

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO  
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS  
DEPARTAMENTO DE ANTIBIÓTICOS  
MESTRADO EM BIOTECNOLOGIA DE PRODUTOS BIOATIVOS**

**NOVAS MOLÉCULAS IMIDAZOLIDÍNICAS: PREPARAÇÃO,  
DETERMINAÇÃO ESTRUTURAL E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE  
ANTICONVULSIVANTE**

**Manuela dos Santos Carvalho**

**RECIFE, 2005**

Manuela dos Santos Carvalho

**NOVAS MOLÉCULAS IMIDAZOLIDÍNICAS: PREPARAÇÃO, DETERMINAÇÃO  
ESTRUTURAL E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTICONVULSIVANTE**

**DISSERTAÇÃO APRESENTADA AO  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM  
BIOTECNOLOGIA DE PRODUTOS  
BIOATIVOS, COMO PROPOSTA PARA  
OBTENÇÃO DO TÍTULO DE MESTRE.**

**Área de Concentração: Química de  
Compostos Bioativos**

**Orientadora: Profª. Drª. Suely Lins Galdino**

**Co-orientadora: Profª. Drª. Ivone Antônia de Sousa**

**RECIFE, 2005**

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO  
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS  
DEPARTAMENTO DE ANTIBIÓTICOS

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO APRESENTADA POR MANUELA DOS SANTOS CARVALHO 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 PUBLICAMENTE EM 21 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. IVONE ANTÔNIA DE SOUZA  
Departamento de Antibióticos – UFPE

**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 ARTE DE SER FELIZ

"Acorde todas as manhãs com um sorriso. Esta é mais uma oportunidade que você tem para ser feliz.

Seja seu próprio motor de ignição. O dia de hoje jamais voltará. Não o desperdice, pois você nasceu para ser feliz! Enumere as boas coisas que você tem na vida.

Ao tomar consciência do seu valor, você será capaz de ir em frente com muita força, coragem e confiança!

Trace objetivos para cada dia. Você conquistará seu arco-íris, um dia de cada vez. Seja paciente.

Não se queixe do seu trabalho, do tédio, da rotina, pois é o seu trabalho que o mantém alerta, em constante desenvolvimento pessoal e profissional, além disso o ajuda a manter a dignidade.

Acredite, seu valor está em você mesmo.

Não se deixe vencer, não seja igual, seja diferente. Se nos deixarmos vencer, não haverá surpresas, nem alegrias ...

Conscientize-se que a verdadeira felicidade

está dentro de você. A felicidade não é ter ou alcançar, mas sim dar. Estenda sua mão. Compartilhe. Sorria. Abrace. A felicidade é um perfume que você não pode passar nos outros sem que o cheiro fique um pouco em suas mãos.

O importante de você ter uma atitude positiva diante da vida, ter o desejo de mostrar o que tem de melhor, é que isso produz maravilhosos efeitos colaterais.

Não só cria um espaço feliz para o que estão ao seu redor, como também encoraja outras pessoas a serem mais positivas.

E nunca esqueça que a felicidade começa de dentro para fora, nunca ao contrário. Ser feliz é acima de tudo estar em paz consigo mesmo.

Por isso, não se crucifique diante dos erros cometidos, ao contrário disso, aprenda com seus erros e tente, na medida do possível, não voltar a cometer os mesmos erros.

Somente assim você encontrará a paz que habita dentro de si.

O tempo para ser feliz é agora. O lugar para ser feliz é aqui!"

(Autor desconhecido)

## DEDICATÓRIA

Dedico esta obra a *Deus* que sempre me deu força e determinação para jamais desanimar diante dos obstáculos da vida, a *Manuel Carvalho* que sempre foi e será minha referência em humildade, sabedoria e paciência. A *Damiana Carvalho* pela dedicação e motivação. E a todos os meus irmãos, pelo reconhecimento e respeito mútuo.

## AGRADECIMENTOS

A Professora Suely Lins Galdino, do Laboratório de Planejamento e Síntese de Fármacos - LPSF/GPIT do Departamento de Antibióticos da Universidade Federal de Pernambuco, pela orientação e disponibilidade;

A Professora Ivone Antônia de Sousa do Laboratório de Cancerologia e Farmacologia Experimental do Departamento de Antibióticos da Universidade Federal de Pernambuco que me iniciou na vida científica e me incentivou ao trabalho com entusiasmo, pelos conhecimentos adquiridos durante a realização do estágio de docência, e também aos trabalhos realizados durante todo esse tempo nos quais tenho aprendido muito;

A Professora Maria do Carmo Alves de Lima do Laboratório de Planejamento e Síntese de Fármacos - LPSF/GPIT do Departamento de Antibióticos da Universidade Federal de Pernambuco pela dedicação e satisfação em tudo que faz, incentivo à vida científica e apoio no desenvolvimento deste trabalho;

Ao Professor Ivan da Rocha Pitta, do Laboratório de Planejamento e Síntese de Fármacos - LPSF/GPIT do Departamento de Antibióticos da Universidade Federal de Pernambuco, pela colaboração e acolhida ao desenvolvimento deste trabalho;

À Professora Mônica Camelo de Pessoa Azevedo de Albuquerque pelo apoio e disponibilidade para o estágio de docência;

Aos Professores e Funcionários do Departamento de Antibióticos e do Biotério do Departamento de Antibióticos da Universidade Federal de Pernambuco

pela colaboração e auxílio no desenvolvimento deste trabalho, aos funcionários da Central Analítica do Departamento de Química Fundamental, ao funcionário Ricardo Oliveira pela realização dos espectros de RMN<sup>1</sup>H, bem como a Weelington Alves de Navarro da Universidade Federal da Paraíba pela realização dos espectros de Infravermelho (IV);

A secretária do Curso de Mestrado em Biotecnologia de Produtos Bioativos, Maria Suely Rodrigues Cavalcanti, pelo disponibilidade constante, apoio e colaboração ao longo desse trabalho;

Em especial aos colegas do Laboratório de Planejamento e Síntese de Fármacos - LPSF/GPIT: Ângela Coelho Andrade, Daniel Tarcísio Pereira, Diana Malta, Everaldo do Santos, Géron Paiva, Janaína Rodrigues, Leila Cabral, Maíra Pitta, Micheline Miranda, Rosa Mourão, Ricardo Olímpio de Moura, Terezinha Gonçalves, e aos alunos de Iniciação Científica pela convivência e apoio durante esse trabalho;

Em especial a minha amiga Andréa Cristina Apolinário da Silva pelo apoio e ajuda mútua na vida pessoal e profissional ao longo dessa jornada;

A Flávia De Toni Uchoa pela iniciativa e disposição em sempre ajudar seus colegas, favorecendo nosso convívio e enriquecendo nossos conhecimentos;

Ao aluno do Laboratório de Cancerologia e Farmacologia Experimental do Departamento de Antibióticos da Universidade Federal de Pernambuco Aldo César Passilongo da Silva pela colaboração durante a realização da parte experimental biológica e a aluna de Iniciação Científica Francimary Guedes pela dedicação, colaboração e pela relação estabelecida entre aprender e ensinar;

Aos órgãos de fomento, que proporcionam os investimentos diretos no desenvolvimento de pesquisas, por meio do financiamento de auxílios e insumos neste país, e em especial ao CNPq pela concessão da bolsa de estudos;

A Deus que sempre me auxiliou em todas as etapas da minha vida, me proporcionando paz, alegria e determinação;

E por fim, àquelas pessoas que não estão diretamente relacionadas a este trabalho, mas indiretamente contribuíram através da motivação e auxílio na sua hora oportuna;

À minha querida Família, pela motivação e compreensão nos momentos de ausência.

# SUMÁRIO

**LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS**

**LISTA DE ESQUEMAS**

**LISTA DE FIGURAS**

**LISTA DE TABELAS**

**RESUMO**

**ABSTRACT**

**1. INTRODUÇÃO** 28

**2. OBJETIVOS** 33

**2.1. Geral** 33

**2.2. Específicos** 33

**REVISÃO DA LITERATURA**

**3.1. Dados Epidemiológicos** 36

**3.2. Etiologia da Epilepsia** 38

**3.2.1. Classificação dos Distúrbios Convulsivos** 45

**3.2.1.1. Convulsões Parciais** 45

**3.2.1.2. Convulsões Generalizadas** 47

**3.2.1.3. Natureza e Mecanismos das Convulsões** 49

**3.3. Fármacos Anticonvulsivantes** 52

**3.3.1. Mecanismos de Ação dos Principais Fármacos** 54

**Anticonvulsivantes**

**3.3.2. Principais Classes de Anticonvulsivantes Utilizados na** 56

<b>terapêutica</b>	
<b>3.3.2.1. Hidantoínas</b>	<b>56</b>
<b>3.3.2.2. Oxazolidinodionas</b>	<b>58</b>
<b>3.3.2.3. Succinimidas</b>	<b>58</b>
<b>3.3.2.4. Barbitúricos Anticonvulsivantes</b>	<b>59</b>
<b>3.3.2.5. Iminostilbenos</b>	<b>60</b>
<b>3.3.2.6. Ácido Valpróico</b>	<b>60</b>
<b>3.3.2.7. Benzodiazepínicos</b>	<b>61</b>
<b>3.4. A Química dos Derivados Imidazolidinônicos Bioativos</b>	<b>62</b>
<b>3.5. Estratégias no Desenvolvimento de Novos Fármacos</b>	<b>66</b>
<b>Antiepilépticos (FAE)</b>	
<b>ESTUDO QUÍMICO</b>	<b>72</b>
<b>4. Síntese de Derivados Imidazolidínicos</b>	<b>72</b>
<b>4.1. Material e Métodos</b>	<b>73</b>
<b>4.1.1. Equipamentos</b>	<b>73</b>
<b>4.1.2. Reagentes e solventes</b>	<b>73</b>
<b>4.1.3. Cromatografia</b>	<b>74</b>
<b>4.2. Metodologia</b>	<b>74</b>

<b>4.2.1. Obtenção do 3-(4-metil-benzil)-imidazolidina-2,4-diona (MS-0)</b>	<b>74</b>
<b>4.2.2. Obtenção dos derivados 5-benzilideno-3-(4-metil-benzil)-imidazolidina-2,4-diona (MS)</b>	<b>75</b>
<b>4.3. Resultados e Discussão</b>	<b>80</b>
<b>4.3.1. 3-(4-metil-benzil)-imidazolidina-2,4-diona (MS-0)</b>	<b>80</b>
<b>4.3.2. Obtenção dos derivados 5-benzilideno-3-(4-metil-benzil)-imidazolidina-2,4-diona (MS)</b>	<b>81</b>
<b>4.3.3. Análise Estrutural</b>	<b>83</b>
<b>4.3.3.1. Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio (RMN<sup>1</sup>H) e no Infravermelho (IV)</b>	<b>83</b>
<b>4.3.4. Espectrometria de Massas</b>	<b>106</b>
<b>ESTUDO BIOLÓGICO</b>	<b>108</b>
<b>5. Screening de Novos Fármacos Antiepilépticos</b>	<b>120</b>
<b>5.1. Material</b>	<b>121</b>
<b>5.1.1. Animais</b>	<b>122</b>
<b>5.2. Metodologia</b>	<b>122</b>
<b>5.2.1. Preparação dos produtos sintetizados</b>	<b>122</b>
<b>5.2.2. Atividade Toxicidade Aguda – Efeitos Gerais</b>	<b>123</b>
<b>5.2.3. Determinação da Atividade Anticonvulsivante dos Novos Derivados Imidazolidínicos</b>	<b>124</b>

<b>5.3. Resultados e Discussão</b>	<b>125</b>
<b>5.3.1. Atividade Toxicidade Aguda – Efeitos Gerais</b>	<b>125</b>
<b>5.3.2. Atividade Anticonvulsivante</b>	<b>127</b>
<b>6. CONCLUSÕES</b>	<b>134</b>
<b>7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b>	<b>137</b>
<b>8. ANEXOS</b>	

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

WHO – World Health Organization

SNC – Sistema Nervoso Central

EEG - Eletroencefalograma

ILAE - Liga Internacional contra Epilepsia

FAE – Fármacos Antiepilepticos

NMDA - N-Metil-D-Aspartato

GABA – Ácido  $\gamma$ -Aminobutírico

FFT - Fosfenitoína

LPSF - Laboratório de Planejamento e Síntese de Fármacos

OMS - Organização Mundial de Saúde

GPIT – Grupo de Pesquisa em Inovação Terapêutica

UFPE – Universidade Federal de Pernambuco

RMN<sup>1</sup>H – Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio

IV – Infravermelho

CCD – Cromatografia em Camada Delgada

DMSO - Dimetilsulfóxido

s - Singlet

d – Dupletos

dd – Duplo dupletos

t - Tripleto

q - Quadrupletos

M - Multipletos

Hz - Hertz

MHz – Mega Hertz

$\delta$  - Deslocamentos químicos

eV - Eletrovoltz

KOH – Hidróxido de Potássio

CH<sub>3</sub>OH - Metanol

DMF - Dimetilformamida

SN<sub>2</sub> . Substituição nucleofílica de segunda ordem

ppm – Parte por milhão

Rdt - Rendimento

Rf – Razão de frente

mL - Mililitros

g - Grama

DMSO-d<sub>6</sub> – Dimetilsulfóxido deuterado

## LISTA DE ESQUEMAS

Esquema 2 – Etapas necessárias para o planejamento de novos fármacos anticonvulsivantes	69
Esquema 3 – Diagrama de síntese de derivados 5-benzilideno-3-(4-metil-benzil)-imidazolidina-2,4-diona ( <b>MS</b> )	72
Esquema 4 – Diagrama de síntese do 3-(4-metil-benzil)-imidazolidina-2,4-diona ( <b>MS-O</b> )	75
Esquema 5 – Diagrama de síntese de derivados 5-benzilideno-3-(4-metil-benzil)-imidazolidina-2,4-diona ( <b>MS</b> )	76
Esquema 6 – Reação de N-alquilação da imidazolidina-2,4-diona ( <b>MS-O</b> )	80
Esquema 7 – Mecanismo reacional da imidazolidina-2,4-diona	81
Esquema 8 – Diagrama de síntese dos derivados 5-benzilideno-3-(4-metil-benzil)-imidazolidina-2,4-diona ( <b>MS</b> )	81
Esquema 9 – Mecanismo reacional de obtenção dos derivados 5-benzilideno-3-(4-metil-benzil)-imidazolidina-2,4-diona ( <b>MS</b> )	82

Esquema 10 – Principais fragmentações do composto 3-(4-metil-benzil)-5-(4- 107  
metoxi-benzilideno)-imidazolidina-2,4-diona (**MS-1**)

Esquema 11 – Principais fragmentações do composto 5-(4-cloro- 109  
benzilideno)-3-(4-metil-benzil)-imidazolidina-2,4-diona (**MS-2**)

Esquema 12 – Principais fragmentações do composto 5-(3-bromo- 111  
benzilideno)-3-(4-metil-benzil)-imidazolidina-2,4-diona (**MS-4**)

Esquema 13 – Principais fragmentações do composto 5-(4-flúor- 113  
benzilideno)-3-(4-metil-benzil)-imidazolidina-2,4-diona (**MS-5**)

Esquema 14 - Principais fragmentações do composto 3-(4-metil-benzil)-5-(4- 115  
metil-benzilideno)-imidazolidina-2,4-diona (**MS-6**)

Esquema 15 – Principais fragmentações do composto 5-(2-bromo- 117  
benzilideno)-3-(4-metil-benzil)-imidazolidina-2,4-diona (**MS-7**)

Esquema 17 - Bioensaio Anticonvulsivante 125

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Impulso Nervoso	41
Figura 2 – Canais de Sódio	41
Figura 3 – Processo Convulsivo	43
Figura 4 – Área Cerebral Afetada	49
Figura 5 – Crise na região posterior gera a sensação de dormência	50
Figura 6 – A região occipital responsável pela visão	50
Figura 7 – O distúrbio, acontecendo na região responsável pela audição	50
Figura 8 – A crise surgida em uma determinada região pode se estender por todas a superfície cerebral	51
Figura 9 – Quando acontece na região central frontal, a descarga gera convulsão em alguma parte do corpo	51
Figura 10 – Na área central anterior do cérebro, um distúrbio costuma causar suor em excesso	51
Figura 11 – Fármacos anticonvulsivantes	54
Figura 12 – Canais e íons envolvidos com as situações patológicas da convulsão	55

Figura 13 – Fosfenitoína	57
Figura 14 – Trimetadiona	58
Figura 15 – Etossuximida	59
Figura 16 - Benzodiazepínicos	61
Figura 17 – Clonidina, Nafazolina e Fentolamina	63
Figura 18 – Imidazolidina-2,4-diona	64
Figura 19 – Mefenitoína e Fenobarbital	64
Figura 20 – Equação geral para síntese de 5-(fenil-metileno)-imidazolidina-2,4-diona	66
Figura 21 - Espectro de RMN <sup>1</sup> H do composto Imidazolidina-2,4-diona ( <b>MS-0</b> )	86
Figura 22 - Espectro de Infravermelho (IV) do composto 4-metil-benzil-imidazolidina-2,4-diona ( <b>MS-0</b> )	87
Figura 23 – Espectro de RMN <sup>1</sup> H do composto 3-(4-metil-benzil)-5-(4-metoxi-benzilideno)-imidazolidina-2,4-diona ( <b>MS-1</b> )	89
Figura 24 – Espectro de Infravermelho (IV) do composto 3-(4-metil-benzil)-5-(4-metoxi-benzilideno)-imidazolidina-2,4-diona ( <b>MS-1</b> )	90
Figura 25 - Espectro de RMN <sup>1</sup> H do composto 5-(4-cloro-benzilideno)-3-(4-metil-benzil)-imidazolidina-2,4-diona ( <b>MS-2</b> )	92

Figura 26 – Espectro de Infravermelho (IV) do composto 5-(4-cloro-benzilideno)-3-(4-metil-benzil)-imidazolidina-2,4-diona ( <b>MS-2</b> )	93
Figura 27 - Espectro de RMN <sup>1</sup> H do composto 5-(3-bromo-benzilideno)-3-(4-metil-benzil)-imidazolidina-2,4-diona ( <b>MS-4</b> )	95
Figura 28 – Espectro de Infravermelho (IV) do composto 5-(3-bromo-benzilideno)-3-(4-metil-benzil)-imidazolidina-2,4-diona ( <b>MS-4</b> )	96
Figura 29 - Espectro de RMN <sup>1</sup> H do composto 5-(4-flúor-benzilideno)-3-(4-metil-benzil)-imidazolidina-2,4-diona ( <b>MS-5</b> )	98
Figura 30 – Espectro de Infravermelho (IV) do composto 5-(4-fluor-benzilideno)-3-(4-metil-benzil)-imidazolidina-2,4-diona ( <b>MS-5</b> )	99
Figura 31- Espectro de RMN <sup>1</sup> H do composto 3-(4-metil-benzil)-5-(4-metil-benzilideno)-imidazolidina-2,4-diona ( <b>MS-6</b> )	101
Figura 32 - Espectro de Infravermelho (IV) do composto 3-(4-metil-benzil)-5-(4-metil-benzilideno)-imidazolidina-2,4-diona ( <b>MS-6</b> )	102
Figura 33 - Espectro de RMN <sup>1</sup> H do composto 5-(2-bromo-benzilideno)-3-(4-metil-benzil)-imidazolidina-2,4-diona ( <b>MS-7</b> )	104
Figura 34 - Espectro de Infravermelho (IV) do composto 5-(2-bromo-benzilideno)-3-(4-metil-benzil)-imidazolidina-2,4-diona ( <b>MS-7</b> )	105
Figura 35 – Espectro de Massas do composto 3-(4-metil-benzil)-5-(4-metoxi-benzilideno)-imidazolidina-2,4-diona ( <b>MS-1</b> )	108
Figura 37- Espectro de Massa do composto 5-(3-bromo-benzilideno)-3-(4-metil-benzil)-imidazolidina-2,4-diona ( <b>MS-4</b> )	112

Figura 38 - Espectro de Massa do composto 3-(4-metil-benzil)-5-(4-fluor-benzilideno)-imidazolidina-2,4-diona ( <b>MS-5</b> )	114
Figura 39- Espectro de Massa do composto 3-(4-metil-benzil)-5-(4-metil-benzilideno)-imidazolidina-2,4-diona ( <b>MS-6</b> )	39
Figura 40 - Espectro de Massa do composto 5-(2-bromo-benzilideno)-3-(4-metil-benzil)-imidazolidina-2,4-diona ( <b>MS-7</b> )	40
Figura 41 – Efeito Protetor antes da primeira crise convulsiva pelo <b>MS-2</b> .	128
Figura 42 - Efeito protetor antes da Primeira Crise Convulsiva pelo <b>MS-6</b>	128
Figura 43 - Efeito protetor antes da Primeira Crise Convulsiva – Composto <b>MS-2</b>	130
Figura 44 - Efeito protetor antes da Primeira Crise Convulsiva – Composto <b>MS-6</b>	130
Figura 45 – Estruturas dos derivados <b>MS-2</b> e <b>MS-6</b>	131

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Características físico-químicas dos novos derivados imidazolidínicos	83
Tabela 2 – Efeitos toxicológicos observados na dose 1000 mg/kg	126
Tabela 3 – Efeitos toxicológicos observados – dose 2000 mg/kg	126
Tabela 4 – Efeitos toxicológicos observados – dose 3000 mg/kg	127
Tabela 5 - Efeito protetor antes da primeira crise do MS-2	127
Tabela 6 - Efeito protetor antes do óbito MS-2	127
Tabela 7- Efeito protetor antes da primeira crise do MS-6	129
Tabela 8 - Efeito protetor antes do óbito MS-6	129

## RESUMO

Epilepsia, uma das mais freqüentes aflições neurológicas no homem, é caracterizada pelas descargas neuronais temporais excessivas que resultam em convulsões incontroláveis, requerendo atenção médica especial. Até agora, a epilepsia permanece subtratada a despeito dos avanços no desenvolvimento de drogas efetivas para o tratamento, e muitos pacientes ainda recebem terapia inadequada ou inapropriada. As hidantoínas, uma classe de imidas cíclicas, tem sido demonstrada como possuindo boas propriedades anticonvulsivantes, dependendo da natureza da substituição no anel hidantoínico. A hidantoína substituída com grupos alquil, halogênio, trifluormetil, e alcoxil no anel fenil foram encontrados exibindo boa atividade anticonvulsivante. Os compostos foram sintetizados a partir da imidazolidina-2,4-diona, seguida pela reação de N-alquilação na posição N-3 do anel imidazolidínico. As benzil-fenilmetileno-hidantoínas foram sintetizadas pela condensação base-catalisadas da imidazolidina-2,4-diona N-alquilada com benzaldeídos substituídos. Os testes anticonvulsivantes seguiram o método de indução por quimioconvulsivante administrando via intraperitoneal de 3,28 mg/kg de sulfato de estricnina penta hidratada. O efeito protetor dos compostos testados do MS-6 e MS-2 administrados na dose de 100 mg/kg i.p. previamente 1 hora à indução foi observado e comparado ao grupo controle (fenitoína 100 mg/kg). O efeito protetor antes da primeira crise e morte dos animais foram avaliados. O [3-(4-methyl-benzilideno)-5-(4-methyl-benzil)-Imidazolidina-2,4-diona] (MS-6) e [3-(4-methyl-benzilideno)-5-(4-cloro-benzil)-Imidazolidina-2,4-diona] (MS-2) foram sintetizados com satisfatórios rendimentos e suas estruturas foram confirmadas pelos métodos de caracterização estrutural de espectrometria no infravermelho (IV), ressonância magnética nuclear de hidrogênio (RMN<sup>1</sup>H) e espectrometria de massas (MS).

## ABSTRACT

Epilepsy, one of the most frequent neurological afflictions in the man, is characterized by recurrent spontaneous seizures by excessive temporary neuronal discharges resulting in uncontrolled convulsion, requires special medical attention. Until moment, the epilepsy remains subtreated the spite of the advances in the development of drugs effective for the treatment, and many patients still receive inadequate or unsatisfactory therapy. The hydantoins, a classroom of imidas cyclical, have been demonstrated as possessing good anticonvulsants properties, depending on the nature of the substitution in the hydantoin ring. The hydantoin substituted with alkyl, halogeno, trifluoromethyl, and alkoxyl groups at the phenyl ring had been found showing good anticonvulsant activity. The compounds were synthetized with imidazolidin-2,4-dione as composed of departure, followed for the reaction of N-alquilation at the N-3 position of the imidazolidine ring. The benzyl-phenylmethylenehydantoins were synthetized by the condensation base-catalyzed of imidazolidin-2,4-dione N-alkyleted with benzaldehydes substituted. The anticonvulsants tests had followed the method of induction for chemicalconvulsant injected way I.P. of 3,28 mg/kg of strichynin sulphate penta hydrated. The protective effect of tested compounds of the MS-6 and MS-2 injected in the dose of 100mg/kg i.p. previously 1h to the induction was observed and compared with the group it has controlled (fenitoína 100 mg/kg). The protective effect before the first seizure and death of the animals had been evaluated. [3-(4-methyl-benzylidene)-5-(4-methyl-benzyl)-Imidazolidin-2,4-dione] (MS-6) and [3-(4-methyl-benzylidene)-5-(4-chlorine-benzyl)-Imidazolidin-2,4-dione] (MS-2) were synthetized with satisfactory incomes and its structures had been confirmed by the methods of structural characterization of IV, RMN<sup>1</sup>H and MS. The anticonvulsant activity of the MS-2 and MS-6 was evaluated by the protection before the first seizure.

## INTRODUÇÃO

---

A epilepsia, uma das mais freqüentes desordens neurológicas, afeta em torno de 4 % dos indivíduos em qualquer fase da vida. Em torno de 20-30 % dos pacientes têm crises que são resistentes às terapias farmacológicas convencionais (YOGESWARI *et al.*, 2004).

Apesar dos avanços no entendimento e nos adventos de novos fármacos antiepilepticos, a epilepsia permanece um grande problema clínico. A compreensão dos distúrbios convulsivos tem sido um ponto importante para o desenvolvimento de fármacos antiepilepticos com alta eficácia e menos toxicidade que os fármacos já existentes. Os fármacos antiepilepticos clinicamente mais efetivos foram identificados através de screenning ou modificações estruturais em fármacos já existentes, embasados nas estratégias desenvolvidas a partir do conhecimento do processo fisiopatológico das crises convulsivas (NILSEN *et al.*, 2004).

Mecanismos comuns, que podem ser estudados para contribuição no tratamento da epilepsia, uncluem: 1) Os canais neuronais de sódio dependente de voltagem, 2) Ácido gama-aminobutírico (GABA); 3) Canais de cálcio dependente de voltagem, especialmente as correntes do tipo-T, e 4) Receptores N-metil-D-aspartato. Recentes evidências têm também conduzido a aplicações de moléculas que competem com ligantes endógenos do glutamato no propionato  $\alpha$ -amino-3-

hidroxi-5-metil-4-isoxazol (AMPA) e ácido ciânico (KA) para minimizar sintomas da epilepsia (SCHENCK *et al.*, 2004).

Os anticonvulsivantes têm melhorado extremamente a vida das pessoas com epilepsia. Aproximadamente 70 % dos pacientes conseguem ficar livres das crises com tratamento apropriado. Alguns dos anticonvulsivantes de gerações mais antigas têm sido introduzidos em novas formulações, como por exemplo, preparações de valproato e carbamazepina, ou modificações da fenitoína para pró-fármaco, como a fosfenitoína, que tornou-a mais solúvel para uso parenteral, resultando em aumento da eficácia e tolerabilidade (LÖSCHER, 1998).

Nos últimos anos houve grande incremento no desenvolvimento de novas fármacos antiepilépticos, que tem levado a um maior entendimento do mecanismo de ação destas e de alguns mecanismos implicados na etiologia da epilepsia, e com um relativo melhor controle de paciente com tal patologia (BURNEO *et al.*, 2002).

As imidazolidina-2,4-dionas, também denominadas hidantoínas, são heterociclos pentagonais potencialmente bioativos, que através de modificações estruturais favorecem mudanças na atividade biológica. Este heterociclo foi descoberto por Bayer em 1861 (BATEMAN, 1980).

A atividade anticonvulsivante da 5,5-difenilhidantoína comumente conhecida como fenitoína, é data de 1938, como um dos fármacos

anticonvulsivantes mais usados, e ainda considerado como um fármaco de escolha para o tratamento das crises tônico-clônicas generalizadas. Por sua eficácia e baixo custo, faz parte da Relação de Medicamentos Essenciais da Organização Mundial de Saúde (WHO, 1997) e também da Relação Nacional de Medicamentos Essenciais (BRASIL, 1999).

Trata-se de um exemplo expressivo da importância dos grupamentos substituintes na imidazolidina-2,4-diona. Modificações estruturais na molécula da fenitoína têm originado vários derivados que exibiram diferentes graus de atividade anticonvulsivante. A atividade anticonvulsivante de 5-benzilideno-hidantoína de acordo com os estudos de Thenmozhiyal e colaboradores (2004) apresentou resultados significativos, foram realizados estudos variando os substituintes no anel fenílico já condensado na posição 5 do núcleo imidazolidinônico, que forneceu a estrutura básica para este estudo demonstrando a importância dos parâmetros eletrônicos e lipofílicos na obtenção de uma boa atividade anticonvulsivante.

Assim sendo, foram planejados e sintetizados os novos derivados da série 5-benzilideno-3-(4-metil-benzil)-imidazolidina-2,4-diona (**MS**) que apresentaram grupos substituintes tais como: 1) Halogênios, que apresenta efeito de substituintes eletrônicos e lipofílicos, 2) Grupamento metóxi (-OCH<sub>3</sub>) como representante doador de elétrons e menos lipofílico e 3) Grupamento metil (-CH<sub>3</sub>) como representante doador de elétrons e mais lipofílico. Estes derivados foram

testados e avaliados quanto a potencialidade de uma resposta anticonvulsivante em camundongos.

## **OBJETIVOS**

---

### **2.1. Geral**

Contribuir na pesquisa de novos fármacos que auxiliam no tratamento dos distúrbios convulsivos através da avaliação da atividade anticonvulsivante de novas moléculas imidazolidínicas substituídas.

### **2.2. Específicos**

- ✓ Síntese de novos derivados da série 5-benzilideno-3-(4-metil-benzil)-imidazolidina-2,4-diona (MS);
- ✓ Caracterização estrutural dos compostos sintetizados pelos métodos espectroscópicos convencionais: infravermelho, ressonância magnética nuclear de hidrogênio e espectrometria de massas;
- ✓ Avaliação da atividade anticonvulsivante dos derivados 5-benzilideno-3-(4-metil-benzil)-imidazolidina-2,4-diona (MS).

## REVISÃO DA LITERATURA

---

O termo convulsão se refere a uma alteração transitória do comportamento causada pela ativação desordenada, sincrônica e ritmada de populações de neurônios cerebrais. O termo epilepsia refere-se a um distúrbio da função cerebral caracterizado pela ocorrência periódica e imprevisível de convulsões. As crises convulsivas podem ser não epilépticas quando provocadas no cérebro normal por tratamentos como o eletrochoque ou convulsivantes químicos, ou epilépticas quando surgem sem um estímulo evidente (GOODMAN e GILMAN, 2001).

De acordo com Guerreiro (2000), a epilepsia é a propensão a ter crises recorrentes e não provocadas; esta propensão pode resultar de um grande número de fatores etiológicos subjacentes. Epilepsia é, portanto, um sintoma de uma desordem cerebral subjacente. Uma única crise não é geralmente considerada suficiente para se fazer um diagnóstico de epilepsia. Crises epilépticas que ocorrem simplesmente em associação com fatores precipitantes ou ativadores são nomeadas crises agudas sintomáticas ou crises situacionais. Alguns precipitantes tais como febre, pancadas, distúrbios metabólicos, abuso de álcool ou drogas e dano agudo na cabeça. Crises sintomáticas agudas recorrentes normalmente não são consideradas "epilepsia".

Hipócrates descreveu a epilepsia como uma desordem do cérebro e estabeleceu a primeira classificação desta, que é usada ainda hoje. Ele distinguiu

a epilepsia idiopática, definida como uma desordem na qual a causa é desconhecida, da epilepsia sintomática, dita orgânica, que é simplesmente uma desordem resultante de anormalidades fisiológicas, tais como injúrias cerebrais, tumores, infecções, intoxicações ou distúrbios metabólicos (WILLIAMS, 2002).

Todas as formas de epilepsia têm origem no cérebro e se apresenta como sendo o resultado de mudanças na atividade neuronal. Estas mudanças tais como uma descarga neuronal excessiva, pode ter sido reconduzidas por um distúrbio da função psicoquímica e da atividade elétrica do cérebro. A causa desta anormalidade, entretanto, não está ainda claramente compreendida.

### **3.1. Dados Epidemiológicos**

A epidemiologia indica a distribuição de uma determinada doença em uma população. Os dados epidemiológicos são importantes para medidas preventivas e planejamento de ações de saúde pública. Porém, existem dificuldades para a realização de estudos epidemiológicos, principalmente nos países subdesenvolvidos. Além disso, resultados obtidos variam muito de um país para outro, ou até entre as regiões de um mesmo país. Essas diferenças podem ocorrer devido aos métodos utilizados para o estudo, ou mesmo devido à características do próprio local de coleta.

