

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
DEPARTAMENTO DE ANTIBIÓTICOS
PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA DE PRODUTOS BIOATIVOS**

**SÍNTESE, ELUCIDAÇÃO ESTRUTURAL E ATIVIDADE
BIOLÓGICA DE NOVOS DERIVADOS IMIDAZOLIDINÔNICOS**

Diana Jussara do Nascimento Malta

RECIFE - 2005

Diana Jussara do Nascimento Malta

**SÍNTESE, ELUCIDAÇÃO ESTRUTURAL E ATIVIDADE
BIOLÓGICA DE NOVOS DERIVADOS IMIDAZOLIDINÔNICOS**

DISSERTAÇÃO APRESENTADA AO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
BIOTECNOLOGIA DE PRODUTOS
BIOATIVOS PARA OBTENÇÃO DO GRAU DE
MESTRE EM BIOTECNLOGIA DE
PRODUTOS BIOATIVOS

Área de concentração: Química de Compostos
Bioativos

Orientadora: Profa. Dra. Maria do Carmo Alves
de Lima

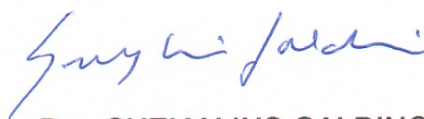
Co-orientadora: Dra. Teresinha Gonçalves da
Silva

RECIFE – 2005

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
DEPARTAMENTO DE ANTIBIÓTICOS

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO APRESENTADA POR *DIANA JUSSARA DO NASCIMENTO MALTA* AO **PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA DE PRODUTOS BIOATIVOS**, COMO PARTE DOS REQUISITOS NECESSÁRIOS PARA A OBTENÇÃO DO GRAU DE MESTRE EM BIOTECNOLOGIA.

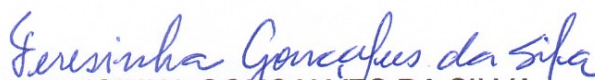
DEFENDIDA EM REGIME FECHADO EM 25 DE FEVEREIRO DE 2005
DIANTE DA BANCA EXAMINADORA:



Dra. SUELY LINS GALDINO
Departamento de Antibióticos - UFPE



Dra. MARIA DO CARMO ALVES DE LIMA
Departamento de Antibióticos - UFPE



Dra. TERESINHA GONÇALVES DA SILVA
Pesquisadora DCR/CNPq

Malta, Diana Jussara do Nascimento
Síntese, elucidação estrutural e atividade
biológica de novos derivados imidazolidinônicos /
Diana Jussara do Nascimento Malta . – Recife : O
Autor, 2005.
152 folhas : il., fig.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal
de Pernambuco. CCB. Biotecnologia de Produtos
Bioativos, 2005.

Inclui bibliografia.

1. Química medicinal – Síntese orgânica. 2.
Antiinflamatórios – Atividade antinociceptiva e
antiinflamatória – Testes de avaliação biológica. 3. 2-
Tioxo-imidazolidin-4-ona – Síntese e elucidação
estrutural - I. Título.

547.7
547.593

CDU (2.ed.)
CDD (22.ed.)

UFPE
BC2005-319

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
DEPARTAMENTO DE ANTIBIÓTICOS
PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA DE PRODUTOS BIOATIVOS

REITOR

Professor Amaro Henrique Pessoa Lins

VICE-REITOR

Professor Gilson Edmar Gonçalves e. Silva

PRÓ-REITOR PARA ASSUNTOS DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO

Professor Celso Pinto de Melo

DIRETOR DO CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

Professora Mirian Camargo Guarniere

CHEFE DO DEPARTAMENTO DE ANTIBIÓTICOS

Professora Silene Carneiro do Nascimento

VICE-CHEFE DO DEPARTAMENTO DE ANTIBIÓTICOS

Professora Norma Buarque de Gusmão

COORDENADORA DO CURSO DE MESTRADO

Professora Ana Maria Souto Maior

VICE-COORDENADOR DO CURSO DE MESTRADO

Professor Alexandre José da Silva Góes

A montanha Mágica

Sou meu próprio líder: ando em círculos
Me equilibro entre dias e noites
Minha vida toda espera algo de mim
Meio-sorriso, meia-lua, toda tarde

Minha papoula da Índia
Minha flor da Tailândia
És o que tenho de suave
E me fazes tão mal

Ficou logo o que tinha ido embora
Estou só um pouco cansado
Não sei se isto termina logo
Meu joelho dói
E não há nada a fazer agora

Para que servem os anjos?
A felicidade mora aqui comigo
Até segunda ordem
Um outro agora vive minha vida
Sei o que ele sonha, pensa e sente
Não é por incidência a minha indiferença
Sou uma cópia do que faço
O que temos é o que nos resta
E estamos querendo demais

Minha papoula da Índia
Minha flor da Tailândia
És o que tenho de suave
E me fazes tão mal

Existe um descontrole, que corrompe e cresce
Pode até ser, mais estou pronto
prá mais uma
O que é que desvirtua e ensina?
O que fizemos de nossas
próprias vidas

O mecanismo da amizade,
A matemática dos amantes
Agora só artesanato:
O resto são escombros

Mas, é claro que não vamos lhe
fazer mal
Nem é por isso que estamos aqui
Cada criança com seu próprio
canivete
Cada líder com seu próprio 38

Minha papoula da Índia
Minha flor da Tailândia

Chega, vou mudar a minha vida
Deixa o copo encher até a borda
Que eu quero um dia de sol
E um copo d'água

Renato Russo

Só há companheiros quando homens se unem na mesma escalada
para o mesmo pico, onde se encontram.

Antoine de Saint-Exupéry

DEDICATÓRIA

Deus, por toda força, coragem e perseverança e por ter me feito vencer os
grandes desafios que me foram dados.

Ao meu Pai, JOÃO RAMOS MALTA, por sua atenção e amor e a minha mãe
MARIA REGINA DO NASCIMENTO MALTA, por toda a sua paciência e amor e
também a minha querida irmã DANIELE DO NASCIMENTO MALTA.

AGRADECIMENTOS

A minha orientadora Prof^ª. Dr^ª. Maria do Carmo Alves de Lima (Nena), do Laboratório de Planejamento e Síntese de Fármacos/ Grupo de Pesquisa e Inovação Terapêutica – LPSF/GPIT, do Departamento de Antibióticos, da Universidade Federal de Pernambuco, pela amizade, compreensão e carinho;

A Dra. Teresinha Gonçalves da Silva, do LPSF/GPIT, pelo apoio e contribuição na realização deste trabalho;

Aos Professores Doutores Suely Lins Galdino e Ivan da Rocha Pitta, do LPSF/GPIT do Departamento de Antibióticos da Universidade Federal de Pernambuco, pela oportunidade de desenvolver este trabalho;

A Profa. Dra. Ivone Antônia de Souza, do Laboratório de Cancerologia e Farmacologia Experimentais, do Departamento de Antibióticos, da Universidade Federal de Pernambuco, pela realização dos testes de atividade biológica, além do apoio e contribuição;

A Maria Suely R. Cavalcanti, Secretária do Programa de Pós-graduação em Biotecnologia de Produtos Bioativos, pela disponibilidade;

A Ricardo Oliveira e Eliete Barros, da Central Analítica do Departamento de Química Fundamental, da Universidade Federal de Pernambuco pela realização dos espectros de infravermelho e ressonância magnética nuclear de hidrogênio;

Aos amigos e companheiros do LPSF/GPIT, Laboratório de Síntese e Planejamento de Fármacos pela força, contribuição e amizade;

Aos amigos Flávia De Toni Uchoa, Daniel Tarciso Martins Pereira, Ana Roberta Aguilar Pessoa Cañas, Maria Andréa de Souza do LPSF/GPIT pela paciência, disposição e pela amizade;

Aos “Coligados”, em especial Janaína Versiani dos Anjos e João Henrique da Costa da Silva;

Agradeço aos companheiros do mestrado, Everaldo dos Santos, Micheline Miranda da Silva, Manuela dos Santos Carvalho, Gerson Paiva e Ricardo Olímpio de Moura pela amizade tanto nos momentos bons como nos difíceis, estes, imprescindíveis para o nosso crescimento;

A Ricardo Olímpio de Moura, Maria Patrícia Albuquerque de Farias e Maria Gabriela Ramos Malta Patu, por serem os melhores amigos que conquistei durante a vida;

A toda minha família pelo apoio, amor, carinho e compreensão, em todos os momentos;

A CAPES, pelo apoio financeiro, que em muito contribuiu para o bom desenvolvimento deste trabalho.

SUMÁRIO

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS	
LISTA DE ESQUEMAS	
LISTA DE FIGURAS	
LISTA DE TABELAS	
RESUMO	
ABSTRACT	
INTRODUÇÃO	21
OBJETIVOS	25
2.1.Geral	25
2.2.Específicos	25
REVISÃO DA LITERATURA	26
3. FISIOLOGIA DA INFLAMAÇÃO	27
3.1. Eicosanóides: peça chave no processo inflamatório	28
3.2. As Cicloxigenases	29
3.3. As prostaglandinas	32
4. FÁRMACOS UTILIZADOS NO TRATAMENTO DOS PROCESSOS INFLAMATÓRIOS	34
4.1. Antiinflamatórios Esteróides	37
4.2. Antiinflamatórios Não-Esteróides	37
4.3. Antiinflamatórios Inibidores Seletivos da COX-2	44
4.3.1. Metanossulfanilidas	45
4.3.1. Ciclos Diarilsubstituídos	47
5. PLANEJAMENTO x DESENHO DE FÁRMACOS	48
5.1. Aminas Heterocíclicas	56

ESTUDO QUÍMICO	65
SÍNTESE DOS DERIVADOS IMIDAZOLIDÍNICOS	66
7. Material e Métodos	66
7.1. Reagentes	66
7.2. Equipamentos	67
7.3. Metodologia	68
7.3.1 Síntese dos Ésteres 2-Ciano-3-fenil-acrilatos de etila (IP)	69
7.3.2. Síntese dos Derivados 5-Benzilideno-2-tioxo-imidazolidin-4-onas (NN)	71
7.3.3. Método Geral de Síntese dos Derivados das séries 5-Benzilideno-3-(4-bromo-benzil) e 5-Benzilideno-3-(4-bromo-fenacil)-2-tioxo-imidazolidin-4-onas (NN)	73
8. RESULTADOS E DISCUSSÃO	75
8.1. 2-Ciano-3-fenil-acrilatos de etila (IP)	75
8.1.1. Análise Espectroscópica dos Derivados 5-Benzilideno-2-tioxo-imidazolidin-4-onas (NN)	78
8.2. Derivados 5-benzilideno-2-tioxo-imidazolidin-4-onas (NN)	87
8.2.1. Análise Espectroscópica dos derivados 5-benzilideno-2-tioxo-imidazolidin-4-onas (NN)	89
8.3. Derivados das Séries 5-Benzilideno-3-(4-bromo-benzil) e 5 benzilideno-3-(4-bromo-fenacil)-2-tioxo-imidazolidin-4-onas (NN)	98
8.3.1. Análise Espectroscópica das Séries 5-Benzilideno-3-(4-bromo-benzil) e 5 benzilideno-3-(4-bromo-fenacil)-2-tioxo-imidazolidin-4-onas (NN)	101
ESTUDO BIOLÓGICO	123
9. Avaliação da atividade biológica	124
9.1. Material	124
9.2. Metodologia	125

9.2.1. Toxicidade aguda	125
9.2.2. Atividade antiinflamatória	126
9.2.2.1. Edema de pata induzido por carragenina	126
9.2.2.2. Bolsão de ar	127
9.2.3.1. Indução do efeito nociceptivo por ácido acético	128
9.2.3.2. Indução do efeito nociceptivo por formalina	128
9.2.3.3. Indução do efeito nociceptivo por calor (chapa quente)	129
9.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	130
9.3.1. Toxicidade Aguda	130
9.3.2. Atividade Antiinflamatória	130
9.3.2.1. Edema de pata induzido por carragenina	130
9.3.2.2. Bolsão de ar	131
9.3.3. Atividade antinociceptiva	133
9.3.3.1. Indução do efeito nociceptivo por calor (chapa quente)	133
9.3.3.2. Indução do efeito nociceptivo por formalina	134
9.3.3.3. Indução do efeito nociceptivo por ácido acético	135
CONCLUSÃO	137
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	140

Siglas e Abreviaturas

AINES- Antiinflamatórios não-esteroidais

OMS- Organização Mundial de Saúde

WHO- World Health Organization

LPSF- Laboratório de Planejamento e Síntese de Fármacos

GPIT- Grupo de Pesquisa em Inovação Terapêutica

COX-1 – Cicloxigenase 1

COX-2 – Cicloxigenase 2

COX- 3 – Cicloxigenase 3

mRNA- RNA mensageiro

PG_S- Prostaglandinas

PGG₂- Prostaglandina G₂

PGHs – Prostaglandina endoperóxido sintetase

TXA₂- Tromboxano A₂

CADD- Computer drug design

CCD- Cromatografia em camada delgada

LISTA DE ESQUEMAS

Esquema 1: Ações farmacológicas dos AINES (RANG <i>et al.</i> , 2003)	36
Esquema 2: Representação das principais características estruturais dos coxibs (RODRIGUES <i>et al.</i> ;2002)	53
Esquema 3: Obtenção da imidazolidina-2,4-diona a partir de bromo-acetiluréia com amônia alcoólica (BAYER, 1975 <i>apud</i> ELDERFIELD, 1957).	58
Esquema 4: Obtenção dos compostos 3-amino-2-tioxo-imidazolidin-4-ona substituídos na posição 5(FLOCH, OREMUS e KOVAC, 1999).	58
Esquema 5: Obtenção da imidazolidina-2,4-diona a partir do éster etílico de glicina e cianato de potássio (HARRIES e WEISS, 1900 <i>apud</i> ELDERFIELD 1957).	59
Esquema 6: Obtenção da imidazolidina-2,4-diona a partir de glicina (KOCHKANYAN e ISRAELIAN, 1978).	59
Esquema 7: Reação de condensação da imidazolidina-2,4-diona com benzaldeídos substituídos (HOFFMANN <i>et al.</i> ,1911).	60
Esquema 8: Obtenção da 3-benzil-imidazolidina-2,4-diona (LO <i>et al.</i> , 1953, BRADSHAW, BROWN e SINCLAIR, 1956, FINKBEINER, 1965).	61
Esquema 9: Obtenção da 1-metil-3-fenil-imidazolidina-2,4-diona (FINKBEINER, 1965; CEGAN e VECERA, 1984).	61
Esquema 10: Derivados da 5-benzilideno-1,3-difenil-imidazolidina-2,4-diona (AGAWA, BABA e OSHIRO, 1975).	62
Esquema 11: Obtenção dos ésteres cianocinâmicos (POPP, 1960).	62
Esquema 12: Via de síntese da 2-tioxo-imidazolidin-4-ona (BRANDÃO <i>et al.</i> , 2004)	63
Esquema 13: Via sintética em fase sólida utilizada para obtenção da 2-tioxo-imidazolidin-4-ona (BHALAY <i>et al.</i> , 1998).	64

Esquema 14: Diagrama de síntese para obtenção de novos derivados imidazolidínicos	68
Esquema 15: Mecanismo reacional dos ésteres 2-ciano-3-fenil-acrilatos de etila (COPE et al.;1941)	76
Esquema 16: Mecanismo reacional dos derivados 5-benzilideno-2-tioxo-imidazolidin-4-ona (BRANDÃO et al.,2004)	87
Esquema 17: Mecanismo reacional dos derivados 5-Benzilideno-2-tioxo-imidazolidin-4-ona substituídos (BRANDÃO et al., 2004).	98
Esquema 18: Principais fragmentações do 3-(4-bromo-fenacil-5-(4-dimetilamina-benzilideno)-2-tioxo-imidazolidin-4-ona (NN-165)	113
Esquema 19: Principais fragmentações do 3-(4-bromo-fenacil)-5-(2-bromo-benzilideno)-2-tioxo-imidazolidin-4-ona (NN-166)	115
Esquema 20: Principais fragmentações do 3-(4-bromo-benzil)-5-(4-fenil-benzilideno)-2-tioxo-imidazolidin-4-ona (NN-210)	117
Esquema 21: Principais Fragmentações da 3-(4-bromo-benzil)-5-(4-dimetilaminal-benzilideno)-2-tioxo-imidazolidin-4-ona (NN-211)	119
Esquema 22: Principais fragmentações da 3-(4-bromo-fenacil)-5-(4-fenil-benzilideno)-2-tioxo-imidazolidin-4-ona (NN-212)	121

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Cascata do ácido araquidônico e local onde os antiinflamatórios esteroidais e não-esteroidais atuam e inibem a COX-1 e COX-2 (http://www.medens.com/encuentro/temas/aines_bovill_1.htm) Acesso em: 20/10/2004.	29
Figura 2: Seqüência de aminoácidos no canal da COX-1(www.medens.com/encuentro/temas/aines_bovill_1.htm) Acesso em: 20/10/2004	32
Figura 3: Salicilina	34
Figura 4: Agentes antiinflamatórios não-esteróidais	35
Figura 5: Fármaco antiinflamatórias esteroidais	37
Figura 6: Mecanismo de ação da aspirina (FRAGA, 2001)	39
Figura 7: Mecanismo de ação da flurbiprofeno (FRAGA, 2001)	40
Figura 8: Antiinflamatorios não-esteroidais	40
Figura 9: Risco de complicações gastrointestinais com vários AINES (Henry e Lim,1996 <i>apud</i> RANG <i>et al.</i> , 2004)	42
Figura 10: Exemplos de Coxibs	45
Figura 11: Estrutura geral das metanosulfanilidas	46
Figura 12: Etiltiazóis	46
Figura 13: Indoxol e fenilbutazona	47
Figura 14: Origem dos fármacos utilizados na terapêutica (MENAGUETTI, FRAGA e BARREIRO, 2001)	50
Figura 15: Percentual de fármacos contendo enxofre, oxigênio e	50

nitrogênio (MENAGUETTI, FRAGA e BARREIRO, 2001)	
Figura 16: Exemplos de heterocíclicos utilizados	51
Figura 17: Heterocíclicos pentagonais potencialmente bioativos	51
Figura 18: Exemplos de heterocíclicos pentagonais bioativos	52
Figura 19: Exemplos de heterocíclicos pentagonais contendo dois heteroátomos	52
Figura 20: Imidazolidina-2,4-diona	56
Figura 21: 2-Tioxo-imidazolidin-4-ona	57
Figura 22: Produtos de condensação de uréia, tiouréia e guanidina (RUHEMANN <i>et al.</i> , 1899)	60
Figura 23: Ésteres 2-ciano-3-fenil-acrilatos de etila	69
Figura 24: Derivados 5-benzilideno-2-tioxo-imidazolidin-4-ona	71
Figura 25: Estrutura geral dos derivados imidazolidínicos: (a) 5-benzilideno-3-(4-bromo-fenil)-2-tioxo-imidazolidin-4-ona (b) 5-benzilideno-3-(4-bromo-benzil)-2-tioxo-imidazolidin-4-ona.	73
Figura 26: Espectro de ressonância magnética nuclear de hidrogênio do 2-ciano-(2-bromo-fenil)-acrilato de etila (IP-08)	79
Figura 27: Espectro de infravermelho do 2-ciano-(2-bromo-fenil)-acrilato de etila (IP-08)	80
Figura 28: Espectro de ressonância magnética nuclear de hidrogênio do 2-ciano-(2,4-dimetoxi-fenil)-acrilato de etila (IP-16)	82
Figura 29: Espectro no infravermelho do 2-ciano-(2,4-dimetoxi-fenil)-acrilato de etila (IP-16)	83
Figura 30: Espectro de ressonância magnética nuclear de hidrogênio do 2-ciano-(2-bromo-fenil)-acrilato de etila (IP-48)	85
Figura 31: Espectro no infravermelho do 2-ciano-(2-bromo-fenil)-acrilato de etila (IP-48)	86
Figura 32: Espectro de ressonância magnética nuclear de hidrogênio do 5-(2-bromo-benzilideno)-2-tioxo-imidazolidin-4-ona (NN-04)	32

Figura 33: Espectro no infravermelho do 5-(2-bromo-benzilideno)-2-tioxo-imidazolidin-4-ona (NN-04)	33
Figura 34: Espectro de ressonância magnética nuclear de hidrogênio do 5-(3-dimetilamina-benzilideno)-2-tioxo-imidazolidin-4-ona (NN-12)	93
Figura 35: Espectro no infravermelho do 5-(3-dimetilamina-benzilideno)-2-tioxo-imidazolidin-4-ona (NN-12)	94
Figura 36: Espectro de ressonância magnética nuclear de hidrogênio do 5-(3-fenil-benzilideno)-2-tioxo-imidazolidin-4-ona (NN-213)	96
Figura 37: Espectro no infravermelho do 5-(3-fenil-benzilideno)-2-tioxo-imidazolidin-4-ona (NN-213)	97
Figura 39: Espectro no infravermelho do 5-(3-fenil-benzilideno)-2-tioxo-imidazolidin-4-ona (NN-165)	41
Figura 41: Espectro no infravermelho 3-(4-bromo-fenacil)-5-(2-bromo-benzilideno)-2-tioxo-imidazolidin-4-ona (NN-166)	104
Figura 43: Espectro de ressonância magnética nuclear de hidrogênio do 3-(4-bromo-benzil)-5-(4-fenil-benzilideno)-2-tioxo-imidazolidin-4-ona (NN-210)	106
Figura 44: Espectro no infravermelho no 3-(4-bromo-benzil)-5-(4-fenil-benzilideno)-2-tioxo-imidazolidin-4-ona (NN-210)	107
Figura 45: Espectro de ressonância magnética nuclear de hidrogênio do 3-(4-bromo-benzil)-5-(4-dimetilamina-benzilideno)-2-tioxo-imidazolidin-4-ona (NN-211)	109
Figura 46: Espectro de ressonância magnética nuclear de hidrogênio 3-(4-bromo-fenacil)-5-(4-fenil-benzilideno)-2-tioxo-imidazolidin-4-ona (NN-212)	111
Figura 47: Espectro de massa do 3-(4-bromo-fenacil)-5-(4-dimetilamina-benzilideno)-2-tioxo-imidazolidin-4-ona (NN-165)	114
Figura 47: Espectro de massas do 3-(4-bromo-fenacil)-5-(2-bromo-benzilideno)-2-tioxo-imidazolidin-4-ona (NN-166)	116
Figura 48: Espectro de massas do 3-(4-bromo-benzil)-5-(4-fenil-benzilideno)-2-tioxo-imidazolidin-4-ona (NN-210)	118

Figura 49: Espectro de massas da 3-(4-bromo-benzil)-5-(4-dimetilaminal-benzilideno)-2-tioxo-imidazolidin-4-ona (NN-211)	120
Figura 50: Espectro de massas da 3-(4-bromo-fenacil)-5-(4-fenil-benzilideno)-2-tioxo-imidazolidin-4-ona (NN-212)	122
Figura 52 – Esquema ilustrativo de indução do bolsão inflamatório	127
Figura 52: Média do volume do edema medido em mL. Controle considerado igual a 100 % do edema. Os resultados foram analisados segundo a análise de variância (ANOVA) One-way	131
Figura 53 – Efeito antinociceptivo do composto NN-165 no tempo 120 minutos nas doses de 2,5 mg/Kg, 5 mg/Kg e 10mg/Kg. Pecentual do efeito antinociceptivo foi calculada de acordo com a equação: %MPE=[(teste-contrôle)/(30-contrôle)X100]. As diferenças estatísticas significativas foram determinadas pelo ANOVA $p \leq 0,06$	134
Figura 54: Resposta observada com a formalina com o derivado NN-165 na dose de 10mg/Kg	135
Figura 55: Média do número de contorções no grupo tratado com o derivado NN-165 em relação ao grupo controle. Pecentual da média do número de contorções foi calculada de acordo com a equação: %[(média do controle – média do tratado)/média do controle] x 100. As diferenças estatísticas significativas foram determinadas pelo ANOVA $p \leq 0,06$	136

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Classificação química dos agentes antiinflamatórios não-esteróidais (AINES) (HARDMAN <i>et al.</i> , 2003)	36
Tabela 2: Quantidades utilizadas na síntese dos ésteres 2-ciano-3-fenil-acrilatos de etila	70
Tabela 3: Quantidades utilizadas na síntese das 5-benzilideno-2-tioxo-imidazolidin-4-onas	72
Tabela 4: Quantidades utilizadas para a síntese dos derivados imidazolidínicos das séries 5-Benzilideno-3-(4-bromo-benzil) e 5 benzilideno-3-(4-bromo-fenacil)-2-tioxo-imidazolidin-4-onas	74
Tabela 5: quantidades utilizadas para a síntese dos derivados imidazolidínicos das séries 5-Benzilideno-3-(4-bromo-benzil) e 5 benzilideno-3-(4-bromo-fenacil)-2-tioxo-imidazolidin-4-onas	75
Tabela 6: Características físico-químicas dos ésteres 2-ciano-3-fenil-acrilatos de etila	77
Tabela 7: Características físico-químicas dos derivados 5-benzilideno-2-tioxo-imidazolidin-4-onas	88
Tabela 8: Características físico-químicas dos derivados imidazolidínicos das séries 5-Benzilideno-3-(4-bromo-benzil) e 5 benzilideno-3-(4-bromo-fenacil)-2-tioxo-imidazolidin-4-onas	99
Tabela 9: Características físico-químicas dos derivados imidazolidínicos das séries 5-Benzilideno-3-(4-bromo-benzil) e 5 benzilideno-3-(4-bromo-fenacil)-2-tioxo-imidazolidin-4-onas	100
Tabela 10: Número de células (média $\pm$ erro padrão) encontradas no bolsão inflamatório quatro horas após a indução da inflamação	132
Tabela 11 Tempo de Latência ao estímulo térmico (média $\pm$ erro padrão) nos tempos 0, 60, 120 e 240 minutos	133

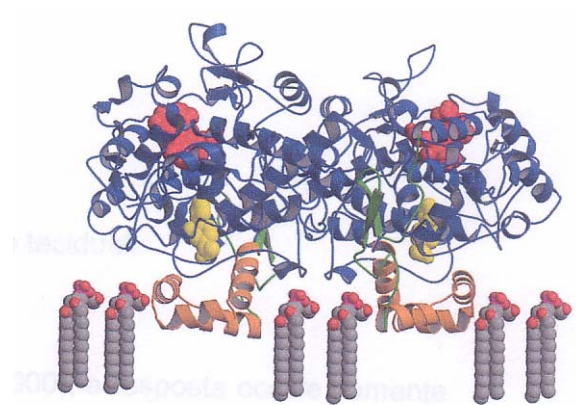
RESUMO

A busca de novas terapias para o tratamento do processo inflamatório e da dor continua um desafio. Foram obtidos cinco novos derivados bioisósteros das séries 3-(4-bromo-benzil)-5-benzilideno-2-tioxo-imidazolidin-4-ona e 5-benzilideno-3-[2-oxo-2-(4-bromo-fenil)-etil]-2-tioxo-imidazolidin-4-ona. A síntese foi realizada a partir da 2-tioxo-imidazolidin-4-ona, através de reações de adição do tipo Michael na posição cinco do anel imidazolidínico com os ésteres 2-ciano-fenil-acrilatos de etila os quais, posteriormente foram submetidos à reação de substituição na posição três do anel imidazolidínico, utilizando cloretos ou brometos de 4-bromo-benzila ou 4-bromo-fenacila substituídos. As estruturas químicas de todos os compostos, inclusive intermediários, foram comprovadas por espectroscopia de infravermelho, de ressonância magnética nuclear de hidrogênio, e espectrometria de massas. Foram realizados testes para a avaliação da atividade antiinflamatória empregando os ensaios de edema de pata induzido por carragenina e bolsão de ar, além da atividade antinociceptiva realizada utilizando teste do ácido acético, formalina e placa quente. Os resultados obtidos sugerem que as moléculas testadas apresentam significativa atividade antiinflamatória e antinocepiativa.

ABSTRACT

Were obtained five new bioisosteres of 3-(4-bromo-benzyl)-5-benzylidene-2-thioxo-imidazolin-4-one and 5-benzylidene-3-[2-oxo-2-(4-bromo-phenyl)-ethyl]-2-thioxo-imidazolin-4-one series. The synthesis was done starting with 2-thioxo-imidazolin-4-one using Michael addition type reaction at 5-position of imidazolidinic ring with ethyl 2-cyano-phenyl-acrylates, then, they were submitted to substitution reaction at 3-position using substituted 4-bromo-benzyl or 4-bromo-phenacyl halide. The chemical structures of all compounds, including the intermediates, were confirmed by infrared, nuclear magnetic resonance and mass spectral data. The antiinflammatory activity was evaluated by carragenan induced paw edema air pouch model. The antinociceptive activity was done using writhing, formalin and hot plate test. The results suggest that tested molecules shown significant antiinflammatory and antinociceptive activity.

Introdução



INTRODUÇÃO

A busca de novas substâncias terapêuticas mais eficazes com baixa toxicidade e maior especificidade levam pesquisadores de todo mundo a intensificar as pesquisas para a descoberta de novos fármacos. O desenvolvimento na área da síntese orgânica proporcionou o aumento de substâncias sintéticas que são utilizadas na terapêutica no combate, prevenção e controle de doenças, infecciosas, e crônico-degenerativas, prevenindo assim seu agravamento, e proporcionando o aumento do tempo da sobrevida em caso de doenças terminais.

Neste contexto podemos ressaltar a síntese de novos fármacos como um importante capítulo da química orgânica, uma vez que permite a construção de moléculas em seus diversos níveis de complexidade, como também provedores da saúde contribuindo diretamente com a melhoria da qualidade e o aumento da expectativa de vida da população.

Um exemplo marcante da importância na criação de novos fármacos foi a descoberta da aspirina, a partir da salicina um glicosídeo natural da *Salix sp.*, Este glicosídeo foi o protótipo natural para a descoberta do ácido acetilsalicílico (AAS), empregado até os dias atuais como analgésico e antiinflamatório.

Os antiinflamatórios são fármacos utilizados no tratamento e alívio dos sintomas das doenças inflamatórias, tais como artrite reumatóide, febre reumática, osteoartrite, artrite psoriática, lupo eritematoso, dentre outras.

A inflamação é a resposta imediata do organismo contra um estímulo seja ele de ordem física, química ou biológica. O reumatismo compreende mais de 150 doenças e síndromes as quais são geralmente progressivas e associadas com a dor. De acordo com dados obtidos pela Organização Mundial de Saúde (OMS), estima-se que no Brasil existam mais de 15 milhões de pessoas acometidas por doenças reumáticas. Destaca-se neste panorama, a artrite reumatoide, uma doença crônica sistêmica que afeta as juntas, tendões, músculos e tecidos fibrosos. Geralmente ocorre nos anos mais produtivos da juventude, entre 20 e 40 anos. A prevalência varia entre 0,3 a 1 % , sendo mais freqüente entre as mulheres e principalmente nos países desenvolvidos (WHO, 2004).

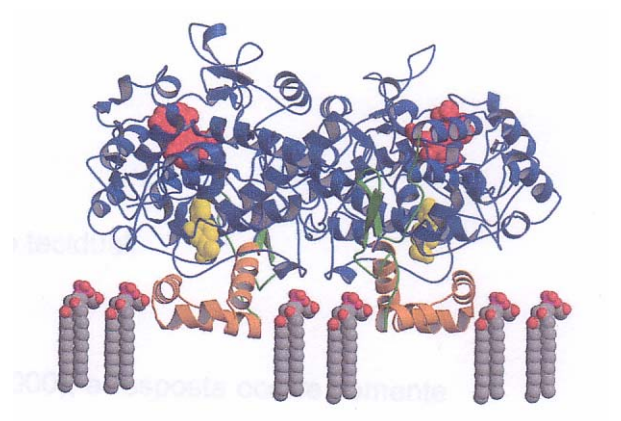
Os dados encontrados na literatura relatando os efeitos adversos causados com o uso contínuo de antiinflamatórios não-esteroidais, além do mal causado a população pelas doenças inflamatórias crônico-degenerativas na fase mais produtiva do homem, justificam a importância na busca de novos fármacos antiinflamatórios.

Neste trabalho com base na Química medicinal para introdução de novos fármacos de prosperidade antiinflamatória, utilizando-se o planejamento racional idealizados e sintetizados novos derivados das séries 5-benzilideno-3-

(4-bromo-benzil)- e 5-benzilideno-3-(4-bromo-fenacil)-2-tioxo-imidazolidin-4-onas (**NN**).

O presente trabalho consiste em uma revisão da literatura, apresentados os aspectos fisiopatológicos da inflamação, os fármacos utilizados no tratamento das doenças inflamatórias, seus efeitos adversos e mecanismo de ação. Também será abordado a prosperidade de amins heterociclicas, assim como as abordagens utilizadas para o desenvolvimento de novos fármacos. Uma parte química que consiste na metodologia aplicada para obtenção dos derivados, suas características físico-químicas e elucidção estrutural. Por fim, os ensaios biológicos que permitiram a avaliação das atividades antiinflamatória e antinociceptiva, seguida das conclusões.

Objetivos



OBJETIVOS

2.1.Geral

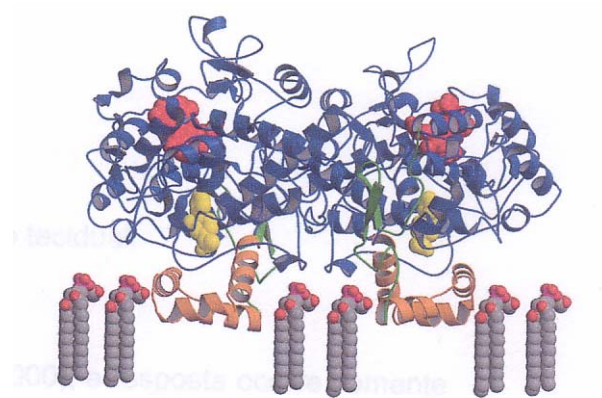
Com a finalidade de contribuir na pesquisa de novos fármacos antiinflamatórios e antinociceptivos, objetivou-se a preparação, comprovação estrutural e avaliação da atividade biológica de novos derivados imidazolidínicos.

2.2.Específicos

Sintetizar e determinar as características físico-químicas dos compostos sintetizados através de técnicas espectroscópicas no infravermelho, ressonância magnética nuclear de hidrogênio e espectrometria de massa;

Avaliar a atividade antiinflamatória e antinociceptiva da 3-(4-bromo-fenacil)-5-(4-dimetilamino-benzilideno)-2-tioxo-imidazolidin-4-ona **(NN-165)**.

Revisão da Literatura



REVISÃO DA LITERATURA

3. FISILOGIA DA INFLAMAÇÃO

Define-se inflamação como uma resposta normal do organismo a lesões teciduais. O processo inflamatório é complexo e formado por uma rede intrincada de diferentes mediadores que, uma vez desencadeada pelo agente agressor que podem ser infecciosos, alérgicos, traumáticos ou auto-imune, a resposta inflamatória será sempre repetitiva e composta por cinco etapas principais relacionadas abaixo a seguir (HARDMAN *et al.*, 2001; NATHAN, 2002):

- ✚ Ativação enzimática;
- ✚ Liberação de mediadores;
- ✚ Extravasamento de fluido com formação de edema;
- ✚ Migração celular;
- ✚ Lesões teciduais, seguidas de reparação tecidual.

Segundo Louzada e colaboradores (2000), a resposta inflamatória ocorre somente em tecidos vascularizados, sendo essencial para a proteção do organismo contra agentes patogênicos e reparar os tecidos contra lesões de natureza física ou química. O reparo de tecidos lesados é parte integrante da inflamação, após a eliminação do fator agressivo.

A resposta inicial à lesão tecidual é denominada inflamação aguda ou reação inflamatória aguda. Os sinais da inflamação aguda foram descritos há aproximadamente 2000 anos, por Celsus: rubor (vermelhidão), dor, calor

(hipertermia), tumor (edema). O rubor e a hipertermia da inflamação aguda são resultados da dilatação dos vasos e aumento do fluxo sanguíneo na região inflamada, o edema é provocado pelo acúmulo de exsudato. A dor resulta de uma combinação de fatores incluindo a pressão nas terminações pelo edema e de um efeito direto de determinados fatores químicos liberados durante a resposta inflamatória. A perda da função, total ou parcial, na área inflamada, resulta em edema e dor marcantes (HARDMAN *et al.*, 2001, STEVENS e LOWE, 1998, NATAHAN, 2002).

A inflamação aguda pode evoluir para formas crônicas, como por exemplo, aquelas associadas com infecções por microrganismos, tais como o *Mycobacterium tuberculosis*, algumas viroses, agentes de baixo grau de toxicidade, como sílica e reações auto-imunes. A inflamação denominada crônica ocorre quando o estímulo agressor persiste, com destruição contínua do tecidos e tentativas de cicatrização por reparo fibroso além de respostas auto-imunes concomitante (STEVENS e LOWE, 1998; LOUZADA *et al.*, 2000).

3.1. Eicosanóides: peça chave no processo inflamatório

Participam do processo inflamatório substâncias chamadas de autacóides, os quais são responsáveis pela série de acontecimentos desencadeados após a inflamação. Os autacóides correspondem a um grupo de substâncias heterogêneas sintetizadas pelo próprio organismo, que atuam como mediadores inflamatórios. Entre eles temos os eicosanóides, citocinas,

cininas, fator de ativação plaquetária, óxido nítrico, histamina, serotonina e angiotensina (SILVA, 2002).

Os eicosanóides são ácidos graxos contendo vinte átomos de carbono e formado a partir do ácido araquidônico e de um ácido graxo derivado de fosfolípídios de membrana. O ácido araquidônico é metabolizado, sendo transformado em eicoisanóides por dois grupos de enzimas, as cicloxigenases que produzem as prostaglandinas e o tromboxano, e as lipoxigenases que catalisam o leucotrieno. Os eicosanóides são peça chave no processo inflamatório (Figura 1) (CRONSTEIN, 2002).

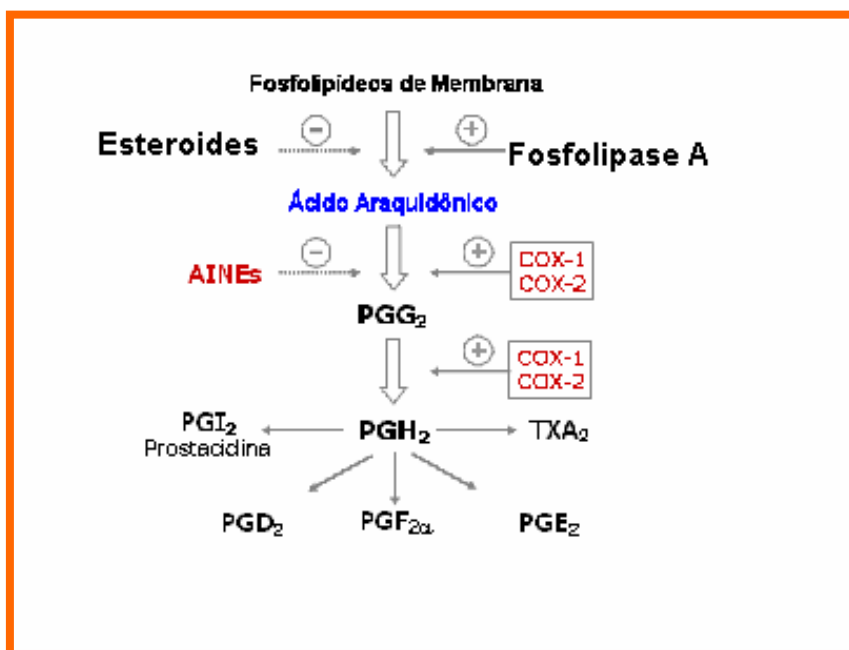


Figura 1: Cascata do ácido araquidônico e local onde os antiinflamatórios esteroidais e não-esteroidais atuam e inibem a COX-1 e COX-2

(http://www.medens.com/encuentro/temas/aines_bovill_1.htm) Acesso em: 20/10/2004.

