



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DA PARAÍBA
CAMPUS I
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
CURSO DE FARMÁCIA**

RAIFF DOS SANTOS DANTAS

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE GASTROPROTERA E TOXICOLÓGICA DE
DERIVADOS 2-AMINO-TIOFENO**

**CAMPINA GRANDE-PB
2017**

RAIFF DOS SANTOS DANTAS

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE GASTROPROTERA E TOXICOLÓGICA DE
DERIVADOS 2-AMINO-TIOFENO**

Trabalho de Conclusão de Curso (TCC)
apresentado ao Departamento de
Farmácia da Universidade Estadual da
Paraíba, como requisito para obtenção
do título de Farmacêutico Generalista.

Área de concentração: Farmácia

Orientador: Profa. Dra. Vanda Lúcia
dos Santos

CAMPINA GRANDE-PB

2017

É expressamente proibido a comercialização deste documento, tanto na forma impressa como eletrônica. Sua reprodução total ou parcial é permitida exclusivamente para fins acadêmicos e científicos, desde que na reprodução figure a identificação do autor, título, instituição e ano do trabalho.

D192a Dantas, Raiff dos Santos.

Avaliação da atividade gastroprotetora e toxicológica de derivados 2-amino-tiofeno [manuscrito] : / Raiff dos Santos Dantas. - 2017.

51 p. : il. colorido.

Digitado.

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Farmácia) - Universidade Estadual da Paraíba, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, 2018.

"Orientação : Profa. Dra. Vanda Lúcia dos Santos, Departamento de Farmácia - CCBS."

1. Atividade gastroprotetora. 2. Química medicinal. 3. Úlcera gástrica.

21. ed. CDD 615.19

RAIFF DOS SANTOS DANTAS

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE GASTROPROTETORA E TOXICOLÓGICA
DE DERIVADOS 2-AMINO-TIOFENO**

Trabalho de Conclusão de Curso (TCC)
apresentado ao Departamento de
Farmácia da Universidade Estadual da
Paraíba, como requisito para obtenção
do título de Farmacêutico Generalista.

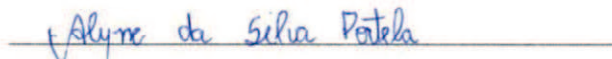
Área de concentração: Farmácia

Aprovada em: 07/12/2017.

BANCA EXAMINADORA



Profa. Dra. Vanda Lúcia, dos Santos (Orientadora)
Universidade Estadual da Paraíba (UEPB)



Profa. Dra. Alyne da Silva Portela
Faculdade de Ciências Médicas (FCM)



Prof. Dr. Ricardo Olímpio de Moura
Universidade Estadual da Paraíba (UEPB)

AGRADECIMENTOS

Como eu sempre costumo dizer “amigos valem mais do que dinheiro”. Dentro da graduação pude compreender que realmente esta ideia se aplica a todos os campos da nossa vida e que sem a ajuda eu não lograria nenhum êxito. Portanto, presto meus sinceros e humildes agradecimentos.

Ao **Senhor**, pela sua infinita bondade e misericórdia, por sempre me sustentar e me livrar de todos os males, mesmo sem eu merecer. Do momento em que entrei até o presente dia, Ele tem me abençoado.

Aos meus pais **Lucio e Cleide** que sempre me apoiaram em todas as decisões, que me educaram e prepararam para a vida com excelência. Obrigado por nunca me abandonarem e por serem desde a infância meus maiores exemplos.

Ao meu avô **José** por ser meu melhor amigo desde sempre. Agradeço por todo amor, ensinamentos e conselhos. Você é meu maior exemplo de vida.

A minha tia **Cleomar** por todo seu carinho e cuidado comigo. Por sempre estar presente quando precisei. Você é uma pessoa rara minha tia.

A minha noiva **Mércia**, que dividiu todos os momentos comigo e facilitou sobremaneira a caminhada da vida. Obrigado pelo seu amor, carinho e compreensão, sem você tudo seria mais difícil.

Aos meus amigos da vida **Mathews, Rafael William e Ronaldo** que se fizeram presente apesar da distância, agradeço especialmente a **José Lucas e Libni**, que além de tudo me ajudaram na graduação.

Aos meus colegas de sala, que tornaram a caminhada mais leve e divertida, além disso me tornei uma pessoa melhor e mais compreensiva graças a vocês. Agradeço especialmente aos meus amigos **Lucas, Rafael, Luiz e Mariana** que me ajudaram e dividiram praticamente todos os momentos da vida acadêmica comigo.

Aos meus amigos de laboratório **Crislândia, Pablo** e em especial **Renaly**, que me ajudaram e apoiaram antes, durante e após a pesquisa. Sem vocês eu não sairia do zero.

Aos meus amigos farmacêuticos, que considero meus mentores, **Jhonatta, Helimarcos e André**. Meu muito obrigado por todos os conselhos, ensinamentos e oportunidades concedidas.

A minha orientadora, professora **Dra. Vanda Lucia**, por todos os ensinamentos, orientações prestadas e oportunidades concedidas. Agradeço principalmente pela porta aberta na pesquisa, desde 2014 minha vida não foi mais a mesma, e devo em parte, a farmacologia.

Ao professor **Dr. Ricardo Moura** pela solicitude e respeito mostrados desde o início. Agradeço pelas moléculas cedidas, pelas orientações e pela prestatividade de sempre. Obrigado por se empenhar tanto e estimular todos ao seu redor.

A professora **Dra. Alyne Portela**, que foi sempre solícita e entendeu meus percalços do momento que aceitou o convite à banca até o dia da defesa.

Aos professores **Ivana, Bolívar, Camila e Thúlio**, pelo carinho, amizade e confiança no meu trabalho.

Aos funcionários da Universidade Estadual da Paraíba (UEPB), **Arlete, Laércio, Ronald e Lidiane**, pela presteza e atendimento quando necessário.

A todos os colegas e familiares que direta ou indiretamente contribuíram de alguma forma com minha formação e torceram por mim.

Meu sincero e profundo obrigado!

RESUMO

As moléculas sintéticas, ao lado dos produtos naturais, são uma fonte promissora para a descoberta de novas terapias farmacológicas. O tiofeno pertence a uma classe de compostos heterocíclicos contendo anéis de cinco membros. Dentre os heterocíclicos tiofênicos, destacam-se os compostos 2-amino-tiofeno, que têm sido bastante relatados nos estudos de investigação de novas drogas. Os compostos sintetizados a partir dos 2-amino-tiofenos são importantes intermediários da síntese de compostos farmacologicamente ativos. Diante disto, esta pesquisa, teve como objetivo avaliar a atividade gastroprotetora e toxicológica de derivados 2-amino-tiofeno. Os compostos foram sintetizados e caracterizados pelo Laboratório de Desenvolvimento e Síntese de Fármacos (LDSF) e testados no laboratório de Ensaios Farmacológicos da Universidade Estadual da Paraíba. Foram utilizados camundongos (*Mus musculus*) de ambos os sexos. A atividade gastroprotetora foi avaliada pelos modelos de indução aguda de úlcera por etanol e por anti-inflamatório não esteroideal (AINE). Para avaliação de segurança foi realizado o teste de toxicidade aguda não clínica. Na triagem avaliou-se a atividade de 5CN, 6CN e 7CN pelo modelo de úlcera induzida por etanol, e o único com atividade significativa foi o 7CN 100 mg/kg, que inibiu as lesões em 45%. No segundo ensaio pelo mesmo modelo foi avaliada a atividade do 7CN nas doses de 100 e 150 mg/kg. Na dose de 100 mg/kg a inibição foi de 33%, já para a dose de 150 mg/kg foi de 54%. No último ensaio utilizando o modelo de úlcera por etanol, foi avaliada a atividade do WM03. Neste ensaio, as inibições para WM03 50, 100 e 150 mg/kg foram de 6, 19 e 52%, respectivamente. O último teste aplicado para avaliação da atividade gastroprotetora foi o de úlcera induzida por anti-inflamatório não esteroideal (AINE), onde foi verificada a atividade dos dois compostos mais promissores, WM03 e 7CN 150 mg/kg, os quais apresentaram inibição das úlceras de 51 e 44%, respectivamente. Na avaliação da toxicidade aguda do composto WM03 na dose de 1500 mg/Kg não foi evidenciada nenhuma alteração fisiológica ou comportamental, indicando baixa toxicidade do composto testado. Os resultados obtidos mostram uma possibilidade desses compostos tornarem-se agentes terapêuticos, sendo uma nova alternativa para o tratamento de lesões gástricas, entretanto, faz-se necessária a continuação desses estudos, que ratifique a segurança do seu uso, e elucide os possíveis mecanismos da resposta farmacológica.

Palavras-chave: 2-Amino-tiofenos. Atividade gastroprotetora. Química Medicinal.

ABSTRACT

The synthetic molecules are nowadays, together with plants derivative molecules, a promising source for the discovery of news pharmacological therapies. The thiophene belongs to a class of heterocyclic compounds bearing five member rings. Among the thiophene heterocyclics, stands out the 2-amino-thiophene compounds, which have been fairly related on studies of new drugs investigation. The synthesized compounds starting of the 2-amino-thiophene are important intermediates of pharmacologically active compounds. With that on sight, this study had the objective of evaluate the gastro-protective and the toxicological activity of 2-amino-thiophene derivatives. The compounds were synthesized and characterized by the Laboratory of Developing and Synthesis of Drugs (LDSF) and tested in the Laboratory of Pharmacological Assay of State University of Paraíba (UEPB). Mices (*Mus musculus*) of both genders were used. The gastro-protective activity was evaluated through the models of acute ulcer induced by ethanol and by non-steroidal anti-inflammatory (AINE). For the safety evaluation was performed the test of non-clinic acute toxicity. For screening was evaluated the activity from 5CN, 6CN and 7CN through the model of ulcer induced by ethanol, and the only one with significant activity was the 7CN 100 mg/kg, which inhibit the lesions in 45%. In the second experiment through the same model was evaluated the activity of 7CN in dose of 100 and 150 mg/kg. In the dose of 100 mg/kg the inhibition was 33%, and for the dose of 150 mg/kg was about 54%. In the last experiment making use of model of ulcer by ethanol, was evaluated the activity of WM03. In that test, the inhibition for WM03 50, 100 and 150 mg/kg was about 6, 19 and 52%, respectively. The last test applied for the evaluation of gastro-protective activity was the ulcer induced by non-steroidal anti-inflammatory (AINEs), in which was verified the activity of most promising compounds, WM03 and 7CN 150 mg/kg, which displayed inhibition of ulcers in 51 and 44%, respectively. In the evaluation of acute toxicity of compound WM03 in dose of 1500 mg/kg there were not shown no physiological neither behavioral alterations, indicating low toxicity of the tested compound. The collected results display a possibility of these compounds to become therapeutic agents, being a new choice for the treatment of gastric lesion, however, these studies must go on, that ratify it safety, and elucidate the possible mechanisms of the pharmacological effect.

Keywords: 2-Amino-thiophenes. Gastro-protective activity. Medicinal Chemistry.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

| | | |
|-------------------|---|----|
| Figura 1 – | Vias e suas respectivas cascatas de liberação e inibição do ácido gástrico | 18 |
| Figura 2 – | Esqueleto Tiofeno..... | 23 |
| Figura 3 – | Estrutura do Benzo [b] tiofeno..... | 25 |
| Figura 4 – | Influência dos derivados 5CN, 6CN e 7CN sob a redução das lesões ulcerativas provocadas por etanol | 32 |
| Figura 5 – | Influência do derivado 7CN (100 e 150 mg/kg) sob a redução das lesões ulcerativas provocadas por etanol | 34 |
| Figura 6 – | Influência do derivado WM03 (50, 100 e 150 mg/kg) sob a redução das lesões ulcerativas provocadas por etanol..... | 35 |
| Figura 7 – | Respectivas estruturas químicas do protótipo 2-guanidinoiazol e WM03..... | 36 |
| Figura 8 – | Influência dos derivados WM03 e 7CN (150 mg/kg) sob a redução das lesões ulcerativas provocadas por anti-inflamatório não esteroidal..... | 37 |
| Figura 9 – | Farmacóforo benzimidazol dos inibidores da bomba de prótons..... | 38 |

LISTA DE TABELAS

| | | |
|-------------------|---|----|
| Tabela 1 – | Principais agentes usados no combate a úlcera gástrica..... | 21 |
| Tabela 2 – | Anéis heterocícos e suas respectivas atividades..... | 24 |
| Tabela 3 – | Derivados 2-amino-tiofeno da série CN e WM e suas respectivas estruturas..... | 30 |
| Tabela 4 – | Consumos e evolução ponderal, dos animais submetidos ao teste de toxicidade, tratados pelo composto WM03 (1500 mg/kg), durante 14 dias..... | 40 |
| Tabela 5 – | Peso relativo dos órgãos de camundongos fêmeas tratadas com o WM03, na dose de 1500 mg/Kg via oral, após 14 dias..... | 41 |