Segundo Borges e colaboradores (2002), os países desenvolvidos estimam a prevalência se utilizando os arquivos médicos. Os países em desenvolvimento

como o Brasil, em geral não possuem arquivos confiáveis e necessitam de outras metodologias epidemiológicas, que são mais trabalhosas além de onerosas. Nos países em desenvolvimento poucos pacientes com epilepsia recebem tratamento médico adequado, e é estimado que 75 a 90 % não é tratado.

De acordo com dados fornecidos em relatório anual da Organização Mundial de Saúde (WHO, 2003), a epilepsia é uma doença comum neurológica que afeta mais de 50 milhões de pessoas em todo o mundo; entre estas 5 milhões têm crises mais de uma vez por mês. Dois milhões de novos casos ocorrem no mundo a cada ano, dos quais aproximadamente 85 % ocorre nos países em desenvolvimento.

Em 2003, estudos realizados por todo o mundo confirmaram que a prevalência da epilepsia ativa era de aproximadamente 8.2 por 1000. Entretanto, esta pode ser uma prevalência que não refletia a realidade devido a alguns estudos em países em desenvolvimento nos quais sugeriam que a prevalência era mais que 10 por 1000 (WHO, 2003).

- A epilepsia está associada com o aumento dos riscos de mortalidade, ou seja, pode estar relatada como uma doença subordinada, tais como: 1) Um tumor ou infecção; 2) Crises em circunstâncias perigosas, resultando em afogamento, queimaduras ou danos cerebrais (WHO, 2003).

Segundo Min e colaboradores (2003), o sistema de saúde primário de pacientes com epilepsia é inexistente. Sabe-se que o não-tratamento está associado a maior morbidade e risco de morte súbita, que provavelmente é maior nos países em desenvolvimento, como o Brasil.

Segundo o Ministério da Saúde (BRASIL, 2001) acredita-se que pelo menos 25 % dos pacientes com epilepsia no Brasil são portadores em estágios mais graves, ou seja, são pessoas com tendência para uso de medicamentos específicos por toda a vida, não sendo raros os casos de necessidade de intervenção cirúrgica. Entre estes, estão os casos mais extremos para os quais a medicação apenas reduz a expressão da epilepsia, sendo as crises freqüentes e incontroláveis. No Brasil, existem apenas seis centros de tratamento cirúrgico para epilepsia aprovados pelo Ministério da Saúde, três estão situados em São Paulo, e os demais nos Estados de Goiás, Paraná e Rio Grande do Sul. Segundo dados do Ministério da Saúde, os gastos com cirurgias em 2002 ficaram próximos de R\$ 5 milhões.

### **3.2. Etiologia da Epilepsia**

A função cerebral constitui o único aspecto mais importante da fisiologia, que define a diferença entre os seres humanos e outras espécies. Os distúrbios da função cerebral, sejam eles primários ou secundários a alguma disfunção em

outros sistemas, representam um importante problema em nossa sociedade no qual a intervenção farmacológica desempenha um papel-chave.

O cérebro é basicamente uma “máquina química”, que controla as principais funções do organismo através de uma escala de tempo que se estende de milissegundos. Os mecanismos de sinalização química se distribuem por uma faixa dinâmica ampla. O sistema nervoso capacita o organismo a perceber as variações do meio interno e externo, a difundir as modificações que essas variações produzem e a executar as respostas adequadas para que seja mantido o equilíbrio interno do corpo, a homeostase. Além deste, está envolvido na coordenação e regulação das funções corporais (DALE *et al.*, 2004).

O sistema nervoso se diferencia em duas linhagens celulares: os neurônios e as células da glia ou da neuróglia. Os neurônios são as células responsáveis pela recepção e transmissão dos estímulos do meio (interno e externo), possibilitando ao organismo a execução de respostas adequadas para a manutenção da homeostase. Para exercerem tais funções, contam com duas propriedades fundamentais: 1) a irritabilidade também denominada excitabilidade ou responsividade e 2) a condutibilidade. Irritabilidade é a capacidade que permite a uma célula responder a estímulos. Portanto, irritabilidade não é uma resposta, mas a propriedade que torna a célula apta a responder. Essa propriedade é inerente aos vários tipos celulares do organismo.

As respostas emitidas pelos tipos celulares distintos também diferem umas das outras. A resposta emitida pelos neurônios assemelha-se a uma corrente elétrica transmitida ao longo de um fio condutor, que uma vez excitados pelos estímulos transmitem essa onda de excitação por toda a sua extensão em grande velocidade e em um curto espaço de tempo. Esse fenômeno se deve à propriedade de condutibilidade (GUYTON, 2002).

A membrana plasmática do neurônio transporta alguns íons ativamente do líquido extracelular para o interior da fibra, e outros, do interior, de volta ao líquido extracelular. Assim funciona a bomba de sódio e potássio, que bombeia ativamente o sódio para fora, enquanto o potássio é bombeado ativamente para dentro. Porém, esse bombeamento não é eqüitativo, pois para cada três íons sódio bombeados para o líquido extracelular, apenas dois íons potássio são bombeados para o líquido intracelular, como demonstrada na figura 1.

Somando-se a esse fato, em repouso a membrana da célula nervosa é praticamente impermeável ao sódio, impedindo que esse íon se mova a favor de seu gradiente de concentração, em contrapartida é permeável ao potássio, que, se difunde livremente para o meio extracelular, como esquematizado na figura 2 .Como a saída de potássio não é acompanhada pela entrada de sódio na mesma proporção, estabelece-se uma diferença de cargas elétricas entre os meios intra e extracelular, gerando:déficit de cargas positivas dentro da célula e as faces da membrana mantêm-se eletricamente carregadas (VILELA, 2004).

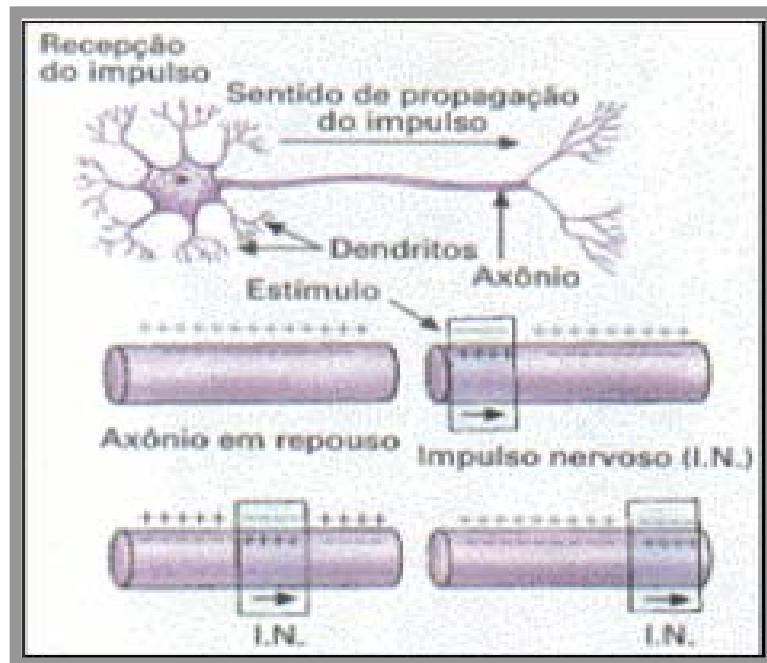


Figura 1 - Impulso Nervoso (VILELA, 2004)

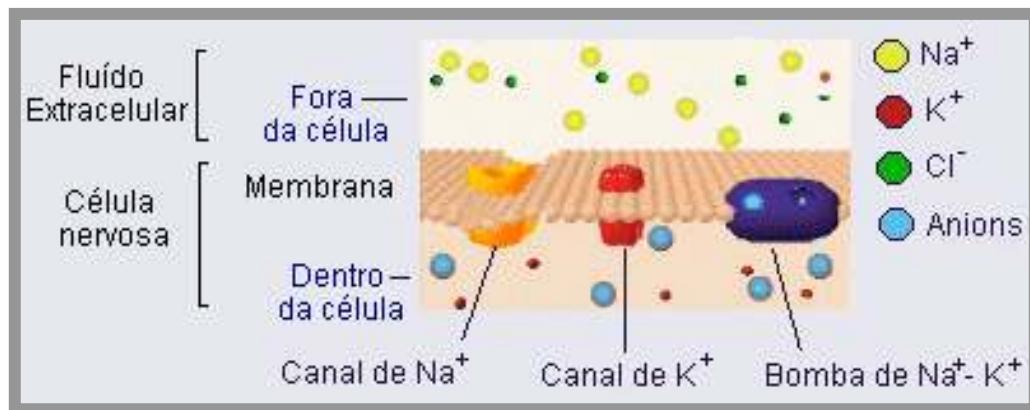


Figura 2 - Canais de sódio (VILELA, 2004)

Em repouso: canais de sódio fechados. Membrana é praticamente impermeável ao sódio, impedindo sua difusão a favor do gradiente de concentração. Sódio é bombeadoativamente para fora pela bomba de sódio e potássio. O potencial eletronegativo criado no interior da fibra, devido à bomba de sódio, é o potencial de repouso da membrana, ficando o exterior da membrana

positivo e o interior negativo. Dizemos, então, que a membrana está polarizada (GUYTON, 2002).

Segundo Adams (1997), fisiologicamente, a natureza das lesões das descargas neuronais, a crise epiléptica tem sido definida como uma alteração repentina da função do sistema nervoso central (SNC) resultando de uma alta freqüência paroximal ou baixa freqüência sincrônica, de descarga elétrica de alta voltagem. Essa descarga se inicia de um foco de neurônios excitáveis em alguma parte do córtex cerebral e provavelmente em estruturas subcorticais, mas isto é visível numa lesão focal no córtex cerebral que tem sido o mais completamente investigado.

Algumas das propriedades elétricas do foco epileptogênico cortical sugere que estes neurônios são diferenciados. Tais neurônios são conhecidos por serem hiperexcitáveis, e eles podem permanecer assim cronicamente, em um estado de despolarização parcial, capaz de disparar irregularmente em taxas de 700 a 1000 por segundo. As membranas citoplasmáticas de tais células aparecem tendo um aumento na permeabilidade iônica, que as tornam suscetíveis à ativação por hipertermia, hipóxia, hipoglicemias, hipocalemia, e hiponatremia, bem como pela estimulação sensorial repetida, como por exemplo a luz, durante certas fases do sono quando a hipersincronia de neurônios pode ocorrer.

A compreensão do que vem a ser o aumento da permeabilidade iônica são necessárias às mudanças permanentes na função neuronal e propriedades

moleculares. Lembrando que mudanças funcionais ou morfológicas de neurônios e glia estão associados à algumas síndromes epilépticas, que varia entre crises espontâneas e estágios iniciais no processo da epileptogênese, que podem ser uma resposta adaptativa, tendenciando a diminuição das crises, ou um efeito coincidente do insulto primário que iniciou a epileptogênese (HONAVAR *et al* .,1997).

A mais importante propriedade das células nervosas é a excitabilidade. Ela responde à excitação pela geração do potencial de ação, que pode levar a repetidas descargas. Todas as células podem se tornar epilépticas se sujeitas à excitação excessiva. Há dois possíveis mecanismos para desordens convulsivas: 1) Uma baixa no mecanismo de controle inibitório normal, 2) Uma super sensibilidade química que aumenta a excitabilidade dos elementos neuronais. Inicialmente há um desequilíbrio na proporção de moléculas excitatórias e inibitórias no cérebro (1); onde os neurônios começam a transmitir informações desorganizadamente, essas mensagens chegam à medula (2); e neurônios na medula passam as "ordens" de contração para os músculos, gerando a convulsão (Figura 3) (WILLIAMS, 2002).

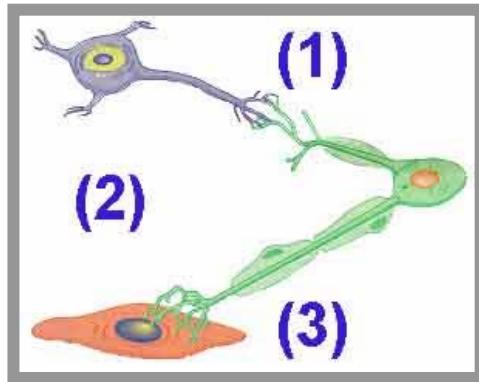


Figura 3 – Processo convulsivo (PEREIRA, 2004)

O status epiléptico é uma condição na qual há uma crise simples prolongada durando aproximadamente cinco minutos, ou tempo insuficiente entre múltiplas crises para permitir recuperação. Existem Vários tipos: tipo de crise que crises tônico-clônicas, parciais simples, parciais complexas ou ausência (WILLIAMS, 2002).

As crises epilépticas podem ser generalizada, originada em ambos hemisférios simultaneamente, ou parcial, quando originadas em uma ou mais partes de um ou ambos hemisférios, mais comumente o lobo temporal. Nos pacientes, o tipo de epilepsia ou síndrome epiléptica é mais caracterizado de acordo com o tipo de crise, etiologia, idade do início e eletroencefalograma (LÖSCHER, 2002).

Crianças e adolescentes são mais suscetíveis a ter epilepsia de origens genéticas não conhecidas. Os pacientes mais velhos, as causas estão em doenças cerebrais, tais como tumores cerebrais ou doenças cerebrovasculares,

ou está no resultado de injúrias na cabeça. Infecções no cérebro e traumas podem causar epilepsia em qualquer idade, e como mencionado previamente pode ocorrer para uma mais alta incidência da epilepsia em países em desenvolvimento. Por exemplo, uma comum causa na América Latina são os cistos da cisticercose no cérebro provocados por infecções por *taenia sp.*, enquanto na África, as causas comuns são a malária e a meningite, e na Índia a neurocisticercose e a tuberculose frequentemente conduzem à epilepsia (WHO, 2003).

Outra causa inespecífica pode ser o estado excessivo febril de qualquer criança que pode causar crises em crianças jovens. Por volta de 3 % das crianças que têm convulsões febris conduzem ao desenvolvimento da epilepsia mais tarde em sua vida. Na ausência de um entendimento etiológico específico, a terapia da epilepsia com fármacos é direcionada ao controle dos sintomas, como a supressão das crises pela administração de fármacos antiepilepticos (FAE). Ademais, as crises permanecem incontroláveis em torno de 30 % em todas as epilepsias a despeito da terapia antiepileptica (WHO, 2003).

### **3.2.1. Classificação dos Distúrbios Convulsivos**

Acredita-se que as convulsões têm origem no córtex cerebral e não em outras estruturas no sistema nervoso central (SCN) como tálamo, tronco cerebral ou cerebelo. As convulsões epilépticas foram classificadas em convulsões parciais, que começam em um foco no córtex, e convulsões generalizadas, que

envolvem amplamente os hemisférios desde o seu início. A classificação dos distúrbios convulsivos tem impacto na orientação da avaliação e do controle clínico bem como na escolha das drogas anticonvulsivantes (COMMISSION, 1981 *apud* GOODMAN e GILMAN, 2001).

### **3.2.1.1. Convulsões Parciais**

Há mais de um século, John Hughlings Jackson, o pai dos conceitos modernos da epilepsia, propôs que as crises convulsivas eram causadas por “descargas locais rápidas, excessivas, súbitas e ocasionais da substância cinzenta” e que sobrevinha uma convulsão generalizada quando o tecido cerebral normal era invadido pela atividade convulsivante iniciada no foco anormal. Esta proposta ofereceu uma estrutura valiosa para se pensar sobre os mecanismos da epilepsia parcial. O advento do eletroencefalograma (EEG) na década de 30 permitiu o registro da atividade elétrica no couro cabeludo de seres humanos epilépticos e demonstrou que as epilepsias são distúrbios da excitabilidade neuronal (GOODMAN e GILMAN, 2001).

As manifestações comportamentais de uma crise convulsiva são determinadas pelas funções normalmente realizadas pelo local do córtex onde a convulsão tem origem. A consciência permanece preservada na crise convulsiva parcial simples.

**Convulsões Parciais Simples** - As principais características nas convulsões parciais simples são: diversas manifestações determinadas pela região do córtex ativada pela convulsão; dura aproximadamente 20 a 60 segundos. O principal aspecto é a preservação da consciência.

**Convulsões Parciais Complexas** - A crise parcial complexa associa-se a deficiência de consciência. A maioria das convulsões parciais complexas origina-se do lobo temporal. Há alteração da consciência durando de 30 segundos a 2 minutos e geralmente associada a movimentos sem objetivo, como estalo do lábio ou contorção da mão.

**Convulsões Parciais com convulsão secundariamente generalizada** - Esta convulsão evolui para uma convulsão tônico-clônica com perda da consciência e contrações mantidas (tônicas) dos músculos de todo o corpo, seguidas de períodos de contração muscular alternada com períodos de relaxamento (clônicos) que duram, tipicamente, 1 a 2 minutos (COMMISSION, 1981 *apud* GOODMAN e GILMAN, 2001).

As epilepsias parciais podem consistir em qualquer dos tipos de convulsão parcial e respondem por, grosseiramente, 60 % de todas as epilepsias. Em geral, a etiologia é uma lesão em alguma parte do córtex como um tumor, uma má formação no desenvolvimento, uma lesão traumática ou decorrente de derrame, etc. Estas lesões geralmente são vistas em estudos de imagens do cérebro, como

a ressonância magnética. Menos comumente, a etiologia é genética (GOODMAN e GILMAN, 2001).

### **3.2.1.2. Convulsões Generalizadas**

Entre os exemplos de convulsões generalizadas temos a crise de ausência, a convulsão mioclônica e a convulsão tônico-clônica.

**Crises de Ausência** - De acordo com a Comissão de Classificação e Terminologia da Liga Internacional Contra Epilepsia (ILAE), a epilepsia de ausência é definida como uma forma generalizada, na qual o modo que a atividade elétrica anormal abrangem ambos os hemisférios do cérebro e cada crise é acompanhada por uma completa perda de consciência. A epilepsia de ausência pode ser subdividida nas formas típica e atípica. A incidência da epilepsia de ausência é relativamente pequena e afeta entre 2 e 8 em cada 100 000 crianças acima da idade de 16 anos, com uma prevalência sugerida para ser entre 2 e 10 % de crianças com nenhuma forma de epilepsia (BOWERY *et al.*, 2003).

As principais características são: Início súbito de alteração da consciência associada a olhar parado, interrupção de atividades, durando tipicamente menos de 30 segundos.

**Convulsões Mioclônicas** - Uma breve contração, talvez 1 segundo, tipo choque dos músculos que pode restringir-se à parte de uma extremidade ou ser generalizada.

**Convulsão tônico-clônica** - Conforme descrito acima nas convulsões parciais com tônico-clônicas secundariamente generalizadas a não ser pelo fato de não ocorrer uma convulsão parcial antes (COMMISSION, 1981 *apud* GOODMAN e GILMAN, 2001).

As epilepsias generalizadas caracterizam-se por um ou mais dos tipos de convulsão generalizada e são responsáveis por aproximadamente 40 % de todas as epilepsias. A etiologia costuma ser genética. A epilepsia generalizada mais comum é chamada de epilepsia mioclônica-juvenil, que responde por cerca de 10 % de todas as síndromes epilépticas. Em geral, as crises começam no início da adolescência e a afecção caracteriza-se por convulsões mioclônicas, tônico-clônicas e, com freqüência, crises de ausência. Como muitas das epilepsias de início generalizado, a mioclônica juvenil é um distúrbio genético complexo que provavelmente se deve a vários genes mutantes.

Além desta classificação, uma outra especifica as síndromes epilépticas, que são uma salva de sintomas que ocorrem com freqüência simultaneamente, e incluem tipos de convulsões, etiologia, idade quando do seu início e outros fatores (COMMISSION, 1989 *apud* GOODMAN e GILMAN, 2001).

### 3.2.1.3. Natureza e Mecanismos das Convulsões

As crises podem ser generalizadas em toda a superfície cerebral e atingem todo o corpo - ou parciais - que envolvem apenas uma região do cérebro, tendo efeito em apenas uma parte do corpo. Dependendo da área cerebral afetada, a pessoa não entra em convulsão, mas experimenta outras reações, observada na figura 3.

A - Pernas

B - Tronco

C - Braços

D - Face

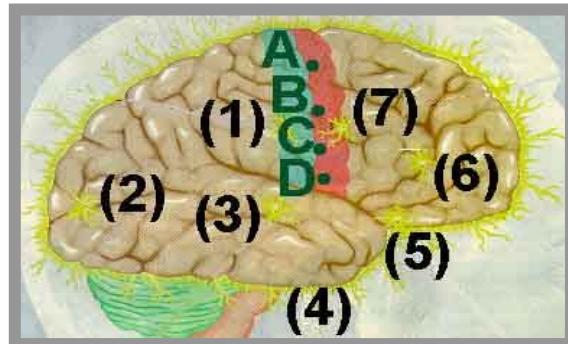


Figura 4 – Área cerebral afetada (PEREIRA, 2004)

De acordo com os estudos com Pereira (2004), dependendo da região afetada, observa-se os efeitos comportamentais ilustrados nas figuras 5 a 10.



Figura 5 - Crise na região central posterior gera a sensação de dormência. Mais para o alto do cérebro a sensação é na perna



Figura 6 - A região occipital (posterior) é responsável pela visão. Uma crise nessa área provoca alucinações, como raios ou bolas coloridas



Figura 7 - O distúrbio, acontecendo na região responsável pela audição, pode fazer o indivíduo ouvir sons como zumbidos bastantes fortes, sinos e ruídos



Figura 8 - A crise surgida em uma determinada região pode se estender por toda a superfície cerebral - tornando-se generalizada. As características mais marcantes são fortes contrações musculares, salivação e perda de consciência



Figura 9 - Quando acontece na região central frontal, a descarga gera convulsão em alguma parte do corpo podendo ou não causar perda de consciência



Figura 10 - Na área central anterior do cérebro, um distúrbio costuma causar suor em excesso, rubor na face ou palidez (sintomas autonômicos)

### 3.3. Fármacos Anticonvulsivantes

Um grande número de fármacos antiepilépticos tem sido comercializado no mundo nos últimos anos, mas a proporção de pacientes com deficiência na resposta ao tratamento com fármacos antiepilépticos (FAE) não tem sido mudada significantemente. Por outro lado, nenhum dos antigos ou novos FAE aparece como sendo antiepileptogênico e consequentemente não capazes de curar nenhuma das formas de modulação da epilepsia idiopática ou sintomática por astrócitos do receptor N-metil-D-Aspartato, uma unidade processadora chave na computação neural (LOSCHER, SCHMIDT, 2002 *apud* D'AMBROSIO *et al.*, 2004).

Das inúmeras doenças neurológicas e desordens que têm sido identificadas, poucas são tão comuns quanto às crises convulsivas. Cerca de 1-2 % da população mundial não é tratada. As drogas que existem para combater a epilepsia estão longe da perfeição, como anticonvulsivantes clínicos modernos são efetivos na redução de severidade e número de crises em menos que 80 % dos epilépticos tratados (BROWN *et al.*, 2003). O objetivo da terapêutica medicamentosa anticonvulsivante é o de impedir as convulsões ao mesmo tempo em que se minimizem os efeitos colaterais, utilizando-se o esquema mais simples da droga.

Ao lado dos efeitos que acompanham o uso destas drogas está também o abandono significante em alguns casos. Portanto, há uma grande demanda para o desenho de novos e ativos anticonvulsivantes que estendam a terapia para os

milhões de sofredores dos distúrbios convulsivos. Os anticonvulsivantes que servem para controlar as crises associadas com a epilepsia têm previamente sido categorizada dentro de um número de classes distintas através das bases de mecanismos moleculares que estes desempenham (BROWN *et al.*, 2003).

Apesar dos consideráveis progressos da patofisiologia e farmacoterapia dessa desordem neurológica debilitante, em torno de um terço dos pacientes são resistentes às farmacoterapias atuais. Os anticonvulsivantes controlam as crises, mas não curam a epilepsia. O principal objetivo da terapia anticonvulsivante consiste em suprimir as crises, causando um comprometimento mínimo da função do sistema nervoso central (SNC) ou outros efeitos colaterais deletérios. Com os anticonvulsivantes atualmente disponíveis, é possível obter um controle significativo das crises em torno de 70 a 80 % dos casos. Ademais, as bases moleculares, genéticas e celulares da epileptogênese ainda permanece num enigma obrigando os pacientes a tomarem medicação por toda a vida, a fim de garantir o controle das crises (YAGIELA, 2000; BLACKBURN *et al.*, 2003).

Nos últimos anos houve grande incremento no desenvolvimento de novas drogas antiepilépticas, que tem levado a um maior entendimento do mecanismo de ação destas e de alguns mecanismos implicados na etiologia da epilepsia, e com um relativo melhor controle de paciente com tal patologia (BURNEO *et al.*, 2002). Neurologistas agora usam em torno de 20 diferentes fármacos que têm suportado o tempo de teste, tais como a fenitoína, carbamazepina, fenobarbital e o ácido valpróico, para mais novos agentes tais como lamotrigina, vigabatrina,

tiagabina, topiramato, gabapentina e levotiracetam (Figura 11) (BLACKBURN *et al.*, 2003).

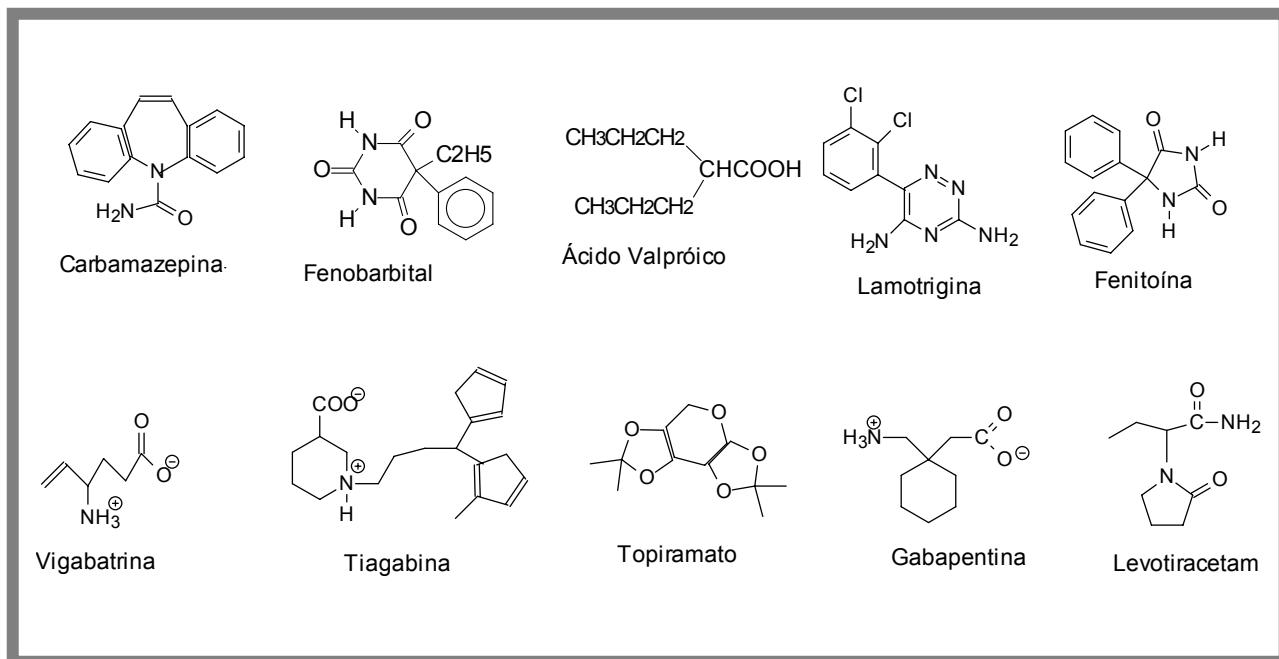


Figura 11 – Fármacos anticonvulsivantes utilizados na terapêutica

Lamentavelmente, a introdução de novas drogas em um período de tempo curto tem impossibilitado que muitos médicos, incluindo os neurologistas, se familiarizem com os novos fármacos (BURNEO *et al.*, 2002).

### 3.3.1. Mecanismos de Ação dos Principais Fármacos Anticonvulsivantes

O papel central das sinapses na medição da comunicação entre os neurônios no cérebro dos mamíferos sugeriu que a alteração na função sináptica poderia levar a uma crise convulsiva. A redução da atividade sináptica inibitória ou a potencialização da atividade sináptica excitadora poderiam deflagrar uma crise;

estudos farmacológicos das crises convulsivas sustentaram essa noção. Os neurotransmissores que medeiam grande parte da transmissão sináptica do cérebro dos mamíferos são aminoácidos, com o ácido  $\gamma$ -aminobutírico (GABA) e o glutamato sendo os principais neurotransmissores inibitórios e excitadores, respectivamente como demonstrada na figura 12.

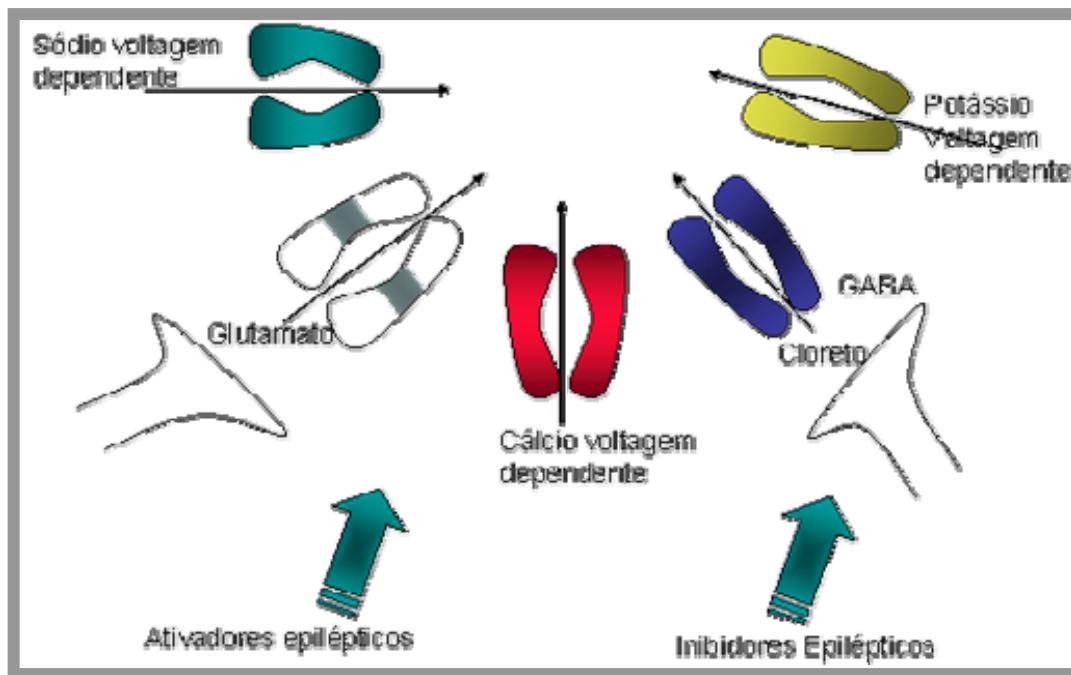


Figura 12 - Canais e íons envolvidos com as situações patológicas da convulsão - Liga de Neurociência Sistema Nervoso com epilepsias

A classe I de anticonvulsivantes atuam se ligando ao canal neuronal de sódio dependente de voltagem, um complexo de proteína transmembrana heterotrimétrica. Os canais de sódio dependentes de voltagem do cérebro típico de mamíferos consiste numa  $\alpha$  subunidade e duas  $\beta$  subunidades e é instrumento na medição dos potenciais de ação nos neurônios e outras células eletricamente excitáveis. Isto é o principal responsável para a mudança na permeabilidade de

íons nas membranas celulares responsáveis e seguir à despolarização voltagem-dependente através do rápido influxo de íons sódio (BROWN *et al.*, 2003).

Anticonvulsivantes pertencentes à classe II agem nos receptores ácido  $\gamma$ -aminobutírico (GABA). Acredita-se que o próprio GABA funciona como modulador neurohormonal inibitório central, com o receptor sendo responsável por mudanças na condutância dos íons nas sinapses químicas (BROWN *et al.*, 2003).

A classe III de anticonvulsivantes funcionam através de mecanismos indeterminados. Uma das classes mais recentemente descoberta inclui aqueles anticonvulsivantes que se ligam aos receptores de aminoácidos excitatórios, tais como aqueles para o N-metil-d-aspartato (NMDA) (BROWN *et al.*, 2003).

### **3.3.2. Principais Classes de Anticonvulsivantes Utilizados na Terapêutica**

#### **3.3.2.1. Hidantoínas**

A fenitoína, difenil-hidantoína (Figura 11), é eficaz contra todos os tipos de convulsões parciais e tônico-clônicas mas não nas crises de ausência. Foi o agente anticonvulsivante mais minuciosamente estudado no laboratório e na prática clínica. A fenitoína foi sintetizada pela primeira vez em 1908 por Biltz, porém sua atividade anticonvulsivante só foi descoberta em 1938 (MERRIT e PUTNAM, 1938 *apud* GOODMAN e GILMAN, 2001).

A fenitoína foi o produto de uma pesquisa entre correlatos estruturais não sedativos do fenobarbital à procura de agentes capazes e suprimir as convulsões causadas por eletrochoque em animais de laboratório. A descoberta da fenitoína foi um grande avanço visto que esta não é sedativa nas doses habituais, estabeleceu-se então que as drogas anticonvulsivantes não precisam provocar sonolência e incentivou a busca de outras drogas com ação anticonvulsivante seletiva. O mecanismo de ação da fenitoína está baseado na limitação da deflagração repetida de potenciais de ação provocada pela despolarização mantida dos neurônios do camundongo *in vitro*. Este efeito é mediado pelo retardo da velocidade de recuperação dos canais de Na<sup>+</sup> ativados por voltagem depois da inativação destes (MCLEAN W MACDONALD, 1983 *apud* GOODMAN e GILMAN, 2001).

