

SÍNTESE E ATIVIDADE ANTIEDEMATOGÊNICA DE DERIVADOS *N*-TRIPTOFIL-5-BENZILIDENO-2,4-TIAZOLIDINADIONA E *N*-TRIPTOFIL-5-BENZILIDENO-RODANINA

Alexandre José da Silva Góes*, Waldir Tavares de Lima e Helena Juliana Nagy

Departamento de Antibióticos, Universidade Federal de Pernambuco, Cidade Universitária, 50670-901 Recife - PE

Antônio José Alves, Antônio Rodolfo de Faria e José Gildo de Lima

Departamento de Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal de Pernambuco, Cidade Universitária, 50470-521, Recife - PE

Maria Bernadete de Souza Maia

Departamento de Fisiologia e Farmacologia, Universidade Federal de Pernambuco, Cidade Universitária, 50670-901 Recife - PE

Recebido em 13/11/03; aceito em 22/6/04; publicado na web em 8/10/04

SYNTHESIS AND ANTIEDEMATOGENIC ACTIVITY OF SOME *N*-TRYPTHOPHYL-5-BENZYLIDENE-2,4-TIAZOLIDINEDIONE AND *N*-TRYPTHOPHYL-5-BENZYLIDENE-RHODANINE DERIVATIVES. Derivatives of *N*-tryptophyl-5-benzylidene-2,4-thiazolidinedione (**7a-c**) and *N*-tryptophyl-5-benzylidene-rhodanine (**7d-f**) were prepared by condensation of the intermediates **5** and **6** with different benzaldehydes, respectively. Their structural elucidation was carried through by IR, ¹H NMR and MS. The acute toxicity and antiedematogenic activity of the compounds **7b,c** and **7e,f** were evaluated. The data did not reveal any sign of toxicity, and no mortality was registered. As indomethacin (10 mg/kg; v.o.), the antiedematogenic activity of the compounds **7b** (50 mg/kg; v.o.) and **7e**, **7f** (50 or 100 mg/kg; v.o.) against carrageenan-induced paw edema was verified at time intervals of 180 min.

Keywords: thiazolidinediones; rhodanine; antiedematogenic activity.

INTRODUÇÃO

A necessidade de novas substâncias terapêuticas mais eficazes, com baixa toxicidade e maior especificidade, tem levado pesquisadores a intensificar os estudos para a descoberta de novos fármacos. O desenvolvimento da síntese orgânica moderna tem proporcionado um aumento de substâncias sintéticas para uso medicinal, que têm sido empregadas no combate à diferentes enfermidades. Dentre os métodos de obtenção de novos fármacos, a modificação ou variação molecular, utilizando principalmente o conceito de bioisosterismo, é o mais utilizado^{1,2}. Com a aplicação de bioisosterismo pode-se analisar a influência da modificação de um átomo ou de um grupo de átomos por seu bioisótero sobre a atividade biológica que o fármaco original apresenta, podendo ser de ação idêntica ou mesmo antagonica.

Focalizando as 4-tiazolidinonas, vários trabalhos utilizaram o conceito clássico de bioisosterismo para obtenção de novos derivados da 2,4-tiazolidinadiona (**1**) e da rodanina (**2**)³⁻⁶ (Figura 1). Substâncias contendo estes heterociclos apresentam diversas atividades biológicas, tais como antifúngica^{7,8}, antibacteriana⁹⁻¹², hipoglicemiante^{13,14}, inibidora do crescimento de plantas¹⁵, repelente contra o mosquito da espécie *Aedes aegypti*¹⁶ e antiinflamatória^{3,17,18}, dentre outras.

Boschelli *et al.*¹⁷ estudaram a atividade inibidora das enzimas 5-lipoxigenase e ciclooxigenase de derivados contendo um heterociclo 4-tiazolidinona, análogos do ácido meclofenâmico, composto pertencente à classe dos antiinflamatórios não esteroidais. Nesse estudo, o derivado da rodanina (**3b**) (Figura 1) mostrou-se o mais ativo em inibir as enzimas 5-lipoxigenase e ciclooxigenase. Utilizando o modelo de edema de pata induzido por injeção de carragenina, Unangst *et al.*⁴ observaram, em derivados benzilidênico, que a inibição do edema é superior para o derivado 2,4-tiazolidinadiona (**4a**) que para o derivado da rodanina (**4b**) (Figura 1).

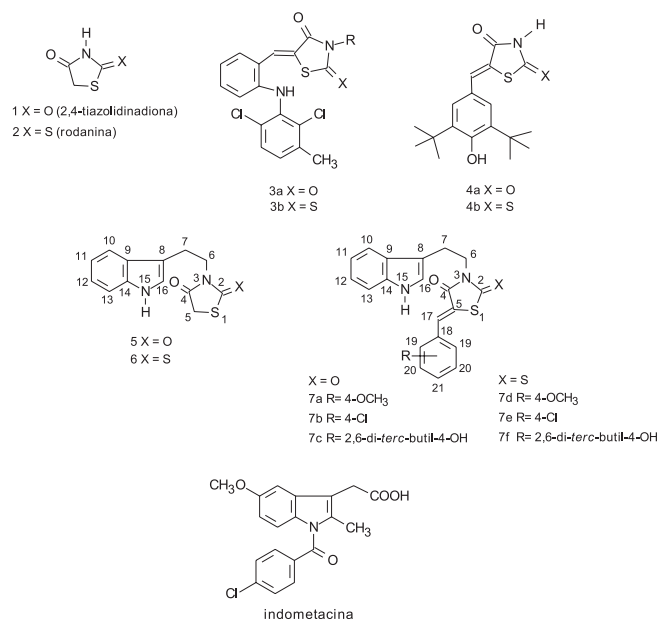


Figura 1. Estruturas químicas de substâncias 2,4-tiazolidinônicas, rodaninicas e da indometacina

Considerando-se os fatos descritos para as 4-tiazolidinonas, pensou-se em contribuir para um maior conhecimento sobre estas substâncias potencialmente ativas. Assim, o presente trabalho foi desenvolvido buscando sintetizar duas séries de compostos: *N*-triptofil-5-arilideno-2,4-tiazolidinadionas (**7a-c**) e *N*-triptofil-5-arilideno-rodaninas (**7d-f**), a partir dos intermediários *N*-triptofil-2,4-tiazolidinadiona **5** e *N*-triptofil-rodanina **6** (Figura 1). As substâncias obtidas neste estudo apresentam um núcleo indólico e um grupamento fenila substituído, similares aqueles existentes na molé-

*e-mail: ajs@ufpe.br

cula da indometacina - um potente inibidor da biossíntese das prostaglandinas, utilizadas no tratamento da artrite reumatóide e de distúrbios relacionados¹⁹ - bem como o fragmento 5-benzilideno-4-tiazolidinonas dos compostos **3a,b** e **4a,b**.

