *Pakistan Journal of Food Sciences*. [s. l: s.n.].
- 120) ZAMBRANO, L. M. G. *et al.* Local administration of curcumin-loaded nanoparticles effectively inhibits inflammation and bone resorption associated with experimental periodontal disease. **Scientific Reports**, [s. l.], v. 8, n. 1, p. 6652, 27 dez. 2018.
- 121) ZRZAVY, T. *et al.* Pro-inflammatory activation of microglia in the brain of patients with sepsis. **Neuropathology and Applied Neurobiology**, [s. l.], v. 45, n. 3, p. 278–290, 19 abr. 2018.

## APÊNDICE

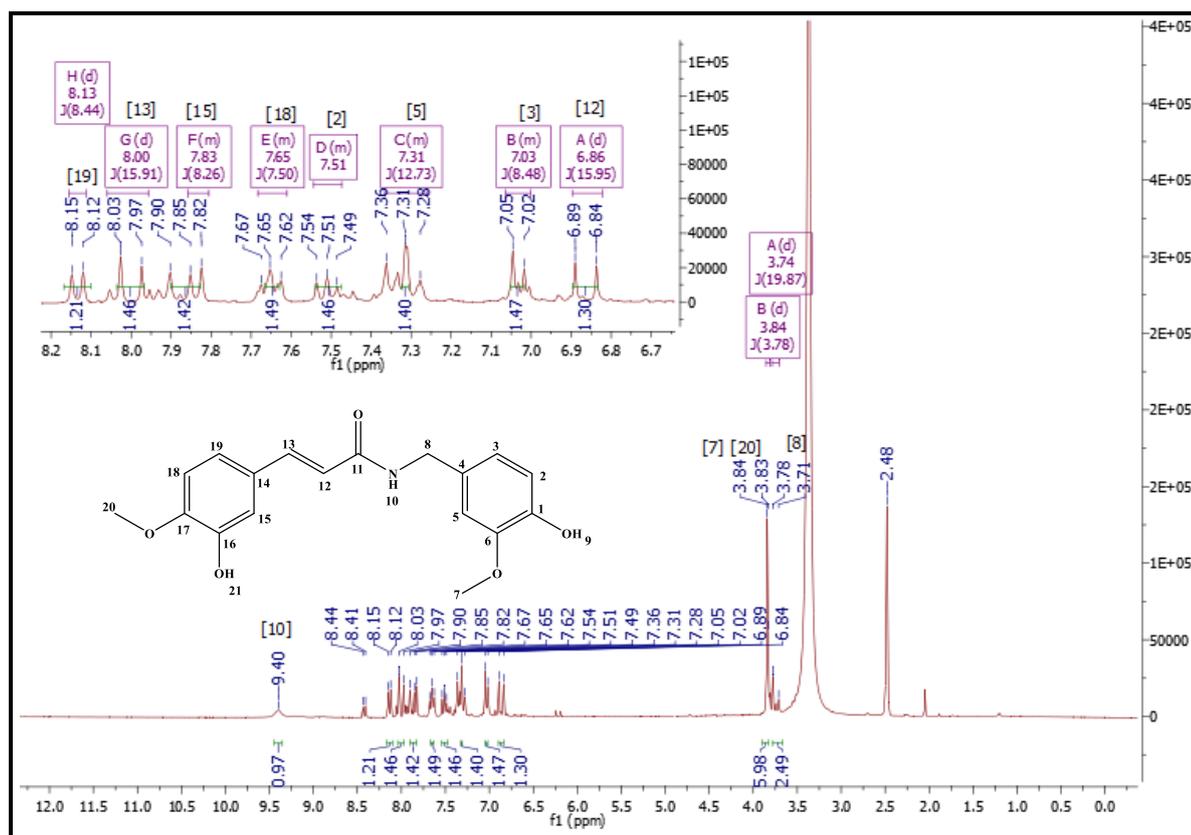
Conjunto de espectros no Infravermelho (IV) e de Ressonância magnética nuclear (RMN) das substâncias-alvo deste trabalho.

Figura 59 - Espectro de absorção na região do IV do composto **PQM-311 (52b, ATR)**.

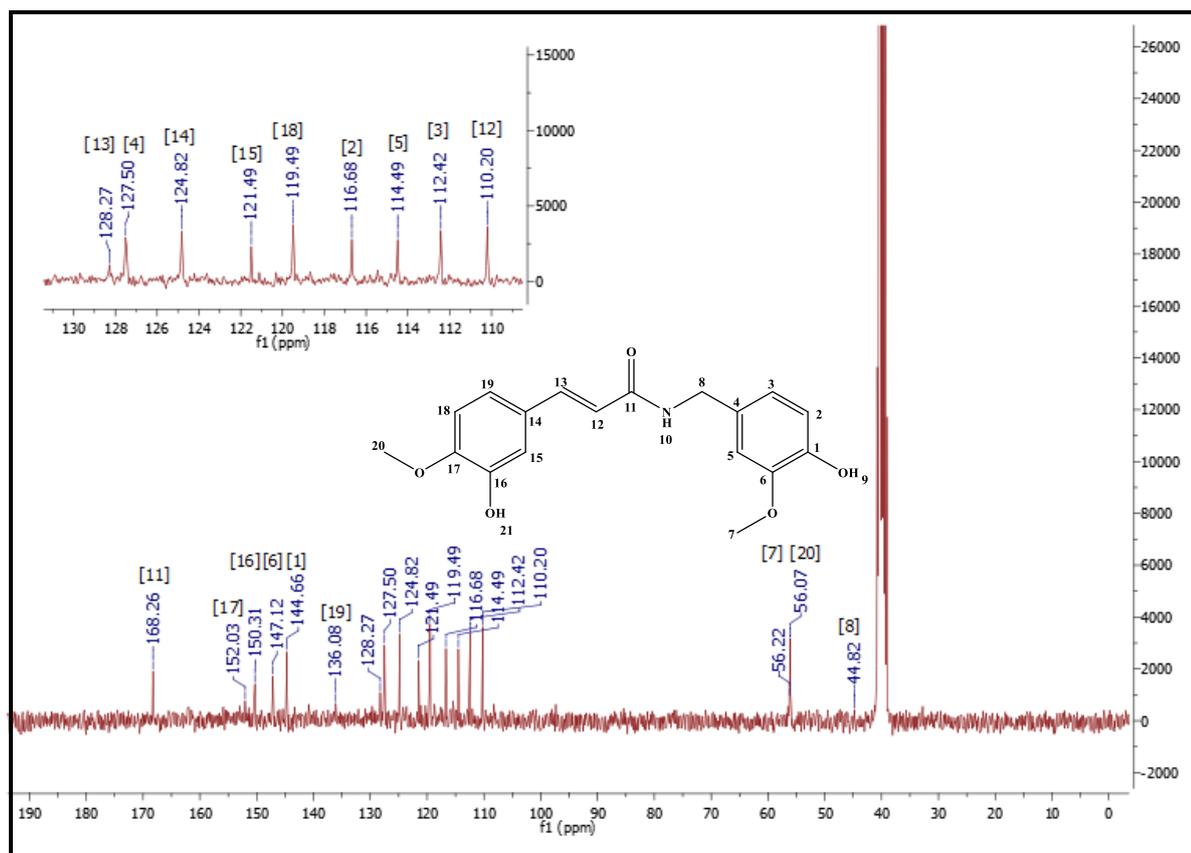


Fonte: Do autor

Figura 60 - Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ ) do composto PQM-311 (52b).

