

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a)
autor(a), o texto completo desta tese
será disponibilizado somente a partir
de 01/02/2018.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

“JULIO DE MESQUITA FILHO”

FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

CÂMPUS DE ARARAQUARA

Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas

MARCELLA GABRIELLE MENDES MACHADO

**SÍNTESE E AVALIAÇÃO ANTI-INFLAMATÓRIA DE DERIVADOS
ESTEROIDES DA SÉRIE LAPDESF GL-FT**

ARARAQUARA - SP

2017

MARCELLA GABRIELLE MENDES MACHADO

**SÍNTESE E AVALIAÇÃO ANTI-INFLAMATÓRIA DE DERIVADOS
ESTEROIDES DA SÉRIE LAPDESF GL-FT**

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, Área de Pesquisa e Desenvolvimento de Fármacos e Medicamentos, da Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, como parte dos requisitos para obtenção do Título de Doutora em Ciências Farmacêuticas.

Orientadora: Profa. Dra. Chung Man Chin

ARARAQUARA - SP

2017

Ficha Catalográfica

Elaborada Por Diretoria Técnica de Biblioteca e Documentação
Faculdade de Ciências Farmacêuticas
UNESP – Campus de Araraquara

M149s Machado, Marcella Gabrielle Mendes
Síntese e avaliação anti-inflamatória de derivados esteroides da Série Lapdesf GL-FT /
Marcella Gabrielle Mendes Machado. -- Araraquara, 2016.
117 f. : il.

Tese (Doutorado) – Universidade Estadual Paulista. "Júlio de Mesquita Filho".
Faculdade de Ciências Farmacêuticas. Programa de Pós Graduação em Ciências
Farmacêuticas, Área de Pesquisa e Desenvolvimento de Fármacos e Medicamentos.

Orientadora: Chung Man Chin.

1. Anti-inflamatórios. 2. Ftalimida. 3. Glicocorticoides. 4. Hibridação molecular. 5. Phthalimide.
6. Lapdesf GL-FT. I. Chung, Man Chin, orient. II. Título.

CAPES: 40500005

MARCELLA GABRIELLE MENDES MACHADO

SÍNTESE E AVALIAÇÃO ANTI-INFLAMATÓRIA DE DERIVADOS ESTEROIDES DA
SÉRIE LAPDESF GL-FT

Tese de Doutorado apresentada à Faculdade de Ciências
Farmacêuticas da Universidade Estadual Paulista –
UNESP, Campus de Araraquara como requisito para a
obtenção do título de Doutora em Ciências Farmacêuticas.

Araraquara, 01 de fevereiro de 2017.

BANCA EXAMINADORA

CHUNG MAN CHIN

RENATO FARINA MENEGON

CLEVERTON ROBERTO DE ANDRADE

EDUARDO RENÉ PEREZ GONZALEZ

JEAN LEANDRO DOS SANTOS

Dedico este trabalho ao meu amor, esposo e amigo. Você me mostrou que realmente o amor é paciente, o amor é bondoso (1 Co 13:14). Obrigada por acreditar em mim até nos momentos em que eu mesmo duvidei.

AGRADECIMENTOS

Eu agradeço ao Senhor por mais uma trajetória concluída! Tú és bom, em todo o tempo!

Aos meus pais pelo apoio em toda a minha formação. Esta vitória é fruto do cuidado de vocês.

Ao meu esposo Everton, pelo amor e companheirismo que fizeram toda a diferença nos bons e maus momentos durante esses anos de pós-graduação.

À minha irmã Priscilla, cunhado Evandro e todos os meus familiares e amigos que torceram e oraram pela concretização deste trabalho.

À minha querida orientadora Profa. Dra. Chung Man Chin, pela confiança depositada, pelos incentivos e instruções durante a execução deste trabalho.

Ao Prof. Cleverton pela atenção, ensinamentos e encorajamento durante as análises histopatológicas e reuniões para discussão dos resultados.

Aos colegas e técnicos do Lapdesf pela ajuda e pela amizade. Cauê, agradeço de coração toda a contribuição nos ensaios biológicos.

À Profa. Dra. Iracilda Zeppone Carlos, a técnica do laboratório Marisa Placeres e a colega Karina Barbieri pela colaboração no ensaio de viabilidade celular.

Aos professores membros da banca de qualificação e/ou defesa, Dr. Wagner Vilegas, Dr. Cleverton Roberto de Andrade, Dr. Jean Leandro dos Santos, Dr. Renato Farina Menegon, Dr. Eduardo René Perez, pela contribuição com sugestões para o enriquecimento deste trabalho.

À toda equipe da seção de Pós-Graduação pela ajuda e valiosas orientações.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), processo nº 2014/08728-6, pelo apoio financeiro para realização deste trabalho.

Muito obrigada!

*“ As grandes ideias surgem da observação dos
pequenos detalhes. ”*
(Augusto Cury)

RESUMO

Os glicocorticoides (GCs) são fármacos utilizados amplamente na terapêutica devido suas atividades anti-inflamatória, imunossupressora e antiangiogênica. Possuem a capacidade de reduzir a transcrição de uma série de enzimas/proteínas inflamatórias como a ciclooxigenase-2 (COX-2), lipoxigenases, fosfolipase A2, óxido nítrico sintase induzida (iNOS) e citocinas pró-inflamatórias como o fator de necrose tumoral alfa (TNF-alfa), super expresso em diversas doenças inflamatórias. Porém o seu uso é limitado devido as diversas reações adversas. Derivados ftalimídicos também têm sido relatados na literatura com importante atividade anti-inflamatória. Dessa forma, no presente trabalho, planejou-se através da estratégia de hibridação molecular, novos derivados anti-inflamatórios esteroides moduladores da citocina TNF-alfa, úteis no tratamento de doenças inflamatórias crônicas. Nesse contexto, foram sintetizados e caracterizados seis compostos derivados da prednisolona e budesonida da série Lapdesf GL-FT 1-6. Os compostos finais foram avaliados quanto à atividade anti-inflamatória em modelo de colite ulcerativa distal, atividade imunossupressora e determinação da viabilidade celular necessária para o ensaio de doseamento da citocina TNF-alfa. Além disso, os compostos GLFT 2 e 3 foram avaliados quanto à atividade anti-inflamatória em modelo de edema de pata. No ensaio de colite ulcerativa os compostos Lapdesf GL-FT 5 e 6 foram iguais estatisticamente ao controle negativo e apresentaram atividade anti-inflamatória com regressão do quadro de ulceração causada pela indução com ácido acético. O composto 5 ainda apresentou melhora nos sinais clínicos com ganho de peso e aumento da sobrevida dos animais e regressão total da ulceração em 83,3% dos animais tratados. Os compostos GLFT 1 e 3 foram diferentes estatisticamente dos grupos controle positivo e negativo. Apresentaram atividade anti-inflamatória com regressão total do quadro de ulceração em 33,3% dos animais em cada grupo, sendo superior ao fármaco padrão, prednisolona, que obteve 16,7% de regressão total da ulceração. A viabilidade celular para os seis compostos da série Lapdesf GL-FT nas concentrações de 50, 25, 12,5, 6,25, 3,12 e 1,65 μ M foi superior a 70% indicando baixa citotoxicidade. Porém, os compostos GL-FT 2 e 3 apresentaram viabilidade celular inesperada, chegando a valores de 300 e 400%, respectivamente, nas concentrações avaliadas. Os derivados da série Lapdesf GL-FT 1-6 não apresentaram atividade imunossupressora no ensaio *in vitro*. Os compostos Lapdesf GL-FT 2 e 3 apresentaram atividade anti-inflamatória no ensaio de edema de pata, não havendo diferença estatística com o fármaco padrão, prednisolona.

Palavras-chave: Anti-inflamatório. Ftalimida. Glicocorticoides. Hibridação molecular.

ABSTRACT

Glucocorticoids (GCs) are drugs widely used in therapy due their anti-inflammatory, immunosuppressive and antiangiogenic activities. They have the ability to reduce the transcription of a series of inflammatory enzymes / proteins such as cyclooxygenase-2 (COX-2), lipoxygenases, phospholipase A2, induced nitric oxide synthase (iNOS) and proinflammatory cytokines such as tumor necrosis factor alpha (TNF-alpha), over expressed in several inflammatory diseases. However, its use is limited due to the various adverse reactions. Phthalimide derivatives have also been reported in the literature with important anti-inflammatory activity. Thus, in the present work, new steroid anti-inflammatory derivatives as TNF-alpha cytokine modulators, useful in the treatment of chronic inflammatory diseases, have been designed through the molecular hybridization strategy. In this context, six compounds prednisolone and budesonide derivatives, Lapdesf GL-FT series, were synthesized and characterized. The final compounds were evaluated for anti-inflammatory activity in a model of distal ulcerative colitis, immunosuppressive activity and cell viability assay required for the TNF-alpha assay. In addition, GLFT 2 and 3 compounds were evaluated for anti-inflammatory activity in paw edema model. In the ulcerative colitis test, Lapdesf GL-FT 5 and 6 compounds were statistically equal to the negative control and showed anti-inflammatory activity with regression of the ulceration caused by the induction with acetic acid. Compound 5 also showed improvement in clinical signs such as weight gain and increased survival of animals and total regression of ulceration in 83.3% of treated animals. GLFT 1 and 3 compounds were statistically different from the positive and negative control groups. They presented anti-inflammatory activity with total regression of ulceration in 33.3% of the animals in each group, being superior to the standard drug, prednisolone, which obtained 16.7% of total ulceration regression. Cell viability for all Lapdesf GL-FT compounds at the concentrations of 50, 25, 12.5, 6.25, 3.125 and 1.65 μ M was higher than 70% indicating low cytotoxicity. However, GL-FT 2 and 3 compounds showed unexpected cell viability, reaching values of 300 and 400%, respectively, at the concentrations evaluated. Lapdesf GL-FT 1-6 did not present immunosuppressive activity in the *in vitro* assay. Lapdesf GL-FT 2 and 3 compounds showed anti-inflammatory activity in the paw edema test, and there was no statistical difference with the standard drug, prednisolone.