A fosfenitoína (FFT) (Figura 13) é um éster da fenitoína, rapidamente convertida em fenitoína através de uma fosfatase uma vez administrada. Tem as mesmas indicações que a fenitoína, porém com as vantagens de que pode ser administrada por via intramuscular, naqueles pacientes de difícil acesso intravascular e sem produzir necrose na absorção errada (BURNEO *et al.*, 2002).

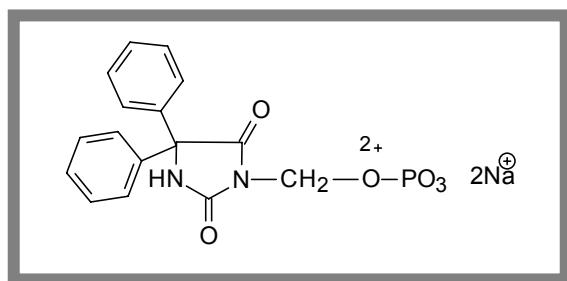


Figura 13 - Fosfenitoína

### 3.3.2.2. Oxazolidinodionas

A trimetadiona (Figura 14) representante da classe das oxazolidinodionas sendo um agente eficaz nas crises de ausência. A demonstração por Perlison e a confirmação por muitos outros da seletividade da trimetadiona no tratamento das crises de ausência foram um avanço importante na terapia das epilepsias. A trimetadiona inibe as correntes de  $\text{Ca}^{2+}$  tipo T em neurônios talâmicos dissociados quando em concentrações terapeuticamente relevantes (COULTER *et al.*, 1990 *apud* GOODMAN e GILMAN, 2001).

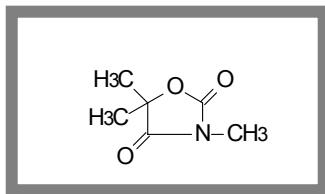


Figura 14 – Trimetadiona

### 3.3.2.3. Succinimidas

As succinimidas aparecem em uma busca sintomática por agentes eficazes menos tóxicos do que as oxazolidinodionas para o tratamento das crises de ausência. A etossuximida (Figura 15) é o agente de primeira linha neste tipo de epilepsia. Estudos comprovaram que a etossuximida é ativa contra as convulsões induzidas pelo pentilenotetrazol e é a mais seletiva para as crises de ausência clínicas. O mecanismo de ação da etossuximida reduz as correntes de  $\text{Ca}^{2+}$  de

baixo limiar (correntes T) em neurônios talâmicos (COULTER *et al.*, 1989 *apud* GOODMAN e GILMAN, 2001).

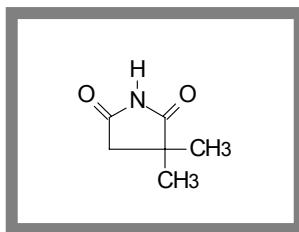


Figura 15 – Etossuximida

### 3.3.2.4. Barbitúricos Anticonvulsivantes

O fenobarbital (Figura 11) foi o primeiro agente anticonvulsivante orgânico eficaz (HAUPTMANN, 1912 *apud* GOODMAN e GILMAN, 2001). Possui toxicidade relativamente baixa, de baixo custo e ainda é um dos fármacos mais eficazes e largamente usadas. Muitos barbitúricos possuem propriedades anticonvulsivantes, no entanto, a capacidade de alguns destes agentes, como fenobarbital, de exercer ação anticonvulsivante máxima em doses abaixo daquelas necessárias para a hipnose determina sua utilidade clínica como anticonvulsivante.

O fenobarbital é ativo em muitos testes anticonvulsivantes feitos em modelos animais, porém é relativamente não-seletivo. Inibe a extensão tônica da pata traseira no modelo de eletrochoque máximo, as convulsões clônicas provocadas pelo pentilenotetrazol e as convulsões induzidas. O mecanismo pelo qual o fenobarbital inibe as crises convulsivas provavelmente envolve a

potencialização da inibição sináptica através de uma ação no receptor do GABA<sub>A</sub>. Registros intracelulares de neurônios corticais ou medulares do camundongo demonstraram que o fenobarbital potencializa as respostas ao GABA aplicado por iontopforese (MACDONALD e BACKER, 1979 *apud* GOODMAN e GILMAN, 2001).

Análises de canais iônicos em fragmentos mais externos isolados de neurônios da medula do camundongo demonstraram que o fenobarbital aumentava a corrente mediada pelo receptor do GABA por prolongar a duração das salvas das correntes mediadas por este receptor sem alterar a freqüência das salvas (TWYMAN *et al.*, 1989 *apud* GOODMAN e GILMAN, 2001).

### **3.3.2.5. Iminostilbenos**

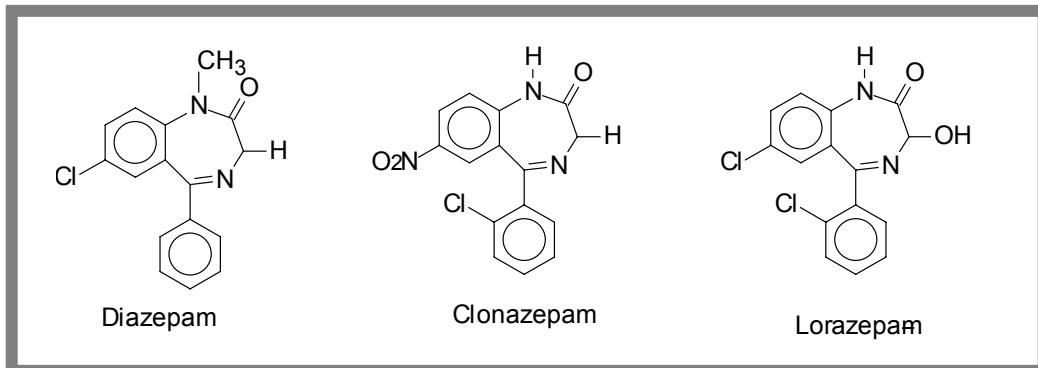
A carbamazepina (Figura 11) foi aprovada nos Estados Unidos para uso como agente anticonvulsivante em 1974. Tem sido empregada desde a década de 1960 no tratamento da neuralgia do trigêmeo. É considerada atualmente a droga de primeira linha no tratamento das convulsões parciais e tônico-clônicas. Como a fenitoína, a carbamazepina diminui a ativação repetida do potencial de ação provocada por uma despolarização mantida dos neurônios medulares ou corticais do camundongo *in vitro* (MCLEAN e MACDONALD, 1986 *apud* GOODMAN e GILMAN, 2001).

### **3.3.2.6. Ácido Valpróico**

O ácido valpróico (Figura 11) foi aprovado 1978, depois de ter sido empregado por mais de uma década por mais de uma década na Europa. O ácido valpróico é um ácido carboxílico simples de cadeia ramificada, é extremamente diferente da fenitoína ou da etossuximida por ser eficaz em inibir convulsões em vários modelos. Como a fenitoína e a carbamazepina, o valproato inibe a extensão tônica dos membros posteriores de um animal nas convulsões causadas por eletrochoque máximo e nas convulsões facilitadas quando em doses sem toxicidade.

### **3.3.2.7. Benzodiazepínicos**

Os benzodiazepínicos (Figura 16) são empregados na prática clínica principalmente como drogas sedativas ansiolíticas. Um grande número de benzodiazepínicos tem amplas propriedades anticonvulsivantes, mas apenas o clonazepam e o clorazepato foram aprovados para tratamento prolongado de alguns tipos de convulsões. O diazepam e o lorazepam têm papéis bem definidos no controle do estado epiléptico. Nos animais, a prevenção pelos benzodiazepínicos das convulsões induzidas pelo pentilenotetrazol é muito mais acentuada do que a modificação do padrão de convulsão por eletrochoque máximo (GOODMAN e GILMAN, 2001).



Figuras 16 – Benzodiazepínicos

As ações anticonvulsivantes dos benzodiazepínicos, bem como os outros efeitos que ocorrem com doses não sedativas, resultam em grande parte da sua capacidade de reforçar os aumentos induzidos pelo GABA na condutância do átomo de cloro. Em concentrações terapeuticamente relevantes, o diazepam e outros benzodiazepínicos ativos reforçam os efeitos inibidores produzidos pela estimulação de inúmeras vias gabaérgicas e potencializam as alterações induzidas pelo GABA no potencial da membrana. É provável que este último efeito decorra do aumento da freqüência das salvas de aberturas dos canais de cloro ativados pelo GABA (TWYMAN et al., 1989 *apud* GOODMAN e GILMAN, 2001).

### 3.4. A Química dos Derivados Imidazolidinônicos Bioativos

A descoberta da atividade hipnótica dos barbituratos levou a uma intensa investigação dos sistemas heterocíclicos como prováveis agentes com propriedades anticonvulsivantes e com menos efeito hipnótico-sedativo. Embora o

anel imidazolidínico seja um heterociclo pentagonal que se diferencia dos barbituratos que são hexagonais, esses dois heterociclos apresentam a mesma funcionalidade (LEDNICER, 1997).

Os derivados imidazolidínicos têm tradicionalmente sido considerados como um dos maiores tipos de fármacos que interagem com os receptores  $\alpha$ -adrenérgicos, dessa forma compostos como a clonidina ou nafazolina (Figura 17), que contém 2-imino-imidazolidina ou o anel imidazolidina respectivamente, mostram atividades  $\alpha_1$  e  $\alpha_2$ -adrenoceptoras, e mais especificamente, fentolamina, a qual contém o anel imidazolina, é um conhecido antagonista  $\alpha_1$ -adrenérgico (ROZAS *et al.*, 2000).

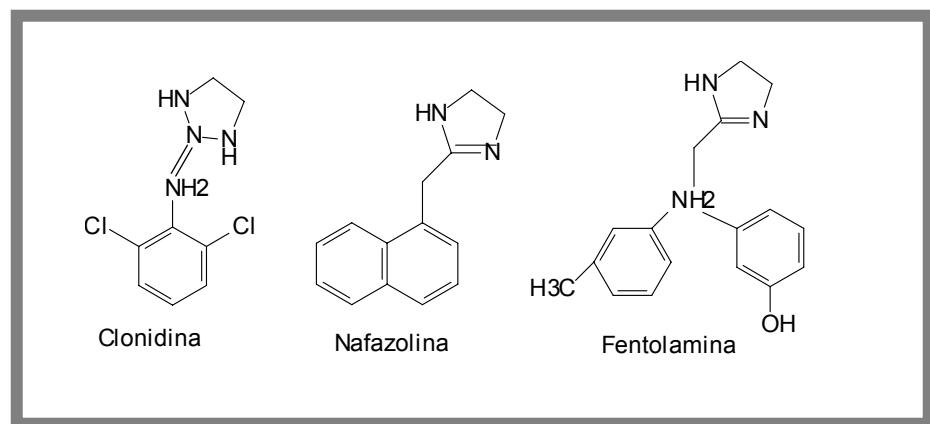


Figura 17 – Derivados imidazólicos  $\alpha$ -adrenérgicos

A atividade anticonvulsivante de uma série de imidazolidina-2,4-dionas, 4-hidroxi-2-imidazolidinonas, 2-imidazolonas e 2-imidazolidinonas 1,3,5-trissubstituídas é descrita por Cortes e colaboradores (1985). As convulsões foram induzidas artificialmente por eletrochoques ou por metrazol. Todos os compostos

foram administrados em doses de 30, 100, 300 e 600 mg/Kg. Das classes de compostos avaliados, a atividade mais pronunciada foi observada para as imidazolidina-2,4-dionas.

As imidazolidina-2,4-dionas, também denominadas hidantoínas (Figura 18), são heterociclos potencialmente bioativos, que através de modificações estruturais favorecem mudanças na atividade biológica.

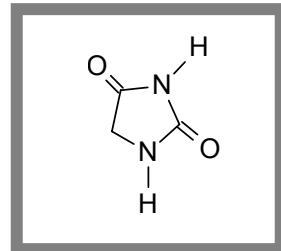


Figura 18 – Estrutura da Imidazolidina-2,4-diona

A primeira imidazolidina-2,4-diona a ser empregada amplamente na terapêutica foi a 5-etil-5-fenil-imidazolidina-2,4-diona, mefenitoína (Figura 19), introduzida como um hipnótico (WERNECKE, 1916). Este derivado imidazolidínico, também chamado de nirvanol, apresentou aproximadamente a mesma intensidade de ação do fenobarbital, ácido 5-etil-5-fenilbarbitúrico (Figura 19), porém menos tóxica.

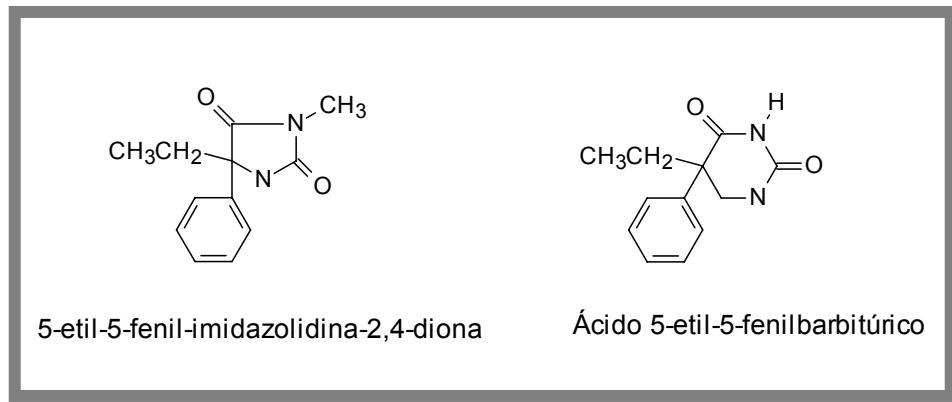
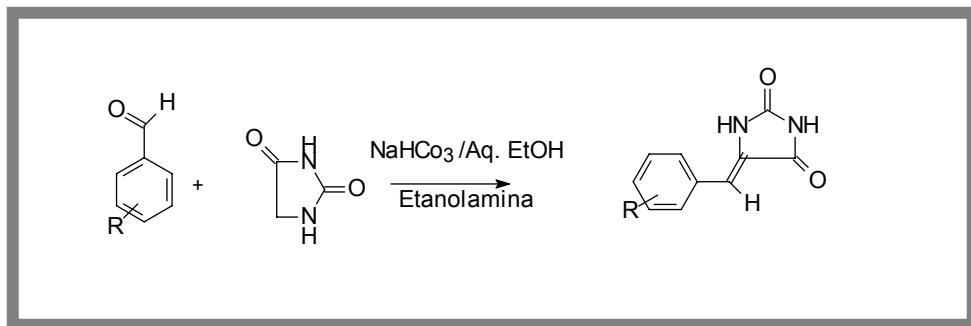


Figura 19 - Mefenitoína e Fenobarbital

A estabilidade das imidazolidina-2,4-dionas foi estudada pioneiramente em 1922 por Ingold com a finalidade de melhorar o seu rendimento. Este pesquisador concluiu que o núcleo imidazolidínico apresenta uma maior estabilidade quando possui substituições. Em estudos semelhantes, Corwin e colaboradores (1943) indicaram que as substituições na posição 5 contribuem ainda mais para o aumento da estabilidade.

Estudos da relação estrutura química-atividade anticonvulsivante realizada por Thenmozhiyal e colaboradores (2004) revelaram a necessidade de escolha dos grupamentos substituintes no anel imidazolidínico, como por exemplo, a presença do grupamento fenílico em posição 5 é essencial para exibir atividade anticonvulsivante. O núcleo da imidazolidínico e o grupamento fenil associados são capazes de fornecer o requerimento da estrutura básica para a atividade biológica, como exemplo podemos citar a 5-pentil-5-fenil-imidazolidina-2,4-diona que revelou a mesma afinidade apresentada pela a fenitoína, a 5,5-difenil-

imidazolidina-2,4-diona. Estes pesquisadores realizaram estudos variando os substituintes no anel fenílico já condensado na posição 5 do núcleo imidazolidinônico (Esquema 1).



Esquema 1 - Síntese de 5-benzilideno-imidazolidina-2,4-diona

R = Alquil (-R), Alcoxil (-OH), N-Alquil (-NR), - OH, Halogênios, -CN, -CF<sub>3</sub>, -NO<sub>2</sub>

A importância do anel aromático foi investigada quanto a natureza da substituição: 1) Ricos em elétrons  $\pi$  (furano, tiofeno) ou deficiente em elétrons  $\pi$  (piridina) anel heterocíclico aromático; 2) Um anel aromático policíclico (indol, naftaleno); e 3) um anel carbocíclico saturado (ciclo-hexano). Como os parâmetros eletrônicos e lipofílicos são importantes na atividade anticonvulsivante (Figura 20).

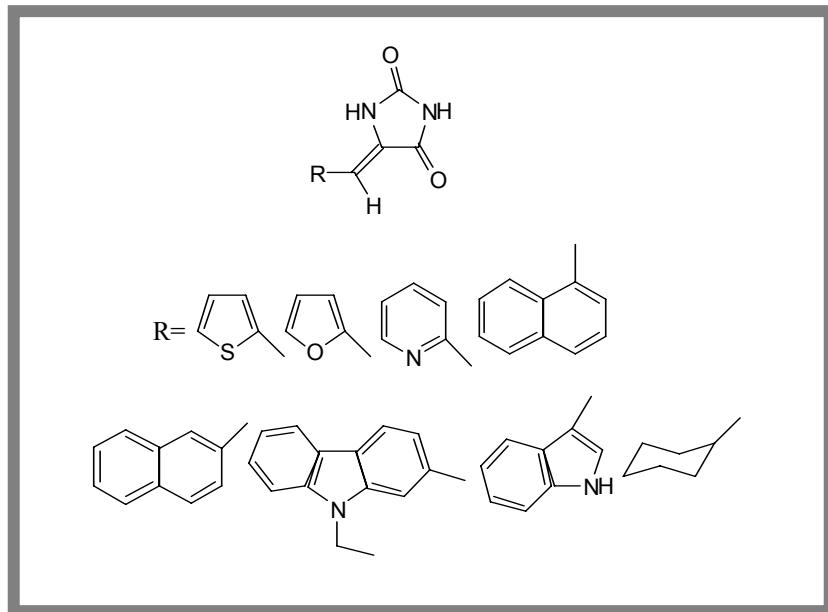


Figura 20 – Imidazolidina-2,4-dionas substituídas por diferentes grupamentos aromáticos

### 3.5. Estratégias no desenvolvimento de novos fármacos antiepilepticos (FAE)

Segundo Barreiro (2002) o processo de descoberta de novos fármacos, atribuição da química medicinal, caracteriza-se por sua complexidade, fruto da multiplicidade de fatores que envolvem o planejamento molecular de novas estruturas capazes de apresentarem os efeitos farmacológicos desejados, com biodisponibilidade adequada ao seu emprego terapêutico, seguro e confortável.

Em virtude desta multiplicidade de fatores que, além da biodisponibilidade, incluem a toxicidade e o metabolismo, o processo de planejamento racional de

novos fármacos ocupa milhares de pesquisadores titulados, de diferentes áreas, em diversos laboratórios de pesquisa, tanto industriais como acadêmicos.

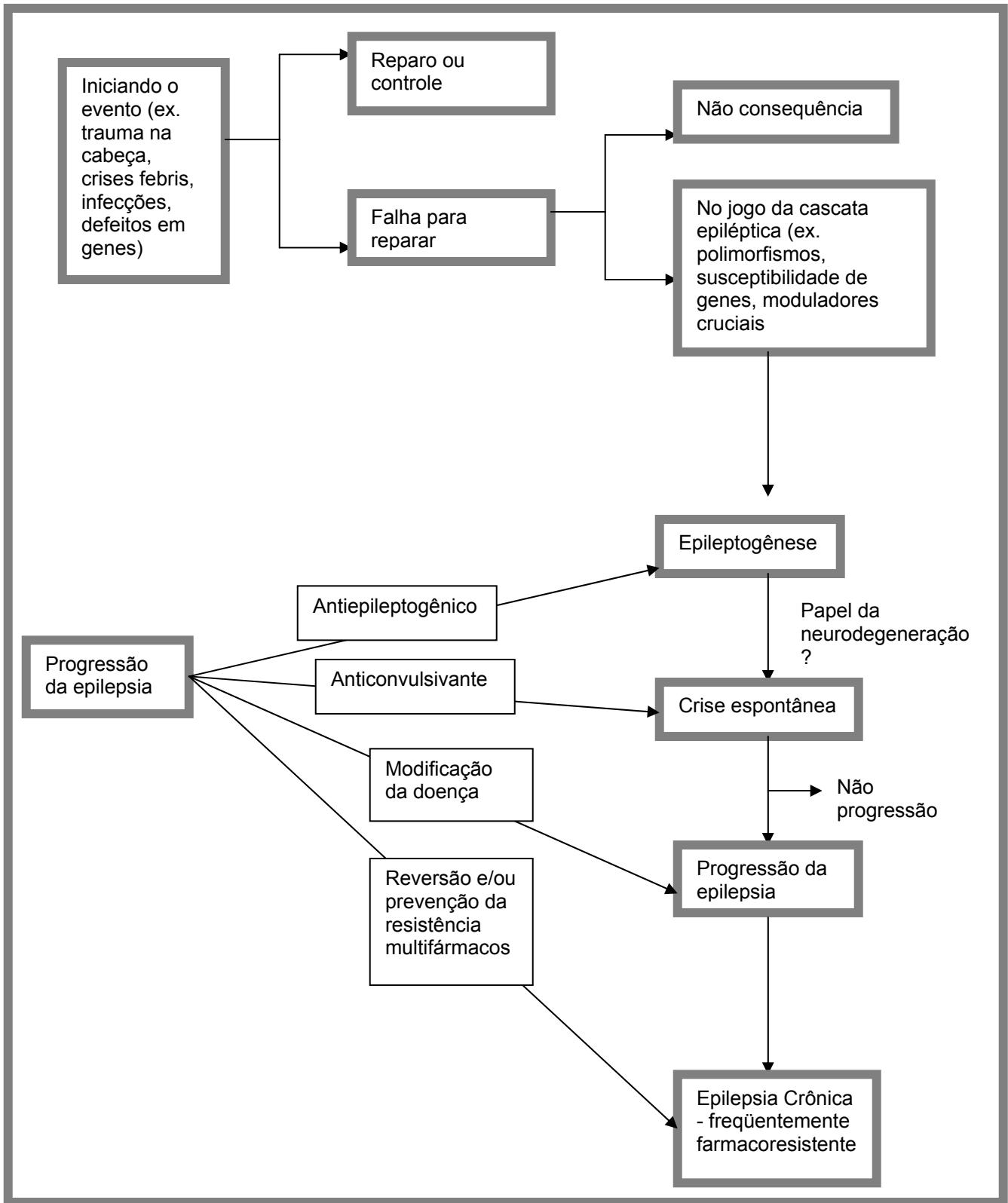
A Química Medicinal se dedica a estudar as razões moleculares da ação dos fármacos, a relação entre a estrutura química e a atividade biológica/farmacológica, além do planejamento racional de novos fármacos. Em função da multiplicidade de fatores envolvidos na resposta terapêutica de uma substância exógena como o fármaco, o cumprimento desta difícil e complexa missão exige equipe interdisciplinar e fundamenta-se, simplificadamente, na tríade: Química Orgânica, Farmacologia e Química Computacional (BARREIRO, 2002).

Pelo menos três estratégias pré-clínicas são usadas para o desenvolvimento de novos fármacos anticonvulsivantes: 1) Seleção aleatória de compostos químicos sintetizados recentemente de diversas categorias estruturais para atividade anticonvulsivante em modelos animais; 2) Variação estrutural de fármacos anticonvulsivantes conhecidos e 3) Desenvolvimento racional de fármacos baseado em mecanismo, baseado no conhecimento dos eventos patofisiológicos envolvidos nas crises ou na epilepsia (LÖSCHER, 1998).

Todas as três estratégias têm fármacos anticonvulsivantes clinicamente efetivos embora muitos cientistas atualmente acreditem que a estratégia moderna de desenvolvimento racional de fármacos tem importantes vantagens sobre as

outras mais tradicionais estratégias. Historicamente todos os fármacos anticonvulsivantes têm sido descobertos por serendipidade, screening ou variação de fármacos conhecidos. Exceto os bromados e fenobarbital os efeitos anticonvulsivantes de todos os fármacos anticonvulsivantes foram primeiro determinados em modelos animais, tais como as crises induzidas por eletrochoque máximo ou indução pelo pentilenotetrazol, demonstrando que a atividade clínica pode ser estimada por tais modelos animais (LÖSCHER e SCHMIDT, 1994 *apud* LÖSCHER, 1998).

A validade das informações em modelos animais podem indicar que os mecanismos responsáveis pela epileptogênese diferenciam apenas nos eventos de iniciação em si das injúrias cerebrais ou status epilepticus. Sendo assim, uns melhores entendimentos dos mecanismos básicos da epileptogênese podem fornecer indícios para o desenvolvimento de fármacos que neutralize este processo, e desta forma impediria a epilepsia. Informações de estudos clínicos e animais demonstraram que os mecanismos envolvidos na ictogênese (a iniciação, amplificação e propagação das crises) diferem daquelas envolvidas na epileptogênese. Porque a epileptogênese envolve o processo que torna o cérebro suscetível a crises espontâneas, recorrentes e está envolvido na progressão da epilepsia crônica, freqüentemente, difícil de ser tratada, como mostrado no esquema 2, os fármacos que agem em cada um destes processos podem prevenir a iniciação da epilepsia e impedir essa progressão depois do diagnóstico (LÖSCHER *et al.*, 2002).

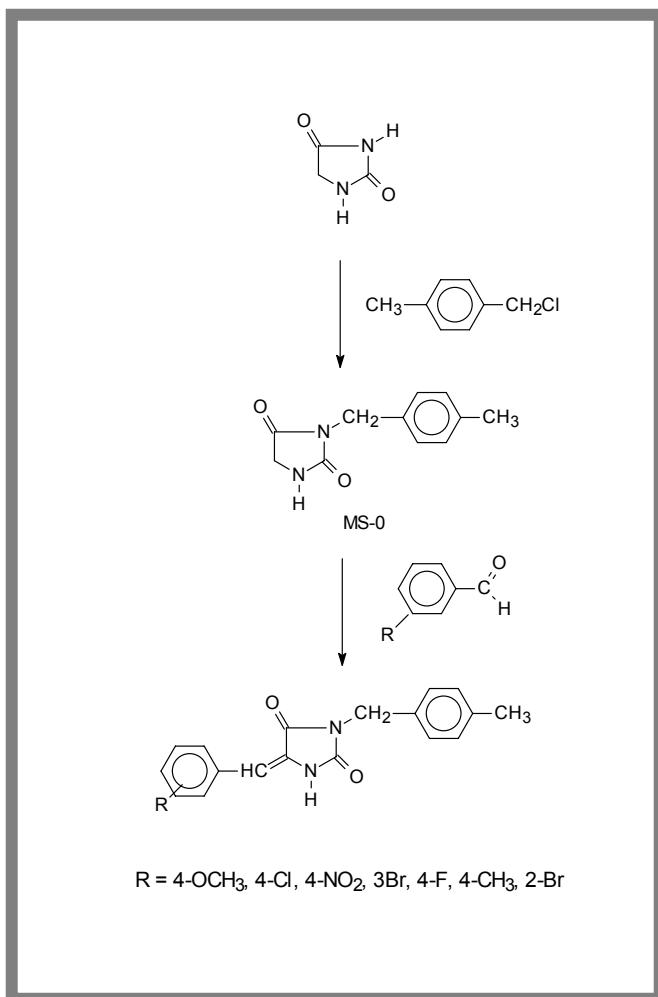


Esquema 1 – Etapas necessárias para o planejamento de novos fármacos anticonvulsivantes (LÖSCHER *et al*, 2002)

Löscher e colaboradores (2002), demonstram que, a partir de modelo animais, vários aspectos da fisiopatologia da epilepsia podem ser abordados no planejamento de novos fármacos anticonvulsivantes.

#### 4. SÍNTSE DE DERIVADOS IMIDAZOLIDÍNICOS

Os derivados 5-benzilideno-3-(4-metil-benzil)-imidazolidina-2,4-diona (**MS**) foram obtidos em duas etapas. Inicialmente, obteve-se a 3-(4-metil-benzil)-imidazolidina-2,4-diona (**MS-0**) por reação da imidazolidina-2,4-diona com cloreto de 4-metil-benzil. Numa segunda etapa, a 3-(4-metil-benzil)-imidazolidina-2,4-diona (**MS-0**) reagiu com benzaldeído substituído em dimetilformamida e na presença do metóxido de sódio recém preparado, conduzindo a formação dos compostos finais (Esquema 3).



Esquema 3 – Diagrama de síntese de derivados 5-benzilideno-3-(4-metil-benzil)-imidazolidina-2,4-diona (**MS**)

#### 4.1. Material e Métodos

##### 4.1.1. Equipamentos

A caracterização e elucidação estrutural dos novos derivados 5-benzilideno-3-(4-metil-benzil)-imidazolidina-2,4-diona (**MS**) foi realizada utilizando-se métodos de analíticos: espectrofotometria de absorção no infravermelho (IV), ressonância magnética nuclear de hidrogênio (RMN<sup>1</sup>H) e espectrometria de massas (EM). Para a espectrofotometria de absorção no infravermelho (IV) utilizou-se um espectrofotômetro FTIR Bruker modelo IFS 66. Os espectros no infravermelho foram realizados em pastilhas de KBr, dando-se destaque aos picos de absorção que caracterizam os grupos funcionais mais importantes para determinação estrutural dos compostos sintetizados. Os espectros de ressonância magnética nuclear de hidrogênio (RMN<sup>1</sup>H) foram realizados em espectrofotômetro Varian modelo Plus 300 MHz. Os espectros de RMN<sup>1</sup>H foram realizados utilizando o solvente DMSO-<sub>d6</sub>. As multiplicidades dos sinais que caracterizam os grupamentos dos compostos foram representadas pelas seguintes abreviações: singleto (s), doubleto (d), duplo doubleto (dd), tripleto (t), quadruplet (q), multiplet (m). Os deslocamentos químicos ( $\delta$ ) foram expressos em ppm e os acoplamentos em Hz. Os pontos de fusão foram determinados no aparelho Quimis modelo 340.27. Os espectros de massas foram registrados sobre impacto eletrônico 70 eV em espectrômetro DelsiNermag, modelo R-1010C.

#### **4.1.2. Reagentes e solventes**

A síntese dos novos derivados imidazolidínicos foi realizada utilizando-se: acetato de etila, *n*-hexano, acetona, dimetilformamida, metanol, etanol, imidazolidina-2,4-diona, hidróxido de potássio,  $\alpha$ -cloro-*p*-xileno, sódio metálico, *p*-anisoaldeído 4-cloro-benzaldeído, 4-nitro-benzaldeído, 3-bromo-benzaldeído, 4-flúor-benzaldeído, 4-metil-benzaldeído, 2-bromo-benzaldeído.

Os reagentes especificados acima são das marcas Aldrich, Merck, Sigma com grau de pureza, e se apresentam dentro do prazo de validade especificado.

#### **4.1.3. Cromatografia**

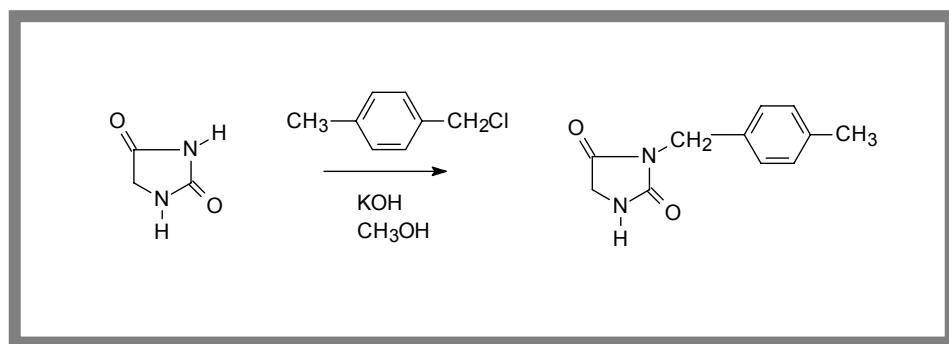
Para acompanhamento reacional e análise qualitativa da síntese dos compostos especificados foi utilizada cromatografia de camada delgada, nesta placas de sílica gel 60 Merck F<sub>254</sub> de 0,25 mm de espessura, reveladas em luz ultravioleta (254 ou 366 nm) ou ainda através de vapores de iodo.

### **4.2. Metodologia**

Para a síntese das novas moléculas imidazolidínicas 5-(benzilideno)-3-(4-metil-benzil)-imidazolidina-2,4-diona foi utilizada a metodologia que será descrita a seguir.

#### 4.2.1. Obtenção do 3-(4-metil-benzil)-imidazolidina-2,4-diona (MS-0)

A partir da reação da imidazolidina-2,4-diona com o cloreto de 4-metil-benzil em meio alcalino (KOH), utilizando-se como solvente o etanol, obtém-se a 3-(4-metil-benzil)-imidazolidina-2,4-diona (**MS-0**).

