



UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALFENAS



FABIANO VEIGA

**SÍNTESE DE NOVOS DERIVADOS DE ÉTERES DE OXIMA E AVALIAÇÃO
FARMACOLÓGICA DE SUAS PROPRIEDADES ANTI-INFLAMATÓRIAS**

Alfenas/MG
2013

FABIANO VEIGA

**SÍNTESE DE NOVOS DERIVADOS DE ÉTERES DE OXIMA E AVALIAÇÃO
FARMACOLÓGICA DE SUAS PROPRIEDADES ANTI-INFLAMATÓRIAS**

Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Química pela Universidade Federal de Alfenas. Área de concentração: química orgânica.
Orientadora: Profa. Dra. Marcia Paranho Veloso.

Alfenas/MG
2013

Veiga, Fabiano.

Síntese de novos derivados de éteres de oximas e avaliação farmacológica de suas propriedades anti-inflamatórias. / Fabiano Veiga. - 2013.

125 f. -

Orientadora: Marcia Paranho Veloso.

Dissertação (Mestrado em Química) - Universidade Federal de Alfenas, Alfenas, MG, 2013.

Bibliografia.

1. Síntese orgânica. 2. Química farmacêutica. 3. Anti-inflamatórios. I. Veloso, Marcia Paranho. II. Título.

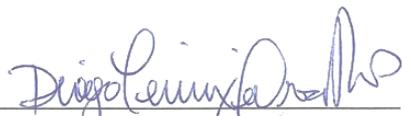
CDD: 547

FABIANO VEIGA

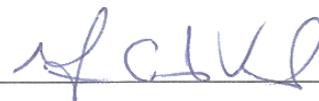
**Síntese de novos derivados de éteres de oximas e
avaliação farmacológica de suas propriedades
anti-inflamatórias.**

A banca examinadora abaixo assinada aprova o manuscrito apresentado como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Química pelo Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal de Alfenas. Área de concentração: Química Orgânica

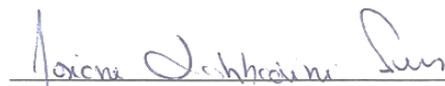
Aprovado em 22 / 02 / 2013



Prof. Dr. Diogo Teixeira Carvalho
Universidade Federal de Alfenas



Profa. Dra. Marcia Paranho Veloso
Universidade Federal de Alfenas



Profa. Dra. Josiane Sabbadini Neves
Universidade Federal do Rio de Janeiro

AGRADECIMENTOS

A Deus pela existência.

A minha família, Milene (esposa), Jonas (pai), Vânia (mãe), Gustavo (irmão), Assunta (avó) pelo apoio imprescindível para essa jornada.

A professora Marcia Paranho Veloso pela orientação.

Ao colega Rodrigo Cesar da Silva pelo apoio nas etapas sintéticas e pelos espectros de RMN.

Aos professores do LFQM, Marcelo Henrique dos Santos, Claudio Viegas e Marisi Gomes Soares pelo suporte e apoio.

Aos colegas de bancada do LFQM em especial João Luiz Baldim Zanin, Maria Cecília (Ciça), Flávia, e Isael pela benevolência, atenção, paciência e parceria.

Ao Cáio, colega de bancada e orientação pelo auxílio nas sínteses.

A professora Danielle Dias e a pós-doutoranda Fabiana Vilela pelo apoio e dedicação nos ensaios farmacológicos.

RESUMO

O processo inflamatório consiste em uma resposta biológica de um organismo vivo contra algum tipo de agressão física, biológica ou química. A resposta inflamatória é mediada por substâncias denominada mediadores químicos, um dos mediadores é o ácido araquidônico e seus metabólitos são responsáveis pelo processo inflamatório. A cascata do ácido araquidônico produz os principais mediadores da inflamação como leucotrienos, tromboxanas e prostaglandinas. Os anti-inflamatórios não esteroidais atuam na inibição da prostaglandina endoperóxido sintase ou ciclo-oxigenase que são enzimas responsáveis pela oxidação do ácido araquidônico que apresentam duas isoformas: a PGHS-1, também conhecida como ciclo-oxigenase 1 (COX 1), configura-se uma enzima constitutiva por estar presente nos processos fisiológicos e a PGHS-2, também conhecida por ciclo-oxigenase 2 (COX 2) e pode ser induzida através do processo inflamatório. Anti-inflamatórios altamente seletivos para PGHS-2 foram desenvolvidos, entretanto, alguns deles apresentaram efeitos adversos e foram retirados do mercado, tendo como exemplos os seguintes: lumiracoxibe (Prexige®), etoricoxibe (Arcoxia®), parecoxibe (Bextra®), por entender que seus perfis de segurança, incluindo as reações adversas cardíacas, hepáticas e renais graves, superam a relação risco-benefício no tratamento das indicações estudadas. Novos protótipos de fármacos anti-inflamatórios menos seletivos passaram a ser desenvolvidos. Compostos contendo o grupo funcional éter de oxima foram sintetizados em nosso grupo de pesquisa e seus perfis de atividade anti-inflamatória foram avaliados, apresentado resultados positivos que levaram à continuidade destes estudos com o objetivo de confirmar e complementar as atividades anti-inflamatórias já identificadas. Depois de sintetizados e identificados os éteres de oxima foram submetidos a novos ensaios *in vivo* confirmando suas propriedades anti-inflamatórias, analgésicas e também foram identificadas atividades na inibição de agregação plaquetária. Os ensaios corroboraram para confirmar a eficácia farmacológica dos compostos sintetizados pelo nosso grupo de estudo. Neste trabalho também foi realizada a síntese de inéditos derivados de éteres de oxima, que foram submetidos à análise por RMN¹H e RMN¹³C confirmando suas estruturas e sua rota sintética.

Palavras-chave: Química Orgânica. Química Farmacêutica. Síntese Orgânica. Anti-inflamatórios. Éter de oxima.

ABSTRACT

The inflammatory process consists is a biological response in a living organism against some kind of physical, biological or chemical attack. The inflammatory response is mediated by substances called chemical mediators. One of the mediators is arachidonic acid and its metabolites are responsible for the inflammatory process. The arachidonic acid cascade produces the main inflammatory mediators such as leukotrienes, prostaglandins and thromboxanes. Non-steroidal anti-inflammatory drugs act by inhibiting prostaglandin endoperoxide synthase or cyclooxygenase enzymes that are responsible for oxidation of arachidonic acid and which have two isoforms: a PGHS-1, also known as cyclooxygenase 1 (COX-1) which is a constitutive enzyme because of its presence in physiological processes and PGHS-2, also known as cyclooxygenase 2 (COX-2) which can be induced by the inflammatory process. Anti-inflammatory drugs highly selective for PGHS 2 have been developed. However, some of them showed adverse effects and were withdrawn from the market, the following being examples: lumiracoxib (Prexige ®), etoricoxib (Arcoxia ®), parecoxib (Bextra ®), as it was thought that their safety profiles, including serious adverse cardiac, hepatic and renal disease, outweighed the risk-benefit in their intended applications. New prototype of less selective anti-inflammatory drugs have been developed. Compounds containing the functional group oxime ether were synthesized in our research group and their profiles of anti-inflammatory activity were evaluated, and positive results were present leading to continuation of these studies in order to confirm and complement the anti-inflammatory activities already identified. Once synthesized and identified the oxime ethers were subjected to further tests in vivo confirming their anti-inflammatory and analgesic activities, and inhibiting actions on platelet aggregation have also been identified. The tests corroborated to confirm the effectiveness of the pharmacological compounds synthesized by our study group. In this work the synthesis of new derivatives of oxime ethers was also carried out, which were subjective to analysis by RMN ¹H and RMN ¹³C, confirming their structures and their synthetic route.

Key words: Organic Chemistry. Pharmaceutical Chemistry. Organic Synthesis. Anti-Inflammatory. Oxime ether.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Conversão da histidina (1) em histamina (2) pela L-histidina descarboxilase.....	15
Figura 2 - Cascata do ácido araquidônico	17
Figura 3 - AINEs não seletivos da PGHS.....	19
Figura 4 - Estruturas dos coxibes	20
Figura 5 - Requisitos estruturais para inibidores seletivos de PGHS-2.....	20
Figura 6 - Venda global de medicamentos.....	22
Figura 7 - Éteres de oxima planejados como candidatos a fármacos anti-inflamatórios.	23
Figura 8 - Representação esquemática dos éteres de oxima	24
Figura 9 - Gráfico da atividade dos derivados éteres de oxima no ensaio de nocicepção induzida por formalina.	24
Figura 10 - Gráfico da atividade dos derivados éteres de oxima no ensaio de nocicepção induzida por formalina.	25
Figura 11 - Planejamento estrutural dos novos éteres de oximas funcionalizados (6a-f).....	27
Figura 12 - Esquema das rotas sintéticas para a obtenção das séries de derivados de éteres de oxima planejadas.....	29
Figura 13 - Obtenção do intermediário (1) (4-alil-1,2-dimetoxibenzeno).....	30
Figura 14 - Espectro na região do infravermelho (KBr) do intermediário (1).....	31
Figura 15 - Espectro de RMN de ^1H (CDCl_3 -400 MHz) do intermediário (1).....	32
Figura 16 - Espectro de RMN de ^{13}C (CDCl_3 -100 MHz) do intermediário (1).....	33
Figura 17 - Obtenção do intermediário estirênico (2) (1,2-dimetoxi-4-(prop-1-enil)benzeno.	33
Figura 18 - Espectro de RMN de ^1H (CDCl_3 -400 MHz) do intermediário (2).....	34
Figura 19 - Espectro de RMN de ^{13}C (CDCl_3 -100 MHz) do intermediário (2).....	35
Figura 20 - Obtenção do derivado 2,3-diidro-5,6-dimetoxi-2-metilindan-1-ona(3).	35
Figura 21 - Mecanismo de reação (Vilsmeier-Haack).	36
Figura 22 - Espectro na região do infravermelho (KBr) do intermediário (3).....	37
Figura 23 - Espectro de RMN de ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) do intermediário (3).	38
Figura 24 - Espectro de RMN de ^{13}C (CDCl_3 , 100 MHz) do intermediário (3).....	38
Figura 25 - Obtenção do intermediário (4)(5,6-dimetoxi-2,2-dimetilindan-1-ona).....	39
Figura 26 - Representação esquemática da C-alkilação.	39
Figura 27 - Espectro de RMN de ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) do intermediário (4).	40
Figura 28 - Espectro de RMN de ^{13}C (CDCl_3 , 100 MHz) do intermediário (4).....	41
Figura 29 - Obtenção do intermediário (5).	41
Figura 30 - Mecanismo de reação para obtenção da oxima.	42
Figura 31 - Espectro na região do infravermelho (KBr) do intermediário (5).....	42
Figura 32 - Espectro de RMN ^1H (400MHz, CDCl_3) do intermediário oxímico (5).	43
Figura 33 - Proposta do efeito anisotrópico dos pares de elétrons do oxigênio.	44
Figura 34 - Espectro de RMN de ^{13}C (CDCl_3 -100 MHz) do intermediário (5).....	44
Figura 35 - Representação de haletos aromáticos.	45
Figura 36 - Redução dos aldeídos (7) e (8) nos alcoóis correspondentes.	46
Figura 37 - Espectro na região do infravermelho (KBr) do intermediário (7).....	47

