

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA - UFSC
CENTRO DE CIÊNCIAS FÍSICAS E MATEMÁTICAS - CFM
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

**SÍNTESE DE NOVAS MOLÉCULAS COM POTENCIAL
TERAPÊUTICO: IMIDAS CÍCLICAS, CHALCONAS E COMPOSTOS
RELACIONADOS.**

FÁTIMA DE CAMPOS BUZZI

Florianópolis-SC
2007

FÁTIMA DE CAMPOS BUZZI

**SÍNTESE DE NOVAS MOLÉCULAS COM POTENCIAL
TERAPÊUTICO: IMIDAS CÍCLICAS, CHALCONAS E COMPOSTOS
RELACIONADOS.**

**Tese apresentada ao curso de Pós-graduação
em Química da Universidade Federal de Santa
Catarina, como requisito parcial para o título
de Doutor em Química.**

Área de Concentração: Química Orgânica

Orientador: Prof. Dr. Valdir Cechinel Filho

Co-orientador: Prof. Dr. Ricardo José Nunes

Florianópolis – SC

2007

Fátima de Campos Buzzi

**SÍNTESE DE NOVAS MOLÉCULAS COM POTENCIAL TERAPÊUTICO: IMIDAS
CÍCLICAS, CHALCONAS E COMPOSTOS RELACIONADOS**

Esta tese foi julgada e aprovada para a obtenção do título de Doutor em Química no
Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal de Santa
Catarina

Florianópolis, 12 de dezembro de 2007.

Prof. Dr. Ademir Neves
Coordenador do Programa

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Valdir Cechinel Filho
Orientador (UNIVALI)

Prof. Dr. Ricardo José Nunes
Co-Orientador

Profa. Dra. Vera Lucia Eifler-Lima
(UFRGS)

Prof. Dr. Edésio Simionatto
(FURB)

Profa. Dra. Maria da Graça Nascimento

Prof. Dr. Rosendo Augusto Yunes

Prof. Dr. Hernán Terenzi

À minha família.

AGRADECIMENTOS

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

Ao meu marido Luiz Guilherme, por toda a paciência, pelo apoio, pelo incentivo, pela compreensão da ausência e principalmente pelo carinho. TE AMO MUITO!

Ao meu filho Eduardo, por toda a afabilidade mesmo com a minha ausência.

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 e minha cunhada Marcela, que apesar da distância sempre se fazem presentes na minha vida. Vocês são muito especiais!

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

Ao professor Ricardo José Nunes, por todas as visitas a Itajaí e constante cooperação durante a orientação deste trabalho.

A Ângela Malheiros e ao Franco Delle Monache que me auxiliaram na elucidação dos espectros.

Ao Rivaldo Niero e ao Roberto Dalla Vecchia que sempre que necessário me substituíram nas aulas, dando a maior força para a conclusão deste trabalho.

Ao Rogério Corrêa e ao Clóvis A. Rodrigues que sempre estavam prontos para elucidar as dúvidas do dia a dia e acalmar as minhas aflições.

Ao professor Alexandre Bella Cruz e suas alunas Fernanda Mahle e Taline Tristão Canto que realizaram os ensaios microbiológicos.

Aos meus alunos de iniciação científica que participaram deste trabalho tanto na síntese quanto na farmacologia: Pâmela Padaratz, Tatiane da Rosa Guimarães, Hanna Carolina Borba de Mattos, Aleandra Vergilina Meira e Mauricio Fracasso.

Aos meus atuais alunos de iniciação científica que compreenderam minha ausência e minha ansiedade neste semestre de conclusão: Daniele Zambiasi, Giovana Salgado, Daniele Sonza, Luise Lima, Priscila Pereira, André Bagatolli e Elaine Kornman.

A Lorena Santos que foi minha companheira de laboratório e de angústias..., além de poupar muitas viagens a Florianópolis...

Ao departamento de pós-graduação em química da UFSC pelo apoio técnico e aos seus funcionários pelo auxílio na realização deste trabalho.

A Pró-reitoria de Pesquisa, Pós-graduação, Extensão e Cultura da UNIVALI, ao curso de Farmácia e ao NIQFAR pela concessão de bolsa e por todo apoio técnico para viabilizar parte dos experimentos realizados na Tese.

Obrigada também pelo apoio e incentivo de todos os demais amigos que se fizeram presentes neste período e que direta ou indiretamente contribuíram para que este trabalho fosse concretizado.

MUITO OBRIGADA!

*“Discovery consists of seeing what everybody has seen
and thinking what nobody has thought”*

Albert Szent-Györgyi
1893-1986

RESUMO

SÍNTESE DE NOVAS MOLÉCULAS COM POTENCIAL TERAPÊUTICO: IMIDAS CÍCLICAS, CHALCONAS E COMPOSTOS RELACIONADOS.

A pesquisa e desenvolvimento de medicamentos é um processo complexo e longo que se inicia com a pesquisa básica de um novo composto bioativo em modelos experimentais pré-clínicos. Neste trabalho, descreve-se a síntese de imidas cíclicas, chalconas e compostos híbridos imido-chalconas, bem como reações de modificação estrutural em um composto protótipo já selecionado (N-antipirino-3,4-dicloromaleimida), o qual foi bastante ativo como antinociceptivo, em camundongos. As imidas cíclicas foram sintetizadas através de reações entre os respectivos anidridos cíclicos e diferentes aminas substituídas, as chalconas através da reação de condensação aldólica de Claisen-Schmidt e os híbridos pela associação das duas metodologias. As reações de modificação ocorreram com a substituição de um dos átomos de cloro do composto protótipo por diferentes espécies nucleofílicas. Todos os compostos foram avaliados em modelos de dor em camundongos e alguns foram também avaliados em modelos microbiológicos (antibacteriano, antifúngico e citotóxico). A avaliação do potencial antinociceptivo dos compostos imídicos demonstrou um perfil promissor, sendo que os compostos **81**, **82** e **92** foram menos eficazes que seu protótipo **6**, entretanto muito mais potentes. As chalconas estudadas mostraram-se bastante promissoras quanto à atividade antinociceptiva, em especial os compostos, **103** e **114**. Os compostos imídicos cíclicos híbridos foram em geral mais ativos que os seus respectivos ácidos âmicos. Nenhum composto testado apresentou atividade antibacteriana contra os microorganismos patogênicos avaliados, e a atividade antifúngica apenas foi observada contra os dermatófitos, sendo os compostos mais promissores a imida **93** e a chalcona **109**. Tanto as imidas quanto as chalconas mostraram-se moderadamente tóxicas ou atóxicas frente ao microcrustáceo *Artemia salina* Leach. Os resultados químicos e biológicos promissores aqui demonstrados indicam a viabilidade em utilizar as classes químicas estudadas para encontrar substâncias mais ativas as quais podem representar novas possibilidades terapêuticas.

PALAVRAS-CHAVE: imidas cíclicas, chalconas, híbridos, bioatividade.

ABSTRACT

SYNTHESIS OF NEW MOLECULES WITH THERAPEUTIC POTENTIAL: CYCLIC IMIDES, CHALCONES AND RELATED COMPOUNDS.

The research and drug development consist of a complex and long process that begin with the basic research of a new active compound in pre-clinical models. This study describes the synthesis of cyclic imides, chalcones and hybrid compounds imide-chalcones, as well as reactions of structural modification in a prototype selected compound (N-antipyrine-3,4-dichloromaleimide), which was very potent as antinociceptive in mice. The cyclic imides were obtained by the reaction between the appropriated anhydrides and different substituted amines, whereas the chalcones were obtained through the reaction of aldolic condensation of Claisen-Schmidt and the hybrids by the association of the two methodologies. The modification reactions occurred with the substitution of one of the chlorine atoms of the prototype for different nucleophilic species. All the compounds were evaluated in distinct models of pain, in mice, and some of them also were evaluated in microbiological models (antibacterial, antifungal and cytotoxic). The antinociceptive evaluation of imidic compounds demonstrated a promising profile, being the compounds **81**, **82** and **92** less efficacious than its prototype **6**, but much more potent. The chalcones studied revealed interesting antinociceptive activity, specially the compounds **103** and **114**. The compounds hybrids imide-chalcones were in general more actives than the respective amic acids. No tested compound presented antibacterial activity against the pathogenic microorganism tested, and the antifungal activity was observed only against dermatophytes, being the imide **93** and the chalcone **109** the most promising compounds. Both studied classes, imides and chalcones, were moderately toxic or non toxic using a brine shrimp (*Artemia salina*) lethality assay. The promising chemical and biological results demonstrated here the viability of using the studied classes to achieve more active substances, which might present new therapeutic possibilities.

Keywords: cyclic imides, chalcones, hybrids, bioactivity.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Anéis A e B na estrutura geral das chalconas.	37
Figura 2. Espectro de Infravermelho da 1-(4-metilfenil)-3-fenilpirrolidina-2,5-diona (77) (Pastilha de KBr, cm^{-1}).	95
Figura 3. Espectro de RMN ^1H da 1-(4-metilfenil)-3-fenilpirrolidina-2,5-diona (77) (CDCl_3 , 300 MHz).	96
Figura 4. Espectro de RMN ^{13}C da 1-(4-metilfenil)-3-fenilpirrolidina-2,5-diona (77) (CDCl_3 , 75 MHz).	96
Figura 5. Estruturas canônicas dos derivados amino da <i>N</i> -antipirino-3,4-dicloromaleimida (6).	101
Figura 6. Espectro de Infravermelho da <i>N</i> -antipirino-3-cloro-4-[3-cloroanilino maleimida] (87) (Pastilha de KBr, cm^{-1}).	104
Figura 7. Espectro de RMN ^1H da <i>N</i> -antipirino-3-cloro-4-[3-cloroanilino maleimida] (87) (CDCl_3 , 400 MHz).	105
Figura 9. Estrutura minimizada da 3,4-dicloro- <i>N</i> -antipirinomaleimida (6) e o valor do LUMO = -1,591 eV.	106
Figura 10. Estrutura minimizada do pirrol e o valor do Homo = -8,657 eV.	106
Figura 11. Estruturas prováveis para a reação entre o dienófilo 6 e o dieno pirrol.	107
Figura 12. Espectro de Infravermelho da <i>N</i> -antipirino-3-cloro-4-(1 <i>H</i> -pirrol-2-il-maleimida) (97) (Pastilha de KBr, cm^{-1}).	108
Figura 13. Espectro de RMN ^1H da <i>N</i> -antipirino-3-cloro-4-(1 <i>H</i> -pirrol-2-il-maleimida) (97) (CDCl_3 , 300 MHz).	109
Figura 14. Espectro de RMN ^{13}C da <i>N</i> -antipirino-3-cloro-4-(1 <i>H</i> -pirrol-2-il-maleimida) (97) (CDCl_3 , 75 MHz).	109
Figura 15. DI_{50} do composto 81 , administrado em 5 concentrações 0,05, 0,1, 0,5, 1 e 10 mg/kg, via intraperitoneal no modelo de dor induzida pelo ácido acético 0,6 %.	114
Figura 16. DI_{50} do composto 82 , administrado em 5 concentrações 0,05, 0,1, 0,5, 1 e 10 mg/kg, via intraperitoneal no modelo de dor induzida pelo ácido acético 0,6 %.	115
Figura 17. DI_{50} do composto 92 , administrado em 4 concentrações 0,1, 0,5, 1 e 10 mg/kg, via intraperitoneal no modelo de dor induzida pelo ácido acético 0,6 %.	115
Figura 18. Efeito dos compostos 81 , 82 e 92 administrada na concentração de 10 mg/kg, via intraperitoneal na Fase I – fase neurogênica no modelo de dor induzida pela formalina 2,5%.	116
Figura 19. Efeito dos compostos 81 , 82 e 92 administrada na concentração de 10 mg/kg, via intraperitoneal na Fase II – fase inflamatória, no modelo de dor induzida pela formalina 2,5%.	117

- Figura 20. Efeito dos compostos **81**, **82** e **92** administrada na concentração de 10 mg/kg, via intraperitoneal no edema provocado pela formalina 2,5%. 117
- Figura 21. Efeito dos compostos **81**, **82** e **92** administrada na concentração de 10 mg/kg, via intraperitoneal no modelo de dor induzida pela capsaicina. 118
- Figura 22. Efeito dos compostos **81**, **82** e **92** administrada na concentração de 10 mg/kg, via intraperitoneal no modelo de dor induzida pelo glutamato. 119
- Figura 23. Efeito dos compostos **81**, **82** e **92** administrada na concentração de 10 mg/kg, via intraperitoneal no modelo de sensibilidade termica. 120
- Figura 24. Espectro de Infravermelho da (2E)-1-(4aminofenil)-3-(4-metilfenil)prop-2-en-1-ona (**100**) (Pastilha de KBr, cm^{-1}). 133
- Figura 25. Espectro de RMN ^1H da (2E)-1-(4aminofenil)-3-(4-metilfenil)prop-2-en-1-ona (**100**) (DMSO-d_6 , 400 MHz). 134
- Figura 27. DI_{50} da chalcona **103**, administrada em 5 concentrações 0,1, 0,5, 1, 3 e 10 mg/kg, via intraperitoneal no modelo de dor induzida pelo ácido acético 0,6 %. 136
- Figura 28. Efeito da chalcona **103**, administrada em 3 concentrações 50, 100 e 300 mg/kg, via oral no modelo de dor induzida pelo ácido acético 0,6 %. 137
- Figura 29. Efeito da chalcona **103**, administrada na concentração de 100 mg/kg, via oral no modelo de dor induzida pelo ácido acético 0,6 % avaliando diferentes tempos de espera (time-course). 137
- Figura 30. Efeito da chalcona **103**, administrada na concentração de 10mg/kg, via intraperitoneal na Fase I – fase neurogênica e Fase II – fase inflamatória, no modelo de dor induzida pela formalina 2,5 %. 139
- Figura 31. Efeito da chalcona **103** administrada na concentração de 10 mg/kg, via intraperitoneal no modelo de dor induzida pela capsaicina. 140
- Figura 32. Espectro de Infravermelho da *N*-{4-[(2E)-3-(4-metoxifenil)prop-2-enoil]fenil}acetamida (**110**) (Pastilha de KBr, cm^{-1}). 148
- Figura 33. Espectro de RMN ^1H da *N*-{4-[(2E)-3-(4-metoxifenil)prop-2-enoil]fenil}acetamida (**110**) (DMSO-d_6 , 300 MHz). 149
- Figura 34. Espectro de RMN ^{13}C da *N*-{4-[(2E)-3-(4-metoxifenil)prop-2-enoil]fenil}acetamida (**110**) (DMSO-d_6 , 75 MHz). 149
- Figura 35. DI_{50} da chalcona **114**, administrada em 5 concentrações 0,1, 0,5, 1, 3 e 10 mg/kg, via intraperitoneal no modelo de dor induzida pelo ácido acético 0,6 % 152
- Figura 36. Efeito da chalcona **114**, administrada em 3 concentrações 50, 100 e 300 mg/kg, via oral no modelo de dor induzida pelo ácido acético 0,6 %. 153
- Figura 37. Efeito da chalcona **114**, administrada na concentração de 100 mg/kg, via oral no modelo de dor induzida pelo ácido acético 0,6 % avaliando diferentes tempos de espera (time-course). 155
- Figura 38. Efeito da chalcona **114**, administrada na concentração de 10mg/kg, via intraperitoneal na Fase I – fase neurogênica e Fase II – fase inflamatória, no modelo de dor induzida pela formalina 2,5 %. 155

- Figura 39. Efeito da chalcona **114** administrada na concentração de 10 mg/kg, via intraperitoneal no modelo de dor induzida pela capsaicina. 156
- Figura 40. Espectro de Infravermelho da (2*E*)-1-(4-clorofenil)-3-fenilprop-2-en-1-ona (**121**) (Pastilha de KBr, cm^{-1}). 161
- Figura 41. Espectro de RMN ^1H da (2*E*)-1-(4-clorofenil)-3-fenilprop-2-en-1-ona (**121**) (DMSO-d_6 , 300 MHz). 162
- Figura 42. Espectro de RMN ^{13}C da (2*E*)-1-(4-clorofenil)-3-fenilprop-2-en-1-ona (**121**) (DMSO-d_6 , 75 MHz). 162
- Portanto, os dados espectroscópicos confirmam a obtenção da estrutura esperada na síntese da nitrochalcona (2*E*)-1-(4-clorofenil)-3-fenilprop-2-en-1-ona (**121**) e, análises similares foram realizadas para todos os compostos da série. 163
- Figura 43. Espectro de Infravermelho do ácido (2*Z*)-4-({4-[(2*E*)-3-(4-clorofenil)prop-2-enoila]fenil}amino)-4-oxobut-2-enoico (**128**) (Pastilha de KBr, cm^{-1}). 172
- Figura 44. Espectro de RMN ^1H do ácido (2*Z*)-4-({4-[(2*E*)-3-(4-clorofenil)prop-2-enoila]fenil}amino)-4-oxobut-2-enoico 173
- Figura 45. Espectro de RMN ^{13}C do ácido (2*Z*)-4-({4-[(2*E*)-3-(4-clorofenil)prop-2-enoila]fenil}amino)-4-oxobut-2-enoico (**128**) (DMSO-d_6 , 75 MHz). 173
- Figura 46. Espectro de Infravermelho da 1-{4-[(2*E*)-3-(4-clorofenil)prop-2-enoila]fenil}-1*H*-pirrol-2,5-diona (**135**) (Pastilha de KBr, cm^{-1}). 176
- Figura 47. Espectro de RMN ^1H da 1-{4-[(2*E*)-3-(4-clorofenil)prop-2-enoila]fenil}-1*H*-pirrol-2,5-diona (**135**) (CDCl_3 , 300 MHz). 176

LISTA DE ESQUEMAS

Esquema 1. Síntese das 3-fenilsuccinimidas substituídas.	93
Esquema 2. Síntese do protótipo N-antipirino-3,4-dicloromaleimida (6).	100
Esquema 3. Substituição nucleofílica do átomo de cloro por aminas.	100
Esquema 4. Síntese dos derivados amino da N-antipirino-3,4-dicloromaleimida (6).	101
Esquema 5. Síntese da N-antipirino-3-cloro-4-(1 <i>H</i> -pirrol-2-il-maleimida) (97)	108
Esquema 6. Reação geral de condensação das amino-chalconas e derivados.	130
Esquema 7. Mecanismo de condensação aldólica da (2 <i>E</i>)-1-(4-aminofenil)-3-fenilprop-2-en-1-ona (98)	131
Esquema 8. Reação de acetilação da p-aminoacetofenona (108).	145
Esquema 9. Reação geral de conjugação das amido-chalconas e análogos.	146
Esquema 10. Reação de hidrólise das amido-chalconas.	150
Esquema 11. Reação geral de condensação das nitro-chalconas.	160
Esquema 12. Primeira rota sintética proposta para obtenção dos híbridos imido-chalconas.	168
Esquema 13. Segunda rota sintética proposta para obtenção dos híbridos imido-chalconas.	169
Esquema 14. Terceira rota sintética proposta para obtenção dos híbridos imido-chalconas.	169
Esquema 15. Síntese dos ácidos âmicos híbridos.	170
Esquema 16. Síntese dos híbridos imido-chalconas.	174

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Dados analíticos dos derivados 3-fenilsuccinimidas.	94
Tabela 2. Atividade antinociceptiva dos derivados 3-fenilsuccinimidas no modelo de dor induzida pelo ácido acético 0,6% via i.p., administrados na dose de 10 mg/kg.	98
Tabela 3. Estudos de absorção e permeabilidade dos derivados 3-fenilsuccinimidas	99
Tabela 4. Dados analíticos da <i>N</i> -antipirino 3,4-dicloromaleimida e derivados (Continua).	102
Tabela 4. Dados analíticos da <i>N</i> -antipirino 3,4-dicloromaleimida e derivados (Conclusão).	103
Tabela 5. Atividade antinociceptiva da <i>N</i> -antipirino-3,4-dicloromaleimida e derivados no modelo de dor induzida pelo ácido acético 0,6% via i.p., administrados na dose de 10 mg/kg (Continua).	110
Tabela 5. Atividade antinociceptiva da <i>N</i> -antipirino-3,4-dicloromaleimida e derivados no modelo de dor induzida pelo ácido acético 0,6% via i.p., administrados na dose de 10 mg/kg (Conclusão).	111
Tabela 6. Estudos teóricos de solubilidade e permeabilidade da <i>N</i> -antipirino-3,4-dicloromaleimida e derivados (Continua).	121
Tabela 6. Estudos teóricos de solubilidade e permeabilidade da <i>N</i> -antipirino-3,4-dicloromaleimida e derivados (Conclusão).	122
Tabela 7. Concentração inibitória mínima ($\mu\text{g/mL}$) para a <i>N</i> -antipirino 3,4-dicloromaleimida e derivados (Continua).	125
Tabela 7. Concentração inibitória mínima ($\mu\text{g/mL}$) para a <i>N</i> -antipirino 3,4-dicloromaleimida e derivados (Conclusão).	126
Tabela 8. Atividade citotóxica da <i>N</i> -antipirino-3,4-dicloromaleimida e derivados frente a <i>Artemia salina</i> (Continua).	127
Tabela 8. Atividade citotóxica da <i>N</i> -antipirino-3,4-dicloromaleimida e derivados frente a <i>Artemia salina</i> (Conclusão).	128
Tabela 9. Dados analíticos das aminochalconas e análogos.	132
Tabela 10. Atividade antinociceptiva das amino-chalconas e seus análogos no modelo de dor induzida pelo ácido acético 0,6% via i.p., administrados na dose de 10 mg/kg.	135
Tabela 11. Estudos teóricos de solubilidade e permeabilidade das amino-chalconas e seus análogos	138
Tabela 12. Concentração inibitória mínima ($\mu\text{g/mL}$) das amino-chalconas e seus análogos para os fungos filamentosos	142
Tabela 13. Atividade citotóxica das amino-chalconas e seus análogos frente à <i>Artemia salina</i> .	144

Tabela 14. Dados analíticos das amido-chalconas e análogos.	147
Tabela 15. Dados analíticos das aminochalconas obtidas a partir da reação de hidrólise das amido-chalconas.	150
Tabela 16. Atividade antinociceptiva das amido-chalconas e seus análogos no modelo de dor induzida pelo ácido acético 0,6%, via i.p., administrados na dose de 10 mg/kg.	151
Tabela 17. Estudos teóricos de solubilidade e permeabilidade das amido-chalconas e seus análogos.	154
Tabela 18. Concentração inibitória mínima ($\mu\text{g/mL}$) das amino-chalconas e seus análogos para os fungos filamentosos.	158
Tabela 19. Atividade citotóxica das amino-chalconas e seus análogos frente à <i>Artemia salina</i> .	159
Tabela 20. Dados analíticos das nitro-chalconas.	160
Tabela 21. Atividade antinociceptiva das nitrochalconas no modelo de dor induzida pelo ácido acético 0,6% via i.p., administradas na dose de 10 mg/kg.	163
Tabela 22. Estudos teóricos de solubilidade e permeabilidade das nitrochalconas.	164
Tabela 23. Concentração inibitória mínima ($\mu\text{g/mL}$) das amino-chalconas e seus análogos para os fungos filamentosos.	166
Tabela 24. Atividade citotóxica das nitrochalconas e seus análogos frente à <i>Artemia salina</i> .	167
Tabela 25. Dados analíticos dos ácidos âmicos híbridos imido-chalconas.	171
Tabela 26. Dados analíticos dos híbridos imido-chalconas cíclicos.	174
Tabela 27. Atividade antinociceptiva dos ácidos âmicos no modelo de dor induzida pelo ácido acético 0,6% via i.p., administrados na dose de 10 mg/kg.	178
Tabela 28. Atividade antinociceptiva dos híbridos imido-chalconas no modelo de dor induzida pelo ácido acético 0,6% via i.p., administrados na dose de 10 mg/kg.	179
Tabela 29. Estudos teóricos de solubilidade e permeabilidade dos ácidos âmicos híbridos imido-chalconas.	180
Tabela 30. Estudos teóricos de solubilidade e permeabilidade dos híbridos imido-chalconas.	181

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

- 5HT_{1A}**: Subtipo 1A do receptor da serotonina
- AAS**: Ácido acetil salicílico
- ADMET**: Absorção, distribuição, metabolismo, excreção e toxicidade
- ADP**: Adenosina difosfato
- AMPc**: Adenosina 3',5' monofosfato cíclico.
- B6-F10**: Linhagem específica de células de melanoma
- CC**: Cromatografia em coluna
- CCD**: Cromatografia em camada delgada
- CCR**: Coeficiente de controle respiratório
- CD4+**: Célula T que expressa o marcador de superfície CD4, um componente do complexo receptor de célula T utilizado em resposta a antígenos estranhos.
- CE₅₀**: Concentração efetiva de uma substância causa 50% de efeito.
- CLAE**: Cromatografia líquida de alta eficiência
- CI₅₀**: Concentração de uma substância necessária para causar 50 % de inibição relação a um grupo controle (experimentos laboratoriais).
- CIM**: Concentração inibitória mínima
- COSY**: Espectrometria bidimensional de correlação homonuclear
- COX**: Ciclooxygenase
- d**: Duplete
- D₂**: Subtipo 2 do receptor dopaminérgico
- DEPT**: *Distorsionless Enhancement by Polarization Transfer*
- DI₅₀**: Dose de uma substância necessária para inibir 50 % da resposta desejada em relação a um grupo controle (experimentos laboratoriais).
- DIP**: Dipirona
- DL₅₀**: Dose de uma substância necessária para provocar a morte de 50% dos animais expostos (experimentos laboratoriais).
- DNA**: Ácido desoxirribonucléico
- Dox**: Doxorubicina
- EBV-EA**: Antígeno primário do vírus Epstein-Barr
- ELP**: Polipeptídeo similar a elastina
- EPM**: Erro padrão médio
- HBV**: Vírus da hepatite B
- HETCOR**: Heterocorrelação entre espectro de ¹H e ¹³C

HIV: Vírus da imunodeficiência humana

HIV-1: Subtipo 1 do vírus da imunodeficiência humana

HL60: linhagem humana derivada de leucemia promielocítica aguda

i: Inédito

IL: Interleucina

i.p.: Intra-peritoneal

IV: Infravermelho

J: Constante de acoplamento

LASSBio: Laboratório de Avaliação e Síntese de Substâncias Bioativas

m: Multiplete

NIQFAR: Núcleo de Investigações Químico-Farmacêuticas

NMDA: N-metil-D-aspartato

NO: Óxido nítrico

NOE: Efeito Overhauser Nuclear

P: Coeficiente de partição

p.f.: Ponto de fusão

PAR: Paracetamol

PBS: Solução tampão fosfato

pH: Potencial de hidrogênio iônico (índice que indica a acidez, neutralidade ou alcalinidade de um meio qualquer)

q: Quarteto

QSAR: Relação quantitativa entre estrutura química e atividade

R_f: Fator de retenção

RMN ¹³C: Ressonância Magnética Nuclear de Carbono¹³

RMN ¹H: Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio¹

RNA: Ácido ribonucleico

s: Simpleto

s.c.: Subcutâneo

SIDA: Síndrome da imunodeficiência adquirida

SNC: Sistema nervoso central

t: Tripleto

t.a.: Temperatura ambiente

TPA: 12-*O*-tetradecanoilforbol -13- acetato

TMS: Tetrametilsilano

TNF- α: Fator de necrose tumoral α

δ: Deslocamento químico em ppm

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	20
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	22
2.1	QUÍMICA MEDICINAL	22
2.2	IMIDAS CÍCLICAS	24
2.3	CHALCONAS	36
3	OBJETIVOS	47
3.1	OBJETIVO GERAL	47
3.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	47
4	PARTE EXPERIMENTAL.....	48
4.1	SÍNTESES	48
4.1.1	<i>Caracterização estrutural</i>	48
4.1.2	<i>Síntese de N-aril-3-fenilsuccinimidas:</i>	49
4.1.3	<i>Síntese do protótipo: N-antipirino-3,4-dicloromaleimida (6)</i>	51
4.1.4	<i>Síntese dos derivados da N-antipirino-3,4-dicloromaleimida</i>	52
4.1.5	<i>Chalconas:</i>	62
4.1.5.1	Síntese das amino-chalconas:	62
4.1.5.2	Síntese de análogos das amino-chalconas	66
4.1.5.3	Síntese das amido-chalconas:	67
4.1.5.3.1	Acetilação do grupo amino.....	67
4.1.5.3.2	Condensação:.....	68
4.1.5.4	Síntese dos análogos das amido-chalconas	71
4.1.5.5	Hidrólise do grupamento amida	72
4.1.5.6	Síntese das nitro-chalconas:.....	73
4.1.6	<i>Híbridos imido-chalconas:</i>	77
4.1.6.1	Síntese dos ácidos âmicos	77

4.2	CÁLCULOS COMPUTACIONAIS	86
4.3	AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTINOCICEPTIVA	87
4.3.1	<i>Modelo de contorções abdominais induzidas pelo ácido acético</i>	87
4.3.2	<i>Modelo de dor induzida pela formalina</i>	88
4.3.3	<i>Modelo de dor induzida pela capsaicina</i>	88
4.3.4	<i>Modelo de dor induzida pelo glutamato</i>	89
4.3.5	<i>Modelo de sensibilidade térmica (teste da placa quente)</i>	89
4.3.6	<i>Análise estatística</i>	90
4.4	AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA.....	90
4.4.1	<i>Triagem de substâncias com atividade antimicrobiana</i>	91
4.4.2	<i>Ensaio de toxicidade com Artemia salina</i>	92
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	93
5.1	IMIDAS E DERIVADOS	93
5.1.1	<i>Síntese dos derivados 3-fenilsuccinimidas</i>	93
5.1.1.1	<i>Avaliação da atividade antinociceptiva</i>	97
5.1.2	<i>Síntese dos derivados da N-antipirino-3,4-dicloromaleimida</i>	100
5.1.2.1	<i>Avaliação da atividade antinociceptiva</i>	110
5.1.2.2	<i>Avaliação da atividade antibacteriana</i>	123
5.1.2.3	<i>Avaliação da atividade antifúngica</i>	124
5.1.2.4	<i>Avaliação da toxicidade</i>	127
5.2	CHALCONAS E ANÁLOGOS	130
5.2.1	<i>Síntese das Aminochalconas</i>	130
5.2.1.1	<i>Avaliação da atividade antinociceptiva</i>	135
5.2.1.2	<i>Avaliação da atividade antibacteriana</i>	141
5.2.1.3	<i>Avaliação da atividade antifúngica</i>	141
5.2.1.4	<i>Avaliação da toxicidade</i>	144
5.2.2	<i>Síntese das Amido-chalconas</i>	145
5.2.2.1	<i>Avaliação da atividade antinociceptiva</i>	150
5.2.2.2	<i>Avaliação da atividade antibacteriana</i>	156
5.2.2.3	<i>Avaliação da atividade antifúngica</i>	157
5.2.2.4	<i>Avaliação da toxicidade</i>	158
5.2.3	<i>Síntese das Nitro-chalconas</i>	160

5.2.3.1	Avaliação da atividade antinociceptiva	163
5.2.3.2	Avaliação da atividade antibacteriana	165
5.2.3.3	Avaliação da atividade antifúngica.....	165
5.2.3.4	Avaliação da toxicidade.....	167
5.3	HÍBRIDOS IMIDO-CHALCONAS.....	168
5.3.1	<i>Síntese dos compostos híbridos imido-chalconas</i>	168
5.3.1.1	Avaliação da atividade antinociceptiva	177
6	CONCLUSÕES	183
6.1	IMIDAS E DERIVADOS	183
6.2	CHALCONAS E ANÁLOGOS	183
6.3	HÍBRIDOS IMIDO-CHALCONAS.....	184
7	PERSPECTIVAS.....	185
8	REFERÊNCIAS.....	186
9	ANEXO.....	198

1 INTRODUÇÃO

A descoberta de novas entidades químicas, candidatas a novos fármacos, compreende uma cadeia complexa que para ser efetiva precisa estar bem articulada. A obtenção de excelentes resultados experimentais têm sido determinante na substancial elevação da quantidade e da qualidade dos medicamentos disponíveis no mercado farmacêutico, uma vez que a velocidade de geração de novos conhecimentos científicos e tecnológicos tem sido difundida rapidamente nos setores de pesquisa (CARVALHO et al., 2003, BARREIRO; FRAGA, 2005; VIEGAS Jr.; BOLZANI; BARREIRO, 2006).

Muitas classes de compostos orgânicos têm demonstrado efeitos biológicos promissores e a literatura científica relata um crescimento significativo de novas moléculas com potência similar ou superior àquela de um fármaco, sendo que muitos deles encontram-se em estudos pré-clínicos e clínicos avançados e pormenorizados. Entre estas substâncias, podem-se inserir as imidas cíclicas. Em 2003, Cechinel Filho e colaboradores publicaram uma revisão abordando vários aspectos químicos e o vasto potencial terapêutico das imidas cíclicas. Esta classe de compostos continua sendo extensivamente investigada em virtude da alta aplicabilidade já encontrada (MACHADO et al., 2005; FURGESON et al., 2006).

Trabalhos prévios, realizados em nosso grupo de pesquisa, indicaram estruturas imídicas promissoras com perfil farmacológico superior a alguns fármacos existentes, na terapêutica. Com base nestes trabalhos selecionou-se uma substância, a qual contém em sua estrutura um núcleo maleimídico e um núcleo antipirínico (CECHINEL-FILHO et al., 1998, 2003; CAMPOS-BUZZI et al., 2001, 2002; CAMPOS-BUZZI et al., 2003). Esta substância é análoga à dipirona, um efetivo analgésico e antipirético não esteroidal do grupo das pirazolonas. Nos Estados Unidos seu uso foi proibido desde 1977, e é também proibido no Canadá e em um grande número de países da Europa ocidental, por ter sido associado à agranulocitose (DOOR; COOK, 1996). Porém, a dipirona já está no mercado mundial há oitenta anos e é comercializada em mais de 100 países, além de ser considerada o principal analgésico da terapêutica brasileira, pois existem, no país 125 produtos a base de dipirona, sendo 71 em associação à outras substâncias (ANVISA, 2001). Entretanto, no livro “Martindale: The Complete Drug Reference”, seu uso é

justificado somente em casos de dor severa quando nenhuma alternativa é disponível e adequada (SWEETMAN, 2007).

Assim como os compostos imídicos, as chalconas também se inserem neste contexto, uma vez que são substâncias de comprovada eficácia e possuem ocorrência natural acentuada. Várias atividades biológicas, de chalconas e derivados, têm sido reportados, incluindo efeitos analgésicos, antiinflamatórios, antipiréticos, antimicrobianos, antimaláricos, antineoplásicos, entre outras atividades que foram sumarizadas em uma revisão publicada por Ni e colaboradores (2004) abordando os avanços terapêuticos das chalconas. Desde então, muitos outros estudos continuam sendo desenvolvidos na busca de moléculas potencialmente ativas (NIELSEN et al, 2005, DOMINGUEZ et al, 2005, CAMPOS-BUZZI et al., 2006, NOWAKOWSKA, 2007).

No decorrer dos últimos anos, as imidas cíclicas e as chalconas têm sido alvo de vários estudos numa parceria produtiva, envolvendo o Programa de Pós-Graduação do Departamento de Química (UFSC) e o Núcleo de Investigações Químico-Farmacêuticas (NIQFAR/ UNIVALI). Estes incluem a síntese, identificação e modificação estrutural de novas entidades moleculares de interesse químico medicinal e a avaliação de suas propriedades biológicas, a fim de se estabelecer a relação entre a estrutura química e a atividade biológica no intuito de obter compostos de potencial aplicabilidade terapêutica.

Estes estudos têm apresentado resultados muito promissores no que se refere à busca de novos protótipos com potencial terapêutico para o desenvolvimento de novos fármacos. Neste trabalho, pretende-se explorar a síntese de imidas cíclicas e chalconas, bem como unir estas duas classes de comprovadas ações biológicas buscando novos compostos bioativos.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 QUÍMICA MEDICINAL

O método de descoberta de fármacos baseado na modificação estrutural de moléculas conhecidas leva à identificação de novos compostos-protótipos que atuam pelo mesmo mecanismo farmacológico da molécula de origem. Esta estratégia é largamente empregada na indústria farmacêutica que pesquisa novos fármacos. Contudo, apenas a descoberta de novas substâncias bioativas, passíveis de representarem autênticas entidades químicas inovadoras, de possível aplicação terapêutica, caracteriza a inovação farmacêutica (BARREIRO; FRAGA, 2005).

Uma estratégia de síntese para o planejamento de novos compostos é o método manual de Topliss, o qual tem essencialmente a mesma base teórica da árvore de decisão de Topliss (TOPLISS, 1977; 1993). Este método foi introduzido para predição de compostos que tem a maior atividade em uma série de análogos aromáticos substituídos. Embora não envolva metodologia matemática ou estatística, ele se baseia no fato que devam existir algumas correlações quantitativas entre a atividade biológica, a hidrofobicidade e os descritores moleculares eletrônicos. Usando estes preceitos, novos métodos similares têm sido desenvolvidos (YUNES et al., 2002; LAZZAROTTO et al., 2005).

O planejamento adequado de variações na estrutura de um composto bioativo pode resultar em derivados com maior interesse terapêutico, seja por apresentar maior atividade, menor toxicidade ou, ainda, por adquirir características farmacotecnicamente mais adequadas (TAVARES, 2004).

A disponibilidade de programas computacionais de química e os bancos de dados em rede são atualmente, ferramentas fundamentais para a descoberta e planejamento de novos fármacos. Estas informações permitem uma análise rápida da atividade biológica *versus* propriedades físico-químicas de uma série de moléculas de interesse. Novos agentes terapêuticos podem inclusive serem desenvolvidos, pela análise de dados teóricos de relação estrutura-atividade de forma tridimensional, obtidos por técnicas recentes de modelagem molecular (CARVALHO et al., 2003). Uma vez obtido um composto biologicamente ativo, pode-

se lançar mão de estratégias de modificação molecular, também chamada de variação molecular ou manipulação molecular, que se constitui, certamente no método mais usado e recompensador para otimizar essa atividade. A correlação entre a estrutura química e atividade biológica pode ser feita quantitativamente e então é denominada de QSAR (relação quantitativa entre estrutura química e atividade) (TAVARES, 2004).

As estratégias modernas usadas no planejamento racional de novos compostos protótipos podem se basear na abordagem fisiológica. Essa abordagem permite planejar a estrutura química de uma nova molécula com base na definição prévia do mecanismo de ação terapêutica. Essa ação, por sua vez, depende do alvo terapêutico escolhido, ou seja, a biomacromolécula à qual o novo fármaco irá se ligar para alterar um determinado processo bioquímico (BARREIRO, 2007).

Mais recentemente, a tecnologia de *screening* virtual está sendo estendida para analisar os problemas de absorção, distribuição, metabolismo, excreção e toxicidade (ADMET). Neste sentido, o log P e a massa molar incluídos nas regras de Lipinski foram usados como elementos para “filtrar” e selecionar compostos que possam ter características de fármacos (YUNES; CECHINEL-FILHO, 2007).

A regra de Lipinski, também denominada de regra dos 5, tem como objetivo estimar a solubilidade e a permeabilidade de fármacos administrados pela via oral, predizendo a influência da estrutura química na absorção de um composto, uma vez que a previsão dos processos farmacocinéticos logo nos estágios iniciais da pesquisa é de extrema importância para o desenvolvimento de um candidato a fármaco. Segundo Lipinski, os critérios a serem analisados são: a massa molar, o qual não deve exceder a 500 g/mol; o log P, cujo valor limite é 5; e os grupos doadores (NH + OH) e aceptores (N + O) de ligação hidrogênio, cujas somatórias não devem ultrapassar a 5 e 10, respectivamente. Apenas classes de compostos que são substratos para transportadores biológicos e produtos naturais são consideradas exceções à regra (LIPINSKI et al., 2001; KELLER et al., 2006; DUCHOWICZ et al., 2007).

Atualmente, pesquisadores de diversas empresas como por exemplo, a Pfizer, a GSK, a Boehringer Ingelheim, a Astra Zeneca, a Bayer e a Lilly, entre outras têm utilizado a avaliação das propriedades físico-químicas na seleção de compostos candidatos a fármacos com maiores probabilidades de não serem

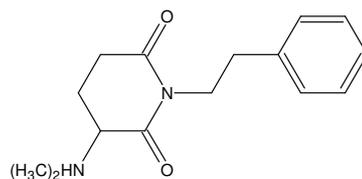
abandonados, mais adiante, na fase clínica. É importante ressaltar que falhas na correlação entre ensaios *in vitro* e *in vivo*, muitas vezes estão associadas a problemas farmacocinéticos dos compostos, como baixa biodisponibilidade, duração de ação (muito curta ou muito longa), ou a presença de metabólitos ativos, que pode levar à programas clínicos mal-sucedidos. E, o fracasso na fase clínica representa grandes perdas de tempo e dinheiro (KELLER et al., 2006; PEREIRA, 2007).

Com o exposto acima, pode-se sumarizar os objetivos da química medicinal como a compreensão das razões moleculares da ação dos fármacos. Envolvendo a relação entre estrutura química e atividade farmacológica dos mesmos, considerando os fatores farmacodinâmicos e farmacocinéticos que se traduzam em propriedades farmacoterapeuticamente úteis e, que portanto represente um novo composto-protótipo, candidato efetivo a um novo fármaco (VIEGAS et al., 2006).

2.2 IMIDAS CÍCLICAS

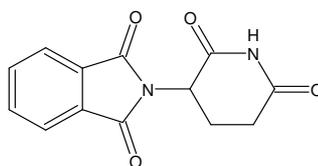
As imidas cíclicas são substâncias que contém o grupo $-\text{CO-N(R)-CO}-$, sendo R um átomo de hidrogênio, grupo alquila ou arila. Tais compostos podem ser divididos em subclasses, incluindo as maleimidias, succinimidias, glutarimidias, ftalimidias, naftalimidias, etc., e seus respectivos derivados (HARGREAVES, 1970).

Os Departamentos de Química e de 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 (**1**), isolado das partes aéreas do *Phyllanthus sellowianus* (TEMPESTA et al., 1988). Este composto, derivado da glutarimida, apresentou efeito antimicrobiano moderado (CECHINEL-FILHO et al., 1994), antiespasmódico (CALIXTO et al., 1984) e analgésico (CECHINEL-FILHO, 1995), sendo então usado como modelo ou protótipo para a síntese de inúmeros análogos. Estas imidas cíclicas, análogas à filantimida (**1**), apresentaram uma variedade de efeitos biológicos, permitindo também a elucidação de vários fatores estruturais relacionados com as respectivas atividades biológicas (CECHINEL-FILHO et al., 2003).



(1)

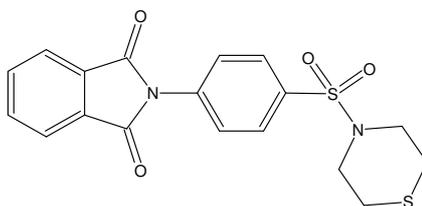
Em 1970, Hargreaves e colaboradores, publicaram uma revisão abordando vários aspectos químicos, industriais e biológicos das imidas cíclicas. Nos últimos anos, estes compostos têm despertado interesse, e atraído à atenção da comunidade científica, devido, principalmente, às suas potencialidades terapêuticas. Em 2003, Cechinel-Filho e colaboradores publicaram uma nova revisão abrangendo os aspectos químicos e o potencial terapêutico das imidas cíclicas. A partir de então muitas outras contribuições desta classe de compostos já se encontram relatadas na literatura. Como exemplo, pode-se citar o caso da talidomida (2) que apesar dos efeitos adversos significativos ocorridos no passado, foi liberada terapeuticamente pela Lei 10.651 de 16 de abril de 2003, para o tratamento da hanseníase, mieloma múltiplo, doenças crônico-degenerativas e de algumas doenças oportunistas que afetam portadores do vírus da imunodeficiência humana (HIV) (BRANDÃO, 2005). A talidomida também tem sido utilizada como protótipo para a síntese de vários análogos com atividade antiinflamatória e imunomoduladora, os quais têm demonstrado maior atividade anti-fator de necrose tumoral α (TNF- α), menor toxicidade e maior estabilidade que o precursor (2) (MACHADO et al., 2005; ALEXANDRE-MOREIRA et al., 2005).



(2)

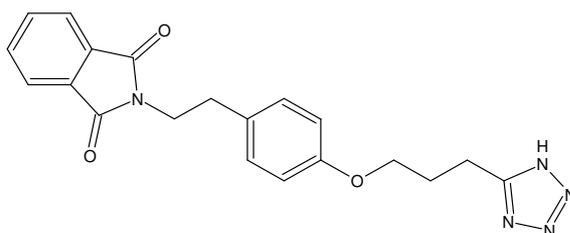
Um novo composto sintético, análogo da talidomida (2), denominado como LASSBio 468 (3), sem centro quiral e com uma estrutura simples, mostrou-se um inibidor de citocinas importante com perfil imunofarmacológico atrativo. Este composto ativo na produção de TNF- α e na modulação de óxido nítrico (NO) representa um novo candidato não teratogênico para ser utilizado na terapia de doenças como artrite reumatoide e síndrome do choque séptico (ALEXANDRE-MOREIRA et al., 2005). Muitos outros compostos têm sido planejados a partir da

talidomida e também de (3). Entretanto, os derivados apresentaram perfis similares aos protótipos (MACHADO et al., 2005).



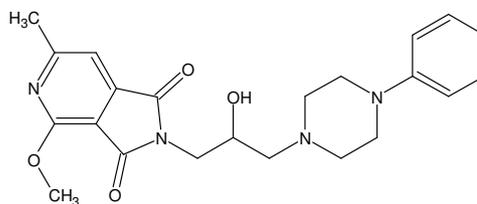
(3)

Ainda em relação a derivados ftalimidicos, um novo derivado LASSBio 552 (4), apresentou perspectivas para o desenvolvimento de novos compostos para o tratamento da asma. Este composto mostrou um bloqueio seletivo do acúmulo de eosinófilos no foco da inflamação provocada por alérgenos por um mecanismo que parece envolver a supressão do influxo de células T (CD4⁺) e a produção de cisteinil-leucotrienos (NEVES et al., 2005).



(4)

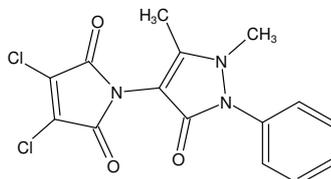
A atividade analgésica e a baixa toxicidade (DL₅₀ >2000 mg/kg) de compostos 2-alkoxi-6-metil-2-[2-hidroxi-3-(4-fenil-1-piperazinil)propil]-1H-pirrolo[3,4c]piridina-1,3-(2H)-dionas(3,4-piridinodicarboximidaz) levaram a uma série de compostos obtidos a partir de modificações estruturais do composto (5). Estes novos compostos foram mais ativos que o ácido acetil salicílico utilizado para comparação, mas foram menos ativos que o composto protótipo (5) (SLADOWSKA et al., 2005).



(5)

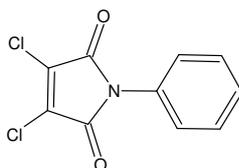
Cabe ressaltar aqui os estudos prévios com imidas cíclicas derivadas da aminofenazona que demonstraram atividade antinociceptiva significativa. O composto mais potente da série foi um derivado 3,4-dicloromaleimida (6) o qual se apresentou cerca de 15 vezes mais potente, no modelo de contorções abdominais

induzidas pelo ácido acético em camundongos, via i.p., que a dipirona, um efetivo analgésico e antipirético não esteroidal, utilizado em larga escala nos últimos tempos e cuja estrutura química é análoga a série sintetizada (CAMPOS-BUZZI et al., 2002). Esta molécula será utilizada como protótipo neste trabalho.



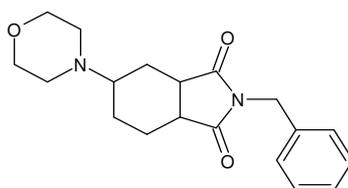
(6)

Walter e colaboradores (2004) confirmaram as propriedades antinociceptivas de dicloromaleimidias e de alguns derivados sulfonados. Os resultados demonstraram que a maior atividade encontrada foi para o composto (7), o qual representa o protótipo da série. Substituições no átomo de cloro da dupla ligação imídica ou no anel aromático por clorosulfonação não contribuíram no incremento da atividade biológica.



(7)

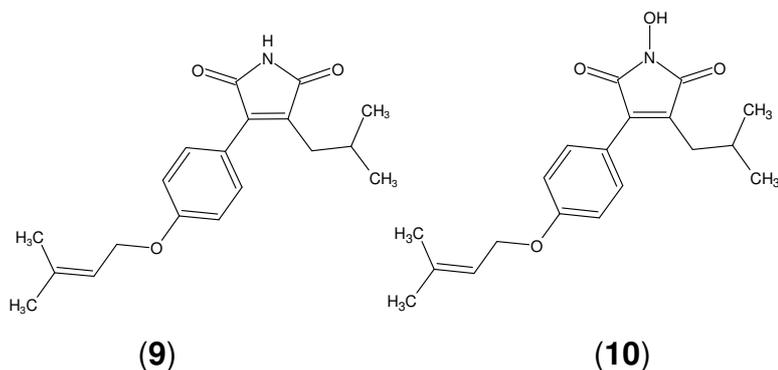
Recentemente foram descritos os efeitos antinociceptivos de tetrahydroftalimidias e de compostos relacionados. O composto mais ativo foi o 2-benzil-5-morfolino-4-il-hexahidroisindol-1,3-diona (8) o qual apresentou uma atividade cerca de 5 vezes superior aos fármacos utilizados como referência, ácido acetil salicílico e paracetamol, quando analisado no modelo de contorções abdominais induzidas pelo ácido acético pela via intraperitoneal, apresentando-se efetivo também pela via oral (COSTA et al., 2007).



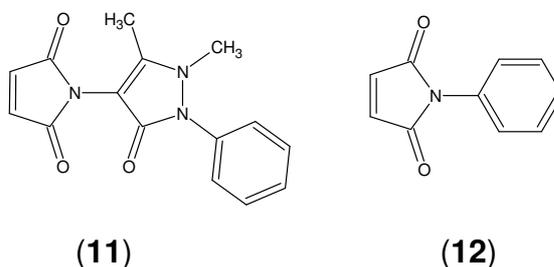
(8)

Substâncias naturais e sintéticas têm sido extensivamente pesquisadas a fim de encontrar uma molécula ideal para o combate ao câncer, que atue nas células tumorais, visando destruí-las, impedindo o crescimento e aliviando os sintomas

causados pelo desenvolvimento do tumor (ALMEIDA et al., 2005). Entre os compostos naturais, cinco novos derivados de maleimidás e succinimidás foram isolados do micélio da *Antrodia camphorata*, um fungo utilizado na medicina chinesa para o tratamento de intoxicações por alimentos ou medicamentos, diarreia, dores abdominais, hipertensão e câncer de fígado. Dois derivados maleimídicos (9) e (10) demonstraram atividade citotóxica sobre células tumorais (NAKAMURA et al., 2004).

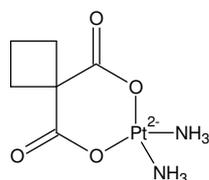
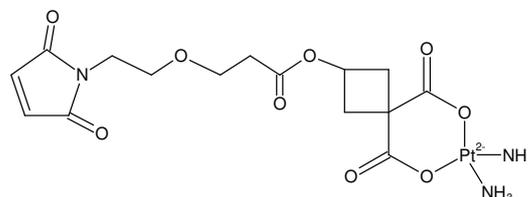


Considerando a atividade já relatada na literatura para as imidas cíclicas quanto aos efeitos mitocondriais e a citotoxicidade, o derivado 4-aminoantipirino (11), em um estudo *in vitro* apresentou a maior citotoxicidade sobre macrófagos peritoneais causando 100% de morte celular na concentração 0,08 mM e decrescendo em 90% a viabilidade de uma linhagem de células de melanoma B16-F10 a 0,4 mM. Entretanto a maleimida (12) apresentou-se mais citotóxica para esta linhagem de células. Este resultado é muito importante, pois esta linhagem de células tem uma alta resistência nos tratamentos com agentes antineoplásicos tradicionais (PRADO et al., 2004).

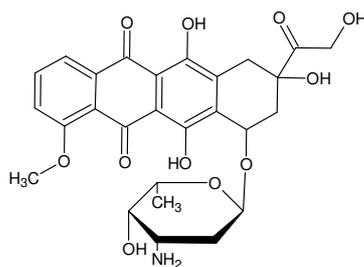
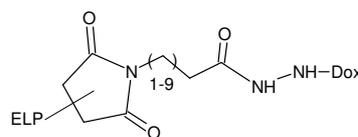


Entre os fármacos sintéticos utilizados terapêuticamente em neoplasia genitourinária, particularmente testicular, ovariana e vesical e também nos carcinomas escamosos como de cabeça e pescoço, esôfago e cérvix, carcinoma de bexiga, tireóide, endométrio, estômago ou pâncreas e de pulmão, pode-se citar a carboplatina (13), que é um composto de coordenação com a platina cujo mecanismo de ação está relacionado com a inibição seletiva da síntese do ácido desoxiribonucléico (DNA) (ALMEIDA et al., 2005). Entretanto a terapia com este

fármaco causa muitos efeitos colaterais, tais como mielotoxicidade, nefrotoxicidade, ototoxicidade, estomatite, náuseas e vômitos. Análogos da carboplatina acoplados a um grupo de maleimidas (**14**) mostraram um efeito antitumoral melhor que a carboplatina (**13**) (WARNECKE et al., 2004).

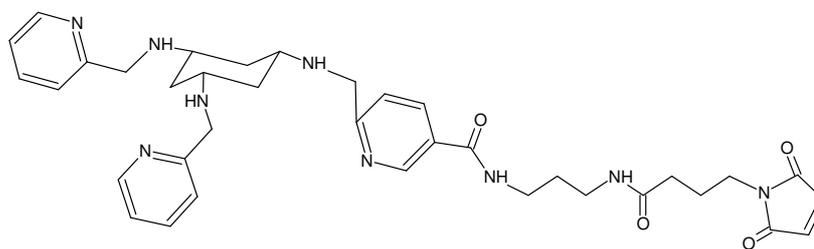
**(13)****(14)**

A doxorubicina (Dox) (**15**) é outro fármaco antitumoral utilizado comumente para o tratamento do câncer devido a seus múltiplos modos de ação, incluindo a inibição da DNA helicase, topoisomerase II e RNA polimerase. Entretanto efeitos colaterais como a cardiotoxicidade e a nefrotoxicidade, limitam a dose e a eficácia terapêutica. Um polipeptídeo, similar à elastina com um resíduo C-terminal de cisteína (ELP), foi sintetizado e conjugado a doxorubicina através de quatro diferentes maleimidas ativadoras, por um ligante hidrazona, sensível ao pH (**16**). Estas biomacromoléculas foram desenvolvidas para promover a liberação em alta concentração do conjugado nos tumores sólidos, liberando a doxorubicina de maneira controlada para exercer seu efeito terapêutico nas células tumorais (FURGESSON et al., 2006).

**(15)****(16)**

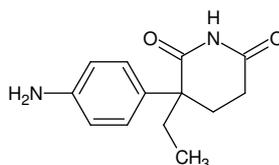
Uma das grandes promessas como estratégia para o tratamento do câncer é o desenvolvimento de quelantes de ferro. Estes quelantes são conhecidos por causarem depleção de ferro e exibirem potente atividade citotóxica sobre numerosas células cancerosas incluindo leucemia, neuroblastoma, hepatoma e linfoma. Chong e colaboradores (2004) desenvolveram um composto bifuncional N,N',N''-tris(2-piridilmetil)-cis,cis-1,3,5-triaminociclohexano possuindo um ligante maleimida (**17**) para conjugação com anticorpos monoclonais alvos de vários tipos

de células tumorais gerando a primeira série de conjugados antitumorais para terapia tumoral de depleção de ferro.



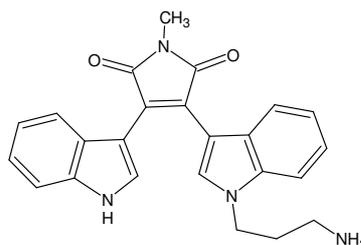
(17)

Uma estrutura imídica utilizada clinicamente por suas propriedades antineoplásicas é a aminoglutetimida (18), conhecida comercialmente por Orimeten® e Cytadren®. Quimicamente é denominada de 3-(4-aminofenil)-3-etil-2,6-piperidinadiona e além de ser utilizada para carcinoma metastizante de mama e de próstata, também é considerado um fármaco de escolha no tratamento da síndrome de Cushing, uma vez que este medicamento inibe a esteroidogênese (SWEETMAN, 2007).



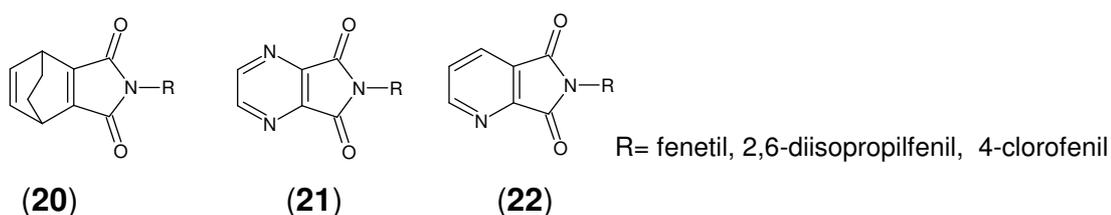
(18)

Estudos têm demonstrado que agentes que induzem a morte celular também podem ser eficazes para o tratamento do câncer. Uma série de derivados N-metil-bisindolilmaleimidas foi sintetizada e avaliada por Katoh e colaboradores (2005) como indutores da morte celular. O derivado N-metil-2-[1-(3-aminopropil)-1H-indol-3-il]-3-(1H-indol-3-il)maleimida (19) foi o indutor da morte celular mais potente induzida por H₂O₂ de células de leucemia humana (HL60) e apresentou baixa toxicidade quando comparado a um composto bisindolmaleimida avaliado anteriormente por Asakai e colaboradores (2002).

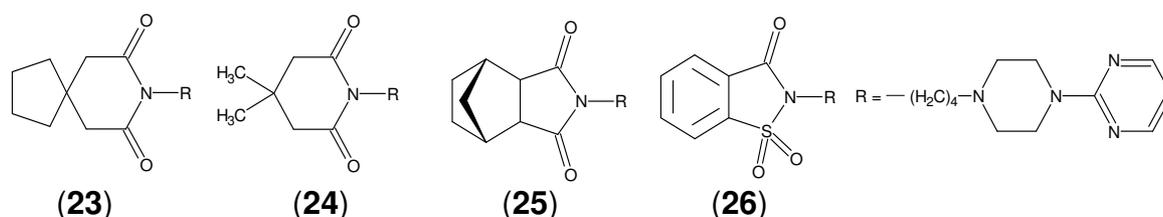


(19)

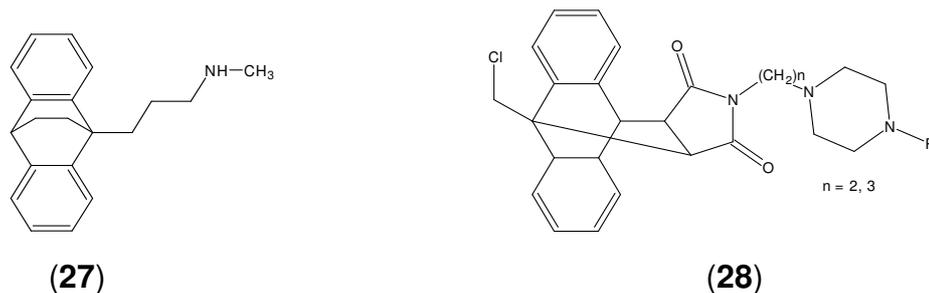
No que se refere à utilização como agentes citotóxicos, foi investigada uma série de novas imidas cíclicas, quanto a sua interação com o DNA e a indução à apoptose. Os compostos que exibiram a melhor atividade foram as séries: **(20)** (biciclo[2.2.2]-oct-5-eno-2,3-dicarboximidás), **(21)** (2,3-pirazinodicarboximidás) e **(22)** (2,3-piridinodicarboximidás). Embora a relação estrutura-atividade precisa não tenha sido definida observou-se que os melhores resultados foram obtidos com os núcleos imídicos não planares e com os N-substituintes; tais como fenetil, 2,6-diisopropilfenil e 4-clorofenil (ABDEL-AZIZ, 2007).



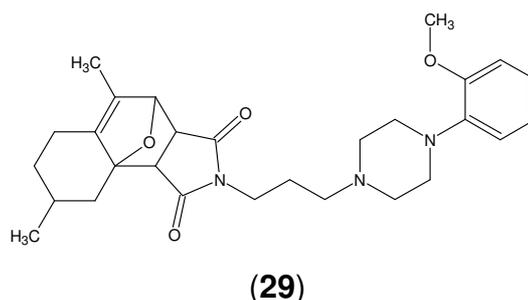
Durante os últimos anos vêm sendo relatadas algumas estruturas imídicas, contendo um grupo arilpiperazina de cadeia longa unido ao nitrogênio da imida, com atividade serotoninérgica, noradrenérgica e dopaminérgica, com ação ansiolítica e antidepressiva. A estrutura mais conhecida é a buspirona **(23)**, comercialmente difundida como Buspar® ou Ansitec®, entre outras denominações. Relacionados a ela outros fármacos já vem sendo utilizados no tratamento destas desordens como a gepirona **(24)**, a tandospirona **(25)** e a ipsapirona **(26)** (YAMADA et al., 2003; KELLER et al., 2005).



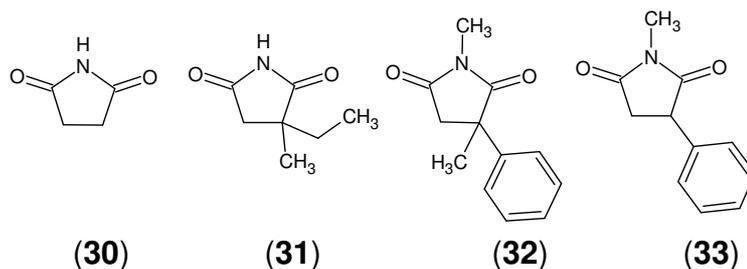
Na busca por fármacos ansiolíticos cada vez mais potentes, Kossakowski (2003) procurou em suas pesquisas unir fragmentos estruturais de fármacos já conhecidos por esta referida ação como o sistema antraceno da maprotilina **(27)** e a porção 4-aril(heteroaril)-1-piperazinoalquil da buspirona **(23)**, obtendo-se dessa forma novos derivados 1-clorometil-dibenzo[e.h]biciclo[2.2.2]-octano-2,3-dicarboximida **(28)** com provável atividade ansiolítica.



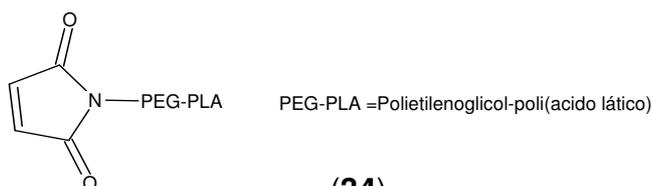
Uma nova série de arilpiperazinas de cadeia longa com uma porção imida terminal, obtida por reação de Diels-Alder foi preparada para avaliar a influência do volume da porção terminal. Os resultados obtidos sugerem que o volume de aproximadamente 300 Å³ pode ser considerado como limitante para a ligação ao receptor serotoninérgico 5HT_{1A} desta região responsável pelas interações com os fragmentos imídicos. Os compostos analisados apresentaram afinidade moderada para os receptores 5-HT_{1A} e, o derivado **(29)** também apresentou atividade para o receptor dopaminérgico D₂ (KOSSAKOWSKI et al., 2004).