LISTA DE ESQUEMAS

| | | |
|------------------|--|----|
| Esquema 1 | Reação de Gewald para a obtenção de 2-amino-tiofeno polissubstituídos..... | 25 |
|------------------|--|----|

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ACh - Acetilcolina
AINEs - Anti-inflamatórios não-esteroidais
AMPc - Adenosina Monofosfato Cíclico
CCK-2 - Colecistocinina do tipo 2
COX – Ciclooxigenase
DAG - Diacilglicerol
DL₅₀ – Dose Letal
DNA – Ácido desoxirribonucleico
ECL - Enterocromafin-like
GLP-1 - Glucagon-Like-peptide-1
HCl – Ácido clorídrico
H⁺/K⁺-ATPase – Bomba de Prótons
IBPs – Inibidores da Bomba de Prótons
ILU – Índice de Lesão Ulcerativa
IFN-γ – Intérferon-gama
IL-6 – Interleucina-6
IL-10 – Interleucina-10
IP3 – Inositol Trifosfato
LDSF – Laboratório de Desenvolvimento e Síntese de Fármacos
LogP – Coeficiente de Partição Óleo/Água
MAPK - Mitogen Activated Protein Kinases
NF-kB - Fator Nuclear kappa B
OECD - Organization for Economic Cooperation and Development
pH – Potencial Hidrogeniônico
PGE₂ - Prostaglandina E₂
PKC – Proteína Kinase C
PLC – Fosfolipase C
RNA – Ácido Ribonucleico
RMN – Ressonância Magnética Nuclear
ROS - Espécies Reativas de Oxigênio

TNF - Fator de Necrose Tumoral

UEPB – Universidade Estadual da Paraíba

VEGF - Fator de Crescimento Endotelial Vascular

v.o. – Via oral

YY - Peptídeo YY

SUMÁRIO

| | |
|---|----|
| 1. INTRODUÇÃO | 14 |
| 2. OBJETIVOS | 16 |
| 2.1.1 Objetivo geral | 16 |
| 2.1.2 Objetivos específicos | 16 |
| 3. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA | 17 |
| 3.1 Fisiologia da secreção gástrica | 17 |
| <i>3.1.1 Vias de liberação e inibição do ácido gástrico</i> | 17 |
| 3.2 Úlcera gástrica e mecanismos de defesa endógeno | 19 |
| 3.3 Terapia convencional da úlcera gástrica | 20 |
| 3.4 Derivados heterocíclicos sintéticos como potencial fonte terapêutica | 22 |
| 4. METODOLOGIA | 27 |
| 4.1 Local da pesquisa | 27 |
| 4.2 Obtenção dos derivados 2-Amino-Tiofeno | 27 |
| 4.3 Animais experimentais | 27 |
| 4.4 Avaliação da atividade gastroprotetora dos derivados 2-Amino Tiofeno..... | 28 |
| 4.5 Úlcera gástrica induzida por etanol | 28 |
| <i>4.5.1 Triagem farmacológica dos derivados 2-Amino-Tiofeno (5CN, 6CN e 7CN) pelo modelo de úlcera gástrica induzida por etanol</i> | 28 |
| <i>4.5.2 Avaliação da atividade gastroprotetora do 7CN nas doses 100 e 150 mg/kg pelo modelo de úlcera gástrica induzida por etanol</i> | 28 |
| <i>4.5.3 Avaliação da atividade gastroprotetora do WM03 pelo modelo de úlcera induzida por etanol</i> | 28 |
| 4.6 Avaliação da atividade gastroprotetora do 7CN e WM03 pelo modelo de lesões gástricas induzidas por AINEs (Piroxicam) | 29 |
| 4.7 Avaliação da toxicidade aguda | 29 |
| 4.8 Análise estatística..... | 29 |
| 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO | 30 |
| 5.1 Características dos derivados 2-Amino-Tiofeno..... | 30 |
| 5.2 Úlcera gástrica induzida por etanol | 32 |
| <i>5.2.1 Triagem farmacológica dos derivados 5CN, 6CN e 7CN pelo modelo de úlcera gástrica induzida por etanol</i> | 31 |

| | | |
|--------------|--|----|
| 5.2.2 | <i>Avaliação da atividade gastroprotetora do 7CN nas doses 100 e 150 mg/kg pelo modelo de úlcera gástrica induzida por etanol</i> | 35 |
| 5.2.3 | <i>Avaliação da atividade gastroprotetora do WM03 pelo modelo de úlcera induzida por etanol</i> | 36 |
| 5.3 | Avaliação da atividade gastroprotetora do 7CN e WM03 pelo modelo de lesões gástricas induzidas por AINEs | 38 |
| 5.4 | Avaliação da toxicidade aguda | 41 |
| 5.4.1 | <i>Avaliação comportamental dos camundongos</i> | 41 |
| 5.4.2 | <i>Consumo de água e ração e evolução ponderal</i> | 42 |
| 5.4 | <i>Análise macroscópica dos órgãos</i> | 43 |
| 6. | CONCLUSÃO | 44 |
| | REFERÊNCIAS | 45 |

1 INTRODUÇÃO

A úlcera gástrica é uma doença multifatorial crônica, sendo a principal patologia do trato gastrointestinal, que afeta o revestimento mucoso do estômago. A fisiopatologia da úlcera gástrica advém de um desequilíbrio entre fatores agressivos e protetores (AMIRSHAHROKHI; KHALILI, 2017).

A prevalência da úlcera gástrica é alta, sendo estimada em cerca de 5-10% e incidência de 0,1-0,3% ao ano (LANAS; CHAN, 2017). No Brasil, apesar da ausência de registros epidemiológicos em casos de úlcera, sabe-se que há numerosos casos envolvendo esta doença, o que significa que é um problema de saúde pública significativo (MAZZEO et al., 2015).

A redução da produção de ácido gástrico, bem como o reforço da proteção da mucosa gástrica tem sido as principais abordagens para a terapia da úlcera péptica. Portanto, é ideal que qualquer fármaco com esta finalidade agregue propriedades gastroprotetoras além de cicatrizantes da mucosa (MISHRA et al., 2013). Embora um grande arsenal de drogas com atividade gastroprotetora já esteja no mercado, nenhum deles resulta em 100% de remissão de úlceras com efeitos colaterais mínimos e sem comprometer o bem-estar do paciente, o que geralmente resulta no uso crônico desses medicamentos (MAZZEO et al., 2015).

Desse modo, os efeitos secundários indesejáveis promovidos por estes agentes, tem motivado a busca por novas fontes terapêuticas, cujo potencial gastroprotetor seja acompanhado de um mínimo de efeitos colaterais e um baixo custo de produção. Atualmente, o isolamento de substâncias derivadas de plantas e a síntese de novas estruturas químicas são as fontes mais relevantes na descoberta de novas alternativas para o tratamento de afecções, incluindo o combate a úlcera gástrica (APOLINÁRIO, 2016).

Um núcleo deveras importante na elucidação de novas fontes farmacológicas é o tiofeno. O tiofeno pertence a uma classe de compostos heterocíclicos contendo anéis de cinco membros, destacando-se o heteroátomo enxofre, sendo sua fórmula C_4H_4S . A estrutura do tiofeno pode ser encontrada em certos produtos naturais e também é incorporada em vários compostos farmacologicamente ativos, a exemplo dos quimioterápicos sintéticos, além disso o anel tiofênico tem sido utilizado como precursor de importantes produtos farmacêuticos, como a Olanzapina, no tratamento da esquizofrenia e do transtorno bipolar (LUNA, 2016).

Dentre os derivados tiofênicos, destacam-se os compostos 2-amino-tiofeno, que têm sido bastante relatados nos estudos de investigação de novas drogas. Os compostos sintetizados a partir dos 2-amino-tiofenos são importantes intermediários da síntese de

compostos farmacologicamente ativos (CHAKRABARTI et al., 1980; CHAKRABARTI; HOTTEN; TUPPER, 1993; CALLIGARO et al., 1998). Para estes derivados já foram relatadas atividades anti-inflamatória (KHAN et al., 2005), hipoglicemiante (DUFFY et al., 2005), antimicrobiana (ARORA et al., 2013), ansiolítica (FORTES et al., 2013), antioxidante (GOUDA et al., 2013), antifúngica (ABO-SALEM et al., 2014), antiplaquetária (JAGADISH et al., 2014) e antileishmanial (RODRIGUES et al., 2015).

Dada a amplitude de atividades apresentadas pelos derivados tiofênicos, presume-se que os 2-amino-tiofeno sejam candidatos promissores a novos compostos com atividade cicatrizante e/ou protetora gástrica. Assim, esta pesquisa visa investigar a possível atividade gastroprotetora de novas estruturas tiofênicas, objetivando o desenvolvimento, a longo prazo, de um novo medicamento, para o tratamento da úlcera gástrica.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Avaliar a atividade gastroprotetora e toxicidade de derivados 2-amino-tiofeno.

2.2 Objetivos específicos

- Realizar uma triagem da atividade gastroprotetora dos compostos 5CN, 6CN e 7CN através do modelo de úlcera induzido por etanol em camundongo;
- Avaliar a interferência de um grupo químico substituinte lipofílico no comportamento *in vivo* do composto 7CN;
- Avaliar a atividade gastroprotetora dos compostos com melhor desempenho, pelo modelo de úlcera gástrica induzida por AINEs;
- Avaliar a toxicidade aguda pré-clínica do composto que apresentar melhor potencial gastroprotetor.

3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

3.1 Fisiologia da secreção gástrica

Em conjunto com uma refeição, a secreção de ácido gástrico pode ser considerada como ocorrendo em três fases: cefálica, gástrica e intestinal. A maior parte da secreção ocorre durante a fase gástrica, quando a refeição está presente no estômago. A secreção de outros produtos gástricos, como amilases e proteases, geralmente é paralela à do ácido (MACCOLL; EL-OMAR, 2002)

Mesmo antes da ingestão da refeição, o estômago é preparado para recebê-lo pela chamada fase cefálica da secreção. Durante a fase cefálica, as funções de vários sistemas gastrointestinais, além do estômago, começam a ser reguladas, incluindo o pâncreas e a vesícula biliar (DI MARIO; GONI, 2014)

A fase gástrica da secreção é a mais importante. A secreção agora é amplificada ainda mais através de estímulos mecânicos e químicos decorrentes da presença da refeição no lúmen. A fase gástrica da secreção também é acompanhada por um aumento acentuado do fluxo sanguíneo gástrico, que fornece os requisitos metabólicos dos tipos celulares que secretam ativamente. Assim, enquanto as taxas secretoras de ácido permanecem altas, o pH efetivo na maior parte do lúmen pode subir para 5. Isso garante que a taxa de secreção de ácido durante a fase gástrica não seja atenuada por uma inibição da liberação de gastrina que de outra forma seria mediada pela somatostatina. A medida que a refeição se move para fora do estômago em direção ao duodeno, a capacidade tampão do lúmen é reduzida e o pH começa a cair. Sendo esta, considerada a fase de finalização da secreção gástrica, ou fase intestinal (DI MARIO; GONI, 2014).

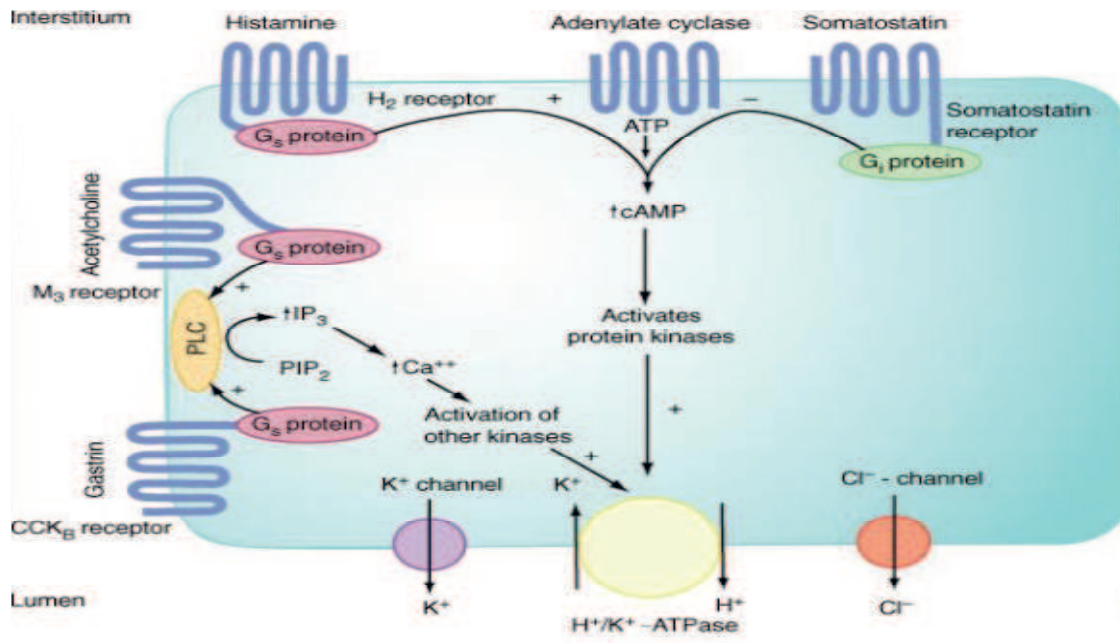
3.1.1 Vias de liberação e inibição de ácido gástrico

As células parietais ou células oxínticas são células epiteliais do estômago que têm a função de secretar o ácido gástrico. Este converte pepsinogênio em pepsina, além de auxiliar na digestão e proteger o estômago contra infecções (RAMSAY; CARR, 2011). A secreção de ácido é regulada por três vias, tendo como agonistas a acetilcolina (ACh) (via neuronal), histamina (via parácrina) e gastrina (via endócrina) (Figura 1).