Figura 38 - Espectro na região do infravermelho (KBr) do intermediário (8).....	48
Figura 39 - Formação de cloretos a partir de álcool.....	48
Figura 40 - Espectro na região do infravermelho (KBr) do intermediário (9).....	49
Figura 41 - Espectro na região do infravermelho (KBr) do intermediário (10).....	50
Figura 42 - Esquema representativo da síntese dos éteres de oxima.	51
Figura 43 - Mecanismo de reação da reação de acoplamento.	51
Figura 44 - Representação do éter de oxima (6a).	55
Figura 45 - Espectro de infravermelho (KBr) do éter de oxima (6a).....	55
Figura 46 - Composto (6a), sinais do espectro RMN ¹ H e tabela comparativa.	57
Figura 47 - Composto (6a), sinais do espectro RMN ¹³ C e tabela comparativa.....	58
Figura 48 - Éter de oxima (6d).	59
Figura 49 - Espectro na região do infravermelho (KBr) do éter de oxima (6d).....	59
Figura 50 - Composto (6d), sinais do espectro RMN ¹ H e tabela comparativa.	60
Figura 51 - Composto (6d), sinais do espectro RMN ¹³ C e tabela comparativa.....	61
Figura 52 - Representação do éter de oxima (6e).	62
Figura 53 - Espectro na região do infravermelho (KBr) do éter de oxima (6e).....	62
Figura 54 - Composto (6e), sinais do espectro RMN ¹ H e tabela comparativa.	63
Figura 55 - Composto (6e), sinais do espectro RMN ¹³ C e tabela comparativa.....	64
Figura 56 - Éter de oxima (6f)	65
Figura 57 - Espectro na região do infravermelho (KBr) do éter de oxima (6f).....	65
Figura 58 - Composto (6f), sinais do espectro RMN ¹ H e tabela comparativa.	66
Figura 59 - Composto (6f), sinais do espectro RMN ¹³ C e tabela comparativa.....	67
Figura 60 - Representação esquemática da obtenção do éter de oxima (6c).....	68
Figura 61 - Mecanismo de reação da oxidação do grupamento metilsulfeto em metilsulfóxido.	69
Figura 62 - Espectro na região do infravermelho (KBr) do éter de oxima (6c).....	70
Figura 63 - Composto (6c), sinais do espectro RMN ¹ H e tabela comparativa.	71
Figura 64 - Composto (6c), sinais do espectro RMN ¹³ C e tabela comparativa.....	72
Figura 65 - Representação esquemática da síntese do éter de oxima (6b).....	73
Figura 66 - Mecanismo de reação de oxidação do grupamento metilsulfeto em metilsulfona.....	74
Figura 67 - Espectro na região do infravermelho (KBr) do éter de oxima (6b).....	75
Figura 68 - Composto (6b), sinais do espectro RMN ¹ H e tabela comparativa.	76
Figura 69 - Composto (6c), sinais do espectro RMN ¹³ C e tabela comparativa.....	77
Figura 70 - Obtenção do intermediário (7).	78
Figura 71 - Espectro RMN ¹ H (CDCl ₃ , 400MHz) intermediário (7).	79
Figura 72 - Espectro RMN ¹³ C (CDCl ₃ 100MHz) do intermediário (7).....	79
Figura 73 - Esquema representativo da reação de acoplamento com os haletos orgânicos.....	80
Figura 74 - Composto (8a), sinais do espectro RMN ¹ H e tabela comparativa.	82
Figura 75 - Composto (8a), sinais do espectro RMN ¹³ C e tabela comparativa.....	83
Figura 76: Composto (8b), sinais do espectro RMN ¹ H e tabela comparativa.	84
Figura 77 - Composto (8b), sinais do espectro RMN ¹³ C e tabela comparativa.....	85
Figura 78 - Composto (8c), sinais do espectro RMN ¹ H e tabela comparativa.	86
Figura 79 - Composto (8c), sinais do espectro RMN ¹³ C e tabela comparativa.....	87
Figura 80 - Esquema representativo da obtenção do composto (8d).	88
Figura 81 - Composto (8d), sinais do espectro RMN ¹ H e tabela comparativa.	89
Figura 82 - Composto (8d), sinais do espectro RMN ¹³ C e tabela comparativa.....	90
Figura 83 - Esquema representativo para a obtenção do composto (8e)	91
Figura 84 - Composto (8e), sinais do espectro RMN ¹ H e tabela comparativa.	92

Figura 85 -	Composto (8e), sinais do espectro RMN ¹³ C e tabela comparativa.....	93
Figura 86 -	Avaliação farmacológica dos derivados sintetizados no ensaio de contorções abdominais induzidas por ácido acético. Avaliação do efeito dos compostos éteres de oxima nas contorções abdominais induzidas por ácido acético 0,1N em camundongos suíços. Valores expressos como média ± erro padrão da média (n = 10-12 animais), Teste “t” de Student, *p<0,05 quando comparado com grupo controle.	95
Figura 87 -	Gráfico ID ₅₀ com os éteres de oxima sintetizados. Os resultados obtidos foram analisados utilizando um software GraphPad versão 5.0 e expressos como média ± erro padrão da média (EPM). Para o cálculo da ID ₅₀ foi realizada regressão não linear.....	96
Figura 88 -	Obtenção do intermediário (1) (4-alil-1,2-dimetoxibenzeno).....	102
Figura 89 -	Obtenção do intermediário estirênico (2) (1,2-dimetoxi-4-(prop-1-enil)benzeno.	103
Figura 90 -	Obtenção do intermediário (3) (5,6-dimetoxi-2-metilindan-1-ona).	103
Figura 91 -	Obtenção do intermediário (4) (5,6-dimetoxi-2,2-dimetilindan-1-ona).....	104
Figura 92 -	Obtenção do intermediário (5) (1-hidroxi-5,6-dimetoxi-2,2-dimetilindan-1-imine).....	105
Figura 93 -	Redução do grupamento aldeído.....	106
Figura 94 -	Cloração da hidroxila	107
Figura 95 -	Obtenção dos éteres de oxima.....	108
Figura 96 -	Obtenção do intermediário (7) (1-hidroxi-5,6-dimetoxi-2-metilindan-1-imine).....	109
Figura 97 -	Representação esquemática da adição do haleto de alquila à oxima	109
Figura 98 -	Representação da oxidação total do grupamento tiometil em sulfona.	110
Figura 99 -	Representação da transformação do metilsulfeto em sulfóxido.....	111

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Comparação morfofisiológica das isoformas da PGHS.....	18
Tabela 2 - Representação esquemática de obtenção dos éteres de oxima.	53
Tabela 3 - Representação esquemática de obtenção dos éteres de oxima monometilados.	81
Tabela 4 - Tabela comparativa entre as atividades dos compostos para os ensaios de contorções abdominais e análise de ID ₅₀	97
Tabela 5 - Resultados sobre a inibição da agregação plaquetária induzida por ADP ou colágeno.	98

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	13
1.1	O PROCESSO INFLAMATÓRIO.....	13
1.2	FARMACOLOGIA DA INFLAMAÇÃO.....	14
1.3	AÇÃO DA PROSTAGLANDINA ENDOPERÓXIDO SINTETASE (PGHS).....	17
1.4	FÁRMACOS ANTI-INFLAMATÓRIOS NÃO ESTEROIDAIIS (AINES).....	19
2	JUSTIFICATIVA	22
3	OBJETIVOS	26
3.1	OBJETIVO GERAL.....	26
3.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	26
4	PLANEJAMENTO ESTRUTURAL	27
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	28
5.1	ETAPA SINTÉTICA.....	28
5.1.1	Obtenção do intermediário (1) (4-alil-1,2-dimetoxibenzeno).....	30
5.1.2	Reação de isomerização do 4-alil-1,2-dimetoxibenzeno (1).....	33
5.1.3	Obtenção do intermediário (3) (5,6-dimetoxi-2-metilindan-1-ona).....	35
5.1.4	Obtenção do 5,6-dimetoxi-2,2-dimetilindan-1-ona(4).....	39
5.1.5	Obtenção do intermediário oxímico (5) (1-hidroxi-5,6-dimetoxi-2,2-dimetilindan-1-imine).....	41
5.1.6	Síntese dos cloretos de benzila.....	45
5.1.7	Obtenção de alcoóis a partir de aldeídos.....	45
5.1.8	Obtenção de haletos a partir dos alcoóis obtidos.....	48
5.1.9	Obtenção dos éteres de oxima.....	51
5.1.10	Reações com o composto 6f.....	68
5.1.10.1.	Transformação do metilsulfeto em metilsulfóxido.....	68
5.1.10.2	Transformação do metilsulfeto em metilsulfona (6b).....	73
5.2	SÍNTESE DE UMA NOVA SÉRIE DE COMPOSTOS DE ÉTERES DE XOIMA MONOMETILADOS.....	78
5.2.1	Obtenção do intermediário (7) a partir do intermediário (3).....	78
5.2.2	Obtenção de uma nova série de éteres de oxima monometiladas.....	80
5.2.3	Reações de transformação do composto 8c.....	88
5.2.3.1	Transformação do metilsulfeto em metilsulfóxido.....	88
5.2.3.2	Transformação do metilsulfeto em metilsulfona.....	91
5.3	ENSAIOS FARMACOLÓGICOS.....	94
5.3.1	Avaliação farmacológica da atividade anti-inflamatória.....	94
5.3.1.1	Ensaio de contorções abdominais induzidas por ácido acético.....	94
5.3.1.2	Análise do ID ₅₀ no teste de edema de pata induzido por carragenina.....	96
5.3.1.3	Avaliação do efeito dos compostos éteres de oxima na agregação plaquetária.....	97
6	CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS	100
7	PARTE EXPERIMENTAL	101
7.1	GENERALIDADES.....	101
7.2	OBTENÇÃO DO 4-ALIL-1,2-DIMETOXIBENZENO (1).....	102
7.3	ISOMERIZAÇÃO 4-ALIL-1,2-DIMETOXIBENZENO.....	103
7.4	OBTENÇÃO DO DERIVADO INDANÔNICO: 2,3-diidro-5,6-dimetoxi-2-metilindan-1-ona (3).....	103