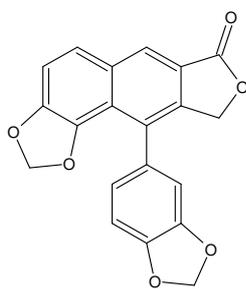
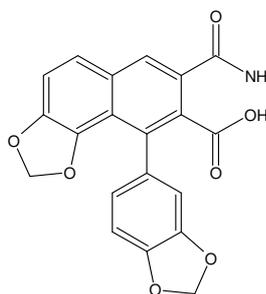
Apesar da succinimida **(30)** já ter sido comercializada por Orotic® com a finalidade de reduzir a hiperoxaluria por inibir a formação de cálculos de ácido oxálico nos rins, este composto é o precursor de fármacos úteis no tratamento de distúrbios do sistema nervoso central, como a epilepsia. O fármaco mais significativo desta classe é a etosuximida **(31)** (Zarontin®) eficaz no tratamento de crises de ausência e convulsões mioclônicas, mas outros análogos menos efetivos como mesuximida **(32)** (Celontin®) e fensuximida **(33)** (Milontin®) já foram desenvolvidos (SWEETMAN, 2007).



A passagem de fármacos para o sistema nervoso central (SNC) depende em grande parte da barreira hematoencefálica, a qual restringe a entrada substâncias exôgenas a partir da circulação geral. Somente pequenas moléculas com alta solubilidade lipídica e baixa massa molar conseguem atravessar esta barreira (PARDRIDGE, et al. 2003). Um novo sistema de liberação de fármacos com albumina sérica catiônica bovina como um carreador específico do cérebro ligado covalentemente com um grupo funcional maleimida (**34**) mostrou resultados significantes “*in vitro*” e “*in vivo*” com baixa toxicidade (LU et al., 2005).

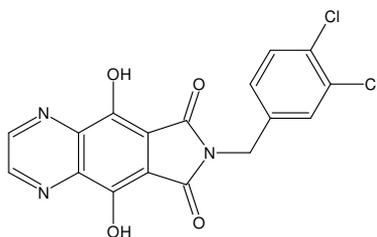
**(34)**

Infecções virais são hoje mais um grande problema de saúde pública em todo o mundo. Estimativas conservadoras citam mais de 300 milhões de pessoas cronicamente infectadas pelo vírus da hepatite B (HBV). Uma série de compostos análogos ao produto natural helioxantina (**35**), o qual apresentou propriedades antivirais, foram sintetizados e avaliados. Entre os compostos sintetizados o (**36**), um ácido âmico hidrolizado a partir de sua respectiva imida cíclica exibiu um amplo espectro de atividade antiviral contra os vírus da hepatite B ($CE_{50} = 0,8 \mu M$), herpes simples tipo 1 ($CE_{50} = 0,15 \mu M$) e o tipo 2 ($CE_{50} < 0,1 \mu M$), Epstein Bar ($CE_{50} = 9,0 \mu M$) e o citomegalovírus ($CE_{50} = 0,45 \mu M$). Este composto representa uma promissora classe de futuros fármacos antivirais (YEO et al., 2005).

**(35)****(36)**

Outro problema viral grave é a síndrome da imunodeficiência adquirida (SIDA), a qual tem se tornado a maior epidemia do mundo desde 1981, causada pelo vírus da imunodeficiência humana, o qual mata ou danifica as células do sistema imune. Uma série de análogos ftalimídicos tricíclicos foi planejada como novos inibidores da HIV-1 integrase, uma enzima essencial para a replicação viral.

Desta série o composto mais ativo foi o 7-(3,4-diclorobenzil)-5,9-dihidropirrol[3,4-g]quinoxalina-6,8-diona (**37**) com uma CI_{50} de 112 nM (VERSCHUEREN et al. 2005).

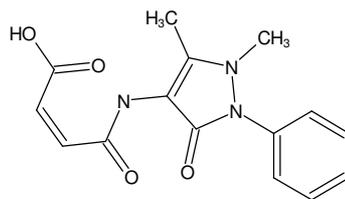


(**37**)

Com o crescimento do número de pacientes imunocomprometidos, a frequência das infecções causadas por fungos aumentou dramaticamente nas últimas décadas. Entre os problemas encontrados nos tratamentos de infecções fúngicas está o número limitado de fármacos antifúngicos eficazes, sendo que muitos deles possuem efeitos colaterais indesejáveis, ou são inefetivos contra fungos novos ou recorrentes. A resistência bacteriana também tem se tornado um grave problema global, tornando indispensável o investimento e a pesquisa no campo dos antinfeciosos (CUSHNIE; LAMB, 2005).

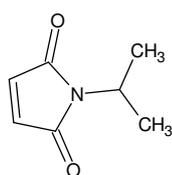
Uma análise preliminar dos efeitos antimicrobianos de algumas imidas cíclicas derivadas da 4-aminoantipirina demonstrou que a introdução do grupo pirazol às imidas não contribuiu para os efeitos antimicrobianos, já anteriormente relatados para as imidas cíclicas, pois apenas o composto N-antipirino-3,4-dicloromaleimida (**6**) apresentou atividade significativa contra *Candida albicans* (<200 µg/mL), sendo que todos os demais compostos não apresentaram atividade nas concentrações analisadas (CAMPOS-BUZZI, 2001). Entretanto, no decorrer deste trabalho pretende-se demonstrar que modificações estruturais neste composto podem acentuar o efeito antimicrobiano.

Recentemente, novos estudos avaliaram a atividade antibacteriana de derivados da 4-aminoantipirina, também apresentando resultados negativos quanto à inibição bacteriana sendo que entre os compostos testados apenas observou-se uma atividade modesta para um derivado do ácido maleâmico (**38**) (CUNHA et al., 2005).

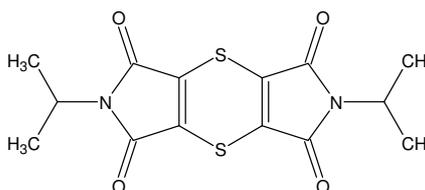


(38)

Zentz e colaboradores (2002) sintetizaram e avaliaram a atividade antibacteriana de maleimidas e succinimidas. Entre as maleimidas o composto mais ativo foi o substituído por um radical isopropila (39). Entre as succinimidas apenas as moléculas com uma subunidade éster apresentaram atividade antibacteriana moderada (ZENTZ et al., 2004). A partir destas succinimidas, ditiinas foram preparadas e avaliadas quanto as suas atividades antimicrobianas, e o composto também substituído por um radical isopropila (40) foi a que apresentou a menor concentração inibitória mínima contra alguns fungos e bactérias (ZENTZ et al., 2005).

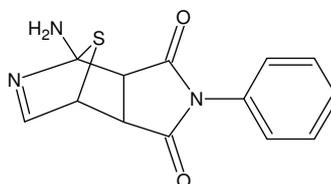


(39)



(40)

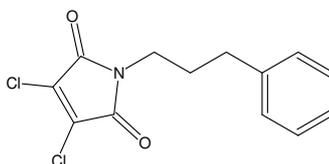
A avaliação antifúngica de algumas succinimidas contra dermatófitos de relevância clínica revelou o composto 7-tia-2-aza-biciclo[2,2,1]hept-2-en-3-amino[5,6-c]succinimida (41) como um bom inibidor do *Trichophyton rubrum*, o maior agente etiológico de todas as infecções produzidas por dermatófitos (LÓPEZ et al., 2003).



(41)

Continuando os estudos antifúngicos, foram avaliados 14 compostos de algumas séries de N-fenil-, N-aryl-, N-fenilalquil- e 3,4-dicloro-maleimidas. A atividade dos derivados N-fenilalquil-3,4-dicloromaleimidas, mas não dos derivados N-fenilalquilmaleimidas, mostrou-se dependente do tamanho da cadeia alquílica entre os dois anéis. O composto N-fenilpropil-3,4-dicloromaleimida (42) mostrou o mais

amplo espectro de ação e a menor concentração inibitória mínima (CIM) em todos os fungos filamentosos e leveduras testadas. Este composto inibiu as enzimas (1,3) β -D-glucana e quitina sintase, que catalisam a síntese de polímeros da parede celular fúngica (LÓPEZ et al., 2005).



(42)

Um estudo envolvendo 18 compostos imídicos, entre os quais, maleimidas, glutarimidas e succinimidas, demonstraram o efeito destas sobre mitocôndrias isoladas de fígado de rato, células de melanoma B16-F10, macrófagos peritoneais e diferentes linhagens de bactérias. Os resultados revelaram que algumas maleimidas causaram aumento no consumo de oxigênio na presença ou ausência de ADP, enquanto os outros promoveram redução neste parâmetro, com diferentes intensidades de efeito. Todos os compostos testados causaram decréscimo do coeficiente de controle respiratório (CCR) e os maleimidicos demonstraram atividade antibacteriana nas condições experimentais e concentrações utilizadas. Foi observado também, que a maioria dos compostos testados reduziu a viabilidade celular tanto de macrófagos peritoneais, como das células de melanoma murino (PRADO et al., 2004).

Considerando a grande variedade de efeitos biológicos aqui apresentados e a necessidade de novos fármacos para o tratamento das mais variadas doenças, as imidas cíclicas destacam-se como prováveis líderes para o desenvolvimento de fármacos novos e eficientes. Entretanto, é indispensável a continuação destes estudos para a determinação da eficácia, elucidação dos mecanismos de ação e do perfil toxicológico destes compostos.

2.3 CHALCONAS

Quimicamente, as chalconas, ou 1,3-difenil-2-propen-1-ona, podem ser definidas como cetonas α - β -insaturadas, onde se tem tanto a carbonila quanto a

porção olefínica conjugadas e ligadas a grupamentos aromáticos, comumente designados como anel A, proveniente da acetofenona e, anel B do aldeído. Estes compostos podem existir em duas isoformas (Z e E), das quais o isômero E é considerado termodinamicamente favorável (Figura 1) (DHAR, 1981).

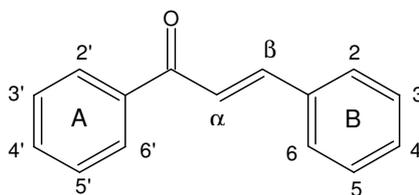
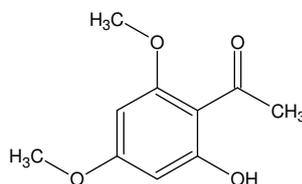


Figura 1. Anéis A e B na estrutura geral das chalconas.

Os Departamentos de Química e de Farmacologia da UFSC e o Núcleo de Investigações Químico-Farmacêuticas (NIQFAR) da UNIVALI, também possuem uma história de pesquisa e trabalhos publicados envolvendo a classe das chalconas. Os estudos tiveram início a partir do isolamento da xantoxilina (**43**) das partes aéreas da *Sebastiania schottiana* (Euphorbiaceae) (MIGUEL, 1987). Este composto apresentou atividade antiespasmódica, entretanto com uma potência relativamente baixa, e de forma não seletiva (CALIXTO et al., 1990). Outras atividades biológicas também foram aferidas a este composto, como antibacteriana (GODOY et al. 1991) e antifúngica (LIMA et al., 1994). A partir destes resultados, vários outros derivados foram preparados por modificações de algumas funções desta molécula, entre estas algumas chalconas, as quais apresentaram atividades biológicas interessantes (CECHINEL-FILHO, 1995, CECHINEL-FILHO et al, 1995; 1996). Outros resultados promissores serão demonstrados no decorrer deste trabalho.

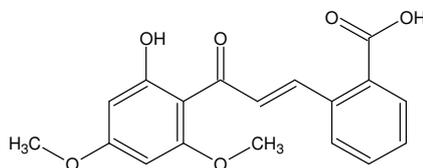


(43)

Em 1999, Dimmock e colaboradores publicaram uma revisão sobre a bioatividade de chalconas enfatizando suas atividades biológicas como, citotóxica, anti-câncer, quimiopreventiva, antimicrobiana, antiviral, antiprotozoária, inseticida, anti-inflamatória, anti-histamínica e anti-ulcerogênica.

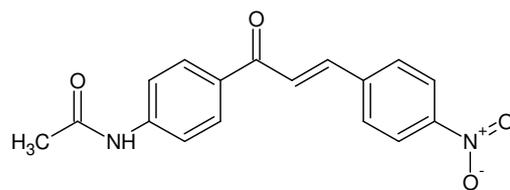
Devido ao grande interesse nesta classe de compostos, recentemente foi publicada por Ni e colaboradores (2004), uma revisão sobre os avanços na terapêutica de chalconas com o objetivo de sumarizar o desenvolvimento das pesquisas com estes compostos biologicamente ativos publicadas desde o ano de 1999, incluindo algumas moléculas já patenteadas. Muito já se tem avançado nos estudos com esta classe de compostos, e entre os estudos mais recentes, Nowakowska (2007) publicou uma nova revisão com ênfase nas atividades antimicrobianas (antibacteriana e antifúngica), bem como anti-leishmania, antimalárica, antiviral e antiinflamatória das chalconas.

Uma vez que a dor continua sendo um dos grandes flagelos da humanidade é crescente o interesse em substâncias analgésicas. A avaliação do efeito antinociceptivo de chalconas sintéticas derivadas da xantoxilina (**43**) demonstrou que alguns compostos foram mais efetivos que ácido acetil salicílico (AAS) e paracetamol (PAR), fármacos utilizados clinicamente avaliados no mesmo modelo. Entre eles o composto **44** foi o mais ativo, com um valor de DI_{50} de 8,7 (6,3 – 11,9) $\mu\text{mol/kg}$ e uma inibição máxima de 92%, demonstrando atividade cerca de 15 vezes superior aos fármacos de referência (CAMPOS-BUZZI et al., 2006).



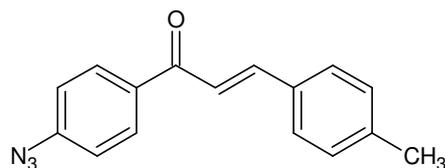
(44)

Recentemente, nove acetamidochalconas incluídas neste trabalho, foram avaliadas como agentes antinociceptivos, através do modelo de contorções abdominais induzidas pelo ácido acético 0,6%. Todos os compostos foram mais efetivos que os fármacos utilizados como referência (ácido acetil salicílico e paracetamol), sendo que o composto N-{4-[(2E)-3-(4-nitrofenil)prop-3-enil]fenil}acetamido (**45**) apresentou inibição cerca de 32 a 34 vezes superior a estes. Este composto foi avaliado em maiores detalhes em outros modelos de nocicepção, como a formalina, capsaicina, glutamato e placa quente. O mecanismo de ação ainda não foi determinado, mas sabe-se que não envolve o sistema opióide e, provavelmente envolve interações com o sistema vanilóide e/ou os mediadores do processo inflamatório induzido pela formalina (CAMPOS-BUZZI et al., 2007).



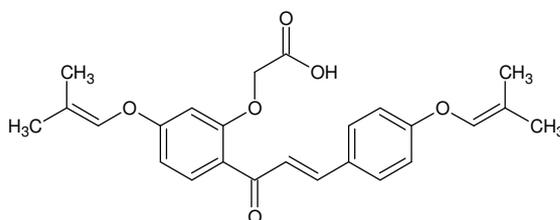
(45)

A utilização de fármacos tradicionais analgésicos e antiinflamatórios não esteroidais está em geral acompanhado de efeitos adversos gástricos. Estes efeitos são observados devido à inibição da ciclooxigenase-1 (COX-1), uma vez que esta enzima é responsável pela produção de prostaglandinas que possuem propriedades citoprotetoras. Algumas chalconas com grupos metilsulfonamido (SO₂Me) ou azido (N₃) na posição *para* do anel A têm sido pesquisadas como inibidores seletivos da ciclooxigenase, sendo o substituinte no anel B o responsável pela seletividade COX-1/-2. Na série avaliada o composto **46** apresentou uma boa potência e seletividade na atividade inibitória da COX-2 (ZARGHI et al., 2006).



(46)

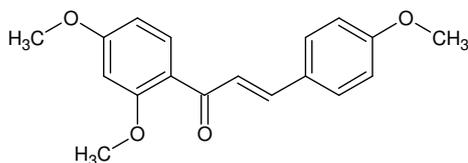
Entre os efeitos adversos destacados acima, pode-se citar a gastrite, que é uma doença inflamatória que se caracteriza por acometimento da camada de tecido mais superficial que reveste o estômago, chamada de mucosa gástrica. A Sofalcona (**47**) tem sido reportada por suas propriedades citoprotetoras para o tratamento da gastrite e ulcera péptica. No Japão este fármaco é comercializado pelo nome de Solon® (ISOMOTO et al., 2005, SWEETMAN, 2007).



(47)

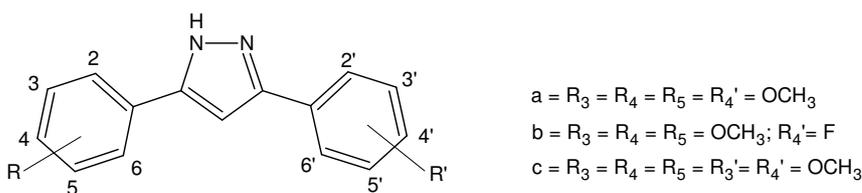
Outro medicamento comercial da classe das chalconas utilizado para problemas de ordem digestiva é a metochalcona (**48**), quimicamente denominada de 2',4,4'-trimetoxichalcona. Este fármaco é distribuído na Itália e na Espanha pelos

nomes comerciais de Megalip® e Neocolan® como colerético, cuja função é estimular a secreção de bile pelos hepatócitos (SWEETMAN, 2007).



(48)

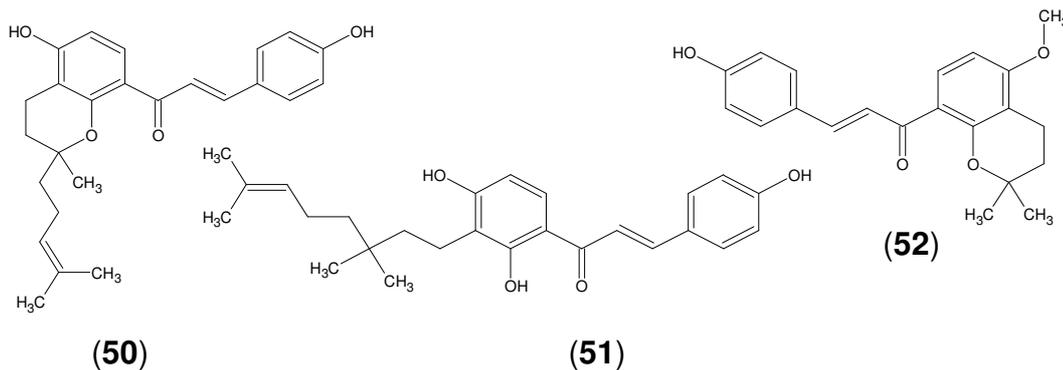
Um problema de saúde que tem causado um grande temor no mundo todo, por ter se tornado um estigma de mortalidade e também de dor é o câncer, cuja busca por novos fármacos tem se tornado incessante. As chalconas novamente se inserem neste contexto, uma vez que uma nova classe de pirazóis, preparados a partir de chalconas, tais como 3,5-difenil,1H-pirazóis substituídos (49 a - c) mostraram potencial atividade citotóxica. Neste estudo observou-se que o tamanho do substituínte, a rigidez e a solubilidade da molécula e, finalmente a conformação do anel A e B, parece ser decisivo sobre a citotoxicidade (BHAT et al., 2005).



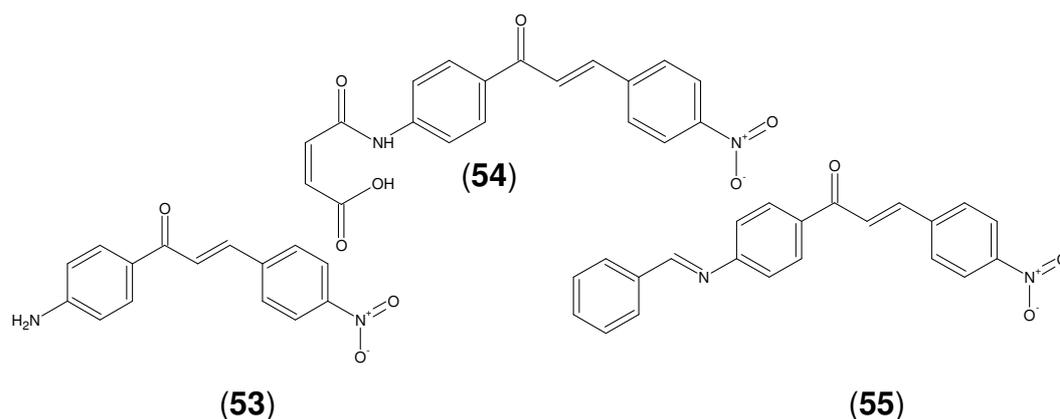
- a = R₃ = R₄ = R₅ = R₄' = OCH₃
 b = R₃ = R₄ = R₅ = OCH₃; R₄' = F
 c = R₃ = R₄ = R₅ = R₃' = R₄' = OCH₃

(49 a - c)

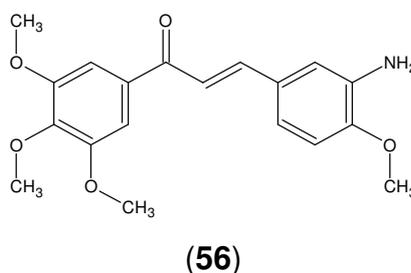
As chalconas de origem natural também têm contribuído significativamente nesta busca a novos fármacos potencialmente ativos para o câncer. Três novas chalconas foram isoladas de uma fração acetato de etila da *Angelica keskei*, uma planta da medicina tradicional Japonesa, sendo identificadas como xantoangelol I (50), xantoangelol J (51) e deoxidihidroxoangelol (52). Outros nove compostos aromáticos de estruturas já conhecidas também foram isolados desta mesma fração, sendo três destes também da classe chalcona. Entre as novas chalconas, os compostos 50 e 51 exibiram atividade antitumoral potente avaliada através do efeito inibitório contra a ativação do antígeno primário do vírus Epstein-Barr (EBV-EA) induzido por 12-O-tetradecanoilforbol-13-acetato (TPA) em células do tipo Raji (AKIHISA et al., 2006).



Uma vez que a citotoxicidade está diretamente relacionada à quimioterapia, cabe ressaltar um estudo realizado por Dimmock (2003) com chalconas similares as propostas neste estudo, contendo os grupos 4-amino (53), 4-maleamoilamino (54) e 4-arylmetilenoamino (55), as quais demonstraram citotoxicidade seletiva para diferentes células neoplásicas, evidenciando-se como importantes agentes citotóxicos.

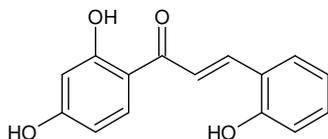


Em um estudo mais recente também em relação à atividade citotóxica de amino e nitrochalconas, o composto 56 apresentou a maior potência com um valor de IC_{50} de 0,24 μ M. Foi também demonstrado que as aminochalconas foram geralmente mais ativas que as correspondentes nitrochalconas (PATI et al., 2005).

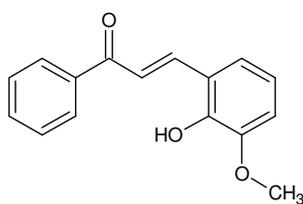


Outro problema mundial, é hoje a síndrome da imunodeficiência humana (SIDA). Recentemente algumas chalconas foram reportadas como uma nova classe de inibidores da enzima HIV-1 integrase (DENG et al., 2006). Utilizando duas chalconas líderes (57) e (58), Deng e colaboradores (2007), procuraram identificar

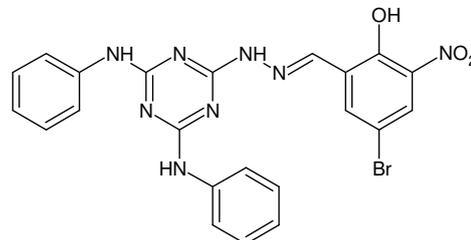
um grupamento farmacofórico em comum a esta classe de compostos. Este modelo farmacofórico foi aplicado com sucesso identificando o composto **59** o qual exibiu uma potência superior às chalconas protótipos.



(57)

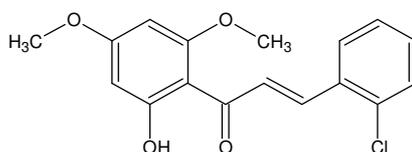


(58)



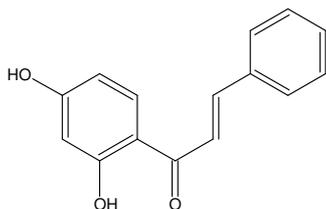
(59)

Devido ao aumento na sobrevida de pessoas com sistema imunológico debilitado, as infecções oportunistas têm crescido muito nos últimos anos. Entre uma série de chalconas e análogos baseados no produto natural xantoxilina (**43**), a chalcona **60**, com um cloro na posição orto do anel B, mostrou a mais baixa concentração inibitória mínima contra *Trichophyton rubrum* (MIC = 12,5 µg/mL), com um mecanismo provável de ação através da inibição da síntese da parede celular do fungo (BOECK et al., 2005).

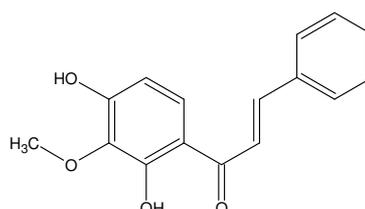


(60)

Compostos antifúngicos são muito importantes tanto no combate as infecções humanas, quanto na contaminação de plantações, como na soja (*Glycine max* L. Merr.) por exemplo uma planta de grande valor nutritivo. O fungo *Colletotrichum truncatum*, causador da antracnose é um dos patógenos mais comuns da soja, e foi inibido pelo extrato metanólico de *Zuccagnia punctata*, do qual se isolaram duas chalconas (**61** e **62**), que mostraram uma forte atividade inibitória com uma concentração inibitória mínima de 6,25 µg/mL (SVETAZ et al., 2004).

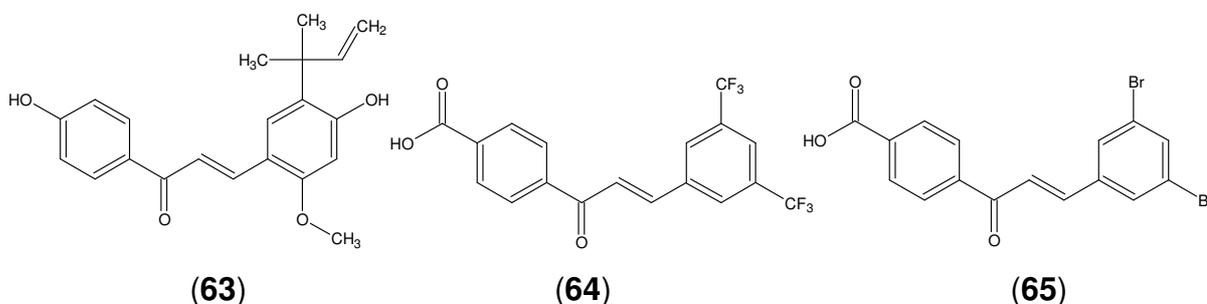


(61)

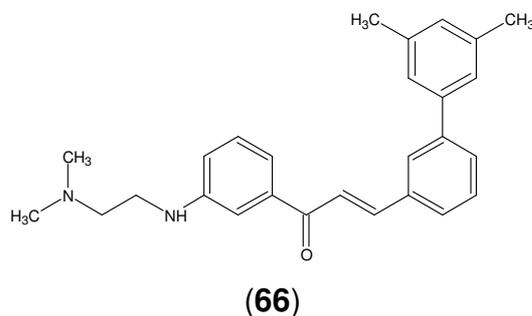


(62)

O aumento na morbidade e na mortalidade das doenças infecciosas e mesmo de outros tipos de patologias que evoluem com um quadro infeccioso ocorrem em grande parte devido a resistência bacteriana (CUSHNIE; LAMB, 2005). Algumas hidroxi-chalconas, como por exemplo a Lincochalcona A (**63**), possuem propriedades antibacterianas reconhecidas. Em um estudo substituindo o grupo 4-hidroxi, já reconhecidamente essencial para a atividade microbiológica, pelo bioisómero 4-carboxi, obteve-se um composto mais ativo e também mais hidrossolúvel, embora com um mecanismo de ação diferente, sendo apenas bacteriostático e, dessa forma, menos tóxico. Após otimização deste derivado e análise de relação estrutura-atividade, obteve-se os compostos **64** e **65**, com as melhores atividades *in vitro* (CIM = 2 μ M) (NIELSEN et al., 2004).

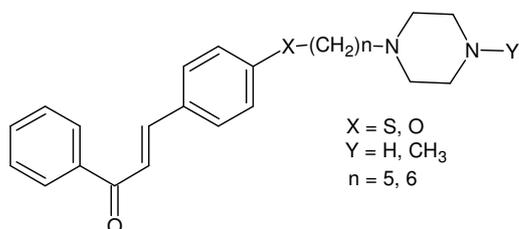


A introdução de grupos amino alifáticos catiônicos em chalconas resultou em uma nova classe de compostos antibacterianos potentes. Entre estes se destaca o composto **66**, que apresentou uma CIM de 2 μ M contra *Staphylococcus aureus* resistentes a meticilina. Seu mecanismo de ação parece estar envolvido com alterações na estrutura da membrana celular (NIELSEN et al., 2005).



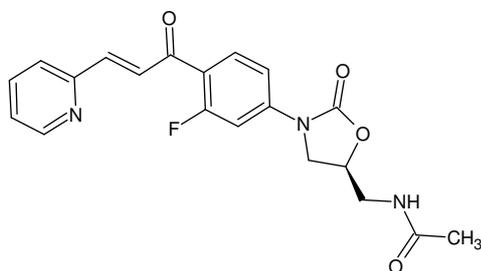
Recentemente foi relatada uma série de chalconas substituídas com atividade antibacteriana contra *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis* e *Bacillus subtilis*. Embora a melhor atividade fosse esperada para os compostos mais lipofílicos, as substâncias mais ativas foram aquelas contendo os grupos piperidino ou 4-metilpiperidino (substituintes hidrofílicos) (**67**). Provavelmente, devido ao fato

de estes compostos serem mais básicos que outros substituintes analisados e conseqüentemente apresentarem o maior grau de protonação neste ensaio. A distância de 5 a 6 carbonos entre o anel B da chalcona e o grupo amino cíclico também demonstrou ser o grupo espaçador ideal para a atividade antibacteriana destes compostos (NOWAKOWSKA; SEDZIA; SCHROEDER, 2007).

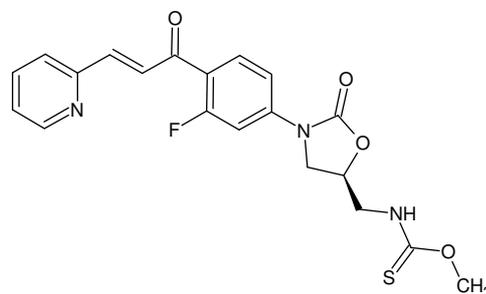


(67)

Uma série de moléculas híbridas chalcona-oxazolidinonas foi preparada e testada “*in vitro*” contra uma variedade de bactérias gram-positivas (*Stafilococcus* e *Enterococcus*). Embora os compostos híbridos tenham sido inativos, a introdução de heterociclos na porção chalcônica resultou na molécula líder **68**, com moderada atividade. Esta foi transformada no composto potente **69** através da substituição do grupo acetamido pelo grupo análogo tiocarbamato (SELVAKUMAR et al., 2007).

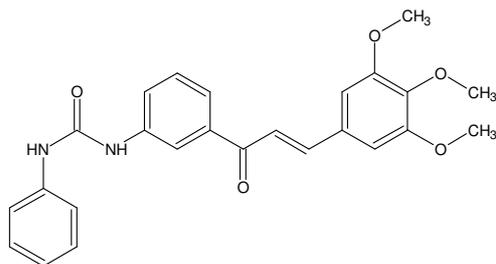


(68)

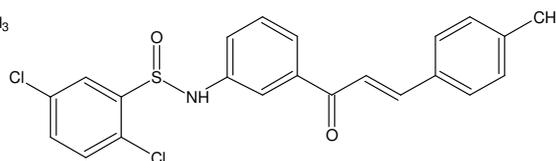


(69)

Além de atividades antimicrobianas, as chalconas também possuem atividades antiparasitárias. A malária continua sendo um grave problema de saúde pública, na região Amazônica, no Brasil, como também em outras regiões tropicais, devido à alta incidência e aos efeitos debilitantes para as pessoas acometidas por essa doença. Domínguez e colaboradores (2005; 2005a) tem pesquisado derivados de chalconas no desenvolvimento de novos fármacos antimaláricos, entre estes um derivado feniluréia (**70**) e um da sulfonamida (**71**). Ambos os estudos sugerem que estes compostos exercem um efeito antimalárico pronunciado via múltiplos mecanismos.

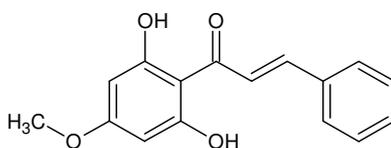


(70)



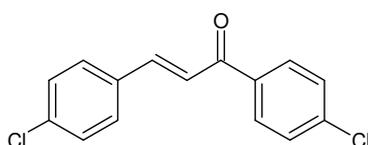
(71)

A leishmaniose é outro problema importante de saúde pública, especialmente da América Latina, África e Ásia, e as chalconas aparecem como uma classe de compostos antileishmania promissora. Um dos primeiros compostos relatados desta classe foi a Lincochalcona A (**63**) estrutura já relatada por seu potencial antiinflamatório. Na última década o composto 2',6'-dihidroxi-4'-metoxichalcona (**72**) foi isolado do extrato das inflorescências da planta *Piper aduncum* (piperaceae) e demonstrou ser o componente responsável pela atividade antileishmania. Utilizando este composto como protótipo, uma série de novas chalconas foi avaliada exibindo efeitos promissores tanto para as formas promastigota quanto amastigota do parasita (BOECK et al., 2006).



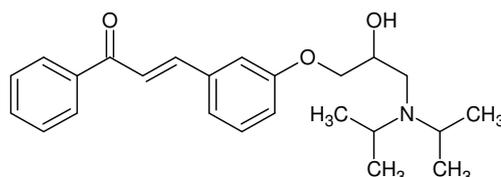
(72)

Segundo o ministério da saúde, o principal grupo de causas de morte no Brasil, em 2006 em todas as regiões e para ambos os sexos, foram as doenças do aparelho circulatório. Entre elas pode-se destacar a doença arterial coronariana, que está diretamente ligada a aterosclerose. Entre os principais fatores de risco associados pode-se destacar a dislipidemia (BRASIL, 2006). Com o objetivo de avaliar a atividade hipolipidêmica dezoenove chalconas e análogos foram avaliadas. O composto 4',4'-diclorochalcona (**73**) demonstrou excelente diminuição no colesterol sérico total e triglicerídeos no ensaio agudo (Triton WR1339) e significativa atividade anti-lipidêmica no ensaio crônico (dieta hipercalórica) (SANTOS et al., 2006).



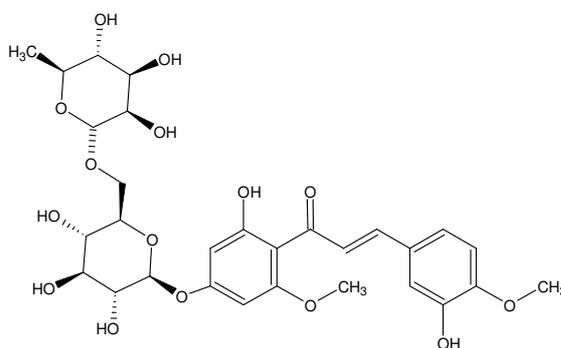
(73)

Outra doença frequentemente associada com a dislipidemia, obesidade e hipertensão levando a riscos cardiovasculares é a diabetes tipo II (não insulino-dependente). Uma série de chalconas foi sintetizada e avaliada quanto a atividade antihiperlipidêmica em ratos. O composto mais potente **74** apresentou atividade comparável a metformina (Glifage®) e glibenclamida (Daonil®), dois fármacos utilizados na terapêutica (SHUKLA et al., 2007)



(74)

Atualmente, já existe no mercado a Hesperidin metil chalcona (**75**), a qual é comercializada em vários países por diferentes nomes comerciais como Cyclo Fort 3®, Venart®, Diroseal® entre outros, em combinações com diferentes ingredientes ativos. Em geral a principal indicação destes medicamentos é para distúrbios circulatórios (SWEETMAN, 2007).



(75)

Como pode ser observado, as chalconas têm demonstrado atividades biológicas promissoras e perfil de segurança em muitos ensaios biológicos sendo considerados compostos em potencial para a descoberta de novos protótipos de fármacos (NI; MENG; SIKORSKI, 2004). Desta forma, o interesse na continuação dos estudos com relação à atividade das chalconas, tanto no meio acadêmico, quanto na indústria, é fundamental para definir os mecanismos de ação envolvidos nas respectivas atividades, proporcionando a obtenção de um futuro fármaco.

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

- ✓ Realizar modificações estruturais em um composto já selecionado como protótipo, a *N*-antipirino-3,4-dicloromaleimida. E, sintetizar novas séries de imidas cíclicas, de chalconas bem como de compostos híbridos imido-chalconas de interesse biológico.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- ✓ Sintetizar imidas cíclicas a partir do anidrido fenilsuccínico e aminas aromáticas;
- ✓ Realizar modificações estruturais em um composto já selecionado como protótipo, a *N*-antipirino-3,4-dicloromaleimida, enfocando a relação estrutura-atividade e selecionar os derivados mais ativos;
- ✓ Sintetizar amino- e amido-chalconas a partir da 4-aminoacetofenona e diferentes benzaldeídos;
- ✓ Sintetizar nitro-chalconas a partir do 4-nitrobenzaldeído e diferentes acetofenonas;
- ✓ Sintetizar compostos híbridos imido-chalconas;
- ✓ Analisar os resultados dos compostos sintetizados em modelos farmacológicos de dor, em camundongos, e em métodos microbiológicos (antibacteriano, antifúngico, toxicológico);
- ✓ Avaliar a absorção e a permeabilidade dos compostos sintetizados de acordo com os parâmetros estipulados na regra dos 5 de Lipinski.
- ✓ Comparar a atividade dos compostos em estudo com a atividade de fármacos disponíveis no mercado farmacêutico.

4 PARTE EXPERIMENTAL

4.1 SÍNTESES

4.1.1 Caracterização estrutural

Utilizou-se cromatografia em camada delgada (CCD) para a análise da pureza dos compostos sintetizados, os quais foram também caracterizados através do ponto de fusão, técnicas espectroscópicas de infravermelho, ressonância magnética nuclear de hidrogênio (RMN ^1H) e de carbono-13 (RMN ^{13}C), conforme necessário para a determinação estrutural dos mesmos.

Para CCD utilizaram-se placas cromatográficas de sílica gel PF₂₅₄ em folhas de alumínio Sigma, utilizando o sistema de solventes clorofórmio/metanol (90:10) e hexano/acetato de etila (90:10; 80:20, 70:30 e 50:50). Os solventes utilizados foram adquiridos comercialmente da Aldrich e Merck. As manchas foram visualizadas através de luz UV de ondas curtas.

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

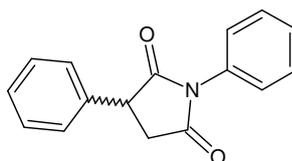
Os espectros de infravermelho foram obtidos em espectrofotômetro Bomem 100 (NIQFAR/UNIVALI), com as substâncias incorporadas em pastilhas de KBr, sendo que as absorções foram registradas em escala de centímetro recíproco (cm^{-1}).

Os espectros de RMN de ^1H e de ^{13}C foram obtidos em espectrômetro Bruker 400 MHz (Departamento de Química/UFSC) ou em espectrômetro Bruker 300 MHz (Curso de Farmácia/UNIVALI) usando como solvente CDCl_3-d_1 ; $\text{DMSO}-d_6$ ou Acetona- d_6 adquiridos comercialmente da Aldrich. Os deslocamentos químicos foram expressos em valores adimensionais (ppm) em relação a um padrão interno de tetrametilsilano (TMS). A visualização foi realizada no programa ACDSpec Manager 10.08 (licença nº: 41159).

4.1.2 Síntese de *N*-aril-3-fenilsuccinimidas:

Os compostos succinimídicos foram obtidos através da reação equimolar do anidrido 3-fenilsuccinico, com as aminas: anilina, 4-anisidina, 4-toluidina, 4-cloroanilina e 3,4-dicloroanilina utilizando ácido acético como agente desidratante sob refluxo para a obtenção das respectivas imidas cíclicas, conforme anteriormente descrito (NUNES, 1986; CECHINEL-FILHO, 1995; CORRÊA, 1997; CAMPOS-BUZZI; CORRÊA; CECHINEL-FILHO, 2003). Todas as reações foram monitoradas por cromatografia de camada delgada (CCD) utilizando como eluente hexano:acetato de etila (70:30).

1,3-difenilpirrolidina-2,5-diona (76)



Utilizou-se anidrido 3-fenilsuccinico (0,2 g/ 1,1 mmol) e anilina (0,10 mL/ 1,1 mmol) em ácido acético glacial (30 mL). A mistura foi aquecida sob refluxo suave por 2 horas. Após, a mistura foi vertida sobre água e gelo (100 mL). O precipitado formado foi filtrado, lavado com água e recristalizado em ciclohexano para obtenção do produto puro, de coloração branca. Rendimento: 40,4 %; R_f : 0,59; p.f.: 141,6 – 142,4⁰C (LUCKA-SOBSTEL; ZEJC; OBNISKA, 1977), p.f.= 140,0 - 142,0 ⁰C).

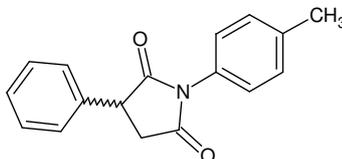
Fórmula molecular: C₁₆H₁₃NO₂ (251,28 g/mol).

IV (Pastilha de KBr, cm⁻¹): 1706 (ν -C=O, imida).

RMN ¹H (CDCl₃, ppm): 2,99 (dd, 1H_A); 3,37 (dd, 1H_B); 4,18 (dd, 1H_X); 7,25 – 7,51 (m, 10H, Ar).

RMN ¹³C (CDCl₃, ppm): 37,3 (CH₂); 45,9 (CH); 126,5 – 137,2 (12 C, Ar); 175,1 (C=O); 176,7 (C=O).

1-(4-metilfenil)-3-fenilpirrolidina-2,5-diona (77)



Metodologia similar à descrita para o composto **76**, porém utilizou-se 0,12 g (1,1 mmol) de p-toluidina. O precipitado formado apresentou coloração branca, e foi recristalizado em ciclohexano apresentando um aspecto de algodão. Duração: 3 h; rendimento: 56,0 %; R_f : 0,62; p.f.: 141,5 – 142,0 °C.

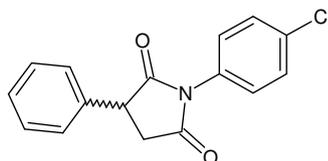
Fórmula molecular: $C_{17}H_{15}NO_2$ (265,31 g/mol).

IV (Pastilha de KBr, cm^{-1}): 1709 (ν -C=O, imida).

RMN 1H ($CDCl_3$, ppm): 2,38 (s, 3 H, CH_3); 2,98 (dd, 1 H_A); 3,35 (dd, 1 H_B); 4,17 (dd, 1 H_X); 7,18 – 7,42 (m, 9H, Ar).

RMN ^{13}C ($CDCl_3$, ppm): 21,2 (CH_3); 37,3 (CH_2); 45,9 (CH); 126,2 – 138,8 (12 C, Ar); 175,3 (C=O); 176,7 (C=O).

1-(4-clorofenil)-3-fenilpirrolidina-2,5-diona (**78**)



Metodologia similar à descrita para o composto **76**, porém utilizou-se 0,11 g (1,1 mmol) de p-cloroanilina. O precipitado formado apresentou coloração amarelo claro e foi recristalizado em ciclohexano apresentando um aspecto translúcido. Duração: 3:30 h; rendimento: 35,0 %; R_f : 0,63; p.f.: 173,0 – 174,9 °C (LUCKA-SOBSTEL; ZEJC; OBNISKA, 1977), p.f.= 175,0 - 177,0 °C).

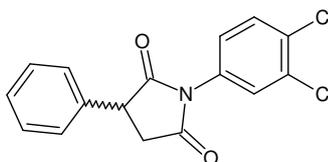
Fórmula molecular: $C_{16}H_{12}ClNO_2$ (285,72 g/mol).

IV (Pastilha de KBr, cm^{-1}): 1710 (ν -C=O, imida).

RMN 1H ($CDCl_3$, ppm): 3,01 (dd, 1 H_A); 3,38 (dd, 1 H_B); 4,19 (dd, 1 H_X); 7,26 – 7,47 (m, 9H, Ar).

RMN ^{13}C ($CDCl_3$, ppm): 37,1 (CH_2); 45,9 (CH); 127,3 – 136,8 (12 C, Ar); 174,8 (C=O); 176,4 (C=O).

1-(3,4-diclorofenil)-3-fenilpirrolidina-2,5-diona (**79**)



Metodologia similar à descrita para o composto **76**, porém utilizou-se 0,18 g (1,1 mmol) de 3,4-dicloroanilina. O precipitado formado apresentou coloração branca e

foi purificado por cromatografia de coluna (CC) utilizando o sistema de eluentes hexano:acetato de etila (80:20). Duração: 4 h; rendimento: 30 %; R_f : 0,66; p.f.: 149,6 – 151,2 °C.

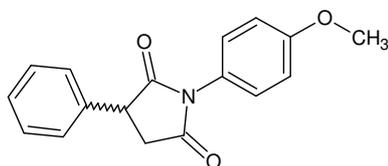
Fórmula molecular: $C_{16}H_{11}Cl_2NO_2$ (370,17 g/mol).

IV (Pastilha de KBr, cm^{-1}): 1690 (ν -C=O, imida).

RMN 1H ($CDCl_3$, ppm): 2,82 (dd, 1H_A); 3,36 (dd, 1H_B); 4,21 (dd, 1H_X); 7,04 – 8,03 (m, 8H, Ar).

RMN ^{13}C ($CDCl_3$, ppm): 37,5 (CH_2); 62,7 (CH); 122,5 – 134,8 (12 C, Ar); 160,8 (C=O); 168,4 (C=O).

1-(4-metoxifenil)-3-fenilpirrolidina-2,5-diona (80)



Metodologia similar à descrita para o composto **76**, porém utilizou-se 0,13 g de p-anisidina. O precipitado formado apresentou coloração lilás. Duração: 6 h; rendimento: 60,3 %; R_f : 0,47; p.f.: 172,3 – 172,9 °C.

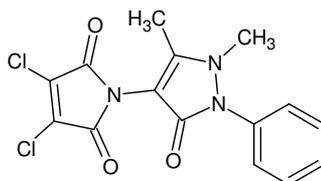
Fórmula molecular: $C_{17}H_{15}NO_3$ (281,3 g/mol).

IV (Pastilha de KBr, cm^{-1}): 1707 (ν -C=O, imida).

RMN 1H ($CDCl_3$, ppm): 2,98 (dd, 1H_A); 3,36 (dd, 1H_B); 3,82 (s, 3 H, CH_3); 4,18 (dd, 1H_X); 6,97 – 7,42 (m, 9H, Ar).

RMN ^{13}C ($CDCl_3$, ppm): 37,2 (CH_2); 45,9 (CH); 55,5 (OCH_3); 114,5 – 159,5 (12 C, Ar); 175,4 (C=O); 176,9 (C=O).

4.1.3 Síntese do protótipo: N-antipirino-3,4-dicloromaleimida (6)



A N-antipirino- 3,4-dicloromaleimida foi resintetizada de acordo com a metodologia já estabelecida por Campos-Buzzi (2001) com o intuito de se obter quantidade suficiente para a obtenção dos derivados. Utilizou-se anidrido 3,4-dicloromaleico (8,0 g/ 48 mmol) e 4-aminoantipirina (9,7 g/ 48 mmol) em ácido

acético glacial (90 mL). A mistura foi aquecida sob refluxo suave por 3 horas. Após, a mistura foi vertida sobre água e gelo (200 mL). O precipitado formado foi filtrado, lavado com água e recristalizado em diclorometano: hexano (90:10) para obtenção do produto puro, de coloração amarela. Rendimento: 88%, R_f : 0,73; p.f.: 208,2 - 209,2 °C.

Fórmula molecular: $C_{15}H_{11}N_3O_3Cl_2$ (352,15 g/mol).

IV (Pastilha de KBr, cm^{-1}): 1796; 1742 (ν -C=O, imida), 1642 (ν -C=O, antipirina).

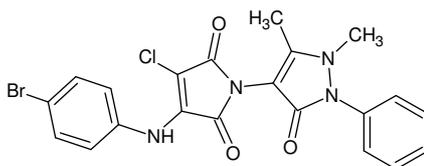
RMN 1H ($CDCl_3$, ppm): 2,18 (s, 3H, CH_3); 3,21 (s, 3H, N- CH_3); 7,34 – 7,50 (m, 5H, Ar).

RMN ^{13}C ($CDCl_3$, ppm): 10,8 (CH_3); 35,2 (N-Me); 100,1 (=C-N); 125,1 - 134,2 (5 C, Ar); 127,7 (2 =C-Cl); 152,6 (=C-Me); 160,4 (2 C=O, imida); 161,8 (C=O, pirazolona).

4.1.4 Síntese dos derivados da *N*-antipirino-3,4-dicloromaleimida

No composto *N*-antipirino-3,4-dicloromaleimida foi feita à substituição dos átomos de cloro do anel imídico, por diferentes nucleófilos como: aminas aromáticas, cíclicas e acíclicas. Todas as reações foram monitoradas por CCD utilizando como eluente clorofórmio:metanol (90:10).

N-antipirino-3-cloro-4-(4-bromoanilino)maleimida (81)



A reação foi feita na proporção 1:2, **6** (0,2 g/ 0,57 mmol) e 4-bromoanilina (0,19 g/1,1 mmol). O composto **6** foi dissolvido em etanol (15 mL) sob agitação constante à temperatura ambiente. A 4-bromoanilina, também dissolvida no mesmo solvente, foi adicionada lentamente à solução. Filtrou-se o precipitado formado, de coloração amarela. Duração: 5:30 h; rendimento: 70%; R_f : 0,43; p.f.: 243,8 - 245,2 °C.

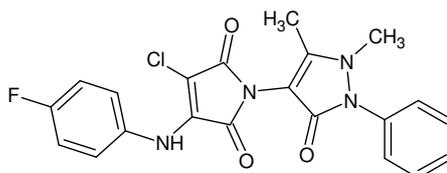
Fórmula molecular: $C_{21}H_{16}BrClN_4O_3$ (487,73 g/mol).

IV (Pastilha de KBr, cm^{-1}): 1781; 1726 (ν -C=O, imida); 1652 (ν -C=O, antipirina); 3615 (ν - NH-).

RMN ^1H (CDCl_3 , ppm): 2,18 (s, 3H, CH_3); 3,20 (s, 3H, N- CH_3); 6,97 – 7,49 (m, 9H, Ar); 8,47 (s, 1H, NH).

RMN ^{13}C (CDCl_3 , ppm): 10,9 (CH_3); 35,1 (N- CH_3); 95,3 ($=\text{C-N}$); 100,7 ($=\text{C-Cl}$); 118,7 (C-Br, Ar); 125,2 – 152,4 (11 C, Ar); 135,2 ($=\text{C-N}$); 137,4 ($=\text{C-Me}$); 160,7 (C=O, imida); 164,7 (C=O, imida); 166,1 (C=O, pirazolona).

N-antipirino-3-cloro-4-(4-fluoroanilino)maleimida (82)



A metodologia foi similar à descrita para o composto **81**, porém utilizou-se 0,11 mL (1,1 mmol) de 4-fluoroanilina. O precipitado formado apresentou coloração amarela. Duração: 6 h; rendimento: 80 %; R_f : 0,40; p.f.: 263,8 - 265,0 $^{\circ}\text{C}$.

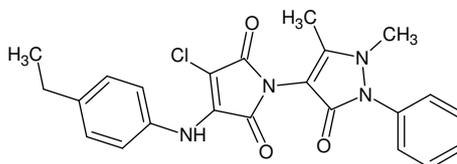
Fórmula molecular: $\text{C}_{21}\text{H}_{16}\text{FCIN}_4\text{O}_3$ (426,82 g/mol).

IV (Pastilha de KBr, cm^{-1}): 1783; 1725 (v -C=O, imida); 1658 (v -C=O, antipirina); 3619 (v- NH-).

RMN ^1H (CDCl_3 , ppm): 2,20 (s, 3H, CH_3); 3,21 (s, 3H, N- CH_3); 6,99 – 7,46 (m, 9H, Ar); 7,77 (s, 1H, NH).

RMN ^{13}C (CDCl_3 , ppm): 11,0 (CH_3); 35,3 (N- CH_3); 94,3 ($=\text{C-N}$); 101,1 ($=\text{C-Cl}$); 115,3 e 115,7 (CH, Ar-F); 125,9 e 126,0 (CH, Ar-F); 125,2 - 134,0 (6 C, Ar); 131,7 ($=\text{C-N}$); 137,7 ($=\text{C-Me}$); 152,6 (C-NH, Ar); 158,4 e 163,5 (C-F, Ar); 160,8 (C=O, imida); 164,8 (C=O, imida); 166,1 (C=O, pirazolona).

N-antipirino-3-cloro-4-(4-etilanilino)maleimida (83)



A metodologia foi similar à descrita para o composto **81**, porém utilizou-se 0,14 mL (1,1 mmol) de 4-etilanilina. O precipitado formado apresentou coloração amarela. Duração: 7 h; rendimento: 65 %, R_f : 0,43; p.f.: 226,8-229,1 $^{\circ}\text{C}$.

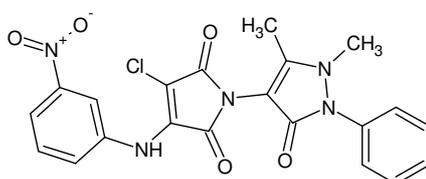
Fórmula molecular: $\text{C}_{23}\text{H}_{21}\text{ClN}_4\text{O}_3$ (436,89 g/mol).

IV (Pastilha de KBr, cm^{-1}): 1750; 1727 (v -C=O, imida), 1659 (v -C=O, antipirina); 3176 (v- NH-).

RMN ^1H (CDCl_3 , ppm): 1,17 (t, 3H, CH_3), 2,15 (s, 3H, CH_3), 2,58 (q, 2H, CH_2); 3,16 (s, 3H, N- CH_3), 7,0 – 7,40 (m, 9H, Ar); 8,80 (s, 1H, NH).

RMN ^{13}C (CDCl_3 , ppm): 11,0 (CH_3); 15,7 (CH_3 -Et); 28,6 (CH_2); 35,3 (N- CH_3); 94,0 (=C-N); 101,1 (=C-Cl); 114,6 (=C-NH); 124,2 - 142,7 (11 C, Ar); 137,8 (=C-Me); 152,54 (C-Et, Ar), 160,6 (C=O, imida); 165,3 (C=O, imida); 166,6 (C=O, pirazolona).

N-antipirino-3-cloro-4-(3-nitroanilinomaleimida) (84)



A metodologia foi similar à descrita para o composto **81**, porém utilizou-se 0,15 g (1,1 mmol) de 3-nitroanilina. O precipitado formado apresentou coloração amarela. Duração: 10 h; rendimento: 60 %, R_f : 0,26; p.f.: 118,2 - 120,0 °C.

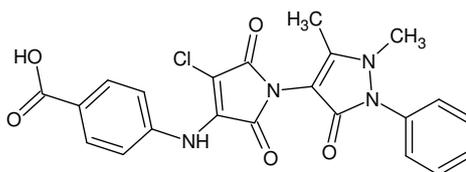
Fórmula molecular: $\text{C}_{21}\text{H}_{16}\text{ClN}_5\text{O}_5$ (453,83 g/mol).

IV (Pastilha de KBr, cm^{-1}): 1750; 1727 (v -C=O, imida), 1663 (v -C=O, antipirina); 3290 (v- NH-).

RMN ^1H (CDCl_3 , ppm): 2,26 (s, 3H, CH_3); 3,23 (s, 3H, N- CH_3); 7,36 – 8,04 (m, 9H, Ar); 10,32 (s, 1H, NH).

RMN ^{13}C (CDCl_3 , ppm): 10,2 (CH_3); 35,1 (N- CH_3); 95,9 (=C-N); 98,9 (=C-Cl); 117,6 - 138,1 (11 CH, Ar); 138,2 (=C-Me); 147,5 (=C-N); 154,2 (C- NO_2 , Ar); 160,6 (C=O, imida); 164,5 (C=O, imida); 166,7 (C=O, pirazolona).

N-antipirino-3-cloro-4-(4-carboxianilinomaleimida) (85)



A metodologia foi similar à descrita para o composto **81**, porém utilizou-se 0,16 g (1,1 mmol) de ácido 4-aminobenzóico. O precipitado formado apresentou coloração amarela. Duração: 7:30 h; rendimento: 60 %; R_f : 0,13; p.f.: 222,7 - 224,1 °C.

Fórmula molecular: $\text{C}_{22}\text{H}_{17}\text{ClN}_4\text{O}_5$ (452,84 g/mol).

IV (Pastilha de KBr, cm^{-1}): 1750; 1728 (ν -C=O, imida), 1653 (ν -C=O, antipirina); 3316 (ν - NH-).

RMN ^1H (CDCl_3 , ppm): 2,30 (s, 3H, CH_3); 3,08 (s, 3H, CH_3); 6,30 – 6,85 (m, 9H, Ar); 8,60 (s, 1H, NH); 8,69 (s, 1H, COOH).

RMN ^{13}C (CDCl_3 , ppm): 10,3 (CH_3); 35,1 (N- CH_3); 93,6 (=C-N); 99,2 (=C-Cl); 122,7 – 134,3 (11 C, Ar); 137,0 (=C-Me); 141,0 (=C-N); 154,2 (C- Ác, Ar); 160,6 (C=O, imida); 164,6 (C=O, imida); 165,9 (C=O, pirazolona), 166,9 (C=O, ácido).

N-antipirino-3-cloro-4-(3-carboxianilinomaleimida) (86)



A metodologia foi similar à descrita para o composto **81**, porém utilizou-se 0,16 g (1,1 mmol) de ácido 3-aminobenzóico. O precipitado formado apresentou coloração amarelo ouro. Duração: 8 h; rendimento: 68 %; R_f : 0,11; p.f.: 224,8 - 226,0 $^\circ\text{C}$.

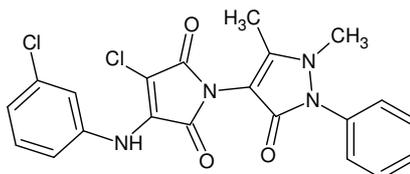
Fórmula molecular: $\text{C}_{22}\text{H}_{17}\text{ClN}_4\text{O}_5$ (452,84 g/mol).

IV (Pastilha de KBr, cm^{-1}): 1780; 1719 (ν -C=O, imida), 1653 (ν -C=O, antipirina); 3309 (ν - NH-), 2531 (ν - COOH-).

RMN ^1H (CDCl_3 , ppm): 2,26 (s, 3H, CH_3); 3,23 (s, 3H, N- CH_3), 7,37 – 7,79 (m, 9H, Ar); 10,15 (s, 1H, COOH).

RMN ^{13}C (CDCl_3 , ppm): 10,2 (CH_3); 35,1 (N- CH_3); 93,6 (=C-N); 99,1 (=C-Cl); 124,4 - 154,3 (11 C, Ar); 128,5 (=C-NH); 130,9 (C-COOH, Ar); 138,5 (=C-Me, Ar); 160,6 (C=O, imida); 164,6 (C=O, imida); 165,9 (C=O, pirazolona); 166,8 (C=O, ácido carboxílico).

N-antipirino-3-cloro-4-(3-cloroanilinomaleimida) (87)



A metodologia foi similar à descrita para o composto **81**, porém utilizou-se 0,14 g (1,1 mmol) de 3-cloroanilina. O precipitado formado apresentou coloração amarela. Duração: 9 h; rendimento: 82,7 %; R_f : 0,57; p.f.: 223,0 - 226,0 $^\circ\text{C}$.

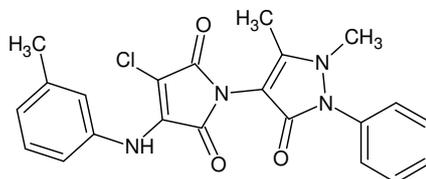
Fórmula molecular: $C_{21}H_{16}Cl_2N_4O_3$ (443,28 g/mol).

IV (Pastilha de KBr, cm^{-1}): 1779; 1726 (v -C=O, imida), 1645 (v -C=O, antipirina); 3950 (v- NH-).

RMN 1H ($CDCl_3$, ppm): 2,15 (s, 3H, CH_3), 3,19 (s, 3H, N- CH_3), 7,0 – 7,45 (m, 9H, Ar); 8,58 (s, 1H, NH).

RMN ^{13}C ($CDCl_3$, ppm): 10,9 (CH_3); 35,1 (N- CH_3); 96,1 (=C-N); 100,9 (=C-Cl); 121,6 - 152,6 (11 C, Ar); 127,6 (=C-NH); 137,1 (C-Cl, Ar); 137,3 (=C-Me); 160,8 (C=O, imida); 164,7 (C=O, imida); 165,9 (C=O, pirazolona).

N-antipirino-3-cloro-4-(3-metilanilinomaleimida) (88)



A metodologia foi similar à descrita para o composto **81**, porém utilizou-se 0,12 g (1,1 mmol) de 3-metilanilina. O precipitado formado apresentou coloração amarela. Duração: 7:00 h; rendimento: 52 %; R_f : 0,37; p.f.: 136,5 - 138,7 °C.

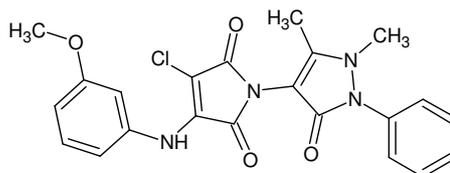
Fórmula molecular: $C_{22}H_{19}ClN_4O_3$ (422,86 g/mol).

IV (Pastilha de KBr, cm^{-1}): 1782; 1725 (v -C=O, imida), 1658 (v -C=O, antipirina); 3617 (v- NH-).

RMN 1H ($CDCl_3$, ppm): 2,20 (s, 3H, CH_3), 2,35 (s, 3H, CH_3 -ar), 3,19 (s, 3H, N- CH_3), 6,99 – 7,48 (m, 9H, Ar), 7,71 (s, 1H, NH).

RMN ^{13}C ($CDCl_3$, ppm): 10,9 (CH_3); 21,4 (CH_3 -Ar); 35,3 (N- CH_3); 94,3 (=C-N); 101,2 (=C-Cl); 120,8 - 138,6 (11 C, Ar); 134,2 (=C-NH); 135,6 (C-N, Ar); 137,4 (=C-Me); 152,9 (C-Me, Ar); 160,8 (C=O, imida); 165,0 (C=O, imida); 166,3 (C=O, pirazolona).

N-antipirino-3-cloro-4-(3-metoxianilinomaleimida) (89)



A metodologia foi similar à descrita para o composto **81**, porém utilizou-se 0,14 g (1,1 mmol) de 3-metoxianilina. O precipitado formado apresentou coloração amarelo escuro. Duração: 8:30 h; rendimento: 56 %; R_f : 0,38; p.f.: 139,5 - 142,1 °C.