A acetilcolina liberada pelo nervo vago age sobre receptores muscarínicos M3 e estimula diretamente a secreção de ácido, ativando a fosfolipase C (PLC), que converte

fosfolipídios de membrana em segundos mensageiros, o Inositol trifosfato (IP₃) e o Diacilglicerol (DAG). O IP₃ vai induzir a liberação de ions de cálcio (Ca²⁺) e o DAG vai ativar a proteína cinase (PKC). A ACh também estimula indiretamente a produção de ácido por inibir a somatostatina, uma vez que este hormônio inibi a liberação de gastrina e a histamina (BRAGA et al., 2016).

Figura 1 – Vias e suas respectivas cascatas de liberação e inibição do ácido gástrico



Fonte: Misodor (2009)

A histamina é produzida pelas células *enterocromafin-like* (ECL), e liga-se aos receptores H₂ de histamina, presentes nas células parietais. A ativação do receptor, provoca a Adenilato Ciclase a clivar o trifosfato de adenosina (ATP), produzindo o segundo mensageiro adenosina monofosfato cíclico (AMPc) (BRAGA et al., 2016).

A gastrina é o principal estimulador da secreção gástrica durante a alimentação, e age principalmente liberando a histamina das células ECL no corpo e fundo do estômago. Além disso, este hormônio liga-se aos receptores de gastrina/colecistocinina do tipo 2 (CCK-2), aumentando os níveis intracelulares de Ca²⁺, sendo esta sua forma direta de produção de ácido gástrico (RAMSAY; CARR, 2011; BRAGA et al., 2016).

O objetivo final da ação da Histamina, Gastrina e ACh é a ativação bomba de prótons (H⁺/K⁺-ATPase), que está presente em demasia nas células parietais e realizam a troca de

H^+ e K^+ , das células parietais para o lúmen, e da luz gástrica para as células, respectivamente. O H^+ irá se unir com o Cloreto (Cl^-) que sai pelos canais iônicos, também das células parietais, formando o ácido clorídrico (HCl) (RAMSAY; CARR, 2011).

A redução brusca de pH gástrico, leva a um aumento da produção de somatostatina, que por sua vez, inibe a liberação de histamina e gastrina, além de atuar diretamente sobre receptores específicos das células parietais, elevando o pH para a normalidade. A célula parietal ainda contém outro receptor inibitório, o receptor para prostaglandina E_2 (PGE_2). A PGE_2 inibe a secreção de ácido agindo diretamente nas células parietais e reduzindo AMPc, e indiretamente inibindo a secreção de gastrina e estimulando a produção de somatostatina (BRAGA et al., 2016).

3.2 Úlcera gástrica e mecanismos de defesa endógenos

A úlcera gástrica, ou úlcera péptica é uma lesão na mucosa gástrica ou duodenal, marcada por perda de substância de 5 mm, podendo chegar a lesões de centímetros, se estendendo em profundidade para além da mucosa muscular (CARRETERO, 2016). As lesões podem atingir submucosas adjacentes, e musculaturas externas, nestes casos, sendo a recuperação ainda mais demorada, pois requer reparo de danos celulares e teciduais profundos, além de formação completa do tecido conjuntivo danificado e recuperação da arquitetura de vasos sanguíneos (MANJEGOWDA et al., 2017).

A úlcera gástrica foi descrita pela primeira vez no século XIX, no ano de 1835, mas, foi a partir do século XX que essa afecção passou a ser mais prevalente e chamar atenção dos profissionais de saúde, pois eram recorrentes as cirurgias, com altas taxas de morbidade e mortalidade (BARKA et al., 2017).

Segundo Sagun e colaboradores (2017) a prevalência da úlcera gástrica é dominante nos países asiáticos, talvez pela exposição constante a fatores, como o estresse. Ainda, segundo este autor a progressão da úlcera gástrica resultou em hemorragia e perfuração, em 20% e 7% dos acometidos, respectivamente, afetando 87,4 milhões da população mundial levando a óbito 0,3% destes pacientes.

Carretero (2016) afirma que atualmente a prevalência é estimada entre 0,12 e 1,5% e a incidência varia entre 0,09-0,3% por paciente e ano, sendo as pessoas de idade avançada, as mais acometidas. Já, Hui & Fangyu (2016) declaram que a úlcera gástrica está presente em 4 a 5% da população mundial. Os números variam e não são precisos, visto que o problema é

difundido por todo o globo, o fato é que esta moléstia é uma das mais importantes que acometem o trato gastrointestinal.

Normalmente existe um equilíbrio entre fatores de proteção e fatores agressivos, no lúmen gástrico. Sendo a proteção realizada por: produção de muco e bicarbonato, barreira mucosa, regeneração celular, fluxo sanguíneo adequado, balanço ácido-base, grupos sulfidríla endógenos e fator de crescimento epidérmico (KALAYCI et al., 2017) e a agressão por elementos, como: secreção excessiva de ácido gástrico, refluxo biliar, secreção de pepsina, espécies reativas de oxigênio, hábitos alimentares, consumo de álcool em excesso, tabagismo, predisposição genética, estresse, o uso prolongado de anti-inflamatórios não-esteroidais (AINEs) e principalmente a infecção por *Helicobacter pylori* (SHEN et al., 2017; YANG et al., 2017). Anteriormente acreditava-se que, a fisiopatologia da úlcera gástrica estava centrada na hipersecreção de ácido e pepsina, porém, atualmente sabe-se que esta patologia é decorrente de um desequilíbrio causado seja por diminuição das fontes protetoras ou aumento da exposição aos agentes agressores, que pode levar ao desenvolvimento de lesões gástricas, variando em grau, a depender das condições do indivíduo (NAJM, 2011)

Os mecanismos que o organismo emprega para a proteção da mucosa gástrica podem ser divididos em três: pré-epiteliais, epiteliais e pós-epiteliais. Os agentes pré-epiteliais são muco, e uma camada de água rica em bicarbonato, e basicamente tem a função de proteger a camada epitelial, além de manter o pH estomacal dentro dos valores normais, logo podem ser considerados básicos, embora de muita importância. Os mecanismos de defesa epitelial são a união entre membranas celulares apicais e células de superfície, que limitam a passagem de íons hidrogênio para a mucosa. Já o agente de defesa pós-epitelial é o fluxo sanguíneo da mucosa, que fornece energia e substratos, para manter a integridade e permitir a mucosa, a execução de tarefas, como produção de muco e bicarbonato (SAMITIER et al., 2008).

3.3 Terapia convencional da úlcera gástrica

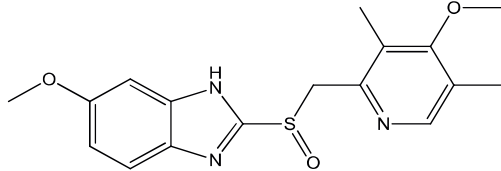
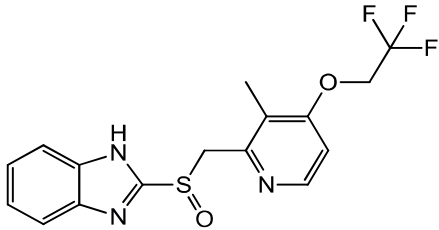
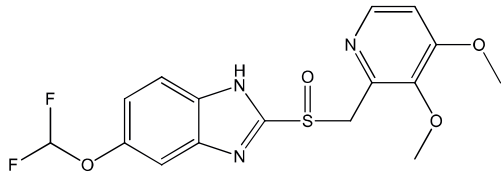
O controle da úlcera gástrica pode ser feito com a mudança nos hábitos de vida, associadas ao uso de medicamentos. Os fármacos usados no tratamento dos distúrbios ácido-pépticos podem ser divididos em duas classes: fármacos que reduzem a acidez gástrica e fármacos que promovem a defesa da mucosa (BAIUBON et al., 2016). Os fármacos que reduzem a acidez gástrica são: antiácidos, que neutralizam o pH gastrointestinal; os antagonistas dos receptores H₂ que são antagonistas competitivos e suprimem a secreção de HCl promovida pela histamina; e os inibidores da bomba de prótons (IBPs) que bloqueiam a

via comum final da secreção de HCl, a bomba de prótons. Os fármacos que protegem a mucosa são: sucralfato que se liga ionicamemente as proteínas nas lesões formando uma barreira física; os análogos das prostaglandinas que estimulam a secreção de muco e bicarbonato e os compostos de bismuto que recobrem as úlceras protegendo contra ação do HCl (KATZUNG et al., 2014).

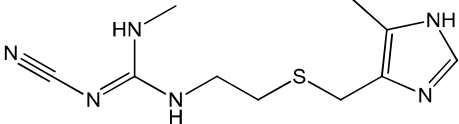
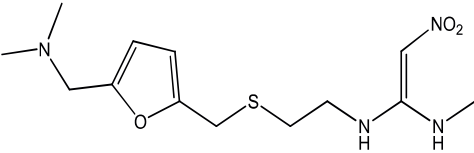
Apesar do bom arsenal terapêutico/farmacológico apenas duas classes ganham destaque, os antagonistas dos receptores H₂ de histamina e os inibidores da bomba de prótons (Tabela 1) (RIBEIRO et al., 2016). Porém, devido a superioridade bem respaldada, no alívio dos sintomas e na cicatrização das lesões, os IBPs substituíram rapidamente os antagonistas H₂, principalmente porque estes últimos têm uma meia-vida curta (4-8h) e produzem uma inibição incompleta da secreção de ácido gástrico pós-prandial, por isso precisam ser usados no mínimo duas vezes por dia, diminuindo adesão do paciente. Além disso desenvolvem o fenômeno de tolerância, resultando em declínio massivo de secreção ácida, com até duas semanas de uso contínuo. Contrariamente, os IBPs inibem a secreção ácida estimulada por alimentos, têm uma meia-vida mais longa (10-18h), e até o momento não foi relatada tolerância a essa classe (SAVARINO et al., 2017).

Tabela 1 – Principais agentes usados no combate a úlcera gástrica

(continua)

| Fármaco | Classe terapêutica | Estrutura química |
|--------------------|------------------------------|--|
| Omeprazol | Inibidor da bomba de prótons |  |
| Lansoprazol | Inibidor da bomba de prótons |  |
| Pantoprazol | Inibidor da bomba de prótons |  |

(conclusão)

| | | |
|-------------------|---|--|
| Cimetidina | Antagonista dos receptores H ₂ de Histamina |  |
| Ranitidina | Antagonista dos receptores H ₂ de Histamina |  |

Os medicamentos usados para o tratamento da úlcera gástrica têm diferentes graus de eficácia e apresentam alguns efeitos colaterais, além de importantes interações com outras classes de medicamentos. Ainda, a taxa de recidiva foi observada em um alto número de pacientes (BAIUBON et al., 2016). Os inibidores da bomba de prótons, desde sua introdução na década de 1980, assumiram o principal papel no tratamento de distúrbios ácido-gástricos, e hoje estão entre os medicamentos mais prescritos no mundo inteiro, contudo seu uso prolongado pode trazer graves problemas para o paciente. Os principais efeitos colaterais são: redução na absorção de vitamina B₁₂; redução na absorção de cálcio, ferro e magnésio; risco aumentado de infecções do estômago e intestino e aumento de gastrina (hormônio que estimula hiperplasia das células parietais, podendo levar ao surgimento de um tumor carcinóide) (SILVA et al., 2013; KATZUNG et al., 2014; MINOZZO et al., 2016). Vários estudos alertam sobre o perigo do uso crônico dos IBPs, sobretudo, quando este é feito sem o devido acompanhamento médico do paciente (VAEZI; YANG; HOWDEN, 2017; YADLAPATI; KAHRILAS, 2017).

Diante do exposto são necessárias pesquisas com finalidade de descobrir novas fontes terapêuticas para o tratamento da úlcera gástrica. As plantas e as moléculas sintéticas são os principais alvos (FERREIRA; PINTO, 2010). As moléculas sintéticas são em sua maioria de fácil obtenção, além de permitirem ao pesquisador, o conhecimento de todas as estruturas presentes ao final da síntese.