3.2. As Cicloxigenases

Existem pelo menos três tipos de enzimas cicloxigenase: A COX-1 e COX-2, e a COX-3 isoforma recentemente descrita.

A COX-1 enzima constitutiva é expressa na maioria dos tecidos, incluindo as plaquetas circulantes, e desempenha um papel de manutenção no corpo estando envolvida na homeostasia tecidual. A COX-2 é denominada indutiva, aparece em quantidades baixas sob condições basais (RANG *et al.*, 2004; VANE e BOTTING, 1995 *apud* SANTORO, 2003).

A COX-1 participa de uma função fisiológica que se inicia pela imediata produção de prostaciclina, que ao ser liberada pelo endotélio apresenta ação antitrombogênica e quando liberada pela mucosa gástrica apresenta ação citoprotetora. A segunda isoforma, a COX-2, é induzida pelos estímulos inflamatórios e pelas citocinas em células migratórias. Desta forma, é conveniente sugerir que as ações farmacológicas das drogas antiinflamatórias não-esteroidais (AINEs) ocorrem devido à inibição da COX-2, considerando que os efeitos colaterais não desejados, como irritação da mucosa gástrica, ocorrem devido a inibição de COX-1.

A identificação de inibidores seletivos de COX-2 produziu e continua a produzir avanços inestimáveis a terapêutica antiinflamatória (WILLOUGHBY, MOORE e COLVILLE-NASH, 2000; PALASKA *et al.*, 2002).

Posteriormente foi descrita a terceira isoforma, a COX-3, que nos seres humanos, o mRNA é expresso em maior abundância no córtex cerebral e no coração. É seletivamente inibida por agentes analgésicos e antipiréticos, como

o acetaminofeno, e inibida por alguns outros AINES (CHANDRASEKHARAN *et al.*, 2002).

Tanto a COX-1 quanto a COX-2 têm em comum de 60 a 80 % de sua seqüência de aminoácidos. Os AINES bloqueiam ambas isoformas na metade do canal hidrofóbico através de ligações de hidrogênio com a arginina polar na posição 120. Grande parte dos AINES atuam de modo reversível, com exceção da aspirina que se liga a serina na posição 530 e à acetila, causando inativação irreversível das enzimas (HAWKEY, 1999, BOVILL, 2002; PEREZ *et al.*, 2002).

Pesquisadores afirmam, ainda, que a diferença crucial entre as duas enzimas reside na posição 523, onde pode se encontrar isoleucina ou valina. A COX-1 (Figura 2) apresenta a isoleucina, enquanto a COX-2 apresenta a valina, que é de tamanho menor e possui um único grupo metil. A valina produz uma lacuna que permite o acesso a uma bolsa lateral na cadeia protéica que fornece um sitio de ligação não existente na estrutura da COX-1 (HAWKEY, 1999; HELFENSTEIN JR, 2001). Já com relação a COX-3, Chandrasekharan e colaboradores (2002) afirmam com base em estudos mais recentes que se trata de uma variante da COX-1.

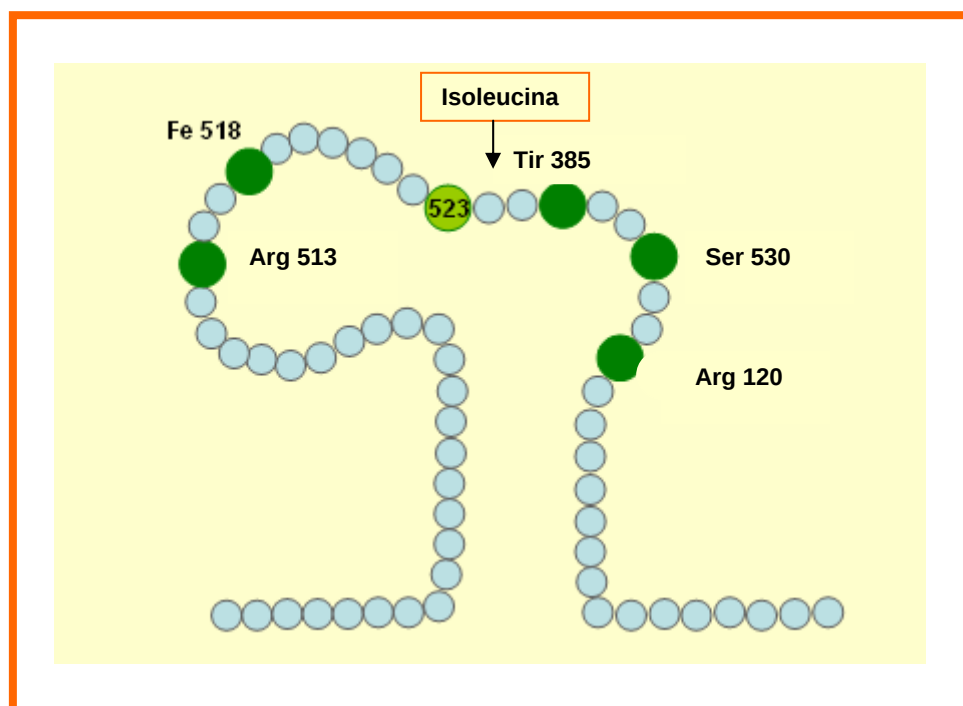


Figura 2: Seqüência de aminoácidos no canal da COX-1(www.medens.com/encuentro/temas/aines_bovill_1.htm) Acesso em: 20/10/2004

3.3. As prostaglandinas

As prostaglandinas têm um papel importante em numerosos processos biológicos, incluindo desenvolvimento renal, reprodução, metabolismo ósseo, inflamação, manutenção da integridade gastrintestinal, angiogênese, modulação da resposta imune, apoptose e mitogênese. Ao contrário de alguns hormônios, como por exemplo, a insulina que é liberada em um local específico, mas tem efeitos sistêmicos em órgão distantes, as prostaglandinas são sintetizadas em vários tipos de tecidos e servem como mediadores locais autócrinos ou parácrinos mudando o sinal de acordo com a necessidade imediata do ambiente (DUBOIS, 1998; STACK e DUBOIS, 2001).

Entre as características e funções das prostaglandinas têm-se: (INSEL, 1997; LOUZADA JR *et al.*, 2000, TURINI e DUBOIS, 2002).

- ✚ Nos rins dos mamíferos as prostaglandinas servem como um modulador fisiológico importante do tônus muscular e na homeostase eletrolítica;
- ✚ Na reprodução apresenta um importante papel na reprodução incluindo ovulação e indução do trabalho de parto;
- ✚ As prostaglandinas se encontram acumuladas no líquido amniótico e são responsáveis pela contração do miométrio uterino;
- ✚ Nos ossos participam do metabolismo no crescimento ósseo, o colágeno sintetizado pelos osteoblastos pode ter sua produção tanto inibida quanto estimulada pelas prostaglandinas;
- ✚ No sistema cardiovascular provocam vasodilatação das arteríolas e relaxa os esfíncteres pré-capilares aumentando o fluxo sanguíneo;
- ✚ Aumento de débito cardíaco e conseqüentemente a pressão arterial é reduzida pela ação das prostaglandinas, possui ação vasoconstrictora de artérias e veias pulmonares. Atuam também reduzindo a agregação plaquetária;
- ✚ No sistema nervoso atua como termo-regulador, encontra-se no hipotálamo onde provoca a alteração da temperatura corporal e induz a febre;
- ✚ No trato gastrointestinal diminuem a secreção de ácido gástrico e pepsina, assim protegendo a mucosa gástrica;
- ✚ No intestino, ocorre o aumento da secreção de muco e enzimas pancreáticas;

✚ No sistema endócrino, podem atuar liberando o hormônio adrenocorticotrófico, hormônio do crescimento, prolactina, e gonadotropinas pela hipófise, possuem também efeitos semelhantes aos da tireotropina e do hormônio luteinizante.

4. FÁRMACOS UTILIZADOS NO TRATAMENTO DOS PROCESSOS INFLAMATÓRIOS

Há vários séculos o homem vem usando plantas e ervas para tratar a febre e aliviar a dor. O uso de substâncias químicas iniciou-se no século passado. A salicilina foi isolada em 1929 por Leroux que demonstrou seus efeitos antipiréticos (Figura 3) (BRENOL, XAVIER e MARASCA, 2000).

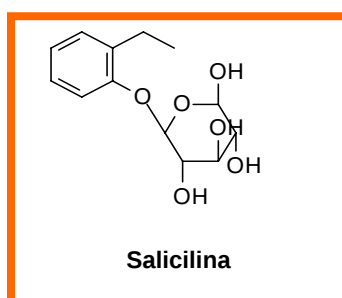


Figura 3: Salicilina

O salicilato de sódio foi usado para tratar a febre reumática como agente antipirético e no tratamento da gota. O enorme sucesso da droga levou a produção do ácido acetil salicílico, que após ter seus efeitos antiinflamatórios comprovados, foi introduzida em 1899 no mercado, por Dresser, com o nome de Aspirina. Mesmo assim, demorou mais de meio século, para que os outros sais com propriedades antiinflamatórias fossem utilizados na clínica. A

fenilbutazona foi introduzida em 1949 e a indometacina em 1963 (Figura 4) (BRENOL, 2000); entretanto somente em 1971 foi proposto o mecanismo de ação dos antiinflamatórios. Segundo Vane, os medicamentos agiam inibindo a conversão do ácido araquidônico ao endoperóxido instável, prostaglandina G_2 (PGG_2), uma reação que é catalisada pela enzima cicloxigenase, aportando assim uma explicação capaz de englobar tanto suas ações terapêuticas como seus efeitos colaterais (VANE, 1971 *apud* PÉREZ *et al.*, 2002).

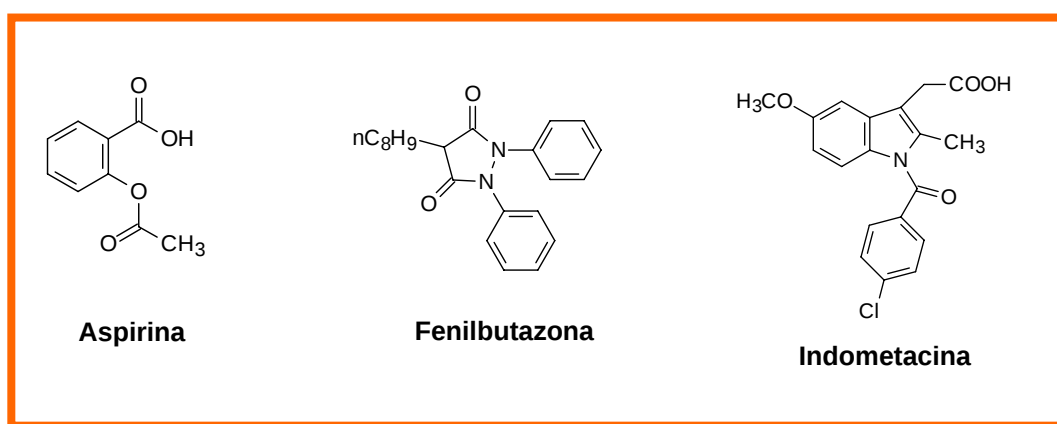


Figura 4: Agentes antiinflamatórios não-esteróides

A tabela 1 a apresenta a classificação dos AINES e outros analgésicos, além de agentes antipiréticos baseado em suas estruturas químicas.

Tabela 1: Classificação química dos agentes antiinflamatórios não-esteróides (AINES) (HARDMAN *et al.*, 2001)

Classificação Química dos Analgésicos, antipiréticos e AINES

Inibidores da COX não seletivos**Derivados do ácido salicílico**

Aspirina, salicilato de sódio, trissilicato de magnésio, salsalato, diflunisal, sulfalazina, ácido salicil-salicílico e olsalazina

Derivados do para-aminofenol

Acetaminofeno

Derivados do indol

Indometacina, sulindac, etodolac

Derivados do ácido fenilacético

Tolmetina; diclofenaco, ketorolac

Derivados do ácido propiônico:

Ibuprofeno; naproxeno, flurbiprofeno; cetoprofeno; fenoprofeno; oxaprozin;

Derivados do ácido antranílico (fenamatos)

Ácido mefenâmico; ácido meclofenâmico

Ácidos enólicos

Oxicams (piroxicam, meloxicam)

Alcanonas

Nabumetona

Inibidores seletivos da COX-2**Furanonas Diarilsubstituídas**

Rofecoxibe

Pirazóis Diarilsubstituídos

Celecoxib

Indol ácido acético

Etodolac

Sulfonamidas

Nimesulida

4.1. Antiinflamatórios Esteróideais

Os antiinflamatórios esteróideais, também denominados de glicocorticóides ou corticosteróides, fazem parte de um grupo de hormônios cujo mecanismo clássico de ação envolve a interação com um receptor de glicocorticóides e a regulação da expressão de proteínas (CASTRO e GODINHO, 2003).

As drogas antiinflamatórias esteróideais bloqueiam a liberação de prostaglandinas pela inibição da atividade de fosfolipase A_2 , interferindo assim com a mobilização de ácido araquidônico. Os corticosteróides são substâncias derivadas do colesterol e são análogos a hidrocortisona, como por exemplo, a betametasona e prednisona (Figura 5) (DEVLIN, 1998).

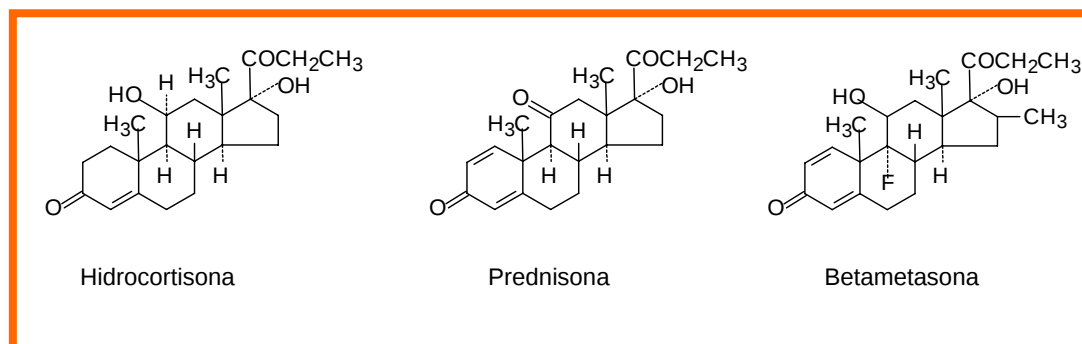
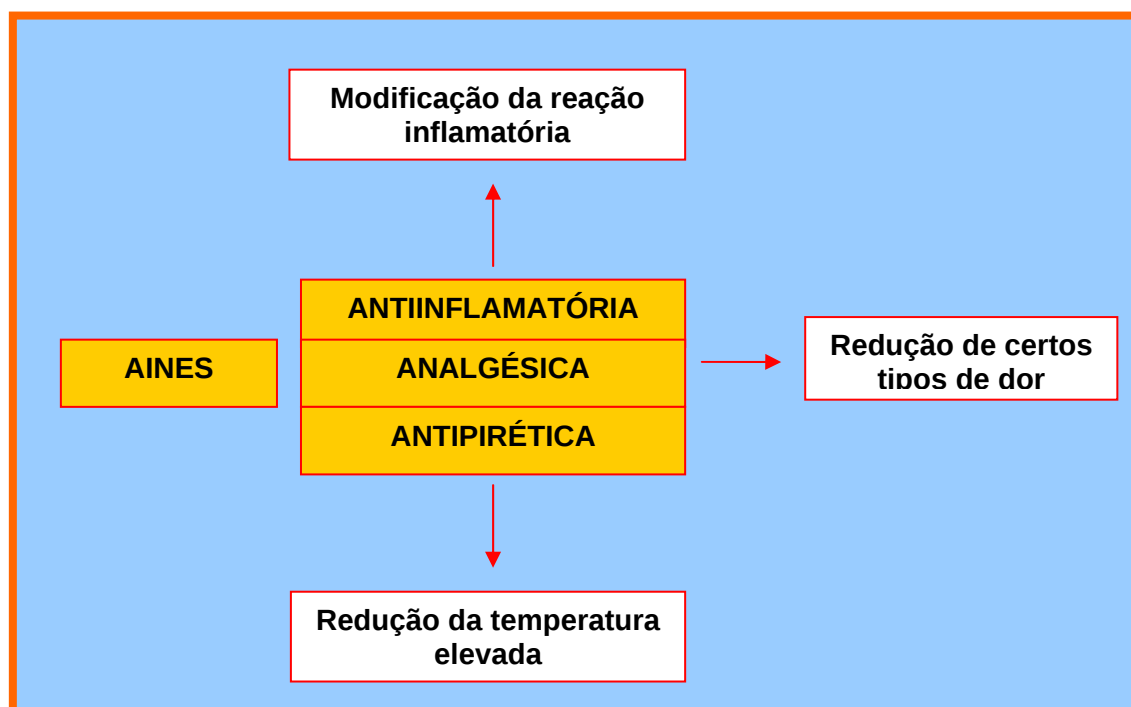


Figura 5: Fármaco antiinflamatórias esteróideais

4.2. Antiinflamatórios Não-Esteróides

As ações farmacológicas dos agentes antiinflamatórios não-esteróideais (AINES) pertencem a um grupo heterogêneo de compostos de diferentes

classes químicas. Tais compostos apresentam três principais ações farmacológicas antiinflamatória, analgésica e antipirética (Esquema 1). Os AINES estão entre os mais utilizados dentre todos os agentes terapêuticos. Na atualidade, já existem mais de 50 AINES diferentes no mercado, contudo nenhum deles se apresenta como fármaco ideal no controle e/ou na modificação dos sinais e sintomas do processo inflamatório, principalmente aqueles que ocorrem nas doenças articulares inflamatórias comuns (BOVILL, 2002; RANG *et al.*, 2004).



Esquema 1: Ações farmacológicas dos AINES (RANG *et al.*, 2003)

Assim, os AINES clássicos são aqueles que inibem o processo inflamatório através da inibição não seletiva da enzima COX e têm mecanismo de ação além de estruturas químicas completamente diferentes dos fármacos antiinflamatórias esteroidais. Nesta classe está incluída a aspirina, o primeiro e mais popular dos antiinflamatórios (KATZUNG, 2000).

A aspirina atua modificando covalentemente a COX-1 e a COX-2, resultando assim na inibição irreversível da atividade destas enzimas. Especificamente, na estrutura da COX-1, a aspirina acetila a serina 530, impedindo a ligação do ácido araquidônico no local ativo da enzima e, desta forma, suprimindo a capacidade desta enzima de produzir prostaglandinas. Por sua vez, a COX-2 é modificada covalentemente pela aspirina que acetila uma serina homóloga na posição 516, bloqueando a atividade desta isoforma da ciclooxigenase (Figura 6) (HARDMAN *et al.*, 2003).

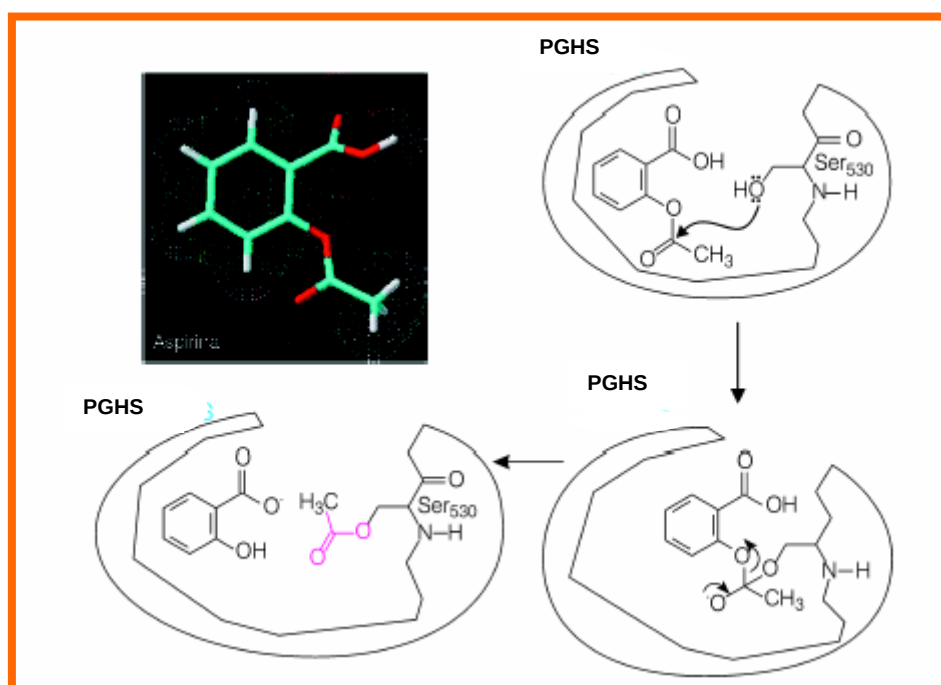


Figura 6: Mecanismo de ação da aspirina (FRAGA, 2001)

O flurbiprofeno, outro exemplo de antiinflamatório não esteroidal, atua inibindo a COX, provocando sua ação por ligações com resíduos de aminoácidos que leva à transformação da PGH₂ no autacóide trombogênico tromboxana A₂ (TXA₂), pode ser explorado no planejamento de fármacos da enzima, dentre as quais destaca-se a interação do grupamento carboxilato da

forma ionizada da flurbiprofeno com o resíduo de arginina na posição 120 (Figura 7) (LAGES *et al.*, 1998 *apud* FRAGA, 2001).

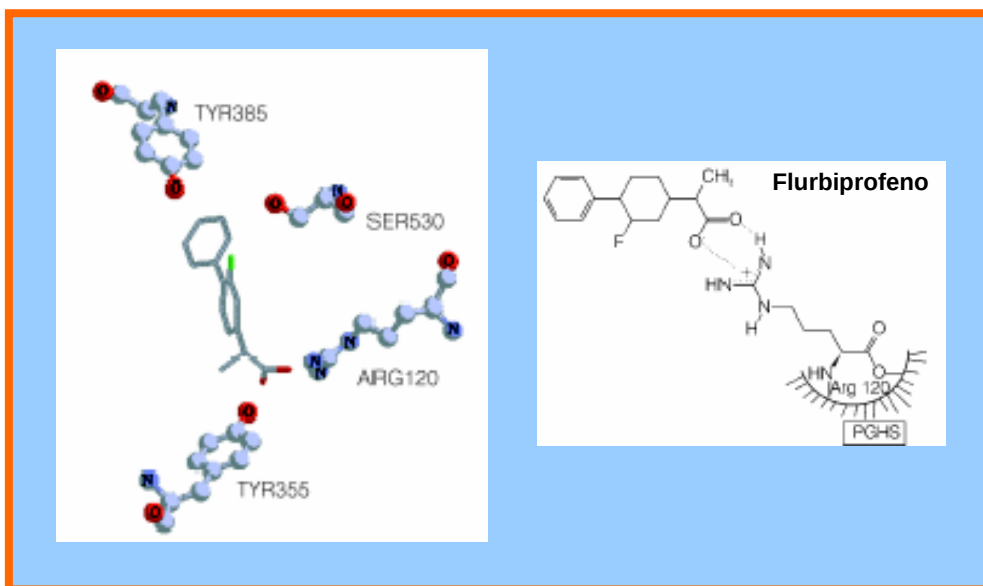


Figura 7: Mecanismo de ação da flurbiprofeno (FRAGA, 2001)

Desta forma, após o uso clínico da aspirina, novas drogas que compartilham de algumas ou todas as ações desta, foram descobertas, tais como o paracetamol, a fenilbutazona e posteriormente a indometacina e o ibuprofeno (Figura 8) (PALASKA *et al.*, 2002).

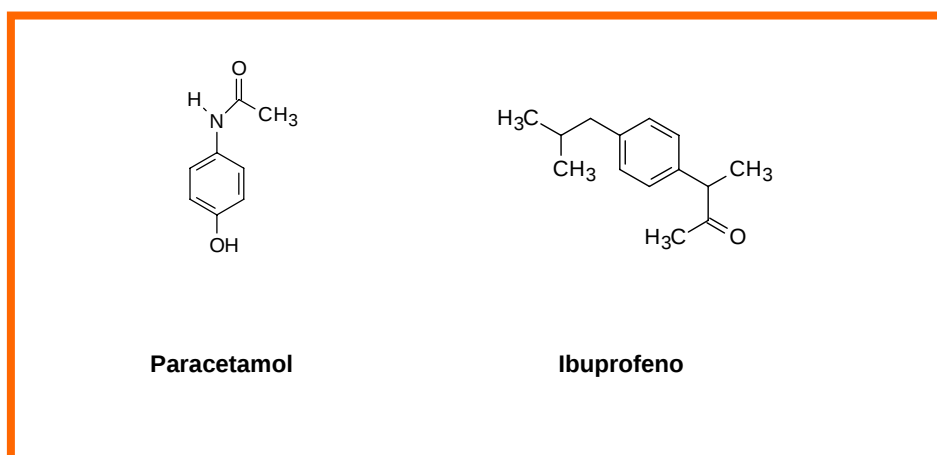


Figura 8: Antiinflamatórios não-esteroidais

A principal preocupação na utilização desses fármacos são as chamadas reações adversas: toxicidade gastrointestinal, alterações na função renal, e outros achados menos importantes, como “rashes” cutâneos, efeitos no sistema nervoso central e infiltrados pulmonares. Fatores de risco adicionais para doença erosiva gastrointestinal incluem idade avançada, terapêutica concomitante com corticosteróides, dose e tempo de tratamento, história previa de úlcera e gravidade da patologia reumática associada (HENRY e LIM, 1996 *apud* RANG *et al.*, 2004; HAWKEY, 2001).

Henry e Lim (1996 *apud* RANG *et al.*, 2004), realizaram estudos comparativos e constataram que os AINES de menor comprometimento gástrico são a aspirina, o diclofenaco, o sulindaco, o naproxeno e a indometacina (Figura 9).

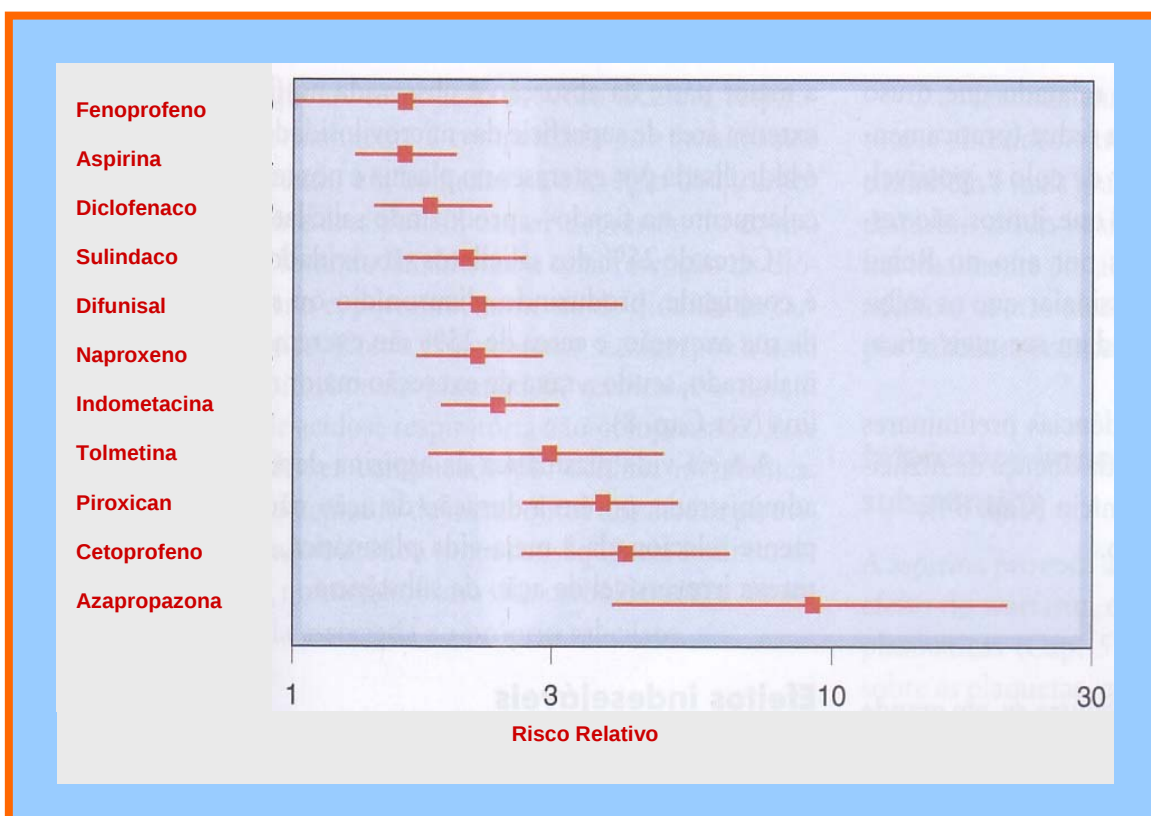


Figura 9: Risco de complicações gastrointestinais com vários AINES (Henry e Lim, 1996 *apud* RANG *et al.*, 2004)

Inicialmente pensou-se que essas reações colaterais fossem devidas a efeitos locais e diretos dos AINES na mucosa gastrointestinal. Entretanto, hoje sabemos que o efeito sistêmico da inibição da síntese das PGs pelos AINES leva a uma diminuição na produção de PGE, pela mucosa gastrointestinal, com aumento da secreção gástrica, diminuição da produção de fatores protetores na barreira mucosa superficial, diminuição na síntese de glutathione (com diminuição na capacidade de eliminar radicais livres de oxigênio), diminuição na produção de bicarbonato e redução do fluxo sanguíneo para as camadas superficiais da mucosa gástrica. Geralmente, as úlceras se desenvolvem quando os fatores agressores, tais como secreção ácida e pepsina, superam

as defesas naturais da mucosa. Estatísticas apontam que 80 % das úlceras estão associadas à infecção crônica com o *Helicobacter pylori* ou uso de AINES, com ambos prejudicando as defesas gastrointestinais e permitindo que a acidez e outros fatores nocivos causem danos à mucosa (PÉREZ *et al.*, 2002; MINCIS, 2003; CHAN e GRAHAM, 2004).

Assim, ao longo dos anos nossos conceitos sobre a toxicidade dos AINES evoluíram de um simples efeito tóxico local para teorias mais complexas, envolvendo múltiplos fatores locais e sistêmicos. Já que muitos dos efeitos colaterais dos AINES, os gástricos e os extragástricos, são provavelmente devido às mesmas ações biológicas que os tornam antiinflamatórios, isto é, a inibição da COX, a dissociação dos efeitos terapêuticos das reações adversas parecia impossível. Logo, o investimento feito na última década relacionado à elucidação das duas isoformas COX-1 e COX-2, com a presença da COX-1, envolvida nos processos fisiológicos, e COX-2 mais relacionada à produção induzida e exagerada de PGs, contribuiu de forma efetiva para o desenvolvimento de novos alvos terapêuticos em doenças inflamatórias e degenerativas, aumentando o interesse da indústria farmacêutica na busca de novos fármacos antiinflamatórios seletivos ou específicos para a inibição da COX-2, que reduzissem assim os efeitos colaterais produzidos pelos AINES, dando origem a uma nova classe de antiinflamatórios não-esteróides os coxibs (TURINI e DUBOIS, 2002).

4.3. Antiinflamatórios Inibidores Seletivos da COX-2

Se um fármaco reconhece diversos alvos, porém interage preferencialmente com um, este possuirá características de seletividade, por outro lado, um fármaco que interage com um único alvo, pode ser apropriadamente definido como específico. Os inibidores seletivos da COX-2 fazem parte de uma nova geração de fármacos pertencentes à família dos AINES, que mantendo seus benefícios terapêuticos, diminuem os efeitos indesejáveis descritos, destacando-se os gastroerosivos (PÉREZ *et al.*, 2002).

A nova geração de inibidores seletivos sintéticos da COX-2 promove o alívio da dor e reduz os outros sinais clássicos da inflamação (calor, vermelhidão, edema), além de serem isentos de efeitos colaterais gastrintestinais. Outras AINES inibem a cicloxigenase, mas o fazem ligando-se não covalentemente à enzima em vez de a acetilarem (WILLOUGHBY, MOORE e COLVILLE-NASH, 2000).

Como exemplos de fármacos da classe dos Coxibs temos o 4-(4-metanossulfonil-fenil)-3-fenil-5*H*-furan-2-ona (Rofecoxib) e o 4-(2-metil-*p*-tolil-3-trifluor-metil-2,3-pirazol-1-il)-benzeno-sulfonamida (Celecoxib) (Figura 10).

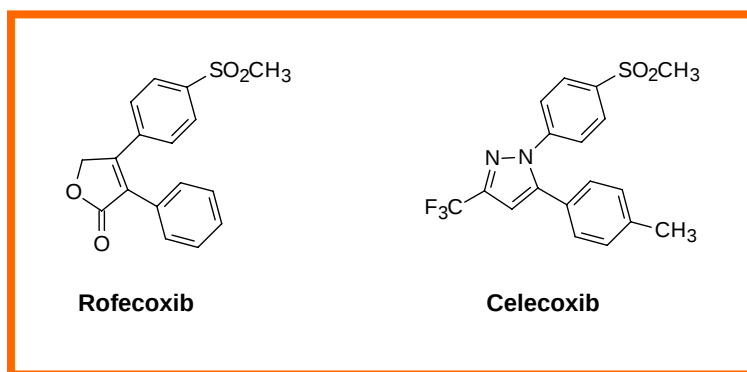


Figura 10: Exemplos de Coxibs

Do ponto de vista da química os coxibs podem ser divididos em inibidores metanossulfanilidas e inibidores cíclicos diarilsubstituídos.

4.3.1. Metanossulfanilidas

Esta classe de coxibs pode ser considerada como derivada da nimesulida, um fármaco conhecido desde 1960. Estruturalmente, esses inibidores da COX-2 são caracterizados como alquilsulfanilidas, onde a porção alquila do grupo sulfonil é tipicamente uma metila ou uma triflúor metila, em posição 2 é freqüentemente substituída por grupamentos arilalcóxido ou aril sulfanil ou ainda um ciclo alcóxido ou ciclo sulfanil, e na posição 4 invariavelmente está presente um grupo retirador de elétrons (Figura 11) (LEVAL *et al.*, 2000).

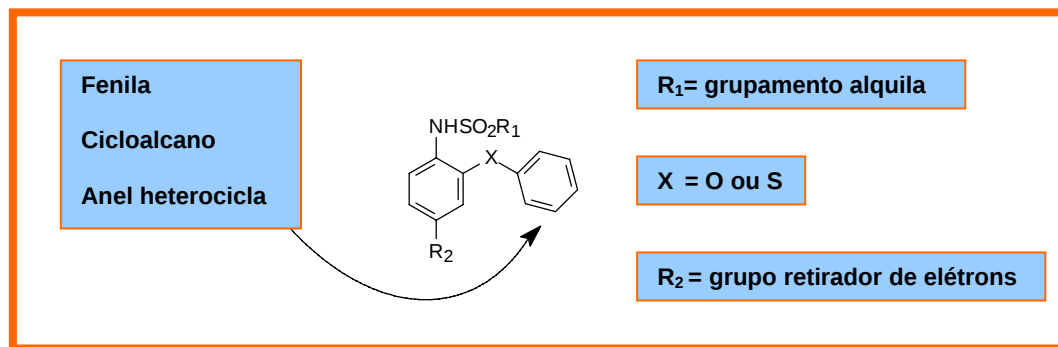


Figura 11: Estrutura geral das metanosulfanilidas

A partir desta estrutura geral alguns derivados análogos da nimesulida foram sintetizados, tais como a diflumidona, a NS-398, a T-614, a flosulida, o L-745,337 e derivados etiltiazol (Figura 12) (LEVAL *et al.*, 2000).

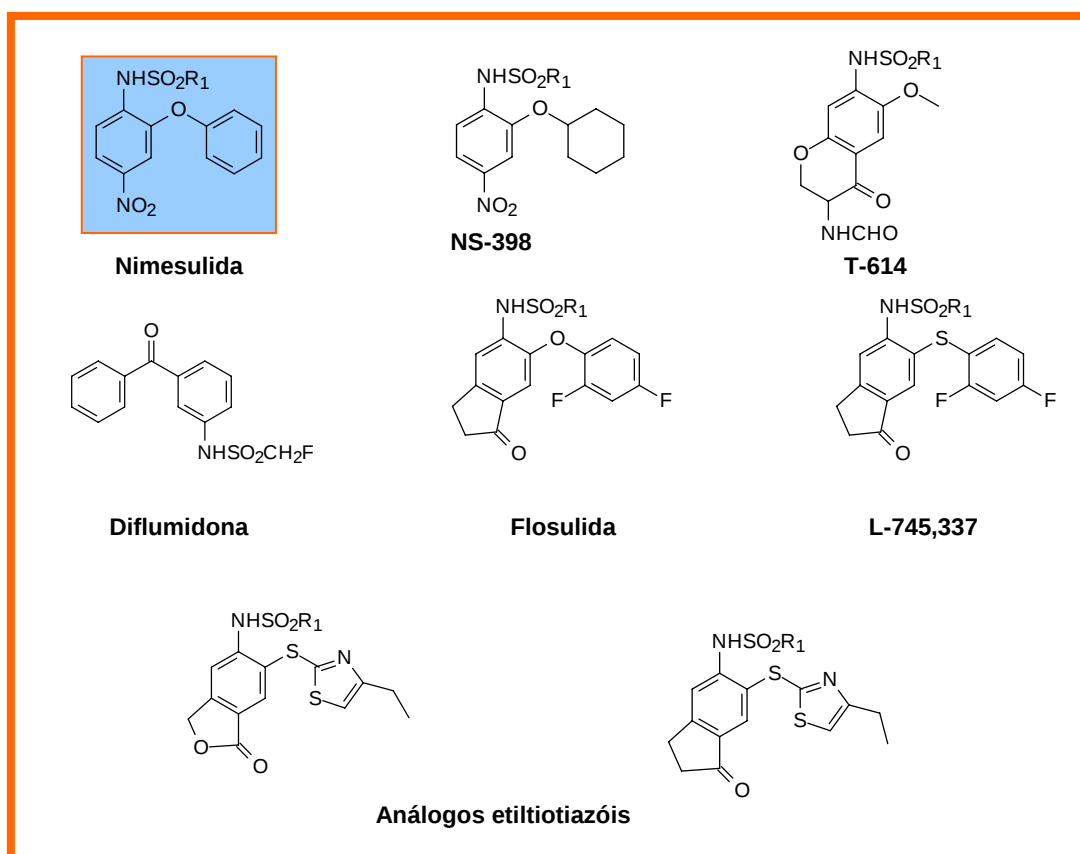


Figura 12: Etiltiazóis

4.3.1. Ciclos Diarilsubstituídos

Ao contrário das metanossulfanilidas, a origem desta classe não é estabelecida, acredita-se que possam derivar do indoxol ou da fenilbutazona, (Figura 13). Estas moléculas têm em comum o fato de serem ciclos diarilsubstituídos, sintetizados nos anos de 1960 e identificados como potentes antiinflamatórios (LEVAL *et al.*, 2000).