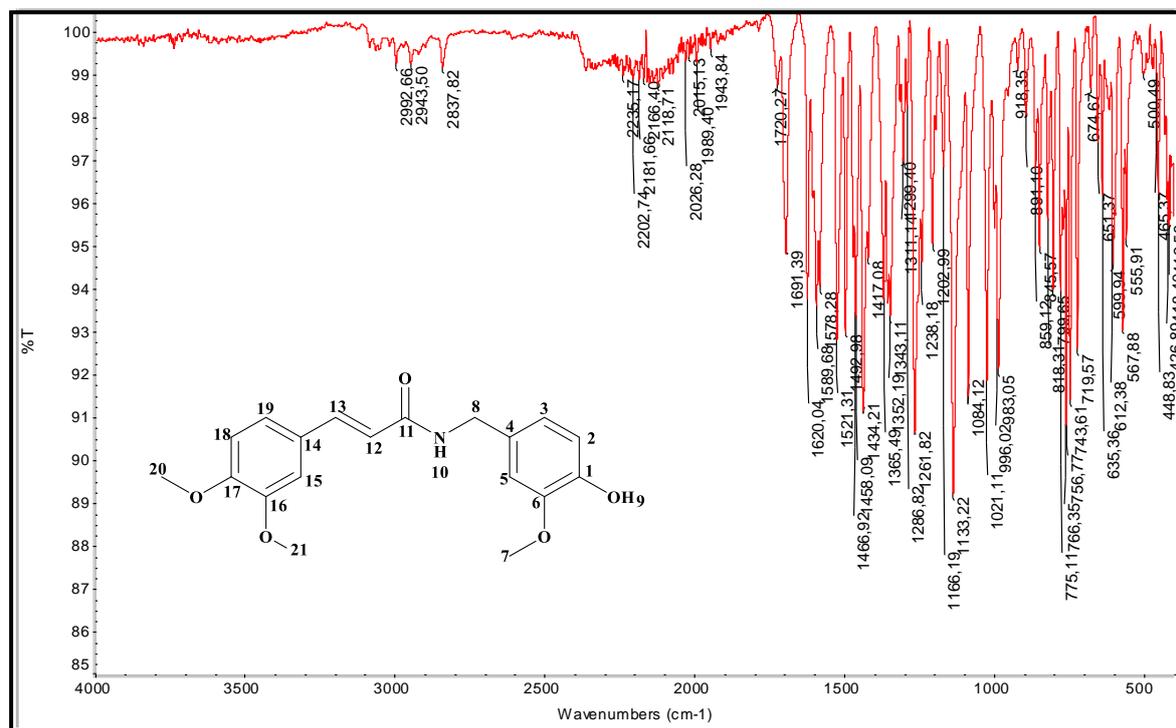


Fonte: Do autor

Figura 61 - Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (75 MHz, DMSO- $d_6$ ) do composto PQM-311 (52b).

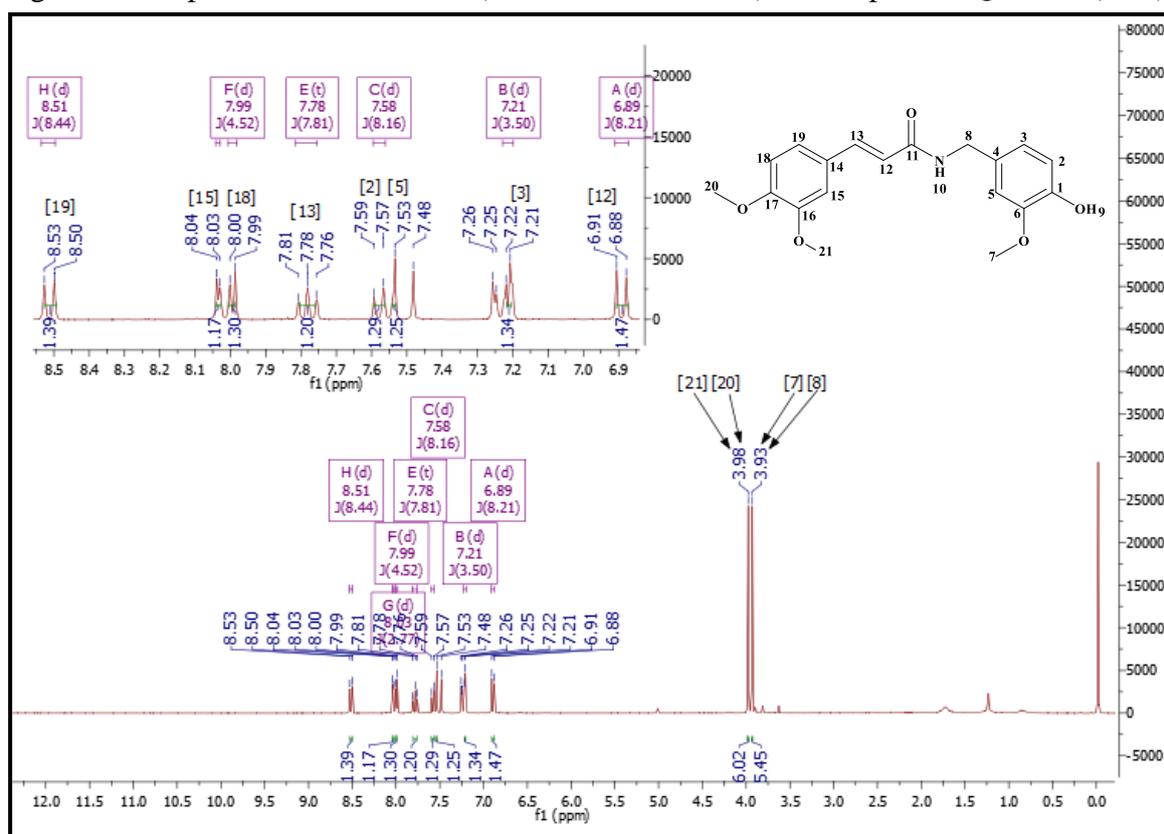
Fonte: Do autor

Figura 62 - Espectro de absorção na região do IV do composto PQM-331 (52c, ATR).



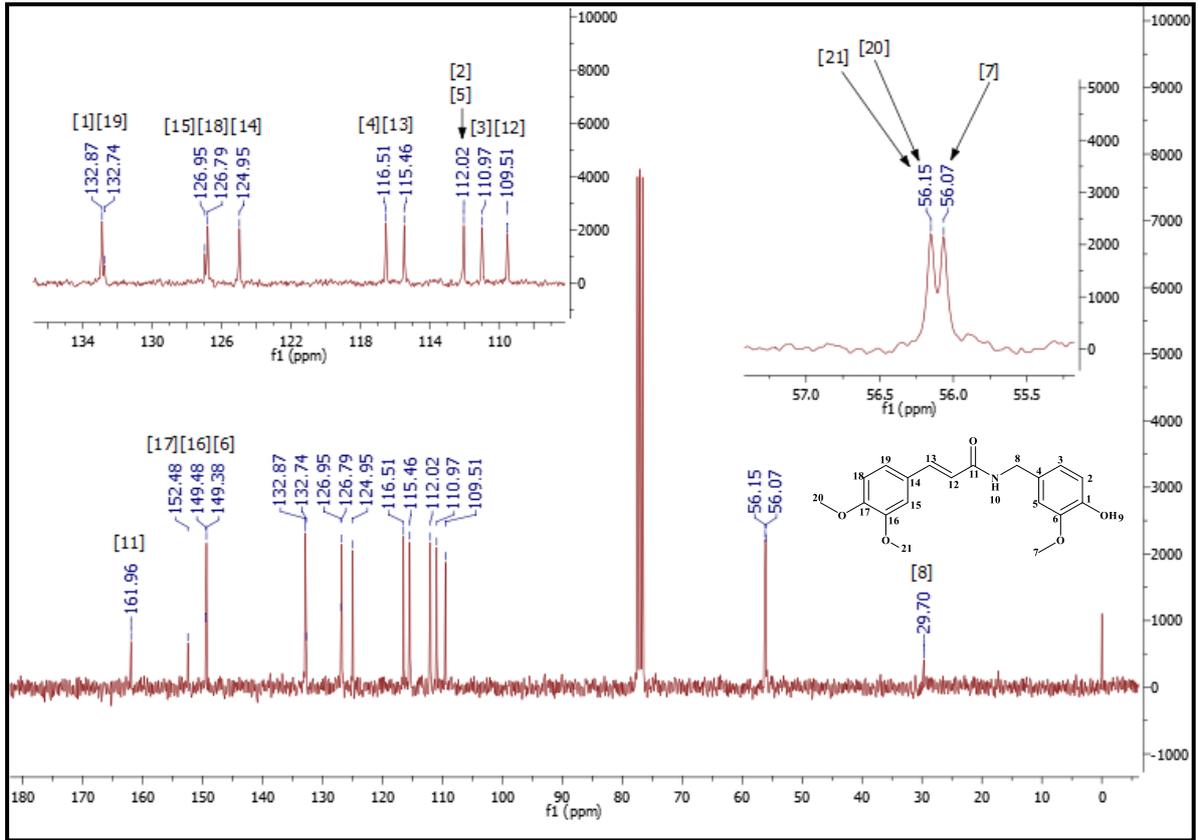
Fonte: Do autor

Figura 63 - Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ ) do composto PQM-331 (52C).