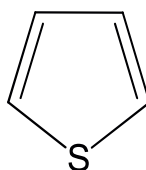
3.4 Derivados heterocíclicos sintéticos como potencial fonte terapêutica

Por mais de um século os compostos heterocíclicos desempenham um papel importante na química medicinal, os quais correspondem a cerca de 65% dos fármacos atualmente empregados na terapêutica, de onde 95% desses apresentam-se nitrogenados, e outros 25% apresentam átomos de enxofre em sua composição química (BARREIRO; FRAGA, 2001). Devido a suas vastas aplicações, esses esqueletos têm ganhado ainda mais visibilidade em pesquisas, e esforços foram feitos para levar à descoberta de novos compostos bioativos em química medicinal. Na indústria farmacêutica os derivados heterocíclicos são prevalentes, com mais de 60% dos principais medicamentos contendo pelo menos um núcleo heterocíclico como parte da topografia geral do composto (KHAN et al., 2015). Além disso, estes compostos são possuidores de ampla atividade biológica e têm vantagem de não terem sido extensivamente estudados.

Os sistemas heterocíclis contendo enxofre apresentam diversas atividades biológicas e farmacológicas, isso deve-se em parte a sua semelhança com estruturas endógenas (a exemplo do DNA e RNA) e sintéticas já conhecidas. Além disso, estes compostos são altamente estáveis e exibem propriedades físico-químicas interessantes para o desenvolvimento de novos produtos (KERI et al., 2017).

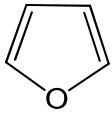
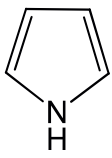
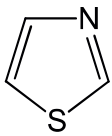
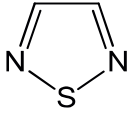
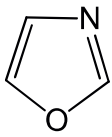
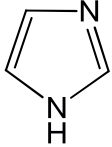
O tiofeno (Figura 2) e seus derivados são uma classe de compostos heterocíclis conhecida por sua vasta atividade farmacológica e biológica. As propriedades descritas na literatura incluem: anti-inflamatória, antinocéptica, antitumoral, anticonvulsivante, antiarrítmico, antituberculosa, antimicrobiana e antidepressiva (RODRIGUES et al., 2015; HARIT et al., 2017). Segundo a revisão de Rodrigues e colaboradores (2015) estudos confirmam que pequenas substituições na estrutura do tiofeno causam grandes diferenças nos perfis biológicos e farmacológicos. Por tais motivos, esta é considerada uma estrutura privilegiada para a descoberta de drogas.

Figura 2 – Esqueleto Tiofeno

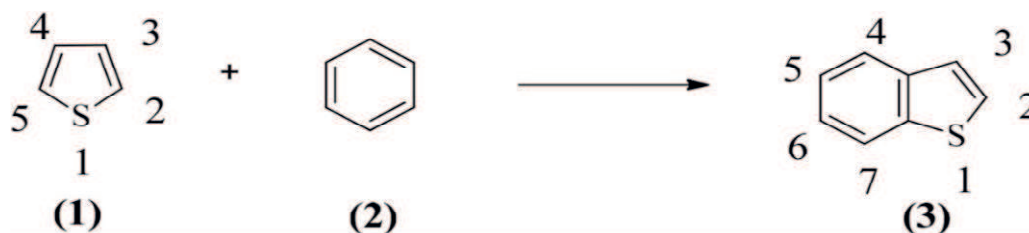


Na tabela 2 observamos os anéis heterocíclis que são Bioisósteros do Tiofeno, com as principais atividades relatadas na literatura de derivados destes núcleos.

Tabela 2 – Anéis heterocíclcos e suas respectivas atividades

| Anéis heterocíclcos | Estruturas | Atividades |
|---------------------|---|--|
| Furano |  | Antibacteriana (MALLADI et al., 2017); antioxidante (TANG et al., 2016); anti-inflamatória (BOUKHARSA et al., 2017) |
| Pirrol |  | Antiulcerogênica (NISHIDA et al., 2017); antiplasmodial (CARVALHO et al., 2016); antimicrobiana e antituberculosa (GHOLAP, 2016) |
| Tiazol |  | Antiulcerogênica (LAMATTINA et al., 1990); antitumoral (OHNO et al. 2016); antiarrítmica (AMR et al., 2009) |
| Tiodiazol |  | Hipoglicemiante (TAHA et al., 2017); antitumoral (CHARITOS et al., 2016); antimicrobiana (CUI et al., 2017) |
| Oxazol |  | Antitumoral (CAMPOS et al., 2017); antitrombótica (ROEHRIG et al., 2005) |
| Imidazol |  | Anti-inflamatória (GUERRA et al., 2011; HUSAIN et al., 2016); Antinociceptiva (CZOPEK et al., 2016; GUERRA et al., 2011) |

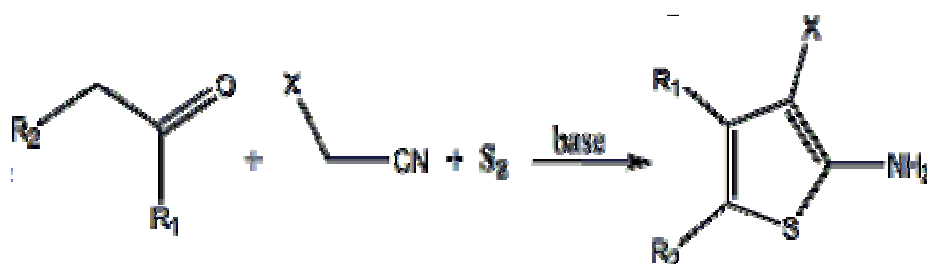
Entre os derivados tiofênicos, o benzo *[b]* tiofeno é um núcleo heterocíclico único que se apresenta como um importante farmacoprotetor de algumas moléculas bioativas. Benzo *[b]* tiofeno (**3**) (Figura 3) é um sistema bicíclico em que o anel benzeno (**1**) é fundido ao anel tiofeno (**2**) nas posições 4, 5 deste. Eles exibem uma gama de atividades biológicas e farmacológicas, a saber: anti-inflamatórios, analgésicos, anti-fúngicos, antidepressivos, anti-angiogênicos, modulação do receptor de estrogênio, anti-mitótica, inibidores enzimáticos, anti-câncer, cinases inibidoras, anti-tuberculosa, anticonvulsivantes, anti-malária, anti-helmínticos, anti-diabéticos, anti-hiperglicêmicos e pesticidas (KERI et al., 2017).

Figura 3 – Estrutura do Benzo [b]tiofeno

Fonte: Keri (2017)

Uma outra classe de derivados tiofênicos, são os compostos 2-Amino-tiofeno, que têm sido bastante relatados nos estudos de investigação de novas drogas, principalmente depois das inovações da rota de síntese da reação de Gewald (PUTEROVÁ; KRUTOSIKOVÁ; VÉGH, 2009).

Em 1965 e 1966, o químico alemão Karl Gewald revolucionou a síntese orgânica ao inovar com a reação de multicomponentes que fornece 2-amino-tiofenos polissubstituídos (Esquema 1). Esses derivados são obtidos através da clássica reação de Gewald, que envolve a condensação multicomponentes de uma cetona ou aldeído (compostos carbonílicos), uma nitrila ativado, enxofre elementar na presença de uma base e um catalizador orgânico, tais como morfolina e dietilamina, originando como produto o 2-amino-tiofenos polissubstituídos (GEWALD et al., 1966; JAVADI; TAYEBEE, 2016).

Esquema 1 – Reação de Gewald para a obtenção de 2-amino-tiofeno polissubstituídos

Fonte: Luna (2014)

Esta reação se mostrou um importante procedimento sintético devido ao fato de possibilitar a substituição no anel tiofênico em três posições distintas, R₁, R₂ e X, permitindo dessa forma obter um grande número de intermediários sintéticos (LUNA, 2014).

Os 2-amino-tiofenos têm sido importantes andaimes em produtos químicos e terapêuticos, isso deve-se a sua fácil síntese, disponibilidade, estabilidade e simplicidade estrutural. Estas estruturas exibem uma série de atividades, já comprovadas por estudos,

sendo elas: antileishmanial (RODRIGUES et al., 2015), antimicrobiana (ARORA et al., 2013), anti-inflamatória (KHAN et al., 2005), hipoglicemiante (DUFFY et al., 2005), ansiolítica (FORTES et al., 2013), antifúngica (ABO-SALEM et al., 2014), antioxidante (GOUDA et al., 2013) e antiplaquetária (JAGADISH et al., 2014). Por todos estes motivos os derivados 2-amino-tiofenos são uma potencial fonte terapêutica.

4 METODOLOGIA

4.1 - Local da pesquisa

Os estudos de toxicidade e investigação da atividade gastroprotetora foram realizados no Laboratório de Ensaio Farmacológicos, localizado do complexo “Três Marias” no Campus 1 da Universidade Estadual da Paraíba (UEPB).

4.2 – Obtenção dos derivados 2-amino-tiofeno

Os derivados 2-amino-tiofeno, 2-amino-5,6-dihidro-4*H*-ciclopenta [*b*] tiofeno-3-carbonitrilo (5CN), 2-amino-4,5,6,7-tetrahidrobenzo [*b*] tiofeno-3-carbonitrilo (6CN), 2-amino-5,6,7,8-tetra-hidro-4*H*-ciclo-hepta [*b*] tiofeno-3-carbonitrilo (7CN) e (*E*)-2 - ((2,4-diclorobenzilideno) amino) -5,6,7,8-tetra-hidro-4*H*-ciclo-hepta [*b*] tiofeno-3-carbonitrilo (WM03) foram sintetizados e cedidos pelo Laboratório de Desenvolvimento e Síntese de Fármacos (LDSF) localizado no Campus 1 da UEPB, sob a responsabilidade do Prof. Dr. Ricardo Olímpio de Moura. Todos os compostos tiveram sua estrutura confirmada através de Ressonância Magnética Nuclear (RMN) e seus valores teóricos de Log P determinados pelo programa *ChemDraw Ultra versão 12*.

4.3 - Animais

Foram utilizados camundongos *Mus musculus* (Swiss) adultos, machos e fêmeas, com cerca de 2-3 meses de idade, pesando entre 25-35 g, oriundos do Laboratório de Ensaio Farmacológicos da Universidade Estadual da Paraíba (UEPB). Os animais foram mantidos sob temperatura $23 \pm 2^\circ \text{C}$ e ciclos claro-escuro controlado de 12 horas, e alimentados com ração tipo *pellets* e água *ad libitum*.

Foram utilizados grupos de 5 ou 6 animais, mantidos em jejum nas 12 horas anteriores aos experimentos. Os tratamentos foram administrados oralmente (por gavagem).

A eutanásia dos animais foi realizada de acordo com a Resolução nº 1.000/2012, do Conselho Federal de Medicina Veterinária, precedida por anestesia geral com cloridrato de quetamina 5% (150 mg/kg) e cloridrato de xilazina 2% (20 mg/kg), via intraperitoneal. Após a observação da ausência do reflexo corneal, o processo foi finalizado com deslocamento cervical.

4.4 - Avaliação da atividade gastroprotetora dos derivados 2-Amino-tiofenos

Para a avaliação da atividade gastroprotetora foram utilizados os modelos de indução de úlcera aguda por etanol e AINEs. As lesões ulcerativas foram quantificadas macroscopicamente através da utilização de uma lupa e expressas como índice de lesão ulcerativa (ILU), conforme o número e a severidade de lesões (SZELENYI e THIEMER, 1978), de acordo com a seguinte fórmula: $ILU = \Sigma (\text{lesões nível } 1 \times 1) + (\text{lesões nível } 2 \times 2) + (\text{lesões } 3 \times 3)$. Sendo as úlceras de até 1 mm correspondendo a 1 ponto, maiores que 1 mm 2 pontos e úlceras perfuradas 3 pontos.

4.5 – Úlcera gástrica induzida por etanol

Os animais serão divididos em grupos de 5, e serão tratados oralmente com o veículo (0,1 ml/10 g) + 50 μ L de polissorbato 80, ou os derivados sintéticos. Sessenta minutos após os tratamentos foi administrado etanol absoluto (0,2 mL/animal v.o.) (ROBERT et al., 1979). Uma hora após a administração do agente necrotizante, os animais foram eutanasiados e os estômagos retirados e abertos ao longo da grande curvatura, para determinação do índice de lesões ulcerativas de acordo com a intensidade da ulceração.

4.5.1 Triagem farmacológica dos derivados 2-amino-tiofeno (5CN, 6CN e 7CN) pelo modelo de úlcera gástrica induzida por etanol

Os animais foram divididos em 7 grupos de 5 e tratados oralmente com o veículo (0,1 ml/10 g) + 50 μ L de polissorbato 80, e os derivados sintéticos 5CN, 6CN e 7CN (nas doses 50 e 100 mg/kg) para cada molécula. O processo de indução da úlcera e eutanásia dos animais para contagem das lesões, segue a metodologia do tópico “4.6”.