7.5	OBTENÇÃO DO 5,6-DIMETOXI-2,2-DIMEILINDAN-1-ONA (4)	104
7.6	OBTENÇÃO DO INTERMEDIÁRIO OXÍMICO (5)	105
7.7	PROCEDIMENTO GERAL PARA A PREPARAÇÃO DOS ALCOÓIS BENZÍLICOS (7 E 8).....	106
7.8	PROCEDIMENTO GERAL PARA PREPARAÇÃO DOS HALETOS BENZÍLICOS (9, 10, 11, 12)	107
7.9	OBTENÇÃO DOS ÉTERES DE OXIMA	108
7.10	OBTENÇÃO DO INTERMEDIÁRIO (7).....	109
7.11	PROCEDIMENTO PARA OBTENÇÃO DOS ÉTERES DE OXIMA MONOMETILADOS:.....	109
7.12	PROCEDIMENTO PARA OBTENÇÃO DO COMPOSTO 5,6- DIMETOXI-2-METILINDAN-1-ONE O-[4(METILSULFONIL)BENZIL] OXIMA (8C)	110
7.13	PROCEDIMENTO PARA OBTENÇÃO DO 5,6-DIMETOXI-2- METILINDAN-1-ONE O-[4-(METILSULFINIL)BENZIL] OXIMA (8D)	111
7.14	METODOLOGIAS PARA OS ENSAIOS FARMACOLÓGICOS	111
7.14.1	Metodologia utilizada para o ensaio de contorções abdominais induzida por ácido acético	111
7.14.2	Metodologia utilizada para ensaio de ID₅₀ para teste de edema de pata induzido por carragenina.....	112
7.14.3	Metodologia utilizada para avaliação da agregação plaquetária ex vivo.....	112
	REFERÊNCIAS	114

1 INTRODUÇÃO

1.1 O PROCESSO INFLAMATÓRIO

O processo inflamatório ocorre como resposta à lesão celular e caracteriza-se por um processo complexo, dinâmico e multimediado, que pode se manifestar a partir de vários tipos de fatores agressivos, tais como físicos (queimadura, radiação, trauma), biológicos (micro-organismos, agentes imunológicos) ou químicos (substância cáustica) (SILVA, 2010). A inflamação é necessária para a eliminação ou redução de agentes agressores ou agressões no organismo humano e possibilita uma subsequente restauração da homeostase (NAMAS, 2009). A reação inflamatória acontece em vários níveis. Inicialmente, em nível histopatológico, ocorre em duas fases consecutivas. A fase aguda é caracterizada por: 1. vasodilatação arteriolar e venular, com aumento da pressão hidrostática na microvasculatura e fuga de líquido para o interstício (edema); 2. aumento da permeabilidade na microvasculatura por contração celular no endotélio venular (fenestração), com escape protéico que diminui a pressão oncótica vascular e favorece a formação do exsudato inflamatório na intimidade do tecido; 3. migração de polimorfonucleares (quimiotaxia) para o local da injúria; 4. acúmulo de macrófagos no sítio de lesão nas 24 horas seguintes, influenciado pela capacidade de adesão de moléculas existentes em endotélio vascular, leucócitos e plaquetas. A fase crônica proliferativa da resposta inflamatória se instala entre 36 e 48 horas após o estímulo, caracterizando-se por migração leucocitária, com predominância de monócitos, linfócitos, plasmócitos e fibroblastos. Ocorrem, ainda, sinais de regeneração e reconstrução da matriz conjuntiva. Nos processos inflamatórios crônicos, os eventos descritos acima originam degeneração tecidual e fibrose (BRENOL, 2013). A inflamação crônica é caracterizada por seu longo período e pela presença de células mononucleares, *e.g.*, macrófagos e linfócitos. As inflamações agudas são respostas rápidas do organismo à presença de bactérias piogênicas, resultando em acúmulo de material necrótico. A inflamação aguda pode evoluir para a crônica quando não é realizado um tratamento adequado. O processo inflamatório tem grande importância para o restabelecimento do tecido ou da célula lesada. Entretanto, esse processo pode induzir respostas excessivas

desregulando vários sistemas, órgãos podendo acarretar um ciclo inflamatório vicioso que poderá trazer danos ao organismo (NAMAS, 2009).

1.2 FARMACOLOGIA DA INFLAMAÇÃO

Com a injúria tecidual o processo inflamatório ocorrerá perfazendo alterações como a mudança da permeabilidade dos vasos sanguíneos do local, seguido de acúmulo de células responsáveis pelo desencadeamento do processo inflamatório. As células promoverão a liberação dos mediadores que darão início à resposta inflamatória que promoverá a destruição ou remoção do agente agressor. Posteriormente ocorrerá a limpeza e restauração da área anteriormente lesada (HANSON, 2005).

Os macrófagos e leucócitos polimorfonucleares recrutados pelos sítios de lesão celular desempenham papel fundamental no desenvolvimento da inflamação mediante a liberação de fatores solúveis de regulação da fase aguda denominados citocinas ou interleucinas (interleucina 1 – IL₁, interleucina 6 – IL₆ e fator de necrose tumoral alfa – TNF_α). Muitas das citocinas atuam como mediadores da inflamação (SILVA, 2010).

Os principais mediadores do processo inflamatório são os seguintes: histamina, serotonina, sistema complemento, cininas, sistemas de coagulação e os metabólitos do ácido araquidônico.

A histamina está distribuída pela maioria dos tecidos do organismo e presente nas granulações dos mastócitos na sua forma pré-formada, sendo liberada como resposta a diversos estímulos (figura 1). É considerada como principal mediador da fase imediata e exerce seus efeitos através da interação com três diferentes subtipos de receptores histamínicos (H₁, H₂, H₃). Os efeitos resultantes da interação com os receptores H₁ são a contração da musculatura lisa dos brônquios, intestino e útero, e aumento da permeabilidade dos capilares venosos. A interação com o receptor H₂ aumenta a secreção de ácido gástrico e de muco nas vias aéreas, e ligando ao receptor H₃ ocorre a alteração da síntese e liberação da histamina (RANG *et al*, 2007).

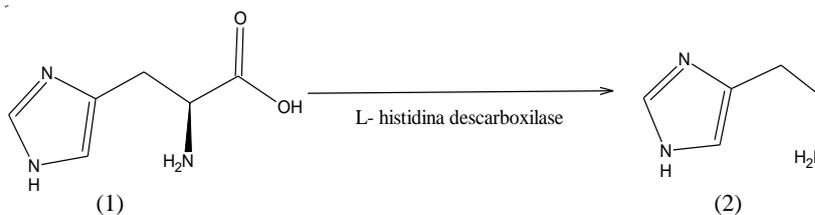


Figura 1 - Conversão da histidina (1) em histamina (2) pela L-histidina descarboxilase.

A serotonina é um mediador pré-formado e encontrado nas plaquetas e em células enterocromafins. A liberação da serotonina das plaquetas é estimulada quando ocorre agregação plaquetária após contato com colágeno, trombina, ADP, PAF (fator de agregação plaquetária). A liberação da serotonina promove aumento da permeabilidade vascular, vasodilatação e contração da musculatura lisa.

O sistema complemento atuam tanto na imunidade inata quanto na imunidade adquirida contra agentes microbianos; o sistema complemento promove aumento da permeabilidade vascular, quimiotaxia, adesão e ativação de leucócitos e opsonização.

O sistema de cininas gera peptídeos vasoativos a partir de proteínas plasmáticas chamadas de cininogênios, através da ação de proteases (calicreínas). A ativação desse sistema resulta na liberação da bradicinina promovendo um aumento da permeabilidade vascular, contração do músculo liso e vasodilatação.

O sistema de coagulação pode ser dividido em duas vias que convergem na formação de trombina e fibrina. A trombina é a principal ligação entre o sistema de coagulação e a inflamação. A trombina estimula adesão plaquetária, quimiotaxia, produção de prostaglandinas, produção de PAF e alterações no formato do endotélio.

O ácido araquidônico (AA) é um ácido graxo insaturado que se encontra na forma esterificada nos fosfolípidios de membranas. Vários fatores podem influenciar a liberação do AA da forma esterificada, como lesões celulares, anticorpos, entre outros (SCHAIBLE & SCHIMID, 1988). A cascata do ácido araquidônico (CAA) (figura 2) é responsável pela bioformação de eicosanóides, como as prostaglandinas (PG), que são metabólitos endógenos que mediam diversos processos fisiopatológicos importantes como a resposta inflamatória. A inibição seletiva de enzimas da cascata do ácido araquidônico representa um sítio de intervenção terapêutica para o tratamento de doenças inflamatórias crônicas, como por exemplo,

o uso de anti-inflamatórios não esteroidais (AINEs) e do ácido acetil-salicílico (AAS) que atuam inibindo a ciclo-oxigenase (COX) ou prostaglandina endoperóxido-H sintase (PGHS), complexo enzimático envolvido na bioformação das prostaglandinas. A biossíntese da prostaglandina E₂ (PGE₂) que é responsável por contrações musculares gastrointestinais, vasodilatação, estímulo de secreções intestinais, secreção do ácido gástrico, entre outros, ocorre principalmente nos macrófagos. A prostaglandina D₂, produzida nos mastócitos, tem como principais ações a modificação da liberação de hormônios hipotalâmicos, vasodilatação e relaxamento de músculos gastrointestinais (SILVA, 2010).

Outra enzima oxidativa da cascata do ácido araquidônico envolvida na regulação de respostas fisiológicas é a 5-lipoxigenase (5-LO), que atua no ácido araquidônico levando à bioformação dos leucotrienos (LT's) (Figura 2). Os leucotrienos são subdivididos em LTC₄, LTD₄, LTE₄ e LTB₄, e apresentam, como principais funções, o aumento de formação de muco e da permeabilidade vascular, entre outras. A tromboxana-sintase (TXS), enzima citocromo P₄₅₀ dependente que biotransforma a PGH₂ em tromboxana A₂ (TXA₂), que pode causar vasoconstrição, agregação plaquetária e bronco constrição e também representa um sítio de intervenção inibitória com aplicações terapêuticas úteis para o tratamento e prevenção do acidente trombo - isquêmico. No endotélio vascular são sintetizadas as prostaciclina (PGI₂), que tem como principais ações a vasodilatação, inibição de agregação plaquetária e liberação de renina (LIMA *et al*, 2002).

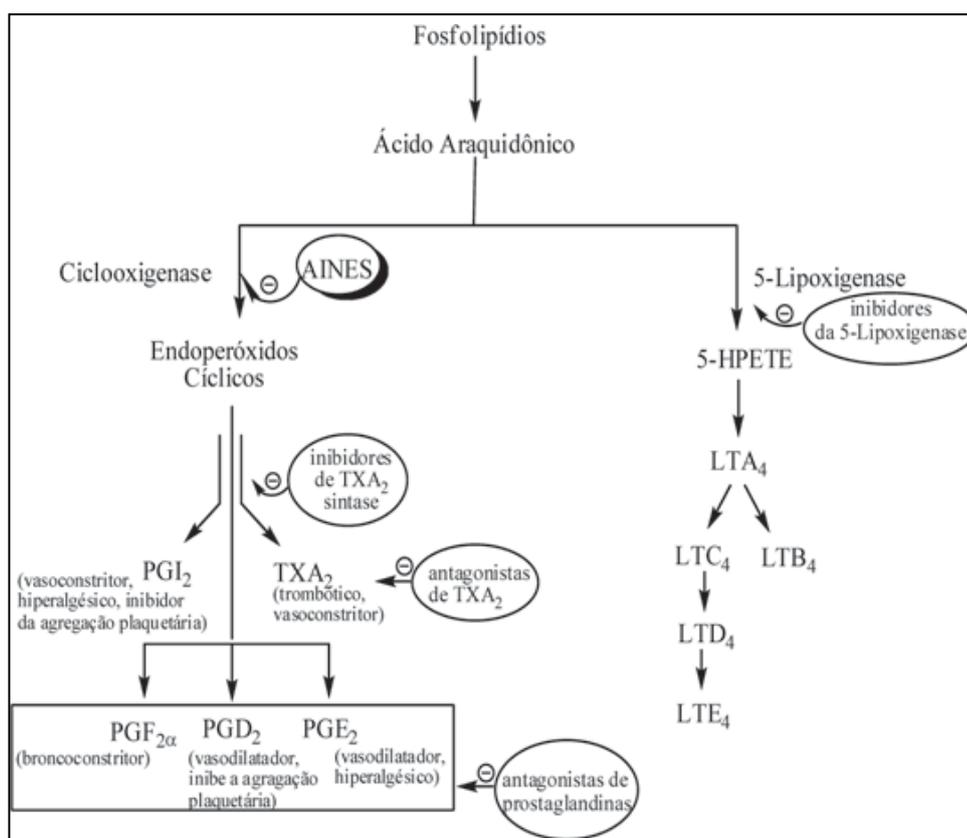


Figura 2 - Cascata do ácido araquidônico

Fonte: (www.actafisiatrica.org.br/detalhe_artigo.asp?id=92)
(consultado em 07/06/2013).