Keywords: Anti-inflammatory. Phthalimide. Glucocorticoids. Molecular hybridization.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Doenças associadas à inflamação crônica	16
Figura 2 - Processo de ativação do fator de transcrição NF-kB	18
Figura 3 - Citocinas envolvidas nas doenças inflamatórias intestinais.	18
Figura 4 - Estrutura molecular da talidomida.....	22
Figura 5 - Estratégia de hibridação molecular.....	24
Figura 6 - Representação do conceito de pró-fármaco.....	24
Figura 7 - Nitro ésteres de prednisolona (1-2) e budesonida (3-4).....	25
Figura 8 - Ensaio de atividade anti-inflamatória aguda (modelo de edema de pata). Comparação entre a carragenina, prednisolona e o composto I	46
Figura 9 - Ensaio de atividade anti-inflamatória aguda (modelo de edema de pata). Budesonida, compostos IV, V e VI.....	47
Figura 10 - Ensaio de atividade anti-inflamatória aguda (modelo de edema de pata). Prednisolona, compostos II e III.....	48
Figura 11 - Evolução da média do peso corporal dos ratos tratados a partir do 5º dia com prednisolona, GLFT 1, GLFT 2 e GLFT 3 em modelo de colite ulcerativa induzida por ácido acético.....	50
Figura 12 - Análise macroscópica dos cólons tratados com GLFT 1 e 3.....	51
Figura 13 - Comparação macroscópica de dois animais tratados com o composto GLFT 1. .	52
Figura 14 - Imagens da análise histopatológica do cólon do animal com megacólon tratado com o composto GLFT 1, aumento de 5 e 10 vezes.....	52
Figura 15 - Análise histopatológica do cólon dos animais com colite ulcerativa e submetidos ao tratamento com prednisolona, GLFT 1, 2 e 3.	54
Figura 16 - Imagens da análise histopatológica do cólon dos grupos controle positivo, prednisolona, GLFT 1, GLFT 2, GLFT 3 e controle negativo.....	55
Figura 17 - Evolução da média do peso corporal dos ratos tratados a partir do 5º dia com budesonida, GLFT 4, GLFT 5 e GLFT 6 em modelo de colite ulcerativa induzida por ácido acético.....	57
Figura 18 -Análise histopatológica do cólon dos animais com colite ulcerativa e submetidos ao tratamento com budesonida, GLFT 4, 5 e 6.	59
Figura 19 - Imagens da análise histopatológica do cólon dos grupos controle positivo, budesonida, GLFT 4, GLFT 5, GLFT 6 e controle negativo.	60

Figura 20 - Imagens da análise histopatológica do cólon dos grupos controle positivo, budesonida, GLFT 4, GLFT 5, GLFT 6 e controle negativo.	61
Figura 21 - Viabilidade celular na presença de diferentes concentrações de prednisolona, Lapdesf GLFT1, Lapdesf GLFT2 e Lapdesf GLFT3.....	63
Figura 22 - Estrutura molecular do cicloastragenol	64
Figura 23 - Viabilidade celular na presença de diferentes concentrações de budesonida, Lapdesf GLFT4, Lapdesf GLFT5 e Lapdesf GLFT6.....	64

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Diferenças entre a retocolite ulcerativa e a doença de Crohn	20
Tabela 2 - Dose em mg/Kg dos compostos administrados no ensaio de colite ulcerativa distal	34
Tabela 3 - Codificação dos achados histopatológicos para realização da análise estatística ..	37
Tabela 4 - Bandas de absorção no IV referente aos intermediários ftalimídicos 1, 2 e 3 (pastilha de KBr).	42
Tabela 5 - Deslocamentos químicos obtidos no RMN ¹ H dos intermediários ftalimídicos	42
Tabela 6 - Rendimentos dos compostos sintetizados	43
Tabela 7 - Principais deslocamentos químicos de RMN ¹ H e ¹³ C dos compostos Lapdesf GL-FT 4, 5 e 6.....	45
Tabela 8 - Análise macro e microscópica do cólon e estado geral dos ratos tratados com prednisolona, GLFT 1, GLFT 2 e GLFT 3 em modelo de colite ulcerativa induzida por ácido acético.....	53
Tabela 9 - Análise macro e microscópica do cólon e estado geral dos ratos tratados com budesonida, GLFT 4, GLFT 5 e GLFT 6 em modelo de colite ulcerativa induzida por ácido acético.....	58
Tabela 10 - Inibição de MLR (%) e IC ₅₀ (μM) dos compostos da série Lapdesf GL-FT 1-6.	66

LISTA DE ESQUEMAS

Esquema 1 - Planejamento estrutural dos derivados da série Lapdesf GL-FT.....	26
Esquema 2 - Síntese dos intermediários ftalimídicos (1-3).....	30
Esquema 3 - Síntese dos derivados série Lapdesf GL-FT (I-VI).....	31

LISTA DE ESPECTROS

Espectro 1 - Espectro de Ressonância Magnética Nuclear do composto Lapdesf GL-FT 1 – com ampliação da região aromática (RMN ^1H ; 300 MHz; DMSO- d_6).....	44
Espectro 2 - Espectro de Ressonância Magnética Nuclear do composto GL-FT 6 – com ampliação da região aromática (RMN ^1H ; 300 MHz; DMSO- d_6).....	45

ABREVIATURAS

AIEs	Anti-inflamatórios esteroides
BRB	Barreira hemato-retiniana
CCD	Cromatografia em Camada Delgada
DCM	Diclorometano
DIC	Diisopropilcarbodiimida
DII	Doenças inflamatórias intestinais
DMAP	Dimetilaminopiridina
DMSO-d ₆	Dimetilsulfóxido deuterado
EROs	Espécies Reativas de Oxigênio
FDA	Food and Drug Administration
GC	Glicocorticoide
HAc	Ácido acético
HCl	Ácido Clorídrico
HOBt	1-Hidroxibenzotriazol
IFN- γ	Interferon- γ
IKK	Complexo kinase kappa B
IL	Interleucina
IV	Espectrofotometria na região do infravermelho
KBr	Brometo de Potássio
MCP-1	Proteína quimioatratora de monócitos
MeOH	Metanol
MLR	Reação Linfocitária Mista
NO	Óxido Nítrico
P.f	Faixa de fusão
PLGF	Fator de crescimento placentário
RMN	Ressonância Magnética Nuclear
TNF- α	Fator de necrose tumoral alfa
VEGF	Fator de crescimento vascular endotelial

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	16
1.1 O processo inflamatório.....	16
1.2 Doenças inflamatórias intestinais (DII).....	19
1.3 Tratamento das doenças inflamatórias intestinais	20
1.4 Modificações moleculares de glicocorticoides.....	23
2 OBJETIVOS.....	27
2.1 Objetivo geral	27
2.2 Objetivos específicos.....	27
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	29
3.1 Material.....	29
3.1.1 Reagentes e Solventes	29
3.2 Métodos	30
3.2.1 Metodologia sintética	30
3.2.2 Métodos analíticos.....	31
3.2.2.1 Determinação da faixa de fusão	31
3.2.2.2 Cromatografia em Camada Delgada (C.C.D.).....	31
3.2.2.3 Espectrofotometria de absorção no infravermelho (I.V.).....	31
3.2.2.4 Espectrometria de RMN ¹ H e RMN ¹³ C.....	32
3.2.2.5 Espectrometria de Massas	32
3.2.3 Ensaio Biológicos.....	32
3.2.3.1 Animais	32
3.2.3.2 Atividade anti-inflamatória (modelo de edema de pata).....	33
3.2.3.3 Atividade anti-inflamatória (modelo colite ulcerativa distal) (adaptado de: FABIA et al., 1992; VASSALO et al., 2007).	33
3.2.3.3.1 Análise histopatológica.....	35
3.2.3.3.2 Teste imunoquímico para detecção da citocina TNF-α.....	37

3.2.3.4.1 Obtenção dos macrófagos peritoneais	37
3.2.3.4.2 Ensaio de viabilidade celular de macrófagos (MOSMAN, 1983)	38
3.2.3.4.3 Obtenção dos sobrenadantes das culturas de macrófagos peritoneais.....	38
3.2.3.4.4 Determinação da citocina TNF- α nos sobrenadantes das culturas de células aderentes.....	39
3.2.3.5 Atividade imunossupressora (Ensaio de reação linfocitária mista) (JANG et al., 2011).	40
3.2.3.6 Análise Estatística.....	40
4 RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	41
4.1 Síntese e caracterização dos compostos da série Lapdesf GL-FT.....	41
4.3 Atividade anti-inflamatória (modelo de edema de pata)	46
4.4 Atividade anti-inflamatória (modelo colite ulcerativa distal).....	48
4.4.1 Derivados de prednisolona	49
4.4.2 Derivados de budesonida.....	56
4.5 Ensaio de viabilidade celular de macrófagos	62
4.6 Atividade imunossupressora (ensaio de MLR)	65
5 CONCLUSÕES	67
6 PERSPECTIVAS	68
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	69
APÊNDICE – Procedimentos sintéticos e espectros.....	76
ANEXO A - Parecer do comitê de ética (Protocolo CEUA/FCF/Car nº 04/2016)	114
ANEXO B - Parecer do comitê de ética (Protocolo CEUA/FCF/Car nº 11/2016)	115

1 INTRODUÇÃO

1.1 O processo inflamatório

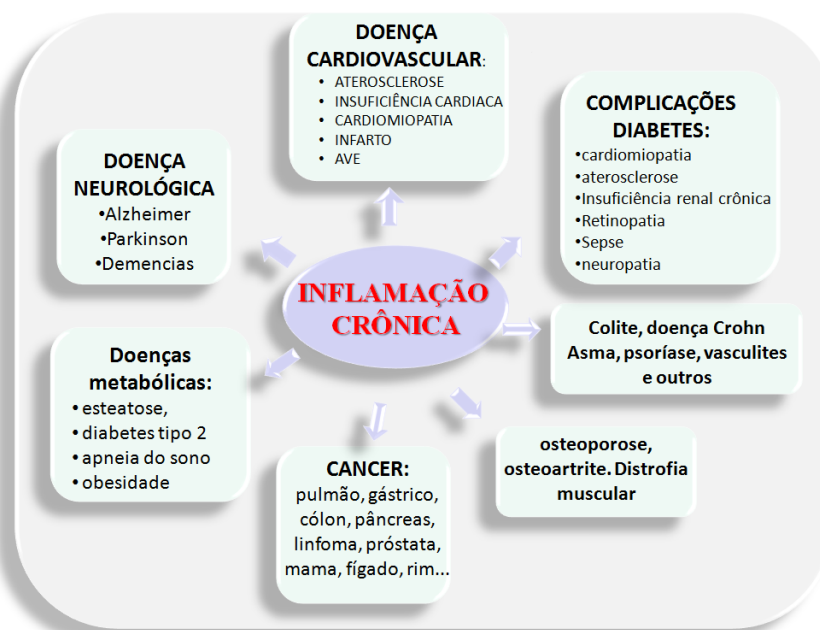
A inflamação divide-se em padrões agudos e crônicos, sendo caracterizada por ser uma resposta de proteção do organismo desencadeada por estímulos físicos, químicos e biológicos, e esses podem resultar em dor, edema e levar à disfunção do órgão ou tecido (BRASILEIRO-FILHO, 2009).