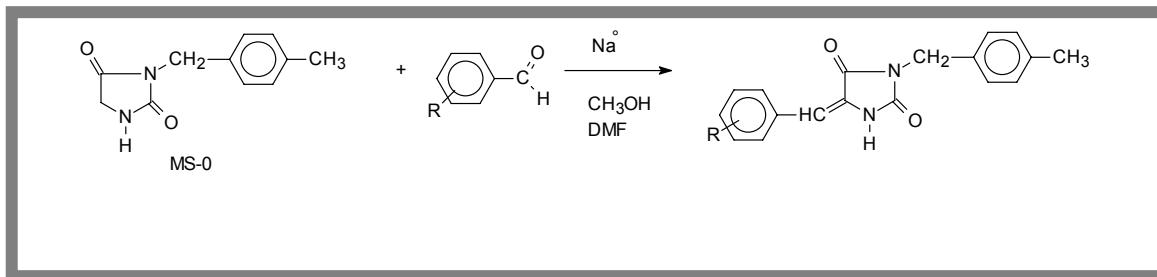


Esquema 4 – Diagrama de síntese do 3-(4-metil-benzil)-imidazolidina-2,4-diona (**MS-0**)

Composto Intermediário	MS-0
<b>Reagentes</b>	0,02 moles (2 g) de imidazolidina-2,4-diona 1 mol (3,42 g) de cloreto de 4-metil-benzil
<b>Solvente</b>	10 mL metanol
<b>Catalisador</b>	1 mol (0,72 g) de hidróxido de potássio
<b>Tempo de reação</b>	16 horas
<b>Temperatura</b>	70 °C
<b>Purificação</b>	recristalização em etanol e lavagens com água destilada
<b>Estado físico</b>	precipitado cristalino em forma de cristais

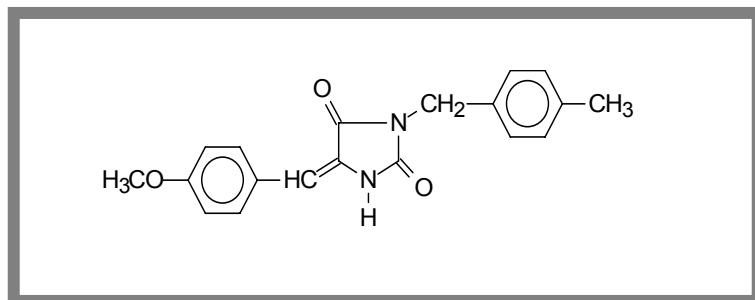
#### 4.2.2. Obtenção dos derivados 5-benzilideno-3-(4-metil-benzil)-imidazolidina-2,4-diona (**MS**)

A partir da formação da 3-(4-metil-benzil)-imidazolidina-2,4-diona (**MS-0**), que reagiu com os benzaldeídos substituídos utilizando-se como catalizador metóxido de sódio recém preparado e com solvente o dimetilformamida (DMF), obtendo-se os novos derivados imidazolidínicos.



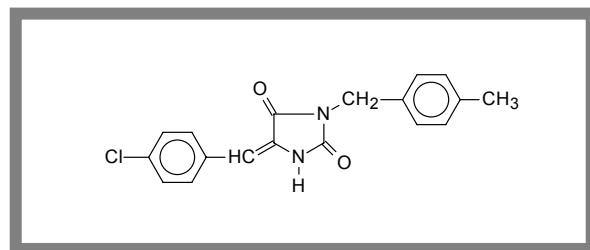
Esquema 5 – Diagrama de síntese de derivados 5-benzilideno-3-(4-metil-benzil)-imidazolidina-2,4-diona (**MS**)

- 3-(4-metil-benzil)-5-(4-metoxi-benzilideno)-imidazolidina-2,4-diona (**MS-1**)



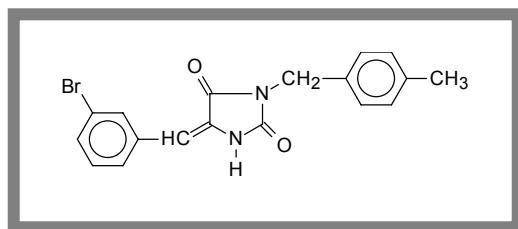
Composto Final	MS-1
<b>Reagentes</b>	0,00098 moles (0,2 g) de 4-metil-benzil-imidazolidina-2,4,diona 6 µL de 4-metoxi-benzaldeído
<b>Solvente</b>	4,8 mL de dimetilformamida (DMF)
<b>Catalisador</b>	0,08 g de metóxido de sódio (CH <sub>3</sub> ONa)
<b>Tempo de reação</b>	4 horas
<b>Purificação</b>	recristalização em etanol e lavagens com água destilada
<b>Temperatura</b>	110°C

- 5-(4-cloro-benzilideno)-3-(4-metil-benzil)-imidazolidina-2,4-diona (**MS-2**)



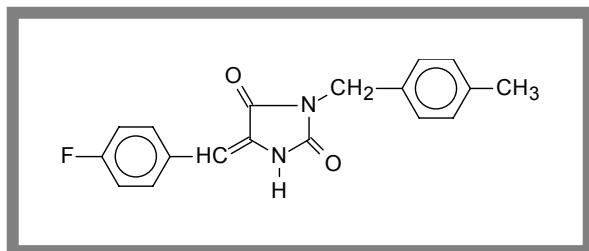
Compostos	MS-2
<b>Reagentes</b>	0,00098 moles (0,2 g) de 4-metil-benzil-imidazolidina-2,4,diona 1 mol (0,1377 g) de 4-cloro-benzaldeído
<b>Solvente</b>	4,8 mL de dimetilformamida (DMF)
<b>Catalisador</b>	0,08 g de metóxido de sódio (CH <sub>3</sub> ONa)
<b>Tempo de reação</b>	4 horas
<b>Purificação</b>	recristalização em etanol e lavagens com água destilada
<b>Temperatura</b>	110°C

- 5-(3-bromo-benzilideno)-3-(4-metil-benzil)-imidazolidina-2,4-diona (**MS-4**)



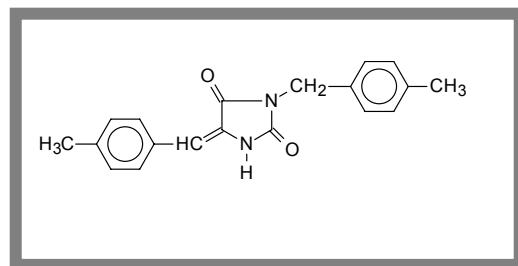
Compostos	MS-4
<b>Reagentes</b>	0,00098 moles (0,2 g) de 4-metil-benzil-imidazolidina-2,4,diona 1 mol (0,1813 g) – 1 µL de 3-bromobenzaldeído
<b>Solvente</b>	4,8 mL de dimetilformamida (DMF)
<b>Catalisador</b>	0,08 g de metóxido de sódio (CH <sub>3</sub> ONa)
<b>Tempo de reação</b>	4 horas
<b>Purificação</b>	recristalização em etanol e lavagens com água destilada
<b>Temperatura</b>	110°C

- 5-(4-flúor-benzilideno)-3-(4-metil-benzil)-imidazolidina-2,4-diona (**MS-5**)



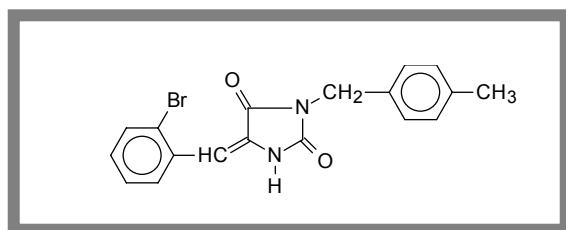
Composto	MS-5
<b>Reagentes</b>	0,00098 moles (0,2 g) de 4-metil-benzil-imidazolidina-2,4,diona 1 mol (0,1216 g) – 1 $\mu$ L de 4-metoxi-benzaldeído
<b>Solvente</b>	4,8 mL de dimetilformamida (DMF)
<b>Catalisador</b>	0,08 g de metóxido de sódio ( $\text{CH}_3\text{ONa}$ )
<b>Tempo de reação</b>	4 horas
<b>Purificação</b>	recristalização em etanol e lavagens com água destilada
<b>Temperatura</b>	110°C

- 3-(4-metil-benzil)-5-(4-metil-benzilideno)-imidazolidina-2,4-diona (**MS-6**)



Composto	MS-6
<b>Reagentes</b>	0,00098 moles (0,2 g) de 4-metil-benzil-imidazolidina-2,4,diona 1 mol (0,1216 g) – 1 $\mu$ L de 4-metil-benzaldeído
<b>Solvente</b>	4,8 mL de dimetilformamida (DMF)
<b>Catalisador</b>	0,08 g de metóxido de sódio ( $\text{CH}_3\text{ONa}$ )
<b>Tempo de reação</b>	4 horas
<b>Purificação</b>	recristalização em etanol e lavagens com água destilada
<b>Temperatura</b>	110°C

- 5-(2-bromo-benzilideno)-3-(4-metil-benzil)-imidazolidina-2,4-diona (**MS-7**)

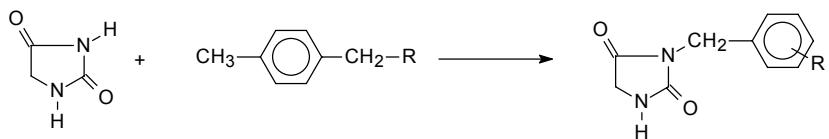


Compostos	MS-7
<b>Reagentes</b>	0,00098 moles (0,2 g) de 4-metil-benzil-imidazolidina-2,4,diona 1 mol (0,1813 g) – 1 $\mu$ L de 2-bromobenzaldeído
<b>Solvente</b>	4,8 mL de dimetilformamida (DMF)
<b>Catalisador</b>	0,08 g de metóxido de sódio (CH <sub>3</sub> ONa)
<b>Tempo de reação</b>	4 horas
<b>Purificação</b>	recristalização em etanol e lavagens com água destilada
<b>Temperatura</b>	110°C

### 4.3. Resultados e Discussão

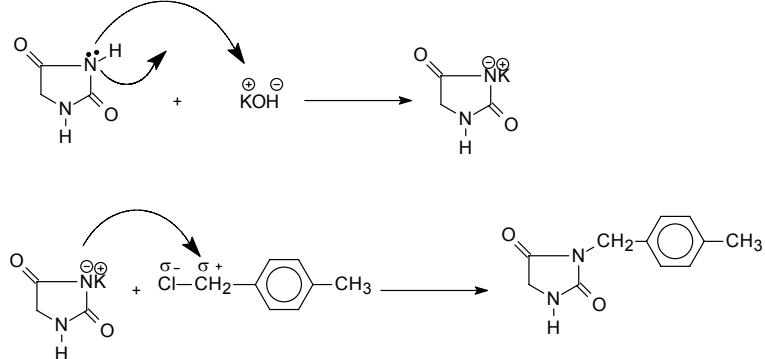
#### 4.3.1. 3-(4-metil-benzil)-imidazolidina-2,4-diona (**MS-0**)

Na obtenção dos derivados substituídos na posição 3 se prepara inicialmente um sal da imidazolidina-2,4-diona e em seguida se adiciona o haleto de alquila.



Esquema 6 – Reação de N-alquilação da imidazolidina-2,4-diona (**MS-0**)

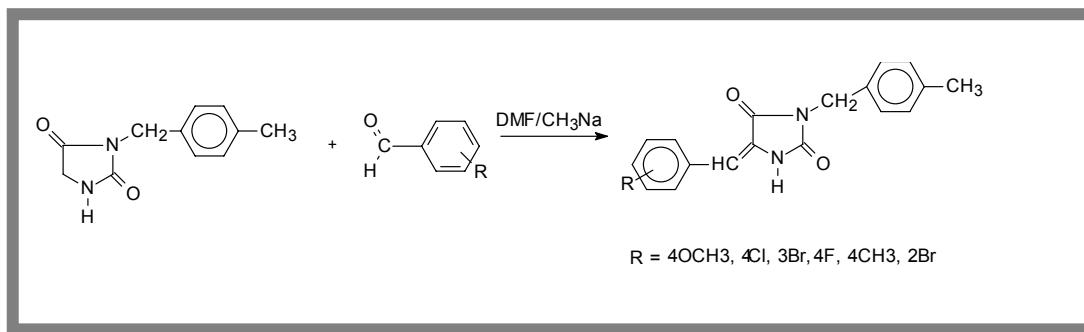
De acordo com Finkbeiner (1965), as reações de N-alquilação ocorrem através de substituições nucleofílicas de segunda ordem ( $SN_2$ ) onde o hidrogênio ligado ao átomo de nitrogênio é suficientemente ácido para ser suprimido por ação de uma base, conduzindo à formação de um sal. O sal obtido atua como um agente nucleofílico atacando o haleto de alquila para formar a imidazolidina-2,4-diona substituída em posição 3 (Esquema 7).



Esquema 7 – Mecanismo reacional da imidazolidina-2,4-diona

#### 4.4.2. Obtenção dos derivados 5-benzilideno-3-(4-metil-benzil)-imidazolidina-2,4-diona (MS)

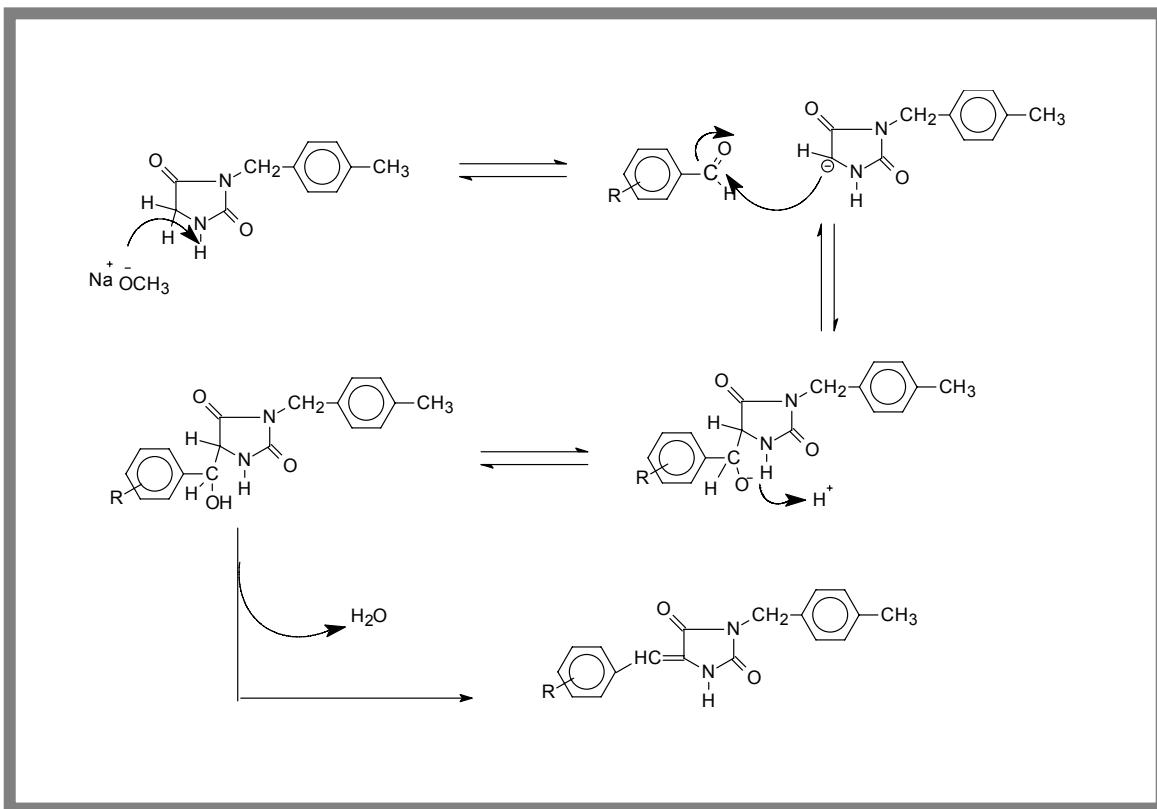
A obtenção dos novos derivados 5-(-(benzilideno)-3-(4-metil-benzil)-imidazolidina-2,4-diona (**MS**) teve como produto de partida 4-metil-benzil-imidazolidina-2,4-diona (**MS-0**). A condensação ocorreu em posição 5 do anel imidazolidínico segundo a metodologia descrita por Krapcho e Turk (1973), de acordo com o esquema 8.



A condensação entre 3-(4-metil-benzil)-imidazolidina-2,4-diona (**MS-0**) e os benzaldeídos substituídos ocorre por um mecanismo do tipo Knoevenagel. Esse tipo de mecanismo acontece quando há possibilidade de formação de carbânion na posição  $\alpha$  a carbonila. Inicialmente ocorre a saída do hidrogênio por ação de íons

$-\text{OCH}_3$  do metóxido de sódio, utilizado como catalisador.

O carbânion que se forma ataca a carbonila do aldeído localizando a carga negativa no oxigênio que captura um hidrogênio do meio, formando um álcool, que por um processo de desidratação interna leva à formação da dupla ligação exocíclica (Esquema 9).



Esquema 9 – Mecanismo reacional de obtenção dos derivados 5-benzilideno-3-(4-metil-benzil)-imidazolidina-2,4-diona (**MS**)

As características físico-químicas e a nomenclatura oficial da 3-(4-metil-benzil)-imidazolidina-2,4-diona (**MS-0**) e dos derivados 5-benzilideno-3-(metil-benzil)-imidazolidina-2,4-diona (**MS**) se encontram na tabela 1.

Tabela 1 - Características físico-químicas dos novos derivados imidazolidínicos

Composto	(R)	Ponto de Fusão (P.F.)	Massa Molecular (M.M.)	Cor	Rf	Rendimento (Rdt %)
MS-1	4OCH <sub>3</sub>	169-170°C	322	branco	0,6 ( <i>n</i> -hexano/Acetato de etila 7:3)	82,17%
MS-2	4-Cl	221-222°C	291,5	branco	0,5 ( <i>n</i> -hexano/Acetato de etila 7:3)	94,84%
MS-4	3-Br	159-160°C	370	branco	0,5 ( <i>n</i> -hexano/Acetato de etila 7:3)	52,39%
MS-5	4-F	181-183°C	310	amarelo castanho	0,5 ( <i>n</i> -hexano/Acetato de etila 7:3)	29,52%
MS-6	4- CH <sub>3</sub>	174-175°C	306	branco	0,5 ( <i>n</i> -hexano/Acetato de etila 7:3)	88,10%
MS-7	2-Br	194-195°C	370	branco	0,4 ( <i>n</i> -hexano/Acetato de etila 7:3)	79,92%

#### 4.3.3. Análise Espectroscópica

##### 4.3.3.1. Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio (RMN<sup>1</sup>H) e no Infravermelho (IV)

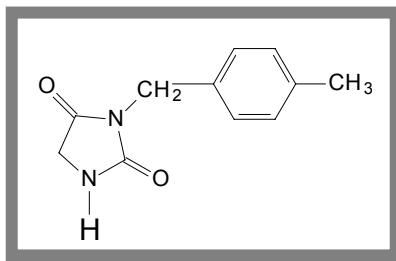
A espectroscopia de ressonância magnética nuclear de hidrogênio (RMN<sup>1</sup>H) permitiu verificar os deslocamentos químicos ( $\delta$ ) dos hidrogênios presentes nas estruturas dos novos derivados imidazolidinônicos da série 5-benzilideno-3-(4-metil-benzil)-imidazolidina-3,4-diona (MS).

Os espectros apresentam os picos de absorção com deslocamentos químicos entre 6,96 - 7,71 ppm, correspondentes aos hidrogênios aromáticos. Os

sinais característicos dos grupos  $-\text{CH}_3$ ,  $-\text{CH}_2$ ,  $=\text{CH}$  aparecem com singletos em 2,26 ppm, 4,60 - 4,61 ppm e 6,52 - 6,62 ppm, respectivamente.

Os espectros no infravermelho permitem a verificação das bandas características das carbonilas em aproximadamente  $1706 - 1727 \text{ cm}^{-1}$  e  $1752 - 1761 \text{ cm}^{-1}$ , do grupo N-H em  $3225 - 3274 \text{ cm}^{-1}$ . A seguir se encontram os deslocamentos químicos e as freqüências no infravermelho para os derivados **MS** sintetizados.

- 3-(4-metil-benzil)-imidazolidina-2,4-diona (**MS-0**)



**RMN<sup>1</sup>H (d, ppm) – DMSO – d<sub>6</sub>**

CH<sub>3</sub> – 2,26 ppm (s, 3H)

CH<sub>2</sub> – 3,95 ppm (s, 2H)

– 4,70 ppm (s, 2H)

NH – 8,07 ppm (s, 1H)

### **Hidrogênios Benzílicos**

7,11 ppm (d, 2H) J = 8,40Hz

7,16 ppm (d, 2H) J = 8,40Hz

**IV (cm<sup>-1</sup>) –KBr**

NH – 3297

C=O -1750

1704

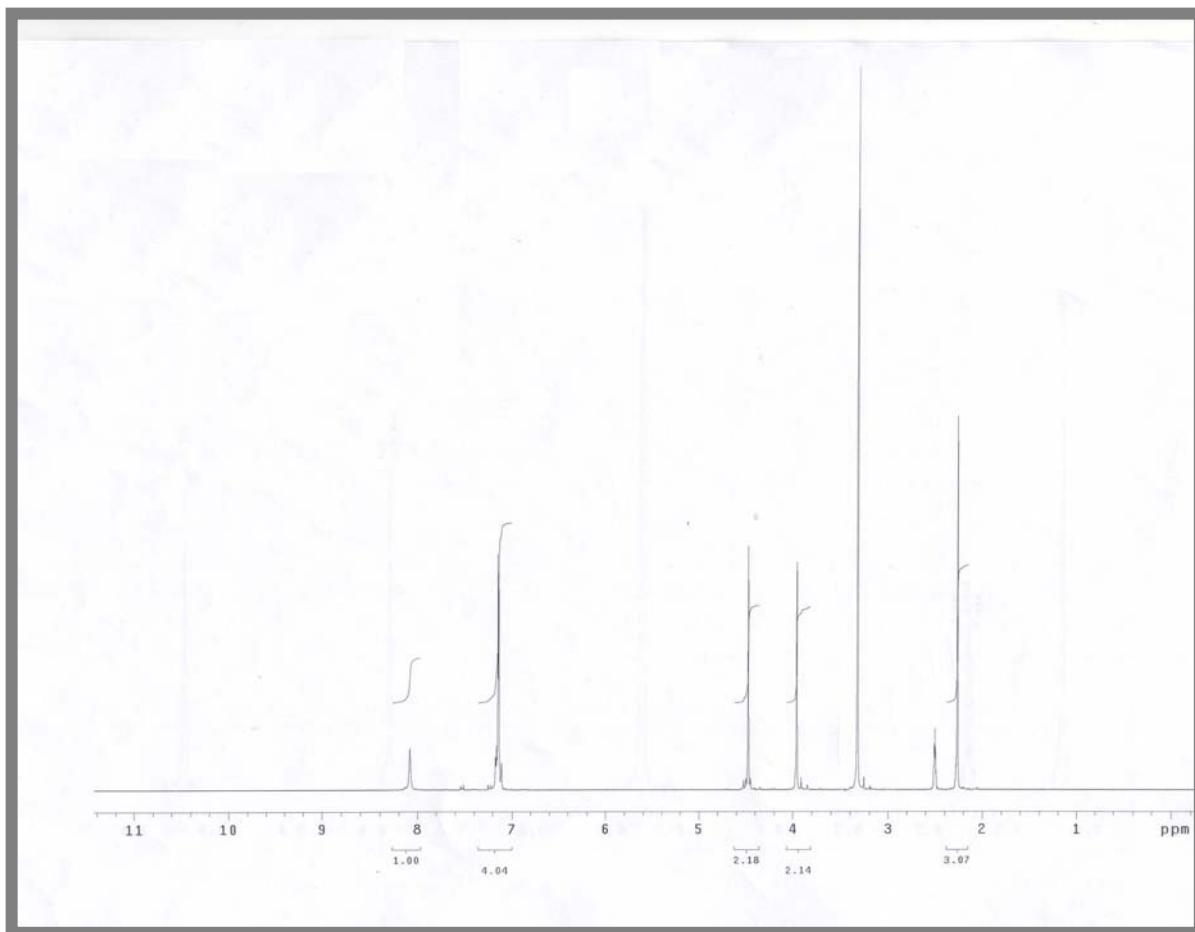
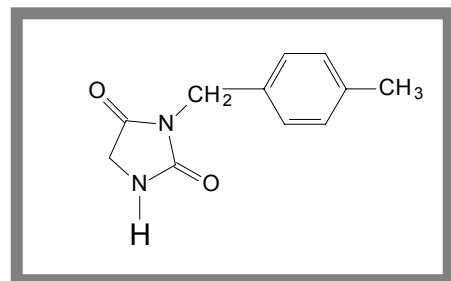


Figura 21 - Espectro de RMN<sup>1</sup>H do composto 3-(4-metil-benzil)-imidazolidina-2,4-diona (**MS-0**)

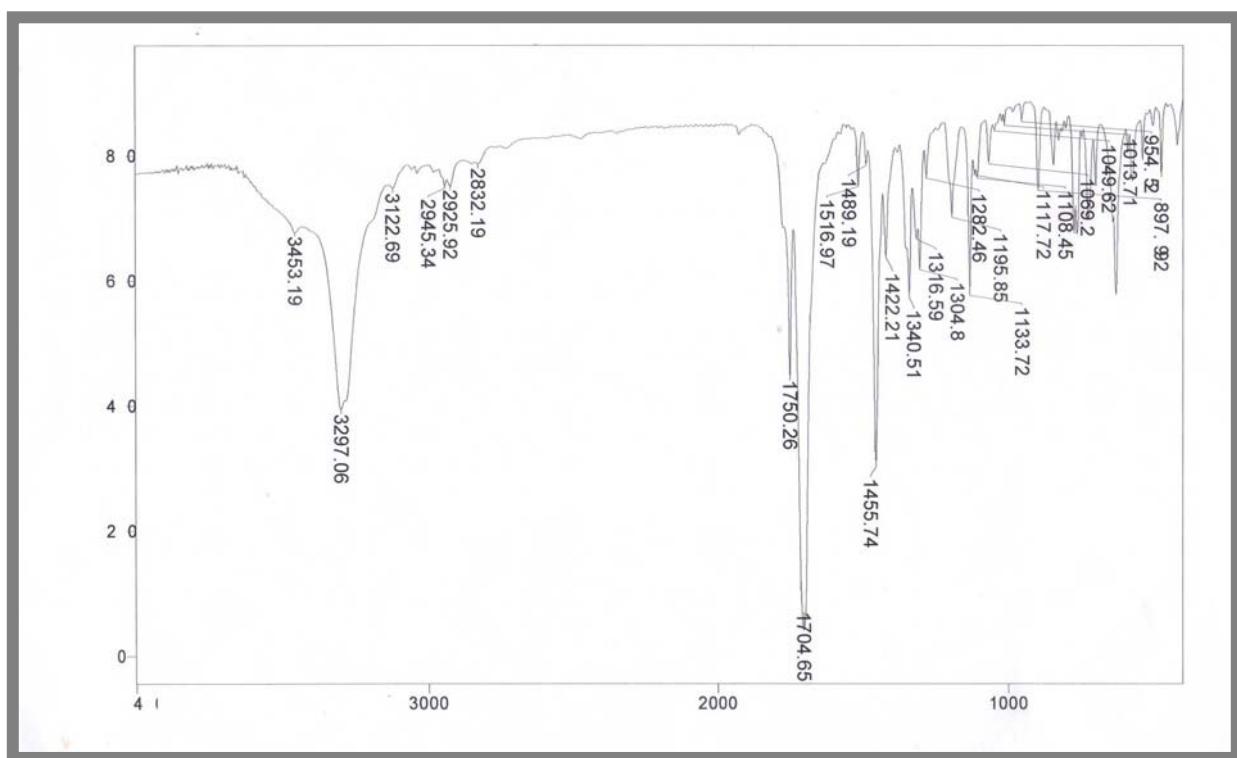
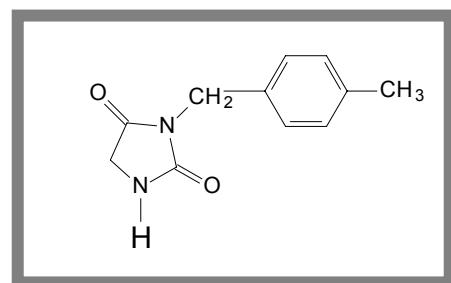
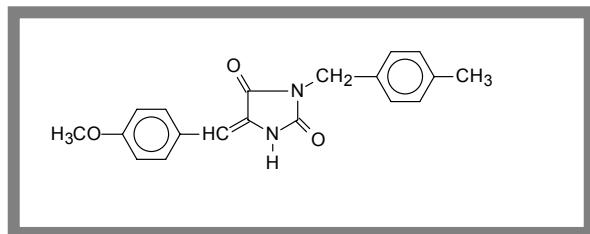


Figura 22 – Espectro de Infravermelho (IV) do composto 3-(4-metil-benzil)-imidazolidina-2,4-diona (MS-0)

- 3-(4-metil-benzil)-5-(4-metoxi-benzilideno)-imidazolidina-2,4-diona (**MS-1**)



**RMN<sup>1</sup>H (d, ppm) – DMSO – d<sub>6</sub>**

CH<sub>3</sub> – 2,26 ppm (s, 3H)

OCH<sub>3</sub> – 3,79 ppm (s, 3H)

CH<sub>2</sub> – 4,60 ppm (s, 2H)

NH – 10,75 (s, 1H)

=CH – 6,52 ppm (s, 1H)

**Hidrogênios Benzílicos**

7,18 ppm (d, 2H) J = 8,99Hz

7,13 ppm (d, 2H) J = 8,09Hz

**Hidrogênios Benzilidênicos**

7,62 ppm (d, 2H) J = 8,69Hz

6,96 ppm (d, 2H) J = 8,69Hz

**IV (cm<sup>-1</sup>) –KBr**

NH – 3225

C=O -1755

1713

C=C -1661

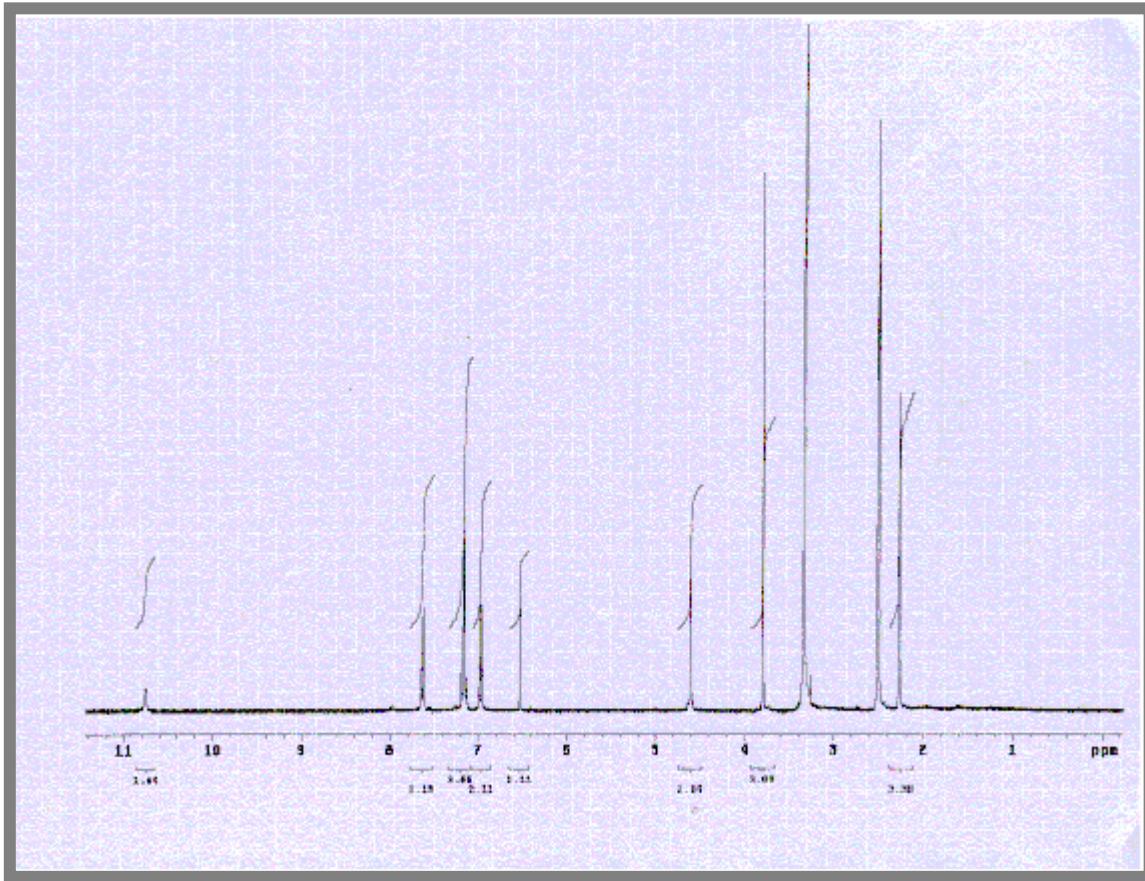
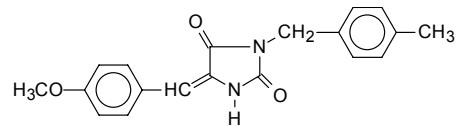
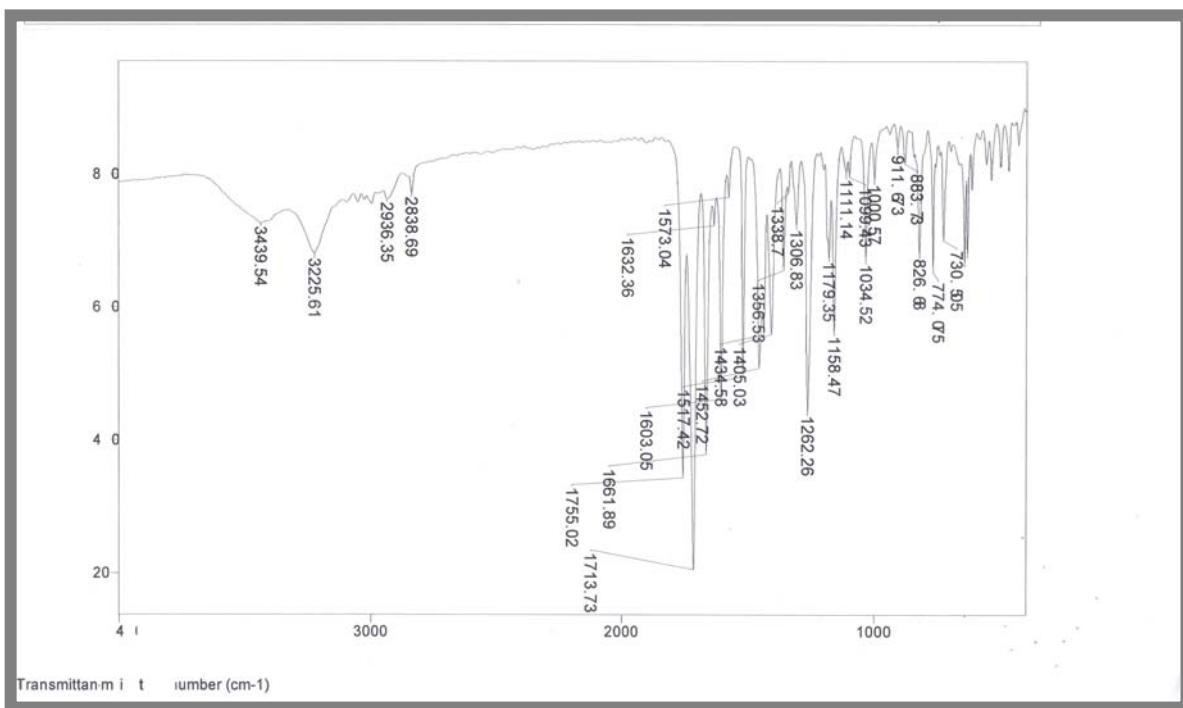
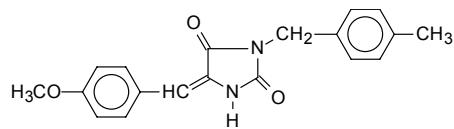
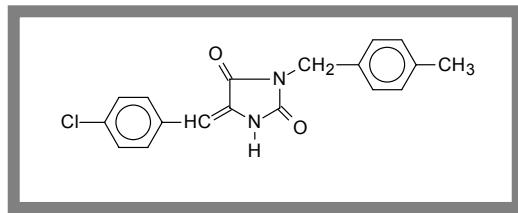