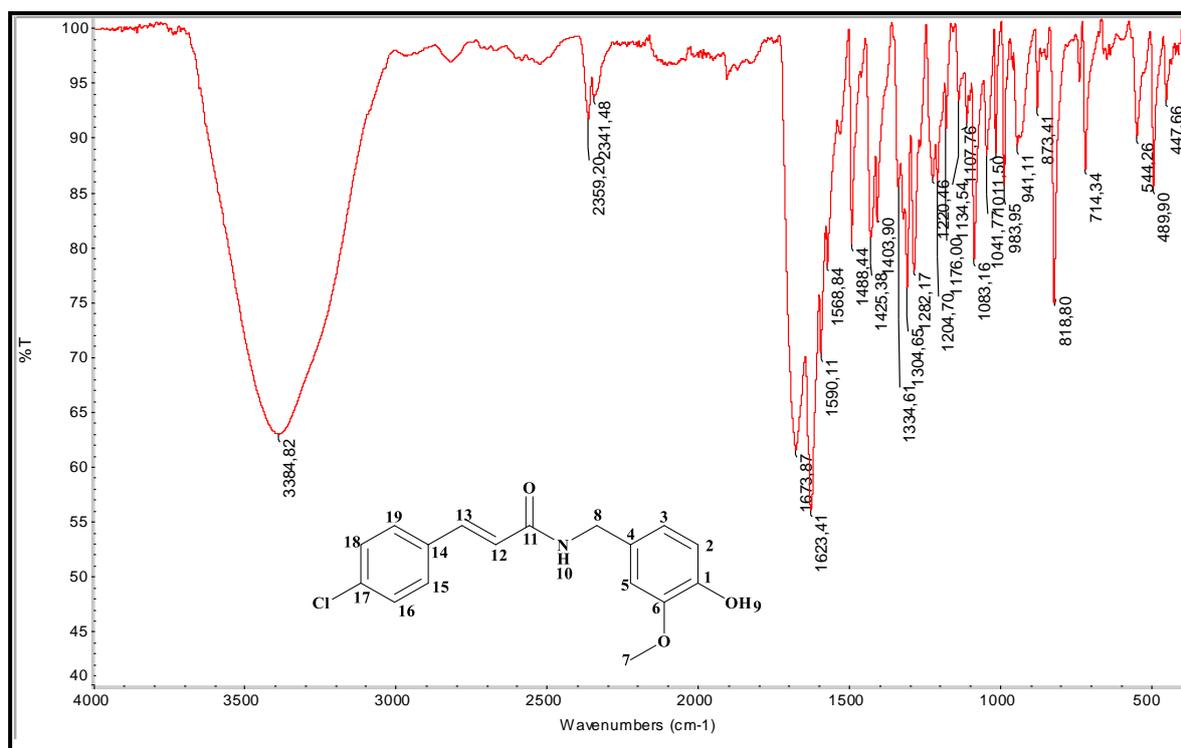
Fonte: Do autor

Figura 64 - Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ ) do composto **PQM-331 (52C)**.



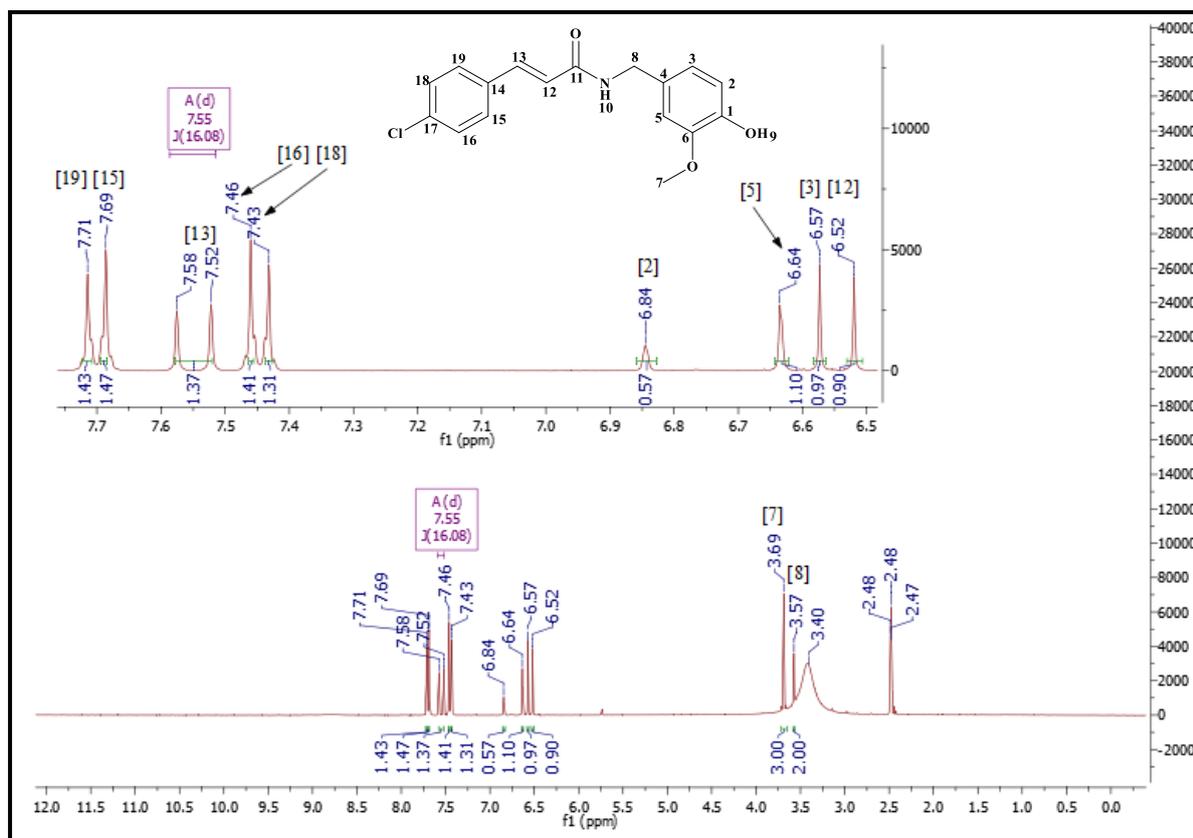
Fonte: Do autor

Figura 65 - Espectro de absorção na região do IV do composto PQM-334 (52d, ATR).

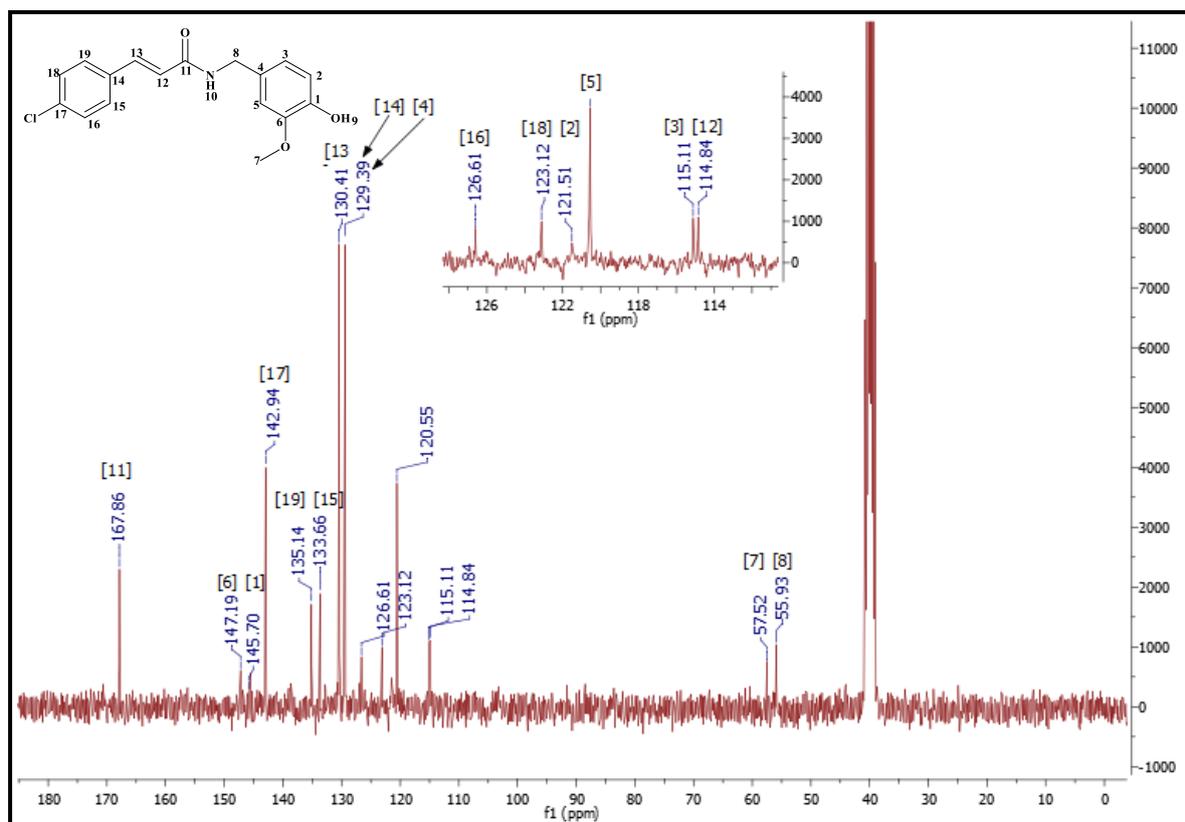


Fonte: Do autor

Figura 66 - Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (75 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ ) do composto **PQM-334 (52d)**.