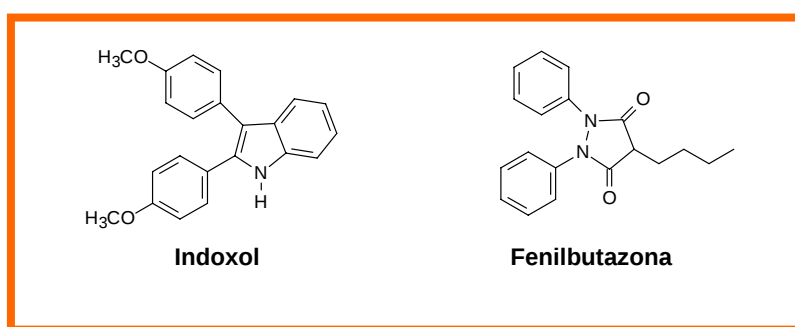


Figura 13: Indoxol e fenilbutazona

No período compreendido entre 1970 e 1980, diversos grupos de pesquisa em interessados nessa classe de substâncias, planejaram e sintetizaram vários compostos, avaliaram sua atividade antiinflamatória e inibidora da COX-2. A maior diferença entre os representantes nessa classe está na natureza do anel central: tiazóis, oxazóis, furanos, pirróis, pirazóis, imidazóis, isoxazóis, tiofenos, ciclopentenos (LEVAL *et al.*, 2000).

5. PLANEJAMENTO x DESENHO DE FÁRMACOS

O planejamento de fármacos, baseado no mecanismo de ação é uma das principais estratégias modernas e disponíveis para o desenho de protótipos. Após a identificação do alvo terapêutico, que pode ser tanto uma enzima quanto um receptor, proteína, constituintes da parede celular ou mesmo DNA, inicia-se então uma nova etapa, que seria o desenho do ligante. O planejamento do ligante conteria toda informação estrutural sobre o alvo ao qual os ligantes devem se unir, freqüentemente tentando maximizar a energia de interação (SANT'ANNA, 2002).

Segundo Thomas (2003), a abordagem fisiológica, primeiro passo, no planejamento racional de fármaco, pode ser definida como sendo a pesquisa básica sobre o processo patológico e suas causas, onde serão avaliados os processos bioquímicos e biológicos da doença, ou seja, identificação do alvo terapêutico. A partir dessas informações será decidida a estrutura do protótipo adequado, assim como, a escolha da via sintética para sua preparação de seus análogos, seguindo-se com os testes biológicos e toxicológicos.

O alvo terapêutico é representado por uma enzima ou receptor e o planejamento do novo ligante pode ser realizado introduzindo-se modificações moleculares clássicas no substrato natural e/ou sintético, já conhecidos para este receptor, ou estudando-se índices de complementaridade entre ligante-

receptor com emprego de técnicas computacionais (BARREIRO e FRAGA, 2001, BARREIRO, 2002).

Neste contexto, a síntese orgânica é importância fundamental, uma vez que permite a construção de moléculas em seus diversos níveis de complexidade. Esse desdobramento da síntese orgânica apresenta características particulares, pois além de racionalizar uma seqüência de etapas sintéticas visando obter os melhores rendimentos possíveis, é necessário também dispensar atenção ao grau de pureza e à escala da reação. A produção industrial de tais agentes exige conhecimento dos mecanismos que reagem as reações químicas, a interação com catalisadores e métodos especializados de purificação e identificação dos fármacos (MENEGATTI, FRAGA e BARREIRO, 2001, FERREIRA 2003 *apud* ANDREI *et al.*, 2003).

De acordo com Menegatti, Fraga e Barreiro, (2001), entre 866 fármacos usados na terapêutica, 680 (79 %) são de origem sintética. O restante 126 (21 %), correspondem àqueles de origem natural ou semi-sintética representados no figura 14. Quando observamos a estrutura dos fármacos empregados na terapêutica, contata-se que 62 % deles são heterocíclicos, ou seja, possuem átomos de elementos distintos do carbono (heteroátomos) envolvidos em ciclos dentre os quais 95 % apresentam-se nitrogenados. Adicionalmente 28 % dos fármacos de estrutura heterociclíca apresentam átomos de enxofre e 18 % apresentam átomos de oxigênio (Figura 15).

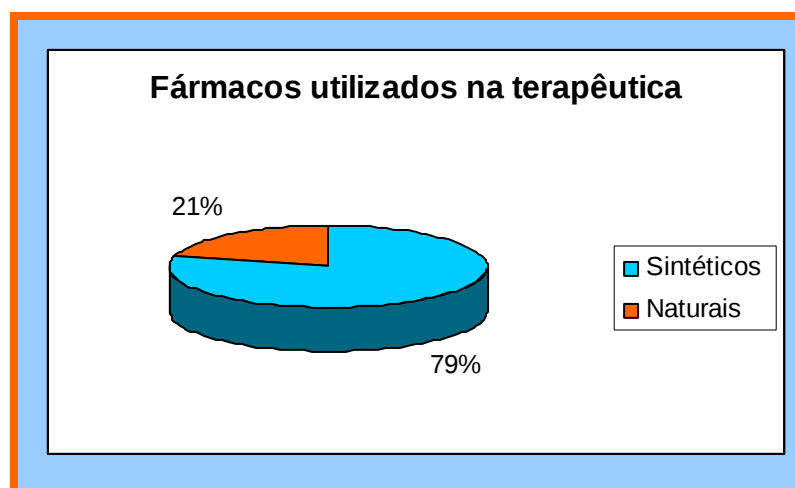


Figura 14: Origem dos fármacos utilizados na terapêutica (MENAGUETTI, FRAGA e BARREIRO, 2001)

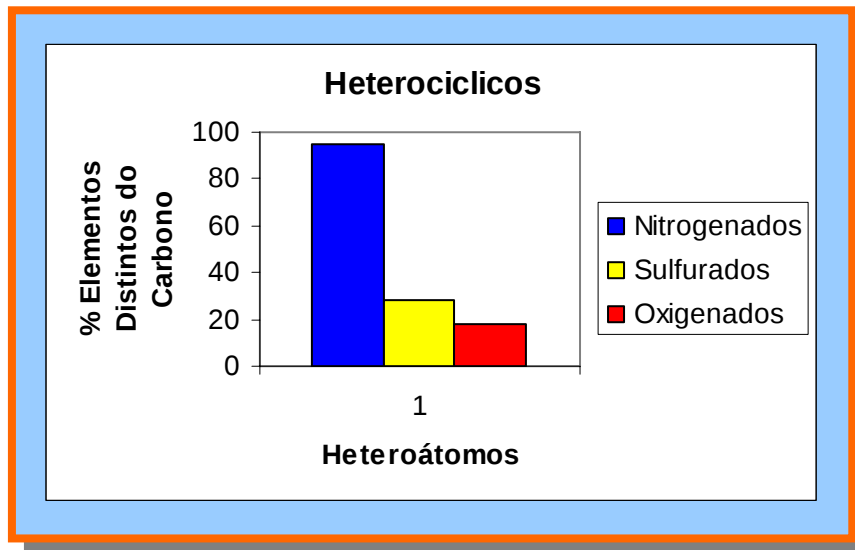


Figura 15: Percentual de fármacos contendo enxofre, oxigênio e nitrogênio (MENAGUETTI, FRAGA e BARREIRO, 2001)

Davies (1999) afirmou que os heterocíclicos são de grande importância na química orgânica. Os heterocíclicos ocorrem na natureza, por exemplo, nos

ácidos nucleicos e nos alcalóides indólicos. Os heterocíclicos sintéticos têm usos difundidos como herbicidas, fungicidas, inseticidas, tinturas, condutores orgânicos e na clínica médica como nos fármacos antiúlcera (Figura 16).

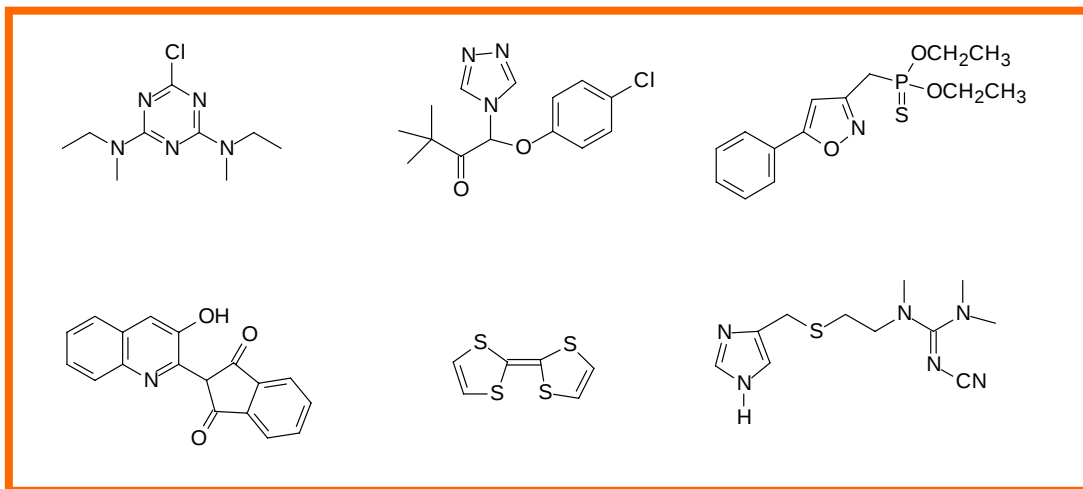


Figura 16: Exemplos de heterocíclicos utilizados

Leval e colaboradores (2000), ao realizarem estudos *in vitro* relacionaram os anéis heterocíclicos como potentes protótipos de novas moléculas com atividade antiinflamatória, relatam que os anéis pentagonais contribuem para o aumento da atividade biológica de forma crescente quando possuem átomos de enxofre, nitrogênio e oxigênio em sua estrutura, além de substituições nas posições 3, 4 e 5 do núcleo (Figura 17).

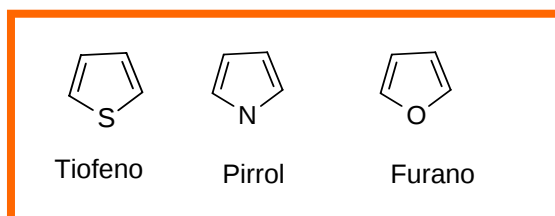


Figura 17: Heterocíclicos pentagonais potencialmente bioativos

Como exemplos de tais observações podemos citar as seguintes estruturas (Figura 18) (LEVAL *et al.*, 2000; CHAKRABORTI e THILAGAVATHI, 2003).

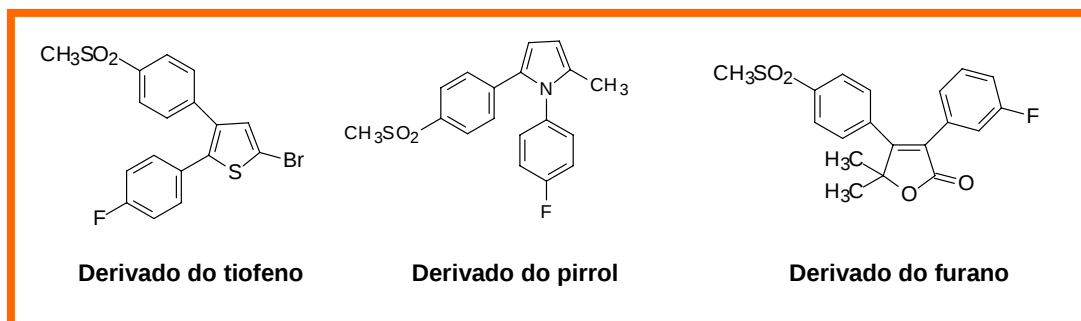


Figura 18: Exemplos de heterocíclicos pentagonais bioativos

Neste mesmo estudo, também foram evidenciados heterocíclicos pentagonais contendo dois heteroátomos, como núcleos com potencial atividade antiinflamatória. Foram eles: os oxazóis e os isoxazóis, os tiazóis e os imidazóis (Figura 19) (LEVAL *et al.*, 2000).

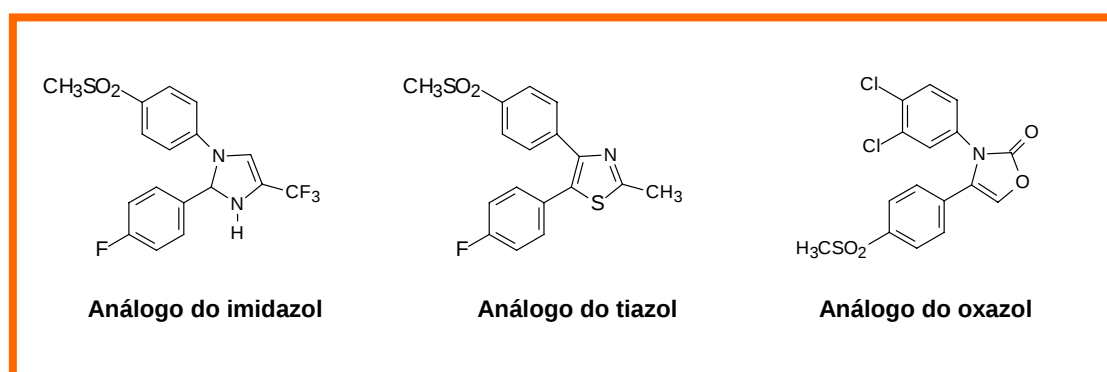
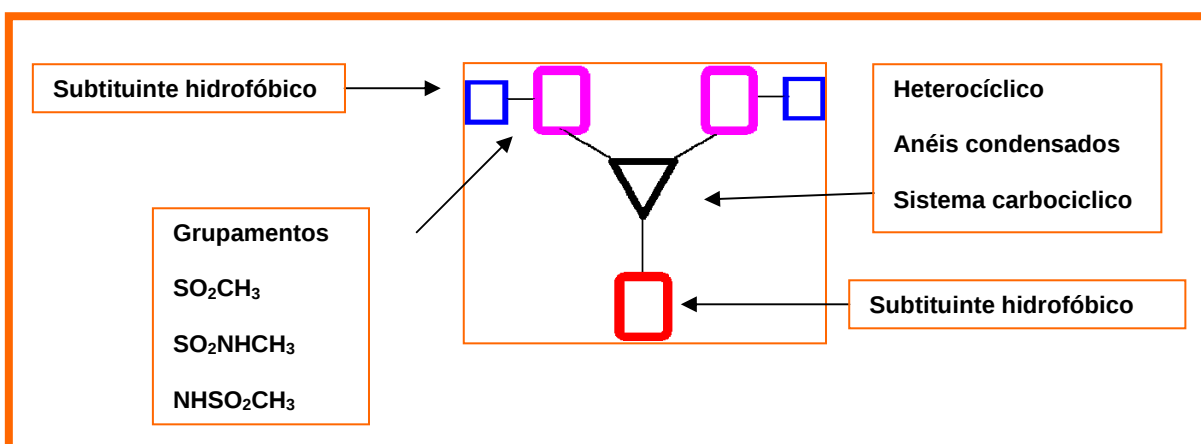


Figura 19: Exemplos de heterocíclicos pentagonais contendo dois heteroátomos

Rodrigues e colaboradores (2002) apresentaram dados que corroboraram com as informações já discutidas por Leval e colaboradores

(2000). Eles demonstraram de forma esquemática as características estruturais mais importantes que um fármaco inibidor seletivo da COX-2 deve apresentar (Esquema 2). Esta representação informa que os fármacos devem conter grupos metilsulfonil ou sulfonamida, além de apresentar dois anéis aromáticos entre um anel central que pode ser um heterocíclico, um heterocíclico aromático, anéis aromáticos condensados ou sistemas carbocíclicos aromáticos ou não.



Esquema 2: Representação das principais características estruturais dos coxibs (RODRIGUES *et al.*;2002)

Trabalhos desenvolvidos no Laboratório de Planejamento e Síntese de Fármacos/Grupo de Pesquisa em Inovação Terapêutica – LPSF/GPIT visando a obtenção de derivados estruturais utilizando o núcleo imidazolidínico e tiazolidínico com o objetivo de sintetizar derivados potencialmente bioativos podem ser exemplificados através dos compostos com atividade fungicida (GÓES *et al.*, 1991), antimicrobiana (BRANDÃO *et al.*, 1997; ALBUQUERQUE *et al.*, 1999; LIMA, 2003), antiinflamatória (ALBUQUERQUE *et al.*, 1995; PEREIRA, 2003; UCHÔA 2004), analgésica (LIMA *et al.*, 1992), antitumoral

(SILVA *et al.*, 2001) e hipoglicemiante e hipolipidêmica (PITTA *et al.*, Br, IP-0300997-1, 2003). Estes resultados revelam a potencialidade dos núcleos imidazolidínicos e tiazolidínicos substituídos nas posições 3 e 5 do anel.

Todos esses trabalhos traduzem a importância da modificação molecular e utilização do bioisosterismo na obtenção de novas moléculas potencialmente bioativas.

Na atualidade o bioisosterismo é uma das diversas estratégias conhecidas para se modificar a estrutura do composto-protótipo e tem como objetivo a otimização molecular, tanto farmacocinética como farmacodinâmica. Tal estratégia resultou da aplicação do princípio de Langmuir, em moléculas biologicamente ativas (BARREIRO e FRAGA, 2001; PATRICK, 2001).

No início do Século XX definia-se isósteros como sendo compostos ou grupos de átomos tendo o mesmo número de disposição de elétrons, como por exemplo, N_2 e CO, N_2O e CO_2 , N_3 e NCO. Os isósteros caracterizam-se por propriedades físicas semelhantes (LANGMUIR, 1919 *apud* KOROKOLVAS, 1974). Mais tarde em 1948, Erlenmeyer definiu isósteros como sendo, átomos, íons e moléculas que possuíam camadas externas de elétrons idênticas (KOROLKOLVAS, 1974). Atualmente isósteros são definidos como grupamentos que exibem alguma semelhança nas suas propriedades químicas e/ou físicas e podendo assim exibir propriedades farmacocinéticas e farmacodinâmicas semelhantes (THOMAS, 2003).

O termo bioisótero foi introduzido por Friedman em 1951, como composto capaz de preencher a mais amplamente a definição de isósteros e tendo o mesmo tipo de atividade biológica. Segundo Burger (1970 *apud* KOROKOLVAS, 1974), o bioisosterismo pode ser classificado como clássico e não clássico. Os isósteros clássicos são aqueles abrangidos pelas definições de Langmuir, Grinn e Erlenmeyer; os isósteros não clássicos são definidos como aqueles que quando substituídos numa determinada molécula, dão origem a um composto com disposição estérica e configuração eletrônica semelhantes ao do composto matriz (KOROKOLVAS, 1974).

A modelagem molecular também é uma das estratégias utilizadas no planejamento e na descoberta de novos fármacos. Ela tem se firmado como uma ferramenta indispensável não somente no processo de descoberta de novos fármacos, mas também na otimização de um protótipo já existente ou obtido pelo próprio estudo de modelagem molecular (RODRIGUES, 2001).

O avanço dos recursos computacionais foi determinante para o desenvolvimento da modelagem molecular, e tem como objetivo a investigação das estruturas e das propriedades moleculares usando a química computacional e as técnicas de visualização gráfica visando fornecer uma representação tridimensional, sob um dado conjunto de circunstâncias.

O planejamento de fármacos auxiliado por computador (CADD, do inglês Computer-Assisted Drug Design), envolve todas as técnicas com o auxílio de computadores usados para descobrir, planejar e otimizar compostos biologicamente ativos com uso suposto de fármacos (SANT'ANNA, 2002).

5.1. Aminas Heterocíclicas

Ucko (1992) definiu heterocíclico como uma molécula cíclica que contém átomos de mais de um elemento no anel. O anel geralmente consiste de átomos de carbono com um ou mais átomos de oxigênio, enxofre ou de nitrogênio.

As imidazolidinas são análogos estruturais do imidazol, protótipo de uma série de heterociclos pentagonais aromáticos e apresentam em sua estrutura dois átomos de nitrogênio (Figura 20) (BARREIRO e FRAGA, 2001).

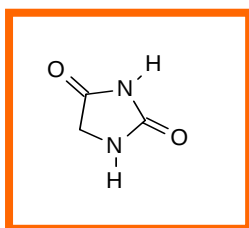


Figura 20: Imidazolidina-2,4-diona

Esses compostos que apresentam o sistema de anel imidazolidínico são denominados quimicamente de imidazolidina-2,4-diona, 2,4-dicetotetra-hidroimidazo ou apenas hidantoína. Esta amina heterocíclica foi descoberta por

Bayer em 1861, cujo sistema anelar despertou grande interesse, devido, sobretudo à sua ocorrência na natureza (DUTCHER, JOHNSON e BRUCE, 1945). Produtos de origem natural ou sintética, contendo este núcleo, exibem diversas atividades biológicas, tais como antitumoral, antiarrítmico, anticonvulsivante, hipoglicemiante, bem como atividade herbicida e fungicida (ALBUQUERQUE *et. al.*, 1995, BHALAY *et al.*, 1998, JAKESE, 2002).

A imidazolidina-2,4-diona está estruturalmente associada à 2-tioxo-imidazolidin-4-ona, sintetizada pela primeira vez em, 1890, por Klason, que além de sofrer reações análogas na presença dos mesmos reagentes, pode ser considerada como bioisóstera da primeira. Isto significa que ambas apresentam atividades biológicas similares (Figura 21).

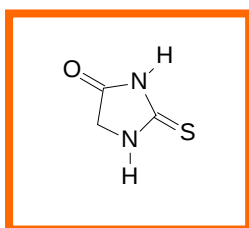
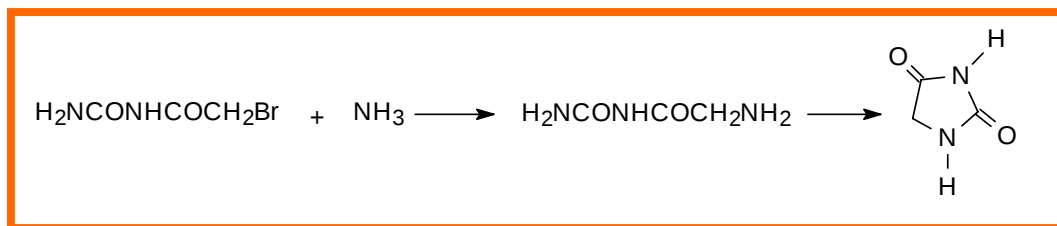


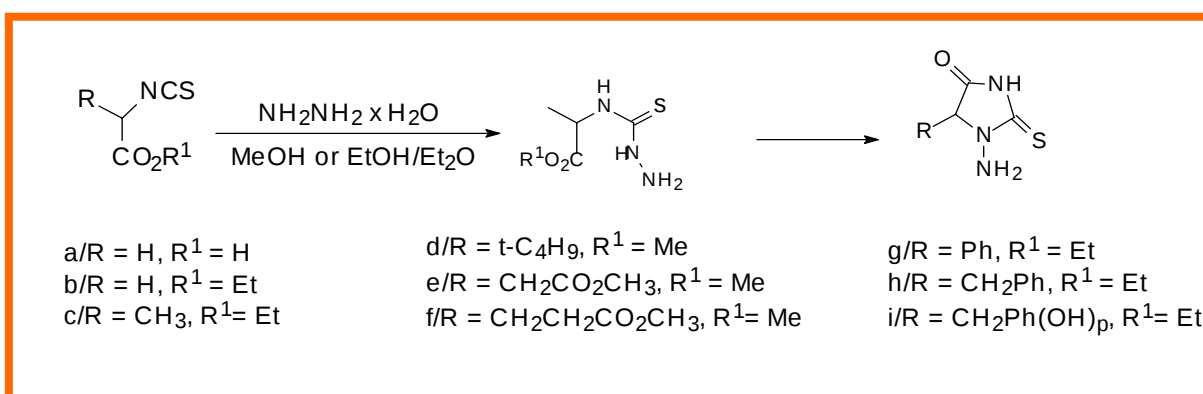
Figura 21: 2-Tioxo-imidazolidin-4-ona

Vários métodos para obtenção dos núcleos imidazolidinicos foram desenvolvidos através de reações de ciclização. A primeira síntese idealizada por Bayer, em 1875, para a obtenção da imidazolidina-2,4-diona foi feita através da reação da bromo-acetiluréia com amônia alcoólica, sob aquecimento (Esquema 3) (BAYER, 1975 *apud* ELDERFIELD, 1957).



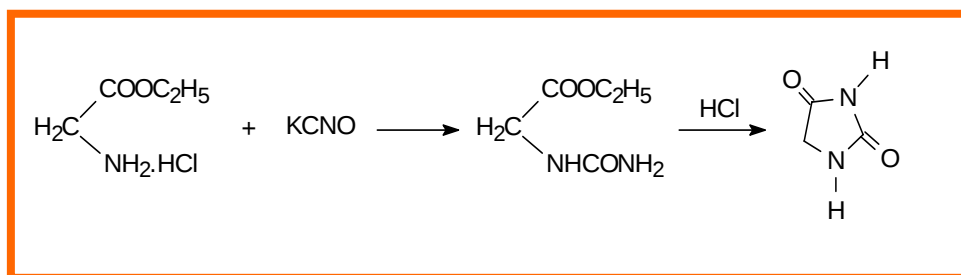
Esquema 3: Obtenção da imidazolidina-2,4-diona a partir de bromo-acetiluréia com amônia alcoólica (BAYER, 1975 *apud* ELDERFIELD, 1957).

A obtenção da 3-amino-2-tioxi-imidazolidin-4-ona substituídas na posição 5 foi realizada por uma reação utilizando o 2-isotioxi-cianato-carboxilato de alquila com hidrazina hidratada (Esquema 4) (FLOCH, OREMUS e KOVAC, 1999).



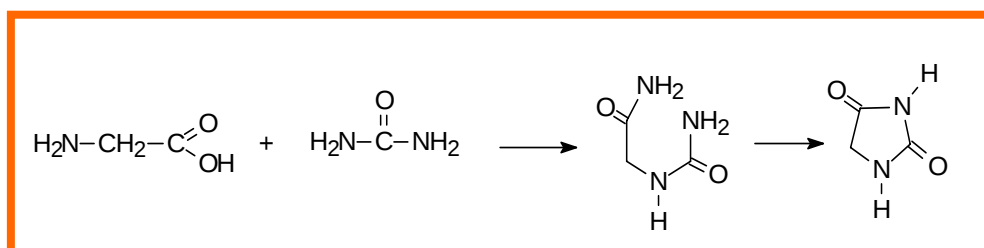
Esquema 4: Obtenção dos compostos 3-amino-2-tioxi-imidazolidin-4-ona substituídos na posição 5 (FLOCH, OREMUS e KOVAC, 1999).

Um outro método utilizado para obtenção da imidazolidina-2,4-diona, parte do éster etílico de glicina e cianato de potássio, em presença de ácido clorídrico (Esquema 5) (HARRIES e WEISS, 1900 *apud* ELDERFIELD 1957).



Esquema 5: Obtenção da imidazolidina-2,4-diona a partir do éster etílico de glicina e cianato de potássio (HARRIES e WEISS, 1900 *apud* ELDERFIELD 1957).

A síntese das imidazolidinas-2,4-diona a partir da glicina, uréia em ácido sulfúrico e ácido acético, foi realizada em 1978 por Kochkanyan e Israelyan (Esquema 6).



Esquema 6: Obtenção da imidazolidina-2,4-diona a partir de glicina (KOCHKANYAN e ISRAELYAN, 1978).

Em 1899, Ruhemann e colaboradores obteve as 5-benzilideno-imidazolidina-2,4-dionas pelo aquecimento de fenilpropiolato de etila com uréia, em solução alcoólica e na presença de etanoato de sódio. Quando utilizou-se tiouréia e guanidina, com processo de condensação semelhante, originou a 5-benzilideno-2-tioxi-imidazolidin-4-ona e a 2-amino-5-benzilideno-imidazolidin-4-ona, respectivamente (Figura 22).

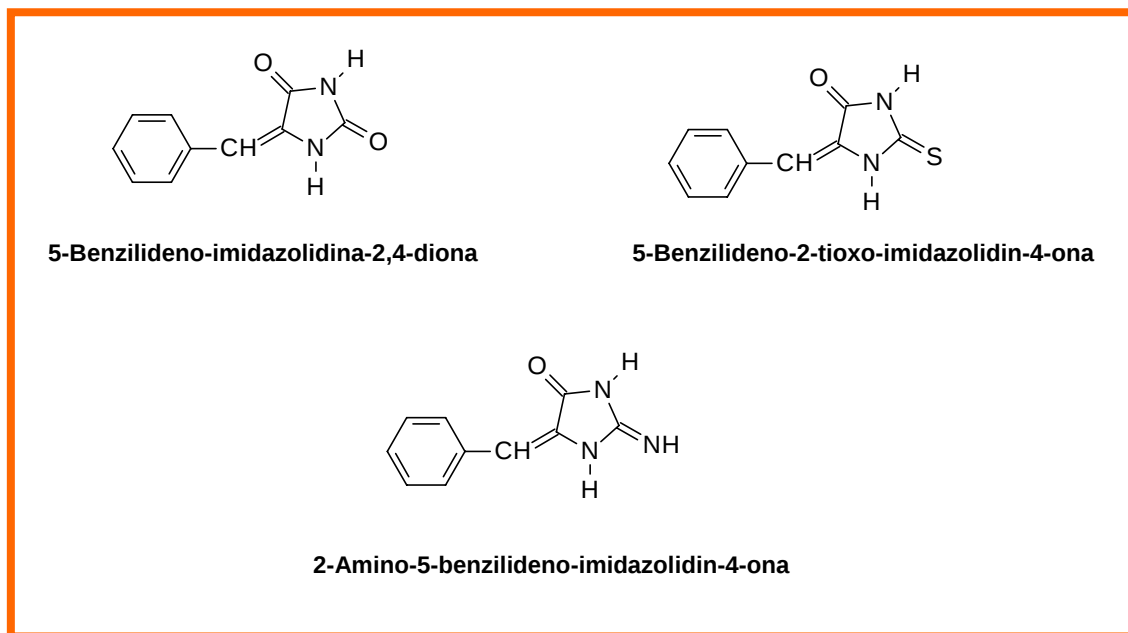
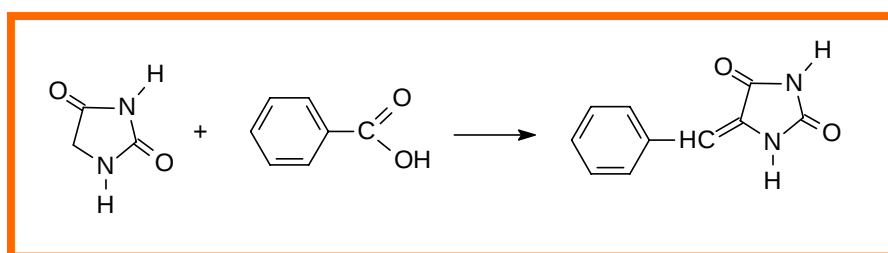


Figura 22: Produtos de condensação de uréia, tiouréia e guanidina (RUHEMANN *et al.*, 1899)

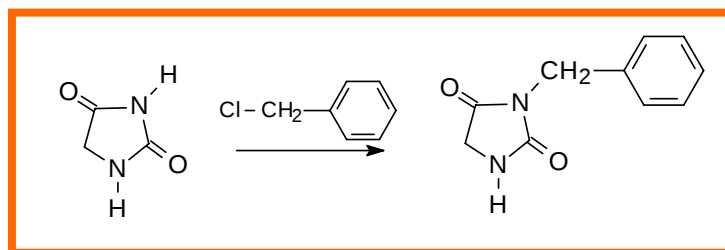
Uma outra metodologia empregada é a desenvolvida por Wheeler e Hoffmann (1911), onde foram preparados compostos imidazolidínicos através da condensação com benzaldeídos substituídos utilizando como catalisador acetato de sódio fundido e anidrido acético (Esquema 7).



Esquema 7: Reação de condensação da imidazolidina-2,4-diona com benzaldeídos substituídos (HOFFMANN *et al.*, 1911).

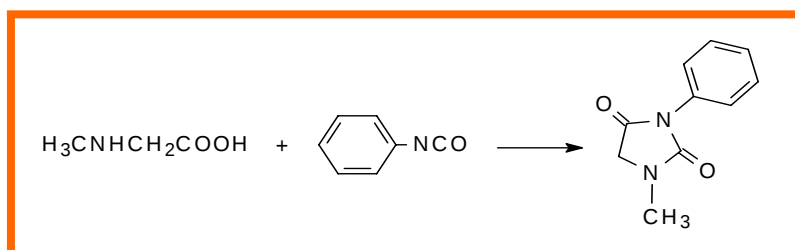
Para a preparação de 3-Benzil-2-tioxo-imidazolidin-4-ona pode ser empregada metodologias com diferentes catalisadores: sódio metálico/metanol

(LO *et al.*, 1953), hidróxido de potássio (BRADSHER, BROWN e SINCLAIR, 1956) ou hidróxido de sódio (Esquema 8) (FINKBEINER, 1965).



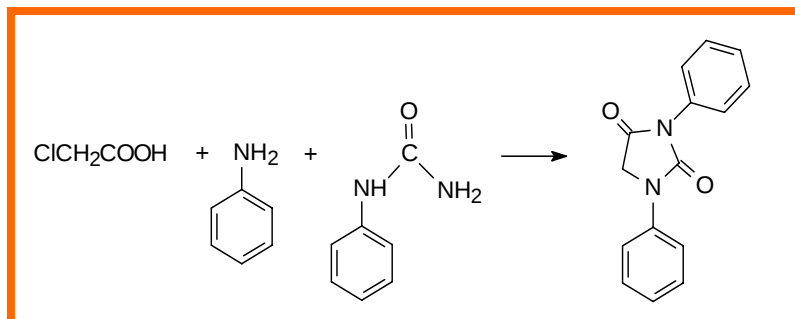
Esquema 8: Obtenção da 3-benzil-imidazolidina-2,4-diona (LO *et al.*, 1953, BRADSHER, BROWN e SINCLAIR, 1956, FINKBEINER, 1965).

Para imidazolidinas substituídas na posição 1, como por exemplo a 1-metil-3-fenil-imidazolidina-2,4-diona, utiliza-se a sarcosina dissolvida em uma solução de hidróxido de potássio, na qual é adicionado em seguida o isiocianato de fenila (Esquema 9) (FINKBEINER, 1965; CEGAN e VECERA, 1984).



Esquema 9: Obtenção da 1-metil-3-fenil-imidazolidina-2,4-diona (FINKBEINER, 1965; CEGAN e VECERA, 1984).

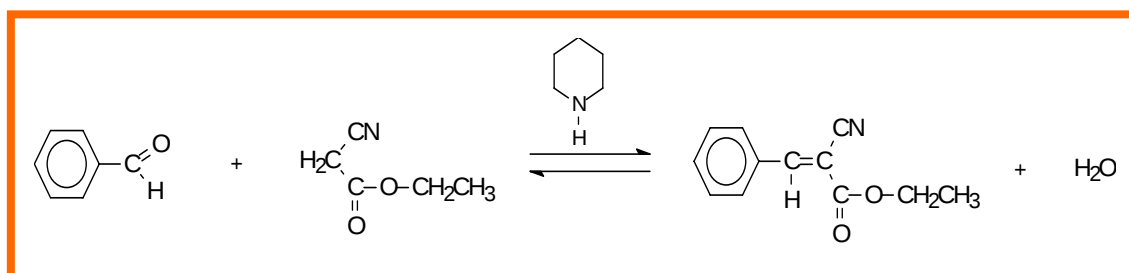
Já os derivados da 5-benzilideno-1,3-difenil-imidazolidina-2,4-diona podem ser obtidos a partir do ácido monocloroacético, anilina e feniluréia como ilustrado no esquema 10 (AGAWA, BABA e OSHIRO, 1975).



Esquema 10: Derivados da 5-benzilideno-1,3-difenil-imidazolidina-2,4-diona (AGAWA, BABA e OSHIRO, 1975).

Uma outra via de obtenção do 5-benzilideno-2-tioxi-imidazolidin-4-ona foi proposta por Daboun, em 1982. Por este processo, se empregam ésteres cianocinâmicos no lugar de benzaldeídos, os quais reagem com 2-tioxi-imidazolidin-4-ona em etanol, utilizando piperidina como catalisador, nos quais as reações com o núcleo imidazolidínico se procedem de forma semelhante.

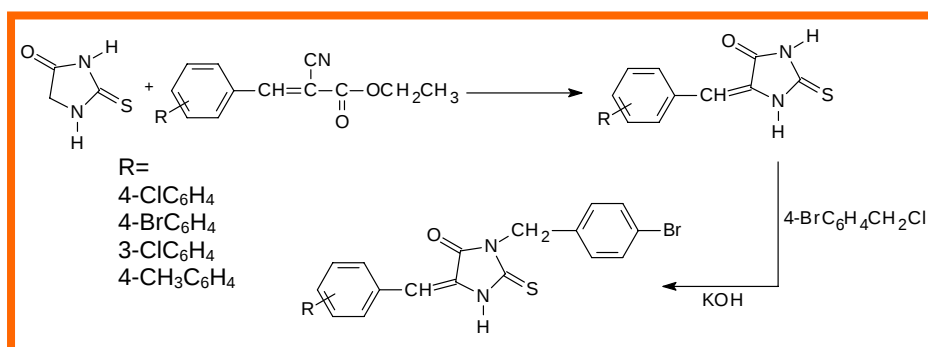
Estes ésteres foram preparados pela reação de Cope e colaboradores (1941). Trata-se de uma condensação do tipo Knoevenagel entre um benzaldeído substituído e o cianoacetato de etila, em solução benzênica, reação catalisada pela piperidina (Esquema 11) (POPP, 1960).



Esquema 11: Obtenção dos ésteres cianocinâmicos (POPP, 1960).

A etapa que compreende a reação do éster de Cope juntamente com a imidazolidina-2,4-diona ou a 2-tioxo-imidazolidin-4-ona, caracteriza-se por uma reação de adição do tipo Michael.

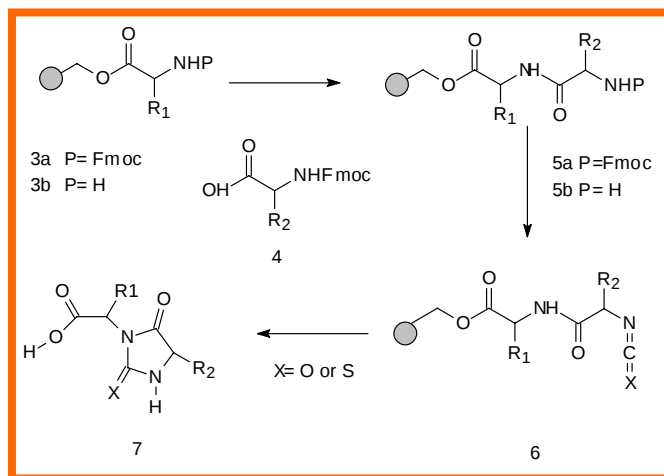
Brandão e colaboradores (2004) sintetizaram novos compostos da série 3-(4-bromo-benzil)-2-tioxo-5-aryliden-imidazolidin-4-onas através de uma reação de adição nucleofílica do tipo Michael, onde utilizaram os éteres 2-ciano-3-fenil-acrilato de etila, seguida de uma reação de N-alquilação em posição 3 (Esquema 12).



Esquema 12: Via de síntese da 2-tioxo-imidazolidin-4-ona (BRANDÃO *et al.*, 2004)

Um novo método de síntese foi desenvolvido por Bhalay e colaboradores (1998), para obtenção de imidazolidina-2,4-diona e 2-tioxo-imidazolidin-4-ona, baseado na química de fase sólida, a partir de aminoácidos. A nova estratégia busca transformar um dipeptídio em um isocianato intermediário que em seguida é convertido em imidazolidina-2,4-diona. A via

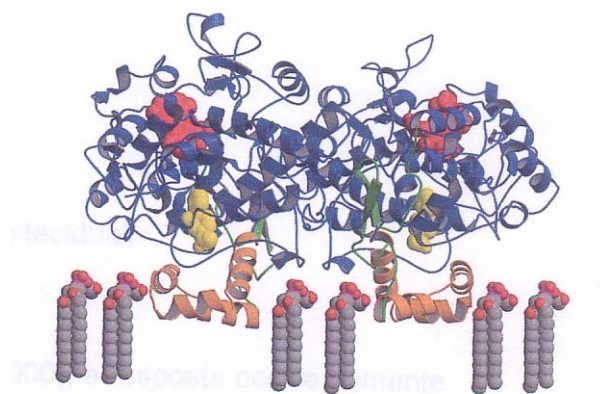
sintética descrita também permite a síntese de 2-tioxo-imidazolidin-4-ona correspondentes (Esquema 13).