Figura 23 – Espectro de RMN<sup>1</sup>H do composto 3-(4-metil-benzil)-5-(4-metoxi-benzilideno)-imidazolidina-2,4-diona (**MS-1**)



- 5-(4-cloro-benzilideno)-3-(4-metil-benzil)-imidazolidina-2,4-diona (**MS-2**)



**RMN<sup>1</sup>H (d, ppm) – DMSO – d<sub>6</sub>**

CH<sub>3</sub> – 2,26 ppm (s, 3H)

CH<sub>2</sub> – 4,60 ppm (s, 2H)

NH – 10,93 (s, 1H)

=CH – 6,554 ppm (s, 1H)

**Hidrogênios Benzilidênicos**

7,64 ppm (d, 2H) J = 8,39Hz

7,48 ppm (d, 2H) J = 8,39Hz

**Hidrogênios Benzílicos**

7,17 ppm (d, 2H) J = 8,39Hz

7,14 ppm (d, 2H) J = 8,39Hz

**IV (cm<sup>-1</sup>) –KBr**

NH – 3274

C=O -1752

1706

C=C – 1649

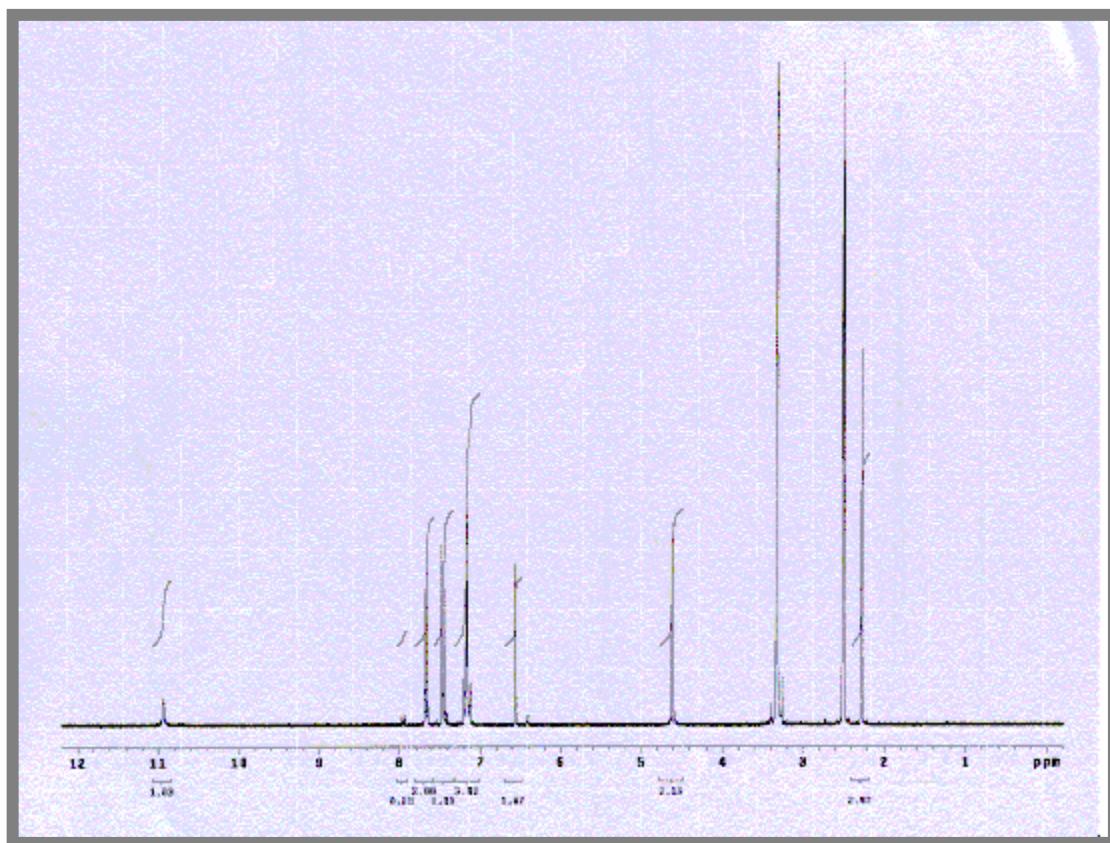
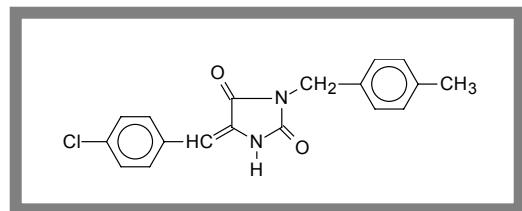


Figura 25 - Espectro de RMN $^1\text{H}$  do composto 5-(4-cloro-benzilideno)-3-(4-metil-benzil)-imidazolidina-2,4-diona (**MS-2**)

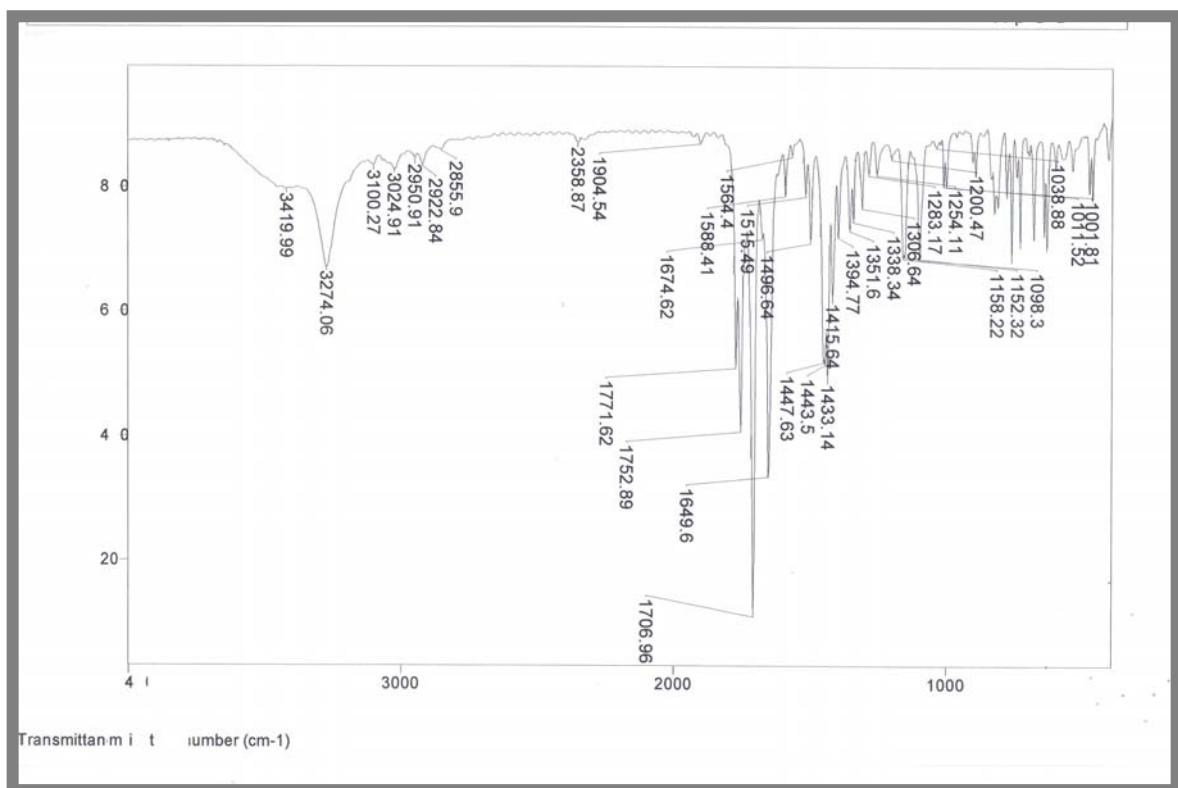
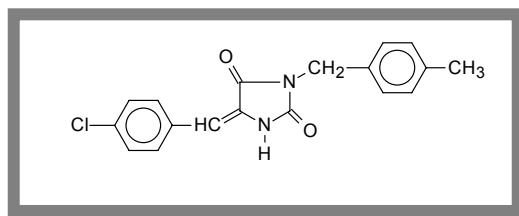
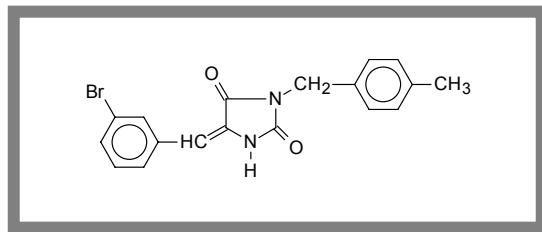


Figura 26 – Espectro de Infravermelho (IV) do composto 5-(4-cloro-benzilideno)-3-(4-metil-benzil)-imidazolidina-2,4-diona (**MS-2**)

- 5-(3-bromo-benzilideno)-3-(4-metil-benzil)-imidazolidina-2,4-diona (**MS-4**)



**RMN<sup>1</sup>H (d, ppm) – DMSO – d<sub>6</sub>**

CH<sub>3</sub> – 2,27 ppm (s, 3H)

CH<sub>2</sub> – 4,61 ppm (s, 2H)

NH – 11,0 (s, 1H)

=CH – 6,52 ppm (s, 1H)

### **Hidrogênios Benzílicos**

7,13 ppm (d, 2H) J = 8,09Hz

7,17 ppm (d, 2H) J = 8,09Hz

### **Hidrogênios Benzilidênicos**

7,87 ppm (s, 1H)

7,52 ppm (dd, 1H)

7,35 ppm (1H, t) J = 7,79 Hz

7,62 ppm (1H, d) J = 7,79 Hz

### **IV (cm<sup>-1</sup>) –KBr**

NH – 3231

C=O -1757

1708

C=C -1658

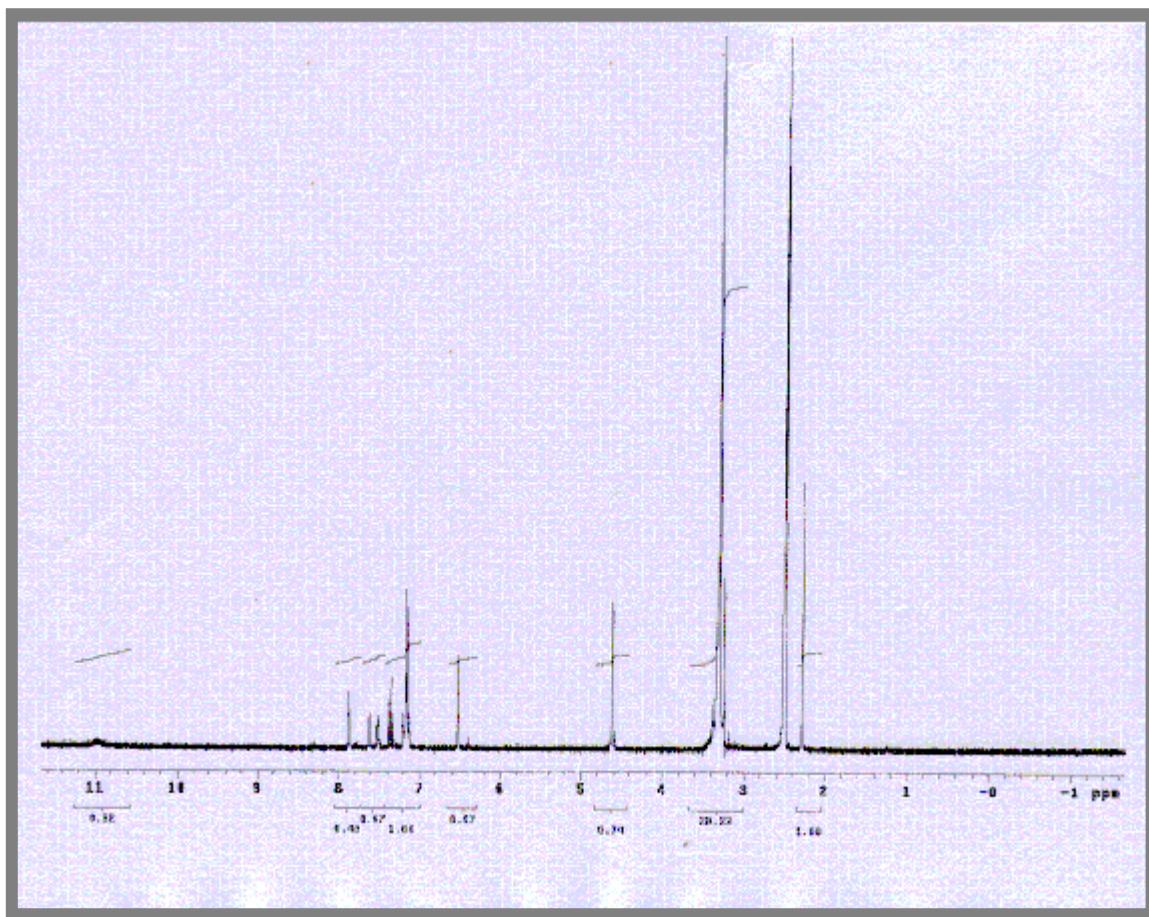
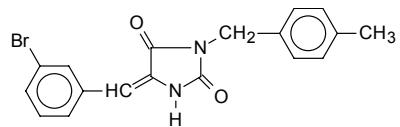


Figura 27 - Espectro de RMN<sup>1</sup>H do composto 5-(3-bromo-benzilideno)-3-(4-metil-benzil)-imidazolidina-2,4-diona (**MS-4**)

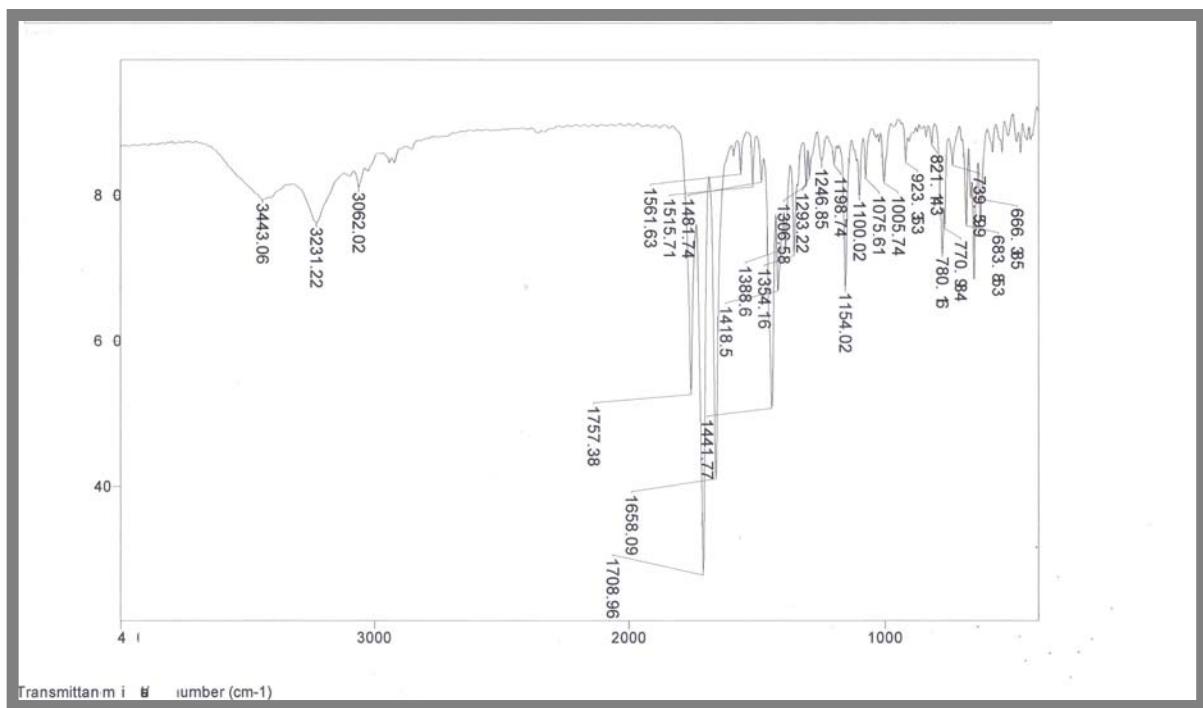
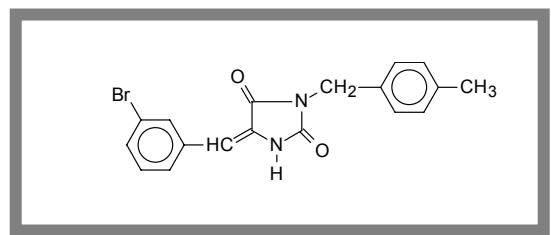
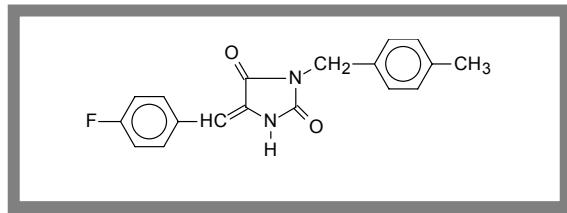


Figura 28 – Espectro de Infravermelho (IV) do composto 5-(3-bromo-benzilideno)-3-(4-metil-benzil)-imidazolidina-2,4-diona (**MS-4**)

- 5-(4-flúor-benzilideno)-3-(4-metil-benzil)-imidazolidina-2,4-diona (**MS-5**)



**RMN<sup>1</sup>H (d, ppm) – DMSO – d<sub>6</sub>**

CH<sub>3</sub> – 2,26 ppm (s, 3H)

CH<sub>2</sub> – 4,60 ppm (s, 2H)

NH – 10,84 (s, 1H)

=CH – 6,54 ppm (s, 1H)

**Hidrogênios Benzílicos**

7,13 ppm (d, 2H) J = 7,13 Hz

7,18 ppm (d, 2H) J = 7,79 Hz

**Hidrogênios Benzilidênicos**

7,25 ppm (2H, d) J = 8,69 Hz

7,71 ppm (2H, m)

**IV (cm<sup>-1</sup>) –KBr**

NH - 3229

C=O -1761

1716

C=C -1666

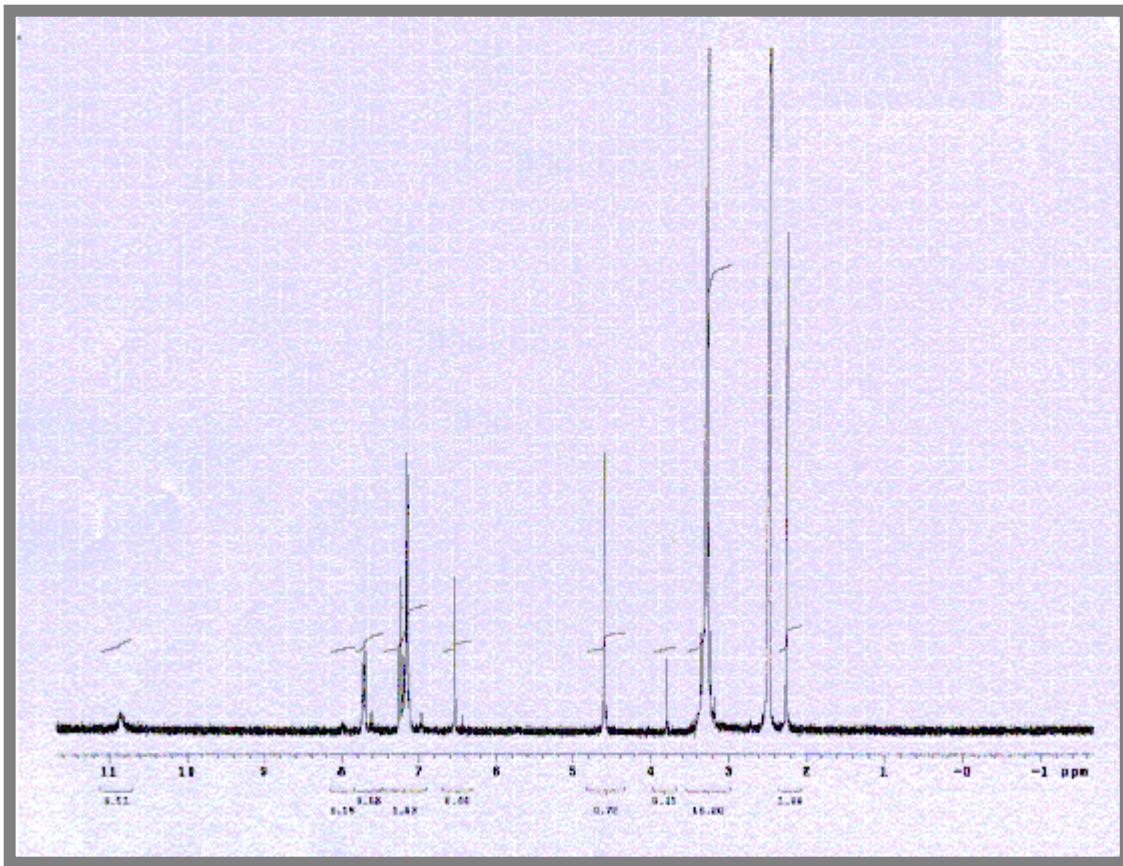
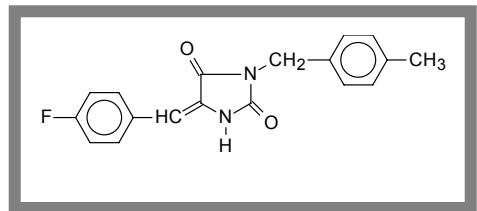
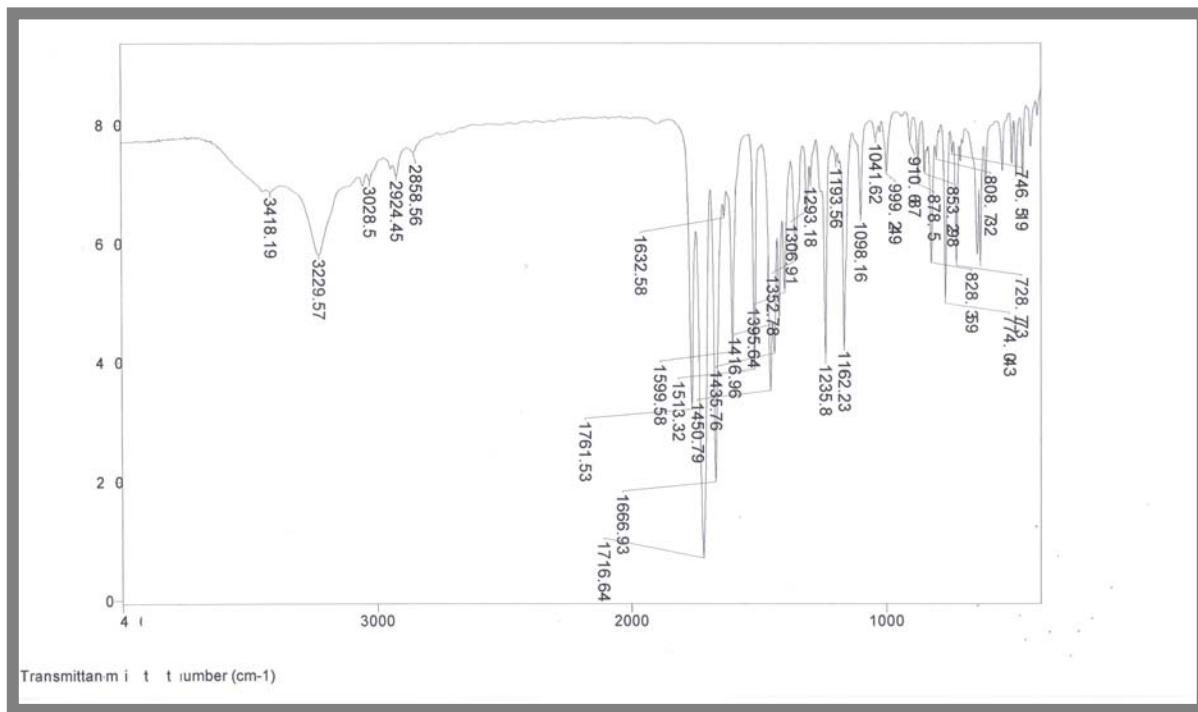
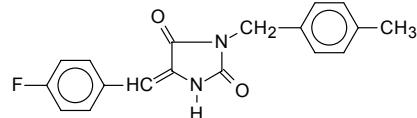
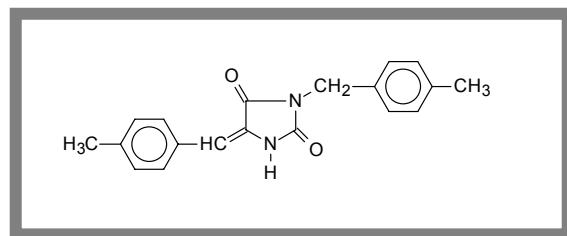


Figura 29 - Espectro de RMN<sup>1</sup>H do composto 5-(4-flúor-benzilideno)-3-(4-metil-benzil)-imidazolidina-2,4-diona (**MS-5**)



- 3-(4-metil-benzil)-5-(4-metil-benzilideno)-imidazolidina-2,4-diona (**MS-6**)



### RMN<sup>1</sup>H (d, ppm) – DMSO – d<sub>6</sub>

CH<sub>3</sub> – 2,27 ppm (s, 3H)

CH<sub>2</sub> – 2,32 ppm (s, 2H)

NH – 4,61 (s, 1H)

=CH – 6,53 ppm (s, 1H)

### Hidrogênios Benzilidênicos

7,22 ppm (d, 2H) J = 8,39 Hz

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

### Hidrogênios Benzílicos

7,14 ppm (2H, d) J = 8,39 Hz

7,18 ppm (2H, d) J = 8,69 Hz

### IV (cm<sup>-1</sup>) – KBr

NH - 3231

C=O -1760

1715

C=C - 1661

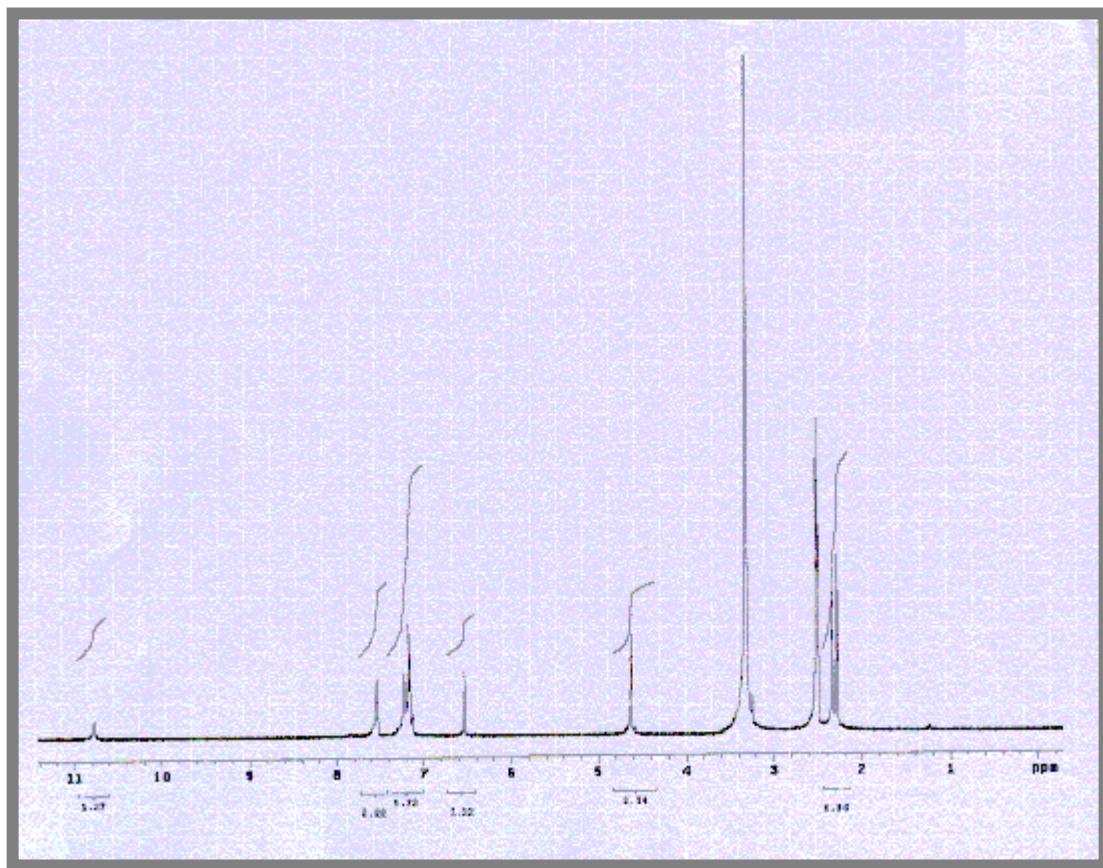
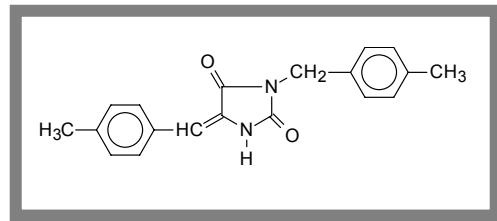
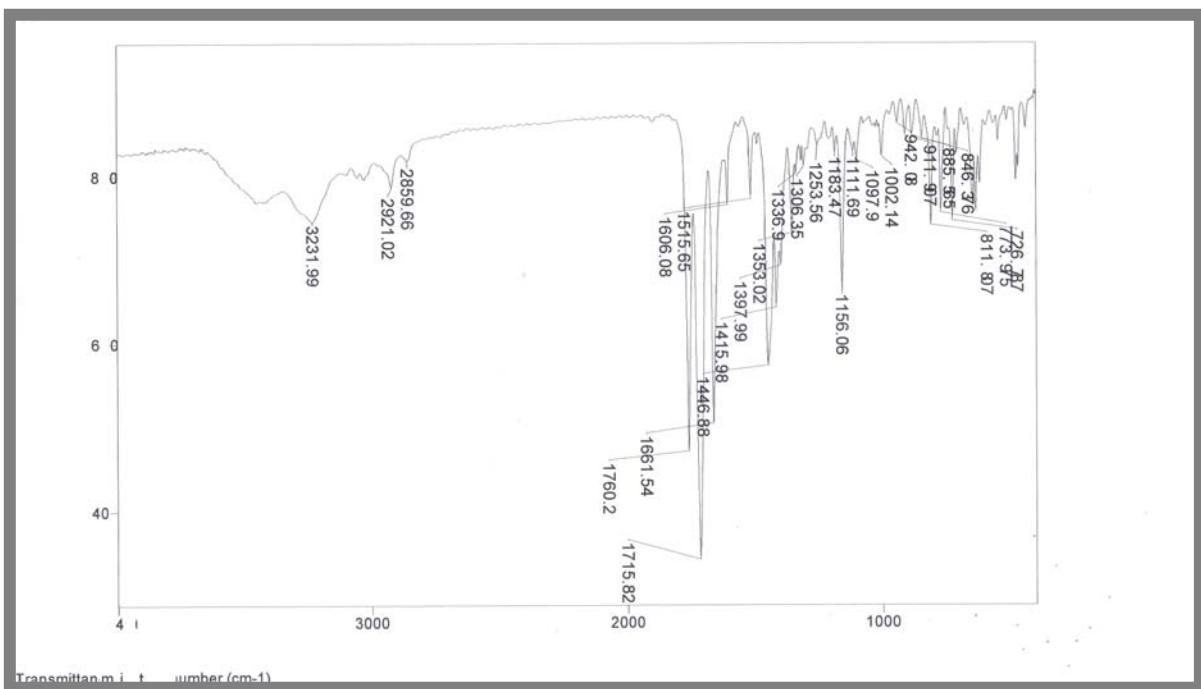
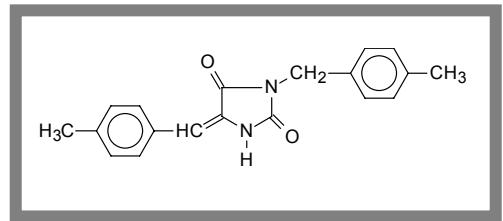
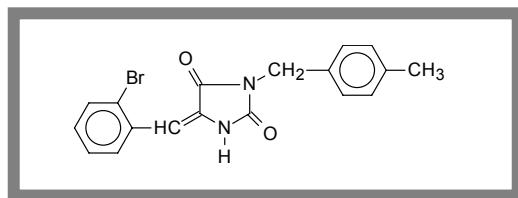