A inflamação aguda apresenta curta duração, horas ou dias, sendo observado fenômenos exsudativos e vasculares com a presença de uma reação sistêmica (BILATE, 2007). Caso a inflamação persista, ela pode vir a adquirir um quadro crônico, caracterizada por ocorrências proliferativas em que há formação de fibrose (MONTENEGRO, 1999).

A inflamação crônica pode apresentar duração de semanas, meses ou anos e ocorre em condições de infecção constante, exposição prolongada a substâncias que causam irritação e em respostas autoimunes (OKUYAMA; AIHARA, 1986).

A inflamação crônica está relacionada à patogênese de diversas doenças crônicas, tais como psoríase, artrite reumatoide, osteoartrite, síndrome metabólica, doença de Crohn e doenças neurológicas, como observado na Figura 1 (ALKIM et al., 2015).

Figura 1 - Doenças associadas à inflamação crônica



Fonte: CHUNG, 2012

Os macrófagos são as principais células presentes no sítio da inflamação crônica, responsáveis pela secreção de diversos mediadores fisiológicos destacando-se as citocinas pró-inflamatórias como a interleucina-1 β (IL-1 β), IL-6, IL-8 e o fator de necrose tumoral α (TNF- α), que atuam na manutenção e propagação do quadro inflamatório durante o processo crônico (ALKIM et al., 2015; OLIVER; CIULLA, 2006; COSTA-PINTO; PALERMO-NETO, 2010; SUZUKI et al., 2008).

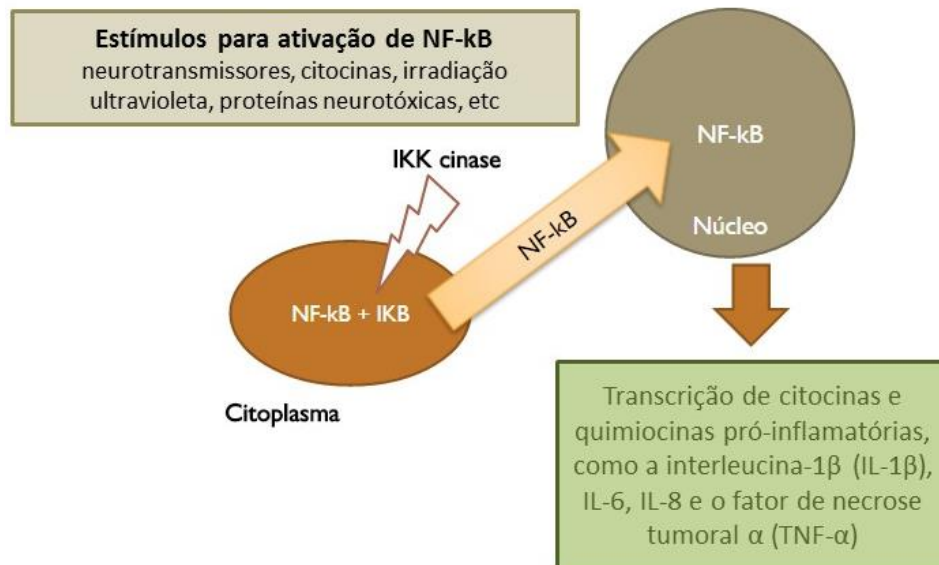
A citocina pró-inflamatória TNF- α é expressa em diferentes tecidos e atua especialmente estimulando o recrutamento de neutrófilos e monócitos para os locais de infecção com a finalidade de se restabelecer a função inicial (mecanismo de reparo e cicatrização). O TNF- α estimula e induz a cascata de ativação de outras citocinas, como espécies reativas de oxigênio (EROs), além de ativar os genes responsáveis pelo estresse oxidativo que são responsáveis por amplificar e prolongar a inflamação (CHAPARRO et al., 2012; ZHOU et al., 2006; KRAYCHETE et al., 2006; MONTENEGRO, 1999).

O TNF- α atua induzindo a ativação do fator de transcrição nuclear kappa B (NF-kB). O NF-kB é expresso em praticamente todos os tipos celulares, sendo constituído por um dímero composto dos membros da família da Rel. Em células em homeostase o NF-kB está presente no citoplasma em sua forma inativa, associado a proteína inibitória kappa B (I κ B), porém vários estímulos são capazes de ativá-lo, a exemplo de neurotransmissores, citocinas, fatores de crescimento, glicocorticoides, estresse oxidativo, irradiação ultravioleta e proteínas neurotóxicas (ZHOU et al., 2006).

Para a ativação do NF-kB é necessária a fosforilação do I κ B, a qual é mediada pelo complexo kinase kappa B (IKK). O complexo IKK é composto de três subunidades: IKK- α e IKK- β (catalíticas) e IKK- γ (reguladora). Após a fosforilação e subsequente degradação do I κ B pelo proteassoma o NF-kB é translocado ao núcleo, onde ocorre a regulação de diversos genes com papéis importantes na resposta imune inflamatória, conforme observado na Figura 2 (ISRAEL, 2010; TAK et al., 2001). Elevados níveis de TNF- α podem levar a um feedback positivo desencadeando a reativação do NF-kB (ZHOU et al., 2006).

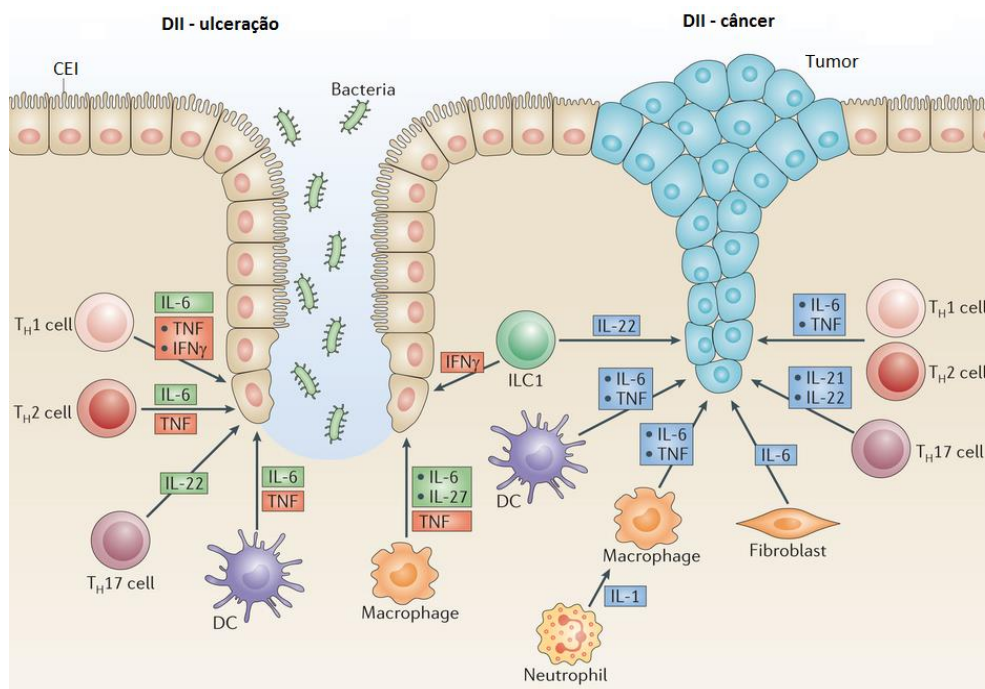
O aumento da expressão de NF-kB está diretamente relacionado à patogênese de diversas doenças, a exemplo das doenças inflamatórias intestinais (DII). Na Figura 3 estão indicadas as citocinas pró-inflamatórias e anti-inflamatórias que atuam sobre as células epiteliais intestinais (CEI) durante as doenças inflamatórias intestinais (DII), como a retocolite ulcerativa (NEURATH, 2014).

Figura 2 - Processo de ativação do fator de transcrição NF- κ B



Fonte: Autor

Figura 3 - Citocinas envolvidas nas doenças inflamatórias intestinais.



Destacados em verde estão as citocinas que contribuem para a cicatrização da mucosa e em vermelho as que possuem efeito ulcerogênico. No câncer associado a DII, estão destacadas em azul as citocinas com efeitos pró-tumorais. DC = células dendríticas; IL = interleucina; macrophage = macrófago; cell = célula; neutrophil = neutrófilo; fibroblast = fibroblasto; CEI = células epiteliais intestinais.