Esquema 13: Via sintética em fase sólida utilizada para obtenção da 2-tioxo-imidazolidin-4-ona (BHALAY *et al.*, 1998).

A seguir será abordada a metodologia adotada na síntese dos derivados 5-benzilideno-2-tioxo-imidazolidínicos substituídos na posição 3 por grupamentos benzílicos ou fenacílicos.

Estudo Químico



ESTUDO QUÍMICO

SÍNTESE DOS DERIVADOS IMIDAZOLIDÍNICOS

7. Material e Métodos

7.1. Reagentes

Os reagentes e os solventes utilizados apresentavam a especificação p.a. e foram das marcas Acros Organics, Aldrich, Merck, Riedel-De Haën, Sigma e Vetec.

4-Dimetilamina-benzaldeído

4-Fenil-benzaldeído

2-Bromo-benzaldeído

3-Bromo-4-metoxi-benzaldeído

3-Bromo-benzaldeído

Cianoacetato de etila

Piperidina P.A.

2-Tioxo-imidazolidin-4-ona

Brometo de 4-bromo-benzil

Brometo de 4-bromo-fenacila

Carbonato de potássio

Acetato de etila

Benzeno

Etanol

n-Hexano

Metanol

7.2. Equipamentos

Na espectrofotometria de absorção no infravermelho (IV) se utilizou o espectrofotômetro FTIR Bruker Modelo IFS 66, em pastilhas de KBr.

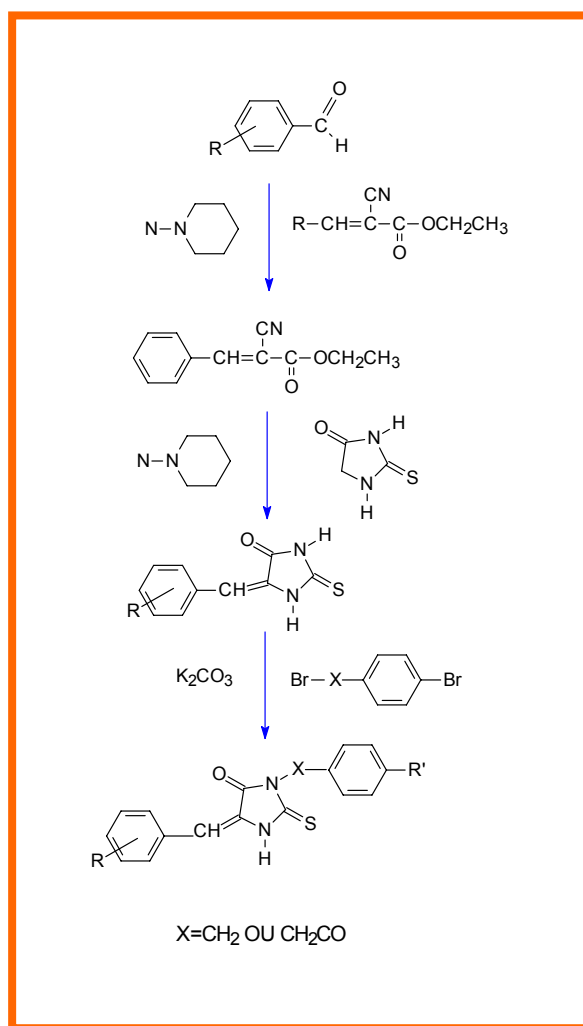
Os espectros de ressonância magnética nuclear de hidrogênio (RMN¹H) foram efetuados em espectrômetro Varian Modelo Unit Plus 300 MHz. Os deslocamentos químicos (δ) foram expressos em ppm e os acoplamentos em Hz. Os espectros de massas foram realizados em espectrofotômetro Varian modelo Plus 70 eV R-1010C Delsi-Nermag.

Os pontos de fusão foram realizados no aparelho Quimis Modelo 340.27.

Para a cromatografia em camada delgada (CCD) foram utilizadas placas de sílica gel Merck 60 F₂₅₄, com de 0,25 mm de espessura, reveladas em luz ultravioleta (254 ou 366 nm).

7.3. Metodologia

O esquema 14 apresenta o diagrama de síntese para a obtenção dos novos derivados das séries 5-benzilideno-3-(4-bromo-benzil) e 5-benzilideno-3-(4-bromo-fenacil)-2-tioxi-imidazolidin-4-onas (**NN**).



Esquema 14: Diagrama de síntese para obtenção de novos derivados imidazolidínicos

7.3.1 Síntese dos Ésteres 2-Ciano-3-fenil-acrilatos de etila (IP)

Em um balão de fundo redondo se adicionou benzaldeídos substituídos e cianoacetato de etila, o catalisador piperidina e benzeno anidro como solvente. Aqueceu-se a mistura reacional lentamente até a estabilização da temperatura a 110 °C, que foi mantida até o fim da reação caracterizada pela eliminação de água. Os precipitados obtidos, os ésteres cianocinâmicos (Tabela 2), foram purificados por cristalizações sucessivas com solventes adequados (Figura 23).

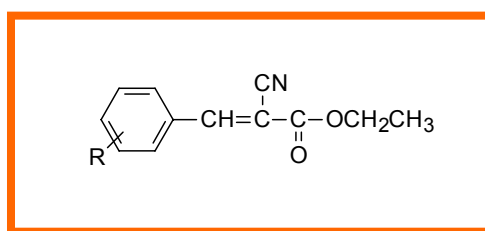
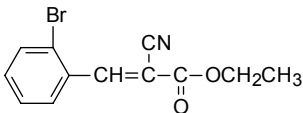
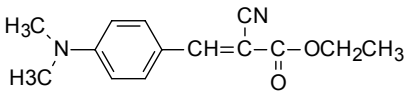
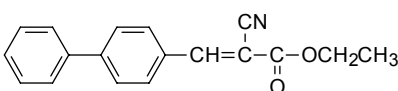


Figura 23: Ésteres 2-ciano-3-fenil-acrilatos de etila

Tabela 2: Quantidades utilizadas na síntese dos ésteres 2-ciano-3-fenil-acrilatos de etila

IP - 08	
	
2-Bromo-benzaldeído	6 g – 0,032 mols
Cianacetato de etila	3,8 mL – 0,032 mols
Piperidina	8 a 10 gotas
Benzeno	26,6 mL
IP-16	
	
4-Dimetilamina-benzaldeído	10 g – 0,067 mols
Cianacetato de etila	7,86 mL – 0,067 mols
Piperidina	8 a 10 gotas
Benzeno	70 mL
IP - 48	
	
4-Fenil-benzaldeído	2 g -0,0109 mols
Cianacetato de etila	1,05112 g – 0,0093 mols
Piperidina	8 a 10 gotas
Benzeno	50 mL

7.3.2. Síntese dos Derivados 5-Benzilideno-2-tioxi-imidazolidin-4-onas (NN)

Dissolveu-se parcialmente a 2-tioxi-imidazolidin-4-ona em etanol anidro juntamente com os derivados 2-ciano-fenil-acrilatos de etila, em presença de piperidina como catalisador. A mistura reacional foi aquecida lentamente até refluxo durante o tempo e temperatura necessários para a obtenção dos derivados. A reação foi acompanhada por análise de cromatografia em camada delgada (CCD) através do sistema eluição adequado. Os derivados da 5-benzilideno-2-tioxi-imidazolidin-4-ona (Tabela 3) foram purificados por recristalizações sucessivas ou lavagens com solventes adequados (Figura 24).

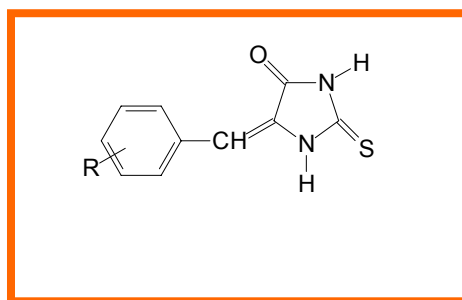
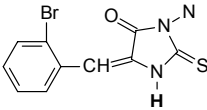
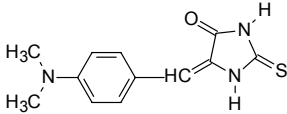
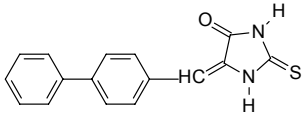


Figura 24: Derivados 5-benzilideno-2-tioxi-imidazolidin-4-ona

Tabela 3: Quantidades utilizadas na síntese das 5-benzilideno-2-tioxi-imidazolidin-4-ona

NN-04	
	
2-Tioxi-imidazolidin-4-ona	0,1 g – 0,000862 mols
2-Ciano-3-(2-bromo-fenil)-acrilato de etila	0,2 g – 0,000862 mols
Etanol anidro	q.s.p
Piperidina	8 a 10 gotas
NN-12	
	
2-Tioxi-imidazolidin-4-ona	0,4 g – 0,0034482 mols
2-Ciano-3-(4-dimetilamina-fenil)-acrilato de etila	0,8 g – 0,0034482 mols
Etanol anidro	q.s.p
Piperidina	8 a 10 gotas
NN - 213	
	
2-Tioxi-imidazolidin-4-ona	0,4 g – 0,001639 mols
2-Ciano-3-(4-difenil)-acrilato de etila	0,2 g – 0,001639 mols
Etanol anidro	q.s.p
Piperidina	8 a 10 gotas

7.3.3. Método Geral de Síntese dos Derivados das séries 5-Benzilideno-3-(4-bromo-benzil) e 5-Benzilideno-3-(4-bromo-fenacil)-2-tioxo-imidazolidin-4-onas (NN)

Para a obtenção dos novos compostos das séries 5-benzilideno-3-(4-bromo-benzil) e 5-benzilideno-3-(4-bromo-fenacil)-2-tioxo-imidazolidin-4-onas (NN) (Tabela 4 e 5) foram colocados, em um balão de fundo redondo os compostos 5-benzilideno-2-tioxo-imidazolidin-4-onas (NN), o carbonato de potássio como catalisador e o metanol como solvente. A mistura reacional foi mantida sob agitação constante à temperatura ambiente, durante 60 minutos. Em seguida, foi adicionado o brometo de 4-bromo-benzila ou brometo de 4-bromo-fenacila. Todas reações foram acompanhadas por análise de cromatografia em camada delgada (CCD) através do sistema eluição adequado e foram purificados por lavagens com os solventes adequados (Figura 25).

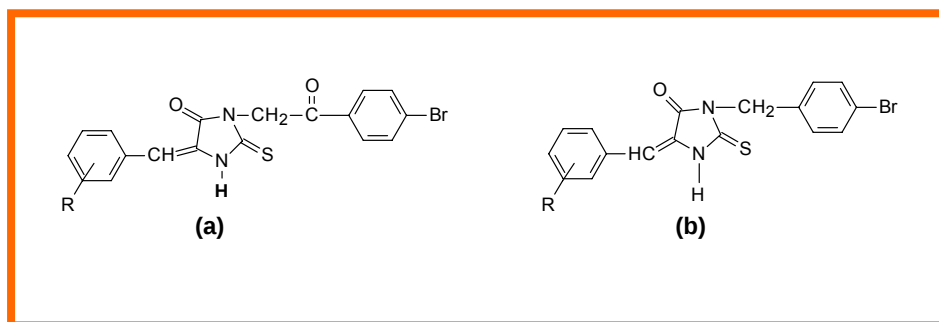
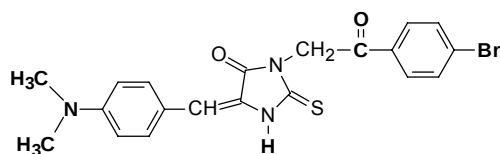


Figura 25: Estrutura geral dos derivados imidazolidínicos: **(a)** 5-benzilideno-3-(4-bromo-fenacil)-2-tioxo-imidazolidin-4-ona **(b)** 5 benzilideno-3-(4-bromo-benzil)-2-tioxo-imidazolidin-4-ona.

Tabela 4: Quantidades utilizadas para a síntese dos derivados imidazolidinônicos das séries 5-Benzilideno-3-(4-bromo-benzil) e 5 benzilideno-3-(4-bromo-fenacil)-2-tioxi-imidazolidin-4-onas

NN-165**NN-12**

0,4g – 0,001619 mols

 K_2CO_3

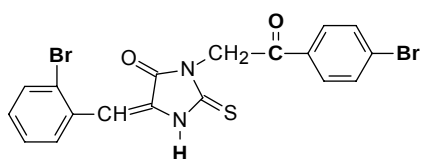
0,4g – 0,001619 mols

Brometo de 4-bromo-fenacil

0,2g – 0,001619 mols

MeOH

q.s.p

NN-166**NN-4**

0,1g – 0,000353 mols

 K_2CO_3

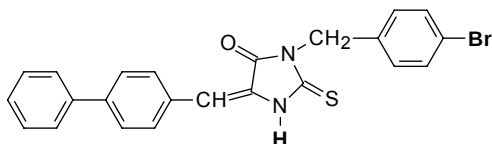
0,05g – 0,000353 mols

Brometo de 4-bromo-fenacil

0,09g – 0,000353 mols

MeOH

q.s.p

NN-210**NN-213**

0,2g – 0,000714 mols

 K_2CO_3

0,1g – 0,000714 mols

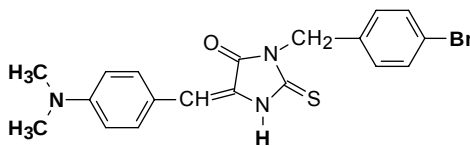
Brometo de 4-bromo-benzil

0,1g – 0,000714 mols

MeOH

q.s.p

Tabela 5: quantidades utilizadas para a síntese dos derivados imidazolidinônicos das séries 5-Benzilideno-3-(4-bromo-benzil) e 5 benzilideno-3-(4-bromo-fenacil)-2-tioxi-imidazolidin-4-onas

NN-211**NN-12**

0,5g – 0,002024 mols

 K_2CO_3

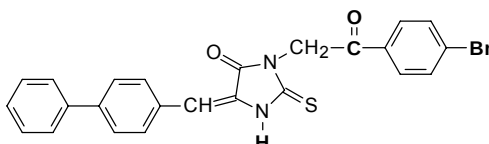
0,5g – 0,002024 mols

Brometo 4-bromo-benzil

0,3g – 0,002024 mols

MeOH

q.s.p

NN-212**NN-213**

0,4g – 0,001428 mols

 K_2CO_3

0,3g – 0,001428 mols

Brometo de 4-bromo-fenacil

0,2g – 0,001428 mols

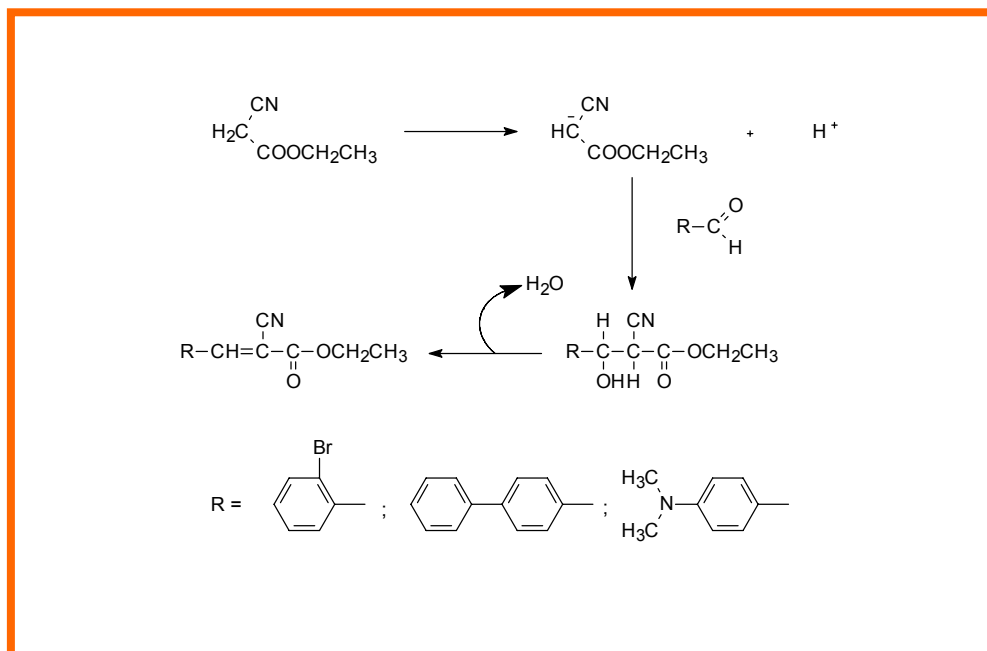
MeOH

q.s.p

8. RESULTADOS E DISCUSSÃO**8.1. 2-Ciano-3-fenil-acrilatos de etila (IP)**

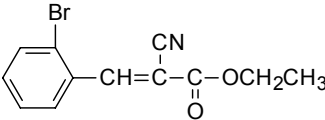
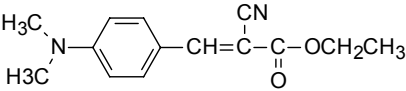
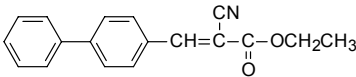
A síntese dos ésteres foi realizada de acordo com a metodologia desenvolvida por Cope e colaboradores (1941), através de uma condensação do tipo Knoevenagel entre o benzaldeído substituído e o cianoacetato de etila, em uma solução em benzeno anidro tendo como catalisador a piperidina. O mecanismo reacional ocorreu em duas etapas como demonstrado no esquema 15. A obtenção dos ésteres cianocinâmicos apresenta um caráter reversível,

mas a formação do produto é preferencial devido a eliminação de água na forma de mistura azeotrópica. A tabela 5 apresenta os valores das características físico-químicas.



Esquema 15: Mecanismo reacional dos ésteres 2-ciano-3-fenil-acrilatos de etila (COPE et al.;1941)

Tabela 6: Características físico-químicas dos ésteres 2-ciano-3-fenil-acrilatos de etila

IP- 08

FM C ₁₂ H ₁₀ BrO ₂
MM 279,9
Rdt 38%
PF 68-69 C°
Rf 0,8 (Benz/AcOEt 95:5)
IP-16*

FM C ₁₄ H ₁₆ N ₂ O ₂
MM 244
Rdt 50%
PF 122-123 C°
Rf 0,61(Benz/AcOEt 95:5)
IP-48**

FM C ₁₈ H ₁₅ NO ₂
MM 277
Rdt 35%
PF 128-130 C°
Rf 0,61 (<i>n</i> -Hex/AcOEt 7:3)

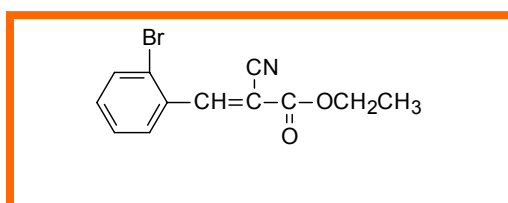
* ROCHA PEREIRA, 2000.

**PEREIRA, 2003.

8.1.1. Análise Espectroscópica dos Derivados 5-Benzilideno-2-tioxi-imidazolidin-4-onas (NN)

Os derivados cianocânicos foram elucidados através do método de ressonância magnética de hidrogênio (Figura 26 – 31)

2-Ciano-(2-bromo-fenil)-acrilato de etila (IP-08)



RMN¹H (δ, ppm) - DMSO – d₆

CH₃ – 1,32 ppm (t, 3H) J = 7,19 Hz

CH₂ – 4,36 ppm (q, 2H) J = 6,89 Hz

CH – 8,50 ppm (s, 1H)

Hidrogênios Aromáticos

8,07 ppm (d d, 1H) J = 7,79 Hz e J=1,79 Hz

7, 87 ppm (d d, 1H) J = 7,79 Hz e J= 1,19 Hz

7, 63 ppm (t, 1H) J= 7,49 Hz

7,56 ppm (d t, 1H) J= 7,49 Hz e J= 2,0 Hz

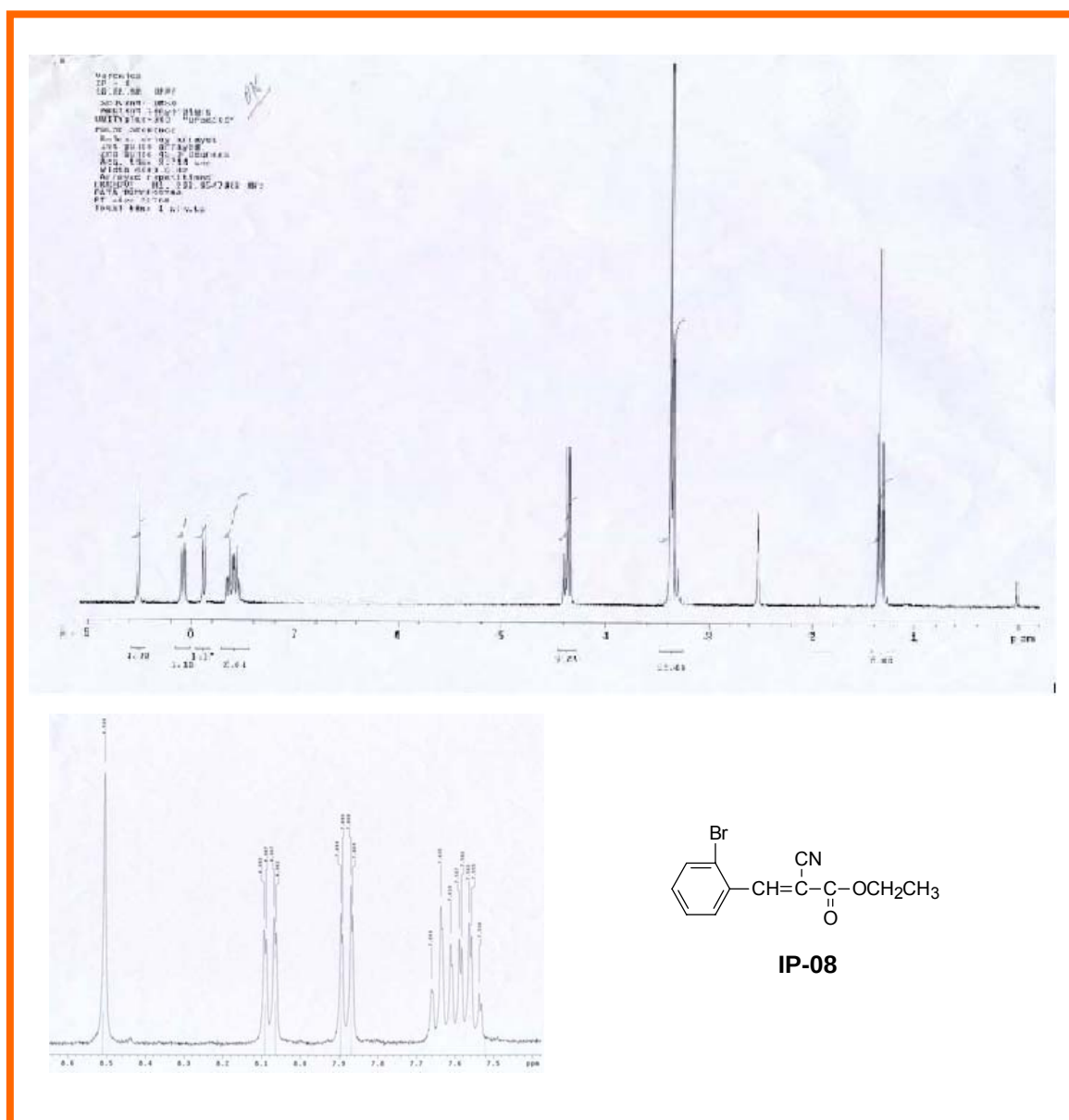
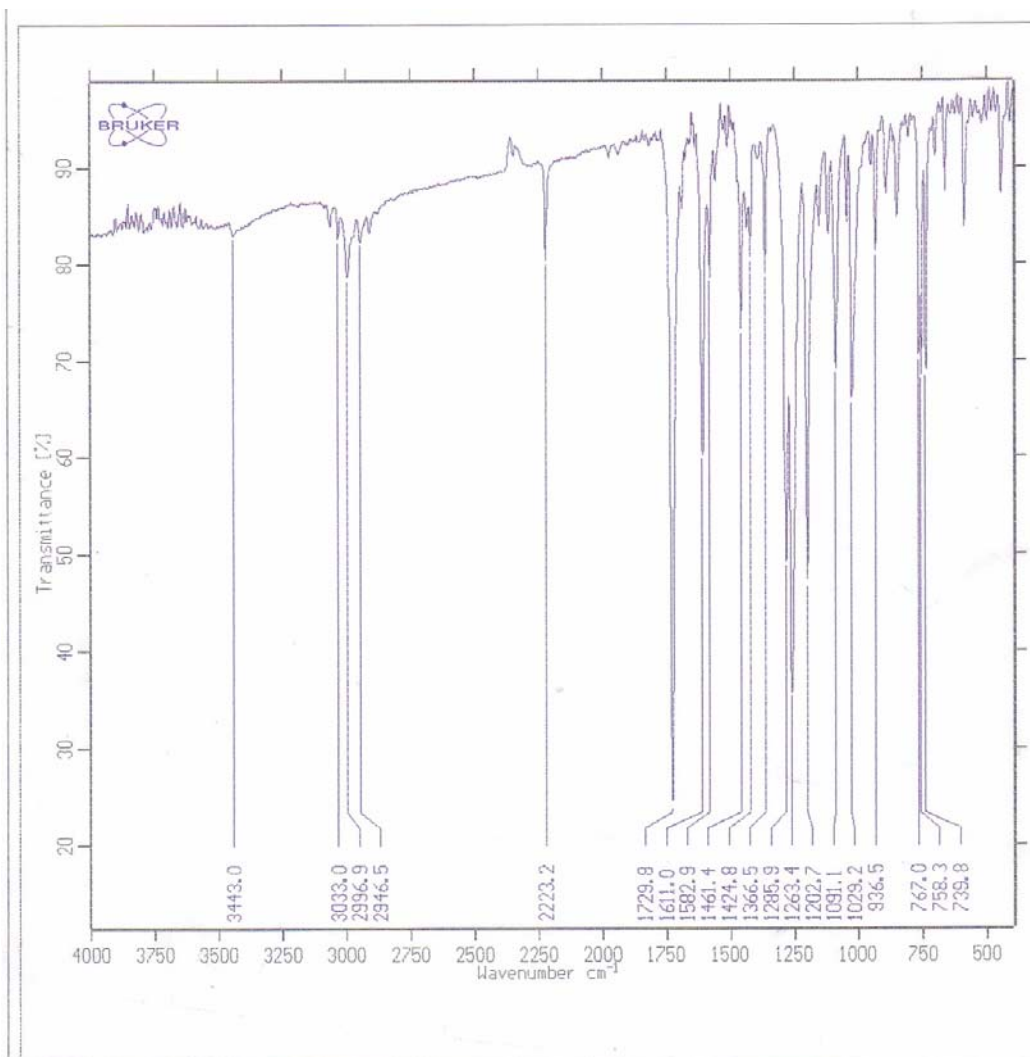


Figura 26: Espectro de ressonância magnética nuclear de hidrogênio do 2-ciano-(2-bromo-fenil)-acrilato de etila (**IP-08**)



IV (cm⁻¹) – KBr

IP-08

=CH - 1611

CN - 2223

C=O – 1729

O-CH₂CH₃ - 1263

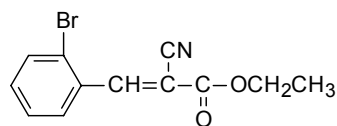
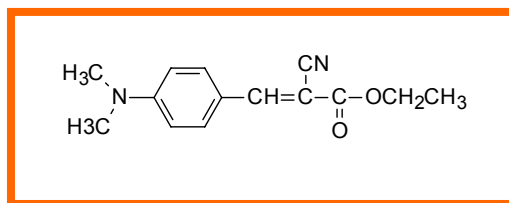


Figura 27: Espectro de infravermelho do 2-ciano-(2-bromo-fenil)-acrilato de etila (**IP-08**)

 2-Ciano-(4-dimetilamino-fenil)-acrilato de etila (IP-16)



RMN¹H (δ, ppm) - DMSO – d₆

CH₃ – 1,28 ppm (t, 3H) J = 7,20 Hz

CH₂ – 4,25 ppm (q, 2H) J = 7,20 Hz

NCH₃ – 3,08 ppm (s, 6H)

CH – 8,10 ppm (s, 1H)

Hidrogênios Aromáticos

6,83 ppm (d, 2H) J = 9,0 Hz

7,96 ppm (d, 2H) J = 9,0 Hz

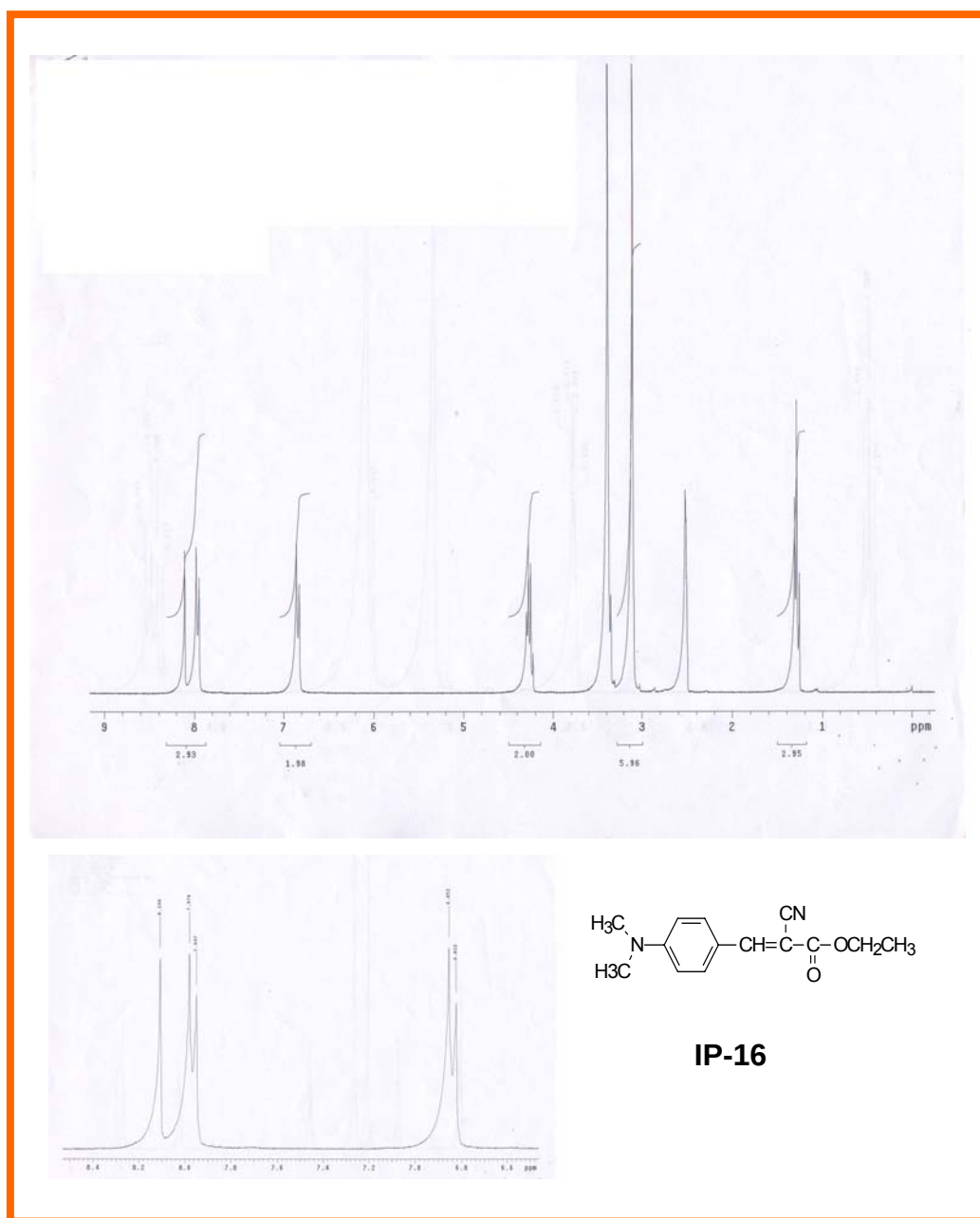


Figura 28: Espectro de ressonância magnética nuclear de hidrogênio do 2-ciano-(2,4-dimetoxi-fenil)-acrilato de etila (**IP-16**)

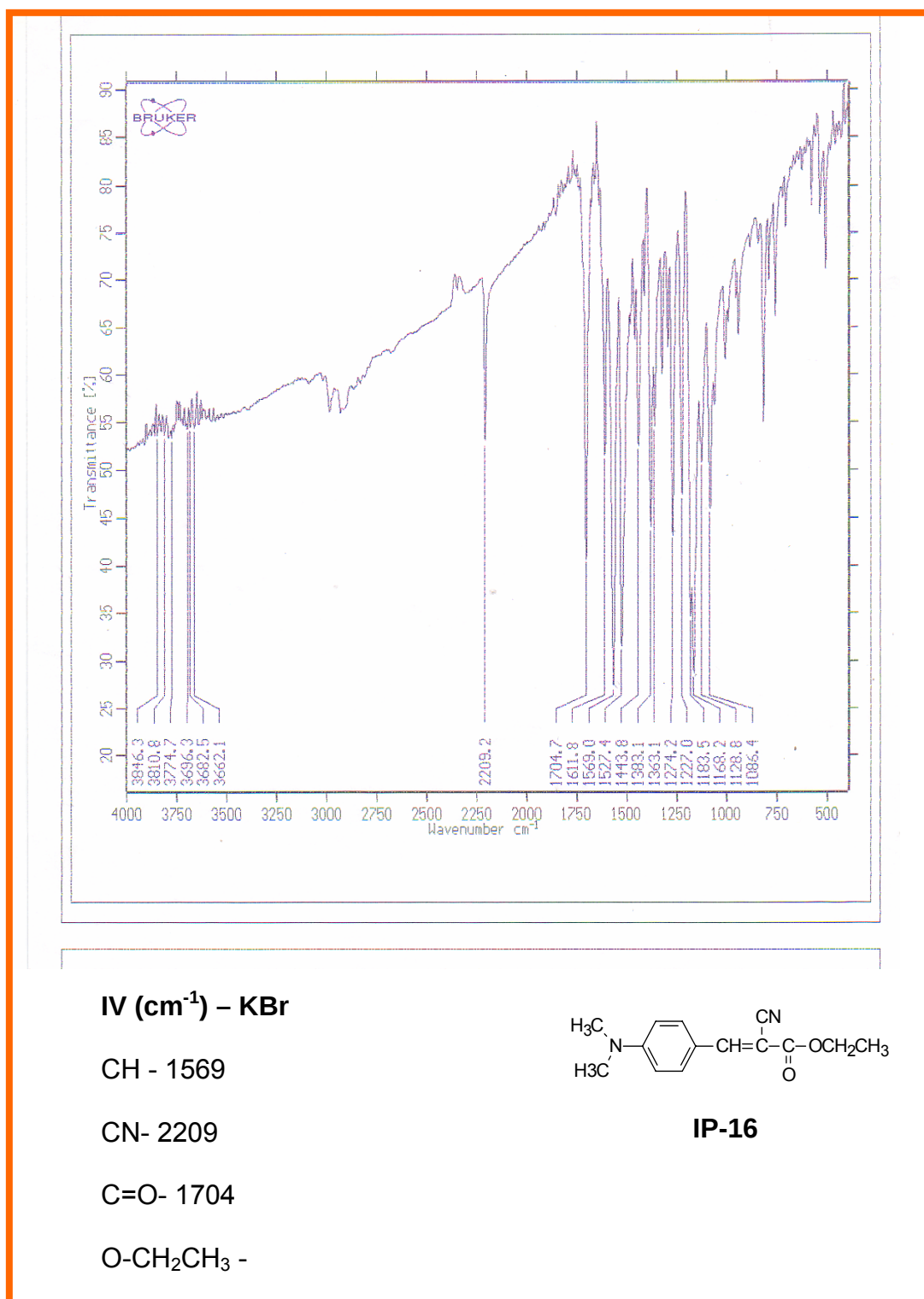
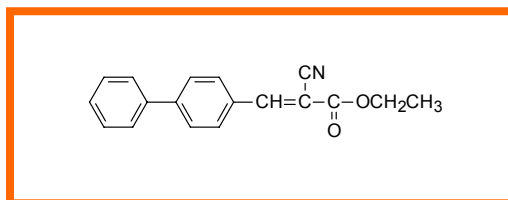


Figura 29: Espectro no infravermelho do 2-ciano-(2,4-dimetoxi-fenil)-acrilato de etila (IP-16)

✚ 2-Ciano-(4-difenil)-acrilato de etila (IP-48)



RMN¹H (δ, ppm) - DMSO – d₆

CH₃ – 1,31 ppm (t, 3H) J = 7,20 Hz

CH₂ – 4,33 ppm (q, 2H) J = 7,20 Hz

CH – 8,45 ppm (s, 1H)

Hidrogênios Aromáticos

8,17 ppm (d, 2H) J = 8,69 Hz

7,93 ppm (d, 2H) J = 8,69 Hz

7,81 ppm (m, 5H) J = 7,44 Hz

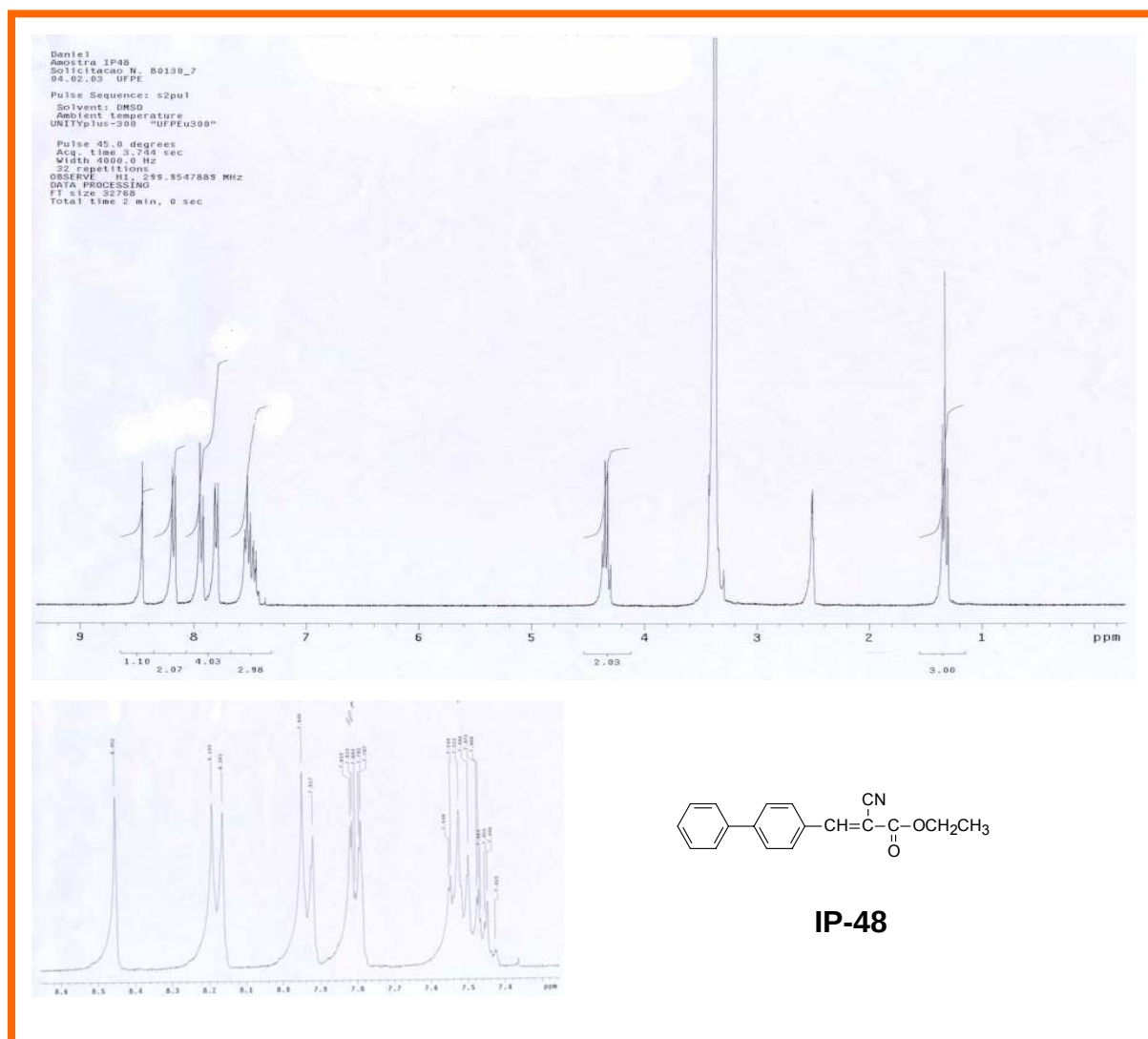


Figura 30: Espectro de ressonância magnética nuclear de hidrogênio do 2-ciano-(2-bromo-fenil)-acrilato de etila (**IP-48**)