Figura 31- Espectro de RMN $^1\text{H}$  do composto 3-(4-metil-benzil)-5-(4-metil-benzilideno)-imidazolidina-2,4-diona (**MS-6**)



- 5-(2-bromo-benzilideno)-3-(4-metil-benzil)-imidazolidina-2,4-diona (**MS-7**)



**RMN<sup>1</sup>H ( d, ppm) – DMSO – d<sub>6</sub>**

CH<sub>3</sub> – 2,27 ppm (s, 3H)

CH<sub>2</sub> – 4,61 ppm (s, 2H)

NH – 10,96 (s, 1H)

=CH – 6,62 ppm (s, 1H)

### Hidrogênios Benzílicos

7,15 ppm (d, 2H) J = 7,79 Hz

7,19 ppm (d, 2H) J = 8,09 Hz

### Hidrogênios Benzilidênicos

7,71 ppm (2H, d) J = 6,59 Hz e J = 1,19 Hz

7,43 ppm (1H, t) J = 7,19 Hz

7,28 ppm (1H, t) J = 7,79 Hz

### IV (cm<sup>-1</sup>) –KBr

NH - 3213

C=O -1764

1727

C=C –1673

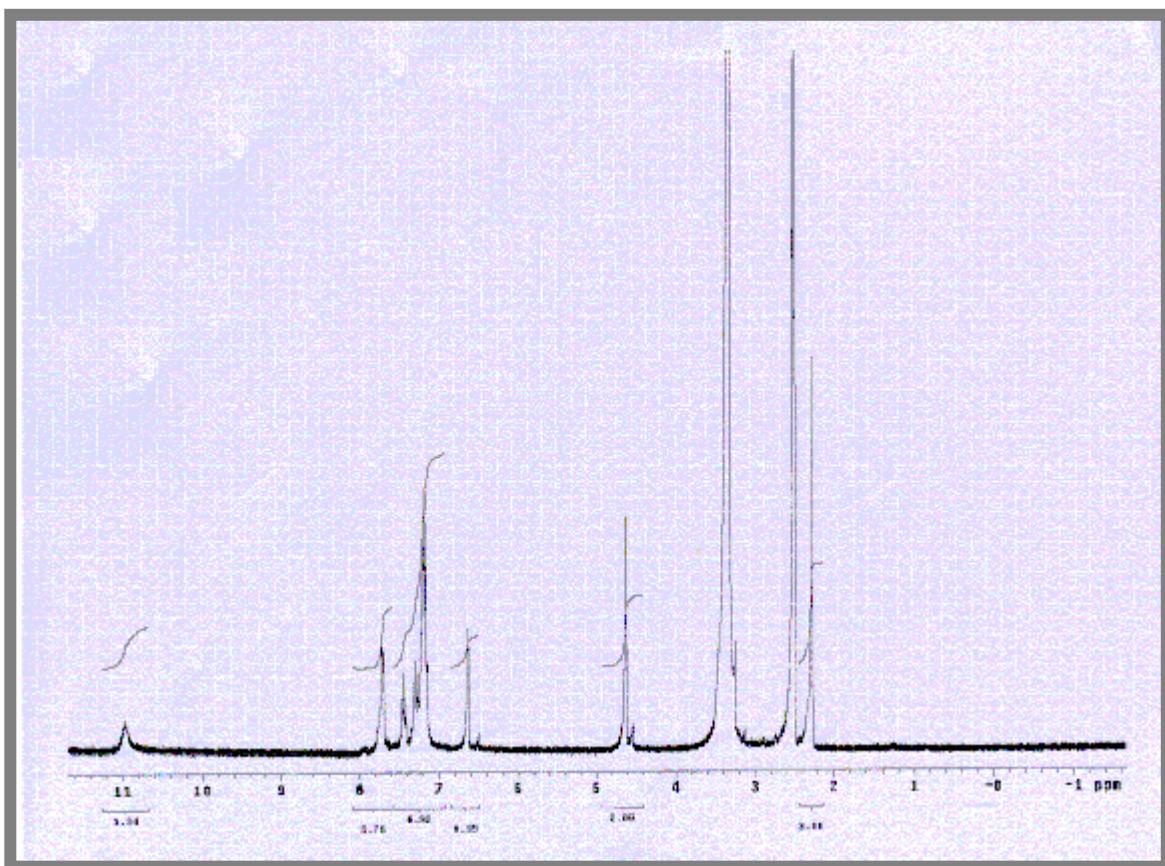
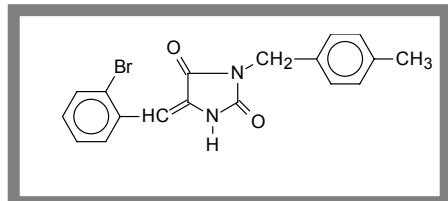
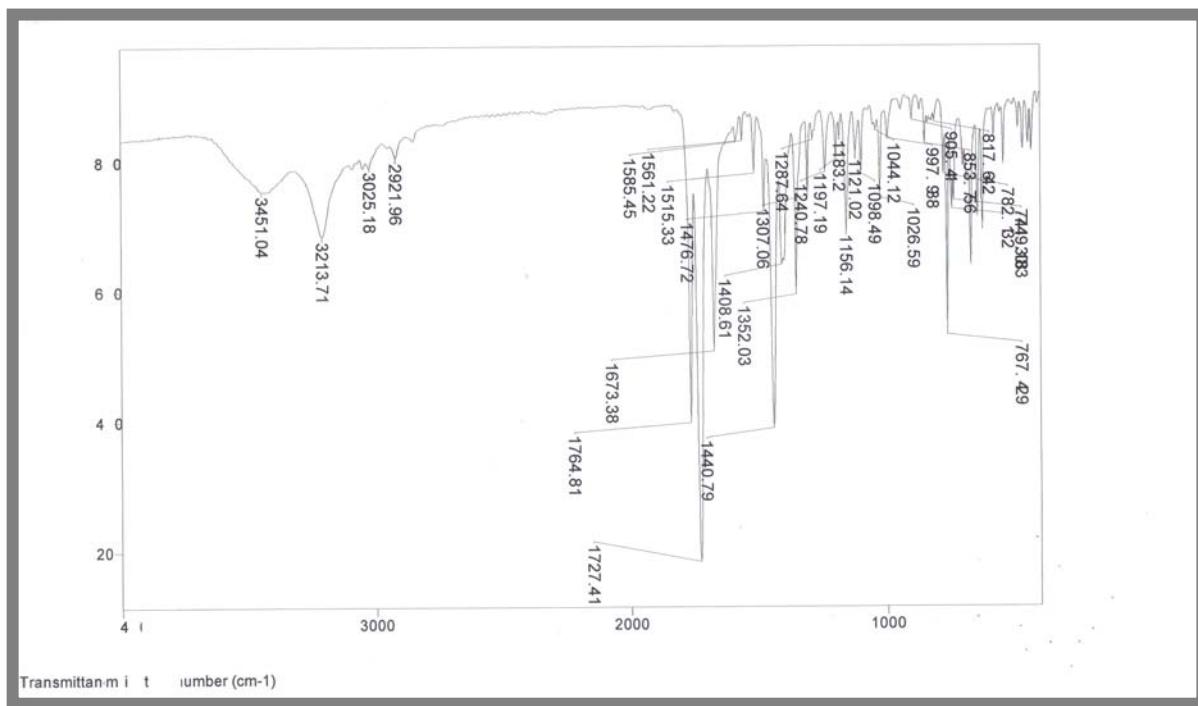
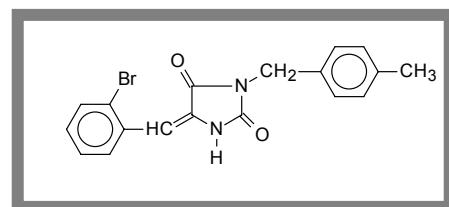


Figura 33 - Espectro de RMN<sup>1</sup>H do composto 5-(2-bromo-benzilideno)-3-(4-metil-benzil)-imidazolidina-2,4-diona (**MS-7**)



#### 4.3.4. Espectrometria de Massas

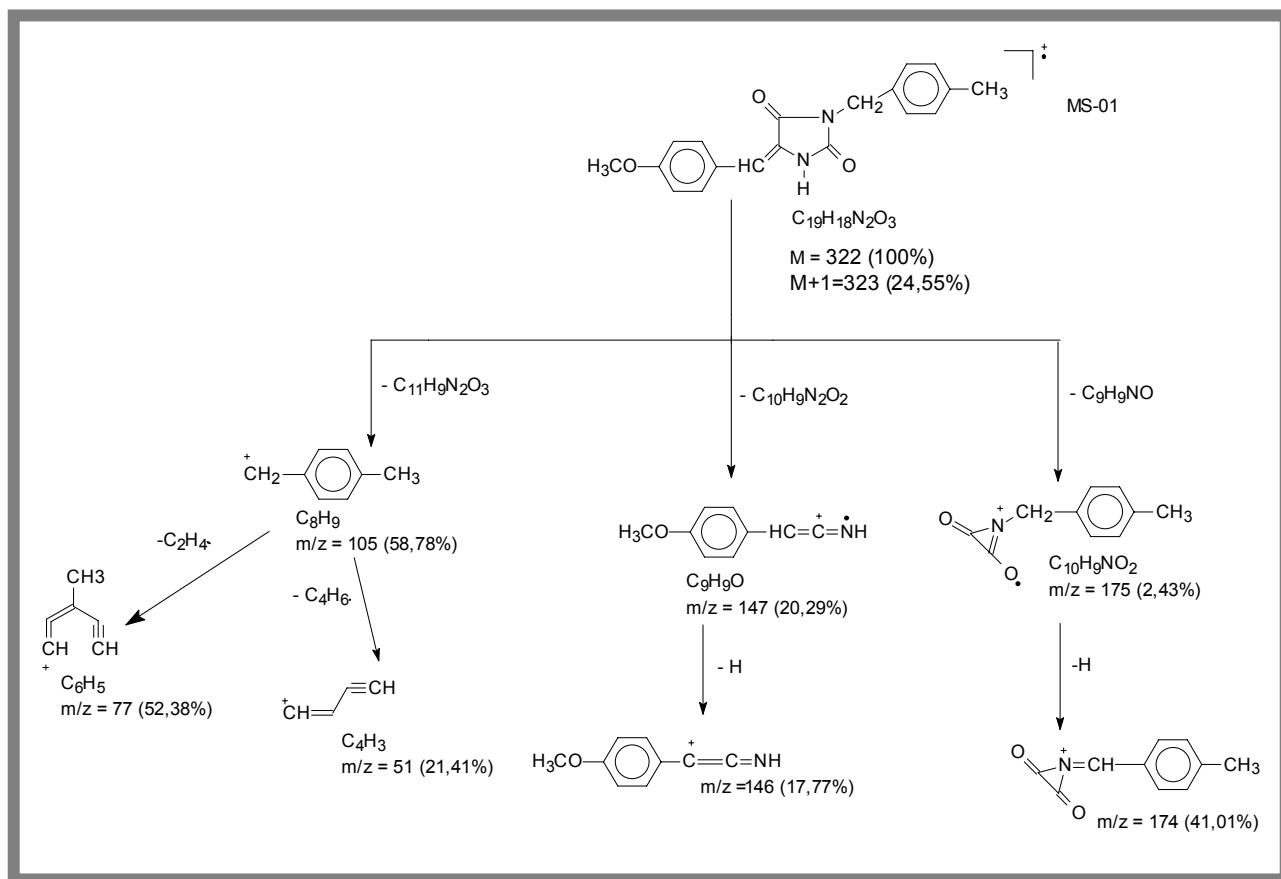
Realizaram-se os espectros de massas para os derivados 5-benzilideno-3-(4-metil-benzil)-imidazolidina-2,4,-diona (**MS**), e as principais fragmentações com suas intensidades relativas, após impacto eletrônico, encontram-se nos esquemas 10 a 15.

A presença dos halogênios, bromo e cloro, foram confirmadas pelos picos dos isótopos  $M+2$  para os derivados 5-(4-cloro-benzilideno)-3-(4-metil-benzil)-imidazolidina-2,4-diona (**MS-2**) e 5-(2-bromo-benzilideno)-3-(4-metil-benzil)-imidazolidina-2,4-diona (**MS-7**). O derivado **MS-7** pela perda do radical bromo conduz ao fragmento  $m/z = 291$  que corresponde ao pico de base, enquanto que para o derivado **MS-2** o pico de base correspondente ao íon molecular  $M = 326$ .

Para o derivado 5-(4-metoxi-benzilideno)-3-(4-metil-benzil)-imidazolidina-2,4-diona (**MS-1**) o pico de base é íon molecular  $M = 322$ , observa-se o pico  $M+1 = 323$  com (24,55 %) de intensidade.

Os demais derivados (**MS-4**, **MS-5** e **MS-6**) o pico de base corresponde a ruptura da ligação lateral N-C que conduz à formação do íon benzílico cujo fragmento é  $m/z = 105$ .

As figuras 35, 36, 37, 38, 39 e 40 mostram os espectros de massas dos derivados 5-benzilideno-3-(4-metil-benzil)-imidazolidina-2,4-diona (**MS**).



Esquema 10 – Principais fragmentações do composto 3-(4-metil-benzil)-5-(4-metoxi-benzilideno)-imidazolidina-2,4-diona (**MS-1**)

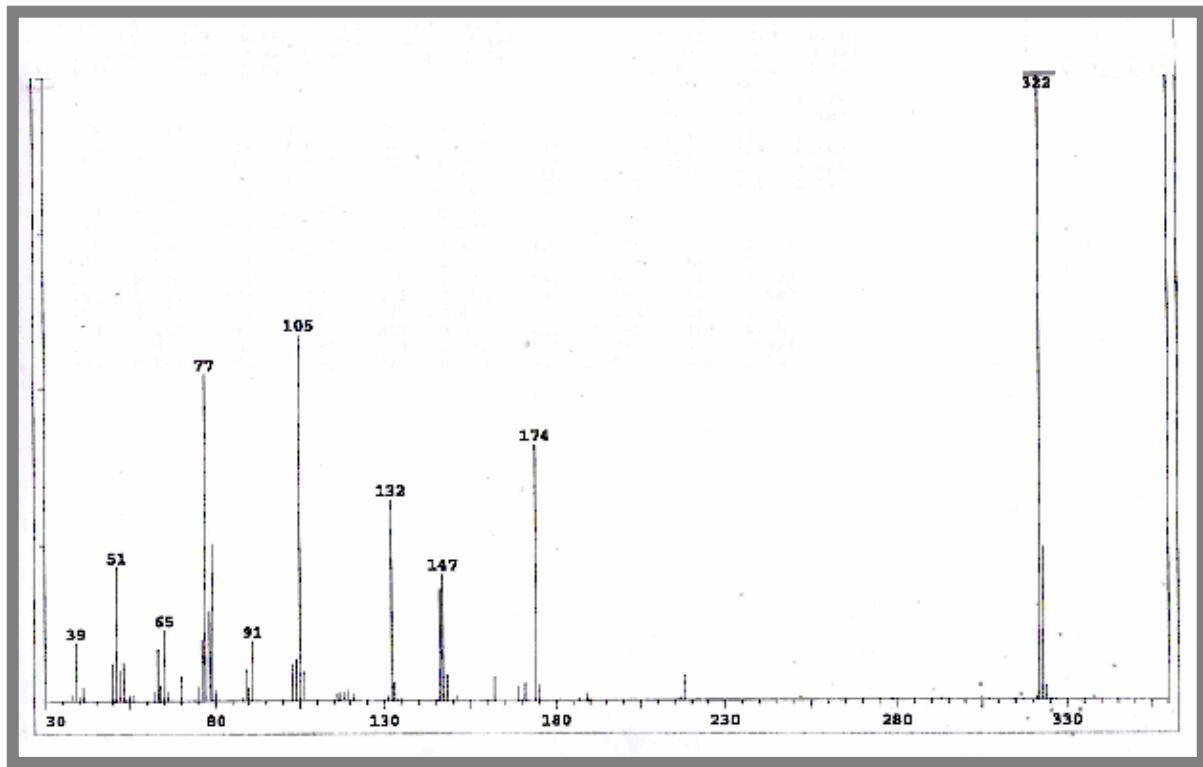
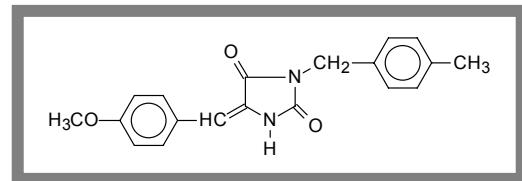
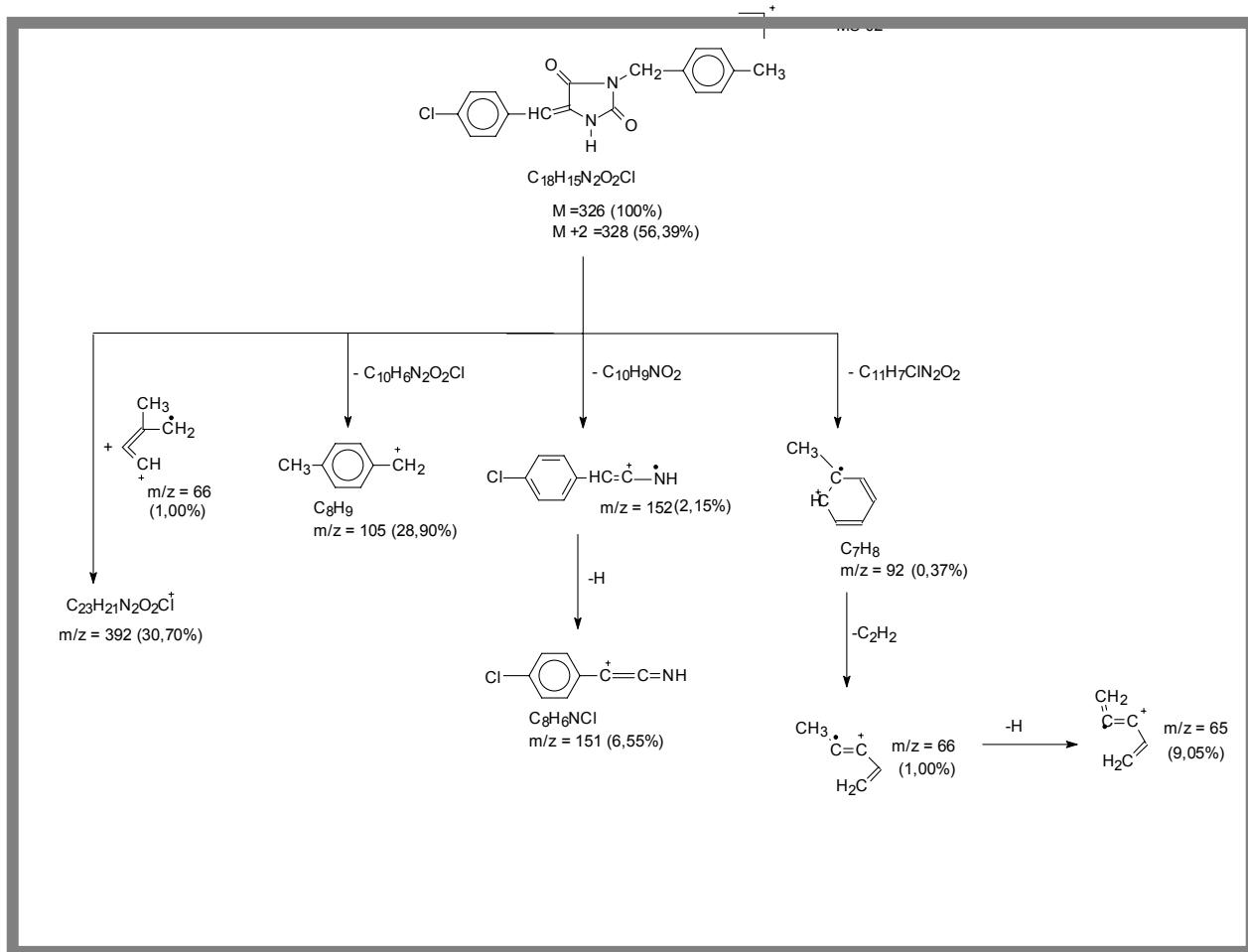


Figura 35 – Espectro de Massas do composto 3-(4-metil-benzil)-5-(4-metoxi-benzilideno)-imidazolidina-2,4-diona (**MS-1**)



Esquema 11 – Principais fragmentações do composto 5-(4-cloro-benzilideno)-3-(4-metilbenzil)-imidazolidina-2,4-diona (**MS-2**)

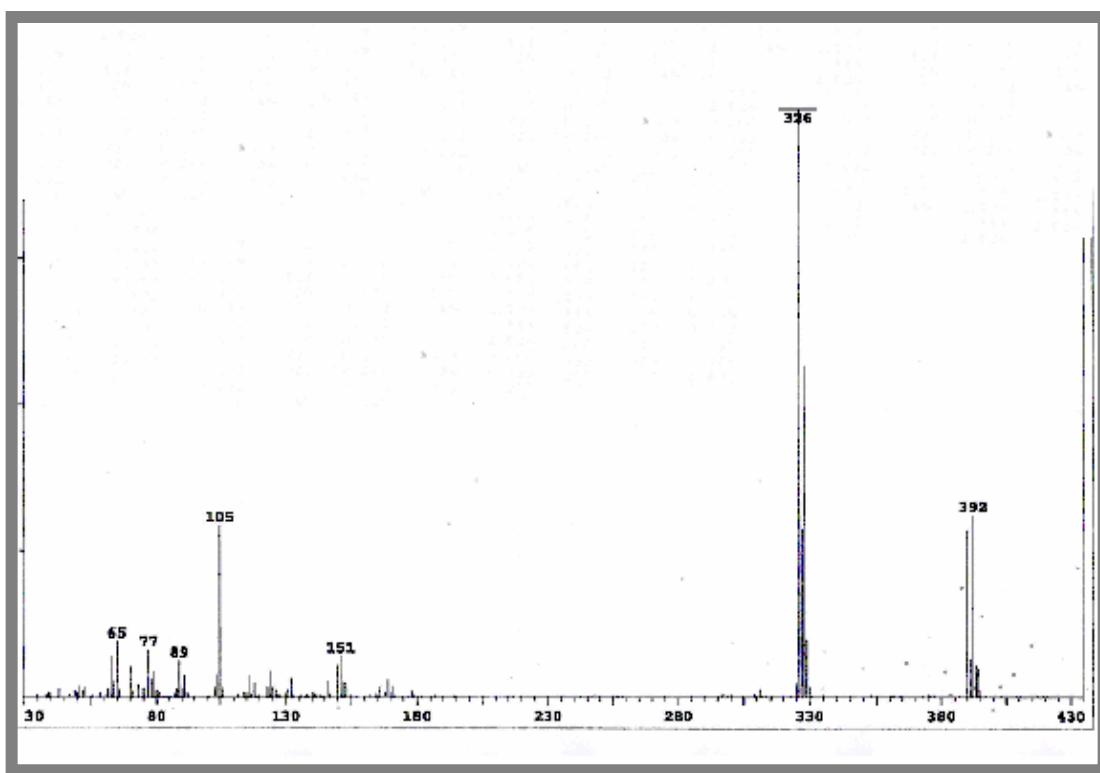
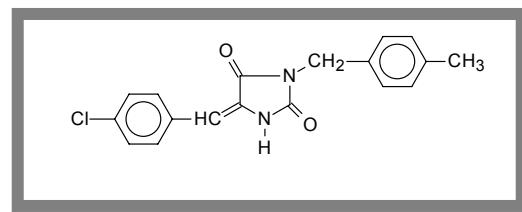
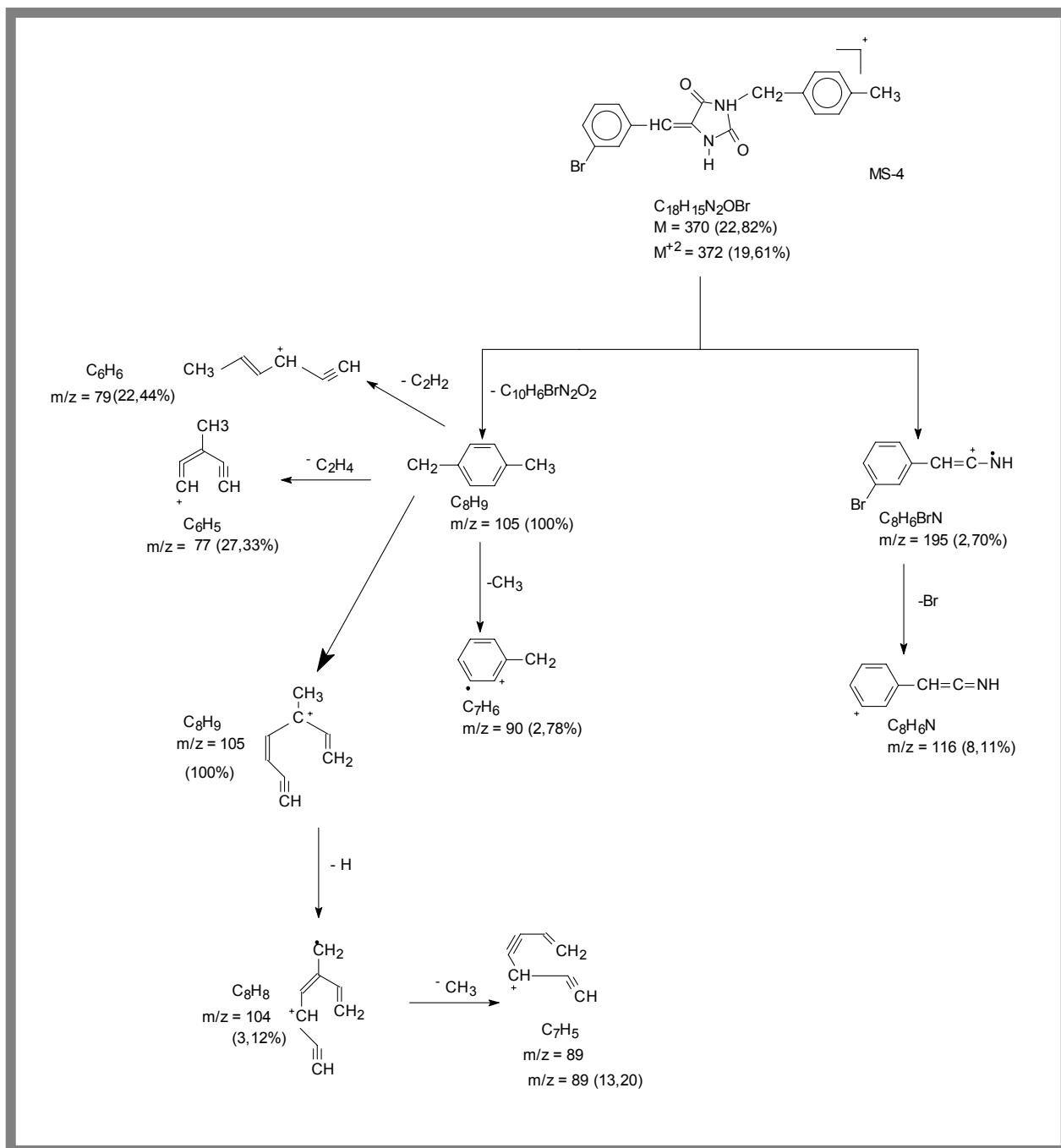


Figura 36 – Espectro de Massa do composto 5-(4-cloro-benzilideno)-3-(4-metil-benzil)-imidazolidina-2,4-diona (**MS-2**)



Esquema 12 – Principais fragmentações propostas para o composto 5-(3-bromo-benzilideno)-3-(4-metil-benzil)-imidazolidina-2,4-diona (**MS-4**)