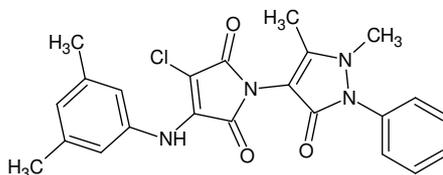
Fórmula molecular: C₂₂H₁₉ClN₄O₄ (438,86 g/mol).

IV (Pastilha de KBr, cm⁻¹): 1781; 1726 (v -C=O, imida), 1658 (v -C=O, antipirina); 3639 (v- NH-).

RMN ¹H (CDCl₃, ppm): 2,20 (s, 3H, CH₃); 3,20 (s, 3H, N-CH₃), 3,81 (s, 3H, OCH₃), 6,74 – 7,49 (m, 9H, Ar); 7,87 (s, 1H, NH).

RMN ¹³C (CDCl₃, ppm): 10,9 (CH₃); 35,3 (N-CH₃); 55,3 (OCH₃); 94,7 (=C-N); 101,2 (=C-Cl); 109,2 - 152,8 (11 C, Ar); 134,1 (=C-NH); 137,3 (=C-Me); 159,8 (C-OMe, Ar); 160,8 (C=O, imida); 165,0 (C=O, imida); 166,3 (C=O, pirazolona).

N-antipirino-3-cloro-4-(3,5-dimetilanilino)maleimida (90)



A metodologia foi similar à descrita para o composto **81**, porém utilizou-se 0,14 g (1,1 mmol) de 3,5-dimetilanilina. O precipitado formado apresentou coloração amarela. Duração: 7:30 h; rendimento: 61 %; R_f: 0,49; p.f.: 137,8 - 139,9 °C.

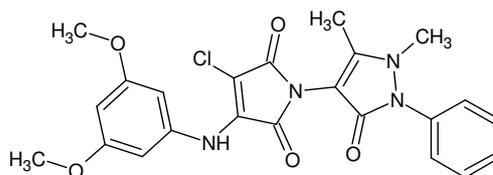
Fórmula molecular: C₂₃H₂₁ClN₄O₃ (436,89 g/mol).

IV (Pastilha de KBr, cm⁻¹): 1781; 1725 (v -C=O, imida), 1661 (v -C=O, antipirina); 3300 (v- NH-).

RMN ¹H (CDCl₃, ppm): 2,21 (s, 3H, CH₃); 3,20 (s, 3H, N-CH₃); 2,32 (s, 6H, CH₃); 6,80 – 4,76 (m, 8H, Ar).

RMN ¹³C (CDCl₃, ppm): 11,0 (CH₃); 35,3 (N-CH₃); 21,3 (2 CH₃); 94,2 (=C-N); 101,4 (=C-Cl); 121,4 - 152,9 (11 C, Ar); 134,21 (=C-N); 137,4 (=C-Me); 160,8 (C=O, imida); 165,1 (C=O, imida); 166,3 (C=O, pirazolona).

N-antipirino 3-cloro-4-(3,5-dimetoxianilino)maleimida (91)



A metodologia foi similar à descrita para o composto **81**, porém utilizou-se 0,17 g (1,1 mmol) de 3,5-dimetoxianilina. O precipitado formado apresentou coloração amarela. Duração: 9 h; rendimento: 90 %; R_f: 0,34; p.f.: 140,0 - 141,9 °C.

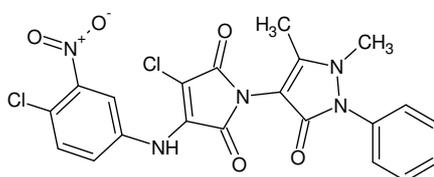
Fórmula molecular: $C_{23}H_{21}ClN_4O_5$ (466,88 g/mol).

IV (Pastilha de KBr, cm^{-1}): 1780; 1726 (ν -C=O, imida), 1653 (ν -C=O, antipirina); 3360 (ν -NH-).

RMN 1H ($CDCl_3$, ppm): 2,19 (s, 3H, CH_3); 3,19 (s, 3H, N- CH_3); 3,77 (s, 6H, OCH_3); 6,32 (s, CH, Ar); 7,25 – 7,45 (m, 9H, Ar); 7,74 (s, 1H, NH).

RMN ^{13}C ($CDCl_3$, ppm): 10,9 (CH_3); 35,2 (N- CH_3); 55,5 (2 OCH_3); 95,0 (=C-N); 98,5 - 137,4 (10 C, Ar); 101,0 (=C-Cl); 137,2 (=C-Me); 152,6 (C=O, imida); 160,6 (2 C-OMe); 165,0 (C=O, imida); 166,2 (C=O, pirazolona).

N-antipirino-3-cloro-4-(4-cloro-3-nitroanilinomaleimida) (92)



A metodologia foi similar à descrita para o composto **81**, porém utilizou-se 0,14 g (1,1 mmol) de 4-cloro-3-nitroanilina. O precipitado formado apresentou coloração amarela Duração: 6:30 h; rendimento: 82 %; R_f : 0,45; p.f.: 121,9 - 123,2°C.

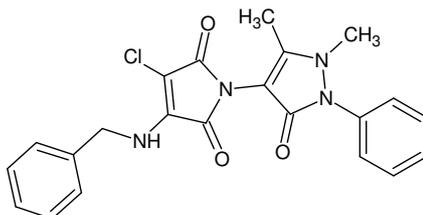
Fórmula molecular: $C_{21}H_{16}Cl_2N_5O_5$ (488,28 g/mol).

IV (Pastilha de KBr, cm^{-1}): 1798; 1727 (ν -C=O, imida), 1658 (ν -C=O, antipirina); 3439 (ν -NH-).

RMN 1H ($CDCl_3$, ppm): 2,23 (s, 3H, CH_3); 3,21 (s, 3H, N- CH_3); 7,35 – 7,87 (m, 10 H, Ar); 10,32 (s, 1H, NH).

RMN ^{13}C ($CDCl_3$, ppm): 10,9 (CH_3); 35,8 (N- CH_3); 97,8 (=C-N); 99,5 (=C-Cl); 120,4 - 147,6 (10 C, Ar); 127,8 (=C-N); 132,1 (C-Cl, Ar); 138,6 (=C-Me); 154,8 (C- NO_2 , Ar); 161,2 (C=O, imida); 165,1 (C=O, imida); 166,2 (C=O, pirazolona).

N-antipirino 3-cloro-4-(benzilaminomaleimida) (93)



A metodologia foi similar à descrita para o composto **81**, porém utilizou-se 0,13 mL (1,1 mmol) de benzilamina. O precipitado formado apresentou coloração amarela. Duração: 9:30 h; rendimento: 64 %, R_f : 0,51; p.f.: 123,0 - 126,0 °C.

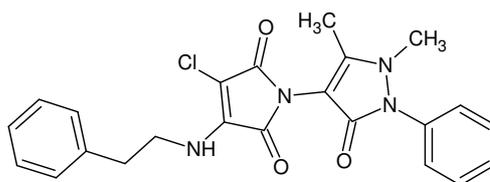
Fórmula molecular: $C_{22}H_{19}Cl N_5O_5$ (422,86 g/mol).

IV (Pastilha de KBr, cm^{-1}): 1750; 1726 (v -C=O, imida); 1662 (v -C=O, antipirina); 3285 (v- NH-).

RMN 1H ($CDCl_3$, ppm): 2,19 (s, 3H, CH_3); 3,19 (s, 3H, N- CH_3); 4,84 (d, 2H, CH_2); 7,34 – 7,48 (m, 10 H, Ar); 5,80 (s, 1H, NH).

RMN ^{13}C ($CDCl_3$, ppm): 11,2 (CH_3); 35,6 (N- CH_3); 47,4 (CH_2); 125,1 (=C-N); 125,1 (=C-Cl); 126,7 (=C-NH); 127,7 - 137,1 (12 C, Ar); 140,8 (=C-Me); 153,1 (C=O, imida); 164,7 (C=O, imida); 166,4 (C=O, pirazolona).

N-antipirino 3-cloro-4-(fenetilaminomaleimida) (94)



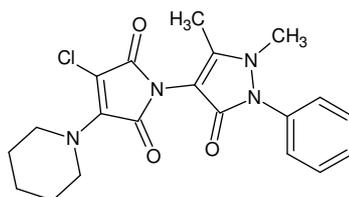
A metodologia foi similar à descrita para o composto **81**, porém utilizou-se 0,18 mL (1,1 mmol) de fenetilamina. O precipitado formado apresentou coloração rosa antigo. Após recristalização em acetona apresentou coloração rosa forte. Duração: 1:00 h; rendimento: 54,8 %, R_f : 0,39; p.f.: 157,7 – 159,0 °C.

Fórmula molecular: $C_{23}H_{21}Cl N_4O_3$ (436,90 g/mol).

IV (Pastilha de KBr, cm^{-1}): 1725; 1661 (v -C=O, imida); 1623 (v -C=O, antipirina); 3297 (v- NH-).

RMN 1H ($CDCl_3$, ppm): 2,21 (s, 3H, CH_3); 2,76 (t, 2H, CH_2); 3,07 (s, 3H, N- CH_3); 3,34 (t, 2H, CH_2); 7,21 – 7,58 (m, 10 H, Ar); 9,71 (s, 1H, NH).

RMN ^{13}C ($CDCl_3$, ppm): 10,9 (CH_3); 34,5 (N- CH_3); 35,8 (CH_2); 41,1 (CH_2); 105,9 (=C-Cl); 123,7 - 152,7 (12 C, Ar); 126,2 (=C-N); 126,4 (=C-NH); 139,1 (=C-Me); 160,2 (C=O, imida); 160,4 (C=O, imida); 161,3 (C=O, pirazolona).

N-antipirino 3-cloro-4-(piperidinomaleimida) (95)

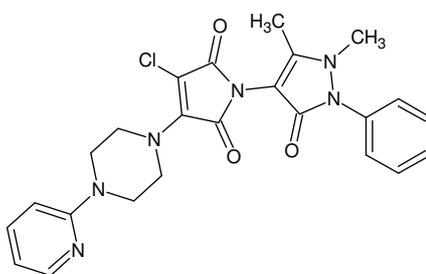
A metodologia foi similar à descrita para o composto **81**, porém utilizou-se 0,12 mL (1,1 mmol) de piperidina. O produto foi obtido através de extração com diclorometano da fase orgânica, na qual se obteve um composto de coloração laranja. Duração: 10 h; rendimento: 45 %; R_f : 0,67; p.f.: 176,4 - 178,7 °C.

Fórmula molecular: $C_{20}H_{21}Cl N_4O_3$ (400,85 g/mol).

IV (Pastilha de KBr, cm^{-1}): 1724 (v -C=O, imida), 1655 (v -C=O, antipirina); 3397 (v-NH-).

RMN 1H ($CDCl_3$, ppm): 1,71 (m, 6H, CH_2); 2,18 (s, 3H, CH_3); 3,18 (s, 3H, N- CH_3); 3,91 (m, 4H, CH_2); 7,27 – 7,48 (m, 5 H, Ar).

RMN ^{13}C ($CDCl_3$, ppm): 11,0 (CH_3); 24,1 (CH_2); 26,7 (CH_2); 35,4 (N- CH_3); 49,7 (CH_2); 94,1 (=C-Cl); 102,0 (=C-N); 124,7 - 142,1 (6 C, Ar); 134,4 (=C-N); 153,1 (=C-Me); 160,9 (C=O, imida); 164,5 (C=O, imida); 165,2 (C=O, pirazolona).

N-antipirino 3-cloro-4-(4-piridino-2-il-piperazinomaleimida) (96)

A metodologia foi similar à descrita para o composto **81**, porém utilizou-se 0,17 mL (1,1 mmol) de 1-piridino-2-il-piperazina. O precipitado formado apresentou coloração amarela. Após recristalização em ciclohexano/acetona formaram-se palhetas amarelas translúcidas. Duração: 10:00 h; rendimento: 70 %, R_f : 0,54; p.f.: 132,2 – 133,0 °C.

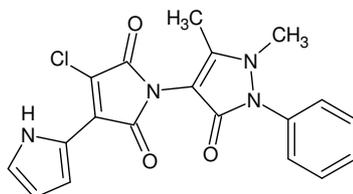
Fórmula molecular: $C_{24}H_{23}Cl N_6O_3$ (478,94 g/mol).

IV (Pastilha de KBr, cm^{-1}): 1714; 1657 (v -C=O, imida); 1625 (v -C=O, antipirina).

RMN 1H ($CDCl_3$, ppm): 2,19 (s, 3H, CH_3); 3,19 (s, 3H, N- CH_3); 3,70 (dd, 2H, CH_2); 4,12 (dd, 2H, CH_2); 6,66 – 8,22 (m, 9 H, Ar).

RMN ^{13}C (CDCl_3 , ppm): 11,0 (CH_3); 35,4 (N-CH_3); 45,6 (CH_2); 47,7 (CH_2); 95,9 ($=\text{C-N}$); 101,7 ($=\text{C-Cl}$); 107,3 - 158,6 (11 C, Ar); 134,4 (C-N); 153,1 ($=\text{C-Me}$); 160,9 (C=O , imida); 164,5 (C=O , imida); 165,0 (C=O , pirazolona).

N-antipirino-3-cloro-4-(1H-pirrol-2-il-maleimida) (97)



A reação foi feita na proporção 1:1, **6** (1 g/ 2,8 mmol) e pirrol (0,19 g/2,8 mmol). O **6** foi dissolvido em tetrahydrofurano (50 mL) sob agitação constante à temperatura ambiente. O pirrol foi adicionado lentamente à solução, e deixou-se em refluxo suave. Deixou-se evaporar o solvente, restando um resíduo de coloração preta. Este foi purificado por cromatografia de coluna em sílica gel, utilizando como eluente clorofórmio/metanol (98:02). Ao se reunir as frações puras da coluna, adicionaram-se aos frascos acetona, entretanto o produto foi insolúvel neste solvente, dessa forma o produto foi então filtrado após resfriamento apresentando-se como paletas marrom-escuro brilhante, e posteriormente foi novamente recristalizado em acetona. Duração: 36 h; rendimento: 36,8 %; R_f : 0,57; p.f.: 123,3 – 125,1 $^{\circ}\text{C}$.

Fórmula molecular: $\text{C}_{19}\text{H}_{15}\text{ClN}_4\text{O}_3$ (382,80 g/mol).

IV (Pastilha de KBr, cm^{-1}): 3399 (ν - NH-), 1718; 1713 (ν -C=O, imida), 1656 (ν -C=O, antipirina).

RMN ^1H (CDCl_3 , ppm): 2,19 (s, 3H, CH_3); 3,21 (s, 3H, N-CH_3); 6,42 – 7,50 (m, 8H, Ar); 10,49 (s, 1H, NH).

RMN ^{13}C (CDCl_3 , ppm): 10,9 (CH_3); 35,3 (N-CH_3); 101,0 ($=\text{C-N}$); 112,1 (CH, pirrol); 117,9 (CH, pirrol); 118,5 (CH, pirrol); 121,4 (C-Cl); 124,9 - 129,3 (6 C, Ar); 134,1 ($=\text{C-Me}$); 152,8 (C-pirrol); 160,7 (C=O , imida); 164,8 (C=O , imida); 168,6 (C=O , pirazolona).

OBS: Metodologia similar à descrita para o composto **81**, foi realizada utilizando-se 0,08 mL (1,1 mmol) de 3-fenilpropilamina e 0,09 mL (1,1 mmol) de 4-fenilbutilamina. Estas reações ocorreram rapidamente, devido a mudança da coloração da mistura reacional que para ambas passava de amarelo claro para um tom avermelhado logo

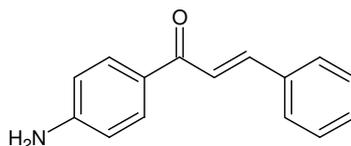
nos primeiros minutos da reação. E entretanto, foram observadas uma série de manchas na placa cromatográfica, e o precipitado observado apresentava-se gelatinoso. Foi realizada recristalização em acetona e cromatografia de coluna utilizando como eluentes clorofórmio:metanol, mas não foi possível isolar quantidades suficientes para a caracterização dos produtos.

4.1.5 Chalconas:

4.1.5.1 Síntese das amino-chalconas:

As amino-chalconas foram sintetizadas de acordo com a reação clássica segundo uma derivação do método geral de condensação aldólica de Claisen-Schmidt utilizando a p-aminoacetofenona, metanol, NaOH e variando os benzaldeídos (SATYANARAYANA, et al 2004). Todas as reações foram monitoradas através da cromatografia em camada delgada (CCD) utilizando como eluente hexano/acetato de etila (70:30).

(2E)-1-(4-aminofenil)-3-fenilprop-2-en-1-ona (98)



Foram utilizadas quantidades equimolares de p-aminoacetofenona (0,5 g/3,7 mmol) e de benzaldeído (0,38 mL/3,7 mmol). A acetofenona foi dissolvida em metanol com agitação sob um banho de gelo. Adicionou-se 2,5 mL (31,2 mmol) de uma solução de NaOH 50 % (p/v) e em seguida o benzaldeído. A agitação foi mantida a temperatura ambiente por 30 h. Terminada a reação, esta foi vertida em água/gelo e o precipitado foi lavado com água gelada e filtrado sob vácuo, ao final se obteve um composto de coloração amarela. Duração: 30 h; rendimento: 52 %; R_f : 0,39; p.f.: 96,2 - 97,2 °C (APPLEQUIST; GDANSKI, 1982, p.f.= 102-103 °C; YI; PENG; GONGHUA, 2005, p.f. = 109 – 110 °C).

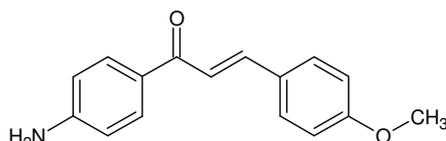
Fórmula molecular: $C_{15}H_{13}NO$ (223,3 g/mol).

IV (Pastilha de KBr, cm^{-1}): 3477, 3322 (ν -NH₂), 1603 (ν -C=O), 1580 (ν -C=C);

RMN ^1H (DMSO- d_6 , ppm): 6,69 (d, H_α , $J=16$), 7,59 (d, H_β , $J=16$), 7,38 – 7,95 (m, 9 H, Ar), 4,20 (sl, NH).

RMN ^{13}C (DMSO- d_6 , ppm): 113,9 -143,1 (11 C, Ar); 122,0 (C_α), 143,1 (C_β), 151,2 (C-N); 188,1 (C=O).

(2E)-1-(4-aminofenil)-3-(4-metóxfenil)prop-2-en-1-ona (99)



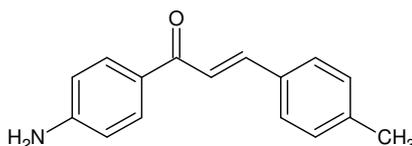
A metodologia foi similar à descrita para o composto **98**, porém utilizou-se 0,45 mL (3,7 mmol) de 4-metóxi-benzaldeído. O precipitado formado apresentou coloração amarela. Duração: 11 h, rendimento: 77 %; R_f : 0,24; p.f.: 111,5 - 113,2 $^\circ\text{C}$ (APPLEQUIST; GDANSKI, 1982, p.f.= 112-113 $^\circ\text{C}$).

IV (Pastilha de KBr, cm^{-1}): 3461, 3324 (v $-\text{NH}_2$), 1634 (v $-\text{C}=\text{O}$), 1590 (v $-\text{C}=\text{C}$).

RMN ^1H (CDCl_3 , ppm): 7,43 (d, H_α , $J=16$), 7,76 (d, H_β , $J=16$), 6,70 – 8,01 (4 d, 8 H, Ar), 1,61 (sl, NH).

RMN ^{13}C (CDCl_3 , ppm): 55, 6 (OCH_3); 114,2 – 131,2 (10 C, Ar); 119,9 (C_α); 143,3 (C_β); 151,0 (C-N, Ar); 161,5 (C-OMe, Ar); 188,4 (C=O).

(2E)-1-(4-aminofenil)-3-(4-metilfenil)prop-2-en-1-ona (100)



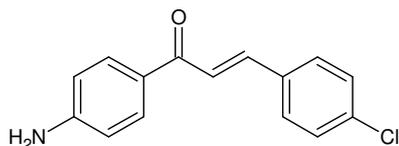
A metodologia foi similar à descrita para o composto **98**, porém utilizou-se 0,44 mL (3,7 mmol) de 4-metilbenzaldeído. O precipitado formado apresentou coloração caramelo. Duração: 10 h; rendimento: 82%; R_f : 0,37; p.f.: 144,5 - 145 $^\circ\text{C}$ (YI; PENG; GONGHUA, 2005, p.f. = 179 – 180 $^\circ\text{C}$).

Fórmula molecular: $\text{C}_{16}\text{H}_{15}\text{NO}$ (237,3 g/mol).

IV (Pastilha de KBr, cm^{-1}): 3455, 3337 (v $-\text{NH}_2$), 1652 (v $-\text{C}=\text{O}$), 1584 (v $-\text{C}=\text{C}$).

RMN ^1H (DMSO- d_6 , ppm): 7,64 (d, H_α , $J=15$), 7,83 (d, H_β , $J=15$), 7,00 – 8,06 (4 d, 8 H, Ar), 5,82 (sl, NH), 2,33 (s, CH_3).

RMN ^{13}C (DMSO- d_6 , ppm): 117,1 -132,2 (10 C, Ar); 121,1 (C_α), 140,3 (C- CH_3 , Ar); 142,7 (C_β), 146,8 (C-N, Ar); 186,9 (C=O).

(2E)-1-(4-aminofenil)-3-(4-clorofenil)prop-2-en-1-ona (101)

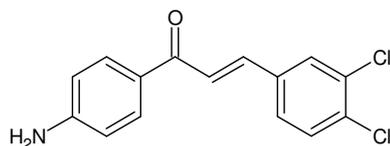
A metodologia foi similar à descrita para o composto **98**, porém utilizou-se 0,52 g (3,7 mmol) de 4-clorobenzaldeído. O precipitado formado apresentou coloração amarela. Duração: 2:30 h; rendimento: 77 %; R_f : 0,35; p.f.: 160,8 - 162,2 °C (APPLEQUIST; GDANSKI, 1982, p.f.= 160 - 162,5 °C; YI; PENG; GONGHUA, 2005, p.f.= 189 - 190 °C).

Fórmula molecular: $C_{15}H_{12}ClNO$ (257,7 g/mol).

IV (Pastilha de KBr, cm^{-1}): 3458, 3340 (ν -NH₂), 1636 (ν -C=O), 1603 (ν -C=C).

RMN ¹H (DMSO-*d*₆, ppm): 7,56 (d, H α , J =15), 7,83 (d, H β , J = 15), 6,61 - 7,91 (4 d, 8 H, Ar), 6,15 (sl, NH).

RMN ¹³C (DMSO-*d*₆, ppm): 113,2 - 134,4 (10 C, Ar); 123,4 (C α), 134,9 (C-Cl, Ar) 140,6 (C β), 154,4 (C-N, Ar); 186,6 (C=O).

(2E)-1-(4-aminofenil)-3-(3,4-diclorofenil)prop-2-en-1-ona (102)

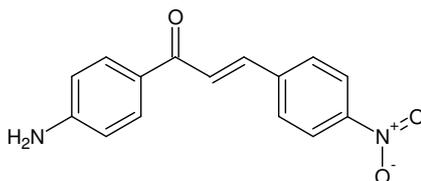
A metodologia foi similar à descrita para o composto **98**, porém utilizou-se 0,65 g (3,7 mmol) de 3,4-diclorobenzaldeído. O precipitado formado apresentou coloração amarela. Duração: 2:30 h; rendimento: 78 %; R_f : 0,51; p.f.: 191,1 - 192,0 °C (DIMMOCK et al., 2003, p.f.= 200 °C/ decomp.).

Fórmula molecular: $C_{15}H_{11}Cl_2NO$ (292,16 g/mol).

IV (Pastilha de KBr, cm^{-1}): 3419, 3330 (ν -NH₂); 1607 (ν -C=O); 1579 (ν -C=C).

RMN ¹H (DMSO-*d*₆, ppm): 7,57 (d, H α , J =15); 7,97 (d, H β , J = 15); 6,19 - 8,21 (m, 7 H, Ar); 6,16 (sl, NH).

RMN ¹³C (DMSO-*d*₆, ppm): 112,7 - 138,6 (9 C, Ar); 124,6 (C α); 131,7 (C-Cl, Ar); 131,9 (C-Cl, Ar); 138,6 (C β); 154,1 (C-N, Ar); 185,5 (C=O).

(2E)-1-(4-aminofenil)-3-(4-nitrofenil)prop-2-en-1-ona (103)

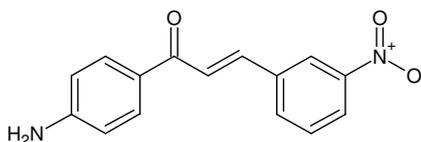
A metodologia foi similar à descrita para o composto **98**, porém utilizou-se 0,56 g (3,7 mmol) de 4-nitrobenzaldeído. O precipitado formado apresentou coloração laranja escuro. Duração: 10 h; rendimento: 88 %; R_f : 0,27; p.f.: 219,3 - 219,8 °C (SELVALAMAR, 2006, p.f.= 223 - 224 °C).

Fórmula molecular: $C_{15}H_{12}N_2O_3$ (268,74 g/mol).

IV (Pastilha de KBr, cm^{-1}): 3480, 3381 (ν -NH₂); 1636 (ν -C=O); 1592 (ν -C=C).

RMN ¹H (DMSO-*d*₆, ppm): 7,68 (d, H α , J = 15); 8,06 (d, H β , J = 15); 6,62 – 8,26 (4 d, 8 H, Ar); 3,65 (sl, NH).

RMN ¹³C (DMSO-*d*₆, ppm): 112,8 – 141,8 (10 C, Ar); 126,6 (C α); 138,6 (C β); 147,7 (C-NO₂, Ar); 154,1 (C-N, Ar); 185,4 (C=O).

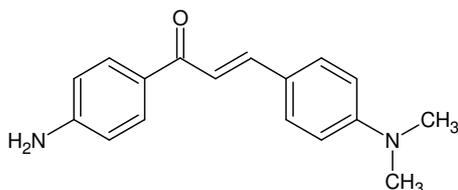
(2E)-1-(4-aminofenil)-3-(3-nitrofenil)prop-2-en-1-ona (104)

A metodologia foi similar à descrita para o composto **98**, porém utilizou-se 0,45 mL (3,7 mmol) de 3-nitrobenzaldeído. O precipitado formado apresentou coloração amarela. Duração: 10 h, rendimento: 79 %; R_f : 0,23; p.f.: 217,3 - 219,8 °C (YI; PENG; GONGHUA, 2005, p.f.= 211 – 212 °C).

IV (Pastilha de KBr, cm^{-1}): 3459, 3320 (ν -NH₂), 1644 (ν -C=O), 1592 (ν -C=C).

RMN ¹H (DMSO-*d*₆, ppm): 7,71 (d, H α , J = 16); 8,07 (d, H β , J = 16); 6,62 – 8,70 (m, 8H, Ar); 6,21 (s, NH).

RMN ¹³C (DMSO-*d*₆, ppm): 112,7 - 137,1 (10 C, Ar); 125,0 (C α); 138,9 (C β); 148,4 (C-NO₂, Ar); 154,1 (C-N, Ar); 185,5 (C=O).

(2E)-1-(4-aminofenil)-3-[4-(dimetilamino)fenil]prop-2-en-1-ona (105)

A metodologia foi similar à descrita para o composto **98**, porém utilizou-se 0,55 g (3,7 mmol) de 4-dimetilaminobenzaldeído. O precipitado formado apresentou coloração laranja claro. Duração: 2:30 h; rendimento: 53 %; R_f : 0,19; p.f.: 182,7 - 184,9 °C (PORTNYAGINA; KLLYUSHIN, 1982, p.f.= 169 - 170 °C).

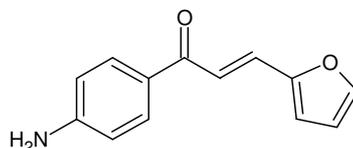
IV (Pastilha de KBr, cm^{-1}): 3480, 3381 (ν -NH₂); 1598,24 (ν -C=O); 1542,66 (ν -C=C).

RMN ¹H (DMSO-*d*₆, ppm): 2,98 (2 CH₃); 7,55 (d, H α , J = 15); 7,59 (d, H β , J = 15); 6,60 - 7,90 (4 d, 8 H, Ar); 6,03 (s, NH).

RMN ¹³C (DMSO-*d*₆, ppm): 39,7 (2 CH₃); 111,8 - 130,7 (10 C, Ar); 116,6 (C α), 142,5 (C β), 151,5 (C-N, Ar); 153,4 (C-NMe₂, Ar); 185,9 (C=O).

4.1.5.2 Síntese de análogos das amino-chalconas

De acordo com a mesma metodologia proposta no item 4.1.4.1 foram sintetizados dois análogos utilizando o 2-furaldeído e o 2-tiofenocarboxibenzaldeído.

(2E)-1-(4-aminofenil)-3-(2-furil)prop-2-en-1-ona (106)

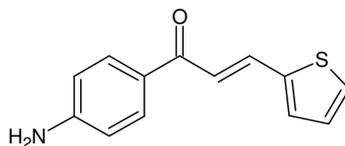
A metodologia foi similar à descrita para o composto **98**, porém utilizou-se 0,31 mL (3,7 mmol) de 2-furaldeído. O precipitado formado apresentou coloração amarelo escuro. Duração: 2 h; rendimento: 79 %; R_f : 0,34; p.f.: 115,2 - 115,8 °C.

IV (Pastilha de KBr, cm^{-1}) = 3433, 3323 (ν -NH₂), 1640 (ν -C=O), 1596 (ν -C=C).

RMN ¹H (DMSO-*d*₆, ppm): 7,45 (d, H α , J = 15), 7,50 (d, H β , J = 15), 6,61 - 7,85 (m, 7 H, Ar), 6,16 (s, NH₂).

RMN ^{13}C (DMSO- d_6 , ppm): 112,8 – 145,4 (8 C, Ar); 119,3 (C α); 128,3 (C β); 153,9 (C-N, Ar); 151,5 (C-O, furil); 185,3 (C=O).

(2E)-1-(4-aminofenil)-3-(2-tienil)prop-2-en-1-ona (107)



A metodologia foi similar à descrita para o composto **98**, porém utilizou-se 0,35 mL (3,7 mmol) de 2-tiofenocarboxibenzaldeído. O precipitado formado apresentou coloração amarelo escuro. Duração: 10h; rendimento: 86%; R_f: 0,31; p.f.: 112,5 - 113,8 °C.

IV (Pastilha de KBr, cm^{-1}) = 3425, 3313 (v -NH₂); 1633 (v -C=O); 1593 (v -C=C).

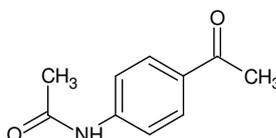
RMN ^1H (DMSO- d_6 , ppm): 7,49 (d, H α , $J = 15$); 7,78 (d, H β , $J = 15$); 6,62 – 7,87 (m, 7H, Ar); 6,14 (s, NH₂).

RMN ^{13}C (DMSO- d_6 , ppm): 112,8 - 131,6 (8 C, Ar); 120,8 (C α); 134,2 (C β); 140,2 (C-S, tienil); 153,9 (C-N, Ar); 185,3 (C=O).

4.1.5.3 Síntese das amido-chalconas:

4.1.5.3.1 Acetilação do grupo amino

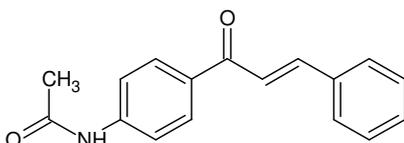
N-(4-acetilfenil)acetamida (108)



A 4-aminoacetofenona (2,2 g/ 16,3 mmol) foi suspensa em água (23 mL) sob agitação contínua e em seguida foi adicionado 4,1mL (43,4 mmol) de anidrido acético. A mistura foi aquecida sob refluxo brando durante 2 horas. Após esfriar, os cristais formados de coloração branca, foram lavados com água gelada e filtrados sob vácuo. Rendimento: 90,0 %, p.f.: 168,5 – 170,6 °C (PEET et al., 1989, p.f.= 168 – 170 °C)..

4.1.5.3.2 Condensação:

As amido-chalconas também foram sintetizadas por condensação aldólica de Claisen-Schmidt utilizando a *N*-(4-acetilfenil)acetamida (**108**) e variando os benzaldeídos. As reações de síntese das amido-chalconas foram monitoradas através de CCD, os eluentes utilizados foram hexano/acetato de etila (70:30).

***N*-(4-[(2*E*)-3-fenilprop-2-enil]fenil)acetamida (**109**)**

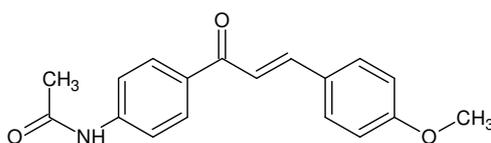
Foram utilizadas quantidades equimolares da *N*-(4-acetilfenil)acetamida (**108**) (0,3 g/1,7 mmol) e de benzaldeído (0,12 mL/1,7 mmol). O composto **108** foi dissolvido em metanol com agitação sob um banho de gelo. Adicionou-se 1,48 mL (18,5 mmol) de uma solução de NaOH 50% e em seguida o benzaldeído. A agitação foi mantida a temperatura ambiente. Terminada a reação, esta foi vertida em água/gelo e o precipitado de coloração amarela foi lavado com água gelada. Posteriormente foi recristalizado em etanol, obtendo-se cristais amarelos. Duração: 28 h; rendimento: 80 %; R_f : 0,39; p.f.: 161,7 – 162,2 °C (BOROVIK; YAZYKOV; MAMAIEV, 1991, p.f.= 160 – 162 °C).

Fórmula molecular: C₁₇H₁₅NO₂ (265,3 g/mol).

IV (Pastilha de KBr, cm⁻¹)= 3310 (ν -NH); 1676 (ν -NH-C=O); 1648 (ν -C=O), 1598 (ν -C=C).

RMN ¹H (CDCl₃, ppm): 2,20 (s, CH₃); 7,69 (d, H_α, *J* = 15,6); 7,98 (d, H_β, *J* = 15,6); 7,39 - 7,81 (m, 9H, Ar); 8,50 (sl, NH).

RMN ¹³C (CDCl₃, ppm): 24,6 (-CH₃); 119,1 – 134,7 (11 C, Ar); 121,7 (C_α); 142,5 (C-N); 144,7 (C_β); 169,1 (N-C=O); 189,3 (C=O).

***N*-(4-[(2*E*)-3-(4-metoxifenil)prop-2-enil]fenil)acetamida (**110**)**

A metodologia foi similar à descrita para o composto **109**, porém utilizou-se 0,21 mL (1,7 mmol) de 4-metóxi-benzaldeído. O precipitado formado apresentou coloração amarelo claro. Duração: 4 h; rendimento: 84 %; R_f : 0,30; p.f.: 206,5 – 207,0 °C.

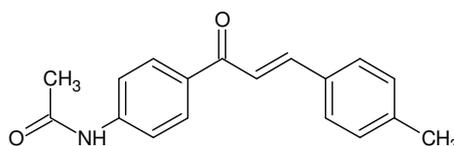
Fórmula molecular: $C_{18}H_{17}NO_3$ (295,3 g/mol).

IV (Pastilha de KBr, cm^{-1}) = 3294 (v -NH); 1668 (v -NH-C=O); 1597 (v -C=O); 1532 (v -C=C).

RMN 1H (DMSO- d_6 , ppm): 2,10 (s, CH_3); 3,81 (s, -OCH₃); 7,69 (d, H_{α} , $J=15,6$); 7,79 (d, H_{β} , $J=15,6$); 6,99 – 8,13 (m, 8 H Ar); 10,30 (s, -NH).

RMN ^{13}C (DMSO- d_6 , ppm): 24,2 (CH_3); 55,3 (OCH₃); 114,4 – 132,4 (10 C, Ar); 119,4 (C_{α}); 143,5 (C-N, Ar); 143,3 (C_{β}); 161,2 (C-OMe, Ar); 168,9 (N-C=O); 187,4 (C=O).

***N*-{4-[(2*E*)-3-(4-metilfenil)prop-2-enoil]fenil}acetamida (111)**



A metodologia foi similar à descrita para o composto **109**, porém utilizou-se 0,197 mL (1,7 mmol) de 4-metilbenzaldeído. O precipitado formado apresentou coloração amarelo claro. Duração: 5 h; rendimento: 79 %; R_f : 0,36; p.f.: 197,5 - 199,0 °C.

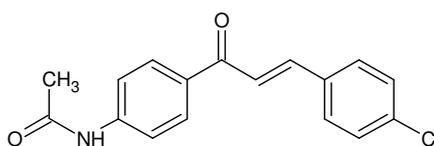
Fórmula molecular: $C_{18}H_{17}NO_2$ (279,33 g/mol).

IV (Pastilha de KBr, cm^{-1}) = 3489 (v -NH), 1676 (v -NH-C=O), 1645 (v -C=O), 1590 (v -C=C).

RMN 1H (CDCl₃, ppm): 2,23 (s, CH_3); 2,39 (s, CH_3 , Ar); 7,45 (d, H_{α} , $J=15,6$); 7,79 (d, H_{β} , $J=15,6$); 7,21 – 8,03 (m, 8 H Ar e NH).

RMN ^{13}C (CDCl₃, ppm): 21,8 (CH_3 , Ar); 25,1 (CH_3); 119,1 – 134,0 (10 C, Ar); 120,9 (C_{α}); 141,3 (C-N); 144,9 (C_{β}); 169,0 (N-C=O); 189,3 (C=O).

***N*-{4-[(2*E*)-3-(4-clorofenil)prop-2-enoil]fenil}acetamida (112)**



A metodologia foi similar à descrita para o composto **109**, porém utilizou-se 0,24 g (1,7 mmol) de 4-clorobenzaldeído. O precipitado formado apresentou coloração amarelo palha. Duração: 2 h; rendimento: 83 %; R_f : 0,37; p.f.: 215,0 - 215,7 °C.

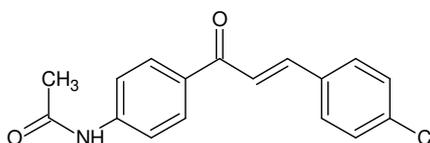
Fórmula molecular: $C_{17}H_{14}ClNO_2$ (299,75 g/mol).

IV (Pastilha de KBr, cm^{-1}) = 3250 (v -NH); 1662 (v -NH-C=O); 1607 (v -C=O); 1534 (v -C=C).

RMN 1H ($CDCl_3$, ppm): 2,1 (s, CH_3); 7,69 (d, H_{α} , $J=15,6$); 7,94 (d, H_{β} , $J=15,6$); 7,50 – 8,15 (m, 8H, Ar); 10,3 (s, NH).

RMN ^{13}C ($CDCl_3$, ppm): 24,9 (- CH_3); 118,9 – 134,4 (10 C, Ar); 123,4 (C_{α}); 135,6 (C-Cl, Ar); 142,5 (C_{β}); 144,5 (C-N, Ar); 169,7 (N-C=O); 188,1 (C=O).

***N*-{4-[(2*E*)-3-(3,4-diclorofenil)prop-2-enil]fenil}acetamida (113)**



A metodologia foi similar à descrita para o composto **109**, porém utilizou-se 0,3 g (1,7 mmol) de 3,4-diclorobenzaldeído. O precipitado formado apresentou coloração amarelo claro. Duração: 4:30 h; rendimento: 95 %; R_f : 0,42; p.f.: 210,4 - 211,0 $^{\circ}C$.

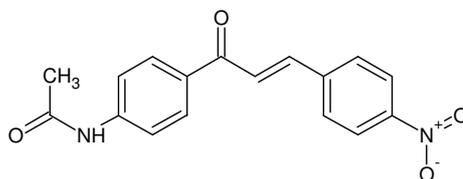
Fórmula molecular: $C_{17}H_{13}Cl_2NO_2$ (334,20 g/mol).

IV (Pastilha de KBr, cm^{-1}) = 3308 (v -NH); 1663 (v -NH-C=O); 1599 (v -C=O); 1536 (v -C=C).

RMN 1H ($CDCl_3$, ppm): 2,07 (s, CH_3); 7,64 (d, H_{α} , $J=15,6$), 8,0 (d, H_{β} , $J=15,6$), 7,65 – 8,23 (m, 7 H, Ar), 10,3 (s, NH).

RMN ^{13}C ($CDCl_3$, ppm): 24,9 (CH_3); 118,9 – 136,5 (9H, Ar); 124,7 (C_{α}); 141,1 (C_{β}); 144,6 (C-N, Ar); 131,6 e 132,5 (2 C-Cl); 169,7 (N-C=O); 187,9 (C=O).

***N*-{4-[(2*E*)-3-(4-nitrofenil)prop-2-enil]fenil}acetamida (114)**



A metodologia foi similar à descrita para o composto **109**, porém utilizou-se 0,3 g (1,7 mmol) de 4-nitrobenzaldeído. O precipitado formado apresentou coloração amarela. Duração: 4:30 h; rendimento: 89 %; R_f : 0,32; p.f.: 239,7 - 241,0 $^{\circ}C$ (BOROVIK; YAZYKOV; MAMAEV, 1991, p.f.= 235 – 237 $^{\circ}C$).

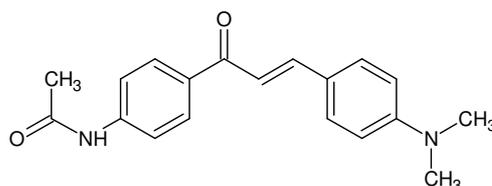
Fórmula molecular: $C_{17}H_{14}N_2O_4$ (310,30 g/mol).

IV (Pastilha de KBr, cm^{-1})= 3312 (v -NH); 1678 (v -NH-C=O); 1596 (v -C=O); 1517 (v -C=C).

RMN ^1H (CDCl_3 , ppm): 2,23 (s, CH_3); 7,64 (d, H_α , $J=15,6$); 7,81 (d, H_β , $J=15,6$); 7,49 – 8,29 (m, 8 H Ar e NH).

RMN ^{13}C (CDCl_3 , ppm): 25,1 (CH_3); 119,2 – 130,4 (8H, Ar); 125,7 (C_α), 141,5 (C_β); 142,7 (C-N, Ar); 148,8 (C- NO_2 , Ar); 168,5 (N-C=O); 189,0 (C=O).

N-(4-((2E)-3-[4-(dimetilamino)fenil]prop-2-enoil)fenil)acetamida (115)



A metodologia foi similar à descrita para o composto **109**, porém utilizou-se 0,252 g (1,7 mmol) de 4-dimetilaminobenzaldeído. O precipitado formado apresentou coloração laranja escuro. Duração: 4 h; rendimento: 72 %; R_f : 0,28; p.f.: 150,9 - 151,7 $^\circ\text{C}$.

Fórmula molecular: $\text{C}_{18}\text{H}_{17}\text{NO}_2$ (279.33 g/mol).

IV (Pastilha de KBr, cm^{-1})= 3294 (v -NH); 1684 (v -NH-C=O); 1646 (v -C=O); 1597 (v -C=C).

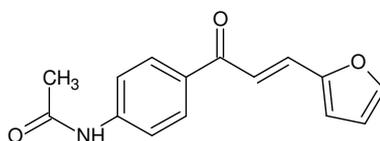
RMN ^1H (CDCl_3 , ppm): 2,07 (s, CH_3); 2,96 (s, 2 CH_3); 7,59 (d, H_α , $J=15,6$); 7,62 (d, H_β , $J=15,6$); 6,69 – 8,08. (m, Ar); 10,3 (s, NH).

RMN ^{13}C (CDCl_3 , ppm): 24,5 (CH_3); 39,5 (2 N- CH_3); 112,4 – 135,5 (8 H, Ar); 122,7 (C_α); 143,9 (C-N, Ar); 145,2 (C_β); 152,6 (C-NMe $_2$); 169,7 (N-C=O); 187,9 (C=O).

4.1.5.4 Síntese dos análogos das amido-chalconas

De acordo com a mesma metodologia proposta no item 4.1.4.3.2 foram sintetizados dois análogos utilizando o 2-furaldeído e 2-tiofenocarboxibenzaldeído.

N-{4-[(2E)-3-(2-furil)prop-2-enoil]fenil}acetamida (116)



A metodologia foi similar à descrita para o composto **109**, porém utilizou-se 0,14 mL (1,7 mmol) de 2-furaldeído. O precipitado formado apresentou coloração laranja escuro. Duração: 1 h; rendimento: 95 %; R_f : 0,35; p.f.: 118,1 - 119,0 °C (RTISHCHEV et al., 2001, p.f.= 164 – 165 °C).

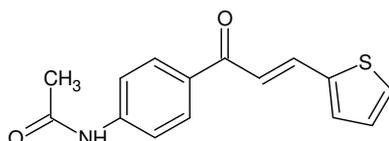
Fórmula molecular: $C_{15}H_{13}NO_3$ (255,27 g/mol).

IV (Pastilha de KBr, cm^{-1})= 3452 (v -NH); 1697 (v -NH-C=O); 1645 (v -C=O); 1597 (v -C=C).

RMN 1H (DMSO- d_6 , ppm): 3,01 (s, CH_3); 7,57 (d, H_{α} , $J=15,8$); 7,58 (d, H_{β} , $J=15,8$); 6,63 - 7,76 (m, 3H, furil); 7,82 – 8,09 (2 dd, 4H, Ar); 9,57 (s, NH).

RMN ^{13}C (DMSO- d_6 , ppm): 23,8 (CH_3); 113,0 – 145,6 (8H, Ar); 119,1 (C_{α}); 129,9 (C_{β}); 144,0 (C-N, Ar); 152,1 (C-O, furil); 168,9 (N-C=O); 187,2 (C=O).

N-{4-[(2E)-3-(2-tienil)prop-2-enoil]fenil}acetamida (117)



A metodologia foi similar à descrita para o composto **109**, porém utilizou-se 0,11 mL (1,7 mmol) de 2-tiofenocarboxibenzaldeído. O precipitado formado apresentou coloração amarelo ouro. Duração: 1 h; rendimento: 90 %; R_f : 0,37; p.f.: 147,8 - 149,3 °C (RTISHCHEV et al., 2001, p.f.= 172 – 173 °C).

Fórmula molecular: $C_{15}H_{13}NO_2S$ (271,33 g/mol).

IV (Pastilha de KBr, cm^{-1})= 3296 (v -NH); 1677 (v -NH-C=O); 1647 (v -C=O); 1600 (v -C=C).

RMN 1H (DMSO- d_6 , ppm): 3,08 (s, CH_3); 7,57 (d, H_{α} , $J=16$); 7,93 (d, H_{β} , $J=16$); 7,17 - 7,66 (m, 3H, tienil); 7,82 – 8,10 (2 dd, 4H, Ar); 9,61 (s, NH).

RMN ^{13}C (DMSO- d_6 , ppm): 23,8 (CH_3); 119,3 – 144,6 (8 C, Ar); 121,2 (C_{α}); 136,8 (C_{β}); 144,6 (C-N, Ar); 141,2, (C-S, tienil); 169,5 (N-C=O); 187,8 (C=O).

4.1.5.5 Hidrólise do grupamento amida

As amino-chalconas foram obtidas, indiretamente a partir da hidrólise em meio ácido das amido-chalconas submetidas a refluxo (estrutura e caracterização demonstradas nas páginas 62 à 66).

(2E)-1-(4-aminofenil)-3-fenilprop-2-en-1-ona (98)

Preparou-se uma solução de HCl 50% (v/v). Colocou-se 0,3 g (1,13 mmol) da amido-chalcona num balão e foi adicionado 10 mL (163,0 mmol) da solução de HCl 50 %. A mistura foi aquecida sob refluxo brando por 1 h. Depois de resfriada a temperatura ambiente a mistura foi vertida para um becker contendo 20 mL de água e em seguida foi adicionado hidróxido de amônio até que ocorresse a precipitação. O produto foi filtrado e lavado com água gelada.

(2E)-1-(4-aminofenil)-3-(4-metóxfenil) prop-2-en-1-ona (99)

A metodologia foi similar à descrita para o composto **98**. Duração: 30 min.

(2E)-1-(4-aminofenil)-3-(4-metilfenil) prop-2-en-1-ona (100)

A metodologia foi similar à descrita para o composto **98**. Duração: 1:30 h.

(2E)-1-(4-aminofenil)-3-(4-clorofenil) prop-2-en-1-ona (101)

A metodologia foi similar à descrita para o composto **98**. Duração: 2 h.

(2E)-1-(4-aminofenil)-3-(3, 4-diclorofenil) prop-2-en-1-ona (102)

A metodologia foi similar à descrita para o composto **98**. Duração: 2 h.

(2E)-1-(4-aminofenil)-3-(4-nitrofenil) prop-2-en-1-ona (103)

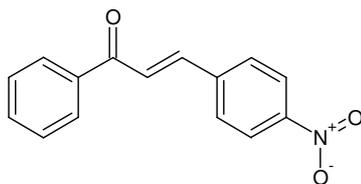
A metodologia foi similar à descrita para o composto **98**. Duração: 1:30 h.

(2E)-1-(4-aminofenil)-3-[4-(dimetilamino)fenil]prop-2-en-1-ona (105)

A metodologia foi similar à descrita para o composto **98**. Duração: 1 h.

4.1.5.6 Síntese das nitro-chalconas:

Na tentativa de obter outra série de chalconas foram realizadas reações utilizando a mesma metodologia, mas agora fixando o 4-nitrobenzaldeído e variando as acetofenonas. A obtenção dos compostos **118** a **124** foi monitorada através de CCD, utilizando com eluente hexano/acetato de etila (80:20).

(2E)-3-(4-nitrofenil)-1-fenilprop-2-en-1-ona (118)

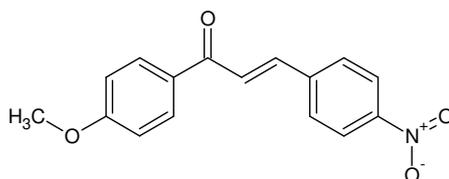
Foram utilizadas quantidades equimolares de 4-nitrobenzaldeído (0,5 g / 3,3 mmol) e de acetofenona (0,4 mL / 3,3 mmol). A acetofenona foi dissolvida em metanol com agitação sob um banho de gelo. Adicionou-se 2,5 mL (31,25 mmol) de uma solução de NaOH 50% (p/v) e em seguida o benzaldeído. A agitação foi mantida a temperatura ambiente. Terminada a reação, esta foi vertida em água/gelo e o precipitado foi lavado com água gelada. Duração: 2 h; rendimento: 93 %; R_f: 0,59; p.f.: 166,3 - 166,8 °C (SANTOS et al., 2000, p.f.= 166,6-174,8 °C; KUBOTA et al., 2006, p.f.=166,0 -167,0 °C).

Fórmula molecular: C₁₅H₁₁NO₃ (259,26 g/mol).

IV (Pastilha de KBr, cm⁻¹)= 1657 (ν -C=O); 1607 (ν -C=C); 1517, 1337 (ν -NO₂).

RMN ¹H (DMSO-*d*₆, ppm): 7,65 (d, H_α, *J*=16), 7,82 (d, H_β, *J*=16), 7,52 – 8,29 (m, Ar).

RMN ¹³C (DMSO-*d*₆, ppm): 124,1 – 141,1 (10 C, Ar); 125,8 (C_α); 141,5 (C_β); 148,1 (C-NO₂); 189,2 (C=O).

(2E)-1-(4-metoxifenil)-3-fenilprop-2-en-1-ona (119)

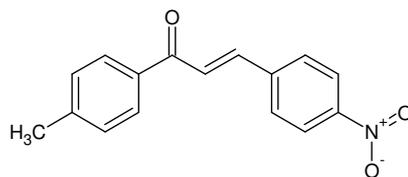
A metodologia foi similar à descrita para o composto **118**, porém utilizou-se 0,5 g (3,3 mmol) de 4-metóxiacetofenona. O precipitado formado apresentou coloração amarelo claro. Duração: 4 h; rendimento: 91%; R_f: 0,41; p.f.: 174,4 - 174,9 °C (BRAUN; ANSORGE; MUELLER, 2006, p.f.= 168 – 169 °C).

Fórmula molecular: C₁₆H₁₃NO₄ (283,28 g/mol).

IV (Pastilha de KBr, cm⁻¹)= 1661 (ν -C=O), 1600 (ν -C=C); 1515, 1338 (ν -NO₂).

RMN ¹H (DMSO-*d*₆, ppm): 3,92 (OCH₃); 6,90 (d, H_α, *J*=16); 7,58 (d, H_β, *J*=16); 6,88 – 8,09 (4 dd, 8 H, Ar).

RMN ¹³C (DMSO-*d*₆, ppm): 55,3 (CH₃); 113,7 – 148,1 (10 C, Ar); 120,4 (C_α); 141,5 (C_β); 148,1 (C-NO₂); 163,3 (C-OMe, Ar); 188,1 (C=O).

(2E)-1-(4-metilfenil)-3-fenilprop-2-en-1-ona (120)

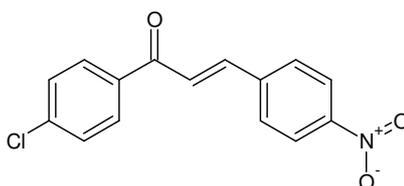
A metodologia foi similar à descrita para o composto **118**, porém utilizou-se 0,44 mL (3,3 mmol) de 4-metilacetofenona. O precipitado formado apresentou coloração amarelo claro. Duração: 10 h; rendimento: 65 %; R_f : 0,60; p.f.: 163, 7- 165,9 °C (YULDASHEV, 1978, p.f.=163 °C).

Fórmula molecular: $C_{16}H_{13}NO_3$ (267,28 g/mol).

IV (Pastilha de KBr, cm^{-1})= 1657 (ν -C=O); 1602 (ν -C=C); 1515, 1338 (ν -NO₂).

RMN ¹H (DMSO-*d*₆, ppm): 2,46 (CH₃); 7,65 (d, H α , $J=16$); 7,82 (d, H β , $J=16$); 7,32 – 8,29 (4 d, 8 H, Ar).

RMN ¹³C (DMSO-*d*₆, ppm): 21,7 (CH₃); 124,2 – 134,9 (10 C, Ar); 125,7 (C α); 141,1 (C β); 141,2 (C-Me, Ar); 144,4 (C-NO₂); 189,1 (C=O).

(2E)-1-(4-clorofenil)-3-fenilprop-2-en-1-ona (121)

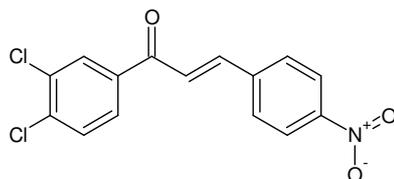
A metodologia foi similar à descrita para o composto **118**, porém utilizou-se 0,43 mL (3,3 mmol) de 4-clorocetofenona. O precipitado formado apresentou coloração amarelo. Duração: 10 h; rendimento: 83 %; R_f : 0,71; p.f.: 158,4 – 160,0 °C (KOSLOV et al., 1976, p.f.= 161-162 °C).

Fórmula molecular: $C_{15}H_{10}ClNO_3$ (287,70 g/mol).

IV (Pastilha de KBr, cm^{-1})= 1661 (ν -C=O), 1607 (ν -C=C) 1536, 1349 (ν -NO₂).

RMN ¹H (DMSO-*d*₆, ppm): 7,80 (d, H α , $J=15$); 8,10 (d, H β , $J=15$); 7,63 – 8,28 (m, 8 H, Ar).

RMN ¹³C (DMSO-*d*₆, ppm): 123,9 – 141,0 (10 C, Ar); 125,6 (C α); 141,5 (C β); 138,5 (C-Cl, Ar); 148,1 (C-NO₂); 187,9 (C=O).

(2E)-1-(3,4-diclorofenil)-3-fenilprop-2-en-1-ona (122)

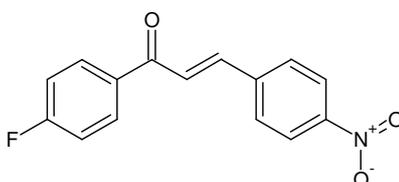
A metodologia foi similar à descrita para o composto **118**, porém utilizou-se 0,6 g (3,3 mmol) de 3,4 dicloroacetofenona. O precipitado formado apresentou coloração marrom claro, Duração: 10 h; rendimento: 82 %; R_f : 0,67; p.f.: 189,6 - 190,2 °C.

Fórmula molecular: $C_{15}H_9Cl_2NO_3$ (322,15 g/mol).

IV (Pastilha de KBr, cm^{-1})= 1658 (ν -C=O), 1594 (ν -C=C), 1536, 1348 (ν -NO₂).

RMN ¹H (DMSO-*d*₆, ppm): 6,92 (d, H α , $J=16$); 7,56 (d, H β , $J=16$); 7,41 – 8,09 (m, 7 H, Ar).

RMN ¹³C (DMSO-*d*₆, ppm): 124,2 – 141,7 (9 C, Ar); 121,2 (C α); 144,2 (C β); 138,3; 134,6 (C-Cl, Ar); 148,1 (C-NO₂); 188,5 (C=O).

(2E)-1-(4-fluorfenil)-3-fenilprop-2-en-1-ona (123)

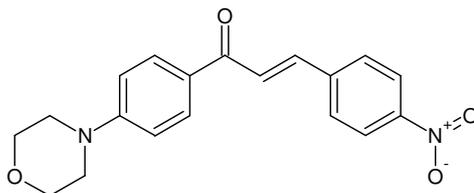
A metodologia foi similar à descrita para o composto **118**, porém utilizou-se 0,4 mL (3,3 mmol) de 4-fluoroacetofenona. O precipitado formado apresentou coloração amarelo. Duração: 3:30 h; rendimento: 80 %; R_f : 0,62; p.f.: 171,7 - 172,4 °C (KOZLOV et al., 1976, p.f.= 167 – 168 °C; BANSAL et al., 1988, p.f.=135 °C).

Fórmula molecular: $C_{15}H_{10}FNO_3$ (271,25 g/mol).

IV (Pastilha de KBr, cm^{-1})= 1670 (ν -C=O), 1598 (ν -C=C), 1510, 1342 (ν -NO₂).

RMN ¹H (DMSO-*d*₆, ppm): 7,62 (d, H α , $J=15$); 7,83 (d, H β , $J=15$); 7,18 – 8,30 (m, 8 H, Ar).

RMN ¹³C (DMSO-*d*₆, ppm): 115,9 – 140,9 (10 C, Ar); 124,3 (C α); 141,8 (C β); 164,3 e 167,6 (C-F, Ar); 148,6 (C-NO₂); 188,0 (C=O).

(2E)-1-(4-morfolinofenil)-3-fenilprop-2-en-1-ona (124)

A metodologia foi similar à descrita para o composto **118**, porém utilizou-se 0,68 g (3,3 mmol) de 4-morfolinocetofenona. O precipitado formado apresentou coloração amarelo. Duração: 10 h; rendimento: 92 %; p R_f: 0,16; p.f.: 179,7 – 181,2 °C.

Fórmula molecular: C₁₉H₁₈N₂O₄ (338,36 g/mol).

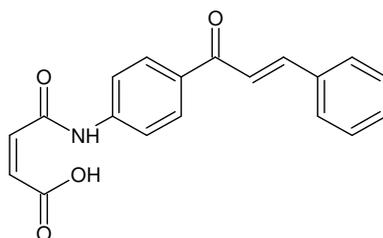
IV (Pastilha de KBr, cm⁻¹)= 1660 (ν -C=O), 1598 (ν -C=C) 1516, 1340 (ν -NO₂).

RMN ¹H (DMSO-*d*₆, ppm): 3,34 (t, 4 H, CH₂); 3,74 (t, 4 H, CH₂); 7,73 (d, H_α, J=15); 8,12 (d, H_β, J=15); 7,01 – 8,27 (4 d, 8 H, Ar).

RMN ¹³C (DMSO-*d*₆, ppm): 46,6 (2 N-CH₂); 65,8 (2 O-CH₂); 113,0 – 141,6 (10 C, Ar); 126,3 (C_α); 139,4 (C_β); 147,8 (C-NO₂); 152,3 (C-N, Ar); 186,2 (C=O).

4.1.6 Híbridos imido-chalconas:**4.1.6.1 Síntese dos ácidos âmicos**

Todas as amino-chalconas foram submetidas à agitação com excesso de anidrido maleico (1:2) utilizando éter etílico como solvente em agitação contínua a fim de se obter o ácido âmico. Todas as reações foram monitoradas por CCD, utilizando como eluente acetato de etila.

Ácido (2Z)-4-oxo-4-({4-[(2E)-3-fenilprop-2-enoil]fenil}amino)but-2-enoico (125)

Foram utilizadas quantidades equimolares de anidrido maleico (0,2 g/ 2mmol) e da

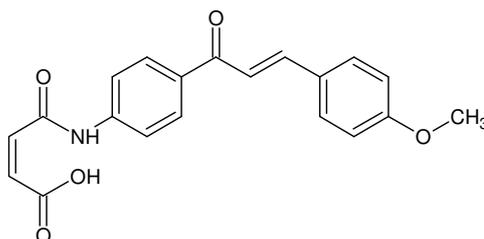
da (2E)-1-(4-aminofenil)-3-fenilprop-2-em-1-ona (**98**) (0,46 g/ 2 mmol). Os reagentes foram inicialmente dissolvidos em éter etílico e mantidos em agitação constante à temperatura ambiente até a precipitação do ácido âmico. Este foi filtrado sob vácuo, obtendo-se um produto de coloração amarela. Duração: 11 h; rendimento: 50 %; R_f : 0,30; p.f.: 183,8 - 185,9 °C (DIMMOCK, et al, 2003, p.f.= 173 - 174 °C).

IV (Pastilha de KBr, cm^{-1})= 3450 (v -COOH), 3100 (v -CONH), 1710 (v -C=O, ácido), 1649 (v -C=O, amida), 1601 (v -C=O, cetona), 1542 (v -C=C).

RMN ^1H (DMSO- d_6 , ppm): 6,38 (d, H_A , $J=12$); 6,71 (d, H_B , $J=12$); 6,92 (d, H_α , $J=15$), 7,56 (d, H_β , $J=15$), 7,22– 7,88 (m, 9 H, Ar), 10,74 (s, NH).

RMN ^{13}C (DMSO- d_6 , ppm): 120,1 – 141,7 (11 C, Ar); 121,4 (C_α), 130,7 (C_A); 130,7 (C-N, Ar); 136,2 (C_B); 146,7 (C_β), 164,3 (CONH $_2$); 166,2 (COOH); 189,0 (C=O).

Ácido (2Z)-4-({4-[(2E)-3-(4-metoxifenil)prop-2-enoil]fenil}amino)-4-oxobut-2-enoico (**126**)

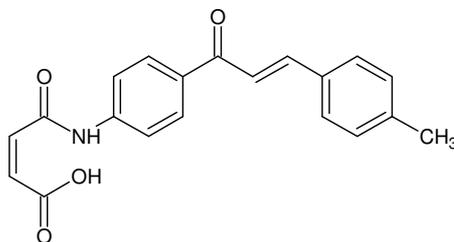


A metodologia foi similar a descrita para o composto **125**, porém utilizou-se 0,52 g (2 mmol) da (2E)-1-(4-aminofenil)-3-(4-metoxifenil)prop-2-em-1-ona (**99**). O produto final apresentou coloração amarelo-alaranjado. Duração: 15:30 h; rendimento: 90 %; R_f : 0,37; p.f.: 152,1 - 152,4 °C (DIMMOCK, et al., 2003, p.f.= 182 - 183 °C).

IV (Pastilha de KBr, cm^{-1})= 3500 (v -COOH), 3073 (v -CONH), 1700 (v -C=O, ácido), 1655 (v -C=O, amida), 1594 (v -C=O, cetona), 1540 (v -C=C).