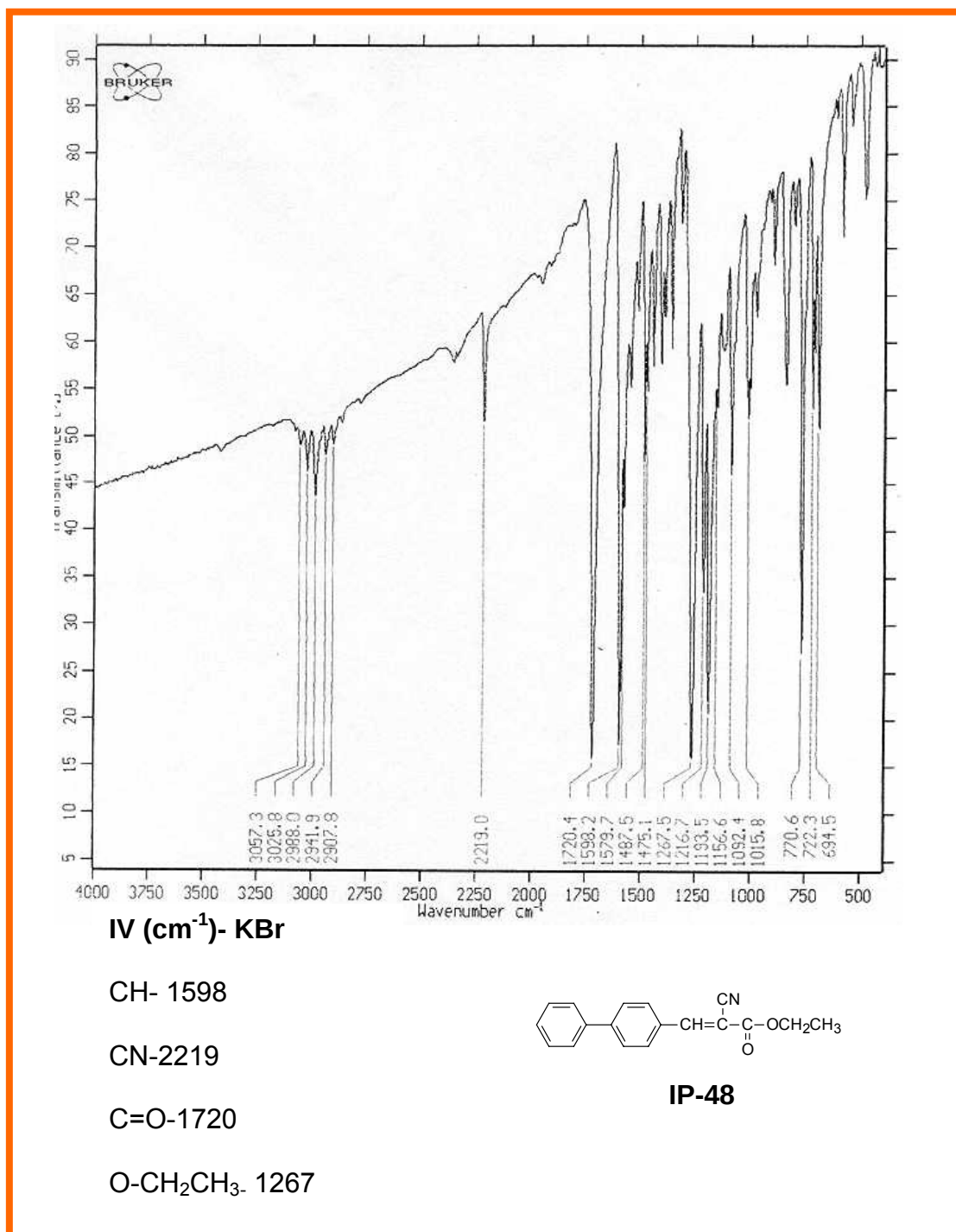
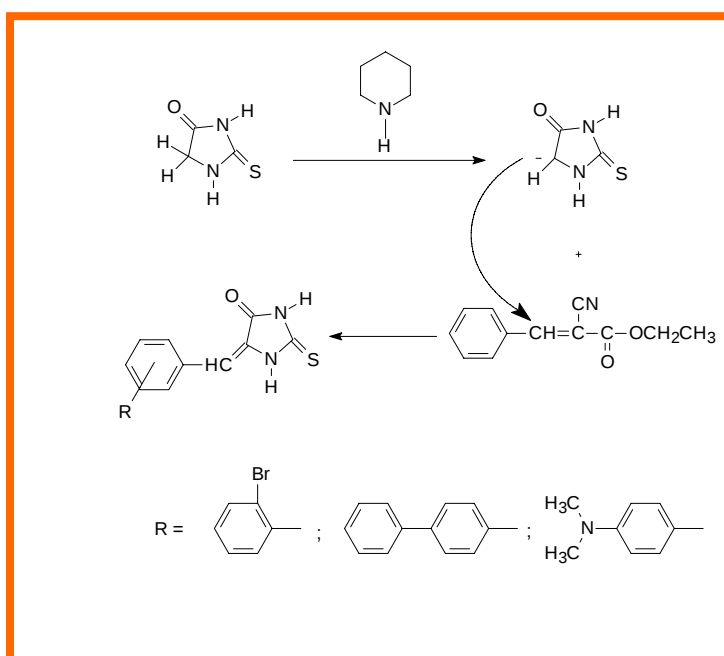


Figura 31: Espectro no infravermelho do 2-ciano-(2-bromo-fenil)-acrilato de etila (IP-48)

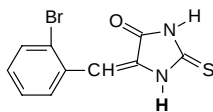
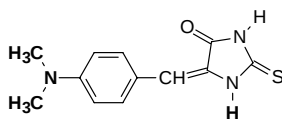
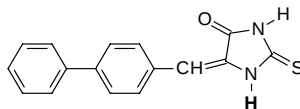
8.2. Derivados 5-benzilideno-2-tioxi-imidazolidin-4-onas (NN)

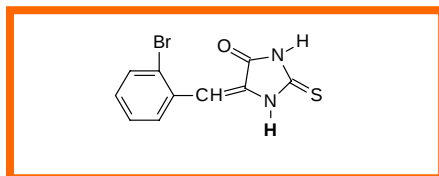
De acordo com Brandão e colaboradores (2004), os derivados 5-benzilideno-2-tioxi-imidazolidin-4-onas (NN) foram obtidos através de uma reação de adição nucleofílica do tipo Michael, onde se utilizou a 2-tioxi-imidazolidin-4-ona com os derivados 2-ciano-3-fenil-acrilatos de etila, a piperidina como catalisador e o etanol como solvente. O mecanismo reacional desta etapa esta representado no esquema 16. A tabela 7 apresenta os valores das características físico-químicas.



Esquema 16: Mecanismo reacional dos derivados 5-benzilideno-2-tioxi-imidazolidin-4-ona (BRANDÃO *et al.*, 2004)

Tabela 7: Características físico-químicas dos derivados 5-benzilideno-2-tioxi-imidazolidin-4-ona

NN-04**FM** C₁₀H₇BrN₂OS**MM** 283**Rdt** 59%**PF** (c°) 237-238 C°**Rf** 0,5 (*n*-Hex/AcOEt 7:3)**NN-12****FM** C₁₂H₁₃N₃OS**MM** 247**Rdt** 50%**PF** 251-253 C°**Rf** 0,48 (Hex/AcOEt 7:3)**NN-213****FM** C₁₆H₁₂N₂OS**MM** 280**Rdt** 54%**PF** 238-240 C°**Rf** 0,68 (Hex/AcOEt 7:3)

5-(2-bromo-benzilideno)-2-tioxi-imidazolidin-4-ona (NN-04)**RMN¹H (δ, ppm) - DMSO – d₆**

2 NH- 12,00 ppm (s, 2H)

=CH-6,56 ppm (s, 1H)

Hidrogênios Aromáticos

7,79 ppm (d, 1H) J = 7,79 Hz

7,72 ppm (d, 1H) J = 7,79 Hz

7,45 ppm (t, 1H) J = 7,49 Hz

7,32 ppm (t, 1H) J = 7,49 Hz

8.2.1. Análise Espectroscópica dos derivados 5-benzilideno-2-tioxi-imidazolidin-4-onas (NN)

Os derivados 5-benzilideno-2-tioxi-imidazolidin-4-ona (NN) foram caracterizados através das absorções no infravermelho em pastilhas de KBr e ressonância magnética nuclear de hidrogênio (Figuras 32-37).

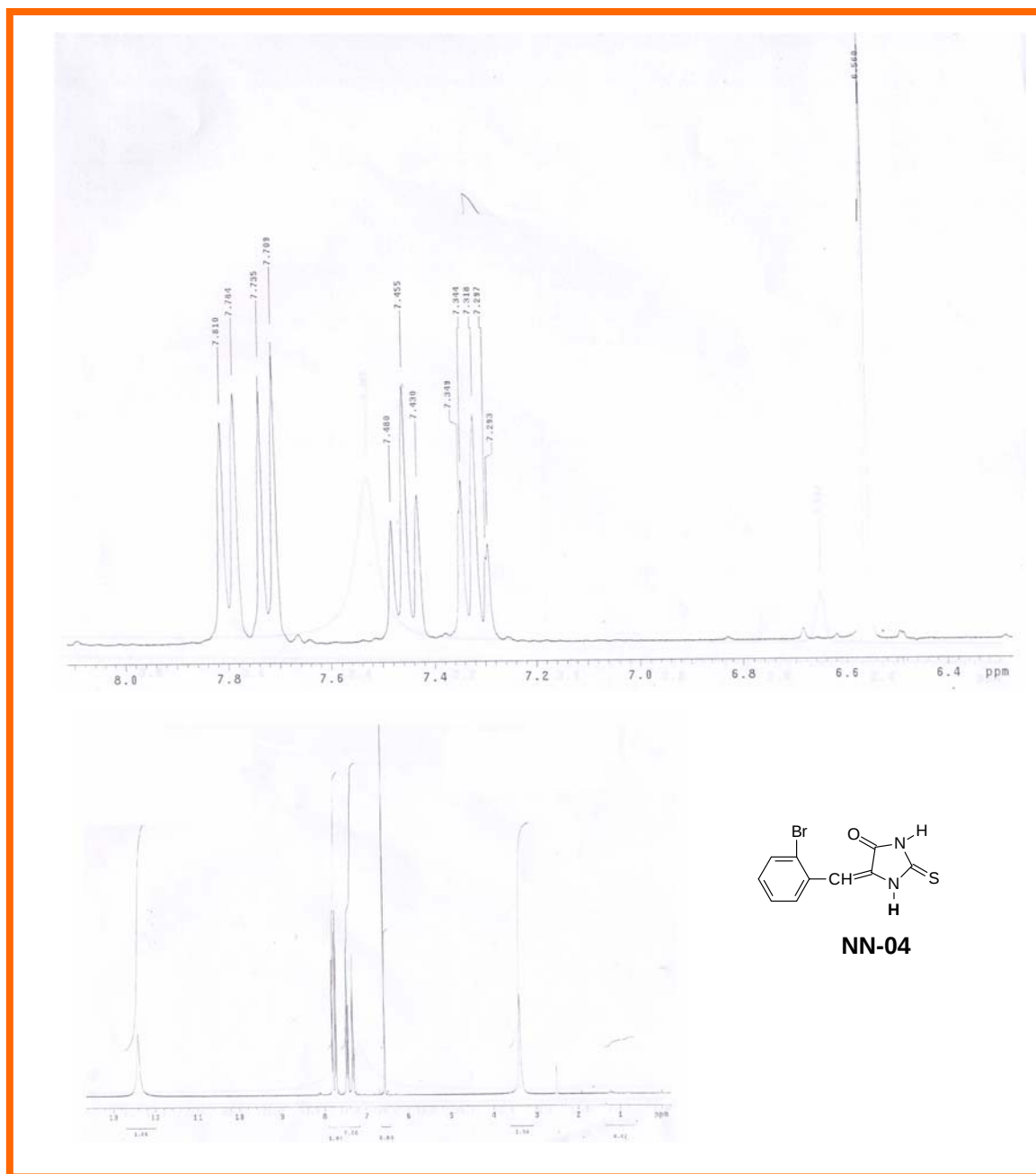


Figura 32: Espectro de ressonância magnética nuclear de hidrogênio do 5-(2-bromo-benzilideno)-2-tioxi-imidazolidin-4-ona (**NN-04**)

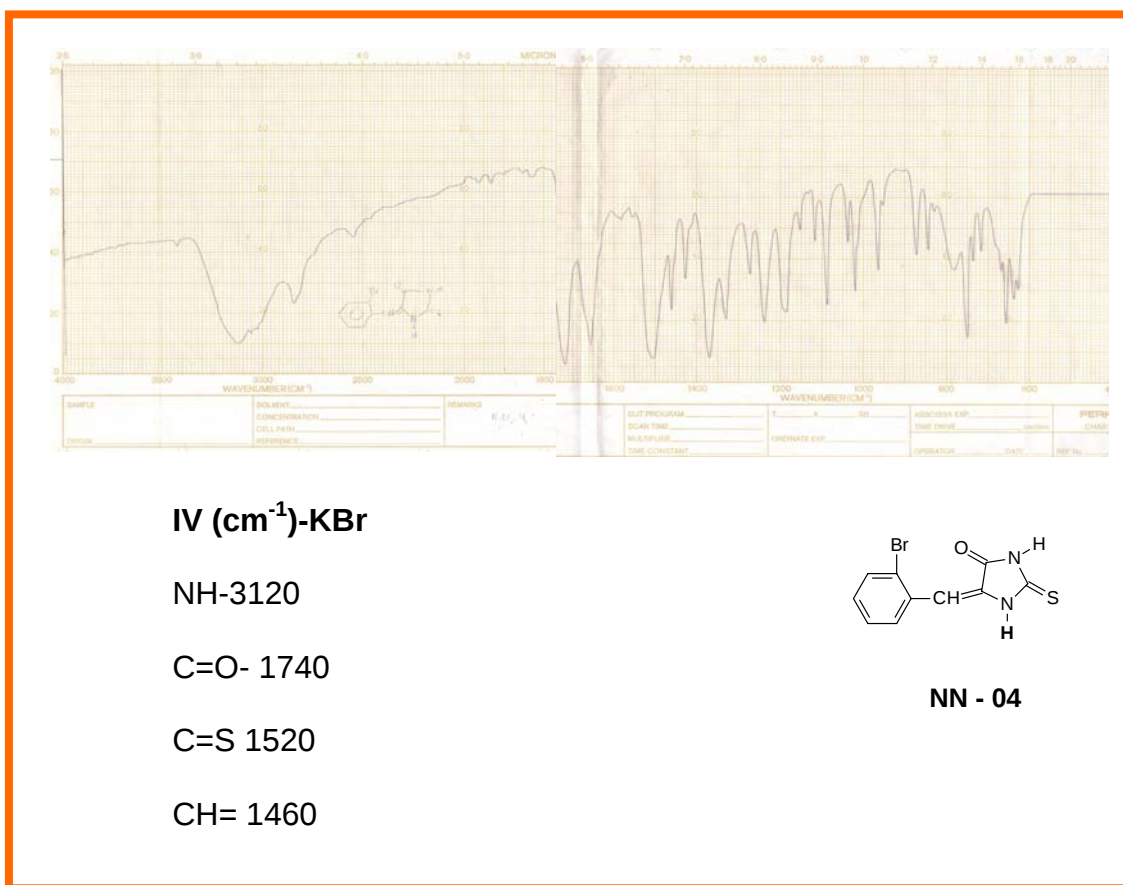
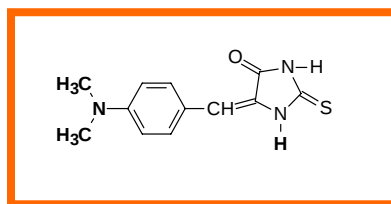


Figura 33: Espectro no infravermelho do 5-(2-bromo-benzilideno)-2-tioxo-imidazolidin-4-ona
(NN-04)

 5-(3-dimetilamina-benzilideno)-2-tioxi-imidazolidin-4-ona (NN-12)



RMN¹H (δ, ppm) - DMSO – d₆

2 NH – 12,02 (s, 2H)

=CH – 6,42 ppm (s, 1H)

Hidrogênios Aromáticos

6,72 ppm (d, 2H) J = 8,99 Hz

7,63 ppm (d, 2H) J = 8,69 Hz

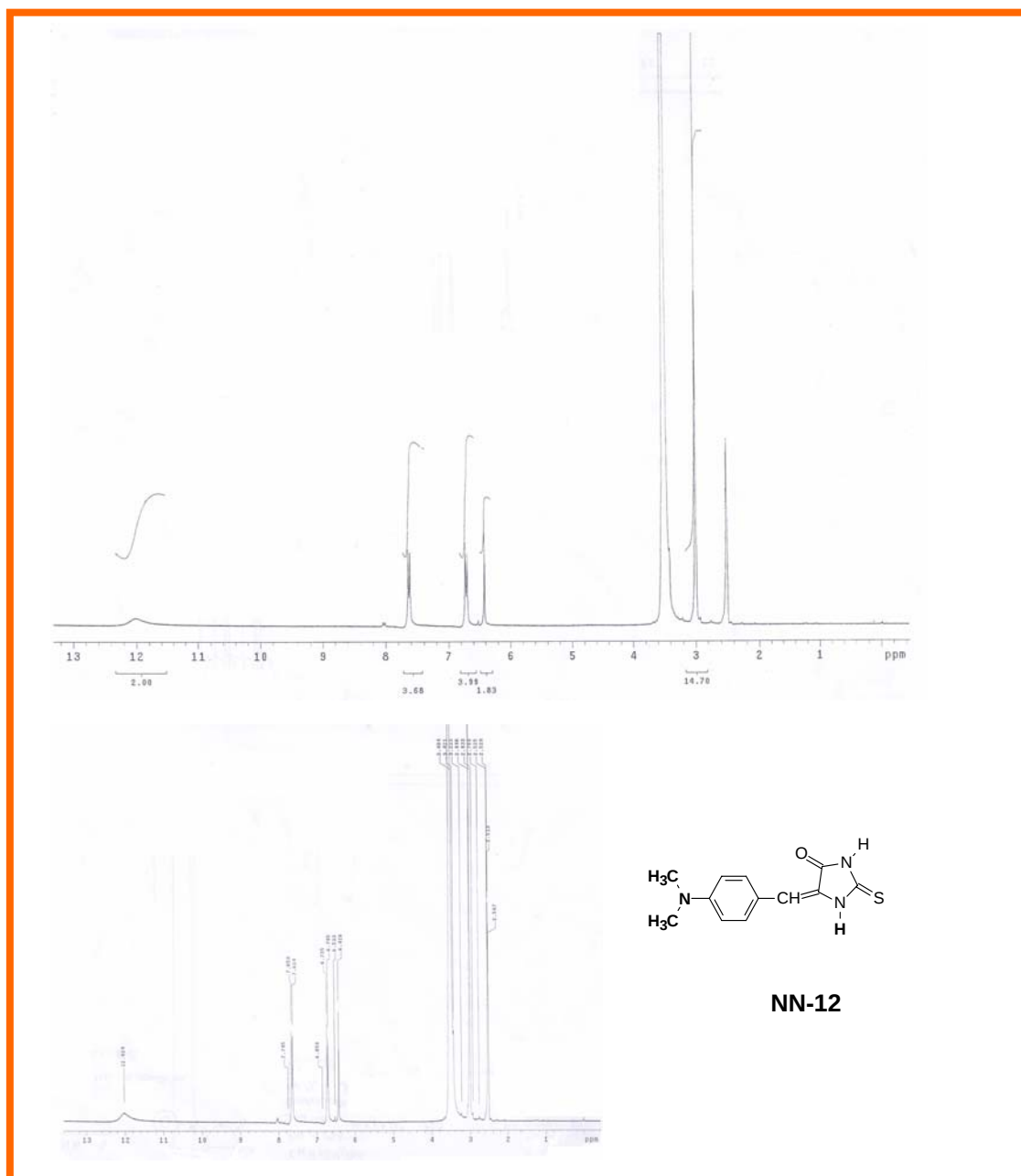


Figura 34: Espectro de ressonância magnética nuclear de hidrogênio do 5-(3-dimetilamina-benzilideno)-2-tioxi-imidazolidin-4-ona (**NN-12**)

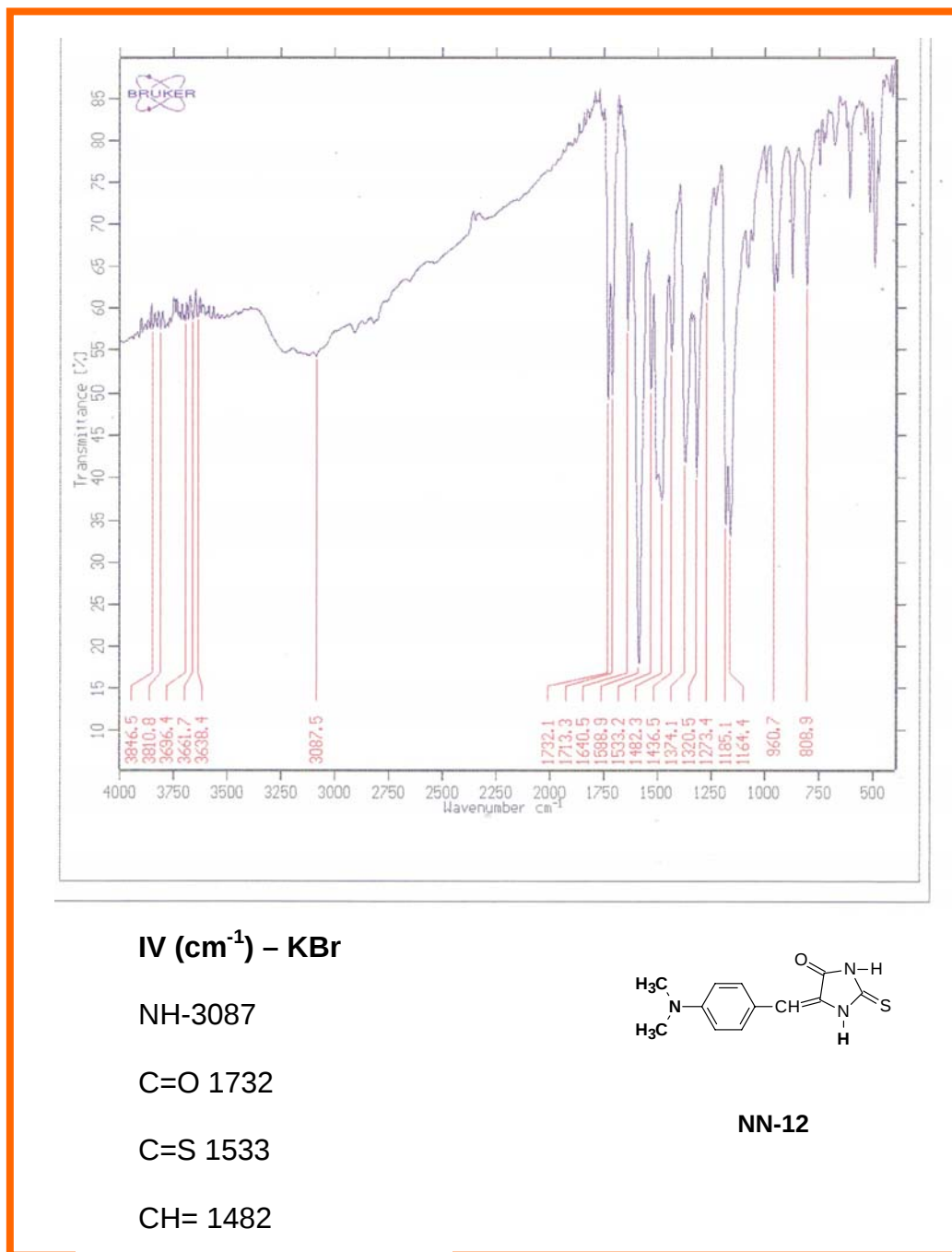
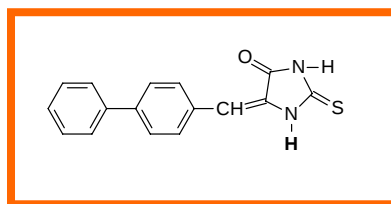


Figura 35: Espectro no infravermelho do 5-(3-dimetilamina-benzilideno)-2-tioxo-imidazolidin-4-ona (**NN-12**)

 5-(3-fenil-benzilideno)-2-tioxi-imidazolidin-4-ona (NN-213)



RMN¹H (δ, ppm) - DMSO – d₆

NH - 12,40 ppm (1H, s)

NH - 12,23 ppm (1H, s)

CH - 6,53 ppm (1H, s)

Hidrogênios benzilidênicos:

7,86 ppm (2H, d) J = 8,39 Hz

8,14 ppm (2H, d) J = 8,39 Hz

Hidrogênios Fenílicos:

7,74 ppm (1H, t) J = 7,19 Hz

7,49 ppm (2H, t) J = 7,49 Hz

7,41 ppm (2H, dd) J = 7,49 Hz.

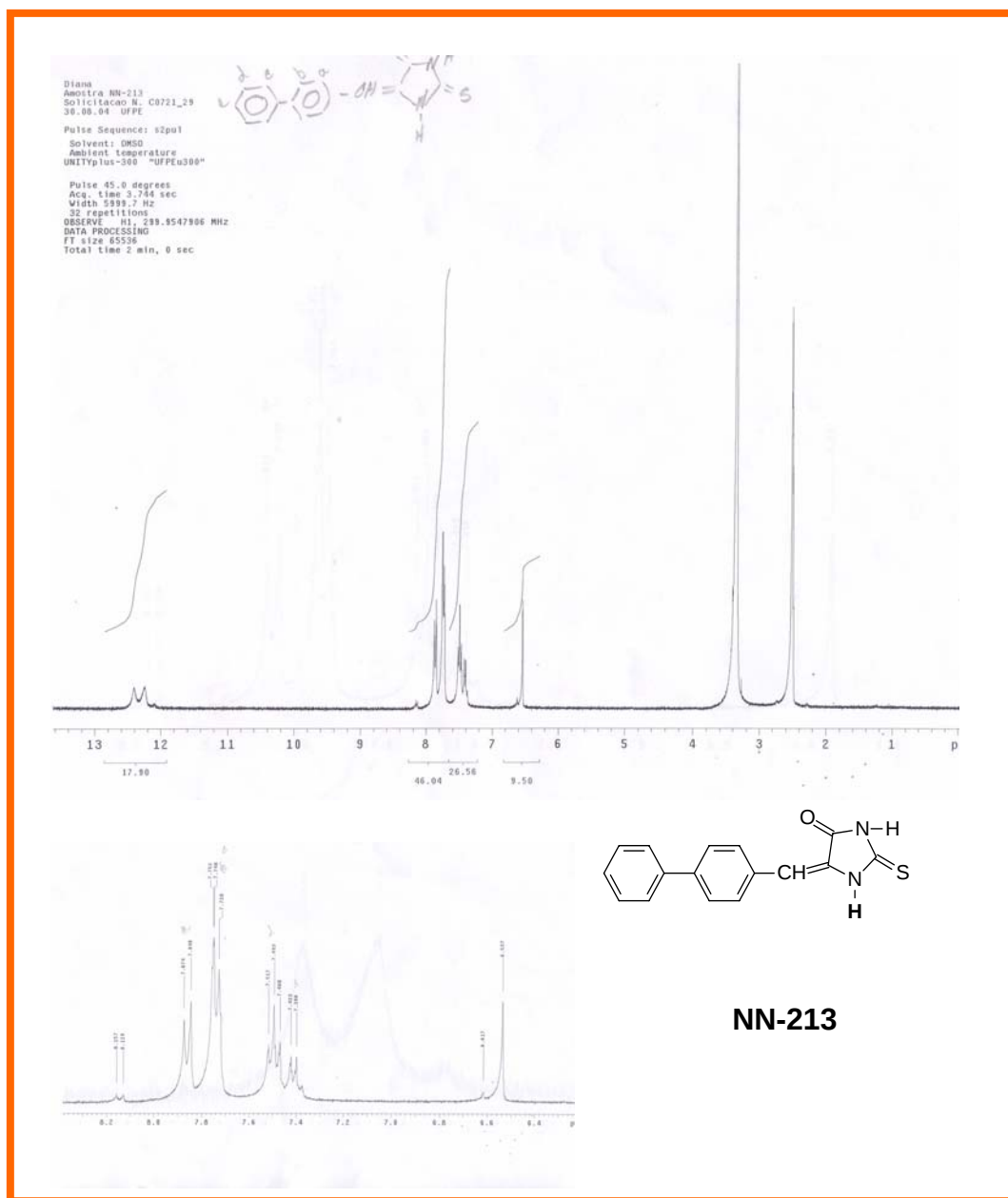


Figura 36: Espectro de ressonância magnética nuclear de hidrogênio do 5-(3-fenil-benzilideno)-2-tioxi-imidazolidin-4-ona (**NN-213**)

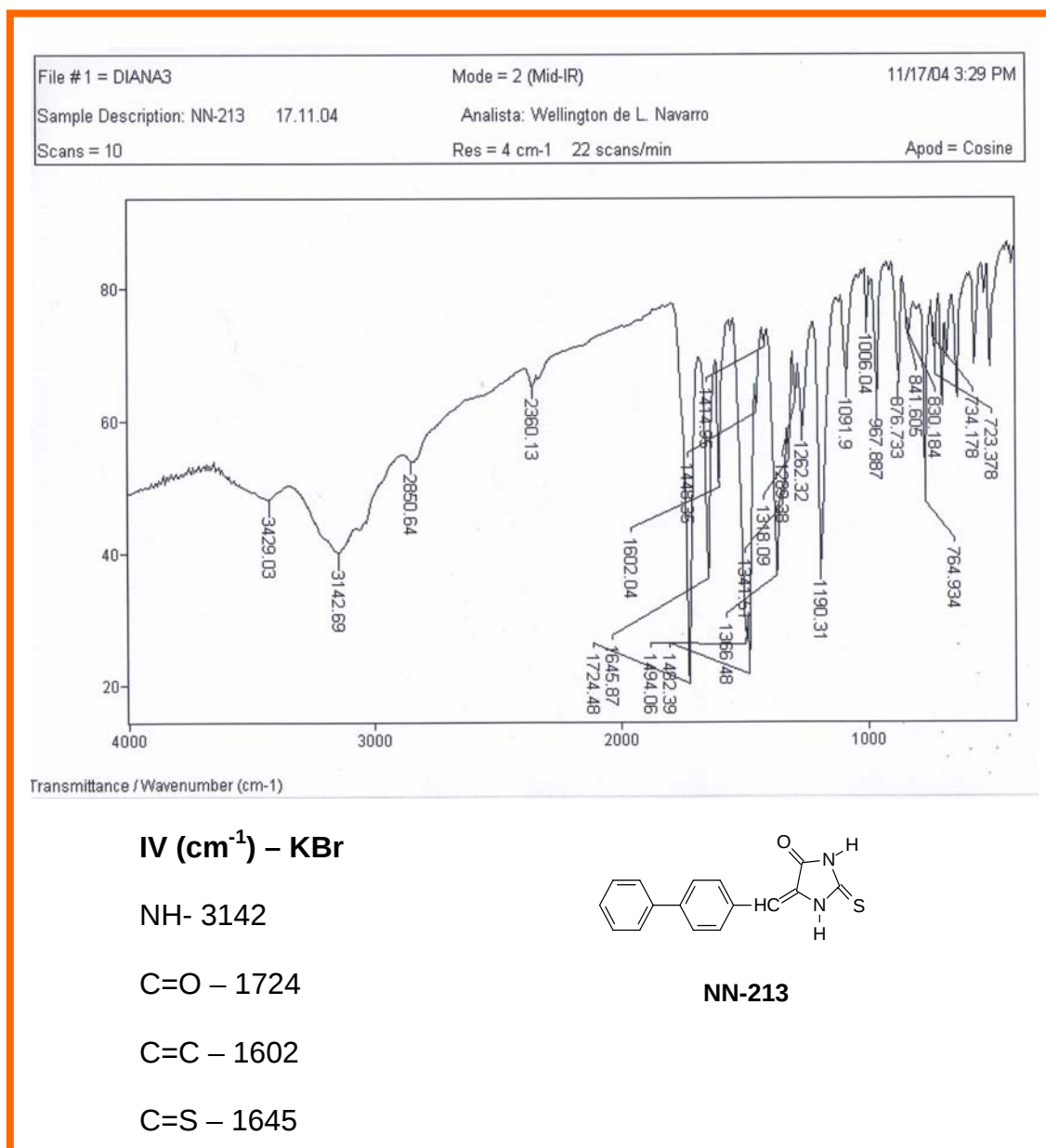
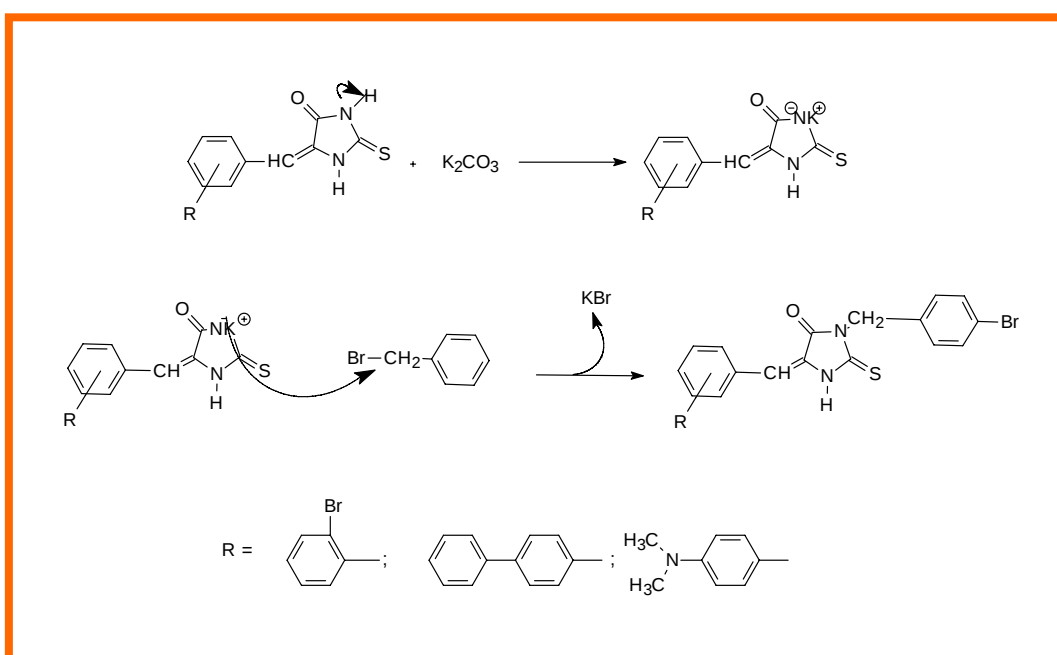


Figura 37: Espectro no infravermelho do 5-(3-fenil-benzilideno)-2-tioxo-imidazolidin-4-ona (NN-213)

8.3. Derivados das Séries 5-Benzilideno-3-(4-bromo-benzil) e 5-benzilideno-3-(4-bromo-fenacil)-2-tioxo-imidazolidin-4-onas (NN)

A obtenção dos novos derivados imidazolidínicos das séries 5-benzilideno-3-(4-bromo-benzil) e 5-benzilideno-3-(4-bromo-fenacil)-2-tioxo-imidazolidin-4-onas (Tabela 8 e 9) foi feita através de uma reação de N-alquilação em posição 3 (BRANDÃO *et al.*, 2004). O esquema 17 apresenta o mecanismo reacional.



Esquema 17: Mecanismo reacional dos derivados 5-Benzilideno-2-tioxo-imidazolidin-4-ona substituídos (BRANDÃO *et al.*, 2004).