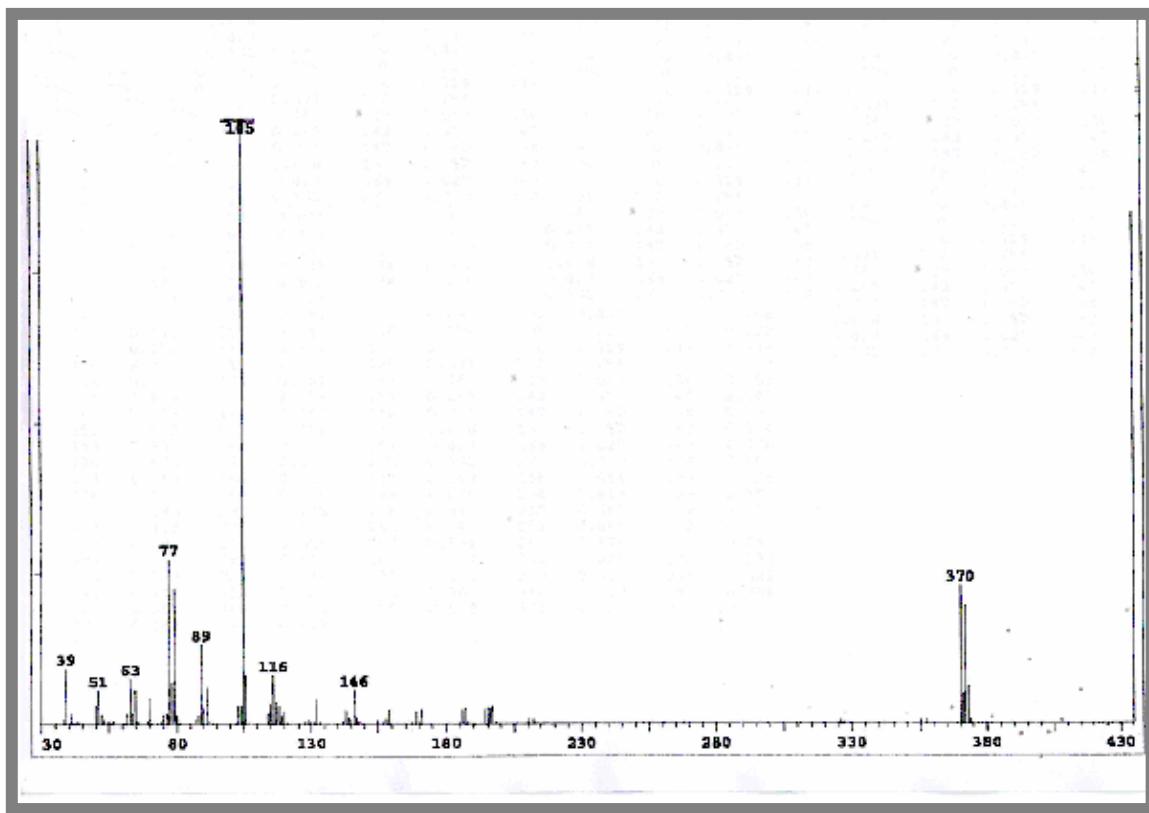
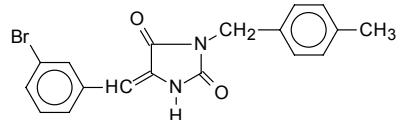
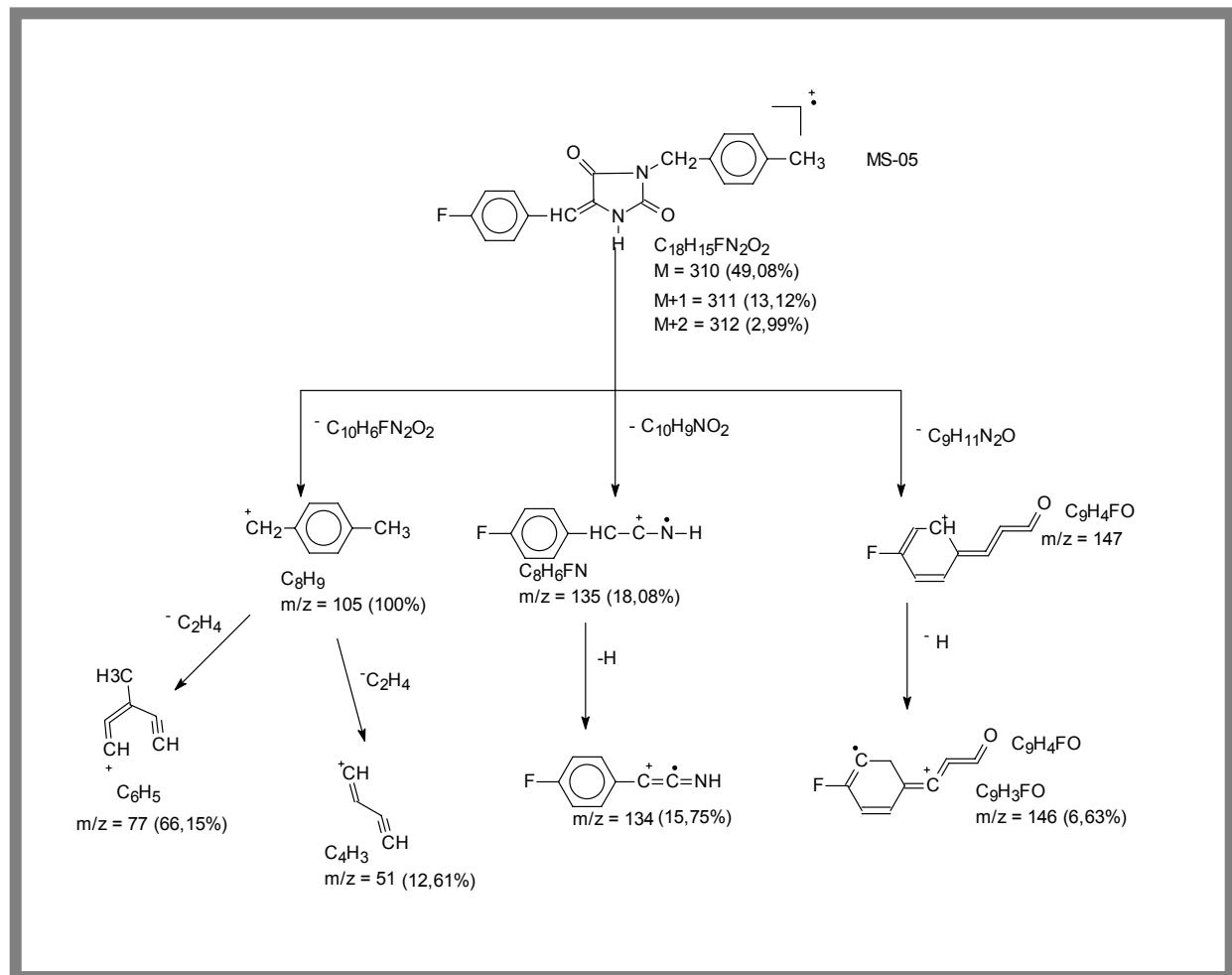


Figura 37– Espectro de Massa do composto 5-(3-bromo-benzilideno)-3-(4-metil-benzil)-imidazolidina-2,4-diona (**MS-4**)



Esquema 13 – Principais fragmentações propostas para o composto 5-(4-flúorobenzilideno)-3-(4-metil-benzil)-imidazolidina-2,4-diona (**MS-5**)

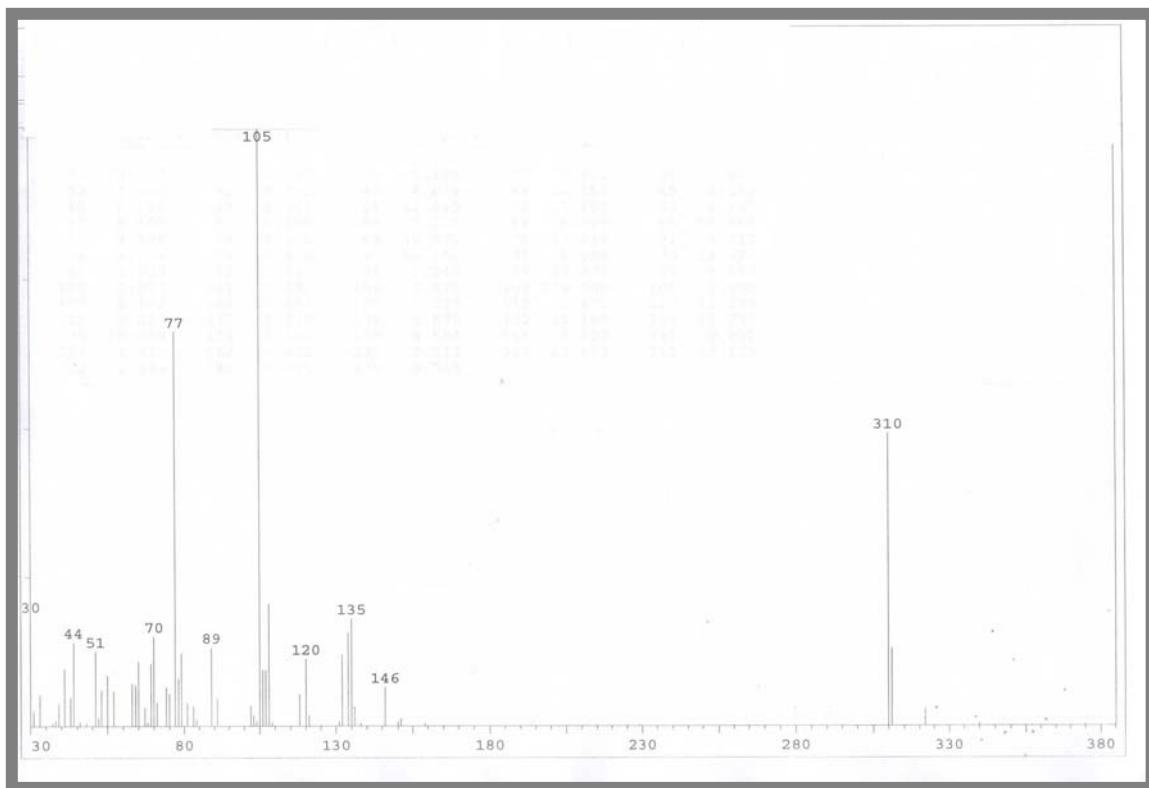
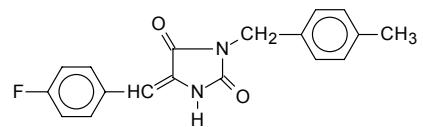
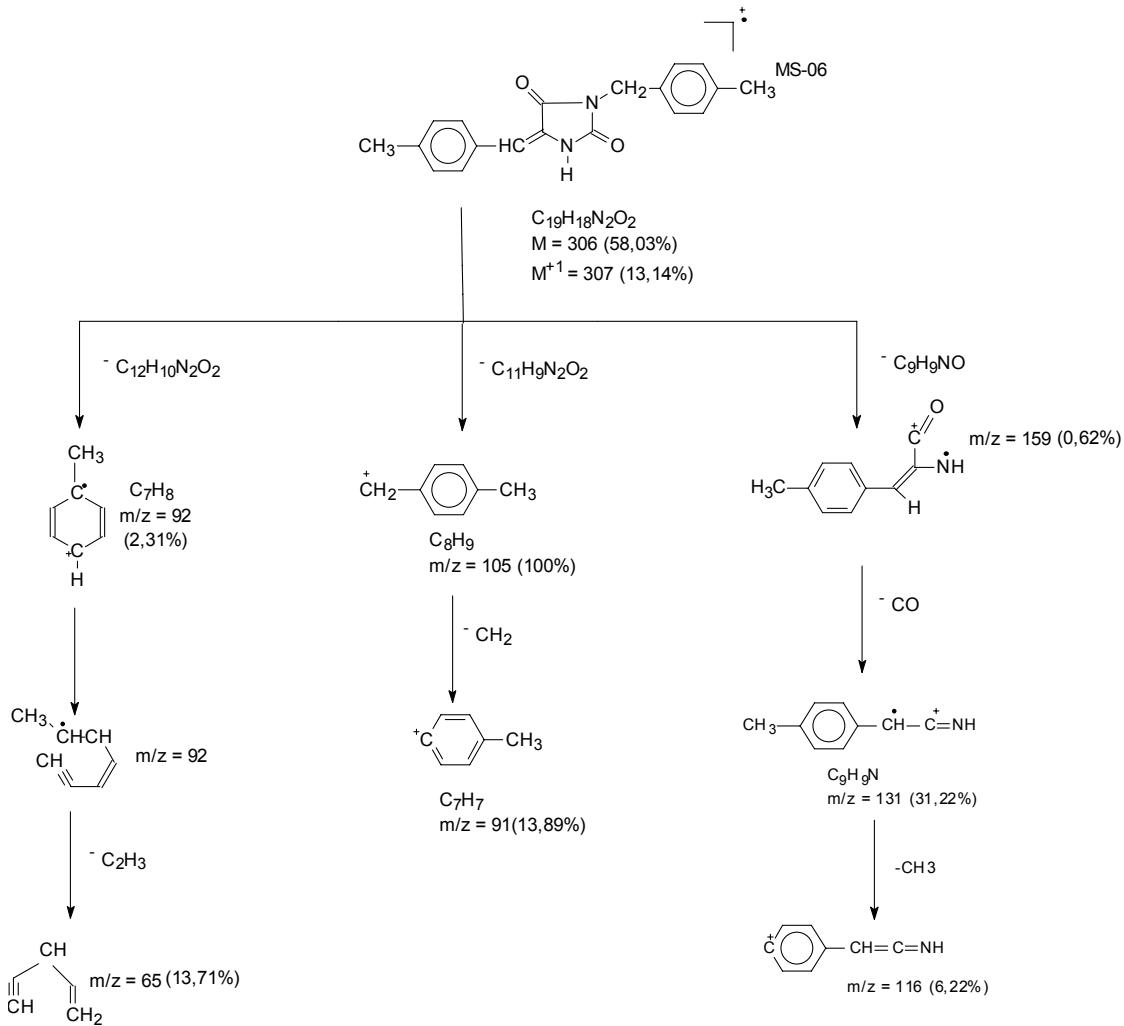


Figura 38 - Espectro de Massa do composto 3-(4-metil-benzil)-5-(4-fluor-benzilideno)-imidazolidina-2,4-diona (MS-5)



Esquema 14 - Principais fragmentações propostas para o composto 3-(4-metil-benzil)-5-(4-metil-benzilideno)-imidazolidina-2,4-diona  
 (MS-6)

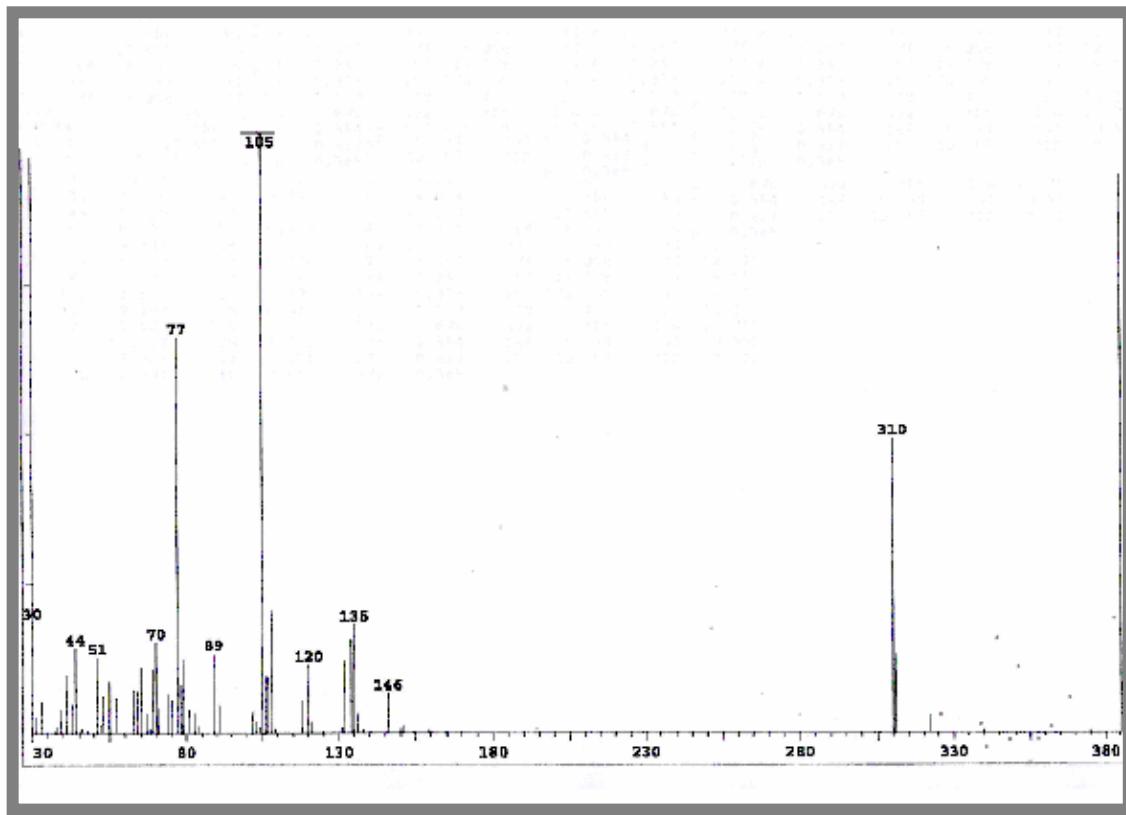
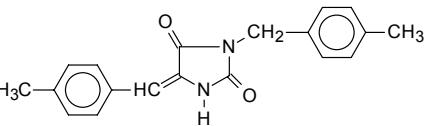
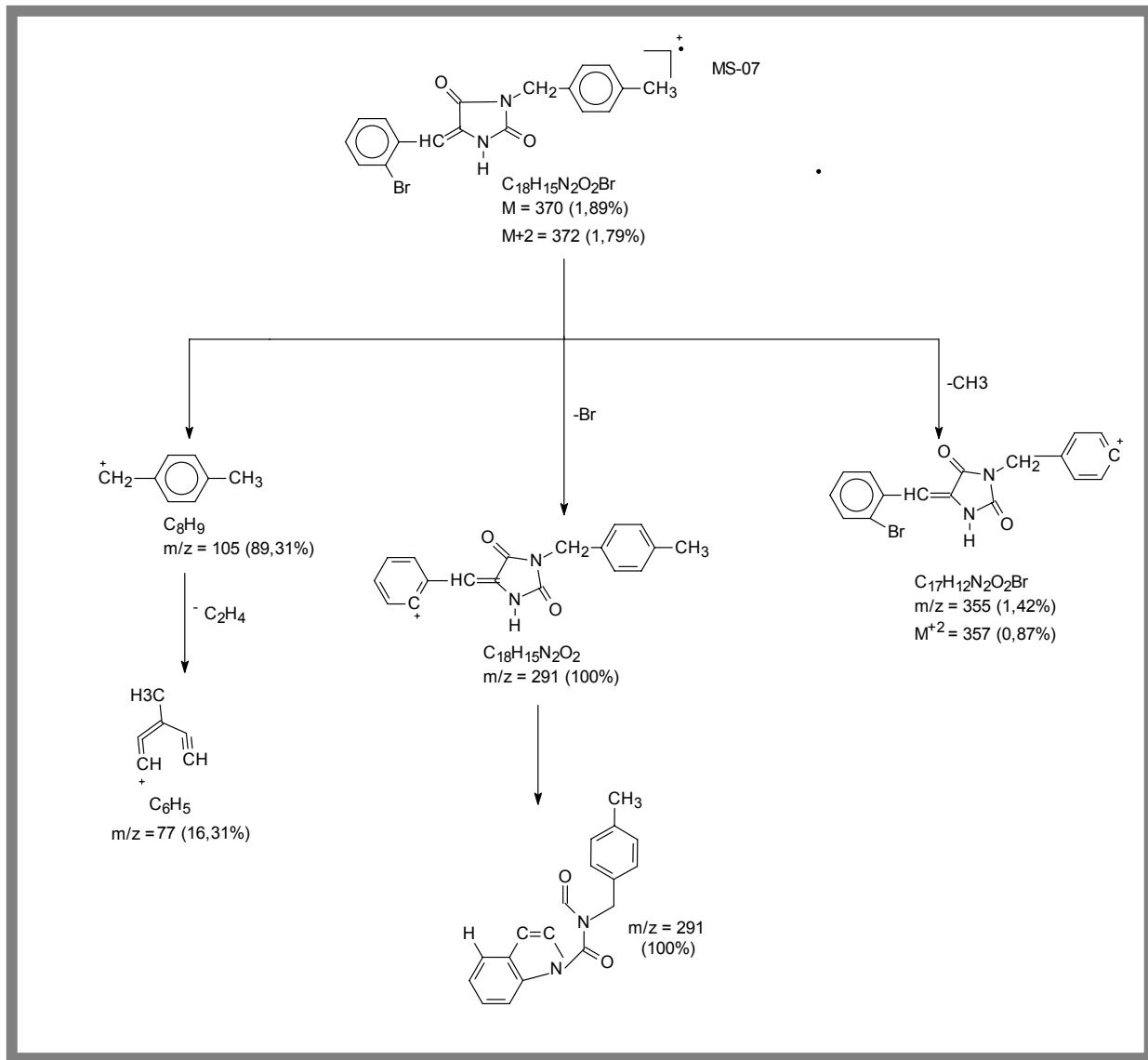


Figura 39- Espectro de Massa do composto 3-(4-metil-benzil)-5-(4-metil-benzilideno)-imidazolidina-2,4-diona (**MS-6**)



Esquema 15 – Principais fragmentações propostas para o composto 5-(2-bromo-benzilideno)-3-(4-metil-benzil)-imidazolidina-2,4-diona (**MS-7**)

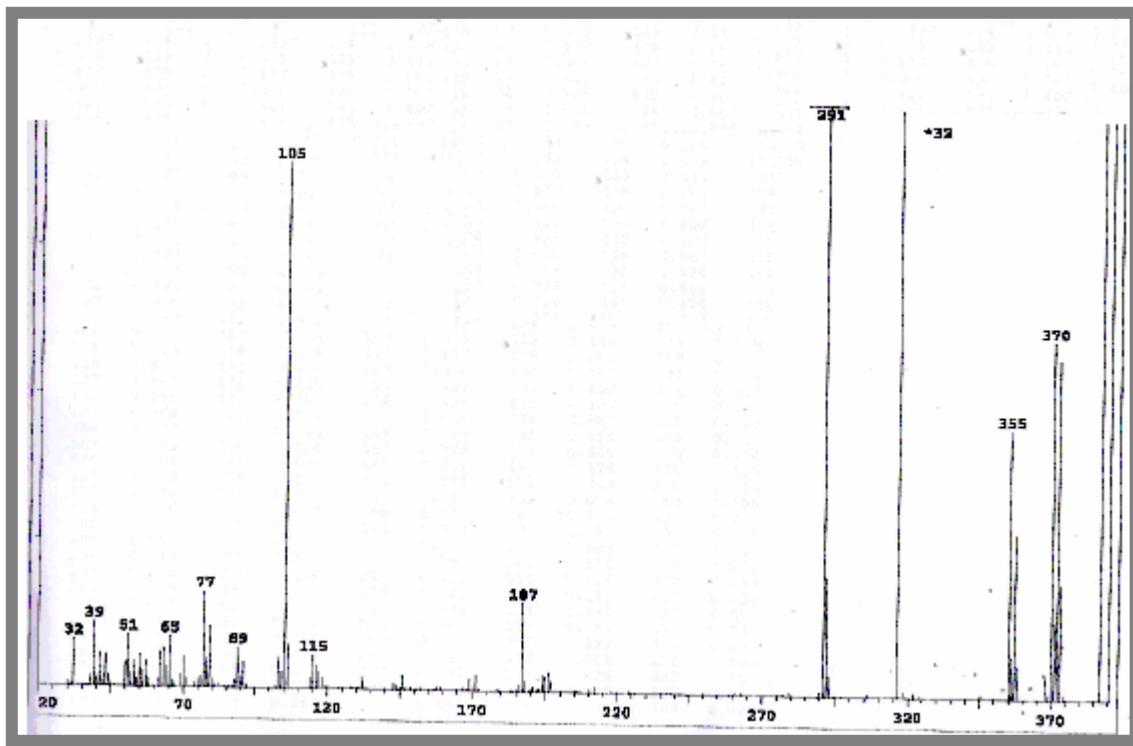
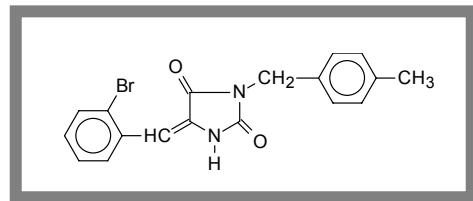


Figura 40 - Espectro de Massa do composto 5-(2-bromo-benzilideno)-3-(4-metil-benzil)-imidazolidina-2,4-diona (**MS-7**)

## ***ESTUDO BIOLÓGICO***

---

### **5. SCREENING DE NOVOS FÁRMACOS ANTIEPILÉPTICOS**

Os métodos de medida de efeitos são necessários para que se possa comparar as propriedades de diferentes substâncias, ou da mesma substância em circunstâncias diferentes, requisitos estes que são atendidos pelas técnicas de bioensaio, definidas como avaliação da concentração ou da potência de uma substância pela medida da resposta biológica que produz (DALE *et al.*, 2004).

Quando se trabalha com compostos de origem natural ou sintética, a sequência usual do desenvolvimento farmacêutico continua a ser: 1) Screening primário farmacológico; 2) Avaliação farmacológica/toxicológica aguda secundária e terciária; 3) Avaliação farmacológica/toxicológica crônica; 4) Formulação de produtos; 5) Os vários estágios de triagens clínicas; e 6) Liberação para comércio e utilização terapêutica (MALONE, 1977).

Um novo fármaco só poderá ser empregado na terapêutica após estudos farmacológicos, toxicológicos e clínicos que comprovem sua eficácia e segurança de uso. Esses estudos se iniciam com a caracterização da atividade farmacológica em diversos modelos experimentais utilizando animais de laboratório, testes bioquímicos, órgãos isolados, cultura de células etc. Após essa caracterização, o produto deve ser formulado para dar início aos estudos toxicológicos em animais de laboratório.

Nas últimas três décadas, os modelos animais têm sido empregado na busca de novos fármacos antiepilépticos e provaram que identificam fármacos clinicamente eficazes para o tratamento da epilepsia humana. Neste ponto, os modelos animais pré-clínicos são usados para demonstrar a eficácia e a segurança de um novo fármaco antiepiléptico antes de sua introdução na terapêutica e como parte de experimentações clínicas de fase I. Espera-se que os resultados obtidos nos testes pré clínicos extensivos sejam úteis em predizer o resultado dos estudos em humanos com eficácia e segurança (BIALER *et al*, 2004).

### **5.1. Material**

Para determinação da atividade toxicológica e anticonvulsivante dos novos derivados da série 5-benzilideno-3-(4-metil-benzil)-imidazolidina-2,4-diona (**MS**) foram utilizados:

- Balança analítica (Neo clave ASV 3001)
- Balança semi-analítica (SARTORIUS)
- Seringas descartáveis tuberculina (IBRAS-CBO)
- Solução salina a 0,9 %
- Tween 80 (MERCK)
- Fenitoína (anticonvulsivante padrão de referência) – Aventis
- Sulfato de estricnina hidratado (quimioconvulsivante)

- Derivados imidazolidínicos (**MS**):
- 3-(4-metil-benzil)-5-(4-cloro-benzilideno)-imidazolidina-2,4-diona (**MS-2**)
- 3-(4-metil-benzil)-5-(4-metil-benzilideno)-imidazolidina-2,4-diona (**MS- 6**)

### **5.1.1. Animais**

Para avaliação da toxicidade e anticonvulsivante foram utilizados camundongos machos adultos albinos Swiss *Mus musculus* pesando entre 20 e 30 g, provenientes do biotério do Departamento de Antibióticos – UFPE. Os animais utilizados nos testes, foram mantidos em ambiente climatizado (aproximadamente  $23 \pm 2$  °C), *ad libitum* e submetidos a período de claro-escuro de 12 horas.

## **5.2. Metodologia**

### **5.2.1. Preparação dos produtos sintetizados**

Na dissolução dos derivados imidazolidínicos, foram utilizado Tween 80 a 2 % como agente suspensor e soro fisiológico 0,9 % como veículo. As suspensões foram preparadas a partir de uma solução estoque na concentração de 10 mg/mL. A solução de fenitoína, anticonvulsivante utilizado como padrão, foi preparada de forma a se obter uma dose de 100 mg/kg. A solução de estricnina foi preparada numa concentração de 2,5 mg/kg de acordo com Bum e colaboradores (2004).

### 5.2.2. Atividade Toxicidade Aguda – Efeitos Gerais

Para realização do teste de efeitos gerais foi utilizado o método descrito por De Luca e colaboradores (1996) e Karbens e Behrens (1964).

Os animais foram separados em grupos de 05, devidamente marcados, pesados e tiveram sua alimentação retirada 12 horas antes do início do experimento. O acesso a água foi restrito no ínicio do experimento, e devolvido após 60 minutos.

Em cada grupo de 05 animais foi administrada individualmente, com intervalos de 10 minutos, por via intraperitoneal uma suspensão contendo 1000 mg/kg, 2000 mg/kg, e 3000 mg/Kg de peso corporal do derivado 3-(4-metil-benzil)-5-(4-metil-benzilideno)-imidazolidina-2,4-diona (**MS- 6**), ou apenas soro fisiológico para o grupo controle.

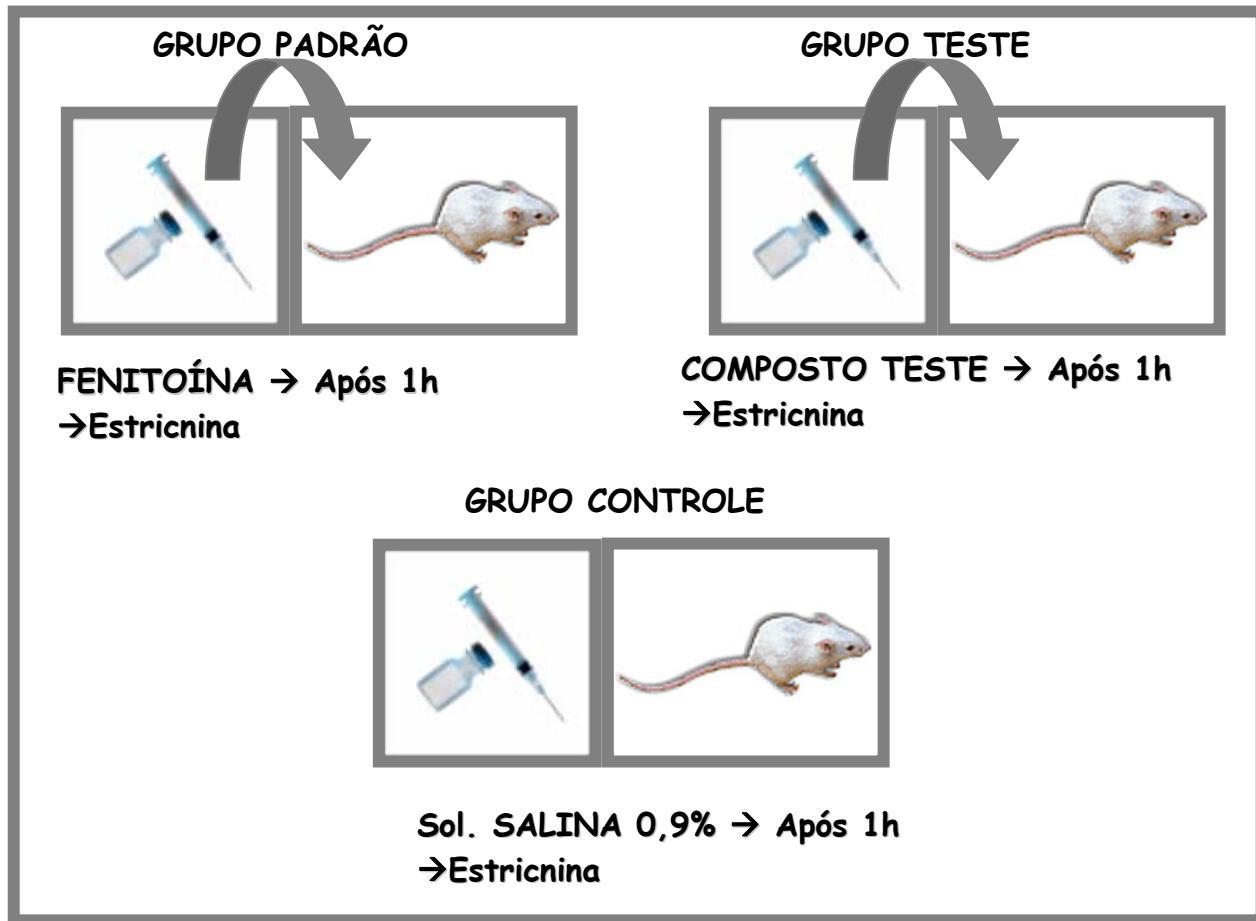
Após a administração do derivado **MS-6** ou do soro fisiológico os animais foram removidos para uma segunda gaiola, observados durante 60 minutos. Em seguida os animais foram observados em intervalos de 12 horas em 12 horas até que se completassem 48 horas. As observações experimentais foram registradas em fichas apropriadas.

### 5.2.3. Determinação da Atividade Anticonvulsivante dos Novos Derivados

#### Imidazolidínicos

O método utilizado para determinação da atividade anticonvulsivante foi descrito por Bum e colaboradores (2004) como ilustrado no esquema 17. O ensaio se baseia na investigação de substâncias que venham a modificar a convulsão induzida pela estricnina. Os testes anticonvulsivantes seguiram o método de indução por quimioconvulsivante administrando 3,28 mg/kg de sulfato de estricnina hidratado por via intraperitoneal. Os derivados **MS-2** e **MS-6** foram administrados na dose de 100 mg/kg de peso corporal 1 hora antes da indução das convulsões por sulfato de estricnina hidratado. O efeito protetor dos compostos testados foi observado e comparado ao grupo padrão, que utilizou a fenitoína na dose de 100 mg/kg. Após administração do sulfato de estricnina hidratado, os animais foram acondicionados em superfície plana, com livre movimentação, para observação do comportamento e possíveis convulsões (CARLINI *et al.*, 1991).

Os ensaios foram realizados no Laboratório de Farmacologia e Cancerologia Experimentais do Departamento de Antibióticos, da Universidade Federal de Pernambuco sob a responsabilidade da Prof<sup>a</sup>. Ivone Antônia de Sousa.



Esquema 17 - Bioensaio Anticonvulsivante (Bum *et al.*, 2004)

### 5.3. Resultados e Discussão

#### 5.3.1. Atividade Toxicidade Aguda – Efeitos Gerais

Para a realização dos testes de toxicidade aguda foi selecionado o derivado 3-(4-metil-benzil)-5-(4-metil-benzilideno)-imidazolidina-2,4-diona (**MS-6**). As doses utilizadas foram de 1000 mg/kg, 2000 mg/kg e 3000 mg/kg.

A observação dos efeitos gerais e comportamentais na dose de 1000 mg/kg, 2000 mg/kg, 3000 mg/kg para o derivado **MS-6** estão descritas nas tabelas 1, 2 e 3, respectivamente. Os principais efeitos gerais observados foram piloereção, agitação, reação de fuga, aumento da freqüência respiratória, que ao longo do experimento foi diminuindo conduziu a uma prostração. Após 48 horas de observação apenas na dose de 3000 mg/Kg foram constatados 3 óbitos.

Tabela 2 – Efeitos toxicológicos observados na dose 1000 mg/kg

EFEITOS OBSERVADOS	
<b>Composto MS-6</b>	Piloereção, agitação, reação de fuga, aumento da freqüência respiratória, espasmos, movimentos estereotipados, diurese, postura em garras, ereção de cauda; Diminuição da freqüência respiratória; sonolência (prostração); Palidez
<b>(1000 mg/kg)</b>	Contorções, aumento da freqüência respiratória, ereção de cauda, hiperatividade, tremores finos
	Excitação, abaixamento de membros posteriores, excreção fecal, ereção de cauda,
	Reação de agressividade (ataque), hiperatividade,
	Distensão abdominal, ereção de cauda, hiperatividade, discreta exoftalmia, tremores finos, prostração;

Tabela 3 – Efeitos toxicológicos observados – dose 2000 mg/kg

EFEITOS OBSERVADOS	
<b>Composto MS-6</b>	Agitação, contorções, movimento circular, agressividade; diminuição da freqüência respiratória, diurese, prostração, depressão, diminuição da freqüência respiratória, tetania, bradicardia
<b>(2000 mg/kg)</b>	Piloereção, contorções, palidez, reação de ataque, levantamento de

membros posteriores; prostração;

Ereção de cauda, diminuição da freqüência respiratória, diurese, prostração; depressão; tetania, e aumento da freqüência respiratória.