1.3 AÇÃO DA PROSTAGLANDINA ENDOPERÓXIDO SINTETASE (PGHS)

Até início da década de 70, Vane e colaboradores estudaram o mecanismo de ação dos anti-inflamatórios e verificaram que estes inibiam a enzima PGHS. Por esta razão os anti-inflamatórios aliviam a dor, reduzem a febre e são potentes anti-inflamatórios, além de apresentarem efeitos colaterais qualitativamente similares, promovendo irritação no trato gastrointestinal (VANE, 1971).

Entretanto, com os estudos de Vane não se pode explicar por que fármacos com propriedades anti-inflamatórias em doses semelhantes apresentavam ações terapêuticas nem sempre similares. No início da década de 90, uma segunda isoforma da PGHS foi descoberta e a denominaram de PGHS-2 ou COX-2 (XIE *et al.*, 1991; HLA & NEILSON, 1992; MASFERRER *et al.*, 1992, 1994). A isoforma 1 é constitutiva e expressa em diversos tecidos. A segunda isoforma também é constitutiva apresentado-se no cérebro, no endotélio (OLIVEIRA, 2007); entretanto a

COX-2 também se expressa sob circunstâncias específicas, apresentando um aumento de até 80 vezes após a indução, indicando seu envolvimento na bioformação dos eicosanóides responsáveis pela resposta inflamatória (MARCHESLLI & BAZAN, 1996). A tabela 1 ilustra as características diferenciais das isoformas PGHS.

Existe uma sequência genética diferente entre as duas isoformas. O sítio de ligação do agente inibidor da isoforma COX-2 é estruturalmente cerca de 25% maior que o da COX-1, apresentando também local de ligação secundário, além do sítio catalítico, isso proporciona que alguns fármacos atuem na isoforma COX-2 em concentrações que apresentem efeitos mínimos na COX-1.

No nível molecular a isoforma COX-2 apresenta o aminoácido Val523 que permite a ramificação da molécula; essa ramificação pode acomodar grupos análogos aos inibidores COX-2, que são estabilizados por ligação de hidrogênio com o aminoácido Arg513 (BAZAN, 2001). As principais diferenças entre as isoformas estão representadas na tabela 1.

Tabela 1 - Comparação morfofisiológica das isoformas da PGHS.

	COX - 1	COX - 2
Peso Molecular (kDa)	71	71
Número de aminoácidos	576	587
Tamanho do gene (Kb)	22	8,3
Localização	Membrana Plasmática	Membrana Plasmática, Membrana Nuclear, Membrana do Retículo Endoplasmático
Aminoácido no bolso catalítico	Ile 523/Ile 434/His 513	Val 523/Val 434/Arg 513
Aumento da expressão	> 2 a 4 vezes	> 10 a 80 vezes
Tecidos de expressão	Plaquetas, estomago, fígado, músculo liso.	Sistema nervoso central, endotélio, rim.

Fonte: (Oliveira,2007)

1.4 FÁRMACOS ANTI-INFLAMATÓRIOS NÃO ESTEROIDAIIS (AINES)

A ação terapêutica dos AINEs é devido à inibição da enzima prostaglandina endoperóxido sintase (PGHS). Entretanto, com a inibição da PGHS, não ocorre a biossíntese da PGE₂, responsável pela proteção da mucosa gástrica, o que explica o principal efeito colateral dos AINEs que são as lesões gástricas. Os AINEs que atuam na inibição da PGHS foram denominados de fármacos anti-inflamatórios da 1ª Classe, e alguns exemplares estão ilustrados na figura 3 (WALLACE & CIRINO, 1994).

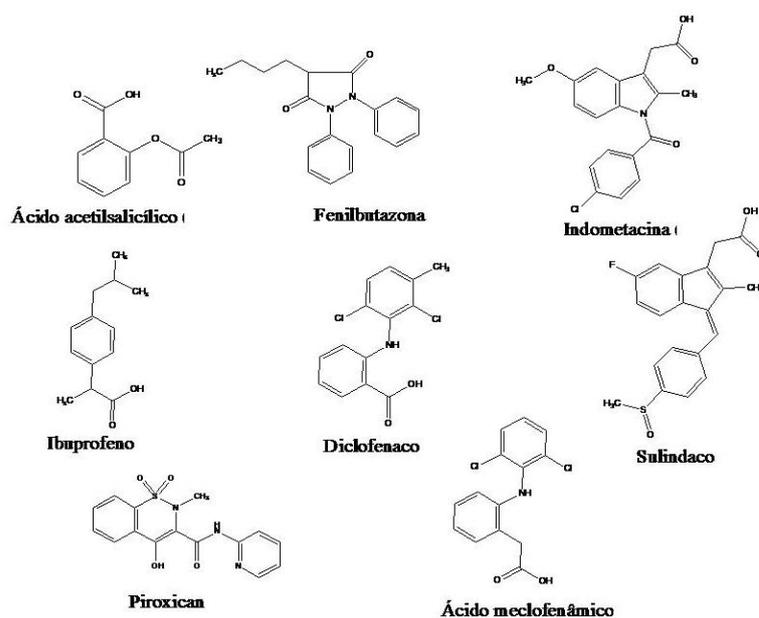


Figura 3 - AINEs não seletivos da PGHS.

Com a descoberta da forma induzida PGHS-2 nos locais onde se expressa a inflamação, surgiu um novo alvo para intervenção terapêutica, contribuindo para o lançamento de novos fármacos, que são os Coxibes, que inibem seletivamente a PGHS-2 (GANS *et al.* 1990). Esses fármacos, de fato vieram como uma inovação na terapêutica, pois diminuíram significativamente os efeitos colaterais, principalmente as lesões gástricas. Anos depois do lançamento mundial, os anti-inflamatórios Coxibes, estavam presentes na lista dos fármacos mais vendidos no mundo (figura 4).

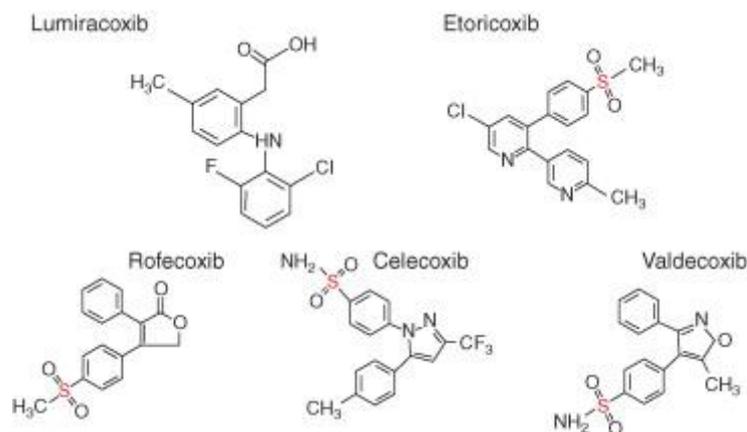


Figura 4 - Estruturas dos coxibes.
Fonte: WONG et al. 2005.

Estruturalmente, os AINEs de primeira geração possuem um grupamento ácido carboxílico que pode interagir com o grupo guanidina da Arg-120, presente em ambas as isoformas da PGHS. Entretanto, nos inibidores seletivos da PGHS-2, este grupo funcional foi substituído por grupamentos farmacofóricos como as sulfonas, os sulfóxidos e as sulfonamidas. Outra característica estrutural presente nos Coxibes é a presença de dois anéis aromáticos ou sistemas de anéis aromáticos, funcionalizados ou não, separados por um elemento espaçador, como um heteroátomo ou sistemas cíclicos heteroaromáticos ou não, contendo grupos funcionais (LAGES *et al.* 1998) (figura 5).

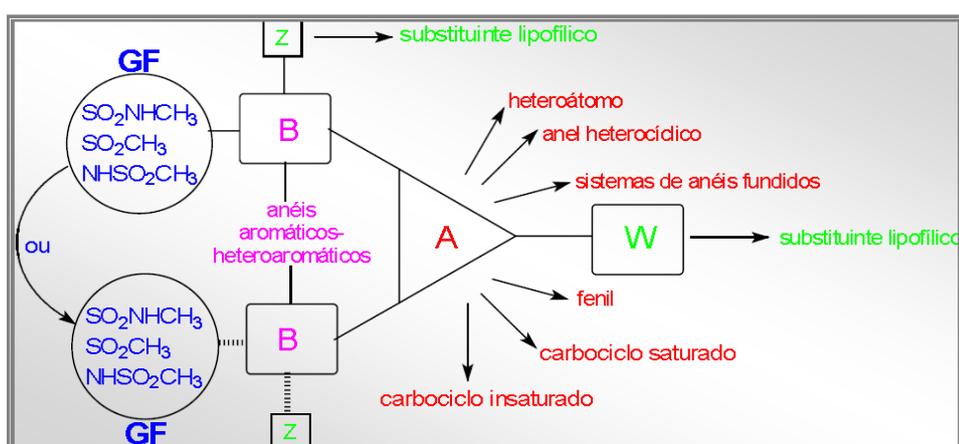


Figura 5 - Requisitos estruturais para inibidores seletivos de PGHS-2.
Fonte: VELOSO, 2000.

Na realidade os Coxibes realmente tornaram-se potentes fármacos na terapêutica, principalmente quando é abordada a relação risco-benefício. Estudos na literatura no período pós-Coxibes corroboraram para este episódio. Sing e colaboradores relataram que houve uma diminuição acentuada dos efeitos indesejados nos pacientes que utilizavam AINEs por longos períodos, totalizando uma queda de 55% de lesões gástricas (SING *et al.* 2004). Entretanto, a partir de 2004 foram retirados de circulação em âmbito mundial, os anti-inflamatórios Rofecoxibe, Valdecoxib e Etoricoxib, devido a vinculação de problemas de saúde como distúrbios cardiovasculares relacionados ao uso crônico desses medicamentos (ANVISA, 2008). Estudos posteriores indicaram que os fármacos seletivos da PGHS-2 são inibidores de prostaciclina, que quando liberadas pelo endotélio atuam como antitrombótico. A tromboxana A₂, enzima responsável pela agregação plaquetária nos vasos sanguíneos pode ser inibida pelos AINEs da 1ª classe, fato este que não é observado pelos inibidores seletivos (SHI E KLOTS, 2008).

