

Fátima de Campos

**SÍNTESE E ATIVIDADE BIOLÓGICA DE IMIDAS
DERIVADAS DA 4 - AMINOANTIPIRINA**

Dissertação apresentada ao Curso de Pós Graduação em Química
da Universidade Federal de Santa Catarina, como requisito parcial à
obtenção título de Mestre em Química.

Área de concentração: Química Orgânica

Orientador: Prof.^o Dr. Valdir Cechinel Filho

FLORIANÓPOLIS

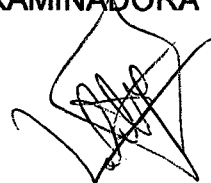
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA

2001

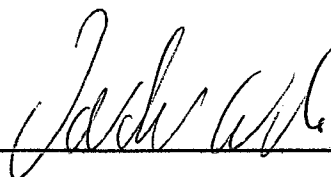
SÍNTESE E ATIVIDADE BIOLÓGICA DE IMIDAS DERIVADAS DA 4 - AMINOANTIPYRINA

FÁTIMA DE CAMPOS

ESTA DISSERTAÇÃO FOI JULGADA E APROVADA EM SUA FORMA FINAL
PELO ORIENTADOR E MEMBROS DA BANCA EXAMINADORA



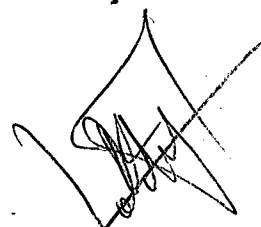
Prof. Dr. Valdir Cechinel Filho
Orientador



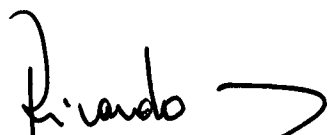
Prof. Dr. Valdir Soldi

Coordenador do Curso de Pós Graduação em Química

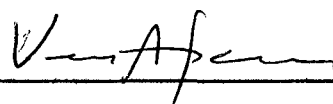
Banca Examinadora:



Prof. Dr. Valdir Cechinel Filho



Prof. Dr. Ricardo José Nunes



Profa. Dra. Vera Lúcia A. Frescura

Florianópolis, 2001

Universidade Federal de Santa Catarina - UFSC

**Aos meus pais, por todo o
cuidado e carinho que sempre
tiveram comigo, e por estarem
ao meu lado em todas as
dificuldades. Todo o meu amor
e gratidão.**

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar agradeço a Deus, por permitir que mais esta etapa da minha vida fosse cumprida, mesmo com todos os tropeços e dificuldades, tenho certeza que sempre estive ao meu lado em todos os momentos.

Aos meus pais Rubens e Imgardt, que apesar da distância acompanharam tudo passo a passo, e nas maiores dificuldades não mediram esforços para estarem ao meu lado. Minha eterna gratidão, amo muito vocês.

Ao meu irmão Maurício, que sempre estive torcendo pelo meu sucesso.

Ao meu namorado Luiz Guilherme, que sempre estive ao meu lado, obrigada pelo apoio, pelo incentivo, e principalmente pelo carinho. Te amo.

Meu agradecimento especial ao Prof^o. Valdir Cechinel Filho, que muito mais que um orientador, foi sempre um amigo, e além de tudo um mestre. Obrigada por tudo, e principalmente pela confiança e pelo constante incentivo.

Aos professores da UNIVALI e também amigos Clóvis Rodrigues, Rogério Corrêa, Roberto Dalla Vechia, Cristiani Bürger e Rivaldo Niero que estavam sempre prontos para ajudar. Obrigada também pelo apoio e incentivo de todos.

Ao professor Ricardo José Nunes, que gentilmente cedeu alguns reagentes possibilitando a continuidade deste trabalho.

A professora Márcia M. de Souza, que me auxiliou nos trabalhos farmacológicos, ao professor Adair R. S. Santos e às técnicas do laboratório de farmacologia da UNIVALI, Andréa, Martina e Sônia, pelo auxílio, e pela amizade.

Ao professor Alexandre Bella Cruz que realizou os ensaios microbiológicos.

Aos departamentos de química da UFSC e da UEM, pelo apoio técnico.

A CAPES e UFSC pelo apoio financeiro. E, ao NIQFAR/UNIVALI por permitir que eu fizesse toda a parte experimental nesta instituição.

E, a todas as demais pessoas que de alguma forma contribuíram para que este trabalho fosse concretizado. Muito obrigada.

**“ One can certainly plan
research but not the results.”**

(D. Seebach)

SUMÁRIO

LISTA DE ILUSTRAÇÕES _____	viii
LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS _____	x
RESUMO _____	xi
ABSTRACT _____	xii

CAPÍTULO I

1. INTRODUÇÃO _____	13
2. REVISÃO DE LITERATURA _____	16
2.1. Métodos Sintéticos Gerais para Obtenção de Imidas Cíclicas ____	16
2.2. Maleimidas _____	17
2.3. Succinimidas _____	29
2.4. Ftalimidas _____	35
2.5. Naftalimidas _____	42
2.6. Glutarimidas _____	45
2.7. Outras Imidas Cíclicas _____	54
2.8. Antipirina e Derivados _____	59
3. OBJETIVOS _____	68
3.1. Objetivos gerais _____	68
3.2. Objetivos específicos _____	68

CAPÍTULO II

4. METODOLOGIA _____	69
----------------------	----

4.1. Caracterização dos compostos	69
4.2. Reagentes	70
4.3. Síntese dos Compostos	70
4.3.1. Síntese dos derivados da 4-aminoantipirina	70
4.3.2. Síntese dos derivados da N-antipirino-3,4-dicloromaleimida (75)	80
4.4. Ensaio Biológicos	84
4.4.1. Atividade analgésica	84
4.4.2. Atividade microbiológica	89
4.5. Análise estatística	90

CAPÍTULO III

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	91
5.1. Síntese	91
5.1.1. Síntese dos derivados da 4-aminoantipirina	91
5.1.2. Síntese dos derivados da N-antipirino-3,4-dicloromaleimida (75)	96
5.2. Análise biológica	99
5.2.1. Atividade analgésica	99
5.2.2. Atividade microbiológica	111
6. CONCLUSÕES	113
7. BIBLIOGRAFIA	117
8. ANEXO 1	130
9. ANEXO 2	136

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Figura 1:** Estruturas moleculares dos compostos sintetizados a partir da 4-aminoantipirina e diferentes anidridos. _____ 93
- Figura 2:** Estrutura molecular dos compostos derivados do composto (75). 98
- Tabela 1:** Atividade analgésica de imidas cíclicas e fármacos usados como referência no modelo de dor induzida por ácido acético na dose de 10 mg/kg, administrados intraperitonealmente. _____ 101
- Figura 3:** Efeito do composto 75 (3:6:10 mg/kg) via intraperitoneal no modelo de dor induzida por ácido acético. _____ 102
- Figura 4:** Efeito do composto 75 (100 mg/kg) via oral no modelo de dor induzida por ácido acético. _____ 103
- Figura 5:** Efeito da naloxona sobre a antinocicepção causada por morfina e pelo composto 75 na dor induzida por ácido acético em camundongos. _ 104
- Figura 6:** Efeito do composto 75 (10 mg/kg) via intraperitoneal no modelo de dor induzido pela placa quente. _____ 104
- Figura 7:** Efeito do composto 75 (3:6:10 mg/kg) via intraperitoneal em ambas as fases (Fase I – fase neurogênica, Fase II – fase inflamatória) do modelo de dor induzido pela formalina. _____ 106
- Figura 8:** Efeito do composto 1 (10:30:60 mg/kg) via intraperitoneal no modelo de dor induzido pela capsaicina. _____ 106
- Tabela 2:** Atividade analgésica de imidas cíclicas e fármacos de referência no modelo de dor induzida por ácido acético na dose de 10 mg/kg, administrados intraperitonealmente. _____ 108
- Figura 9:** Dados de DI_{50} , Inibição máxima na maior dose testada e volume

molar de alguns derivados da N-antipirino-3,4-dicloromaleimida. _____	110
Tabela 3: Determinação da CIM ($\mu\text{g/mL}$) para as imidas derivadas da 4-aminoantipirina sintetizadas neste estudo contra bactérias e fungo. _____	112
Figura 10: Estrutura do composto 75 em 3D. _____	131
Figura 11: Estrutura do composto 76 em 3D. _____	131
Figura 12: Estrutura do composto 77 em 3D. _____	131
Figura 13: Estrutura do composto 78 em 3D. _____	131
Figura 14: Estrutura do composto 79 em 3D. _____	131
Figura 15: Estrutura do composto 81 em 3D. _____	132
Figura 16: Estrutura do composto 82 em 3D. _____	132
Figura 17: Estrutura do composto 83 em 3D. _____	132
Figura 18: Estrutura do composto 84 em 3D. _____	132
Figura 19: Estrutura do composto 85 em 3D. _____	132
Figura 20: Estrutura do composto 86 em 3D. _____	132
Figura 21: Estrutura do composto 88 em 3D. _____	133
Figura 22: Estrutura do composto 89 em 3D. _____	133
Figura 23: Estrutura do composto 90 em 3D. _____	133
Figura 24: Estrutura do composto 91 em 3D. _____	134
Figura 25: Estrutura do composto 92 em 3D. _____	134
Figura 26: Estrutura do composto 93 em 3D. _____	134
Figura 27: Estrutura do composto 94 em 3D. _____	135
Figura 28: Estrutura do composto 95 em 3D. _____	135
Figura 29: Estrutura do composto 96 em 3D. _____	135

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

4-AAP	4-aminoantipirina
ar	aromático
ATP	adenosina trifosfato
b. F.	banda forte
b. f.	banda fraca
b. l.	banda larga
CC	Cromatografia de coluna
CCD	Cromatografia de camada delgada
CIM	Concentração inibitória mínima
δ	deslocamento químico
d	duplete
DI ₅₀	dose inibitória de 50%
EPM	erro padrão médio
F.M.	fórmula molecular
FNT- α	Fator de necrose tumoral- α
GABA	ácido gama-aminobutírico
GMI	N-glicinilmaleimida
HPLC	Cromatografia líquida de alta performance
5-HT _{1A}	receptor 5-hidroxitriptamina 1 ^A
i.p.	intraperitoneal
i.v.	intravenoso
IM	inibição máxima
IV	Espectroscopia de infra-vermelho
m	multiplete
MA	ácido metacrílico
MS	Espectroscopia de massa
MSR	potencial reflexo monossináptico
°C	graus Celsíus
P	significância (análise estatística)
p.f.	ponto de fusão
ppm	partes por milhão
PSR	potencialrefleso polissináptico
R.	rendimento
RMN- ¹³ C	Ressonância magnética nuclear de carbono
RMN- ¹ H	Ressonância magnética nuclear de próton
s	singlete
S9	modulador metabólico
SNC	sistema nervoso central
t	triplete
TA97	cepa de <i>S. typhimurium</i>
TMS	tetrametilsilano
UV	Espectroscopia de ultra violeta
v.o.	via oral
Vac	acetato de vinila

RESUMO

O interesse no estudo de novas imidas vêm crescendo nos últimos anos, devido principalmente às diversas e importantes atividades biológicas que estes compostos têm apresentado. Neste trabalho, descreve-se a síntese de novas imidas cíclicas obtidas através da reação entre a 4-aminoantipirina e diferentes anidridos. Após a avaliação da atividade biológica dos compostos sintetizados, o composto mais promissor foi selecionado e diferentes modificações estruturais foram realizadas. Não foram encontrados relatos quanto a estrutura dos compostos sintetizados, eles foram obtidos em moderados a excelentes rendimentos (37-95%) e suas estruturas foram confirmadas por dados espectroscópicos (IV e RMN). Os resultados mostraram que alguns dos compostos sintetizados apresentaram atividade analgésica bastante significativa. O composto mais ativo revelou-se cerca de 12 a 15 vezes mais ativo que os fármacos de referência analisados no mesmo modelo, apresentando um valor calculado de DI_{50} de 3,8 (1,7-8,6)mg/kg [10.8 (4.8-24.4) μ mol/kg] com inibição máxima (IM) de $99\pm 1\%$. Este composto também foi ativo no modelo da formalina e da capsaicina e camundongos. Por outro lado, os compostos não apresentaram potencial antimicrobiano contra algumas bactérias e levedura patogênicas selecionadas. Os resultados obtidos permitem concluir que as imidas estudadas podem servir de protótipo para a obtenção de novos agentes analgésicos.

ABSTRACT

During the last few years, the medicinal interest in cyclic imides has increased considerably. Previous studies have evidenced that these compounds exerted different and important biological properties. This study describes the synthesis of new cyclic imides obtained by reaction between 4-aminoantipyrine and different anhydrides with further cyclization with acetic acid under reflux. The compounds were investigated on their possible biological activities: analgesic, antibacterial and antifungal. The most active compound tested was selected and other substances structurally related were synthesized. All the substances are new and were obtained in moderate to good yields (40-95%). Their structures were confirmed by spectral data (IR and NMR). The results showed that some of the compounds studied exhibited significant biological activity, being several times more potent than some standard drugs used for comparison. On the other hand, the compounds did not show antimicrobial activity against some pathogenic selected bacteria. In conclusion, the results indicate that some compounds may be used as model to obtain new analgesic agents.

1. INTRODUÇÃO

A necessidade do desenvolvimento de novos fármacos, que sejam efetivos contra algumas patologias ainda sem um tratamento adequado, e que possam substituir os existentes, porém a custos menores e dotados de menores efeitos colaterais, tem impulsionado a comunidade científica à novas e incessantes pesquisas nesta área. Neste contexto, a síntese orgânica tem sido de fundamental importância, representando uma majoritária fatia deste mercado, sendo responsável por cerca de 75% dos fármacos existentes no mercado farmacêutico^{1,2}. Cabe ressaltar, porém, que muitos destes fármacos são oriundos de protótipos advindos de produtos naturais, especialmente de plantas, que têm, ao longo dos anos, possibilitado a descoberta de inúmeras moléculas bio-ativas³⁻⁶.

Muitas classes de compostos orgânicos têm demonstrado promissores efeitos biológicos e a literatura científica relata um crescimento significativo de novas moléculas com potência similar ou superior àquela requerida para um fármaco, sendo que muitos deles encontram-se em estudos pré-clínicos e clínicos avançados e pormenorizados. Entre estas substâncias, pode-se inserir as imidas cíclicas, e os pirazoles.

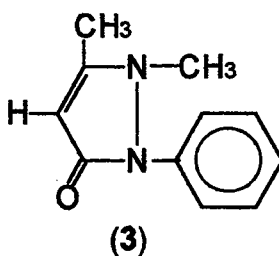
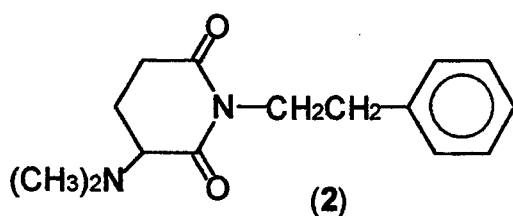
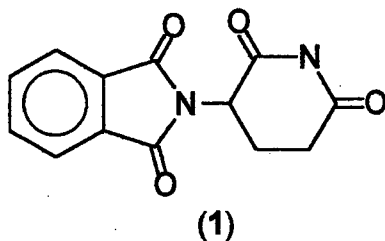
As imidas cíclicas são compostos que contém o grupo -CO-N(R)-

CO-, sendo R um átomo de hidrogênio, grupo alquila ou grupo arila. Tais compostos podem ser divididos em sub-classes, incluindo as maleimidias, succinimidias, glutarimidias, ftalimidias, naftalimidias, etc., e seus respectivos derivados. Em 1970, Hargreaves e colaboradores⁷ publicaram uma revisão abordando vários aspectos químicos, industriais e biológicos das imidas cíclicas. Nos últimos anos, esta classe de compostos tem ressurgido e atraído a atenção da comunidade científica, devido, principalmente, às suas potencialidades terapêuticas. Como exemplo, podemos citar o caso da Talidomida (1), que apesar dos significativos efeitos adversos do passado, ocasionando praticamente 100% de teratogenicidade, mesmo em doses clínicas modestas, sendo sua indicação específica para uso na gravidez⁸, os recentes estudos têm evidenciado um possível uso desta substância para o tratamento de várias patologias incluindo o câncer⁹.

Os departamentos de Química e Farmacologia da UFSC e o Núcleo de Investigações Químico-Farmacêuticas (NIQFAR) da UNIVALI iniciaram os estudos com esta classe de compostos a partir da descoberta do alcalóide natural Filantimida (2), isolado das partes aéreas do *Phyllanthus sellowianus*¹⁰. Este composto, derivado da glutarimida, apresentou moderado efeito antimicrobiano¹¹, antiespasmódico¹² e analgésico^{13,14}, sendo então usado como modelo ou protótipo para a síntese de inúmeros análogos. Estas imidas cíclicas apresentaram uma variedade de efeitos biológicos, os quais serão abordados no decorrer deste trabalho, permitindo também a elucidação de vários fatores estruturais relacionados com as respectivas atividades biológicas.

A antipirina (3), um derivado da 5-pirazolona, foi um dos primeiros e mais importantes fármacos obtidos sinteticamente (1887), porém foi descoberto por acaso, quando pesquisava-se antipiréticos do tipo quinoiina. Isto ocasionou o início da grande indústria de medicamentos alemã, que dominou o mercado por 40 anos. Desde então muitas modificações têm sido feitas na estrutura deste composto, com o objetivo de encontrar fármacos mais potentes e menos tóxicos. Alguns exemplos bem conhecidos são a aminopirina e a dipirona.

Neste trabalho, buscou-se unir as estruturas de imidas cíclicas com a antipirina, com o objetivo de obter compostos biologicamente ativos.

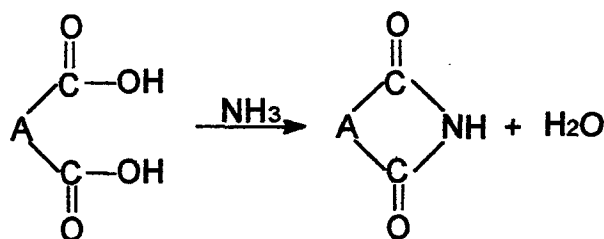


2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Métodos Sintéticos Gerais para Obtenção de Imidas Cíclicas

São conhecidos vários métodos aplicáveis à preparação da maioria das imidas alifáticas simples. Outros, aplicam-se à imidas aromáticas e cíclicas, nas quais a natureza do sistema anelar conduz a métodos especiais de obtenção.

Quando tem-se disponível o ácido dicarboxílico como material de partida, este constitui-se num dos mais convenientes métodos de obtenção de imidas cíclicas. O ácido pode ser aquecido a temperaturas que não excedam os 200°C, com uma quantidade equimolar de amônia, ou um composto que possa produzi-la *in situ*, ou ainda, um derivado substituído da amônia⁷ (Esquema 1).



Esquema 1

Partindo-se do anidrido de ácido, rendimentos satisfatórios podem ser alcançados (60 – 80%) na obtenção de imidas cíclicas e seus respectivos derivados N-substituídos⁷.

Alguns trabalhos descrevem um método onde anidridos de ácidos

dicarboxílicos, dissolvidos em éter, são tratados com amônia ou uma amina superior, obtendo-se, desta forma, o respectivo ácido âmico. O ácido é então ciclizado na forma imídica através da ação do anidrido acético, a quente, na presença de acetato de sódio anidro. Este método apresenta bons rendimentos e tem sido intensivamente utilizado, constituindo-se numa forma mais segura (no que se refere à pureza do produto) de obter imidas cíclicas^{11,14,15-20}.

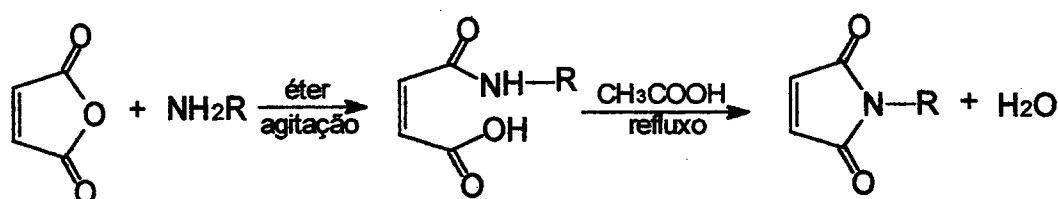
Embora vários métodos sintéticos sejam aplicáveis para a obtenção de imidas cíclicas, algumas sub-classes, como as glutarimidas, maleimidas, succinimidas, etc., possuem suas particularidades. No entanto, muitos métodos de síntese, descritos na revisão de Hargreaves e colaboradores⁷, ainda são usados, eventualmente com pequenas modificações. A utilização de espectroscopia de infravermelho consiste em um método simples e importante para distinguir os sistemas cíclicos (imidas) daqueles de cadeia aberta (ácidos âmicos), analisando as diferenças nas bandas características dos grupamentos carbonila^{7,21}. A seguir são mencionadas as principais propriedades químicas e biológicas para estas sub-classes de imidas cíclicas.

2.2. Maleimidas

- **Aspectos químicos:**

Embora muitas metodologias tenham sido descritas para a síntese de

maleimidas e compostos relacionados, muitas delas mencionadas na revisão de Hargreaves de 1970⁷, o método experimental mais apropriado e versátil para a síntese destes compostos parece ser aquele indicado no esquema abaixo (Esquema 2). O anidrido maleico reage com a amina apropriada para a formação do respectivo ácido maleâmico. Este ácido pode ser ciclizado com facilidade através do uso de distintos agentes desidratantes de fácil acesso, como por exemplo, o ácido acético, o acetato de sódio anidro, entre outros, sob aquecimento. Estas reações permitem o uso de diferentes aminas, como as anilinas substituídas, para obter-se derivados maleimídicos, possibilitando a obtenção de produtos com bons rendimentos¹⁵. As tentativas para obter as maleimidas diretamente, sem passar pela purificação do ácido âmico, usando AcOH/refluxo, foram sem êxito, proporcionando baixos rendimentos (~10%) do produto²².

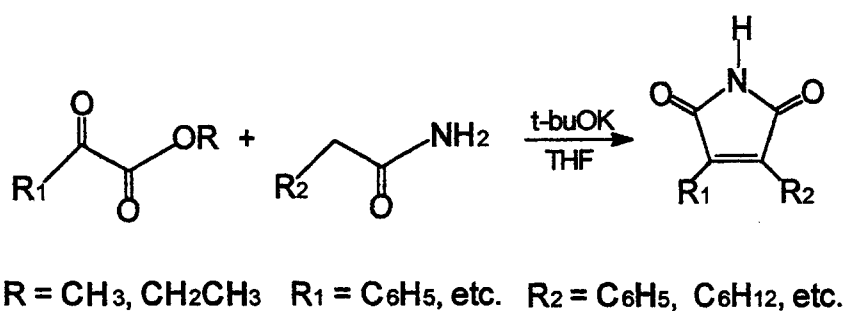


Esquema 2

Nosso grupo de pesquisa tem usado o método em pauta nos últimos anos, obtendo resultados exitosos quanto aos rendimentos e facilidade de purificação dos compostos supracitados^{4,13,23}.

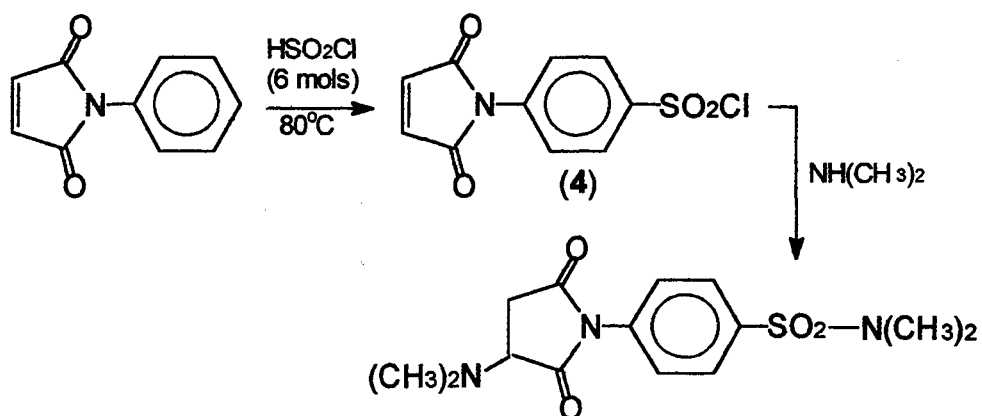
No entanto, novas e importantes abordagens sobre a síntese destes compostos têm sido descritas. Neste contexto, Faul e colaboradores²⁴

recentemente desenvolveram um método que permite a obtenção de maleimidas, em uma única etapa, através da condensação de ésteres glioxilatos com acetamidas, conforme indicado no esquema 3. O método é altamente versátil e os produtos geralmente são obtidos com excelentes rendimentos (67-99%).



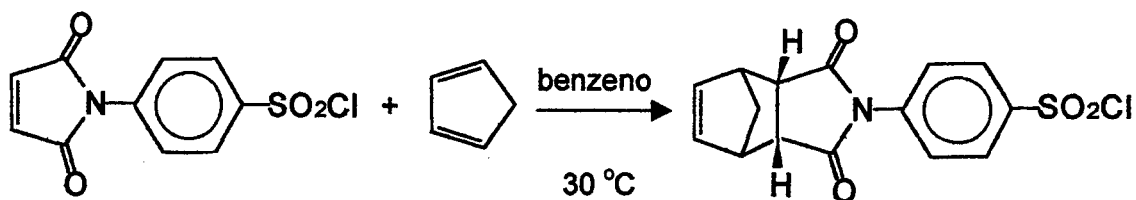
Esquema 3

A N-fenilmaleimida e outras maleimidas são substâncias muito usadas para a síntese de derivados com potencial farmacológico⁴. A clorossulfonação da N-fenilmaleimida, usando 6 mois de ácido clorossulfônico e aquecimento leva ao respectivo cloreto de sulfonila (4), com rendimento superior a 80%. Tal composto pode ser usado para a obtenção de diferentes sulfonamidas, através de reações com aminas apropriadas. A ocorrência de uma reação competitiva, como a introdução da amina na dupla ligação imídica, se dá pela susceptibilidade deste composto à adição nucleofílica que os compostos apresentam²². O esquema 4 ilustra a adição da dimetilamina ao composto (4), e também a substituição nucleofílica no cloro do cloreto de sulfonila:



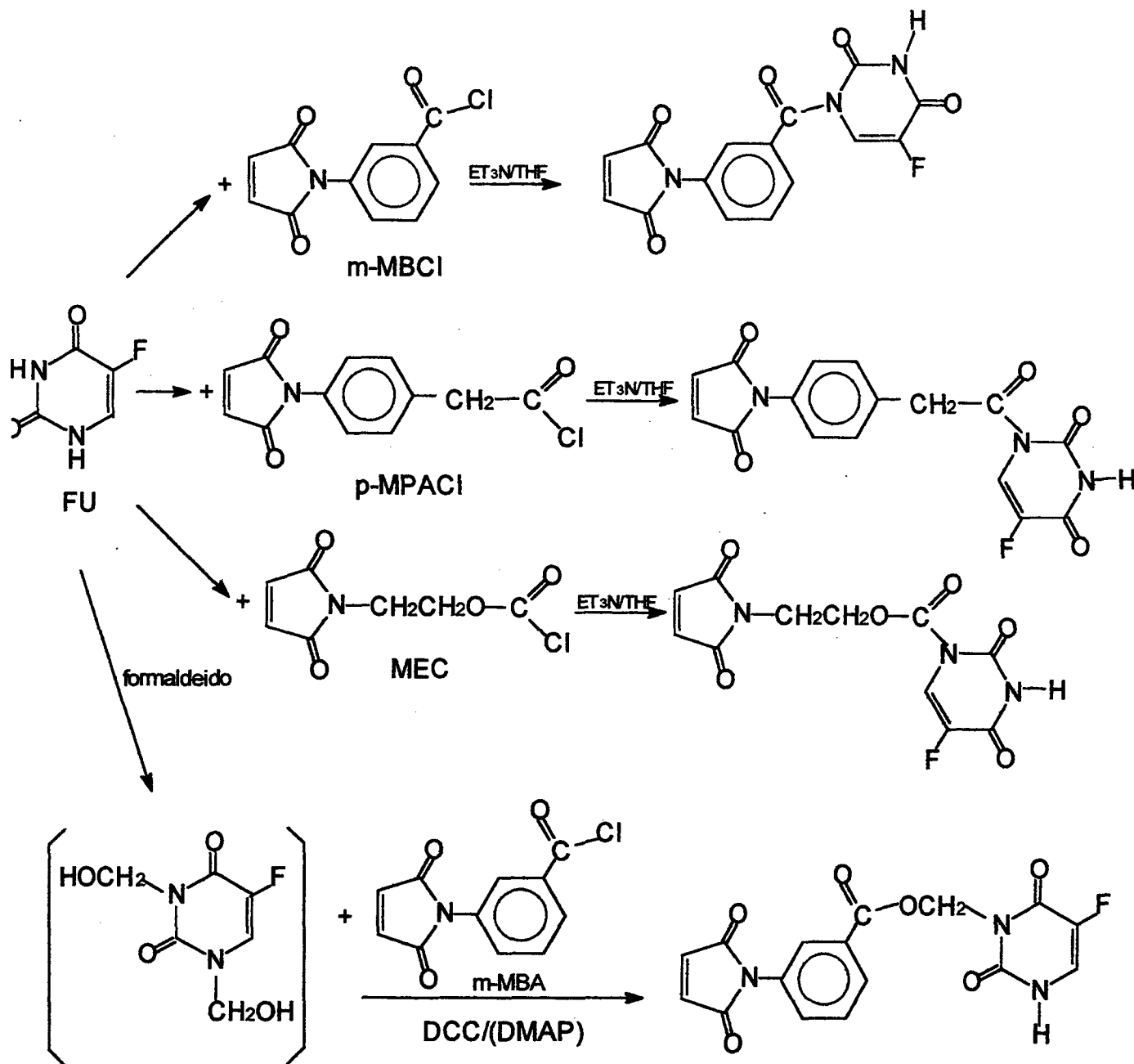
Esquema 4

Estes mesmos autores observaram que o composto **4** pode ser um versátil dienófilo em reações de Diels-Alder de demanda eletrônica "normal", na qual o dienófilo é ativado com grupamentos elétron-sacadores, tal como o grupamento carbonila entre outros^{16,25}. Desta forma, (**4**) reage com vários dienos, como o ciclopentadieno, furano, antraceno, etc., fornecendo os respectivos adutos, conforme indicado no esquema 5 pela formação do N-p-clorosulfonilfenilnorbornenosuccinimida.

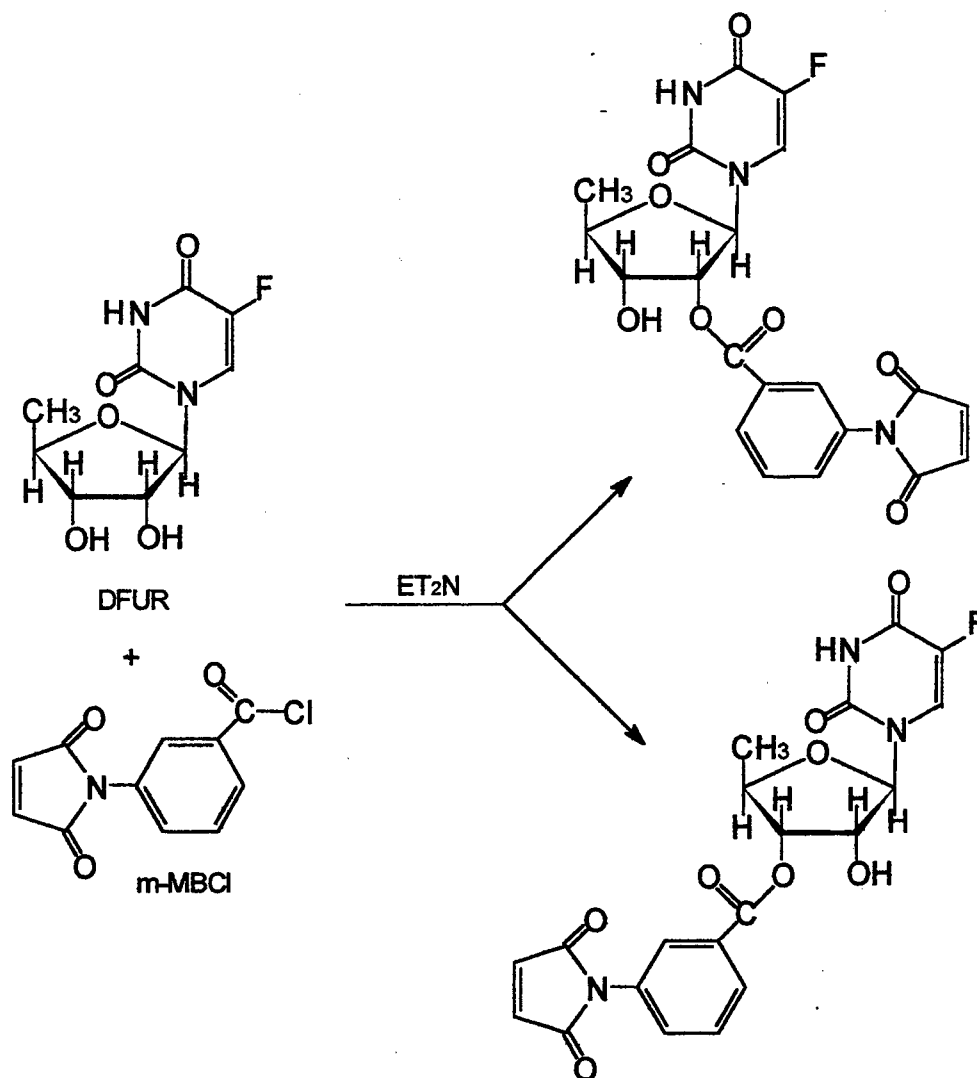


Esquema 5

Beyer e colaboradores²⁶ usaram diferentes maleimidas para preparar derivados de 5-fluoracil e 5'-deoxi-5-fluorouridina, dois fármacos com propriedades anticâncer, com a finalidade de que o grupo maleimido atue como um grupo carreador no sistema biológico. Os esquemas 6 e 7 mostram as etapas sintéticas realizadas:

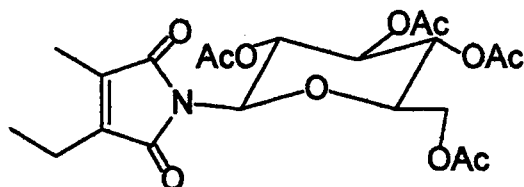


Esquema 6



Esquema 7

As maleimidas ocorrem muito raramente na natureza, sendo que o composto 2-etil-3-metil-maleimido-N-β-D-glucopiranosídeo (5), isolado das folhas de *Garcinia mangostana*²⁷, parece ser um dos poucos exemplos de maleimidas naturais.

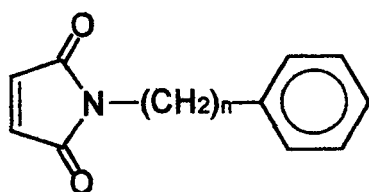


(5)

• **Aspectos biológicos:**

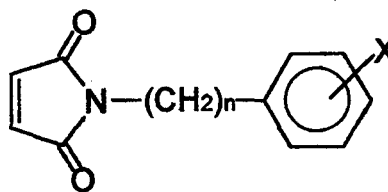
Os efeitos biológicos de maleimidas e compostos relacionados vem sendo estudados há muitos anos. Hargreaves e colaboradores⁷ destacam especialmente os efeitos antifúngico, antibacteriano e inseticida, desta classe de compostos. Nunes¹⁶ verificou que as maleimidas são mais ativas do que as succinimidas em relação à atividade antifúngica, sugerindo a importância da dupla ligação imídica na ação biológica. A importância deste fator estrutural foi posteriormente confirmada em estudos desenvolvidos por nosso grupo, os quais serão mencionados a seguir.

Algumas N-alkilfenilmaleimidas (6) apresentaram atividade contra diferentes bactérias patogênicas aos seres humanos, freqüentemente encontradas em infecções do trato urinário ou intestinal, como *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, entre outros^{11,18}. Elas também foram ativas contra vários fungos leveduriformes e miceliais, responsáveis por distintas micoses em humanos, como *Microsporum canis*, *Candida albicans*, *Penicillium*, etc.^{13,28} sendo inativos neste trabalho contra *Aspergillus flavus*. Já as N-alkilarilmaleimidas (7) apresentaram pouca variação quanto as suas atividades, quando comparadas ao composto não substituído, sugerindo a interferência de fatores estéricos²⁹.