Tabela 4 – Efeitos toxicológicos observados – dose 3000 mg/kg

EFEITOS OBSERVADOS	
	Espasmos, aumento da freqüência respiratória, piloereção, prostração, pouca reatividade, movimentos estereotipados, palidez, agressividade, distensão abdominal, tremores finos; espasmos e piloereção;
<b>Composto MS-6 (3000 mg/kg)</b>	Excreção fecal, , movimento circular, contorções, alteração de marcha, levantamento de membros posteriores; sonolência  Contorções, movimentos estereotipados, aumento da freqüência respiratória, tremores finos, prostração, palidez, diurese, alteração de marcha;  Agitação, ereção de cauda, alteração de marcha, excreção fecal, diurese; Sonolência

### 5.3.2. Atividade Anticonvulsivante

Os derivados **MS-2** e **MS-6** foram administrados e o efeito protetor até à primeira crise e óbito dos animais foram avaliados. As tabelas 5 e 6 ilustram efeito protetor antes da primeira crise.

Tabela 5 - Efeito protetor antes da primeira crise do **MS-2**

Composto teste	Tempo de proteção (segundos)
<b>MS-2</b>	157,4
<b>Fenitoína</b>	112,8
<b>Controle</b>	86,0

Tabela 6 - Efeito protetor antes da primeira crise do **MS-6**

Composto teste	Tempo de proteção (segundos)
<b>MS-6</b>	170,8
<b>Fenitoína</b>	127,2
<b>Controle</b>	95,0

A figuras 41 e 42, expressam que o tempo de proteção para a primeira crise nos animais tratados 100 mg/Kg de **MS-2** e **MS-6** foram visivelmente superiores ao padrão, um efeito protetor de 157,4 e 170,8 segundos, respectivamente.

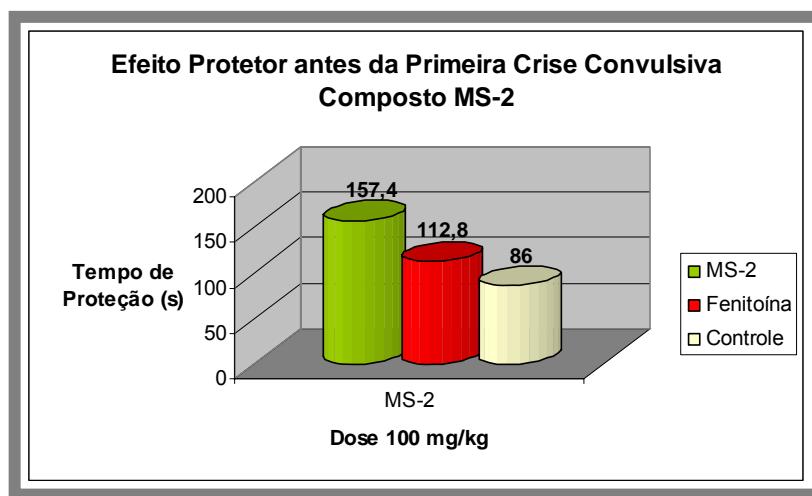


Figura 41 – Efeito Protetor antes da primeira crise convulsiva pelo **MS-2**. A seqüência em verde indica o tempo de proteção que os animais previamente tratados com o composto **MS-2** levaram até apresentarem a primeira crise em segundos (s), a seqüência em vermelho indica o tempo de proteção que os animais previamente tratados com a fenitoína, levaram até apresentar a primeira crise em segundos (s), e por fim o tempo do controle (creme)

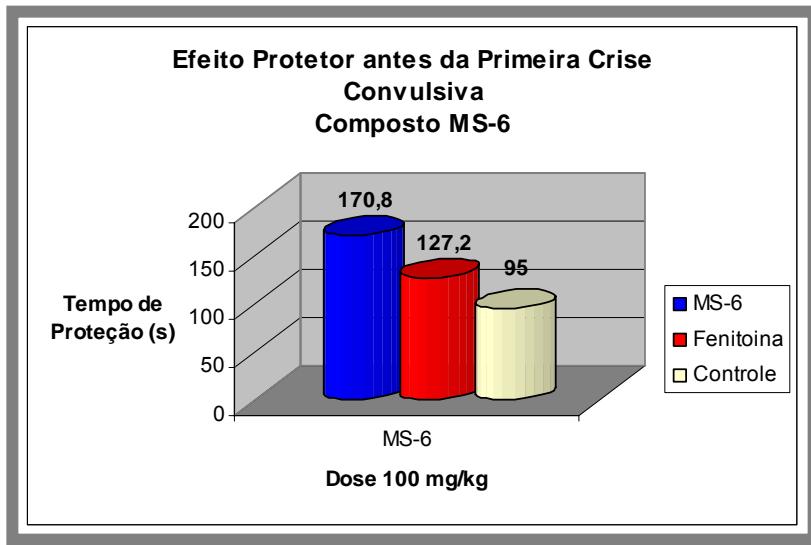


Figura 42 - Efeito protetor antes da Primeira Crise Convulsiva pelo **MS-6**. A seqüência em azul indica o tempo de proteção que os animais previamente tratados com o composto **MS-6** levaram até apresentarem a primeira crise em segundos (s), a seqüência em vermelho indica o tempo de proteção que os animais previamente tratados com a fenitoína, levaram até apresentar a primeira crise em segundos (s), e por fim o tempo do controle (creme)

Contudo, ao se avaliar o tempo de sobrevivência em relação as crise, o derivado **MS-6** apresenta uma proteção significativa em relação a fenitoína, de 249,8 segundos. Para o **MS-2** este tempo foi inferior ao da fenitoína que apresentou 214 segundos, enquanto o **MS-2** apenas 119 segundos. Estes resultados se encontram ilustrados nas tabelas 7 e 8, e nas figuras 43 e 44.

Tabela 7 - Efeito protetor antes do óbito **MS-2**

Composto teste	Tempo de proteção (segundos)
<b>MS-2</b>	119,0
<b>Fenitoína</b>	214,0
<b>Controle</b>	200,0

Tabela 8 - Efeito protetor antes do óbito MS-6

Composto teste	Tempo de proteção (segundos)
MS-6	249,8
Fenitoína	1218
Controle	115

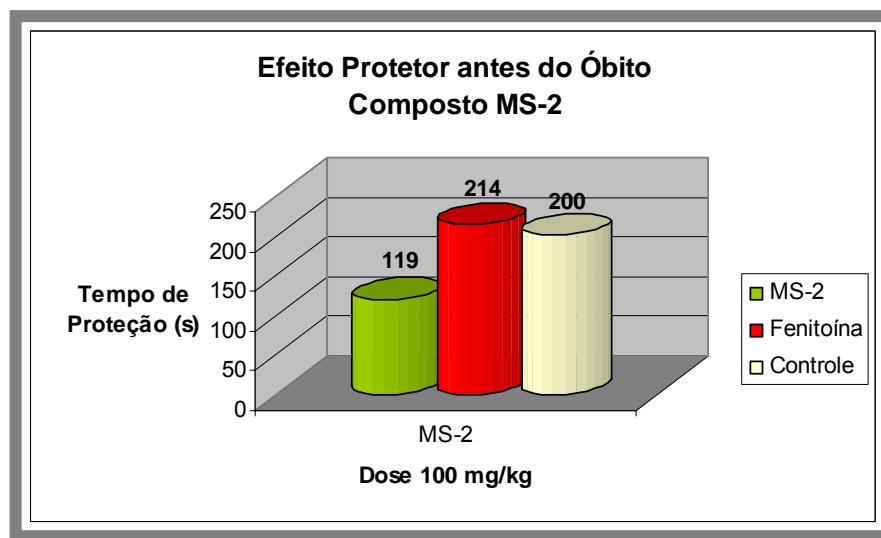


Figura 43 – Efeito Protetor antes do óbito composto **MS-2**. A seqüência em verde indica o tempo de proteção que os animais previamente tratados com o composto **MS-2** levaram até o óbito em segundos (s), a seqüência em vermelho indica o tempo de proteção que os animais previamente tratados com a fenitoína, levaram até o óbito em segundos (s), e por fim o tempo do controle (creme)

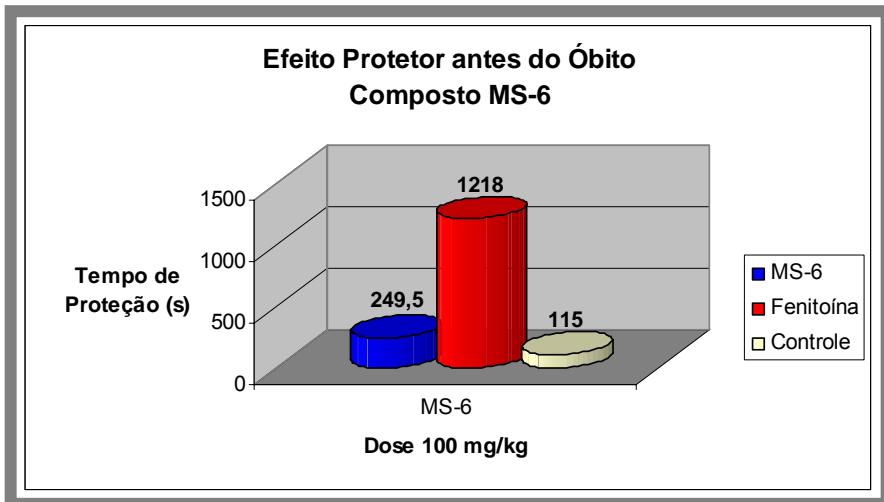


Figura 44 – Efeito Protetor antes do óbito composto **MS-6**. A seqüência em azul indica o tempo de proteção que os animais previamente tratados com o composto **MS-6** levaram até o óbito em segundos (s), a seqüência em vermelho indica o tempo de proteção que os animais previamente tratados com a fenitoína, levaram até o óbito em segundos (s), e por fim o tempo do controle (creme)

Observou-se que ao se comparar o efeito anticonvulsivante dos compostos testes (**MS-2** e **MS-6**) em relação ao composto padrão (fenitoína), o tempo de proteção exercido para se apresentar a primeira crise convulsiva é maior para os compostos testes do que para o composto padrão, visto que os animais protegidos com a fenitoína, uma vez sendo deflagrada a crise, permanecem em crise convulsiva até exaustão física, levando ao óbito. Já os animais protegidos com os compostos imidazolidínicos tem um tempo maior para apresentarem a primeira crise convulsiva, porém quando as apresentam, estas levam-nos ao óbito em seguida.

Como discutido acima, o derivado 3-(4-metil-benzil)-5-(4-metil-benzilideno)-imidazolidina-2,4-diona (**MS-6**) demonstrou maior tempo de proteção para primeira crise em relação ao derivado 5-(4-cloro-benzilideno)-3-(4-metil-benzil)-imidazolidina-2,4-diona (**MS-2**), visto que os parâmetros eletrônicos e lipofílicos

são importantes na atividade anticonvulsivante, provavelmente a presença do grupamento metil em posição 4 do benzilidêno seja responsável pela melhor resposta, uma vez que o grupamento metil é um representante doador de elétrons e substituinte mais lipofílico ( $-\sigma/+ \pi$ ). Enquanto, que o derivado **MS-2** apresenta como substituição o átomo de cloro, que possui efeito de substituinte eletrônico ( $+\sigma$ ) e lipofílico ( $+ \pi$ ), em posição 4 do benzilidêno não seja um grupo favorável para uma boa proteção (Figura 45).

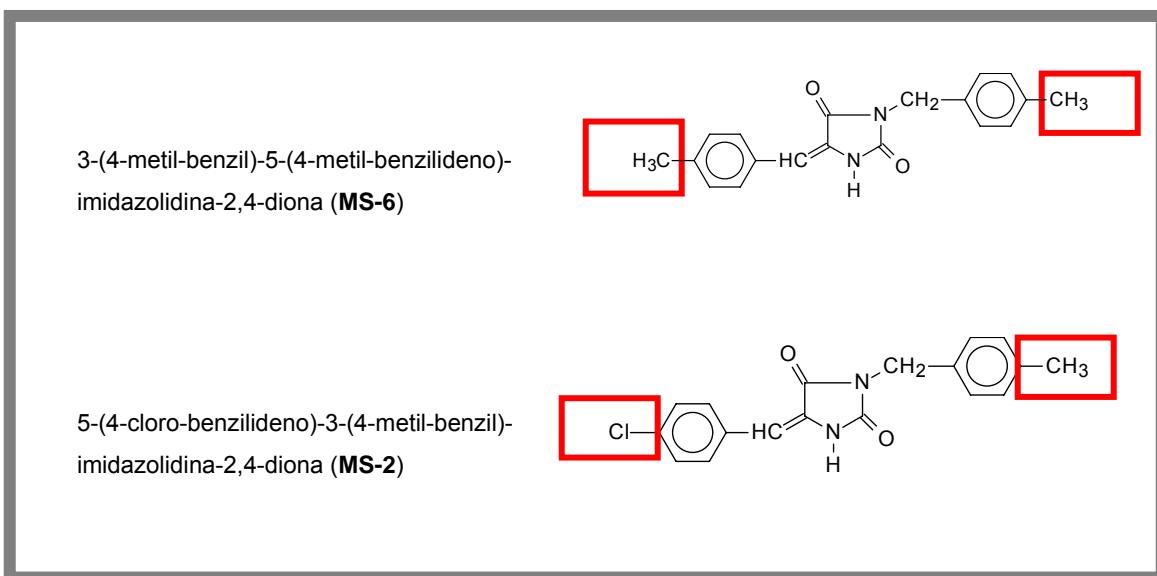


Figura 45 – Estruturas dos derivados **MS-2** e **MS-6**

Resultados semelhantes foram encontrados na literatura com os estudo de Thenmozhiyal e colaboradores (2004). Estes pesquisadores observaram os efeitos dos grupamentos substituintes em uma série de 5-(fenil-metíleno)-imidazolidina-2,4-diona.

Segundo Thomas (2003), a introdução de grupamentos metil aumenta a hidrofobicidade e reduz a sua solubilidade em água. Esta introdução deveria

aumentar a facilidade de absorção do análogo por uma membrana biológica, porém fará com que a sua dissociação das membranas biológicas para o meio aquoso seja mais difícil. Sabe-se que os fármacos anticonvulsivantes agem no Sistema Nervoso Central e para tanto é necessário que estes atravessem a barreira hematoencefálica (BHE), logo estes fármacos devem ter um caráter lipofílico.

A incorporação de átomos de halogênios num protótipo resulta em análogos que são mais hidrofóbicos e por conseguinte menos solúveis em água. Em consequência, os átomos halogênios são usados para melhorar a absorção nas membranas lipídicas. Entretanto, existe uma tendência indesejável dos fármacos halogenados de acumular-se nos tecidos adiposos. A reatividade química dos halogênios depende tanto do ponto de ligação ao protótipo como da natureza do halogênio. Os grupamentos halogênios aromáticos são bem menos reativos do que os grupamentos halogênios alifáticos, que podem exibir uma reatividade química considerável (THOMAS, 2003).

Estudos mais aprofundados são necessários para complementação da avaliação iniciado com esta dissertação.

## CONCLUSÕES

---

O diagnóstico e o tratamento precoces dos distúrbios convulsivos com um único agente adequado oferecem a melhor perspectiva de se conseguirem períodos prolongados sem convulsões com o menor risco de toxicidade. O objetivo do tratamento é manter o paciente livre das convulsões sem interferir nas suas atividades normais. Toxicidade, intolerância, e falta de eficácia para indeterminados tipos de crises são algumas das limitações das medicações atuais o que direciona pesquisas no mundo inteiro, tanto para elucidação do mecanismo das crises convulsivas, como para a busca por novos fármacos que venham compor o arsenal terapêutico.

Neste contexto, nossa expectativa foi contribuir, na síntese de novos derivados imidazolidínicos com potencial atividade anticonvulsivante. Foram sintetizados 6 novos derivados com rendimentos satisfatórios, e tiveram suas estruturas confirmadas pelos métodos espectroscópicos de Infravermelho (IV) e de ressonância magnética nuclear (RMN<sup>1</sup>H), e espectrometria de massas (EM).

- 3-(4-metil-benzil)-5-(4-metoxi-benzilideno)-imidazolidina-2,4-diona (**MS-1**);
- 5-(4-cloro-benzilideno)-3-(4-metil-benzil)-imidazolidina-2,4-diona (**MS-2**);
- 5-(3-bromo-benzilideno)-3-(4-metil-benzil)-imidazolidina-2,4-diona (**MS-4**);
- 5-(4-fluor-benzilideno)-3-(4-metil-benzil)-imidazolidina-2,4-diona (**MS-5**);

- 3-(4-metil-benzil)-5-(4-metil-benzilideno)-Imidazolidina-2,4-diona (**MS-6**)
- 5-(2-bromo-benzilideno)-3-(4-metil-benzil)-imidazolidina-2,4-diona (**MS-7**)

A atividade anticonvulsivante dos derivados **MS-2** e **MS-6** foi avaliada pela proteção antes da primeira crise, tendo um tempo em média de 157,4 e 170,8 segundos. O derivado **MS-6** demonstrou maior tempo de proteção para primeira crise em relação ao derivado **MS-2**, provavelmente devido aos parâmetros eletrônicos e lipofílicos dos substituintes.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

---

ADAMS, R.D.; VICTOR, M.; ROPPER, A. H.; **Principles of Neurology**. 6<sup>a</sup> ed. McGraw-Hill. 1997.

BARRIOS, I.A.; BRUNO-BLANCH, L.E.; ESTIÚ, G.L. Pharmacophoric pattern of anti-epileptic sulfonamides and sulfamates. Theoretical study of the associated requirements. **J. of Mol. Structure**, v. 580, p.243-250, 2002.

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

BATEMAN, J.H. Hydantoin and derivatives. 1980. In: GRAYSON; MARTIN; ECKROTH, **Kirk-Othmer Encyclopedia of Chemical Technology**, New York: Wiley. v.12, p.692-711. 1980.

BLACKBURN, T. P.; SLOVITER, R. S. Epilepsy, parkinson's disease, migraine and brain plasticity – the next paradigm shift? **Current Opinion in Pharmacology**, v.3, p. 3-5. 2003.

BORGES, M.AL.; ZANETTA, D.M.T. **Epidemiologia das epilepsias no Brasil**. 2002. Disponível em:< <http://www.comciencia.br/reportagens/epilepsia/ep12.htm>> cesso em:21/10/2004.

BOWERY, N.G.; MANNING, J.P.A.; RICHARDS, D.A.; Pharmacology of absence epilepsy. **TRENDS in Pharmacological Sciences**. Elsevier Ltd. Disponível em: <<http://tips.trends.com>>. 2003. Acesso em: 25/11/2003.

**BRASIL.** Portaria nº 507/GM do Ministro de Estado da Saúde, Relação Nacional de Medicamentos Essenciais, RENAME, Anexo II, Seção A - Medicamentos por Grupo Farmacológico, 1999.

**BRASIL.** Ministério da Saúde - Secretaria de Asssistencia à Saúde - Departamento de Controle e Avaliação de Serviços. corréncia de epilepsia é maior no Terceiro Mundo.2001. Disponível em: <<http://dtr.saude.gov.br/sas/sentinela/principal.htm>>. Acesso em: 21/10/2004.

**BRANDÃO, S.S.F.** **Síntese, estrutura e avaliação biológica de tiazolidinonas e de imidazolidinonas substituídas.** Recife:UFPE. Dissertação (Doutorado em Ciências Biológicas). Universidade Federal de Pernambuco. 2000.

BROWN, M.L., GRIMM,J.B.;.STABLESB,J.P. Design, synthesis, and development of novel caprolactam anticonvulsants. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 11, p. 4133–4141, 2003.

BUM, E.N.; DAWACK, D.L.; SCHUMUTZ, M.; RAKOTONIRINA, A.; RAKOTONIRINA, S.V.; PORTET, C.; JEKER, A.; OLPE, H.R.; HERLING, P.; Anticonvulsant activity of *Mimosa pudica* decoction. **Fitoterapia**, v. 75,nº 3-4, p. 309-314, 2004.

BURNEO, J.G., MAYOR, L.C. Nuevos antiepilépticos. **Revista de Neuro-Psiquiatria**, v. 65, p. 47-55, 2002.

Canais e íons envolvidos com as situações patológicas da convulsão - Figura. Disponível em: <[http://www.sistemanervoso.com/pagina.php?secao=6&materia\\_id=89&materiaver](http://www.sistemanervoso.com/pagina.php?secao=6&materia_id=89&materiaver)>

1 – Liga de Neurociência Sistema Nervoso.com/Epilepsias. Acesso em: 21/10/2004.

Canais de sódio –. Vilela, A.L.M.; Anatomia e Fisiologia Humanas. Sistema Nervoso Central. Disponível em: Figura: [www.epub.org.br/cm/n10/fundamentos/animation.html](http://www.epub.org.br/cm/n10/fundamentos/animation.html) e acesso em 21/10/2004.

CARLINI, E.A. **Farmacologia prática sem aparelhagem.** 6<sup>a</sup> ed Charles Edward Cobert. **1978.** p. 145

Commission on Classification and Terminology of the International League Against Epilepsy. Proposal for revised classification of epilepsies and epileptic syndromes. *Epilepsia*, 1989, 30:389-399. In: GILMAN. A. G.; RUDDON. R.W.; LIMBIRD. L. E.; HARDMAN. J. G.; **Goodman & Gilman's – The pharmacological basis of therapeutics.** Editora McGraw-Hill International. 10<sup>a</sup> edição. 2001.

Commission on Classification and Terminology of the International League Against Epilepsy. Proposal for revised clinical and electroencephalographic classification of epilepsy seizures. *Epilepsia*, 1981, 22:489-501. GILMAN. A. G.; RUDDON. R.W.; LIMBIRD. L. E.; HARDMAN. J. G.; In: **Goodman & Gilman's – The pharmacological basis of therapeutics.** 10<sup>a</sup> ed. México. Ed. McGraw-Hill International. 2001.

CORTES, S., LIAO, Z.K., WATSON, D., KOHN, H. Effects of structural modification of the hydantoin ring on anticonvulsant activity. *J. Med. Chem.* v.28, p. 601-606, 1985.

COULTER, D.A. Thalamocortical anatomy and physiology. In, **Epilepsy: A Comprehensive Textbook.** (Engel, J., and Pedley, T. A., eds.) Raven Press, New York, 1996. In press. In: GILMAN. A. G.; RUDDON. R.W.; LIMBIRD. L. E.; HARDMAN. J. G.; 10<sup>a</sup> ed. México. Ed. McGraw-Hill International. 2001.

DALE, M.M.; RANG, H.P.; RITTER, J.M. **Farmacología**. 5 ed. Elsevier. 2004.

DICHTER, M.A., AYALA, G.F. 1987. v. 237, p. 157-164. In: GILMAN. A. G.; RUDDON. R.W.; LIMBIRD. L. E.; HARDMAN. J. G.; **Goodman & Gilman's – The pharmacological basis of therapeutics**. 10<sup>a</sup> ed. México. Ed. McGraw-Hill International. 2001.

D'AMBROSIO, R. The role of glial membrane ion channels in seizures and epileptogenesis. **Pharmacology & Therapeutics**, v.103, p. 95– 108, 2004.

GILMAN. A.G.; RUDDON. R.W.; LIMBIRD. L.E.; HARDMAN. J.G. **Goodman & Gilman's – The pharmacological basis of therapeutics**. 10<sup>a</sup> ed. México. Ed. McGraw-Hill International edition. 2001.

GODDARD, G. V, McLNTYRE, D. C., LEECH, C.K. **Exp. Neurolog.**, v. 25, p.295-3301969. In: GILMAN. A. G.; RUDDON, R.W.; LIMBIRD, L. E.; HARDMAN. J. G.; **Goodman & Gilman's – The pharmacological basis of therapeutics**. 10<sup>a</sup> ed. México. Ed. McGraw-Hill International. 2001.

GUERREIRO. A M; GUERREIRO, M.M., CENDES, F., CENDES, I. L., **Epilepsia**. Ed. Lemos, 2000. Disponível em:  
<<http://www.comciencia.br/resenhas/epilepsia/guerreiro.htm>>  
<<http://www.comciencia.br/reportagens/epilepsia/ep06.htm#conceito>> Acesso em:07/09/2004.

GUYTON, A.C., HALL, J.E. **Tratado de Fisiología Médica**. 10<sup>a</sup> ed. Guanabara-Koogan. 2002.

HANSEN, S.L.; SPERLING, B.B.; SÁNCHEZ, C. Anticonvulsant and antiepileptogenic effects of GABA<sub>A</sub> receptor ligands in pentilenetetrazole-kindled mice. **Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry**, v. 28. 105-113, 2004.

KENNEDY, G.L, Jr., FERENZ, R.L.; BURGESS, B.A., Estimation of acute oral toxicity in rats by determination of the approximate lethal dose rather than the LD<sub>50</sub>. **J. of applied toxicology**, v. 6 nº 3,p. 145-148. 1986.

KRALL, R.L.; PENRY, J.K.; WHITE, B. G.; KUPFERBERG, H. J.; SWINYARD, E.A.; Antiepileptic drug development: II. Antivulsant drug screening. **Epilepsia**, v. 19,p. 409-428, 1978.

KRAPCHO, J.; TURK, C.F. 4-[3-(Dimethylamino)propyl]-3-4-dihydro-2-(1-hydroxyethyl)-3-phenyl-2H-1,4,benzothiazine and Related Compounds. A new class of antiinflammatory agents. **J. Med. Chem.**, v. 16, p.776-779, 1973.

HONAVAR, M., MELDRUM, B., Epilepsy. Cap. 15. In: GRAHAM, D.I.; LANTOS, P.L.; 6 ed. v.1. **Greenfield's Neuropathology**. Arnold. 1997.

HONMOU, O.; KOCSIS, J.D., RICHERSON, G.B. Gabapentin potentiates the conductance increase induced by nipecotic acid in CA1 pyramidal neurons *in vitro*. **Epilepsy Res.**, v. 20,p.193-202,1995. In **Goodman & Gilman's – The pharmacological basis of therapeutics**. 10<sup>a</sup> ed. México. Ed. McGraw-Hill International. 2001.

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

Impulso Nervoso – Figura Vilela, A.L.M.; Anatomia e Fisiologia Humanas. Sistema Nervoso Central. Disponível em. <http://www.afh.bio.br/nervoso/nervoso1.asp> e acesso em 21/10/2004.

INGOLD, C.K. **Structure and mechanism in organic chemistry**, London: bell.1922, p.75-76.

JEUB, M.; BECK, H.; SIEP, E.; RU SCHENSCHMIDT,C.; SPECKMANN, E.J.; EBERT,U.; POTTSCHKA, H.; FREICHEL, C., REISSMUÜLLER, E., LOSCHER, W. Effect of phenytoin on sodium and calcium currents in hippocampal CA1 neurons of phenytoin-resistant kindled rats. **Neuropharmacology**, v.42, p.107–116, 2002.

JONES, G.L.; WOODBURY, D.M. Drug Dev. Res., v. 2, p. 333-355, 1982. In: CORTES, S.; LIAO, Z.K.; WATSON, D.; KOHN, H. Effect of structural modification of the hydantoin ring on anticonvulsant activity. **J. Med. Chem.**, v. 28, p. 601-606, 1985.

LÖSCHER, W. Current status and future directions in the pharmacotherapy of epilepsy. **TRENDS in Pharmacological Sciences** v. 23, nº.3, 2002.

LÖSCHER, W. New visions in the pharmacology of anticonvulsion. **European Journal of Pharmacology**, v. 342, p. 1-13. 1998.

MACDONALD, R.L., KELLY, K. M. **Epilepsia**, v. 34 Suppl. 5:S1-S8.1993. In: GILMAN. A. G.; RUDDON. R.W.; LIMBIRD. L. E.; HARDMAN. J. G.; In **Goodman & Gilman's – The pharmacological basis of therapeutics**. 10<sup>a</sup> ed. México. Ed. McGraw-Hill International. 2001.

MIN, LI LI. SANDER, J.W.A.S. National demonstration project on epilepsy in Brazil. **Arq. Neuro-Psiquiatr.** v.61, nº.1, Mar. Scielo Brazil. São Paulo. 2003. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0004-2X2003000100033&script=sci\\_arttext](http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0004-2X2003000100033&script=sci_arttext)> Acesso em 10/10/2004.

McNAMARA, J. O. *J. Neurosci.*; v.14, p.3413-3425. 1994. In: GILMAN. A.G.; RUDDON, R.W.; LIMBIRD, L.E.; HARDMAN, J. G.; **Goodman & Gilman's – The pharmacological basis of therapeutics.** 10<sup>a</sup> ed. México. Ed. McGraw-Hill International. 2001.

NILSEN, K.E., COCK, H.R. Focal treatment for refractory epilepsy: hope for the future? **Brain Research Reviews**, p.1-13, xx (2004) xxx–xxx

PENFIELD, W. G., JASPER, H. H. Highest level seizures. **Assoc. Res. Nerv. Ment. Dis. Proc.**, v.26, p.252-271, 1947. In: GILMAN. A. G.; RUDDON, R.W.; LIMBIRD, L. E.; HARDMAN. J. G.; **Goodman & Gilman's – The pharmacological basis of therapeutics.** 10<sup>a</sup> ed. México. Ed. McGraw-Hill International. 2001.

PEREIRA, C.E.L.; Disciplina de Farmacologia. Fármacos que agem no sistema nervoso central (SNC). UNISC. Disponível em: <<http://www.via.com.br/pneumo/enfermagem/anticonvulsivantes.ppt>> Acesso em: 21/10/2004.

Potencial de ação - alteração brusca e intensa do potencial de membrana - Sistema Nervoso Central Figura. Disponível em: <<http://curlygirl3.no.sapo.pt/nervoso.htm>> Acesso em: 21/10/2004.

Propagação do impulso nervoso ao longo do neurônio – Figura Sistema Nervoso Central. Disponível em: <<http://curlygirl3.no.sapo.pt/nervoso.htm>> Acesso em: 21/10/2004

ROZAS, I.; DARDONVILLE, C.; GOYA, P.; ALSASUA, A.; MARTIN, M, I; BORREGO, M.J. New aromatic iminoimidazolidine derivatives as  $\alpha_1$ -adrenoceptor antagonists: A novel synthetic approach and pharmacological activity. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 8; p.1567-1577, 2000.

SCHENCK, H.A.; LENKOWSKI, P.W.; MUKHERJEE, I.C.; HOON KO, S.; STABLES, J.P.; PATEL, M. K.; BROWN, M.L.; Design, synthesis and evaluation of novel hydroxyamides as orally available anticonvulsants. **Bioorganic & Med. Chem.**, v. 12. p.979-993, 2004.

SUTHERLAND, J.J.; WEAVER, D.F. Development of quantitative structure-activity relationship and classification models for anticonvulsant activity of hydantoin analogues. **J. Chem. Inf. Comput. Sci**, v. 43, p. 1028-1036, 2003.

THENMOZHIYAL, J.C.; WONG, P.T.H.; ECHUI, W.K.; Anticonvulsant activity of phenylmethylenehydantoins: a structure-activity relationship. **J. Med. Chem**, v. 47, p.1527-1535, 2004.

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

TRAYNELIS, S.F., DINGLEDINE, R. **J. Neurophysiol.**, v. 59, p.259-276, 1988. In: GILMAN. A. G.; RUDDON. R.W.; LIMBIRD. L. E.; HARDMAN. J. G.; **Goodman & Gilman's – The pharmacological basis of therapeutics**. 10<sup>a</sup> ed. México. Ed. McGraw-Hill International. 2001.

TWYMAN, R.E., ROGERS, C.J., MACDONALD, R.L. Differential regulation of  $\gamma$ -aminobutyric acid receptor channels by diazepam and Phenobarbital. **Ann. Neurol.**, v. 25, p.213-220, 1989In: GILMAN. A. G.; RUDDON. R.W.; LIMBIRD. L. E.; HARDMAN. J. G.; **Goodman & Gilman's – The pharmacological basis of therapeutics.** 10<sup>a</sup> ed. México. Ed. McGraw-Hill International. 2001.

VILELA, A.L.M. Anatomia e fisiologia humanas. Sistema nervoso central. Disponível on-line. <<http://www.afh.bio.br/nervoso/nervoso1.asp>> Acesso em 21/10/2004.

YAGIELA, J.A.; NEIDLE, E.A.; DOWD, F; **Farmacologia e terapêutica para dentistas.** 4 ed. Guanabara Koogan. 2000.

WERNECKE, E. **Deut. Med. Wochschr.** v. 42, p. 1193, 1916. Chem. Abstracts, v. 12, p.1488, 1918.

WILLIAMS, D.A.; LEMKE, T.L.; **Foye's principles of medicinal chemistry.** 5 ed. Lippincott Williams e Wilkins. 2002.

WHO - World Health Organization. Chapter XI Epilepsy – Introduction, adherence to epilepsy therapy, epidemiology of adherence and interventions used to improved it, conclusions. Geneva. 2003. Disponível em : <[www.who.int](http://www.who.int)>

WHO - Model List of Essential Drugs (EDL). 10<sup>a</sup> edição, 1997.