4.5.2 – Avaliação da atividade gastroprotetora do 7CN nas doses de 100 e 150 mg/kg pelo modelo de úlcera gástrica induzida por etanol

Os animais foram divididos em 3 grupos de 5 e tratados por via oral com salina (0,1 ml/10 g) + 50 μ L de polissorbato 80 ou 7CN na dose de 100 e 150 mg/kg. O processo de indução da úlcera e eutanásia dos animais para contagem das lesões, segue a metodologia do tópico “4.6”.

4.5.3 – Avaliação da atividade gastroprotetora do WM03 pelo modelo de úlcera gástrica induzida por etanol

Os animais foram divididos em 4 grupos de 5 e tratados oralmente com veículo (0,1 ml/10 g) + 50µL de polissorbato 80, ou WM03, nas doses de 50, 100 e 150 mg/kg. O processo de indução da úlcera e eutanásia dos animais para contagem das lesões, segue a metodologia do tópico “4.6”.

4.6 - Avaliação da atividade gastroprotetora do 7CN e WM03 pelo modelo de lesões gástricas induzidas por AINE (Piroxicam)

Os animais foram divididos em 3 grupos de 6 e tratados oralmente com salina (0,1 mL/100 g) + 50µL de polissorbato 80, 7CN (150 mg/kg) e WM03 (150 mg/kg). Após trinta minutos, as lesões gástricas foram induzidas com injeção subcutânea de piroxicam (30 mg/kg). Quatro horas após a administração do AINE, os animais foram eutanasiados, os estômagos retirados e abertos ao longo da grande curvatura, para determinação do ILU (PUSCAS et al, 1997).

4.7 – Avaliação da Toxicidade Aguda

Para avaliação da toxicidade aguda foi utilizada a metodologia recomendada pela *Organization for economic cooperation and development - Guideline 423* (OECD, 2001). Camundongos fêmeas (60 dias) foram aleatoriamente distribuídas em dois grupos de seis animais cada. Uma dose única foi administrada oralmente aos grupos de animais teste. O grupo controle recebeu o veículo solução salina (0,1 ml/10g) + 50µL de polissorbato 80, enquanto o grupo teste recebeu uma dose de 1500 mg/kg de WM03. Os animais foram observados nas primeiras duas horas e depois a cada 24 horas diariamente durante 14 dias após a administração do derivado. A avaliação foi realizada pelo método de screening hipocrático, além disso, o peso, o consumo de água e ração foram avaliados diariamente. No 14º dia, os animais foram anestesiados com ketamina e xilazina (2:1; v/v) por via intraperitoneal para posterior eutanásia. O fígado, rim, baço e estômago foram coletados para a determinação do peso relativo dos órgãos.

O peso relativo dos órgãos foi calculado seguindo a fórmula:

$$\text{Peso relativo dos órgãos} = \frac{\text{Peso do órgão (g)} \times 10}{\text{Peso de animal (g)}}$$

4.8 - Análise estatística

Os dados foram tratados utilizando-se a análise de variância de uma via (ANOVA), seguido do pós-teste Dunnett e/ou Tukey. Todos os resultados foram expressos como média±desvio padrão (d.p.) da média, com nível de segurança mínimo ($p < 0,05$) e analisados com o software *GraphPad Prism 5.0*, San Diego, CA, EUA.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Características dos derivados 2-amino-tiofeno

Foram sintetizados e cedidos 4 compostos genericamente nomeados como 5CN, 6CN, 7CN e WM03. Na tabela 3 estão dispostos seus nomes e estruturas químicas. As moléculas apresentam as características físico-químicas de derivados 2-amino-tiofeno, além de apresentarem rendimento acima de 50%, denotando boa executabilidade da rota sintética e fácil metodologia de purificação.

Tabela 3. Derivados 2-amino-tiofeno da série CN e WM e suas respectivas estruturas químicas

| Derivados | Nome químico | Estrutura molecular |
|-----------|---|---------------------|
| 5CN | 2-amino-5,6-dihidro-4 <i>H</i> -ciclopenta [<i>b</i>] tiofeno-3-carbonitrilo | |
| 6CN | 2-amino-4,5,6,7-tetrahidrobenzo [<i>b</i>] tiofeno-3-carbonitrilo | |
| 7CN | 2-amino-5,6,7,8-tetra-hidro-4 <i>H</i> -ciclo-hepta [<i>b</i>] tiofeno-3-carbonitrilo | |
| WM03 | (<i>E</i>)-2 - ((2,4-diclorobenzilideno) amino) - 5,6,7,8-tetra-hidro-4 <i>H</i> -ciclo-hepta [<i>b</i>] tiofeno-3-carbonitrilo | |

As estruturas moleculares foram confirmadas através de Ressonância Magnética Nuclear (RMN). Os Log P (valores teóricos calculados pelo programa *ChemDraw Ultra versão 12*) para os derivados 5CN, 6CN, 7CN e WM03, foram respectivamente 2,19; 2,61; 2,7 e 6,81. Todos os derivados, exceto o WM03 apresentaram LogP < 5, estando de acordo com a regra de *Lipinsk*, que estabelece as condições favoráveis para a absorção de um

fármaco pelo organismo humano. Para um xenobiótico exibir boa solubilidade e também permeabilidade em meios biológicos, este deve apresentar, entre outras propriedades, LogP inferior a 5 e preferencialmente não menor do que 2. Este parâmetro é denotativo de um bom perfil de biodisponibilidade, podendo resultar em um melhor desempenho terapêutico/farmacológico (BARREIRO, 2009).

5.2 Úlcera gástrica induzida por etanol

Para seres humanos e animais experimentais, o álcool é tóxico e exerce efeitos negativos importantes em órgãos, como fígado, cérebro, músculos esqueléticos, sistema imunológico, coração, pâncreas, aparelhos gastrointestinais, sistema hematológico e endócrino. Além disso, as doenças alcoólicas foram consideradas como importantes propulsores do estresse oxidativo (BUJANDA et al., 2006).

Os principais fatores envolvidos na patogênese das lesões da mucosa gástrica induzidas pelo etanol são a inibição da proliferação celular, infiltração de células pró-inflamatórias, indução de radicais livres de oxigênio, peroxidação lipídica e a oxidação proteica (ZHANG et al., 2017).

O modelo de úlcera aguda induzida por etanol é comumente o mais empregado, devido a extensão de efeitos que este provoca e principalmente por que, o etanol penetra facilmente na mucosa gástrica e resulta em lesões caracterizadas por edema da mucosa, hemorragias subepiteliais e infiltração de células inflamatórias (LI et al., 2016).

Segundo Kazmi e colaboradores (2018) a úlcera gástrica induzida por etanol é o modelo mais popular, sendo usado com frequência para avaliar a atividade protetora de plantas e derivados sintéticos, contra úlcera. Ainda, segundo Ali e colaboradores (2017), há vários anos que a ulceração gástrica induzida pelo etanol é o método mais relevante e utilizado para avaliar a atividade antiulcerogênica de candidatos a fármacos. O etanol é conhecido por produzir lesões através da mucosa gástrica e causar dano a membrana, identificado por lesões erosivas hemorrágicas com esfoliação celular, necrose coagulante difusa das células, congestionamento vascular proeminente, erosões superficiais múltiplas e finalmente formação de úlcera (KAZMI et al., 2018).

O etanol é capaz de induzir infiltração de leucócitos, secreção de quimiocinas, estresse oxidativo e apoptose. Isso resulta na invasão do tecido gástrico por neutrófilos, levando ao dano da mucosa gástrica. A invasão de neutrófilos é frequentemente associada a uma resposta

inflamatória elevada e à ativação do fator nuclear *kappa B* (NF- κ B), um regulador de citocinas pró-inflamatórias, como o fator de necrose tumoral (TNF) e interleucina 6 (IL-6). Essas citocinas amplificam a cascata inflamatória desencadeando a liberação de outros mediadores pró-inflamatórios, incluindo o interferon (IFN- γ). Isso suprime as citocinas anti-inflamatórias, como a interleucina 10 (IL-10), e melhora o recrutamento de macrófagos e neutrófilos. Esses fatores atuam em conjunto para exacerbar o dano gástrico (KANG et al., 2017).

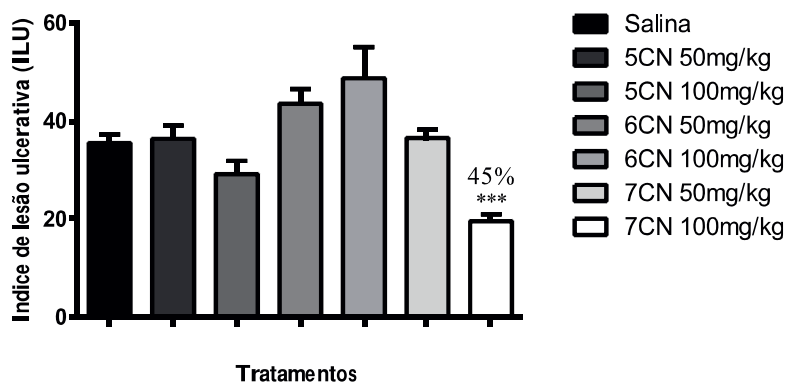
5.2.1 Triagem farmacológica dos derivados 5CN, 6CN e 7CN pelo modelo de úlcera gástrica induzida por etanol

O passo inicial deste estudo foi identificar se algum derivado da série CN era dotado de atividade gastroprotetora. Para isto, foi realizada uma triagem através do teste de úlcera induzida por etanol.

As doses de 50 e 100 mg/kg das moléculas utilizadas nos testes, foram escolhidas baseando-se nas doses terapêuticas dos IBPs, que são de 20 mg, 40 mg e/ou 60 mg (NAIDOO, 2016; PENSABENE; DAVIDSON, 2017) e dos antagonistas H₂ que são geralmente entre 150 e 400 mg (BLANDIZZI; SCARPIGNATO, 2014)

Neste modelo experimental, apenas o derivado 7CN (100 mg/kg) apresentou inibição das lesões gástricas, com percentual de 45%, quando comparado com o grupo controle (Figura 4). Os compostos 5CN e 6CN nas doses utilizadas não apresentaram inibição significativa, e, portanto, foram descartados para a continuação dos ensaios. Assim, por ser o único derivado que apresentou atividade e apenas na dose de 100mg/kg, o 7CN foi selecionado para continuar os estudos.

Figura 4. Influência dos derivados 5CN, 6CN e 7CN na redução das lesões ulcerativas provocadas por etanol em camundongos



Valores são expressos em média \pm desvio padrão da média, $n = 5$. *** $p < 0,001$ significativamente diferente do grupo controle (ANOVA seguido pelo teste de Dunnett)

Segundo Malfertheiner e colaboradores (2009) substâncias com atividade antiulcerogênica comprovada podem reduzir as úlceras gástricas por três mecanismos: inibição ácida (antagonistas H_2 e IBPs), aumento da resistência da mucosa (análogos da prostaglandina) e promoção da síntese de prostaglandinas (sais de bismuto).

Kang & Kim (2017) chegaram à uma conclusão genérica que drogas que reduzem o processo inflamatório provocado pelo etanol, inibem particularmente a ativação de dois fatores, NF- κ B e *Mitogen activated protein kinases* (MAPK). NF- κ B é um complexo proteico que atua como fator de transcrição nuclear e está envolvida na resposta celular a estímulos como estresse, citocinas, radicais livres, radiação ultravioleta, entre outros (LI et al., 2017). MAPK é uma subfamília de proteínas-quinase específicas que respondem a estímulos extracelulares (mitógenos) e regulam várias atividades celulares (YAO et al., 2017).

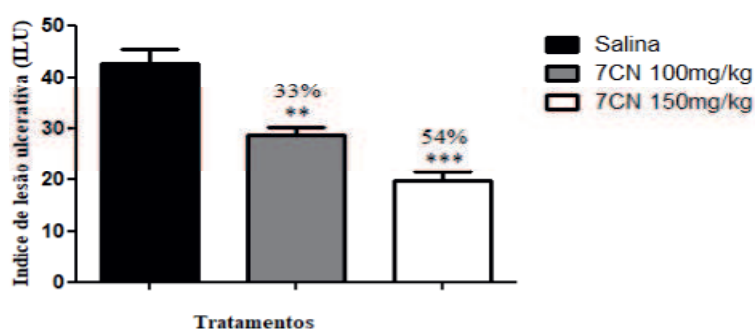
A atividade antiulcerogênica do derivado 7CN parece ter algum envolvimento com o anel heptano, além do núcleo tiofênico, uma vez, que os derivados com os anéis pentano (5CN) e hexano (6CN) não apresentaram atividade. Este envolvimento do heptano pode estar atrelado a modificação conformacional de um alvo biológico, provocado por este anel, ou o favorecimento, deste, a acomodação de toda a molécula no alvo, o que facilitaria a interação do núcleo tiofênico e os demais radicais com seus ligantes.