RMN ^1H (DMSO- d_6 , ppm): 6,37 (d, H_A , $J=12$); 6,57 (d, H_B , $J=12$); 7,75 (d, H_α , $J=15$), 7,88 (d, H_β , $J=15$), 7,03 – 8,20 (4 d, 8 H, Ar), 10,74 (s, NH).

RMN ^{13}C (DMSO- d_6 , ppm): 114,7 – 131,4 (10 C, Ar); 119,8 (C_α), 132,1 (C_A); 133,7 (C-N, Ar); 143,4 (C_B); 143,8 (C_β), 161,9 (C-OMe, Ar); 164,2 (CONH $_2$); 167,2 (COOH); 187,8 (C=O).

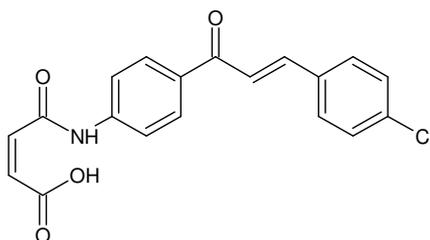
Ácido (2Z)-4-({4-[(2E)-3-(4-metilfenil)prop-2-enoila]fenil}amino)-4-oxobut-2-enoico (127)

A metodologia foi similar a descrita para o composto **125**, porém utilizou-se 0,48 g (2 mmol) da (2E)-1-(4-aminofenil)-3-(4-metilfenil)prop-2-em-1-ona (**100**). O produto final apresentou coloração amarelo claro. Duração: 16 h; rendimento: 88 %; R_f : 0,41; p.f.: 172,5 – 173,2 °C (DIMMOCK, et al., 2003, p.f.= 205 - 206 °C).

IV (Pastilha de KBr, cm^{-1})= 3500 (v -COOH), 3073 (v -CONH), 1701 (v -C=O, ácido), 1655 (v -C=O, amida), 1594 (v -C=O, cetona), 1540 (v -C=C).

RMN ^1H (DMSO- d_6 , ppm): 2,35 (s, CH_3); 6,35 (d, H_A , $J=12$); 6,51 (d, H_B , $J=12$); 7,69 (d, H_α , $J=15$), 7,88 (d, H_β , $J=15$), 7,26 – 8,17 (4 d, 8 H, Ar), 10,75 (s, NH).

RMN ^{13}C (DMSO- d_6 , ppm): 21,1 (CH_3); 118,8 – 132,8 (10 C, Ar); 120,9 (C_α), 130,4 (C_A); 131,5 (C_B); 140,6 (C-Me, Ar); 143,1 (C-N, Ar); 143,5 (C_β), 163,7 (CONH_2); 167,0 (COOH); 187,6 (C=O).

Ácido (2Z)-4-({4-[(2E)-3-(4-clorofenil)prop-2-enoila]fenil}amino)-4-oxobut-2-enoico (128)

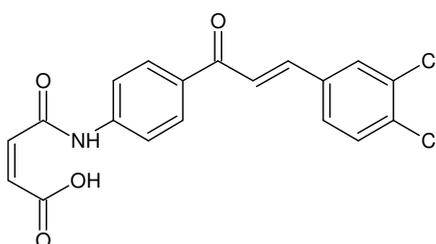
A metodologia foi similar a descrita para o composto **125**, porém utilizou-se 0,53 g/ 2 mmol da (2E)-1-(4-aminofenil)-3-(4-clorofenil)prop-2-em-1-ona (**101**). O produto final apresentou coloração amarelo claro. Duração: 5 h; rendimento: 61 %; R_f : 0,38; p.f.: 186,0 - 187,7 °C (DIMMOCK, et al., 2003, p.f.= 208 - 209 °C).

IV (Pastilha de KBr, cm^{-1})= 3480 (v -COOH), 3300 (v -CONH), 1737 (v -C=O, ácido), 1661 (v -C=O, amida), 1603 (v -C=O, cetona), 1549 (v -C=C).

RMN ^1H (DMSO- d_6 , ppm): 6,35 (d, H_A , $J=12$); 6,51 (d, H_B , $J=12$); 7,71 (d, H_α , $J=16$), 7,98 (d, H_β , $J=16$), 7,51 – 8,19 (4 d, 8 H, Ar), 10,68 (s, NH).

RMN ^{13}C (DMSO- d_6 , ppm): 118,8 – 132,5 (10 C, Ar); 122,7 (C_α), 130,3 (C_A); 133,7 (C-Cl, Ar); 135,0 (C_B); 141,9 (C-N, Ar); 143,2 (C_β), 163,7 (CONH $_2$); 166,9 (COOH); 187,5 (C=O).

Ácido (2Z)-4-({4-[(2E)-3-(3,4-diclorofenilprop-2-enoil)]fenil}amino)-4-oxobut-2-enoico (129)



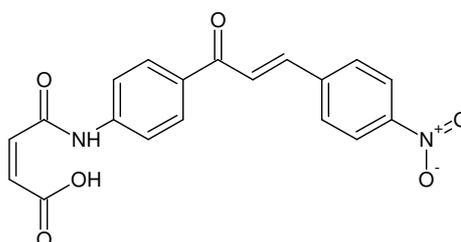
A metodologia foi similar a descrita para o composto **125**, porém utilizou-se 0,60 g (2 mmol) da (2E)-1-(4-aminofenil)-3-(3,4-diclorofenil)prop-2-em-1-ona (**102**). O produto final apresentou coloração amarelo claro. Duração: 20:30 h; rendimento: 80 %; R_f : 0,40; p.f.: 187,9 – 189,5 $^\circ\text{C}$ (DIMMOCK, et al., 2003, p.f.= 223 - 224 $^\circ\text{C}$).

IV (Pastilha de KBr, cm^{-1})= 3500 (v -COOH), 3073 (v -CONH), 1700 (v -C=O, ácido), 1667 (v -C=O, amida), 1594 (v -C=O, cetona), 1540 (v -C=C).

RMN ^1H (DMSO- d_6 , ppm): 6,36 (d, H_A , $J=12$); 6,52 (d, H_B , $J=12$); 7,68 (d, H_α , $J=15$), 8,05 (d, H_β , $J=15$), 7,69 – 8,28 (m, 7 H, Ar), 10,73 (s, NH).

RMN ^{13}C (DMSO- d_6 , ppm): 118,7 – 132,6 (9 C, Ar); 124,0 (C_α), 130,0 (C_A); 130,9 (C-Cl, Ar); 131,4 (C-Cl, Ar); 135,7 (C_B); 140,6 (C_β), 143,3 (C-N, Ar); 163,7 (CONH $_2$); 166,9 (COOH); 187,3 (C=O).

Ácido (2Z)-4-({4-[(2E)-3-(4-nitrofenil)prop-2-enoil]fenil}amino)-4-oxobut-2-enoico (130)



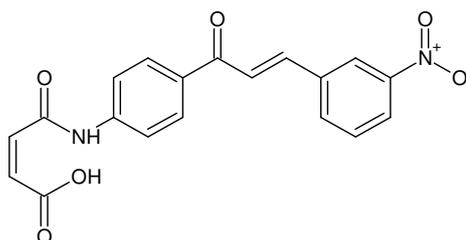
A metodologia foi similar a descrita para o composto **125**, porém utilizou-se 0,55 g (2 mmol) da (2E)-1-(4-aminofenil)-3-(4-nitrofenil)prop-2-em-1-ona (**103**). O produto final apresentou coloração amarelo escuro. Duração: 18 h; rendimento: 65 %; R_f: 0,34; p.f.: 189,8 - 190,6 °C (DIMMOCK, et al., 2003, p.f.= 184 - 186 °C).

IV (Pastilha de KBr, cm⁻¹)= 3500 (ν -COOH), 3073 (ν -CONH), 1724 (ν -C=O, ácido), 1655 (ν -C=O, amida), 1594 (ν -C=O, cetona), 1538 (ν -C=C).

RMN ¹H (DMSO-*d*₆, ppm): 6,35 (d, H_A, *J*= 12); 6,50 (d, H_B, *J*= 12); 7,78 (d, H_α, *J*= 15), 8,23 (d, H_β, *J*= 15), 7,81 – 8,29 (m, 8H, Ar), 10,69 (s, NH).

RMN ¹³C (DMSO-*d*₆, ppm): 118,9 – 131,5 (10 C, Ar); 126,1 (C_α), 132,3 (C_A); 140,6 (C_B); 141,3 (C_β), 143,5 (C-N, Ar); 148,0 (C-NO₂, Ar); 163,8 (CONH); 167,0 (COOH); 187,4 (CO).

Ácido (2Z)-4-({4-[(2E)-3-(3-nitrofenil)prop-2-enoil]fenil}amino)-4-oxobut-2-enoico (**131**)

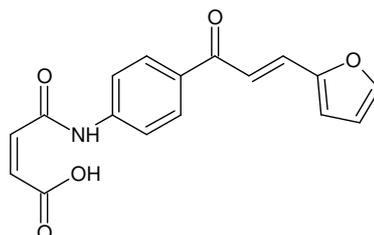


A metodologia foi similar a descrita para o composto **125**, porém utilizou-se 0,55 g (2 mmol) da (2E)-1-(4-aminofenil)-3-(3-nitrofenil)prop-2-em-1-ona (**104**). O produto final apresentou coloração amarelo claro. Duração: 13:20 h; rendimento: 70 %; R_f: 0,32; p.f.: 200,0 – 201,4 °C.

IV (Pastilha de KBr, cm⁻¹)= 3500 (ν -COOH), 3073 (ν -CONH), 1711 (ν -C=O, ácido), 1655 (ν -C=O, amida), 1594 (ν -C=O, cetona), 1536 (ν -C=C).

RMN ¹H (DMSO-*d*₆, ppm): 6,36 (d, H_A, *J*= 12); 6,51 (d, H_B, *J*= 12); 7,83 (d, H_α, *J*=15), 8,16 (d, H_β, *J*= 15), 7,71 – 8,78 (m, 8H, Ar), 10,69 (s, NH).

RMN ¹³C (DMSO-*d*₆, ppm): 118,8 - 140,9 (8 C, Ar); 124,7 (C_α), 131,5 (C_A); 136,7 (C_B); 143,4 (C_β), 148,4 (C-N, Ar); 163,7 (C-NO₂, Ar); 166,7 (CONH); 166,9 (COOH); 187,4 (CO).

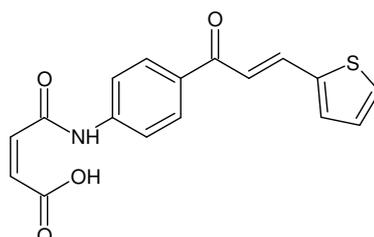
Ácido (2Z)-4-({4-[(2E)-3-furilprop-2-enoil]fenil}amino)-4-oxobut-2-enoico (132)

A metodologia foi similar a descrita para o composto **125**, porém utilizou-se 0,44 g (2 mmol) da (2E)-1-(4-aminofenil)-3-(2-furil)prop-2-em-1-ona (**106**). O produto final apresentou coloração laranja. Duração: 24 h; rendimento: 87 %; R_f : 0,27; p.f.: 168,7 - 169,8 °C.

IV (Pastilha de KBr, cm^{-1})= 3500 (v -COOH), 3073 (v -CONH), 1700 (v -C=O, ácido), 1655 (v -C=O, amida), 1594 (v -C=O, cetona), 1540 (v -C=C).

RMN ^1H (DMSO- d_6 , ppm): 6,35 (d, H_A , $J = 12$); 6,50 (d, H_B , $J = 12$); 7,53 (d, H_α , $J = 15$); 7,58 (d, H_β , $J = 15$); 7,79 – 8,10 (2 dd, 4H, Ar); 6,69 – 7,91 (m, 3 H, furil); 10,72 (s, NH).

RMN ^{13}C (DMSO- d_6 , ppm): 113,1 – 151,22 (8 C, Ar); 118,6 (C_α), 130,0 (C_A); 132,6 (C_B); 130,4 (C_β), 143,1 (C-N, Ar); 151,2 (C-furil, Ar); 163,7 (CONH); 167,0 (COOH); 187,0 (CO).

Ácido (2Z)-4-({4-[(2E)-3-tienilprop-2-enoil]fenil}amino)-4-oxobut-2-enoico (133)

A metodologia foi similar a descrita para o composto **125**, porém utilizou-se 0,47 g (2 mmol) da (2E)-1-(4-aminofenil)-3-(2-tienil)prop-2-em-1-ona (**107**). O produto final apresentou coloração amarelo escuro. Duração: 24 h; rendimento: 83 %; R_f : 0,29; p.f.: 175,5-177,2 °C.

IV (Pastilha de KBr, cm^{-1})= 3500 (v -COOH), 3073 (v -CONH), 1700 (v -C=O, ácido), 1655 (v -C=O, amida), 1594 (v -C=O, cetona), 1540 (v -C=C).

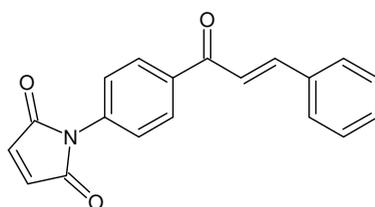
RMN ^1H (DMSO- d_6 , ppm): 6,34 (d, H_A , $J=12$); 6,51 (d, H_B , $J=12$); 7,57 (d, H_α , $J=15$); 7,90 (d, H_β , $J=15$); 7,79 – 8,12 (2 dd, 4H, Ar); 7,17 – 7,78 (m, 3 H, furil); 10,66 (s, NH).

RMN ^{13}C (DMSO- d_6 , ppm): 118,8 – 131,6 (8 C, Ar); 120,3 (C_α), 129,8 (C_A); 132,7 (C_B); 136,2 (C_β), 139,8 (C-tienil, Ar); 143,1 (C-N, Ar); 163,7 (CONH); 167,0 (COOH); 187,1 (CO).

Síntese das imidas cíclicas

Os ácidos âmicos obtidos foram submetidos à refluxo suave com ácido acético, em quantidade suficiente para dissolver cada composto a fim de ciclizá-los e formar a imida cíclica. As reações foram monitoradas por CCD utilizando como eluente hexano:acetato de etila (70:30).

1-{4-[(2E)-3-fenilprop-2-enoil]fenil}-1H-pirrol-2,5-diona (134)



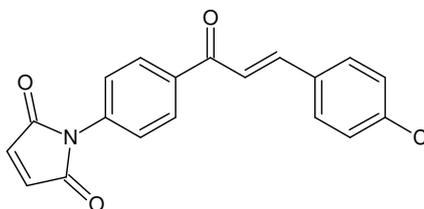
Foi utilizado 0,20 g (0,60 mmol) do ácido (2Z)-4-oxo-4-({4-[(2E)-3-fenilprop-2-enoil]fenil}amino)but-2-enoico (**125**) e ácido acético em quantidade suficiente para dissolver o mesmo. A reação foi mantida em refluxo suave por 10:30 h. Um precipitado insolúvel em ácido acético se formou no balão, e este foi filtrado e purificado por CC utilizando como eluente hexano:acetato de etila (80:20). O produto final apresentou a coloração amarelo claro. Rendimento: 77 %; R_f : 0,54; p.f.: 207,7 – 208,9 $^\circ\text{C}$.

IV (Pastilha de KBr, cm^{-1})= 1706 (v -C=O, imida), 1688 (v -C=O, imida), 1609 (v -C=C).

RMN ^1H (DMSO- d_6 , ppm): 7,24 (s, 2H, imida); 7,78 (d, H_α , $J=15$), 7,98 (d, H_β , $J=15$), 7,46 – 8,29 (m, 9 H, Ar).

RMN ^{13}C (DMSO- d_6 , ppm): 122,0 (C α), 126,3 – 135,7 (11 C, Ar); 134,9 (2 =C, imida); 144,3 (C β), 136,2 (C-N, Ar); 169,5 (2 CO-N); 188,4 (CO).

1-{4-[(2E)-3-(4-clorofenil)prop-2-enoila]fenil}-1H-pirrol-2,5-diona (135)



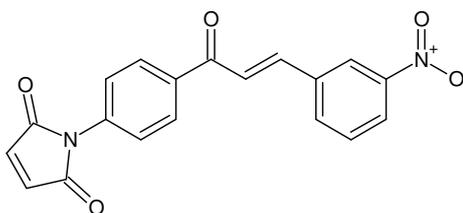
A metodologia foi similar ao composto **134**, porém foi utilizado 0,25 g/ 0,95 mmol do ácido (2Z)-4-({4-[(2E)-3-(4-clorofenil)prop-2-enoila]fenil}amino)-4-oxobut-2-enoico (**128**). O produto final apresentou coloração amarelo claro. Duração:10:50 h; rendimento: 35 %; R_f: 0,56; p.f.: 208,2 – 209,6 °C.

IV (Pastilha de KBr, cm^{-1})= 1717 (v -C=O, imida), 1658 (v -C=O, imida), 1609 (v -C=C).

RMN ^1H (CDCl_3 , ppm): 6,91 (s, 2H, imida); 7,49 (d, H α , $J=15$), 7,78 (d, H β , $J=15$), 7,39 – 8,13 (m, 9 H, Ar).

RMN ^{13}C (CDCl_3 , ppm): 122 – 136,6 (10 C, Ar); 122,1 (C α), 134,4 (2 =C, imida); 135,3 (C-Cl, Ar); 136,8 (C-N, Ar); 143,8 (C β), 169,0 (2 CO-N); 189,2 (CO).

1-{4-[(2E)-3-(3-nitrofenil)prop-2-enoila]fenil}-1H-pirrol-2,5-diona (136)



A metodologia foi similar ao composto **134**, porém foi utilizado 0,22 g (0,60 mmol) do ácido (2Z)-4-({4-[(2E)-3-(3-nitrofenil)prop-2-enoil]fenil}amino)-4-oxobut-2-enoico (**131**). O produto final apresentou coloração amarelo claro. Duração: 12 h; rendimento: 40 %; R_f: 0,41; p.f.: 232,8 – 234,9 °C.

IV (Pastilha de KBr, cm^{-1})= 1715 (v -C=O, imida), 1658 (v -C=O, imida), 1609 (v -C=C).

RMN ^1H (DMSO- d_6 , ppm): 7,24 (s, 2H, imida); 7,89 (d, H α , $J = 15$), 8,19 (d, H β , $J = 15$), 7,58 – 8, 79 (m, 9 H, Ar).

RMN ^{13}C (DMSO- d_6 , ppm): 123,0 – 135,9 (10 C, Ar); 124,7 (C α), 134,9 (2 =C, imida); 136,5 (C-N, Ar); 141,6 (C β), 148,4 (C-NO $_2$, Ar); 169,5 (2 CO-N); 188,3 (CO).

OBS: Os compostos híbridos imido-chalconas **125** (ácido âmico) e **134** (imida cíclica) foram inicialmente sintetizados por três caminhos convergentes a fim de se avaliar a melhor rota sintética para a sua obtenção.

a) Rota sintética 1

Esta rota consistiu de três etapas distintas, iniciando com a formação do ácido âmico entre o anidrido maleico (0,23 g/ 2 mmol) e a 4-aminoacetofenona (0,32 g/ 2 mmol), utilizando éter etílico como solvente e agitação contínua por 24 horas. O produto foi obtido por precipitação com 96,5 % de rendimento. Após a formação do ácido âmico, a quantidade de 0,20 g/ 0,8 mmol foi dissolvida em ácido acético e submetida a refluxo suave por 10 horas e 30 minutos obtendo-se a imida cíclica com 75,2 % de rendimento e finalmente na última etapa a imida cíclica formada foi submetida à agitação contínua a temperatura ambiente com benzaldeído e uma solução de NaOH (50 %) por 22 horas. O produto final 1-{4-[(2*E*)-3-fenilprop-2-enoil]fenil}-1*H*-pirrol-2,5-diona (**134**), foi formado em uma granulometria muito fina e não pode ser quantificado, pois ficou totalmente aderido ao papel filtro durante sua filtração.

b) Rota sintética 2

Após obter-se o ácido âmico (0,21 g/ 0,9 mmol), pela mesma metodologia descrita anteriormente, este foi dissolvido em metanol, na presença de hidróxido de sódio a 50% e quantidade equimolar de benzaldeído (0,0967 g/ 0,9 mmol). A mistura

foi submetida à agitação magnética a temperatura ambiente por 23 horas, formando assim o ácido âmico híbrido ácido (2Z)-4-oxo-4-({4-[(2E)-3-fenilprop-2-enoil]fenil}amino)but-2-enoico (**125**), com 60 % de rendimento. Este foi então submetido a refluxo na quantidade de 0,19 g com ácido acético o suficiente para solubilizar o produto, e após 9 horas obteve-se 62 % do híbrido (**134**).

c) Rota sintética 3

Nesta rota iniciou-se pela síntese da 4-aminochalcona (**98**). Esta foi submetida à agitação com anidrido maleico em quantidades equimolares (0,078 g/ 8 mmol e 0,185 g/ 8 mmol respectivamente), utilizando éter etílico como solvente em agitação contínua por 11 horas a fim de se obter o ácido (**125**) com rendimento de 50 %. O ácido acético foi utilizado em quantidade suficiente para dissolver 0,20 g/ 0,60 mmol de **125**, mantido por 10 horas e 30 minutos em refluxo, a fim de formar a imida. A reação apresentou rendimento de 77 % na formação do produto (**134**).

4.2 CÁLCULOS COMPUTACIONAIS

Os cálculos dos valores de HOMO e LUMO foram feitos utilizando o método hamiltoniano AM1 do programa HyperChem versão 7.52 (licença nº 12-750-1501712345).

Os valores do peso molecular (PM) e Log P foram obtidos do programa Chemsketch 10.0 freeware, disponível no site: www.acdlabs.com/download/.

Os valores dos aceptores de ligação hidrogênio (N + O) e doadores de ligação hidrogênio (NH + OH) foram obtidos a partir do programa free molinspiration on line, através do JME Editor, cortesia de Peter Ertl da Novartis, disponível no site: <http://www.molinspiration.com/cgi-bin/properties>.

4.3 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTINOCICEPTIVA

As análises de atividade antinociceptiva foram realizadas no Laboratório de Pesquisa do curso de farmácia da UNIVALI com a participação dos acadêmicos Aleandra Virgilina Meira e Mauricio Fracasso.

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. Em todos os modelos diferentes grupos de camundongos foram pré-tratados com os compostos sintetizados 30 min antes da realização do teste, quando os compostos foram injetados via i.p, e 1 hora antes, quando os compostos foram injetados pela via oral. Os animais do grupo controle receberam somente veículo (soro fisiológico e tween 80).

Os procedimentos da pesquisa envolvendo animais seguiram os princípios internacionais orientados para a pesquisa biomédica (ZIMMERNANN, 1996). A presente pesquisa buscou atender todos os princípios éticos postulados pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA) e a lei n.º 6638, de 08 de maio de 1979, mais especificamente o artigo 4º, parágrafo 1 e 2. Considerando esses aspectos éticos, os animais foram sacrificados por deslocamento cervical ou câmara de CO₂, a fim de evitar ao máximo o sofrimento desnecessário. Todos os experimentos foram aprovados pela Comissão de Ética em Pesquisa da UNIVALI.

4.3.1 Modelo de contorções abdominais induzidas pelo ácido acético

Foi aplicado intraperitonealmente (i.p.) ácido acético (0,6 % (v/v), dissolvido em NaCl 0,9% (p/v) previamente tamponado em pH 7,4 numa dose de

0,10 mL/10 g de peso. Quantificaram-se as contorções cumulativamente durante 20 minutos e o indicativo de antinocicepção foi a redução da resposta nociceptiva à contorção, em relação ao grupo controle.

Basicamente as contorções abdominais consistem na contração da musculatura abdominal juntamente com a extensão de uma das patas posteriores, de acordo com o método descrito anteriormente (COLLIER et al., 1968; SOUZA et al., 2003).

Foi realizada a DI_{50} apenas dos compostos mais ativos, selecionados pela via i.p, avaliados em doses inferiores a 10 mg/kg. Este modelo também foi realizado com administração por via oral em doses inferiores a 300 mg/kg.

Este mesmo modelo foi também realizado com tempos de espera de 1, 2 e 3 horas. Este teste é denominado “*time course*” e foi realizado apenas para as amino e amido- chalconas

4.3.2 Modelo de dor induzida pela formalina

Os camundongos receberam via intraplantar 20 μ L de solução formalina a 2,5 % (v/v), e foram imediatamente colocados sob um funil de vidro invertido ao lado de um espelho para auxiliar na observação. Foi registrada durante os 5 minutos iniciais a dor de origem neurogênica, expressa pelo tempo gasto (latência) com o comportamento de lambar ou morder a pata injetada. Decorridos 10 minutos ocorreu o início da segunda fase do processo doloroso, na qual, foi observada a dor inflamatória durante 15 minutos de acordo com o método descrito anteriormente (HUNSKAAR; FASMER; HOLE, 1985). Após o experimento os animais foram sacrificados por deslocamento cervical e, ambas as patas posteriores (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 injetada.

4.3.3 Modelo de dor induzida pela capsaicina

Este modelo de dor induzida pela capsaicina foi desenvolvido por SAKURADA e colaboradores (1992). Durante o teste os animais inicialmente passaram por um período de adaptação de 20 minutos (sob um funil de vidro). Os

animais receberam pela via intraplantar 20 μ L de capsaicina (1,6 μ g / pata) em uma das patas posteriores. Em seguida, os animais foram novamente colocados sob o funil de vidro e então foi cronometrado o tempo em que permaneceram mordendo ou lambendo a pata injetada por um período de 5 minutos, sendo este o indicativo de dor.

4.3.4 Modelo de dor induzida pelo glutamato

Para avaliar a possível interação dos compostos sintetizados com o sistema glutamatérgico, foi investigado se estes compostos antagonizam ou não a dor induzida pelo glutamato. O procedimento utilizado foi similar ao descrito anteriormente (BEIRITH et al., 2002).

Um volume de 20 μ L de solução de glutamato (30 μ mol/pata), feita em salina tamponada com fosfato (PBS, composição mol/L: NaCl 137, KCl 2,7 e tampão fosfato 10), foi injetada pela via intraplantar na pata posterior direita.

Em seguida, os animais foram colocados individualmente em funis de vidro de 20 cm de diâmetro e observados por 15 minutos. O tempo gasto em lamber ou morder a pata injetada foi cronometrado e considerado indicativo de dor.

4.3.5 Modelo de sensibilidade térmica (teste da placa quente)

Os animais foram pré-selecionados, 24 horas antes do teste, para verificação do limiar nociceptivo. Os camundongos foram colocados sobre uma placa quente previamente aquecida a 56 ± 1 °C. O tempo em segundos em que cada animal levou 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 aquecimento (EDDY; LEIMBACK, 1953; SOUZA et al., 2003). Também foi realizado um controle positivo do teste com animais submetidos ao tratamento com morfina (5mg/kg) administrado pela via subcutânea.

4.3.6 Análise estatística

Os resultados foram apresentados como média \pm erro padrão da média, exceto a DI_{50} (dose que reduz a resposta para 50% em relação ao grupo controle), que foi apresentado como média geométrica acompanhada de seu respectivo limite de confiança em nível de 95%. As análises estatísticas dos resultados foram realizadas através do programa estatístico Graphpad Instat, por meio de análise de variância seguida pelo teste de múltipla comparação utilizando-se o método de Dunnett, quando apropriado. Valores de $p < 0,05$ foram considerados como indicativos de significância. A DI_{50} foi estimada a partir de experimentos individuais.

4.4 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA

As análises de atividade antimicrobiana foram realizadas no Laboratório de Pesquisa em Microbiologia do curso de Farmácia da UNIVALI, pelas alunas do Programa de Mestrado em Ciências Farmacêuticas, Taline Tristão Canto e Fernanda Mahle, sob orientação do professor Dr. Alexandre Bella Cruz.

Material microbiológico

Os microrganismos utilizados como cepas padrões para a realização dos ensaios de atividade antimicrobiana foram as bactérias gram positivas (*Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus saprophyticus* e *Streptococcus agalactiae*), as bactérias gram negativas (*Proteus mirabilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium* e *Enterobacter cloacae*), os fungos leveduriformes (*Candida albicans*, *Candida krusei*, *Cryptococcus neoformans* e *Saccharomyces cerevisiae*), os fungos filamentosos oportunistas (*Aspergillus niger*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus fumigatus*, *Rhizopus sp.*) e os fungos filamentosos dermatófitos (*Microsporum canis*, *Microsporum gypseum*, *Trichophyton mentagrophytes* e *Trichophyton rubrum*).

As bactérias e os fungos leveduriformes foram fornecidos pela "Fundação Tropical de Pesquisa e Tecnologia André Tosello", Campinas, SP, e os fungos filamentosos foram fornecidos pelo "Centro de Referencia Micológica (CEREMIC)" da Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas, Suipacha, Rosario, Argentina.

4.4.1 Triagem de substâncias com atividade antimicrobiana

O método consistiu em preparar a diluição das substâncias em meios de cultivo próprios, inoculados com uma alça calibrada de 1 μ L das bactérias (aproximadamente $1,5 \times 10^5$ células) (NCCLS, 1993), fungos leveduriformes (1 a 5×10^3 células/mL), (ESPINEL-INGROFF; PFALLER, 1995), ou fungos filamentosos (1 a 5×10^4 células/mL) (LOP et al., 2000). Cada microrganismo em estudo, foi incubado e posteriormente verificado se houve inibição do crescimento dos respectivos microrganismos.

Os compostos foram dissolvidos em solução de dimetilsufóxido (DMSO) e água destilada estéril (4:6) e posteriormente adicionadas em frascos com capacidade para 5 mL na concentração de 10 a 100 μ g/mL. Em seguida, a cada frasco foi adicionado 1 mL de meio ágar Mueller-Hinton para as bactérias e 1 mL de ágar Sabouraud dextrosado para os fungos leveduriformes e filamentosos, seguido de imediata homogeneização da mistura. Após a solidificação dos respectivos meios de cultura, os microrganismos previamente ativados, foram inoculados nas séries correspondentes, sendo então, incubados a 35 °C por 18 a 24 horas para as bactérias e 35 °C por 24 a 48 horas para os fungos leveduriformes, e à temperatura ambiente (25 °C) por 5 a 15 dias para os fungos filamentosos.

Após o período de incubação, foram realizadas leituras através da verificação visual do crescimento microbiano. Para interpretação dos resultados foi considerada ativa a substância que apresentou inibição total do crescimento microbiano.

Durante os testes foram utilizados controles, com os meios de culturas e o solvente utilizado na solubilização dos compostos a fim de verificar seu efeito sobre os microrganismos. A concentração final de DMSO nos ensaios não excedeu 2%. A leitura dos resultados foi considerada válida somente quando houve crescimento microbiano nos controles. Os ensaios foram repetidos por quatro vezes.

4.4.2 Ensaio de toxicidade com *Artemia salina*

O ensaio de toxicidade dos compostos sintetizados foi realizado conforme o método descrito por Meyer e colaboradores (1982) utilizando o microcrustáceo *Artemia salina* Leach. Os compostos foram dissolvidas em solução de DMSO e água marinha sintética.

Ovos de *A. salina*, adquiridos comercialmente, foram colocados em um béquer contendo água marinha sintética com pH ajustado entre 8 e 9, e incubados em banho-maria entre 20°C a 25°C, por 48 horas para eclodirem. Após este período, em microplacas (200 µL), foram preparadas diferentes concentrações de compostos, que variaram de 2 a 1000 µg/mL e a cada uma delas foram adicionados entre 6 e 12 larvas do microcrustáceo, e novamente incubadas em banho-maria (20 °C a 25 °C) por 24 horas.

Após este período, o número de microcrustáceos vivos e mortos em cada diluição (concentração) foi contado, com auxílio de um estereoscópios binocular E. Leitz Wetzlar (20 vezes), obtendo-se os resultados. O ensaio foi realizado em triplicata. Como controle positivo, foi utilizado uma solução de dicromato de potássio nas concentrações de 400, 600 e 800 µg/mL e como controle negativo 200 µL de água marinha. Foram acrescentados controles com o solvente utilizado para a dissolução das amostras (a concentração final de DMSO não ultrapassou 5 %).

A leitura foi validada somente quando nos controles positivos foi observada a morte e no controle negativo a sobrevivência de todos os indivíduos.

Para o cálculo final da DL₅₀ e seu respectivo intervalo de confiança de 95 % utilizou-se o método de Próbitos de análise, que é definido como a concentração necessária para causar a morte de 50 % das larvas de *Artemia salina*, no período de 24 horas.

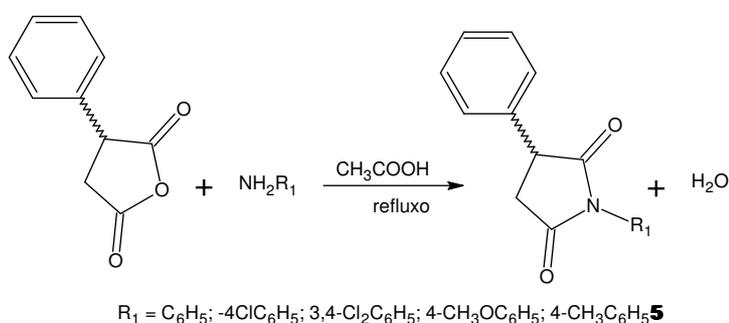
Os compostos foram considerados altamente tóxicos quando a DL₅₀ foi menor que 80 µg/mL; entre 80 µg/mL e 250 µg/mL foram considerados moderadamente tóxicos; e com DL₅₀ maior que 250 µg/mL, com baixa toxicidade ou não tóxicos (DOLABELA, 1997; PARRA et al., 2001).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 IMIDAS E DERIVADOS

5.1.1 Síntese dos derivados 3-fenilsuccinimidas

Os derivados 3-fenilsuccinimidas foram sintetizados, utilizando-se quantidades equimolares do anidrido 3-fenilsuccínico e das aminas aromáticas, diretamente sob refluxo em ácido acético (Esquema 1). Devido à pequena quantidade de reagente disponível para estas reações optou-se em sintetizar apenas as imidas cíclicas (produto final), sem isolar os intermediários ácidos âmicos. Além disso, a escolha dos substituintes seguiu a indicação proposta por Topliss (4-CH₃; 4-OCH₃; 4-Cl; 3,4-Cl₂; H), o qual consiste em um modelo não estatístico utilizado para prever quais grupos substituintes pode aumentar significativamente à atividade biológica (TOPLISS, 1977; 1993). Yunes e colaboradores (2002) publicaram o método manual modificado de Topliss no qual é possível prever quantitativamente o aumento da potência que pode ser obtida com um determinado substituinte, e analisar o efeito estérico (Es) e sua combinação com parâmetros que medem os efeitos hidrofóbico (π) e eletrônico (σ). Assim, com a avaliação biológica destes compostos pretendeu-se prever a possível atividade dos demais compostos da série, e futuramente validar este método utilizando os substituintes selecionados da correlação.



Esquema 1. Síntese das 3-fenilsuccinimidas substituídas.

Todas as reações apresentaram rendimentos moderados a satisfatórios (30 – 60%), e na Tabela 1 são citados os dados reacionais dos derivados obtidos. Contudo a síntese do composto **79** foi a única que apresentou uma reação secundária significativa, ocorrendo a acetilação da dicloroanilina pelo ácido acético com a formação do composto N-(3,4-diclorofenil)acetamida, o qual não foi possível separar por recristalização em ciclohexano, pois o composto também recristalizava neste solvente, sendo necessária a purificação por cromatografia em coluna utilizando como eluentes hexano:acetato de etila em polaridade crescente.

Os demais compostos foram todos recristalizados em ciclohexano e a pureza monitorada por cromatografia em camada delgada. O fator de retenção foi calculado utilizando como eluente hexano: acetato de etila (70:30).

Tabela 1. Dados analíticos dos derivados 3-fenilsuccinimidas.

Radical —X	Código	Tempo reacional (h)	Rendimento (%)	Ponto de fusão (°C)	Fator de retenção (R _f)	Inédito (i)
H	76	2:00	40,4	141,6 – 142,4	0,59	-
4-CH ₃	77	3:00	56,0	141,5 – 142,0	0,62	-
4-Cl	78	3:30	35,0	173,0 – 174,9	0,63	-
3,4-Cl ₂	79	4:00	30,0	149,6 – 151,2	0,66	i
4-OCH ₃	80	6:00	60,3	172,3 - 172,9	0,47	-

Em uma extensiva busca na literatura, foram encontradas as substâncias **76** e **78** já referenciadas como produtos de reação (MUSTAFA, et al. 1961; LUCKASOBBSTEL; ZEJC; OBNISKA, 1977), embora sintetizados partir da maleimida, por introdução do grupo aromático na dupla ligação, e não como relatado neste trabalho a partir do anidrido 3-fenilsuccínico. Além disso, a substância **77** foi utilizada apenas

como reagente para outras reações (ICHIMURA; WATANABE; OCHI, 1980). Para comparação dos demais derivados não foram encontrados dados comparativos.

A substância **77** foi selecionada para uma análise mais detalhada desta classe de compostos. No espectro de infravermelho verifica-se a presença de uma deformação axial em 1709 cm^{-1} referente às carbonilas da função imida. As bandas dos anéis aromáticos são encontradas na região de baixa frequência, em 701 e 774 cm^{-1} devido à deformação angular fora do plano das ligações C-H do anel, e a deformação angular em 1200 cm^{-1} é referente a ligação C-N. Observam-se ainda, vibrações de esqueleto envolvendo a deformação axial das ligações carbono-carbono do anel em 1403 e 1515 cm^{-1} (Figura 2).

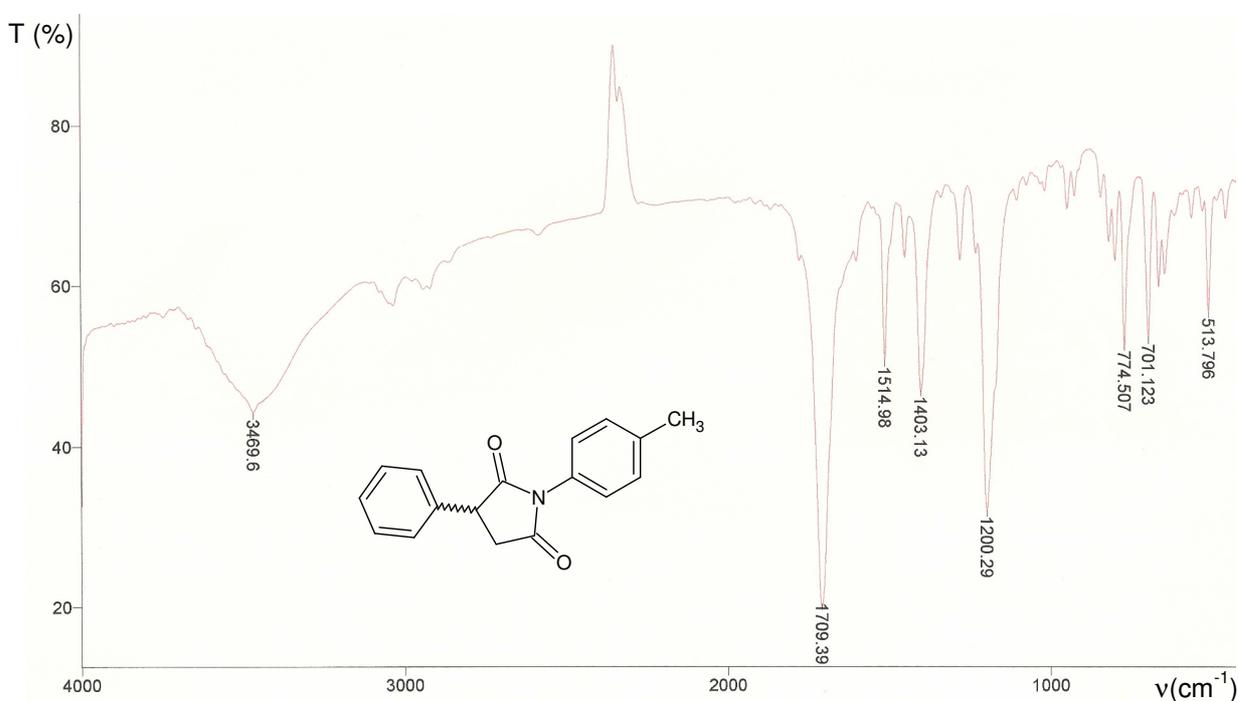


Figura 2. Espectro de Infravermelho da 1-(4-metilfenil)-3-fenilpirrolidina-2,5-diona (**77**) (Pastilha de KBr, cm^{-1}).

No espectro de RMN ^1H (Figura 3) são evidenciados um simpleto em $2,38$ ppm referente aos hidrogênios da metila, e três dupletos de dupletos referentes aos hidrogênios metilênicos e metínico do anel succinimídico que formam um sistema ABX. O hidrogênio X ($\delta 4,17$ ppm) é desblindado em comparação com o hidrogênio A ($\delta 2,98$ ppm) e B ($\delta 3,35$ ppm), devido a sua relativa proximidade com o anel aromático. O hidrogênio B é desdobrado pelo hidrogênio A ($J_{AB} = 18$ Hz) e pelo hidrogênio X ($J_{BX} = 9$ Hz). O hidrogênio A é desdobrado pelo hidrogênio B ($J_{AB} = 18$

Hz) e pelo hidrogênio X ($J_{AX} = 3$ Hz). Os hidrogênios aromáticos podem ser observados nas regiões de 7,18 a 7,42 ppm.

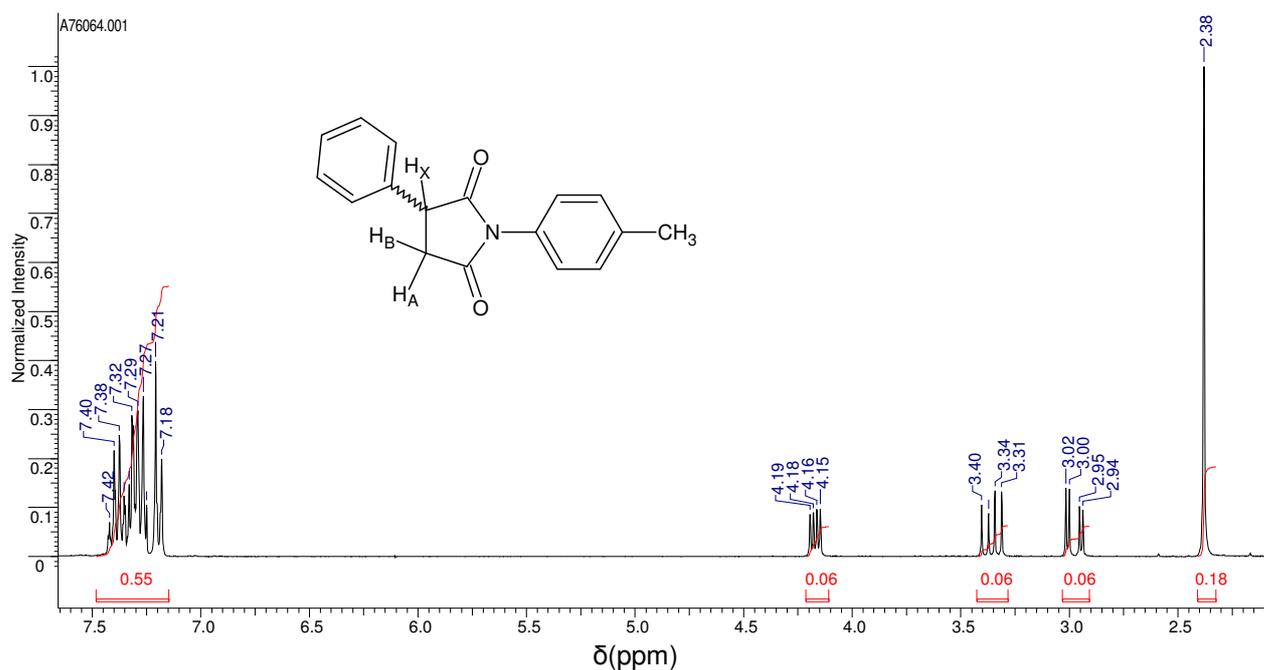


Figura 3. Espectro de RMN ^1H da 1-(4-metilfenil)-3-fenilpirrolidina-2,5-diona (**77**) (CDCl_3 , 300 MHz).

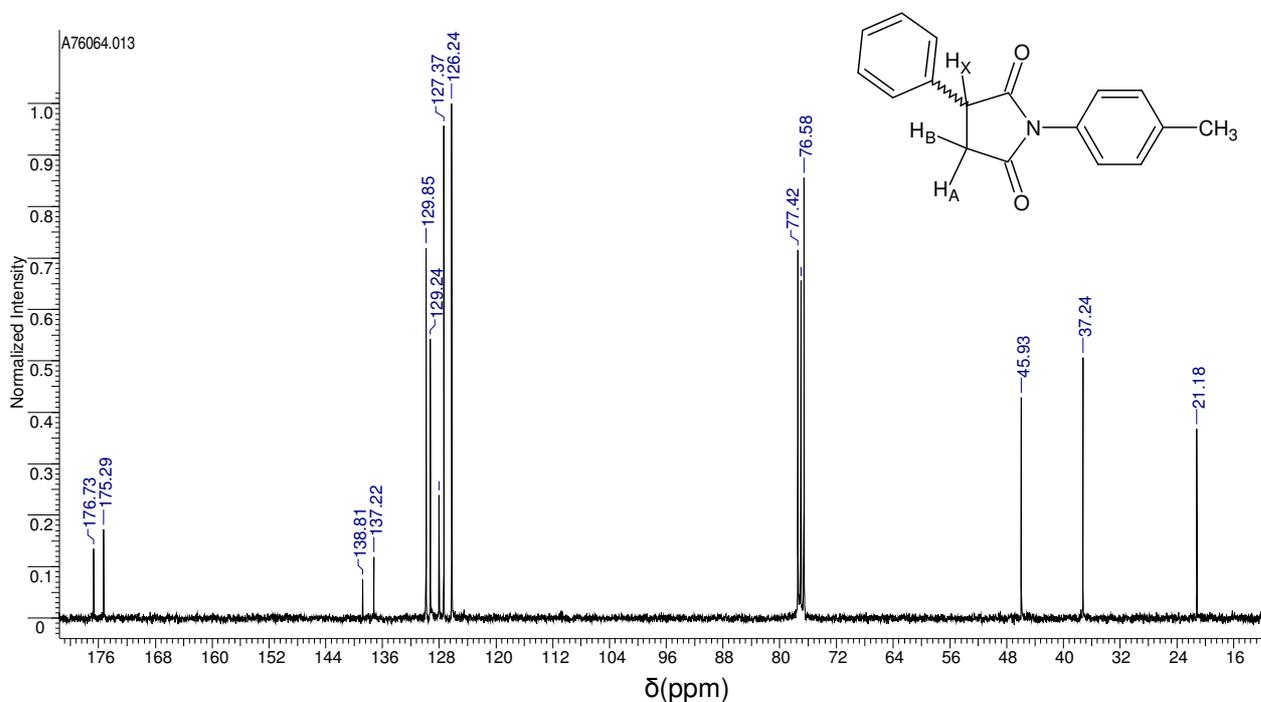


Figura 4. Espectro de RMN ^{13}C da 1-(4-metilfenil)-3-fenilpirrolidina-2,5-diona (**77**) (CDCl_3 , 75 MHz).

No espectro de RMN ^{13}C (Figura 4), observam-se sinais em 21,2 ppm referente a metila, em 37,2 ppm ao metileno e 45,9 ppm ao metino. Os carbonos aromáticos encontram-se nas regiões de 126,2 a 138,8 ppm e as carbonilas apresentaram-se em 175,3 e 176,7 ppm.

Portanto, estes dados evidenciam a obtenção do composto **77**.

5.1.1.1 Avaliação da atividade antinociceptiva

Em relação aos aspectos biológicos, foi encontrada na literatura apenas a avaliação do composto **78**, o qual apresentou uma ação depressora fraca e nenhuma atividade anticonvulsivante, quando analisadas as convulsões induzidas por pentilenotetrazol ou eletricamente, nem atividade analgésica (WILIMOWSKI et al., 1979). Para os outros compostos não foi encontrado nenhum relato.

Em uma análise preliminar, os derivados 3-fenilsuccinimidas foram testados no modelo de contorções abdominais induzidas pelo ácido acético 0,6% apenas na dose de 10 mg/kg e revelaram surpreendentemente uma atividade superior aos fármacos utilizados como referência, ácido acetil salicílico e paracetamol, com exceção do composto **78** que apresentou uma atividade inferior estando de acordo com o trabalho de Wilimowski e colaboradores (1979).

Apesar da seleção inicial dos substituintes basearem-se no modelo de Topliss, os resultados biológicos não corresponderam aos parâmetros de abrangência deste método (hidrofóbico, eletrônico, combinação de ambos e estéreo), na dose padrão avaliada. Sendo, neste caso, necessária a continuidade destes estudos primeiramente avaliando-se o valor da DI_{50} dos compostos para analisá-los quanto à sua potência no modelo de Topplis, pois foi possível observar que há uma tendência eletrônica na modulação da atividade, pois os compostos contendo grupos elétron-doadores apresentaram uma atividade superior àqueles com grupos elétron-sacadores. Entretanto, caso não seja observada novamente uma correlação, devem ser sintetizados outros análogos com maior variedade de substituintes para futuramente se aplicar métodos computadorizados que estendem a análise a outros parâmetros físico-químicos que podem também estar envolvidos nesta atividade biológica.

A *N*-(3,4-diclorofenil)acetamida foi também avaliada quanto à sua atividade biológica, apresentando uma atividade superior ao composto succinímico com uma inibição de $85 \pm 1,7$ %. Este composto é, na verdade, um análogo do paracetamol, diferindo apenas no substituinte do anel aromático.

Tabela 2. Atividade antinociceptiva dos derivados 3-fenilsuccinimidas no modelo de dor induzida pelo ácido acético 0,6% via i.p., administrados na dose de 10 mg/kg.

Substituinte (X)	Código	% Inibição
H	76	$82,4 \pm 1,6^{**}$
4-CH ₃	77	$90,3 \pm 2,0^{**}$
4-Cl	78	$28,9 \pm 1,6$
3,4-Cl	79	$58,8 \pm 3,1^{**}$
4-OCH ₃	80	$93,9 \pm 1,2^{**}$
Ácido acetilsalicílico	AAS	$35,0 \pm 2,0^*$
Paracetamol	PAR	$38,0 \pm 1,0^{**}$

Obs: Cada grupo representa uma média de 6 experimentos. Asteriscos indicam diferenças significantes (** $p < 0.01$) quando comparadas com o grupo controle.

Devido a estes compostos terem sido avaliados preliminarmente apenas no modelo do ácido acético pela via intraperitoneal, o bom resultado encontrado para alguns destes derivados estimulou-nos a avaliar os parâmetros propostos por Lipinski e colaboradores (2001), para determinar a absorção e a permeabilidade destes compostos.

Segundo os dados observados na Tabela 3 todos os compostos da série apresentam uma boa biodisponibilidade de acordo com os valores estipulados por Lipinski e colaboradores (2001) (página 23). Estes dados identificam esta classe de compostos como candidatos promissores a futuros fármacos, uma vez que pontuam as mais importantes propriedades físico-químicas e estruturais características para um fármaco no contexto de nosso atual conhecimento. Estas propriedades são

então tipicamente usadas para construir modelos preditivos de absorção, distribuição, metabolismo, excreção e também toxicidade (ADMET), formando assim a base para o que tem sido chamado de desenvolvimento baseado nas propriedades físico-químicas. A informação obtida computacionalmente no início do desenvolvimento de uma série pode direcionar o processo sintético e reduzir os riscos de problemas em estágios posteriores do desenvolvimento, além de otimizar a avaliação biológica testando apenas os compostos mais promissores (WATERBEEMD; GIFFORD, 2003; EKINS; MESTRES; TESTA, 2007).

Tabela 3. Estudos de absorção e permeabilidade dos derivados 3-fenilsuccinimidas

Substituinte (X)	Código	MM ^{a,*} (g/mol)	LogP ^{b,*}	N+O ^{c,*}	NH+OH ^{d,*}
H	76	251,28	1,71 ± 0,27	3	0
4-CH ₃	77	265,30	2,17 ± 0,27	3	0
4-Cl	78	285,72	2,79 ± 0,29	3	0
3,4-Cl	79	320,17	3,59 ± 0,39	3	0
4-OCH ₃	80	281,30	1,62 ± 0,76	4	0

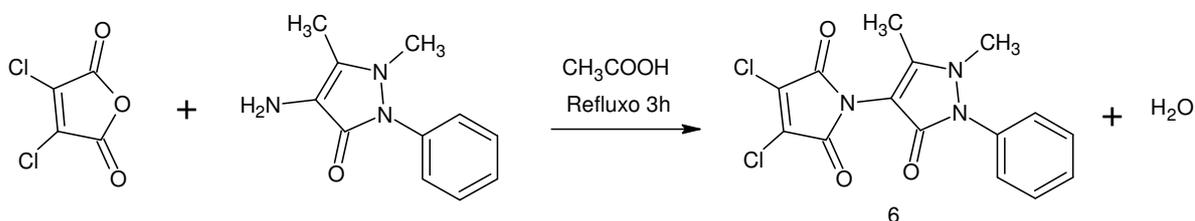
^a Logaritmo do coeficiente de partição; ^b Massa molar; ^cSomatório de N e O (aceptores de ligação hidrogênio); ^dSomatório de NH e OH (doadores de ligação hidrogênio).

* Valores calculados nos programas Chems sketch e Molinspiration.

Assim sendo, estes resultados sugerem que esta classe de succinimidas pode ser muito promissora para o desenvolvimento de um futuro fármaco analgésico, embora seja importante a avaliação criteriosa em outros modelos de dor, uma vez que este modelo é bastante inespecífico. A avaliação também do efeito sobre o SNC, é bastante sugestiva, uma vez que há fármacos hoje utilizados na terapêutica como anticonvulsivantes (SWEETMAN, 2007) com estruturas similares aos aqui apresentados, entretanto sem o anel aromático ligado ao nitrogênio da função imida.

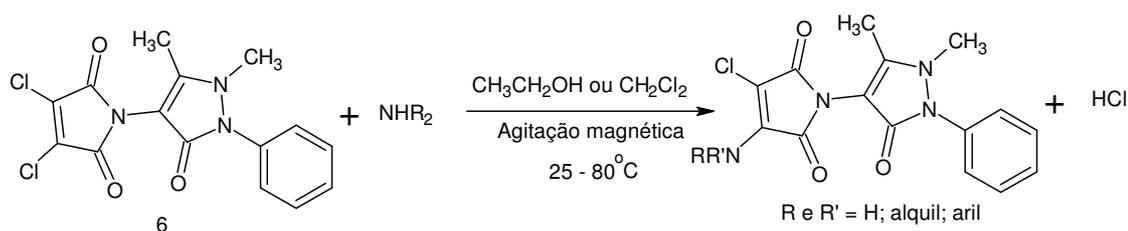
5.1.2 Síntese dos derivados da *N*-antipirino-3,4-dicloromaleimida

Em um estudo anterior, tema de dissertação de mestrado da autora (CAMPOS-BUZZI, 2001), foram sintetizados 8 derivados da *N*-antipirino-3,4-dicloromaleimida. Embora a atividade destes compostos não tenha sido tão significativa quanto do composto protótipo (**6**), sintetizado conforme Esquema 2, estes, foram mais ativos que os fármacos de referência ácido acetil salicílico e paracetamol, consistindo em compostos de interesse para estudos farmacológicos e toxicológicos mais detalhados.



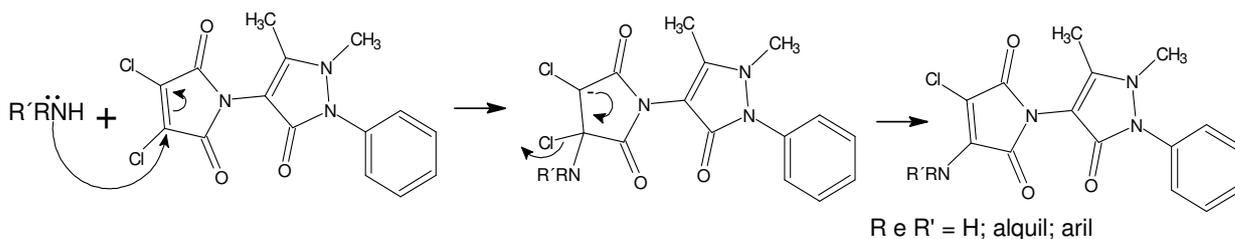
Esquema 2. Síntese do protótipo *N*-antipirino-3,4-dicloromaleimida (**6**).

Neste trabalho, foram sintetizados outros 17 derivados de **6**, através da reação de substituição nucleofílica, todos inéditos na literatura. As reações entre a *N*-antipirino-3,4-dicloromaleimida (**6**) e as aminas apropriadas foram realizadas na proporção (1:2) sob agitação à temperatura ambiente (Esquema 3).



Esquema 3. Substituição nucleofílica do átomo de cloro por aminas.

A substituição de apenas um átomo de cloro, provavelmente ocorre *via* um mecanismo de adição-eliminação, envolvendo um intermediário tetraédrico, o qual perde um átomo de cloro para formar o produto (Esquema 4).



Esquema 4. Síntese dos derivados amino da *N*-antipirino-3,4-dicloromaleimida (6).

A substituição de um segundo átomo de cloro por nucleófilos não foi observada nas condições estudadas. Este resultado pode ser atribuído às estruturas canônicas, onde as estruturas ressonantes indicam ser pouco provável um ataque nucleofílico no outro carbono olefínico (Figura 5) (NUNES, 1986; CAMPOS-BUZZI, 2001).

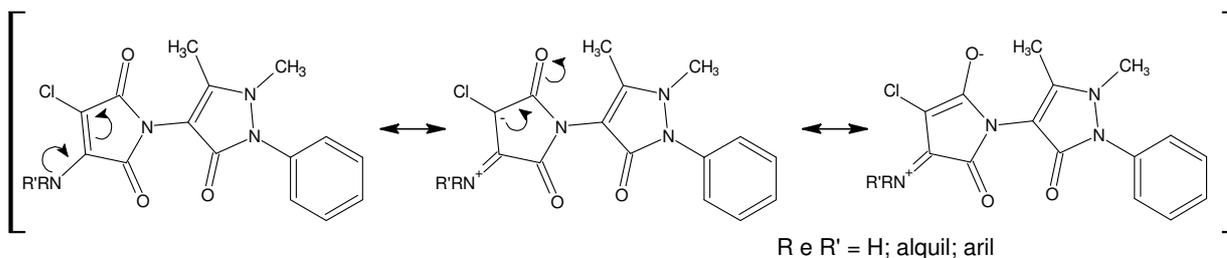


Figura 5. Estruturas canônicas dos derivados amino da *N*-antipirino-3,4-dicloromaleimida (6).

Analisando os dados da Tabela 4, pode-se observar que as reações apresentaram rendimentos variados, sendo 45% a 95%. Algumas influências de demandas eletrônicas reacionais haviam sido observadas anteriormente por Campos-Buzzi (2001) na obtenção dos compostos derivados da *N*-antipirino-3,4-dicloromaleimida mono substituídos na posição *para* pelos substituintes $-\text{OCH}_3$ (95%) e $-\text{CH}_3$ (93%). Estes grupos provavelmente contribuem aumentando a nucleofilicidade do nitrogênio da amina e com isso estes mesmos substituintes na posição *meta*, agora avaliados, apresentaram rendimentos inferiores, 56 e 52%, respectivamente. Isto é o esperado, uma vez que estes grupos na posição *meta* diminuem a nucleofilicidade do grupo amino. Já para os grupos retiradores de elétrons alguns produtos formados apresentaram impurezas e/ou subprodutos. Estes compostos foram purificados através da recristalização com uma mistura de diclorometano: hexano (90:10) ou através de coluna cromatográfica de sílica gel utilizando como eluente a mistura de clorofórmio: metanol (98:2).

As reações entre o composto **6** e as aminas primárias 3-fenilpropilamina e 4-fenilbutilamina não obtiveram sucesso provavelmente devido à competição reacional entre a substituição do átomo de cloro, com o ataque nucleofílico na carbonila e posterior abertura do anel sem a substituição do átomo de cloro, ou também com a substituição do átomo de cloro, entre outros, formando assim uma mistura de produtos que foram observados pelas diversas manchas na placa cromatográfica.

Tabela 4. Dados analíticos da *N*-antipirino 3,4-dicloromaleimida e derivados (Continua).

Substituinte (R)	Código	Tempo reacional (h)	Rendimento (%)	Ponto de fusão (°C)	Fator de Retenção (R _f)	Inédito (i)
Cl-	6	3:00	88,0	208,2–209,2	0,73	-
	81	5:30	70,0	243,8-245,2	0,43	i
	82	6:00	80,0	263,8-265,0	0,40	i
	83	7:00	65,0	226,8-229,1	0,43	i
	84	10:00	60,0	118,2-120,0	0,26	i
	85	7:30	60,0	222,7-224,1	0,13	i
	86	8:00	68,0	224,8-226,0	0,11	i

Tabela 4. Dados analíticos da *N*-antipirino 3,4-dicloromaleimida e derivados (Conclusão).

Substituinte R-	Código	Tempo reacional (h)	Rendimento (%)	Ponto de fusão (°C)	Fator de Retenção (R _f)	Inédito (i)
	87	9:00	82,7	223,0-226,0	0,57	i
	88	7:00	52,0	136,5-138,7	0,37	i
	89	8:00	56,0	139,5-142,1	0,38	i
	90	7:30	61,0	137,8-139,9	0,49	i
	91	9:00	90,0	140,0-141,9	0,34	i
	92	6:30	82,0	121,9-123,2	0,45	i
	93	9:30	64,0	123,0-126,0	0,51	i
	94	1:00	54,8	157,7-159,0	0,39	i
	95	10:00	45,0	176,4-178,7	0,67	i
	96	10:00	70,0	132,2-133,0	0,54	i
	97	36:00	38,0	123,3-125,1	0,57	i

O espectro do composto **87** foi selecionado para uma análise mais detalhada, a título de ilustração. No espectro de IV, demonstrado na Figura 6,

verifica-se a presença de deformações axiais situadas em 1779, 1725 e 1685 cm^{-1} correspondente às carbonilas da função imida e em 1644 cm^{-1} da carbonila da antipirina. Em 1590 cm^{-1} , observa-se a deformação axial das ligações C-C dos anéis aromáticos. Na região de 700 cm^{-1} encontram-se a deformações angular das ligações C-H, em 3300 cm^{-1} observa-se a deformação axial referente ao grupamento N-H (Figura 6).

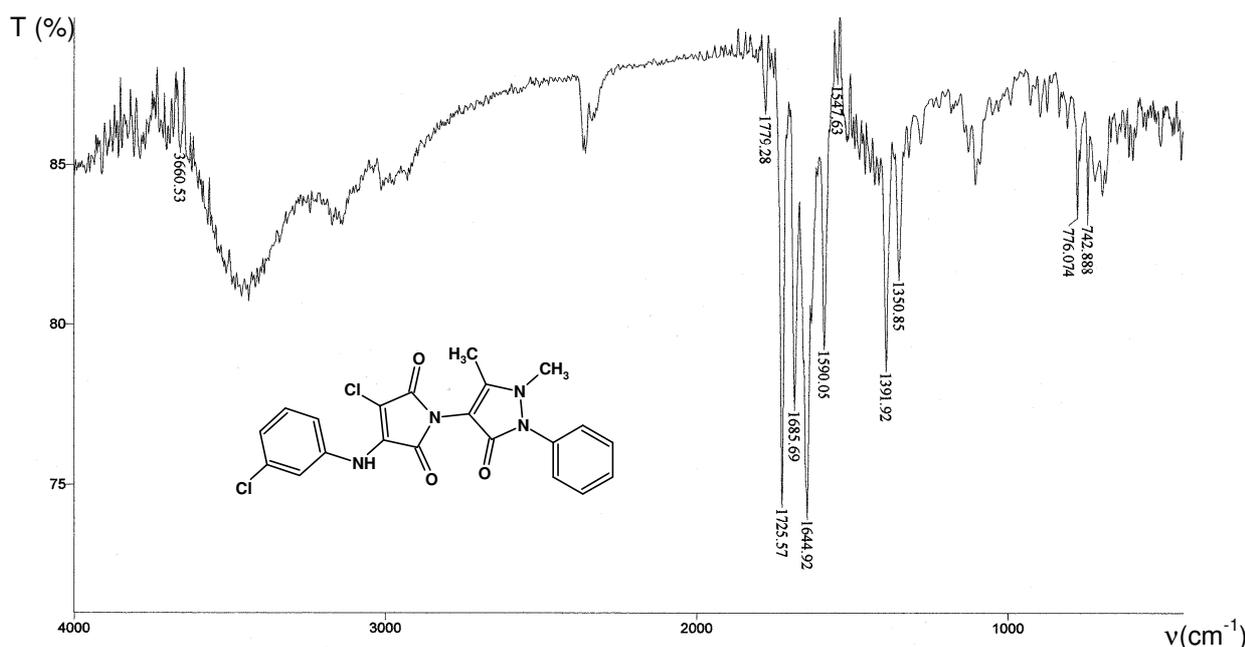


Figura 6. Espectro de Infravermelho da *N*-antipirino-3-cloro-4-[3-cloroanilino maleimida] (**87**) (Pastilha de KBr, cm^{-1}).