Tabela 8: Características físico-químicas dos derivados imidazolidinônicos das séries 5-Benzilideno-3-(4-bromo-benzil) e 5 benzilideno-3-(4-bromo-fenacil)-2-tioxi-imidazolidin-4-onas

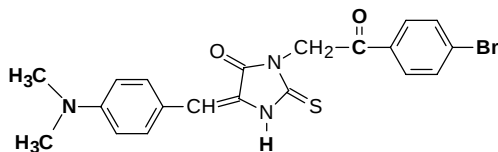
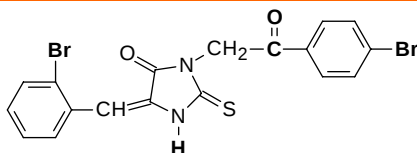
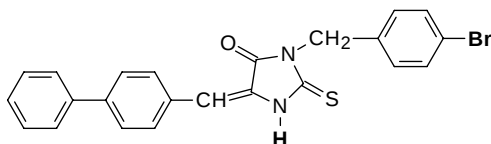
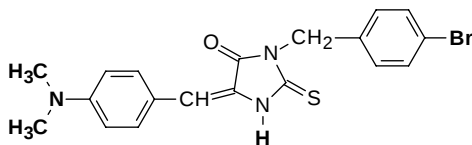
NN-165**FM** C₂₀H₁₈BrNO₂S**MM** 444**Rdt** 29%**PF** 210-212 C°**Rf** 0,58 (Hex/AcOEt 7:3)**NN-166****FM** C₁₈H₁₂BrN₂O₂S**MM** 400**Rdt** 66,6 %**PF** 190-192 C°**Rf** 0,6 (Hex/AcOEt 7:3)**NN-210****FM** C₂₃H₁₇BrN₂OS**MM** 449**Rdt** 95%**PF** 218-220 C°**Rf** 0,6 (Hex/AcOEt 7:3)

Tabela 9: Características físico-químicas dos derivados imidazolidínicos das séries 5-Benzilideno-3-(4-bromo-benzil) e 5 benzilideno-3-(4-bromo-fenacil)-2-tioxi-imidazolidin-4-onas

NN-211

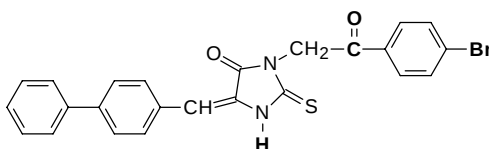
FM C₁₉H₁₈BrN₃OS

MM 404

Rdt 78,5%

PF (c°) 220-222 C°

Rf 0,54 (Hex/AcOEt 7:3)

NN-212

FM C₂₃H₁₇BrN₂OS

MM 449

Rdt 95%

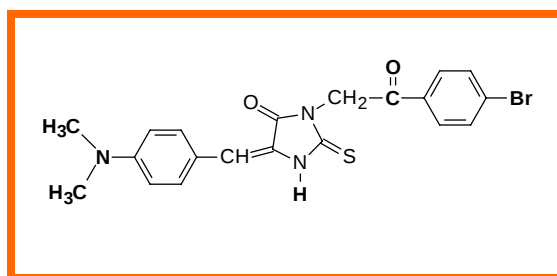
PF (c°) 218-220 C°

Rf 0,6 (Hex/AcOEt 7:3)

8.3.1. Análise Espectroscópica das Séries 5-Benzilideno-3-(4-bromo-benzil) e 5 benzilideno-3-(4-bromo-fenacil)-2-tioxo-imidazolidin-4-onas (NN)

Os derivados derivados imidazolidínicos das séries 5-Benzilideno-3-(4-bromo-benzil) e 5 benzilideno-3-(4-bromo-fenacil)-2-tioxo-imidazolidin-4-onas (NN) foram elucidados através dos métodos espectroscópicos de ressonância magnética de hidrogênio e no infravermelho em pastilhas de KBr (Figuras 38-45)

3-(4-bromo-fenacil)-5-(4-dimetilamina-benzilideno)-2-tioxo-imidazolidin-4-ona (NN-165)



RMN¹H (δ, ppm) - DMSO – d₆

N(CH₃) – 2,94 ppm (s, 6H)

CH₂ – 4,86 ppm (s, 2H)

=CH – 6,54 (s, 1H)

NH – 11,63 (s, 1H)

Hidrogênios Fenílicos

8,11 ppm (d, 2H) J = 8,69 Hz

7,89 ppm (d, 2H) J = 8,69 Hz

Hidrogênios Benzilidênicos

6,22 ppm (d, 2H) J = 8,99 Hz

7,60 ppm (d, 2H) J = 8,99 Hz

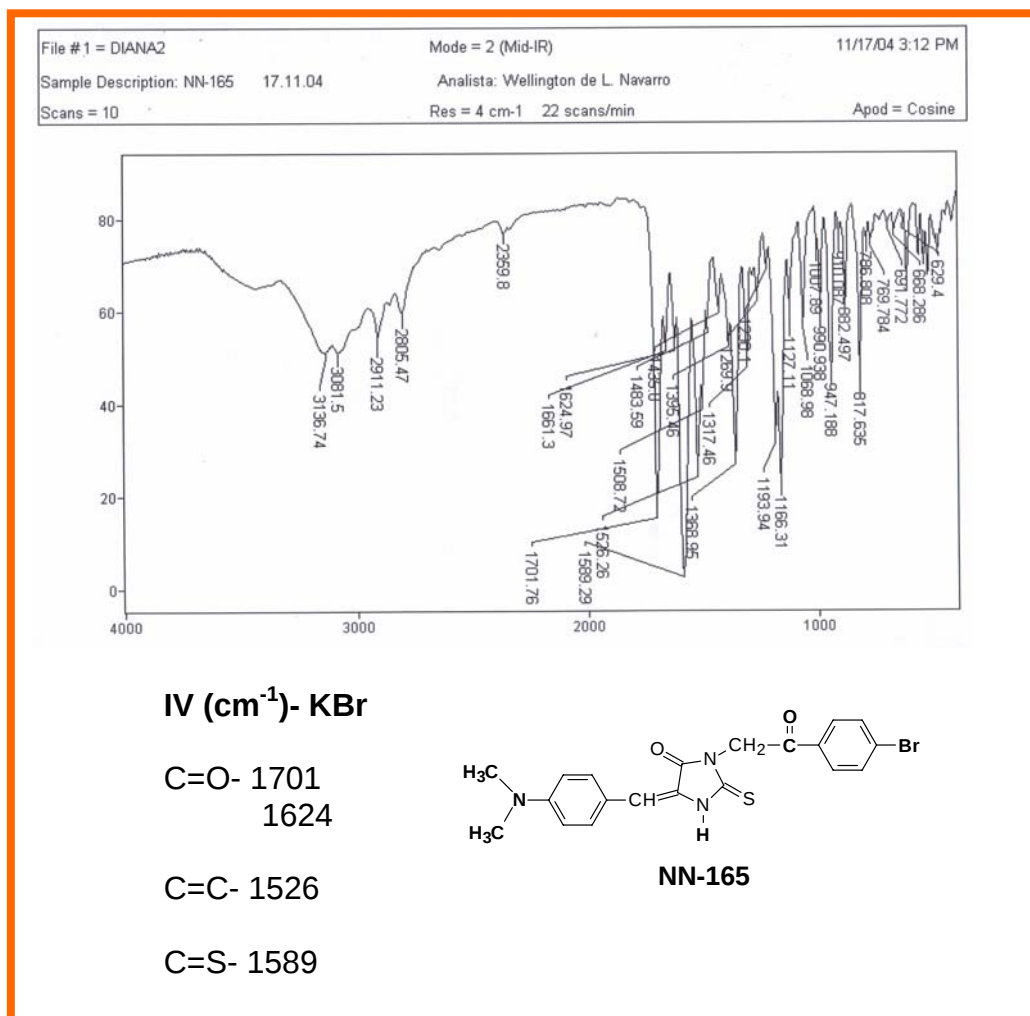
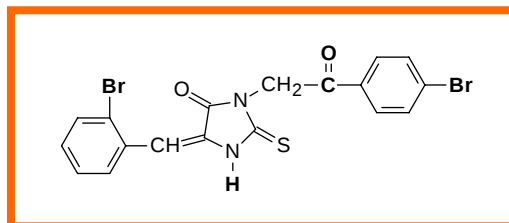


Figura 39: Espectro no infravermelho do 5-(3-fenil-benzilideno)-2-tioxi-imidazolidin-4-ona (NN-165)

 3-(4-bromo-fenacil)-5-(2-bromo-benzilideno)-2-tioxo-imidazolidin-4-ona (NN-166)



RMN1H (d, ppm) - DMSO – d₆

NH – 12,03 ppm (s, 1H)

CH₂ – 4,93 ppm (s, 2H)

CH – 6,89 (s, 1H)

Hidrogênios Fenílicos

8,11 ppm (d, 2H) J = 8,69 Hz

7,89 ppm (d, 2H) J = 8,69 Hz

Hidrogênios Benzilidênicos

7,63 ppm (d, 2H) J = 7,79 Hz

7,17 ppm (d, 2H) J = 8,99 Hz

7,17 ppm (d, 2H) J = 7,79 Hz

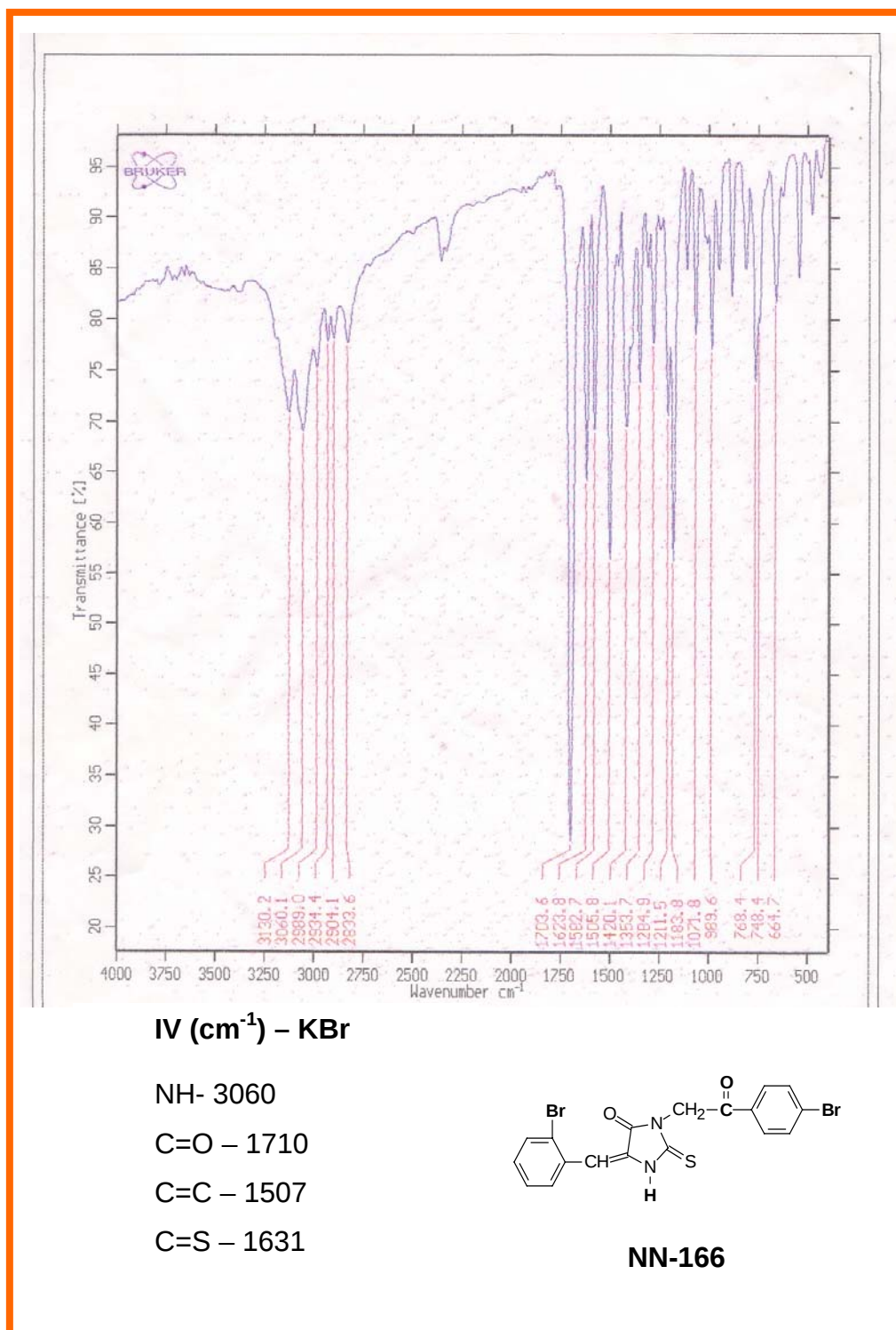
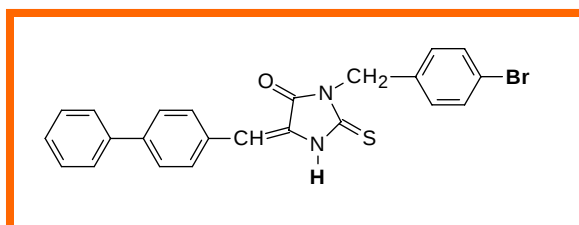


Figura 41: Espectro no infravermelho 3-(4-bromo-fenacil)-5-(2-bromo-benzilideno)-2-tioxi-imidazolidin-4-ona (**NN-166**)

 3-(4-bromo-benzil)-5-(4-fenil-benzilideno)-2-tioxi-imidazolidin-4-ona (NN-210)



RMN¹H (δ, ppm) - DMSO – d₆

N(CH₃) – 2,94 ppm (s, 6H)

CH₂ – 4,86 ppm (s, 2H)

=CH – 6,54 (s, 1H)

NH – 11,63 (s, 1H)

Hidrogênios Fenílicos

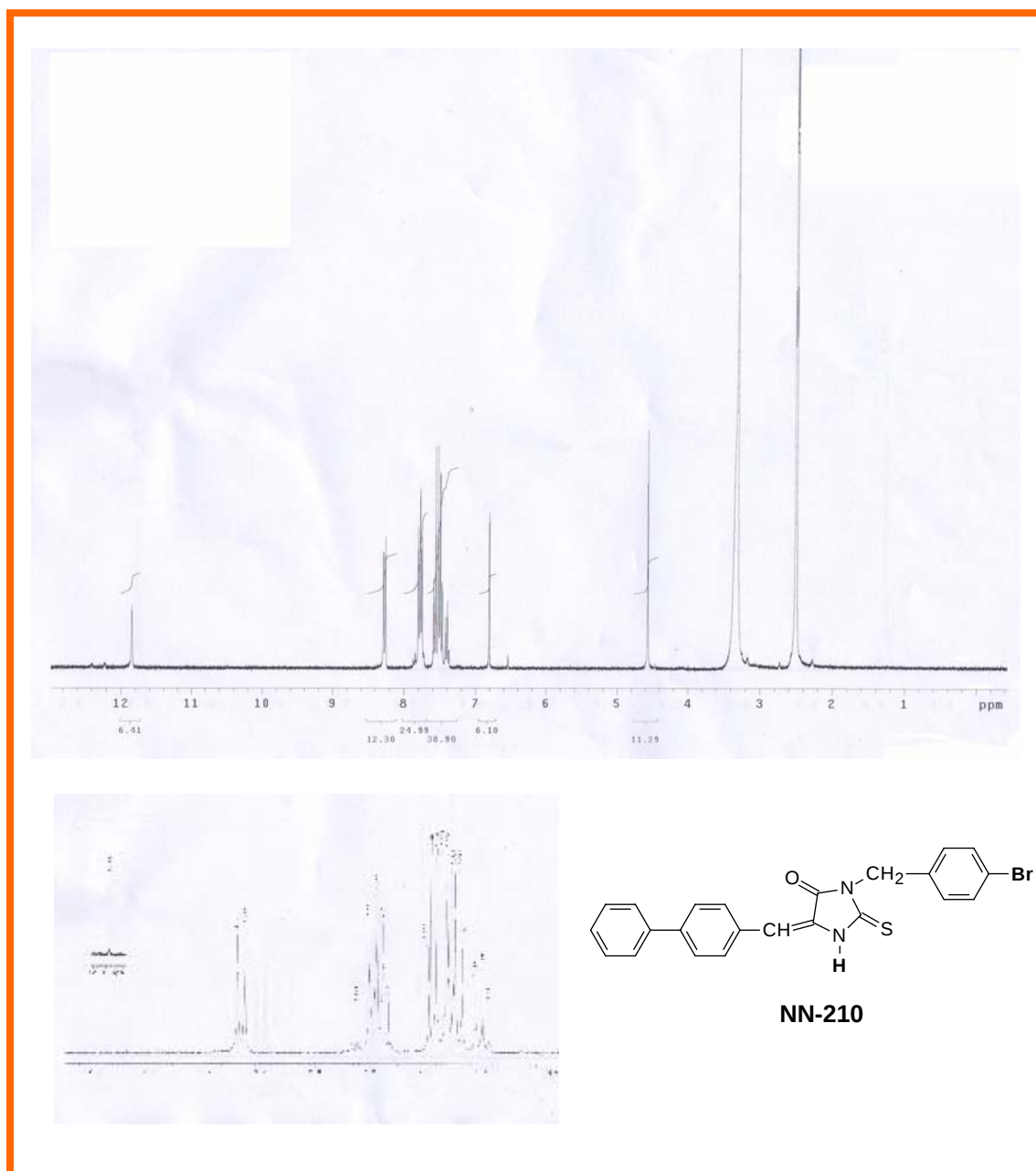
8,11 ppm (d, 2H) J = 8,69 Hz

7,89 ppm (d, 2H) J = 8,69 Hz

Hidrogênios Benzilidênicos

6,22 ppm (d, 2H) J = 8,99 Hz

7,60 ppm (d, 2H) J = 8,99 Hz



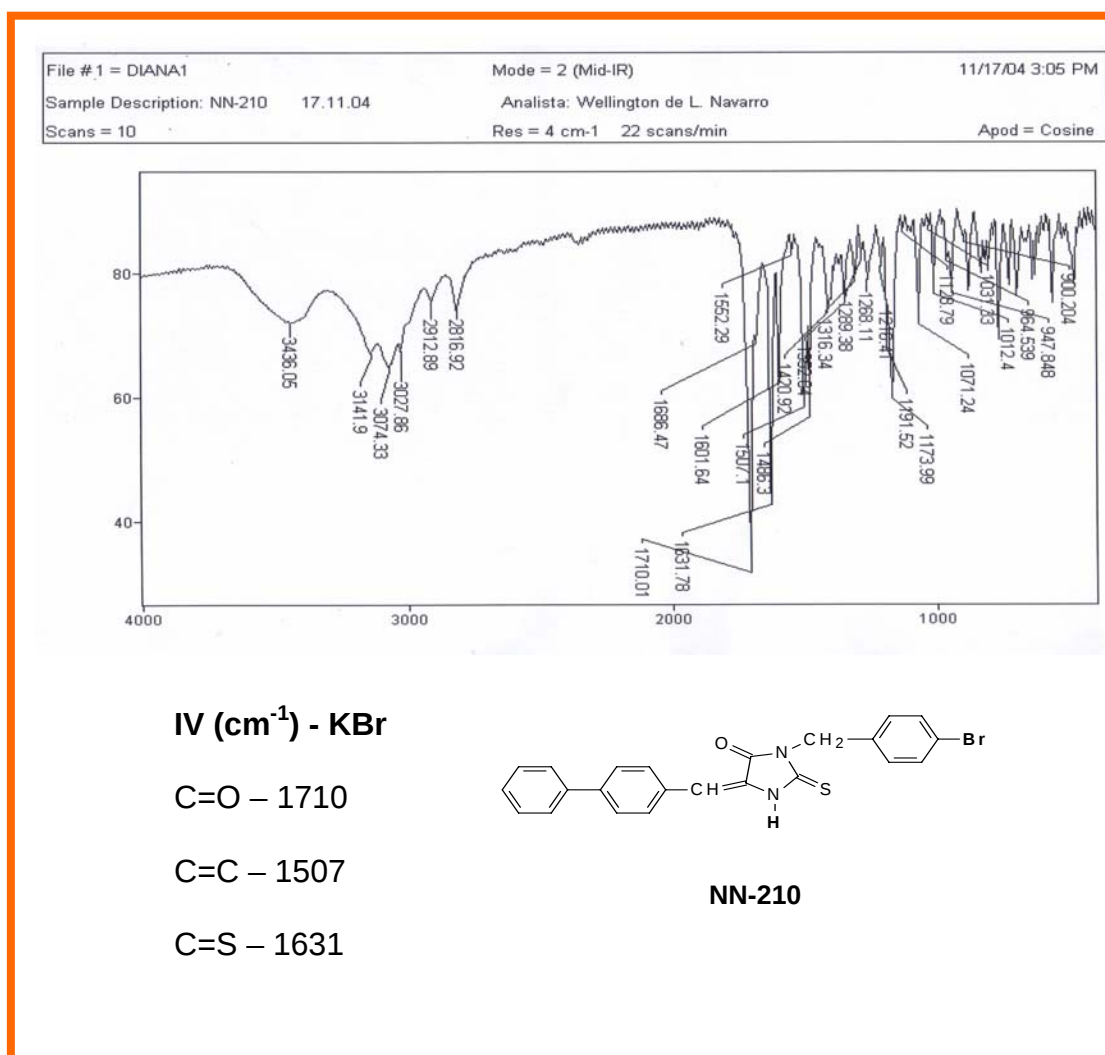
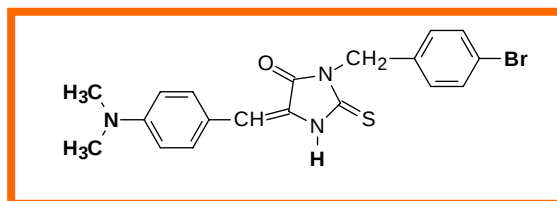


Figura 44: Espectro no infravermelho no 3-(4-bromo-benzil)-5-(4-fenil-benzilideno)-2-tioxi-imidazolidin-4-ona (**NN-210**)

 3-(4-bromo-benzil)-5-(4-dimetilamina-benzilideno)-2-tioxi-imidazolidin-4-ona (NN-211)



RMN¹H (δ, ppm) - DMSO – d₆

N(CH₃) – 3,00 ppm (s, 6H)

CH₂ – 4,50 ppm (s, 2H)

=CH – 6,66 (s, 1H)

NH – 11,50 (s, 1H)

Hidrogênios Benzílicos

7,47 ppm (d, 2H) J = 8,39 Hz

7,54 ppm (d, 2H) J = 8,39 Hz

Hidrogênios Benzilidênicos

6,75 ppm (d, 2H) J = 8,69 Hz

8,03 ppm (d, 2H) J = 8,69 Hz

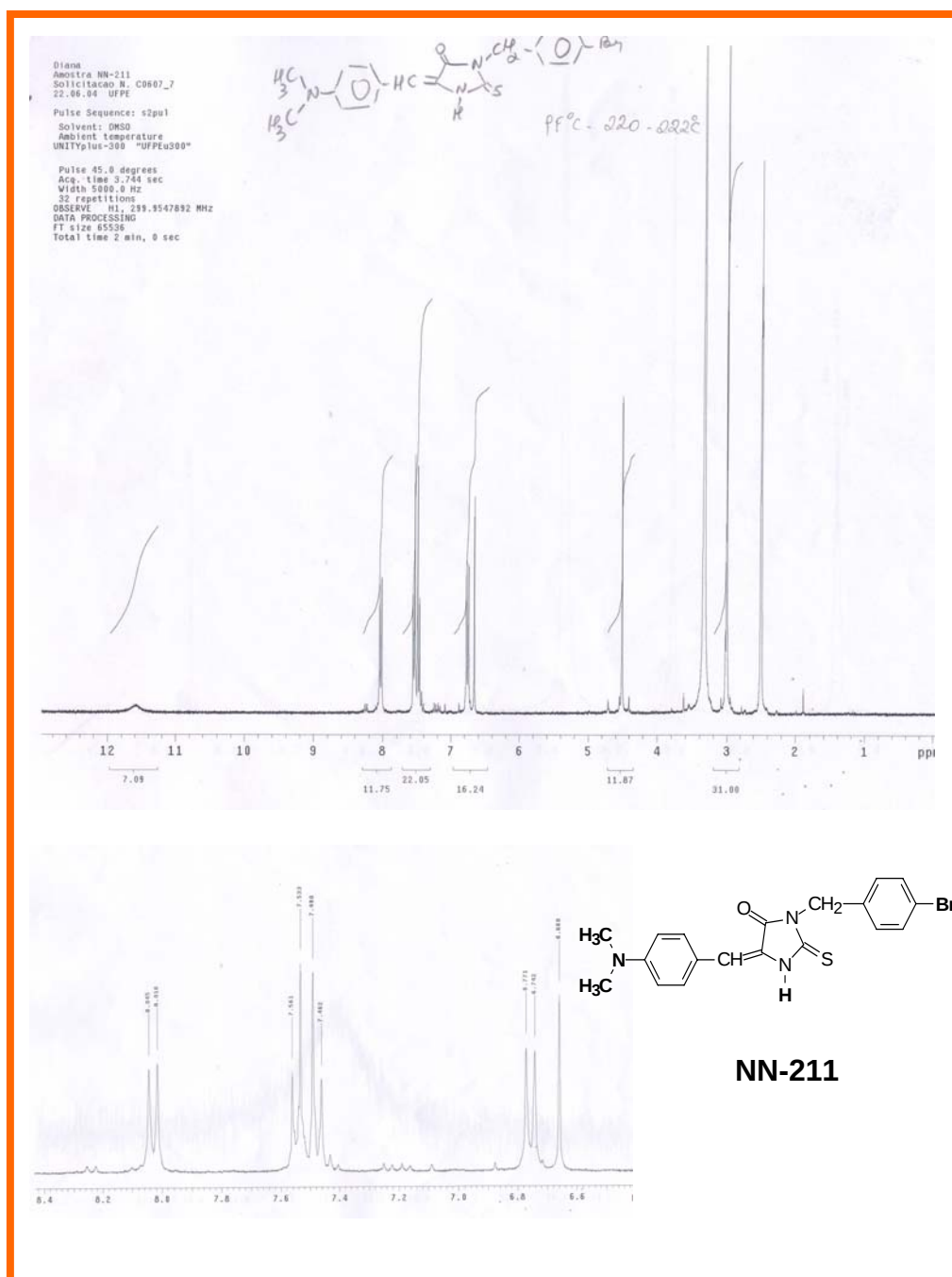
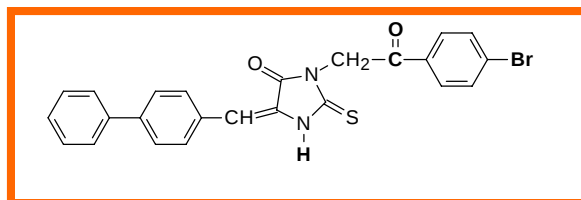


Figura 45: Espectro de ressonância magnética nuclear de hidrogênio do 3-(4-bromobenzil)-5-(4-dimetilamina-benzilideno)-2-tioxi-imidazolidin-4-ona (**NN-211**)

 3-(4-bromo-fenacil)-5-(4-fenil-benzilideno)-2-tioxi-imidazolidin-4-ona (NN-212)



RMN¹H (δ, ppm) - DMSO – d₆

N(CH₃) – 2,94 ppm (s, 6H)

CH₂ – 4,86 ppm (s, 2H)

=CH – 6,54 (s, 1H)

NH – 11,63 (s, 1H)

Hidrogênios Fenílicos

8,11 ppm (d, 2H) J = 8,69 Hz

7,89 ppm (d, 2H) J = 8,69 Hz

Hidrogênios Benzilidênicos

6,22 ppm (d, 2H) J = 8,99 Hz

7,60 ppm (d, 2H) J = 8,99 Hz

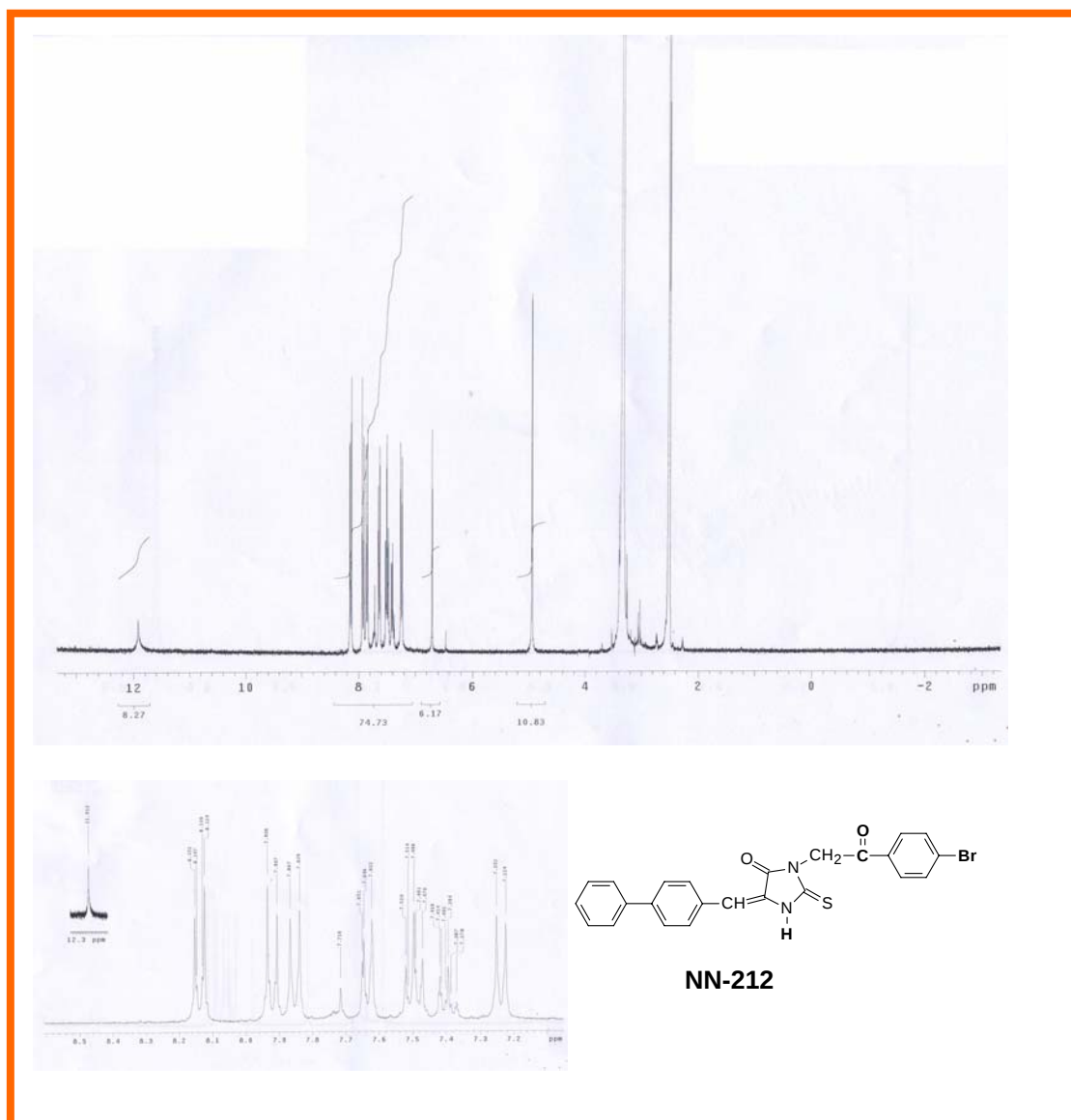


Figura 46: Espectro de ressonância magnética nuclear de hidrogênio 3-(4-bromo-fenacil)-5-(4-fenil-benzilideno)-2-tioxo-imidazolidin-4-ona (**NN-212**)

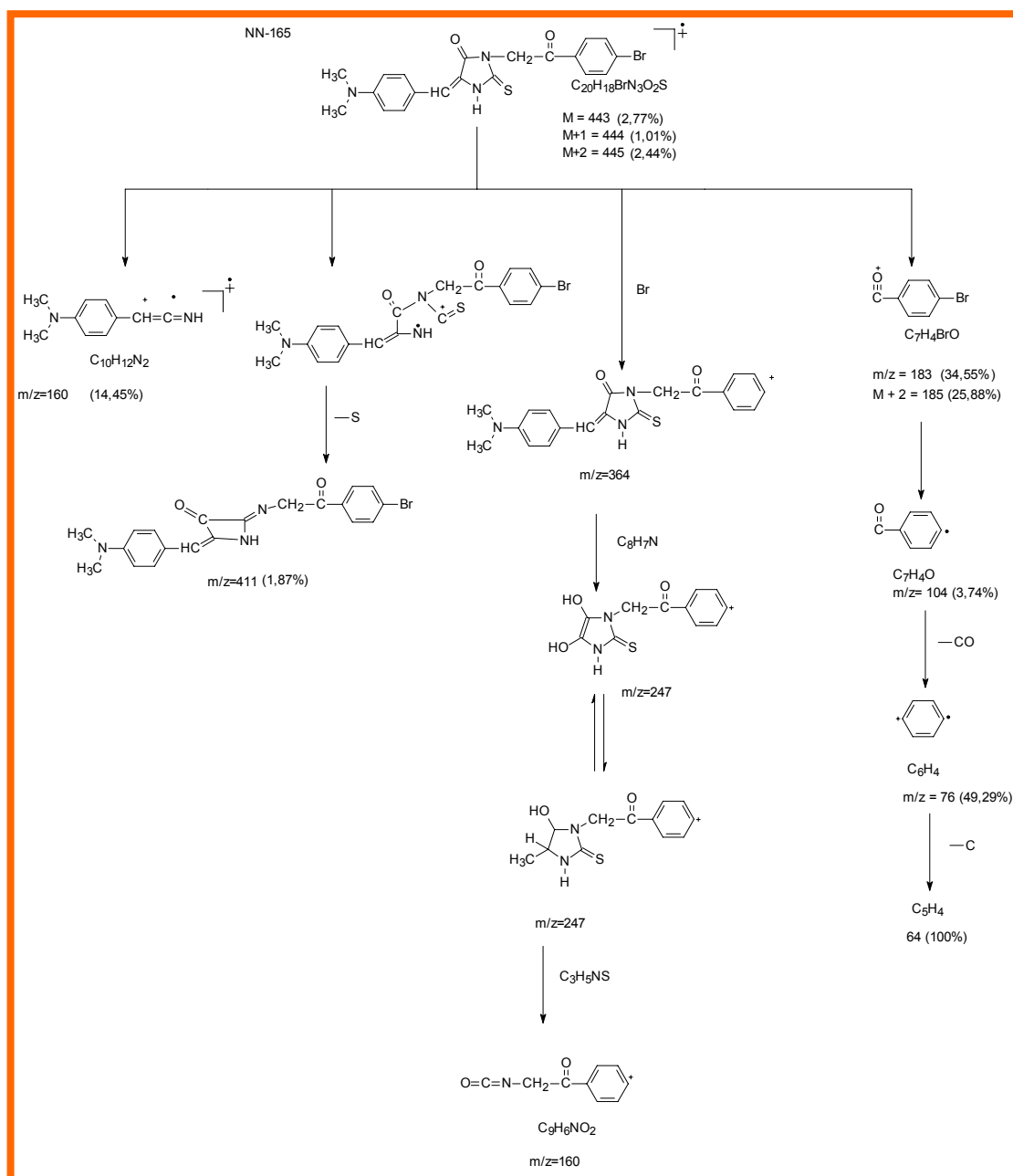
7.4. Espectrometria de Massas

Os espectros de massas para os derivados imidazolidínicos confirmaram as estruturas sintetizadas. As principais fragmentações se encontram nos esquemas 18 a 22 e nas figuras 47 a 51.

A presença do átomo de bromo, em todos os derivados, foi confirmada pelas intensidades relativas dos isótopos $M + 2$ em comparação ao íon molecular.

Os derivados 3-(bromo-benzil)-5-(4-fenil-benzilideno)-2-tioxi-imidazolidin-4-ona (**NN-210**) e 3-(4-bromo-benzil)-5-(4-dimetilamina-benzilideno)-2-tioxi-imidazolidin-4-ona (**NN-211**) sofrem uma ruptura β N – C, o que conduz ao íon benzílico $m/z = 169$ e $M + 2 = 171$, com intensidades relativas de 100% e 97,71%; 96,39% e 99,66%, respectivamente. Contudo, o íon correspondente ao pico de base foi $m/z = 159$ para o 3-(4-bromo-benzil)-5-(4-dimetilamina-benzilideno)-2-tioxi-imidazolidin-4-ona (**NN-211**).

Os derivados NN-165, NN-166 e NN-21 sofreram uma ruptura na ligação conduzindo ao fragmento $m/z = 183$, com as seguintes intensidades relativas: 34,55%, 80,03% e 100%, respectivamente.