A semelhança estrutural de nossos derivados com estas substâncias, tomadas como protótipos, despertou nosso interesse na realização de ensaios farmacológicos para determinação da atividade anti-dematogênica.

PARTE EXPERIMENTAL

Os pontos de fusão foram medidos através dos aparelhos modelo Q.340.23-Quimis e modelo MQAPF-301-Microquímica. A cromatografia em coluna foi efetuada, sob pressão, utilizando-se gel de sílica 60 Merck 230-400 mesh e óxido de alumínio (alumina) 90 de atividade (II-III), segundo a técnica flash. A cromatografia em camada delgada (CCD) foi realizada sobre placas comerciais de gel de sílica Merck 60 F₂₅₄ de 0,25 mm de espessura ou sobre placas de óxido de alumínio Merck 60 F₂₅₄ neutro (tipo - E) de 0,2 mm de espessura. A CCD foi monitorada através de revelação pela iluminação no ultravioleta (UV) (254 nm).

Os espectros do IV (ν , cm⁻¹ em pastilha de KBr) foram obtidos de um espectrômetro Bruker modelo IFS 66. Os espectros de massas foram obtidos de um espectrômetro modelo ION-TRAP Finnigan Mat GCQ. As intensidades foram expressas em percentagem (%) relativa ao pico de base.

Os espectros de RMN foram obtidos em um aparelho Unity plus - 300 MHz - Varian. Os deslocamentos químicos indicados, expressos em ppm, foram medidos em relação ao tetrametilsilano, utilizado como referência interna. As multiplicidades dos sinais são descritos da seguinte forma: s = singlete, d = dubleto, t = tripleto, m = multiplete, td = tripleto de dubleto.

Procedimentos experimentais

2,4-tiazolidinadiona (**1**)

Uma solução de 20 g (262,78 mmoles) de tiouréia, 24,8 g (262,43 mmoles) de ácido monocloroacético em 200 mL de água destilada, foi deixada sob agitação e refluxo por 18 h. Após completada a reação, a mistura foi deixada em geladeira por 24 h. A reação foi acompanhada por CCD em sílica (eluente CHCl₃/MeOH (9,2:0,8)). Em seguida, o produto bruto obtido foi filtrado e purificado por sucessivas recristalizações em água destilada produzindo 21,52 g (183,93 mmoles) de 2,4-tiazolidinadiona **1**, na forma de um sólido branco, com um rendimento de 71%. p.f.: 126 - 127 °C (Lit.²⁰ = 125-127 °C); IV (ν , cm⁻¹; KBr): 3426 cm⁻¹ (NH), 1744; 1655 cm⁻¹ (C=O).

Brometo de triptofila (**9**)

Uma solução de 5 g (31,00 mmoles) de triptofol **8**, 14,41 g (43,40 mmoles) de tetrabrometo de carbono em 200 mL de CH₃CN destilada foi agitada por 10 min. Sob agitação, 11,37 g (43,40 mmoles) de trifenilfosfina foram adicionados em pequenas porções à 0 °C no meio reacional durante 10 min. A mistura foi então deixada à temperatura ambiente por 15 min sob agitação. A reação foi acompanhada por CCD em sílica (eluente hexano/AcOEt (6:4)). Após evaporação do solvente, o produto bruto obtido (óleo marrom) foi purificado por cromatografia em coluna de sílica (eluente hexano/AcOEt (9,5:0,5)) produzindo 6,75 g (30,13 mmoles) de brometo de triptofila **9**, na forma de sólido branco amorfo, com um rendimento de 97%. p.f.: 91 - 93 °C; RMN¹H (CDCl₃, 300 MHz): 8,10 (s, 1H, NH), 7,65 (m, 1H), 7,26 (m, 3H), 7,07 (d, 1H, J = 2,5 Hz), 3,70 (t, J = 8,0 Hz), 3,40 (t, 2H, J = 8,0 Hz).

N-triptofil-2,4-tiazolidinadiona (**5**)

Uma suspensão de 3 g (25,64 mmoles) de 2,4-tiazolidinadiona **1** em 15 mL de metanol foi agitada por 5 min. Em seguida, adicionou-se uma solução de 1,58 g (28,16 mmoles) de KOH em 13 mL de metanol e depois 5,74 g (25,64 mmoles) de brometo de triptofila **9**. A reação foi acompanhada por CCD em sílica (eluente CH₂Cl₂ 100%). Após 96 h à temperatura ambiente, 12,54 g (48,23 mmoles) do produto bruto foram obtidos. Após extração em AcOEt e purificação por cromatografia em coluna de sílica (eluente CH₂Cl₂/hexano (1:1)), obteve-se 4 g (15,38 mmoles) de *N*-triptofil-2,4-tiazolidinadiona **5**, na forma de cristais amorfos de coloração bege, com um rendimento de 60%. p.f.: 176,5 - 177,5 °C; IV (ν , cm⁻¹; KBr): 3382 cm⁻¹ (NH), 1749; 1670 cm⁻¹ (C=O); MS - m/z (intensidade relativa): 260 (M⁺, 28,77), 143 (100), 130 (86,57), 116 (5,04), 103 (7,67), 77 (7,67), 63 (1,34), 51 (2,96); RMN¹H (DMSO-d₆, 300 MHz): 10,85 (s, 1H, NH), 7,45 (d, 1H, J = 6,6 Hz, H-13), 7,34 (d, 1H, J = 6,6 Hz, H-10), 7,18 (d, 1H, J = 2,4 Hz, H-16), 7,03 (m, 2H, H-11 e 12), 4,15 (s, 2H, H-5), 3,74 (m, 2H, H-6), 2,91 (m, 2H, H-7).