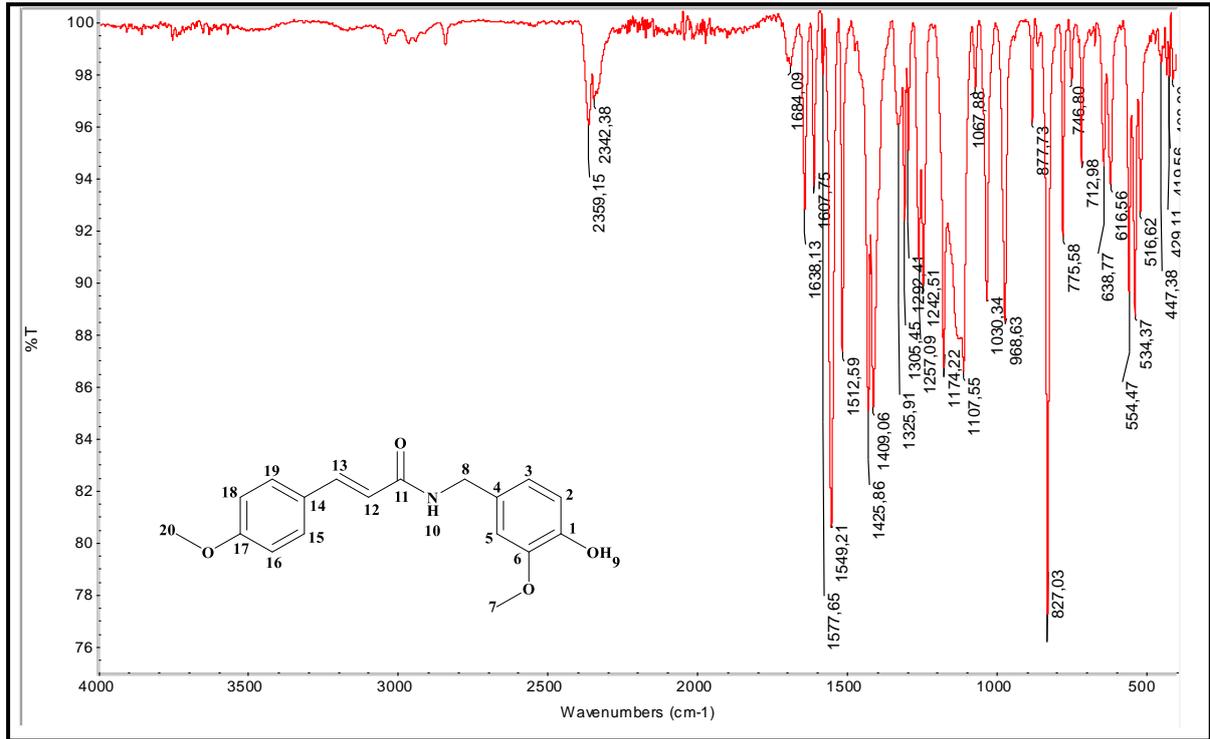


Fonte: Do autor

Figura 67 - Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ ) do composto **PQM-334 (52d)**.

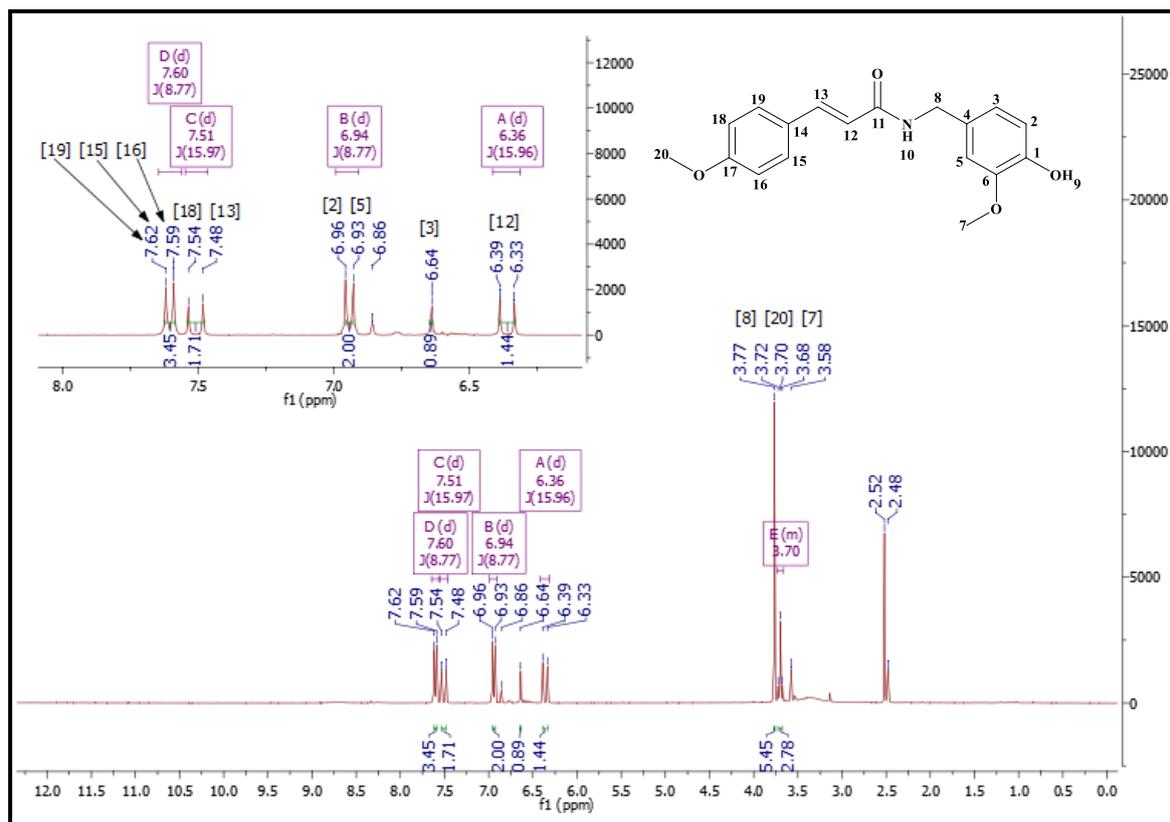
Fonte: Do autor

Figura 68 - Espectro de absorção na região do IV do composto **PQM-335 (52e, ATR)**.



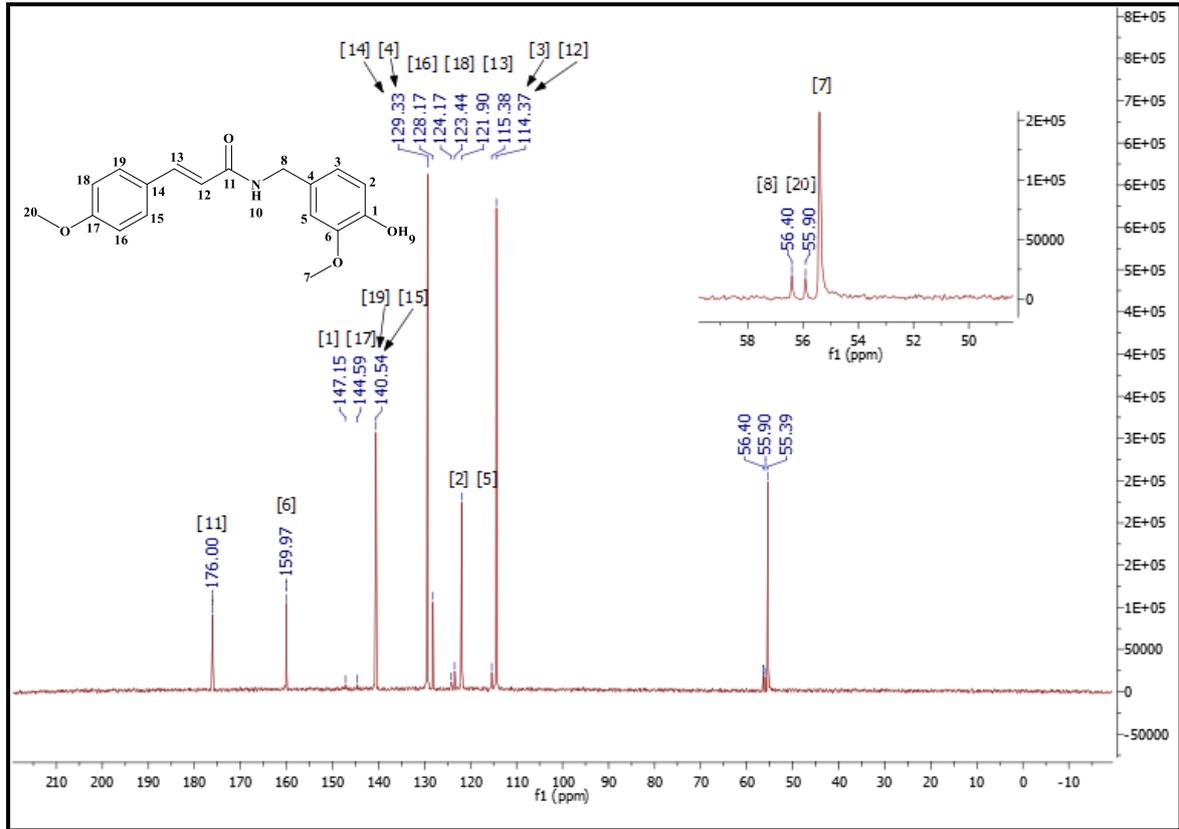
Fonte: Do autor

Figura 69 - Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ ) do composto **PQM-335 (52e)**.