No espectro de RMN ^1H são evidenciados dois simpletos em 2,18 e 3,19 ppm referentes aos hidrogênios de CH_3 e N-CH_3 , respectivamente. Os multipletos dos 9 hidrogênios aromáticos são observados na região de 7,01 a 7,45 ppm. Também pode ser observado um simpleto em 8,58 ppm, referente à N-H (Figura 7).

No espectro de RMN ^{13}C os sinais em 10,8 e 35,1 ppm, são referentes respectivamente a CH_3 e N-CH_3 . O carbono ligado ao N é observado em 96,2 ppm e o carbono ligado ao Cl em 100,9 ppm. Os 12 carbonos aromáticos encontram-se nas regiões de 121,6 a 152,6 ppm. As carbonilas presentes nestes composto são observadas em 160,8 e 164,6 ppm vizinhas ao nitrogênio da imida e 165,9 ppm referente ao núcleo antipirino (Figura 8).

O produto reacional desejado entre **6** e o pirrol era a formação de um aduto de Diels-Alder. Acreditava-se que o protótipo *N*-antipirino-3,4-dicloromaleimida (**6**) poderia se comportar como um bom dienófilo, pois em reações de demanda eletrônica “normal” a reatividade do dienófilo aumenta com a presença de grupos retiradores de elétrons (carbonilas, nitro, halogênios, etc.). Desta forma, têm-se um dienófilo bastante reativo e que possibilita que a cicloadição de Diels-Alder ocorra fornecendo o produto esperado.

Para reações de demanda energética “normal”, a diferença energética entre o LUMO do dienófilo e HOMO do dieno deve ser positiva. Quanto mais o valor obtido aproxima-se de zero, maior é a viabilidade termodinâmica reacional. Dessa forma, calculou-se o valor de HOMO e LUMO para o dienófilo *N*-antipirino-3,4-dicloromaleimida, que apresentaram os valores de -1,591 e -8,896 eV, respectivamente e os valores de HOMO e LUMO para o pirrol de -8,657 e 1,379 eV, respectivamente. Estabelecendo-se uma reação de Diels-Alder com demanda eletrônica normal a diferença energética entre o LUMO do dienófilo e o HOMO do dieno observada foi de 7,066 eV (Figuras 9 e 10). Uma vez que não é possível prever a partir de qual valor de diferença entre HOMO e LUMO vai ocorrer à reação, é necessário, portanto realizar o experimento para comprovar a possibilidade desta reação, ocorrer (LACERDA Jr. et al., 2007).

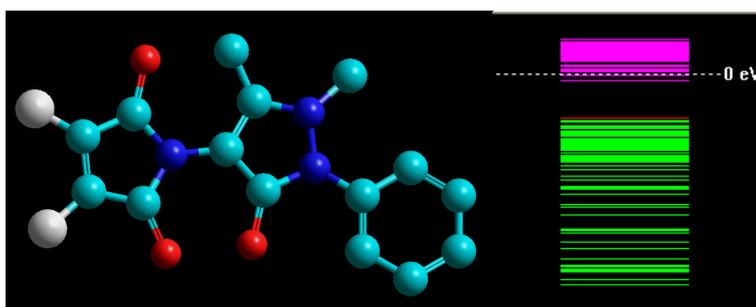


Figura 9. Estrutura minimizada da 3,4-dicloro-*N*-antipirinomaleimida (**6**) e o valor do LUMO = -1,591 eV.

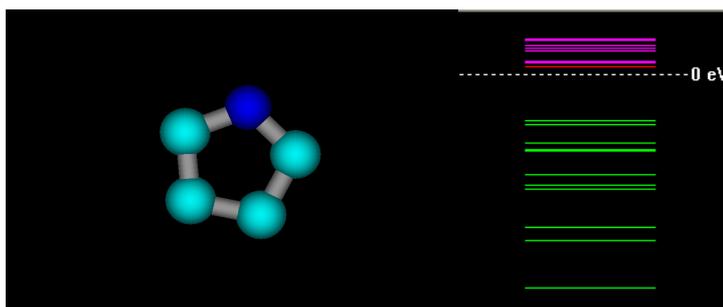
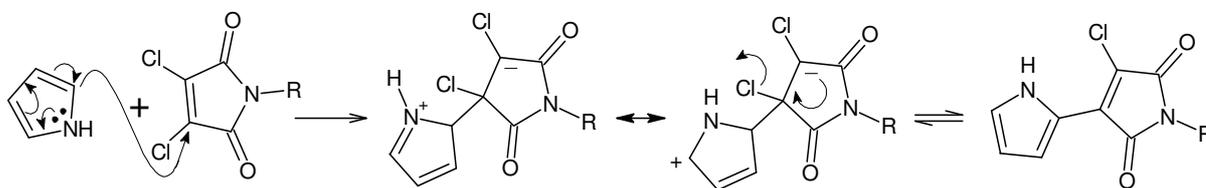


Figura 10. Estrutura minimizada do pirrol e o valor do Homo = -8,657 eV.

resultado confirma a baixa reatividade deste sistema dieno-dienófilo para a reação de Diels-Alder (Esquema 5).



Esquema 5. Síntese da *N*-antipirino-3-cloro-4-(1*H*-pirrol-2-il-maleimida) (**97**)

A estrutura do derivado **97** foi confirmada no espectro demonstrado na Figura 12, verificando-se no IV, a presença de deformações axiais situadas em 1725 e 1713 cm^{-1} da carbonila da imida e em 1656 cm^{-1} da carbonila da antipirina. A deformação axial em 1405 cm^{-1} pode ser atribuída as ligações C-C do anel aromático e em 705 cm^{-1} a ligação C-H. Em 3398 cm^{-1} observa-se a deformação axial referente ao NH do pirrol.

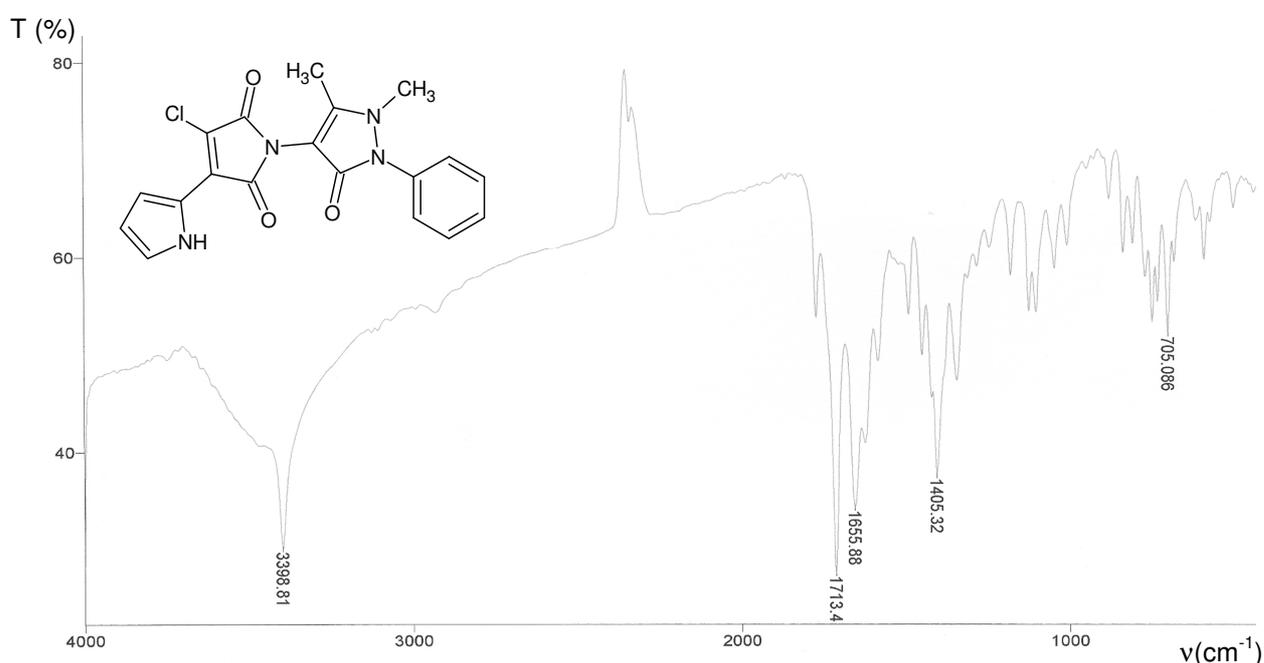


Figura 12. Espectro de Infravermelho da *N*-antipirino-3-cloro-4-(1*H*-pirrol-2-il-maleimida) (**97**) (Pastilha de KBr, cm^{-1}).

No espectro de RMN ^1H (Figura 13) são evidenciados dois simples em 2,19 e 3,21 ppm referentes aos hidrogênios CH_3 e N-CH_3 , respectivamente. Os

hidrogênios aromáticos são observados nas regiões de 6,42 a 7,50 ppm. Também pode se observar o simpleto em 10,49 ppm referente ao N-H.

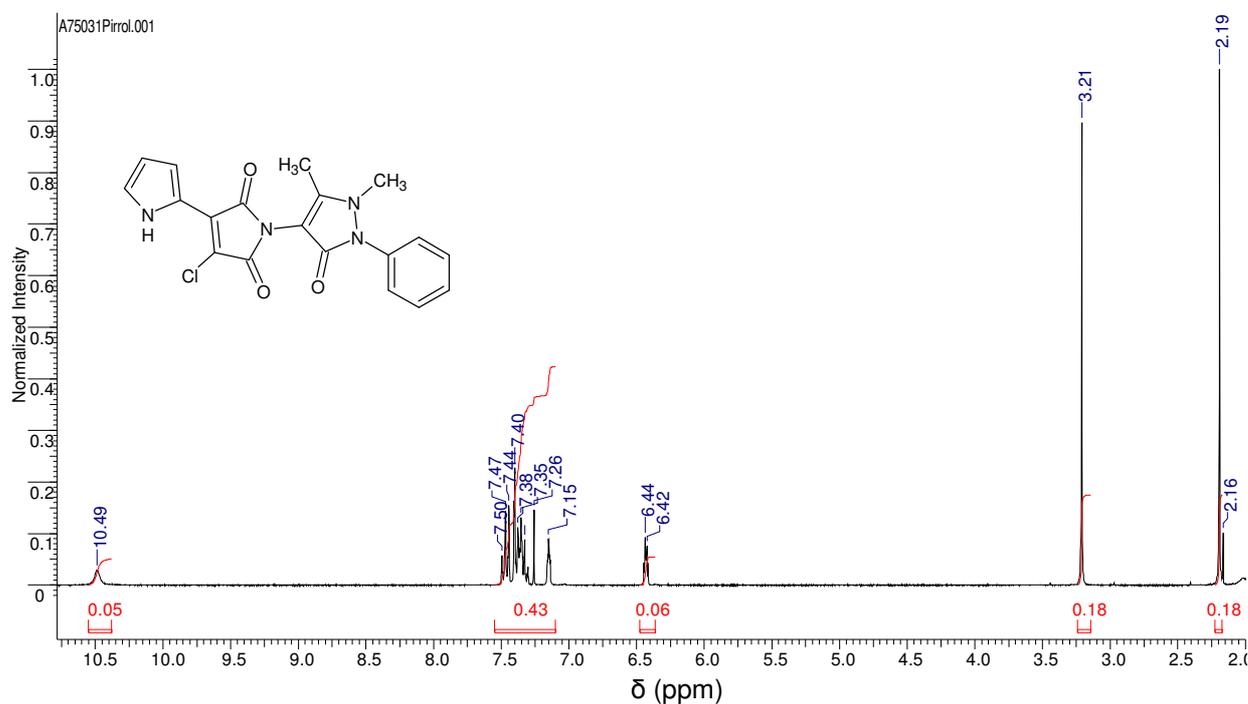


Figura 13. Espectro de RMN ¹H da *N*-antipirino-3-cloro-4-(1H-pirrol-2-il-maleimida) (**97**) (CDCl₃, 300 MHz).

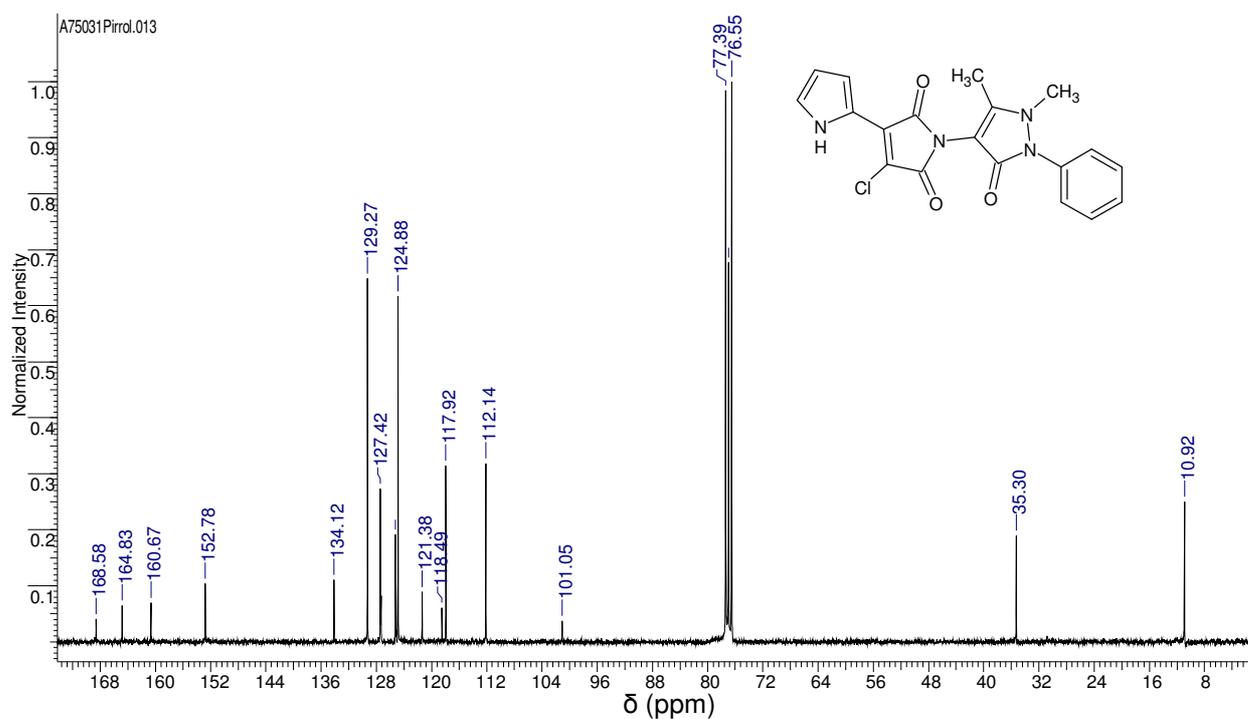


Figura 14. Espectro de RMN ¹³C da *N*-antipirino-3-cloro-4-(1H-pirrol-2-il-maleimida) (**97**) (CDCl₃, 75 MHz).

No espectro de RMN ^{13}C (Figura 14), são observados os sinais das metilas em 10,9 e 35,3 ppm, referentes a CH_3 e N-CH_3 , respectivamente. O carbono ligado ao N é observado em 101,0 ppm e o carbono ligado ao Cl em 121,4 ppm. Os carbonos aromáticos do anel fenila encontram-se nas regiões de 124,9 a 129,3 ppm. As carbonilas em 160,7 e 164,8 ppm são referentes à imida e em 168,6 ppm é referente à carbonila da antipirina.

5.1.2.1 Avaliação da atividade antinociceptiva

Tabela 5. Atividade antinociceptiva da *N*-antipirino-3,4-dicloromaleimida e derivados no modelo de dor induzida pelo ácido acético 0,6% via i.p., administrados na dose de 10 mg/kg (Continua).

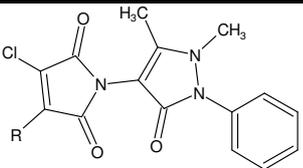
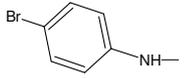
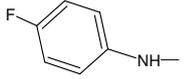
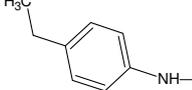
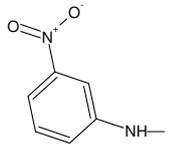
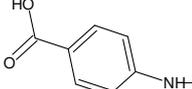
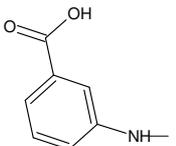
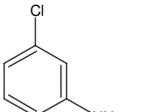
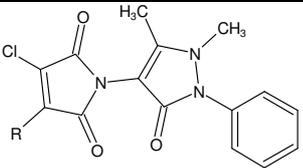
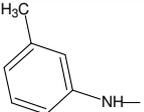
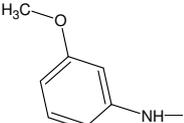
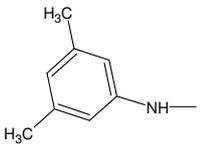
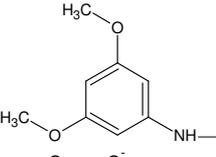
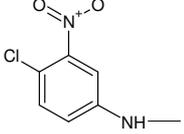
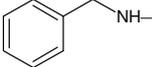
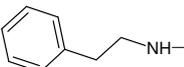
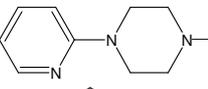
Substituinte (R)	Código	% Inibição
	6	99,0±0,3 ^{** (a)}
	81	97,5 ± 0,6 ^{**}
	82	93,2 ± 1,5 ^{**}
	83	49,5 ± 2,9 ^{**}
	84	29,5 ± 2,9 ^{**}
	85	63,6 ± 3,3 ^{**}
	86	33,9 ± 1,4 [*]
	87	38,9 ± 4,4 ^{**}

Tabela 5. Atividade antinociceptiva da *N*-antipirino-3,4-dicloromaleimida e derivados no modelo de dor induzida pelo ácido acético 0,6% via i.p., administrados na dose de 10 mg/kg (Conclusão).

Substituinte (R)	Código	% Inibição
		
	88	49,7 ± 6,6**
	89	56,7 ± 3,1 **
	90	68,4 ± 4,0**
	91	72,0 ± 2,0**
	92	98,5 ± 0,4 **
	93	35,4 ± 3,6 **
	94	81,8 ± 1,2 **
	95	84,6 ± 1,3 **
	96	77,7 ± 2,8 **
	97	23,27 ± 2,8
Ácido acetilsalicílico	AAS	35,0 ± 2,0*
Paracetamol	PAR	38,0 ± 1,0**
Dipirona	DIP	33,0 ± 3,5*

Obs: Cada grupo representa uma média de 6 experimentos. Asteriscos indicam diferenças significantes (** $p < 0.01$ e * $p < 0.05$) quando comparadas com o grupo controle.

(a) Campos-Buzzi (2001)

No presente trabalho fêz-se inicialmente uma análise preliminar dos efeitos analgésicos de todas as substâncias sintetizadas, com o objetivo de selecionar o composto mais ativo. Utilizou-se, assim, o modelo de contorções abdominais induzidas pelo ácido acético 0,6% administrado intraperitonealmente em uma dose de 10 mg/kg (Tabela 5).

O modelo de contorções abdominais tem sido empregado amplamente para análise da atividade analgésica de diferentes tipos de compostos, uma vez que mostram boa correlação com a ação analgésica encontrada em outros modelos pré-clínicos, bem como em estudos clínicos (CAMPOS-BUZZI et al., 2006; COSTA et al., 2007).

Whittle (1964) descreveu a atuação indireta do ácido acético pela liberação de mediadores endógenos envolvidos na modulação da nocicepção, incluindo a bradicinina, serotonina, histamina e as prostaglandinas. Ribeiro e colaboradores (2000) mostraram que a nocicepção induzida pelo ácido acético depende da liberação de citocinas, como a IL-1 β , TNF- α e a IL-8, a partir de macrófagos e basófilos residentes na cavidade abdominal, e que em conjunto com outros mediadores podem induzir a nocicepção característica observada nesse modelo.

Analisando os dados da Tabela 5, pode-se observar que todos os compostos derivados do **6**, com exceção do **84** e do **97**, apresentaram atividades superiores ou similares aos fármacos utilizados como referência, tais como ácido acetil salicílico, paracetamol e em especial para esta série, a dipirona, cujos compostos aqui sintetizados são análogos, e, que causaram inibições de 35,0; 38,0 e 33,0 % respectivamente.

Considerando que os melhores percentuais de inibição foram observados para os compostos com grupos sacadores de elétrons orientados na posição *para*, quando comparados aos da posição *meta*, sugere-se que o efeito eletrônico e estérico nesta posição contribui de forma significativa para a antinocicepção nessas estruturas. Isto é evidenciado pela comparação entre o composto N-antipirino-3-cloro-4-cloroanilino maleimida, já descrito por Campos-Buzzi (2001) e o **87**, que apresentaram inibições de 75 e 39%, ambos substituídos pelo átomo de cloro nas posições *para* e *meta*, respectivamente. Postula-se, portanto, que o envolvimento da eletronegatividade e do fator estérico estejam contribuindo para os derivados mais ativos desta série, ressaltando-se o **81**, **82** e o **92**, no qual o substituinte do

grupamento anilino foi sempre um átomo eletronegativo; tais como o fluor, bromo e cloro, respectivamente, na posição *para*. Embora o composto **92** também apresente um grupo nitro, também eletronegativo na posição *meta*.

Grupos doadores de elétrons; tais como metila e metóxi, demonstraram um percentual inibitório igual ou discretamente superior aos fármacos de referência, independente da posição *meta* ou *para*. Os compostos **88** e **89**, com inibições de 49,7 e 56,7%, podem ser comparados com os compostos já descritos na literatura N-antipirino-3-cloro-4-metilanilino-maleimida e N-antipirino-3-cloro-4-metóxi-anilino-maleimida que apresentaram inibições de 31,2 e 33,6% neste mesmo modelo (CAMPOS-BUZZI, 2001). Os grupos presentes nestas estruturas são responsáveis pelo aumento da densidade eletrônica média da molécula, através da ressonância no sistema conjugado.

Um dado bastante relevante foi observado quando o hidrogênio da anilina foi dissubstituído por outro grupo metila (**90**) ou metóxi (**91**) apresentando um crescimento significativo da atividade analgésica, com valores de 68,4 e 72,0%.

Os derivados **93** (benzil) e **94** (fenetil) também foram analisados quanto as diferenças estruturais e biológicas apresentadas. O composto **94** foi muito mais ativo com uma inibição de 81,8% em relação ao **93** com 35,4% de inibição, sendo que a única diferença entre estes compostos é a cadeia espaçadora entre o anel imídico e o anel aromático, ressaltando que uma maior distância entre estes grupos pode contribuir para a atividade antinociceptiva, devido a uma maior mobilidade da molécula e com isto, a possibilidade de um melhor encaixe no “sítio ativo”.

Outro dado interessante foi à importância do grupo alifático cíclico (piperidina) (**96**) quando comparado ao grupamento alifático acíclico dietilamina, no composto N-antipirino-3-cloro-4-dietilaminomaleimida (CAMPOS-BUZZI, 2001). O percentual de inibição foi superior para o grupo substituinte cíclico (77,7%) em relação ao de cadeia aberta (47,2%).

O composto **95** que possui um anel piperazínico, também alifático cíclico, entre o anel imídico e outro anel aromático, apresentou uma inibição de 84,6%. Sabe-se que o anel piperazínico faz parte de uma série de fármacos atuantes no SNC, como neurolépticos e antidepressivos (ROMEIRO; FRAGA; BARREIRO, 2003; MENEGATTI et al., 2004), sendo por isso necessário primeiro avaliar se este composto também teria uma ação no SNC, que poderia contribuir ou estar mascarada pela atividade analgésica observada.

Apartir deste estudo preliminar foram selecionados os três compostos mais ativos, **81**, **82** e **92** para uma análise mais detalhada neste e em outros modelos de dor. Embora os três derivados mais ativos (**81**, **82** e **92**) não tenham sido tão eficazes quanto o protótipo **6**, pois este apresentou uma inibição de $99 \pm 1\%$, na mesma dose analisada (CAMPOS-BUZZI, 2001), eles mostraram-se muito mais potentes quando avaliados em maiores detalhes neste mesmo modelo de dor.

Estudos farmacológicos anteriores revelaram que o composto **6** (protótipo), administrado intraperitonealmente, mostrou-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)]. $\mu\text{mol/kg}$ (CAMPOS-BUZZI, 2001).

Para calcular a DI_{50} destes compostos foi necessário avaliá-los nas doses de 10, 1, 0,5, 0,1 e 0,05 mg/kg. Todos eles apresentaram um perfil dose-dependente com os valores de DI_{50} de 0,57, (0,38 - 0,92), 0,73 (0,52-1,03) e 1,29 (0,96 -1,74) $\mu\text{mol/kg}$, respectivamente (Figuras 15-17). Em comparação com os fármacos utilizados clinicamente o composto **81** foi cerca de 7 vezes mais ativo que o protótipo **6**, mais de 200 vezes mais ativo que AAS e paracetamol e 284 vezes mais ativo que a dipirona. O composto **82** foi cerca de 5 vezes mais ativo que o **6**, 175 vezes mais ativo que AAS e paracetamol e 222 vezes mais ativo que a dipirona. O composto **92** foi cerca de 3 vezes mais ativo que o **6**, 100 vezes mais ativo que AAS e paracetamol e 125 vezes mais ativo que a dipirona

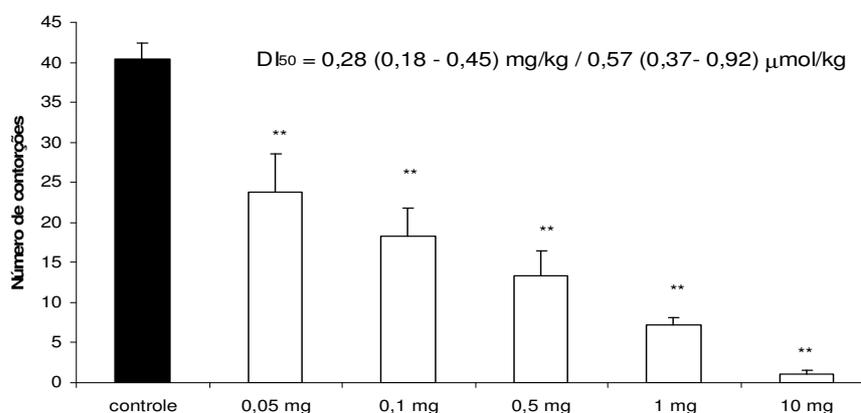


Figura 15. DI_{50} do composto **81**, administrado em 5 concentrações 0,05, 0,1, 0,5, 1 e 10 mg/kg, via intraperitoneal no modelo de dor induzida pelo ácido acético 0,6 %. Cada coluna representa uma média de 06 experimentos e as barras verticais indicam o EPM. Asteriscos indicam diferenças significantes (** $p < 0,01$) quando comparadas com o grupo controle, utilizando-se ANOVA seguida do teste Dunnet.

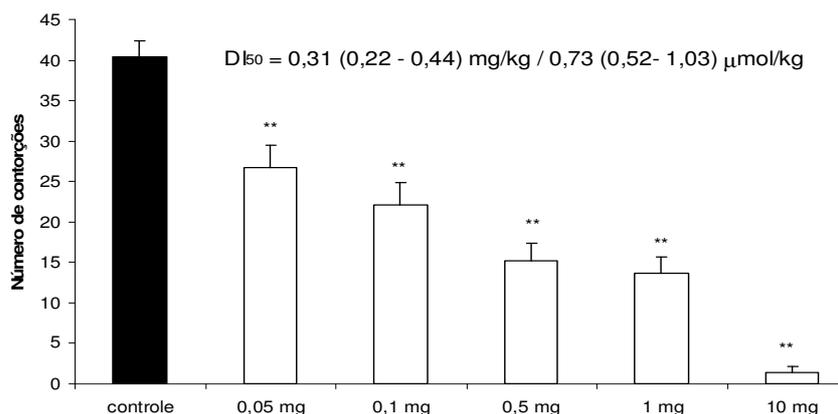


Figura 16. DI₅₀ do composto **82**, administrado em 5 concentrações 0,05, 0,1, 0,5, 1 e 10 mg/kg, via intraperitoneal no modelo de dor induzida pelo ácido acético 0,6 %. Cada coluna representa uma média de 06 experimentos e as barras verticais indicam o EPM. Asteriscos indicam diferenças significantes (**p<0,01) quando comparadas com o grupo controle, utilizando-se ANOVA seguida do teste Dunnet.

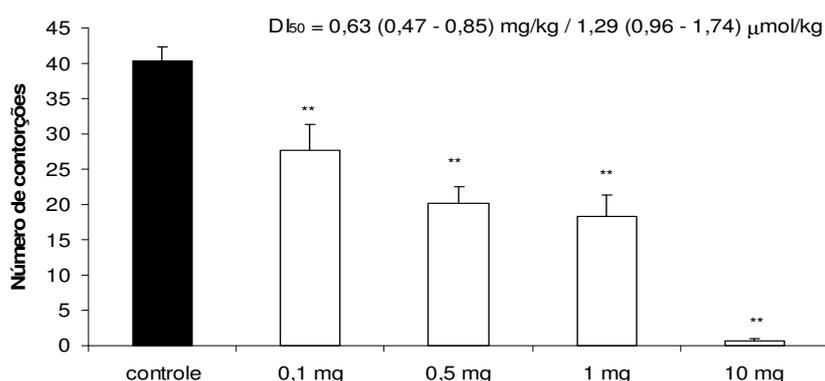


Figura 17. DI₅₀ do composto **92**, administrado em 4 concentrações 0,1, 0,5, 1 e 10 mg/kg, via intraperitoneal no modelo de dor induzida pelo ácido acético 0,6 %. Cada coluna representa uma média de 06 experimentos e as barras verticais indicam o EPM. Asteriscos indicam diferenças significantes (**p<0,01) quando comparadas com o grupo controle, utilizando-se ANOVA seguida do teste Dunnet.

A partir dos resultados apresentados, estes compostos foram então selecionados para testes mais específicos, sendo avaliados sempre na dose de 10 mg/kg o que corresponde para os compostos **81** e **92** a 20,5 μmol/kg e para o **82** a 23,4 μmol/kg.

O primeiro modelo avaliado foi o de dor induzida pela formalina, o qual avalia duas fases distintas de dor, as quais são conseqüências da liberação de diferentes mediadores (DUBUISSON; DENNIS, 1977; HUNSKAAR; HOLE, 1987). A primeira fase tem início logo após a injeção da formalina e mantém-se por 5 minutos, acredita-se que ela decorra da estimulação química direta dos

nociceptores (aférentes tipo C e A), por mediadores químicos como a substância P, o glutamato e a bradicinina, responsáveis pela nocicepção neurogênica (HUNSKAR et al., 1985; 1987).

Nesta primeira fase do teste, que se refere ao processo doloroso conhecido como neurogênico ou agudo, apenas o composto **82** apresentou uma atividade inibitória significativa de 28,9 % (Figura 18), em comparação com os fármacos de referência o AAS e o PAR, ambos são inativos nesta primeira fase na dose de 10 mg/kg, e a dipirona embora ativa nesta fase, apresenta uma DI_{50} de 51,4 (33,3 – 79,5) mg/kg/ 154,5 (99,9 – 238,8) μ mol/kg (BEIRITH et al., 1998). Dessa forma pode-se observar que o composto **82**, apresenta indícios de atividade já na dose de 23,4 μ mol/kg, sendo bastante importante a análise destes compostos em outras doses.

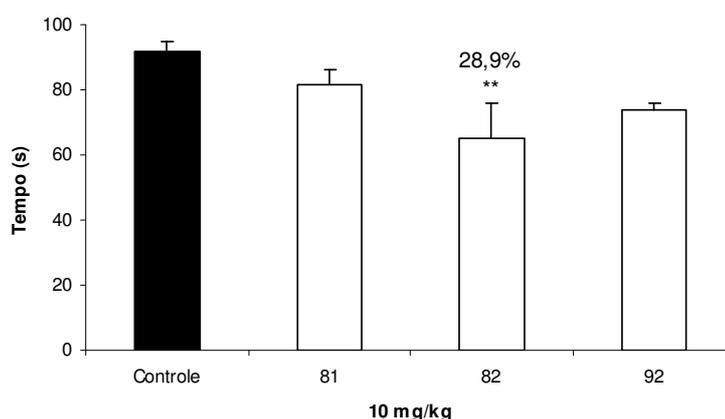


Figura 18. Efeito dos compostos **81**, **82** e **92** administrada na concentração de 10 mg/kg, via intraperitoneal na Fase I – fase neurogênica no modelo de dor induzida pela formalina 2,5%. Cada coluna representa uma média de 8 experimentos e as barras verticais indicam o EPM. Asteriscos indicam diferenças significantes (** $p < 0,01$) quando comparadas com o grupo controle, utilizando-se ANOVA seguida do teste Dunnet.

A segunda fase tem início com 15 minutos e termina aos 30 minutos, após a injeção da formalina. Esta resposta é decorrente da liberação de vários mediadores químicos pró-inflamatórios, como a histamina, serotonina, prostaglandinas e bradicinina. Quando comparado com outros modelos para o estudo da dor, o teste da formalina, é o que mais se assemelha com as características da dor clínica aguda, seja ela de natureza química, elétrica ou mecânica (HUNSKAAR; HOLE, 1985; 1987; TJØLSEN; HOLE, 1997).

Na segunda fase, designada de crônica ou inflamatória, observou-se apenas uma pequena redução da reação dolorosa com uma inibição de 49,0 % para

a substância **92**, enquanto os demais foram inativos na dose de 10 mg/kg (Figura 19). Comparando-se com os mesmos fármacos padrões o AAS, o PAR e a dipirona estes apresentam valores de DI_{50} de 123 (77 – 209); 120 (90 – 161) e 264 (234 – 297) $\mu\text{mol/kg}$ (CAMPOS-BUZZI et al., 2002). Estes resultados demonstram que o composto **92** apresenta uma atividade superior aos fármacos de referência, sendo necessária a análise destes compostos em doses superiores para uma possível comparação.

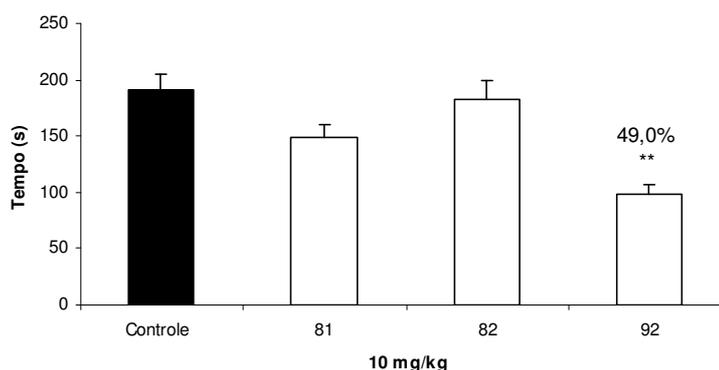


Figura 19. Efeito dos compostos **81**, **82** e **92** administrada na concentração de 10 mg/kg, via intraperitoneal na Fase II – fase inflamatória, no modelo de dor induzida pela formalina 2,5%. Cada coluna representa uma média de 8 experimentos e as barras verticais indicam o EPM. Asteriscos indicam diferenças significantes (** $p < 0,01$) quando comparadas com o grupo controle, utilizando-se ANOVA seguida do teste Dunnet.

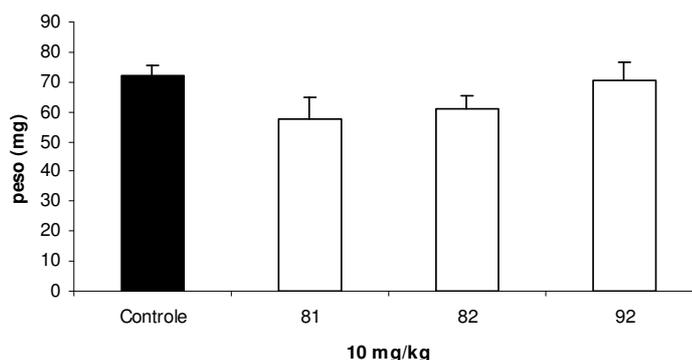


Figura 20. Efeito dos compostos **81**, **82** e **92** administrada na concentração de 10 mg/kg, via intraperitoneal no edema provocado pela formalina 2,5%. Cada coluna representa uma média de 8 experimentos e as barras verticais indicam o EPM. Asteriscos indicam diferenças significantes (** $p < 0,01$) quando comparadas com o grupo controle, utilizando-se ANOVA seguida do teste Dunnet.

Os compostos não demonstraram diminuição do edema provocado pela formalina (Figura 20). Da mesma forma, a dipirona não apresenta efeito anti-

edematogênico associado com a fase inflamatória do teste da formalina (BEIRITH et al., 1998).

Com o objetivo de melhor avaliar a atividade destes compostos sobre a dor neurogênica, devido à inatividade observada na primeira fase do modelo da formalina, pelos compostos **81** e **82**, foram realizados ensaios no modelo de dor induzida pela capsaicina. Esta é uma amina neurotóxica que causa uma intensa atividade nociceptiva seguida por dessensibilização. Diversos mediadores químicos estão envolvidos nesta ação, tais como as neurocininas (substância P, neurocinina A e neurocinina B), peptídeos relacionados ao gene da calcitonina (CGRP), somatostatina, óxido nítrico e aminoácidos excitatórios (SAKURADA et al., 1992; 1996). Além disto, tem sido proposto um receptor vanilóide próprio para a capsaicina, presente em neurônios sensitivos primários (CATERINA et al., 1997).

Neste modelo todos os compostos foram inativos, apresentando assim indícios de inatividade sobre a dor neurogênica sob a via das taquicininas nesta dose (Figura 21). Comparando a ação da dipirona neste modelo a qual apresenta um valor de DI_{50} de 208 (180 – 240) $\mu\text{mol/kg}$ (BEIRITH et al., 1998), seria interessante a reavaliação destes compostos em doses mais elevadas.

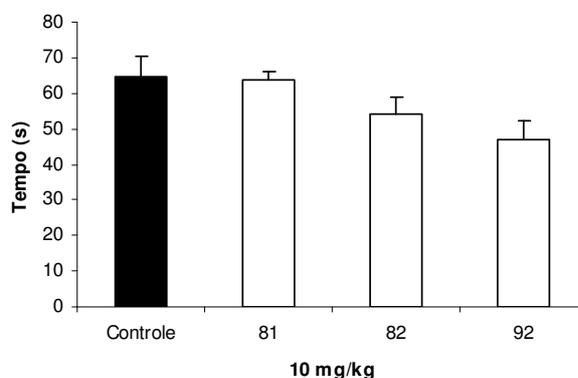


Figura 21. Efeito dos compostos **81**, **82** e **92** administrada na concentração de 10 mg/kg, via intraperitoneal no modelo de dor induzida pela capsaicina. Cada coluna representa uma média de 8 experimentos e as barras verticais indicam o EPM. Asteriscos indicam diferenças significantes (** $p < 0,01$) quando comparadas com o grupo controle, utilizando-se ANOVA seguida do teste Dunnet.

Na tentativa de elucidar um pouco mais o mecanismo de ação destes compostos, realizou-se o ensaio do glutamato, modelo proposto recentemente por Beirith e colaboradores (1998) o qual é aplicado para o estudo de substâncias que atuam sobre o sistema glutamatérgico envolvido na transmissão nociceptiva.

O glutamato, maior neurotransmissor excitatório no cérebro e na medula espinhal exerce seus efeitos pós-sinápticos via diversos receptores de membrana pertencentes tanto a classe dos metabotrópicos quanto ionotrópicos. A resposta nociceptiva induzida por glutamato parece envolver sítios de ação periférica, espinhais e supraespinhais (influenciados pela liberação do NO), os quais são mediados por ambos os tipos de receptores NMDA e os não NMDA. Há consideráveis evidências que a dor associada com a injúria tecidual ou nervosa periférica, envolve a ativação dos receptores NMDA (BEIRITH et al., 1998; PETRENKO et al., 2003).

Neste modelo, a dipirona apresentou uma DI_{50} de 9 (7 – 12) $\mu\text{mol/kg}$ (BEIRITH et al., 1998), e o composto **92**, uma atividade bastante significativa. Este inibiu 66,2%, estando o valor de DI_{50} para este composto provavelmente próximo à atividade da dipirona, ressalta-se ainda, que o composto **82** apresentou uma inibição de 32,7% e o composto **81** foi inativo na dose avaliada (Figura 22).

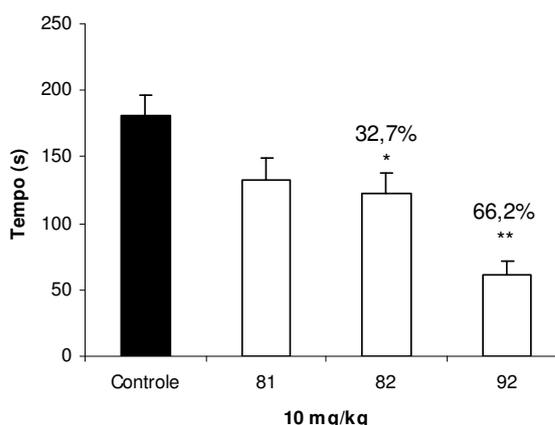


Figura 22. Efeito dos compostos **81**, **82** e **92** administrada na concentração de 10 mg/kg, via intraperitoneal no modelo de dor induzida pelo glutamato. Cada coluna representa uma média de 8 experimentos e as barras verticais indicam o EPM. Asteriscos indicam diferenças significantes (** $p < 0,01$) quando comparadas com o grupo controle, utilizando-se ANOVA seguida do teste Dunnet.

No intuito de verificar se os compostos possuem atividade sob a via opióide, foi realizado o teste de sensibilidade térmica em placa quente, no qual a morfina foi utilizada, como controle positivo, por atuar através de receptores opióides aumentando o limiar de dor dos animais, mantendo-os sobre a placa pelo tempo limite do teste. A morfina age ativando receptores de membrana específicos denominados opióides (μ , κ e δ). Estes receptores, uma vez acoplados a proteína

G, quando ativados irão produzir duas ações que conduzem a uma hiperpolarização neuronal: diminuir o influxo de cálcio para dentro da célula e/ou inibir a adenilato ciclase, com conseqüente redução dos níveis de AMP_c e, ativar os canais de potássio (GALEOTTI et al. 2006).

Entretanto, nenhum dos compostos foi eficaz em aumentar o tempo de latência, mostrando-se ineficazes pela via opióide nesta dose, em comparação com a dipirona, este fármaco também não apresentou atividade neste modelo (Figura 23).

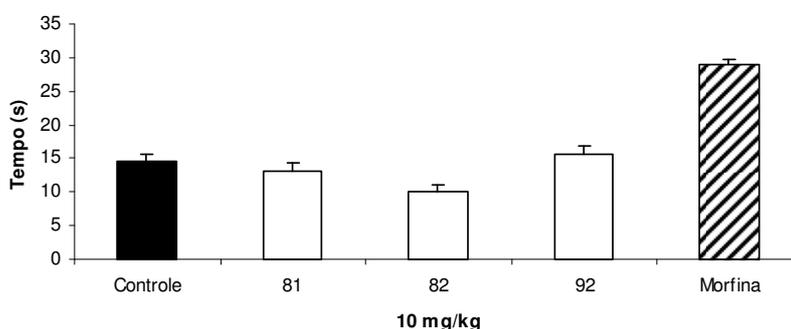


Figura 23. Efeito dos compostos **81**, **82** e **92** administrada na concentração de 10 mg/kg, via intraperitoneal no modelo de sensibilidade termica. Cada coluna representa uma média de 8 experimentos e as barras verticais indicam o EPM. Asteriscos indicam diferenças significantes (** $p < 0,01$) quando comparadas com o grupo controle, utilizando-se ANOVA seguida do teste Dunnet.

Os resultados foram bastante promissores quanto a avaliação da atividade analgésica, uma vez que os compostos **81**, **82** e **92** foram muito mais potentes que a dipirona, em vários modelos avaliados. E entretanto a continuação destes estudos avaliando a DI_{50} de cada um dos compostos em todos os modelos é fundamental para realmente fazer as comparações necessárias, quanto a atividade e o mecanismo provável de ação, além da análise da ação destes compostos quando administrados pela via oral.

Entretanto, apesar de ainda não terem sido feitos os ensaios destes compostos *in vivo* pela via oral, suas propriedades farmacocinéticas relativas a absorção e permeabilidade podem ser estimadas a partir da aplicação da regra de Lipinski (ou regra dos 5) com base nos quatro parâmetros descritos na Tabela 6.

Tabela 6. Estudos teóricos de solubilidade e permeabilidade da *N*-antipirino-3,4-dicloromaleimida e derivados (Continua).

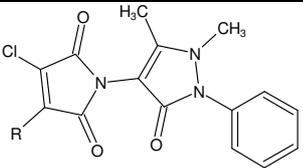
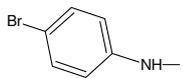
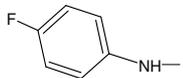
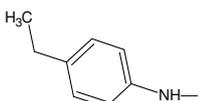
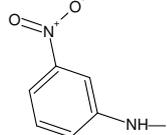
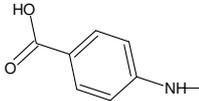
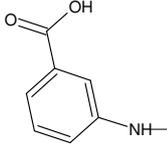
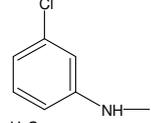
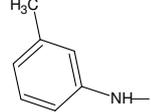
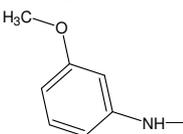
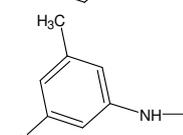
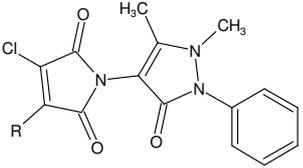
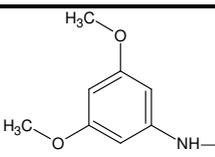
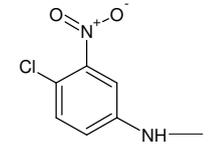
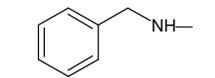
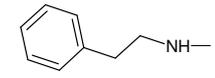
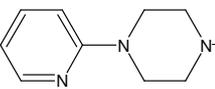
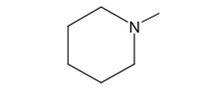
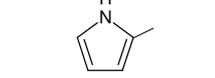
					
Substituinte (R)	Código	MM ^a (g/mol)	CLogP ^a	N+O ^b	NH+OH ^c
- Cl	6	352,17	0,00 ± 0,75	6	0
	81	487,74	1,89 ± 0,75	7	1
	82	426,83	1,17 ± 0,75	7	1
	83	436,89	1,72 ± 0,75	7	1
	84	453,84	1,11 ± 0,75	10	1
	85	452,85	0,84 ± 0,75	9	2
	86	452,85	0,75 ± 0,75	9	2
	87	443,86	1,76 ± 0,75	7	1
	88	422,86	1,19 ± 0,75	7	1
	89	438,86	0,99 ± 0,75	8	1
	90	436,89	1,65 ± 0,75	7	1

Tabela 6. Estudos teóricos de solubilidade e permeabilidade da *N*-antipirino-3,4-dicloromaleimida e derivados (Conclusão).


Substituinte (R)	Código	MM ^{a,*} (g/mol)	LogP ^{b,*}	N+O ^{c,*}	NH+OH ^{d,*}
	91	468,89	1,13 ± 0,75	9	1
	92	488,28	1,90 ± 0,75	10	1
	93	422,86	1,36 ± 0,75	7	1
	94	436,89	1,63 ± 0,75	7	1
	95	478,93	0,38 ± 0,75	9	0
	96	400,86	0,88 ± 0,75	7	0
	97	382,80	0,36 ± 0,75	7	2

^a Logaritmo do coeficiente de partição; ^b Massa molar; ^c Somatório de N e O (aceptores de ligação hidrogênio); ^d Somatório de NH e OH (doadores de ligação hidrogênio).

* Valores calculados nos programas ChemsKetch e Molinspiration.

Nesta previsão inicial dos processos farmacocinéticos relacionados à absorção e permeabilidade, pode-se observar através da análise dos dados expostos acima e com base nos valores estipulados por Lipinski e colaboradores (2001) que todos os compostos apresentam características físico-químicas apropriadas a uma boa biodisponibilidade por via oral, representando candidatos promissores a futuros fármacos.

5.1.2.2 Avaliação da atividade antibacteriana

De forma crescente, têm se acumulado evidências de que as intervenções humanas, com sua capacidade de gerar modificações complexas no ambiente circundante, associadas ao potencial de mudanças na estrutura genética, têm atuado de forma sinérgica no sentido de gerar variantes bacterianas de maior patogenicidade ou dotadas de resistência aos recursos tecnológicos disponíveis para combatê-las (TRABULSI; ALTERTHUM, 2005). Neste aspecto, foi avaliada a atividade antibacteriana de 14 substâncias, o protótipo **6** e os derivados **81** a **93**. Foram utilizadas para os testes cinco cepas de bactérias gram positivas (*Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus saprophyticus* e *Streptococcus agalactiae*) e cinco cepas de bactérias gram negativas (*Proteus mirabilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium* e *Enterobacter cloacae*). Contudo, nas concentrações avaliadas (20, 40, 60, 80 e 100 µg/mL), nenhuma das imidas cíclicas demonstrou atividade antibacteriana.

Estudos prévios demonstraram que algumas imidas cíclicas apresentam atividade antibacteriana comprovada (CECHINEL-FILHO et al., 1994; CORRÊA et al., 1996; ZENTZ et al., 2002), inclusive algumas N-arildicloromaleimidias, mesma classe estudada neste trabalho, as quais foram ativas contra *S. typhimurium* e *S. aureus*, duas bactérias patogênicas causadoras de diversas doenças infecciosas (BELLA CRUZ, et al. 1996). Dessa forma, considerando o conhecido efeito antibacteriano de algumas imidas cíclicas e, sabendo que a dupla ligação no anel imídico é o principal fator estrutural relacionado com a atividade (CECHINEL-FILHO et al., 1994), pode-se sugerir, que o núcleo antipirínico acoplado à porção imídica deve estar contribuindo para tornar estes compostos destituídos de efeito antibacteriano.

Considerando os valores calculados de logP para estas moléculas, também pode-se observar que apesar de a grande maioria destes compostos são classificados como lipofílicos. Esta lipofilicidade não é muito elevada, e segundo Nowakowska (2007) um caráter lipofílico alto é essencial para o efeito antibacteriano.

5.1.2.3 Avaliação da atividade antifúngica

As infecções causadas por agentes fúngicos têm se elevado continuamente e, com isso, houve concomitantemente um aumento da busca de alternativas hábeis de utilização na terapêutica. Neste contexto, as maleimidias e 3,4-dicloromaleimidias têm sido alvo de freqüentes estudos, apresentando excelentes resultados em relação ao seu potencial antifúngico (AQUINO et al., 2003). No intuito de investigar novas substâncias antifúngicas, foram avaliadas 14 imidas sintetizadas, o protótipo **6** e os derivados **81** a **93**. Todos os resultados encontram-se expressos na Tabela 7.

Analisando as estruturas avaliadas como antifúngicas não é possível estabelecer um parâmetro de correlação, uma vez que, para o fungo *Rhizopus* apenas a substância **81** substituída pelo grupo p-bromoanilina, um grupo de característica lipofílica com um valor de LogP calculado de 1,89, foi ativa. Para o fungo *M. gypseum*, as substâncias **82** e **83** foram as únicas significativamente ativas. Entre elas, pode-se observar parametros eletrônicos totalmente contrários, pois a substância **82** possui um átomo de flúor (elétron-retirador) ligado ao anel e a **83** um grupo etila (elétron doador), como também em relação aos valores de log de P calculados que foram 1,17 e 1,72 respectivamente.

Entre todos os derivados testados, o **93** foi o mais surpreendente, pois foi ativo contra vários fungos. O valor de logP calculado para este composto foi de 1,36 um valor intermediário em relação à série. A principal diferença estrutural encontrada entre esta molécula e as demais da série é a distância de um carbono entre o anel imídico e o anel aromático. Esta particularidade estrutural já foi observada anteriormente para compostos N-fenilalquil-3,4-dicloromaleimidias. Entretanto, este espaçador estava ligado ao nitrogênio do anel imídico (LOPEZ et al., 2005; ZAMORA et al., 2003), e na substância **93** o nitrogênio está fora do anel substituindo um dos átomos de cloro. Contudo, pode-se sugerir que a presença deste espaçador esteja envolvido na atividade antifúngica deste composto, e que ele possa interagir com o mesmo receptor, apenas posicionando-se de forma diferente. A quebra da conjugação entre o anel imídico e o substituinte do grupo amino também pode estar contribuindo na potencialização desta atividade.

Tabela 7. Concentração inibitória mínima ($\mu\text{g/mL}$) para a *N*-antipirino 3,4-dicloromaleimida e derivados (Conclusão).

Substituinte R-	Cód.	C.a	C.k	S.c	C.n	A.n	A.f	M.c	M.g	T.r	T.m	R.sp
	91	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100
	92	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100
	93	40	40	40	40	>100	100	>100	>100	100	100	>100

Obs: *Candida albicans* (C.a.), *Candida krusei* (C.k.), *Saccharomyces cerevisiae* (S.c.), *Cryptococcus neoformans* (C.n.), *Microsporium canis* (M.c.), *Microsporium gypseum* (M.g.), *Trichophyton rubrum* (T.r.), *Trichophyton mentagrophytes* (T.m.), *Aspergillus flavus* (A.f.), *Aspergillus fumigatus* (A.f.) *Aspergillus niger* (A.n.) e *Rhizopus sp.* (R.sp.).

Em um estudo recente de Sortino e colaboradores (2007), foi avaliada a estabilidade e a interação de *N*-fenil e *N*-fenilalquilmaleimidas e seus respectivos ácidos âmicos contra *Candida sp.*, considerando a possibilidade da hidrólise do anel imídico no meio de cultura. Os resultados demonstraram que a atividade antifúngica ocorreu apenas com as substâncias imídicas cíclicas, e que os respectivos ácidos âmicos são inativos, não havendo qualquer interação entre as substâncias, e que a hidrólise é negligenciável no tempo necessário ao teste. Além disso, demonstrou-se que as imidas, além de fungistáticas, são também fungicidas tanto contra cepas padronizadas quanto para cepas isoladas clinicamente, sendo de grande interesse a continuidade destes estudos almejando um futuro fármaco antimicrobiano.

5.1.2.4 Avaliação da toxicidade

A avaliação do potencial de toxicidade da *N*-atipirino-3,4-dicloromaleimida e 13 derivados, assim como do protótipo **6** foi realizada através do ensaio com o microcrustáceo, *Artemia salina* Leach (Tabela 8). Este ensaio é considerado uma ferramenta muito útil para avaliação preliminar da toxicidade (MEYER et. al., 1982; CARBALLO, et al., 2002). As concentrações das substâncias variaram entre 31,25 a 1000 µg/mL.

De acordo com Lopes (2002) uma substância é altamente tóxica quando a DL_{50} for menor que 80, moderadamente tóxica quando os valores situarem-se no intervalo de 80 a 250 µg/mL e com baixa toxicidade ou atóxicas com valores superiores a 250 µg/mL.

Tabela 8. Atividade citotóxica da *N*-antipirino-3,4-dicloromaleimida e derivados frente a *Artemia salina* (Continua).

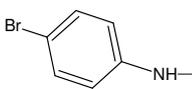
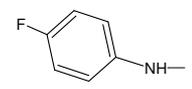
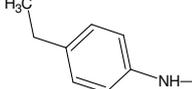
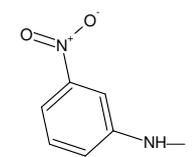
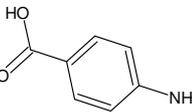
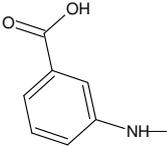
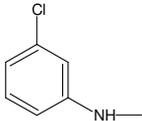
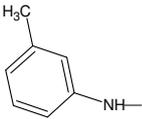
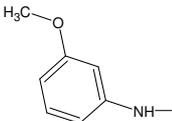
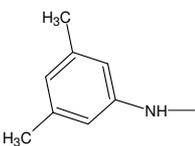
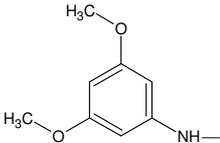
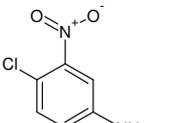
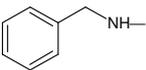
Substituinte (R)	Código	DL_{50} (µg/mL)
- Cl	6	> 1000
	81	> 1000
	82	> 1000
	83	> 1000
	84	> 1000
	85	> 1000

Tabela 8. Atividade citotóxica da *N*-antipirino-3,4-dicloromaleimida e derivados frente a *Artemia salina* (Conclusão).

Substituinte (R)	Código	DL ₅₀ (µg/mL)
	86	> 1000
	87	86,32
	88	90,54
	89	> 1000
	90	> 1000
	91	248,68
	92	94,15
	93	> 1000

Assim, as substâncias que apresentaram algum nível de toxicidade foram a **87**, **88**, **91** e **92**. Sendo a mais tóxica a substância **87**, com um substituinte cloro na posição *meta*, com um valor de DL₅₀ de 86,32 µg/mL, seguida da **88**, com um substituinte metil também em *meta* e a **92**, a qual possui um grupo nitro em *meta* e

um átomo de cloro em *para*, com valores de DL₅₀ de 90,54 e 94,15 µg/mL, respectivamente. E, entre estas, a menos tóxica foi a **91**, com dois substituintes metoxi nas posições *meta* (3 e 5) do anel, com um valor de DL₅₀ de 248,68 µg/mL. Todas as demais substâncias podem ser consideradas atóxicas, pois apresentaram um valor de DL₅₀ acima de 1000 µg/mL.

Analisando os resultados pode-se observar que o protótipo não apresentava nenhum grau de citotoxicidade e entre os derivados apenas alguns demonstraram uma toxicidade moderada nos quais, é possível observar que, a posição *meta* do anel está sempre substituída, entretanto outros derivados também com substituintes nesta posição apresentaram-se atóxicos. Dessa forma não é possível estabelecer uma correlação entre a toxicidade destas substâncias e parâmetros estéricos, eletrônicos ou hidrofóbicos.

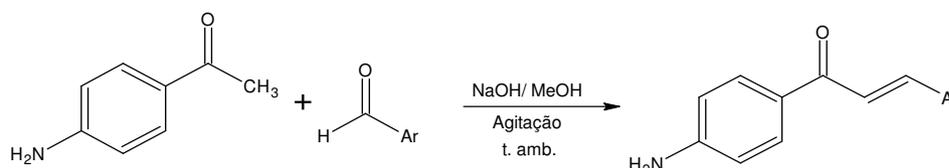
O resultado apresentado neste ensaio é bastante interessante, uma vez que a atividade antinociceptiva já anteriormente relatada, foi bastante significativa para as substâncias **81**, **82** e **92**. Assim, este ensaio direciona o estudo antinociceptivo para as substâncias **81** e **82**, uma vez que a ausência de citotoxicidade para estes compostos é indispensável para um tratamento analgésico seguro.

Este resultado também conduz a outras possibilidades de estudo, pois segundo McLaughlin (1991), substâncias com DL₅₀ <1000 µg/mL são consideradas potencialmente tóxicas contra células tumorais e, portanto, as substâncias **87**, **88**, **91** e **92** poderão ser avaliadas futuramente em testes antitumorais específicos.

5.2 CHALCONAS E ANÁLOGOS

5.2.1 Síntese das Aminochalconas

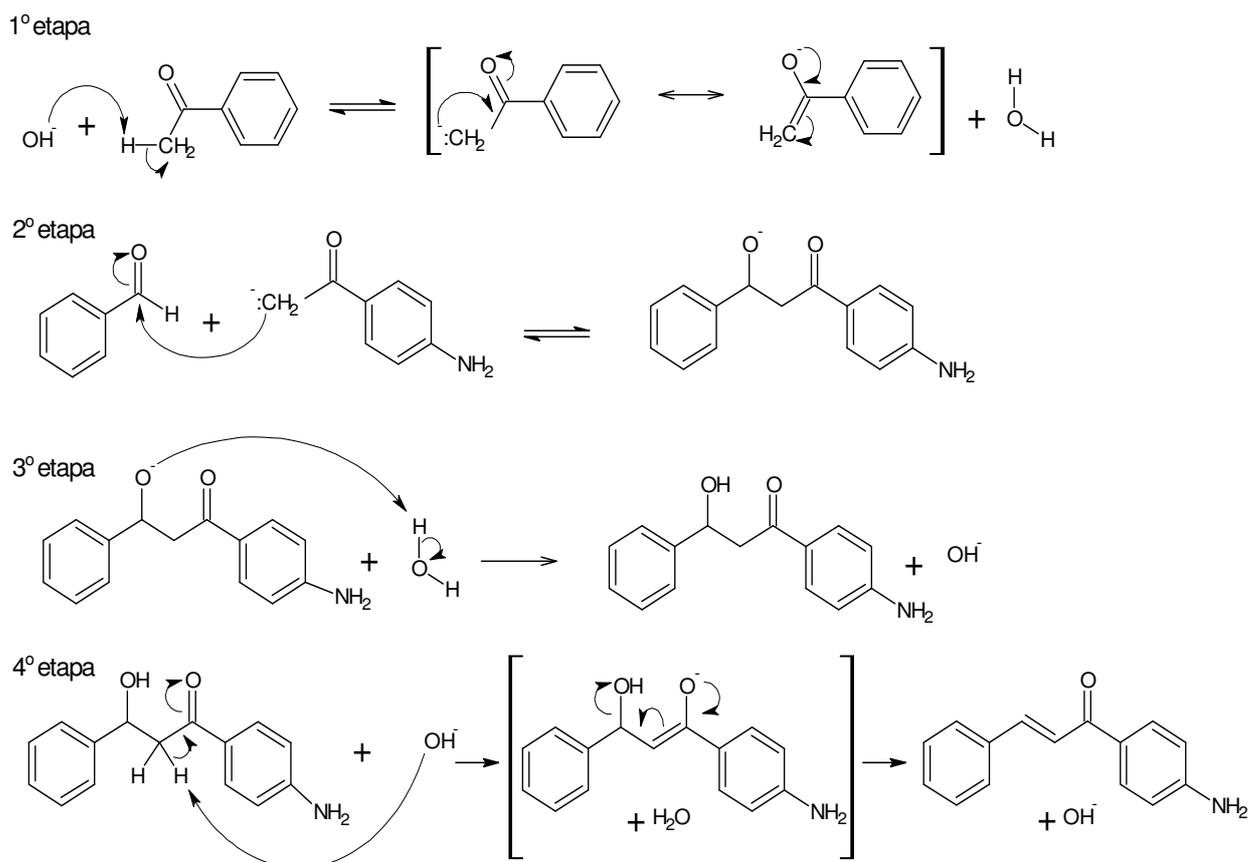
Para a síntese das aminochalconas, reagiram-se quantidades equimolares da 4-aminoacetofenona com benzaldeídos apropriados, através de uma condensação aldólica de Claisen-Schmidt segundo uma derivação do método geral (CORRÊA et al., 2001). Também foram sintetizados dois análogos das aminochalconas utilizando outros compostos aromáticos diferentes dos benzaldeídos substituídos tais como o furano e o tiofeno (Esquema 6).