N-triptofil-rodanina (**6**)

Uma solução de 2 g (12,5 mmoles) de triptamina **10**, 0,75 mL (12,5 mmoles) de sulfeto de carbono (CS₂), 2 mL (50 mmoles) de hidróxido de amônio (NH₄OH) em 1,5 mL de etanol foi agitada em banho de gelo por 2 h. Após completada a reação, a mistura foi deixada à temperatura ambiente por 2 h. Em seguida, a mistura foi novamente resfriada em banho de gelo, e adicionou-se uma solução aquosa de cloroacetato de sódio (ClCH₂COONa) recém preparada. Em seguida, foram adicionados 2 mL de uma solução de ácido clorídrico (HCl) a 50% e aqueceu-se à 80 °C por 50 min. A reação foi acompanhada por CCD em sílica (eluente CH₂Cl₂/hexano 8:2). No final da reação a mistura foi resfriada, filtrada e lavada com água destilada, obtendo-se cristais amorfos de coloração marrom. O produto bruto obtido foi purificado por cromatografia em coluna de sílica (eluente CH₂Cl₂/hexano (1:1)) produzindo 2,05 g (7,45 mmoles) de *N*-triptofil-rodanina **6**, com um rendimento de 60%. p.f.: 177-178 °C; IV (ν , cm⁻¹; KBr): 3415 cm⁻¹ (NH), 1714 cm⁻¹ (C=O), 1273; 1095 cm⁻¹ (C=S); MS - m/z (intensidade relativa): 276 (M⁺, 6,54), 143 (100), 130 (8,44), 115 (8,23), 104 (1,36), 89 (1,20), 77 (2,39), 63 (0,77), 51 (1,06); RMN¹H (DMSO-d₆, 300 MHz): 10,90 (s, 1H, NH), 7,63 (d, 1H, J = 6,8 Hz, H-13), 7,35 (d, 1H, J = 6,8 Hz, H-10), 7,21 (d, 1H, J = 2,5 Hz, H-16), 7,04 (m, 2H, H-11 e 12), 4,23 (s, 2H, H-5), 4,09 (s, 2H, H-6), 2,94 (m, 2H, H-7).

Procedimento geral de obtenção dos derivados 5-benzilidênicos

N-triptofil-5-(4-metoxibenzilideno)-2,4-tiazolidinadiona (**7a**)

Uma suspensão de 50 mg (0,192 mmoles) de *N*-triptofil-2,4-tiazolidinadiona **5** em 1 mL de uma solução de NH₄OH/água, na proporção de 1:2, foi agitada por 3 min. Em seguida, adicionou-se uma solução de 29 μ L (0,235 mmoles) de 4-metoxibenzaldeído em 1 mL de etanol e, depois, 1 mL de uma solução aquosa saturada de cloreto de amônio (NH₄Cl). A reação foi acompanhada por CCD em sílica (eluente CH₂Cl₂/hexano (7:3)). Após 3 h 30 min à 60 °C, o produto bruto obtido foi extraído com AcOEt e, depois, purificado por cromatografia em coluna de sílica (eluente CH₂Cl₂/hexano (1:1)) obtendo-se 34,20 mg (0,090 mmoles) de *N*-triptofil-5-(4-metoxibenzilideno)-2,4-tiazolidinadiona **7a**, na forma de cristais de coloração amarelo pálido, com um rendimento de 47%. p.f.: 182 - 183 °C; IV (ν , cm⁻¹; KBr): 3361 cm⁻¹ (NH), 1714 e 1676 cm⁻¹ (C=O),

1596 (C=C); MS - m/z (intensidade relativa): 378 (M⁺, 10,68), 185 (2,26), 164 (3,44), 149 (4,33), 144 (14,14), 143 (100), 130 (16,56), 116 (5,56), 115 (5,85), 103 (2,20), 77 (3,84), 51 (1,52); RMN¹H (DMSO-d₆, 300 MHz): 10,85 (s, 1H, NH), 7,85 (s, 1H, H-17), 7,60 (m, 3H, H-13 e 20), 7,31 (d, 1H, J = 7,34 Hz, H-10), 7,15 (m, 1H, H-16), 7,00 (m, 4H, H-11, 12 e 19), 3,87 (m, 2H, H-6), 3,80 (s, 3H, H-22) 2,97 (m, 2H, H-7).

N-triptofil-5-(4-clorobenzilideno)-2,4-tiazolidinadiona (**7b**)

A partir de 324 mg (2,30 mmoles) de 4-clorobenzaldeído obteve-se 421 mg (1,10 mmoles) de *N*-triptofil-5-(4-clorobenzilideno)-2,4-tiazolidinadiona **7b**, na forma de cristais de coloração amarelada, com um rendimento de 57%. p.f.: 161 - 162 °C; IV (v, cm⁻¹; KBr): 3431,0 cm⁻¹ (NH), 1741 e 1683 cm⁻¹ (C=O), 1613 (C=C); MS - m/z (intensidade relativa): 382 (M⁺, 18,33), 381 (11,85), 168 (3,60), 144 (22,5), 143 (100), 133 (1,92), 131 (42,49), 116 (6,68), 103 (4,05), 77 (4,05), 51 (2,26); RMN¹H (CDCl₃, 300 MHz): 8,04 (s, 1H, NH), 7,83 (s, 1H, H-17), 7,73 (d, 1H, J = 7,5 Hz, H-13), 7,44 (m, 4H, H-19 e 20), 7,36 (d, 1H, J = 7,5 Hz, H-10), 7,18 (m, 2H, H-11 e 12), 7,09 (d, 1H, J = 2,3 Hz, H-16), 4,06 (m, 2H, H-6), 3,14 (m, 2H, H-7).

N-triptofil-5-(3,5-di-*tert*-butil-4-hidróxibenzilideno)-2,4-tiazolidinadiona (**7c**)

Foram utilizados 540 mg (2,30 mmoles) de 3,5-di-*tert*-butil-4-hidróxibenzaldeído e o tempo total de reação foi de 11 h, obtendo-se 373 mg (0,78 mmoles) do produto **7c** puro, de coloração branca, com um rendimento de 41%. p.f.: 207 - 208 °C; IV (v, cm⁻¹; KBr): 3362, cm⁻¹ (NH), 1724 e 1671 cm⁻¹ (C=O); 1587 cm⁻¹ (C=C); MS - m/z (intensidade relativa): 476 (M⁺, 8,8), 247 (2,91), 143 (100), 130 (14,39), 116 (2,24); RMN¹H (CDCl₃, 300 MHz): 8,02 (s, 1H, NH), 7,86 (s, 1H), 7,76 (d, 1H, J = 7,5 Hz, H-13), 7,36 (m, 1H, H-10), 7,18 (m, 2H, H-11 e 12), 7,09 (d, 1H, J = 2,1 Hz, H-16), 4,06 (m, 2H, H-6) 3,14 (m, 2H, H-7) 1,47 (s, 18H).