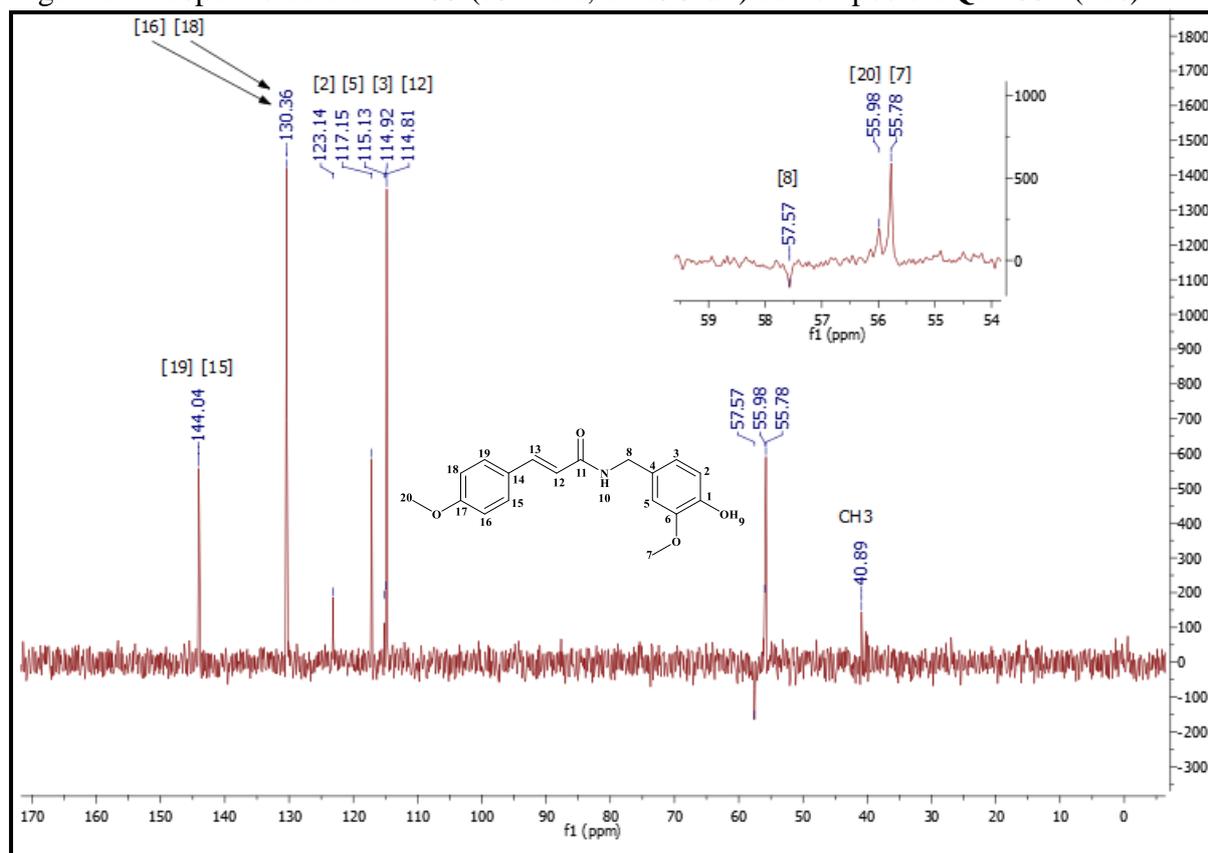


Fonte: Do autor

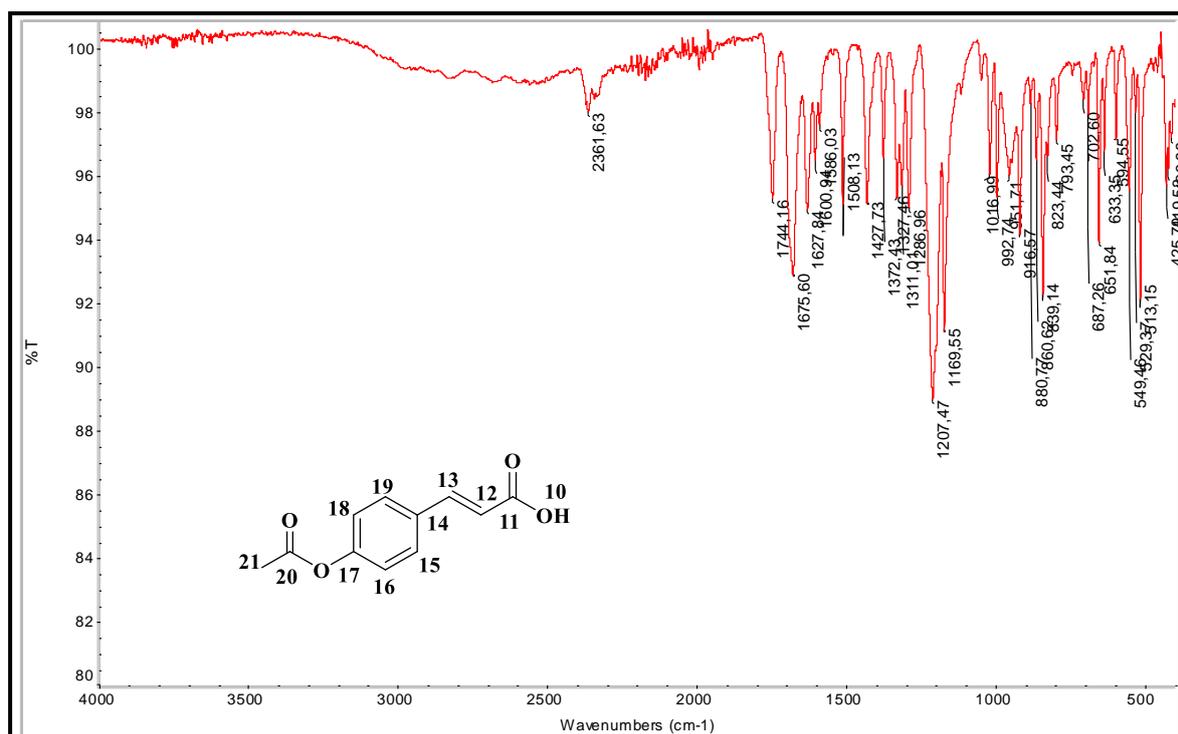
Figura 70 - Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ) do composto **PQM-335 (052e)**.



Fonte: Do autor

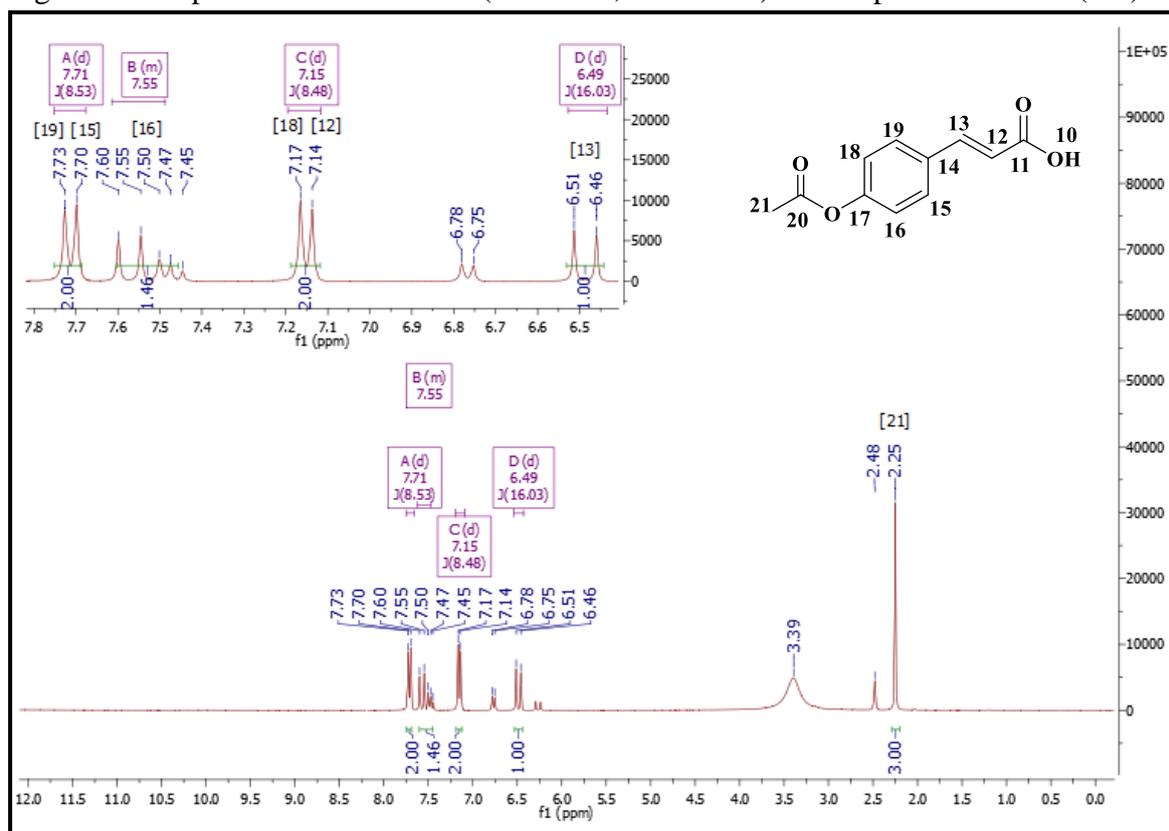
Figura 71 - Espectro de DEPT-135 (75 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) do composto PQM-335 (52e).