Fonte: NEURATH, 2014

1.2 Doenças inflamatórias intestinais (DII)

A retocolite ulcerativa (RCU) e a doença de Crohn (DC) são as mais comuns doenças inflamatórias crônicas intestinais que acometem o intestino (TEIXEIRA et al., 2015). As DII são caracterizadas por sangramento retal, dor abdominal, perda de peso e diarreia, resultando na ruptura da barreira epitelial e formação de ulceração no epitélio (KOUTROUBAKIS; KOUROUMALIS, 2008; LIU e WANG, 2011). Pacientes com essas inflamações, de forma prolongada e crônica no trato gastrointestinal, podem evoluir para um câncer colorretal, sendo a principal causa de morbidade e mortalidade entre esses indivíduos (LIU e WANG, 2011; ROGLER, 2014). Estima-se que o risco de desenvolver câncer colorretal em pacientes com colite ulcerativa é de 2-5 vezes maior do que a população em geral (FUMERY et al, 2017).

A inflamação na RCU é limitada à camada mucosa. Ela normalmente começa no reto onde geralmente se encontra um maior processo inflamatório. Por outro lado, na DC a inflamação é transmural afetando todas as camadas da parede intestinal (ROGLER, 2014). Na Tabela 1 estão descritas as principais diferenças entre essas duas doenças.

A maior incidência das DII ocorre no Canadá e Europa. Há uma prevalência de 90 a 505 casos de colite ulcerativa por 100.000 pessoas no Norte da Europa e América do Norte. Ambas as doenças afetam indivíduos em qualquer idade, porém observa-se um maior pico de incidência na faixa etária entre os 15 e 30 anos (CONRAD et al., 2014).

A patogênese das DII é multifatorial, envolvendo predisposição genética, alterações na barreira epitelial, desregulação imune subjacente e fatores ambientais (KOZUCH e HANAUER, 2008).

Sabe-se que o desequilíbrio na expressão de citocinas pró-inflamatórias e anti-inflamatórias na mucosa do cólon, desempenham um papel importante no desenvolvimento dessas doenças. A produção excessiva de EROs, induzida pela citocina TNF- α , nas células da mucosa induz respostas inflamatórias que podem, direta ou indiretamente causar dano as células epiteliais intestinais, influenciando assim, na integridade da mucosa ou iniciando uma cascata de sinalização inflamatória que pode levar a insuficiência grave em situações de colite (ZHOU et al., 2006).

Estudos também demonstraram que a típica produção de óxido nítrico (NO) desempenha um papel importante no controle da lesão tecidual. No entanto, elevados níveis de NO produzidos após o aumento da regulação do óxido nítrico sintase indutível (iNOS) nas células epiteliais tem sido associado às doenças inflamatórias intestinais (COOKE e DAVIDGE, 2002; LIU e WANG, 2011).

Tabela 1 - Diferenças entre a retocolite ulcerativa e a doença de Crohn

Retocolite ulcerativa	Doença de Crohn
A doença está confinada ao cólon	O intestino delgado está envolvido em 80% dos casos
O retossigmoide encontra-se invariavelmente envolvido; o envolvimento colônico é geralmente do lado esquerdo	O retossigmoide é frequentemente poupado; o envolvimento colônico é geralmente do lado direito
O sangramento retal macroscópico encontra-se sempre presente	O sangramento retal macroscópico encontra-se ausente em 15-25% dos casos
Não ocorrem fístulas	Fístula, massas e desenvolvimento de abscessos são comuns
Não ocorrem lesões perianais importantes	As lesões perianais são importantes em 25-35%
A parede intestinal é afetada simétrica e ininterruptamente, a partir do reto proximalmente	Ao raio X, a parede intestinal é afetada assimetricamente e em segmentos, com “áreas de salto” entre segmentos doentes
A inflamação é uniforme e difusa	A aparência endoscópica é macular, com ulcerações isoladas separadas por segmentos de mucosa de aparência normal
A inflamação é confinada à mucosa, exceto nos casos graves	A inflamação e a formação de fissuras microscópicas se estendem transmuralmente; as lesões têm frequentemente uma distribuição focal
Não ocorrem granulomas epiteliais típicos	Granulomas epitelioides (semelhantes a sarcoides) são detectados na parede intestinal ou nos linfonodos em 25-50% dos casos

Fonte: Adaptado de

http://www.msdlatinamerica.com/profissionais_da_saude/manual_merck/secao_03/secao_03_031.html

A microvasculatura da mucosa nas DII sofre um intenso processo de neoangiogênese, apresentando maior densidade de microvasos comparado a mucosa normal (ALKIM et al., 2015). Níveis elevados de moléculas pró-angiogênicas como o fator de crescimento vascular endotelial (VEGF) foram observados na mucosa inflamada de pacientes com RCU e DC, comparado ao controle (DANESE, 2008).

1.3 Tratamento das doenças inflamatórias intestinais

O tratamento convencional das doenças inflamatórias intestinais utiliza medicamentos anti-inflamatórios, sendo o ácido 5-aminossalicílico (5-ASA ou mesalamina) o fármaco de primeira escolha para indução e manutenção da remissão da doença. Caso o paciente não responda ao tratamento, glicocorticoides, imunossupressores (azatioprina, mercaptopurina e ciclosporina) ou agentes biológicos (como anticorpos anti-TNF- α) podem ser utilizados. Os

aminosalicilatos (sulfassalazina, mesalazina, olsalazina e balsalazina) são frequentemente combinados com corticosteroides a fim de induzir a remissão das DII (LIU e WANG, 2011).

O uso dos imunossupressores é justificado quando há falha no tratamento com os aminossalicilatos, se reservando a casos graves, devido ao alto risco de toxicidade relacionado ao uso desses medicamentos (LIU e WANG, 2011).

Para aqueles pacientes que não respondem ao tratamento convencional, a terapia anti fator de necrose tumoral α (anti-TNF- α) tornou-se uma abordagem interessante no tratamento de doenças inflamatórias crônicas, como retocolite ulcerativa e artrite reumatoide, e na prevenção da rejeição de transplantes (BAYRY, 2011; BRENNAN; FELDRNANT, 1996; CANTANHEDA et al., 2007; WŁODARCZYK et al., 2016).

Entre os compostos aprovados na terapêutica anti-TNF-alfa, encontram-se os biofármacos infliximab, etanercept e adalimumab (AALTONEN et al., 2012; BAYRY, 2011; CANTANHEDA et al., 2007; KORNBLUTH, 1998), proteínas altamente imunogênicas e relacionadas ao risco de reativação de infecção latente, como tuberculose. Além disso, os custos de terapia a longo prazo são elevados limitando o acesso a esse tratamento para um grande número de pacientes (RADIN et al., 2016).

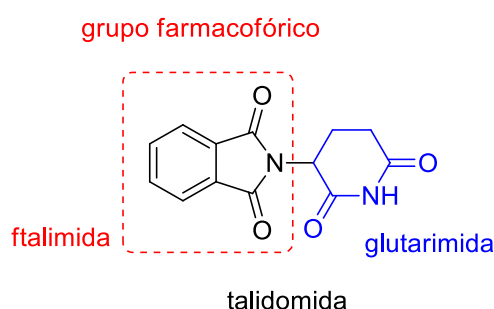
Rutella et al. (2011) detectaram a inibição da angiogênese em pacientes com DC fazendo uso da terapia com infliximab. No estudo realizado por Algaba et al. (2014) em 37 pacientes com DII foi observado a diminuição dos níveis circulantes de VEGF após a terapia com infliximab e adalimumab.

A talidomida é um fármaco modulador da citocina TNF- α e possui atividades anti-inflamatória, imunomoduladora e antiangiogênica. Este fármaco foi muito utilizado na década de 1950 e 1960 para o alívio dos enjoos matinais em gestantes, porém foi retirado do mercado devido os seus efeitos teratogênicos (KUMAR et al., 2012; LIMA et al., 2001). Na década de 1990 esse fármaco ganhou interesse na prática clínica devido seus importantes benefícios no tratamento da hanseníase (eritema nodoso leproso (ENL), mieloma múltiplo e síndrome mielodisplástica (BORGES; FROEHLICH, 2003; CASAL et al., 2016; YAMASAKI et al., 2014).

A ftalimida é o grupamento farmacofórico da talidomida (Figura 4), destituído do efeito teratogênico, e atua como inibidor da citocina TNF- α (LIMA et al., 2001). Diversos derivados ftalimidicos têm sido relatados na literatura com variadas aplicabilidades terapêuticas, como anti-inflamatório (CASAL et al., 2016; BHAT et al., 2015; ASSIS et al., 2012; BARBOSA et al., 2012), antiangiogênico (BEEDIE et al., 2016; SHIMAZAWA et al., 1999), anticâncer (PANDIT et al., 2013), dentre outros.

A eficácia do uso de talidomida como tratamento de curto prazo das DII foi relatada em pacientes adultos e pediátricos em um estudo realizado por Diamanti et al. (2015), porém os problemas de segurança em uma terapia prolongada limitam o uso desse fármaco.

Figura 4 - Estrutura molecular da talidomida



Fonte: Autor

Os glicocorticoides (GCs) são anti-inflamatórios esteroides (AIEs) utilizados na terapia de diversas doenças pelos seus efeitos anti-inflamatórios e imunossupressores (SEGURO et al., 2013; BÍLKOVÁ et al., 2011; GESSI et al., 2010).

Os AIEs agem promovendo a liberação de um mediador com ação anti-inflamatória, liporcotina-1, levando a inibição da fosfolipase A2. Essa inibição diminui a concentração do ácido araquidônico, resultando em uma ação inibitória nas vias das prostaglandinas e lipoxigenases. Além disso, os GCs possuem um forte efeito sobre o sistema imunitário, atuando na rede de citocinas e enzimas inflamatórias, nas moléculas de adesão, fatores de permeabilidade e na função celular (BIJLSMA et al.; 2003).

Os GCs também apresentam atividade antiangiogênica, a qual tem proporcionado importantes benefícios no tratamento de doenças oculares como a retinopatia diabética e doenças inflamatórias intestinais (CIULLA et al., 2014; ZHANG et al., 2014; MESSENGER et al., 2013).