N-triptofil-5-(4-metoxibenzilideno)-rodanina (**7d**)

Uma suspensão de 300 mg (1,087 mmoles) de *N*-triptofil-rodanina **6** em 2 mL de uma solução de NH₄OH/água, na proporção de 1:2, foi agitada por 5 min. Em seguida, adicionou-se uma solução de 0,16 mL (1,331 mmoles) de 4-metoxibenzaldeído em 3 mL de etanol, e depois, 1 mL de uma solução aquosa saturada de cloreto de amônio (NH₄Cl). A reação foi acompanhada por CCD em sílica (eluente CH₂Cl₂/hexano (7:3)). Após 45 min à 60 °C, o produto bruto obtido foi extraído com AcOEt e, depois, purificado por cromatografia em coluna de alumina (eluente CH₂Cl₂/hexano (2:8)) obtendo-se 171,40 mg (0,435 mmoles) de *N*-triptofil-5-(4-metoxibenzilideno)-rodanina **7d**, na forma de cristais de coloração amarela, com um rendimento de 40%. p.f.: 186 - 187 °C; IV (v, cm⁻¹; KBr): 3446 cm⁻¹ (NH), 1687 cm⁻¹ (C=O), 1586 cm⁻¹ (C=C), 1099, 1028 cm⁻¹ (C=S); MS - m/z (intensidade relativa): 393 (M⁺, 7,16), 298 (4,04), 164 (5,50), 144 (9,83), 143 (100), 130 (3,00), 116 (7,19), 115 (3,37), 103 (1,44), 78 (2,77); RMN¹H (DMSO-d₆, 300 MHz): 8,03 (s, 1H, NH), 7,85 (m, 1H, H-13), 7,70 (m, 1H, H-17), 7,47 (m, 2H, H-20), 7,37 (m, 1H, H-10), 7,20 (m, 2H, H-11 e 12), 7,12 (d, 1H, J = 2,3 Hz, H-16), 7,01 (m, 2H, H-19), 4,42 (m, 2H, H-6), 3,88 (s, 3H, H-22), 3,17 (m, 2H, H-7).

N-triptofil-5-(4-clorobenzilideno)-rodanina (**7e**)

A partir de 183,40 mg (1,304 mmoles) de 4-clorobenzaldeído obteve-se 232 mg (0,582 mmoles) de *N*-triptofil-5-(4-clorobenzi-

lido)-rodanina **7e** na forma de cristais de coloração amarela, com um rendimento de 54%. p.f.: 179 - 180 °C; IV (v, cm⁻¹; KBr): 3407 cm⁻¹ (NH), 1706 cm⁻¹ (C=O), 1598 cm⁻¹ (C=C), 1085; 1009 cm⁻¹ (C=S); MS - m/z (intensidade relativa): 398 (M⁺, 3,98), 201 (1,00), 168 (3,48), 144 (17,07), 143 (100), 142 (18,36), 130 (12,56), 116 (10,30), 115 (14,13), 89 (3,75), 77 (3,66), 51 (1,45); RMN¹H (CDCl₃, 300 MHz): 8,04 (s, 1H, NH), 7,82 (d, 1H, J = 7,8 Hz, H-13), 7,66 (s, 1H, H-17), 7,35-7,50 (m, 3H, H-10 e 20), 7,10-7,30 (m, 5H, H-11, 12, 16 e 19), 4,42 (m, 2H, H-6), 3,17 (m, 2H, H-7).

N-triptofil-5-(3,5-di-*tert*-butil-4-hidróxibenzilideno)-rodanina (**7f**)

Foram utilizados 306 mg (1,304 mmoles) de 3,5-di-*tert*-butil-4-hidróxibenzaldeído e o tempo total de reação foi de 2 h 30 min, obtendo-se 324 mg (0,658 mmoles) do produto **7f** puro, de coloração amarela, com um rendimento de 61%. p.f.: 221 - 222, °C; IV (v, cm⁻¹; KBr): 3474 cm⁻¹ (NH), 1708 cm⁻¹ (C=O), 1585 cm⁻¹ (C=C), 1100; 1042 cm⁻¹ (C=S); MS - m/z (intensidade relativa): 492 (M⁺, 1,5), 247 (5,04), 143 (100), 130 (4,69), 116 (3,03); RMN¹H (CDCl₃, 300 MHz): 8,02 (s, 1H, NH), 7,86 (d, 1H, J = 7,5 Hz, H-13), 7,71 (s, 1H, H-17) 7,37 (m, 1H, H-10), 7,19 (m, 2H, H-11 e 12), 7,13 (d, 1H, J = 2,4 Hz, H-16), 4,42 (m, 2H, H-6), 3,18 (m, 2H, H-7), 1,48 (s, 18H).

DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE BIOLÓGICA

Para realização dos ensaios de toxicidade e atividade antiedematogênica todos os compostos foram dissolvidos em salina com 2% de Tween 80 (veículo).

Toxicidade aguda (DL₅₀)

Grupos de camundongos Swiss (25-35 g), de ambos os sexos, privados de ração durante 12 h, permanecendo água *ad libitum*, foram distribuídos em 5 grupos (n = 10), e tratados com os compostos **7b**, **7c**, **7e** e **7f** (25, 50, 250 ou 500 mg/kg; v.o.). O grupo controle recebeu veículo (15 mL/kg; v.o.). O percentual de mortalidade foi observado atentamente durante 8 h e, posteriormente, a cada 24 h, durante 72 h e a mortalidade calculada de acordo com o método de Miller e Tainter²¹.