Ar = C₆H₅ (**98**); 4-OCH₃(C₆H₄) (**99**); 4-CH₃(C₆H₄) (**100**); 4-Cl(C₆H₄) (**101**); 3,4-Cl₂(C₆H₄) (**102**); 4-NO₂(C₆H₄) (**103**); 3-NO₂(C₆H₄) (**104**); N(CH₃)₂(C₆H₄) (**105**); -C₄H₃O (**106**); --C₄H₃S (**107**).

Esquema 6. Reação geral de condensação das aminochalconas e derivados.

O mecanismo destas reações de condensação aldólica ocorre em quatro etapas, exemplificado no Esquema 7 para a aminochalcona (**98**). A primeira delas, a partir da catálise básica do NaOH, o qual remove um próton do carbono α da 4-aminoacetofenona, formando um íon enolato que se estabiliza pela ressonância. Na segunda etapa este, age como nucleófilo (carbânion) atacando o carbono carbonílico dos diferentes aldeídos aromáticos, produzindo um alcóxido que na terceira etapa removeu um próton de uma molécula de água para formar o aldol. Na quarta, e última etapa, ocorreu a remoção do hidrogênio α , devido à sua acidez. E, em seguida, a eliminação da hidroxila β formando a dupla ligação. E desta forma, a estabilização do produto final pela ressonância das duplas ligações conjugadas.



Esquema 7. Mecanismo de condensação aldólica da (2E)-1-(4-aminofenil)-3-fenilprop-2-en-1-ona (**98**)

Todas as aminochalconas aqui sintetizadas já foram relatadas na literatura, com os substituintes: H, 4-Cl, 3,4-Cl₂, 4-CH₃ e 4-NO₂ (DIMMOCK et al., 2003), com o substituinte 4-N(CH₃)₂ e 3-NO₂ (YI et al., 2005), com o anel furil (LI et al., 1999) e com o anel tienil (NAKAYA et al., 1996). O objetivo de sintetizar estes compostos foi de avaliar suas atividades antinociceptivas e microbiológicas, bem como utilizá-los como intermediários para a síntese dos compostos híbridos, descritos na página 169.

Analisando os dados da Tabela 9, pode-se observar que as reações apresentaram rendimentos variados (52 a 88%) e não seguiram os parâmetros eletrônicos com relação aos substituintes. Alguns produtos formados apresentaram impurezas e/ou subprodutos que podem ter ocorrido devido a uma competição da reação de condensação pela reação de formação da base de Schiff pela presença dos grupos amino e aldeído nas estruturas. Estes compostos foram purificados através de cromatografia em coluna variando a concentração dos solventes hexano

e acetato de etila iniciando apenas com hexano. Entretanto, não foi possível o isolamento e a caracterização destes subprodutos nas condições reacionais realizadas. Os valores de R_f apresentados na Tabela 9 foram calculados utilizando como eluente hexano e acetato de etila (70:30).

Tabela 9. Dados analíticos das aminochalconas e análogos.

Radical (R)	Código	Tempo reacional (h)	Rendimentos (%)	Ponto de fusão (°C)	Fator de retenção (R_f)	Inédito
	98	30:00	52	96,2-97,2	0,39	-
	99	11:00	77	111,5-113,2	0,24	-
	100	10:00	82	144,5-145	0,37	-
	101	2:30	77	160,8-162,2	0,35	-
	102	2:30	78	191,1-192,0	0,51	-
	103	10:00	88	219,3-219,8	0,27	-
	104	10:00	79	217,3 – 219,8	0,23	-
	105	2:30	53	182,7-184,9	0,19	-
	106	2:00	79	115,2-115,8	0,34	-
	107	10:00	86	112,5-113,8	0,31	-

Os espectros da chalcona **100** foram selecionados para uma análise mais detalhada, a título de ilustração. No espectro demonstrado na Figura 24, verifica-se

a presença de deformações axiais situadas em 1652 e 1584 cm^{-1} , referentes às ligações C=O e C=C, respectivamente. E, a presença de duas deformações axiais em 3455 e 3337 cm^{-1} que caracteriza a presença da amina primária desta estrutura. Também se observa a deformação angular em 807 dos aromáticos 1,4 disubstituídos. O efeito de ressonância causado por ambos, grupo amina e sistema conjugado da chalcona aumentam o comprimento das ligações e reduzem a frequência da absorção C=O e C=C (SILVERSTEIN, 1994).

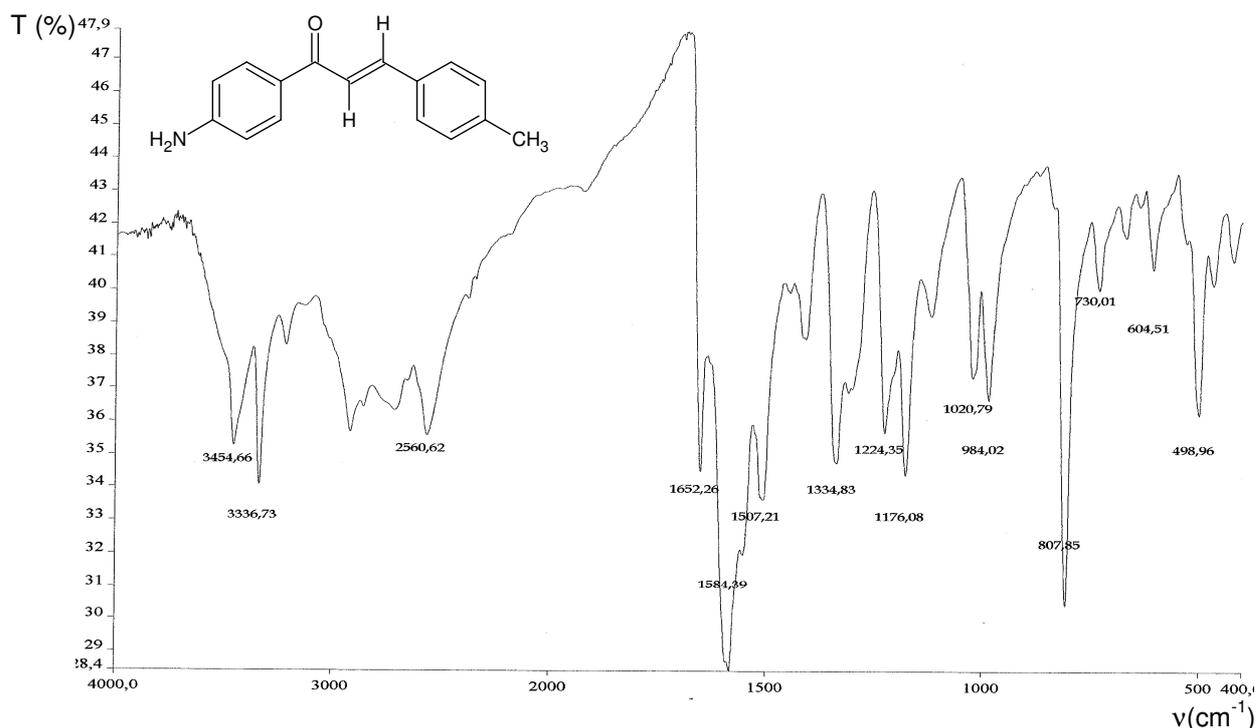


Figura 24. Espectro de Infravermelho da (2E)-1-(4aminofenil)-3-(4-metilfenil)prop-2-en-1-ona (**100**) (Pastilha de KBr, cm^{-1}).

No espectro de RMN ^1H são evidenciados dois dupletos acoplados entre si em 7,64 ($J=16$) e 7,83 ppm ($J=16$) referentes aos hidrogênios olefínicos (H_α e H_β). Os valores da constante de acoplamento (J) obtidos confirmam a geometria E para o grupo funcional alceno dos compostos sintetizados. Um sinal largo em 5,82 ppm corresponde aos hidrogênios da amina primária (NH_2) e um simpleto referente aos hidrogênios do grupamento metila em 2,33 ppm. Os 4 dupletos dos 8 hidrogênios aromáticos são observados nas regiões de 7,00 -8,06 ppm ($J=8$), confirmando a substituição em *para* nos dois anéis aromáticos (Figura 25).

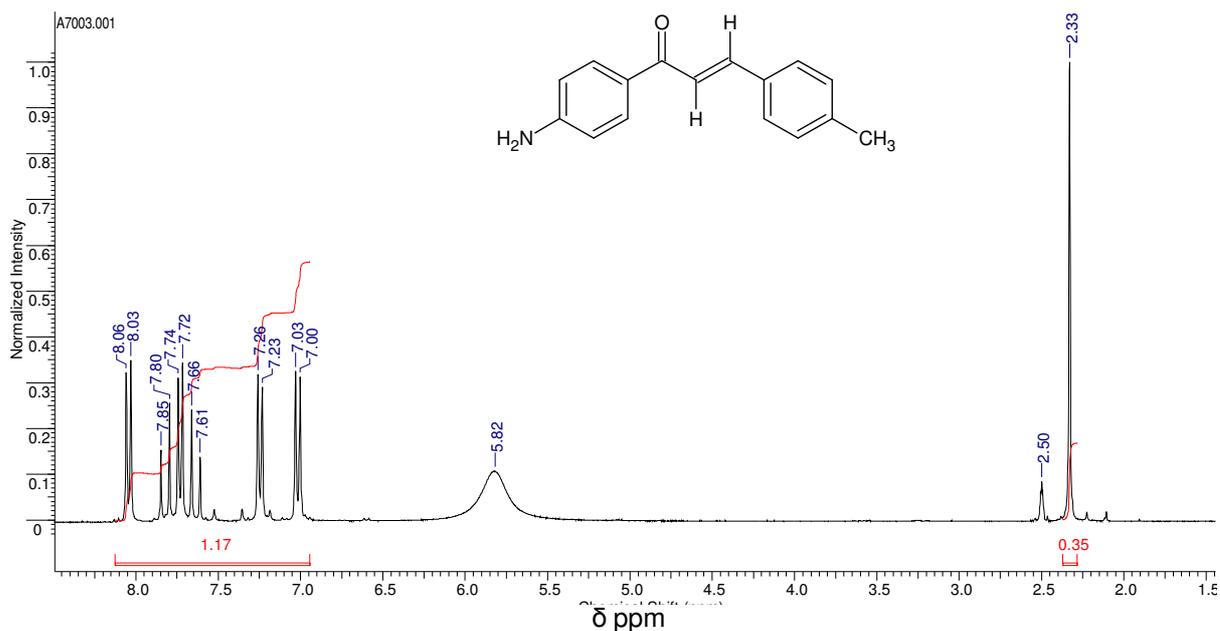


Figura 25. Espectro de RMN ^1H da (2E)-1-(4aminofenil)-3-(4-metilfenil)prop-2-en-1-ona (**100**) (DMSO-d_6 , 400 MHz).

No espectro de RMN ^{13}C , os sinais da carbonila são observados em 186,9 ppm, os carbonos olefínicos (C_β e C_α) em 142,7 e 121,1 ppm e o carbono da metila em 21,1 ppm. O carbono aromático ligado ao grupo metil encontra-se em 140,3 ppm e o carbono aromático ligado ao grupo amino em 146,8 ppm. Os demais 10 carbonos aromáticos encontram-se na região de 117,1 a 132,2 ppm (Figura 26).

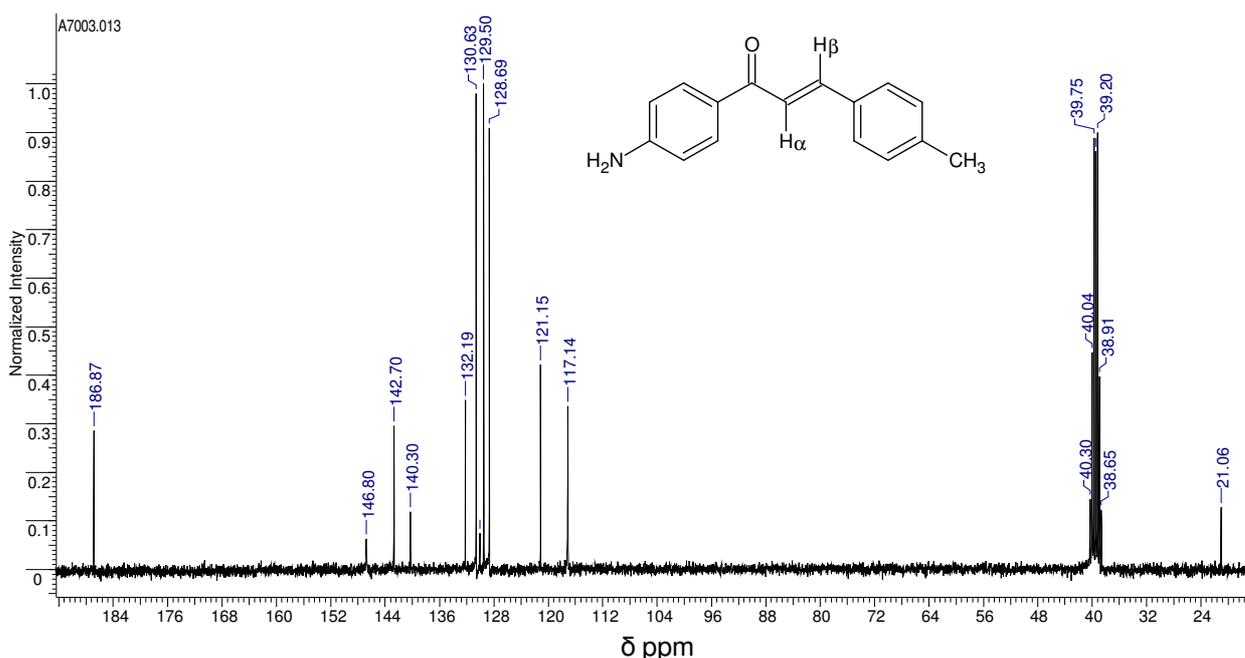
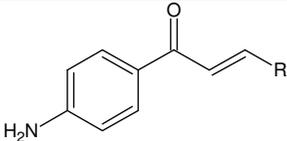
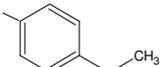
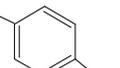
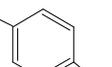
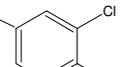
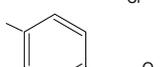
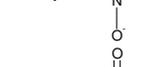
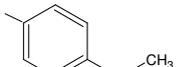
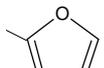
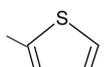


Figura 26. Espectro de RMN ^{13}C da (2E)-1-(4aminofenil)-3-(4-metilfenil)prop-2-en-1-ona (**100**) (DMSO-d_6 , 75 MHz).

5.2.1.1 Avaliação da atividade antinociceptiva

Tabela 10. Atividade antinociceptiva das amino-chalconas e seus análogos no modelo de dor induzida pelo ácido acético 0,6% via i.p., administrados na dose de 10 mg/kg.

		
Radical (R)	Código	% inibição
	98	72,0 ± 2,4**
	99	48,8 ± 3,8**
	100	62,4 ± 2,8**
	101	67,3 ± 4,1**
	102	84,2 ± 2,6**
	103	96,3 ± 1,1**
	104	71,0 ± 2,6**
	105	78,1 ± 3,1**
	106	62,4 ± 2,9**
	107	86,0 ± 2,6**
Ácido acetil salicílico	AAS	35,0 ± 2,0*
Paracetamol	PAR	38,0 ± 1,0**
Dipirona	DIP	33,0 ± 3,5*

Obs: Cada grupo representa uma média de 6 experimentos. Asteriscos indicam diferenças significantes (**p<0.01 e *p<0.05) quando comparadas com o grupo controle.

A Tabela 10 mostra a porcentagem de inibição das amino-chalconas e análogos, no modelo de contorções abdominais induzidas pelo ácido acético a 0,6% em camundongos. Estes valores, quando comparados a fármacos utilizados na terapêutica, como o ácido acetil salicílico (AAS), o paracetamol (PAR) e a dipirona (DIP) cujas inibições são de 38, 35 e 33 %, respectivamente, na mesma dose, foram bastante superiores. Contudo não foi possível, até o momento, encontrar indícios de relação estrutura atividade para os compostos desta série.

Entre os compostos analisados, o **103**, contendo um grupo nitro como substituinte na posição 4, apresentou o maior percentual de inibição, de $96,3\% \pm 1,1$, na dose de 10 mg/kg, administrado pela via intraperitoneal.

Neste aspecto, este composto foi então analisado em maiores detalhes neste mesmo modelo de dor. Inicialmente, sendo avaliado nas doses de 10, 3, 1, 0,5 e 0,1 mg/kg. Este composto apresentou um perfil dose-dependente com um valor de DI_{50} de 0,34 (0,21 – 0,56) mg/kg ou 1,27 (0,78 – 2,01) $\mu\text{mol/kg}$ (Figura 27). Ao se comparar aos fármacos de referência, o composto **103** foi cerca de 100 vezes mais potente, pois o AAS e o PAR possuem valores de DI_{50} de 133 (73-243) $\mu\text{mol/kg}$ e 125 (104-150) $\mu\text{mol/kg}$, respectivamente, e cerca de 130 vezes mais potente que a DIP com uma DI_{50} de 162 (88–296) $\mu\text{mol/kg}$.

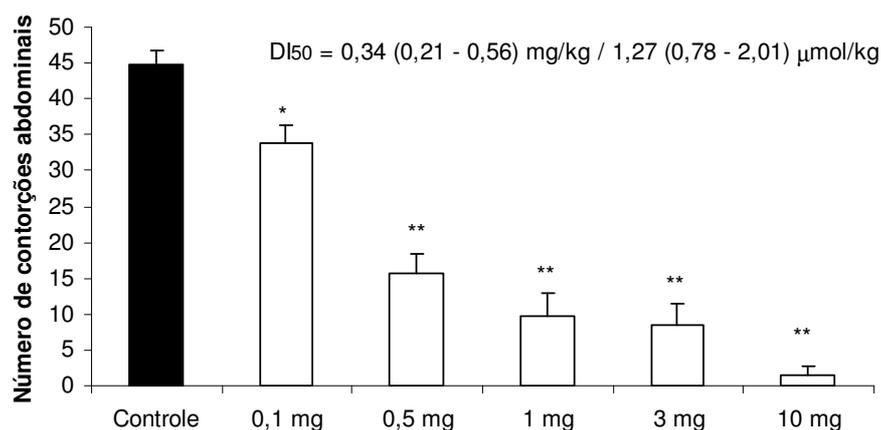


Figura 27. DI_{50} da chalcona **103**, administrada em 5 concentrações 0,1, 0,5, 1, 3 e 10 mg/kg, via intraperitoneal no modelo de dor induzida pelo ácido acético 0,6 %. Cada coluna representa uma média de 06 experimentos e as barras verticais indicam o EPM (erro padrão médio). Asteriscos indicam diferenças significativas (** $p < 0,01$) quando comparadas com o grupo controle, utilizando-se ANOVA seguida do teste Dunnet.

Com o intuito de avaliar este composto pela via oral, administrou-se nas doses de 50, 100 e 300 mg/kg, que correspondem respectivamente a 186,5, 372,7 e

1118,3 $\mu\text{mol/kg}$ (Figura 28). Apenas na dose mais alta (300 mg/kg) apresentou uma inibição significativa de 63,4%, em comparação com os fármacos de referência cuja DI_{50} via oral é de 605 (516-705) $\mu\text{mol/kg}$ para o AAS e de 1145 (708-1846) $\mu\text{mol/kg}$ para o PAR (CECHINEL FILHO, 1998a). Pode-se sugerir que este composto apresenta uma biodisponibilidade pela via oral similar aos fármacos utilizados hoje na clínica.

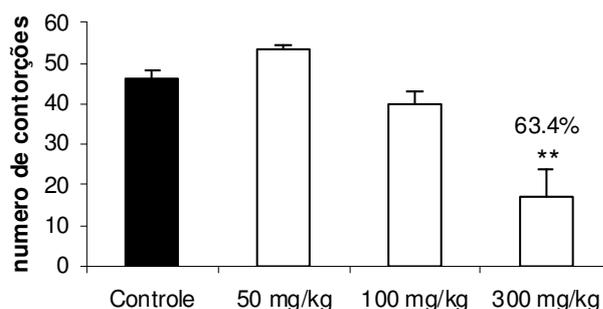


Figura 28. Efeito da chalcona **103**, administrada em 3 concentrações 50, 100 e 300 mg/kg, via oral no modelo de dor induzida pelo ácido acético 0,6 %. Cada coluna representa uma média de 06 experimentos e as barras verticais indicam o EPM. Asteriscos indicam diferenças significantes (** $p < 0,01$) quando comparadas com o grupo controle, utilizando-se ANOVA seguida do teste Dunnet.

Uma análise de duração de ação foi realizada na dose de 100 mg/kg com o objetivo de avaliar se nesta dose seria necessário mais tempo para que este composto conseguisse atingir o sitio ativo quando administrado pela via oral, uma vez que sua atividade foi bastante elevada pela via intraperitoneal. Neste sentido, foi realizado o teste “time-course” até 3h. Entretanto, mesmo com um maior tempo de espera, a atividade não foi significativa na dose avaliada, sendo necessária uma dose superior para o efeito analgésico pela via oral (Figura 29).

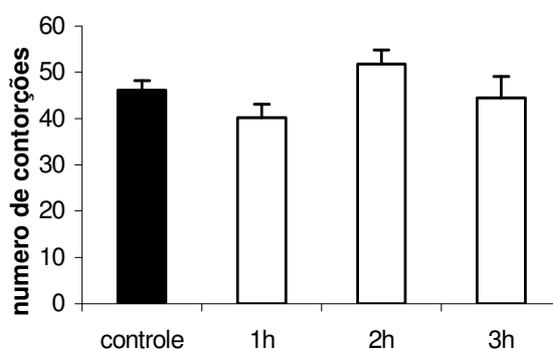


Figura 29. Efeito da chalcona **103**, administrada na concentração de 100 mg/kg, via oral no modelo de dor induzida pelo ácido acético 0,6 % avaliando diferentes tempos de espera (time-course). Cada coluna representa uma média de 06 experimentos e as barras verticais indicam o EPM.

Tabela 11. Estudos teóricos de solubilidade e permeabilidade das amino-chalconas e seus análogos

Substituinte (R)	Código	MM ^{a,*} (g/mol)	LogP ^{b,*}	N+O ^{c,*}	NH+OH ^{d,*}
	98	223,27	3,26 ± 0,37	2	2
	99	253,29	3,20 ± 0,38	3	2
	100	237,29	3,72 ± 0,38	2	2
	101	257,71	3,78 ± 0,39	2	2
	102	292,16	4,26 ± 0,41	2	2
	103	268,27	3,03 ± 0,41	4	2
	104	268,27	3,16 ± 0,39	4	2
	105	266,34	3,76 ± 0,46	3	2
	106	213,23	2,88 ± 0,39	3	2
	107	29,29	3,07 ± 0,56	2	2

^a Logaritmo do coeficiente de partição; ^b Massa molar; ^c Somatório de N e O (aceptores de ligação hidrogênio); ^d Somatório de NH e OH (doadores de ligação hidrogênio).

* Valores calculados nos programas Chemskech e Molinspiration.

Devido à necessidade de se testar este composto em doses mais elevadas pela via oral, do que a dose necessária para a avaliação quando

administrado pela via intraperitoneal, fez-se a avaliação dos parâmetros físico-químicos, a fim de se estimar teoricamente as características de solubilidade e permeabilidade nas membranas biológicas comparando-se todos os compostos desta série (Tabela 11).

De acordo com os valores calculados pode-se observar que todas as amino-chalconas encontram-se dentro dos limites postulados por Lipinski e colaboradores (2001).

O composto **103** foi também avaliado em testes *in vivo* mais específicos, como o modelo de dor induzido pela formalina, o qual avalia duas fases distintas de dor (SOUZA, 2003). Na primeira fase do teste, que se refere ao processo doloroso conhecido como neurogênico ou agudo, o composto **103** não apresentou atividade (Figura 30). Esta inatividade na primeira fase deste teste é observada nos AINES como AAS e PAR. Testes realizados anteriormente pelo nosso grupo de pesquisa, demonstraram também este perfil de inatividade para a primeira fase do modelo da formalina para as diferentes chalconas avaliadas (CORRÊA et al., 2001).

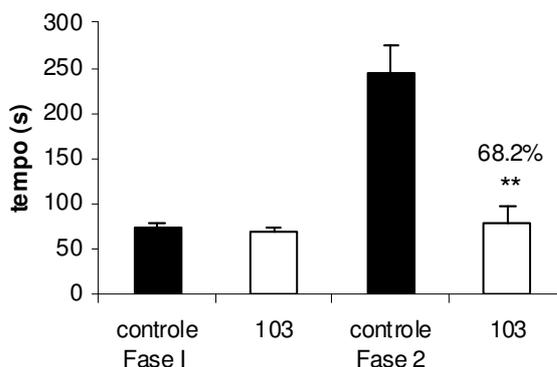


Figura 30. Efeito da chalcona **103**, administrada na concentração de 10mg/kg, via intraperitoneal na Fase I – fase neurogênica e Fase II – fase inflamatória, no modelo de dor induzida pela formalina 2,5 %. Cada coluna representa uma média de 15 experimentos e as barras verticais indicam o EPM. Asteriscos indicam diferenças significantes (** $p < 0,01$) quando comparadas com o grupo controle, utilizando-se ANOVA seguida do teste Dunnet.

Por outro lado, na segunda fase, designada de crônica ou inflamatória, observou-se uma redução significativa da reação dolorosa com uma inibição de 68,2%, na dose de 10 mg/kg, que corresponde a 37,3 $\mu\text{mol/kg}$ (Figura 30). Comparando-se com os fármacos AAS e PAR, que apresentam valores de DI_{50} de 123 (77-209) e 120 (90-161) $\mu\text{mol/kg}$ neste modelo (CAMPOS-BUZZI et al., 2002), o composto **103** apresentou uma atividade 3 a 4 vezes superior a eles. Este composto apresentou uma atividade comparável e ligeiramente superior ao diclofenaco, que

apresenta uma DI_{50} de 34,5 (25 – 47) $\mu\text{mol/kg}$ nesta segunda fase (NAVARRO et al., 2002), e é um fármaco com grande potencial antiinflamatório, e de grande aplicabilidade na clínica médica.

Com o objetivo de melhor avaliar a atividade desta amino-chalcona sobre a dor neurogênica, devido à ausência de efeito observado na primeira fase do modelo da formalina, foram realizados ensaios no modelo de dor induzida pela capsaicina, a qual atua sobre a dor neurogênica. Neste modelo, o composto **103** apresentou uma inibição de 50,7%, apresentando assim indícios de atividade sobre a dor neurogênica sob a via das taquicininas (Figura 31). Isto é sugerido, uma vez que a capsaicina atua em receptores de membrana especificamente expressos por neurônios sensoriais nociceptivos provocando a liberação da substância P dos neurônios aferentes (RANG et al., 2004).

Novamente a atividade deste composto pode ser comparada ao diclofenaco, sendo superior a ele que apresenta uma DI_{50} neste modelo de 47 (35-65) $\mu\text{mol/kg}$ (NAVARRO et al., 2002).

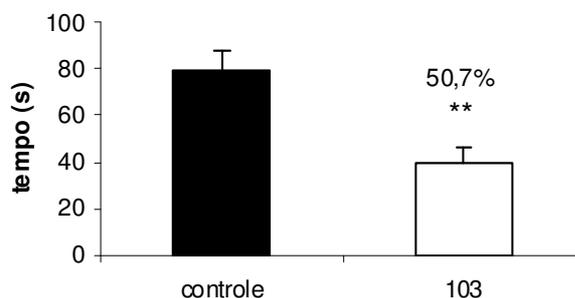


Figura 31. Efeito da chalcona **103** administrada na concentração de 10 mg/kg, via intraperitoneal no modelo de dor induzida pela capsaicina. Cada coluna representa uma média de 08 experimentos e as barras verticais indicam o EPM. Asteriscos indicam diferenças significantes (** $p < 0,01$) quando comparadas com o grupo controle, utilizando-se ANOVA seguida do teste Dunnet.

A via opióide também foi verificada através do modelo da placa quente, para o qual este composto não apresentou resultado significativo. A morfina foi utilizada neste teste, como controle positivo, por atuar através de receptores opióides aumentando o limiar de dor dos animais, mantendo-os sobre a placa pelo tempo limite do teste (dados não mostrados).

Dessa forma, pode-se concluir que as amino-chalconas avaliadas neste trabalho são moléculas potencialmente ativas em relação aos fármacos de referência como o ácido acetil salicílico, o paracetamol, a dipirona e o diclofenaco.

Entretanto, será necessária a avaliação da DI_{50} deste composto em outros modelos para se poder realmente comparar a potência desta nova substância em relação aos fármacos disponíveis hoje no mercado farmacêutico.

5.2.1.2 Avaliação da atividade antibacteriana

Para todas as bactérias testadas (*Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis*, *Salmonella typhimurium*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter cloacae*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus saprophyticus*, *Streptococcus agalactiae*), a CIM das aminochalconas testadas foi maior que 100 µg/mL, sendo considerado de baixa atividade, pois o padrão considerado foi de CIM < 10 µg/mL, ótima atividade, 10 µg/mL ≤ CIM ≤ 100 µg/mL, moderada atividade e CIM > 100 µg/mL, baixa atividade.

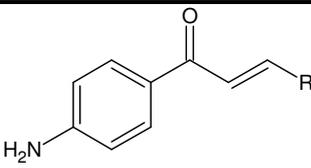
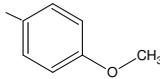
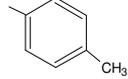
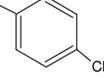
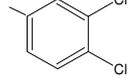
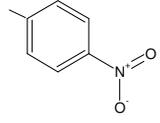
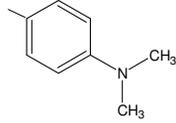
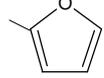
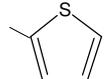
5.2.1.3 Avaliação da atividade antifúngica

Para determinação da CIM, utilizaram-se os seguintes fungos leveduriformes: *Candida krusei*, *Cryptococcus neoformans* e *Saccharomyces cerevisiae*. Em relação a estes microorganismos nenhuma amino-chalcona apresentou poder inibitório considerável, sendo o valor identificado de CIM maior que 100 µg/mL. Esta inatividade aos fungos leveduriformes já foi observada anteriormente por Lopez e colaboradores (2001) que avaliaram outra série de derivados de chalconas e análogos.

Também foi determinada a CIM para os fungos filamentosos: *Aspergillus niger*, *Rhizopus sp.*, *Microsporum canis*, *Trichophyton mentagrophytes* e *Trichophyton rubrum* (Tabela 12). Para o fungo filamentoso oportunista *Rhizopus sp.* toda série de amino-chalconas se mostrou resistente, com valor de CIM > 100 µg/mL. Já para o fungo, também oportunista, *A. niger* as substâncias **106** e **107** apresentaram respectivamente valores de CIM iguais a 40 e 80 µg/mL. Apesar de não serem valores muito significativos, é interessante observar que na série testada por Lopez e colaboradores (2001), todas as substâncias mostraram-se inativas

contra os fungos filamentosos oportunistas. Estas duas substâncias apresentam no anel B um anel aromático de apenas 5 membros (furano e tiofeno), que devem estar contribuindo para a atividade antimicrobiana, considerando que todos os demais possuem o anel fenila no anel B e o grupo 4-amino no anel A e, nenhuma das outras chalconas apresentou atividade.

Tabela 12. Concentração inibitória mínima ($\mu\text{g/mL}$) das amino-chalconas e seus análogos para os fungos filamentosos

						
Substituinte (R)	Código	A.n.	R.sp.	M.c.	T.m.	T.r.
	98	>100	>100	60	>100	>100
	99	>100	>100	>100	40	>100
	100	>100	>100	>100	>100	>100
	101	>100	>100	>100	60	<20
	102	>100	>100	>100	>100	>100
	103	>100	>100	>100	>100	>100
	105	>100	>100	>100	>100	>100
	106	40	>100	>100	>100	>100
	107	80	>100	>100	>100	>100

Obs: *Aspergillus niger* (A.n.), *Rhizopus sp.* (R.sp.), *Microsporium canis* (M.c.), *Trichophyton mentagrophytes* (T.m.) e *Trichophyton rubrum* (T.r.).

Já para os fungos filamentosos dermatófitos, pode-se observar uma discreta atividade para a série testada comparando-se aos antifúngicos utilizados clinicamente como Amphotericina B e Cetoconazol, que apresentam valores de CIM para o microrganismo *M. canis* > 50 e 15 µg/mL; para o *T. mentagrophytes* de 6,25 e 12,5 µg/mL e para o *T. rubrum* de 20 e 15 µg/mL respectivamente (LOPEZ, et al., 2001).

A avaliação desta série de aminochalconas mostrou que o microrganismo *M. canis* foi sensível à aminochalcona **98** com valor de CIM de 60 µg/mL. Para o fungo *T. mentagrophytes*, as chalconas **99** e **101** apresentaram valores de CIM de 60 e 40 µg/mL. O microrganismo *T. rubrum* foi sensível à substância **101** com CIM < 20 µg/mL. Os valores de CIM encontrados para os fungos filamentosos estão apresentados na Tabela 12.

Novamente nenhuma correlação de estrutura-atividade para os compostos ativos pode ser estabelecida, pois esta série difere apenas no substituinte do anel B, no qual o **98** não possui substituinte, o **101** possui um átomo de cloro, eletronegativo na posição *para* e o **99** um grupo metóxi, elétron-doador também em posição *para*. Os resultados apenas sugerem, portanto, que efeitos estéricos nas posições indicadas poderiam estar influenciando a atividade biológica, mas para confirmação são necessários outros estudos adicionais.

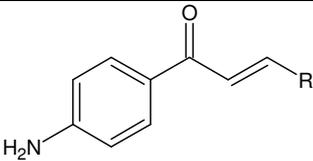
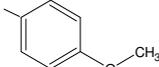
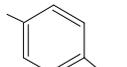
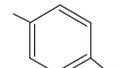
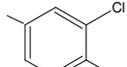
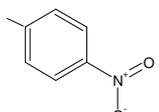
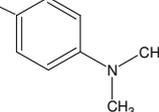
Lopes e colaboradores (2001) avaliaram uma série de chalconas com diferentes substituintes em ambos os anéis (A e B), e observaram atividades bastante significativas contra os fungos dermatófitos com uma boa correlação quanto à influência eletrônica e estérea dos substituintes no anel B, sendo os compostos mais potentes aqueles com grupos retiradores de elétrons na posição *para*.

Comparando alguns compostos alvo deste trabalho como a **98**, **99**, **100** e **103** e similares avaliados por Lopes e colaboradores (2001) com os mesmos substituintes no anel B mas sem o grupo amino no anel A, pode-se observar que valores de CIM, avaliados contra alguns fungos filamentosos dermatófitos, foram bastante inferiores aos compostos aqui avaliados. Desta forma pode-se concluir que o grupo amino pode estar contribuindo para a menor atividade destes compostos.

5.2.1.4 Avaliação da toxicidade

A avaliação do potencial de toxicidade das aminochalconas e análogos foi realizada através do ensaio com o microcrustáceo *Artemia salina* Leach. As concentrações das substâncias variaram entre 31,00 a 1000 µg/mL.

Tabela 13. Atividade citotóxica das amino-chalconas e seus análogos frente à *Artemia salina*.

		
Substituinte (R)	Código	DL ₅₀ (µg/mL)
	98	< 31,25
	99	31,00
	100	< 31,25
	101	> 1000
	102	> 1000
	103	>1000
	105	> 1000
	106	< 62,94
	107	51,85

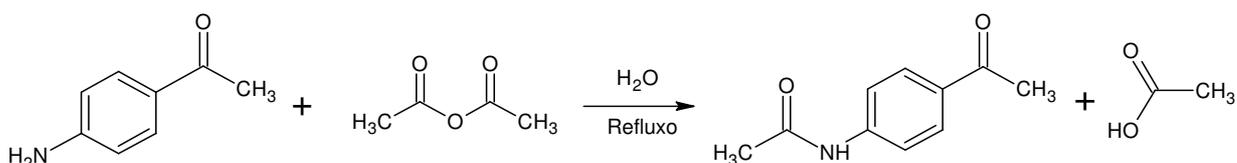
As amino-chalconas que apresentaram toxicidade elevada foram a **99**, que possui um grupo metoxi na posição *para* do anel B, com uma DL₅₀ de 31,00 µg/mL, a **98**, sem substituinte e a **100**, que possui um grupo metil na posição *para* do anel B, ambas com o valor de DL₅₀ de 31,25 µg/mL, e os análogos **106** e **108** que possuem o anel furano e tiofeno, com valores de DL₅₀ de 62,94 e 51,85 µg/mL, respectivamente. As demais foram consideradas de baixa toxicidade ou atóxicas. Os valores correspondentes à DL₅₀ estão sumarizados na Tabela 13.

Nesta série, pode-se observar certa influência dos grupos eletronegativos ligados ao anel B, (**101**, **102** e **103**) contribuindo na diminuição da citotoxicidade, uma vez que o deslocamento da densidade eletrônica deste sistema conjugado para o grupo substituinte do anel B diminui a reatividade do grupo amino diminuindo assim provavelmente a toxicidade. Este dado é bastante interessante ao analisar-se a substância **103** que possui um grupo nitro na posição *para* do anel B, que poderia sugerir uma possível ação tóxica, de acordo com a literatura (ROSESNKRANZ et al., 1983; CHUNG et al., 1996).

Contudo alguns fármacos utilizados clinicamente possuem grupo nitro em suas estruturas, como é o caso do Nimesulide®, um antiinflamatório não esteroideal utilizado no tratamento da dor e inflamação (MICHAUX et al., 2005). Isto primeiramente foi o que encorajou a continuação do estudo com a substância **103**. Finalmente, os resultados com a *Artemia salina* não indicaram sinais de toxicidade, o que é fundamental para um tratamento analgésico seguro.

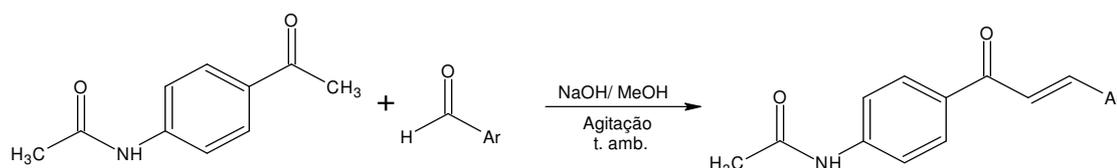
5.2.2 Síntese das Amido-chalconas

Para a síntese das amido-chalconas, reagiu-se primeiramente quantidades equimolares da aminoacetofenona com anidrido acético sob refluxo para se obter a *N*-(4-acetilfenil) acetamida (**108**) (Esquema 8).



Esquema 8. Reação de acetilação da p-aminoacetofenona (**108**).

A *N*-(4-acetilfenil)acetamida (**108**) foi submetida a uma reação de condensação aldólica de Claisen-Schmidt com benzaldeídos apropriados, segundo Esquema 7 (CORRÊA et al., 2001). Foram também sintetizados dois análogos das amido-chalconas utilizando outros ciclos aromáticos diferentes dos benzaldeídos substituídos tais como o furano e o tiofeno (Esquema 9).



Ar = C₆H₅ (**109**); 4-OCH₃(C₆H₄) (**110**); 4-CH₃(C₆H₄) (**111**); 4-Cl(C₆H₄) (**112**); 3,4-Cl₂(C₆H₄) (**113**); 4-NO₂(C₆H₄) (**114**); 3-NO₂(C₆H₄) (**115**); N(CH₃)₂(C₆H₄) (**116**); -C₄H₃O (**117**); --C₄H₃S (**118**).

Esquema 9. Reação geral de conjugação das amido-chalconas e análogos.

Analisando os dados da Tabela 14, pode-se observar que as reações apresentaram rendimentos relativamente altos (72 a 99%), com curto tempo de duração. Isto pode ser explicado devido ao grupo acetil que protegeu o grupo amino impedindo a competição da reação de Claisen-Schmidt com a reação de formação da base de Schiff, diminuindo a possibilidade de formação de sub-produtos. Quando comparado ao grupo amino, que é um forte doador de elétrons, a amida tem a vantagem de ser um doador moderado, deixando assim, os hidrogênios α mais susceptíveis ao ataque da base catalizadora presente na reação, aumentando a reatividade e facilitando a formação do produto final. Os valores de R_f para estes compostos foram calculados utilizando o sistema de eluentes hexano: acetato de etila (70:30) (Tabela 14).

Tabela 14. Dados analíticos das amidochalconas e análogos.

Substituinte (R)	Código	Tempo reacional (h)	Rendimento (%)	Ponto de fusão (°C)	Fator de retenção (R _f)	Inéditos (i)
	109	28:00	80	161,7-162,2	0,39	-
	110	4:00	84	206,5-207,0	0,30	-
	111	5:00	79	197,5-199,0	0,36	i
	112	2:00	83	215,0-215,7	0,37	i
	113	4:30	95	210,4-211,0	0,42	i
	114	4:30	89	239,7-241,0	0,32	-
	115	4:00	72	150,9-151,7	0,28	-
	116	1:00	99	118,1-119,0	0,35	-
	117	2:00	90	147,8-149,3	0,37	-

A amidochalcona **110** foi selecionada para análise espectroscópica e apresentou o mesmo perfil da amino-chalcona **99** ilustrada anteriormente. O espectro de infravermelho demonstrado na Figura 29, apresenta deformações axiais em 1668 e 1597 cm^{-1} referentes as carbonilas da amida e da cetona α,β insaturada, respectivamente e em 1532 referente a C=C. Pode-se verificar também a presença da deformação axial em 3293 cm^{-1} caracterizando a presença do grupo N-H, e também em 820 cm^{-1} a deformação angular dos anéis aromáticos 1,4-dissubstituídos.

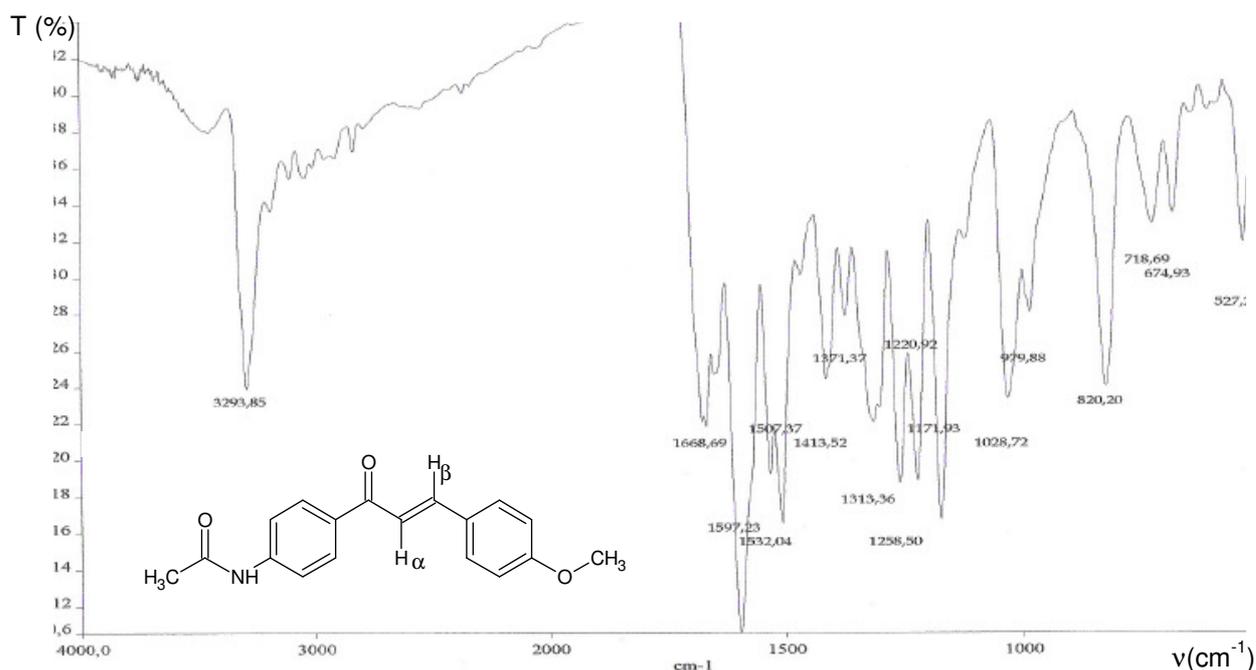


Figura 32. Espectro de Infravermelho da *N*-{4-[(2*E*)-3-(4-metoxifenil)prop-2-enil]fenil}acetamida (**110**) (Pastilha de KBr, cm^{-1}).

No espectro de RMN ^1H (Figura 30) em 7,69 ($J=16$) e 7,79 ($J=16$) ppm observa-se os dupletos dos hidrogênios olefinicos ($\text{H}\alpha$ e $\text{H}\beta$). Os hidrogênios dos anéis aromáticos situam-se em 6,99 - 8,13 ppm ($J=8$). O simpleto referente a metila do grupo acetamida é observado em 2,10 ppm, e do grupo metóxi em 3,81 ppm. Em 10,30 ppm, observa-se o hidrogênio ligado ao nitrogênio da função amida. E, são observados em 2,50 e 3,36 ppm os picos residuais do DMSO e da H_2O , respectivamente (GOTTLIEB, KOTLYAR, NUDELMAN, 1997).

No espectro de carbono são observados os sinais em 187,4 ppm para a carbonila α - β insaturada e em 168,9 ppm para a carbonila da amida. Os sinais em 161,2 são referentes ao carbono ligado ao grupo metóxi e em 143,5 ppm ao carbono ligado ao nitrogênio. Na região de 114,4 a 132,4 ppm encontram-se os demais 10 carbonos aromáticos. Os sinais em 143,3 e 119,4 ppm são referentes aos carbonos olefinicos ($\text{C}\beta$ e $\text{C}\alpha$), os sinais em 55,3 e 24,2 ppm ao carbono dos grupamentos metóxila e metila, respectivamente (Figura 31).

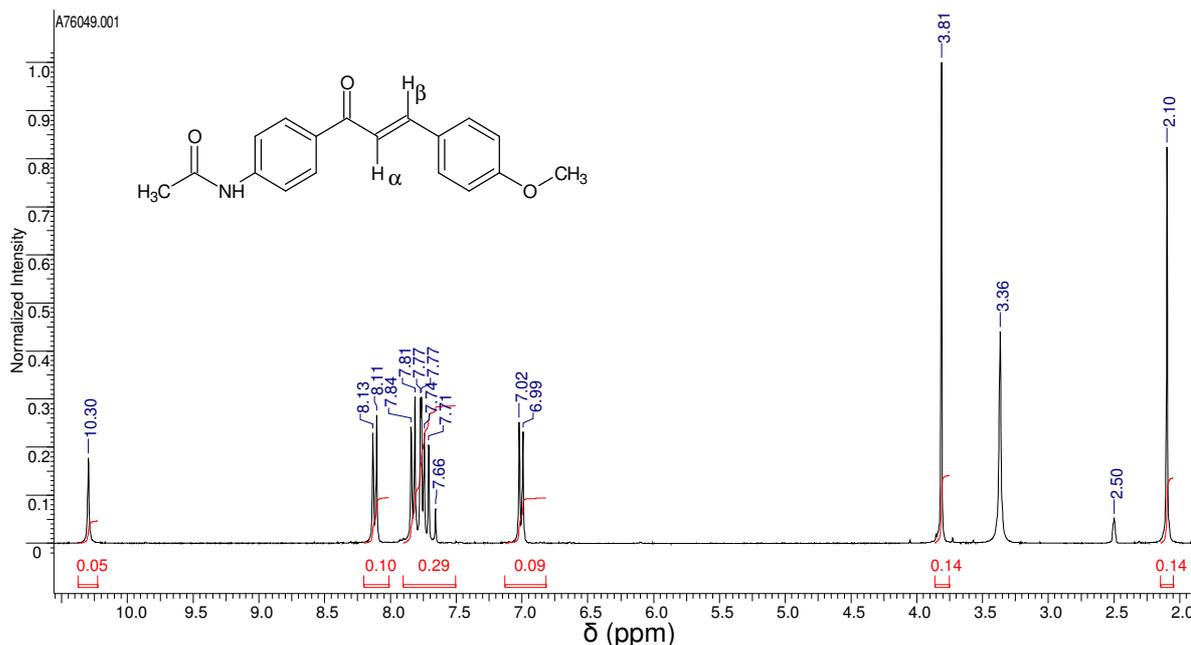


Figura 33. Espectro de RMN ^1H da *N*-{4-[(2*E*)-3-(4-metoxifenil)prop-2-enoil]fenil}acetamida (**110**) (DMSO-d_6 , 300 MHz).

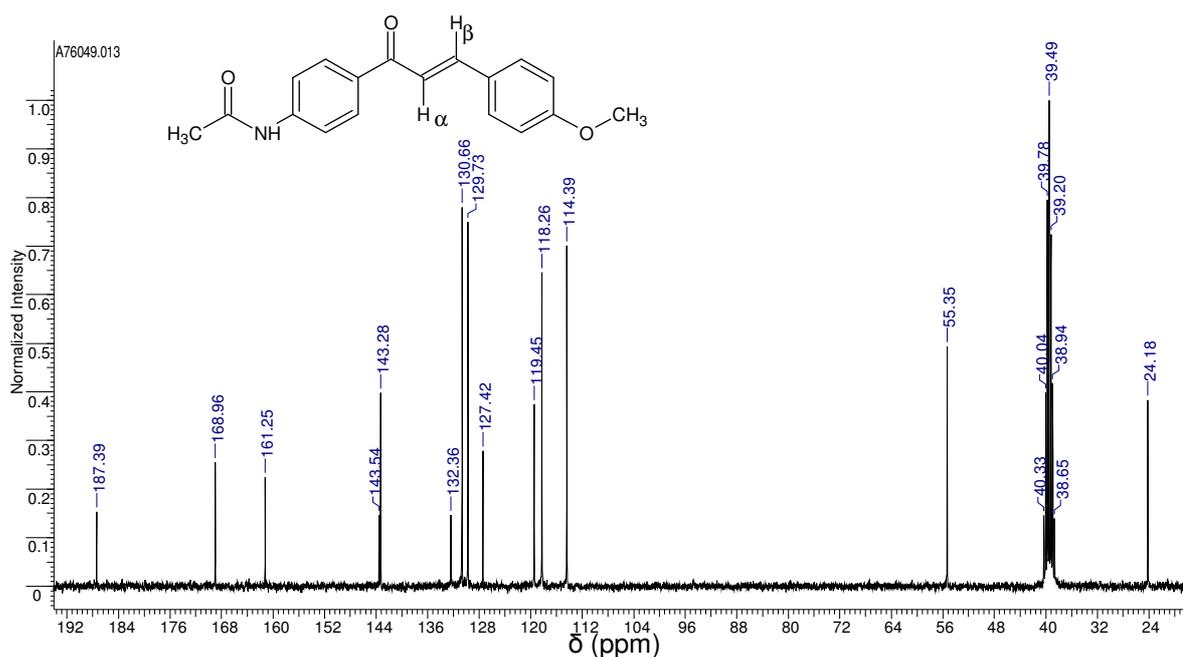
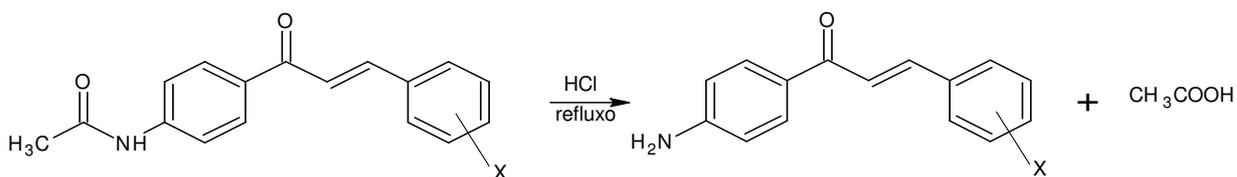


Figura 34. Espectro de RMN ^{13}C da *N*-{4-[(2*E*)-3-(4-metoxifenil)prop-2-enoil]fenil}acetamida (**110**) (DMSO-d_6 , 75 MHz).

A partir da hidrólise, demonstrada no Esquema 10, pôde-se obter a mesma série das amino-chalconas previamente sintetizadas, com exceção dos análogos, porém com um rendimento maior e em menor período de tempo (Tabela 15). Este procedimento foi realizado a fim de se obter as amino-chalconas de uma

forma indireta, com a proteção do grupo amino pelo grupo acetil, aumentando a reatividade e impedindo a formação de sub-produtos.



X= H (**98**); 4-OCH₃ (**99**); 4-CH₃ (**100**); 4-Cl (**101**); 3,4-Cl₂ (**102**); 4-NO₂ (**103**); 4-N(CH₃)₂ (**105**).

Esquema 10. Reação de hidrólise das amido-chalconas.

Tabela 15. Dados analíticos das aminochalconas obtidas a partir da reação de hidrólise das amido-chalconas.

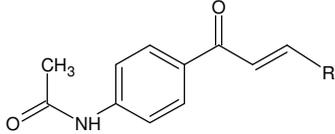
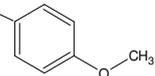
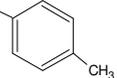
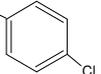
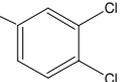
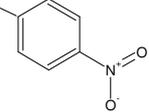
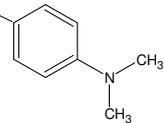
Substituinte (-X)	Código	Tempo reacional (h)	Rendimentos (%)	Ponto de fusão (°C)
H	98	1:00	68	91,9-92,4
4-OCH ₃	99	0:30	94	110,7-118,8
4-CH ₃	100	1:30	74	134,6-135,8
4-Cl	101	2:00	92	163,4-164,0
3,4-Cl	102	2:00	70	191,1-192,0
4-NO ₂	103	1:30	70	219,3-219,8
4-N(CH ₃) ₂	105	1:00	81	178,8-181,3

5.2.2.1 Avaliação da atividade antinociceptiva

A Tabela 16 mostra a porcentagem de inibição das amido-chalconas e dos análogos, no modelo de contorções abdominais induzidas pelo ácido acético a 0,6%

em camundongos. Os valores de inibição encontrados para estes compostos foram superiores aos valores dos fármacos de referência AAS, PAR e DIP.

Tabela 16. Atividade antinociceptiva das amidochalconas e seus análogos no modelo de dor induzida pelo ácido acético 0,6%, via i.p., administrados na dose de 10 mg/kg.

		
Substituinte (R)	Código	% Inibição
	109	65,6 ± 4,9**
	110	91,6 ± 2,9**
	111	85,4 ± 2,2**
	112	70,3 ± 3,8**
	113	71,1 ± 4,0**
	114	94,1 ± 2,5**
	115	84,1 ± 0,6**
	116	90,9 ± 2,2**
	117	64,8 ± 2,8**
Ácido acetil salicílico	AAS	35,0 ± 2,0*
Paracetamol	PAR	38,0 ± 1,0**
Dipirona	DIP	33,0 ± 3,5*

Obs: Cada grupo representa uma média de 6 experimentos. Asteriscos indicam diferenças significantes (**p<0.01 e *p<0.05) quando comparadas com o grupo controle.

Entre os compostos analisados, aquele contendo o grupo nitro como substituinte na posição 4 (**114**), apresentou o maior valor de inibição de $94,1\% \pm 2,5$, na dose de 10 mg/kg, administrado pela via intraperitoneal. Este composto também apresentou um perfil dose-dependente, com um valor de DI_{50} de 1,22 (0,83 – 1,80) mg/kg ou 3,93 (2,67 – 5,80) $\mu\text{mol/kg}$ (Figura 32). Ao se comparar aos fármacos de referência, o composto **114** também apresentou cerca de 34 - 32 vezes mais potente que os fármacos de referência AAS e PAR que possuem valores de DI_{50} de 133 (73 - 243) e 125 (104 - 150) $\mu\text{mol/kg}$, respectivamente, e 41 vezes mais potente que a DIP ($DI_{50} = 162$ (88 - 296) $\mu\text{mol/kg}$) (CAMPOS-BUZZI et al., 2002).

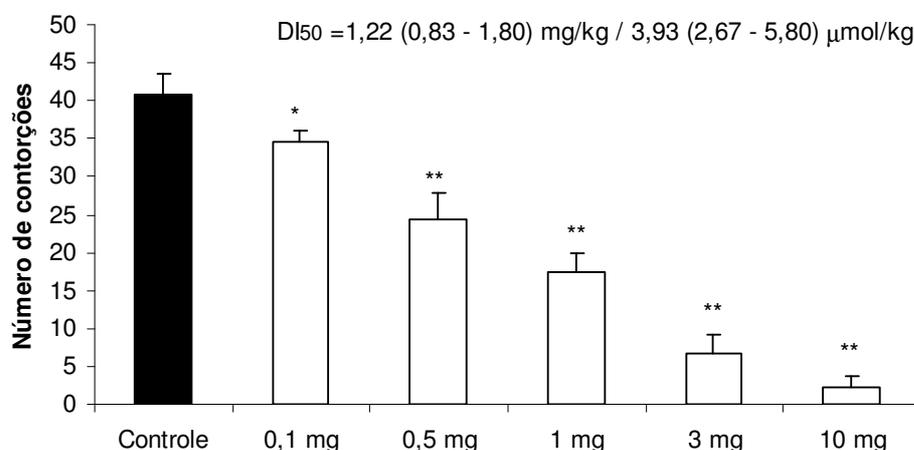


Figura 35. DI_{50} da chalcona **114**, administrada em 5 concentrações 0,1, 0,5, 1, 3 e 10 mg/kg, via intraperitoneal no modelo de dor induzida pelo ácido acético 0,6 %. Cada coluna representa uma média de 06 experimentos e as barras verticais indicam o EPM. Asteriscos indicam diferenças significantes (** $p < 0,01$) quando comparadas com o grupo controle, utilizando-se ANOVA seguida do teste Dunnet.

Quando administrado por via oral, nas doses de 50, 100 e 300 mg/kg, que corresponde a 161,1, 322,3 e 966,8 $\mu\text{mol/kg}$ (Figura 33), a atividade antinociceptiva avaliada no modelo de contorções abdominais induzidas pelo ácido acético não apresentou resultados estatisticamente significantes, com apenas 12,6% de inibição na maior dose avaliada, em comparação com os fármacos de referência para os quais a DI_{50} via oral é de 605 (516-705) $\mu\text{mol/kg}$ para o AAS, e de 1145 (708-1846) $\mu\text{mol/kg}$ para o PAR (CECHINEL FILHO, 1998a).

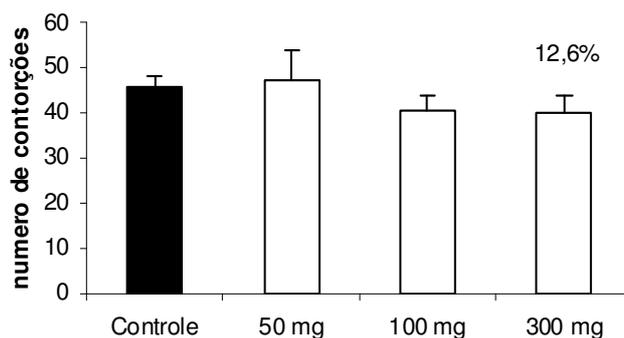


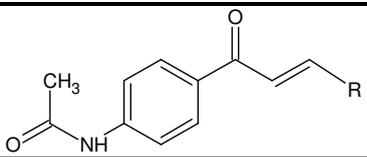
Figura 36. Efeito da chalcona **114**, administrada em 3 concentrações 50, 100 e 300 mg/kg, via oral no modelo de dor induzida pelo ácido acético 0,6 %. Cada coluna representa uma média de 06 experimentos e as barras verticais indicam o EPM.

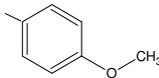
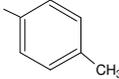
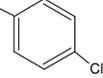
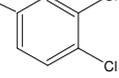
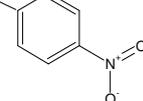
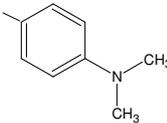
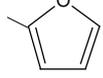
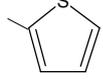
Este resultado sugeriu novamente a avaliação teórica das propriedades físico-químicas, para que se observasse se estas propriedades poderiam estar comprometendo a solubilidade deste composto. Novamente a série toda foi submetida à avaliação dos parâmetros propostos por Lipinski (Tabela 17).

Com base nos valores da Tabela 17, pode-se observar que todos os compostos apresentam-se abaixo dos limites propostos por Lipinski (página 23), e assim de acordo com as características físico-químicas desta série pode-se esperar uma boa disponibilidade pela via oral.

Uma vez, que isto não foi observado na prática, mesmo com o aumento da dose administrada pela via oral, outros fatores precisam ser analisados em relação a estes compostos. Pesquisas anteriores (VEBER, 2002), têm focado a propriedade de complexação indesejável com a água por ligações amida como um fator negativo para a biodisponibilidade oral. Assim, entre os possíveis fatores envolvidos pode-se sugerir além desta possível complexação, algum metabolismo pré-sistêmico ou ainda alguma degradação da molécula no trato gastrointestinal.

Tabela 17. Estudos teóricos de solubilidade e permeabilidade das amidochalconas e seus análogos.



Estrutura (R)	Código	MM ^{a, *} (g/mol)	LogP ^{b, *}	N+O ^{c, *}	NH+OH ^{d, *}
	109	265,31	3,31 ± 0,37	3	1
	110	295,33	3,26 ± 0,38	4	1
	111	279,33	3,77 ± 0,38	3	1
	112	299,75	3,84 ± 0,39	3	1
	113	334,19	4,32 ± 0,41	3	1
	114	310,30	3,09 ± 0,41	6	1
	115	308,37	3,82 ± 0,46	4	1
	116	255,27	2,93 ± 0,39	4	1
	117	271,33	3,13 ± 0,56	3	1

^a Logaritmo do coeficiente de partição; ^b Massa molar; ^cSomatório de N e O (aceptores de ligação hidrogênio); ^dSomatório de NH e OH (doadores de ligação hidrogênio).

* Valores calculados nos programas Chemskech e Molinspiration.

Sendo a atividade deste composto relevante pela via intraperitoneal, e acreditando-se que a biodisponibilidade poderia ter sido prejudicada pelo grupo amido presente na estrutura, foi realizado o teste “time course”, a fim de se analisar se esta molécula poderia se comportar como um pró-fármaco por via oral hidrolizando o grupo acetil ao grupo amino e aumentando com isso a atividade antinociceptiva com um maior tempo de meia-vida. No entanto, após 3 horas de espera, a atividade não foi estatisticamente significativa por esta via (Figura 37).