5.2.2 Avaliação da atividade antiulcerogênica do 7CN nas doses de 100 e 150 mg/kg pelo modelo de úlcera gástrica induzida por etanol

Com o objetivo de confirmar a atividade do composto 7CN e se o desempenho da molécula melhorava com o aumento da dose, em outro momento, repetimos o experimento com o composto na dose de 100 e 150 mg/kg.

Neste ensaio ambas as doses apresentaram atividade antiulcerogênica, indicados por uma diminuição no índice de lesões ulcerativas quando comparados ao grupo controle. Os resultados obtidos com as doses de 100 e 150 mg/kg, foram 33 e 54%, respectivamente (Figura 6). O percentual de inibição de 7CN 100 mg/kg obtido nesse ensaio corrobora com o resultado do primeiro teste realizado, quando 7CN nesta mesma dose apresentou uma inibição de 45%. O grande achado neste teste foi verificar que 7CN na dose de 150 mg/kg mostrou um desempenho bem superior à sua dose menor.

Figura 5 - Influência do derivado 7CN (100 e 150 mg/kg) sob a redução das lesões ulcerativas provocadas por etanol



Valores são expressos em média \pm desvio padrão da média, $n = 5$. *** $p < 0,001$ significativamente diferente do grupo controle (ANOVA seguido pelo teste de Dunnett)

Scotese e colaboradores (1985) obtiveram resultados satisfatórios quando testaram derivados tiofênicos na dose de 100 mg/kg. Tal estudo corrobora com o este estudo uma vez que a dose testada foi semelhante, entre os trabalhos.

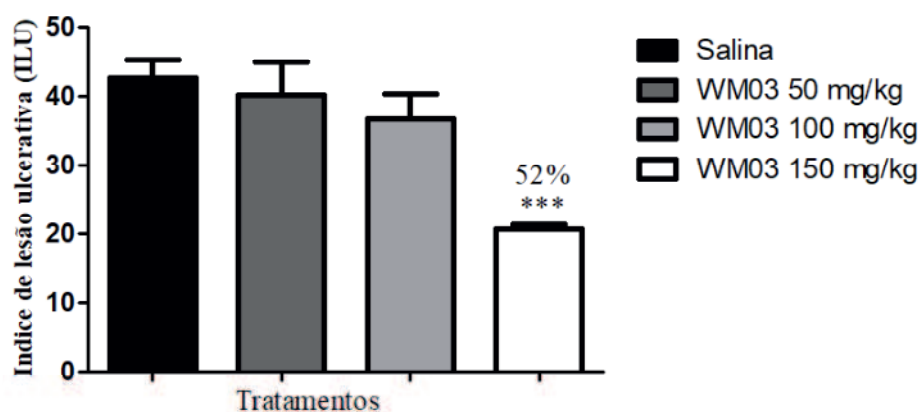
5.2.3 Avaliação da atividade antiulcerogênica do WM03 pelo modelo de úlcera gástrica induzida por etanol

Neste ensaio foi utilizado o composto WM03, um derivado do 7CN. O WM03 recebeu no seu grupo amino, o radical 2,4-diclorobenzeno, com os átomos de Cl na posição *orto-para*. O objetivo de se avaliar este composto, foi verificar a influência do acréscimo de um

grupamento volumoso e lipofílico, na atividade farmacológica. O 2,4-diclorobenzeno poderia facilitar o preenchimento de uma fenda hidrofóbica num alvo, promover uma proteção estérica no grupo amino (provável farmacóforo), aumentar o tempo de meia-vida, devido a menor hidrofília, além de facilitar a permeação de membranas plasmáticas. Ainda, segundo Wissing e colaboradores (1994), é possível modificar a metabolização de estruturas a partir da inserção de grupos volumosos.

Para melhor comparação entre 7CN e WM03 foram utilizadas as mesmas doses de 50, 100 e 150 mg/kg. Neste teste WM03 nas doses 50, 100 e 150 mg/kg reduziu as lesões ulcerativas em 6, 19 e 52%, respectivamente (Figura 7). Apenas a dose de 150 mg/kg teve desempenho significativo, não apresentando grande diferença da performance do 7CN na mesma dose. Tal resultado, sugere que o acréscimo do grupamento 2,4-diclorobenzeno não alterou em nada a atividade farmacológica do composto, e que WM03 e 7CN apresentam comportamentos farmacocinéticos e farmacodinâmicos semelhantes, já que o percentual de inibição de 7CN 150 mg/kg, no mesmo modelo experimental, foi de 54%.

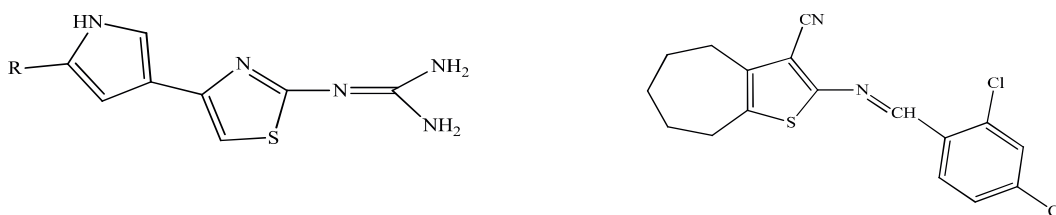
Figura 6 – Influência do derivado WM03 (50, 100 e 150 mg/kg) sob a redução das lesões ulcerativas provocadas por etanol



Valores são expressos em média \pm desvio padrão da média, $n = 5$. *** $p < 0,001$ significativamente diferente do grupo controle (ANOVA seguido pelo teste de Dunnett)

LaMattina e colaboradores (1990) produziram, avaliaram a interferência de substituintes e identificaram a relação estrutura-atividade de derivados tiazolidínicos. Neste trabalho os autores verificaram a grande relevância do núcleo tiazólico na atividade antiulcerogênica e pouca influência dos substituintes amino. Na figura 8 vemos a relação entre o protótipo deste estudo e o WM03.

Figura 7 – Respectivas estruturas químicas do protótipo 2-guanidino-tiazol (LAMATTINA et al, 1990) e WM03



A grande analogia entre as estruturas são os heterocíclios bioisósteros, tiazol e tiofeno. Além disso as duas moléculas apresentam grupamentos amina e nitrogênicos, sendo importantes para realização de pontes de hidrogênio. Outra similaridade são os anéis e as duplas ligações, que conferem rigidez conformacional aos compostos. Diante dos expostos pode-se inferir que o presente estudo corrobora com o robusto estudo de LaMattina e colaboradores (1990).

5.3 Avaliação da atividade gastroprotetora do 7CN e WM03 pelo modelo de úlcera gástrica induzida por AINEs

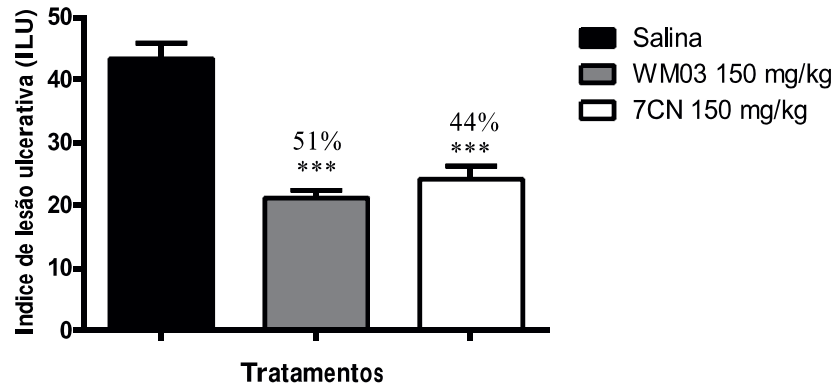
Dando continuidade à avaliação antiulcerogênica dos compostos, foi aplicado o teste de úlcera induzida por anti-inflamatório do tipo não esteroide, utilizando, desta vez, os dois derivados mais promissores, o 7CN e o WM03. Foi possível comparar em um mesmo teste, e na mesma dose (150 mg/kg) os compostos que apresentaram uma relevante inibição das úlceras.

A fisiopatologia da lesão gástrica induzida pelos AINEs depende, pelo menos em parte, da sua capacidade de diminuir a produção de prostaglandinas através da inibição da ciclooxigenase (COX). Outro mecanismo envolvido nas lesões provocadas por estes medicamentos é a regulação negativa da expressão de fator de crescimento endotelial vascular (VEGF), complexo que promove a cicatrização de úlcera através da estimulação da formação de microvasos (FORNAI et al., 2011).

Neste ensaio, ambos os derivados 2-amino-tiofenos apresentaram resultados significantes na inibição das úlceras gástricas, quando comparados ao grupo controle. O WM03 apresentou redução de 51%, enquanto que o 7CN inibiu as lesões em 44% (Figura 9). Estatisticamente o resultado encontrado não apresenta diferenças significativas entre as moléculas nestas doses. Os valores de inibição foram semelhantes entre os testes

anteriores e este, para ambos os compostos. Todos os ensaios corroboram entre si e testificam o bom desempenho destes derivados frente ao combate das lesões ulcerativas.

Figura 8 - Influência dos derivados WM03 e 7CN (150 mg/kg) sob a redução das lesões ulcerativas provocadas por anti-inflamatório não esteroidal



Valores são expressos em média \pm desvio padrão da média, $n = 6$. *** $p < 0,001$ significativamente diferente do grupo controle (ANOVA seguido pelo teste de Dunnett)

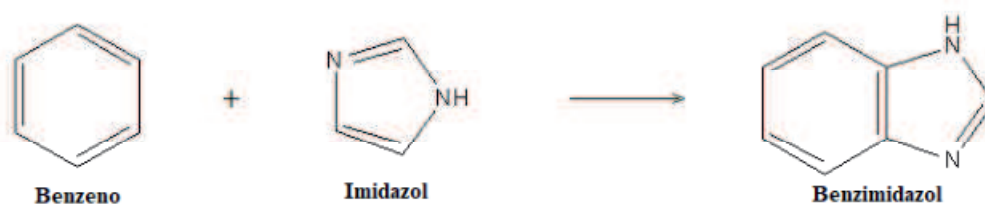
Firdaus e colaboradores (2014) avaliaram o comportamento do AINE Piroxicam, frente ao trato gástrico e identificaram que este inibe as atividades de duas importantes enzimas antioxidantes gástricas chamadas peroxidase gástrica e glutathione-S-transferase. As diminuições significativas nas atividades destas enzimas antioxidantes, e o aumento das atividades de glutathione redutase, glutathione peroxidase, catalase e superóxido dismutases indicam um desequilíbrio crescente em oxidantes e antioxidantes nos tecidos gástricos após administração de Piroxicam. Por isso, este medicamento induz lesão gástrica devido ao estresse oxidativo construído *in vivo* no decorrer de seu metabolismo ou ação.

Diante do exposto sobre os AINEs e o Piroxicam, pode-se propor que os compostos 7CN e WM03 podem exercer seu efeito gastroprotetor pelas vias de proteção e redução da acidez gástrica mais consolidadas e/ou por um mecanismo antioxidante. Seja inibindo diretamente as espécies reativas de oxigênio ou estimulando as vias de combate aos radicais livres.

Toyofuku e colaboradores (1986) avaliaram a atividade antiulcerogênica de derivados tiodiazolidínicos. Neste estudo os autores obtiveram ótimos resultados utilizando uma dose de 50 mg/kg de seus derivados, corroborando com o presente trabalho.

Desde o desenvolvimento do primeiro IBP, o Timoprazol, passando pelo Omeprazol, até o último fármaco desta classe, o Pantoprazol (HUBER et al., 1995), houveram diversas modificações estruturais, visando melhorar o desempenho farmacocinético e farmacodinâmico, além da diminuição dos aspectos tóxicos destes fármacos. Entretanto, alguns grupamentos não foram alterados, sendo, portanto, considerados essenciais para atividade desta classe (farmacóforos). Entre, estes grupamentos está o benzimidazol, associação de benzeno mais imidazol (Figura 10). Nas estruturas do 7CN e WM03, um bioisóstero do núcleo imidazol é o tiofeno, e o heptano pode exercer funções semelhantes à do benzeno (ocupação da fenda, restrição conformacional e melhora da permeabilidade). Logo, é plausível assumir uma pequena, mas relevante relação entre as estruturas dos IBPs e os derivados 7CN e WM03. Além disso essa relação torna-se mais importante, quando se considera a possibilidade de realizar mais modificações estruturais nestes derivados 2-amino-tiofeno.

Figura 9 – Farmacóforo benzimidazol dos inibidores da bomba de prótons



Depois de comprovar a atividade gastroprotetora do composto WM03, avaliamos a segurança de seu uso, para garantir a viabilidade de uma provável utilização deste derivado na terapia da úlcera gástrica.

5.4 Avaliação da toxicidade aguda

A avaliação da toxicidade é realizada com o objetivo de determinar o potencial de novas substâncias e produtos causar danos à saúde humana, definindo uma classificação apropriada de acordo com o seu potencial de letalidade ou toxicidade como estabelecido pela legislação (VALADARES, 2006). Uma boa correlação tem sido consolidada em estudos toxicológicos entre roedores e humanos.