Fonte: Do autor

Figura 72 - Espectro de absorção na região do IV do composto acetilado (**58'**, ATR).

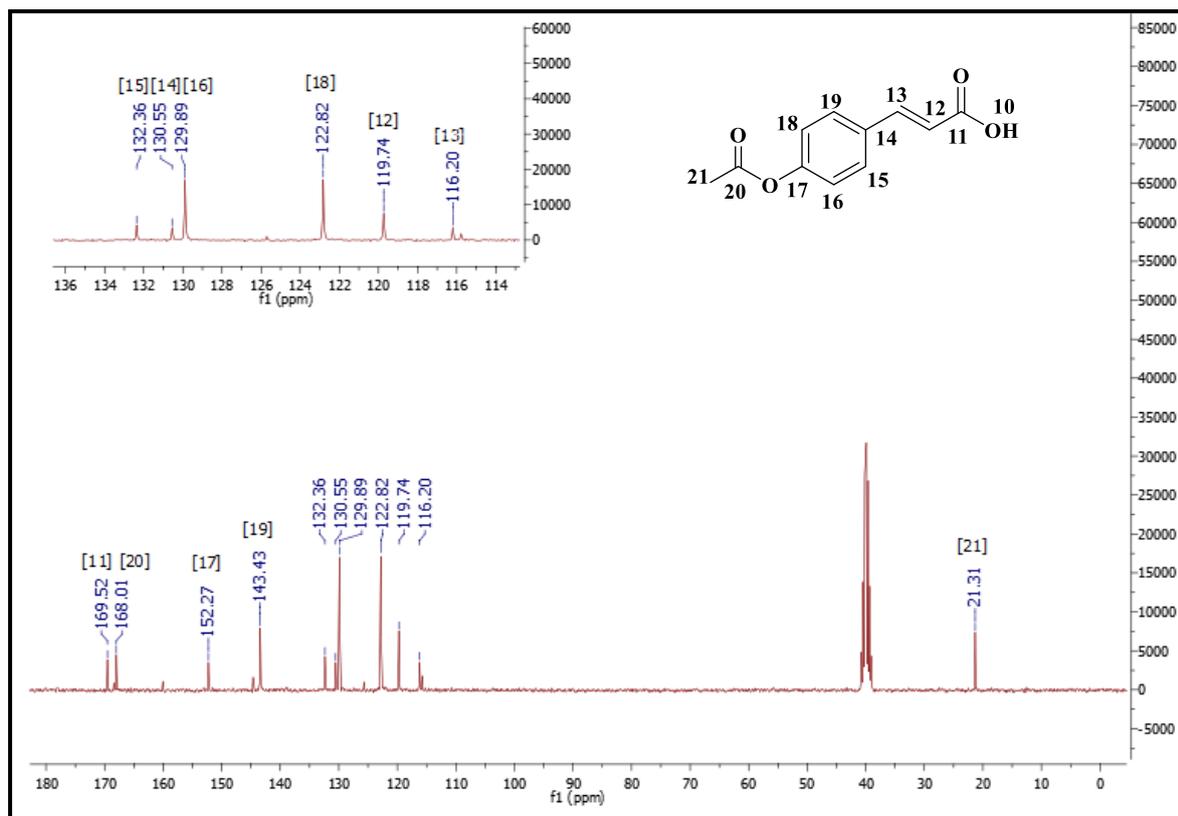
Fonte: Do autor

Figura 73 - Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ ) do composto acetilado (**58'**).



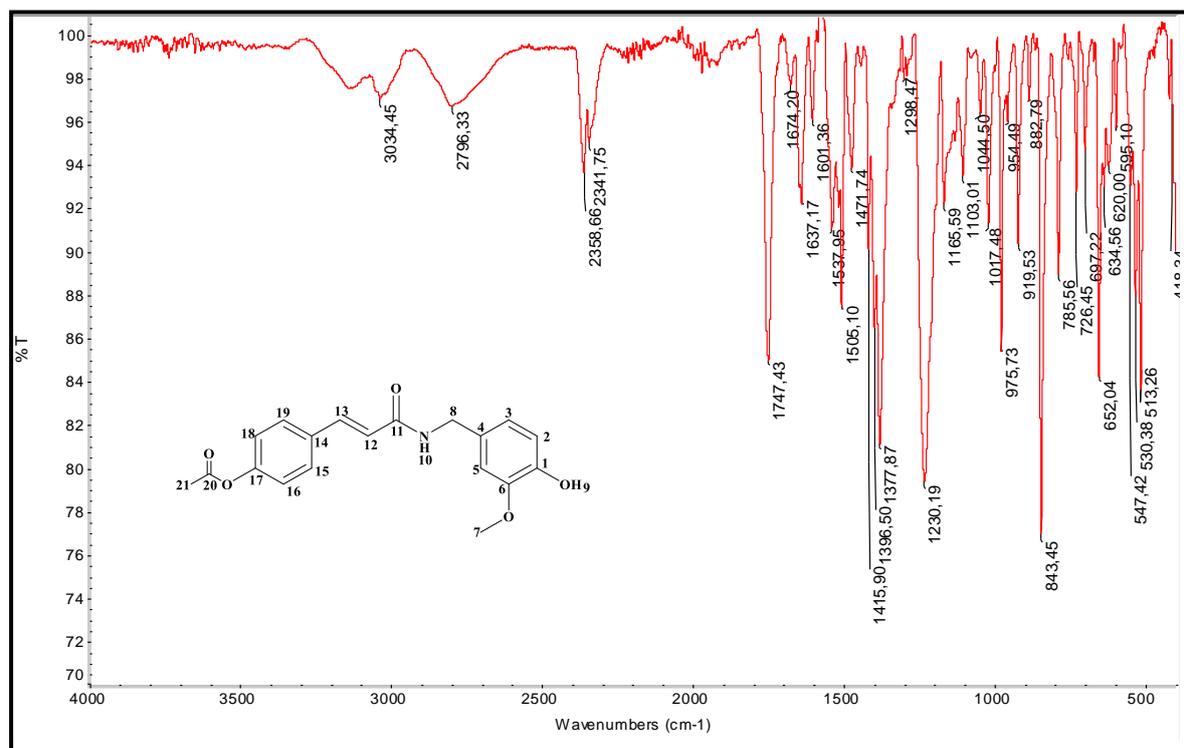
Fonte: Do autor

Figura 74 - Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ ) do composto acetilado (**58'**).