Esquema 18: Principais fragmentações do 3-(4-bromo-fenacil-5-(4-dimetilamina-benzilideno)-2-tioxi-imidazolidin-4-ona (NN-165)

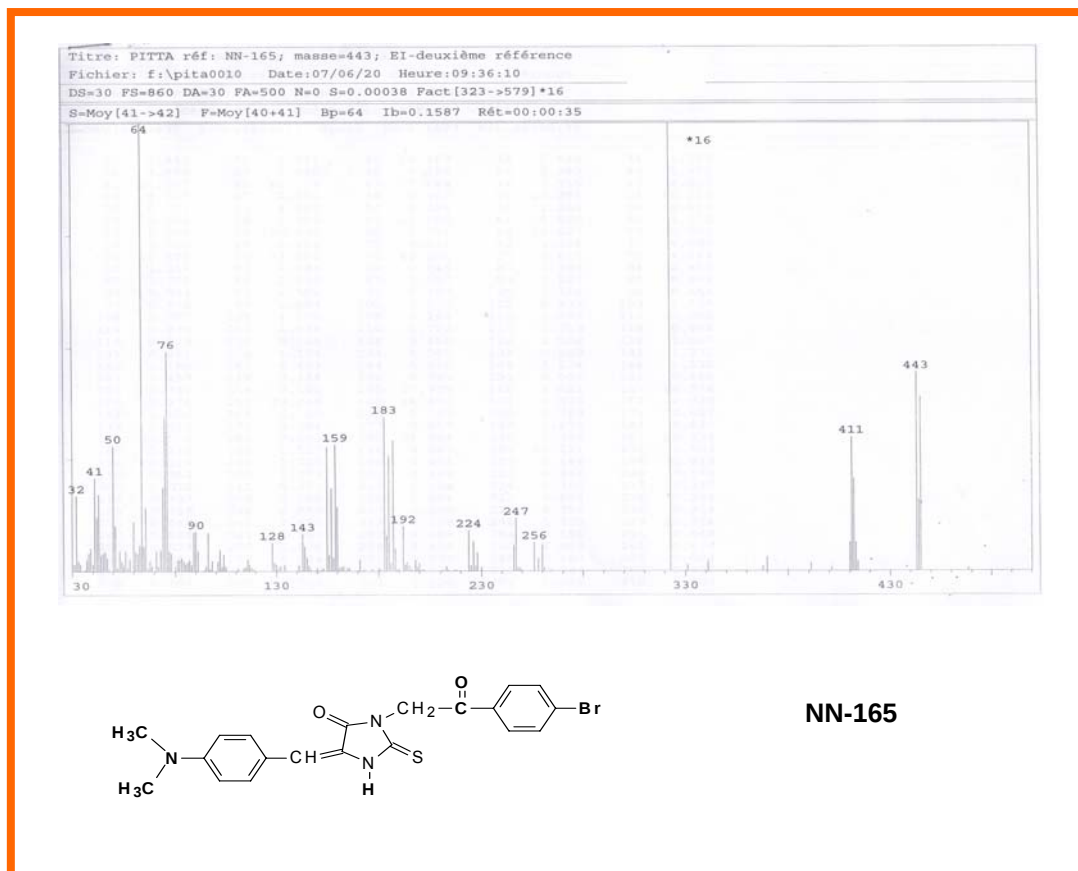
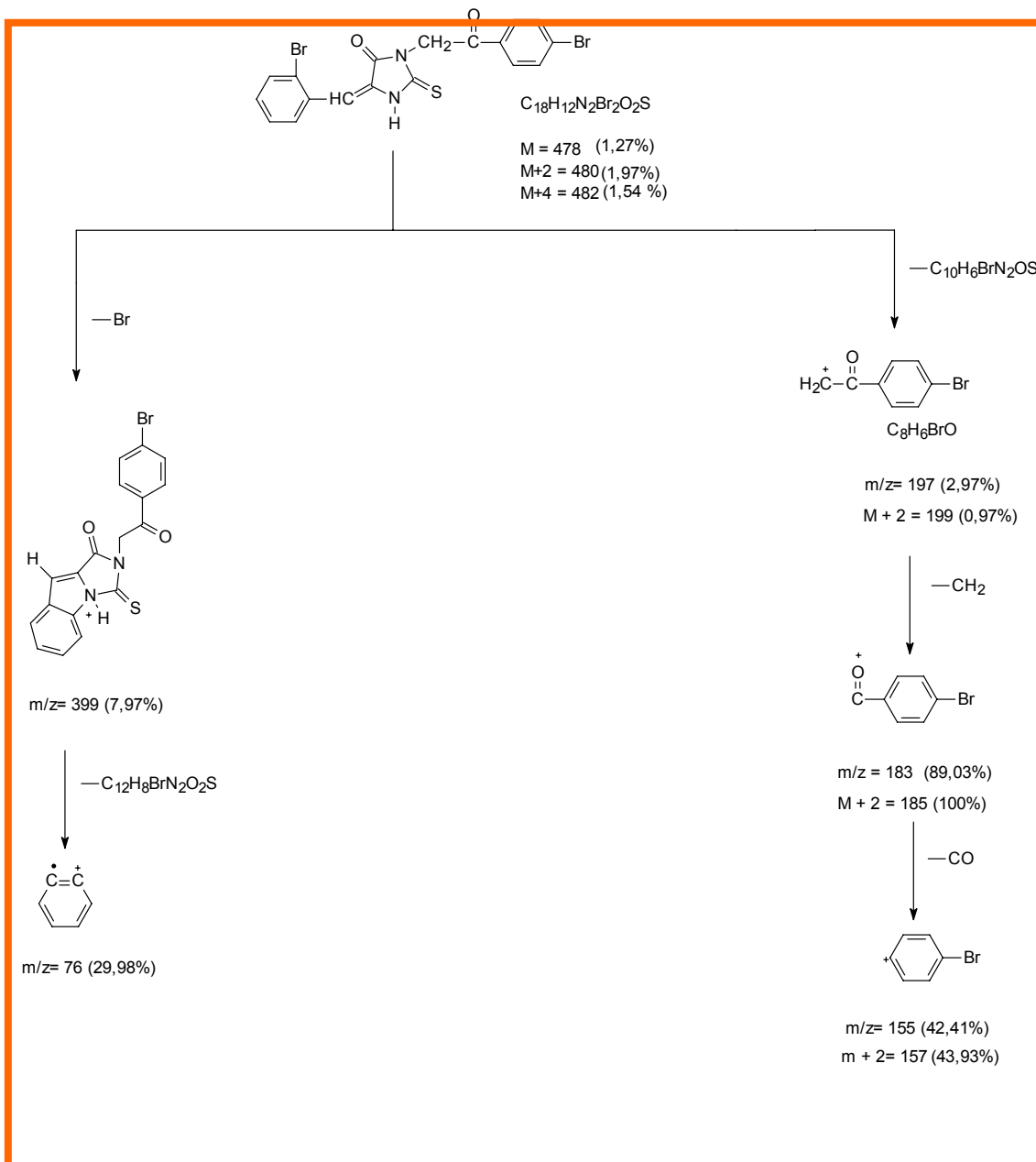


Figura 46: Espectro de massa do 3-(4-bromo-fenacil)-5-(4-dimetilamina-benzilideno)-2-tioxi-imidazolidin-4-ona (**NN-165**)



Esquema 19: Principais fragmentações do 3-(4-bromo-fenacil)-5-(2-bromo-benzilideno)-2-tioxo-imidazolidin-4-ona (**NN-166**)

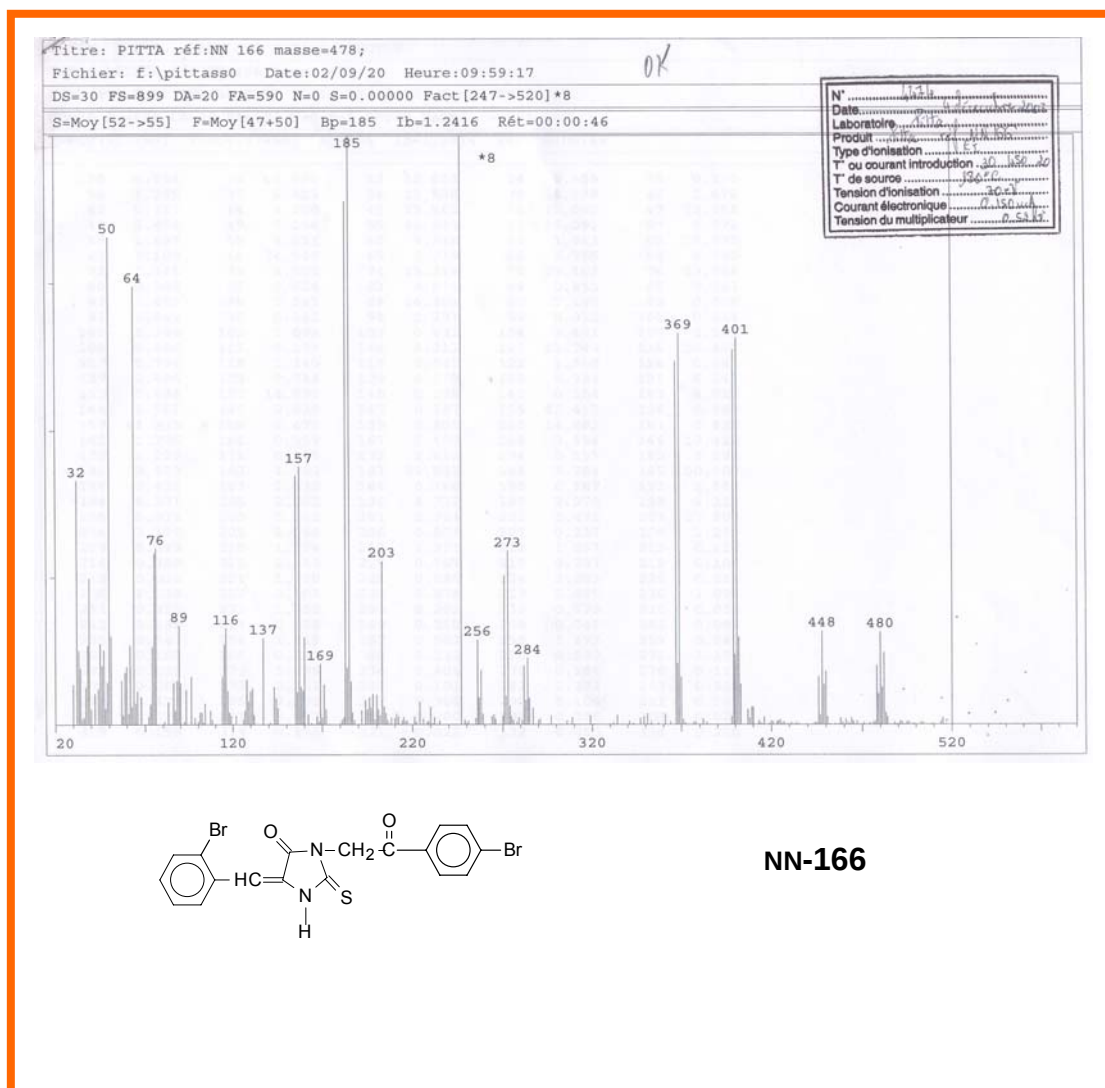
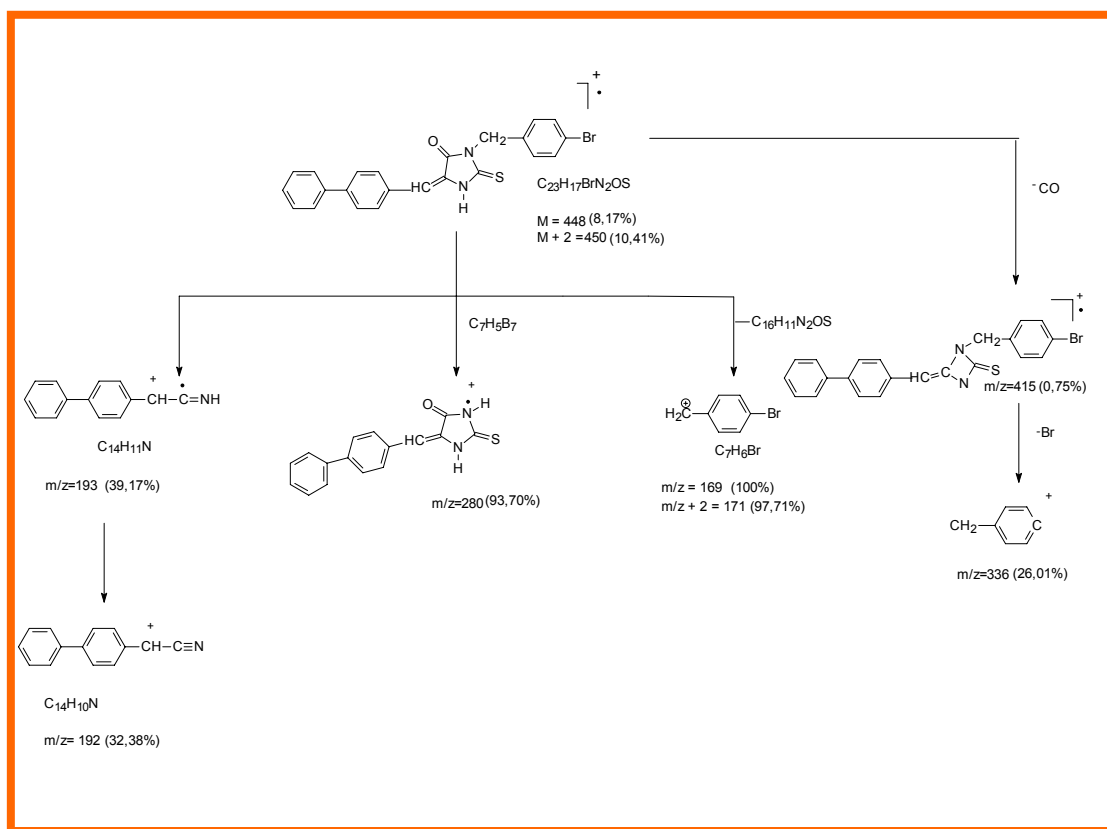


Figura 47: Espectro de massas do 3-(4-bromo-fenacil)-5-(2-bromo-benzilideno)-2-tioxi-imidazolidin-4-ona (**NN-166**)



Esquema 20: Principais fragmentações do 3-(4-bromo-benzil)-5-(4-fenil-benzilideno)-2-tioxi-imidazolidin-4-ona (**NN-210**)

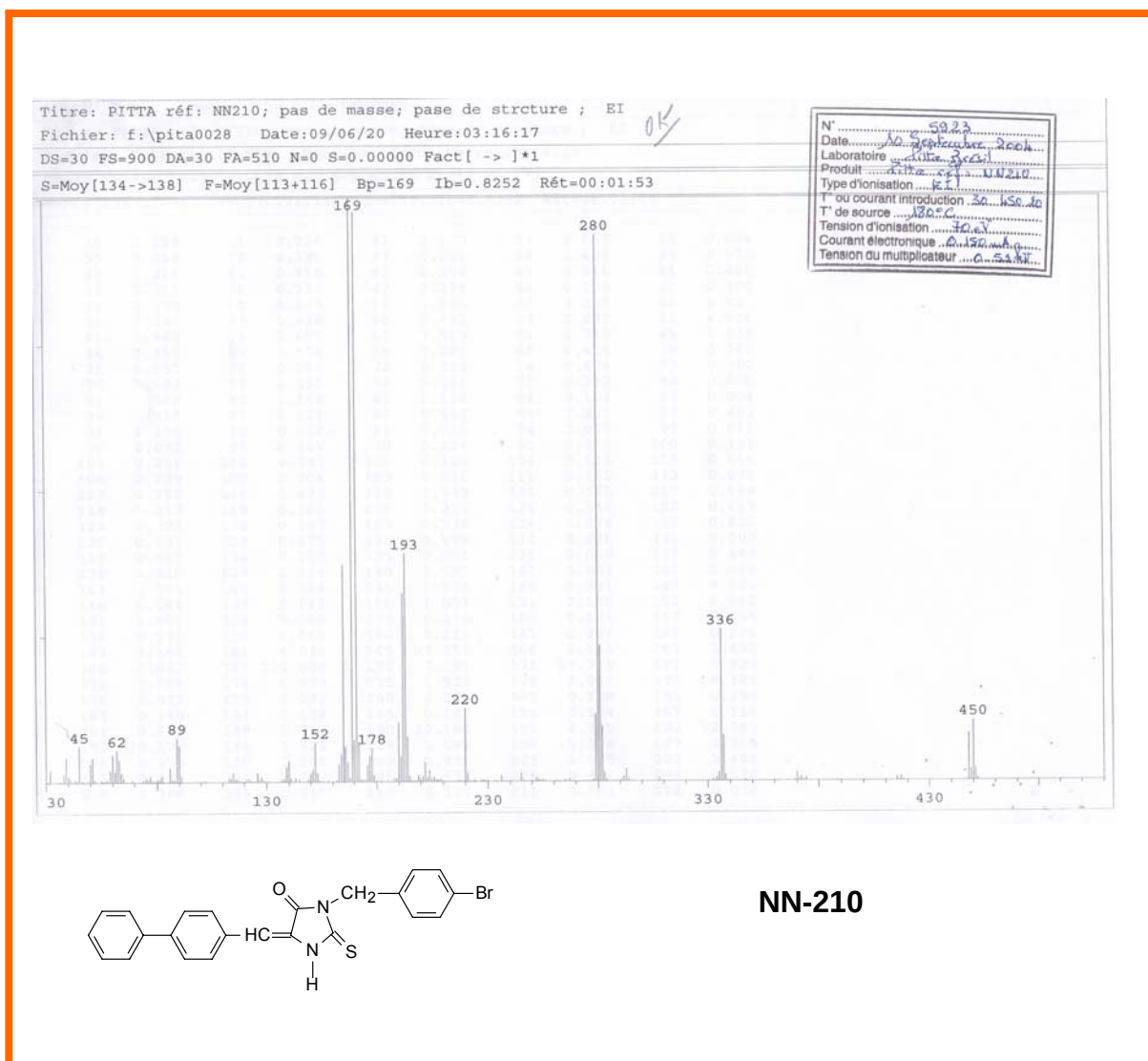
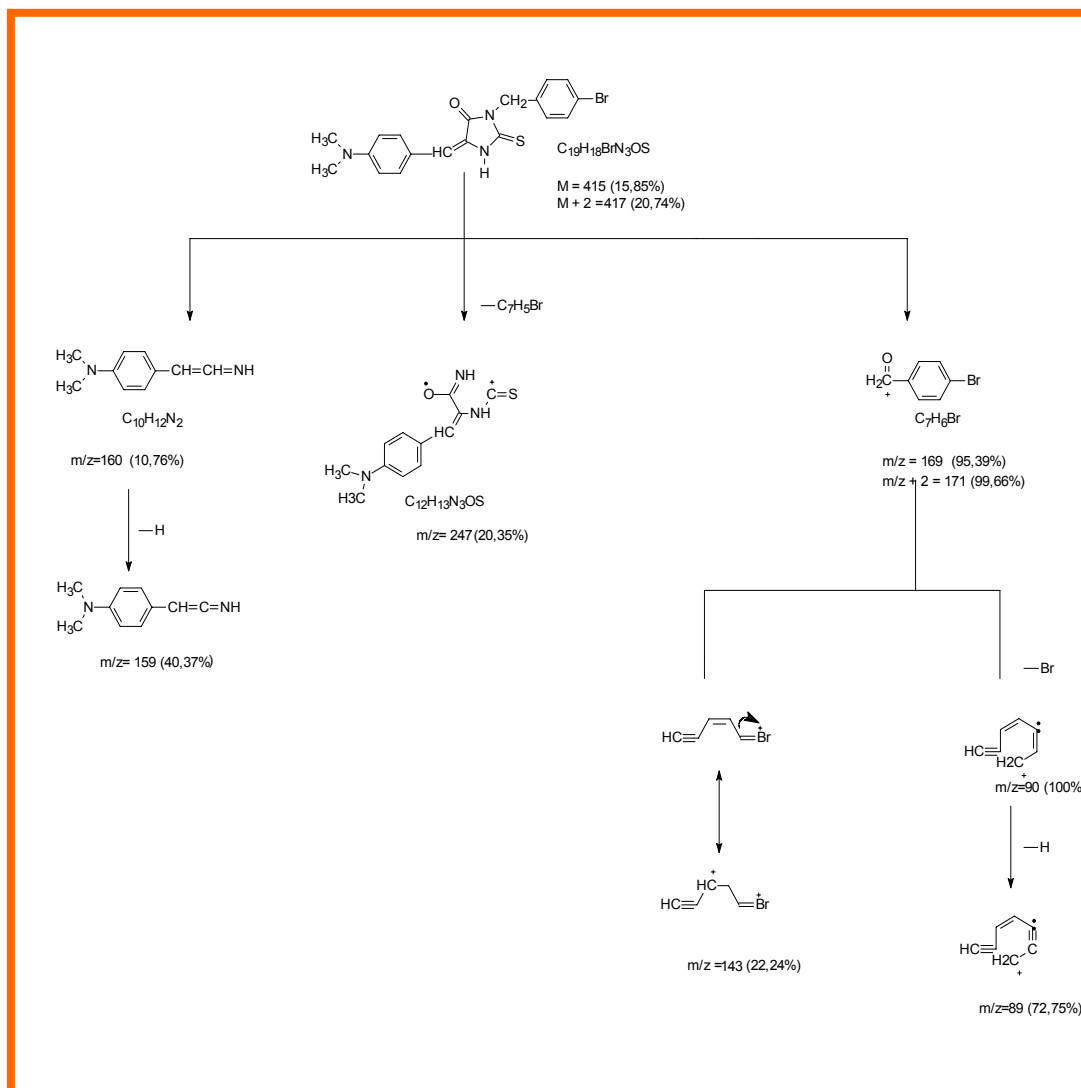


Figura 48: Espectro de massas do 3-(4-bromo-benzil)-5-(4-fenil-benzilideno)-2-tioxi-imidazolidin-4-ona (**NN-210**)



Esquema 21: Principais Fragmentações da 3-(4-bromo-benzil)-5-(4-dimetilaminal-benzilideno)-2-tioxi-imidazolidin-4-ona (**NN-211**)

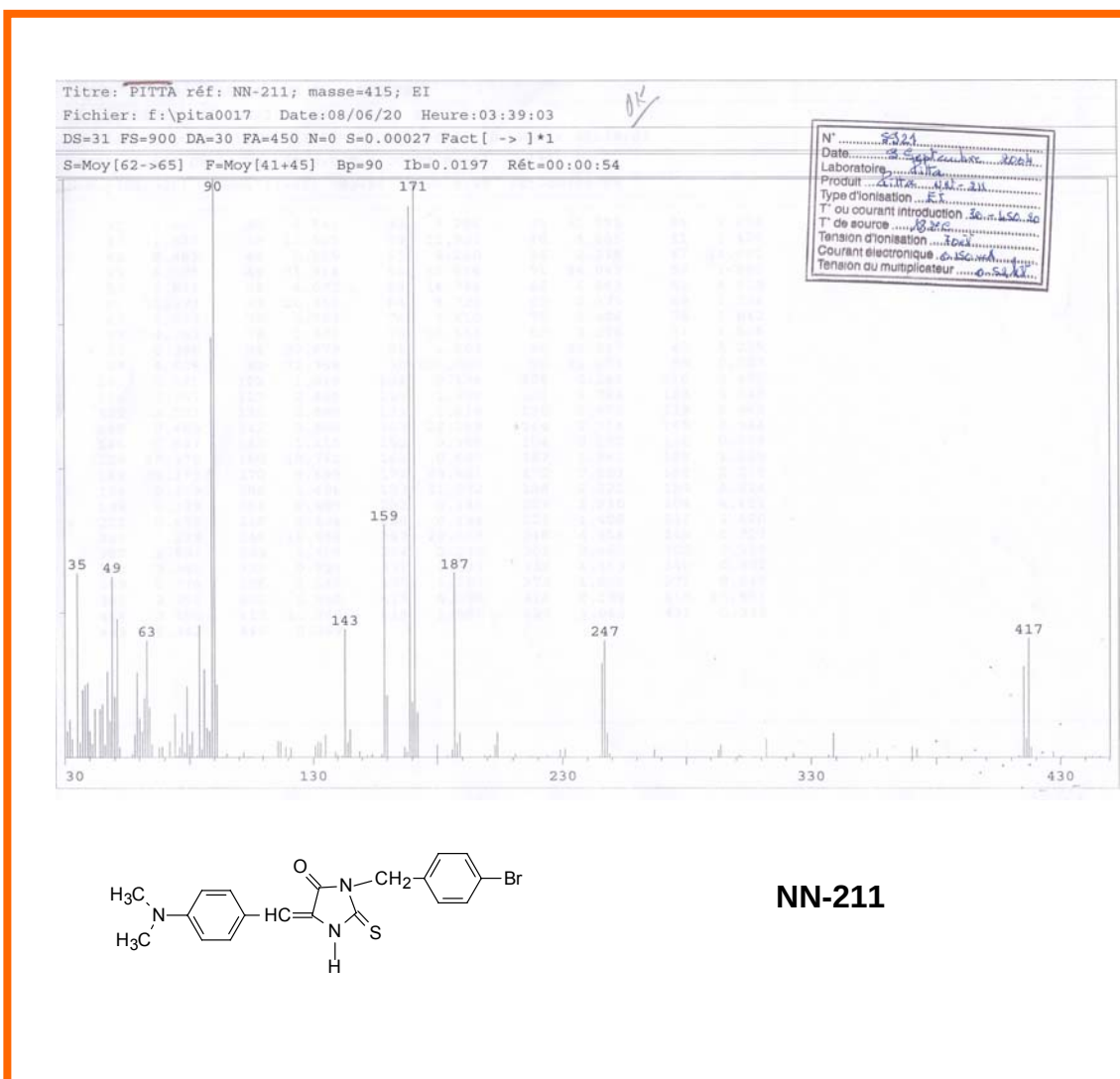
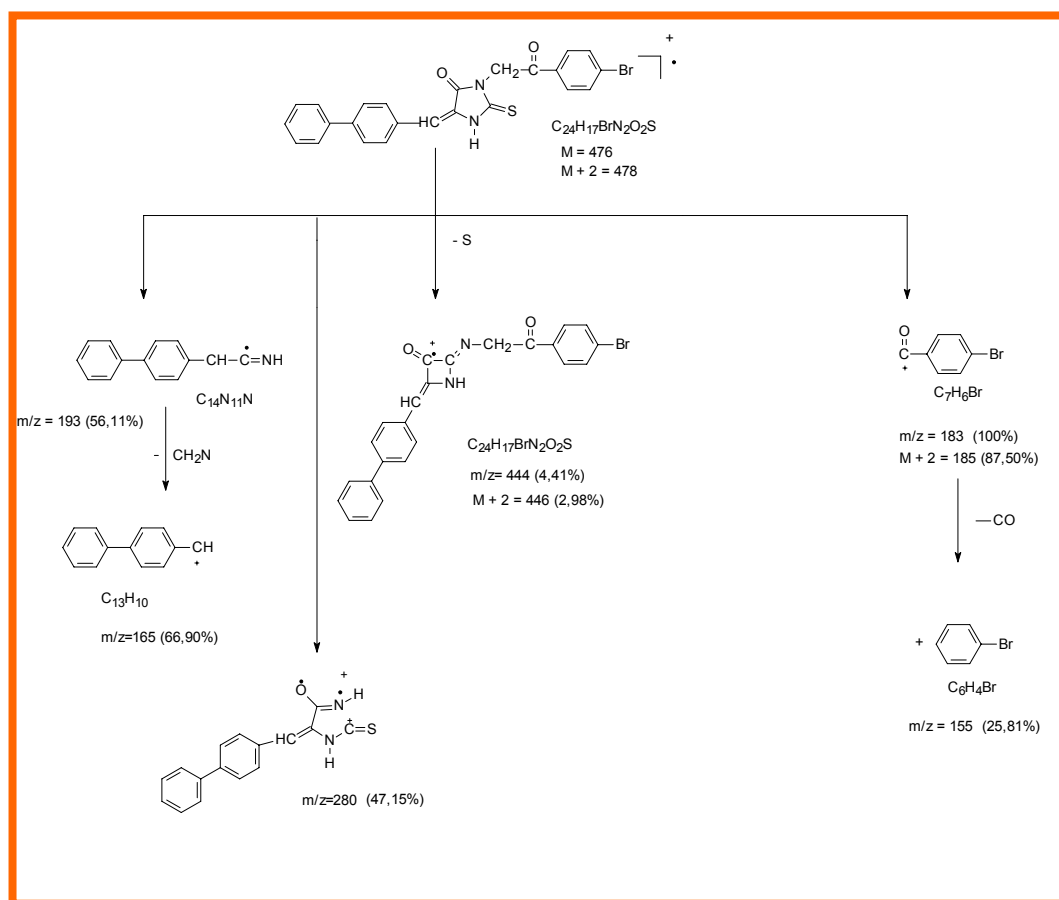


Figura 49: Espectro de massas da 3-(4-bromo-benzil)-5-(4-dimetilaminal-benzilideno)-2-tioxi-imidazolidin-4-ona (**NN-211**)



Esquema 22: Principais fragmentações da 3-(4-bromo-fenacil)-5-(4-fenil-benzilideno)-2-tioxi-imidazolidin-4-ona (**NN-212**)

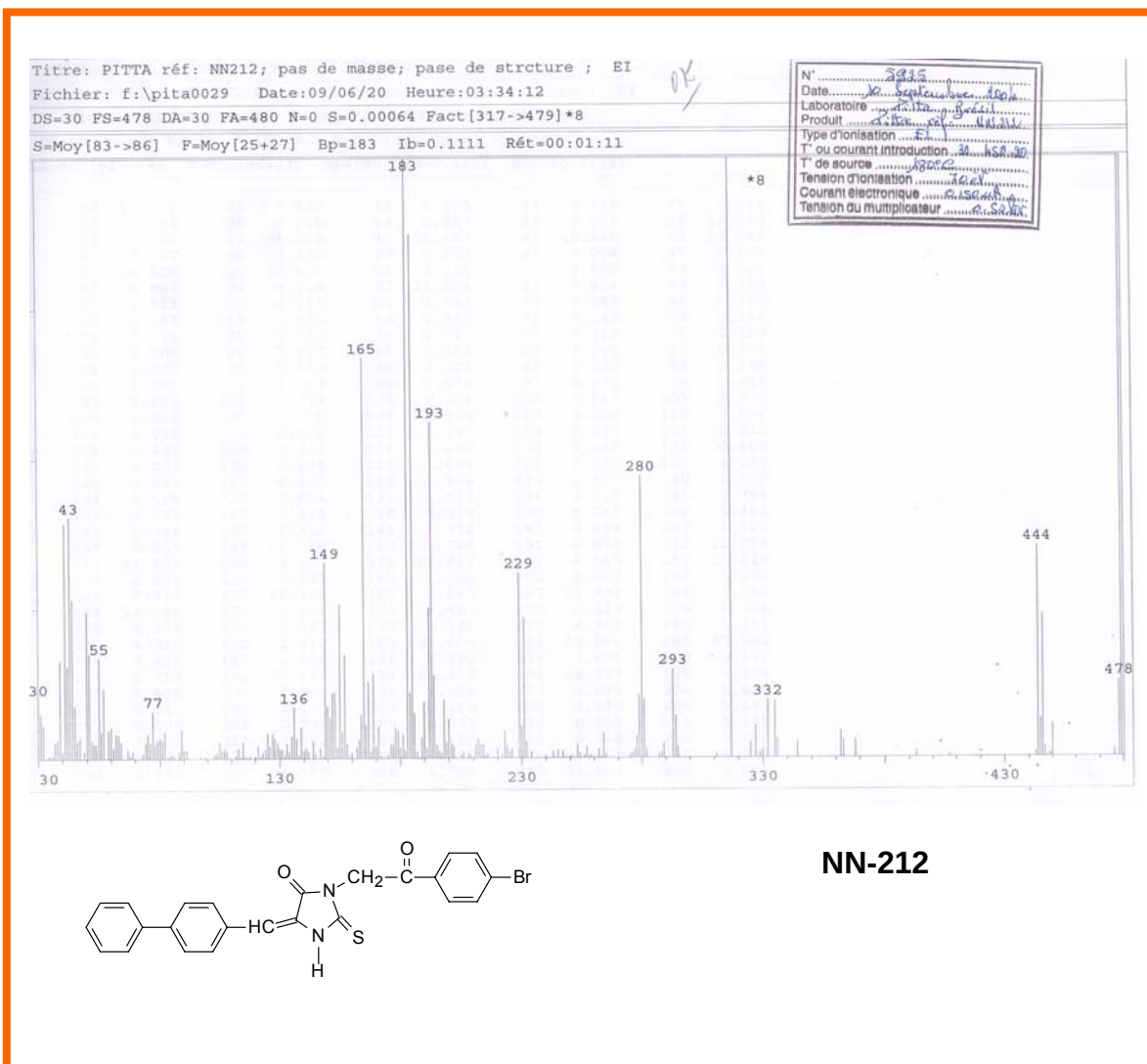
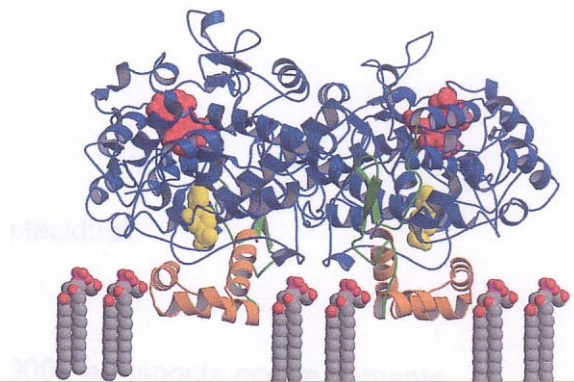


Figura 50: Espectro de massas da 3-(4-bromo-fenacil)-5-(4-fenil-benzilideno)-2-tioxi-imidazolidin-4-ona (**NN-212**)

Avaliação Biológica



ESTUDO BIOLÓGICO

9. Avaliação da atividade biológica

Para avaliar se uma determinada substância possui propriedades capazes de produzir efeitos biológicos por interação com biomacromoléculas, e se tal interação pode levar a efeitos em algum nível de organização biológica, são utilizados métodos para medida destes efeitos. Esses métodos de avaliação são necessários para que possamos comparar as propriedades de diferentes substâncias, ou da mesma substância em diferentes circunstâncias. Tais métodos envolvem técnicas específicas experimentais *in vitro* ou utilizando animais de laboratório, que permitem: 1) Medir a atividade farmacológica de substâncias novas ou quimicamente indefinidas; 2) Investigar a função de mediadores endógenos; 3) Avaliar a toxicidade e os efeitos indesejáveis em fármacos (RANG *et al.*, 2003).

Assim sendo, realizamos a avaliação biológica de um novo derivado, a 2-tioxo-imidazolidinônicos a molécula eleita foi a 3-(4-bromo-fenacil)-5-(4-dimetilamino-benzilideno)-2-tioxo-imidazolidin-4-ona (**NN-165**).

9.1. Material

Para determinação da toxicidade aguda, antiinflamatória e antinociceptiva do derivado 3-(4-bromo-fenacil)-5-(4-dimetilamino-benzilideno)-2-tioxo-imidazolidin-4-ona (**NN-165**) foram utilizados o seguinte material: Balança analítica (Neo clave ASV 3001); balança semi-analítica (SATORIUS);

Seringas descartáveis tuberculina (IBRAS-CBO); solução salina a 0,9 %; Tween 80 (MERCK); Carragenina (SIGMA-ALDRICH); ácido acético (VETEC), éter dietílico (VETEC); Formalina (VETEC); Camundongos machos albinos Swiss (*Mus musculus*), com cerca de 60 dias de vida, peso de 25 ± 30 gramas; Ratos machos Wistar adultos (*Rattus norvegicus*), com cerca de 60 a 90 dias de vida, peso entre 250 ± 50 gramas, provenientes do Biotério do Departamento de Antibióticos/UFPE. Todos os animais utilizados foram mantidos em jejum de 12 horas antes do experimento, com água *ad libitum*, em temperatura de $25 \pm 3^\circ\text{C}$.

9.2. Metodologia

9.2.1. Toxicidade aguda

Separou-se um lote (n=6) onde foi utilizado camundongo macho albinos Swiss (*Mus musculus*) com cerca de 60 dias de vida, peso de 25 ± 30 gramas. Em seguida foi administrado o composto **NN-165** por via intraperitoneal, na dose de 1000 mg/Kg. A observação dos efeitos gerais foi efetuada com os animais em livre movimentação, em superfície plana, por um período inicial de 60 minutos. Após esse período, os animais foram ainda observados por 72 horas (De Luca *et al.*;1996).

9.2.2. Atividade antiinflamatória

9.2.2.1. Edema de pata induzido por carragenina

Para os testes de edema de pata induzido por carragenina (EPC)-foi utilizado o método de Winter e colaboradores (1962), no qual utilizaram-se ratos machos e fêmeas Wistar adultos (*Rattus norvegicus*).

Os animais foram divididos em lotes (n=6), onde inicialmente cada animal recebeu por via oral, a substância teste **NN-165** na dose de 10 mg/Kg grupo controle foi administrado soro fisiológico (0,9 %) e em seguida foi medido o volume da pata do animal (tempo zero). Após 60 minutos foi induzido a processo inflamatório pela administração de 0,1 µL de carragenina (cg) a 1 % diluída em solução salina (0,9 %) na região subplantar da pata posterior direita de cada animal. O volume da pata foi medido logo após a injeção de carragenina (tempo zero), nas 4 horas posteriores com intervalos constantes de 60 minutos. Por imersão da pata foi registrado o deslocamento de água por meio de um pletismômetro. A inibição da indução do processo inflamatório da substância foi estimado em termos de percentual de inibição, calculados de acordo com a equação abaixo:

$$\text{Atividade Antiinflamatória (\%)} = [(n - n')/n] \times 100$$

Onde **n** e **n'** indicam a média ± erro padrão do volume do edema nos grupos controle e teste em uma determinada hora (PALASKA *et al.*, 2003).

9.2.2.2. Bolsão de ar

Neste experimento foram utilizados camundongos fêmeas albinos Swiss (*Mus musculus*). Os animais foram divididos em 3 lotes (n=6), onde inicialmente foi feita uma aplicação de ar estéril no dorso do animal (2,5 mL de ar) esta aplicação correspondeu ao dia zero e a segunda aplicação de ar estéril foi feita 48 horas depois da primeira que correspondeu ao dia 3., após mais 3 dias equivalente ao sexto dia (Figura 52), os camundongos receberam a substância teste, por via oral, **NN-165** nas doses de 10 mg/Kg e 2,5 mg/Kg e ao grupo controle foi administrado soro fisiológico a 0,9 %. Depois de decorrido o tempo de 1 hora os animais receberam 1 mL de carragenina a 1 %, na área dorsal. Após 4 horas os animais foram sacrificados pela exposição ao éter e as bolsas foram lavadas com 3 mL de PBS (phosphate-buffered solution) contendo 50/U mL⁻¹ de heparina. A contagem do número de leucócitos polimorfonucleares presentes no exudato foi feita em Câmara de Newbauer (KETTERER, COLES e MEYER, 1983; KLEMM, HERRIS e PARRETTI 1995; POOK, 1997).

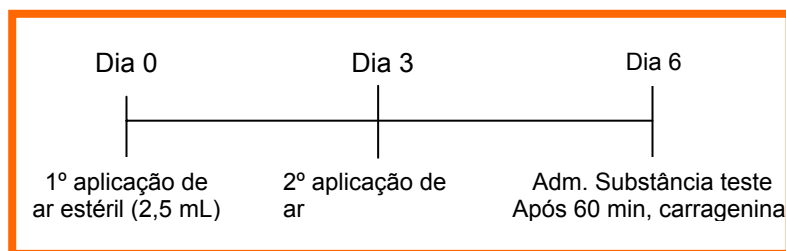


Figura 52 – Esquema ilustrativo de indução do bolsão inflamatório

9.2.3.1. Indução do efeito nociceptivo por ácido acético

Neste ensaio foram utilizados camundongos fêmeas albinos Swiss (*Mus musculus*). O fundamento deste método consiste na indução de contorções abdominais em camundongos mediante a injeção de ácido acético a 0,6 % i.p. O teste foi conduzido de acordo com os procedimentos descritos por Koster e colaboradores (1959) e modificado por Oliveira e colaboradores (2001).

Os animais foram divididos em 2 lotes (n=6) onde o grupo teste recebeu o **NN-165** na dose de 10 mg/Kg de peso e o grupo controle recebeu o veículo. Inicialmente administrou-se o composto **NN-165** e o veículo, ambos 60 minutos antes da administração do ácido acético. Depois de decorrido o tempo de 1 hora administrou-se via intraperitoneal o ácido acético a 0,6 %. Aguardou-se 10 minutos após a administração da injeção de ácido acético e assim iniciou-se a contagem do número de contorções abdominais nos animais durante 20 minutos. Calculou-se a porcentagem de inibição mediante a redução do número de contorções nos grupos tratados em relação ao grupo controle.

9.2.3.2. Indução do efeito nociceptivo por formalina

Para este teste foram utilizados camundongos fêmeas albinos Swiss (*Mus musculus*). O estímulo doloroso é induzido pela injeção de 20 µL de formalina a 1 % na pata traseira direita do camundongo. O tempo total do experimento foi de 30 minutos. Este teste é dividido em duas fases de observação. Para avaliar ambas as fases, como medida de sensibilidade,

avaliou-se o tempo em que o animal lambia a pata nos primeiros 5 minutos (fase 1), e depois, de 20 a 25 minutos (fase 2) (HUNSKAAR, 1987). Os animais foram divididos em 2 lotes (n=6), em seguida receberam as substâncias de acordo com o grupo a que pertenciam por via oral, um grupo recebeu a droga teste **NN-165** na dose de 10 mg/Kg e o outro o veículo. Decorrido o tempo de 60 minutos da administração da droga teste e do veículo os animais receberam a injeção de 20 µL de formalina a 1 % na pata traseira direita e em seguida foi mensurada a sensibilidade utilizando um cronômetro observando o tempo acumulado em segundos durante o qual o animal lambe a pata nos primeiros 5 minutos (fase 1), e depois, de 20 a 25 minutos (fase 2) totalizando o tempo de 30 minutos. Determinou-se o percentual de inibição nos grupos tratados com **NN-165** em comparação ao grupo controle.

9.2.3.3. Indução do efeito nociceptivo por calor (chapa quente)

Para este teste foram utilizados camundongos fêmeas albinos Swiss (*Mus musculus*) O método da indução do efeito nociceptivo por calor (chapa quente), consiste em mensurar os reflexos térmicos de dor pelo contado da pata do animal com uma superfície aquecida (EDDY e LIEMBACK, 1953; VIANA *et al.*, 2003)

Os reflexos de dor em resposta a um estímulo térmico são medidos usando uma Placa quente. A superfície da placa quente foi aquecida a uma temperatura constante de 55 ± 1 °C, em seguida. A substância **NN-165** foi administrada nas doses de 2,5 mg/Kg, 5 mg/Kg e 10 mg/kg por via oral. O

grupo controle recebeu apenas o veículo. Os animais foram colocados um por vez na chapa quente, cercado por um cilindro de vidro. O estado latente de resposta foi encerrado com qualquer um dos efeitos: lambida da pata ou pulo para fora (o que veio primeiro). Quando não houve resposta em 30 segundos, o ensaio foi encerrado e o camundongo retirado da placa. O tempo de reação de camundongos na placa quente ao estímulo térmico foi obtido antes de (0 min) e 60, 120 e 240 minutos depois de pré-tratamento com o derivado.

9.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

9.3.1. Toxicidade Aguda

Na avaliação da toxicidade aguda na dose de 1000 mg/Kg foram observados alguns efeitos comuns a todos os animais do grupo pertencente ao experimento, tais como: agitação, piloereção, edema de focinho, ereção de cauda, abaixamento de membros anteriores, contorção abdominal, palidez, movimentos estereotipados e espasmos. Nenhum animal veio a óbito. As doses utilizadas nos experimentos posteriores corresponderam: 0,25, 0,5, 1, 2 e 4 % da dose utilizada na avaliação de toxicidade aguda.