Segundo Valadares (2006), após uma série de revisões por parte dos órgãos responsáveis o teste de DL₅₀ foi banido em 2000 e as diretrizes 420, e 425 da OECD foram

definitivamente adotadas e recomendadas, servindo, a partir de então, como referências para testes toxicológicos de derivados químicos, pesticidas e produtos biotecnológicos.

Diante disto, foi administrada a dose de 1500 mg/kg de WM03, dose dez vezes maior que a dose com melhor desempenho nos testes farmacológicos (APOLINÁRIO, 2016). Além disso, o teste de toxicidade aguda deve priorizar a mesma via de administração que pretende ser usada em humanos, isto é, a via oral.

5.4.1 – Avaliação comportamental dos camundongos

A toxicidade aguda é definida como os efeitos indesejados que ocorrem imediatamente ou em um intervalo de tempo curto após uma administração única ou múltipla de tal substância dentro de 24 horas. O efeito indesejado (ou adverso) é qualquer efeito que produza alterações comportamentais, deficiências funcionais nos órgãos e/ou alterações bioquímicas (CHINEDU, AROME e AMEH, 2013)

Após a administração de 1500 mg/kg por via oral de WM03 ou solução salina, em seus respectivos grupos, os animais foram observados por um período de até 2 horas e durante 14 dias consecutivos para avaliar sinais de toxicidade. Não houve óbito, nem alterações fisiológicas ou comportamentais, conforme o protocolo da OECD-423 (2001), indicando baixa toxicidade das moléculas testadas.

5.4.2 – Consumo de água e ração e evolução ponderal

O monitoramento da ingestão de ração e água, bem como o ganho de peso em estudos toxicológicos com animais, podem ser indicadores do estado de saúde geral do animal. Alterações de diminuição ou elevação dos valores desses parâmetros são fortes indicativos de efeitos adversos da substância em estudo, seja por ação direta nos órgãos avaliados ou por atividade moduladora da droga em uma via importante para os mesmos.

O consumo de água, ração e a evolução ponderal dos animais dos grupos controle e WM03 são apresentados na tabela 4, onde é possível identificar que houve uma relevante redução no consumo de ração por parte dos animais do grupo teste, resultando numa diminuição da evolução ponderal destes animais.

As vias de estímulo e inibição da alimentação podem ser ativadas por sinais do intestino, pâncreas e tecido adiposo. Ainda, os peptídeos/hormônios *Glucagon-like-peptide-1* (GLP-1) e Peptídeo YY (YY) são importantes reguladores da saciedade (Morell e Fisman, 2017). Segundo, Heisler e Lam (2017) o hipotálamo é uma região essencial para controle de

fome e saciedade. Todas estas vias estão interligadas, e xenobióticos podem agir em apenas uma, ou várias delas, modulando a sensação de saciedade.

Tabela 4 – Consumos e evolução ponderal, dos animais submetidos ao teste de toxicidade, tratados pelo composto WM03 (1500 mg/kg), durante 14 dias

| | Salina | WM03 (1500 mg/kg) |
|-----------------------|----------------|-------------------|
| Consumo de ração (g) | 117.40 ± 15,99 | 76,85 ± 10,61*** |
| Consumo de água (mL) | 36.54 ± 5,91 | 32,69 ± 5,63 |
| Evolução ponderal (g) | 3.33 ± 0,52 | 2,00 ± 0,89* |

Os valores foram expressos como Média ± D.P.M. (n= 6 animais em cada grupo); *p<0,05 e ***p < 0,0001 comparado ao grupo controle.

Segundo Ribeiro & Santos (2013), os mais relevantes reguladores hormonais de fome, saciedade e dos níveis de adiposidade, são a leptina, grelina e a insulina, que atuam em circuitos cerebrais hipotalâmicos e do tronco cerebral, estimulando ou inibindo o apetite, de forma a manter um balanço energético adequado.

Apesar da significância, sobretudo, no consumo de ração, é racional inferir que o composto não alterou de maneira geral a saúde do animal. Logo, é possível evidenciar a baixa toxicidade do derivado, e uma mínima interferência no sistema nervoso autônomo e/ou central.

5.4.3 – Análise macroscópica e peso dos órgãos

O teste de toxicidade aguda fornece, ainda, informações preliminares sobre o modo de ação tóxica e possíveis órgãos alvos das substâncias. Segundo Saleem e colaboradores (2017) os resultados tóxicos das drogas nos órgãos vitais do corpo são expostos por sinais clínicos e sintomas que são características principais entre vários outros indicadores de toxicidade. Fígado, rim, coração e baço são os órgãos vitais do nosso corpo, que são a principal área alvo de qualquer substância tóxica metabolicamente.

Quando os animais foram eutanasiados ao final do estudo, não foram encontradas lesões no exame macroscópico de coração, rim, fígado e baço em comparação com o grupo controle, evidenciando novamente a baixa toxicidade do composto WM03 (Tabela 5).

Tabela 5 - Peso relativo dos órgãos de camundongos fêmeas tratadas com o WM03, na dose de 1500 mg/Kg via oral, após 14 dias

| | Salina | WM03 (1500mg/kg) |
|-------------|-----------------|------------------|
| Coração (g) | 0,1593 ± 0,0223 | 0,1530 ± 0,0167 |
| Rins (g) | 0.3489 ± 0,0263 | 0,3422 ± 0,0324 |
| Fígado (g) | 1.6930 ± 0,2060 | 1,4880 ± 0,1875 |
| Baço (g) | 0.1552 ± 0,0259 | 0,1229 ± 0,03950 |

Os valores foram expressos como Média ± D.P.M. (n= 6 animais em cada grupo); *p<0,05 e ***p < 0,0001 comparado ao grupo controle.

Portanto, os resultados encontrados sugerem que a DL₅₀ é superior a 1500 mg/kg de acordo com a diretriz da OECD, sendo o composto WM03 pertencente à categoria 5 do Sistema Global de Harmonização de Substâncias Químicas considerada como substância pouco tóxica.

6 CONCLUSÃO

Frente aos modelos empregados os derivados 7CN e WM03 apresentaram significativa atividade gastroprotetora, ao passo que os derivados 5CN e 6CN, não exibiram nenhuma inibição à formação de úlceras. O grupo químico substituinte que foi acrescentado ao 7CN, originando o WM03, não foi capaz de modificar a atividade farmacológica, permitindo-se concluir que estes derivados têm atividade semelhante.

Quando foi avaliada a toxicidade aguda de WM03, este derivado não produziu sinais de intoxicação e nem alterações fisiológicas, motoras ou comportamentais na dose administrada aos animais. Ou seja, possui baixa toxicidade aguda, sendo um ponto positivo, uma vez, que boa parte das vezes, substâncias sintéticas isoladas apresentam um elevado nível de toxicidade.

Por fim, este trabalho apresenta uma potencial fonte terapêutica para o combate a distúrbios gástricos, dada a sua relevante atividade gastroprotetora e sua baixa toxicidade. Não obstante a isto, são necessários diversos estudos com estes derivados, visando avaliar seus comportamentos frente a outros modelos, além de identificar os mecanismos de ação e analisar a viabilidade da incorporação dos fármacos em uma formulação, ainda, se necessário, melhorar as estruturas, por meio da química medicinal.

REFERÊNCIAS

- ABO-SALEM, H. M. et al. Synthesis, antifungal activity, and molecular docking study of some novel highly substituted 3-indolylthiophene derivatives. **Egyptian Pharmaceutical Journal**, v. 13, n. 2, p. 71, 2014.
- AMIRSHAHROKHI, K.; KHALILI, A. Methylsulfonylmethane is effective against gastric mucosal injury. **European Journal of Pharmacology**, v. 811, p. 240-248, 2017
- AMR, A. E. et al. Synthesis, antiarrhythmic and anticoagulant activities of novel thiazolo derivatives from methyl 2-(thiazol-2-ylcarbonyl) acetate. **European journal of medicinal chemistry**, v. 44, n. 2, p. 725-735, 2009.
- APOLINÁRIO, Nadjaele de Melo et al. Elucidação estrutural e avaliação do potencial biológico de novos derivados N-acilhidrazônicos. 2016.
- ARORA, M., et al. Synthesis, characterization and antimicrobial activity of some schiff bases of 2-amino-n-(p-acetamidophenyl carboxamido)-4, 5, 6, 7-tetramethylene thiophenes. **International Journal Pharmacy and Pharmaceutical Sciences** 2013, v. 5, n. 1, p. 315-319, 2013.
- BAIUBON, P., et al. Gastroprotective activity of the rhizome ethanol extract of *Zingiber simaoense* YY Qian in rats. **Journal of ethnopharmacology**, v. 194, p. 571-576, 2016.
- BARKA, Z. B., et al. Protective effects of edible *Rhus tripartita* (Ucria) stem extract against ethanol-induced gastric ulcer in rats. **Journal of Functional Foods**, v. 30, p. 260-269, 2017.
- BARREIRO, E. J.; FRAGA, C. A. M. Química Medicinal: As bases moleculares da ação dos fármacos. Porto Alegre: **Artmed**, 2001. 243 p.
- BARREIRO, Eliezer J. A química medicinal e o paradigma do composto-protótipo. **Revista Virtual de Química**, v. 1, n. 1, p. 26-34, 2009.
- BLANDIZZI, Corrado; SCARPIGNATO, Carmelo. Gastrointestinal drugs. In: **Side Effects of Drugs Annual**. Elsevier, 2014. p. 539-560.
- BOUKHARSA, Y., et al. Synthesis, anti-inflammatory evaluation in vivo and docking studies of some new 5-(benzo [b] furan-2-ylmethyl)-6-methyl-pyridazin-3 (2H)-one derivatives. **Journal of Molecular Structure**, 2017.

BRAGA, L. L. B. C.; ROCHA, G. A.; ROCHA, A. M. C.; QUEIROZ, D. M. M.; "Fundamentos da Fisiopatologia da Úlcera Péptica e do Câncer Gástrico", p. 731-750 . In: Sistema Digestório: **Integração Básico-Clínica**. São Paulo: Blucher, 2016.

BUJANDA, L., et al. Effect of resveratrol on alcohol-induced mortality and liver lesions in mice. **BMC gastroenterology**, v. 6, n. 1, p. 35, 2006.

CAMPOS, J. F. et al. Synthesis and in vitro anticancer activity of new 2-thioxo-oxazolidin-4-one derivatives. **Pharmacological Reports**, v. 69, n. 4, p. 633-641, 2017.

CARRETERO, C. Úlcera péptica. **Medicine-Programa de Formación Médica Continuada Acreditado**, v. 12, n. 3, p. 111-117, 2016.

CARVALHO, R. C., et al. New pentasubstituted pyrrole hybrid atorvastatin–quinoline derivatives with antiplasmodial activity. **Bioorganic & medicinal chemistry letters**, v. 26, n. 8, p. 1881-1884, 2016.

CHAKRABARTI, J. K., et al. 4-Piperazinyl-10H-thieno[2,3b-][1,5]benzodiazepines as potential neuroleptics. **Journal of Medicinal Chemistry**. vol. 23, n.8, p.878-884, 1980.

CHAKRABARTI, J. K.; HOTTEN, T. M.; TUPPER, D. E. 2-Methyl thienobenzodiazepine. US Patent n° 5,229,382; 20 jul 1993.

CHARITOS, G., et al. Synthesis and anticancer activity of novel 3, 6-disubstituted 1, 2, 4-triazolo-[3, 4-b]-1, 3, 4-thiadiazole derivatives. **Arabian Journal of Chemistry**, 2016.

CUI, P., et al. Design, synthesis and antimicrobial activities of thiouracil derivatives containing triazolo-thiadiazole as SecA inhibitors. **European journal of medicinal chemistry**, v. 127, p. 159-165, 2017.

CZOPEK, A., et al. Antinociceptive activity of novel amide derivatives of imidazolidine-2, 4-dione in a mouse model of acute pain. **Pharmacological Reports**, v. 68, n. 3, p. 529-535, 2016.

DI MARIO, F.; GONI, E. Gastric acid secretion: changes during a century. **Best Practice & Research Clinical Gastroenterology**, v. 28, n. 6, p. 953-965, 2014.

DUFFY, J. L., et al. Discovery and investigation of a novel class of thiophene-derived antagonists of the human glucagon receptor. **Bioorganic & medicinal chemistry letters**, v. 15, n. 5, p. 1401-1405, 2005.

FERREIRA, V. F.; PINTO, A. C. A fitoterapia no mundo atual. **Química Nova**, v. 33, n. 9, p. 1829-1829, 2010.

FIRDAUS, S. B., et al. Protective effect of antioxidant rich aqueous curry leaf (*Murraya koenigii*) extract against gastro-toxic effects of piroxicam in male Wistar rats. **Toxicology Reports**, v. 1, p. 987-1003, 2014.