$n = 0 - 4$

(6)

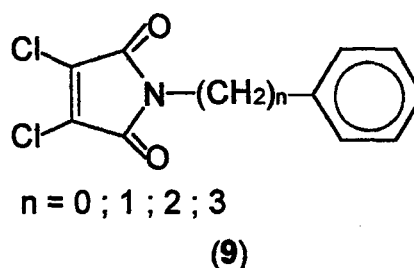
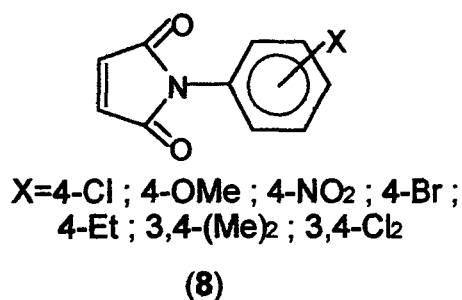


$X = 4\text{-OCH}_3; 4\text{-Cl}; 3,4\text{-Cl}; 4\text{-CH}_3$

$n = 1 - 2$

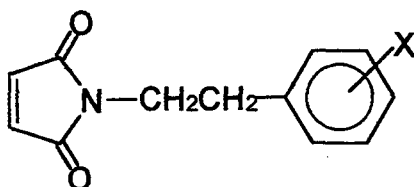
(7)

N-arilmaleimidas (8) e N-alkuilfenil-3,4-dicloromaleimidas (9) foram testadas contra diferentes microorganismos, a fim de avaliar suas atividades antifúngicas, sendo que alguns compostos apresentaram um efeito inibitório maior que o cetoconazol, um antifúngico de amplo espectro utilizado na terapêutica. Os resultados demonstraram que a introdução de dois átomos de cloro na dupla ligação do anel imídico não aumentou significativamente a atividade antifúngica. Contudo, a distância entre o anel aromático e o anel imídico parece ser um importante fator relacionado à atividade antifúngica destes compostos²⁸. Recentemente, estes compostos foram testados contra diferentes fungos patogênicos, comprovando que a atividade dos compostos cresce com o aumento da distância entre o anel imídico e o anel aromático³⁰.



Estes compostos apresentaram também uma importante atividade analgésica e antiespasmódica, quando testados em diversos modelos experimentais "in vivo" e "in vitro"^{13,14}. A introdução de grupos elétron-doadores no anel aromático da N-fenetilmaleimida (10), tais como 4-OCH₃, 3,4-(OCH₃)₂ e 4-CH₃, aumentou a atividade analgésica. Ao contrário, a introdução de 4-Cl, um átomo elétron-retirador, diminuiu a atividade analgésica, indicando que

parâmetros eletrônicos podem estar envolvidos na atividade e que grupos elétron-doadores aumentam o efeito. Foi também verificado que a dupla ligação no anel imídico é importante para a atividade, uma vez que succinimidas análogas apresentam somente uma fraca atividade analgésica³¹.

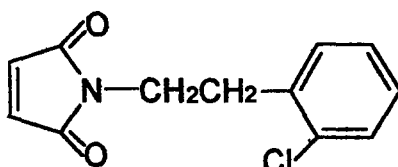


X = 4-OCH₃ ; 4-Cl ; 3,4-(OCH₃)₂ ;

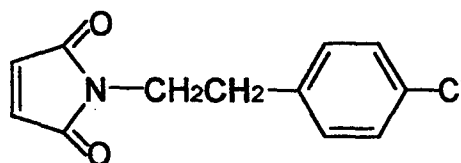
(10)

Substâncias estruturalmente relacionadas às maleimidas, mas contendo o grupo sulfonil na posição 4- do anel aromático foram descritas como potentes analgésicos no modelo de contorções abdominais induzidas pelo ácido acético em camundongos^{20,23}.

O composto (11), que possui um átomo de cloro na posição 2 do anel aromático, foi mais ativo que outro composto no qual o átomo de cloro está na posição 4 (12), sugerindo que parâmetros estéricos estão envolvidos na atividade analgésica³².

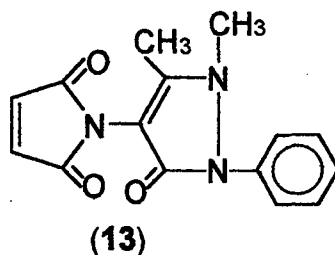


(11)

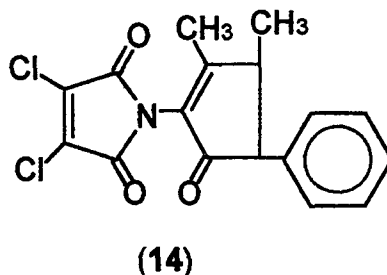


(12)

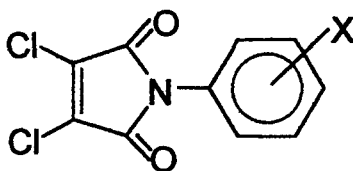
Ainda em relação à atividade analgésica de maleimidas cíclicas, estudos experimentais revelaram que o composto (13), contendo a antipirina ligada diretamente ao anel maleimídico, foi aproximadamente 50 vezes mais ativo que alguns fármacos utilizados na terapêutica, como a aspirina e o paracetamol. Entretanto, todos os animais foram a óbito após os testes, o que sugere uma alta toxicidade deste composto³².



Recentemente, estudou-se várias outras imidas derivadas da 4-aminoantipirina, em modelos de avaliação da atividade antinociceptiva. Entre os compostos testados, oito deles apresentaram resultados estatisticamente significativos, em especial a N-antipirino-3,4-dicloromaleimida (14), que apresentou uma inibição de 99% das contorções abdominais induzidas pelo ácido acético em camundongos (10 mg/Kg. i.p.)^{33,34}. Considerando que este composto foi selecionado para estudos adicionais, no decorrer deste trabalho o mesmo será referido com o número 75.



Em relação aos estudos envolvendo a relação estrutura química e atividade analgésica de 3,4-dicloromaleimidaz (15), observou-se que os efeitos estéricos na posição 4 do anel aromático devem ser responsáveis pelo decréscimo da atividade analgésica quando há a presença de grupos substituintes. Tanto grupos elétron-doadores, quanto elétron-retiradores diminuíram a atividade em relação ao composto não substituído, que foi cerca de 45 a 48 vezes mais potente do que alguns fármacos usualmente utilizados na clínica³⁵.

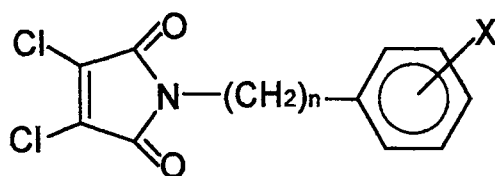


X = H ; 4-OMe ; 4-Cl ; 3,4-Cl ; 4-CH₃

(15)

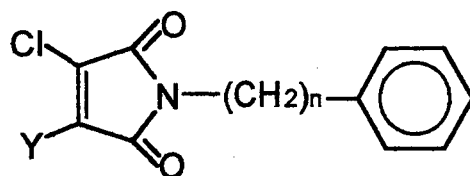
As 3,4-dicloromaleimidaz (16) e 3-cloro-4-X maleimidaz (17) foram ativas contra *S. aureus* e *E. coli*, demonstrando efeitos biológicos promissores, uma vez que todos os compostos (16) foram efetivos contra ambos os microorganismos, alguns deles com resultados ligeiramente menores que os antibióticos tetraciclina e ampicilina, utilizados na terapêutica. A substituição do átomo de cloro por grupamentos não planares (17), como piperidino ou morfolino, levou a compostos totalmente inativos. Entretanto, a introdução de sistemas rígidos, porém mais planares, como fenóxidos, forneceram




compostos que apresentaram ação antibacteriana comparável à apresentada pelas dicloromaleimidaz ^{36,37}.



X = H ; 4-OCH₃ ; 4-Cl ; 3,4-₂ ; 4-CH₃ ; 4-NO₂
n = 1 - 2

(16)

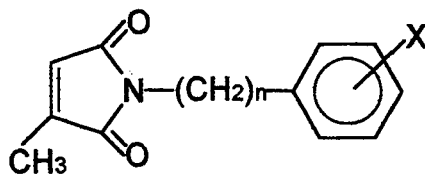


Y = -N- ; -N- ; 
X = 4-CH₂CH₃ ; 4-Br ; 4-NO₂
n = 1 - 2

(17)

Algumas citraconimidaz (18) foram capazes de inibir o crescimento de bactérias patogênicas como *E. coli*, *S. aureus* e *Salmonella typhimurium*. Em geral, a clorosulfonação do anel aromático não afetou significativamente a atividade antibacteriana. Contudo, foi possível observar que os compostos não substituídos e contendo o anel aromático conjugado ao anel imídico ou separado por apenas um grupo metileno, produziram uma boa atividade, enquanto que os compostos que possuam dois grupos metileno

separando o nitrogênio imídico do anel aromático não apresentaram atividade antibacteriana em ensaios de difusão¹⁹.



X = H ; 4-SO₂Cl ; 4-SO₂NHC₆H₅ ; 4-SO₂NHC₆H₅-4-Br
4-SO₂NHC₆H₅-4-CH₃ ;

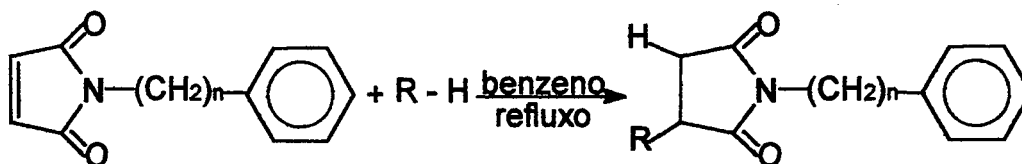
n = 0 ; 1 ; 2

(18)

2.3. Succinimidas:

- Aspectos Químicos:

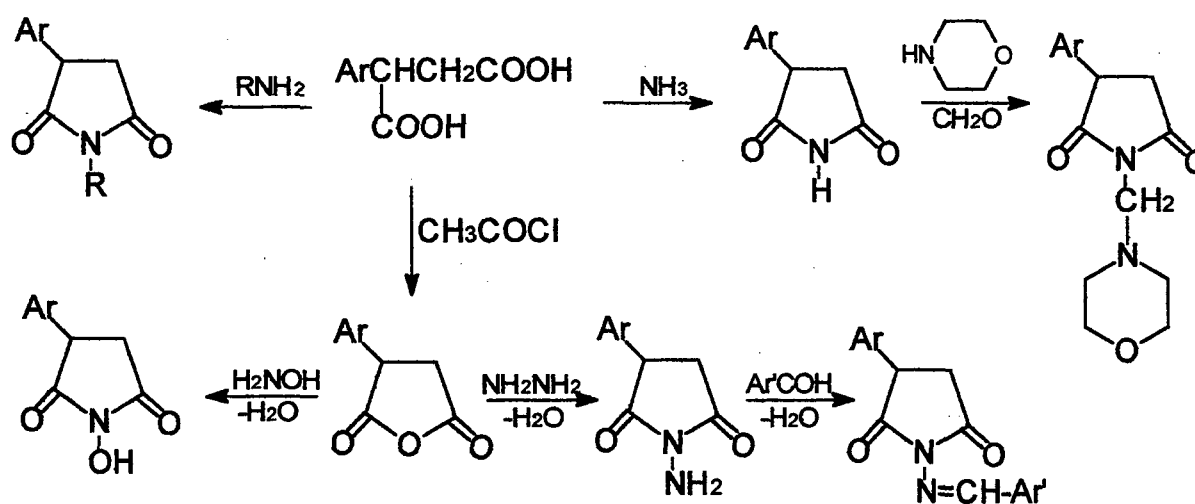
A metodologia mais comum utilizada para a síntese de succinimidas consiste em partir de um composto maleimídico, utilizando-se um nucleófilo em uma reação de adição à insaturação olefínica do anel imídico, sendo o benzeno o solvente apropriado e a mistura reacional aquecida por refluxo suave por 30 – 40 minutos (Esquema 8)^{13,38,39}.



R = (CH₃)₂N- ; (CH₃CH₂)₂N- ; C₆H₅-NH- ; etc.

Esquema 8

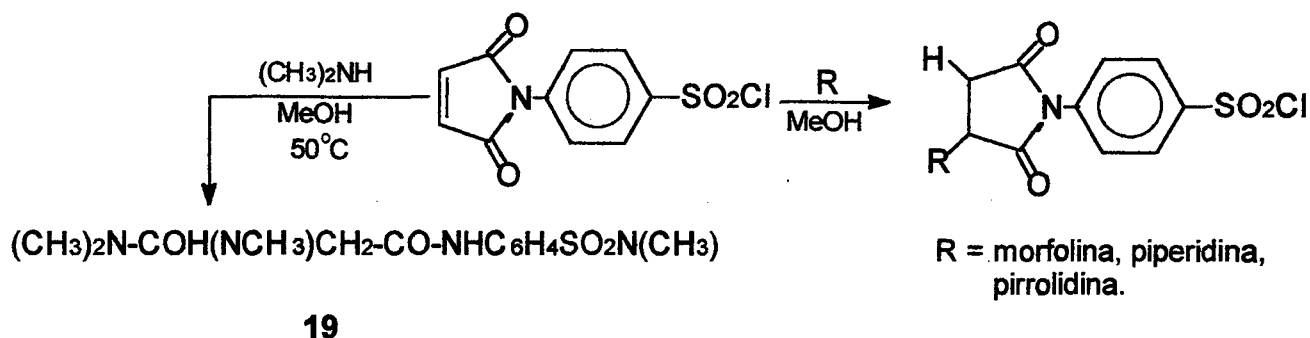
Lange e colaboradores⁴⁰ prepararam vários derivados da N-hidroxisuccinimida, convertendo o apropriado ácido fenil-succínico ao anidrido com cloreto de acetila e posteriormente tratando o anidrido com a amina desejada, conforme o esquema 9. Alternativamente, a adição da amina apropriada ao ácido fenil-succinimídico leva à formação de diferentes succinimidas. Este procedimento é bastante versátil, possibilitando a obtenção de inúmeros derivados succinimídicos.



Esquema 9

Cremlin e colaboradores⁴¹, usando N-fenilmaleimidias clorossulfonadas como material de partida, observaram que a adição de morfolina, piperidina ou pirrolidina em metanol sob temperatura ambiente, à dupla ligação imídica, leva à formação da succinimida desejada, enquanto que a reação com dimetilamina

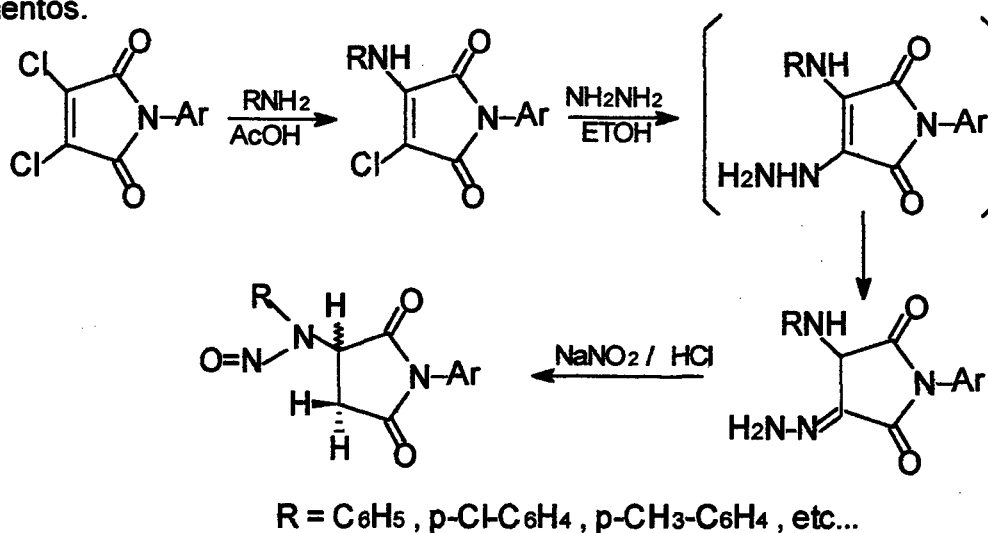
em excesso (4 mols) em metanol ($\pm 50^\circ\text{C}$) ocasiona a abertura do anel, obtendo-se o composto **19** (Esquema 10).



Esquema 10

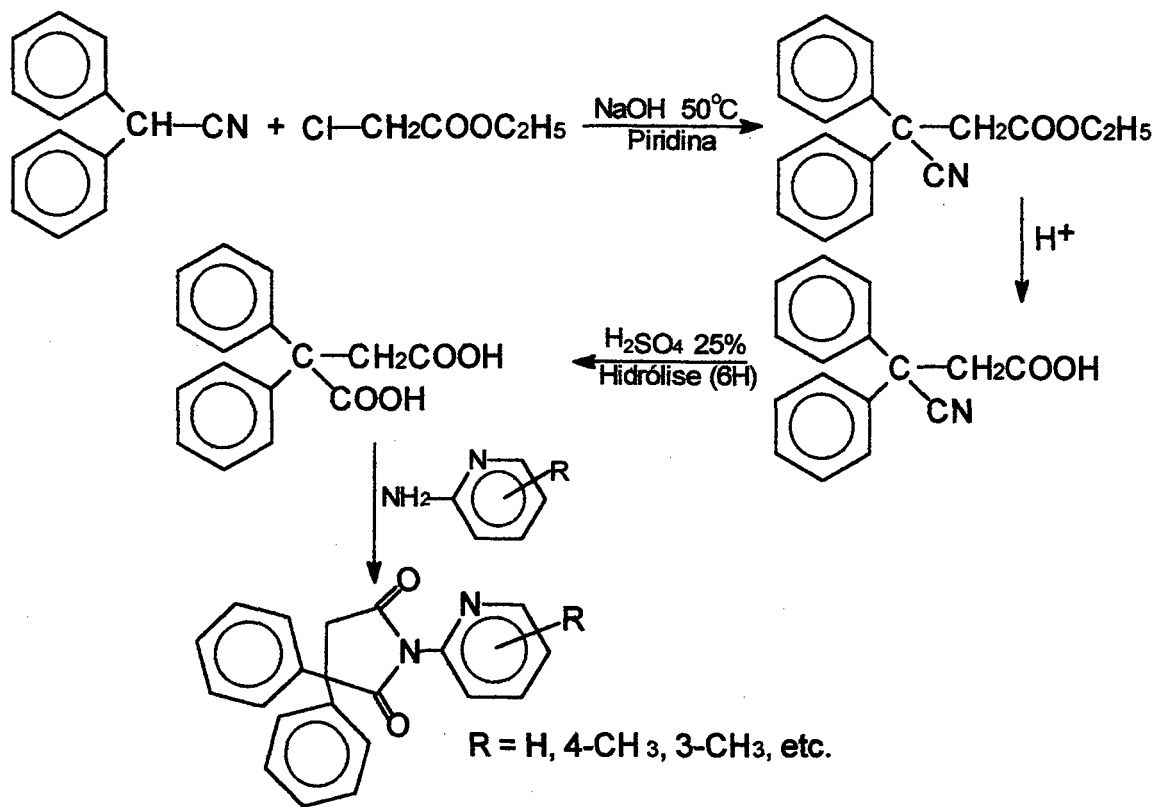
Ashraf e colaboradores⁴² estudaram os efeitos das radiações de UV (254 nm) sobre algumas succinimidas e observaram que ocorrem fotoreações de diferentes tipos, levando à mistura de derivados.

Recentemente, foi desenvolvida uma nova metodologia para a síntese de derivados amino-succinimídicos, usando a 3,4-dicloro-N-fenil-maleimida como material de partida⁴³. O produto final é obtido através de uma reação de nitrosação redutiva e as etapas mostradas no esquema 11 fornecem bons rendimentos.

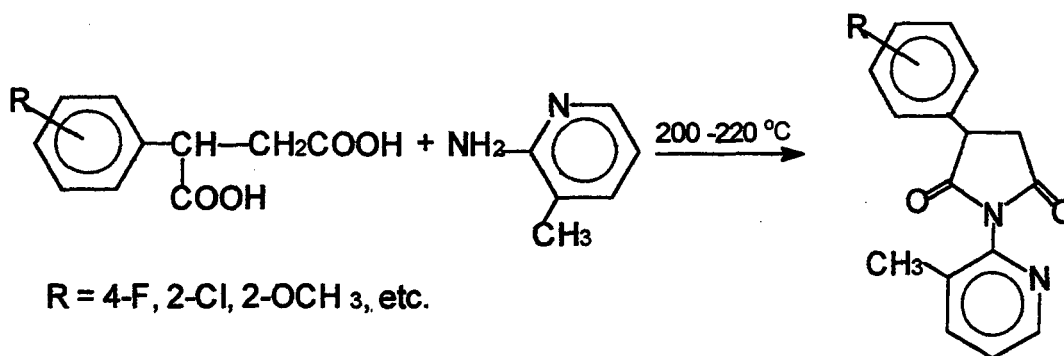


Esquema 11

Mais recentemente, Obniska e colaboradores⁴⁴ sintetizaram novos derivados pirimidínicos de 3-fenil e 3,3-difenilsuccinimidas, com o intuito de avaliar suas propriedades anticonvulsivantes. As rotas sintéticas são indicadas nos esquemas 12 e 13.



Esquema 12

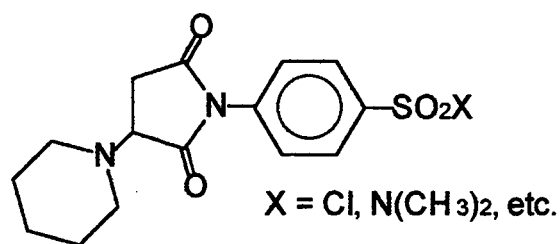


Esquema 13

- **Aspectos Biológicos:**

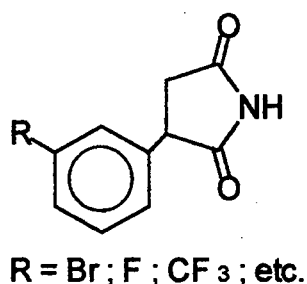
As succinimidas apresentam, em geral, atividade antimicrobiana, antiespasmódica e analgésica inferior àquelas observadas para as correspondentes maleimidas. Tais estudos, conduzidos por nosso grupo de pesquisa, permitiram evidenciar a importância da dupla ligação do anel imídico na atividade biológica. Foi determinado, por exemplo, o efeito antibacteriano de N-alkil-aril-maleimidas (7) e correspondentes succinimidas, e verificou-se que os compostos derivados da maleimida apresentam CIM (concentração inibitória mínima) de 15 a 40 µg / mL contra os microorganismos *E. coli* e *S. aureus*, enquanto que as respectivas succinimidas foram praticamente destituídas de ação antimicrobiana¹¹. Estes resultados foram confirmados contra estas e outras bactérias pelo método de difusão em ágar¹⁸.

Do mesmo modo, foi comprovada a ausência de efeitos antifúngicos contra fungos patogênicos para alguns derivados succinimídicos²⁸. A importância da dupla ligação imídica na ação biológica foi demonstrada anteriormente por Nunes¹⁶. Esta hipótese foi também confirmada na ação antiespasmódica^{18,31,32} e analgésica, onde as succinimidas foram consideravelmente menos ativas do que as correspondentes maleimidas. Por outro lado, a adição do grupo clorossulfonil e sulfonilamidas no anel aromático de N-fenil-succinimidas (20) levou a um aumento no efeito analgésico em camundongos²⁰.

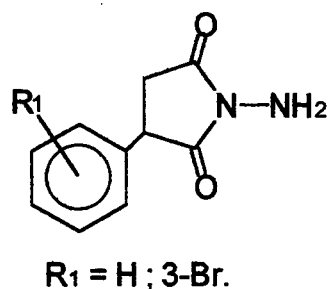


(20)

Os derivados da fenilsuccinimida metasubstituídas (21) e derivados da N-aminofenilsuccinimida (22) demonstraram, aiém de forte ação anticonvulsiva, em convulsões induzidas pelo pentitrazol, proteção contra o derrame cerebral induzido por choques máximos de eletricidade⁴⁰.



(21)



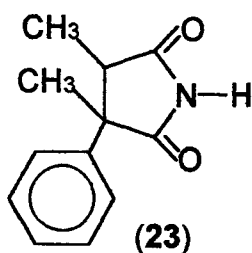
(22)

Lange e colaboradores⁴⁵ postularam que a forte ação anticonvulsivante das succinimidas se deve ao fragmento -CO-NR-CO-, comum também aos barbituratos e outros fármacos reconhecidamente anticonvulsivantes.

Outros derivados da succinimida também apresentaram propriedades anticonvulsivantes, similares à da fenitoína e da carbamazepina, sugerindo

que muitas imidas cíclicas atuam potencialmente no sistema nervoso central^{44,46}.

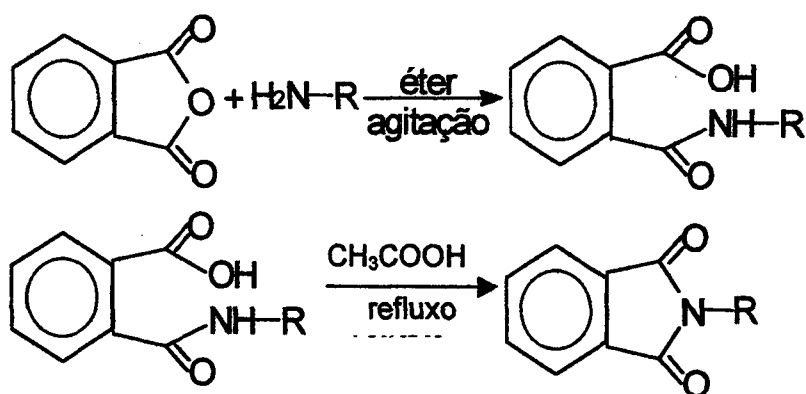
O composto 3-fenil-2,3-dimetilsuccinimida (23) e seus derivados N-metilados possuem notável atividade anticonvulsivante, particularmente contra convulsões decorrentes de processos epiléticos, sem efeitos hipnóticos colaterais²³.



2.4. Ftalimidas:

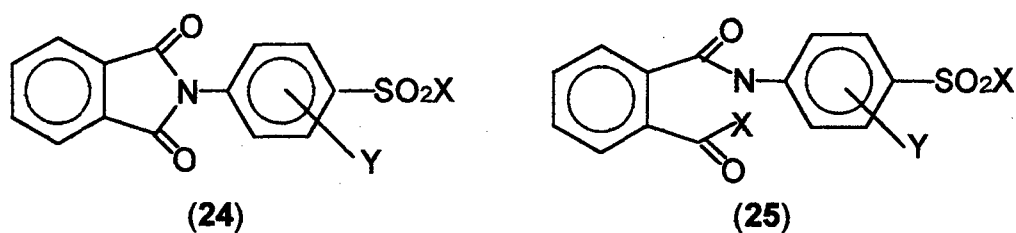
- Aspectos Químicos:

A ftalimida pode ser preparada a partir do ácido âmico, o qual é formado pela agitação em meio etéreo do anidrido ftálico com a amina apropriada, na proporção molar 1:1, cujo ácido âmico formado é adicionado ao ácido acético e deixado em refluxo suave por 2 horas (Esquema 14)³⁶.



Esquema 14

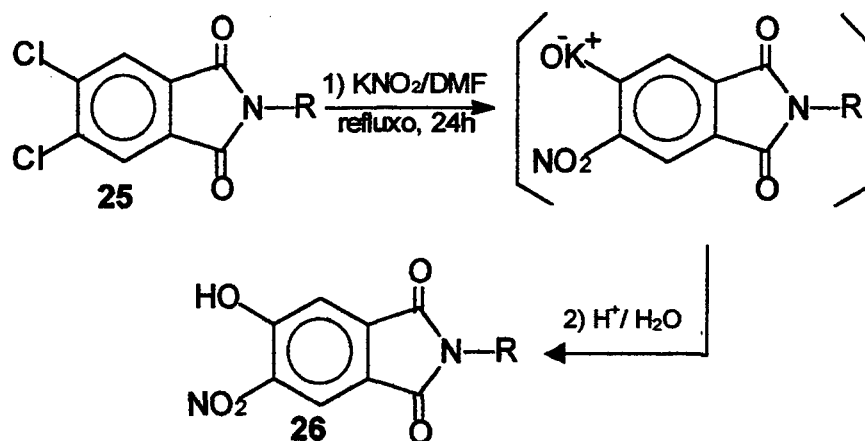
Objetivando obter novos fungicidas e pesticidas, Cremlyn e colaboradores²¹ sintetizaram uma variedade de compostos derivados benzenossulfonilados da ftalimida (24). Foi observado experimentalmente que dependendo do grupamento X e das condições (solvente, temperatura), poderia ocorrer a abertura no anel imídico, formando o composto (25).



X = N₃; NHN=C(CH₃)₂,...

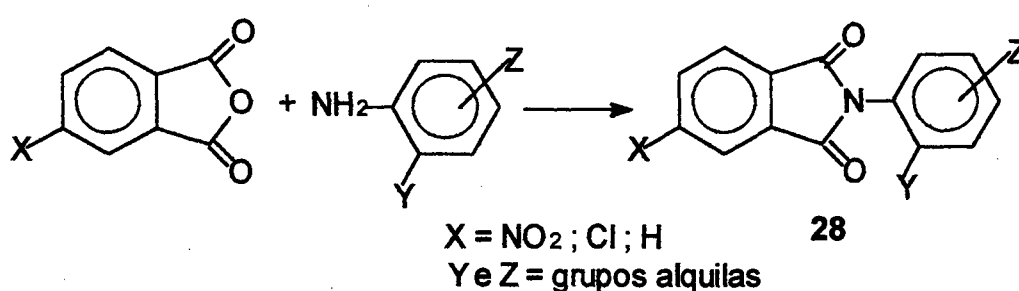
Y = H; Cl

Caswell e colaboradores⁴⁷, investigando reações de substituição nucleofílica ativadas pelo grupo imídico, descobriram que compostos do tipo 4,5-dicloro-ftalimidias (26) podem ser convertidos em compostos do tipo 4-hidróxi-5-nitro-ftalimidias (27) pela ação do nitrito de potássio, conforme ilustrado no esquema 15 abaixo:



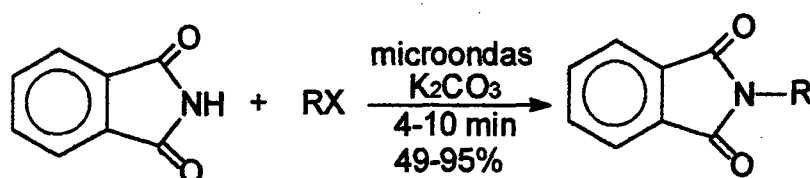
Esquema 15

Visando obter compostos estruturalmente relacionados à talidomida (1) para posterior avaliação da atividade anticonvulsivante dos análogos obtidos, Poupaert e colaboradores⁴⁸ sintetizaram inúmeros compostos (28). Para tanto, foi usado o anidrido ftálico derivado com a amina apropriada, em ácido acético sob refluxo, ocorrendo a ciclização direta do anel imídico em uma única etapa (Esquema 16)



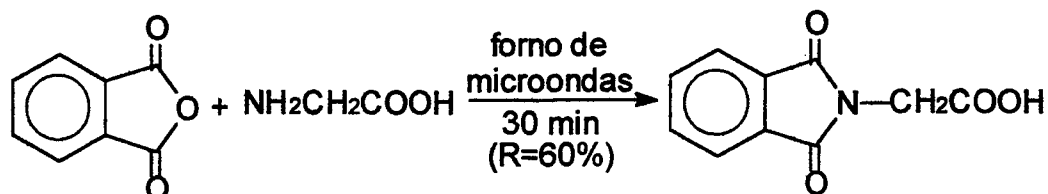
Esquema 16

Bogdal e colaboradores⁴⁹ elaboraram um novo método para sintetizar N-alkilftalimidias, via alquilação da ftalimida em meio "seco" sob irradiação por microondas. As reações foram realizadas misturando a ftalimida com haleto de alquila adsorvido em carbonato de potássio. Os produtos foram obtidos com bons rendimentos (49-95%) em tempo reduzido (4-10 min) (Esquema 17).



Esquema 17

Recentemente, Antunes e colaboradores⁵⁰ também relataram o uso de um forno microondas para obter derivados da ftalimida, os quais podem ser diretamente preparados com bons rendimentos (60%), conforme ilustra o esquema (Esquema 18):



Esquema 18

Este composto foi posteriormente usado para a obtenção de novos derivados contendo o grupo oxadiazol⁵⁰.

Kamal e colaboradores⁵⁰ estudaram novas possibilidades para a síntese de Ftalimidas N-substituídas e tiveram grande êxito reagindo anidrido ftálico e azidas apropriadas em presença de iodotrimetilsilano, cujos compostos foram obtidos com excelentes rendimentos após poucos minutos de reação (Esquema 19.)



- a. R = Cl, 15 min, rend. = 95%
b. R = OCH₃, 15 min, rend. = 95%

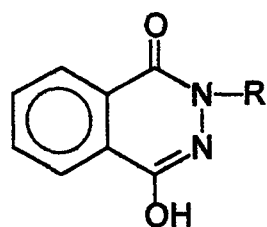
Esquema 19

O procedimento descrito pode ser útil também para obter outros derivados alifáticos da ftalimida, representando um método prático, simples, de baixo custo e alta eficiência para síntese de imidas cíclicas, particularmente derivados da ftalimida e da naftalimida⁵¹.

• **Aspectos Biológicos:**

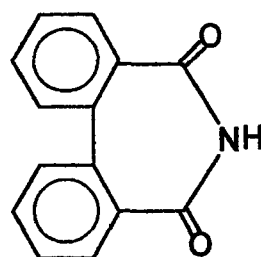
Algumas ftalimidas cíclicas provenientes de alquil éteres, tioéteres, sulfóxidos e sulfonas, em doses de 10 e 20 mg/Kg, exerceram atividade hipolipidêmica em ratos⁵²⁻⁵⁴.

Derivados cíclicos N-substituídos da ftalimida, particularmente os compostos 2,3-dihidrohalazina-1,4-diona (**29**) e difenimida (**30**) reduziram os níveis séricos de ácido úrico em camundongos normais e hiperúricos com doses de 20 mg/Kg/dia i.p. por 14 dias. Os compostos foram potentes inibidores da atividade enzimática da xantina desidrogenase e xantina oxidase⁵⁵.



R = -CH₂CH₂OCH₃; etc.

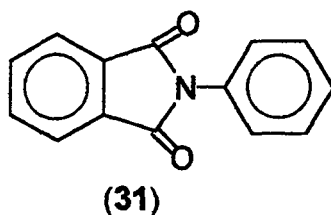
29



30

A atuação potencial das imidas cíclicas no sistema nervoso central foi comprovada pela atividade de diversos derivados da N-fenilftalimida com atividades anticonvulsivantes similares à da fenitoína e da carbamazepina^{46,48}.

A N-fenil-ftalimida (31) e compostos relacionados apresentaram atividade antibacteriana contra bactérias patogênicas, porém o efeito foi menos pronunciado quando comparado com os derivados da maleimida e 3,4-dicloromaleimida^{13,36}.



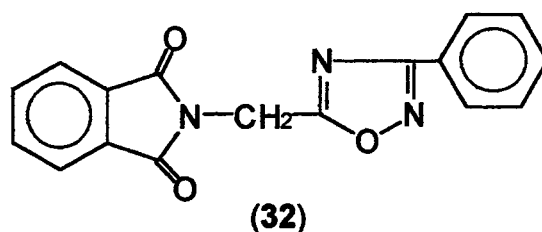
A talidomida (1), que possui uma estrutura molecular derivada da ftalimida, porém também contendo um anel glutarimídico, pode ser considerada a molécula mais relevante pertencente a esta classe de compostos. Como mencionado anteriormente, apesar dos efeitos adversos do passado ocasionando má formação fetal, nos últimos anos, a talidomida tem sido tema de estudos de diversos grupos de pesquisa. É importante ressaltar seus efeitos sobre o fator de necrose tumoral α , uma citocina que estimula o sistema imunológico e que age eliminando diretamente o tumor, mas que produz efeitos adversos para o organismo, como a indução de inflamação no tecido, estímulo da replicação do vírus HIV e ação da promoção tumoral. O composto (1) e alguns de seus derivados inibem a produção de FNT- α em pacientes com AIDS⁵⁶.

Singal e colaboradores⁹ indicaram que o composto (1) pode representar uma grande esperança para indivíduos com câncer, uma vez que tem mostrado-se muito ativo contra o mieloma avançado, inclusive em pacientes com mieloma múltiplo.

Mais recentemente, Ribeiro e colaboradores⁵⁷ demonstraram que a talidomida (1) apresenta potente efeito analgésico em vários modelos de dor, cujo mecanismo parece estar associado à inibição da produção de FNT- α e não atua sobre o SNC.

Além das propriedades citadas, muitos outros efeitos benéficos relevantes e promissores tem sido relatado para a talidomida, tornando-a uma molécula – lider para o futuro desenvolvimento de novos fármacos⁵⁷⁻⁶⁰.

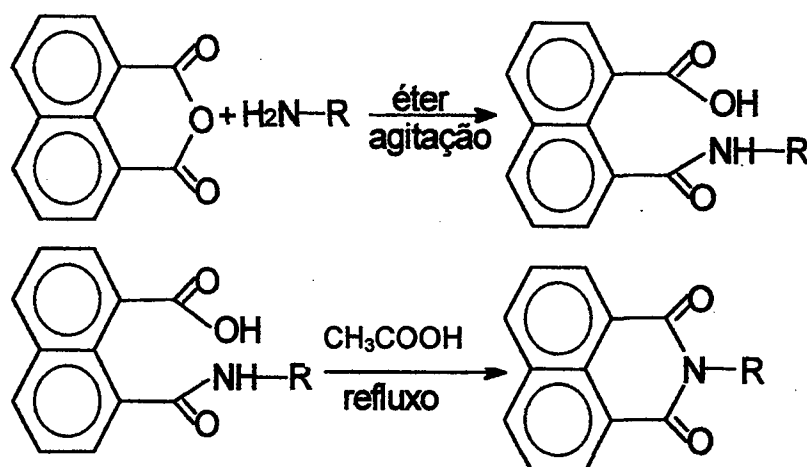
Estudos recentes confirmaram os efeitos analgésicos de derivados da ftalimida, especialmente o composto (32), o qual foi cerca de 50 vezes mais potente do que a aspirina no modelo do ácido acético, em camundongos, atuando ainda na segunda fase (dor de origem inflamatória) do teste da formalina⁵⁰.