2 JUSTIFICATIVA

O mercado mundial de fármacos tem apresentando um expressivo crescimento nos últimos anos. Em 2004 teve uma venda global de US\$ 620 bilhões em venda e a perspectiva para 2014 é de um valor que superará US\$ 1 trilhão como mostra o gráfico a seguir (figura 6).

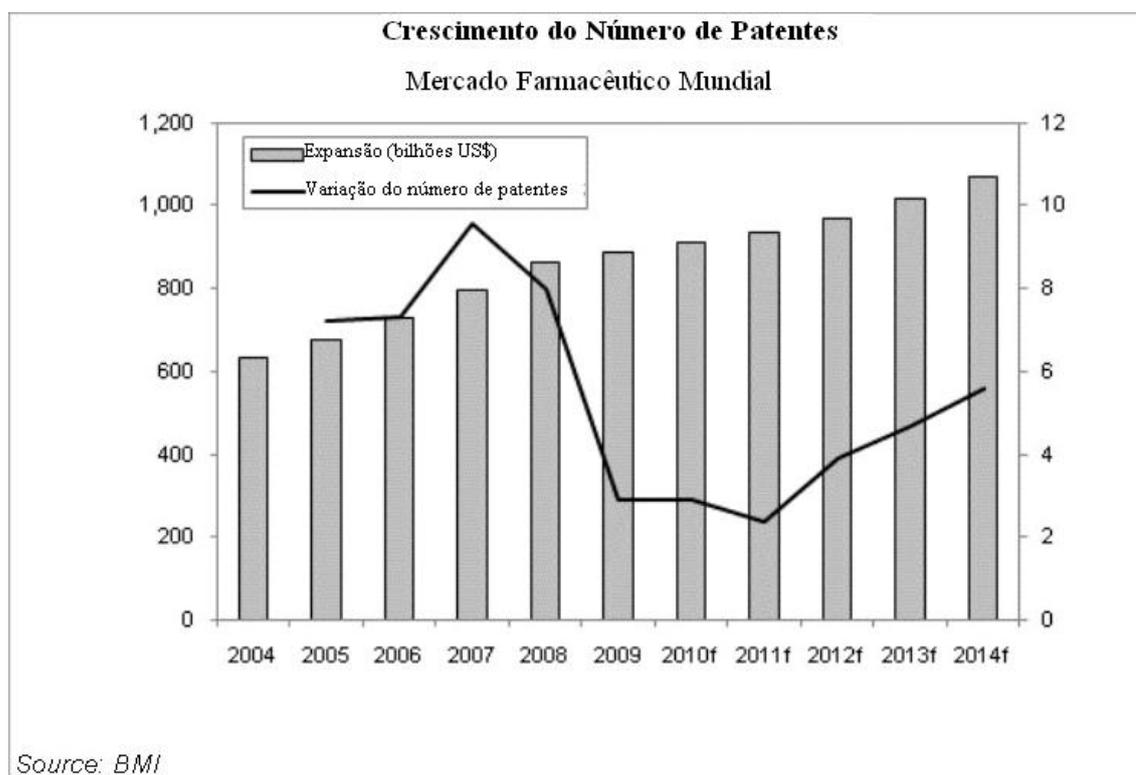


Figura 6 - Venda global de medicamentos.

Fonte: (<http://www.reports-research.com/168/d/2010/10/13/bmi-global-worldwide-pharmaceutical-sales-to-exceed-us1000bn-within-five-years/> (consultado em 24/07/2012)).

Observa-se também no gráfico da figura 6 que entre 2007 e 2011 diminuiu de maneira considerável o número de patentes.

O Brasil ocupou em 2010 a 7ª posição em vendas, alcançando o patamar de US\$ 31,00 bilhões (<http://saudeweb.com.br/24181/em-2015-brasil-deve-assumir-6-posicao-no-mercado-farmacutico>) (adaptado).

Os AINEs atingiram em 2009, valor total de vendas de aproximadamente US\$ 10 bilhões onde US\$ 3,7 bilhões correspondem ao total de vendas de Coxibes, a classe

de medicamentos mais prescrita em todo mundo (MENEZES, 2009). Estes valores representam 1,74% do mercado farmacêutico em 2009.

Diante dessa situação e com a retirada de alguns fármacos anti-inflamatórios do mercado que apresentaram efeitos colaterais cardiovasculares severos, torna-se evidente a necessidade de avanços nas pesquisas objetivando a descoberta de novas entidades químicas que apresentem elevada eficácia, aumento de biodisponibilidade e menores efeitos colaterais.

Neste contexto, famílias de derivados de éteres de oxima foram planejadas e sintetizadas com diversos padrões moleculares (figura 7) e alguns desses novos padrões moleculares apresentaram atividades anti-inflamatórias relevantes (CHEN, PRAVEEN RAO, KNAUS, 2006; EL-GAMAL *et al.*, 2010; RAMALHO *et al.*, 2009), assim como outras atividades farmacológicas relatadas na literatura (MAKADIA *et al.*, 2011; LIANG *et al.*, 2010, SUN *et al.*, 2010).

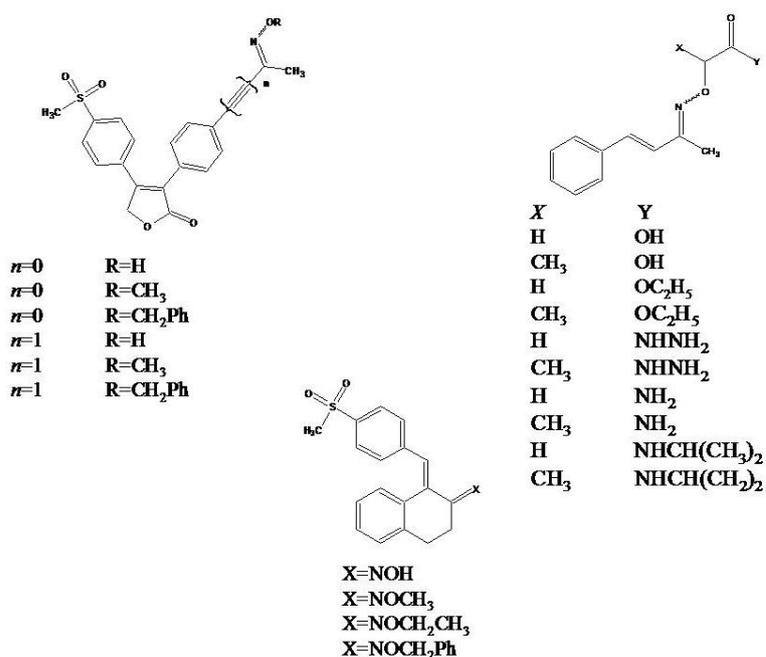


Figura 7 - Éteres de oxima planejados como candidatos a fármacos anti-inflamatórios.

Estudos recentes realizados em nosso grupo de pesquisa identificaram uma nova série de derivados de éteres de oxima, que apresentaram potencial atividade anti-inflamatória *in vivo* (DA SILVA, R.C. 2010). Os compostos sintetizados foram submetidos à avaliação farmacológica, inicialmente em ensaios de nocicepção induzida por formalina (SANTOS, CALIXTO, 1997) e edema de pata induzido por carragenina (HENRIQUEZ *et al.*; 1987) apresentando resultados satisfatórios

(figuras 09 e 10) visando comparar a potência com AINEs clássicos como a indometacina.

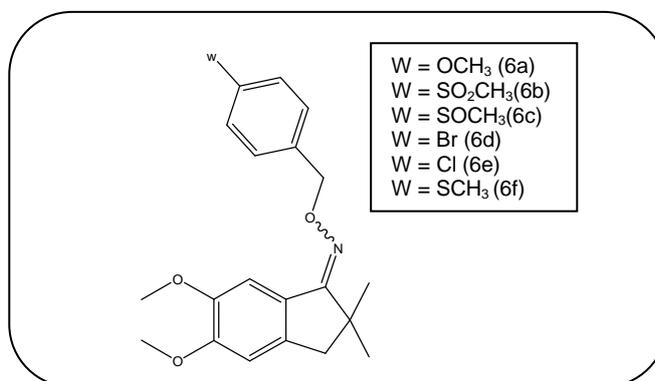


Figura 8 - Representação esquemática dos éteres de oxima

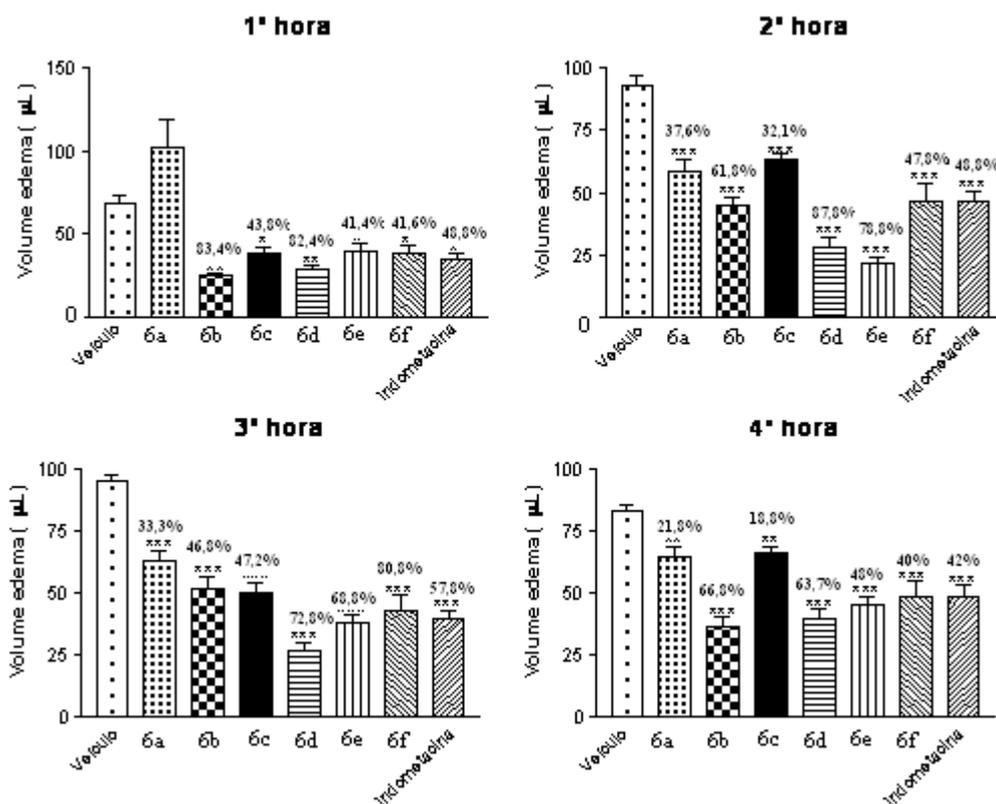


Figura 9 - Gráfico da atividade dos derivados éteres de oxima no ensaio de nociceção induzida por formalina.