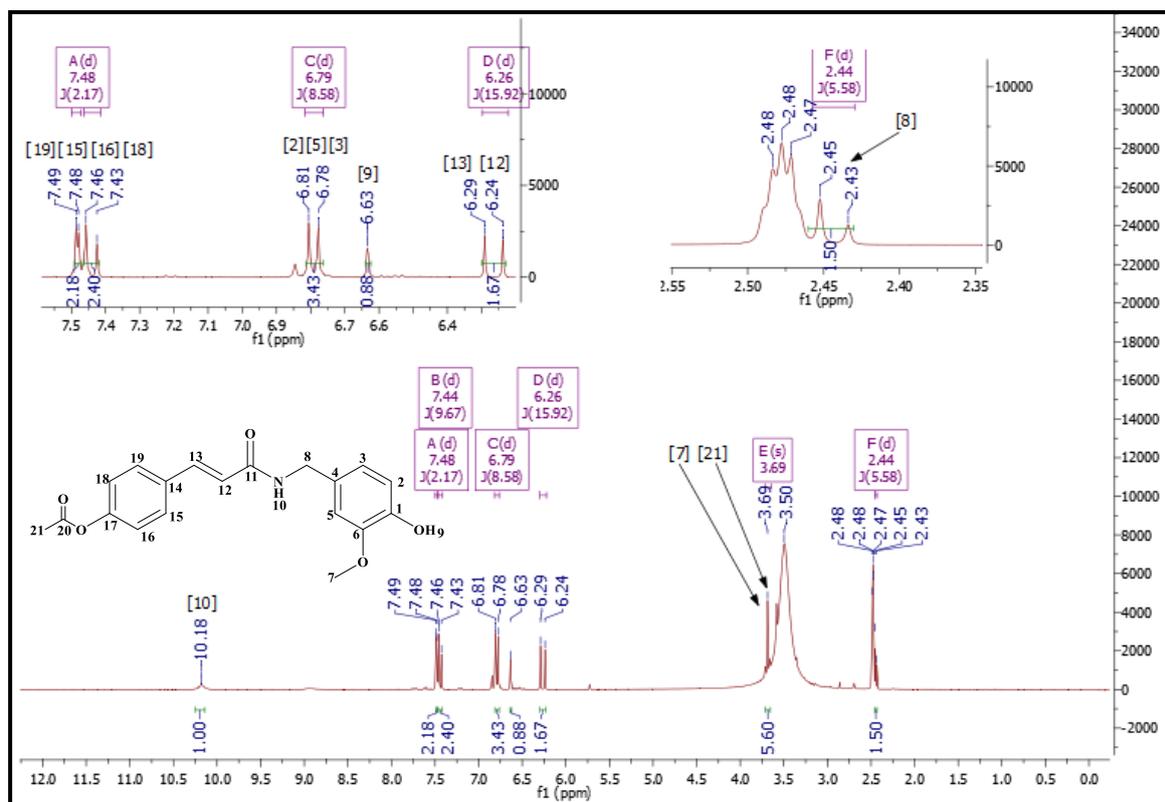
Fonte: Do autor

Figura 75 - Espectro de absorção na região do IV do composto PQM-336 (**52f**, ATR).



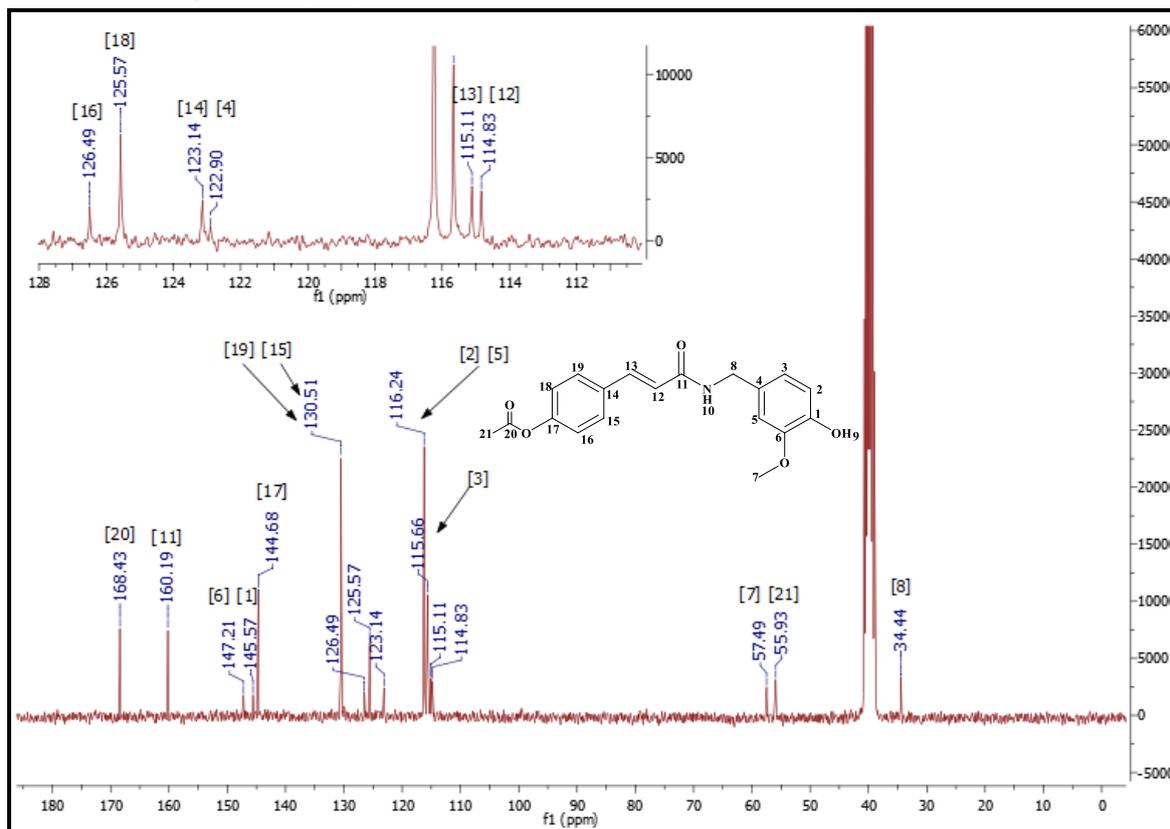
Fonte: Do autor

Figura 76 - Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ ) do composto acetilado acoplado PQM-336 (52f).



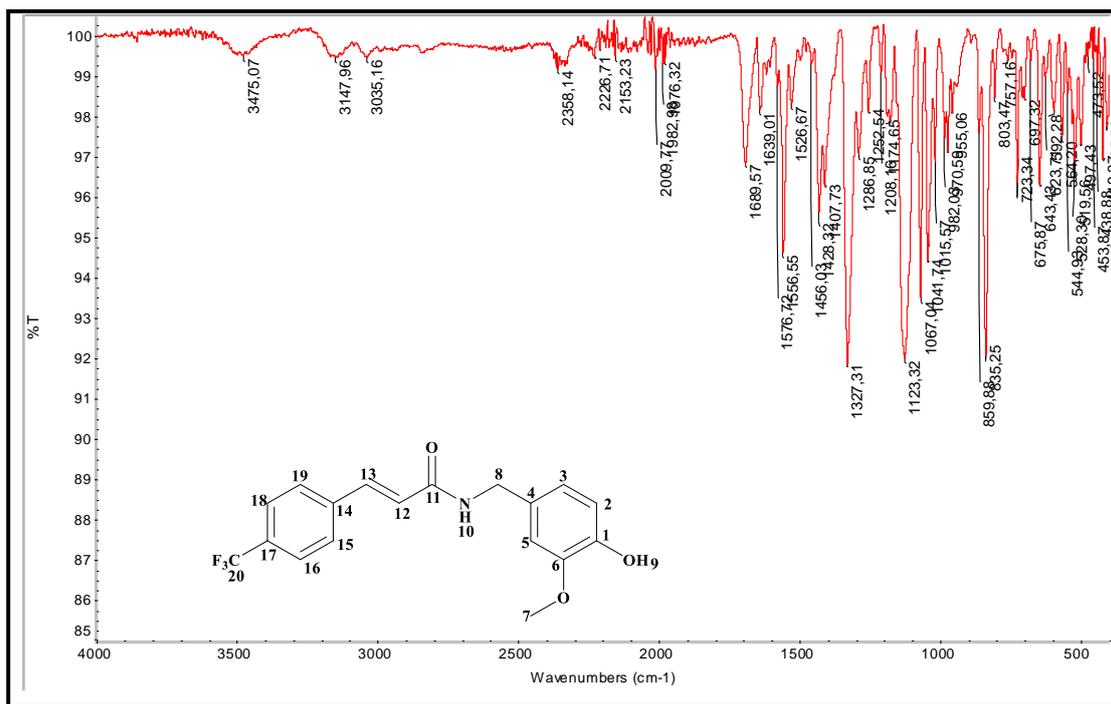
Fonte: Do autor

Figura 77 - Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ ) do composto acetilado acoplado **PQM-336 (52f)**.