Atividade antiedematogênica - edema de pata induzido por carragenina²²

Para este teste, grupos (n = 08) de ratos Wistar (200 - 300g) machos, privados de ração durante 12 h, permanecendo água *ad libitum*, foram tratados de acordo com seus grupos com **7b**, **7c**, **7e** e **7f** (50 ou 100 mg/kg; v.o.), indometacina (10 mg/kg; v.o.) ou veículo (5 mL/kg; v.o.). Após 60 min da administração dos compostos, o edema de pata foi induzido através de injeção subplantar de 0,1 mL de carragenina (1% W/V) na pata traseira esquerda dos animais. O volume da pata injetada foi medido em pletismômetro (Ugo Basile), antes e 180 min após a injeção do agente edematogênico. A variação do edema (mL) foi determinada através da diferença entre o volume da pata, em cada tempo, em relação ao valor inicial.

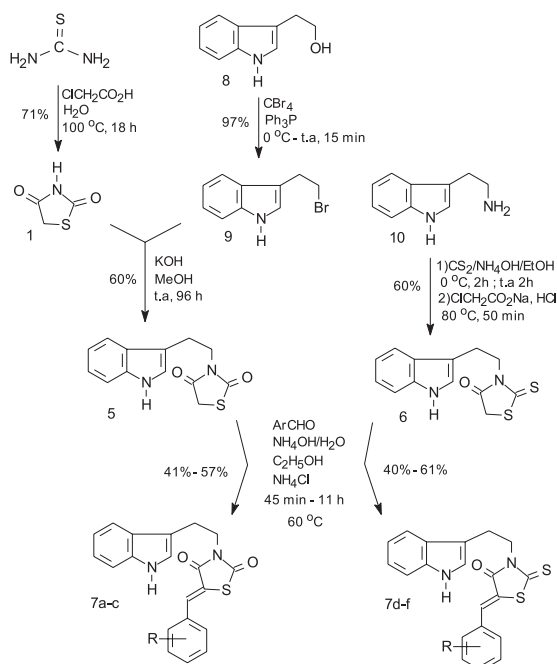
Estatística

Todos os resultados são expressos em média ± erro padrão da média. No estudo da atividade antiedematogênica utilizou-se a análise de variância (ANOVA) e as diferenças foram consideradas significantes quando p < 0,05. As comparações múltiplas foram realizadas segundo os métodos de Dunnett, Mann-Whitney, Kruskal-Wallis, teste "Protected Least Significant Difference" (PLSD) de

Fischer e pelo teste F. As análises foram realizadas com o programa Statview - 4.5.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A síntese dos derivados *N*-triptofil-5-benzilideno-2,4-tiazolidinadionas **7a-c** ocorre em quatro etapas por uma rota convergente, enquanto que os derivados *N*-triptofil-5-benzilideno-rodaninas **7d-f** foram obtidos por síntese linear em duas etapas (Esquema 1).



Esquema 1. Rotas sintéticas para obtenção dos derivados *N*-triptofil-5-benzilideno-2,4-tiazolidinadionas (**7a-c**) e *N*-triptofil-5-benzilideno-rodaninas (**7d-f**)

O brometo de triptofila **9** foi obtido através do tratamento do triptofol **8** com tetrabrometo de carbono e trifetilfosfina, utilizando-se acetonitrila como solvente. Este método permite obter o brometo em rendimento quantitativo²³.

Dentre os diversos métodos relatados na literatura para preparar a 2,4-tiazolidinadion **1**, foi empregado o método descrito por Libermann *et al.*²⁰, por apresentar bom rendimento. Assim, a obtenção da 2,4-tiazolidinadion **1** foi realizada pela reação de cicloadição entre o ácido monocloroacético e a tiouréia (Esquema 1).

Em seguida, procedeu-se à reação de *N*-alquilação: o átomo de hidrogênio presente no nitrogênio do núcleo da 2,4-tiazolidinadion **1** é suficientemente ácido para ser abstraído por uma base, propiciando a subsequente reação de substituição no brometo de triptofila **9** conduzindo, assim, ao *N*-triptofil-2,4-tiazolidinadion **5**. Inicialmente, dois métodos foram utilizados empregando-se as bases NaH em THF/

DMF²⁴ e KOH em CH₃OH destilado²⁵ (Esquema 1). Estas duas reações proporcionam bons rendimentos, porém só o segundo método foi aplicado por ser de mais fácil manuseio.

O grupo metileno na posição 5 do anel tiazolidinônico, devido à sua acidez, possui grande reatividade e condensa com aldeídos e cetonas para formar compostos 5-arilidenos. Assim, a condensação da *N*-triptofil-2,4-tiazolidinadion **5** com os aldeídos aromáticos substituídos foi realizada na presença de hidróxido de amônio e cloreto de amônio em etanol, à 60 °C²⁶ (Esquema 1). Após a purificação por cromatografia em coluna de sílica, obtiveram-se os compostos **7a-c** com rendimentos moderados de 47, 57 e 41%, respectivamente.

Em relação à obtenção da *N*-triptofil-rodanina **6**, utilizou-se inicialmente o método descrito para a obtenção da *N*-triptofil-2,4-tiazolidinadion **5**: ação de KOH em CH₃OH destilado. No entanto, obteve-se a *N*-triptofil-rodanina **6** com um rendimento de apenas 10%. Para melhorar o rendimento desta reação, foram testadas outras bases, tais como NaOH, K₂CO₃, NaH e Cs₂CO₃, mas, da mesma forma, os rendimentos obtidos ainda foram baixos, variando de 10 a 25% (Tabela 1).

Face aos resultados obtidos com baixos rendimentos e um tempo longo de reação, resolveu-se modificar a estratégia sintética, elaborando a síntese do anel rodanina contendo a cadeia lateral *N*-alquilada. Assim, utilizou-se o método descrito por Julian e Sturgis²⁷, que consiste em reagir uma amina primária com dissulfeto de carbono e um sal do ácido cloroacético, em meio básico. A aplicação desta reação com a triptamina **10** forneceu a *N*-triptofil-rodanina **6** com um rendimento de 60%. Em seguida, a condensação com os aldeídos aromáticos foi realizada empregando-se o mesmo método descrito anteriormente. Após a purificação por cromatografia em coluna de alumina, obteve-se os compostos **7d-f** com rendimentos moderados de 40, 54 e 61%, respectivamente.

As substâncias *N*-triptofil-2,4-tiazolidinadion **5**, *N*-triptofil-rodanina **6**, *N*-triptofil-5-benzilideno-2,4-tiazolidinadionas **7a-c** e *N*-triptofil-5-benzilideno-rodaninas **7d-f** (Esquema 1) foram caracterizadas por espectrometria no IV, RMN ¹H e de massas.