Fonte: DA SILVA, R.C. 2010.

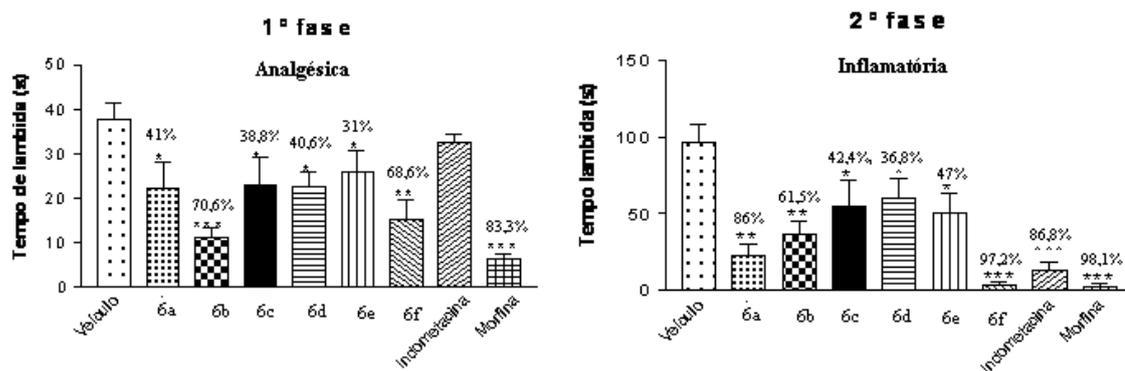


Figura 10 - Gráfico da atividade dos derivados éteres de oxima no ensaio de nociceção induzida por formalina.

Fonte: DA SILVA, R.C. 2010.

Esses resultados justificam a continuidade do estudo desta classe química (éter de oxima), visando a identificação de um novo protótipo de fármaco anti-inflamatório eficaz e seguro.

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

- a) síntese dos derivados de éteres de oxima obtidos a partir do eugenol, visando a obtenção de protótipos de fármacos anti-inflamatórios;
- b) continuação dos estudos farmacológicos dos éteres de oxima que apresentaram atividades anti-inflamatórias *in vivo*.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- a) realizar ensaios farmacológicos para a determinação da atividade analgésica e complementação da atividade anti-inflamatória utilizando os ensaios de contorções abdominais induzidas por ácido acético e edema de pata de rato respectivamente;
- b) realizar ensaio farmacológico para avaliação de atividade anti agregante plaquetária;
- c) realizar síntese e identificação estrutural de novos compostos de éteres de oxima monometilados.

4 PLANEJAMENTO ESTRUTURAL

Os compostos éteres de oximas (6a-e) foram estruturalmente planejados utilizando estratégias clássicas da Química Medicinal onde foram considerados (figura 11):

- padrão de dois anéis (ou sistema) aromáticos intercalados por um elemento espaçador, característicos de fármacos anti-inflamatórios inibidores seletivos de PGHS-2;
- presença de grupos (metilsulfóxido e metilsulfona) existentes em fármacos anti-inflamatórios;
- presença da função éter de oxima como elemento espaçador, que, no valdecoxibe é representado por uma estrutura cíclica;
- exclusão do centro assimétrico de carbono α ao carbono oxímico, tornando a estrutura mais simples estereoquimicamente.

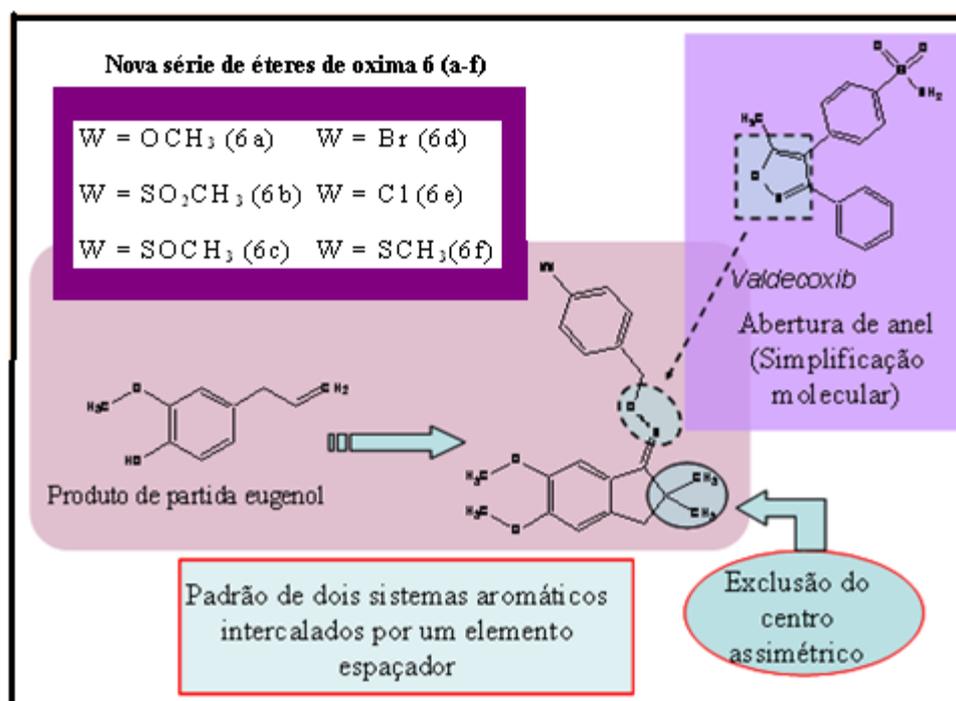


Figura 11 - Planejamento estrutural dos novos éteres de oximas funcionalizados (6a-f).
Fonte: DA SILVA, 2010 (adaptado).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 ETAPA SINTÉTICA

Rotas sintéticas propostas para a obtenção dos éteres de oximas:

Analisando a rota sintética a seguir (figura 12), observa-se que o produto de partida foi o eugenol, em seguida fez-se a metilação do mesmo (1). O próximo passo foi a isomerização (2) seguida de ciclização e formação do composto indanônico (3). O composto (3) em uma das rotas foi metilado (4) e posteriormente transformado em uma oxima (5) que, reagindo com haletos orgânicos produziu os éteres de oxima (6 a-f). Na outra rota sintética o composto (3) foi diretamente transformado em oxima (7) que, reagindo com haletos orgânicos produziu os éteres de oxima monometilados (8 a-e).

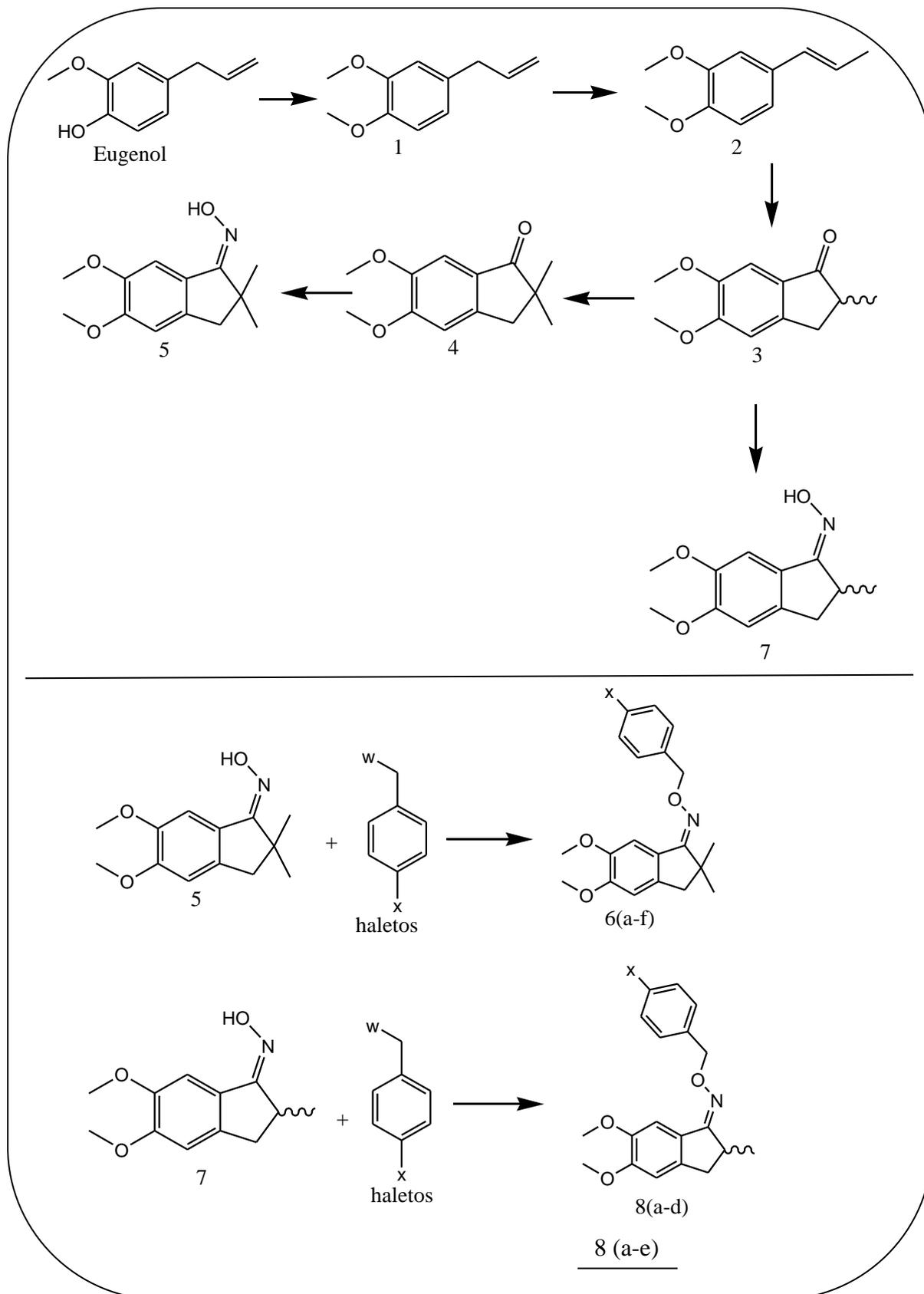


Figura 12 - Esquema das rotas sintéticas para a obtenção das séries de derivados de éteres de oxima planejadas.

O material de partida escolhido foi o eugenol, encontrado no óleo essencial do cravo (*Syzygium aromaticum*) (COSTA, 2000). Para a síntese foi utilizado eugenol purificado, frasco de 20mL, laboratório Maquira®.

5.1.1 Obtenção do intermediário (1) (4-alil-1,2-dimetoxibenzeno)

O eugenol foi inicialmente submetido a uma reação de O-metilação, utilizando o iodeto de metila em meio básico obtendo-se o intermediário 1 com um rendimento de 95% (figura 13).