Os corticosteroides agem em múltiplos níveis da angiogênese, regulando a atividade dos macrófagos responsáveis pela liberação dos fatores de crescimento angiogênicos (VEGF e demais citocinas pró-inflamatórias), proteases e inibindo a migração de células endoteliais (OLIVER; CIULLA, 2006). Dexametasona, triancinolona e fluocinolona são hoje utilizados para o tratamento da EMD em alternativa aos anti-VEGF disponíveis no mercado (CIULLA et al., 2014).

Os GCs são usados como potentes fármacos anti-inflamatórios no tratamento de moderada a severa colite ulcerativa ou em pacientes que não respondem ao tratamento convencional (POUSA et al., 2011)

Entretanto, a utilização dos glicocorticoides na terapia das doenças inflamatórias crônicas é limitada, devido às suas várias reações indesejáveis, especialmente em doses elevadas ou na administração prolongada que pode levar a supressão do eixo hipotalâmico-pituitário-adrenal (HPA). A interrupção abrupta da administração pode causar coma e morte (SCHMIDT et al., 2008; DAMIANI, et al., 2001). Entre as principais complicações que podem ocorrer após o tratamento com GCs estão: osteoporose, glaucoma, hipertensão, psicose e síndrome de Cushing (BÍLKOVÁ et al., 2011).

A inibição do VEGF é uma estratégia terapêutica promissora para atenuar a inflamação no tratamento das DII, porém mais estudos que investiguem o papel desse fator angiogênico e seus receptores nessas doenças são necessários (ALKIM et al., 2015; SCALDAFERRI et al., 2009).

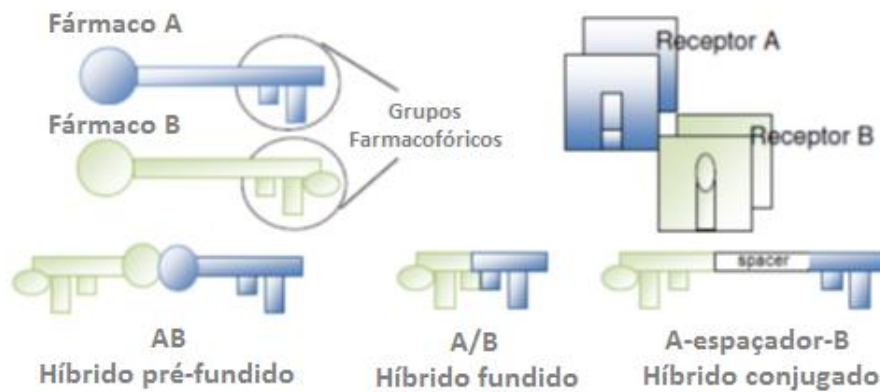
1.4 Modificações moleculares de glicocorticoides

Análogos sintéticos de GCs têm sido planejados ao longo dos anos utilizando estratégias de modificações moleculares, como latenciação e hibridação molecular, a fim de obter um melhor perfil terapêutico com otimização da relação risco-benefício, resolução de problemas de solubilidade, redução dos efeitos adversos relacionados à terapia além de potencialização da atividade anti-inflamatória (BARALDI et al., 2004; FANG et al., 2007).

A hibridação molecular é uma abordagem de obtenção de novos compostos com duas ou mais moléculas bioativas fundidas, obtendo uma única molécula capaz de ser reconhecida por diferentes receptores biológicos. No planejamento de novos híbridos é possível considerar apenas o grupo farmacofórico das molecular originais, com eliminação do grupamento tóxico, resultando em um aumento da segurança (CHUNG, 2012; VIEGAS-JUNIOR et al., 2007).

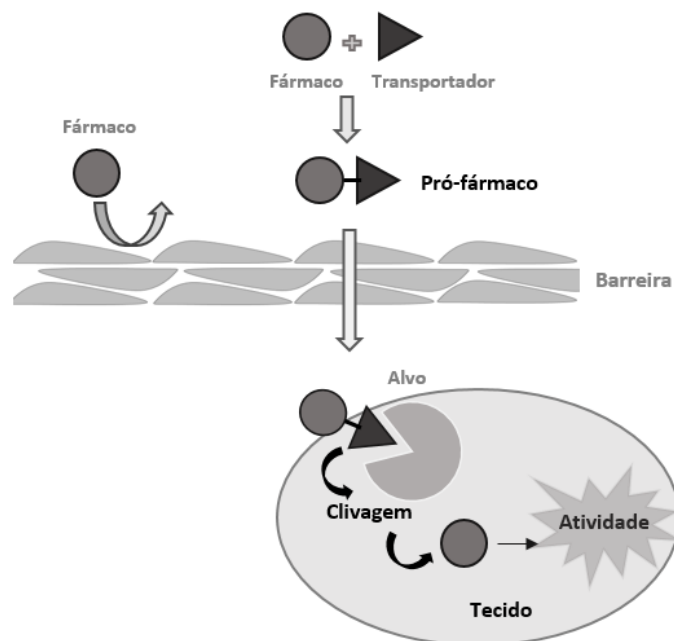
Os híbridos podem ser conjugados (subunidades separadas por um espaçador) ou ligados diretamente (pré-fundido e fundido), conforme observado na Figura 5 (VIEGAS-JUNIOR et al., 2007).

O processo de hibridação está intimamente relacionado com a estratégia de obtenção de um pró-fármaco recíproco. A principal diferença está no fato dos compostos híbridos poderem agir "*per se*" sem necessidade de biotransformação prévia (BOSQUESI et al., 2011).

Figura 5 - Estratégia de hibridação molecular

Fonte: Adaptado de BOSQUESI et al., 2011

A latenciação, outra importante estratégia de modificação molecular, conceitualmente é a obtenção do fármaco em sua forma inativa (pró-fármaco), o qual libera a porção ativa original no local de ação ou próximo a ele, após uma reação química ou enzimática *in vivo* (Figura 6) (CHUNG et al., 2005).

Figura 6 - Representação do conceito de pró-fármaco

Fonte: Adaptado de MACHADO et al., 2016

Existem duas principais categorias de pró-fármacos: pró-fármacos clássicos e bioprecusores. Na primeira, o fármaco ativo é ligado a um transportador através de uma ligação biorreversível. Quando o transportador possui atividade terapêutica, este é chamado de pró-fármaco recíproco, possibilitando um sinergismo de ação ou agregando ao pró-fármaco uma atividade diferente e benéfica para o tratamento. Bioprecusores também precisam da ativação *in vivo* para haver atividade, porém não estão ligados a um transportador. São exemplos de pró-fármacos bioprecusores a lovastatina, o enalapril e o metronidazol (CHUNG et al., 2005).

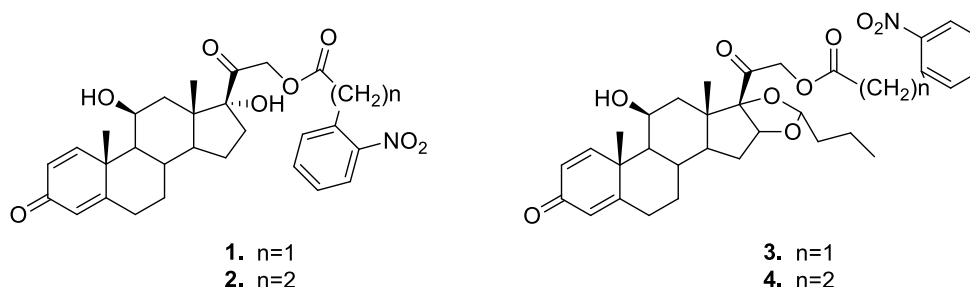
Pró-fármacos com glicocorticoides associados a doadores de óxido nítrico (NO), também são relatados na literatura (BARALDI et al., 2004; FANG et al., 2007). GCs e NO apresentam efeitos sinérgicos, promissores no tratamento de doenças inflamatórias (STREHL; BUTTGEREIT, 2013).

O uso de ftalimidas associados com anti-inflamatórios por hibridação molecular tem sido uma estratégia utilizada na Química Medicinal, demonstrando atividade sinérgica, sendo propostos como alternativos aos biofármacos (MACHADO, 2013; SANTOS et al., 2009).

A fim de diminuir os efeitos adversos relacionados aos glicocorticoides no tratamento das DII devido a absorção no trato intestinal, Marques Ruiz e colaboradores (2013) sintetizaram nitro ésteres de prednisolona (**1-2**) e budesonida (**3-4**) utilizando os carreadores 2-nitrofenil ácido acético (n=1) e 2-nitrofenil de ácido propiônico (n=2) (Figura 7). O pró-fármaco é clivado após a ação das nitro-redutases da microflora colônica.

Os compostos derivados de prednisolona (**1-2**) apresentaram atividade anti-inflamatória em modelo de colite ulcerativa, com menor atrofia no timo, indicando reduzida exposição sistêmica destes análogos esteroides.