9.3.2. Atividade Antiinflamatória

9.3.2.1. Edema de pata induzido por carragenina

O derivado **NN-165** foi testado na dose de 10 mg/kg de peso corpóreo apresentando atividade antiinflamatória profilática significativa em comparação ao grupo controle (Figura 52); o **NN-165** apresentou uma média de inibição do

edema de 58,32 % na dose de 10 mg/Kg. De acordo com Rang e colaboradores (2003), o teste do edema de pata pode prever uma boa na eficácia terapêutica em seres humanos usados para o alívio dos sintomas causados nas condições inflamatórias como na artrite reumatóide, outros autores também citam que bons resultados obtidos neste teste indicam a perspectiva do desenvolvimento um possível fármaco antiinflamatório já que há correlação empírica entre a atividade das substâncias testadas por este método e sua atividade antiinflamatória em humanos (KAMPMANN e FREY, 1996 *apud* KOSERSKY, DEWEY e HARRIS, 1973).

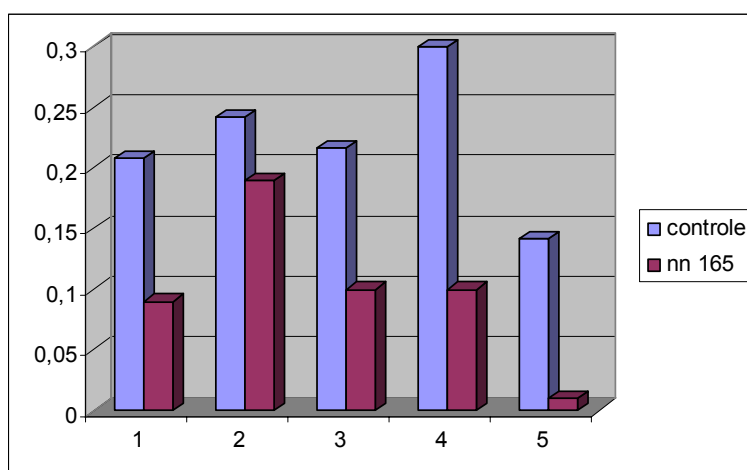


Figura 52: Média do volume do edema medido em mL. Controle considerado igual a 100 % do edema. Os resultados foram analisados segundo a análise de variância (ANOVA) One-way

9.3.2.2. Bolsão de ar

Para este teste o efeito antiinflamatório do derivado testado foi estimado em termos de percentual de inibição calculado de acordo com a seguinte equação: Atividade antiinflamatória (%) = $[(n-n')/n] \times 100$. A análise estatística

de todos os valores foi expressa como média $\pm$ erro padrão (Tabela 10) e os resultados analisados segundo a análise de variância (ANOVA) One-way.

Nos resultados obtidos no teste do bolsão inflamatório nas doses 2,5 mg/Kg e 10 mg/Kg apresentaram resultados significativos inibindo a migração celular evocada por carragenina em 38,1 % e 29,8 % respectivamente. Os resultados podem ser observados na tabela 10. Foram utilizados 2 grupos controles onde pode ser observado a diferença na contagem do número de células entre o grupo controle¹ inflamado e o controle não inflamado (sem carragenina).

Tabela 10: Número de células (média $\pm$ erro padrão) encontradas no bolsão inflamatório quatro horas após a indução da inflamação

Substância	Contagem de células	Percentual de inibição da migração celular
NN-165 2,5 mg/Kg	$0,35 \pm 0,07 \times 10^3/\mu\text{L}$	38,6 ¹
NN-165 10 mg/Kg	$0,40 \pm 0,09 \times 10^3/\mu\text{L}$	29,8 ¹
CONTROLE ¹	$0,57 \pm 0,01 \times 10^3/\mu\text{L}$	-
CONTROLE NÃO INFLAMADO (SEM CARRAGENINA)	$0,06 \pm 0,01 \times 10^3/\mu\text{L}$	-

Camundongos tratados com o derivado **NN-165** oralmente nas doses 2,5 mg/Kg e 10 mg/Kg; controle¹, controle não inflamado (sem carragenina). Cada valor representa a média $\pm$ erro padrão de n = 6 animais. * As diferenças estatísticas significativas foram determinadas pelo ANOVA $p \leq 0,06$

9.3.3. Atividade antinociceptiva

9.3.3.1. Indução do efeito nociceptivo por calor (chapa quente)

A análise estatística de todos os valores foi expressa como média $\pm$ erro padrão (Tabela 11) e os resultados analisados segundo a análise de variância (ANOVA) One-way. A atividade antinociceptiva foi estimada em efeitos de percentual de inibição da pela equação (WESOLOWSKA, YOUNG e DUKAT, 2004).

$$\%MPE = [(teste - controle) / (30 - controle) \times 100]$$

Tabela 11 Tempo de Latência ao estímulo térmico (média $\pm$ erro padrão) nos tempos 0, 60, 120 e 240 minutos

Substância	Tempo de latência (minutos)			
	0	60	120	240
NN-165 2,5mg/Kg	10,75 $\pm$ 1,01	11,33 $\pm$ 1,78	12,00 $\pm$ 1,19 *	11,91 $\pm$ 1,17
NN-165 5 mg/Kg	9,16 $\pm$ 2,24	13,5 $\pm$ 3,46	13,5 $\pm$ 2,23 *	12,3 $\pm$ 3,51
NN-165 10 mg/Kg	9,1 $\pm$ 2,22	10,8 $\pm$ 2,10	17,5 $\pm$ 2,56 *	15,68 $\pm$ 1,64 *
Controle	9,20 $\pm$ 1,51	9,2 $\pm$ 0,73	8,58 $\pm$ 0,58 *	9,8 $\pm$ 1,14

Camundongos tratados com o derivado **NN-165** oralmente nas doses 2,5 mg/Kg, 5 mg/Kg e 10 mg/kg; (0 min) e 60, 120 e 240 minutos depois de pré-tratamento com o derivado **NN-165**. Cada valor representa a média $\pm$ erro padrão de n = 6 animais. * As diferenças estatísticas significativas foram determinadas pelo ANOVA p $\leq$ 0,06

O composto testado **NN-165** apresentou melhor efeito no teste da Placa quente (Hot plate), nas doses de 2,5 mg/Kg, 5 mg/Kg e 10 mg/Kg. A atividade antinociceptiva foi analisada e o percentual de inibição estimado pelo cálculo

Efeito Máximo Possível (Maximal Possible Effect –MPE), onde os resultados podem ser observados a figura 53.

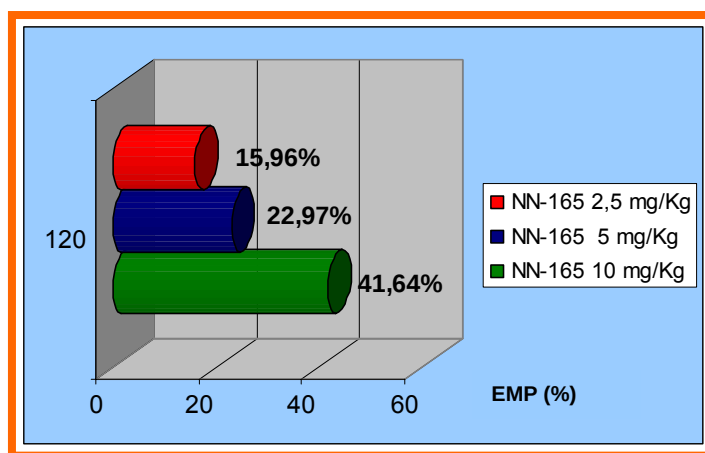


Figura 53 – Efeito antinociceptivo do composto **NN-165** no tempo 120 minutos nas doses de 2,5 mg/Kg, 5 mg/Kg e 10mg/Kg. Pecentual do efeito antinociceptivo foi calculada de acordo com a equação: $\%MPE = [(teste - controle) / (30 - controle) \times 100]$. As diferenças estatísticas significativas foram determinadas pelo ANOVA $p \leq 0,06$

O teste da placa quente (hot plate) é comumente utilizado para avaliar analgésica narcótica (MIÑO *et al.*, 2004). O composto **NN-165** só apresentou resultados significativos estatisticamente aos 120 minutos. A atividade analgésica no ensaio da placa quente sugere que a substância **NN-165** pode estar agindo primariamente na medula espinhal e/ou ao nível de sistema nervoso central, ou por um mecanismo indireto (YAKSH e RUDY, 1977 *apud* Oliveira *et al.*, 2001).

9.3.3.2. Indução do efeito nociceptivo por formalina

A indução do estímulo doloroso pela formalina se distingue em duas fases: 1) Fase 1, indicativa de dor neurogênica (primeiros 5 minutos) e 2) Fase 2, indicativa de dor inflamatória (15 a 30 minutos) depois da administração da formalina. O composto **NN-165** na primeira fase do teste indicativo de dor

neurogênica não demonstrou um resultado significativo, os fármacos que agem na primeira fase têm ação central como os narcóticos (GRACÍA *et al.*, 2004). Na segunda fase que é indicativa de dor inflamatória houve a inibição de 100 %. A inibição ocorrida na segunda fase do teste da formalina indica uma ação periférica semelhante aos fármacos AINES e os antiinflamatórios esteroidais (GRACÍA *et al.*, 2004). Segundo Rosland e colaboradores (1990) a inibição unicamente da segunda fase do teste da formalina é uma característica típica de inibidores da cicloxigenase (Figura 54).

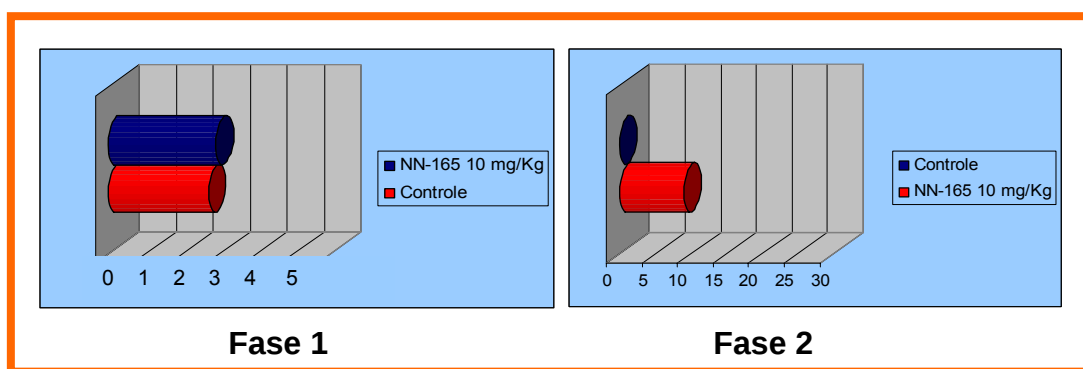


Figura 54: Resposta observada com a formalina com o derivado **NN-165** na dose de 10mg/Kg

9.3.3.3. Indução do efeito nociceptivo por ácido acético

O ácido acético pode causar o aumento peritoneal dos níveis de fluídos de prostaglandinas e da dor inflamatória induzindo a permeabilidade capilar (MIÑO *et al.*, 2004 *apud* AMICO-ROXAS *et al.*, 1984 , DARAED *et al.*, 1980).

O composto **NN-165** inibiu significativamente a contorção abdominal induzida por ácido acético em camundongos. O percentual de inibição foi de 52,09 % na dose de 10 mg/Kg.

De acordo com as observações de Miño e colaboradores (2004), podemos sugerir que as prostaglandinas podem estar envolvidas na ação do derivado **NN-165** em estudo (Figura 56).

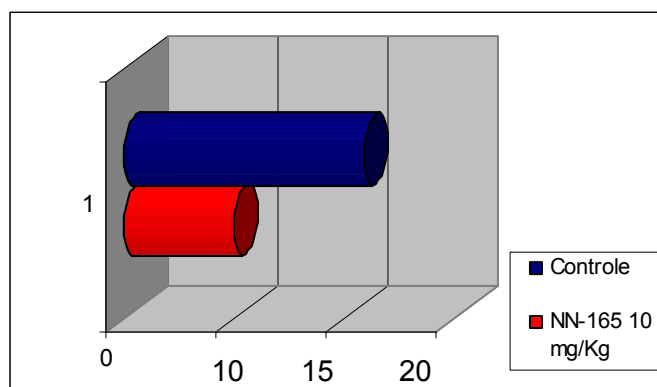
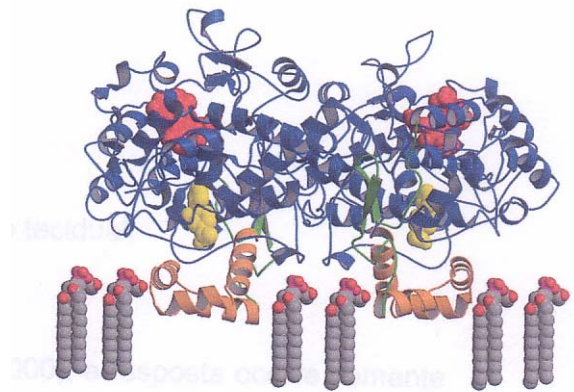


Figura 55: Média do número de contorções no grupo tratado com o derivado **NN-165** em relação ao grupo controle. Percentual da média do número de contorções foi calculada de acordo com a equação: $\%[(\text{média do controle} - \text{média do tratado})/\text{média do controle}] \times 100$. As diferenças estatísticas significativas foram determinadas pelo ANOVA $p \leq 0,06$

Conclusões



CONCLUSÃO

Na busca de novos fármacos imidazolidínicos biologicamente ativos, visando contribuir na terapêutica antiinflamatória e antinociceptiva, os resultados obtidos neste trabalho conduziram as seguintes conclusões.

1. Sintetizaram-se cinco novos derivados imidazolidínicos das séries 5-benzilideno-3-(4-bromo-benzil) e 5-benzilideno-3-(4-bromo-fenacil)-2-tioxo-imidazolidin-4-onas:

 3-(4-bromo-fenacil)-5-(4-dimetilamino-benzilideno)-2-tioxo-imidazolidin-4-ona (**NN-165**),

 3-(4-bromo-fenacil)-5-(2-bromo-benzilideno)-2-tioxo-imidazolidin-4-ona (**NN-166**),

 3-(4-bromo-fenacil)-5-(4-fenil-benzilideno)-2-tioxo-imidazolidin-4-ona (**NN-212**);

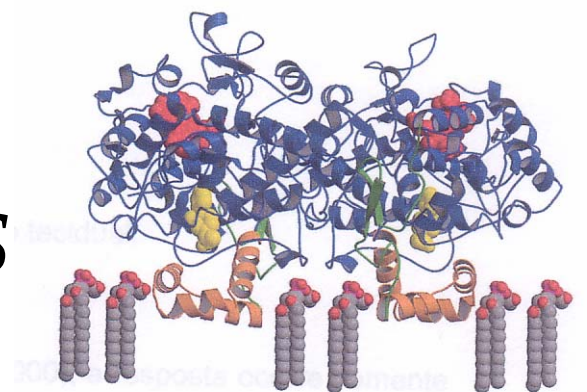
 3-(4-bromo-benzil)-5-(4-fenil-benzilideno)-2-tioxo-imidazolidin-4-ona (**NN-210**),

 3-(4-bromo-benzil)-5-(4-dimetilamina-benzilideno)-2-tioxo-imidazolidin-4-ona (**NN-211**).

2. Os compostos obtidos foram caracterizados estruturalmente através dos métodos clássicos de análise espectroscópica de ressonância magnética nuclear de hidrogênio, infravermelho e espectroscopia de massas, além de determinadas as propriedades físico-químicas. Os rendimentos variaram de 95 a 29%.

3. A atividade antiinflamatória do composto 3-(4-bromo-fenacil)-5-(4-dimetilamino-benzilideno)-2-tioxo-imidazolidin-4-ona (**NN-165**) quando utilizado o modelo do edema de pata induzido por carragenina , foi de 58,32 % na dose de 10 mg/kg.
4. Quando utilizado o bolsão de ar como modelo, a atividade antiinflamatória do composto NN-165 foi de 38,1 % na dose de 2,5 mg/Kg.
5. O composto NN-165 apresentou uma atividade antinociceptiva de 41, 64 % na dose de 10 mg/Kg de peso corpóreo quando utilizado o método da placa quente.
6. No teste da formalina para avaliar a atividade antinociceptiva do composto (**NN-165**) houve inibição, na segunda fase que indica dor inflamatória, de 100 % na dose de 10 mg/Kg.
7. No ensaio onde foi utilizado o ácido acético para avaliação antinociceptiva o composto (**NN-165**) apresentou uma inibição de contorções abdominais de 52 09 % na dose de 10 mg/Kg.

Referências Bibliográficas



Referencia Bibliográfica

AGAWA, T.; BABA, A.; OHSHIRO, Y. Reactions of phenylbromoacetylene with heterocumene-lesin the presence of iron pentacarbonyl. **J. Organometallic Chemistry**, v. 87, p. 247-256, 1975.

ALBUQUERQUE, J.F.C.; AZEVEDO, L.C.; GALDINO, S.L.; CHANTEGREL, J.; PITTA, I. R.; LUU-DUC, C. Synthèse et etud structurale des 5-arylidéne thiazolidine-2,4-diones et 4-thio-imidazolidine-2-ones-3-substituées. **Ann. Pharm. Fr.**, v. 53, p.209-214, 1995.

ALBUQUERQUE, J.F.C.; ROCHA FILHO, J.A.; BRANDÃO, S.S.F.; LIMA, M.C.A.; XIMENES, E.A.; GALDINO, S.L.; PITTA, I.R.; CHANTEGREL, J.; PERRISSIN, M.; LUU-DUC, C. Synthesis and antimicrobial activity of substituted imidazolidinediones and thioxoimidazolidinones. **Il Farmaco**, v. 54, p. 77-82, nov.1999.

AMICO-ROXAS, M.; CARUSO, A.; TROMBADORE, S.; SCIFO, R.; SCAOAGNI, U. Gangliosides antinoceptive effects in rodents. **Arch Int Pharmacodyn Ther**, v. 272, 103-17 p., 1984.; *in*: MIÑO, J.; MOSCATELLI, V.; HNASTYZYN, O.; GORZALCZANY, S.; ACEVEDO, C.; FERRARO, G. Antinociceptive na antiinflammatory activities of *Artemisia copa* extracts. **Pharmacological reshearsh**. V.50, p.50-63, 2004.

BARREIRO, E.J. Estratégia de simplificação molecular no planejamento racional de fármacos: a descoberta de novo agente cardioativo. **Química Nova**, v. 25, n. 6B, p. 1172-1180, 2002.

BARREIRO, E.J.; FRAGA, C.A.M. **Química medicinal: as bases moleculares da ação dos fármacos**. Porto Alegre: Artes Médicas. 2001.

BAYER, A. **Ber.**, v. 8, p. 612, 1857. *In*: ELDERFIELD, R.C. **Heterocyclic Compound**. London: John Wiley e Sons, v. 5, p. 711-716, 1957.

BHALAY, G.; COWELL, D.; HONE, N.D.; SCOBIE, M.; BAXTER A.D. Multiple solid-phase synthesis of hydantoins and thiohydantoins. **Molecular Diversity**, v. 3, p. 195-198, 1998.

BOVILL, J.G.; AINES Cox-2. Selectivos y farmacología y acciones clínicas. Netherlands, 2002. Disponível em: <http://www.medens.com/encuentro/temas/aines_bovill_4.htm> Acesso em: 20 out. 2004.

BRADSHAW, C.K.; BROWN, F.C.; SINCLAIR, E.F. Some analogs of 3-benzylrhodanine. **J. Amer. Chem. Soc.**, v 78, n.23, p.6189-6192, dec.1965.

BRANDÃO, S.S.F.; ROCHA FILHO, J. A.; CHANTEGREL, J.; ALBUQUERQUE, J.F.C.; XIMENES, E.A.; GALDINO, S.L.; PITTA, I.R.; PERRISSIN, M.; LUU-DUC, C. Synthèse et structure des arylazo-imidazolidines et arylidèthiazolidines substituées. **Ann. Pharmaceutiques Françaises**, v. 55, n. 5, p. 206-211, 1997.

BRANDÃO, S.S.F.; ANDRADE, A.M.C.; CHANTRAGREL, J.; PEREIRA, D.T.M.; SOUZA, V.M.; SILVA, R.T.; LIMA, M.C.A.; GALDINO, S.L.; PITTA, I.R. Synthesis of new 1,3,5-trisubstituted-2-thioxoimidazolidinones. **Heter. Comm.**, v. 10, p. 9-14, 2004.

BRENOL, J.C.T.; XAVIER, R.M.; MARASCA, J. Antiinflamatórios não hormonais (AINHs) convencionais. **Revista Brasileira de Medicina**, ed. especial, v. 57, p. 1-12, 2000.

CASTRO, M.S.A.; GODINHO, R.O.; Antiinflamatórios esteroidais e não-esteroidais *In*: SHOR, N.; BOIM, M.A.; SANTOS, O.F.P. **Bases moleculares da biologia, da genética e da farmacologia**. São Paulo: Atheneu, 2003.

CEGAN, A.; VECERA, M. Substituent effects on hydrolytic stability and herbicidal activity of 3-arylimidazolidine-2,4-diones. **Collection Czechoslovav Chem. Commun.**, v. 49, p. 1521-1528, 1984.

CHAKRABORTI, A.K.; THILAGAVATHI, R. Computer-aided design of non sulphonil cox-2 inhibitors: An improved comparative molecular field analysis incorporating additional descriptors and comparative molecular similarity indices analysis of 1,3-diarylisoindole derivatives. **Bio. Med.Chem.**, v. 11 p. 3989-3996, 2003.

CHAN, F.K.L.; GRAHAM , D.Y.; Review article: prevention of non-steroidal anti-inflammatory drug gastrointestinal complications- review and recommendations on risk assessment. **Aliment Pharmacol Ther.**, v. 19, p. 1051-1061, 2004.

CHANDRASEKHARAN, N.V.; DAÍ, H.; ROOS, K.L.T.; EVANSON, N.K.; JOSHUA TOMSIK, J.; ELTON, T.S.; SIMMONS D.L. COX-3, a cyclooxygenase-1 variant inhibited by acetaminophen and other analgesic/antipyretic drugs: Cloning, structure, and expression. **PNAS Early Editrion**, p. 1-6 , 2002.

COPE, A.C.; HOFMANN, C.M.; WYCKOFF, C.; HARDENBERGH, E. Condensation reactions. II. Alkylidene cyanoacetic and malonic esters. **J. Am. Chem. Soc.**, v. 63, p. 3452-3456, 1941.

CROSTEIN, B.N. Cicloxigenase-2-selective inhibitors: Transalating pharmacology into clinical utility. **Cleveland Journal of Madicine**, v. 69, supl. I, p. 13-19, 2002.

DABOUN, H.A.F.; ABDOU, S.E.; HUSSEIN, M.M.; ELNAGDI, M.H. Activated nitriles in heterocyclic synthesis: Novel syntheses of pyrrolo [1,2-c] imidazole and pyrano [2,3-d] imidazole derivatives. **Synthesis**, p. 502-504, 1982.

DAVIES, T.D. **Aromatic heterocyclic chemistry**. New York.: Oxford University Press, 1999.

DE LUCA, R.R.; ALEXANDRE, S.R.; MARQUES, T.; SOUZA, N.L.; MERUSSE, J.L.B.; NEVES, S.P. **Manual Para Técnicas em Bioterismo**, 2ª ed. São Paulo: Winnes Graph., 1996. 259 p.

DERAEDT, R., JOUGNEY, S., BENZONI, J., Peterfalvi, M., 1980. Release of prostaglandins E and F in alogenic reaction and its inhibition. **European Journal of Pharmacology**, v. 61, 17-24 p.

DEVLIN, T.M. **Manual de bioquímica com relações clínicas**. São Paulo: Edgard Blucher, p. 265-269, 1998.

DUTCHER, J.D.; JOHNSON, J.R.; BRUCE, W.F.; The nature of the Sulfur Linkages. Conversion to Desthioglucotoxin. **J. Amer.Chem.Soc.**, v. 67, p. 1736-1745, oct.1945.

EDDY, N. B.; LEINBACK, D. Synthetic analgesis II. Dithienylbutenyl and dithienylamines. **J. Pharmacol.**, v. 107, 385-393 p., 1953.

FERREIRA, D.T. Síntese e semi-síntese. In: ANDREI, C.C.; FERREIRA, T.D.; FACCIONE, M.; FARIA, T. J. **Da química medicinal à química combinatória e modelagem molecular. Um curso prático**. 1.ed. São Paulo: Malone, 2003.

FINKBEINER, H. The carboxylation of hydantoins. **J. Org. Chem.**, v. 30, p. 3414-3419, 1965.

FLOCH, L.; OREMUS, V.; KOVAC, M. Synthetical application of alkyl 2-isothiocyanatocarboxylates. A simple synthesis of 5-substituted-3-amino-2-thioxo-4-imidazolidinones (3-amino-2-thiohydantoins). **Molecules**, v. 4, p. 279-286, 1999.

GARCIA M., D.; FRENÁNDEZ M., A.; ALVAREZ A.; SAENZ M., T. Antinoceptive and anti-inflammatory effect of the aqueous extract from leaves of *Pimenta racemosa* var. ozua (Mirtaceae). **Journal of Ethno-Pharmacology**, v. 91, p. 69-73., 2004.

GÓES, A.J.S.; LIMA, M.C.A.; GALDINO, S.L.; PITTA, I.R.; LUN-DUC, C. Synthèse et activité antifangique dès chlorobenzyl benzylidène thiazolidinedines et imidazolidinediones substituées. **Ann. Pharm. Fr.**, Paris. v. 49, p. 92-98, 1991.

HARDMAN, J.G., LIMBIRD, L.E., MOLINOFF P.B., RUDDON, R.W. AND GILMAN, A.G. Goodman and Gilman's **The Pharmacological Basis of Therapeutics**, 10th Edition, McGraw Hill. 2001.

HARRIES & WEISS, **Ber.**, v. 33, p.3418,1900. *In*: ELDERFIELD, R.C. **Heterocyclic Compoud**, Jonh wiley & Sons, v. 5, 1957. p. 711-716.

HAWKEY, C.J. Cox-2 inhibitors. **The Lancet**, v. 353, p. 307-314, 1999.

HAWKEY, C., J. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs and the gastrointestinal tract: consensus and controversy. Introduction. **Am J Med**. V.110, p.1S-3S, 2001.

HELFENSTEIN, M.J.R. **100 Perguntas e Respostas Sobre Antiinflamatórios**. Cartilha Merck Sharp e Dohme. 2001.

HENRY, D.; LIM, L. L-Y. Variability in risk of gastrointestinal complications with individual non-steroidal anti-inflammatory drugs: results of a collaborative metaanalysis. **Br. Med. J.**, v. 312, p. 1563-1566, 1996, *In*: RANG, H.P.; DALE, M. M.; RITTER, J.M.; MOORE, P.K. **Farmacologia**. Rio de Janeiro: Elsevier, 5.ed. 2004.

HUNSKAAR S., HOLE K.; The formalin test in mice: dissociation between inflammatory and non-inflammatory pain. **Pain**. v. 30: 103-4 p., 1987.

INSEL, P.A. **Fármacos analgésicos, antipiréticos e antiinflamatórios e medicamentos usados no tratamento da gota**. *In*: GOODMAN & GILMAN, A.; HARDMAN, J.G.; MOLINOFF, P.B.; LIMBIRD, L.E.; RAYMOND, W.R. As bases farmacológicas da terapêutica. Rio de Janeiro: McGraw, 1996. p. 459-480.

JAKSE, R.; KROSELJ, V.; REENIK, S.; SORSAK, G.; SVETE, J.; STANOVNIK, B.; GRDADOLNIK, S.G. Stereoselective synthesis of 5-[(Z)-heteroaryl(methylidene)] substituted hydantoins and thiohydantoins as aplysinopsin analogs. **Z. Naturforschung**, v. 57 b, 453-59 p., 2002.

KAMPMANN E.; FREY HH. Serum concentration of phenylbutazone in tests for antiphlogistic activity and under clinical treatment **Nature** **209(22):519, 1996**. *In*: KOSERSKY D. S.; DEWEY W. L.; HARRIS L. S. Antipyretic, analgesic and anti-inflammatory effects of delta-9-tetrahydrocannabinol in the rat , **European Journal of Pharmacology**, V. 24, 1-7 p., 1973.

KATZUNG, B. **Farmacologia básica e clínica**. 5.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 2000.

KETTERER, B.; COLES, B.; MEYER, D. J. The role of glutathione in detoxication. *Environ. Health Perspect*, v. 49, 56-69 p., 1983.

KLASON, P. **Chem Ztg.**, v. 14, p. 543, 1890. *In*: EDWARD, J.T. Thiohydantoin. **Chem. Org. Sulfur. Med. Eng.**, v. 2, p. 287-309, 1966.

Klemm, P., Harris, H.J.; Perreti, M. "Effect of rolipram in a murine model of acute inflammation: comparison with the corticoid dexamethasone" *European Journal of Pharmacology*, v. 281, p. 69-74, 1995.

KOCHKANYAN, R.O.; ISRAELYAN, Y.A.; ZARITOVISKII, A.N. New method for synthesis of azolidones. **Chem. Heter. Comp.**, Paris, v. 22, p. 485-489, 1987.

KOSTER R.; ANDERSON M.; DE BEER E. J. Acetic Acid For Analgesic Screening., **Fed. Proc.**, v. 18: 418-420 p., 1959.

LAGES, A. S.; ROMEIRO, N.C.; FRAGA, C.A.M.; BARREIRO, E.J. Química Nova, v. 21, p. 761, 1998. *In*: FRAGA, C.A.M. Razões da atividade biológica: Interações micro-e biomacromoléculas. **Cadernos Temáticos de Química Nova na Escola**, n. 3, p. 33-41, 2001.

LANGMUIR, I. Isomorphism, isosterism and covalence. *J. Am. Chem. Soc.*, v. 41, n. 10, p. 1543-1559, 1919. *In*: KOROLKOVAS, A. **Fundamentos de farmacologia molecular: base para o planejamento de fármacos**. São Paulo: USP, 1974.

LANGMUIR, I. Isomorphism, isosterism and covalence. *J. Am. Chem. Soc.*, v. 41, n. 10, p. 1543-1559, 1919. *In*: KOROLKOVAS, A. **Fundamentos de farmacologia molecular: base para o planejamento de fármacos**. Editora da Universidade de São Paulo. São Paulo. 1974.

LEVAL, X.; DELARGE, J.; SOMERS, F.; TULLIO, P.; HENROTIN, Y.; PIROTTE, B.; DOGNÉ, J.M. Recent advances in inducible cyclooxygenase (COX-2) inhibition **Current Medicinal Chemistry**, v. 7, p. 1041-1062, 2000.

LIMA, M.C.A.; COSTA, D.L.B.; GÓES, A.J.S.; GALDINO, S.L.; PITTA, I.R.; LUU-DUC, C. Synthèse et activité antimicrobienne des dérivés chlorobenzyl benzylidène imidazolidinediones et thiazolidinedines substituées. **Pharmazie**, v. 47, p. 182-184, 1992.

LO, C.P.; SHROPSHIRE, E.Y. The alkylation of 2,4-thiazolidinedione. **J. Org. Chem.**, v. 22, n. 8, p. 999-1000, aug.1957.

LOUZADA, P.J.R.; PETEAN, F.C.; SILVA, L.M.; DONADI, E.A. Inflamação nas doenças reumáticas. **Revista Brasileira de Medicina**, v. 57, p. 1-16, ed. esp., 2000.

MENEGATTI, R.; FRAGA, C.A.M.; BARREIRO, E.J. Importância da síntese de fármacos. **Cadernos Temáticos de Química Nova na Escola**, n. 3, p. 16-21, 2001.

MIÑO, J.; MOSCATELLI, V.; HNASZYNY, O.; GORZALCZANY, S.; ACEVEDO, C.; FERRARO, G. Antinociceptive and antiinflammatory activities of *Artemisia copa* extracts. **Pharmacological Research**, V.50, p.50-63, 2004.

MINCIS, M. **Helicobacter pylori: avanços e problemas**. Educação continuada em saúde. Instituto de Ensino e Pesquisa. Universidade Israelita da Saúde. Disponível em <
<http://www.einstein.br/biblioteca/artigos/129%20130.pdf>>. Acesso em: 25 nov.2004.

NATAHAN, C. Points of control in inflammation. **Nature**, v. 420, p. 846-852, 2002.

OLIVEIRA, A.C.; LEAL-CARDOSO, J.H.; SANTOS, C.F.; MORAIS, S.M.; COELHO-DE-SOUZA, A.N. Antinociceptive effects of the essential oil of *Croton zehntneri* in mice. **Braz. J. Med. Biol. Res.**, v. 34, p. 1471-1474, 2001.

PALASKA, E.; SAHIN, G.; KELICEN, P; DURLE, N. T.; ALTINOK, G. Synthesis anti-inflammatory activity of 1-acylthiosemicarbazides, 1,3,4-thiadiazoles and 1,2,4-triazole-3-thiones. **IL Farmaco**, v. 57, p. 101-107, 2002.

PATRICK, G.L. **An introduction to medicinal chemistry**. 2.ed. Oxford University, 2001.

PEREIRA, D.T.M. **Síntese, caracterização estrutural e avaliação da atividade antiinflamatória de derivados tiazolidínicos e imidazolidínicos**. 2003. (Mestrado em Biotecnologia de Produtos Bioativos) Departamento de Antibióticos, Universidade Federal de Pernambuco. Recife. Brasil.

PEREZ, R.G.; GUEDES, P.P.; VIVES, R.; CANTO, G. Revisión. antiinflamatorios inhibidores selectivos de la cicloxigenasa-2 (COX-2). **Alergol Inmunol Clin.**, v. 17, p. 247-254, 2002.

POPP, F.D. **Journal of Organic Chemistry**, v. 25, p. 646-7, 1960.

RANG, H.P.; DALE, M.M.; RITTER, J.M.; MOORE, P.K. **Farmacologia**. 5.ed. Rio de Janeiro: Elsevie, 2004.

RODRIGUES, C.R.; VELOSO, M.P.; VERLI, H.; FRAGA, C.A.M.; MIRANDA, A.L.P.; Processo no desenvolvimento de fármacos: Modelagem molecular. **Cadernos Temáticos de Química Nova na Escola**, n. 3, p. 43-49, 2001.

RODRIGUES, C.R.; VELOSO, M.P.; VERLI, H.; FRAGA, C.A.M.; MIRANDA, A.L.P.; BARREIRO, E. J. Selective PGHS-2 inhibitors: A rational approach for treatment of inflammation. **Current Medicinal Chemistry**, 2002.

ROSLAND J. H.; TJOLSEN A., MACHLE B., HOLE D.,K.; The formalin test in mice. Effect of formalin concentration. **Pain**; v. 42, 42: 235-42 p., 1990.

RUHEMANN, CUNNINGTON. **J. Chem. Soc.**, v. 75, p. 958, 1899.

SANT'ANNA. C.M.R. Glossário de termos usados no planejamento de fármacos (Recomendações da IUPAC para 1997). **Química Nova**, v. 25, n. 3, p. 505-512, 2002.

SILVA F. S. V. C. B. **Síntese e Avaliação Biológica de Novos Derivados Acridino-Tiazolidínicos e Benzilideno-Imidazolidínicos**. 2001. (Mestrado em Biotecnologia de Produtos Bioativos) Departamento de Antibióticos, Universidade Federal de Pernambuco. Recife. Brasil.

SILVA, P. **Farmacologia**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002.

SIN Y. M.; POOK S. H.; TAN T. M.; PETTERSON A.; KARA A. U.; TEH W. F. Changes in Glutathione and its Associated Enzymes During Carrageenan-Induced Acute Inflammation in Mice. **Biochem. Physiol.**, v. 116C, nº 3, 191-195 p., 1997.

STACK, E.; DUBOIS, R.N.; Regulation of ciclo-oxygenase-2. **Best Practice e Research**, v. 15, n. 5, p. 787-800, 2001.

STEVENS, A.; LOWE, J. **Patologia**. 2.ed. São Paulo: Times Mirror International Publishers, 1998.

THOMAS, G. **Química medicinal uma introdução**. 1.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2003.

TURINI, M.E.; DUBOIS, R.N. Cyclooxygenase-2: A therapeutic target. **Annu. Rev. Méd.**, p. 35-57, 2002.

UCHÔA, F. D. T. **Síntese e avaliação da atividade antiinflamatória de 5-benzilideno-3-(4-clorobenzil)-tiazolidina-2,4-dionas**. 2004. (Mestrado em

Biotecnologia de Produtos Bioativos) Departamento de Antibióticos, Universidade Federal de Pernambuco. Recife. Brasil.

UCKO, D.A. Química para as ciências da saúde: uma introdução à química geral, orgânica e biológica. 2.ed. São Paulo: Manole, 1992.

VANE JR. Inhibition of prostaglandin synthesis as mechanism of action for aspirin-like drugs *In*: PEREZ, R.G.; GUEDES, P.P.; VIVES, R.; CANTO, G. Revisión. antiinflamatorios inhibidores selectivos de la cicloxigenasa-2 (COX-2). **Alergol Inmunol Clin.**, v. 17, p. 247-254, 2002.

VANE, J.R. BOTTING, R.M. Mechanism of action of nonsteroidal anti-inflammatory drugs. **The American Journal of Medicine**, v. 104, n. 3 A, 1998.

VANE, J.R.; BOTTING, R.M. Mechanism of action of aspirin. **Thrombosis Research**, v. 110, p. 255-258, 2003.

VANE, JR.; BOTTING, R.M. New insights into the mode of action of anti-inflammatory drugs. *Inflammation research*. v. 44, n. 1, p. 1-10, 1995. *In*: SANTORO, B.A. **Efeitos dos inibidores da cicloxigenase-2 sobre a mucosa do trato gastrointestinal**. 2003. 24p. Trabalho apresentado ao Centro de Ensino Superior de Maringá como requisito parcial para a obtenção do título de Especialista em Farmacologia.

VIANA, A.F.; HECKLER, A.P.; FERNNER, R.; RALES, S.M.K. Antinociceptive Activity Of *Hypericum Caprifloratum* And *Hypericum Polyanthenum*. **Braz. J. Med. Biol. Res.**, v. 36(5), p. 631-634, 2003.

WESOLOWSK, A.; YOUNG, S., DUKAT, A.; MD-354 potentiates the antinociceptive effect of clonidine in the mouse tail-flick but not hot-plate assay. **European Journal of Pharmacology**. V. 495, p.129-136, 2004.

WHEELER, H.E.; HOFFMANN. C. X. C- On hydantoin: A synthesis of phenylalanine and tyrosine. **J.Chem. Soc.**, v. 45, n. 741, p. 368-383, 1911.

WHO -World Health Organization, Chronic rheumatic conditions Disponível em: <<http://www.who.int/chp/topics/rheumatic/en/>> Acesso em: 20 out.2004.

WILLOUGHBY, D.A.; MOORE, A.R.; COLVILLE-NASH, P.R. COX-1, COX-2 and COX-3 and the future treatment of cronic inflammatory disease. **The Lancet**, v. 355, p. 646-648, 2000.

WINTER, C.A.; RISLEY, E.A.; NUSS, G.W. Carrageenin-induced edema in hind paw of the rat as na assay for antiinflammatory drugs. **Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine**, v. 111,p. 544-547, 1962.

Yaksh, T. L.; Rudy, T. A.;. Studies on the direct spinal action of narcotics in the production of analgesia in the rat. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 202: 411-428, 1977. *in*: OLIVEIRA, A. C.; LEAL-CARDOSO, J. H.; SANTOS, C. F.; MORAIS, S. M.; COLEHO-DE-SOUZA, A. N. Antinoceptive effects of the essential oil of *Croton zehntneri* in mice. **Braz. J. Med. Biol. Res.**, v. 34, p. 1471-1474, 2001.