Os espectros no IV dos compostos *N*-triptofil-2,4-tiazolidinadion **5** e *N*-triptofil-rodanina **6** apresentam uma banda de absorção característica, correspondente à vibração de estiramento de NH indólico, em 3382 e 3415 cm⁻¹, respectivamente. A *N*-triptofil-2,4-tiazolidinadion **5** apresenta duas bandas de vibrações, uma em 1749 cm⁻¹ e outra em 1670 cm⁻¹, correspondentes aos estiramentos das duas carbonilas, enquanto que o *N*-triptofil-rodanina **6** apresenta uma banda de vibração axial a 1714 cm⁻¹, atribuída ao estiramento de uma carbonila e duas bandas de vibrações a 1273 e 1095 cm⁻¹, atribuídas ao grupo tiocarbonila.

As substâncias *N*-triptofil-5-benzilideno-2,4-tiazolidinadionas **7a-c** e *N*-triptofil-5-benzilideno-rodaninas **7d-f** foram caracterizadas pela presença de uma banda de absorção correspondente à vibração da ligação dupla exocíclica entre 1613-1587 cm⁻¹ e 1598-1585 cm⁻¹, respectivamente.

No estudo por RMN ¹H, os espectros dos derivados *N*-triptofil-2,4-tiazolidinadion **5** e *N*-triptofil-rodanina **6** mostram um deslocamento químico do hidrogênio N-H indólico a 10,85 e 10,90 ppm,

Tabela 1. Condições reacionais utilizadas para obtenção da *N*-triptofil-rodanina **6**

Experimento	Base/Solvente	Temperatura	Tempo	Rendimento (%)
1	KOH/MeOH	Ambiente	20 h	10
2	NaOH/MeOH	Ambiente	3 dias	12
3	K ₂ CO ₃ /MeOH	Ambiente	5 dias	15
4	NaH/THF/DMF	40 °C	1 dia	10
5	Cs ₂ CO ₃ /MeOH/DMF	Ambiente	3 dias	25

respectivamente. Os hidrogênios aromáticos apresentam deslocamentos entre 7,63 e 7,03 ppm. É observado a presença de um dublete a 7,18 e outro a 7,21 ppm, correspondente ao hidrogênio aromático alfa ao átomo de nitrogênio dos derivados *N*-triptofil-2,4-tiazolidinadiona **5** e *N*-triptofil-rodanina **6**, respectivamente. Em 4,15 ppm, para o *N*-triptofil-2,4-tiazolidinadiona **5** e 4,23 ppm, para o *N*-triptofil-rodanina **6**, observa-se um singlete correspondente aos hidrogênios metilênicos da posição 5 do anel tiazolidínico. Os espectros mostram dois multipletos referentes aos hidrogênios metilênicos da cadeia alquílica a 3,74 e 2,91 ppm para *N*-triptofil-2,4-tiazolidinadiona **5** e a 4,09 e 2,94 ppm para *N*-triptofil-rodanina **6**.

A condensação de derivados tiazolidinônicos com aldeídos aromáticos pode levar à formação dos diastereoisômeros *Z* e *E*.

Em reações de condensação entre aldeídos aromáticos e 2,4-imidazolidinadionas não substituídas na posição 1, Tan, Ang e Fong²⁸ demonstraram que apenas o isômero *Z* fora obtido na maioria dos compostos. Em trabalhos desenvolvidos por Góes *et al.*²⁹, Amorim *et al.*³⁰, Lima *et al.*³¹, Costa *et al.*²⁵ e Brandão *et al.*³², com 5-benzilideno-2,4-imidazolidinadionas e 2,4-tiazolidinadionas, apenas o diastereoisômero de configuração *Z* fora obtido para todos os compostos sintetizados, mostrando que os deslocamentos químicos dos hidrogênios vinílicos variaram entre 7,78 e 8,29 ppm.

Na análise de RMN ¹H, o deslocamento químico do hidrogênio vinílico apresentado pelos derivados *N*-triptofil-5-benzilideno-2,4-tiazolidinadionas **7a-c** e *N*-triptofil-5-benzilideno-rodaninas **7d-f** é semelhante ao encontrado por estes autores. Observa-se um deslocamento químico na faixa de 7,18 a 7,86 ppm, que corresponde aos diastereoisômeros de configuração *Z*.

Um estudo de impacto eletrônico em espectrometria de massas foi realizado para os derivados tiazolidinônicos e rodanínicos sintetizados³³ (Figura 2).

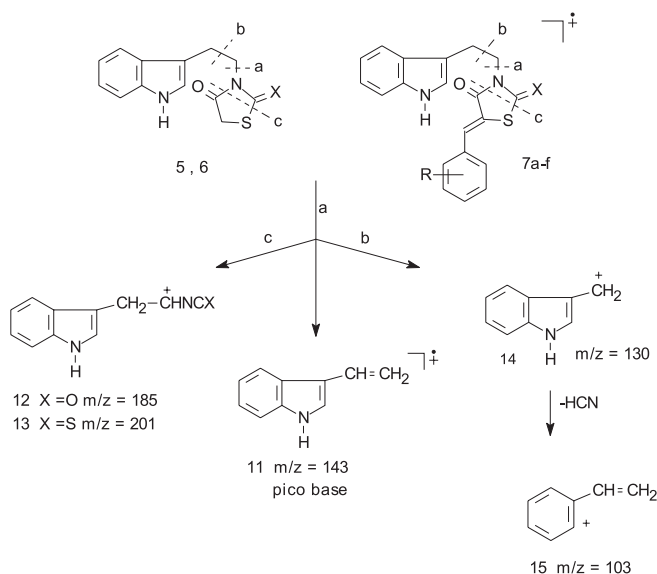


Figura 2. Principais fragmentações por impacto eletrônico dos derivados **5**, **6** e **7a-f**

Todos os compostos apresentam o pico base $m/z = 143$ **11** formado pela ruptura da ligação em posição α do anel tiazolidinônico e rodanínico, seguida da perda de um radical de hidrogênio. Para todos os compostos foi observada, também, uma ruptura do anel heterocíclico das ligações α S-C e γ N-C, ocorrendo formação dos íons $m/z = 185$ (X=O, **12**) e $m/z = 201$ (X=S, **13**). Estes fragmentos constituem uma importante via de fragmentação do anel heterocíclico³⁴. O íon de massa $m/z = 130$ **14** é obtido pela clivagem da

ligação β C-C do núcleo indólico. A perda de uma molécula de HCN forma o íon de massa $m/z = 103$ **15**, que se constitui na principal via de fragmentação dos derivados alquil indólicos³⁵.