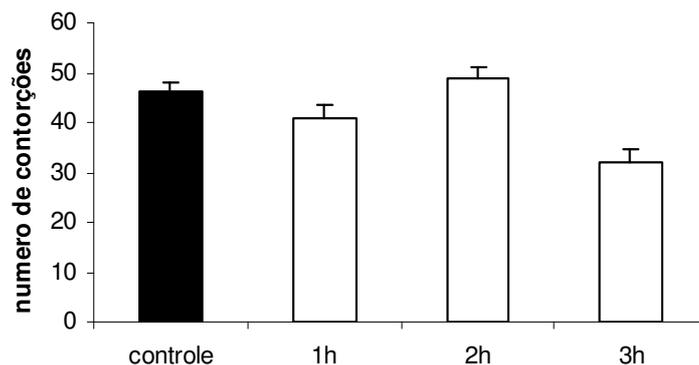


Figura 37. Efeito da chalcona **114**, administrada na concentração de 100 mg/kg, via oral no modelo de dor induzida pelo ácido acético 0,6 % avaliando diferentes tempos de espera (time-course). Cada coluna representa uma média de 06 experimentos e as barras verticais indicam o EPM.

Outros testes com diferentes modelos de dor foram realizados, novamente pela via intraperitoneal. No modelo da formalina, na primeira fase do teste, o composto **114** não apresentou atividade. Por outro lado, na segunda fase, observou-se uma redução significativa da reação dolorosa com uma inibição de 60,8% (Figura 35). Estes resultados foram similares aos encontrados para a substância **103**, analisados anteriormente.

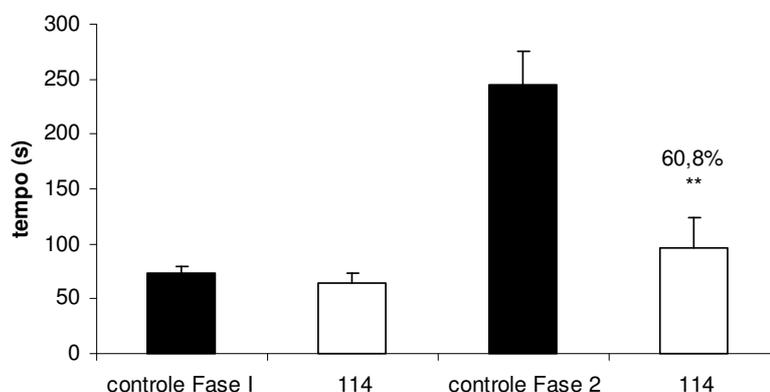


Figura 38. Efeito da chalcona **114**, administrada na concentração de 10mg/kg, via intraperitoneal na Fase I – fase neurogênica e Fase II – fase inflamatória, no modelo de dor induzida pela formalina 2,5 %. Cada coluna representa uma média de 8 experimentos e as barras verticais indicam o EPM. Asteriscos indicam diferenças significantes (** $p < 0,01$) quando comparadas com o grupo controle, utilizando-se ANOVA seguida do teste Dunnet.

Já no modelo de dor induzida pela capsaicina, o composto **114** apresentou uma inibição de 69,9%, na dose de 10 mg/kg que corresponde a 32,2 $\mu\text{mol/kg}$, demonstrando assim indícios de atividade sobre a dor neurogênica pela via das taquicininas (Figura 36). Este efeito foi mais pronunciado que no composto **103**,

provavelmente devido a alguma interação do grupamento amido ao receptor vanilóide.

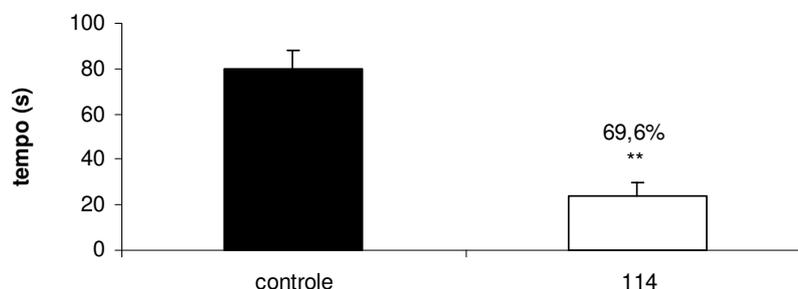


Figura 39. Efeito da chalcona **114** administrada na concentração de 10 mg/kg, via intraperitoneal no modelo de dor induzida pela capsaicina. Cada coluna representa uma média de 06 experimentos e as barras verticais indicam o EPM. Asteriscos indicam diferenças significantes (** $p < 0,01$) quando comparadas com o grupo controle, utilizando-se ANOVA seguida do teste Dunnet.

Outra via analisada para elucidar a atividade deste composto foi a via opióide, através do modelo da placa quente. Neste teste, o composto **114** mostrou-se inativo também de modo similar ao composto **103** (dados não mostrados).

Dessa forma, pode-se concluir que, as amido-chalconas avaliadas neste trabalho são moléculas potencialmente ativas em relação aos fármacos de referência AAS, PAR e DIP, quando administradas pela via intraperitoneal. Já pela via oral pode-se sugerir que o grupo amida diminuiu a biodisponibilidade, sendo necessários maiores estudos para avaliar esta questão.

Todos os resultados referentes aos derivados amido foram recentemente publicados na revista Moléculas (CAMPOS-BUZZI et al., 2007).

5.2.2.2 Avaliação da atividade antibacteriana

Para todas as bactérias testadas (*Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis*, *Salmonella typhimurium*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter cloacae*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus saprophyticus*, *Streptococcus agalactiae*), a CIM das amido-chalconas avaliadas foi maior que 100 $\mu\text{g/mL}$, sendo consideradas de baixa atividade da mesma forma que a série das amino-chalconas.

5.2.2.3 Avaliação da atividade antifúngica

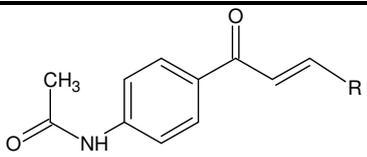
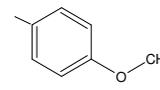
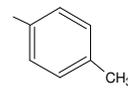
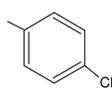
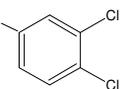
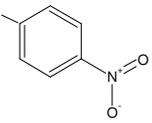
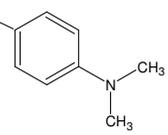
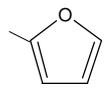
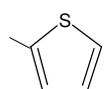
Para determinação da CIM utilizaram-se os seguintes fungos leveduriformes: *Candida krusei*, *Cryptococcus neoformans* e *Saccharomyces cerevisiae*. Em relação a estes microorganismos nenhuma amidochalcona apresentou poder inibitório considerável, sendo o valor identificado de CIM maior que 100 µg/mL. Esta inatividade das chalconas aos fungos leveduriformes está de acordo com o observado para a série das amino-chalconas e também por Lopez e colaboradores (2001) que avaliaram outra série de chalconas e análogos.

Foi também determinada a CIM para os fungos filamentosos; *Aspergillus niger*, *Rhizopus sp.*, *Microsporum canis*, *Trichophyton mentagrophytes* e *Trichophyton rubrum*. Os valores de CIM encontrados para estes fungos estão apresentados na Tabela 18.

Para o fungo filamentoso oportunista *Rhizopus sp.* toda série de amido-chalconas se mostrou resistente, com valor de CIM > 100 µg/mL. Já para o fungo também oportunista *A. niger* a substância **113**, com dois grupos cloros substituídos nas posições 3 e 4 do anel B apresentou uma CIM de 80 µg/mL. Como já citado, toda a série testada por Lopez e colaboradores (2001) mostrou-se inativa contra os fungos filamentosos oportunistas, e neste estudo praticamente toda a série foi ativa contra os fungos filamentosos dermatófitos com valores comparáveis a antifúngicos utilizados clinicamente tais como Amphotericina B e Cetoconazol (LOPEZ et al., 2001).

A substância **109**, sem substituinte no anel B, mostrou-se sensível para os microorganismos *M. canis*, *T. mentagrophytes* e *T. rubrum* com valores de CIM < 20 µg/mL. Este composto é o mais promissor, para o qual, provavelmente o efeito estéreo no anel B deve estar contribuindo para a inatividade das demais chalconas. Quanto ao grupo amido no anel A, este deve estar contribuindo na atividade para este composto (**109**), pois em comparação com a substância já descrita **101**, esta foi ativa, apenas, para o *M. canis* com um valor de DI₅₀ de 60 µg/ml e a única diferença é a ausência do grupo amido. O análogo **117** foi ativo apenas para o *M. canis* com um valor de CIM de 40 µg/mL.

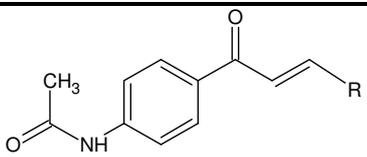
Tabela 18. Concentração inibitória mínima ($\mu\text{g/mL}$) das amino-chalconas e seus análogos para os fungos filamentosos.

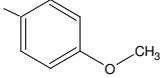
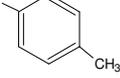
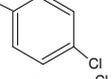
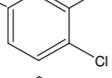
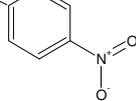
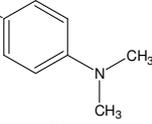
						
Substituinte (R)	Código	A.n.	R.sp.	M.c.	T.m.	T.r.
	109	>100	>100	<20	<20	<20
	110	>100	>100	>100	>100	>100
	111	>100	>100	>100	>100	>100
	112	>100	>100	>100	>100	>100
	113	80	>100	>100	>100	>100
	114	>100	>100	>100	>100	>100
	115	>100	>100	>100	>100	>100
	116	>100	>100	>100	>100	>100
	117	>100	>100	40	>100	>100

Obs: *Aspergillus niger* (A.n.), *Rhizopus sp.* (R.sp.), *Microsporium canis* (M.c.), *Trichophyton mentagrophytes* (T.m.) e *Trichophyton rubrum* (T.r.).

5.2.2.4 Avaliação da toxicidade

A avaliação do potencial de toxicidade das amidochalconas e análogos foi realizada através do ensaio com o microcrustáceo, *Artemia salina* Leach. As concentrações das substâncias variaram entre 98,28 a 1000 $\mu\text{g/mL}$.

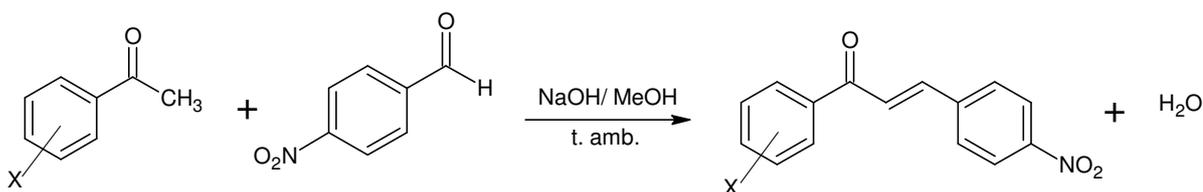
Tabela 19. Atividade citotóxica das amino-chalconas e seus análogos frente à *Artemia salina*.


Substituinte (R)	Código	DL ₅₀ (µg/mL)
	109	98,28
	110	> 1000
	111	> 1000
	112	883,78
	113	>1000
	114	> 1000
	115	>1000
	116	795,49
	117	888,09

Na série das amidochalconas, apenas a **109**, a mais ativa no ensaio antifúngico, apresentou toxicidade moderada e todas as demais substâncias apresentaram-se de baixa toxicidade. Comparando-se com a série das aminochalconas, pode-se sugerir que a reatividade do grupo amino deva contribuir na toxicidade, uma vez que a proteção deste grupo por um radical acetil diminuiu consideravelmente a toxicidade em relação a respectiva aminochalcona. Os valores correspondentes a DL₅₀ estão sumarizados na Tabela 19.

5.2.3 Síntese das Nitro-chalconas

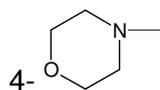
Apesar de o grupamento nitro poder contribuir na possível toxicidade destes compostos, este parece estar diretamente ligado ao aumento da atividade biológica. Uma vez que os compostos nitrados apresentaram as melhores atividades no modelo de contorções abdominais induzidas pelo ácido acético 0,6%, foi sintetizada uma nova série de nitro-chalconas, mantendo o grupo nitro na posição 4 do anel B e variando as acetofenonas substituídas (Esquema 11). Estes compostos também foram sintetizados objetivando-se a continuidade deste trabalho reduzindo futuramente o grupo nitro para amino no anel B.



X= H (**118**); 4-OCH₃ (**119**); 4- CH₃ (**120**); 4- Cl (**121**); 3,4- Cl₂ (**122**); 4-F (**123**); 4-OC₄H₈N (**124**).

Esquema 11. Reação geral de condensação das nitro-chalconas.

Tabela 20. Dados analíticos das nitro-chalconas.

Substituinte (X)	Código	Tempo reacional (h)	Rendimento (%)	Ponto de fusão (°C)	Fator de retenção (R _f)	Inéditos (i)
H	118	2:00	93	166,3-166,8	0,59	-
4-OCH ₃	119	4:00	91	174,4-174,9	0,41	-
4-CH ₃	120	10:00	65	163,7-165,9	0,60	-
4- Cl	121	10:00	83	158,4-160,0	0,71	-
3,4-Cl	122	10:00	82	189,6-190,2	0,67	-
4-F	123	3:30	80	171,7-172,4	0,62	-
	124	10:00	92	179,7-181,2	0,16	i

As reações de síntese das nitro-chalconas tiveram tempo de reação em torno de 10 horas com exceção das reações de formação do composto **118**, **119** e **123** que reagiram em menos tempo. Os rendimentos foram bons, estando compreendidos na faixa de 65 a 93 %, o que permite concluir que as condições reacionais mostraram-se adequadas (Tabela 20).

Os espectros da chalcona **121** foram selecionados para a análise espectroscópica. O espectro de infravermelho demonstrado na Figura 37 nos permite verificar a presença das deformações axiais em 1661 da carbonina e em 1607 cm^{-1} da C=C. Pode-se verificar também a presença das deformações axiais do grupamento nitro em 1536 e 1349 cm^{-1} .

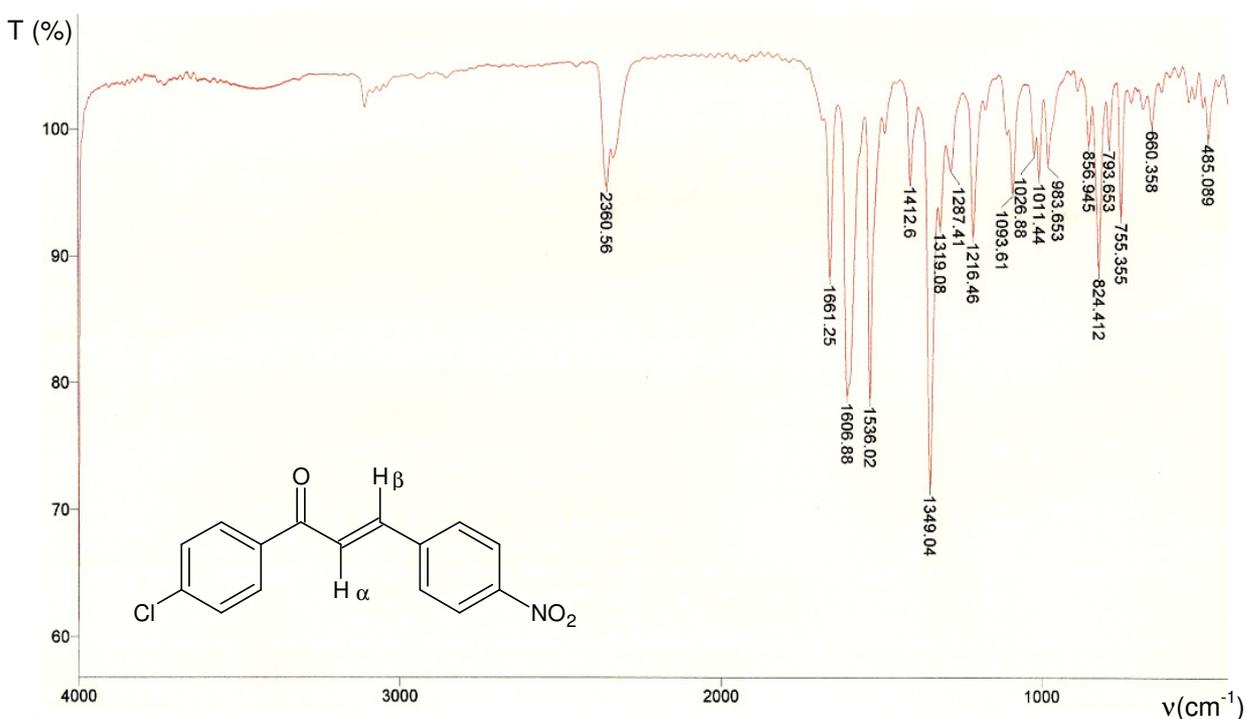


Figura 40. Espectro de Infravermelho da (2E)-1-(4-clorofenil)-3-fenilprop-2-en-1-ona (**121**) (Pastilha de KBr, cm^{-1}).

No espectro de RMN ^1H (Figura 38), os sinais observados foram dois dupletos em 7,81 ($J=16$) e 8,11 ($J=16$) ppm para os hidrogênios olefínicos ($\text{H}\alpha$ e $\text{H}\beta$). Os hidrogênios dos anéis aromáticos encontram-se como 4 dupletos na região de 7,63 – 8,28 ppm ($J=9$).

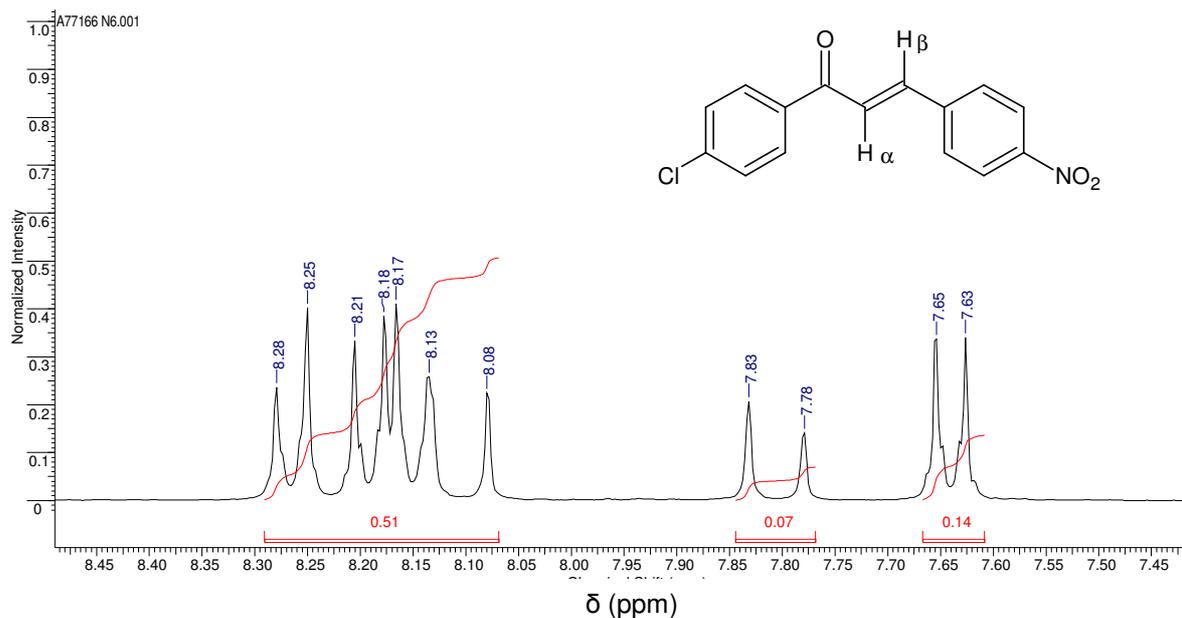


Figura 41. Espectro de RMN ^1H da (2E)-1-(4-clorofenil)-3-fenilprop-2-en-1-ona (**121**) (DMSO-d_6 , 300 MHz).

No espectro de RMN ^{13}C (Figura 39) os sinais observados são do carbono da carbonila em 187,9 ppm, dos carbonos olefínicos (C_β e C_α) em 141,5 e 125,6 ppm. O carbono aromático ligado ao grupo nitro encontra-se em 148,1 ppm e o ligado ao cloro em 138,5 ppm, os demais 9 carbonos aromáticos estão na região de 123,9 a 141,0 ppm.

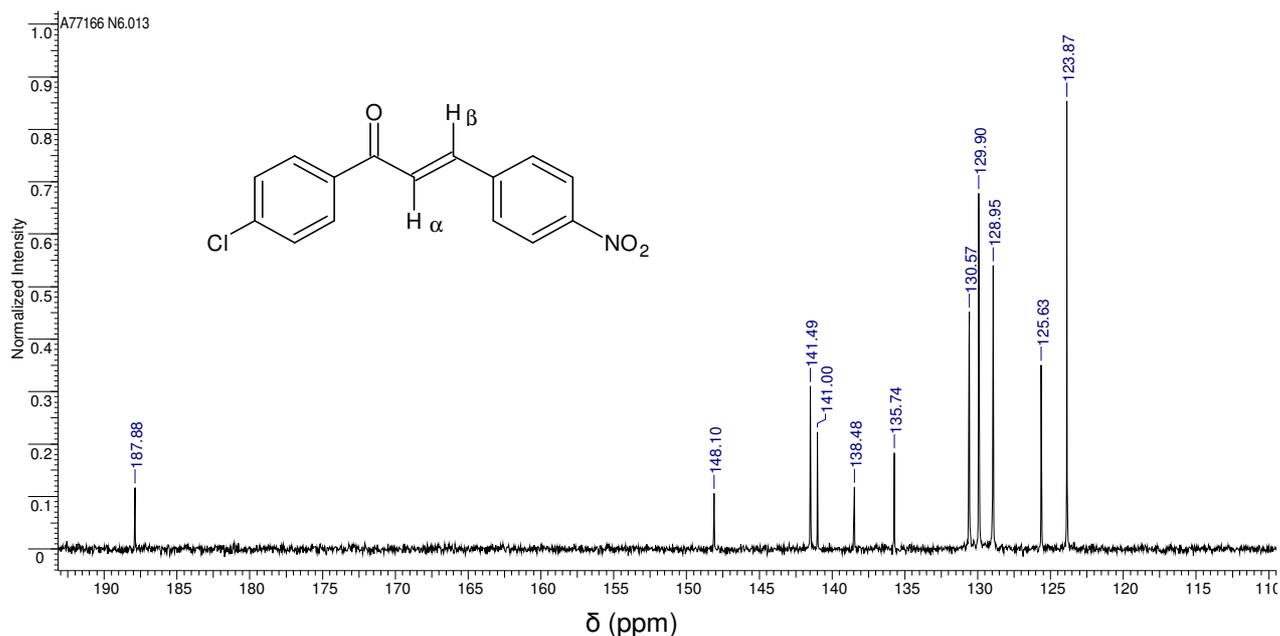


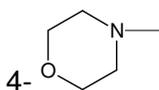
Figura 42. Espectro de RMN ^{13}C da (2E)-1-(4-clorofenil)-3-fenilprop-2-en-1-ona (**121**) (DMSO-d_6 , 75 MHz).

Portanto, os dados espectroscópicos confirmam a obtenção da estrutura esperada na síntese da nitrochalcona (2E)-1-(4-clorofenil)-3-fenilprop-2-en-1-ona (**121**) e, análises similares foram realizadas para todos os compostos da série.

5.2.3.1 Avaliação da atividade antinociceptiva

Esta série foi sintetizada com o intuito de reduzir-se futuramente o grupo nitro para amino a fim de obter-se uma série de aminochalconas invertidas. Entretanto, devido aos compostos nitrados, nas outras séries apresentarem as melhores atividades no modelo de contorções abdominais induzidas pelo ácido acético 0,6%, esta série também foi submetida à avaliação antinociceptiva (Tabela 21).

Tabela 21. Atividade antinociceptiva das nitrochalconas no modelo de dor induzida pelo ácido acético 0,6% via i.p., administradas na dose de 10 mg/kg.

Substituinte (X)	Código	% Inibição
H	118	71,8 ± 4,7**
4-OCH ₃	119	70,2 ± 2,5**
4-CH ₃	120	79,0 ± 2,8**
4- Cl	121	94,3 ± 0,4**
3,4-Cl	122	45,7 ± 3,6**
4-F	123	76,0 ± 4,0**
4- 	124	76,7 ± 2,3**
Ácido acetil salicílico	AAS	35,0 ± 2,0*
Paracetamol	PAR	38,0 ± 1,0**
Dipirona	DIP	33,0 ± 3,5**

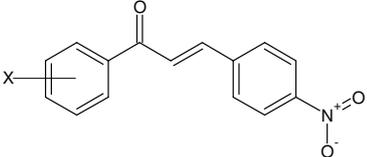
Obs: Cada grupo representa uma média de 6 experimentos. Asteriscos indicam diferenças significantes (**p<0.01 e *p<0.05) quando comparadas com o grupo controle.

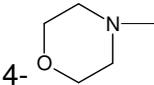
Contudo, estes compostos apresentaram atividades menores que os compostos nitrados das séries das amino e amido-chalconas, com exceção do composto **121**, com um átomo de cloro na posição para do anel A. Porém todos os compostos foram mais ativos que os fármacos de referência AAS, PAR e DIP utilizados para comparação. Sendo todos eles bastantes promissores para a continuidade da avaliação antinociceptiva.

Novamente não foi possível estabelecer uma correlação entre as estruturas químicas e a atividade encontrada, uma vez que os extremos de atividade foram o **121** (4'-cloro) o mais ativo, e o **122** (3',4'-dicloro) o menos ativo e todos os demais substituintes apresentaram o mesmo perfil de atividade considerando os erros padrões.

Mais uma vez, analisou-se as propriedades farmacocinéticas relativas a absorção e permeabilidade estimadas a partir da aplicação da regra de Lipinski (ou regra dos 5) com base nos quatro parâmetros descritos na Tabela 22.

Tabela 22. Estudos teóricos de solubilidade e permeabilidade das nitrochalconas.



Substituinte (X)	Código	MM ^{a, *} (g/mol)	LogP ^{b, *}	N+O ^{c, *}	NH+OH ^{d, *}
H	118	253,25	3,79 ± 0,40	4	0
4-OCH ₃	119	283,28	3,96 ± 0,41	5	0
4-CH ₃	120	267,28	4,25 ± 0,40	4	0
4- Cl	121	287,70	4,56 ± 0,41	4	0
3,4-Cl	122	322,14	5,23 ± 0,42	4	0
4-F	123	271,24	4,01 ± 0,47	4	0
4- 	124	338,35	2,93 ± 0,87	6	0

^a Logaritmo do coeficiente de partição; ^b Massa molar; ^cSomatório de N e O (aceptores de ligação hidrogênio); ^dSomatório de NH e OH (doadores de ligação hidrogênio).

* Valores calculados nos programas Chems sketch e Molinspiration.

Pode-se observar que entre as 7 nitro-chalconas avaliadas apenas o composto **122** excedeu o valor de LogP estipulado por Lipinski, o que significa que este composto apresenta uma baixa solubilidade e permeabilidade, devido a sua lipofilicidade ser muito alta, dificultando assim sua distribuição no meio biológico. É importante ressaltar, que o favorecimento do processo farmacocinético é dependente do equilíbrio lipofílico/hidrofílico das moléculas.

Ao se comparar a avaliação feita no modelo antinociceptivo, pode-se observar uma diminuição da atividade deste composto em relação aos demais análogos da série. Embora este composto tenha sido administrado pela via intraperitoneal, eliminando assim a necessidade de atravessar a membrana gastrointestinal pela qual um fármaco oral teria que passar, a ação dos fármacos pela via intraperitoneal também requer a passagem através das membranas celulares para sua absorção. Dessa forma, as características de solubilidade e permeabilidade inadequadas podem estar contribuindo para uma diminuição da biodisponibilidade deste composto acarretando em um menor efeito antinociceptivo.

5.2.3.2 Avaliação da atividade antibacteriana

Foram avaliadas apenas 5 nitrochalconas (**118**, **119**, **120**, **122** e **123**). Para todas as bactérias testadas (*Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis*, *Salmonella typhimurium*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter cloacae*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus saprophyticus*, *Streptococcus agalactiae*), a CIM das nitrochalconas testadas foi maior que 100 µg/mL, sendo consideradas de baixa atividade.

5.2.3.3 Avaliação da atividade antifúngica

Para determinação da CIM, utilizaram-se os fungos leveduriformes; *Candida krusei*, *Cryptococcus neoformans* e *Saccharomyces cerevisiae*. Em relação a estes microorganismos nenhuma das 5 nitro-chalcona avaliadas (**118**, **119**, **120**, **122** e **123**) apresentou poder inibitório considerável, sendo o valor identificado de CIM maior que 100 µg/mL. Esta inatividade aos fungos leveduriformes já foi

observada anteriormente por todas as séries de chalconas apresentadas neste trabalho e também por Lopez e colaboradores (2001) que avaliaram uma série de diferentes chalconas e análogos.

Foi também determinada a CIM para os fungos filamentosos; *Aspergillus niger*, *Rhizopus sp.*, *Microsporum canis*, *Trichophyton mentagrophytes* e *Trichophyton rubrum*, cujos valores da CIM estão apresentados na tabela 23.

Tabela 23. Concentração inibitória mínima ($\mu\text{g/mL}$) das amino-chalconas e seus análogos para os fungos filamentosos.

Substituinte (X)	Código	A.n.	R.sp.	M.c.	T.m.	T.r.
H	118	>100	>100	>100	>100	>100
4-OCH ₃	119	>100	>100	>100	>100	40
4-CH ₃	120	>100	>100	>100	>100	>100
3,4-Cl	122	80	>100	>100	>100	< 20
4-F	123	80	>100	>100	>100	>100

Obs: *Aspergillus niger* (A.n.), *Rhizopus sp.* (R.sp.), *Microsporum canis* (M.c.), *Trichophyton mentagrophytes* (T.m.) e *Trichophyton rubrum* (T.r.).

Observou-se que os microrganismos *Rhizopus sp.*, *Microsporum* e *Trichophyton mentagrophytes* se mostraram, resistentes a toda série de nitrochalconas, com valores de CIM > 100 $\mu\text{g/mL}$. Já para o fungo *A. niger* as substâncias **122**, substituída por dois átomos de cloro nas posições 3 e 4 do anel A, e **123**, com o átomo de flúor na posição 4 do anel A, apresentaram ambas uma CIM de 80 $\mu\text{g/mL}$. Considerando que as outras nitrochalconas não foram ativas, pode-se sugerir a influência eletrônica de grupos retiradores de elétrons contribuindo nesta atividade, entretanto outros compostos devem ser analisados como o **122**, com o átomo de cloro na posição 4 do anel A, para a comprovação deste perfil. O microrganismo *T. rubrum* foi sensível as substâncias **119**, com o substituinte metóxi na posição 4 do anel A, e **122**, com dois átomos de cloro nas posições 3 e 4 do anel

A, com valores de CIM 40 e < 20 µg/mL, respectivamente. Para este microrganismo não há influência eletrônica na sua inibição.

5.2.3.4 Avaliação da toxicidade

A avaliação do potencial de toxicidade das nitro-chalconas e análogos foi realizada através do ensaio com o microcrustáceo, *Artemia salina* Leach. As nitrochalconas testadas (**118** a **123**) apresentaram-se de baixa toxicidade ou atóxicas. Os valores correspondentes a DL₅₀ estão sumarizados na Tabela 24.

Tabela 24. Atividade citotóxica das nitrochalconas e seus análogos frente à *Artemia salina*.

Substituinte(X)	Código	DL ₅₀ (µg/mL)
H	118	> 1000
4-OCH ₃	119	> 1000
4-CH ₃	120	> 1000
3,4-Cl	122	> 1000
4-F	123	> 1000

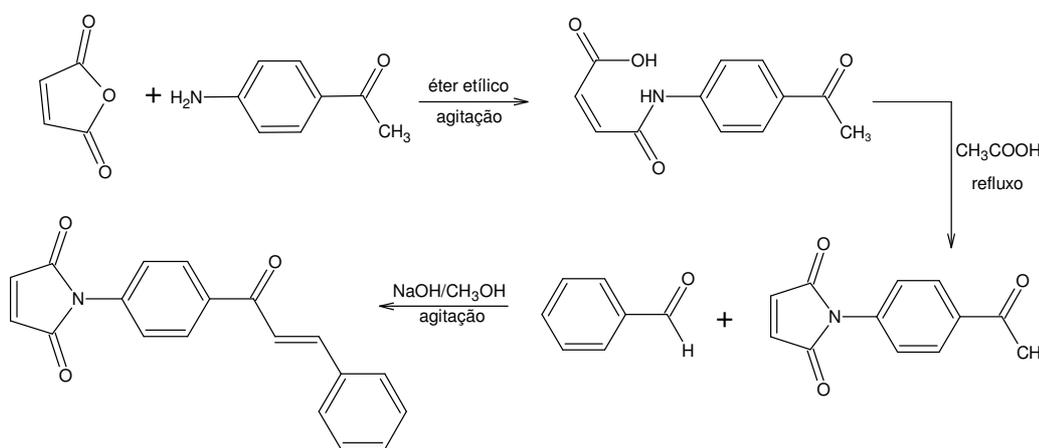
Este resultado foi realmente surpreendente, uma vez que o grupo nitro sempre é relatado como um possível grupo tóxico de acordo com a literatura (ROSESNKRANZ et al., 1983; CHUNG et al., 1996). Entretanto, nenhuma das chalconas avaliadas neste trabalho com o grupo nitro apresentou toxicidade na avaliação realizada com o microcrustáceo, *Artemia salina* Leach.

5.3 HÍBRIDOS IMIDO-CHALCONAS

5.3.1 Síntese dos compostos híbridos imido-chalconas

Os compostos híbridos imido-chalconas foram sintetizados por caminhos distintos a fim de se avaliar a melhor rota sintética para a obtenção das substâncias alvo.

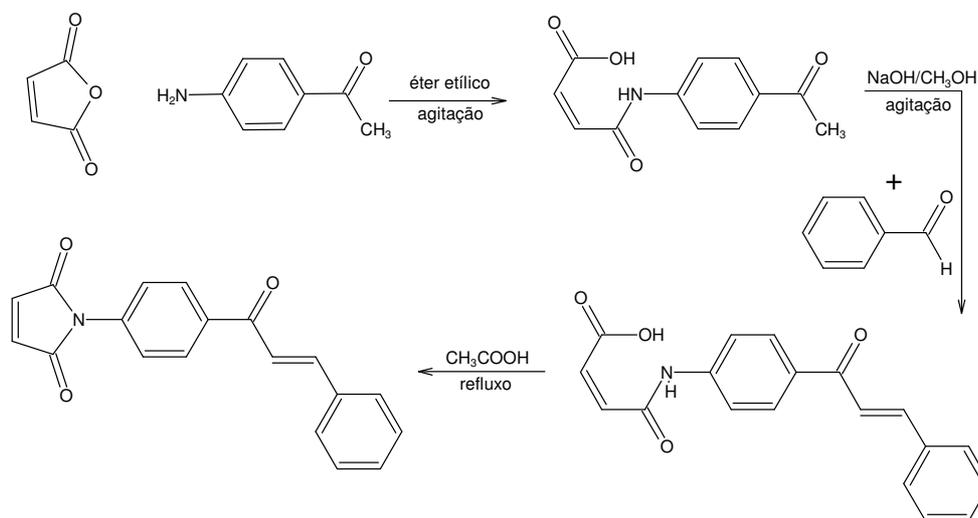
A primeira rota sintética, realizada de acordo com o Esquema 12, consistiu de três etapas distintas, iniciando com a formação do ácido âmico entre o anidrido maleico e a 4-aminoacetofenona, em quantidades equimolares. O produto reacional foi obtido após precipitação com 96,5 % de rendimento. Após a formação do ácido âmico, este foi dissolvido em ácido acético e submetido a refluxo suave obtendo-se a imida cíclica com 75,2% de rendimento e finalmente na última etapa a imida cíclica formada foi submetida à agitação contínua, à temperatura ambiente, com benzaldeído e uma solução de NaOH (50 %). O produto final foi formado em uma granulometria muito fina e não pode ser quantificado, pois ficou totalmente aderido ao papel filtro durante sua filtração.



Esquema 12. Primeira rota sintética proposta para obtenção dos híbridos imido-chalconas.

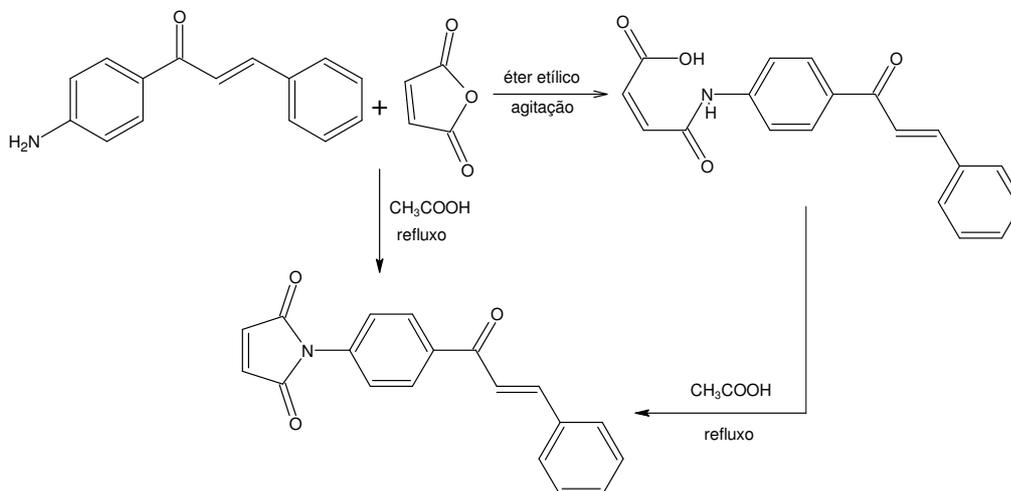
A segunda rota sintética, demonstrada no Esquema 13, da mesma forma que a primeira, iniciou-se com a formação do ácido âmico nas mesmas condições, entretanto, a partir dele foi primeiramente realizada a reação de condensação para a formação da chalcona utilizando-se agitação contínua sob temperatura ambiente,

com benzaldeído e a solução de NaOH (50 %), sendo que este intermediário foi obtido com 60% de rendimento. A partir deste fez-se a ciclização da imida através do refluxo suave com ácido acético. O produto final foi obtido com 62 % de rendimento.



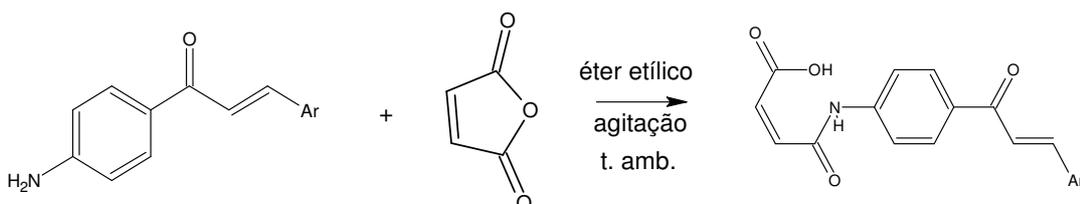
Esquema 13. Segunda rota sintética proposta para obtenção dos híbridos imido-chalconas.

A terceira rota, exemplificada no Esquema 14, foi realizada a partir da amino-chalcona (**98**), a qual foi utilizada então como intermediária da reação. Em seguida, a síntese do ácido âmico foi realizada com quantidades equimolares da chalcona e do anidrido maleico, em éter etílico com agitação contínua a temperatura ambiente e em seguida, o ácido obtido foi submetido a refluxo com ácido acético para a formação da imida cíclica, com um rendimento de 77 %.



Esquema 14. Terceira rota sintética proposta para obtenção dos híbridos imido-chalconas.

Todas as rotas sintéticas contêm 3 etapas de sínteses, entretanto a terceira rota descrita foi considerada a mais viável sinteticamente, pois apresentou os melhores rendimentos juntamente com o menor tempo reacional e a maior facilidade em isolar todos os intermediários. Dessa forma, todos os demais compostos seguiram a terceira rota sintética, de acordo com o Esquema 15.



Ar = C₆H₅ (**98**); 4-OCH₃(C₆H₄) (**99**); 4-CH₃(C₆H₄) (**100**); 4-Cl(C₆H₄) (**101**); 3,4-Cl₂(C₆H₄) (**102**); 4-NO₂(C₆H₄) (**103**); 3-NO₂ (C₆H₄) (**104**); -C₄H₃O (**106**); --C₄H₃S (**107**).

Ar'' = C₆H₅ (**125**); 4-OCH₃(C₆H₄) (**126**); 4-CH₃(C₆H₄) (**127**); 4-Cl(C₆H₄) (**128**); 3,4-Cl₂(C₆H₄) (**128**); 4-NO₂(C₆H₄) (**130**); 3-NO₂ (C₆H₄) (**131**); -C₄H₃O (**132**); --C₄H₃S (**133**).

Esquema 15. Síntese dos ácidos âmicos híbridos.

Por este método, foram obtidos 9 ácidos âmicos híbridos imido-chalconas (Tabela 25). Pode-se observar que os tempos reacionais foram distintos e os rendimentos variaram de 50 a 90 %. Todas as reações foram monitoradas por CCD, e os fatores de retenção (R_f) foram calculados utilizando-se acetato de etila como eluente, em placas de sílica gel, e revelados com luz UV.

Em uma busca na literatura encontrou-se 7 ácidos âmicos, com os seguintes substituintes: H, 4-Cl, 3,4-Cl₂, 3- CH₃, 4- NO₂, 4- OCH₃ e 3,4-OCH₃. Estes compostos foram caracterizados e avaliados quanto ao seu potencial citotóxico (DIMMOCK, et al., 2003). Contudo os ácidos âmicos com os substituintes, 3-NO₂, 2-furil e 2-tienil são inéditos.

Tabela 25. Dados analíticos dos ácidos âmicos híbridos imido-chalconas.

Substituinte -R	Código	Tempo reacional (h)	Rendimentos (%)	Ponto de fusão (°C)	Fator de retenção (R _f)	Inéditos
	125	11:00	50	183,8 – 185,9	0,62	-
	126	15:30	90	152,1 – 152,4	0,37	-
	127	16:00	88	172,3 – 173,2	0,41	-
	128	5:00	61	186,0 – 187,7	0,38	-
	129	20:26	80	187,9 – 189,5	0,40	-
	130	18:00	65	189,8 – 190,6	0,34	-
	131	13:19	70	200,0 – 201,4	0,32	i
	132	24:00	87	168,7 – 169,8	0,27	i
	133	24:00	83	175,5 – 177,2	0,29	i

A substância **128** foi escolhida para caracterização a título de ilustração, para uma análise mais detalhada. O espectro de IV do composto **128** apresenta uma banda larga em cerca de 3447 cm^{-1} , além da deformação axial em 1737 cm^{-1} referentes a OH e a C=O do grupo ácido carboxílico presente na estrutura. Também pode-se observar as bandas de absorção em 3326 cm^{-1} e 1661 cm^{-1} dos grupos NH e C=O, respectivamente, da função amida. Uma banda larga é observada na região de 1600 cm^{-1} a 1500 cm^{-1} na qual estão presentes os grupos C=O e a C=C da cetona α,β insaturada, bem como a C=C do ácido âmico. Em 813 cm^{-1} encontra-se a

banda de deformação angular referente ao anel aromático 1,4 dissubstituído (Figura 40).

Estes valores não correspondem aos valores teóricos esperados. Entretanto, isso pode ser explicado pelo efeito de ressonância causado pela grande conjugação da molécula, que leva a um aumento do comprimento da ligação e a redução da frequência de absorção (SILVERSTEIN, 1994).

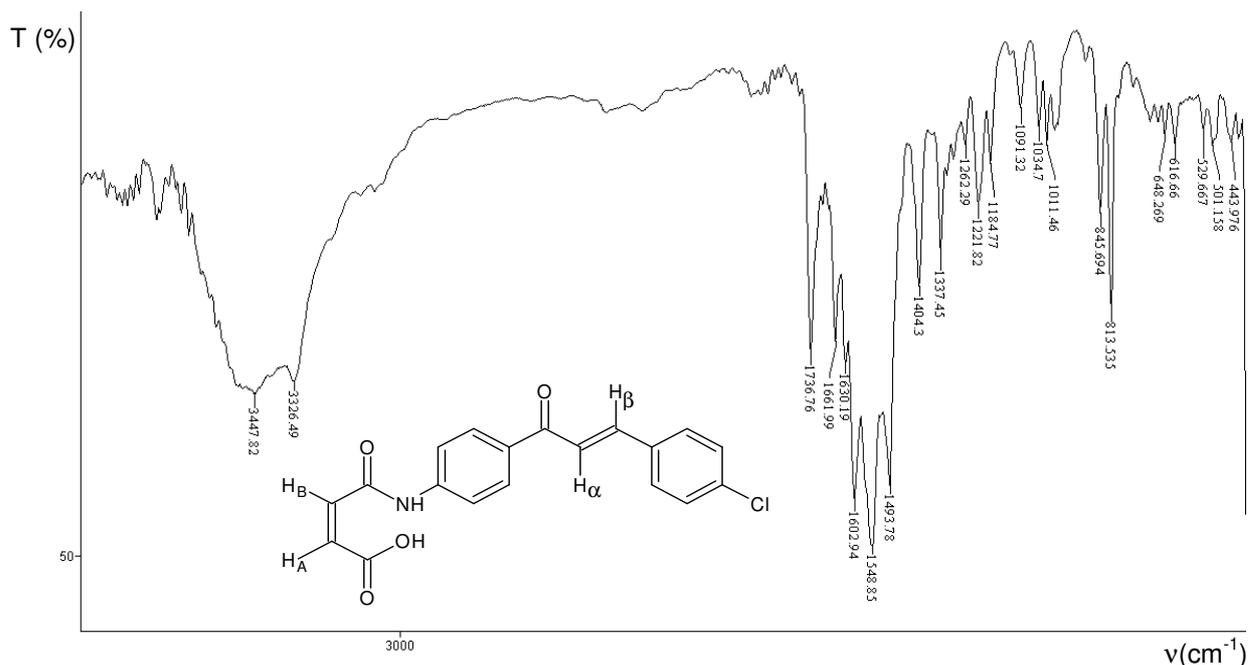


Figura 43. Espectro de Infravermelho do ácido (2Z)-4-({4-[(2E)-3-(4-clorofenil)prop-2-enoil]fenil}amino)-4-oxobut-2-enoico (**128**) (Pastilha de KBr, cm^{-1}).

No espectro de RMN de hidrogênio, os sinais característicos do composto **128** foram dois dupletos em 6,35 ppm ($J=12$) e 6,51 ppm ($J=12$) para os hidrogênios olefínicos (H_A e H_B) do ácido âmico, cujos valores das constantes de acoplamento obtidos confirmam a geometria Z, e dois dupletos em 7,71 ppm ($J=16$) e 7,98 ppm ($J=16$) para os hidrogênios olefínicos (H_α e H_β) da porção chalcona na conformação E. O hidrogênio da função amida aparece como simpleto em 10,7 ppm e em 3,4 ppm observa-se uma banda larga provavelmente devido a interação da hidroxila do grupo ácido com a água do solvente DMSO- d_6 . Os 4 hidrogênios do anel aromático aparecem como 4 dupletos ($J=9$) nas regiões de 7,51 a 8,19 ppm (Figura 41).

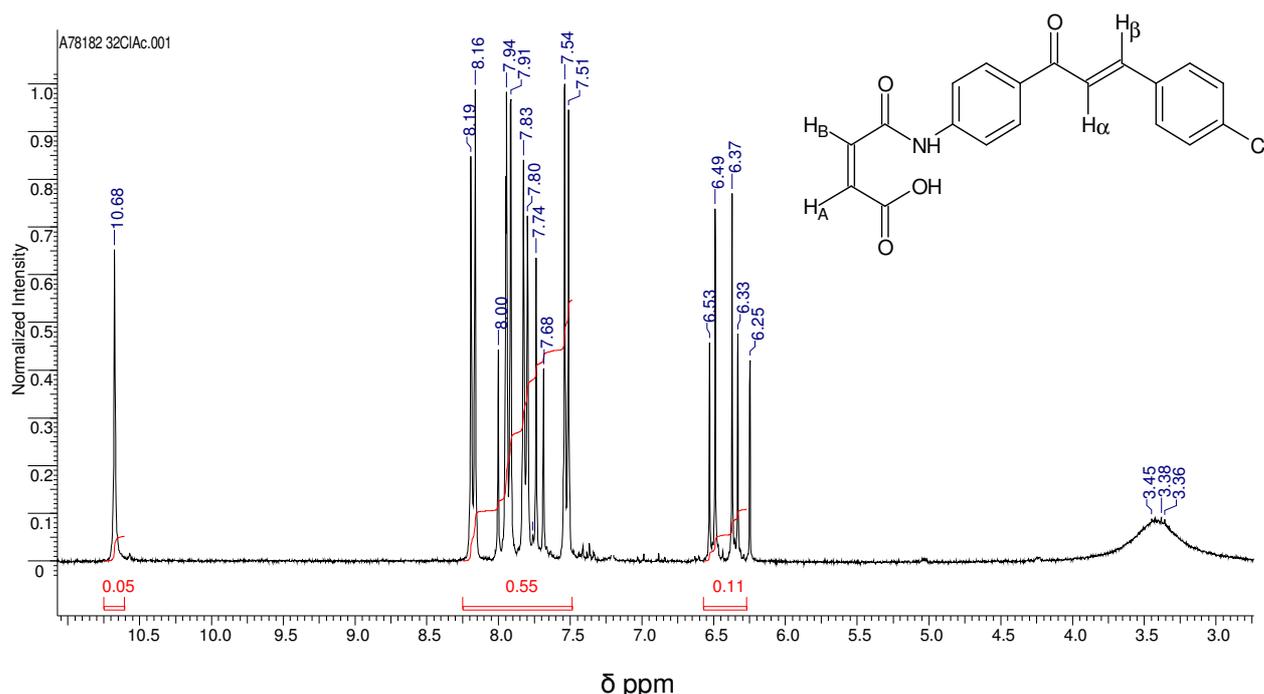


Figura 44. Espectro de RMN ^1H do ácido (2Z)-4-((4-[(2E)-3-(4-clorofenil)prop-2-enoil]fenil)amino)-4-oxobut-2-enoico (**128**) (DMSO-d_6 , 300 MHz).

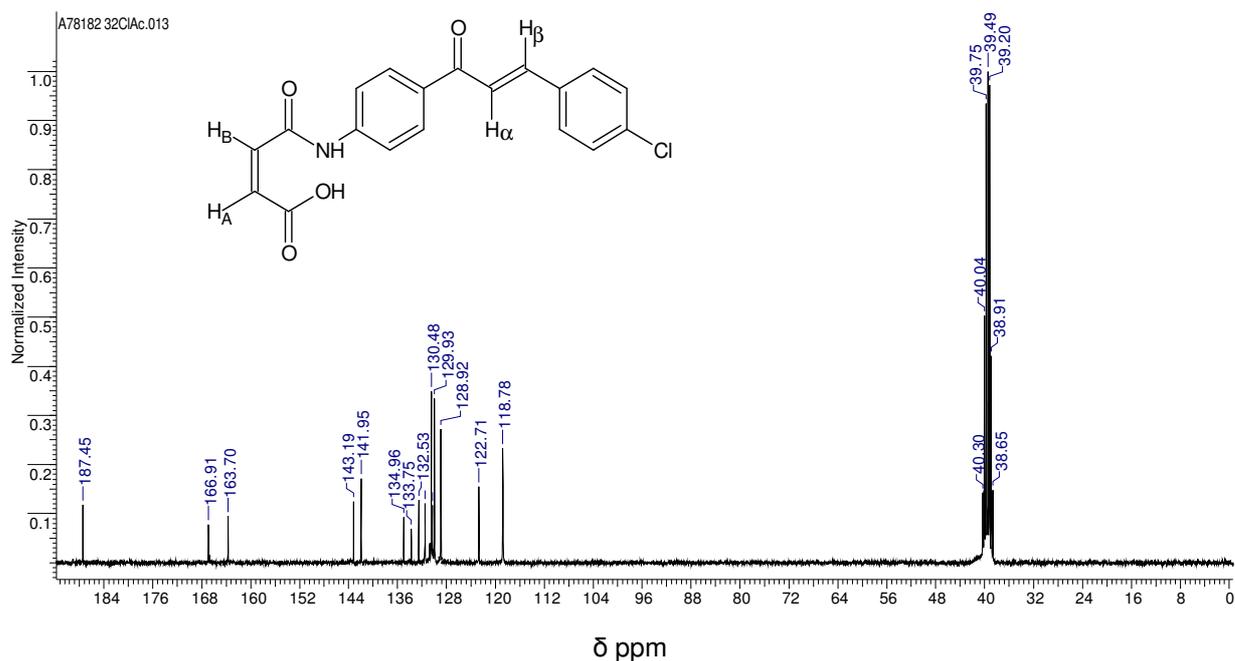
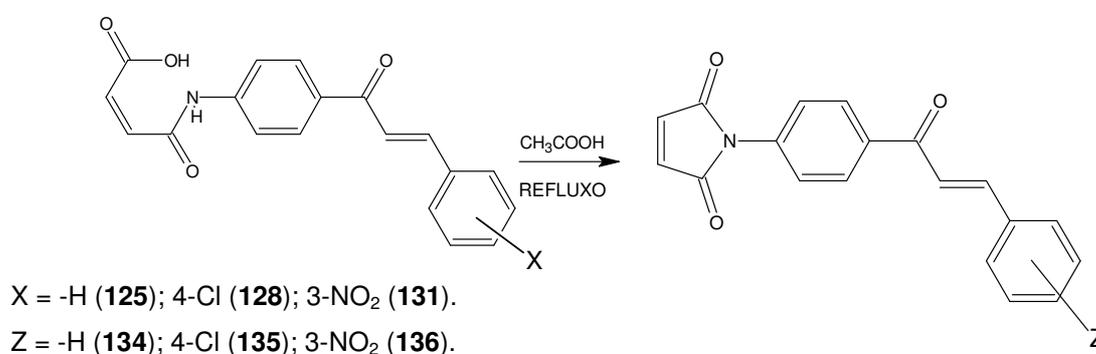


Figura 45. Espectro de RMN ^{13}C do ácido (2Z)-4-((4-[(2E)-3-(4-clorofenil)prop-2-enoil]fenil)amino)-4-oxobut-2-enoico (**128**) (DMSO-d_6 , 75 MHz).

No espectro de RMN ^{13}C do composto **128** (Figura 42), os sinais característicos foram do carbono da carbonila da cetona em 187,9 ppm, do ácido carboxílico em 166,9 ppm e da amida em 163,7 ppm. Os carbonos olefínicos da

porção chalcona (C_{β} e C_{α}) em encontram-se em 143,2 e 122,7 ppm. Os carbonos olefínicos da porção imídica (C_B e C_A) são observados em 134,9 e 130,3 ppm. O carbono aromático ligado ao nitrogênio da amida encontra-se em 141,9 ppm e o carbono aromático ligado ao cloro em 133,7 ppm, os demais 9 carbonos aromáticos estão na região de 118,8 a 132,5 ppm.

Durante a ciclização dos ácidos âmicos, segundo Esquema 16, formou-se em apenas três reações precipitados insolúveis em ácido acético, os quais foram purificados por cromatografia de coluna em sílica gel, sendo utilizados os eluentes hexano/acetato de etila 80:20, obtendo-se os compostos imídicos híbridos **134**, **135** e **136** (Tabela 26).



Esquema 16. Síntese dos híbridos imido-chalconas.

Tabela 26. Dados analíticos dos híbridos imido-chalconas cíclicos.

Substituinte -R	Código	Tempo reacional (h)	Rendimentos (%)	Ponto de fusão (°C)	Fator de retenção (R_f)	Inéditos (i)
	134	10:30	38	207,7 – 208,9	0,54	i
	135	10:50	35	208,2 – 209,6	0,56	i
	136	12:00	40	232,8 – 234,9	0,41	i

Em todas as reações o meio reacional foi vertido em uma mistura de água e gelo ocorrendo precipitação. Novamente, a purificação ocorreu através de cromatografia de coluna utilizando os eluentes hexano/acetato de etila 80:20. Ao analisar-se os espectros, dos compostos purificados, constatou-se que o produto era equivalente as respectivas amido-chalconas já descritas, anteriormente neste trabalho (página 146), provavelmente resultante da transamidação do ácido âmico pelo grupo acetil do ácido acético.

Os compostos imídicos cíclicos não foram ainda relatados na literatura, sendo todos eles inéditos. Pode-se observar que os tempos reacionais foram distintos e os rendimentos foram relativamente baixos devido à formação do subproduto amido-chalcona a qual foi obtida predominantemente em todas as reações. Todas as reações foram monitoradas por CCD, e os fatores de retenção (R_f) foram calculados utilizando-se hexano: acetato de etila (70:30) como eluente, em placas de sílica gel, e revelados com luz UV.

O composto **135** foi escolhido para ser descrito detalhadamente. O seu espectro de IV encontra-se mais definido, uma vez que a molécula torna-se mais simétrica em comparação ao respectivo ácido âmico (**128**). As absorções referentes ao ácido e a amida não são observadas, e as deformações axiais referentes às carbonilas simétricas da imida são observadas em 1706 cm^{-1} , a carbonila da porção chalcona em 1664 cm^{-1} e a ligação C=C da porção imida e da porção chalcona em 1602 cm^{-1} (Figura 43).

No espectro de RMN de ^1H o composto **135** apresentou os hidrogênios (H_A e H_B) da porção imida como um simpleto em 6,91 ppm, por serem equivalentes e, os hidrogênios olefínicos da porção chalcona (H_α e H_β) como dupletos em 7,49 ppm ($J=16$) e 7,78 ppm ($J=16$), confirmando as conformações Z e E respectivamente. Os outros 8 hidrogênios dos anéis aromáticos apresentam-se como 4 dupletos largos na região de 7,39 a 8,13 ppm. O sinal do CDCl_3 residual pode ser observado neste espectro em 7,26 ppm (Figura 44).

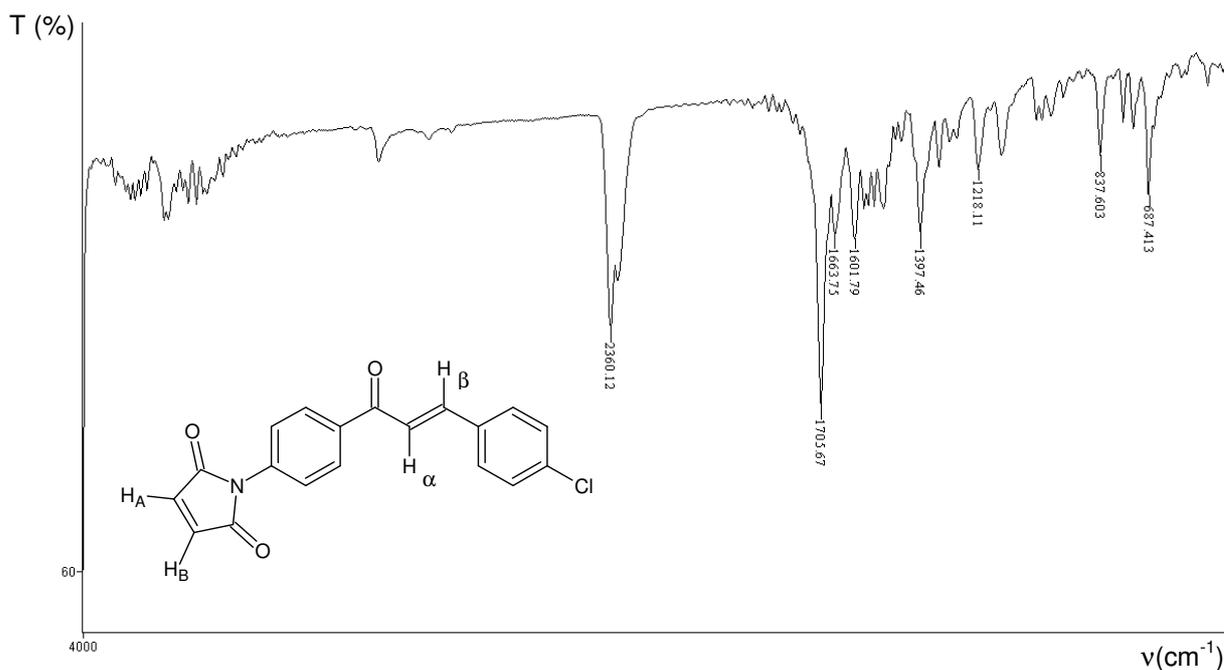


Figura 46. Espectro de Infravermelho da 1-{4-[(2E)-3-(4-clorofenil)prop-2-enoil]fenil}-1H-pirrol-2,5-diona (**135**) (Pastilha de KBr, cm^{-1}).

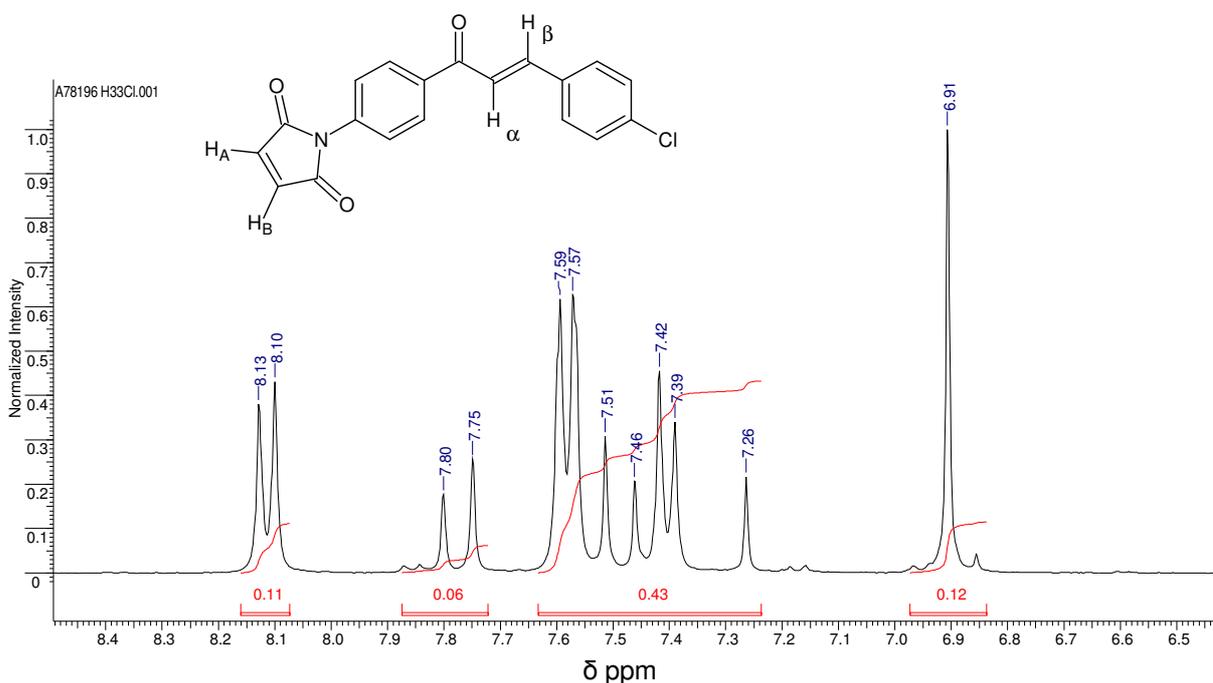
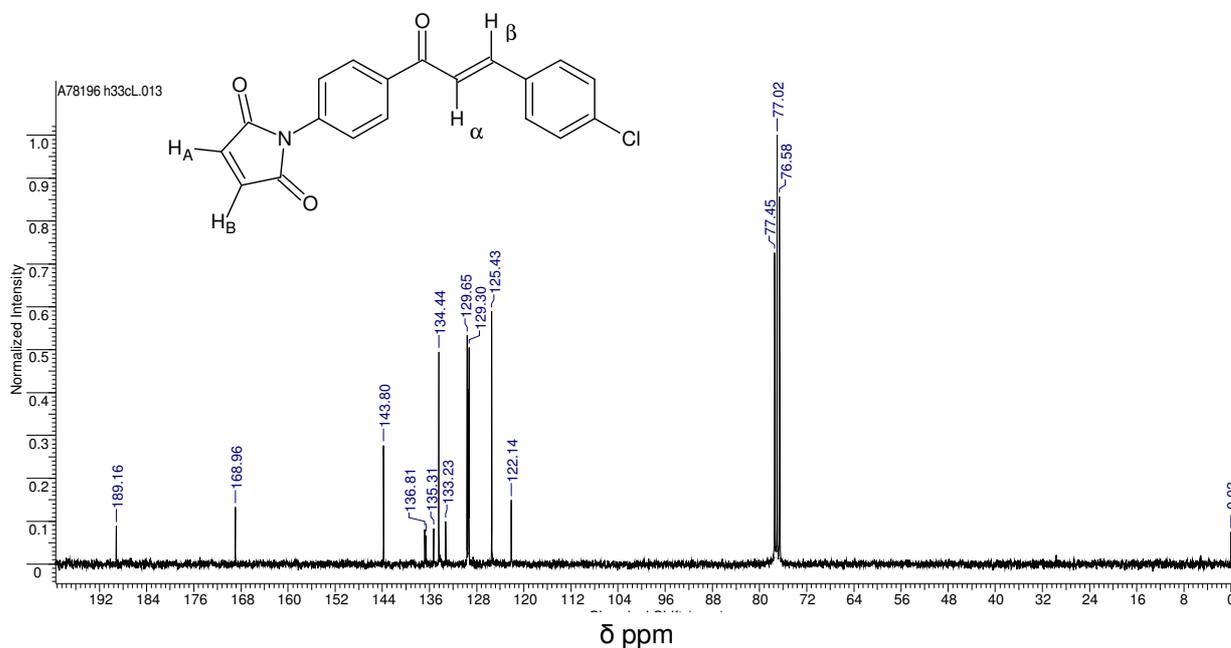


Figura 47. Espectro de RMN ^1H da 1-{4-[(2E)-3-(4-clorofenil)prop-2-enoil]fenil}-1H-pirrol-2,5-diona (**135**) (CDCl_3 , 300 MHz).