Figura 7 - Nitro ésteres de prednisolona (**1-2**) e budesonida (**3-4**)



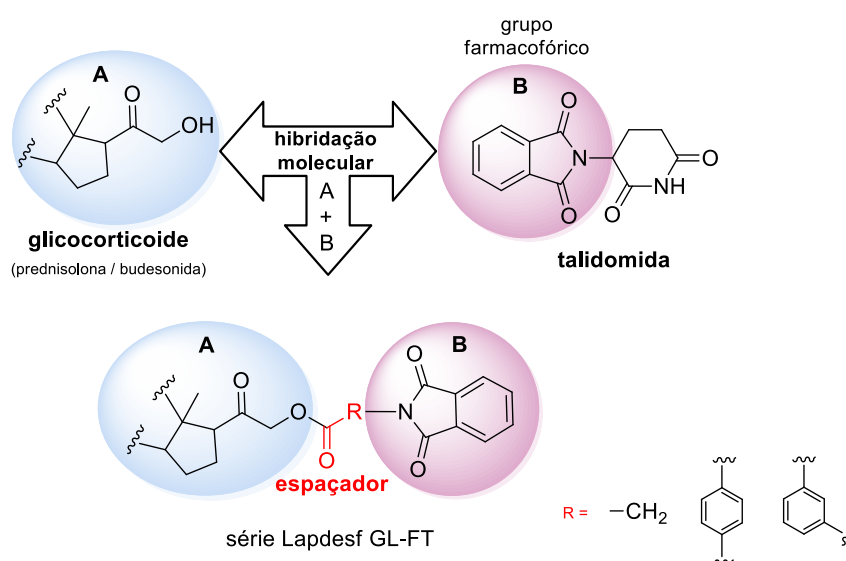
Fonte: Autor

Tendo em vista que o uso prolongado de GCs está associado a diversos efeitos adversos, como osteoporose, síndrome metabólica, doenças cardiovasculares, catarata, entre outros, limitando o uso desses fármacos em terapias prolongadas (SEGURO et al., 2013) e que os anti-TNF-alfa disponíveis no mercado são altamente onerosos e imunogênicos onde destacam-se o infliximab e adalimumab, novos fármacos anti-inflamatórios aliados à atividade inibidora de TNF-alfa, mais potentes e com menores efeitos adversos são desejáveis.

O desenvolvimento de compostos derivados de glicocorticoides e ftalimida, com ação anti-inflamatória conhecida, associado à propriedade de modulação da citocina TNF-alfa, poderia alcançar um melhor perfil de atividade em situações de doenças inflamatórias crônicas onde há super expressão da citocina TNF-alfa.

Os compostos deste trabalho foram planejados conforme ilustrado no Esquema 1, utilizando a estratégia de hibridação molecular entre os glicocorticoides (prednisolona e budesonida) e o grupo farmacofórico da talidomida (ftalimida).

Esquema 1 - Planejamento estrutural dos derivados da série Lapdesf GL-FT



Os compostos da série Lapdesf GL-FT foram considerados como híbridos, tendo em vista que para classifica-los como pró-fármacos recíprocos é necessário a realização de ensaios que comprovem a atividade biológica somente após uma reação química ou enzimática *in vivo* (CHUNG et al., 2005).

5 CONCLUSÕES

Foram obtidos três diferentes intermediários sintéticos (1-3) e seis produtos finais (Série Lapdesf GL-FT 1-6), com rendimentos variando entre 40 e 83%.

Os derivados da budesonida Lapdesf GL-FT 5 e 6 apresentaram atividade anti-inflamatória com regressão do quadro de ulceração causada pela indução com ácido acético, sendo iguais estatisticamente ao controle negativo. O composto 5 ainda apresentou regressão total da ulceração em 83,3% dos animais tratados e melhora nos sinais clínicos como perda de peso e sobrevida dos animais.

Os compostos GLFT 1, 2 e 3 foram diferentes estatisticamente dos grupos controle positivo e negativo. GLFT 1 e 3 apresentaram atividade anti-inflamatória com regressão total do quadro de ulceração em 33,3% dos animais em cada grupo, sendo superior ao fármaco padrão, prednisolona, que obteve 16,7% de regressão total da ulceração.

Todos os compostos finais da série Lapdesf GL-FT apresentaram viabilidade celular superior a 70% nas concentrações testadas, indicando uma baixa citotoxicidade das substâncias. Porém, os compostos GL-FT 2 e 3 apresentaram viabilidade celular inesperada, chegando a valores de 300 e 400%, respectivamente, nas concentrações avaliadas.

Os derivados da série Lapdesf GL-FT 1-6 não apresentaram atividade imunossupressora no ensaio *in vitro*.

Os compostos GL-FT 2 e 3 apresentaram atividade anti-inflamatória significativa quando comparado a carragenina e foram similares aos padrões prednisolona e budesonida no ensaio de edema de pata.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AALTONEN, K.J.; VIRKKI, L.M.; MALMIVAARA, A.; KONTTINEN, Y.T.; NORDSTRÖM, D.C.; BLOM, M. Systematic review and meta-analysis of the efficacy and safety of existing TNF blocking agents in treatment of rheumatoid arthritis. **PloS One**, v. 7, n. 1, p. e30275, 2012.

AGGARWAL, B.B.; KUNNUMAKKARA, A.B.; HARIKUMAR, K.B.; GUPTA, S.R. THARAKAN, S.T.; KOCA, C.; DEY, S.; SUNG, B. Signal transducer and activator of transcription-3, inflammation, and cancer: how intimate is the relationship? **Ann. N. Y. Acad. Sci.**, v. 1171, p. 59-76, 2009.

ALGABA, A.; LINARES, P. M.; FERNÁNDEZ-CONTRERAS, M. E.; FIGUEROLA, A.; CALVET, X.; GUERRA, I.; DE POUSA, I.; CHAPARRO, M.; GISBERT, J. P.; BERMEJO, F. The effects of infliximab or adalimumab on vascular endothelial growth factor and angiopoietin 1 angiogenic factor levels in inflammatory bowel disease: serial observations in 37 patients. **Inflamm. Bowel Dis.**, v. 20, n. 4, p. 695-702, 2014.

ALKIM, C.; ALKIM, H.; KOKSAL, A. R.; BOGA, S.; SEN, I. Angiogenesis in Inflammatory Bowel Disease. **Int. J. Inflamm.**, v. 2015, 2015.

ASSIS, S.P.; SILVA, M.T.; OLIVEIRA, R.N.; LIMA, V.L. Synthesis and anti-inflammatory activity of new alkyl-substituted phthalimide 1H-1,2,3-triazole derivatives. **Scientific World Journal**, v. 2012, p. 1-7, 2012.

BARALDI, P.G.; ROMAGNOLI, R.; DEL CARMEN NUÑEZ, M.; PERRETTI, M.; PAUL-CLARK, M.J.; FERRARIO, M.; GOVONI, M.; BENEDINI, F.; ONGINI, E. Synthesis of nitro esters of prednisolone, new compounds combining pharmacological properties of both glucocorticoids and nitric oxide. **J. Med. Chem.**, v. 47, p. 711-719, 2004.

BARBOSA, M.L.; RAMOS, T.J.; ARANTES, A.C.; MARTINS, M.A., SILVA, P.M.; BARREIRO, E.J.; LIMA, L.M. Synthesis and pharmacological evaluation of novel phenyl sulfonamide derivatives designed as modulators of pulmonary inflammatory response. **Molecules**, v. 17, n. 12, p. 14651-14672, 2012.

BAYRY, J. New horizons in natural TNF- α antagonist research. **Trends Mol. Med.**, v. 17, n. 10, p. 538-540, 2011.

BEEDIE, S.L.; RORE, H.M.; BARNETT, S.; CHAU, C.H.; LUO, W.; GREIG, N.H.; FIGG, W.D; VARGESSON, N. In vivo screening and discovery of novel candidate thalidomide analogs in the zebrafish embryo and chicken embryo model systems. **Oncotarget**, v. 7, n. 22, p. 33237-33245, 2016.

BHAT, M.A.; AL-OMAR, M.A.; ANSARI, M.A.; ZOHEIR, K.M.; IMAM, F.; ATTIA, S.M.; BAKHEET, S.A.; NADEEM, A.; KORASHY, H.M.; VORONKOV, A.; BERISHVILI, V.; AHMAD, S.F. Design and synthesis of n-arylphthalimides as inhibitors of glucocorticoid-induced TNF receptor-related protein, proinflammatory mediators, and cytokines in carrageenan-induced lung inflammation. **J. Med. Chem.**, v. 58, n. 22, p. 8850-8867, 2015.

- BIJLSMA, J.W.J; BOERS, M.; SAAG, K.G.; FURST, D.E. Glucocorticoids in the treatment of early and late RA. **Ann. Rheum. Dis.**, v. 62, p. 1033-1037, 2003.
- BILATE, A.M.B. Inflamação, citocinas, proteínas de fase aguda e implicações terapêuticas. **T. Reumat. Clín.**, v. 8, n. 2, p. 47-51, 2007.
- BÍLKOVÁ, E.; IMRAMOVSKÝ, A.; SEDLÁK, M. Recent advances in the design and synthesis of prednisolone and methylprednisolone conjugates. **Curr. Pharm. Des.**, v. 17, p. 3577-3595, 2011.
- BORGES, L.G.; FROEHLICH, P.E. Talidomida: novas perspectivas para utilização como antiinflamatório, imunossupressor e antiangiogênico. **Rev. Assoc. Med. Bras.**, v. 49, n. 1, p. 96-102, 2003.
- BOSQUESI, P.L.; MELO, T.R.F.; VIZIOLI, E.O.; SANTOS, J.L.; CHUNG, M.C. Anti-inflammatory drug design using a molecular hybridization approach. **Pharmaceuticals**, v. 4, p. 1450-1474, 2011.
- BRASILEIRO-FILHO, G. **Bogliolo patologia geral**. 4 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2009, 364 p.
- BRENNAN, F.M.; FELDRNANNT, M. 1996. Cytokines in autoimmunity. **Curr. Opin. Immunol.**, v. 8, n. 6, p. 872-877, 1996.
- CANTANHEDA, C.; ASSIS, E.; AZEVEDO, V.; ROMÃO, V.A.; SIMAS, H. Infliximab e Artrite Reumatóide. UNIMED-RIO. **Recom. Med.**, p. 1-24, 2007.
- CASAL J.J.; BOLLINI, M.; LOMBARDO, M.E.; BRUNO, A.M. Thalidomide analogues: Tumor necrosis factor-alpha inhibitors and their evaluation as anti-inflammatory agents. **Eur. J. Pharm. Sci.**, v. 83, p. 114-119, 2016.
- CHAPARRO, M.; GUERRA, I.; MUÑOZ-LINARES, P.; GISBERT, J.P. Systematic review: antibodies and anti-TNF-a levels in inflammatory bowel disease. **Aliment. Pharmacol. Ther.**, v. 35, p. 971-986, 2012.
- CHERNOGUZ, A.; CRAWFORD, K.; VANDERSALL, A.; RAO, M.; WILLSON, T.; DENSON, L. A.; FRISCHER, J. S. Pretreatment with anti-VEGF therapy may exacerbate inflammation in experimental acute colitis. **J. Pediatr. Surg.**, v. 47, n. 2, p. 347-354, 2012.
- CHRISTOPHI, G.P.; RENGARAJAN, A.; CIORBA, M.A. Rectal budesonide and mesalamine formulations in active ulcerative proctosigmoiditis: efficacy, tolerance, and treatment approach. **Clin. Exp. Gastroenterol.**, v. 9, p. 125-130, 2016.
- CHUNG, M.C. **Interações medicamentosas no planejamento de novos fármacos**. 446p. Tese (Livro Docência). Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho". Araraquara, 2012.
- CHUNG, M.C.; SILVA, A.T.A.; CASTRO, L.F.; GUIDO, R.V.C.; NASSUTE, J.C.; FERREIRA, E.I. Latência e formas avançadas de transporte de fármacos. **Rev. Bras. Cienc. Farm.**, v. 41, n. 2, p. 155-179, 2005.