No que concerne à avaliação biológica, preliminarmente os compostos **7b**, **7c**, **7e** e **7f** foram submetidos ao estudo de toxicidade. Em relação aos estudos de toxicidade aguda (DL_{50}), nenhum dos compostos provocou letalidade ou indícios de toxicidade nas doses utilizadas (25 – 500 mg/kg, v.o.) não sendo, portanto, possível estabelecer a DL_{50} .

Com exceção de **7c** (50 mg/kg; v.o.), as substâncias estudadas apresentaram significativo ($p < 0,05$) efeito antiedematogênico medido 180 min após a administração de carragenina (Figura 3).

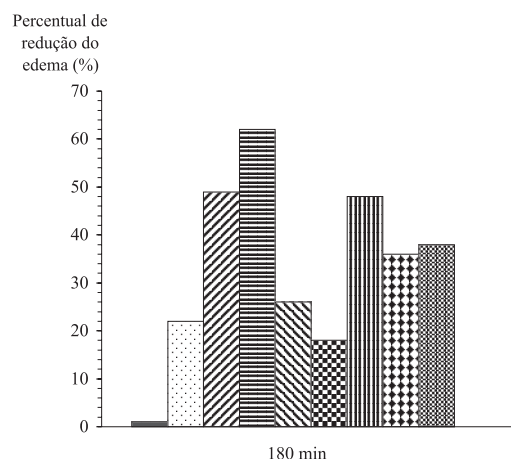


Figura 3. Percentual de redução do edema nos diferentes grupos experimentais, aferido 180 min (efeito máximo) após administração da carragenina. ■ Controle (solução salina a 0,9%, 5 mL/kg; vo), ▨ Indometacina (10 mg/kg; vo), ▩ **7f** (50 mg/kg; vo), ▪ **7f** (100 mg/kg; vo), ▤ **7c** (50 mg/kg; vo), ▥ **7c** (100 mg/kg; vo), ▦ **7e** (50 mg/kg; vo), ▧ **7e** (100 mg/kg; vo), ▨ **7b** (50 mg/kg; vo)

Em doses equivalentes a 1/10 ou 1/5 da maior dose testada no ensaio de toxicidade aguda (500 mg/kg; v.o.), a inibição do edema apresentada por **7f** (100 mg/kg ou 50 mg/kg; v.o.) foi 48,5 e 63,2%, respectivamente. A indometacina (10 mg/kg; v.o.), por sua vez, provocou uma inibição de 22,5% da inflamação aguda induzida por carragenina. Sabe-se que a indometacina atua neste modelo de inflamação de diversas formas, inibindo a síntese de prostaglandinas e a infiltração de proteínas plasmáticas e neutrófilos no sítio inflamatório³⁶. A inibição do edema de pata induzido por carragenina aos 180 min coincide com o pico do edema, indução da COX-2³⁷ e a liberação de prostaglandinas, sugerindo o envolvimento dos compostos com o metabolismo do ácido araquidônico. No entanto, há a possibilidade dos derivados estarem agindo também por inibição da enzima óxido nítrico sintase (NOS) o que, de acordo com Salvemini *et al.*³⁸, resulta em diminuição da infiltração neutrofílica no sítio da inflamação, diminuição da produção de prostaglandinas, óxido nítrico e peróxido nítrico.

As considerações acima, embora pertinentes, não permitem apontar o mecanismo exato através do qual os compostos exercem sua atividade antiedematogênica nesse modelo de inflamação, no entanto, indicam uma perspectiva de estudos posteriores para aprofundamento acerca do mecanismo de ação dos mesmos.

CONCLUSÕES

Na estratégia sintética adotada explorou-se a reatividade do anel 4-tiazolidinona por meio de reações de *N*-alquilação e condensação

com aldeídos aromáticos na posição 5. Para os derivados 2,4-tiazolidinônicos **7a-c** adotou-se uma rota convergente em quatro etapas, em que se obteve resultados satisfatórios com rendimento global entre 17,5 e 24,3%. Em relação aos derivados rodanínicos **7d-f**, por apresentarem baixos rendimentos e um tempo longo de reação, modificou-se esta estratégia elaborando uma rota linear em duas etapas, onde se sintetizou o anel rodanina contendo a cadeia lateral *N*-alquilada. Estes derivados foram obtidos com rendimento global entre 24 e 36,6%.

A reação de condensação, em nosso caso, parece ser diastereoespecífica pois apenas um diastereoisômero foi obtido. Na análise de RMN ¹H, o hidrogênio vinílico nos derivados **7a-f** apresenta deslocamento químico na faixa correspondente aos diastereoisômeros de configuração *Z*. Estes resultados são corroborados por dados reportados na literatura.

Os derivados **7b,c** e **7e,f** submetidos ao estudo de toxicidade aguda não provocaram letalidade ou indício de toxicidade nas doses de 25 – 500 mg/kg, v.o. . Por outro lado, na avaliação da atividade antiematogênica, o derivado **7f** apresentou melhor inibição do edema de pata induzido por carregemina nas doses de 50 mg/kg, v.o.(48,5%) e 100 mg/kg, v.o. (63,2 %).

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem o apoio financeiro recebido pelo CNPq, bem como bolsa de mestrado da CAPES-DS.