2.5. Naftalimidás:

- **Aspectos químicos:**

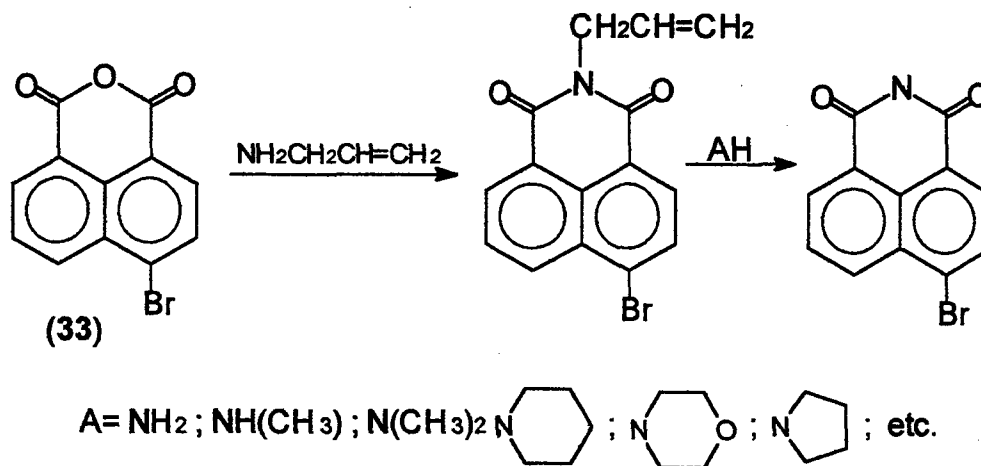
Os compostos são geralmente preparados de maneira simples, pela adição da amina apropriada (1mol) para cada mol de anidrido, sob refluxo com ácido acético. O produto pode ser purificado por recristalização com etanol (Esquema 20).



Esquema 20

Investigando novas substâncias com possível uso como corante para material polimérico, Konstantinova e colaboradores^{61,62} sintetizaram alguns 4-amino derivados da 1,8-naftalimida, contendo um grupo insaturado para copolimerização. A rota sintética está indicada no esquema 21 e os compostos foram obtidos com rendimentos acima de 90%.

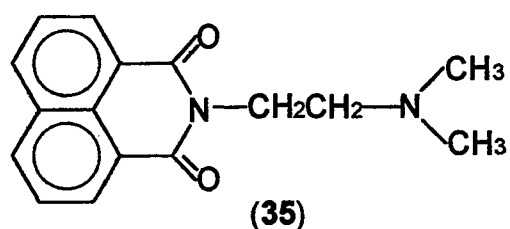
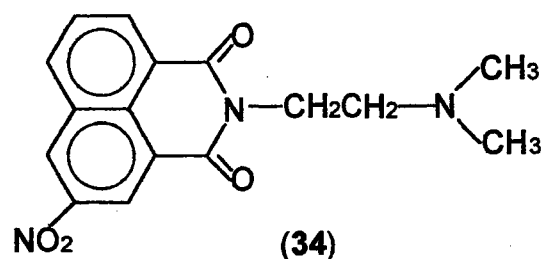
Posteriormente, diante do êxito nos trabalhos anteriores, os mesmos autores exploraram sinteticamente o composto (33), obtendo novos derivados para uso como brilho fluorescente e corante (Esquema 21)^{63,64}.



Esquema 21

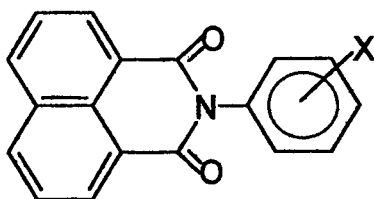
• **Aspectos biológicos:**

Algumas naftalimidias possuem atividade citostática, sendo utilizadas na oncologia. Muitos destes compostos, tiveram tal atividade avaliada e já são utilizados na terapêutica. Um exemplo característico é a *mitonafida* (N-[2-(dimetilamino)etil]-3-nitronaftalimida) (34), a qual apresentou atividade citostática contra diversos tipos de tumores^{65,66}. A *Amonofida* (3-amino-N-(2-dimetilamina)etilftalimida) (35), foi utilizada em estudos contra tumores malignos, exercendo atividade em adenocarcinoma de mama e próstata, não sendo, porém, efetiva em células do pulmão e do colo de útero⁶⁶. Antagonicamente, algumas imidas cíclicas têm apresentado efeito teratogênico em roedores⁶⁷.



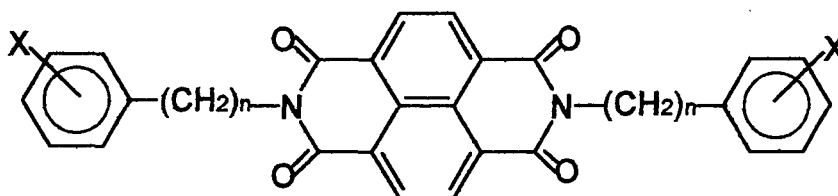
Outros compostos relacionados à Mitonafida e Amonafida são fortes candidatos ao desenvolvimento de estudos clínicos para obtenção de novos fármacos. Um exemplo disto é o derivado da Amonafida, o dietilaminetil, que demonstrou uma pronunciada atividade anti-leucêmica "in vivo"⁶⁸.

Novas N-arilnaftalimidias (36) e bis-N-arilnaftalimidias (37) foram avaliadas quanto aos seus efeitos analgésicos, no modelo de contorções abdominais em camundongos (10 mg/kg, i.p.), apresentando uma inibição de aproximadamente 90% das contorções, não havendo diferenças significativas entre os análogos. Observou-se a importância de grupos substituintes elétrondadores (como, metil e metóxi) no aumento da atividade analgésica. Alguns destes compostos mostraram-se muito mais ativos do que a aspirina e o paracetamol^{69,70}.



X = H ; 4-CH₃ ; 4-OCH₃ ; 4-Cl ; 3,4-Cl₂

(36)



X = H ; 4-CH₃ ; 4-OCH₃ ; 4-OCl ; 3,4-Cl₂

n = 0 ; 1 ; 2

(37)

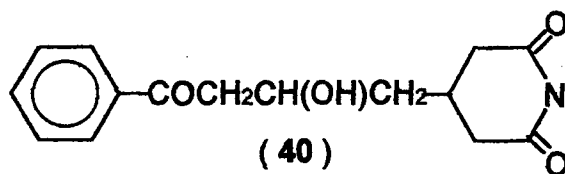
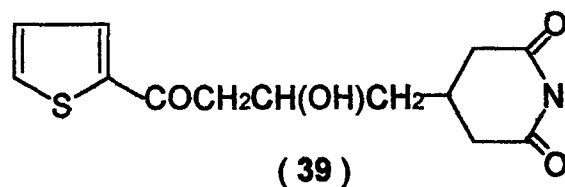
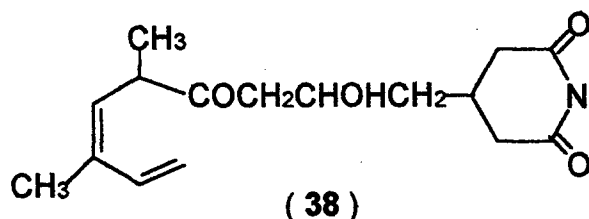
2.6. Glutarimidas:

- **Aspectos químicos:**

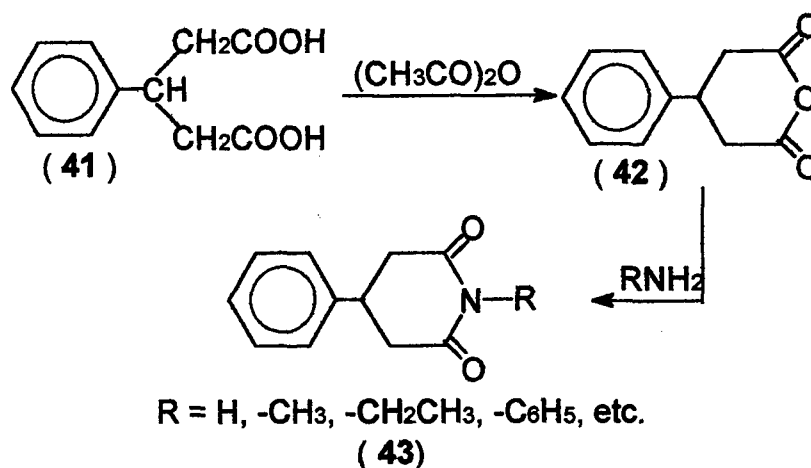
Em 1988, foi isolado e identificado um novo alcalóide da fração alcaloídica ativa da planta *Phyllanthus sellowianus*¹². O composto é derivado da glutarimida, sendo denominado Filantimida (2)¹⁰. A descoberta deste alcalóide foi o ponto de partida para nosso grupo de pesquisa iniciar os estudos de síntese e atividade biológica de imidas cíclicas. Neste contexto, cabe mencionar que muitos compostos análogos da filantimida foram sintetizados e estudados sob os aspectos biológicos, obtendo-se várias imidas cíclicas e compostos de estruturas moleculares semelhantes, que

demonstraram relevantes ações antibacterianas, fungicidas, antiespasmódicas e analgésicas⁴, cujos resultados estão sendo enfatizados no decorrer deste trabalho.

Em 1971, Douchis e Volpp⁷¹ descreveram a síntese de vários análogos do agente antifúngico e antibacteriano streptimidone (38), isolado de fungos. Os autores prepararam vários compostos, especialmente derivados do tiofeno (39) e da acetofenona (40), usando a glutarimida-β-acetaldeído como material de partida.



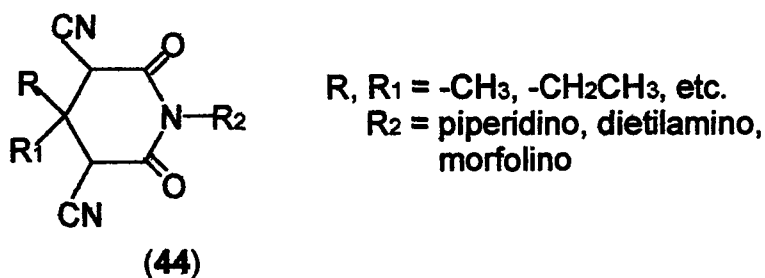
De e Pal⁷², prepararam novos derivados da glutarimida com estrutura relacionada à talidomida (1). Para tanto, o ácido 3-fenilglutárico (41) foi convertido no anidrido-3-fenilglutárico (42) pela ação do anidrido acético e subsequentemente tratado com amônia e várias outras aminas, para obter as imidas correspondentes (43) (Esquema 22).



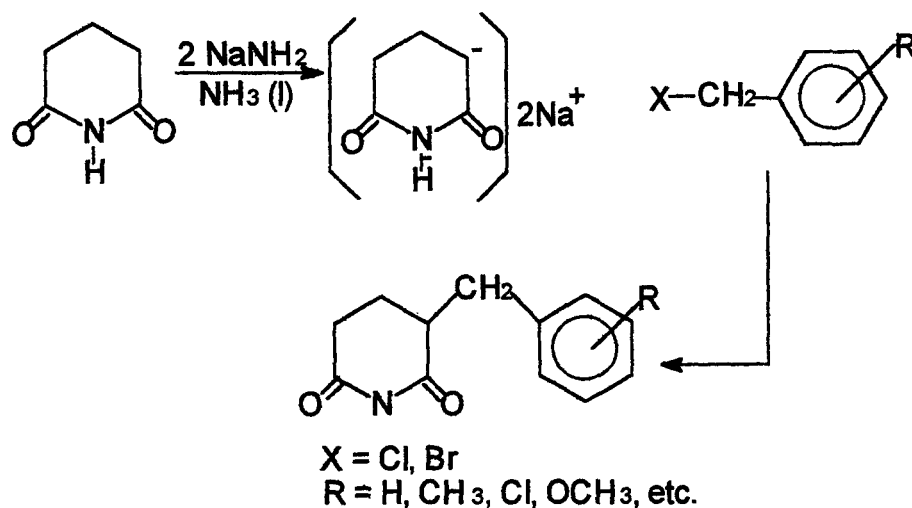
Esquema (22)

A ciclização dos derivados da glutarimida necessita de condições especiais, como o uso de um forte agente desidratante. Ao contrário, as maleimidas podem ser ciclizadas em condições experimentais mais suaves. Isto se verifica devido os correspondentes ácidos maleâmicos, que possuem uma ligação dupla no anel imídico, proporcionam uma configuração planar à molécula. Por outro lado, os ácidos glutarâmicos, que possuem um anel imídico de 6 membros, estão mais tensionados, dificultando a ciclização⁷³⁻⁷⁵.

Uma série de derivados da glutarimida contendo dois grupos ciano em posição 3 e 5 (44) do anel imídico foi sintetizada por Patel e colaboradores⁷⁶, no intuito de encontrar novos compostos com potencial farmacológico.

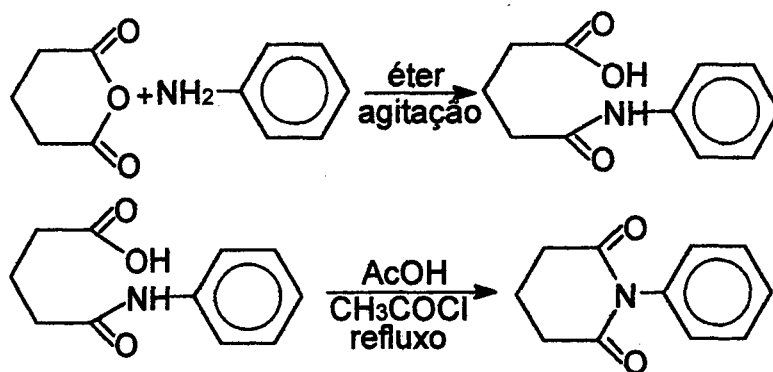


Goehring e colaboradores⁷⁷ desenvolveram uma importante e versátil rota sintética para a obtenção de 2-benzil-glutarimidas, partindo da glutarimida, formando o respectivo sal da amida e adicionando eletrófilos apropriados, como haletos de alquila, aldeídos, cetonas, etc (Esquema 23)



Esquema (23)

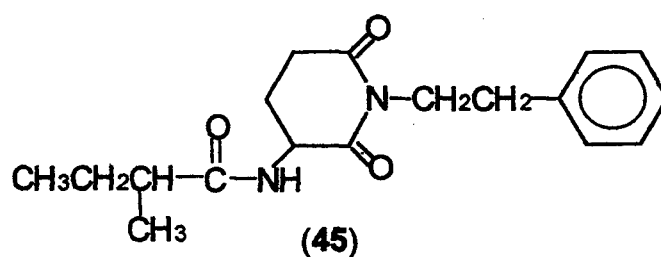
Os compostos N-aryl-glutarimidas podem ser obtidos através da reação do anidrido glutárico com anilina ou anilinas substituídas em éter, resultando nos respectivos ácidos âmicos substituídos. Estes são facilmente isolados do meio reacional por filtração ou extração. Posteriormente, utiliza-se para ciclização uma mistura de ácido acético e cloreto de acetila 1:2 (refluxo por duas horas), como agente desidratante, para a obtenção das respectivas aril-glutarimidas (Esquema 24)⁷⁵.



Esquema 24

Estes compostos podem ser geralmente isolados do meio reacional através de precipitação em banho de água-gelo e/ou extraídos primeiramente com clorofórmio e, em seguida, com uma solução 5% de bicarbonato de sódio, para neutralizar o ácido em excesso⁷⁵.

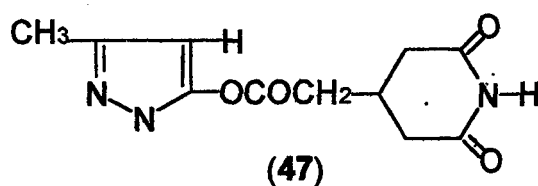
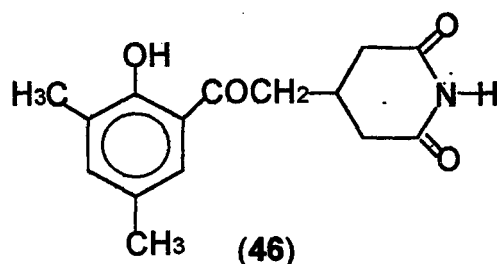
Recentemente, um novo alcalóide derivado da glutarimida foi isolado das raízes de *Croton membranaceus*, o qual foi denominado Julacrotina (45) e possui uma estrutura molecular similar à filantimida⁷⁶.



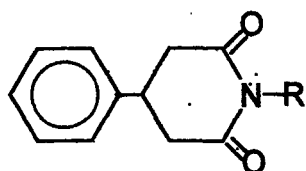
- **Aspectos biológicos:**

Vários compostos derivados da glutarimida, especialmente aqueles

substituídos e posição β do anel imídico, apresentaram atividade antifúngica contra diferentes fungos patogênicos, como os compostos (38), (39), (40), (46), (47)⁷¹.



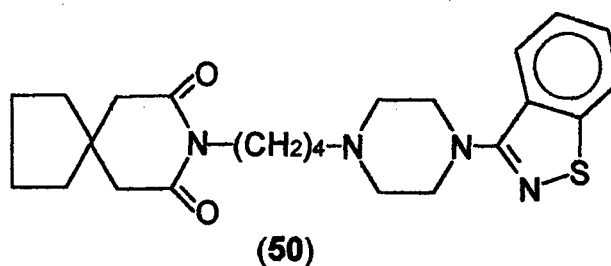
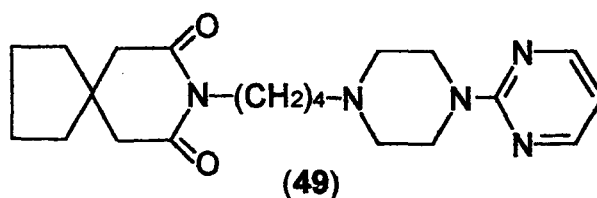
Alguns derivados da glutarimida, particularmente aqueles substituídos na posição 3 pelo grupo fenila e na posição 6, por diferentes grupos alquila, (48) demonstraram atividade antitumoral em camundongos⁷².



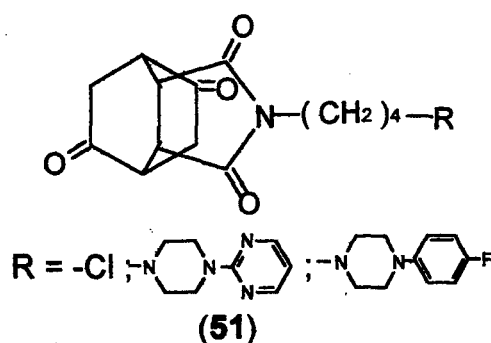
(48)

As glutarimidas pertencem a um grupo de compostos com várias ações sobre o sistema nervoso central, causando desde depressões à convulsões. Uma pequena alteração na molécula da glutarimida pode fazê-la atuar como agente convulsivo ou depressivo⁷⁹.

Algumas glutarimidas mostraram-se equipotentes e mais seletivas que o diazepam, entre outros fármacos, como é o caso da buspirona (49)⁸⁰. Estes compostos têm sido investigados quanto às suas características antipsicóticas, acreditando-se que as afinidades aos receptores de dopamina, bem como a habilidade de bloquear a catalepsia, sejam dependentes das características eletrônicas e lipofílicas dos substituintes empregados. Um exemplo desta nova classe de fármacos antipsicóticos é a tiospirona (50), já utilizada na terapêutica, tendo demonstrado reduzidos efeitos colaterais e forte efeito antagonista serotoninérgico⁸¹.

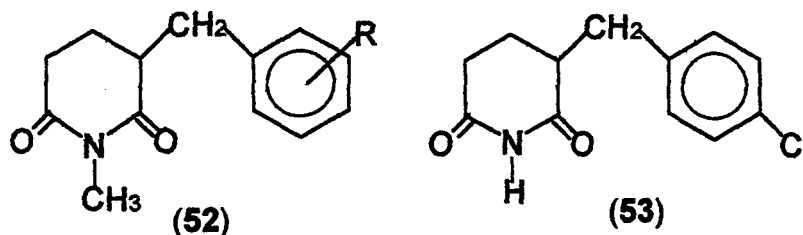


Como a buspirona está inserida entre os fármacos mais utilizados no tratamento de doenças mentais, demonstrando uma forte atividade ansiolítica, alguns análogos, como as *N*-{4-(4-*aril*)-1-piperazinil-*alquil*}-5,7-dioxabicyclo [2,2,2] octano-2,3-dicarboximidas (51), foram obtidos a partir de uma cicloadição de Diels-Alder. Estas imidas cíclicas *N*-substituídas apresentaram atividade sobre o sistema nervoso central, como a esperada atividade ansiolítica⁸².

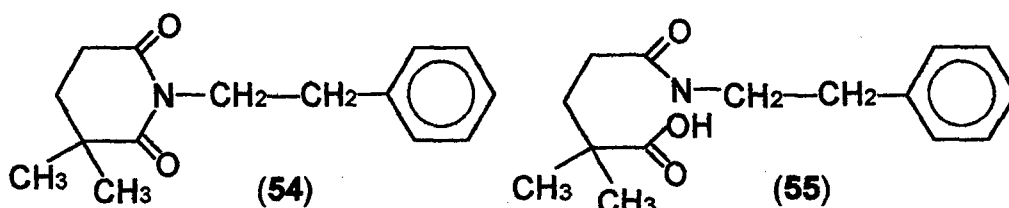


Patel e colaboradores⁷⁶ investigaram distintas propriedades farmacológicas dos derivados da glutarimida contendo 2 grupos ciano, indicados anteriormente, observando que alguns compostos induzem depressão hipnótica. Porém, são praticamente destituídos de efeitos anticonvulsivantes, analgésicos e antipiréticos quando analisados em modelos convencionais em ratos e camundongos⁷⁶ em doses inferiores a 32 mg/Kg, via i.p.

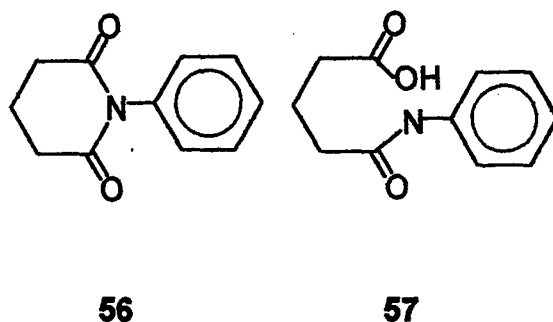
Goehring e colaboradores⁷⁷ estudaram uma série de 2-Benzilglutarimidas e seus N-metil análogos (52), observando que alguns compostos apresentaram promissores efeitos anticonvulsivantes em ratos e camundongos. O composto (53) foi o mais potente testado, emergindo como um candidato a um novo fármaco, sendo mais potente do que alguns fármacos usados na clínica e destituído de efeito tóxico⁷⁷.



O composto 2,2-dimetil-N-fenetil-glutarimida (**54**) e seu respectivo ácido âmico (**55**), apresentaram promissor efeito analgésico ao inibir as contorções abdominais causadas pelo ácido acético em camundongos. O composto (**55**) causou uma discreta atividade analgésica, inibindo 31% das contorções abdominais (30 mg/kg), enquanto o composto (**54**) apresentou uma DI_{50} de 11 $\mu\text{mol/kg}$, sendo cerca de 12 vezes mais potente do que alguns medicamentos utilizados na terapêutica como os analgésicos aspirina e paracetamol^{13,32}.



Mais recentemente, confirmou-se que as N-aryl glutarimidas (**56**) e seus respectivos ácidos âmicos (**57**) também são efetivos analgésicos, tanto no modelo de dor induzida pelo ácido acético, como no modelo da formalina, ambos em camundongos. Foi verificado que a maioria dos compostos testados são mais eficazes do que a aspirina, paracetamol e indometacina⁷⁵.



Estudos recentes têm demonstrado que o grupo glutarimídico substituído em posição α ou β no anel, age como uma molécula carreadora, trasportando biologicamente os substituintes ativos através das membranas celulares⁸³.

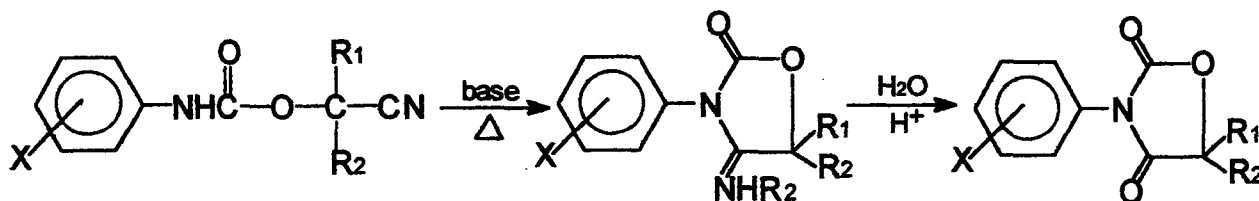
2.7. Outras Imidas Cíclicas:

- **Aspectos químicos e biológicos:**

Além das sub-classes de imidas cíclicas mencionadas anteriormente, outras têm sido estudadas em menor grau, e alguns exemplos são ilustrados a seguir.

Fujinami e colaboradores⁸⁴ investigaram o potencial antifúngico de várias substâncias (oxazolidinas) estruturalmente relacionadas à succinimida, especialmente contra o fungo *Sclerotinia sclerotiorum*.

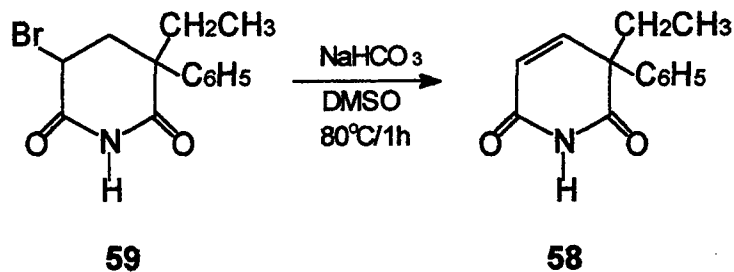
Os compostos foram obtidos pela rota indicada no esquema (25) e alguns deles demonstraram interessante perfil antifúngico.



X=H, 2-Cl, 3-Cl, 4-Cl, 2-Br, ...
R₁=R₂=H, CH₃

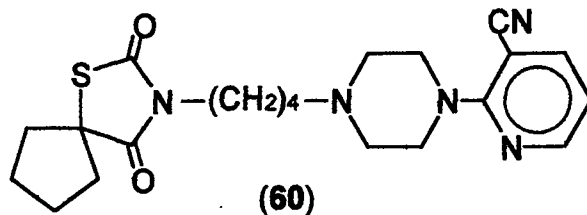
Esquema 25

Aboul-Enein⁸⁵ obteve uma nova glutaconimida (58) com excelente rendimento (96%) a partir da glutarimida (59), usando bicarbonato de sódio e dimetil sulfóxido a 80°C por uma hora, conforme ilustrado no esquema(26).



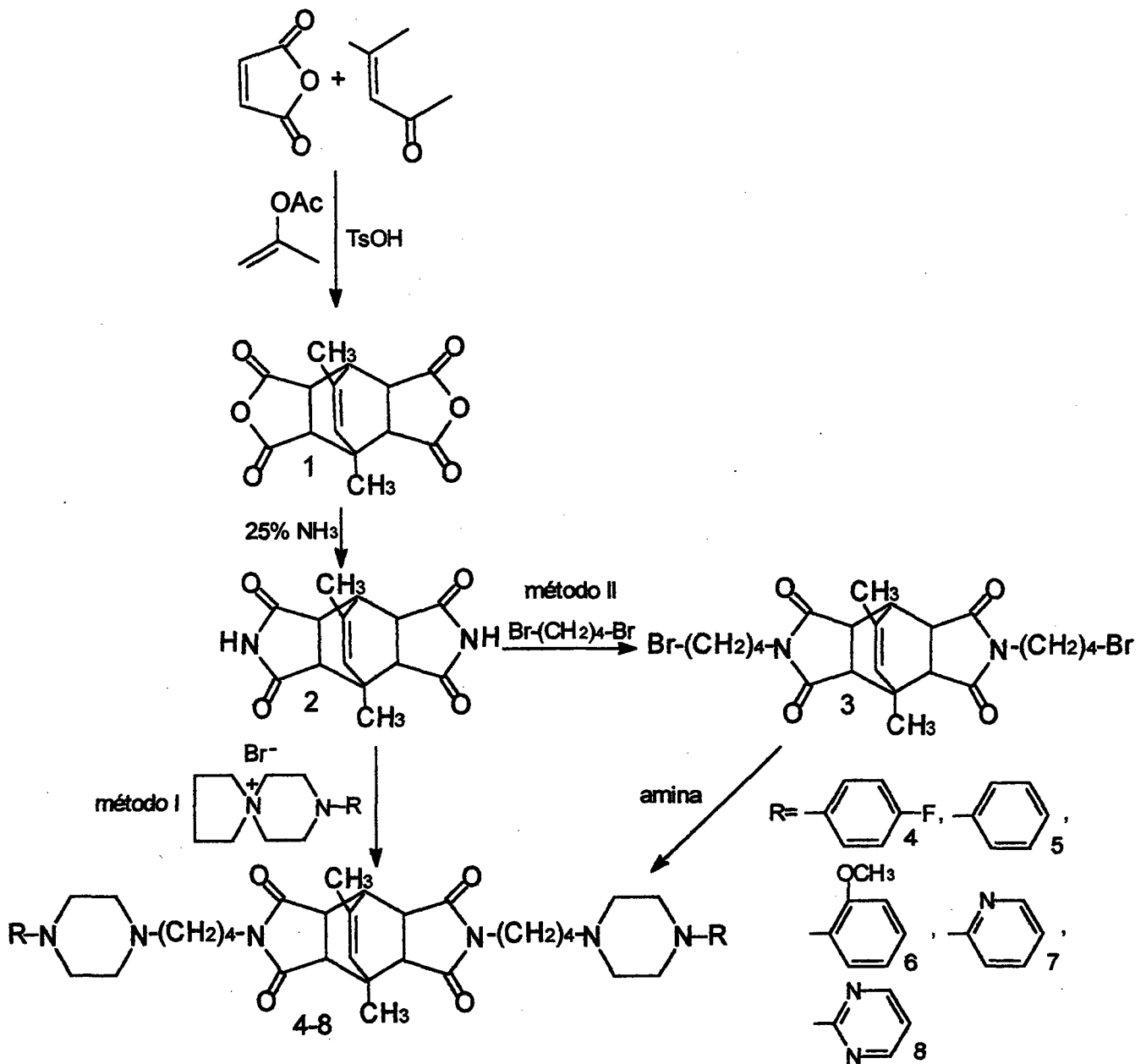
Esquema 26

Buscando obter novos fármacos similares à Tiospirona (50), New e colaboradores⁸⁶ sintetizaram vários análogos contendo heteroátomos inseridos no anel imídico. Entre os vários compostos analisados como possíveis agentes antipsicóticos, o composto (60) foi o que apresentou os melhores resultados, demonstrando um mecanismo de ação seletivo e poucos efeitos colaterais, sendo um forte candidato a novo fármaco.

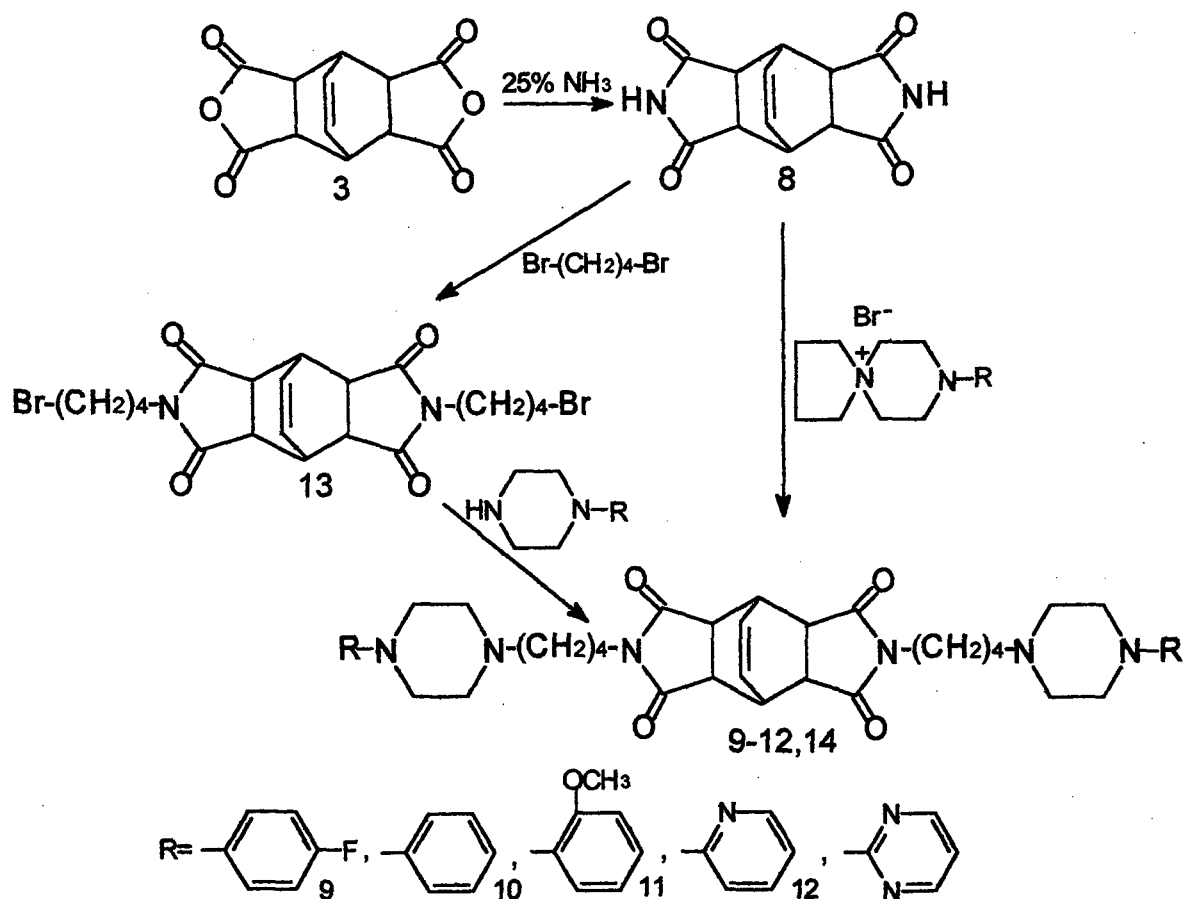


Pesquisadores poloneses tem focado a atenção para a descoberta de compostos que atuam sobre o sistema nervoso central e constataram que várias carboximidaz atuam como antipsicóticos e antiansiolíticos, alguns deles possuindo afinidades com o receptor 5-HT_{1A}^{82,87,88}.

Tais compostos foram obtidos usando as rotas indicadas nos esquemas (27 e 28)

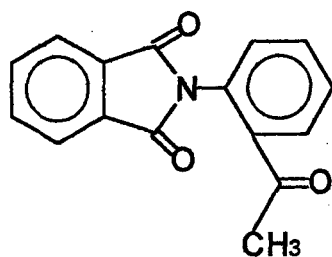


Esquema 27

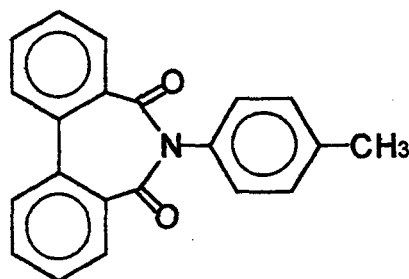


Esquema 28

Poucos estudos relativos à toxicidade de imidas cíclicas foram relatados na literatura. Um dos raros estudos demonstrou que o derivado da ftalimida (61) e uma difenamida (62) não apresentaram propriedades tóxicas comprometedoras em roedores e tampouco atuam sobre a fertilidade destes animais⁶⁷.

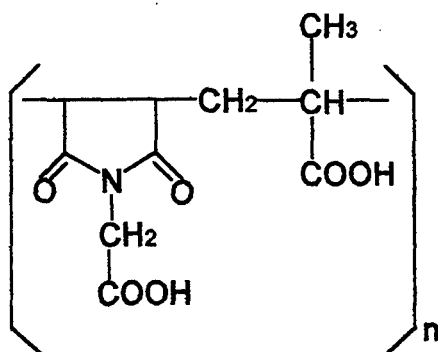


61

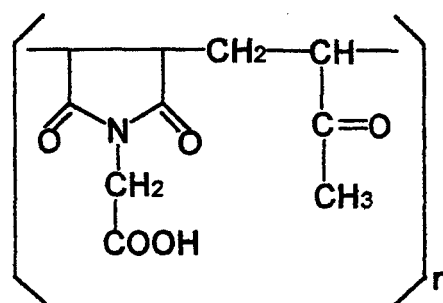


62

Os fármacos poliméricos têm recebido muita atenção nos últimos anos e suas atividades biológicas, tais como antitumoral, antiviral, antibacteriana e fungicida, tem sido relatadas. Copolímeros do tipo poli (GMI-co-MA) (GMI - N-glicinilmaleimida, e MA - ácido metacrílico) (63) e poli (GMI-co-Vac) (Vac, acetato de vinila) (64) apresentaram atividade antitumoral "in vivo"⁸⁹.