CIULLA, T.A.; HARRIS, A.; MCINTYRE, N.; JONESCU-CUYPERS, C. Treatment of diabetic macular edema with sustained-release glucocorticoids: intravitreal triamcinolone acetonide, dexamethasone implant, and fluocinolone acetonide implant. **Expert Opin. Pharmacother.**, v. 15, n. 7, p. 953-959, 2014.

CONRAD, Karsten; ROGGENBUCK, Dirk; LAASS, Martin W. Diagnosis and classification of ulcerative colitis. **Autoimmun. Ver.**, v. 13, n. 4, p. 463-466, 2014.

COOKE, C.L.M.; DAVIDGE, S.T. Peroxynitrite increases iNOS through NF-kappa B and decreases prostacyclin synthase in endothelial cells. **Am. J. Physiol. Cell. Physiol.**, v. 282, n. 2, p. 395-402, 2002.

COSTA-PINTO, F.A.; PALERMO-NETO, J. Neuroimmune Interactions in Stress. **Neuroimmunomodulation**, v. 17, n. 3, p. 196-199, 2010.

DAMIANI, D.; KUPERMAN, H.; DICHTCHEKENIAN, V.; DELLA MANNA, T.; SETIAN, N. Repercussions of corticotherapy: the cost-benefit ratio. **Pediatrics**, v. 1, p. 71-82, 2001.

DANESE, S. VEGF in inflammatory bowel disease: a master regulator of mucosal immune-driven angiogenesis. **Dig. Liver Dis.**, v. 40, n. 8, p. 680-683, 2008.

DIAMANTI, A.; CAPRIATI, T.; PAPADATOU, B.; KNAFELZ, D.; BRACCI, F.; CORSETTI, T.; ELIA, D.; TORRE, G. The clinical implications of thalidomide in inflammatory bowel diseases. **Expert Rev. Clin. Immunol.**, v. 11, n. 6, p. 699-708, 2015.

FABIA, R.; WILLÉN, R.; AR'RAJAB, A.; ANDERSSON, R.; AHREN, B.; BENGMARK, S. Acetic acid-induced colitis in the rat: a reproducible experimental model for acute ulcerative colitis. **Eur. Surg. Res.** v. 24, n. 4, p. 211- 225, 1992.

FANG, L.; ZHANG, Y.; LEHMANN, J.; WANG, Y.; JI, H.; DING, D. Design and synthesis of furoxan-based nitric oxide-releasing glucocorticoid derivatives with potent anti-inflammatory activity and improved safety. **Bioorg. Med. Chem. Lett.**, v. 17, p. 1062-1066, 2007.

FIRESTEIN, G.S. Evolving concepts of rheumatoid arthritis. **Nature**, v. 423, p. 356-361, 2003.

FUMERY, M.; DULAI, P.S.; GUPTA, S.; PROKOP, L.J.; RAMAMOORTHY, S.; SANDBORN, W.J.; SINGH, S. Incidence, Risk Factors, and Outcomes of Colorectal Cancer in Patients with Ulcerative Colitis with Low-Grade Dysplasia: A Systematic Review and Meta-analysis. **Clin. Gastroenterol. Hepatol.**, 2017.

GESSI, S.; MERIGHI, S.; BOREA, P.A. Glucocorticoids' pharmacology: past, present and future. **Curr. Pharm. Des.**, v. 16, p. 3540-3553, 2010.

IP, F.C.; NG, Y.P.; AN, H.J.; DAI, Y.; PANG, H.H.; HU, Y.Q.; CHIN, A.C.; HARLEY, C.B.; WONG, Y.H.; IP, N.Y. Cycloastragenol is a potent telomerase activator in neuronal cells: implications for depression management. **Neurosignals**, v. 22, n. 1, p. 52-63, 2014.

ISRAEL, A. The IKK complex, a central regulator of NF-kappaB activation. **Cold Spring Harb. Perspect. Biol.**, v. 2, a000158, p. 1-14, 2010.

KHOUBEHI, B.; CHIROLI, V.; RONCHETTI, D.; MIGLIETTA, D.; THOMPSON, H.; ONGINI, E.; IMPAGNATIELLO, F. Enhanced oxygen saturation in optic nerve head of non-human primate eyes following the intravitreal injection of NCX 434, an innovative nitric oxide-donating glucocorticoid. **J. Ocul. Pharmacol. Ther.**, v. 27, p. 115-121, 2011.

KNOD, J. L.; CRAWFORD, K.; DUSING, M.; COLLINS, M. H.; CHERNOGUZ, A.; FRISCHER, J. S. Angiogenesis and Vascular Endothelial Growth Factor-A Expression Associated with Inflammation in Pediatric Crohn's Disease. **J. Gastrointest. Surg.**, v. 20, n. 3, p. 624-630, 2016.

KO, D.; HEIMAN, A.S.; CHEN, M.; LEE, H.J. New steroidal anti-inflammatory antedugs: methyl 21-desoxy-21-chloro-11beta,17alpha-dihydroxy-3,20-dioxo-1, 4-pregnadiene-16alpha-carboxylate, methyl 21-desoxy-21-chloro-11beta-hydroxy-3,20-dioxo-1, 4-pregnadiene-16alpha-carboxylate, and their 9alpha-fluoro derivatives. **Steroids**, v. 65, n. 4, p. 210-218, 2000.

KORNBLUTH, A. Infliximab approved for use in Crohn's disease: a report on the FDA GI Advisory Committee conference. **Inflamm. Bowel Dis.**, v. 4, n. 4, p. 328-329, 1998.

KOZUCH, P.L.; HANAUER, S.B. Treatment of inflammatory bowel disease: A review of medical therapy. **World J. Gastroenterol.**, v. 14, n. 3, p. 354-377, 2008.

KRAYCHETE, D.C.; CALASANS, M.T.A.; VALENTE, C.M.L. Citocinas Pró-inflamatórias e Dor. **Rev. Bras. Reumatol.**, v. 46, n. 3, p. 199-206, 2006.

KUMAR, N.; SHARMA, U.; SINGH, C.; SINGH, B. Thalidomide: chemistry, therapeutic potential and oxidative stress induced teratogenicity. **Curr. Top. Med. Chem.**, v. 12, n. 13, p. 1436-1455, 2012.

LIMA, L.M.; FRAGA, C.A.M.; BARREIRO, E. J. O renascimento de um fármaco: talidomida. **Quim. Nova**, v. 24, n. 5, p. 683-688, 2001.

LIU, X.; WANG, J. Anti-inflammatory effects of iridoid glycosides fraction of Folium syringae leaves on TNBS-induced colitis in rats. **J. Ethnopharmacol.**, v. 133, n. 2, p. 780-787, 2011.

LOPES, S.; AMARO, P.; PORTELA, F.; CANCELA, E.; FERREIRA, M.; ROMÃOZINHO, J.M.; LEITÃO, M. Megacólon tóxico - experiência de um serviço de gastroenterologia. **Rev. Port. Coloproct.**, v. 6, n. 1, p. 10-16, 2009.

MACHADO, M.G.M. Síntese e avaliação biológica de novos derivados anti-inflamatórios esteroides. Dissertação de mestrado. Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho". Araraquara, 2013.

MACHADO, M.G.M.; YAMASAKI, P. R.; SANTOS, J.L.; CHUNG, M.C. Targeted prodrug design for the treatment of malignant melanoma. **J. Dermatol. Res. Ther.**, v. 2, n. 2, p. 1-8, 2016.

MANUAL MERCK. **Distúrbios gastrointestinais**. Disponível em: <http://www.msdlatinamerica.com/profissionais_da_saude/manual_merck/secao_03/secao_03_031.html>. Acesso em: 14 Jan. 2017.

MARQUEZ RUIZ, J.F.; KEDZIORA, K.; PIGOTT, M.; KEOGH, B.; WINDLE, H.; GAVIN, J.; KELLEHER, D.P.; GILMER, J.F. A nitrophenyl-based prodrug type for colorectal targeting of prednisolone, budesonide and celecoxib. **Bioorg. Med. Chem. Lett.**, v. 23, p. 1693-1698, 2013.

MESSINGER, W.B.; BEARDSLEY, R.M.; FLAXEL, C.J. Fluocinolone acetonide intravitreal implant for the treatment of diabetic macular edema. **Drug Des. Devel. Ther.**, v. 7, p. 425-434, 2013.

MONTENEGRO, M.R.; FRANCO, M. **Patologia processos gerais**. 4 ed. São Paulo: Atheneu, 1999, 320 p.

MOSSMAN, T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. **J. Immunol. Methods.**, v. 65, p. 55-63, 1983.

NAGANUMA, M.; AOYAMA, N.; SUZUKI, Y.; NISHINO, H.; KOBAYASHI, K.; HIRAI, F.; WATANABE, K.; HIBI, T. Twice-daily budesonide 2-mg foam induces complete mucosal healing in patients with distal ulcerative colitis. **J. Crohns Colitis**, v. 10, n. 7, p. 828-836, 2016.