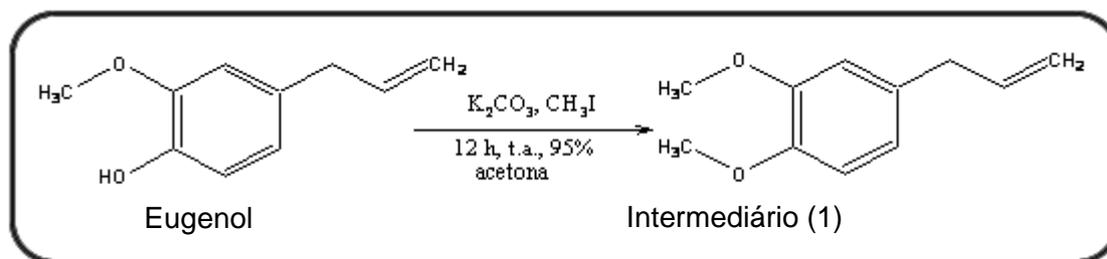


Figura 13 - Obtenção do intermediário (1) (4-alil-1,2-dimetoxibenzeno).

A reação para obtenção do intermediário 1 (4-alil-1,2-dimetoxibenzeno) consiste em uma substituição nucleofílica bimolecular (S_N2). Foi utilizado o solvente aprótico polar acetona e o substrato foi o iodeto de metila. A reação foi feita em meio básico (K₂CO₃) para favorecer o ataque nucleofílico.

A análise do espectro na região do infravermelho (figura 14) permitiu evidenciar a presença de bandas de éteres C-O-C (ν_{as} 1.251 cm⁻¹) e (ν_s 1.029 cm⁻¹), sendo estas as absorções mais importantes, além da ausência da banda de OH (fenólica), evidenciando que a reação foi bem sucedida.

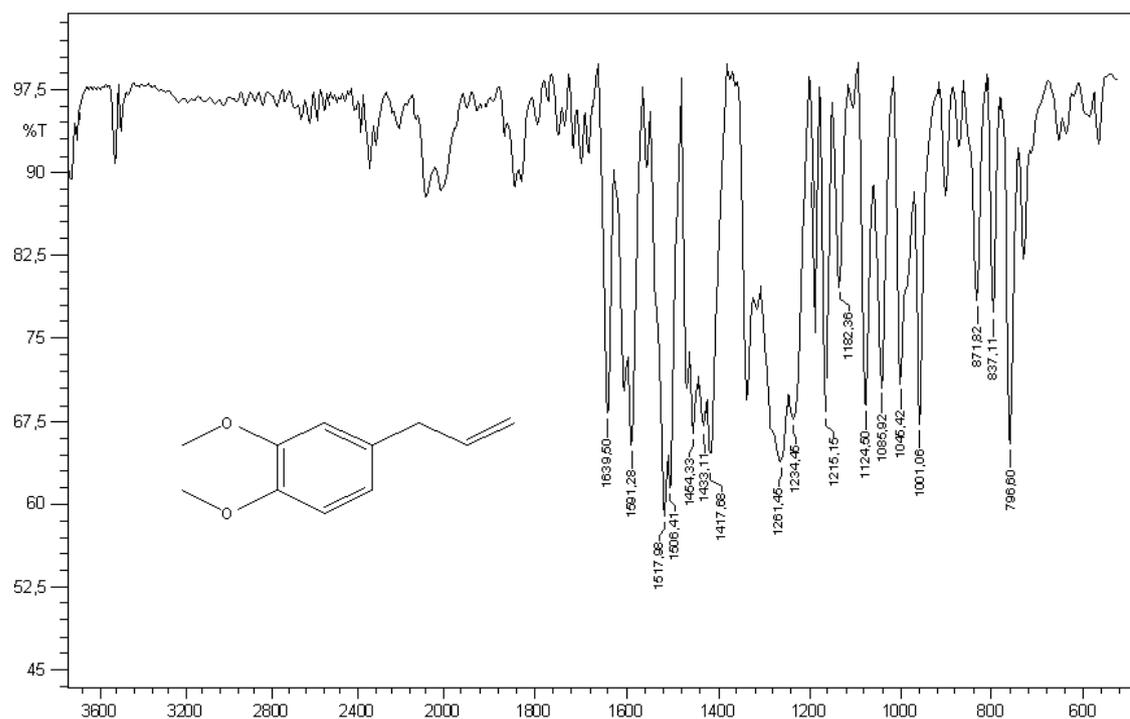


Figura 14 - Espectro na região do infravermelho (KBr) do intermediário (1).

A análise do espectro de RMN de ^1H (figura 15) permitiu observar um sinal em δ 3,33 ppm, referente ao grupo metilênico, dois sinais de grande intensidade em δ 3,88 ppm (s; 3H) e em 3,86 ppm (s; 3H), respectivamente atribuídos aos hidrogênios desblindados das metoxilas.

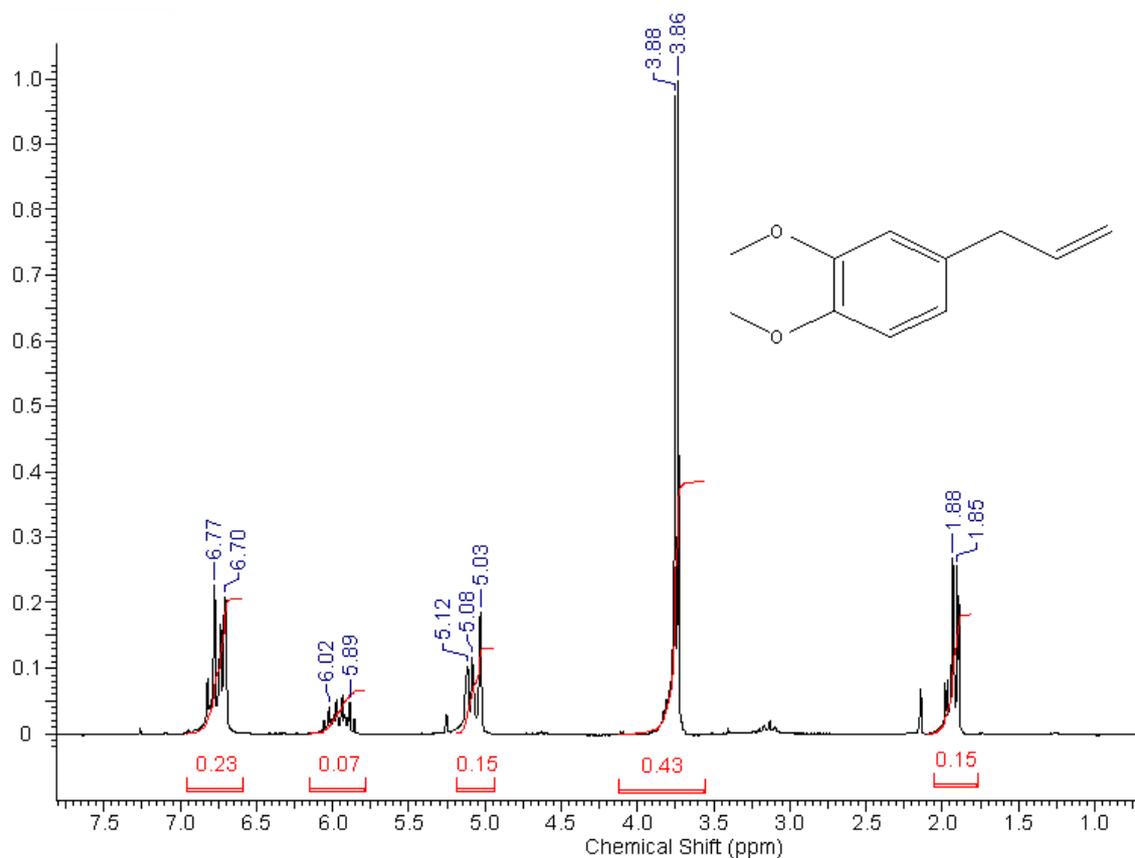


Figura 15 - Espectro de RMN de ^1H (CDCl_3 -400 MHz) do intermediário (1).

No espectro de RMN de ^{13}C (figura 16) foram observados dois sinais em δ 55,69 ppm e δ 55,84 ppm atribuídos respectivamente as duas metoxilas, confirmando a obtenção do intermediário (1).

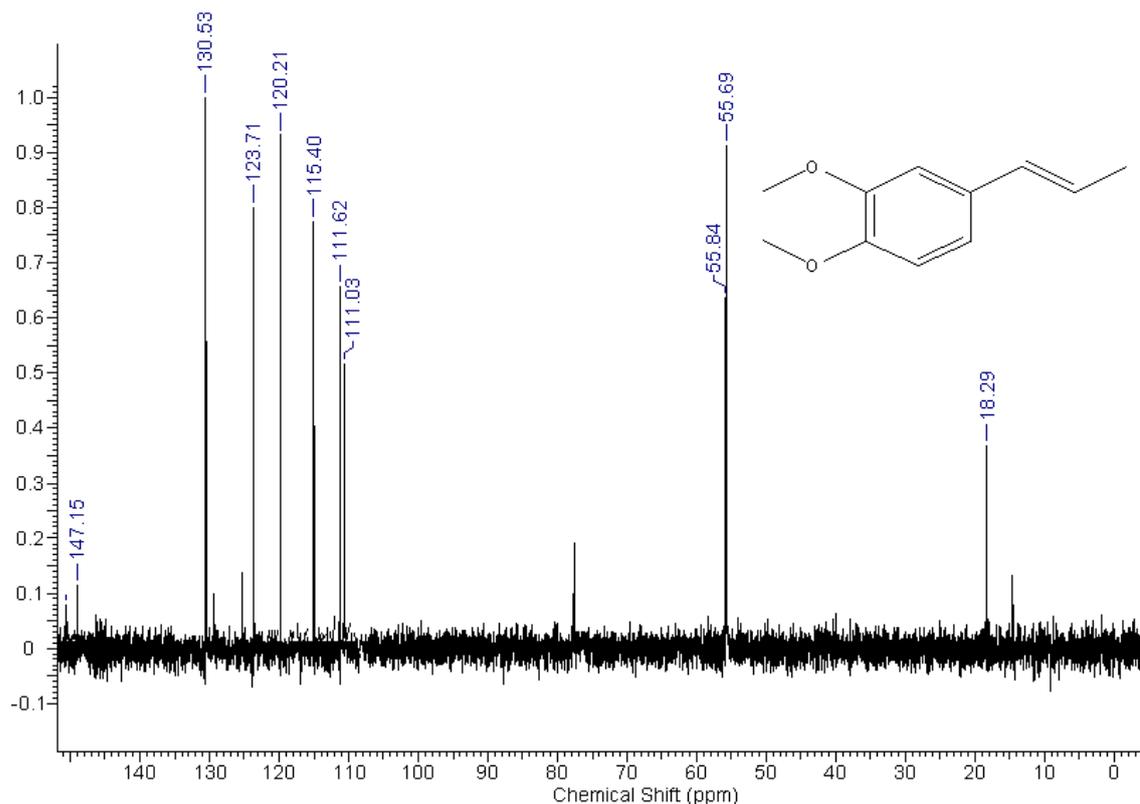


Figura 16 - Espectro de RMN de ^{13}C (CDCl_3 -100 MHz) do intermediário (1).