63



64

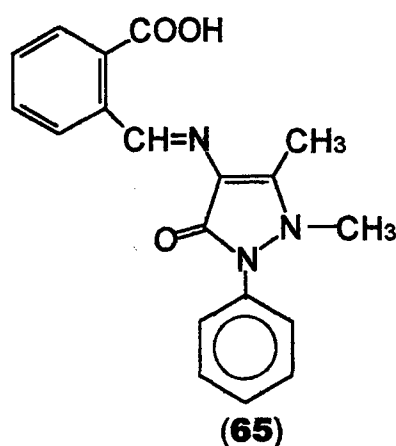
Alquil éteres, tioéteres, sulfóxidos e sulfonas derivados de succinimidas cíclicas mostraram possuir potente atividade hipolipidêmica em doses de 10 e 20 mg/Kg em roedores. Foi ainda estabelecida uma correlação entre a

estrutura química dos compostos e a atividade biológica aferida, bem como mostrado o efeito causado pelas imidas cíclicas na absorção de lipídios do intestino de roedores⁵²⁻⁵⁴.

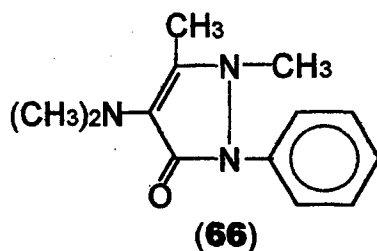
2.8. Antipirina e Derivados

A antipirina ou fenazona (3) foi descoberta em 1887, por Luswig Knorr, enquanto ele buscava encontrar antipiréticos do tipo quinolina. Esta descoberta foi responsável pelo início da grande indústria de medicamentos alemã, que dominou o mercado por 40 anos. Desde sua introdução na medicina, já foram pesquisados mais de 1000 compostos visando encontrar outros fármacos mais potentes e com menor toxicidade⁹⁰.

Após a descoberta da antipirina (3), aumentou muito o interesse nos derivados do pirazol. Lefebvre e colaboradores⁹¹ sintetizaram algumas amidas piperidínicas, morfolínicas, pirrolidínicas e metilpiperazínicas do ácido opiânico, pela reação de seus grupos aldeídicos com aminoantipirina, resultando em iminas e avaliaram suas propriedades analgésicas. O composto (65) foi o derivado que apresentou a maior atividade analgésica, causando inibição de 95%, no modelo de contorção abdominal induzida por ácido acético em uma dose de 500 mg/kg via intraperitoneal.



Muitas modificações na estrutura da antipirina (3) já foram feitas com sucesso, entre elas a aminopirina (66), a qual tem sido empregada como antipirético e analgésico, porém apresenta uma ação mais lenta. Entretanto, uma das suas principais desvantagens é a possibilidade de produzir agranulocitose fatal⁹⁰.



Um estudo sobre o potencial reflexo espinhal em gatos sugere que a ação excitatória da aminopirina (66) pode estar parcialmente relacionada à 5-hidroxitriptamina e não ligada ao mecanismo GABAérgico. Entre os derivados pirazolona estudados, a isopropilantipirina a 50 mg/kg, i.v. produziu aumento do MSR e PSR (potencial reflexo mono- e poli-sináptico) e a antipirina e a 4-aminoantipirina na mesma dose não afetaram o potencial reflexo⁹².

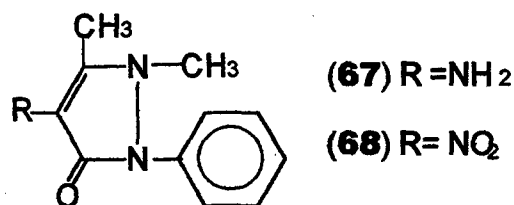
O composto (66) foi avaliado como um estimulante do SNC, demonstrando previamente que seu efeito inibitório sobre o potencial reflexo de origem dorsal foi revertido por diazepam, porém o efeito potencializador sobre o potencial reflexo mono- e poli-sináptico não foi afetado pelo fármaco, sugerindo mecanismos diferentes para a supressão e a potencialização dos respectivos reflexos⁹³.

Um estudo toxicológico em pacientes que haviam sido tratados com aminopirina (66), demonstrou a ocorrência não usual da 4-aminoantipirina (4-AAP) (67) em seus fluídos biológicos, sangue e/ou urina. Esta detecção, realizada por espectroscopia de ultravioleta (UV) e/ou por cromatografia de camada delgada (CCD), é muito importante no ponto de vista analítico, uma vez que a 4-AAP deve estar presente em condições suficientemente altas, o que pode dificultar a detecção de outras bases fracas que podem estar presentes concomitantemente (por exemplo, clordiazepóxido, certos antihistamínicos, entre outros). E, do ponto de vista clínico, a presença da 4-AAP sugere uma prévia ingestão da aminopirina, levando a realizar-se uma avaliação hematológica do paciente. Além disso a análise da 4-AAP no sangue deve ser levada em conta nos casos de agranulocitose inexplicada⁹⁴.

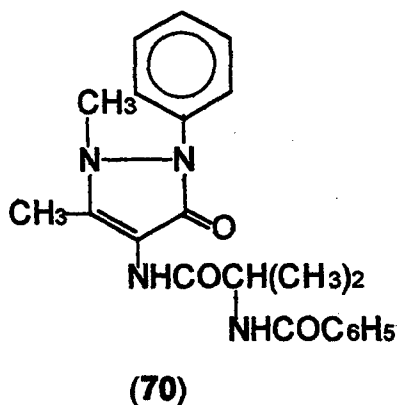
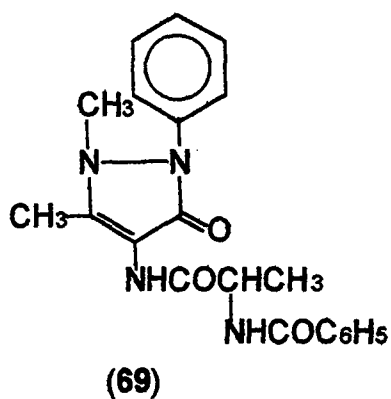
Atualmente, novas formas de detecção da antipirina, bem como de seus derivados fenólicos, têm sido estudadas, como a determinação em plasma com extração por fase sólida e cromatografia líquida de alta performance por fase reversa com espectroscopia de massas (RP-HPLC-MS)⁹⁵.

A antipirina (64) e seus análogos 4-substituídos, tais como a 4-aminoantipirina (67), 4-dimetilaminoantipirina (aminopirina) (66) e 4-

nitrosoantipirina (**68**) foram testados para a mutagenicidade contra *Salmonella typhimurium*. Os compostos (**3**) e (**66**) não foram mutagênicos para todas as cepas testadas, mesmo na presença de S9 (modulador metabólico). A 4-aminoantipirina (**67**) foi diretamente mutagênica somente para TA97 e, a presença de S9 aumentou levemente sua atividade⁹⁶.

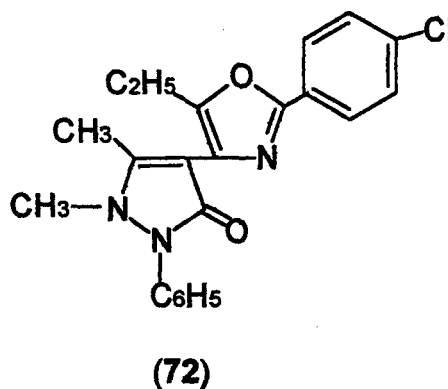
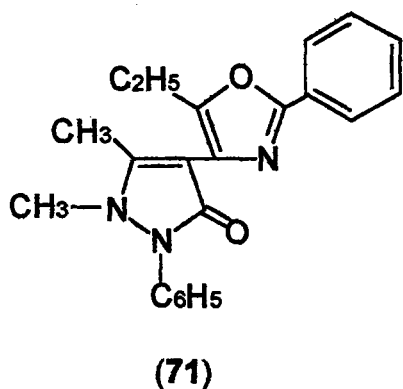


A 4-aminoantipirina (**67**) foi tratada com diferentes aminoácidos N-protetidos na presença de N,N'-dicioexilcabodiimida para formar N-(antipirinilcabamoil) substituídos alquil benzamidas. Estes compostos foram analisados quanto às suas atividades antidepressivas e, entre eles foi observado que compostos contendo grupamentos etil (**69**) ou isopropil (**70**) foram os mais efetivos em todos os parâmetros testados. Eles foram mais ativos que imipramina, um fármaco utilizado na terapêutica⁹⁷.

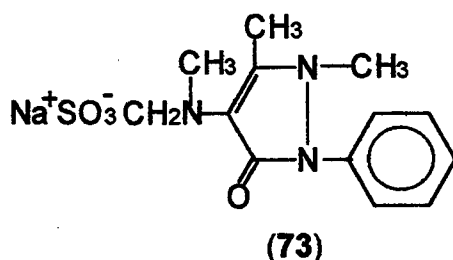


Estudos anteriores foram realizados no NIQFAR e na UFSC procurando obter compostos farmacologicamente ativos e estruturalmente relacionados às imidas cíclicas. Assim, foram sintetizados diferentes compostos e analisados quanto a possível atividade analgésica. O composto (13), mais ativo, continha a estrutura da antipirina (3) diretamente ligada ao anel imídico. Este composto foi aproximadamente 50 vezes mais ativo que fármacos de referência como aspirina e paracetamol. Contudo, todos os animais morreram após o tratamento com este composto, sugerindo altos efeitos tóxicos³².

Outros pesquisadores avaliaram alguns compostos oxazólicos quanto as suas atividades analgésica e antiinflamatória. Os resultados destes testes demonstraram que a presença do resíduo etil na posição 5 do anel oxazólico aumentou significativamente a atividade analgésica destes compostos. Os compostos (71) e (72) exibiram uma atividade superior à dos fármacos padrões testados para efeito de comparação. Quanto a atividade antiinflamatória, nenhum dos compostos apresentou efeito promissor⁹⁶.



Um derivado da aminopirina, a dipirona (73) é um efetivo analgésico e antipirético não esteroideal utilizado em larga escala nos últimos tempos, porém também tem sido o fármaco mais freqüentemente associado a agranulocitose . Nos Estados Unidos seu uso foi proibido desde 1977 e atualmente também está proibido no Canadá e em um grande número de países da Europa ocidental⁹⁹. Porém está especificado no "Martindale: The Extra Pharmacopéia" que o uso da dipirona é justificado somente em casos de dor severa quando nenhuma outra alternativa é disponível e adequada¹⁰⁰.



O metabolismo da dipirona (73) é diminuído em portadores assintomáticos de hepatite B viral. Clinicamente, infecções latentes com o vírus da hepatite B parece exercer um efeito diferencial sobre o metabolismo do fármaco. Rotas oxidativas para produzir 4-aminoantipirina e 4-formilaminoantipirina foram afetadas, enquanto que a acetilação permaneceu intacta. Este estudo fornece um exemplo adicional sobre o efeito de um vírus sobre a disposição de um fármaco¹⁰¹.

Após a administração oral da dipirona (73) ela é convertida por hidrólise em 4-metilaminoantipirina e este é posteriormente metabolizado em 4-

formilaminoantipirina, 4-aminonantipirina e 4-acetilaminoantipirina. Ainda é discutido se o sítio de ação da dipirona é o sistema nervoso central ou periférico. Após a administração sistêmica de dipirona, todos os metabólitos foram encontrados no fluido cérebroespinal. O curso concentração-tempo dos metabólitos da dipirona no fluido cérebroespinal ocorreu de acordo com a concentração plasmática e o efeito analgésico da dipirona¹⁰².

Relatos espontâneos e resultados de estudos individuais podem distorcer a avaliação da segurança de fármacos. Foram identificados estudos epidemiológicos publicados de 01/1970 a 12/1995, que investigaram a associação de sérios efeitos adversos à aspirina, diclofenaco, acetaminofen e dipirona para determinar e comparar o excesso de mortalidade associado com o uso a curto prazo dos fármacos. O excesso estimado de mortalidade devido a comunidade adquirir agranulocitose, anemia aplástica, anafilaxia e sérias complicações gastrointestinais foi de 185, 592, 20 e 25 por 100 milhões, respectivamente, aos fármacos mencionados acima. A estimativa foi largamente influenciada pelo excesso de mortalidade associado com complicações gastrointestinais¹⁰³.

A potência e a concentração dependente para a antinocicepção causada pela dipirona, administrada subplantarmente por rotas espinal e supraespinal, contra a dor induzida pela formaiina e capsaicina é particularmente relevante, pois a maioria dos fármacos antiinflamatórios não esteroidais testados foram relatados como inativos para prevenir a dor neurogênica induzida pela formalina (primeira fase) ou capsaicina^{104, 105}. Tais resultados sugerem que a dipirona tem um adicional e interessante mecanismo

de ação analgésica além da conhecida inibição dos produtos da ciclooxigenase derivados do ácido aracdônico^{106, 107}.

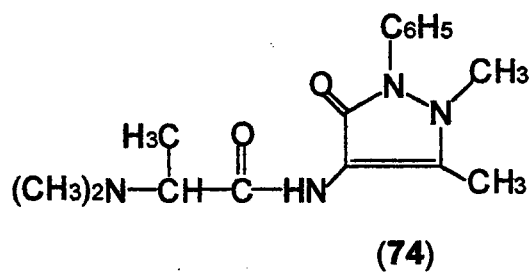
O mecanismo preciso da ação antinociceptiva da dipirona ainda não está totalmente determinado, mas é improvável estar associado a uma interação com peptídeos opióides, receptores GABA_B, sistema serotonina, interação com ATP e canais sensíveis a potássio, rotas de óxido nítrico L-arginina, participação da proteína G_i/G_o sensível a toxina pertussis (administrada intracerebroventricular) ou por modulação de hormônios adrenais. Contudo, a antinocicepção da dipirona parece estar relacionada a sua habilidade de modular a liberação de aminoácidos excitatórios e/ou ação sobre o cordão espinhal. Finalmente, uma interação direta da dipirona com a ligação do glutamato sobre seus receptores também pode fazer parte da ação antinociceptiva¹⁰⁸.

Os resultados de um estudo sobre os efeitos analgésicos da fenacetina, do acetaminofen e da dipirona indicaram que os efeitos antinociceptivo refletem uma combinação das ações periféricas e centrais, nenhum deles envolve inibição da ciclooxigenase. O componente central dos efeitos antinociceptivo pode ser relatado para a ativação dos mecanismos cerebrais que envolvem reforço¹⁰⁹.

Também relatam-se estudos sobre a eficácia, tolerância e segurança da dipirona (73) sobre a dor e a febre em crianças mostrando que na dose de 10 a 15 mg/kg/dose a cada 6-8 horas é efetivo e seguro¹¹⁰.

Outro analgésico e antiinflamatório não esteroideal é o aminopropilon (74), utilizado em preparações tópicas, usualmente em uma concentração de

5%, junto com um heparinóide para o tratamento de dores e inflamações locais^{100,111}.



3. OBJETIVOS

3.1. Objetivos gerais

- Sintetizar diferentes imidas cíclicas derivadas da 4-aminoantipirina e compostos relacionados.
- Analisar os efeitos biológicos destas substâncias em diferentes experimentos "in vitro" e "in vivo".
- Realizar modificações estruturais no composto mais ativo, visando observar uma possível relação estrutura-atividade.

3.2. Objetivos específicos

- Obter, através de reações entre a 4-aminoantipirina e diferentes anidridos, os respectivos ácidos âmicos e imidas cíclicas;
- Otimizar as condições reacionais do composto mais ativo, afim de diminuir o tempo reacional e aumentar o rendimento;
- Analisar os resultados dos compostos sintetizados quanto a possível atividade analgésica, em distintos modelos de dor em camundongos, e a atividade antimicrobiana, contra bactérias e levedura;
- Comparar a atividade dos compostos em estudo com a atividade de fármacos disponíveis no mercado farmacêutico;
- Avaliar, quando possível, a correlação entre estrutura química e atividade biológica, visando obter dados para a síntese reacional de compostos mais potentes;

4. METODOLOGIA

4.1. Caracterização dos compostos

Utilizou-se cromatografia em camada delgada para a análise da pureza dos compostos sintetizados, os quais foram caracterizados através do ponto de fusão, por espectroscopia no infravermelho, por ressonância magnética nuclear de ^1H e ^{13}C , conforme necessário para a determinação estrutural dos mesmos.

Para a cromatografia em camada delgada utilizou-se placas cromatográficas de alta resolução (HRTLC) de sílica gel PF₂₅₄ em folhas de alumínio Sigma, utilizando o sistema de solventes clorofórmio/metanol (90:10). Os solventes utilizados foram adquiridos comercialmente da Aldrich, Merck, etc..Os "spots" foram visualizados através de luz UV de ondas curtas e vapor de iodo.

Os pontos de fusão dos compostos foram determinados com um aparelho Microquímica APF-301 e não foram corrigidos.

Os espectros de infravermelho foram obtidos em espectrofotômetro Bomem 100 (NIQFAR/UNIVALI), com as substâncias incorporadas em pastilhas de KBr, sendo que as absorções foram registradas em escala de centímetro recíproco (cm^{-1}).

Os espectros de ressonância magnética nuclear de ^1H e de ^{13}C foram obtidos em espectrômetro Brucker 200 MHz (Departamento de Química/UFSC) e um Gemini 300 MHz (Departamento de Química/UEM) usando como solvente CDCl_3 ou $\text{DMSO-}d_6$ adquiridos comercialmente da Aldrich. Os deslocamentos químicos foram expressos em valores adimensionais δ (ppm) em relação a um padrão interno de tetrametilsilano (TMS).

4.2. Reagentes

Os reagentes de partida (anidrido 3,4-dicloromaleico, anidrido glutárico, anidrido 3,3-dimetilglutárico, anidrido ftálico, anidrido tetrabromoftálico, anidrido bisnaftálico, anidrido succínico e 4-aminoantipirina) foram adquiridos da Aldrich Chemical Company, Inc.. Os demais reagentes e solventes foram adquiridos das seguintes empresas: Merck, Reagen, Vetec-Química Fina Limitada, Quimex, Nuclear e Grupo Química.

Os solventes orgânicos e reagentes, quando impuros, foram tratados com métodos tradicionais descritos na literatura.

4.3. Síntese dos Compostos:

4.3.1. Síntese dos derivados da 4-aminoantipirina

N-antipirino-3,4-dicloromaleimida (75)

Visando otimizar as condições reacionais foram realizados 3 métodos para a síntese deste composto:

MÉTODO A:

Ao anidrido 3,4-dicloromaleico (0,2g, 1 mol) foi adicionado éter etílico absoluto sob agitação à temperatura ambiente e a 4-aminoantipirina, também dissolvida em éter etílico absoluto. A mistura permaneceu sob agitação por 1 hora. O precipitado formado foi filtrado e o produto foi obtido de coloração bege escura (0,10g). R = 22,5%.

OBS = o composto modificou sua aparência em 24 horas, tornando-se um líquido escuro. Por cromatografia de camada delgada pode-se observar a degradação do produto com o aparecimento de diversas manchas. Assim, não foi possível formar o produto desejado a partir do seu ácido âmico.

MÉTODO B:

Ao anidrido 3,4-dicloromaleico (0,5g, 1mol) e a 4-aminoantipirina (0,608g, 1mol) foi adicionado anidrido acético (1,22g, 4 mol) contendo acetato de sódio anidro (0,123g, 0,5 mol) e deixado em banho maria por 60 minutos, à temperatura de aproximadamente 60 °C, com agitação ocasional. Após resfriada a temperatura ambiente, a mistura reacional foi vertida sob 200 mL de água + gelo picado. O precipitado foi, então, filtrado por sucção, lavado com água gelada (2x 20 mL) e secado sob vácuo, na presença de pentóxido

de fósforo, por 12 horas. O composto obtido apresentou coloração amarela (0,33g), R= 31,6%.

MÉTODO C:

Ao anidrido 3,4-dicloromaleico (0,1g, 1mol) foi adicionado ácido acético glacial (10 mL) e a 4-aminoantipirina (0,122g, 1mol), também dissolvida em ácido acético glacial (10 mL). A mistura foi aquecida sob refluxo por 6 horas. Após, a mistura foi vertida sobre água e gelo (100 mL). O precipitado formado foi filtrado, lavado com água e recristalizado em diclorometano/hexano para obter o produto puro, de coloração amarela (0,9g). Este foi considerado o melhor método para a síntese considerando o rendimento da reação.

F.M.=C₁₅H₁₁N₃O₃Cl₂ (352), R. = 74,1%, p.f. =208,2 – 209,2°C.

IV (KBr) ν (cm⁻¹): C=O (imida): 1796,6; 1742,1; C=O (antipirina): 1637,9.

RMN-¹H(CDCl₃) δ (ppm): 2,20 (s, 3H, CH₃) ; 3,23 (s, 3H, N-CH₃) ; 7,35 – 7,48 (m, 5H, ar).

RMN-¹³C(CDCl₃) δ (ppm): 10,88 (q, CH₃) ; 35,19 (q, N-CH₃) ; 100,30 (s, C=C) ; 124,49 (s, C ar) ; 125,13 (d, CH ar) ; 127,71 (d, CH ar) ; 129,38 (d, CH ar) ; 133,92 (2s, C-Cl) ; 134,18 s, (C-N) ; 152,47 (s, C=O) ; 160,38 (s, C=O) ; 161,77 (s, C=O).

Ácido N-antipirino-succinâmico (76)

Ao anidrido succínico (0,2g, 1 mol) foi adicionado éter etílico absoluto

sob agitação à temperatura ambiente e a 4-aminoantipirina também dissolvida em éter etílico absoluto. A mistura permaneceu sob agitação por 1 hora. O precipitado formado foi filtrado e o produto puro foi obtido de coloração amarelo claro (0,29g).

F.M.= $C_{15}H_{17}N_3O_4$ (303), **R.**=48,4%, **p.f.**=207,2-208,2 °C.

IV (KBr) ν (cm^{-1}): NH-C=O: 3285,42; COOH: 2652,70 (b.l.); C=O (imida): 1742,9; 1667,7; C=O (antipirina): 1619,2.

RMN- 1H ($CDCl_3$) δ (ppm): 2,15 (s, 3H, CH_3) ; 2,58 (t, 2H, CH_2) ; 2,59 (t, 2H, CH_2) ; 3,06 (s, 3H, N- CH_3) ; 3,4 (NH) ; 7,28 – 7,46 (m, 5H, ar) ; 9,01 (s, 1H, COOH).

RMN- ^{13}C ($CDCl_3$) δ (ppm): 10,24 (q, CH_3) ; 27,96 (t, CH_2) ; 28,91 (t, CH_2) ; 34,74 (q, N- CH_3) ; 106,95 (s, C=C) ; 122,36 (d, CH ar) ; 124,98 (d, CH ar) ; 127,62 (d, CH ar) ; 133,57 (s, C ar) ; 150,16 (s, C-N) ; 160,57 (s, C=O) ; 169,65 (s, C=O) ; 172,74 (s, C=O).

N-antipirino-succinimida (77)

Ao ácido N-antipirino-succinâmico (0,145g, 1mol) foi adicionado ácido acético glacial (20 mL). A mistura foi aquecida sob refluxo por 6 horas. Verteu-se a mistura sobre água/gelo (100 mL), não houve precipitação e o produto foi extraído com clorofórmio. Purificou-se o produto através de uma coluna de sílica gel, utilizando como eluente uma mistura de diclorometano/metanol (98:2), obtendo o produto puro de coloração amarelo claro (0,05g).

F.M.= $C_{15}H_{15}N_3O_3$ (285), **R**= 37,4%, **p.f.**=201-203 °C.

IV (KBr) ν (cm^{-1}): C=O (imida): 1781,0; 1717,1; 1707,0; C=O (antipirina): 1665,7.

RMN- 1H ($CDCl_3$) δ (ppm): 2,16 (s, 3H, CH_3) ; 3,17 (t, 2H, CH_2) ; 3,18 (t, 2H, CH_2) ; 3,20 (s, 3H, N- CH_3) ; 7,41 – 7,44 (m, 5H, ar).

RMN- ^{13}C ($CDCl_3$) δ (ppm): 11,04 (q, CH_3) ; 28,53 (2t, CH_2) ; 35,31 (q, N- CH_3) ; 109,86 (s, C=C) ; 118,90 (s, C ar) ; 124,92 (d, CH ar) ; 127,41 (d, CH ar) ; 129,26 (d, CH ar) ; 134,11 (s, C-N) ; 151,98 (s, C=O) ; 160,29 (s, C=O) ; 175,83 (s, C=O).

Ácido N-antipirino-glutarâmico (78)

Metodologia similar ao composto (76). O produto obtido apresentou coloração amarelo claro.

F.M.= $C_{16}H_{19}N_3O_4$ (317), **R**=73,7%, **p.f.** = 194,7 – 196,8°C.

IV (KBr) ν (cm^{-1}): NH-C=O: 3315,8; COOH: 2650 (b.l.); C=O (imida): 1715,1; 1689,8; C=O (antipirina):1638,1.

RMN- 1H ($CDCl_3$) δ (ppm): 1,94 (q, 2H, CH_2) ; 2,18 (s, 3H, CH_3) ; 2,35 (m, 4H, CH_2) ; 3,08 (s, 3H, N- CH_3) ; 3,25 (NH) ; 7,34 – 7,46 (m, 5H, ar) ; 8,88 (s, 1H, COOH).

RMN- ^{13}C ($CDCl_3$) δ (ppm): 10,52 (q, CH_3); 19,67 (t, CH_2) ; 32,07 (t, CH_2) ; 33,51 (t, CH_2) ; 34,89 (q, N- CH_3) ; 107,22 (s, C=C) ; 122,63 (d, CH ar) ; 125,24 (d, CH ar) ; 127,81 (d, CH ar) ; 133,70 (s, C ar) ; 150,07 (s, C-N) ; 160,76 (s,

C=O) ; 170,59 (s, C=O) ; 173,51 (s, C=O).

N-antipirino-glutarimida (79)

Metodologia similar ao composto (77). Purificou-se o produto através de uma coluna de sílica gel, utilizando como eluente uma mistura de clorofórmio/metanol (98:2), obtendo o produto puro de coloração amarelo claro
F.M.= C₁₆H₁₇N₃O₃ (299,2), R=48,5%, p.f. = 115,1-117,6 °C.

IV (KBr) ν (cm⁻¹): C=O (imida): 1727,4; 1725,5; C=O (antipirina): 1650,2.

RMN-¹H(CDCl₃) δ (ppm): 2,10 (s, 3H, CH₃) ; 2,70 (m, 6H, CH₂) ; 2,95 (s, 3H, N-CH₃); 7,15 – 7,64 (m, 5H, ar).

4-acetamido-antipirina (80)

Este composto foi obtido como um produto secundário da desidratação dos compostos (76) e (78), e foi isolado através de cromatografia de coluna com sílica gel, na purificação dos compostos (77) e (79). O produto obtido apresentou coloração amarelo forte.

F.M.= C₁₃H₁₅N₃O₂ (245), R= 30,2%, p.f.= 202,9 – 205,2 °C.

IV (KBr) ν (cm⁻¹): NH-C=O: 3239,0; C=O (amida): 1671,0; 1650,4; C=O (antipirina):1634,8.

RMN-¹H (CDCl₃) δ (ppm): 2,05 (s, 3H, CH₃) ; 2,18 (s, 3H, CH₃) ; 3,08 (s, 3H, N-

CH₃) ; 4,85 (NH) ; 7,34 – 7,46 (m, 5H, ar) ; 9,40 (s, 1H, COOH).

RMN-¹³C (DMSO_{d6}) δ (ppm): 16,25 (q, CH₃) ; 27,65 (q, CH₃) ; 41,17 (q, N-CH₃) ; 112,92 (s, C=C) ; 128,40 (d, CH ar) ; 131,30 (d, CH ar) ; 134,20 (d, CH ar) ; 140,20 (s, C ar) ; 157,48 (s, C-N) ; 166,99 (s, C=O) ; 173,89 (s, C=O).

Ácido N-antipirino-3,3-dimetilglutarâmico (81)

Metodologia similar ao composto (76). O produto obtido apresentou coloração amarelo claro.

F.M.=C₁₈H₂₃N₃O₄ (345), R= 73,9%, p.f.=203,6 – 204,8 °C.

IV (KBr) ν (cm⁻¹): NH-C=O: 3263,68; COOH: 2978 (b.l.); C=O(imida): 1690,8; 1687,33; C=O (antipirina):1617,4.

RMN-¹H (CDCl₃) δ (ppm):): 1,23 (s, 6H, CH₃) ; 1,96(t, 2H, CH₂) ; 2,29(s, 3H, CH₃) ; 2,48(t, 2H, CH₂) ; 3,19(s, 3H, N-CH₃) ; 7,25– 7,51 (m, 5H, ar) ; 9,47 (s, 1H, COOH).

3,3-dimetil-N-antipirino-glutarimida (82)

Metodologia similar ao composto (77). O produto obtido apresentou coloração amarelo.

F.M.= C₁₈H₂₁N₃O₃ (327), R= 91,6%, p.f.= 193,1 –195,3°C.

IV (KBr) ν (cm⁻¹): C=O (imida):1731,5; 1690,9; 1658,4; C=O (antipirina):

1620,2.

RMN-¹H (CDCl₃) δ (ppm): 1,23 (s, 3H, CH₃) ; 1,33 (s, 3H, CH₃) ; 2,10(s, 3H, CH₃) ; 2,15 (m, 2H, CH₂) 2,68 (m, 2H, CH₂) ; 2,95 (s, 3H, N-CH₃) ; 7,15– 7,64 (m, 5H, ar)

Ácido N-antipirino-ftalâmico (83)

Metodologia similar ao composto (76). O produto obtido apresentou coloração rosa claro.

F.M.=C₁₉H₁₇N₃O₄ (351), R= 79,8%, p.f.= 134,4 – 134,6 °C.

IV (KBr) ν (cm⁻¹): NH-C=O: 3400,42; COOH: 2850 (b.l.); C=O (imida): 1709,4; 1651,5; C=O (antipirina):1641,7.

RMN-¹H (CDCl₃) δ (ppm): 2,27 (s, 3H, CH₃) ; 3,07 (s, 3H, N-CH₃) ; 3,5 (1H, NH) ; 7,36 – 7,52 (m, 9H, 2ar) ; 9,52 (s, 1H, COOH).

RMN-¹³C (CDCl₃) δ (ppm): 11,12 (q, CH₃) ; 36,03 (q, N-CH₃) ; 107,31 (s, C=C) ; 123,46 (d, CH ar) ; 126,18 (d, CH ar) ; 127,86 (d, CH ar) ; 129,10 (d, CH ar) ; 129,37 (d, CH ar) ; 130,57 (s, C ar) ; 131,42 (s, C ar) ; 135,15 (s, C ar) ; 138,29 (s, C-N) ; 153,09 (s, C=O) ; 161,91 (s, C=O) ; 167,79(s, C=O).

N-antipirino-ftalimida (84)

Metodologia similar ao composto (77), porém a recristalização foi

realizada em etanol à quente. O produto obtido apresentou coloração amarelo claro.

F.M.= $C_{19}H_{15}N_3O_3$ (333), R= 87,56%, p.f.= 213,2 – 214,8 °C.

IV (KBr) ν (cm^{-1}): C=O (imida): 1761,4; 1717,1; 1678,7; C=O (antipirina):1662,7.

RMN- 1H ($CDCl_3$) δ (ppm): 2,22 (s, 3H, CH_3) ; 3,23 (s, 3H, N- CH_3) ; 7,27 – 7,95 (m, 9H, 2ar).

RMN- ^{13}C ($CDCl_3$) δ (ppm): 11,08 (q, CH_3) ; 35,47 (q, N- CH_3) ; 102,12 (s, C=C) ; 123,75 (d, CH ar) ; 124,70 (d, CH ar) ; 127,15 (d, CH ar) ; 129,21 (d, CH ar) ; 132,10 (s, C ar) ; 137,27 (d, CH ar) ; 134,38 (s, C-N) ; 152,82 (s, C=O) ; 160,83 (s, C=O) ; 166,89 (s, C=O).

2 sinais de C, (s, ar) devem estar sobrepostos 123,74 – 134,27.

Ácido N-antipirino-tetrabromoftalâmico (85)

Metodologia similar ao composto (76). O produto obtido apresentou uma coloração rosa claro.

F.M.= $C_{19}H_{13}Br_4N_3O_4$ (666,79), R= 91,09%, p.f.= >360 °C.

IV (KBr) ν (cm^{-1}): NH-C=O: 3355,78; COOH: 2965,4 (b.l.); C=O (imida): 1724,5; 1654,2; C=O (antipirina):1643,0.

RMN- 1H ($CDCl_3$) δ (ppm): 2,10 (s, 3H, CH_3) ; 2,95 (s, 3H, N- CH_3) ; 6,24 (1H, NH) ; 7,26 - 7,52 (m, 5H, ar) ; 8,27 (s, 1H, COOH).

N-antipirino-tetrabromoftalimida (86)

Metodologia similar ao composto (77), porém o produto precipitou ao verter-se a mistura reacional sobre água/gelo, filtrou-se. O produto obtido apresentou coloração amarela.

F.M.= C₁₉H₁₁Br₄N₃O₃ (648,79), **R**= 72,2%, **p.f.**= >360 °C.

IV (KBr) ν (cm⁻¹): C=O (imida): 1780,1; 1710,2; C=O (antipirina): 1668,0.

RMN-¹H (CDCl₃) δ (ppm): 2,15 (s, 3H, CH₃) ; 2,95 (s, 3H, N-CH₃) ; 7,17 – 7,73 (m, 5H, ar).

Ácido N-antipirino-bisnaftálico (87)

Metodologia similar ao composto (76), porém, utilizando como solvente uma mistura de éter/acetona. O produto apresentou coloração laranja claro, entretanto trata-se de um mistura, conforme pode-se observar na cromatografia de camada delgada, a qual apresentou 2 manchas idênticas com R_f bastante próximo. Tentou-se separar os compostos através de uma coluna "flash", sob pressão constante, utilizando como eluente clorofórmio/metanol (95:5), porém não foi possível separar os dois compostos, **R**= 70,8%, **p.f.**= >360 °C.

IV (KBr) ν (cm⁻¹): COOH: 3200 (b.l.); C=O (imida): 1725,3; 1679,9; C=O (antipirina):1651,9.

RMN-¹H (CDCl₃) δ (ppm): 2,24 (d, 6H, CH₃) ; 3,28 (d, 6H, N-CH₃) ; 7,27 – 7,50

(m, 10H, 2ar) ; 8,82 (d, 4H, ar).

N-antipirino-bisnaftalimida (88)

Metodologia similar ao composto (77). O produto apresentou coloração laranja escuro, R= 41,2%, p.f.= >360 °C.

F.M.= C₃₆H₂₆N₆O₆ (638,36), R= 72,2%, p.f.= >360 °C.

IV (KBr) ν (cm⁻¹): C=O (imida): 1716,8; 1668,1; C=O (antipirina): 1644,8.

RMN-¹H (CDCl₃) δ (ppm): 2,15 (s, 6H, CH₃) ; 2,95 (s, 6H, N-CH₃) ; 7,15 – 7,73 (m, 10H, 2ar) ; 8,82 (s, 4H, ar).

4.3.2. Síntese dos derivados da N-antipirino 3,4-dicloromaleimida (75)

N-antipirino-3-cloro-4-anilino-maleimida (89)

O composto (75) (0,1g, 1mol) foi dissolvido em etanol (15 mL) sob agitação constante à temperatura ambiente. A anilina (0,05mL, 2mols) foi adicionada lentamente à solução. Após 3 horas de agitação, filtrou-se o precipitado formado, o qual mostrou-se puro. O composto apresentou coloração amarela.

F.M.= C₂₁H₁₇N₄O₃Cl (408,7) , R= 63% , p.f.= 266,3 – 268,4 °C.

IV (KBr) ν (cm^{-1}): NH-: 3204,54 ; C=O (imida): 1781,8, 1722,6; C=O (antipirina): 1640,0.

RMN- ^1H (CDCl_3) δ (ppm): 2,22 (s, 3H, CH_3) ; 3,22 (s, 3H, CH_3) ; 7,31-7,51 (m, 5H, ar) ; 7,19-7,27 (m, 5H, ar).

N-antipirino-3-cloro-4-cloroanilino-maleimida (90)

Metodologia similar ao composto (89).O composto apresentou coloração amarela.

F.M.= $\text{C}_{21}\text{H}_{16}\text{N}_4\text{O}_3\text{Cl}_2$ (443,21) , R= 57,2% , p.f.= 254,3 – 256,0 °C.

IV (KBr) ν (cm^{-1}): NH-: 3197,7; C=O (imida): 1780,1; 1727,3; C=O (antipirina): 1649,4.

RMN- ^1H (CDCl_3) δ (ppm): 2,21 (s, 3H, CH_3) ; 3,22 (s, 3H, CH_3) ; 7,10 (m, 4H, ar) ; 7,40 (m, 5H, ar) ; 8,09 (s, 1H, NH).

N-antipirino-3-cloro-3, 4-dicloroanilino-maleimida (91)

Metodologia similar ao composto (89).O composto apresentou coloração amarela.

F.M.= $\text{C}_{21}\text{H}_{15}\text{N}_4\text{O}_3\text{Cl}_3$ (477,78) , R= 60,9% , p.f.= 253,0 – 254,8 °C.

IV (KBr) ν (cm^{-1}): NH-: 3195,7; C=O (imida): 1781,5; 1722,7; C=O (antipirina): 1648,6.

RMN-¹H (CDCl₃) δ (ppm): 2,10 (s, 3H, CH₃) ; 2,95 (s, 3H, CH₃) ; 6,75 – 7,70 (m, 8H, ar) ; 13,9 (s, 1H, NH).

N-antipirino-3-cloro-4-metilanilino-maleimida (92)

Metodologia similar ao composto (89). O composto apresentou coloração laranja escuro.

F.M.= C₂₂H₁₈N₄O₃Cl (421,72) , **R=** 93% , **p.f.=** 178,0 – 180,4 °C.