NEURATH, M.F. Cytokines in inflammatory bowel disease. **Nat. Rev. Immunol.**, v. 14, n. 5, p. 329-342, 2014.

O'DONNELL, S.; O'MORAIN, C. A. Therapeutic benefits of budesonide in gastroenterology. **Ther. Adv. Chronic Dis.**, v. 1, n. 4, p. 177-186, 2010.

OKUYAMA, S.; AIHARA, H. Hyperalgesic action in mice of intracerebroventricularly administered arachidonic acid, PG E2, PG F2 alpha and PG D2: effects of analgesic drugs on hyperalgesia. **J. Pharmacobiodyn.**, v. 9, n. 11, p. 902-908, 1986.

OLIVER, A.; CIULLA, T. A. Corticosteroids as antiangiogenic agents. **Ophthalmol. Clin. N. Am.**, v. 19, n. 3, p. 345-351, 2006.

PANDIT, B.; HU, Z.; CHETTIAR, S.N.; ZINK, J.; XIAO, Z.; ETTER, J.P.; BHASIN, D.; LI, P.K. Structure-activity relationship studies of thalidomide analogs with a taxol-like mode of action. **Bioorg. Med. Chem. Lett.**, v. 23, n. 24, p. 6902-6904, 2013.

POUSA, I. D.; ALGABA, A.; LINARES, P. M.; SANZ-CAMENO, P.; MATÉ, J.; MORENO-OTERO, R.; BERMEJO, F.; GISBERT, J. P. Corticosteroids modulate angiogenic soluble factors in ulcerative colitis patients. **Dig. Dis. Sci.**, v. 56, n. 3, p. 871-879, 2011.

RADIN, M.; SCIASCIA, S.; ROCCATELLO, D.; CUADRADO, M. J. Infliximab Biosimilars in the Treatment of Inflammatory Bowel Diseases: A Systematic Review. **BioDrugs**, p. 1-13, 2016.

ROGLER, Gerhard. Chronic ulcerative colitis and colorectal cancer. **Cancer Lett.**, v. 345, n. 2, p. 235-241, 2014.

RUTELLA, S.; FIORINO, G.; VETRANO, S.; CORREALE, C.; SPINELLI, A.; PAGANO, N.; ARENA, V.; MAGGIANO, N.; REPICI, A.; MALESCI, A.; DANESE, S. Infliximab therapy inhibits inflammation-induced angiogenesis in the mucosa of patients with Crohn's disease. **Am. J. Gastroenterol.**, v. 106, n. 4, p. 762-770, 2011.

RUTGEERTS, P.; SANDBORN, W.J.; FEAGAN, B.G.; REINISCH, W.; OLSON, A.; JOHANNIS, J.; TRAVERS, S.; RACHMILEWITZ, D.; HANAUER, S.B.; LICHTENSTEIN, G.R.; VILLIERS, W.J.; PRESENT, D.; SANDS, B.E.; COLOMBEL, J.F. Infliximab for induction and maintenance therapy for ulcerative colitis. **N. Engl. J. Med.**, v. 353, n. 23, p. 2462-2476, 2005.

SANTOS, J.L.; CHUNG, M.C. **Processo de Obtenção de Compostos Derivados de Anti-Inflamatórios Esteróides (AIEs), Composições Farmacêuticas Contendo tais Compostos e seus Usos no Tratamento de Doenças de Caráter Inflamatório.** BR n. PI110005943, 18 fev. 2011.

SANTOS, J.L.; OLIVEIRA, E.V.; CHUNG, M.C.; MENEGON, R.F.; BLAU, L. **Derivados ftalimídicos de compostos antiinflamatórios não-esteróide e/ou moduladores de TNF-(alfa), processo de sua obtenção, composições farmacêuticas contendo os mesmos e seus usos no tratamento de doenças inflamatórias.**, BR n. PI 0901298-2A2, 6 abr. 2009.

SCALDAFERRI, F.; VETRANO, S.; SANS, M.; ARENA, V.; STRAFACE, G.; STIGLIANO, E.; REPICI, A.; STURM, A.; MALESCI, A.; PANES, J.; YLA-HERTTUALA, S.; FIOCCHI, C.; DANESE, S. VEGF-A links angiogenesis and inflammation in inflammatory bowel disease pathogenesis. **Gastroenterology**, v. 136, n. 2, p. 585-595, 2009.

SCHMIDT, K.L.; PRADHAN, D.S.; SHAH, A.H.; CHARLIER, T.D.; CHIN, E.H.; SOMA, K.K. Neurosteroids, immunosteroids, and the Balkanization of endocrinology. **Gen. Comp. Endocrinol.**, v. 157, n. 3, p. 266-274, 2008.

SEGURO, L.P.C.; ROSARIO, C.; SHOENFELD, Y. Long-term complications of past glucocorticoid use. **Autoimmun. Rev.**, v. 12, n. 5, p. 629-632, 2013.

SILVERSTEIN, R. M.; WEBSTER, F. X.; KIEMLE, D.J. **Identificação espectrométrica de compostos orgânicos.** 7 ed. Rio de Janeiro: LTC, 2006, 490p.

STREHL, C.; BUTTGEREIT, F. Optimized glucocorticoid therapy: Teaching old drugs new tricks. **Mol. Cell. Endocrinol.**, v. 380, n. 1, p. 32-40, 2013.

SUZUKI, T.; CHUNG-WAI, C.; DOWNEY, G.P. Role of innate immune cells and their products in lung immunopathology. **Int. J. Biochem. Cell Biol.**, v. 40, n. 6, p. 1348-1361, 2008.

SHIMAZAWA, R.; MIYACHI, H.; TAKAYAMA, H.; KURODA, K.; KATO, F.; KATO, M.; HASHIMOTO, Y. Antiangiogenic activity of tumor necrosis factor-alpha production regulators derived from thalidomide. **Biol. Pharm. Bull.**, v. 22, n. 2, p. 224-226, 1999.

TAK, P.P.; GERLAG, D.M.; AUPPERLE, K.R.; VAN DE GEEST, D.A.; OVERBEEK, M.; BENNETT, B.L.; BOYLE, D.L.; MANNING, A.M.; FIRESTEIN, G.S. Inhibitor of nuclear factor kappaB kinase beta is a key regulator of synovial inflammation. **Arthritis Rheum.**, v. 44, n. 8, p. 1897-1907, 2001.

TEIXEIRA, F.V.; HOSNEC, R.S.; SOBRADO, C.W. Management of ulcerative colitis: a clinical update. **J. Coloproctol.**, v. 35, n. 4, p. 230-237, 2015.

VASSALO, E.C.; POVEDANO, A.; PUPO-NETO, J.A.; PAULO, F.L. Influência da administração da *Plantago ovata* (fibra dietética) na proteção da parede colônica em colite inflamatória induzida por ácido acético: estudo estereológico experimental em ratos. **Rev. Col. Bras. Cir.** v. 44, n. 6, p. 385-391, 2007.

VIEGAS-JUNIOR, C.; DANUELLO, A.; BOLZANI, V.S.; BARREIRO, E.J.; FRAGA, C.A.M. Molecular Hybridization: A Useful Tool in the Design of New Drug Prototypes. **Curr. Med. Chem.**, v. 14, n. 17, p. 1829-1852, 2007.

WANG, H.; ZHANG, W.; ZHU, C.; BUCHER, C.; BLAZAR, B.R.; ZHANG, C.; CHEN, J.F.; LINDEN, J.; WU, C.; HUO, Y. Inactivation of the adenosine A2A receptor protects apolipoprotein E-deficient mice from atherosclerosis. **Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.**, v. 29, n. 7, p. 1046-1052, 2009.

WINTER, C.; RISLEY, E.; NUSS, G. Carrageenin-induced edema in hind paw of the rat as an assay for anti-inflammatory drugs. **Proc. Soc. Exp. Biol. Med.**, v. 111, p.544-547, 1962.

WŁODARCZYK, M.; FICHNA, J.; SOBOLEWSKA-WŁODARCZYK, A. Pharmacology and metabolism of infliximab biosimilars – a new treatment option in inflammatory bowel diseases. **Pharmacol. Rep.**, v. 68, n. 4, p. 797-801, 2016.

WOODHOUSE, E. Toxic Megacolon: A Review for Emergency Department Clinicians. **J. Emerg. Nurs.**, 2016.

YAMASAKI, P.R.; NASCIMENTO, D.C.; CHELUCCI, R.C.; BELONE A.F.F.; ROSA, P.S.; DIÓRIO, S.M.; MELO, T.R., BARBIERI, K.P.; PLACERES, M.C.; CARLOS, I.Z.; CHUNG, M.C.; SANTOS, J.L. Synthesis and evaluation of novel dapsone-thalidomide hybrids for the treatment of type 2 leprosy reactions. **Bioorg. Med. Chem. Lett.**, v. 24, n. 14, p. 3084-3087, 2014.

ZENG, K.; XU, H.; MI, M.; ZHANG, Q.; ZHANG, Y.; CHEN, K.; CHEN, F.; ZHU, J.; YU, X. Dietary taurine supplementation prevents glial alterations in retina of diabetic rats. **Neurochem. Res.**, v. 34, n. 2, p. 244-254, 2009.

ZHANG, X.; WANG, N.; SCHACHAT, A.P.; BAO, S.; GILLIES, M.C. Glucocorticoids: structure, signaling and molecular mechanisms in the treatment of diabetic retinopathy and diabetic macular edema. **Curr. Mol. Med.**, v. 14, n. 3, p. 376-384, 2014.

ZHOU, Y.H.; YU, J.P.; LIU, Y.F.; TENG, X.J.; MING, M.; LV, P.; AN, P.; LIU, S.Q.; YU, H.G. Effects of *Ginkgo biloba* extract on inflammatory mediators (SOD, MDA, TNF- α , NF- κ Bp65, IL-6) in TNBS-induced colitis in rats. **Mediators Inflamm.**, v. 2006, n. 5, p. 1-9, 2006.