REFERÊNCIAS

- Korolkovas, A; *Fundamentos de farmacologia molecular: base para o planejamento de fármacos*, 2º ed., EDART: São Paulo, 1977.
- Barreiro, E. J.; Fraga, C. A. M.; *Química Medicinal: as bases moleculares da ação de fármacos*, ARTMED: Porto Alegre, 2001.
- Lakhan, R.; Singh, R. L.; *Proc. - Indian Acad. Sci., Chem. Sci.* **1991**, *103*, 33.
- Unangst, P. C.; Connor, D. T.; Cetenko, W. A.; Sorenson, R. J.; Sircar, J. C.; Wright, C. D.; Schrier, D. J.; Dyer, R. D.; *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1993**, *3*, 1729.
- Fresneau, P.; Cussac, M.; Morand, J. M.; Szymonski, B.; Tranqui, D.; Leclerc, G.; *J. Med. Chem.* **1998**, *41*, 4706.
- Andrade, A. M. C.; Lima, W. T.; Rocha, M. P. A.; Lima, M. C. A.; Galdino, S. L.; Barbosa Filho, J. M.; Góes, A. J. S.; Pitta, I. R.; *Boll. Chim. Farmac.* **2002**, *6*, 428.
- Bradsher, C. K.; Brown, F. C.; Grantham, R. J.; *J. Am. Chem. Soc.* **1954**, *76*, 114.
- Inamori, Y.; Okamoto, Y.; Takegawa, Y.; Tsujibo, H.; Sakagami, Y.; Kumeda, Y.; Shibata, M.; Numata, A.; *Biosci., Biotechnol., Biochem.* **1998**, *62*, 1025
- Menezes, E. H. C.; Góes, A. J. S.; Diu, M. B. S.; Galdino, S. L.; Pitta, I. R.; Luu-Duc, C.; *Pharmazie* **1992**, *46*, 457.
- Tunçbileck, M.; Altanlar, N.; *Il Farmaco* **1999**, *54*, 475.
- Grant, E. B.; Guiadeen, D.; Baum, E. A.; Foleno, B. D.; Jin, H.; Montenegro, D. A.; Nelson, E. A.; Bush, K.; Hlasta, D. J.; *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2000**, *10*, 705.
- Sim, M. M.; Ng, S.B.; Buss, A. D.; Crasta, S. C.; Goh, K. L.; Lee, S. K.; *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2002**, *12*, 697.
- Momose, Y.; Maekawa, T.; Yamano, T.; Kawada, M.; Odaka, H.; Ikeda, H.; Sohma, T.; *J. Med. Chem.* **2002**, *45*, 1518.
- Neogi, P.; Lakner, F. J.; Medicheria, S.; Cheng, J.; Dey, D.; Gowri, M.; Nag, B.; Sharma, S. D.; Pickford, L. B.; Gross, C.; *Bioorg. Med. Chem.* **2003**, *11*, 4059.
- Inamori, Y.; Muro, C.; Tanaka, R.; Adachi, A.; Miyamoto, K.; Tsujibo, H.; *Chem. Pharm. Bull.* **1992**, *40*, 2854.
- Tong, H. C.; Skidmore, D.; Maibach, H. I.; Skinner, W. A.; *Mosquito News* **1975**, *35*, 76.
- Boschelli, D. H.; Connor, D. T.; Kuipers, P. J.; Wright, C. D.; *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1992**, *2*, 705.
- De Lima, J. G.; Perrissin, M.; Chantegrel, J.; Luu-Duc, C.; Rousseau, A.; Narcisse, G.; *Arzneim.-Forsch./Drug Res.* **1994**, *44*, 831.
- Oberbauer, R.; Krivanek, P.; Turnhein, K.; *Clin. Pharmacokinet.* **1993**, *24*, 428.
- Liebermann, D.; Himbert, J.; Hengl, L.; *Bull. Soc. Chim. Fr.* **1948**, *11-12*, 1120.
- Miller, L. C.; Tainter, M. L.; *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* **1944**, *57*, 261.
- Winter, C. A.; Risley, E. A.; Nuss, G. W.; *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* **1962**, *111*, 544.
- Wagner, A.; Heitz, M.P.; Mioskowski, C.; *Tetrahedron Lett.* **1989**, *30*, 557.
- Singh, S. P.; Parmar, S. S.; Raman, K.; Stenberg, V. I.; *Chem. Rev.* **1981**, *81*, 175.
- Costa, D. L. B.; Chantegrel, J.; Lima, M. C. A.; Albuquerque, J. F. C.; Lima, R. M. O. C.; Galdino, S. L.; Pitta, I. R.; Luu-Duc, C.; *J. Pharm. Belg.* **1995**, *50*, 5.
- Brown, F. C.; Bradsher, C. K.; Chilton, S. W.; *J. Org. Chem.* **1956**, *21*, 1269.
- Julian, P. L.; Sturgis, B. M.; *J. Am. Chem. Soc.* **1935**, *57*, 1126.
- Tan, S. F.; Ang, K. P.; Fong, Y. F.; *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2* **1986**, *2*, 1941.
- Góes, A. J. S.; Lima, M. C. A.; Galdino, S. L.; Pitta, I. R., Luu-Duc, C.; *J. Pharm. Belg.* **1991**, *46*, 236.
- Amorim, E. L. C.; Brandão, S. S. F.; Cavalcanti, C. O. M.; Galdino, S. L.; Pitta, I. R.; Luu-Duc, C.; *Ann. Pharm. Fr.* **1992**, *50*, 103.
- Lima, M. C. A.; Costa, D. L. B.; Góes, A. J. S.; Galdino, S. L.; Pitta, I. R., Luu-Duc, C.; *Pharmazie* **1992**, *47*, 182.
- Brandão, S. S. F.; Filho, J. A. R.; Chantegrel, J.; Albuquerque, J. F. C.; Azevedo-Ximenes, E.; Galdino, S. L.; Pitta, I. R.; Perrissin, M.; Luu-Duc, C.; *Ann. Pharm. Fr.* **1997**, *55*, 206.
- Um estudo mais detalhado das fragmentações encontra-se publicado em Lima, W. T.; Góes, A. J. S.; De lima, J. G.; *Spectrosc. Lett.* **2002**, *35*, 137.
- Galdino, S. L.; Lima, M. C. A.; Costa, D. L. B.; Góes, A. J. S.; Luu-Duc, C.; Pitta, I. R.; *Spectrosc. Lett.* **1991**, *24*, 1013.
- Beynon, J.; Williams, A. E.; *Appl. Spectrosc.* **1972**, *13*, 101.
- Lo, T. N.; Almeida, A. P.; Beaven M. A.; *J. Pharm. Exp. Ther.* **1982**, *221*, 261.
- Siebert, K.; Zhang, Y.; Leah, K.; Hauser, S.; Masferrer, J.; Perkins, W.; Lee, L.; Isakson, P.; *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **1994**, *91*, 12013.
- Salvemini, D.; Wang, Z. Q.; Wyatt, P. S.; Bourdon, D. M.; Marino, M. H.; Manning, P. T.; Currie, M. G.; *Brit. J. Pharmacol.* **1996**, *118*, 829.