IV (KBr) ν (cm⁻¹): NH-: 3200,1; C=O (imida): 1781,5; 1726,4; C=O (antipirina): 1648,1.

RMN-¹H (CDCl₃) δ (ppm): 2,21 (s, 3H, CH₃) ; 2,35 (s, 3H, CH₃) ; 3,20 (s, 3H, CH₃) ; 7,12 (m, 4H, ar) ; 7,40 (m, 5H, ar) ; 7,69 (s, 1H, NH).

N-antipirino-3-cloro-4-metóxi-anilino-maleimida (93)

Metodologia similar ao composto (89). O composto apresentou coloração laranja escuro.

F.M.= C₂₂H₁₉N₄O₄Cl (438,72) , **R=** 95% , **p.f.=** 208,8 – 209,5 °C.

IV (KBr) ν (cm⁻¹): NH-: 3200,1 ; C=O (imida): 1789,1; 1723,0; C=O (antipirina): 1639,8.

RMN-¹H (CDCl₃) δ (ppm): 2,23 (s, 3H, CH₃) ; 3,24 (s, 3H, CH₃) ; 3,18 (s, 3H, CH₃) ; 3,70 (q, 2H, CH₂) ; 3,81 (q, 2H, CH₂) ; 7,40 (m, 5H, ar).

N-antipirino-3-cloro-4-dietilamino-maleimida (94)

Metodologia similar ao composto (89).O composto apresentou coloração amarelo escuro.

F.M.= C₁₉H₂₁N₄O₃Cl (388,69) , **R**= 75,2% , **p.f.**= 213,0 – 214,3 °C.

IV (KBr) ν (cm⁻¹): NH-: 2981; C=O (imida): 1769,2; 1716,2; C=O (antipirina): 1640.

RMN-¹H (CDCl₃) δ (ppm): 1,29 (t, 6H, CH₃) ; 2,19 (s, 3H, CH₃) ; 3,18 (s, 3H, CH₃) ; 3,70 (q, 2H, CH₂) ; 3,81 (q, 2H, CH₂) ; 7,40 (m, 5H, ar).

N-antipirino-3-cloro-4-morfolino-maleimida (95)

Metodologia similar ao composto (89).O composto apresentou coloração amarela.

F.M.= C₁₉H₁₉N₄O₃Cl (386,69) , **R**= 90% , **p.f.**= 210,3 – 212,2 °C.

IV (KBr) ν (cm⁻¹): NH-: 3468,19; C=O (imida): 1769,0; 1718,2; C=O (antipirina): 1634,3.

RMN-¹H (CDCl₃) δ (ppm): 2,18 (s, 3H, CH₃) ; 3,20 (s, 3H, CH₃) ; 3,81 (t, 4H, CH₂) 4,02 (t, 4H, CH₂) ; 7,60 (m, 5H, ar).

N-antipirino-3-cloro-4-aminoantipirino-maleimida (96)

Metodologia similar ao composto (89). O composto apresentou coloração amarela.

F.M.= $C_{26}H_{23}N_6O_4Cl$ (518,76) , R= 87% , p.f.= 248,2 – 249,6 °C.

IV (KBr) ν (cm^{-1}): NH-: 3438,26 ; C=O (imida): 1777,0; 1725,6; C=O (antipirina): 1655,4.

RMN- 1H ($CDCl_3$) δ (ppm): 2,18 (s, 3H, CH_3) ; 2,29 (s, 3H, CH_3) ; 3,16 (s, 3H, CH_3) ; 3,19 (s, 3H, CH_3) ; 7,40 (m, 5H, ar) ; 6,85 (s, 1H, NH).

4.4. Ensaio Biológicos:**4.4.1. Atividade analgésica****Animais:**

Foram utilizados camundongos Swiss machos ou fêmeas pesando entre 25 a 35 gramas, aclimatados a temperatura de 22 ± 2 °C com ciclo claro/escuro de 12 horas mantidos no biotério central da UNIVALI, tratados com água e ração "ad libitum". Os animais permaneceram no ambiente do teste pelo menos 1 h antes da realização dos experimentos para se adaptarem.

Drogas e soluções usadas:

Foram utilizadas as seguintes drogas e soluções: ácido acético, formalina, aspirina, capsaicina (Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, USA) e hidrocloreto de morfina e naloxona (MERCK-AG, Darmstadt, Alemanha). Os reagentes restantes utilizados e sais, foram de alto grau de pureza analítica, sendo que todas as drogas usadas foram dissolvidas em salina antes de serem utilizadas, com exceção dos compostos e dos fármacos, que foram dissolvidos em 0,5% de Tween 80 ou 0,5% de dimetilsulfóxido (DMSO) e em salina.

Modelos de analgesia:**A) Modelo de contorções abdominais induzidas pelo ácido acético**

Este modelo de dor consiste em aplicar intraperitonealmente (i.p.) ácido acético (0.6 %, dissolvido em NaCl 0.9% previamente tamponado em pH 7.4) numa dose de 0,15 mL/10 g de peso, onde os animais reagem a esse estímulo doloroso contorcendo a região abdominal. Estas contorções abdominais consistem na contração da musculatura abdominal juntamente com a extensão de uma das patas posteriores como já foi descrito anteriormente¹¹². Diferentes grupos de camundongos foram pré-tratados com os compostos sintetizados 30

minutos antes da realização do teste, quando os compostos foram injetados via i.p. e 1 hora antes para injeção do composto 75 via oral. O modelo do ácido acético é um teste para dor não específica no qual se quantifica as contorções acumulativamente durante 20 minutos e o indicativo de antinocicepção é a redução da resposta nociceptiva, a contorção, em relação ao grupo controle que recebeu como pré-tratamento apenas salina. Também foi realizado o pré-tratamento dos animais com naloxona (5 mg/ Kg) e com morfina (5 mg/kg).

B) Modelo de dor induzida pela formalina

Este método foi desenvolvido por Hunskaar et al^{113,114}. Trata-se de um modelo mais específico que o de contorções abdominais pois neste é possível avaliar dores distintas, a de origem neurogênica e a de origem inflamatória. A dor neurogênica apresenta como principal característica a estimulação dos neurônios nociceptivos enquanto que a dor inflamatória é caracterizada com a liberação de mediadores inflamatórios¹¹⁵.

Os compostos em estudo foram injetados via i.p. 30 minutos antes do teste (tratamento). Depois de decorrido esse tempo os camundongos receberam via intraplantar 20 μ L de solução formalina a 2,5% (resultante da diluição de formaldeído 0,92% em tampão fosfato), e foram imediatamente colocados sob um funil de vidro invertido ao lado de um espelho para auxiliar na observação, onde foi registrada durante os 5 minutos iniciais a dor de origem neurogênica, expressa pelo tempo gasto (latência) com o

comportamento de lambe ou morder a pata injetada. Após 10 minutos ocorre o início da segunda fase do processo doloroso induzido pela formalina, durante o qual foi observada a dor inflamatória. O período de observação da segunda fase foi de 15 minutos e o tempo total do teste foi de 30 minutos.

Após os experimentos os animais foram sacrificados por deslocamento cervical, e ambas as patas (uma injetada e outra não) foram seccionadas na posição tíbio-tarsal e pesadas em balança analítica para verificação do efeito anti-edematogênico sendo considerado como índice de edema a diferença de peso da pata injetada com a que não foi injetada¹⁰⁵.

C) Modelo de dor induzida pela capsaicina

Este modelo de dor induzida pela capsaicina é bem recente e foi desenvolvido por Sakurada et.al.¹¹⁶ sendo esse método específico para o estudo da dor neurogênica. A capsaicina atua, quando injetada via intraplantar, induzindo um estímulo direto nos neurônios nociceptivos, o que causa a liberação de vários neuropeptídeos que estão envolvidos com a transmissão dolorosa, incluindo principalmente a substância P e neurocininas A e B (tipos de taquicinina)¹¹⁷. Durante o teste os animais inicialmente passam por um período de adaptação de 20 minutos (sob um funil de vidro), em seguida, são tratados com o composto nas doses de 10, 30 e 60 mg/Kg. Após o tempo decorrido do tratamento (30 min) os animais receberam pela via

intraplantar 20 μ L de capsaicina (1,6 μ g/pata) em uma das patas posterior. Em seguida os animais foram novamente colocados sob o funil de vidro e foi cronometrado o tempo gasto em morder ou lamber a pata injetada por um período de 5 minutos, sendo este o indicativo de dor. Os animais do grupo controle receberam somente salina.

D) Modelo de sensibilidade térmica (teste da placa quente)

O modelo da placa quente é muito utilizado para o *screening* de drogas com mecanismo opióide¹¹⁸. Os animais foram pré-selecionados 24 horas antes do teste para verificação do limiar nociceptivo. O teste consiste em submeter os animais por 30 segundos sobre uma placa pré-aquecida previamente a uma temperatura de 56°C. Durante o tempo do teste observa-se, e se espera que ele reaja lambendo ou mordendo as patas, caso ele não reaja nesse tempo será descartado. Antes do teste os animais receberão via ip o composto e 30 minutos após serão colocados sobre uma placa quente imersa em banho maria previamente aquecido a 56°C. O tempo em segundos em que cada animal leva para lamber, morder ou levantar as patas foi considerado indicativo do efeito nociceptivo. O tempo máximo permitido aos animais para permanecer sobre a placa foi de 30 segundos para evitar danos teciduais causados pelo aquecimento¹¹⁹. Também foi feito um controle positivo do teste com animais submetidos ao tratamento de morfina (5mg/kg) administrado pela via subcutânea.

4.4.2. Atividade microbiológica

Microrganismos:

Os microrganismos utilizados para a realização dos testes foram a levedura *Candida albicans*, obtida no Laboratório de Micologia Clínica do Curso de Farmácia da UNIVALI, Itajaí-SC, e as bactérias *Staphylococcus aureus* (ATCC-6538P) e *Escherichia coli* (ATCC25922) foram obtidas da Fundação Tropical de Pesquisa André Tosello de Campinas-SP.

Meios de cultura:

Para o ensaio com levedura utilizou-se como meio de cultura Ágar Dextrosado Sabouraud, e para o ensaio com bactérias utilizou-se como meio de cultura Ágar Mueller-Hinton.

Para a diluição dos compostos utilizou-se DMSO como solvente.

Ensaio:

Método da concentração inibitória mínima (CIM)

Este ensaio é realizado para determinar a menor concentração de

fármaco inibitória do crescimento dos patógenos testados¹²⁰. Os microrganismos foram ativados nos respectivos meios de cultura e a densidade de 3.10^8 unidades formadoras de colônia/mL de meio determinada através da escala de Mc. Farland. Os meios foram distribuídos em uma série de tubos, onde foram colocados também o inóculo e os compostos sintetizados diluídos em DMSO. Após um período de incubação de 24 horas à temperatura de 37°C em estufa, foi realizada a leitura por turbidimetria.

4.5. Análise estatística

Todos os resultados obtidos são representados como média, com exceção das DI_{50} (que equivale a dose do composto que reduziu a resposta pela metade quando comparada com o grupo controle), que são apresentados com as médias geométricas junto com seus respectivos limites de confiança a nível de 95%. O método de análise de variância utilizado para realizar a análise estatística foi o ANOVA, e em seguida foi utilizado o teste de múltipla comparação usando o método DUNNET, quando apropriado. Quando os valores de $P < 0,05$ (ou menos) foram considerados como indicativo de significância. Para se obter um valor próximo ao real das DI_{50} utilizou-se o Software INSTAT.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Síntese

Não foram encontrados relatos na literatura quanto a estrutura dos compostos sintetizados. Eles foram obtidos através de rotas sintéticas bem conhecidas e que têm sido extensivamente utilizadas por nosso grupo de pesquisa, para obter diferentes imidas cíclicas^{11, 13, 14, 16, 18-20, 23,28-32,35-38}.

5.1.1. Síntese dos derivados da 4-aminoantipirina

O ácido âmico foi obtido, quando possível, através da reação entre quantidades equimolares da 4-aminoantipirina e dos diferentes anidridos em éter, como solvente e sob agitação constante à temperatura ambiente.

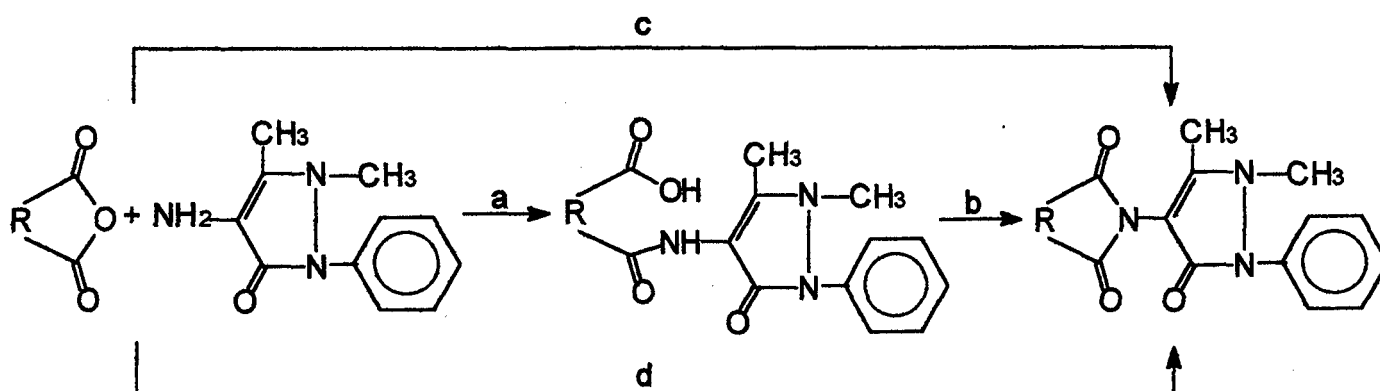
Após a obtenção do ácido, este foi submetido a refluxo em ácido acético ou em uma mistura de ácido acético e cloreto de acetila (1:2), fornecendo a imida cíclica.

Em alguns casos, fêz-se a reação direta entre a 4-aminoantipirina e o anidrido, em quantidades equimolares, com ácido acético sob refluxo.

O composto 75 foi obtido diretamente pela reação do anidrido 3,4-dicloromaleico e da 4-aminoantipirina em ácido acético sob refluxo com bom rendimento, pois não foi possível isolar o ácido âmico, provavelmente devido a sua instabilidade, uma vez que foi observado uma modificação no seu aspecto físico após 24 horas, além de vários produtos formados ao acompanhar por CCD.

Também tentou-se fazer a reação com anidrido acético e acetato de sódio anidro, afim de otimizar a reação de formação da N-antipirino-3,4-dicloromaleimida, porém o rendimento da reação foi muito baixo.

Estes compostos foram obtidos em moderados a excelentes rendimentos (37-92%) pela reação geral mostrada no esquema 29.



a = agitação / éter

b = c = refluxo / ácido acético ou ácido acético/cloreto de acetila

d = banho maria / anidrido acético e acetato de sódio anidro

Esquema 29

Os compostos obtidos estão indicados na figura abaixo:

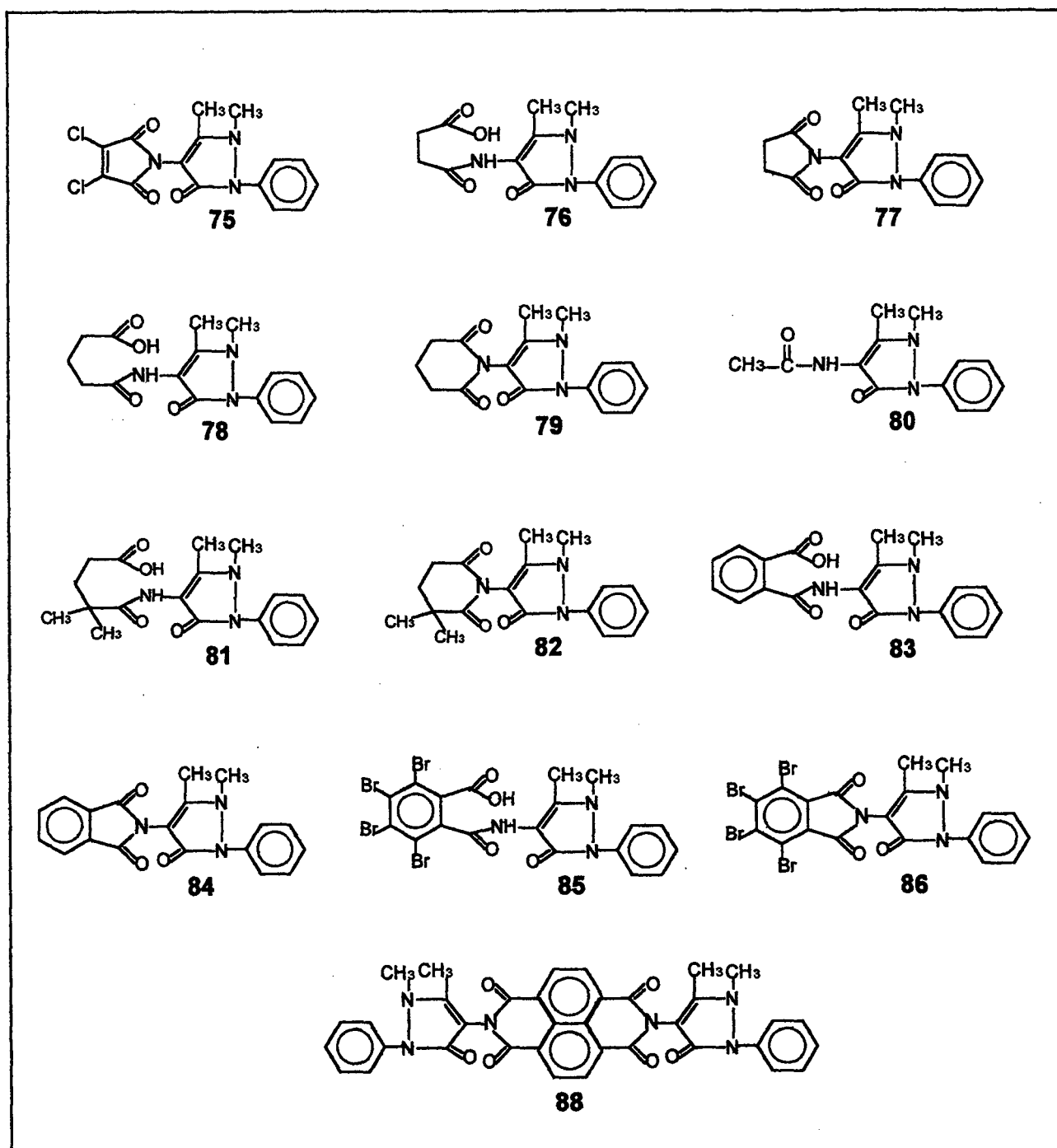
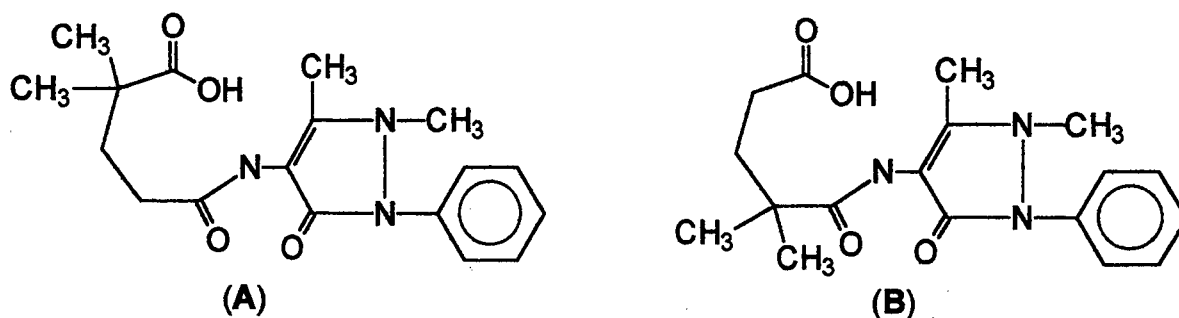


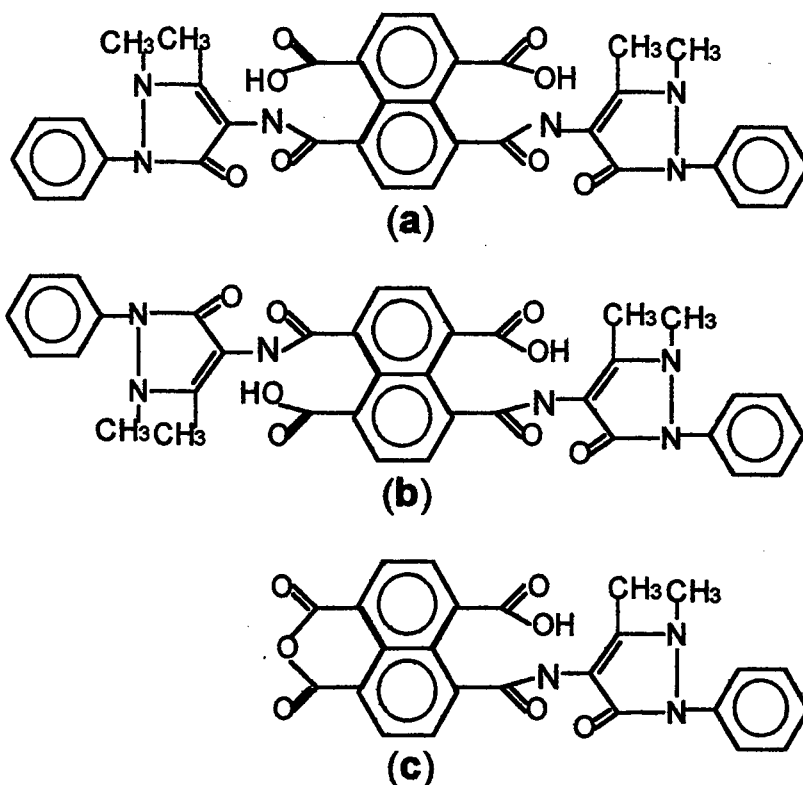
Figura 1: Estruturas moleculares dos compostos sintetizados a partir da 4-aminoantipirina e diferentes anidridos.

Os compostos **75**, **84**, **86** e **88**, os quais possuem uma configuração planar (vide anexo 1), foram obtidos com maior facilidade utilizando um agente de condensação usual (ácido acético sob refluxo). Em contraste ao reportado recentemente para N-arilglutarimidas⁷⁵, o ácido succinâmico (**76**) e o ácido glutarâmico (**78**), não formaram apenas os compostos (**77**) e (**79**) respectivamente, sendo necessário para ciclização destas imidas agentes mais drásticos, como ácido acético/cloreto de acetila. Porém, ocorreu uma acetilação do grupo amino, resultando também em um derivado acetilantipirina (**80**). Os produtos formados correspondentes às imidas cíclicas esperadas foram então separados do derivado acetilado através de cromatografia de coluna e identificados por espectroscopia.

Para o composto (**81**), poderia ser esperado a formação de 2 possíveis estereoisômeros (A) e (B). Contudo, observou-se por CCD a formação de apenas um composto. Teoricamente, seria esperado o ataque do grupo amino à carboxila mais ácida, afastada dos 2 grupos metila ocorrendo a formação do composto (A). Entretanto, em um estudo anterior realizado com o anidrido 3,3-dimetilglutárico e a fenetilamina seguindo a mesma metodologia, evidenciou-se a formação de apenas um composto, no qual as carboxilas apresentaram-se em posição adjacente ao grupo carboxila da amida. Este composto teve sua estrutura determinada por difração de raio-x⁷³. Os dados espectroscópicos deixaram claro que a estrutura do composto formado entre o anidrido 3,3-dimetilglutárico e a 4-aminoantipirina foi, similar ao estudo anterior, o isômero (B).



Para o composto (87) (não apresentado na Figura 1) obteve-se uma mistura que foi analisada apenas por CCD, a qual apresentou duas manchas idênticas e com R_f bastante próximos. Tentou-se separar essa mistura por CC sob pressão constante, porém não obteve-se êxito através desta metodologia. Possivelmente, pode-se esperar a formação de dois estereoisômeros (a) e (b) ou de um desses compostos dissustituído e um composto monossustituído (c).



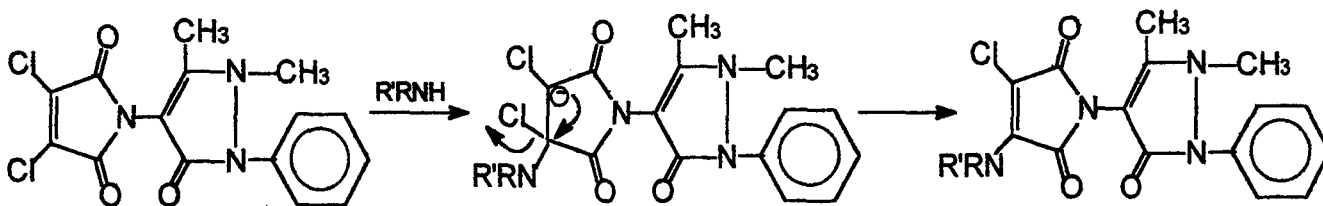
A caracterização das imidas pode ser feita através de técnicas espectroscópicas usuais, especialmente espectroscopia no infravermelho, já que as bandas de absorção das carbonilas imídicas são características : uma banda muito fraca na região de 1780 cm^{-1} e uma banda forte na região de 1730 cm^{-1} , correspondentes às absorções assimétricas e simétricas respectivamente, e uma banda forte na região de 1670 cm^{-1} devido a conjugação com a carbonila e uma absorção na região de 1640 referente ao anel antipirínico^{13, 16}. Assim, é possível também caracterizar os ácidos âmicos, através do espectro de IV, pois as bandas de absorção da hidroxila do ácido na região de $3400 - 3200\text{ cm}^{-1}$, e do NH na região de $3500 - 3300\text{ cm}^{-1}$, são bem características; diferenciando os sistemas cíclicos (imidas) pela ausência dessas bandas.

Além da caracterização através dos espectros de infravermelho, a identificação dos compostos foi feita através dos espectros de RMN de ^1H e de ^{13}C , os quais estão indicados na parte experimental.

5.1.2. Síntese dos derivados da N-antipirino-3,4-dicloromaleimida (75)

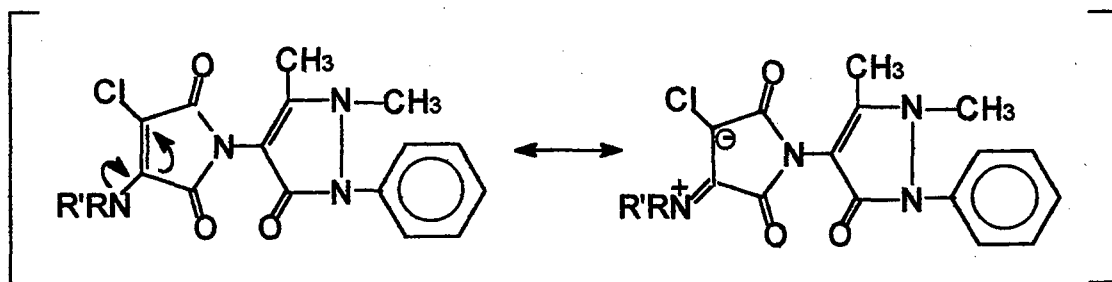
As reações entre a N-antipirino-3,4-dicloromaleimida e as aminas apropriadas foram realizadas na proporção (1:2) sob agitação à temperatura ambiente, ocorrendo a substituição de um átomo de cloro provavelmente via um mecanismo de adição-eliminação, envolvendo um intermediário o qual

perde um átomo de cloro para formar os produtos conforme o esquema 30³⁷.



Esquema 30

A substituição de um segundo átomo de cloro por nucleófilos não foi observada nas condições estudadas. Este resultado pode ser atribuído às estruturas canônicas conforme esquema 31, onde as estruturas ressonantes indicam ser pouco provável um ataque nucleofílico no carbono 3³⁷.



Esquema 31

Todas as reações ocorreram normalmente e forneceram bons rendimentos (57 a 95%).

Os compostos foram caracterizados por I.V. e por espectrometria de RMN-¹H, conforme mostrado na parte experimental.

Os compostos obtidos após a substituição do átomo de cloro estão indicados na figura abaixo:

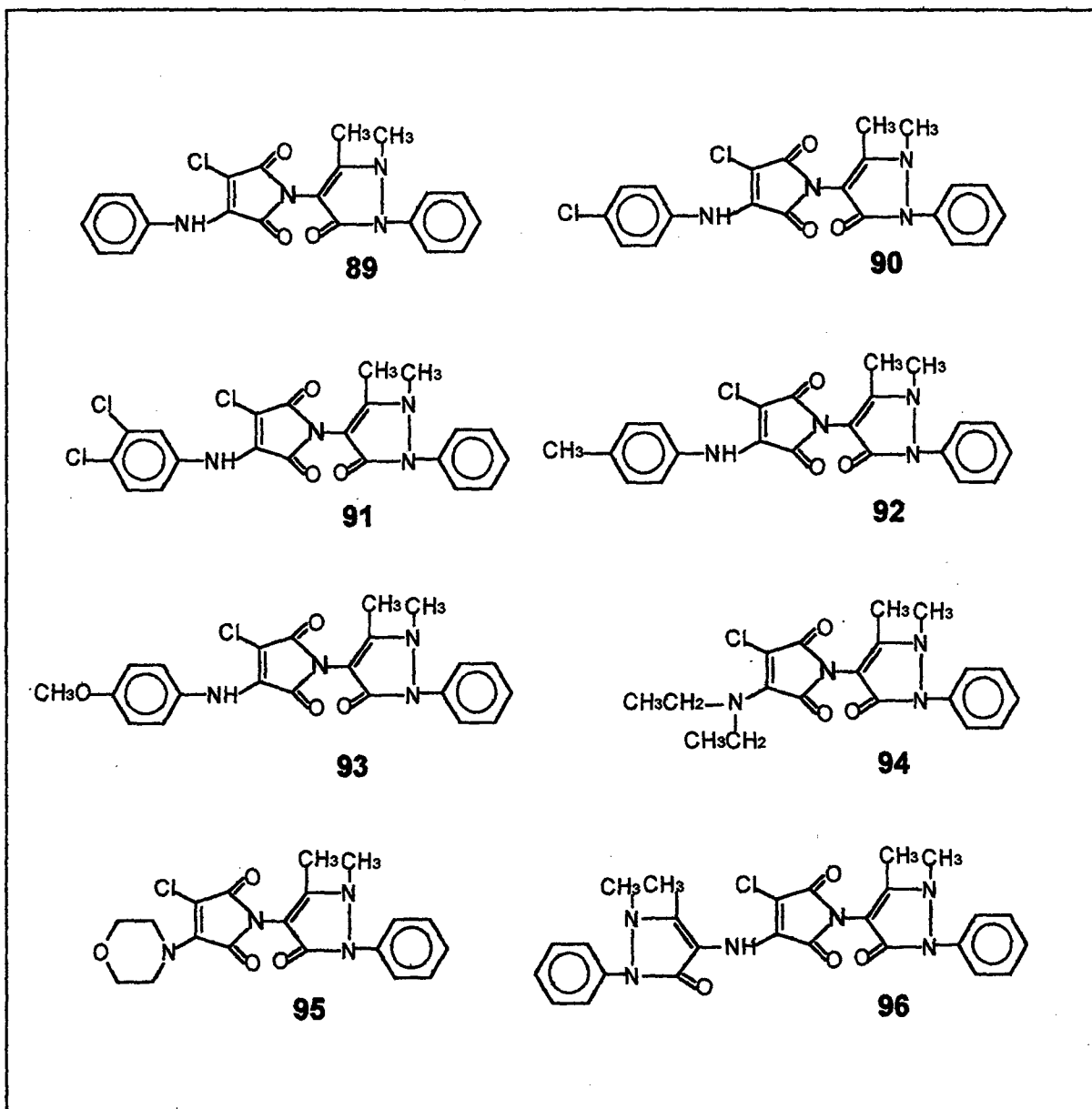


Figura 2: Estrutura molecular dos compostos derivados do composto (75)

5.2. Análise biológica

5.2.1. Atividade analgésica:

No presente trabalho fez-se inicialmente uma análise preliminar dos efeitos analgésicos de uma série de compostos derivados da 4-aminoantipirina, com o objetivo de selecionar o composto mais ativo. Desta forma utilizou-se o modelo de contorções abdominais induzidas pelo ácido acético administrado intraperitonealmente para uma primeira análise dos compostos em uma dose de 10 mg/kg. Este método tem sido empregado amplamente para a análise da atividade analgésica de diferentes tipos de compostos ¹²¹⁻¹²³. Como observado na Tabela 1, os compostos **76, 82, 86, 87, 88** e especialmente o **75** inibiram de forma significativa as contorções abdominais induzidas pelo ácido acético, causando inibições de 42,1, 48,5, 44,4, 91, 88 e 99 % respectivamente. Alguns fármacos usados como referência, tais como aspirina, paracetamol e dipirona, causaram inibições de 35, 38 e 33 % respectivamente. É interessante observar que os compostos **81, 83 e 85**, os quais correspondem aos ácidos âmicos dos compostos **82, 84 e 86**, respectivamente, praticamente não produziram efeitos analgésicos neste modelo. Os compostos **83 e 84, 85 e 86** exibiram perfis bastante similares quanto a atividade analgésica, sugerindo que a introdução dos átomos de bromo não alterou significativamente os efeitos deste derivado ftálico.

Por outro lado, os ácidos âmicos **76** e **78** causaram inibição similar a dos fármacos mencionados acima. Presume-se que a diferença na atividade esteja relacionada a coplanaridade destas moléculas, mas esta hipótese requer maiores investigações.

Recentemente têm sido demonstrado que a talidomida, cuja estrutura contém um anel ftálico ligado a um grupo glutarimida, exerceu propriedades analgésicas em camundongos quando testada em diversos modelos de dor em camundongos⁵⁷, confirmando os resultados obtidos neste estudo.

O composto **80**, o único composto não imídico, não apresentou efeitos analgésicos significativos no modelo testado.

Os compostos **87** e **88** apresentaram atividades analgésicas similares e bastante pronunciadas, sendo compostos de interesse para futuras investigações.

O composto **75**, o qual apresentou a maior atividade na dose de 10 mg/kg, no primeiro modelo testado, foi analisado em maiores detalhes neste mesmo modelo e em outros modelos de nocicepção em camundongos.

Tabela 1: Atividade analgésica de imidas cíclicas e fármacos usados como referência no modelo de dor induzida pelo ácido acético na dose de 10 mg/kg, administrados intraperitonealmente.

Composto	Inibição (%)
75	99 ± 0.3 **
76	42.1 ± 5.3 **
77	34.5 ± 4.5**
78	36.1 ± 6.2*
79	17.2 ± 4.2
80	26.4 ± 3.8
81	19.5 ± 4.0
82	48.5 ± 4.2**
83	6.4 ± 3.1
84	34.2 ± 5.5
85	25 ± 2.9
86	44.4 ± 3.6**
87	91 ± 2.5**
88	88 ± 1.4**
Aspirina	35.0 ± 2.0*
Paracetamol	38.0 ± 1.0**
Dipirona	33.0 ± 3.5*

OBS: Cada grupo representa uma média de 06 experimentos. Asteriscos indicam diferenças significantes (**p<0.01 e *p<0.05) quando comparadas com o grupo controle, utilizando-se ANOVA seguida do teste Dunnet.

Os estudos farmacológicos indicaram que o composto **75**, administrado intraperitonealmente, revelou-se cerca de 12 a 15 vezes mais ativo que os fármacos de referência analisados no mesmo modelo, apresentando um valor calculado de DI_{50} de 3,8 (1,7 – 8,6) mg/kg [10.8 (4.8 – 24.4) μ mol/kg] com inibição máxima (IM) de $99 \pm 1\%$ (Figura 3).

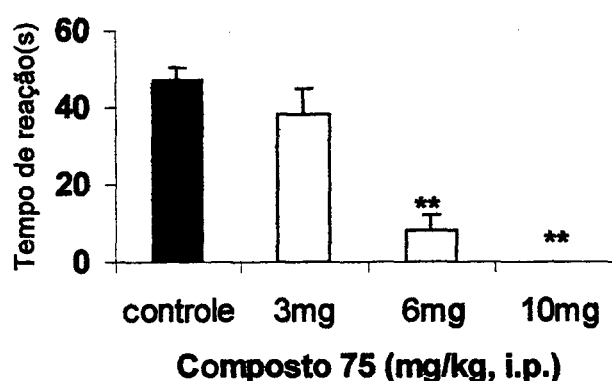


Figura 3: Efeito do composto **75** (3:6:10 mg/kg) via intraperitoneal no modelo de dor induzida por ácido acético. Cada coluna representa uma média de 06 experimentos e as barras verticais indicam os EPM. Asteriscos indicam diferenças significantes (** $p < 0.01$ e * $p < 0.05$) quando comparadas com o grupo controle, utilizando-se ANOVA seguida do teste Dunnet.

Administrado oralmente na dose de 100mg/Kg (284 μ moi/kg), o composto **75** apresentou um pronunciado efeito analgésico, reduzindo em 80% o número de contorções abdominais induzidas pelo ácido acético, indicando que é absorvido pelo trato gastrointestinal (Figura 4).