No espectro de RMN de ^{13}C , o composto imídico **135** apresentou o sinal da carbonila da cetona em 189,2 ppm, e um sinal para as carbonilas simétricas da imida em 168,9 ppm. Os carbonos olefínicos (C_β e C_α) aparecem em 143,8 e 122,1

ppm. O carbono aromático ligado ao nitrogênio da imida aparece em 136,8 ppm e o ligado ao cloro em 135,3 ppm. Os outros 10 carbonos dos anéis aromáticos apareceram na região de 125,4 a 136,6 ppm (Figura 48).

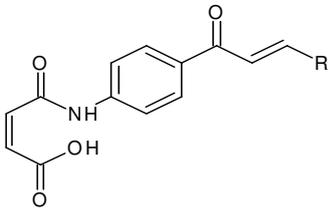
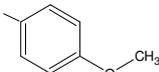
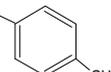
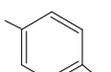
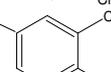
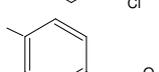
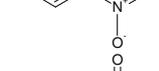
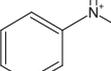
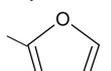


Portanto, estes dados espectroscópicos confirmam a formação do composto híbrido **135**.

5.3.1.1 Avaliação da atividade antinociceptiva

Analisando o percentual de inibição de todos os ácidos âmicos testados (Tabela 27), observa-se que os grupos substituintes, tanto doadores quanto aceptores de elétrons, contribuem na atividade antinociceptiva desta série. Entre os diferentes substituintes pode-se observar alguns indícios em relação aos parâmetros eletrônicos, uma vez que os compostos com grupos retiradores de elétrons foram mais ativos que aqueles com doadores de elétrons. Nesta série, o composto mais ativo foi o **130**, que possui o grupo nitro na posição 4, e que apresentou um percentual de inibição de cerca de 82 % na dose de 10 mg/kg, administrado pela via intraperitoneal.

Tabela 27. Atividade antinociceptiva dos ácidos âmicos no modelo de dor induzida pelo ácido acético 0,6% via i.p., administrados na dose de 10 mg/kg.

		
Substituinte -R	Código	% inibição
	125	30,2 ± 4,3*
	126	55,3 ± 5,0 **
	127	41,5 ± 2,7 *
	128	56,6 ± 5,01 **
	129	69,8 ± 6,8 **
	130	81,6 ± 2,4**
	131	79,1 ± 3,3 **
	132	79,3 ± 2,7 **
	133	44,6 ± 4,2 **
Ácido acetil salicílico	AAS	35,0 ± 2,0*
Paracetamol	PAR	38,0 ± 1,0**
Dipirona	DIP	33,0 ± 3,5*

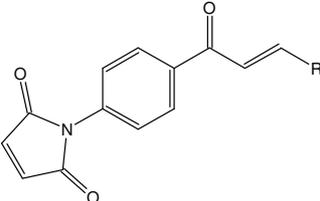
Obs: Cada grupo representa uma média de 6 experimentos. Asteriscos indicam diferenças significantes (**p<0.01 e *p<0.05) quando comparadas com o grupo controle.

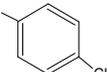
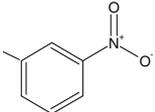
Entre as imidas cíclicas não se pode observar a influência dos parâmetros eletrônicos, pois foram avaliados poucos compostos (Tabela 28). O composto mais ativo foi o **135**, que possui o grupo cloro como substituinte na posição 4 e

apresentou um percentual de inibição de 94,9 %, na dose de 10 mg/ kg, administrado pela via intraperitoneal.

Todos os valores de inibição destas séries foram similares ou superiores quando comparados a fármacos utilizados na terapêutica, como o AAS, o PAR e a DIP, cujas inibições são de 38, 35 e 33 %, respectivamente, na mesma dose e modelo experimental.

Tabela 28. Atividade antinociceptiva dos híbridos imido-chalconas no modelo de dor induzida pelo ácido acético 0,6% via i.p., administrados na dose de 10 mg/kg.



Substituinte (-R)	Código	% inibição
	134	80,0 ± 2,0
	135	94,9 ± 1,6
	136	74,8 ± 3,2
Ácido acetil salicílico	AAS	35,0 ± 2,0*
Paracetamol	PAR	38,0 ± 1,0**
Dipirona	DIP	38,0 ± 3,5*

Obs: Cada grupo representa uma média de 6 experimentos. Asteriscos indicam diferenças significantes (**p<0.01 e *p<0.05) quando comparadas com o grupo controle.

Comparando os compostos cíclicos e acíclicos, pode-se observar que em relação à atividade antinociceptiva as imidas cíclicas **134** e **135** foram mais ativas que os respectivos ácidos âmicos, e que o composto **136** foi similar, considerando-se os respectivos erros padrões.

Tabela 29. Estudos teóricos de solubilidade e permeabilidade dos ácidos âmicos híbridos imido-chalconas.

Substituinte -R	Código	MM ^{a, *} (g/mol)	LogP ^{b, *}	N+O ^{c, *}	NH+OH ^{d, *}
	125	321,33	3,54 ± 0,42	5	2
	126	351,35	3,49 ± 0,44	6	2
	127	335,35	4,00 ± 0,42	5	2
	128	355,77	4,07 ± 0,44	5	2
	129	390,22	4,55 ± 0,48	5	2
	130	366,32	3,32 ± 0,48	8	2
	131	366,32	3,44 ± 0,44	8	2
	132	311,29	3,16 ± 0,45	6	2
	133	327,35	3,36 ± 0,62	5	2

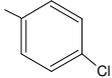
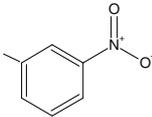
^a Logaritmo do coeficiente de partição; ^b Massa molar; ^cSomatório de N e O (aceptores de ligação hidrogênio); ^dSomatório de NH e OH (doadores de ligação hidrogênio).

* Valores calculados nos programas Chems sketch e Molinspiration.

A fim de avaliar-se solubilidade e permeabilidade destes compostos foram calculados para todos os compostos os parâmetros físico-químicos estipulados por Lipinski (Tabelas 29 e 30).

De acordo com os parâmetros observados todos os compostos encontram-se dentro dos limites considerados favoráveis a uma boa solubilidade e permeabilidade o que indica a possibilidade destes compostos apresentarem um bom perfil de absorção.

Tabela 30. Estudos teóricos de solubilidade e permeabilidade dos híbridos imido-chalconas.

Substituinte -R	Código	MM ^{a, *} (g/mol)	LogP ^{b, *}	N+O ^{c, *}	NH+OH ^{d, *}
	134	303,31	2,88 ± 0,86	4	0
	135	337,75	3,41 ± 0,87	4	0
	136	348,31	2,79 ± 0,87	7	0

^a Logaritmo do coeficiente de partição; ^b Massa molar; ^c Somatório de N e O (aceptores de ligação hidrogênio); ^d Somatório de NH e OH (doadores de ligação hidrogênio).

* Valores calculados nos programas Chemskech e Molinspiration.

De acordo com Lipinski (2001), em uma série de compostos, aqueles com maiores pesos moleculares apresentam maior dificuldade de permeação pelas membranas biológicas. Em relação à lipofilicidade, sabe-se que ela é necessária para atravessar a bicamada lipídica das membranas celulares. Entretanto, segundo a regra dos 5, não existem valores limitantes para os compostos hidrofílicos, sugerindo assim que uma alta lipofilicidade é mais comprometedor na diminuição da biodisponibilidade de um composto. Quanto ao número de doadores e aceptores de ligação hidrogênio, novamente valores excessivos dificultam a permeabilidade.

As imidas cíclicas apresentaram valores inferiores em todos os parâmetros avaliados, e de acordo com o exposto acima, o efeito superior destas ressalta que valores intermediários em geral acarretam em melhores perfis de biodisponibilidade.

Entre as diferentes possibilidades da forma de ação destes compostos, pode-se sugerir que estes compostos possam agir de forma sinérgica, uma vez que tanto as imidas cíclicas, quanto as chalconas possuem comprovadas ações antinociceptivas, e desta forma poderiam estar atuando de ambas as formas, o que contribui para uma possível potencialização dos efeitos de cada uma das classes

isoladas. Apesar de cada composto químico poder atuar de forma inusitada, pode-se ter alguns indicativos que são próprios a cada classe.

Pode-se relatar vários estudos, que sugerem que a atividade antiinflamatória das chalconas ocorra pela inibição da produção de mediadores pró-inflamatórios como a prostaglandina E_2 (PGE_2), óxido nítrico (NO) e fator de necrose tumoral ($TNF-\alpha$). É conhecido que a inibição da prostaglandina E_2 (PGE_2) e a produção de óxido nítrico (NO) têm sido propostas como terapia potencial para diferentes desordens inflamatórias (HERENCIA et al. 2002; NI et al., 2004).

As imidas cíclicas, segundo Kalguthar e colaboradores (1996), também são inibidoras da prostaglandina endoperóxido sintase (PGHS) e, sugere-se que a inibição ocorre através da ligação desta ao carbono carbonílico do anel imídico. Vários compostos imídicos com ação inibidora do $TNF-\alpha$ e da fosfodiesterase também já foram patenteados (MULLER et al., 1997; 2005).

Atualmente já tem sido reportado um novo direcionamento para algumas imidas cíclicas, as quais podem atuar como inibidores do receptor ionotrópico $P2X_7R$, o qual pertence a uma classe de receptores de membrana plasmática ligados por nucleotídeos extracelulares e expressados por todo o corpo. Este receptor está envolvido em processos neuro-inflamatórios e degenerativos, sendo por isso potencialmente útil no desenvolvimento de novos analgésicos (DI VIRGLIO et al 2005; GUNOSEWOYO et al. 2007).

Outra possibilidade, seria de a porção imídica estar agindo como carreadora, auxiliando no transporte da chalcona ao seu sítio de interação. A função de carreadora das imidas cíclicas tem sido recentemente alvo de estudos por diferentes grupos de pesquisa (LU et al., 2005; FURGESON et al., 2006).

Além de todas estas hipóteses, os compostos híbridos sintetizados neste trabalho também podem estar agindo como uma nova molécula sem relação com as classes isoladas. Para melhor elucidação do mecanismo de ação destes compostos, torna-se indispensável a continuidade destes estudos.

6 CONCLUSÕES

Os resultados obtidos permitem concluir que:

6.1 IMIDAS E DERIVADOS

- ✓ Foram obtidos 5 derivados 3-fenilsuccinimidas, sendo um deles inédito, com moderado a bons rendimentos reacionais (30-60%). A avaliação analgésica destes compostos demonstrou um promissor perfil antinociceptivo.
- ✓ Foram obtidos 13 derivados da N-antipirino-3,4-dicloromaleimida (**6**), sendo todos inéditos. As reações ocorreram normalmente e forneceram compostos em moderados a excelentes rendimentos (45-95%).
- ✓ Os compostos derivados do **6** revelaram-se bastante promissores quanto a atividade analgésica, sendo que os compostos **81**, **82** e **92** foram menos eficazes que o protótipo **6**, mas muito mais potentes.
- ✓ A atividade antifúngica foi observada apenas para os fungos filamentosos dermatófitos, sendo o composto **93** o mais promissor.
- ✓ As substâncias mostraram-se moderadamente tóxicas ou atóxicas frente ao microcrustáceo *Artemia salina* Leach.
- ✓ Todas as imidas e derivados apresentaram características promissoras para serem candidatos à protótipos de futuros fármacos.

6.2 CHALCONAS E ANÁLOGOS

- ✓ Foram sintetizadas 19 chalconas e 4 análogos através da reação de condensação aldólica de Claisen-Schmidt, sendo 3 inéditas. As reações resultaram em compostos com rendimentos entre 52 a 97%.
- ✓ As chalconas estudadas mostraram-se bastante promissoras quanto à atividade analgésica em especial os compostos, **103** e **114** que foram cerca de 100 e 32 vezes mais ativos, respectivamente, que os fármacos de referência, AAS e PAR.

- ✓ A atividade antifúngica foi observada apenas para os fungos filamentosos, sendo o composto **109** o mais promissor.
- ✓ Apenas a série da aminochalconas apresentou alguns compostos altamente tóxicos, sendo os composto **103** e **114** com atividade analgésica mais pronunciada e atóxicos, como a grande maioria dos outros compostos analisados.
- ✓ Com exceção do composto **122** todas as demais chalconas apresentaram características promissoras para serem candidatos à protótipos de futuros fármacos.

6.3 HÍBRIDOS IMIDO-CHALCONAS

- ✓ Foram sintetizados 9 ácidos âmicos, sendo 3 inéditos, através das reações das amino chalconas com o anidrido maleico, com bons rendimentos reacionais (50-90%).
- ✓ Foram sintetizadas 3 imidas cíclicas, todas inéditas, através da reação de refluxo com ácido acético, com rendimentos reacionais moderados (35-40%).
- ✓ Entre os ácidos âmicos testados podem-se perceber alguns indícios em relação aos parâmetros eletrônicos, uma vez que os compostos com substituintes retiradores de elétrons foram mais ativos que os com substituintes doadores de elétrons.
- ✓ Os compostos imídicos cíclicos híbridos foram em geral mais ativos que os respectivos ácidos âmicos.
- ✓ Todos os compostos híbridos apresentaram características promissoras para serem candidatos à protótipos de futuros fármacos.

7 PERSPECTIVAS

- ✓ A continuação deste trabalho é de suma importância, considerando os bons resultados obtidos até o momento.
- ✓ Novos derivados 3-fenilsuccinimidas podem ser preparados com diferentes substituintes ligados ao nitrogênio e avaliados também sobre o sistema nervoso central.
- ✓ Repetir a síntese dos híbridos imido-chalconas, otimizando as condições reacionais e obtendo-se os demais compostos híbridos a partir das amino-chalconas já obtidas.
- ✓ As nitrochalconas poderão ser reduzidas para se obter as aminochalconas inversas a fim de se avaliar a diferença de atividade em função da posição dos substituintes.
- ✓ Compostos híbridos invertidos poderão ser sintetizados a partir das nitrochalconas reduzidas.
- ✓ Sugere-se escolher outros dienos para realizar as reações de Diels-Alder no protótipo N-antipirino-3,4-dicloromaleimida

8 REFERÊNCIAS

ABDEL-AZIZ, A. A.-M. Novel and versatile methodology for synthesis of cyclic imides and evaluation of their cytotoxic, DNA binding, apoptotic inducing activities and molecular modeling study. **Eur. J. Med. Chem.** v. 42, p. 614-626, 2007.

AKIHISA T.; TOKUDA, H.; HASEGAWA, D.; UKIYA, M.; KIMURA, Y.; DNJO, F.; SUZUKI, T.; NISHINO, H. Chalcones and other compounds from the exudates of *Angélica keiskei* and their câncer chemopreventive effects. **J. Nat. Prod.** v. 69, p. 38-48, 2006.

ALEXANDRE-MOREIRA, M. S., TAKIYA, C. M., DE ARRUDA, L. B., PASCARELLI, B., GOMES, R. N., NETO, H. C. C. F., LIMA, L. M., BARREIRO, E. J. LASSBio-468: a new achiral thalidomide analogue which modulates TNF- α and NO production and inhibits endotoxic shock and arthritis in an animal model. **Intern. Immunopharmacol.** v. 5, p. 485-494, 2005.

ALMEIDA, V. L., LEITÃO, A., REINA, L. C. B., MONTANARI, C. A., DONNICI, C. L., LOPES, M. T. P. Câncer e agentes antineoplásicos ciclo-celular específicos e ciclo-celular não específicos que interagem com o dna: uma introdução **Quim. Nova**, v. 28, p. 118-129, 2005.

ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Determina a publicação do Relatório Final do "Painel Internacional de Avaliação da Segurança da Dipirona". Resolução RE nº 1260, de 15 de agosto de 2001. Diário Oficial da União; Poder Executivo, de 16 de agosto de 2001. Disponível em: http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/1260_01re.htm. Arquivo acessado em 18 de junho de 2006.

APPLEQUIST, D. E.; GDANSKI, R. D. Kinetic Study of the Homolytic Brominolysis of 1,2-Diarylcyclopropanes. **J. Org. Chem.** v. 46, p. 2502 - 2510, 1981.

AQUINO, P.; LIMA, E.; FARIAS, M.; FREIRE, K.; SOUZA, E.; CECHINEL FILHO, V.; CORREA, R.; NUNES, R. Atividade antifúngica de maleimidas contra dermatófitos isolados de *Tinea capitis*. **Rev. Bras. Anal. Clín.** v. 35, n. 4, p. 191-194, 2003.

ASAKAI, R., AOYAMA, Y., FUJIMOTO, T. Bisindolylmaleimide I and V inhibit necrosis induced by oxidative stress in a variety of cells including neurons. **Neurosci. Res.** v. 44, p. 297-304, 2002.

BANSAL, R. K.; MATHUR, S.; JAIN, J. K.; SHARMA, D. Synthesis and spectral studies of some new fluorinated phosphonium salts and ylides. **J. Ind. Chem. Soc.** v. 65, p. 134 - 136, 1988.

BARREIRO, E.J. A descoberta racional de fármacos. **Ciência Hoje**, v. 40, p. 26-31, 2007.

BARREIRO, E.J.; FRAGA, C.A.M. A questão da inovação em fármacos no Brasil: proposta de criação do programa nacional de fármacos (PRONFAR). **Quim. Nova**, v. 28, p. 56-S63, 2005.

BEIRITH, A.; SANTOS, A. R. S.; RODRIGUES, A. L. S. ; PASA, T. B. C. ; CALIXTO, J. B. Spinal and supraspinal antinociceptive action of dypirone in formalin, capsaicin and glutamate tests. Study of the mechanism of action. **Eur. J. Pharmacol.** v. 345, p. 233-245, 1998.

- BEIRITH, A.; SANTOS, A. R. S.; CALIXTO, J. B. Mechanisms underlying the nociception and paw oedema caused by injection of glutamate into the mouse paw. **Brain Res.** v. 924, p. 219-228, 2002.
- BELLA CRUZ, A.; BELLA CRUZ, R. C.; CECHINEL-FILHO, V.; JUNIOR, D. A.; NUNES, R. J.; YUNES, R. A. Avaliação dos efeitos antibacterianos de N-arildicloromaleimidias e N-arilftalimidias. Relação estrutura-atividade. **Rev. Latinoamer. Quim.** v. 25, p. 10-13, 1996.
- BHAT, B. A, DHAR, K. L. O.; PURI, S. C.; SAXENA, A. K.; SHANMUGAVEL, M.; QAZI, G. N. Synthesis and biological evaluation of chalcones and their derived pyrazoles as potential cytotoxic agents. **Bioorg. Med. Chem.** ,v. 15, p. 3177-3180, 2005.
- BOECK, P.; FALCÃO, C. A. B.; LEAL, P. C.; YUNES, R. A.; CECHINEL-FILHO, V.; TORRES-SANTOS, E. C.; ROSSI-BERGMANN, B. Synthesis of chalcone analogues with increased antileishmanial activity. **Bioorg. Med. Chem.** v. 14, p. 1538-1545, 2006.
- BOECK, P.; LEAL, P. C.; YUNES, R. A.; CECHINEL-FILHO, V.; LÓPEZ, S.; SORTINO, M.; ESCALANTE, A.; FURLÁN, R. L. E.; ZACCHINO, S. Antifungal activity and studies on mode of action of novel Xanthoxylone-derived chalcones. **Arch. Pharm. Chem.** v. 338, p. 87- 95, 2005.
- BRANDÃO, A. Talidomida, sim, mas com o acompanhamento do farmacêutico. **Pharm. Bras.** v. 50, p. 41-42, 2005.
- BRASIL. **Saúde Brasil 2006: uma análise da situação de saúde no Brasil.** Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Análise de Situação em Saúde. Brasília : Ministério da Saúde, 2006. 620 p.
- BRAUN, R. U.; ANSORGE, M.; MÜLLER, T. J. J. The coupling-isomerization synthesis of chalcones. **Chem. Eur. J.** v. 12, p. 9081-9094, 2006.
- CALIXTO, J. B.; MIGUEL, O. G.; YUNES, R. A.; ERA, G. A. Action of 2-hydroxy-4,6-dimethoxyacetophenone isolated from *Sebastiania schottiana*. **Planta Med.** v. 56, p. 31-35, 1990.
- CALIXTO, J. B.; YUNES, R. A.; NETO, A. S. O.; VALLE, R. M. R.; RAE, G. A. 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.
- CAMPOS-BUZZI, F. **Síntese e Atividade Biológica de Imidas Derivadas da 4 – Aminoantipirina.** Dissertação (Mestrado em Química) - Departamento de Química, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2001.
- CAMPOS-BUZZI, F.; CORRÊA, R; SOUZA, M. M; YUNES, R. A.; NUNES, R. J.; CECHINEL-FILHO, V. Studies on new cyclici obtained from aminophenazone with analgesic properties. **Arzneim. Forsch./Drug Res.** v. 52, p. 455-461, 2002.
- CAMPOS-BUZZI, F.; DE CAMPOS, J.P.; TONINI, P.P.; CORRÊA, R.; YUNES, R.A.; BOECK, P.; CECHINEL-FILHO, V. Antinociceptive effects of synthetic chalconas obtained from xanthoxylone. **Arch. Pharm.** v. 339, p. 361-365, 2006.
- CAMPOS-BUZZI, F.; CORRÊA, R; CECHINEL-FILHO, V. Síntese de moléculas bioativas: O exemplo das imidas cíclicas. In: CECHINEL FILHO, V.; BRESOLIN, T. M. B. (Org.) **Ciências Farmacêuticas: Contribuição ao Desenvolvimento de Novos Fármacos e Medicamentos**, Itajaí: UNIVALI, 2003, p. 57-105.

- CAMPOS-BUZZI, F.; PADARATZ, P.; MEIRA, A. V.; CORRÊA, R.; NUNES, R. J.; CECHINEL-FILHO, V. 4'Acetamidochalcone derivatives as potential antinociceptive agents. **Molecules**, v. 12, p. 896-906, 2007.
- CARVALHO, I.; PUPO, M. T.; BORGES, A. D. L.; BERNARDES, L. S. C. Introdução a modelagem molecular de fármacos no curso experimental de química farmacêutica. **Quim. Nova**, v. 26, p. 428-438, 2003.
- CATERINA, M. J.; SCHUMACHER, M. A.; TOMINAGA, M.; ROSEN, T. A.; LEVINE, J. D.; JULIUS, D. The capsaicin receptor: a heat-activated ion channel in the pain pathway. **Nature**, v. 389, p. 816-824, 1997.
- CECHINEL FILHO, V.; SCHLEMPER, V.; SANTOS, A.R.S.; PINHEIRO, T.R.; YUNES, R.A.; MENDES, G.L.; CALIXTO, J.B.; DELLE MONACHE, F. Isolation and identification of active compounds from *Drimys winteri* barks. **J. Ethnopharmacol.** v. 62, p. 223–227, 1998a.
- CECHINEL-FILHO, V. **Obtenção de compostos farmacologicamente ativos a partir de produtos naturais.** Correlação estrutura química - atividade biológica. Tese (Doutorado em Química), - Departamento de Química, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 1995.
- CECHINEL-FILHO, V.; CAMPOS-BUZZI, F.; CORRÊA, R.; YUNES, R. A.; NUNES, R. J. Aspectos químicos e potencial terapêutico de imidas cíclicas: uma revisão da literatura. **Quim. Nova** v. 26, p. 230-241, 2003.
- CECHINEL-FILHO, V.; CORRÊA, R.; VAZ, Z.; CALIXTO, J. B. ; NUNES, R. J. ; PINHEIRO, T.; ANDRICOPULO, A. ; YUNES, R. Further studies on analgesic activity of cyclic imides. **II Farmaco**, v. 53, p. 55-57, 1998.
- CECHINEL-FILHO, V.; MIGUEL, O. G.; NUNES, R. J.; CALIXTO, J. B.; YUNES, R. A. Antispasmodic activity of xantoxiline derivatives: structure-activity relationships. **J. Pharm. Sci.** v. 84, p.160-162, 1995.
- CECHINEL-FILHO, V.; PINHEIRO, T.; NUNES, R.J.; YUNES, R.A.; BELLA CRUZ, A.; MORETTO, E. Antibacterial activity of N-phenylmaleimides, N-phenylsuccinimides and related compounds: structure-activity relationships. **II Farmaco**, v. 49, p. 675-677, 1994.
- CECHINEL-FILHO, V.; VAZ, Z. R.; ZUNINO, L.; CALIXTO, J. B.; YUNES, R. A. Synthesis of xanthoxyline derivatives with antinociceptive and antioedematogenic activities. **Eur. J. Med. Chem.** v. 31, p. 833-839, 1996.
- 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, p. 99-105, 1998.
- CHONG, H-S.; TORTI, S. V.; MA, R.; TORTI, F. M.; BRECHBIEL, M. W. Synthesis and potent antitumor activities of novel 1,3,5-cis,cis-triaminocyclohexane N-pyridyl derivatives. **J. Med. Chem.** v. 47, p. 5230-5234, 2004.
- CHUNG, K. T.; MURDOCK, C. A.; ZHOU, Y.; STEVENS, S. E. JR.; LI, Y. S.; WEI, C. I.; FERNANDO, S. Y. CHOU, M. W. Effects of the nitro-group on the mutagenicity and toxicity of some benzamines. **Environ. Mol. Mutagen.** v. 27, p. 67–74, 1996.
- COLLIER, H. O. J.; DINNEEN, L. C.; JOHNSON, C. A.; SCHNEIDER, C. The abdominal constriction response and its suppression by analgesic drugs in the mouse. **Br. J. Pharmacol. Chemother.** v. 32, p. 295 -310, 1968.

- CORRÊA, R. **Síntese de imidas cíclicas com atividade biológica**. Dissertação (Mestrado em Química) - Departamento de Química, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 1997.
- CORRÊA, R.; PEREIRA, M. A. S.; BUFFON, D.; SANTOS, L.; CECHINEL-FILHO, V.; SANTOS, A. R. S.; NUNES, R. J. Antinociceptive properties of chalcones. structure-activity relationships. **Arch. Pharm.** v. 334, p. 332-334, 2001.
- CORRÊA, R.; ROSA, P. W.; BELLA CRUZ, A.; SAVI, A. O. S.; CECHINEL-FILHO, V. NUNES, R. J. Synthesis and antibacterial activity of citraconimides. **Pharm. Sci.** v. 2, p. 353-355, 1996.
- COSTA, B.B.C.; CORRÊA, R.; SOUZA, M. M. de; PRETTO, J. B.; ARDENGHI, J. V.; CAMPOS-BUZZI, F. de; CECHINEL-FILHO, V. Antinociceptive effects of tetrahydrophthalimides and related compounds. **Z. Naturforsch.** v. 62c, p. 201-206, 2007.
- COSTA, T.; COSTA, M.; SILVA, M.; RODRIGUES, A.; FERNANDES, O.; SOARES, A.; RODRIGUES, M. Etiologia e epidemiologia das dermatofitoses em Goiânia, GO, Brasil. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.** Uberaba, v. 35, 2002. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0037-86822002000100004&lng=pt&nrm=iso>. Acesso em: 15 Jun 2007.
- CUNHA, S., OLIVEIRA, S. M., RODRIGUES J. R., BASTOS, R. M., FERRARI, J., DE OLIVEIRA, C. M. A., KATO, L., NAPOLITANO, H. B., VENCATO, I., LARIUCCI, C. Structural studies of 4-aminoantipyrine derivatives, **J. Mol. Struct.** v. 752, p. 32-39, 2005.
- CUSHNIE, T. P., LAMB, A. J. Antimicrobial activity of flavonoids. **Int. J. Antimicrob. Agents.** v. 26, p. 343-356, 2005.
- DENG, J.; KELLEY, J.A.; BARCHI, J.J., SANCHEZ, T.; DAYAM, R.; POMMIER, Y.; NEAMATI, N. Mining the NCI antiviral compounds for HIV-1 integrase inhibitors. **Bioorg. Med. Chem.** v.14 , p. 3785–3792, 2006.
- DENG, J.; SANCHEZ, T.; AL-MAWSAWIM L.O.; DAYAM, R.; YUNES, R.A.; GAROFALO, A.; BOLGER, M.B.; NEAMATI, N. Discovery of structurally diverse HIV-1 integrase inhibitors based on a chalcone pharmacophore. **Bioorg. Med. Chem.** v. 15, p. 4985–5002, 2007.
- DHAR, D.N. The chemistry of chalcones and related compounds, Wiley-Interscience: New York, 1981.
- DIMMOCK, J. R.; ELIAS, D.W.; BEAZELY, M.A.; KANDEPU, N.M. Bioactivities of chalcones. **Curr. Med. Chem.** v.6, p.1125–1149, 1999.
- DIMMOCK, J.R. JHA, A.; ZELLO, G.A.; ALLEN, T.M.; SANTOS, L.M.; BALZARINI, J.; DE CLERCO, E.; MANAVATHU, E.K. STABLES, J.P. Cytotoxic 4-aminochalcones and related compounds. **Pharmazie**, v. 58. p. 227-232, 2003.
- DI VIRGILIO, F.; BARICORDI, O.R.; ROMAGNOLI, R.; BARALDI, P.G. Leukocyte P2 receptors: a novel target for anti-inflammatory and anti-tumor therapy. **Curr. Drug Targ.** v.5, p. 85-99, 2005.
- DOLABELA, M. F. **Triagem *in vitro* para a atividade antitumoral e anti *Trypanosoma cruzi* de extratos vegetais, produtos naturais e substâncias sintéticas**. Dissertação (Mestrado). Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 1997.
- DOMÍNGUEZ, J. N.; LEÓN, C.; RODRIGUES, J.; DE DOMINGUEZ, N. G.; GUT, J.; ROSENTHAL, P. J. Synthesis and evaluation of new antimalarial phenylurenyl chalcone derivatives. **J. Med. Chem.** v. 48, p. 3654–3658, 2005.

- DOMÍNGUEZ, J. N.; LEÓN, C.; RODRIGUES, J.; DE DOMINGUEZ, N.G.; GUT, J.; ROSENTHAL, P.J. Synthesis and antimalarial activity of sulfonamide chalcone derivatives. **II Farmaco**, v. 60, p. 307 – 311, 2005a.
- DORR, V.; COOK, J. Agranulocytosis and near fatal sepsis due to 'Mexican Aspirin' (Dipyrone). **Southern Med. J.** v. 86, p. 612-615, jun. 1996.
- DUBUISSON, D.; DENNIS, S.G. The formalin test: a quantitative study of the analgesic effects of morphine, meperidine and brain stem stimulation in rats and cats. **Pain**, v. 4, p. 161-174, 1977.
- DUCHOWICZ, P.R.; TALEVI, A.; BELLERA, C.; BRUNO-BLANCH, L.E.; CASTRO, E.A. Application of descriptors based on Lipinski's rules in the QSPR study of aqueous solubilities. **Bioorg. Med. Chem.** v. 15, p. 3711-3719, 2007.
- EDDY, N. B.; LEIMBACK, D. Synthetic analgesics II. Dithienylbutenyl and dithienylbutylamines. **J. Pharmacol. Exp. Ther.** v. 107, p. 385-393, 1953.
- EKINS, S.; MESTRES, J.; TESTA, B. In silico pharmacology for drug discovery: methods for virtual ligand screening and profiling. **Br. J. Pharmacol.** v. 152, p. 9-20, 2007.
- ESPINEL-INGROFF, A.; PFALLER, M. A. Antifungal agents and susceptibility testing. In: MURRAY, P. R.; BARON, E. J.; PFALLER, M. A.; TENOVER, F. C.; YOLKEN, R. H. (ed.), **Manual of clinical microbiology**, 6th ed. American Society for Microbiology, Washington, 1995, p. 1405–1414.
- FURGESON, D.Y., DREHER, M.R., CHILKOTI, A. Structural optimization of a "smart" doxorubicin-polypeptide conjugate for thermally targeted delivery to solid tumors. **J. Control. Rel.** v. 110, p. 362-369, 2006.
- GALEOTTI, N.; STEFANO, G. B.; GUARNA, M.; BIANCHI, E.; GHELARDINI, C. Signaling pathway of morphine induced acute thermal hyperalgesia in mice. **Pain**, v. 123, p. 294-305, 2006.
- GODOY, G. F.; MIGUEL, O. G.; MOREIRA, E. A. Antibacterial activity of xanthoxyline, constituent of *Sebastiania schottiana*. **Fitoterapia**, v. 62, p. 269-270, 1991.
- GOTTLIEB, H. E.; KOTLYAR, V.; NUDELMAN, A. NMR Chemical Shifts of Common Laboratory Solvents as Trace Impurities. **J. Org. Chem.** v.62, p.7512-7515, 1997.
- GUIDER, J. M.; SIMPSON, T. H., THOMAS, D. B. Anthoxanthins. Part II. Derivatives of katuaniin and kaempferol. **J. Chem. Soc.** v.1, p. 170 – 173, 1955.
- GUNOSEWOYO, H.; COSTER, M.J.; KASSIOU, M. Molecular probes for P2X₇receptor studies. **Curr. Med. Chem.** v.14, p.1505 – 1523, 2007.
- HARGREAVES, M. K.; PRITCHARD, J. G.; DAVE, H. R. Cyclic carboxylic monoimides. **Chem. Rev.** v. 70, p. 439–469, 1970.
- HERENCIA, F.; LÓPEZ-GARCÍA, M.P.; UBEDA, A.; FERRÁNDIZ, M.L. Nitric Oxide-scavenging properties of some chalcone derivatives. **NITRIC OXIDE: Biol. Chem.**, v. 6, p. 242–246, 2002.
- HUNSKAAR, S.; FASMER, O. B.; HOLE, K. Formalin test in mice, a useful technique for evaluating mild analgesia. **J. Neurosci. Meth.** v. 14, p. 69-76, 1985.
- HUNSKAAR, S.; HOLE, K. The formalin test in mice: dissociation between inflammatory and non-inflammatory pain. **Pain**, v. 30, p. 103 – 114, 1987.

- ICHIMURA, K.; WATANABE, S.; OCHI, H. Oxidation of α -phenylsuccinimides with manganese (IV) oxide. **Nippon Kagaku Kaishi**, v. 5, p. 770 – 772, 1980.
- ISOMOTO, H.; FURUSU, H.; OHNITA, K.; WEN, C-Y; INOUE, K.; KOHNO, S. Sofalcone, a mucoprotective agent, increases the cure rate of Helicobacter pylori infection when combined with rabeprazole, amoxicillin and clarithromycin. **World J. Gastroenterol**, v. 11, p. 1629 – 1633, 2005.
- JURSIC, B. S. Theoretical investigation of suitability of pyrrole as diene for Diels-Alder reaction. **J. Mol. Struct.**, v. 454, p. 277 – 286, 1998.
- KATOH, M., DODO, K., FUJITA, M., SODEOKA, M. Structure-activity relationship of N-methyl-bisindolylmaleimide derivatives as cell death inhibitors. **Bioorg. Med. Chem. Letters**, v. 15, p. 3109-3113, 2005.
- KELLER, M. B.; RUWE, F. J. L.; JANSSENS, C.J.J.G.; SITSSEN, J.M.Ad; JOKINEN, R.; JANCZEWSKI, J. Relapse prevention with gepirone er in outpatients with major depression. **J. Clin. Psychopharmacol.** v. 25, p. 79-84, 2005.
- KELLER, T.H.; PICHOTA, A.; YIN, Z. A pratica view of 'druggability'. **Curr. Opin. Chem. Biol.** v. 10, p. 357-361, 2006.
- KOSLOV, N. S.; ASPITSKAYA, A. F.; KISELEV, B. I.; KOZLOVA, T. E. Study of the reactions of Mannich bases with bezylideneaniline derivatives under acid catalysis contidions. **Katalit. Sintez. Orgna. Soedinenii**, p. 8-12, 1976.
- KOSSAKOWSKI, J., RASZKIEWICZ, A., BUGNO, R., BOJARSKI, A. J. Introduction of a new complex imide system into the structure of lcaps. the synthesis and a 5-HT_{1A}, 5-HT_{2A} and D₂ receptor binding study. **Pol. J. Pharmacol.**, v. 56, p. 843–848, 2004.
- KOSSAKOWSKI, J.; SKI, P. Synthesis of new N-substituted cyclic imides with an expected anxiolytic activity. XXVII. Derivates of 1-cloromethyl-dibenzo [e.h] bicyclo [2.2.2] octane-2, 3-dicarboximide. **Annales Universitatis Mariae Curie-Sklodowska**, v. 58, p.135 -146, Lublin – Polônia, 2003.
- KUBOTA, Y.; IKEYA, H.; SUGI, Y.; YAMADA, T.; TATSUMI, T. Organic-inorganic hybrid catalysts based on ordered pourus structures for Michael reaction. **J. Mol. Cat. A: Chem.** v. 249, p. 181 – 190, 2006.
- LACERDA Jr., V.; OLIVEIRA, K. T. de; COSTA e SILVA, R.; CONSTANTINO, M. G.; SILVA, G. V. J. da. Reatividade em reações de Diels-Alder: Uma pática computacional. **Quim. Nova**, v .30, p. 727-730, 2007.
- LAZZAROTTO, M.; HEINZEN, V. E. F.; YUNES, R. Optimized modified topliss method: a tool for quantitative structure-activity relationship studies. **Arzneim. Forsch/ Drug Res.** v. 55, p. 604-635, 2005.
- Li, J-T.; Chen, G-F.; Wang, J-X.; Li, T.-S. Ultrasound promoted synthesis of α , α '-difurfurylidene-cycloalkanones and α -furfurylideneacetophenones. **Synthetic Comm.** v. 29, p. 965-971, 1999.
- LIMA, E. O.; MORAIS, V. M. F.; GOMES, S. T. A.; CECHINEL-FILHO, V.; MIGUEL, O. G.; YUNES, R A. Efeito antifúngico da xantoxilina. **Anais do XIII Simpósio de Plantas Medicinais do Brasil**, Fortaleza. p. 122, 1994.
- LIPINSKI, C.A.; LOMBARDO, F.; DOMINY, B-W.; FEENEY, P.J. Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. **Adv. Drug Del. Rew.** v. 46, p. 3-26, 2001.

LLOP, C.; PUJOL, I.; AGUILAR, C.; SALA, J.; RIBA, D.; GUARRO, J. Comparison of tree methods of determining MICs for filamentous fungi using different end point criteria and incubation periods. **Antimicrob. Agents Chemother.** v. 77, p. 189–196, 2000.

LOPEZ, S. N.; CASTELLI, M. V.; CAMPOS-BUZZI, F.; CORREA, R.; CECHINEL-FILHO, V.; YUNES, R. A.; ZAMORA, M. A.; ENRIZ, R. D.; RIBAS, J. C.; FURLAN, R. L.; ZACCHINO, S. A. In vitro antifungal properties structure-activity relationships and studies on the mode of action of N-phenyl, N-aryl, N-phenylalkyl maleimides and related compounds. **Arzneim. Forsch./ Drug Res.** v. 55, p. 123-132, 2005.

LOPEZ, S. N.; CASTELLI, M. V.; ZACCHINO, S. A.; DOMINGUEZ, J. N.; LOBO, G.; CHARRIS-CHARRIS, J.; CORTÉZ, J. C. G.; RIBAS, J. C.; DEVIA, C.; RODRIGUEZ, A. M.; ENRIZ, R. D. In vitro antifungal evaluation and structure-activity relationships of a new series of chalcone derivatives and synthetic analogues, with inhibitory properties against polymers of the fungal cell wall. **Bioorg. Med. Chem.** v. 9, p. 1999-2013, 2001.

LOPEZ, S. N.; SORTINO, M.; ESCALANTE, A.; CAMPOS-BUZZI, F.; CORRÊA, R.; CECHINEL-FILHO, V.; NUNES, R. J.; ZACCHINO, S. A. Antifungal properties of novel N- and α,β -substituted succinimides against dermatophytes. **Arzneim. Forsch./ Drug Res.** v. 53, p. 280-288, 2003.

LU, W., ZHANG, Y., TAN, Y-Z, HU, K-L, JIANG, X-G, FU, S-K. Cationic albumin-conjugated pegylated nanoparticles as novel drug carrier for brain delivery. **J. Control. Rel.** v. 107, p. 428-448, 2005.

LUCKA-SOBSTEL, B.; ZEJC, A.; OBNISKA, J. Synthesis of N-alkylamino- or aryl-imides derivatives of succinic acid. **Arch. Immunol. Therap. Exp.** v. 25, p. 285 – 289, 1977.

MACHADO, A. L., LIMA, L. M., ARAÚJO-JR, J. X., FRAGA, C. A. M., KOATZ, V. L. G., BARREIRO, E. J. Design, synthesis and antiinflammatory activity of novel phthalimide derivatives, structurally related to thalidomide. **Bioorg. Med. Chem.** v. 15, p. 1169–1172, 2005.

McLAUGHLIN, J. L. Crown gall tumours on potato discs and brine shrimp lethality: two simple bioassays for higher plant screening and fractionation. *In*: DEY, P. M.; HARBORNE, J. B. (Ed.). **Methods in Plant Biochemistry**. San Diego: Academic Press Inc, 1991, v. 6, cap. 1, p. 2-31.

MARCHISIO, F. V.; PREVE, L. TULLIO, V. Fungi responsible for skin mycoses in Turin (Italy). **Mycoses.** v. 39, p. 141-15-, 1996.

MENEGATTI, R.; FRAGA, C. A. M.; BARREIRO, E. J.; LIMA, V. L. E. ; RATES, S. M. K.; COSTA, T. D. Esquisofrenia: quarenta anos da hipótese dopaminérgica sob a ótica da química medicinal. **Quim. Nova**, v. 27, p. 447 – 455, 2004.

MEYER, B. N.; FERRIGINI, N. R.; PUTNAN, J. E.; JACOBSEN, L. B.; NICHOLS, D. E.; McLAUGHLIN, J. L. *Brine shrimp*: A convenient general bioassay for active plant constituents **Planta Med.** v. 45, p. 31-34, 1982.

MICHAUX, C.; CHARLIER, C.; JULEMONT, F.; DE LEVAL, X.; DOGNE, J. M.; PIROTTE, B.; DURANT, F. A new potential cyclooxygenase-2 inhibitor, pyridinic analogue of nimesulide. **Eur. J. Med. Chem.** v. 40, p. 1316–1324, 2005.

MIGUEL, O. G. **Componentes químicos de *Sebastiania schottiana* Muell. Arg.; Hipóteses sobre a correlação entre estrutura e atividade farmacológica.** Dissertação (Mestrado em Química) - Departamento de Química, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 1987.

MULLER, G. W.; SHIRE, M. Celgene Corporation. **Succinimide and maleimide cytokine inhibitors**. United States Patent 5658940, N° 539879, 06 out. 1995, 19 ago. 1997, Patent Storm. disponível em www.patentstorm.us/patents.

MULLER, G. W.; SHIRE, M. STIRLING, D. I. Celgene Corporation. **Substituted imides**. United States Patent 6844359, N° 105833, 25 mar. 2002, 18 jan. 2005, Patent Storm. disponível em www.patentstorm.us/patents.

MURRAY, P. R.; ROSENTHAL, K. S.; KOBSYASHI, G. S.; PFALLER, M. A. **Microbiologia médica**. 3 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2000.

MUSTAFA, A.; ASKER, W.; KHATTAB, S.; ZAYED, S. M. A D. Reactivity of the unsaturated system in N-aryl maleimides. **J. Org. Chem.**, v. 26, p. 787 – 789, 1961.

NAKAMURA, N., HIRAKAWA, A., GAO, J.-J., KAKUDA, H., SHIRO, M., KOMATSU, Y., SHEU, C.-C., HATTORI, M. Five New maleic and succinic acid derivatives from the mycelium of *Antrodia camphorata* and their cytotoxic effects on LLC tumor cell line, **J. Nat. Prod.** v. 67, p. 46-48, 2004.

NATIONAL COMMITTEE FOR CLINICAL LABORATORY STANDARDS (NCCLS). **Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Test for Bacteria that Grow Aerobically**. M7-A3. NCCLS, Villanova, PA, 1993

NAVARRO, D. de F.; SOUZA, M. M. de; NETO, R. A.; GOLIN, V.; NIERO, R.; YUNES, R. A.; DELLE MONACHE, F.; CECHINEL-FILHO, V. Phytochemical analysis and analgesic properties of *Curcuma zedoaria* grown in Brazil. **Phytomedicine**, v. 9, p. 427-432, 2002.

NAKAYA, K.-I.; FUNABIKI, K.; SHIBATA, K.; MURAMATSU, H.; MATSUI, M. Fluorescent α,β -unsaturated carbonyl compounds and 2-methylpyridines. Their application to a quantitative analysis of carnitine. **Bull. Chem. Soc. Jap.**, v. 69, p. 2961-2966, 1996.

NEVES, J. S.; LIMA, L. M.; FRAGA, C. A. M.; BARREIRO, E. J.; MIRANDA, A. L. P.; DIAZ, B. L.; BALDUINO, A.; SIQUEIRA, R. A.; SILVA, P. M. R.; MARTINS, M. A. Evaluating the prophylactic of the phtalimide derivative LASSBio 552 on allergen-evoked inflammation in rats. **Eur. J. Pharmacol.** v. 511, p. 219 – 227, 2005.

NI, L., MENG, Q. M., SIROSKI, J. A. Recent advances in therapeutic chalcones. **Expert Opinion**, v.14. n. 12. p. 1669-1691, 2004.

NIELSEN, S. F.; BOESEN, T.; LARSEN, M.; SCHONNING, K.; KROMANN, H. Antibacterial chalcones – bioisosteric replacement of 4'-hydroxy group. **Bioorg. Med. Chem.**, v.12, p.3047 – 3054, 2004.

NIELSEN, S. F.; LARSEN, M.; BOESEN, T.; SCHONNING, K.; KROMANN, H. Cationic chalcone antibiotics. Design, synthesis, and mechanism action. **J. Med. Chem.**, v.48, p.2667–2677, 2005.

NOWAKOWSKA, Z. A review of anti-infective and anti-inflammatory chalcones. **Eur. J. Med Chem.**, v. 42, p. 125-137, 2007.

NOWAKOWSKA, Z.; KEDZIA, B.; SCHROEDER, G. Synthesis, physicochemical properties and antimicrobial evaluation of new (E)-chalcones. **Eur. J. Med. Chem.** 2007, in press, corrected Proof; [doi:10.1016/j.ejmech.2007.05.006](https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2007.05.006)

NUNES, R.J. **The Chemistry and Biological Activity of Cyclic Imidobenzenelulphonyl Derivatives**. 1986, 212 p. Tese (Doutorado em Química)- The Hatfield Polytechnic, England.

- PARDRIDGE, W.M. Blood–brain barrier drug targeting: the future of brain drug development, **Mol. Interv.** v.3, p.90–105, 2003.
- PARRA, A. L.; YHEBRA, R. S.; SARDIÑAS, G. I.; BUELA, L. I. Comparative study of the assay of *Artemia salina* L. and the estimate of the medium lethal dose (LD₅₀) in mice, to determine oral acute toxicity of plant extracts. **Phytomedicine**, v. 8, p. 395 – 400, 2001.
- PATI, H. N.; HOLT, Jr, H. L.; LEBLANC, R.; DICKSON, J. O.; STEWART, M. O.; BROWN, T.; LEE, M. Synthesis and cytotoxic properties of nitro- and aminochalcones. **Med. Chem. Res.** v. 14, p. 19–25, 2005.
- PEET, N. P.; SUNDER, S.; BARBUCH, R. J.; WHALON, M. R.; HUBER, E. W.; HUFFMAN, J. C. Reinvestigation of a 5H-dibenzo[d,h][1,3,6]triazonine synthesis. **J. Heterocycl. Chem.** v. 26, p.1611 – 1617, 1989.
- PEREIRA D.G. Importância do metabolismo no planejamento de fármacos. **Quim. Nova**, v, 30, p. 171-177, 2007.
- PETRENKO, A. B.; YAMAKURA, T.; BADA, H.; SCHIMOJI, K. The role of N-methyl-d-aspartate (NMDA) receptors in pain: A review. **Anesth. Analg.** v. 97, p. 1108 – 1116, 2003.
- PORTNYAGINA, V. A.; KLYUSHIN, V. V. Synthesis and properties of 4'-(3,4,5-trimethoxybenzoylamino)chalcones. **Ukr. Khim. Zh.** v. 48, p. 399-401, 1982.
- PRADO, S.R., CECHINEL-FILHO, V., CAMPOS-BUZZI, F., CORREA, R., CADENA, S.M., DE OLIVEIRA, M.B. Biological evaluation of some selected cyclic imides: mitochondrial effects and in vitro cytotoxicity. **Z. Naturforsch.** v.59, p.663-672, 2004.
- RANG HP, DALE MM. **Farmacologia**. 4.ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2004.
- RIBEIRO, R.A.; VALE, M.L.; THOMAZZI, S.M.; PASCHOALATO, A.B.P.; POOLE, S.; FERREIRA, S.H.; CUNHA, F.Q. Involvement of resident macrophages and mast cells in the writhing nociceptive response induced by zimosan and acetic acid in mice. **Eur. J. Pharmacol.** V.348, p. 111–118, 2000.
- ROMEIRO, L.A.S.; FRAGA, C.A.M.; BARREIRO, E.J. Novas estratégias para o tratamento da depressão: uma visão da química medicinal. **Quim. Nova**, v. 26, p. 347-358, 2003.
- ROSESNKRANZ, H. S.; MERMELSTEIN, R. Mutagenicity and genotoxicity of nitroarenes. All nitro-containing chemicals were not created equal. **Mutat. Res.** v. 114, p. 217–267, 1983.
- RTISHCHEV, N.I.; NOSOVA, G.I.; SOLOVSKAYA, N.A.; LUK'YASHINA, V.A.; GALAKTIONOVA, E.F.; KUDRYAVTSEV, V.V. Spectral properties and photochemical activity of chalcone derivatives. **Russ. J. Gen. Chem.** v. 71, p. 1272-1281, 2001.
- SAKURADA, T.; KATSUMATA, K. TAN-NO,K.; SAKURADA, S. KISARA,K. The capsaicin test in mice for evaluating tachykinin antagonist in the spinal cord. **Neuropharmacol.** v. 31, p.1279-1285, 1992.
- SAKURADA, T.; SUGIUAMA, A.; SAKURADA, C.; TAN-NO, K.; SAKURADA, S.; KISARA, H.A.; ABIKO, Y. Effect of nitric oxide inhibition on capasaicin induced nociceptive response. **Life Sci.** v. 59, p. 921-930, 1996.
- SANTOS, L.; PEDROSA, R. C.; CORREA, R.; CECHINEL-FILHO, V.; NUNES, R. J.; YUNES, R. A. Biological evaluation of chalcones and analogues as hypolipidemic agents. **Arch. Parm.** v. 339, p. 541-546, 2006.

- SATYANARAYANA, M.; TIWARI, P.; TRIPATHI, B.K.; SRIVASTAVA, A.K.; PRATAP, R. Synthesis and antihyperglycemic activity of chalcone based aryloxypropanolamines. **Bioorg. Med. Chem.**, v.12, p.883-889, 2004.
- SCHAECHTER, M.; ENGLEBERG, N.C.; EISENSTEIN, B.I.; MEDOFF, G. **Microbiologia: Mecanismos da Doenças infecciosas**. 3 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002.
- SELVAKUMAR, N.; KUMAR, G. S.; AZHAGAN, A. M.; RAJULU, G. G.; SHAMRA, S.; KUMAR, M. S.; DAS J.; IQBAL, J. TREHAN, S. Synthesis, SAR and antibacterial studies on novel chalcone oxazolidinone hybrids. **Eur. J. Med. Chem.** v. 42, p. 538-543, 2007.
- SELVAMALAR, C. S. J. Synthesis, characterization and photocrosslinking properties of poly(1-(4-methacrylamidophenyl)-1-(4-nitrophenyl)prop-1-en-3-one). **J. Macromol. Sci. Pure Appl. Chem.** v. 43, p. 1189-1203, 2006.
- SHUKLA, P.; SINGH, A. B.; SRIVASTAVA, A. K.; PRATAP, R. Chalcone based aryloxypropanolamines as potential antihyperglycemic agents. **Bioorg. Med. Chem. Lett.** V.17, p. 799–802, 2007.
- SILVERSTEIN, R. M; BASSLER, G. C; MORRILL, T. C. **Identificação espectrométrica de compostos orgânicos**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1994.
- SLADOWSKA, H.; FILIPEK, B.; SZKATUŁA, B.; SAPA, J.; BEDNARSKI, M.; CIOŁKOWSKA, M. Investigations on the synthesis and pharmacological properties of N-substituted derivatives of 4-alkoxy-6-methyl-1H-pyrrolo[3,4-c]pyridine-1,3(2H)-diones. **II Farmaco**, v. 60, p. 53–59, 2005.
- SORTINO, M.; CECHINEL-FILHO, V.; CORRÊA, R.; ZACCHINO, S. N-phenyl and N-phenylalkyl-maleimides acting against *Candida* spp.: time-to-kill, stability, interaction with maleamic acids. **Bioorganic Med. Chem.** 2007, in press.
- SOUZA, M. M.; BELLA CRUZ, A.; SCHUMACHER, M. B.; KREUGER, M. R. ; FREITAS, R. A.; BELLA CRUZ, R. C. Métodos de avaliação de atividade biológica de produtos naturais e sintéticos. In: CECHINEL FILHO, V.; BRESOLIN, T. M. B. (Org.) **Ciências Farmacêuticas: Contribuição ao Desenvolvimento de Novos Fármacos e Medicamentos**. Itajaí: UNIVALI, 2003, p. 108-116.
- SVETAZ, L.; TAPIA, A.; LÓPEZ, S .N.; FURLÁN, R. L. E.; PETENATTI, E.; PIOLI, R.; SCHMEDA-HIRSCHMANN, G.; ZACCHINO, S. A. Antifungal chalcones and new caffeic acid esters from *Zuccagnia punctata* acting against Soybean infecting fungi. **J. Agric. Food Chem.** v.52, p. 3297–3300, 2004.
- SWEETMAN, S. Martindale: The complete drug reference. The Pharmaceutical Press, 2006. Disponível na internet: <http://www.medicinescomplete.com/mc/martindale/2007/index.htm>. Arquivo consultado em 15 de junho de 2007.
- TAVARES, L. C. QSAR: A abordagem de Hansch. **Quim. Nova**, v. 27, n. 4, p. 631 – 639, 2004.
- TEMPESTA, M.S.; CORLEY, D.G.; BEUTLER, J.A.; METRAL, C.J.; YUNES, R.A.; GIACOMOZZI, C.A.; CALIXTO, J.B. Phyllanthimide, a New Alkaloid from *Phyllanthus sellowianus*. **J. Nat. Prod.**,v. 3, p. 617 - 618, 1988.
- TJØLSEN, A.; HOLE, K. Animal models of analgesia. In: DICKENSON, A.H.; BESSON, J.-M.R. (Ed) **The Pharmacology of Pain**. Springer-Verlag, Berlin, 1997, p. 1-20.
- TOPLISS, G. J. Some observations on classical QSAR. **Perspect. Drug Discov. Design** v. 1; p 253-268, 1993.

- TOPLISS, J. G. A manual method for applying the Hansch approach to drug design. **J. Med. Chem.** v. 20, n. 4, p. 463-469, 1977.
- TRABULSI, L.; ALTERTHUM, F.. **Microbiologia: Revisada e Atualizada.** 4^o.ed., Athneu, 2005.
- VAZ, Z. R. ; CECHINEL FILHO, V. ; YUNES, R. A. ; CALIXTO, J. B. Antinociceptive action of 2 - (4- bromobenzoyl) – 3- methyl-4-6-Dimethoxy Benzofuran, a new xanthoxiline derivate on chemical and termal models of nociception in mice. **J. Pharmacol. Exp. Ther.**, v.278, p.304–312, 1996.
- VEBER, D. F.; JOHNSON, S. R.; CHENG, H-Y.; SMITH, B. R.; WARD, K. W.; KOPPLE, K. D. Molecular Properties that influence the oral bioavailability of drug candidates. **J. Med. Chem.** v. 45. p. 2615-2623, 2002.
- VERSCHUEREN, W. G.; DIERYNCK, I.; AMSSOMS, K. I. E.; HU, L.; BOONANTS, P.M.J.G., PILLE, G.M.E., DAEYAERT, F.F.D., HERTOOGS, K., SURLERAUX, D.L.N.G., WIGERINCK, P.B.P.T. Design and optimization of tricyclic phtalimide analogues as novel inhibitors of HIV-1 integrase. **J. Med. Chem.** v. 48, p. 1930-1940, 2005.
- VIEGAS Jr., C; BOLZANI, V. S.; BARREIRO, E.J. Os produtos naturais e a química medicinal moderna. **Quim. Nova**, v. 29, p. 326-337, 2006.
- WALTER, M. E.; MORA, C.; MUNDSTOCK, K.; SOUZA, M. M.; PINHEIRO, A. O.; YUNES, R. A.; NUNES, R. J. Antinociceptive properties of chloromaleimides and their sulphonyl derivates. **Arch. Pharm.** v.337, p.201- 06, 2004.
- WARNECKE, A.; FICHTNER, I.; GARMANN, D.; JAEHDE, U.; KRATZ, F. Synthesis and biological activity of water-soluble maleimida derivatives of the anticancer drug carboplatin designed as albumin –binding prodrugs. **Bioconjugate Chem.** v.15, p.1349–1359, 2004.
- WATERBEEMD, H.; GIFFORD, E. ADMET in silico modeling: towards prediction paradise? **Nat. Rev. Drug Discov.** v. 2, p. 192-204, 2003.
- WHITTLE, A.A. Reale of kinin by intraperitoneal injection of chemical agents in mice. **Int. J. Neuropharmacol.** v. 20, p.4 -60, 1964.
- WILIMOWSKI, M.; WITOWSKA, M.; BARCZYNSKA,J.; KEDZIERSKA, L.; WOJEWODZKI,W.; FELSZTYNSKA, J. Central action of new imido derivatives of succinic acid. **Arch. Immunol. Ther. Exp.** v. 27, p. 389 – 396, 1976.
- YAMADA, K.; YAGI, G.; KANBA, S. Clinical efficacy of tandospirone augmentation in patients with major depressive disorder: A randomized controlled trial. **Psych. Clin. Neurosc.**, v. 57,p. 183-185, 2003.
- Yeo, H.; Li, Y.; Fu, L.; ZHU, J-L.; Gullen, E. A.; Dutschmanm, G. E., Lee, Y.; Chung, R.; Huang, E-S.; Austin, D. J.; Cheng, Y-C. Synthesis and Antiviral Activity of Helioxanthin Analogues. **J. Med. Chem.** v. 48, p. 534-546, 2005.
- YI, F; PENG, Y. S.; GONGHUA, L. J. Solid phase syntheis of aminochalcones. **J. Chem. Res.**, v. 5, p. 311-312, 2005.
- YULDASHEV, K. Y. Acylation of anisole and toluene by substituted cinnamic acid chlorides. **Zhurn. Organ. Khimii**, v. 14, p. 2088 – 2090, 1978.
- YUNES, R. A.; HEINZEN, V. E. F.; CECHINEL-FILHO, V.; LAZZAROTTO, M. From the manual method of topliss to a modified quantitative method. **Arzneim. Forsch./ Drug Res** v. 52, p. 125 – 132, 2002.

- YUNES, R. A.; CECHINEL-FILHO, V. Novas perspectivas dos produtos naturais na química medicinal moderna. In: YUNES, R. A CECHINEL-FILHO, V. (Org.). **Química de produtos naturais, novos fármacos e a moderna farmacognosia**, Itajaí: UNIVALI, 2007, 303p.
- ZAITZ, C.; CAMPBELL, I.; MARQUES, S. A.; RUIZ, L. R. B.; SOUZA, V. M. **Compendio de Micologia Médica**. Rio de Janeiro: Editora Médica e Científica Ltda., 1998.
- ZAMORA, M. A.; MASMAN, M. F.; BOMBASARO, J. A.; FREILE, M. L.; CECHINEL-FILHO, V.; LÓPEZ, S.N.; ZACCHINO, S.; ENRIZ, R.D. Conformational and electronic study of N-phenylakyl-3,4-dichloromaleimides: Ab initio and DFT study. **Int. J. Quant. Chem.** v. 93, p. 32-46, 2003.
- ZARGHI, A.; ZEBARDAST, T.; HAKIMION, F.; SHIRAZI, F.H.; RAO, P.N.P.; KNAUS, E.E. Synthesis and biological evaluation of 1,3-diphenylprop-2-en-1-ones possessing a methanesulfonamido of an azido pharmacophore as cyclooxygenase-1/2 inhibitors. **Bioorg. Med. Chem.** v.14, p. 7044-7050, 2006.
- ZENTZ, F. VALLA, A., GUILLOU, R. L., LABIA, R. MATHOT, A-G, SIROT, D. Synthesis and antimicrobial activities of N-substituted imides. **II Farmaco**, v. 57, p. 421-426, 2002.
- ZENTZ, F., LABIA, R., SIROT, D., FAURE, O., GRILLOT, R., VALLA, A. Syntheses, in vitro antibacterial and antifungal activities of a series of N-alkyl, 1,4-dithiines. **II Farmaco**, v. 60, p. 944-947, 2005.
- ZENTZ, F; GUILLOU, L.R; LABIA, R; SIROT, D; LINARD, B; VALLA. Synthesis, in vitro antibacterial and cytotoxic activities of a series of 3-substitued succinimides. **II Farmaco**, v. 59, p. 879-886, 2004.
- ZIMMERMANN, M. Ethical guidelines for investigations of experimental pain in conscious animals. **Pain**, v. 16, p. 109 – 110, 1983.

9 ANEXO