FORNAI, M., et al. Effects of esomeprazole on healing of nonsteroidal anti-inflammatory drug (NSAID)-induced gastric ulcers in the presence of a continued NSAID treatment: Characterization of molecular mechanisms. **Pharmacological research**, v. 63, n. 1, p. 59-67, 2011.

FORTES, A. C., et al. Anxiolytic properties of new chemical entity, 5TIO1. **Neurochemical research**, v. 38, n. 4, p. 726-731, 2013.

GEWALD, K.; SCHINKE, E.; BOTTCHER, H. 2-Amino-Thiophene Aus Methylenaktiven Nitrilen, Carbonylverbindungen und Schwefel. **Chemische Berichte**, Vol. 99, p. 94-100, 1966.

GHOLAP, S. S. Pyrrole: An emerging scaffold for construction of valuable therapeutic agents. **European journal of medicinal chemistry**, v. 110, p. 13-31, 2016.

GOUDA, M. A. et al. Synthesis and antioxidant activity of novel series of naphthoquinone derivatives attached to benzothiophene moiety. **Medicinal Chemistry**, v. 3, n. 2, p. 2228-2232, 2013.

GUERRA, A. S., et al. Anti-inflammatory and antinociceptive activities of indole-imidazolidine derivatives. **International immunopharmacology**, v. 11, n. 11, p. 1816-1822, 2011.

HARIT, T. et al. Synthesis, characterization, antimicrobial activity and theoretical studies of new thiophene-based tripodal ligands. **Journal of Molecular Structure**, v. 1133, p. 74-79, 2017.

HUBER, R. et al. The continuing development of proton pump inhibitors with particular reference to pantoprazole. **Alimentary pharmacology & therapeutics**, v. 9, n. 4, p. 363-378, 1995.

HUI, Shi; FANGYU, Wang. Protective effects of bilobalide against ethanol-induced gastric ulcer in vivo/vitro. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 85, p. 592-600, 2017.

HUSAIN, A. et al. Synthesis, molecular properties, toxicity and biological evaluation of some new substituted imidazolidine derivatives in search of potent anti-inflammatory agents. **Saudi Pharmaceutical Journal**, v. 24, n. 1, p. 104-114, 2016.

JAGADISH, E. R. et al. Synthesis and in-vitro Anti-platelet aggregation activity of some New substituted Thiophenes. 2010. Tese de Doutorado. **Rajiv Gandhi University of Health Sciences**.

JAVADI, F.; TAYEBEE, R.. Preparation and characterization of ZnO/nanoclinoptilolite as a new nanocomposite and studying its catalytic performance in the synthesis of 2-aminothiophenes via Gewald reaction. **Microporous and Mesoporous Materials**, v. 231, p. 100-109, 2016.

KALAYCI, M. et al. Comparison of the therapeutic effects of sildenafil citrate, heparin and neuropeptides in a rat model of acetic acid-induced gastric ulcer. **Life Sciences**, 2017.

KANG, G., et al. Irisolidone attenuates ethanol-induced gastric injury in mice by inhibiting the infiltration of neutrophils. **Molecular nutrition & food research**, v. 61, n. 2, 2017.

KENNETH, R. M. Fármacos usados no tratamento de doenças gastrintestinais. In: KATZUNG, B. G. (Org.), 12^o edição. **Farmacologia básica e clínica**. Porto Alegre: AMGH, 2014. p. 1081-1114.

KAZMI, I., et al. Protective effect of olean-12-en-3 β -ol-28-oic acid 3 β -D-glucopyranoside in ethanol induced gastric ulcer by enhancing the prostaglandin E2 level. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 211, p. 394-399, 2018.

KERI, R. S., et al. An overview of benzo [b] thiophene-based medicinal chemistry. **European Journal of Medicinal Chemistry**, 2017.

KHAN, I., et al. Synthetic approaches, functionalization and therapeutic potential of quinazoline and quinazolinone skeletons: The advances continue. **European journal of medicinal chemistry**, v. 90, p. 124-169, 2015.

KHAN, K. M., et al. Synthesis and anti-inflammatory activity of some selected aminothiophene analogs. **Journal of enzyme inhibition and medicinal chemistry**, v. 21, n. 2, p. 139-143, 2006.

LAMATTINA, J. L., et al. Antiulcer agents. 4-Substituted 2-guanidinothiazoles: reversible, competitive, and selective inhibitors of gastric H⁺, K⁺-ATPase. **Journal of medicinal chemistry**, v. 33, n. 2, p. 543-552, 1990.

LANAS, A.; CHAN, F. K. L. Peptic ulcer disease. **The Lancet**, 2017.

LIMA, L. M.; BARREIRO, E. J. Bioisosterism: a useful strategy for molecular modification and drug design. **Current medicinal chemistry**, v. 12, n. 1, p. 23-49, 2005.

LI, W., et al. Anti-ulcerogenic effect of cavidine against ethanol-induced acute gastric ulcer in mice and possible underlying mechanism. **International immunopharmacology**, v. 38, p. 450-459, 2016.

LI, Y., et al. Ezrin/NF- κ B activation regulates epithelial-mesenchymal transition induced by EGF and promotes metastasis of colorectal cancer. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 92, p. 140-148, 2017.

LUNA, Isadora Silva. Otimização das condições reacionais da reação de Gewald baseadas em princípios da Química Verde visando a síntese de derivados 2-amino-tiofênicos. 2016.

MALFERTHEINER, P.; CHAN, F. K. L; MCCOLL, K. E.L. Peptic ulcer disease. **The Lancet**, v. 374, n. 9699, p. 1449-1461, 2009.

MALLADI, S. et al. Synthesis and antibacterial activity studies of 2, 4-di substituted furan derivatives. **Beni-Suef University Journal of Basic and Applied Sciences**, 2017.

MANJEGOWDA, S. B.; RAJAGOPAL, H. M.; DHARMESH, S. M. Polysaccharide of Black cumin (*Nigella sativa*) modulates molecular signaling cascade of gastric ulcer pathogenesis. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 101, p. 823-836, 2017.

MAZZEO, G. C. C. et al. Evaluation of anti-ulcerogenic activity in an Aqueous Extract obtained from *Bauhinia forficata* leaves. **Journal of Basic and Applied Pharmaceutical Sciences**, v. 36, n. 1, 2015.

MCCOLL, Kenneth EL; EL-OMAR, Emad. How does *H. pylori* infection cause gastric cancer? **The Keio journal of medicine**, v. 51, n. supplement2, p. 53-56, 2002.

MINOZZO, B. R. et al. Anti-ulcer mechanisms of polyphenols extract of *Euphorbia umbellata* (Pax) Bruyns (Euphorbiaceae). **Journal of ethnopharmacology**, v. 191, p. 29-40, 2016.

MISHRA, V. et al. Arbostristoside-A and 7-O-trans-cinnamoyl-6 β -hydroxyloganin isolated from *Nyctanthes arbostristis* possess anti-ulcerogenic and ulcer-healing properties. **Phytomedicine**, v. 20, n. 12, p. 1055-1063, 2013.

MONTANARI, C. A. Química Medicinal: Contribuição e Perspectiva no Desenvolvimento da Farmacoterapia. **Química Nova**, v. 18, p.56-64, 1995.

NAIDOO, V. Proton pump inhibitors. **SA Pharmaceutical Journal**, v. 83, n. 1, p. 9-12, 2016.

NAJM, Wadie I. Peptic ulcer disease. Primary Care: **Clinics in Office Practice**, v. 38, n. 3, p. 383-394, 2011.

NISHIDA, H. et al. Exploration of pyrrole derivatives to find an effective potassium-competitive acid blocker with moderately long-lasting suppression of gastric acid secretion. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 25, n. 13, p. 3447-3460, 2017.

OHNO, H. et al. Structure–activity relationship study of 4-(thiazol-5-yl) benzoic acid derivatives as potent protein kinase CK2 inhibitors. **Bioorganic & medicinal chemistry**, v. 24, n. 5, p. 1136-1141, 2016.

PENSABENE, Licia; DAVIDSON, Geoffrey. Proton Pump Inhibitors. In: **Esophageal and Gastric Disorders in Infancy and Childhood**. Springer Berlin Heidelberg, 2017. p. 995-1013.

PUSCAS, I. et al. Comparative study of the safety and efficacy of ebrotidine versus ranitidine and placebo in the prevention of piroxicam-induced gastroduodenal lesions. **Arzneimittel-Forschung**, v. 47, n. 4A, p. 568-572, 1997.

PUTEROVÁ, Z.; KRUTOŠÍKOVÁ, A.; VÉGH, D. Applications substituted 2-aminothiophenes in drug design. **Nova Biotechnologica**, [S.l.], v.9, n.2, p. 167-173, 2009.

RAMSAY, P. T.; CARR, A. Gastric acid and digestive physiology. **Surgical Clinics of North America**, v. 91, n. 5, p. 977-982, 2011.

RIBEIRO, A. R. S., et al. Gastroprotective effects of thymol on acute and chronic ulcers in rats: the role of prostaglandins, ATP-sensitive K⁺ channels, and gastric mucus secretion. **Chemico-biological interactions**, v. 244, p. 121-128, 2016.

ROBERT, André et al. Cytoprotection by prostaglandins in rats. **Gastroenterology**, v. 77, n. 3, p. 433-443, 1979.

RODRIGUES, K. A. et al. 2-Amino-thiophene derivatives present antileishmanial activity mediated by apoptosis and immunomodulation in vitro. **European journal of medicinal chemistry**, v. 106, p. 1-14, 2015.

ROEHRIG, S. et al. Descoberta do novo agente antitrombótico 5-cloro-N - ({{(5S) -2-oxo-3-[4- (3-oxomorfolin-4-il) fenil] -1, 3-oxazolidin-5-il} metil) tiofeno-2-carboxamida (BAY 59-7939): um inibidor oral do factor Xa direto. **Journal of medicine chemistry** , v. 48, n. 19, p. 5900-5908, 2005.

SAGUN, K. et al. Antioxidant potential, anti-inflammatory activity and gastroprotective mechanisms of *Mallotus roxburghianus* (Muell.) against ethanol-induced gastric ulcers in Wistar albino rats. **Journal of Functional Foods**, v. 36, p. 448-458, 2017.

SAMITIER, R. S. et al. Úlcera péptica: manejo general y extrahospitalario. **Medicine-Programa de Formación Médica Continuada Acreditado**, v. 10, n. 3, p. 133-140, 2008.

SAVARINO, V. et al. The appropriate use of proton pump inhibitors (PPIs): Need for a reappraisal. **European journal of internal medicine**, v. 37, p. 19-24, 2017.

SCOTESE, A. C. et al. Thiophene derivatives with antiseecretory activity. **U.S. Patent** n. 4,537,968, 27 ago. 1985.

SHEN, Y. et al. Mechanistic evaluation of gastroprotective effects of Kangfuxin on ethanol-induced gastric ulcer in mice. **Chemico-Biological Interactions**, 2017

SILVA, F. P. L. et al. Síntese de novos adutos de Morita-Baylis-Hillman: bioisosterismo clássico na otimização de leishmanicidas. 2009.

SILVA, L. M., et al. Ethanolic extract of roots from *Arctium lappa* L. accelerates the healing of acetic acid-induced gastric ulcer in rats: Involvement of the antioxidant system. **Food and chemical toxicology**, v. 51, p. 179-187, 2013.

SZELENYI, I.; THIEMER, K. Distention ulcer as a model for testing of drugs for ulcerogenic side effects. **Archives of Toxicology**, v. 41, n. 1, p. 99-105, 1978.

TAHA, M. et al. Synthesis and study of the α -amylase inhibitory potential of thiadiazole quinoline derivatives. **Bioorganic Chemistry**, v. 74, p. 179-186, 2017.

TANG, H. et al. Synthesis and evaluation of xanthine oxidase inhibitory and antioxidant activities of 2-arylbenzo [b] furan derivatives based on salvianolic acid C. **European journal of medicinal chemistry**, v. 124, p. 637-648, 2016.

TOYOFUKU, H. et al. 1, 3, 4-thiadiazole derivatives, process for the production thereof and use thereof as antiulcer agent. **U.S. Patent** n. 4,587,254, 6 maio 1986.

UHLIG, L. G.; SOUZA, A. M. Construção de uma sonda\textit {microslot} para Ressonância Magnética Nuclear Construction of a microslot probe for Nuclear Magnetic Resonance. **NOTAS TÉCNICAS**, v. 7, n. 1, 2017.

VAEZI, Michael F.; YANG, Yu-Xiao; HOWDEN, Colin W. Complications of proton pump inhibitor therapy. **Gastroenterology**, 2017.

YADLAPATI, Rena; KAHRILAS, Peter J. The “dangers” of chronic proton pump inhibitor use. **Journal of Allergy and Clinical Immunology**, 2017.

ZHANG, Y. et al. Protective effects of polysaccharide from *Dendrobium nobile* against ethanol-induced gastric damage in rats. **International Journal of Biological Macromolecules**, 2017.