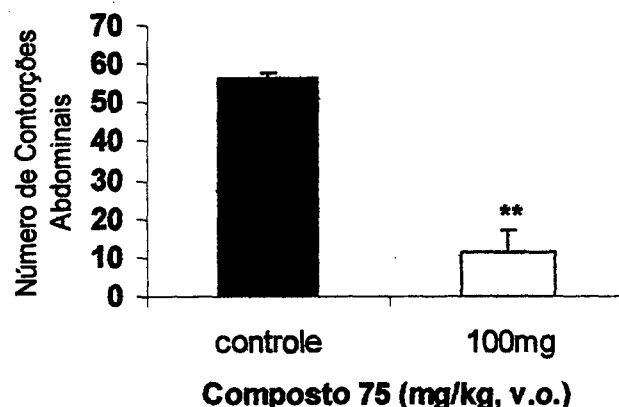


Figura 4: Efeito do composto 75 (100 mg/kg) via oral no modelo de dor induzida pelo ácido acético. Cada coluna representa uma média de 06 experimentos e as barras verticais indicam os EPM. Asteriscos indicam diferenças significantes (** $p < 0.01$ e * $p < 0.05$) quando comparadas com o grupo controle, utilizando-se ANOVA seguida do teste Dunnet.

Quando os animais foram tratados com naloxona, um conhecido receptor antagonista não seletivo da morfina, não foi observado nenhuma alteração no efeito analgésico do composto 75 quando comparado à morfina (Figura 5). Isto sugere que o composto 75, bem como a dipirona¹⁰⁸ e fármacos analgésicos e antiinflamatórios não esteroidais (como aspirina e paracetamol)¹¹⁵, são efetivos na diminuição da dor induzida pelo ácido acético atuando por um mecanismo não opióide. Isto foi confirmado no modelo de sensibilidade térmica (Figura 6), no qual o composto 75 foi ineficaz em aumentar o limiar nociceptivo dos animais utilizados no modelo, quando comparado com os animais controle e com os animais tratados com morfina.

Uma vez que este modelo é seletivo para compostos que atuam através de mecanismos que envolvem a via opióide¹²⁴.

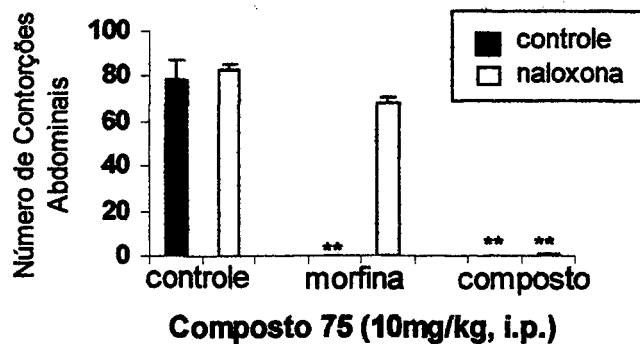


Figura 5: Efeito da naloxona sobre a antinociceção causada por morfina e pelo composto 75 na dor induzida pelo ácido acético em camundongos. Cada grupo representa uma média de 06 experimentos e as barras verticais indicam os EPM. Asteriscos indicam diferenças significantes (** $p < 0.01$ e * $p < 0.05$) quando comparadas com o grupo controle, utilizando-se ANOVA seguida do teste Dunnet.

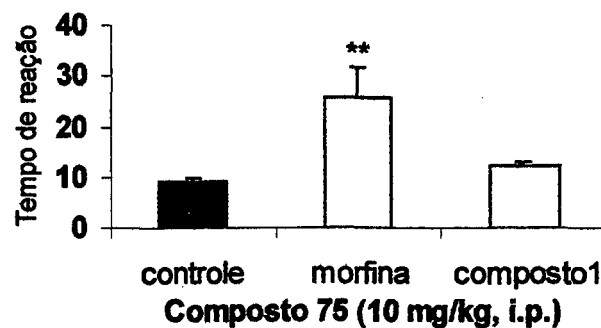


Figura 6: Efeito do composto 75 (10 mg/kg) via intraperitoneal no modelo de dor induzido pela placa quente. Cada grupo representa uma média de 06 experimentos e as barras verticais indicam os EPM. Asteriscos indicam diferenças significantes (** $p < 0.01$ e * $p < 0.05$) quando comparadas com o grupo controle, utilizando-se ANOVA seguida do teste Dunnet.

O composto **75** também foi analisado e comparado a fármacos de uso clínico no modelo de dor induzida pela formalina (Figura 7). O valor de DI_{50} calculado para a segunda fase foi de 5.18 (3.9 – 6.7) mg/kg [14.7 (11.2 – 19.2) $\mu\text{mol/kg}$], com uma inibição máxima de 100 %. Quando comparado com os fármacos padrões o composto **75** foi cerca de 8 – 18 vezes mais ativo.

Por outro lado, o composto **75** apresentou considerável atividade antinociceptiva no modelo de dor induzida pela capsaicina (Figura 8), o qual comprova o efeito antinociceptivo deste composto na dor neurogênica, quando analisado em maiores doses. Este composto foi cerca de 3 vezes mais ativo que a dipirona, com o valor calculado para a DI_{50} de 23.8 (17.5 – 32.5) mg/kg [67.6 (49.6 – 92.3) $\mu\text{mol/kg}$] e inibição máxima de 83 %. Em relação a primeira fase do modelo da formalina, que também refere-se a dor neurogênica, apenas na dose de 60 mg/kg pode se observar uma inibição estatisticamente significativa, com uma inibição de 57%. A diferença entre estes dados sugere a necessidade de investigações mais detalhadas.

Também foi possível verificar que nas doses de 3, 6 e 10 mg/kg no modelo de dor induzida pela formalina, o composto **75** não inibiu significativamente o edema induzido pela própria formalina, sugerindo que seu efeito analgésico não está relacionado ao processo inflamatório.

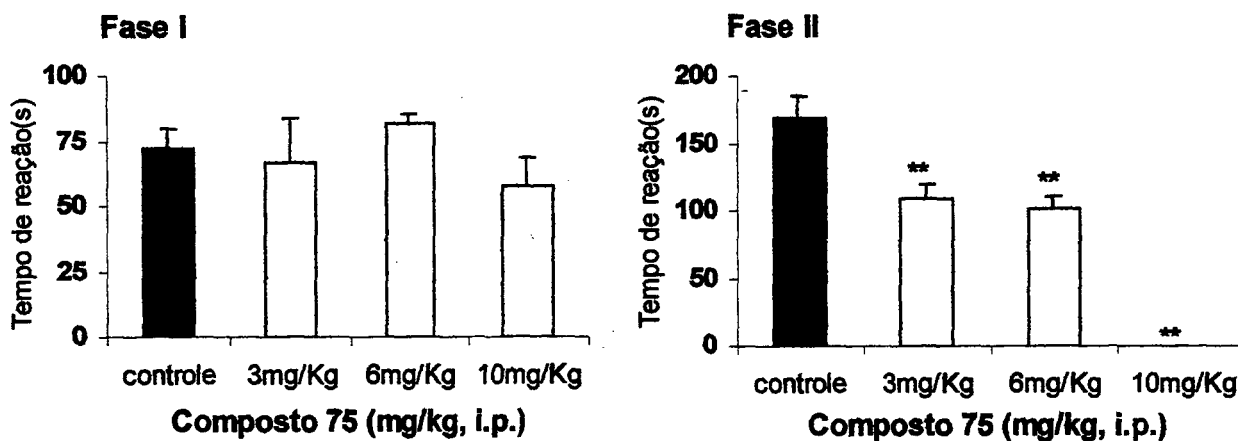


Figura 7: Efeito do composto 75 (3:6:10 mg/kg) via intraperitoneal em ambas as fases (Fase I – fase neurogênica, Fase II – fase inflamatória) do modelo de dor induzido pela formalina. Cada coluna representa uma média de 06 experimentos e as barras verticais indicam os EPM. Asteriscos indicam diferenças significantes (**p<0.01 e *p<0.05) quando comparadas com o grupo controle, utilizando-se ANOVA seguida do teste Dunnet.

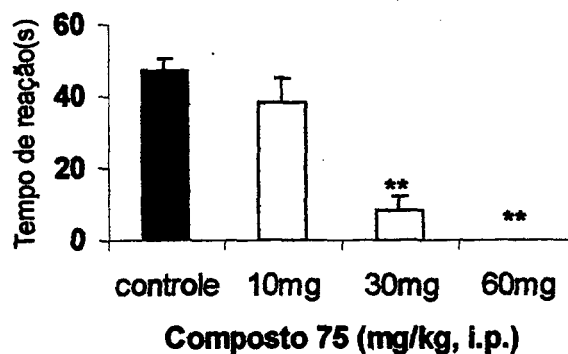


Figura 8: Efeito do composto 1 (10:30:60 mg/kg) via intraperitoneal no modelo de dor induzido pela capsaicina. Cada coluna representa uma média de 06 experimentos e as barras verticais indicam os EPM. Asteriscos indicam diferenças significantes (**p<0.01 e *p<0.05) quando comparadas com o grupo controle, utilizando-se ANOVA seguida do teste Dunnet.

Até 30 mg/kg, nenhum sinal de toxicidade foi observado em nenhum dos ensaios para o composto **75**. Contudo, deve ser mencionado que este composto causou decréscimo da temperatura corporal dos animais, sugerindo um possível efeito antipirético, mas esta hipótese requer maiores investigações.

Embora o composto **75** seja menos ativo que o composto (**13**) o qual apresentou potente efeito analgésico e toxicidade³², a aparente diminuição dos efeitos tóxicos é um fator importante na descoberta de novos fármacos.

Estes resultados indicaram que o composto **75**, a N-antipirino-3,4-dicloromaleimida, apresenta um interessante perfil analgésico, e por isto foi escolhido como protótipo para a síntese de novos análogos.

Os compostos derivados de N-antipirino-3,4-dicloromaleimida foram testados apenas no modelo de dor induzida por ácido acético, inicialmente na dose de 10mg/kg, e não apresentaram atividade analgésica tão significativa quanto o composto **75** (tabela 2). Os resultados mais relevantes encontrados foram os dos compostos **89** e **90**, os quais causaram inibições de 71.6 e 75 %, respectivamente. Já o composto **91**, que difere do composto **90**, pela introdução de apenas um átomo de cloro na posição 3 do anel aromático praticamente não apresentou efeito analgésico, sugerindo o envolvimento de fatores estéricos na atividade analgésica destes compostos.

Tabela 2: Atividade analgésica de imidas cíclicas e fármacos de referência no modelo de dor induzida por ácido acético na dose de 10 mg/kg, administrados intraperitonealmente.

Compostos	Inibição (%)
89	71.6 ± 3.9 **
90	75 ± 2.4 **
91	2.4 ± 2.4
92	33.6 ± 3.7*
93	31.2 ± 3.8
94	11.5 ± 4.5
95	13.5 ± 2.6
96	19.5 ± 4.2
Aspirina	35.0 ± 2.0*
Paracetamol	38.0 ± 1.0**
Dipirona	33.0 ± 3.5*

OBS: Cada grupo representa uma média de 06 experimentos. Asteriscos indicam diferenças significantes (**p<0.01 e *p<0.05) quando comparadas com o grupo controle, utilizando-se ANOVA seguida do teste Dunnet.

Podemos observar que o composto **94**, o qual teve o átomo de cloro substituído por uma amina alifática, apresentou uma baixa atividade, sugerindo a importância de substituintes aromáticos.

Quanto ao composto **96**, o qual possui duas estruturas derivadas da 4-aminoantipirina, praticamente não apresentou atividade analgésica, sugerindo a interferência de fatores estéricos que devem estar influenciando a atividade

destes compostos.

Pode-se observar que a introdução de grupos não planares, como a dietilamina (94) e a morfolina (95), levou a um decréscimo da inibição das contorções abdominais causadas pelo ácido acético quando comparados à introdução de grupos mais planares, com exceção do grupo 3,4-dicloroanilina.

Embora a atividade destes compostos não tenha sido tão significativa quanto do composto 75, eles foram mais ativos que os fármacos de referência, consistindo em compostos de interesse para estudos farmacológicos e toxicológicos mais detalhados.

Visando aplicar futuramente métodos de correlação estrutura-atividade, foram selecionados os compostos substituídos pelas aminas aromáticas que incluem os compostos mais ativos (89, 90, 91, 92, 93) para a determinação das DI_{50} .

Como pode ser observado na figura 9, todos os compostos foram menos ativos do que o compostos protótipo 75. Porém, os compostos contendo os grupos fenilamina e 4-clorofenilamina adicionados à dupla ligação imídica foram os mais ativos da série, com efeito analgésico ligeiramente inferior ao composto 75.

A atividade destes compostos diminuiu com o aumento do volume molar calculados através do programa ACD Labs (figura 9). No entanto, novos estudos são requeridos para avaliar os parâmetros físico-químicos envolvidos na atividade analgésica destes compostos.

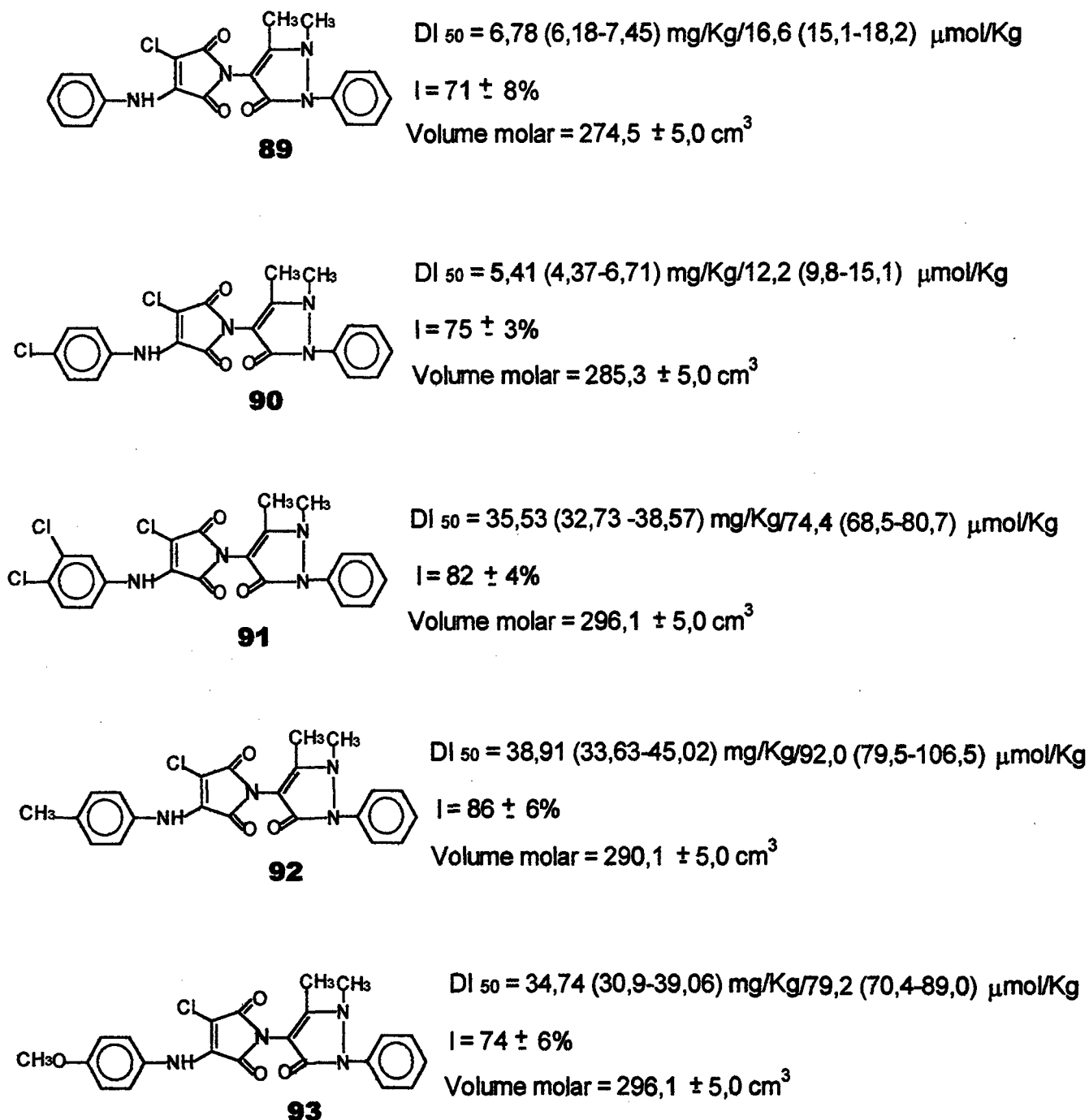


Figura 9: Dados de DI₅₀, inibição máxima na maior dose testada e volume molar de alguns derivados da N-antipirina-3,4-dicloromaleimida.

A potente ação analgésica dos compostos **89** e **90**, que foram cerca de 8 a 10 vezes mais ativos do que o AAS e o paracetamol e ligeiramente menor que o protótipo **75** é um dado promissor na busca de novos fármacos, pois os mesmos podem ser destituídos de efeitos tóxicos e ainda serem usados como modelo na síntese de novos derivados ou análogos.

5.2.2. Atividade microbiológica

Estudos anteriores têm demonstrado que algumas imidas cíclicas, especialmente derivados da maleimida, possuem promissores efeitos antimicrobianos contra fungos e bactérias^{11, 29, 36}.

No presente trabalho, fêz-se uma análise preliminar dos efeitos antimicrobianos de alguns compostos derivados da 4-aminoantipirina.

A tabela **3** mostra a concentração inibitória mínima (CIM) destes compostos contra as bactérias *S. aureus* e *E. coli* e a levedura *C. albicans*, todos patogênicos aos seres humanos.

Apenas o composto **75** apresentou atividade significativa contra *C. albicans* (<200 µg/mL), sendo que todos os demais compostos não apresentaram atividade nas concentrações analisadas. Isto permite observar que a introdução do grupo pirazol às imidas contribui para diminuir seus efeitos antimicrobianos demonstrado em estudos anteriores¹²⁵.

Tabela 3: Determinação da CIM ($\mu\text{g/mL}$) para as imidas derivadas da 4-aminoantipirina sintetizadas neste estudo contra bactérias e fungo.

CIM ($\mu\text{g/mL}$)			
composto / microrganismo	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Candida albicans</i>
75	>1000	>1000	<200
76	>1000	>1000	>1000
77	>1000	>1000	>1000
78	>1000	>1000	>1000
79	>1000	>1000	1000
81	>1000	>1000	>1000
82	>1000	>1000	>1000
83	>500	>1000	>1000
84	>1000	>1000	>1000
85	>1000	>1000	>1000
86	>1000	>1000	<1000
87	>1000	>1000	>1000
88	>1000	>1000	>1000

6. CONCLUSÕES

Os resultados obtidos no presente estudo permitem concluir que:

- Foram obtidos 22 compostos, sobre os quais não foram encontrados dados na literatura referente as respectivas estruturas. As reações ocorreram normalmente, embora a formação das imidas cíclicas necessitaram condições especiais (ácido acético e/ou cloreto de acetila e refluxo) e forneceram os compostos em moderados a excelentes rendimentos (40 a 95%).
- Pôde-se caracterizar os compostos estudados através de espectroscopia de infravermelho, a qual permitiu detectar a formação do anel imídico, fazendo-se a análise das bandas de absorção características de hidroxilas e de grupos carbonila, e o RMN-¹H, o qual permitiu confirmar as respectivas estruturas, além do RMN-¹³C.
- Os compostos estudados são bastante promissores, principalmente quanto a atividade analgésica. O composto obtido pela reação entre a 4-aminoantipirina e o anidrido 3,4-dicloromaleico sob refluxo em ácido acético (75), revelou-se cerca de 12 a 15 vezes mais ativo que os fármacos de referência analisados no modelo de contorções abdominais induzidas pelo ácido acético, apresentando um valor calculado de DI₅₀ de 3,8 (1,7 – 8,6) mg/kg [10.8 (4.8 – 24.4) µmol/kg] com inibição máxima (IM) de 99 ± 1%.

Administrado oralmente, este composto reduziu em 80% o número de contorções, indicando que é absorvido pelo trato gastrointestinal.

- Através do tratamento com naloxona, um conhecido receptor antagonista não seletivo da morfina e do modelo de sensibilidade térmica, pode-se concluir que o composto (75) foi efetivo na diminuição da dor induzida por ácido acético atuando por um mecanismo não opióide.
- No modelo de dor induzida pela formalina, o composto (75) foi cerca de 8 – 18 vezes mais ativo que fármacos utilizados na clínica, quando analisados no mesmo modelo, apresentando um valor de DI_{50} calculado para a segunda fase de 5.18 (3.9 – 6.7) mg/kg [14.7 (11.2 – 19.2) μ mol/kg] , com uma inibição máxima de 100 %. Neste modelo, o composto (75) não inibiu o edema induzido pela própria formalina, sugerindo que seu efeito analgésico não está relacionado ao processo inflamatório, nas doses de 3, 6 e 10 mg/kg.
- No modelo de dor induzida pela capsaicina, o composto (75) foi cerca de 3 vezes mais ativo que a dipirona, no mesmo modelo, com um valor calculado para a DI_{50} de 23.8 (17.5 – 32.5) mg/kg [67.6 (49.6 – 92.3) μ mol/kg] e inibição máxima de 83 %, comprovando o efeito antinociceptivo deste composto na dor neurogênica.

- Os compostos obtidos pela reação entre a 4-aminoantipirina e o anidrido bisnaftálico, o ácido âmico (mistura) (87) e a imida cíclica (88), também apresentaram um alto efeito analgésico, no modelo de contorções abdominais induzidas pelo ácido acético, com inibições de 91 e 88% respectivamente e devem ser melhor estudados.
- Os ácidos âmicos nos quais a 4-aminoantipirina reagiu com o anidrido succínico (76) e com o anidrido glutárico (78), apresentaram atividades analgésicas bastante similares aos fármacos analisados no mesmo modelo de contorções abdominais induzidas pelo ácido acético.
- Os compostos obtidos pela reação entre a 4-aminoantipirina e o anidrido ftálico, o ácido âmico (83) e a imida cíclica (84), não apresentaram efeitos analgésicos significantes, bem como a introdução de 4 átomos de bromo no anel ftálico, que correspondem aos compostos (85), o ácido âmico, e (86) a imida cíclica, apresentaram ambos perfis bastante similares aos análogos não bromados.
- Quanto aos compostos modificados estruturalmente, a partir do composto 75, apenas os compostos nos quais houve a substituição de um átomo de cloro pela anilina (89) e pela 4-cloroanilina (90), apresentaram atividade analgésica significativa, com inibições de 71,6 e 75 % respectivamente, quando analisados no modelo de contorções abdominais induzidas pelo

ácido acético. E, seus valores de DI_{50} foram ligeiramente menor que o protótipo 75. Entretanto, a continuidade deste trabalho poderá fornecer dados suficientes para uma análise mais concreta da relação estrutura-atividade, sendo também muito importante a análise toxicológica. Além disso, novos grupos poderão ser substituídos pelo átomo de cloro (outras aminas, fenóis, tióis, etc.) na busca de novos agentes analgésicos.

- Quanto a atividade antimicrobiana, os resultados demonstraram que os compostos sintetizados a partir da 4-aminoantipirina não foram ativos tanto no ensaio para bactérias nem para levedura. Porém, o composto (75), selecionado para o estudo, foi o que apresentou algum indício de atividade contra *Candida albicans* (<200 $\mu\text{g/mL}$), sendo interessante a continuidade dos testes microbiológicos para os compostos modificados estruturalmente a partir do composto (75).

7. BIBLIOGRAFIA:

01. BARREIRO, E. A importância da síntese de fármacos na produção de medicamentos. Quim. Nova, v. 14, n. 3, p. 179-188, 1991.
02. UGAZ, O. L. Investigación Fitoquímica. 2. ed., Lima: Pontificia Universidade Católica del Peru Fondo Editorial, 1994.
03. LOZOYA, X. Fármacos de origen vegetal de ayer y de hoy. Investigación y Ciencia, p. 4-10, nov. 1997.
04. CECHINEL FILHO, V.; YUNES, R. A. Estratégia para a obtenção de compostos farmacologicamente ativos a partir de plantas medicinais: Conceitos sobre modificação estrutural para otimização da atividade. Quím. Nova, v. 21, n. 1, p. 99-105, 1998.
05. PANDEY, R.C. Prospecting for potentially new pharmaceuticals from natural sources. Med. Res. Rev., v. 18, n. 5, p. 333-346, 1998.
06. CECHINEL FILHO, V. Principais avanços e perspectivas na área de produtos naturais ativos: Estudos desenvolvidos no NIQFAR/UNIVALI. Quim. Nova, v. 23, n. 5, p. 680-685, 2000.
07. HARGREAVES, M. K.; PRITCHARD, J. G.; DAVE, H. R. Cyclic carboxylic monoimides. Chem. Rev., v. 70, n. 4, p. 439-469, 1970.
08. RANG, H. P.; DALE, M. M.; RITTER, J. M. Farmacologia, 3. ed., Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1997.
09. SINGHAL, S.; MEHTA, J.; DESIKAN, R. et al. Antitumor activity of thalidomide in refractory multiple myeloma. N. Engl. J. Med., v. 341, n. 21, p. 1565-1571, nov. 1999.
10. TEMPESTA, M. S.; CORLEY, D. G.; BEUTLER, J. A. et al. Phyllanthimide, a New Alkaloid from *Phyllanthus sellowianus*. J. Nat. Prod., v. 3, p. 617-618, 1988.
11. CECHINEL FILHO, V.; BELLA CRUZ, A.; MORETTO, E. et al. Antibacterial Activity of N-phenylmaleimides, N-phenylsuccinimides and Related Compounds: Structure-activity Relationships. Il Farmaco, v. 49, n. 10, p. 675-677, 1994.

12. CALIXTO, J. B.; YUNES, R. A.; NETO, A. S. O. et al. Antispasmodic Effects of an Alkaloid Extracted from *Phyllanthus sellowianus*: a Comparative Study with Papaverine. Braz. J. Med. Biol. Res., v. 17, p. 313-321, 1984.
13. CECHINEL FILHO, V. Obtenção de compostos farmacologicamente ativos a partir de produtos naturais: correlação estrutura química-atividade biológica. 1995. 143 p. Tese (Doutorado em Química) – Departamento de Química, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis.
14. ANDRICOPULO, A. D.; CECHINEL FILHO, V.; SANTOS, A. R. S. et al. Síntese de compostos imídicos cíclicos com propriedades analgésicas. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE QUÍMICA, 20., 1997, Poços de Caldas-MG, v. 1, p. SA-19.
15. CAVA, M. P.; DEANA, A. A.; MUTH, K. et al. J. N-phenylmaleimide. Organic Synthesis Coll., v.5, p. 944, 1973.
16. NUNES, R.J. The Chemistry and Biological Activity of Cyclic Imidobenzenelulphonyl Derivatives. 1986, 212 p. Tese (Doutorado em Química)- The Hatfield Polytechnic, England.
17. CREMLYN, R.J.; SWINBOURNE, F. J.; FITZGERALD, P. et al. Indian J. Chem. 1984, 23 B, 962.
18. CECHINEL FILHO, V.; NUNES, R. J.; CALIXTO, J. B. et al. Inhibition of Acetylcholine-Mediated Contraction of Guinea Pig Ileum in-vitro Caused by Phyllanthimide Analogues: Structure-Activity Relationships. Pharm. Sci., v. 1, p. 399-401, 1995.
19. CORRÊA, R.; ROSA, P. W.; BELLA CRUZ, A. et al. Synthesis and Antibacterial activity of Citraconimides. Pharm. Sci., v. 2, p. 302-304, 1996.
20. CORRÊA, R.; CECHINEL FILHO, V.; SCHLEMPER, V. et al. Synthesis of New Succinimides and Sulphonated Derivatives with Analgesic Action in Mice. Pharm. Sci., v. 3, p. 67-71, 1997.
21. CREMLYN, R.J.; SWINBOURNE, F. J.; NUNES, R. J. Síntese e atividade biológica de derivados da N-fenilmaleimida. Quim. Nova, v. 7, n. 2, p.

- 118-119, 1985.
22. CREMLYN, R. J.; NUNES, R. J. Reactions of N-((p-Chlorosulphonylphenyl) Maleimide. Phosphorus and Sulfur, v. 31, p. 245-254, 1987.
23. CORRÊA, R. Síntese de compostos imídicos cíclicos de interesse biológico, 1997. Dissertação (Mestrado em Química)-Departamento de Química, UFSC, 1997.
24. FAUL, M. M.; WINNEROSKI, L. L.; KRUMRICH, C. A. A new one step synthesis of maleimides by condensation of glyoxylate esters with acetamides. Tet. Lett., v. 40, p. 1109-1112, 1999.
25. CREMLYN, R. J.; SWINBOURNE, F. J.; NUNES, R. J. Diels-Alder reactions using N-(p-Chlorosulfonylphenyl)Maleimide as Dienophile. Phosphorus and Sulfur, v. 30, p. 65-75, 1987.
26. BEYER, U.; SCHUMACHER, P.; UNGER, C. et al. Synthesis of maleimide derivatives of the anticancer drugs 5-fluorouracil and 5'-deoxy-5-fluorouridine for the preparation of chemoimmunoconjugates. Pharmazie, v. 52, n. 6, p. 480-482, 1997.
27. KRAJEWSKI, D.; TÓTH, G.; SCHREIRER, P. 2-Ethyl-3-Methylmaleimide N- β -D-Glucopyranoside from the leaves of Mangosteen (*Garcinia mangostana*). Phytochemistry, v. 43, n. 1, p. 141-143, 1996.
28. LIMA, E. O.; QUEIROZ, E. F.; ANDRICOPULO, A. D. et al. Evaluation of antifungal activity of N-aryl-maleimides and N-phenylalkyl-3,4-dichloromaleimides. Bol. Soc. Chil. Quim., v.44, n. 2, p. 185-189, 1999
29. CECHINEL FILHO, V.; PINHEIRO, T.; NUNES, R. J. et al. Síntese de N-alquilfenilmaleimidias e N-alquilarilmaleimidias com Atividade Antifúngica. Quím. Nova, v. 19, n. 6, p. 590-593, 1996.
30. LÓPEZ, S. N.; CORTÉS, J. C. G.; CORRÊA, R. et al. Antifungal evaluation and studies on mode of action of derivatives of phyllanthimide, a cyclic imide isolated from *Phyllanthus sellowianus*. In: IUPAC INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON THE CHEMISTRY OF NATURAL PRODUCTS, 22., 2000, São Carlos- SP, Brasil. Abstract publication. São Carlos: Ufscar, 2000, p. PPA-078.

31. CECHINEL FILHO, V.; VAZ, Z.; NUNES, R. J. et al. Antinociceptive Activity of Phyllanthimide Analogues: Structure-activity relationships. Pharm. Sci., v. 2, p. 199-201, 1996.
32. CECHINEL FILHO, V.; CORRÊA, R.; VAZ, Z. et al. Further studies on analgesic activity of cyclic imides. II Farmaco, v. 53, p. 55-57, 1998.
33. CAMPOS, F.; CORRÊA, R.; SOUZA, M. M. et al. Síntese e atividade analgésica de imidas cíclicas derivadas da 4-aminoantipirina. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE QUÍMICA, 23., 2000, Poços de Caldas. Anais... Poços de Caldas: Sociedade Brasileira de Química, 2000. 3 v. V. 2, p. MD-011.
34. CAMPOS, F.; CORRÊA, R.; SOUZA, M. M. et al. Studies of New Cyclic Imides Obtained from 4-Aminoantipyrine with Analgesic Properties: Potent effects of 3,4-dichloromaleimide derivative. Submetido para publicação em Drug Res., 2000.
35. ANDRICOPULO, A. D.; FILHO, A. W.; CORRÊA, R. et al. Analgesic activity of 3,4-dichloromaleimides: structure-activity relationships. Pharmazie, v. 53, n. 7, p. 493-494, 1998.
36. BELLA CRUZ, A.; BELLA CRUZ, R. C.; CECHINEL FILHO, V. et al. Avaliação dos efeitos antibacterianos de N-arildicloromaleimidias e N-arilftalimidias: Relação estrutura-atividade. Rev. Latinoamer. Quim., v. 25, n. 1, 1996.
37. ANDRICOPULO, A. D.; SAVI, A. O. S; CORRÊA, R. et al. Síntese e atividade antibacteriana de imidas cíclicas: 3,4-dicloromaleimidias e 3-cloro-4-substituída-maleimida. Quim. Nova, v. 21, n. 5, p. 573-577, 1998.
38. CORRÊA, R.; ROSA, P. W.; CECHINEL FILHO, V. et al. Síntese e atividade biológica de novos compostos imídicos cíclicos sulfonados. Alcance (Pesquisa), v.3, p. 19-23, set. 1998.
39. SHARPLESS, N. E.; FLAVIN, M. The Reactions of Amines and Amino Acids with Maleimides. Biochemistry, v. 5, n. 9, p. 2963-2971, 1966.
40. LANGE, J.; RUMP, S.; ILCZUK, I. et al. Synthesis and properties of cyclic

- derivatives of succinic acid with anticonvulsant activity. Pharmazie, v. 32, n.10, p. 579-581, 1977.
41. CREMLYN, R.J.; SWINBOURNE, F. J.; SHODE, O. O. J. Chinese Chem. Soc. 1984, 31, 383.
42. ASHRAF, S. A.; HILL, J.; M'HAMED, A. et al. Photoreactions of 2-(N-alkylarylamino)succinimides and Related Compounds. Tetrahedron, v. 48, n. 32, p. 6747-6756, 1992.
43. MEISE, W.; AL-ASHMAWI, M. I.; KULL, M. A. Reaction of 2,3-dichloromaleic anhydride I: nitrosative reductive elimination; synthesis of N-(2,6-dimethylphenyl)-2-(N-nitroso-N-substituted)aminosuccinimides. Boll. Chim. Farmaceutico, v. 135, n. 7, p. 429-433, 1996.
44. OBNISKA, J.; ZEJEC, A.; KAROLAK-WOJCIECHOWSKA, J. Synthesis, physicochemical and anticonvulsant properties of new N-pyridyl derivatives of 3-phenyl- and 3,3-diphenyl-succinimides. II Farmaco, v. 54, p. 423-429, 1999.
45. LANGE, J.; KÁZMIERSKI, W.; DAROSZEWSKI, J. A quantitative structure-activity relationship (QSAR) analysis of the effects of aromatic substitution on the anticonvulsant activity and toxicity of arylsuccinimides. Pol. J. Pharmacol. Pharm., v. 43, p. 71-77, 1991.
46. PAVLOV, S.; BOGAVAC, M.; ARSENIJEVIC, L. et al. Chemical modifications of some pharmacologically active imides. Pharmazie, v. 45, n. 4, p. 286-287, 1990.
47. CASWELL, L. R.; GUEVARA, M.; CORLEY, L. D. et al. Cyclic Imides; 15. Reaction of 4,5-dichlorophthalimides with potassium nitrite: synthesis of 4-hydroxy-5-nitrophthalimides. Synthesis, n. 9, p. 823-826, sep. 1992.
48. POUPAERT, J. H.; GAETANE, H.; BARBEAUX, P. et al. Anticonvulsant activity of some N-phenylphthalimide derivatives in rats and mice. J. Pharmacol., v. 47, p. 89-91, 1995.
49. BOGDAL, D.; PIELICHOWSKI, J.; BORON, A. Remarkable fast microwave-assisted N-alkylation of phthalimide in dry media. Synlett, v. 9, p. 873-

874, sep. 1996.

50. ANTUNES, R.; BATISTA, H.; SRIVASTRA, R. M. et al. New phthalimide derivatives with potent analgesic activity: II. Bioorg. Med. Chem. Lett., v. 8, p. 3071-3076, 1998.
51. KAMAL, A.; LAXMAN, E.; LAXMAN, N. et al. Efficient one-pot synthesis of N-synthesis of N-substituted phthalimides/naphthalimides from azides and anhydrides by iodotrimethylsilane. Tet. Letters, v. 39, p. 8733-8734, 1998.
52. CHAPMAN, J. M.; SOWELL, J. W.; ABDALLA, G. et al. Hypolipidemic activity of cyclic imido alkyl ethers, thioethers, sulfoxides, and sulfones. J. Pharm. Sci., v. 78, n. 11, p. 903-909, nov. 1989.
53. CHAPMAN, J. M.; DE LUCY, P.; WONG, O. et al. Structure activity relationships of imido N-alkyl semicarbazones, Thiosemicarbazones and acetylhydrazones as hypolipidemic agents in rodents. Lipids, v. 25, n. 7, p. 391-397, 1990.
54. HALL, I.H.; PATRICK, M. A.; MAGUIRE, J. H. Hypolipidemic activity in rodents of phenobarbital and related derivatives. Arch. Pharm (Weinheim), v. 323, p. 579-586, 1990.
55. HALL, I. H.; SCOVILLE, J. P.; REYNOLDS, D. J. et al. Substituted cyclic imides as potential anti-gout agents. Life Sciences, v. 46, p. 1923-1927, 1990.
56. MIYACHI, H.; AZUMA, A.; OGASAWA, A. et al. Novel biological response modifiers: phthalimides with tumor necrosis factor- α production-regulating activity. J. Med. Chem., v. 40, n. 18, p. 2858-2865, 1997.
57. RIBEIRO, R. A.; VALE, M. L.; FERREIRA, S. H. et al. Analgesic effect of thalidomide on inflammatory pain. Eur. J. Pharmacol., v. 391, p. 97-103, 2000.
58. JACOBSON, J. M.; GREENSPAN, J.; SPRETZLER, J. Thalidomide for the treatment of oral aphthous ulcers in patients with human immunodeficiency virus infection. N. Engl. J. Med., v. 336, p. 1487-1493, 1997.