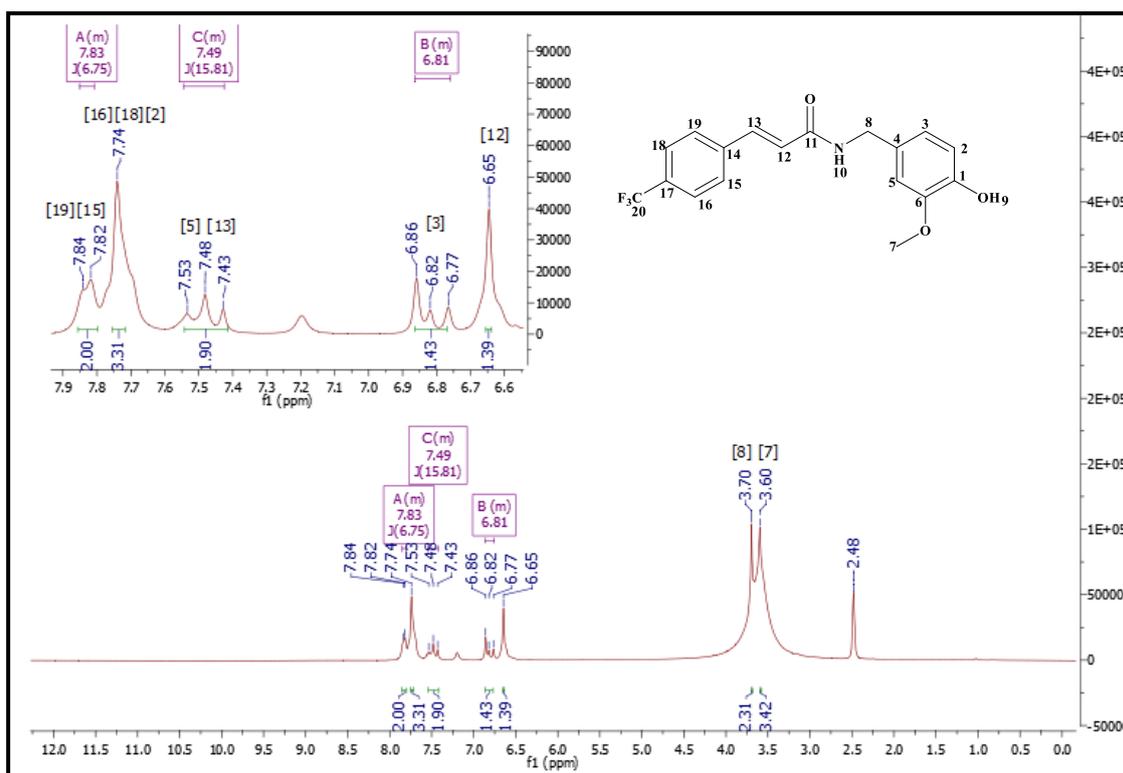
Fonte: Do autor

Figura 78 - Espectro de absorção na região do IV do composto PQM-332 (52g, ATR).

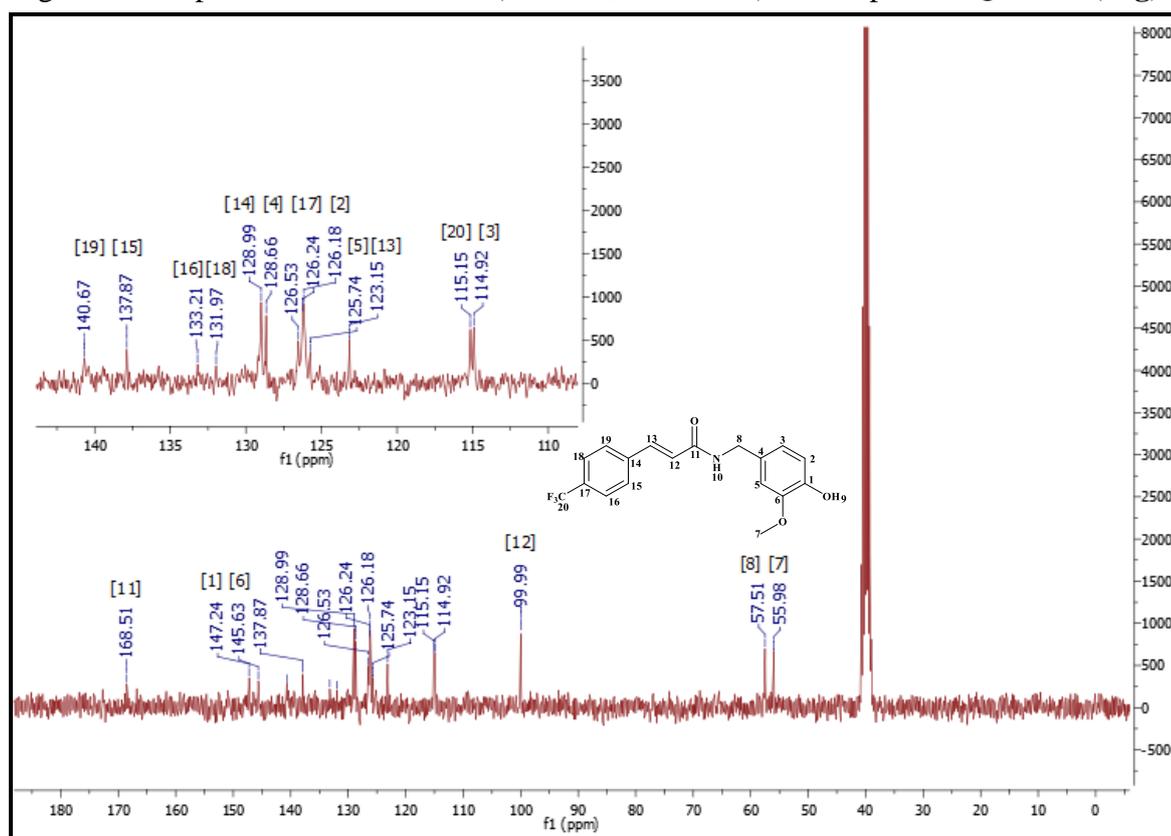


Fonte: Do autor

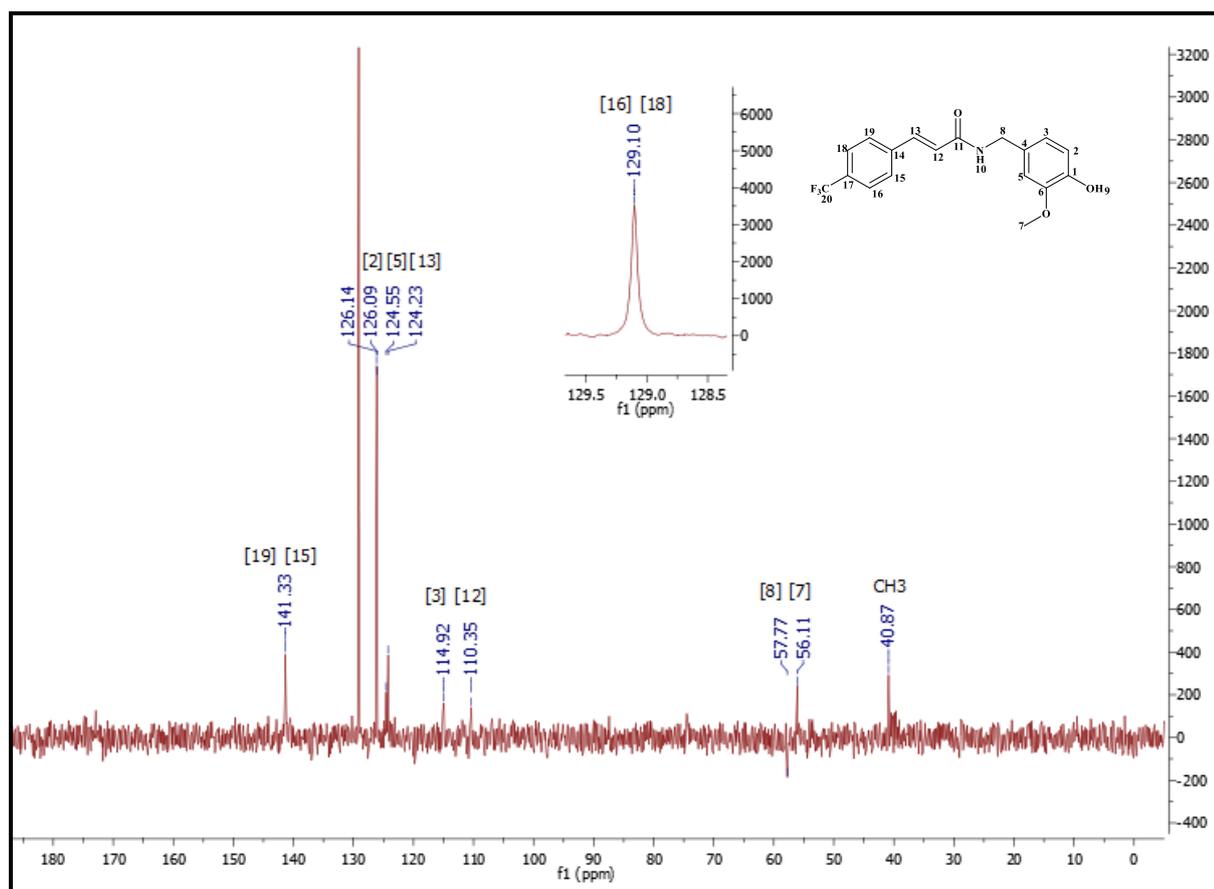
Figura 79 - Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ ) do composto **PQM-332** (52g).



Fonte: Do autor

Figura 80 - Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ ) do composto PQM-332 (52g).

Fonte: Do autor

Figura 81 - Espectro de DEPT-135 (75 MHz, DMSO-d6) do composto **PQM-332 (52g)**.

Fonte: Do autor.