59. TAVARES, J. L.; WANGOO, A.; DILWORTH, P. et al. Thalidomide reduces tumour necrosis factor- α production by human alveolar macrophages. Respir. Med., v. 91, p. 31-39, 1997.
60. SOMMER, C.; MARZINIAK, M.; MYERS, M. M. The effect of thalidomide treatment on vascular pathology and hyperalgesia caused by chronic constriction injury of rat nerve. Pain, v. 74, p. 83-91, 1998.
61. KONSTANTINOVA, T. N.; MEALLIER, P.; GRABCHEV, I. The synthesis of some 1,8-naphthalic anhydride derivatives as dyes for polymeric materials. Dyes and Pigments, v. 22, p. 191-198, 1993.
62. GRABCHEV, I.; MEALLIER, P.; KONSTANTINOVA, T. N. et al. Synthesis of some unsaturated 1,8-naphthalimide dyes. Dyes and Pigments, v. 28, n. 1, p. 41-46, 1995.
63. GRABCHEV, I.; KONSTANTINOVA, T. N. Synthesis of some polymerisable 1,8-naphthalimide derivatives for use as fluorescent brighteners. Dyes and Pigments, v. 33, n. 3, p. 197-203, 1997.
64. GRABCHEV, I.; PHILIPOVA, T. Synthesis of some 1,8-naphthalic anhydride derivatives as dyes for polymeric materials. Indian J. Chem., v. 36B, p. 264-266, march. 1997.
65. TORRES SUÁREZ, A. I.; CAMACHO, M. A. Photolability evaluation of the new dytostatic drug mitonafide. Arzeim.-Forsch/ Drug Res., v. 44. N. 1, p. 81-128, 1994.
66. ASBURY, R. F.; BLESSING, J. A.; SOPER, J. T. A gynecologic oncology group phase II study of amonafide (NSC # 308847) in squamous cell carcinoma of the cervix. Am. J. Clin. Oncol. (CCT), v. 17, n. 2, p. 125-128, 1994.
67. REYNOLDS, D. J.; WONG, O. T.; SIMLOT, R. et al. Acute toxic and teratogenic effects of cyclic imides in rodents. Arch. Pharm (Weinheim), v. 327, p. 237-245, 1994.
68. BRANA, M. F.; CASTELLANO, J. M.; MORAN, M. et al. Synthesis, structure and antitumor activity of New Benz[d,e]isoquinoline-1,3-diones. Arzneim – Forsch./Drug Res., v. 45, n. 12, p. 1311-1318, 1995.

69. CANI, G. S.; MÜLLER, L. A. Efeito antinociceptivo de derivados sintéticos naftalimídicos. Análise do mecanismo de ação, 1999. Monografia de Conclusão de Curso (Farmácia), UNIVALI, Itajaí, SC, 1999.
70. ANDRICOPULO, A. D.; MÜLLER, L. A.; CECHINEL FILHO, V. et al. Analgesic activity of cyclic imides: 1,8-naphthalimide and 1,4,5,8-naphthlenediimide derivatives. II Farmaco, v. 55, p. 319-321, 2000.
71. DOUNCHIS, H.; VOLPP, G. P. Glutarimide Antibiotics: Analogs of Streptimidone. J. Med. Chem., v. 14, n. 3, p. 241-242, 1971
72. DE, A.U. and PAL, D. Possible Antineoplastic Agents I. J. Pharm. Sci., v. 64, n. 2, p. 262-266, 1975.
73. STIZ, D. S. Síntese de glutarimidas com atividade biológica. Monografia de conclusão de curso (Farmácia), UNIVALI, Itajaí, SC, 1999.
74. STIZ, D. S.; CORRÊA, R. ; ANDRICOPULO, A. D. et al. Produto da reação do ácido 2,2-dimetilglutárico com fenetilamina em éter.
75. STIZ, D. S.; SOUZA, M. M.; GOLIM, V. et al. Antinociceptive properties of N-aryl-glutaramic acids and N-aryl-glutarimides. Pharmazie, v. 55, n. 12, p. 942-944, 2000.
76. PATEL, V. K.; VENKATAKRISHNA-BHATT, H. ; PATEL, N. B. et al. Pharmacology of new glutarimide compounds. Biomed. Biochim. Acta, v. 44, n. 5, p. 795-803, 1995.
77. GOEHRING, R. R.; GREENWOOD, T. D.; NWOKOGN, G. C. et al. Synthesis and anticonvulsant activity of 2-benzylglutarimides. J. Med. Chem., v. 33, p. 926-931, 1990.
78. ABOAGYE, F. A.; SAM, G. H.; MASSIOT, G. et al. Julocrotine, a glutarimide alkaloid from *Croton membranaceus*. Fitoterapia, v. 71, p. 461-462, 2000.
79. NICHOLSON, G. M.; SPENCE, I.; JOHNSTON, G. A. R. Effects of a depressant/convulsant pair of glutarimides on neuronal activity in the isolated spinal cord of the immature rat. Neuropharmacology, v. 24, n. 6, p.461-464, 1995.
80. RIBLET, L. A.; TAYLOR, D. P.; EISON, M. S. et al. Pharmacology and

- neurochemistry of buspirone. J. Clin. Psychiatry, v. 43, p. 11-18, 1982.
81. YEVICH, J. P.; NEW, J. S.; SMITH, D.W. et al. Synthesis and biological evaluation of 1-(1,2-benzisothiazol-3-yl)-and (1,2-benzisoxazol-3-yl)piperazine derivatives as potential antipsychotic agents. J. Med. Chem., v. 29, n. 3, p. 359-369, 1986.
82. ZAWADOWSKI, T.; KOSSAKOWSKI, J.; RUMP, S. et al. Synthesis and anxiolytic activity of N-substituted cyclic imides N-{4-[(4-aryl)-1-piperazinyl]alkyl}-5,7-dioxabicyclo[2.2.2]octane-2,3-dicarboximide. Acta Pol. Pharm.-Drug Res., v. 52, n. 1, p. 43-46, 1995.
83. MICHALSKA, D.; MORZYS, B.; BIENKO, D. C. et al. Glutarimide: a carrier transporting drug cell membranes. Med. Hypotheses, v. 54, n. 3, p. 472-474, 2000.
84. FUJINAMI, A.; OZAKI, T.; YAMAMOTO, S. Studies on biological activity of cyclic imide compounds . Part I: antimicrobial activity of 3-phenyloxazolidine-2,4-diones and related compounds. Agr. Biol. Chem., v. 35, n. 11, p. 1707-1719, 1971.
85. ABOUL-ENEIN, H. Y. An improved synthesis of 2-ethyl-2-phenylglutaconimide. Org. Prep. Proc. Int., v. 7, n. 1, p. 14-16, 1975.
86. NEW, J. S.; YEVICH, J. P.; TEMPLE, O. L. et al. Atypical antipsychotic agents: patterns of activity in a series of 3-substituted 2-pyridinyl-1-piperazine derivatives. J. Med. Chem., v. 31, p. 618-624, 1988.
87. TURTO, J.; ZAWADOWSKI, T.; RUMP, S. et al. Synthesis and pharmacological screening of some N,N'-bis-[4-(4-aryl-1-piperazinyl)butyl]-substituted derivatives of 1,8-dimethylbicyclo[2.2.2]oct-7-ene-2,3,5,6-tetracarboxydiimide. Pol. J. Pharmacol., v. 46, p. 451-455, 1994.
88. TURTO, J.; ZAWADOWSKI, T. Synthesis of N,N'-bis-aminoalkyl-substituted derivatives of bicyclo[2.2.2]oct-7-ene-2,3,5,6-tetracarboxydiimide with potential anxiolytic activity. Il Farmaco, v. 51, n. 12, p. 815-818, 1996.
89. GAM, G. T.; JEONG, J. G.; LEE, N. J. et al. J. Appl. Pol. Sci. 1995, 57, 219.

90. WILLETE, R. E. Analgesic agents. In: Delgado, Jaime N.; Remers, William A. Wilson and Gisvold's Textbook of Organic Medicinal and Pharmaceutical Chemistry, 10. ed, Philadelphia:Lippincott-Raven Publishers,1998; p.687-711.
91. LEFEBVRE, A.; LE DERF, P.; LESPAGNOL, C. et al. Nouveaux dérivés de l' amino-4-antipyrine. Annales pharm. françaises , v. 35, n. 11-12, p. 489-495, 1977.
92. HARA, Y.; MURAYAMA, S. Effects of analgesic-antipyretics on the spinal reflex potentials in cats: An analysis of the excitatory action of aminopyrine. Folia Pharmacol. Japon., v. 100, p. 383-390, 1992.
93. HARA, Y.; NAKAYA, H.; ALLY, A. et al. Effects of central Nervous Stimulants on Spino-Bulbo-Spinal Reflex Potential in Cats. J. Vet. Med. Sci., v. 59, n. 10, p. 911-915, 1997.
94. BAILEY, D. The Unusual Occurrence of 4-Aminoantipyrine (4-Aminophenazone) in Human Biological Fluids. J. Anal. Toxic., v. 7, p. 76-78, March/April. 1983.
95. COOLEN, S. A. J.; LIGOR, T.; LIESHOUT, M. et al. Determination of phenolic derivatives of antipyrine in plasma with solid-phase extraction and high-performance liquid chromatography-atmospheric-pressure chemical ionization mass spectrometry. J. Chromatogr. B, v. 732, p. 103-113, 1999.
96. PARISIS, D. M.; RAO, G. S. Mutagenicity of 4-aminoantipyrine and 4-nitrososantipyrine, the C-nitroso derivative of antipyrine. Mutation Res., v. 206, p. 317-326, 1988.
97. TRIPATHI, M.; VERMA, M.; PALIT, G. et al. Antipyrine Congeners as Antidepressant Agents. Arzneim.-Forsch./Drug Res., v. 43, n. 10, p. 1045-1049, 1993.
98. GÜRSOY, A.; DEMIRAYAK, Ş.; ÇAPAN, G. et al. Synthesis and preliminary evaluation of new 5-pyrazolinone derivatives as analgesic agents. J. Med. Chem., v. 35, p. 359-364, 2000
99. DORR, V.; COOK, J. Agranulocytosis and near fatal sepsis due to 'Mexican

- Aspirin' (Dipyrone). Southern Med. J., v. 86, p. 612-615, jun. 1996.
100. PARFITT, K. Martindale: The complete drug reference, 32. ed., London: Pharmaceutical Press, 1999, p 35.
101. LEVY, M.; LEIBOWICH, I.; ZYLBER KATZ, E. Impairment of the metabolism of dipyrone in asymptomatic carriers of the hepatitis B virus. Clin. Pharmacol. Ther., v. 62, n. 1, p. 6-14, jul.1997.
102. COHEN, O.; ZYLBER KATZ, E.; CARACO, Y. Cerebrospinal fluid and plasma concentrations of dipyrone metabolites after a single oral dose of dipyrone. Eur. J. Clin. Pharmacol., v. 54, n. 7, p. 549-553, sep.1998.
103. ANDRADE, S.E.; MARTINEZ, C.; WALKER, A. M. Comparative safety evaluation of non-narcotic analgesics. J. Clin. Epidemiol., v. 51, n. 12, p. 1357-1365, dec.1998.
104. MALMBERG, A. B.; YAKSH, T. L. Antinociceptive actions of nonsteroidal anti-inflammatory agents on the formalin test in the rat. J. Pharmacol. Exp. Ther., v. 263, p. 136-146, 1992.
105. VAZ, Z. R.; CECHINEL FILHO, V.; YUNES, R. A. et al. Antinociceptive action of 2-(4-bromobenzoyl)-3-methyl-4,6-dimethoxybenzofuran, a novel xanthoxyline derivative on chemical and thermal models of nociception in mice. J. Pharmacol. Exp. Ther., v. 278, p. 304-312, 1996.
106. ABBATE, R.; GORI, A. M.; PINTO, S. et al. Cyclooxygenase and lipoxygenase metabolite synthesis by polymorphonuclear neutrophils. Fatty Acids, v. 41, p. 89-93, 1990.
107. SHIMADA, S. G.; OTTERNESS, I. G.; STITT, J. T. A study of the mechanism of action of the mild analgesic dipyrone. Agents Actions, v. 41, p. 188-192, 1994.
108. BEIRITH, A.; SANTOS, A. R. S.; RODRIGUES, A. L. S. et al. Spinal and supraspinal antinociceptive action of dipyrone on formalin, capsaicin and glutamate test: study of the mechanism of action. Eur. J. Pharmacol., v. 345, p. 233-245, 1998.
109. ABBOTT, F. V.; HELLEMANS, K. G. Phenacetin, acetaminophen and

- dipyrone: analgesic and rewarding affects. Behav. Brain. Res., v. 112, n. 1-2, p. 177-186, jul. 2000.
110. IZHAR, T. Novalgin in pain and fever. J. Pak. Med. Assoc., v. 49, n. 9, p. 226-226, sep. 1999.
111. BUDAVARI, S. An encyclopedia of chemicals, drugs and biologicals, 12. Ed, Merck & Co, Inc., 1996, p 82.
112. SOUZA, M. M.; DE JESUS, R. A. P.; CECHINEL FILHO, V. et al. Analgesic profile of hidroalcoholic extract obtained from *Marrubium vulgare*. Phytomedicine, v. 5, n. 2, p. 103-107, 1998.
113. HUNSKAAR, S.; FASMER, O. B. and HOLE, K. Formalin test in mice, a useful technique for evaluating mild analgesics. J. Neurosci. Methods, v. 14, p. 69-76, 1985.
114. HUNSKAAR, S. and HOLE, K. The formalin test in mice: dissociation between inflammatory and non-inflammatory pain. Pain, v. 30, p. 103-114, 1987.
115. DE JESUS, R. A. P.; CECHINEL FILHO, V.; OLIVEIRA, A. E. et al. Analysis of the antinociceptive properties of marrubiin isolated from *Marrubium vulgare*. Phytomedicine, v. 7, n. 2, p. 111-115, 1999.
116. SAKURADA, T.; KATSUMATA, K; SAKURADA, S. et al. The capsaicin test in mice for evaluating tachykinin antagonist in the spinal cord. Neuropharmacology, v. 31, p. 1279-1285, 1992.
117. SAKURADA, T.; KATSUMATA, K.; YOGO, H. et al. Antinocicepcion induced by CP96345, a non-peptide NK-1 receptor antagonist, in the formalin and capsaicin test. Neurosci Lett., v. 151, p. 142-145, 1993.
118. EDDY, E. T. and LEIMBACK, C. V.; Synthetic analgesic. II. Dithienyl and dithienylbutylamines. J. Pharmacol. Exp. Ther., v. 107, p. 385-393, 1953.
119. DE SOUZA, M. M., BITTAR, M.; CECHINEL FILHO, V. et al. Antinociceptive Properties of Morusin, a Prenylflavonoid Isolated from *Morus nigra* Root Bark. Z. Naturforsch, v. 55c, p. 256-260, 2000.
120. MITSCHER, L. A.; LEU, L. P.; BATHOLA, M. S. et al. Antimicrobial agents

- from higher plants. I: Introduction, rationale and methodology. Lloydia, v. 35, p. 157-166, 1972.
121. CALIXTO, J. B.; SANTOS, A. R. S.; CECHINEL FILHO, V. et al. A review of the plants of the genus *Phyllanthus*: their chemistry, pharmacology, and therapeutic potential. Med. Res. Rev., v. 18, p.225-258, 1998.
122. CALIXTO, J. B.; BEIRITH, A.; FERREIRA, J. et al. Naturally occurring antinociceptive substances from plants. Phytother. Res., v. 14, p. 401-418, 2000.
123. OCHI, T.; MOTOYAMA, Y.; GOTO, T. The analgesic effect profile of FR122047, a selective cyclooxygenase-1 inhibitor, in chemical nociceptive models. Eur. J. Pharmacol., v. 391, n. 1-2, p. 49-54, 2000.
124. ABBOTT, F. V.; FRANKLIN, K. B. J. Noncompetitive antagonism of morphine analgesia by diazepam in the formalin test. Pharmacol. Biochem. Behav.,v. 24, p. 319-321, 1986.
125. CECHINEL FILHO, V.; CAMPOS, F.; CORRÊA, R. et al. Aspectos químicos e potencial terapêutico de imidas cíclicas: uma revisão de literatura. Artigo submetido à Química Nova.

8. ANEXO 1

Estruturas em 3D dos compostos sintetizados.

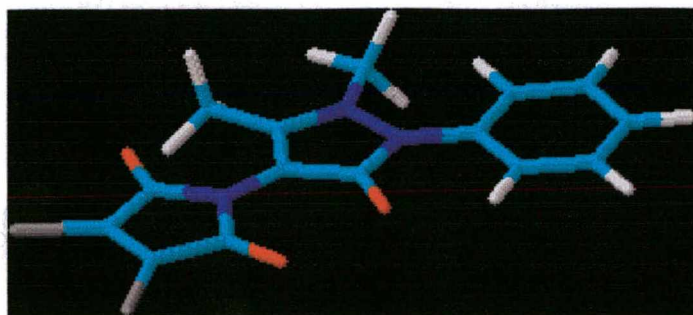


Figura 10:Estrutura do composto **75** em 3D.

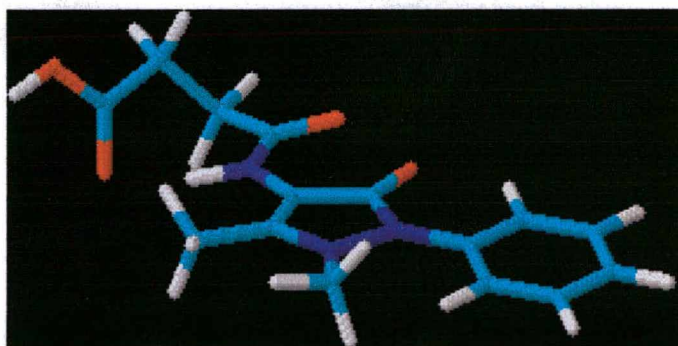


Figura 11:Estrutura do composto **76** em 3D.

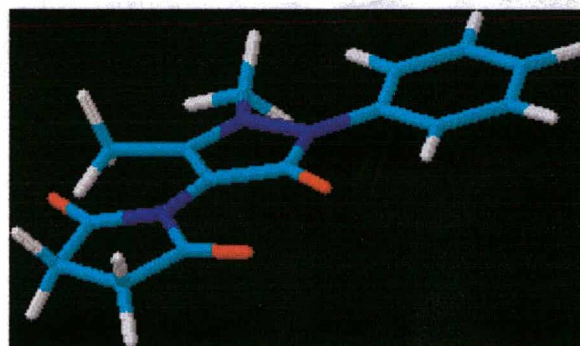


Figura 12:Estrutura do composto **77** em 3D.

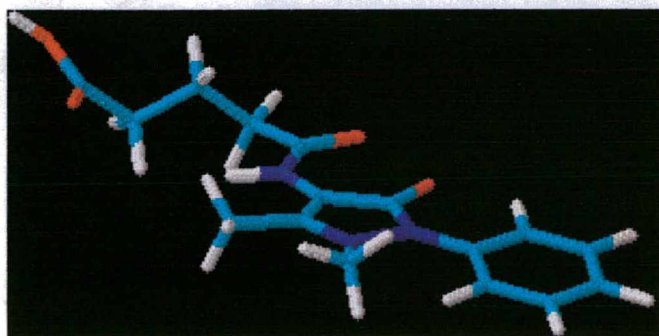


Figura 13:Estrutura do composto **78** em 3D.

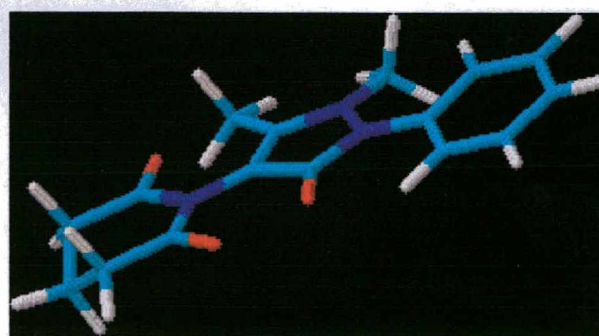


Figura 14:Estrutura do composto **79** em 3D.

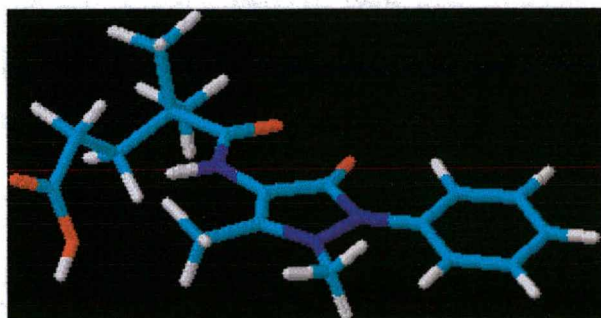


Figura 15:Estrutura do composto **81** em 3D.

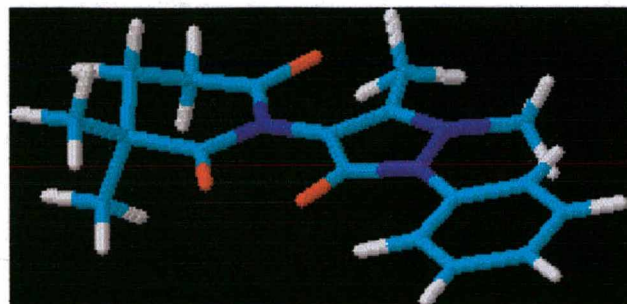


Figura 16:Estrutura do composto **82** em 3D.

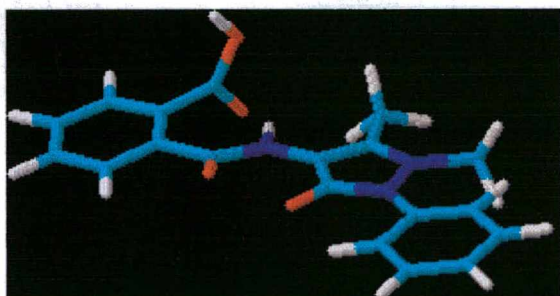


Figura 17:Estrutura do composto **83** em 3D.

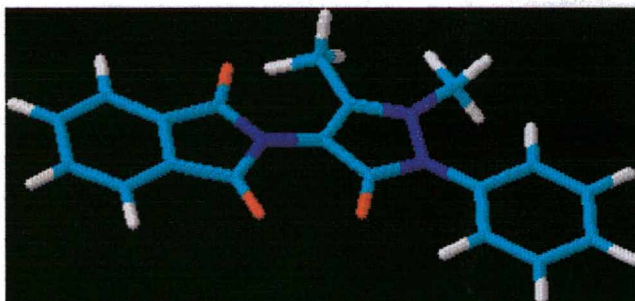


Figura 18:Estrutura do composto **84** em 3D.

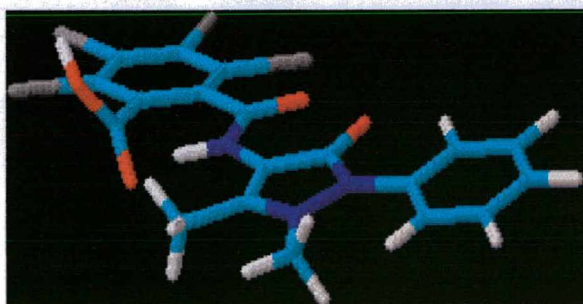


Figura 19:Estrutura do composto **85** em 3D.

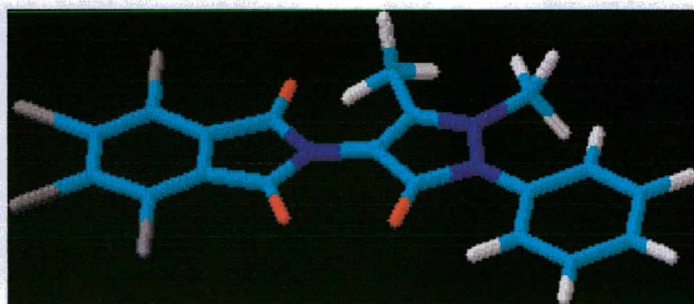


Figura 20:Estrutura do composto **86** em 3D.

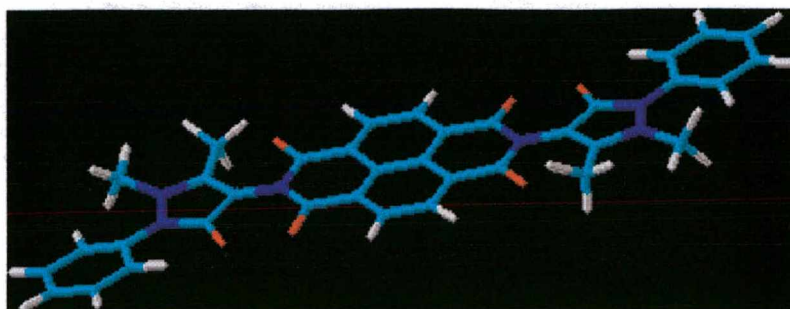


Figura 21:Estrutura do composto **88** em 3D.

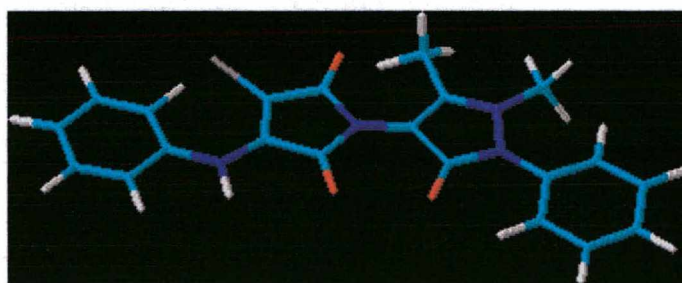


Figura 22:Estrutura do composto **89** em 3D.

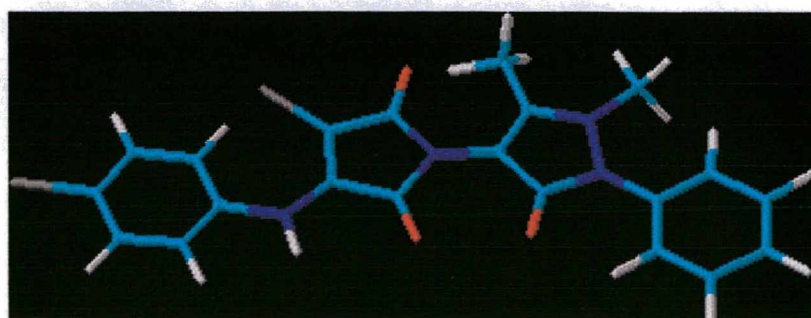


Figura 23:Estrutura do composto **90** em 3D.

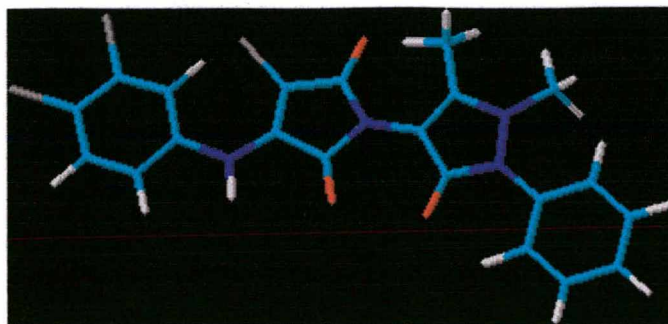


Figura 24: Estrutura do composto **91** em 3D.

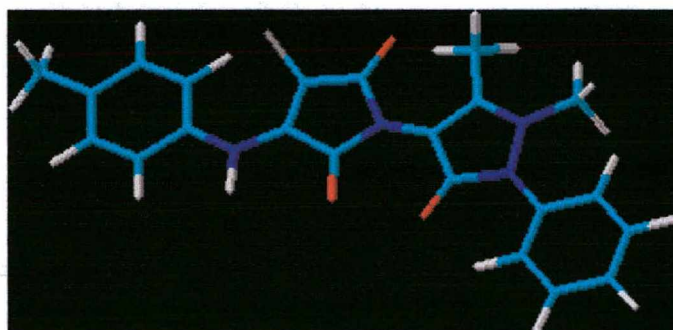


Figura 25: Estrutura do composto **92** em 3D.

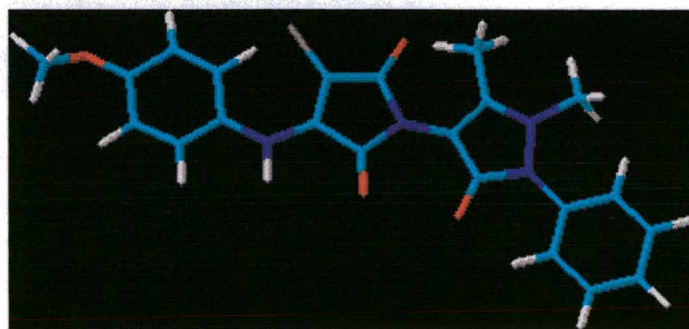


Figura 26: Estrutura do composto **93** em 3D.

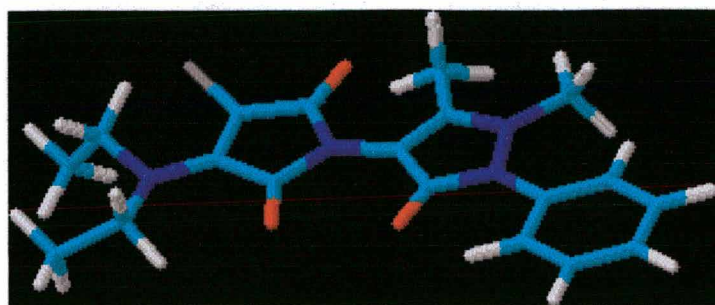


Figura 27:Estrutura do composto **94** em 3D.

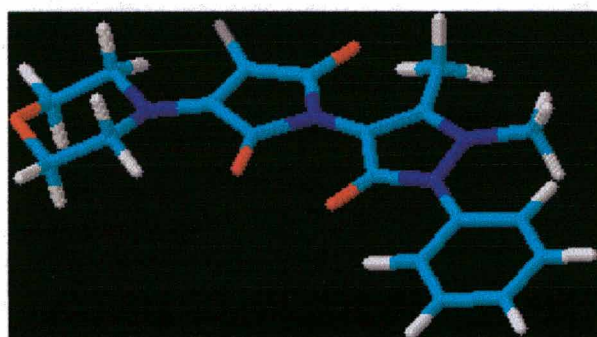


Figura 28:Estrutura do composto **95** em 3D.

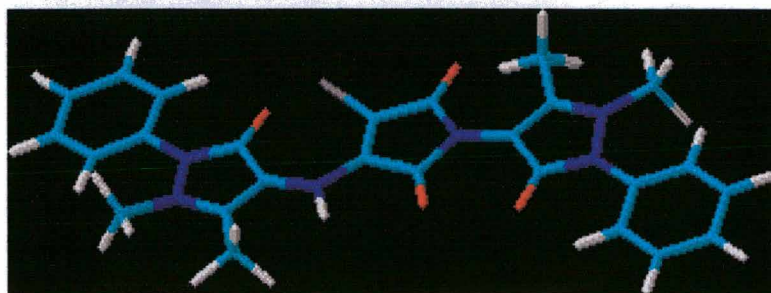


Figura 29:Estrutura do composto **96** em 3D.

9. ANEXO 2

**Artigo aceito para publicação no periódico Arzneimittel Forschung/Drug
Research.**

Arzneimittel Forschung Drug Research

cechinel@mbox1.univali.br

ECV · Editio Cantor Verlag · Postfach/P.O.B. 1255 · D-88322 Aulendorf

Professor Dr. Valdir Cechinel Filho
NIQFAR/CCS/UNIVALI
Rua Uruguai, 458; Cx.P. 360
88302-202 ITAJAÍ-SC
BRAZIL

Special Section
Biotechnology
in Drug Research

Ihre Nachricht/Your letter	Unser Zeichen/Our ref.	Datum/Date	Durchwahl/Phone	Fax
	Schr/Da	11 April 2001	0 75 25/940-120 e-mail: redaktion@ecv.de	0 75 25/940-127

Publication of the study by de Campos et al. „Studies on New Cyclic Imides Obtained from 4-Aminoantipyrine ...“

Dear Professor Cechinel Filho,

With thanks we received your letter of 5th April and are pleased to confirm that the revised manuscript documents (including floppy disk) of the above mentioned study arrived in good condition here.

On perusal of the new version we notice that the requests according to our statement of 7 February 2001 could be taken into consideration absolutely satisfactorily. We thank you and the authors' team for your understanding and your efforts.

For the present there is no need for additional actions. Your study is already firmly accepted for publication in our journal.

We notice that you are the corresponding author. You will receive the galley proofs for examination and imprimatur in due course. This will happen approximately three to four months prior to publication.

Regarding a certain waiting period we ask you for sufficient patience. Thank you once again for your endeavours with the revision of the manuscript.

Yours sincerely,

Arzneimittel-Forschung
Drug Research


Viktor Schramm

ECV · Editio Cantor
Verlag für Medizin und
Naturwissenschaften
GmbH

Bändelstockweg 20
D-88326 Aulendorf
Germany

Dresdner Bank
Ravensburg
(BLZ 650 800 09)
Konto 2 824 103

Kreissparkasse
Aulendorf
(BLZ 650 501 10)
Konto 55 205 960

Postbank Stuttgart
(BLZ 600 100 70)
Konto 29 487-703

Geschäftsführer: Amtsgerecht Ravensburg
Gunther Bicker HRB 174-BW
Viktor Schramm Ust-IdNr: DE811227488

Telefon 0 75 25/940-0

Telefax 0 75 25/940-180

Homepage: www.ecv.de



Studies on New Cyclic Imides Obtained from 4-Aminoantipyrine with Analgesic Properties. Potent effects of a 3,4-dichloromaleimide derivative

Fátima de Campos ^a, Rogério Corrêa ^a, Márcia Maria de Souza ^a, Rosendo Augusto Yunes ^b,
Ricardo José Nunes ^b, Valdir Cechinel-Filho ^a

^aNúcleo de Investigações Químico-Farmacêuticas (NIQFAR), Curso de Farmácia,
Universidade do Vale do Itajaí, Itajaí, SC, Brazil.

^bDepartamento de Química, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, SC,
Brazil.

Summary

This paper describes the synthesis of new cyclic imides obtained by reaction with 4-aminoantipyrine and different anhydrides with further cyclization with acetic acid under reflux. Their structures were confirmed by spectral data (IR and NMR) and elemental analysis. The analgesic activity of the synthesized compounds was investigated initially against writhing test in mice and the most promising compound, a 3,4-dichloromaleimide derivative (**3**), was analyzed using other models of nociception. The results indicated that compound **3** exerts potent analgesic activity in mice, being more active than some reference drugs. The analgesia caused by this compound was not reversed by naloxone in writhing test. In the hot-plate test, compound **3** did not increase the latency period of pain induced by thermal stimuli, confirming that it does not interact with opioid systems.

Zusammenfassung

Der Artikel beschreibt die Synthese neuer cyclischer Imide, die durch Reaktion von 4-Aminoantipyrin mit verschiedenen Anhydriden und weiterer Cyclisierung mit Essigsäure unter Reflusbedingungen gewonnen werden. Die Struktur der Verbindungen wurde im writhing-Test mit Mäusen untersucht. Die aktivste Verbindung, ein 3,4-Dichlormaleimid-Derivat (**3**) wurde in weiteren Testsystemen der Nociception untersucht. Die Ergebnisse zeigten, dass Verbindung **3** in Mäusen eine starke analgetische Wirkung entfaltet, und zum Teil stärker wirksam war als anerkannte Standardverbindungen. Die analgetische Wirkung der Verbindung **3** wurde im writhing-Test durch Naloxon nicht revertiert. Im hot-plate-Test wurde die Latenzzeit von durch thermische Reize induziertem Schmerz nicht verlängert. Daraus lässt sich schliessen, dass die Wirkung von **3** nicht auf einer Interaktion mit Komponenten des Opiod-Systems beruht.

Key words: Cyclic imides, 4-aminoantipyrine, analgesia, mice

1. Introduction

We have previously used the phyllanthimide, a naturally occurring alkaloid isolated from aerial parts of *Phyllanthus sellowianus* (Euphorbiaceae)[1], as a model and synthesized several analogues, especially maleimide, succinimide, naphthalimide and glutarimide derivatives. We have also determined their different kinds of biological properties, such as antispasmodic [2,3], analgesic [4-8], antibacterial [9-13] and antifungal [14,15] effects.

During our previous studies to achieve compounds with analgesic potential, it was verified that a new cyclic imide derivative from 4-Aminoantipyrine (**1**) caused potent analgesic effects when analysed against writhing test in mice [7], but it showed toxicity signal. Compound **1** presents a certain similarity with dipyron, a well-known analgesic, antiinflammatory and antipyretic agent [16].

Continuing our research programme to obtain new analgesic compounds structurally related to cyclic imides and considering the high activity of compound **1**, we have now synthesized other analogues of this compound, which are shown in Chart 1. All the compounds were screened as analgesic using the intraperitoneally induced abdominal constriction test in mice at 10 mg/kg. The most active compound (**3**) was studied in more detail against other models of pain in mice, in order to confirm its analgesic activity and investigate its possible mechanism of action. Some clinically used analgesic drugs, such as aspirin, paracetamol and the dipyron itself, were included in this study for comparison.

2. Materials and methods

2.1. Chemistry

Experimental general procedures

Melting points were determined with a Microquimica AP-300 apparatus (Florianópolis, Brazil) and were uncorrected. IR spectra were recorded with a Bomem 100 (Québec, Canadian) on KBr disks. The ^{13}C and ^1H -NMR spectra were recorded on a Bruker 200 MHz (Karlsruhe, Germany). Elemental analysis was determined with a Perkin Elmer 2400 (Norwalk, USA). Percentages of C and H were in agreement with the product formula (within ± 0.4 % of theoretical values). Compounds were dissolved in deuterated solvents from commercial sources with TMS as the internal standard. The purity of the synthesized substances was monitored by thin-layer chromatography (tlc) using Sigma (St. Louis, USA) silica pre-coated plastic plates 200 μm in thickness with several solvent systems of different polarity. Spots were visualized by short-wave UV light and iodine vapor.

General procedures for the synthesis of studied compounds

Compounds **4**, **6**, **9**, **11** and **13** were obtained by the reaction of the appropriate anhydride with 4-aminoantipyrine in ether, which were dehydrated by treatment with acetic acid/reflux to give the respective cyclic compounds(**5**, **7**, **10**, **12**, **14**), as previously described [7]. Compound **3** was obtained directly by the reaction of 3,4-dichloro maleic anhydride and acetic acid under reflux. Compound **8** was a secondary product from dehydration of compounds **4** or **6**.

Spectral data (IR, ^1H - and ^{13}C - NMR) and elemental analysis were in good agreement with the structures shown in Chart 1. Chemical and spectral data of the compounds are shown below.

***N*-antipyrine-3,4 dichloromaleimide (3)**

Molecular formula (M. W.): $\text{C}_{15}\text{H}_{11}\text{N}_3\text{O}_3\text{Cl}_2$ (352)

Yield (%): 58.16; **M. p. ($^\circ\text{C}$):** 208.2 – 209.2

IR (KBr) ν (cm^{-1}): N-C=O: 1742.49 ; C-Cl: 700.39.

^1H -NMR (CDCl_3) δ (ppm): 2.20 (s, 3H, CH_3) ; 3.23 (s, 3H, N- CH_3) ; 7.35 – 7.48 (m, 5H, ar).

^{13}C -NMR (CDCl_3) δ (ppm): 10.88 (q, CH_3) ; 35.19 (q, N- CH_3) ; 100.30 (s, C=C) ; 124.49 (s, C ar) ; 125.13 (d, CH ar) ; 127.71 (d, CH ar) ; 129.38 (d, CH ar) ; 133.92 (2s, C-Cl) ; 134.18 s, (C-N) ; 152.47 (s, C=O) ; 160.38 (s, C=O) ; 161.77 (s, C=O).

***N*-antipyrine-succinamic acid (4)**

Molecular formula (M. W.): $\text{C}_{15}\text{H}_{17}\text{N}_3\text{O}_4$ (303)

Yield (%): 48.44; **M. p. ($^\circ\text{C}$):** 207.2 – 208.2

IR (KBr) ν (cm^{-1}): N-C=O: 1742.71 ; COOH: 2652.70 (b.l.) ; NH-C=O: 3285.42 ; CH_2 -C=O: 714.93.

^1H -NMR (CDCl_3) δ (ppm): 2.15 (s, 3H, CH_3) ; 2.58 (t, 2H, CH_2) ; 2.59 (t, 2H, CH_2) ; 3.06 (s, 3H, N- CH_3) ; 3.4 (NH) ; 7.28 – 7.46 (m, 5H, ar) ; 9.01 (s, 1H, COOH).

^{13}C -NMR (CDCl_3) δ (ppm): 10.24 (q, CH_3) ; 27.96 (t, CH_2) ; 28.91 (t, CH_2) ; 34.74 (q, N- CH_3) ; 106.95 (s, C=C) ; 122.36 (d, CH ar) ; 124.98 (d, CH ar) ; 127.62 (d, CH ar) ; 133.57 (s, C ar) ; 150.16 (s, C-N) ; 160.57 (s, C=O) ; 169.65 (s, C=O) ; 172.74 (s, C=O).

N*-antipyrine-succinimide (5)*Molecular formula (M. W.):** C₁₅H₁₅N₃O₃ (285)**Yield (%):** 37.39; **M. p. (°C):** 201 – 203**IR (KBr) ν (cm⁻¹):** N-C=O: ; CH₂-C=O:**¹H-NMR (CDCl₃) δ (ppm):** 2.16 (s, 3H, CH₃) ; 3.17 (t, 2H, CH₂) ; 3.18 (t, 2H, CH₂) ; 3.20 (s, 3H, N-CH₃) ; 7.41 – 7.44 (m, 5H, ar).**¹³C-NMR (CDCl₃) δ (ppm):** 11.04 (q, CH₃) ; 28.53 (2t, CH₂) ; 35.31 (q, N-CH₃) ; 109.86 (s, C=C) ; 118.90 (s, C ar) ; 124.92 (d, CH ar) ; 127.41 (d, CH ar) ; 129.26 (d, CH ar) ; 134.11 (s, C-N) ; 151.98 (s, C=O) ; 160.29 (s, C=O) ; 175.83 (s, C=O).***N*-antipyrine- glutaramic acid (6)****Molecular formula (M. W.):** C₁₆H₁₉N₃O₄ (317)**Yield (%):** 73.69; **M. p. (°C):** 194.7 – 196.8**IR (KBr) ν (cm⁻¹):** N-C=O: 1715.16 ; COOH: 2650 (b.l.) ; NH-C=O: 3315.86 ; CH₂-C=O: 759.42.**¹H-NMR (CDCl₃) δ (ppm):** 1.94 (q, 2H, CH₂) ; 2.18 (s, 3H, CH₃) ; 2.35 (m, 4H, CH₂) ; 3.08 (s, 3H, N-CH₃) ; 3.25 (NH) ; 7.34 – 7.46 (m, 5H, ar) ; 8.88 (s, 1H, COOH).**¹³C-NMR (CDCl₃) δ (ppm):** 10.52 (q, CH₃) ; 19.67 (t, CH₂) ; 32.07 (t, CH₂) ; 33.51 (t, CH₂) ; 34.89 (q, N-CH₃) ; 107.22 (s, C=C) ; 122.63 (d, CH ar) ; 125.24 (d, CH ar) ; 127.81 (d, CH ar) ; 133.70 (s, C ar) ; 150.07 (s, C-N) ; 160.76 (s, C=O) ; 170.59 (s, C=O) ; 173.51 (s, C=O).***N*-antipyrine-glutarimide (7)****Molecular formula (M. W.):** C₁₆H₁₇N₃O₃ (299)

Yield (%): 58,5; **M. p. (°C):** 127-130

IR (KBr) ν (cm⁻¹): N-C=O: 1715.16; CH₂-C=O: 759.42.

¹H-NMR (CDCl₃) δ (ppm): 2.10 (s, 3H, CH₃); 2.55 (m, 2H, CH₂); 2.72 (m, 4H, CH₂); 2.95 (s, 3H, N-CH₃); 7.16 – 7.64 (m, 5H ar).

4-acetamide-antipyrine (8)

Molecular formula (M. W.): C₁₃H₁₅N₃O₂ (245)

Yield (%): 30.17; **M. p. (°C):** 202.9 – 205.2

IR (KBr) ν (cm⁻¹): N-C=O: 1676.32 ; NH-C=O: 3239.0 ; CH₃-C=O: 1356.02.

¹H-NMR (CDCl₃) δ (ppm): 2.05 (s, 3H, CH₃); 2.18 (s, 3H, CH₃); 3.08 (s, 3H, N-CH₃); 4.85 (NH); 7.34 – 7.46 (m, 5H, ar); 9.40 (s, 1H, COOH).

¹³C-NMR (DMSO_{d6}) δ (ppm): 16.25 (q, CH₃); 27.65 (q, CH₃); 41.17 (q, N-CH₃); 112.92 (s, C=C); 128.40 (d, CH ar); 131.30 (d, CH ar); 134.20 (d, CH ar); 140.20 (s, C ar); 157.48 (s, C-N); 166.99 (s, C=O); 173.89 (s, C=O).

N-antipyrine-3,3-dimethylglutaramic acid (9)

Molecular formula (M. W.): C₁₈H₂₃N₃O₄ (345)

Yield (%): 73.9; **M. p. (°C):** 203.6 – 204.8

IR (KBr) ν (cm⁻¹): N-C=O: 1690.85 ; COOH: 2978 (b.l.); NH-C=O: 3263.68 ; CH₂-C=O: 755.87 ; (CH₃)₂-C: 1142.54.

¹H-NMR (CDCl₃) δ (ppm): 1.38 (s, 6H, CH₃); 1.78(t, 2H, CH₂); 2.10(s, 3H, CH₃); 2.45(t, 2H, CH₂); 2.95(s, 3H, N-CH₃); 7.15– 7.57 (m, 5H, ar); 8.43 (s, 1H, COOH).

N*-antipyrine-3,3-dimethylglutarimide (10)*Molecular formula (M. W.):** C₁₈H₂₁N₃O₃ (327)**Yield (%):** 91.6; **M. p. (°C):** 193.1 – 195.3**IR (KBr) ν (cm⁻¹):****¹H-NMR (CDCl₃) δ (ppm):** 1.23 (s, 3H, CH₃) ; 1.33 (s, 3H, CH₃) ; 2.10(s, 3H, CH₃) ;
2.15(m, 2H, CH₂) 2.68(m, 2H, CH₂) ; 2.95(s, 3H, N-CH₃) ; 7.15– 7.64 (m, 5H, ar)***N*-antipyrine-phthalamic acid (11)****Molecular formula (M. W.):** C₁₉H₁₇N₃O₄ (351)**Yield (%):** 79.75; **M. p. (°C):** 134.4 – 134.6**IR (KBr) ν (cm⁻¹):** N-C=O: 1715.16 ; COOH: 2850 (b.l.) ; NH-C=O: 3400.42 ; Ar-C=O:
1651.**¹H-NMR (CDCl₃) δ (ppm):** 2.27 (s, 3H, CH₃) ; 3.07 (s, 3H, N-CH₃) ; 3.5 (NH) ; 7.36 – 7.52
(m, 9H, 2ar) ; 9.52 (s, 1H, COOH).**¹³C-NMR (CDCl₃) δ (ppm):** 11.12 (q, CH₃) ; 36.03 (q, N-CH₃) ; 107.31 (s, C=C) ; 123.46
(d, CH ar) ; 126.18 (d, CH ar) ; 127.86 (d, CH ar) ; 129.10 (d, CH ar) ; 129.37 (d, CH ar) ;
130.57 (s, C ar) ; 131.42 (s, C ar) ; 135.15 (s, C ar) ; 138.29 (s, C-N) ; 153.09 (s, C=O) ;
161.91 (s, C=O) ; 167.79(s, C=O).***N*-antipyrine-phthalimide (12)****Molecular formula (M. W.):** C₁₉H₁₅N₃O₃ (333)**Yield (%):** 87.56; **M. p. (°C):** 213.2 – 214.8**IR (KBr) ν (cm⁻¹):** N-C=O: 1783.16 ; Ar-C=O: 1678.71.

¹H-NMR (CDCl₃) δ (ppm): 2.22 (s, 3H, CH₃) ; 3.23 (s, 3H, N-CH₃) ; 7.27 – 7.95 (m, 9H, 2ar).

¹³C-NMR (CDCl₃) δ (ppm): 11.08 (q, CH₃) ; 35.47 (q, N-CH₃) ; 102.12 (s, C=C) ; 123.75 (d, CH ar) ; 124.70 (d, CH ar) ; 127.15 (d, CH ar) ; 129.21 (d, CH ar) ; 132.10 (s, C ar) ; 137.27 (d, CH ar) ; 134.38 (s, C-N) ; 152.82 (s, C=O) ; 160.83 (s, C=O) ; 166.89 (s, C=O).

***N*-antipyrine-tetrabromophthalamic acid (13)**

Molecular formula (M. W.): C₁₉H₁₃N₃O₄Br₄ (666.79)

Yield (%): 91.09; **M. p. (°C):** > 360

IR (KBr) ν (cm⁻¹): N-C=O: 1724.55 ; Ar-C=O: 1643.05 ; COOH: 2965.45 (b.l.) ; NH-C=O: 3355.78 ; C-Br: 696.28.

¹H-NMR (CDCl₃) δ (ppm): 2.10 (s, 3H, CH₃) ; 2.95 (s, 3H, N-CH₃) ; 7.15 – 7.57 (m, 9H, 2ar) ; 8.24 (s, 1H, COOH).

***N*-antipyrine-tetrabromophthalimide (14)**

Molecular formula (M. W.): C₁₉H₁₁N₃O₃Br₄ (648.79)

Yield (%): 82.2; **M. p. (°C):** > 360

IR (KBr) ν (cm⁻¹): N-C=O: 1780.16 ; Ar-C=O: 1651.77 ; C-Br: 694.90.

¹H-NMR (CDCl₃) δ (ppm): 2.15 (s, 3H, CH₃) ; 2.95 (s, 3H, N-CH₃) ; 7.16 – 7.73 (m, 9H, 2ar).

2.2. Pharmacology

Animals

Swiss male mice (25-30 g) were obtained from Central Bioterio of the University of Vale do Itajaí (Itajaí, Brazil). They were kept in a temperature-controlled environment (23 ± 2 °C) with a 12 h light-dark cycle. Food and water were freely available. The allocation of animals in the different groups was randomized and the experiments were carried out in blind conditions. Since some suffering might result from experiments, the IASP Committee for Research and Ethical Issues Guidelines [17] were followed.

Abdominal constriction response caused by injection of acetic acid

The abdominal constriction induced by intraperitoneal injection of acetic acid (0.6%), which consisted of a contraction of the abdominal muscle together with a stretching of hind limbs, was carried out according to the previously described procedures [18,19]. Animals were pretreated with the compounds or standard drugs intraperitoneally (10 mg/kg) 30 min before the acetic acid injection. Compound 3, the most active compound tested, was also analyzed intraperitoneally at 1, 3, 10 mg/kg (2.8, 8.5, 28.4 $\mu\text{mol/kg}$) or orally at 100 mg/kg (284 $\mu\text{mol/kg}$) (Control animals received a similar volume of 0.9 % NaCl solution (10 ml/kg). All the experiments were carried out at 20-22 °C. In a separate set of experiments, animals were pretreated with compound 3 (28.4 $\mu\text{g/kg}$) or with morphine (13.3 $\mu\text{mol/kg}$) 30 min before acetic acid injection. We also analyzed the effect of naloxone (13.8 $\mu\text{mol/kg}$) injected 10 min before against the antinociceptive effect caused by both morphine and compound 3. After the challenge, pairs of mice were placed in separate boxes, and the number of abdominal constrictions was cumulatively counted over a period of 20 min. Antinociception was

expressed as the reduction of the number of abdominal constrictions between control animals and mice pretreated with compounds or standard drugs.

Formalin-induced pain

The procedure was similar to that described previously [19,20]. Animals from the same strain were slightly anaesthetized with ether, except when used to analyze the first phase of formalin-induced pain, and 20 μ l 2.5 % formalin (0.92 % formaldehyde) made up in phosphate-buffer solution was injected under the paw surface of the right hindpaw. Two mice (control and treated) were observed simultaneously from 0 to 30 min following formalin injection. The amount of time spent licking the injected paw was considered as indicative of pain. The initial nociceptive scores normally peaked 5 min after formalin injection (early phase) and 15-30 min after formalin injection (late phase), representing the tonic and inflammatory pain responses, respectively [20]. Animals were treated with compound 3 intraperitoneally at 1, 3, 10 mg/kg (2.8, 8.5, 28.4 μ mol/kg), 30 min before formalin injection, respectively. Following intraplantar injection of formalin, animals were immediately placed into a glass cylinder of 20 cm in diameter, and the time spent licking the injected paw (second phase of formalin test) was determined.

Capsaicin-induced pain

The procedure used was similar to that described previously [21]. Animals were placed individually in transparent glass cylinders. Following the adaptation period, 20 μ l of capsaicin (1.6 μ g/paw) was injected under the skin of the plantar surface of the right hindpaw, using a microsyringe. The animals were observed individually for 5 minutes following capsaicin injection. The amount of time spent licking the injected paw was timed with a chronometer and was

considered as indicative of nociception. Animals were intraperitoneally treated with compound 3 at 10, 30 and 60 mg/kg (28.4, 85.2 and 170. 4 $\mu\text{mol/kg}$) or saline (10 ml/kg, i.p.) 1 hour before administration of capsaicin. Control animals received a similar volume of 0.9 % NaCl (10 ml/kg, i.p.).

Hot-plate test

The hot-plate was used to estimate the latency of responses according to the method described by Eddy and Leimback (1953) [22] with minor modifications. The temperature of the hot-plate was maintained at 56 ± 3 °C. animals (n=8) were placed on glass funnels in the heated surface and the time between placing the animals and the beginning of licking paws or jumping were recorded as latency of response in non-treated (saline 10 ml/kg, i.p.) or compound 3 (28.4 $\mu\text{mol/kg}$, i.p.) animals.

Statistical analysis

Results are presented as mean \pm s.e. mean, except the mean ID_{50} values (i.e. the dose of drugs or compounds reducing the algesic responses by 50 % relative to control value) which are reported as geometric means accompanied by their respective 95 % confidence limits. The statistical significance between groups was analyzed by variance followed by Dunnett's multiple comparison test. P-values of less than 0.05 were considered as indicative of significance. ID_{50} values were determined by graphical interpolation from individual experiments.

Drugs

The following drugs were used: ASA (acetylsalicylic acid), acetaminophen, indomethacin, and PBS (phosphate buffered saline) (all from Sigma Chemical, St. Louis, U.S.A), formalin and acetic acid (Merck, Darmstadt, Germany). The compounds studied as well as the reference drugs were dissolved in Tween 80 (Merck, AG, Darmstad, Germany), plus 0.9 % of NaCl solution and Carboxymethylcellulose 0.5 % plus 0.9 % of NaCl solution, respectively. The final concentration of tween and ethanol did not exceed 5 % and did not cause any effect "per se".

3- Results

3.1- Chemistry

All the compounds synthesized in this study (Chart 1 and Table 1) are reported for the first time in the literature, although the synthetic route is well-known and has been extensively used by our group to obtain different cyclic imides [2-15]. The compounds were obtained in moderate to excellent yields (40-92%) by general reactions shown in Scheme 1.

The chemical structures of the synthesized compounds were confirmed by using spectral data, especially IR and ¹H-NMR. (see experimental part).

3.2- Pharmacology

As observed in Table 1, compounds 4, 6, 10, 12, 14 and especially 3 significantly inhibited the abdominal constrictions, causing inhibitions of 42.1, 36.1, 48.5, 34.2, 44.4 and 99

%, respectively. Some reference drugs, such as aspirin, paracetamol and dipyrrone caused inhibitions of 35, 38 and 33 %, respectively.

Compound 3, the most active one verified at 10 mg/kg in writhing test, was analysed in more detail in the same experimental model and in other chemical nociceptive models (Table 2).

The pharmacological studies indicated that compound 3, given intraperitoneally, revealed to be about 12 to 15-fold more active than standard drugs against writhing test (Table 2). Given orally at 100 mg/kg (284 $\mu\text{mol/kg}$), compound 3 caused pronounced analgesic effect, reducing in 80 % the number of abdominal constrictions induced by acetic acid (results not shown). When the animals were treated with naloxone, a well-known non-selective morphine receptor antagonist, no change was observed in the analgesic effect of compound 3 as compared to morphine (Figure 1). In the formalin-induced pain, it was inactive against the first phase up to 28.4 $\mu\text{mol/kg}$, but dose-dependently inhibited the inflammatory response. The ID_{50} value calculated for the second phase was 14.7 (11.2-19.2) $\mu\text{mol/kg}$ for the systemic route, with a maximum inhibition of 100 %. When compared with the standard drugs, compound 3 was about 8 to 18-fold more active (Table 2).

On the other hand, compound 3 exhibited considerable antinociceptive activity in the capsaicin test, which provided more direct evidence of the antinociceptive effect of this compound on neurogenic pain. It was about 3-fold more active than dypirone, with ID_{50} value of 67.6 (49.6 – 92.3) $\mu\text{mol/kg}$ and maximum inhibition of 83% (Table 2). Such discrepancy observed in relation to the first phase of formalin test needs further investigation.

Until 30 mg/kg, no toxicity signal was observed in any of the pharmacological assays for compound 3. However, it should be mentioned that this compound caused a decrease in the

body temperature of the animals, suggesting an antipyretic effect, but this hypothesis requires further studies.

4- Discussion

4.1- Chemistry

It is interesting to discuss some special aspects of these syntheses. Compounds **3**, **12** and **14**, which possess a planar configuration, may be easily cyclised by using the usual condensation agent (acetic acid under reflux). In contrast, as found recently for N-arylglutarimides [8], the glutaramic acid (**6**) did not produce compound (**7**) in satisfactory yield, either using acid acid/reflux or other methodologies and reagents. In this case, an acetylation of the amine group preferably occurred, giving the acetyl-antipyrene derivative (**8**). This may be explained because (**6**) possess an imido ring of six members, which is not easily closed probably due some physico-chemical factors. According to Eliel [23], the easeness of formation of a six-membered ring is inferior than the on of a five-membered because the slight improvement in the strain factor is outweighed by a deterioration in the distance factor.

However, compound (**9**), a glutaramic acid with two methyl groups next to the carbonyl group, produced the cyclic imide (**10**) with an excellent yield, because of the influence of both methyl groups on the reactivity of the carbonyl groups.

Compound **3** was obtained directly by the reaction of 3,4-dichloro maleic anhydride and acetic acid under reflux with good yield. Attempts to isolate the respective acid were unsuccessful, probably due to its unstability.

4.2- Pharmacology

In order to select the most active compound synthesized, we have initially evaluated the analgesic effect of all the compounds shown in Chart 1, except compound 7, by using the acetic acid-induced writhing model at 10 mg/kg, administered intraperitoneally. This method has been generally employed for the analysis of the analgesic activity of different kinds of compounds [24-26]. It is interesting to note that compounds 11 and 13, which correspond to the amic acids of cyclic compounds 12 and 14, respectively, practically did not produce analgesic effects in this model. Compounds 12 and 14 exhibited similar activity, suggesting that the introduction of bromine atoms does not improve the effects of these phthalic derivatives.

On the other hand, amic acids 4 and 6 caused inhibition similar to that of standard drugs, as mentioned before. Presumably such difference in the activity is related to the coplanarity of the molecules, but this hypothesis requires additional experiments. Recently it was demonstrated that thalidomide, which contain a phthalic moiety attached to the glutarimide group, exhibits analgesic properties in mice when assessed against several models of pain in mice [27], confirming the results obtained in this study. Compound 8, a non imidic compound, did not show significant analgesic effect against writhing test. Compound 3 was the most active in this model showing also activity by oral route, indicating that it is absorbed by the gastrointestinal tract.

Compound 3, like dipyron [16] and nonsteroidal anti-inflammatory and analgesic drugs (like aspirin and paracetamol) [28], is effective in abolishing acetic acid-induced pain in a non-opioid pathway. This was confirmed by the lack of analgesic effects in the hot-plate test (results not shown), a technique that has a selectivity for opioid-derived analgesics [29].

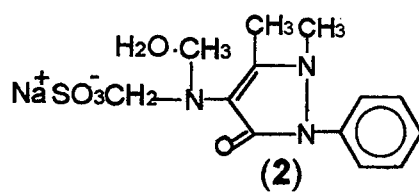
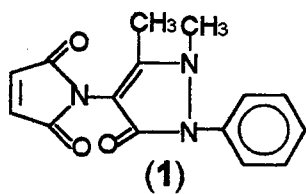
Compound 3 was also analyzed and compared with the standard drugs in the formalin-induced pain test, a reported behavior model characterized by neurogenic (first phase) and inflammatory (second phase) phases [20]. In contrast to results reported for dipyron [16], compound 3 exhibited significant and dose-related analgesic effects only against the second phase, being inactive in relation to the first phase of the formalin-induced nociception.

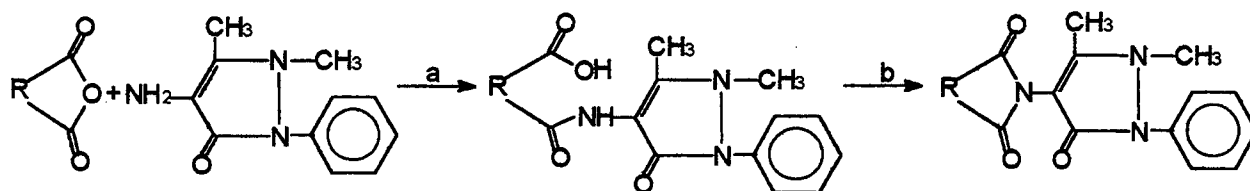
Although compound 3 was less active than compound 1 when evaluated against writhing test [7], its apparent lack of toxic effects is an important feature in the discovery of new analgesic drugs.

In summary, our results extend previous studies conducted by our group regarding the analgesic activity of cyclic imides, indicating that compound 3, a 3,4-dichloromaleimide derivative, presents an interesting profile of analgesic action. It was more potent than some clinically used drugs. Its mechanism of action has yet to be determined, but it does not involve the participation of the opioid system.

Acknowledgements

This work was supported by grants from Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), Brazil.



Scheme 1:

a = ether

b = reflux / acetic acid or acetic acid/acetyl chloride

CHART 1

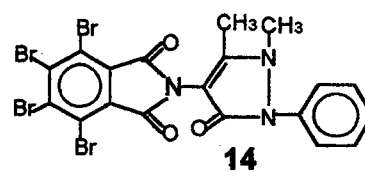
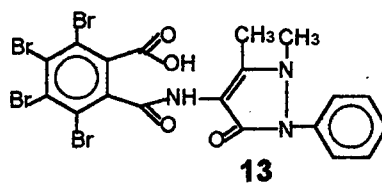
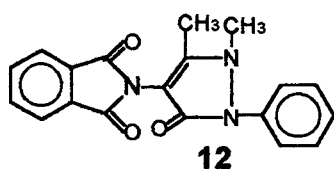
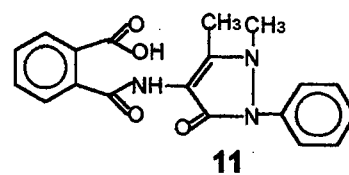
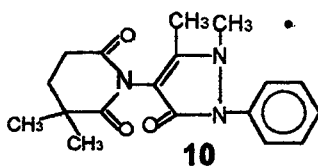
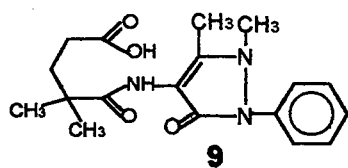
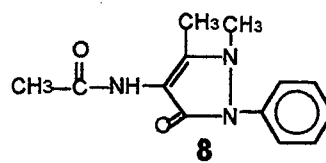
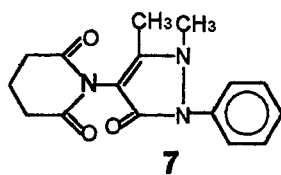
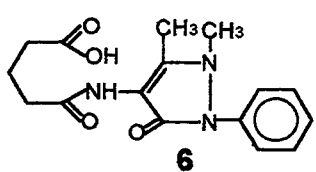
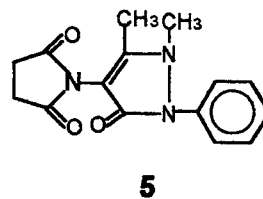
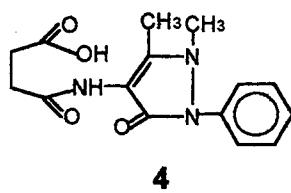
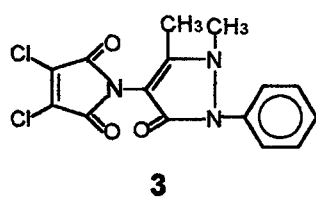


Table 1: Analgesic activity of imides and reference drugs against acetic acid-induced abdominal constriction in mice at 10 mg/kg, given intraperitoneally:

Compound	Inhibition (%)
3	99.0 ± 0.3**
4	42.1 ± 5.2**
5	34.5 ± 4.5
6	36.1 ± 6.2*
8	26.4 ± 3.8
9	19.5 ± 4.0
10	48.5 ± 4.2**
11	6.4 ± 3.1
12	34.2 ± 5.5*
13	25.0 ± 2.9
14	44.4 ± 3.6**
Aspirin	35.0 ± 2.0*
Paracetamol	38.0 ± 1.0**
Dipyrone	33.0 ± 3.5*

Each group represents the mean ± s.e.m. of five to six experiments. * P < 0.05 and ** < 0.01 compared with respective control values.

Table 2: Comparison of the analgesic effect of compound (3) with dipyron and other non-steroidal antiinflammatory and analgesic drugs

Compound	Writhing test	Formalin test		Capsaicin test
	ID ₅₀ (μmol/kg, ip)	First phase ID ₅₀ (μmol/kg, ip)	Second phase ID ₅₀ (μmol/kg, ip)	ID ₅₀ (μmol/kg, ip)
3	10.8 (4.8-24.4) (MI= 99 ± 1 %)	Inactive ^c	14.7 (11.2-19.2) (MI= 100 %)	67.6 (49.6-92.3) (MI= 83 ± 3.9 %)
Aspirin	133 (73-243)	Inactive	123 (77-209)	NT
Paracetamol	125 (104-250)	Inactive	120 (90-161)	NT
Dipyron	162 (88-296)	154.5 (99.9-238.8)	263.7 (234.3-296.9)	207.6 (179.5-240.0)

NT- not tested; ^a maximal inhibition; ^b 95 % confidence limit. Each group represents the mean of six to eight animals. ^c Inactive until 28.4 μmol/kg.

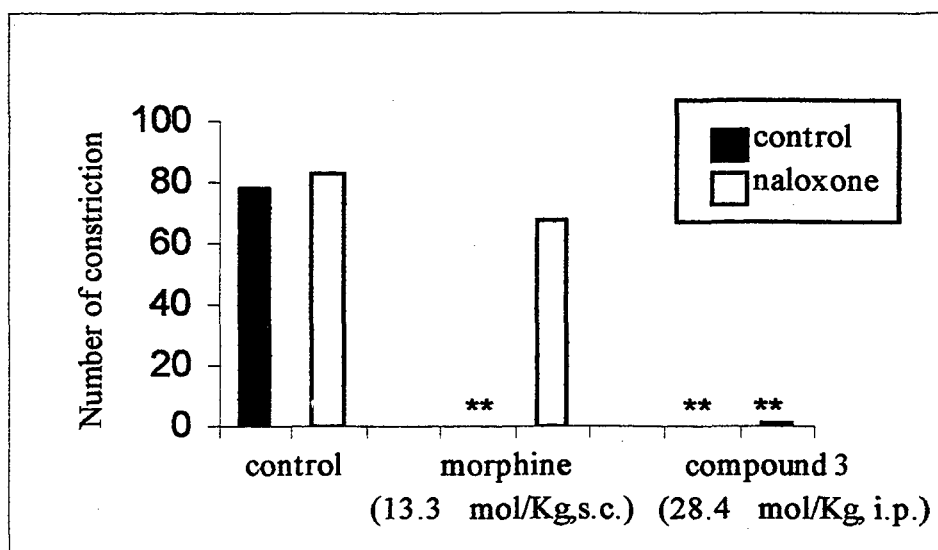


Figure 1: Effect of naloxone on the antinociceptive profile caused by morphine and compound 3 against acetic acid – induced pain in mice. Each group represents the mean of six experiments. ** $p < 0.01$, compared with corresponding control value.

4. References

- [1] Tempesta, M. S., Corley, D.G., Beutler, et al., Phyllanthimide, a new alkaloid from *Phyllanthus sellowianus*, *J. Nat. Prod.* **3**, 617 (1988)
- [2] Cechinel Filho, V., Obtenção de compostos farmacologicamente ativos a partir de produtos naturais. Correlação estrutura química-atividade biológica, Ph. D. Thesis, UFSC, Florianópolis, SC, Brazil, 1995, 165p.
- [3] Cechinel Filho, V., Nunes, R.J., Calixto, J.B., Yunes, R.A., Inhibition of guinea-pig ileum contraction by phyllanthimide analogues: structure-activity relationships, *Pharm. Sci.* **1**, 399 (1995)
- [4] Cechinel Filho, V., Vaz, Z.R., Nunes, R.J., et al., Antinociceptive activity of phyllanthimide analogues: structure-activity relationships, *Pharm. Sci.* **2**, 199 (1996)
- [5] Corrêa R., Cechinel Filho, V., Schlemper, et al., Synthesis of new succinimides and sulphonated derivatives with analgesic action, *Pharm. Sci.* **3**, 67 (1997)
- [6] Andricopulo, A.D., Filho, A.W., Corrêa, R., et al., Analgesic activity of 3,4-dichloromaleimides: structure-activity relationships, *Pharmazie* **53**, 493 (1998)
- [7] Cechinel Filho, V., Corrêa, R., Vaz, Z., et al., Further studies on analgesic activity of cyclic imides, *Il Farmaco* **53**, 55 (1998)

- [8] Stiz, D.; Souza, M.M., Golim, V., et al., Antinociceptive properties of N-aryl-glutaramic acids and N-aryl-glutarimides, *Pharmazie* **55**, 12 (2000).
- [9] Cechinel Filho, V., Bella Cruz, A., Nunes, R.J., et al., Atividade antimicrobiana de análogos da filantimida, *Rev. Latinoamer. Quím.* **23**, 116 (1994)
- [10] Cechinel Filho, V., Bella Cruz, A., Moretto, E., et al., Antibacterial activity of N-phenylmaleimides, N-phenylsuccinimides and related compounds. Structure-activity relationships, *Il Farmaco* **49**, 675 (1994)
- [11] Corrêa, R., Rosa, P.W., Bella Cruz, A., et al., Synthesis and antibacterial activity of citraconimides, *Pharm. Sci.* **2**, 353 (1996)
- [12] Bella Cruz, A., Cruz, R.C.B., Cechinel Filho, V., et al., Avaliação dos efeitos antibacterianos de N-arildicloromaleimidas e N-arilftalimidas. Relação estrutura-atividade, *Rev. Latinoameric. Quim.* **25**, 10 (1996)
- [13] Andricopulo A.D., Savi, A.O.S., Corrêa, R., et al., Síntese e atividade antibacteriana de imidas cíclicas: 3,4-dicloromaleimidas e 3-cloro-4-substituída-maleimidas, *Quim. Nova* **21**, 573 (1998)
- [14] Cechinel Filho, V., Pinheiro, T.R., Nunes, R. J., et al., Síntese de N-alquilfenilmaleimidas e N-alquilarilmaleimidas com atividade antifúngica, *Quim. Nova* **19**, 590 (1996)

- [15] Lima, E.O., Queiroz, E.F., Andricopulo, A.D., et al., Evaluation of antifungal activity of N-arylmaleimides and N-phenylalkyl-3,4-dichloromaleimides, *Bol. Soc. Chil. Quim.* **44**, 185 (1999)
- [16] Beirith, A., Santos, A.R.S., Rodrigues, A.L.S., et al., Spinal and supraspinal antinociceptive action of dipyrene in formalin, capsaicin and glutamate test. Study of the mechanism of action, *Eur. J. Pharmacol.* **345**, 233 (1998)
- [17] Zimmermann, M., Ethical guidelines for investigations of experimental pain in conscious animals, *Pain* **16**, 109 (1983)
- [18] Collier, R.F., Dinnen, H.O.J., Johnson, C.A., et al., The abdominal constriction response and its suppression by analgesic drugs in the mouse, *Br. J. Pharmacol.* **32**, 295 (1968)
- [19] Souza, M.M., Kern, P., Floriani, A.E.O., et al., Analgesic properties of a hydroalcoholic extract obtained from *Alternanthera brasiliana*, *Phytother. Res.* **12**, 279 (1998)
- [20] Hunskaar, S., Hole, K., The formalin test in mice: dissociation between inflammatory and non-inflammatory pain, *Pain* **30**, 103 (1987)

- [21] Sakurada, T., Katsumata, K., Yogo, H., et al. Antinociception induced by CP96345, a non-peptide NK-1 receptor antagonist, in the formalin and capsaicin test. *Neurosci. Lett.* **151**, 142 (1993)
- [22] Eddy, N.B., Leimback, D., Synthetic analgesic: II dithienylbutenyl and dithienylbutylamines, *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **107**, 385 (1953)
- [23] Eliel, E.L., *Stereochemistry of Carbon Compounds*, McGraw-Hill Book Company, New York, 1962.
- [24] Calixto, J.B., Santos, A.R.S., Cechinel Filho, V., et al., A review of the plants of the genus *Phyllanthus*: their chemistry, pharmacology and therapeutic potencial, *Med. Res. Rev.* **18**, 22 (1998)
- [25] Calixto, J.B., Beirith, A., Ferreira, J., et al., Naturally occurring antinociceptive substances from plants, *Phytother. Res.* **14**, 401 (2000)
- [26] Ochi, T., Motoyama, Y., Goto, T., The analgesic effect profile of FR122047, a selective cyclooxygenase-1 inhibitor, in chemical nociceptive models. *Eur. J. Pharmacol.* **391**, 49 (2000)
- [27] Ribeiro, R.A., Vale, M.L., Ferreira, S.H., et al., Analgesic effect of thalidomide on inflammatory pain, *Eur. J. Pharmacol.* **391**, 97 (2000)

[28] De Jesus, R.A.P., Cechinel Filho, V., Oliveira, A.E., et al., Analysis of the antinociceptive properties of marrubiin isolated from *Marrubium vulgare*, *Phytomedicine* 7, 111 (2000)

[29] Abbott, F.V., Franklin, K.B.J., Noncompetitive antagonism of morphine analgesia by diazepam in formalin test, *Pharmacol. Biochem. Behav.* 24, 319 (1986)

Correspondence: Prof. Dr. Valdir Cechinel Filho, Núcleo de Investigações

Químico-Farmacêuticas, Universidade do Vale do Itajaí,

R. Uruguaí, 458; Cx.P. 360, 88302-202, Itajaí, SC-Brasil

Fax number: 00 55 47 341 7601

E-mail: cechinel@mbox1.univali.br