5.1.2 Reação de isomerização do 4-alil-1,2-dimetoxibenzeno (1)

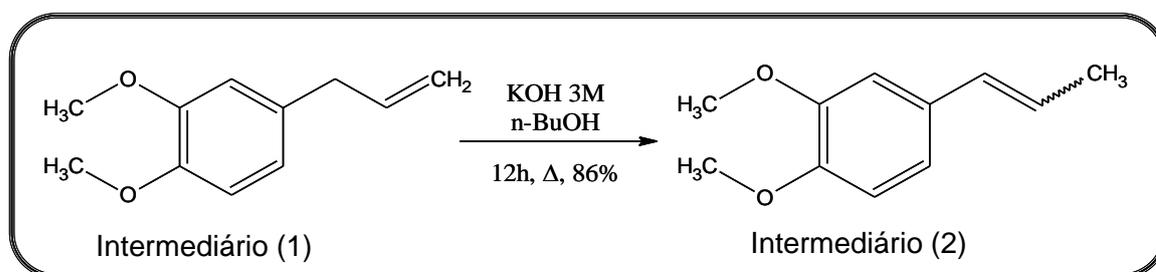


Figura 17 - Obtenção do intermediário estirênico (2) (1,2-dimetoxi-4-(prop-1-enil)benzeno).

Após a obtenção do intermediário (1) foi feita a isomerização deste composto com solução n-butanólica alcalina (KOH 3M), realizada em refluxo em uma temperatura de 135°C por 12 horas obtendo o intermediário (2) com 95% de rendimento (adaptado SANTOS, R. 2006).

Analisando o espectro de RMN de ^1H (CDCl_3 ; 400-MHz) (figura 18) foi possível de observar um sinal em δ 1,85 ppm (d; 1,33 Hz; 3H), referente a metila da cadeia lateral, dois sinais em δ 3,86 ppm (s, 3H) e δ 3,84 ppm (s, 3H) respectivamente, que foram atribuídos às metilas desblindadas (figura 18).

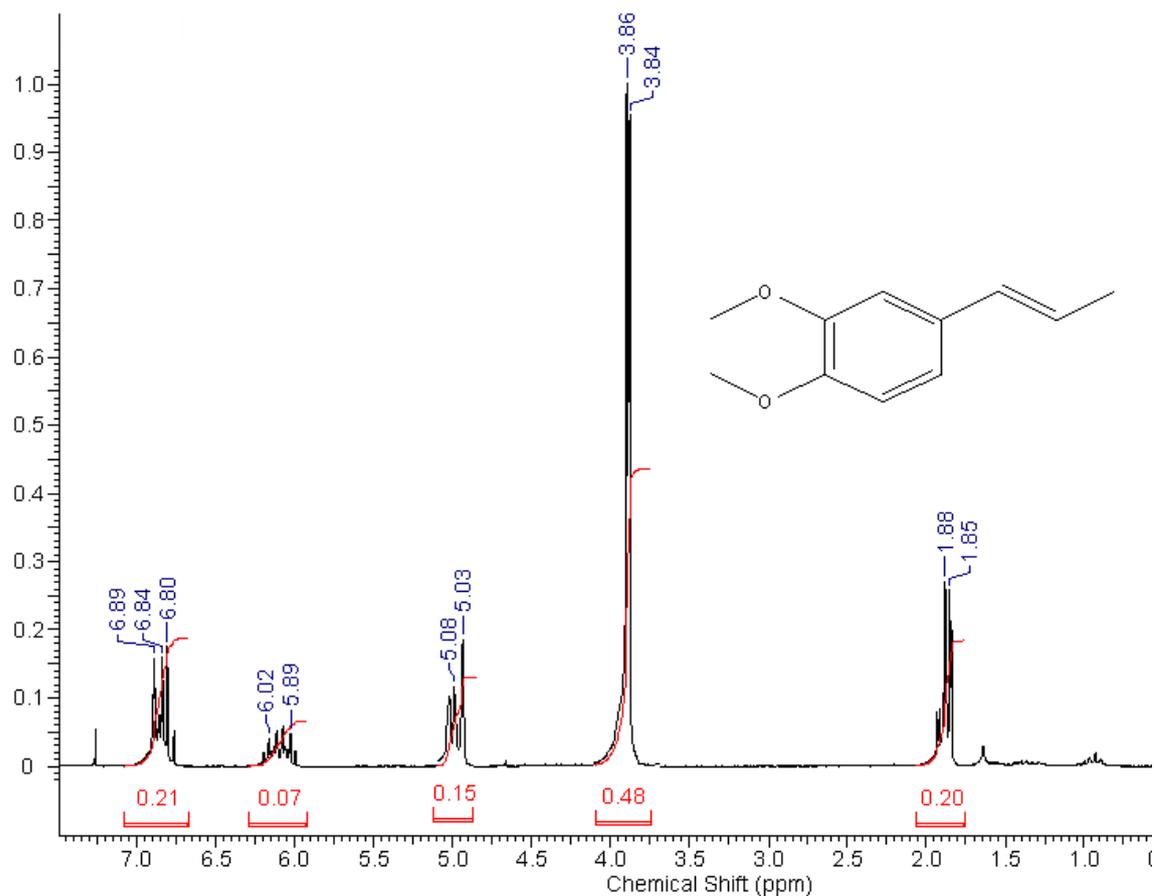


Figura 18 - Espectro de RMN de ^1H (CDCl_3 -400 MHz) do intermediário (2).

No espectro de RMN ^{13}C (CDCl_3 , 100-MHz) (figura 19) foi observado um sinal em δ 18,3 ppm que foi atribuído a metila da cadeia lateral presente no produto isomerizado (2).

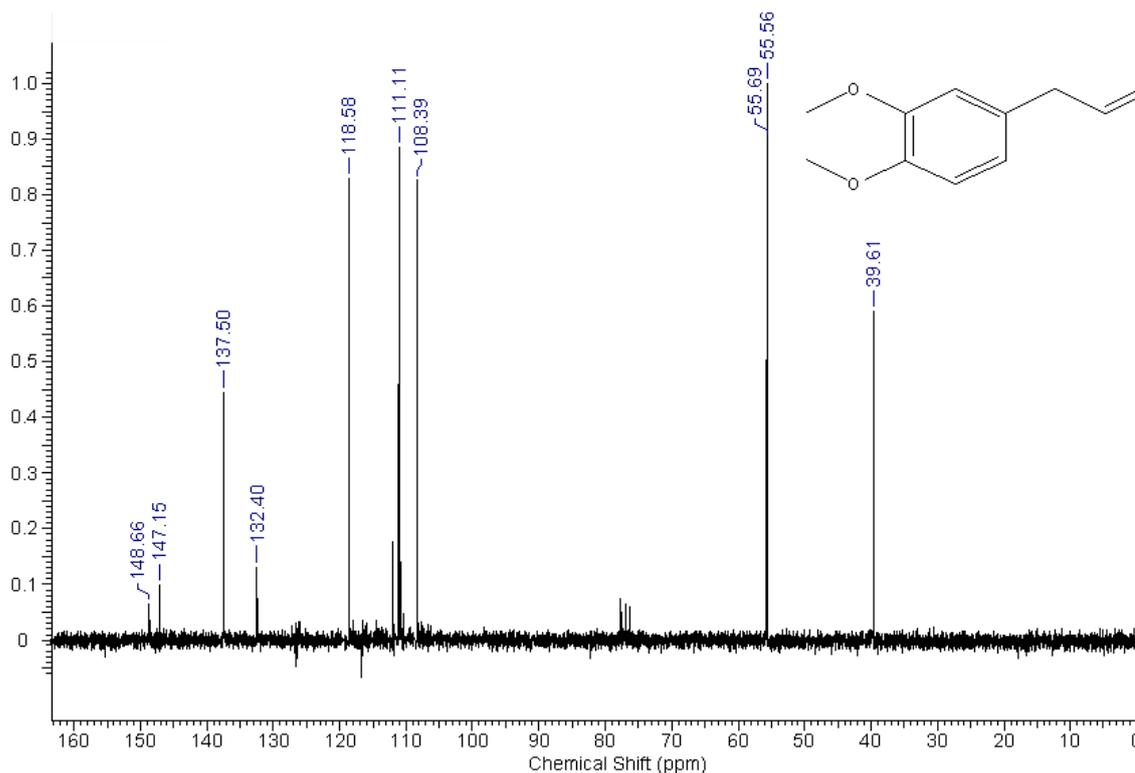


Figura 19 - Espectro de RMN de ^{13}C (CDCl_3 -100 MHz) do intermediário (2).

5.1.3 Obtenção do intermediário (3) (5,6-dimetoxi-2-metilindan-1-ona)

Para a obtenção do futuro éter de oxima foi feita a síntese de um derivado indanônico seguindo a reação de Vilsmeier-Haack utilizando DMF e POCl_3 ,

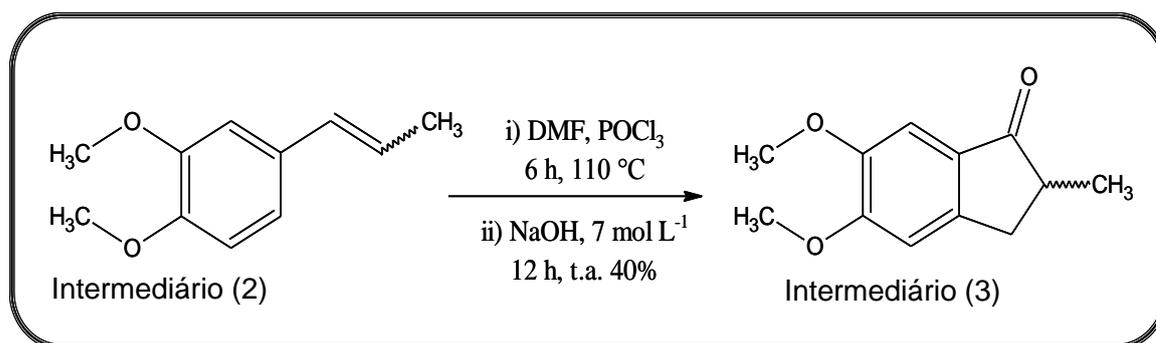


Figura 20 - Obtenção do derivado 2,3-diidro-5,6-dimetoxi-2-metilindan-1-ona(3).

Mecanismo de reação para a formação do composto eletrofílico da reação de Vilsmeier-Haack: O átomo de fósforo eletrofílico presente no POCl_3 sofre o ataque nucleofílico dos elétrons presentes no átomo de oxigênio presentes da dimetilformamida (DMF), formando o intermediário como representado na figura 21.

Em seguida o intermediário formado sofre o ataque nucleofílico dos elétrons pi presentes no anel aromático do intermediário (2) (figura 21).

Em seguida o meio reacional foi colocado em agitação por 12 horas em meio alcalino (WITTIK, et al, 1974; SANTOS, R; 2006), com a obtenção de um sólido amarelo com PF 138 -141 °C.

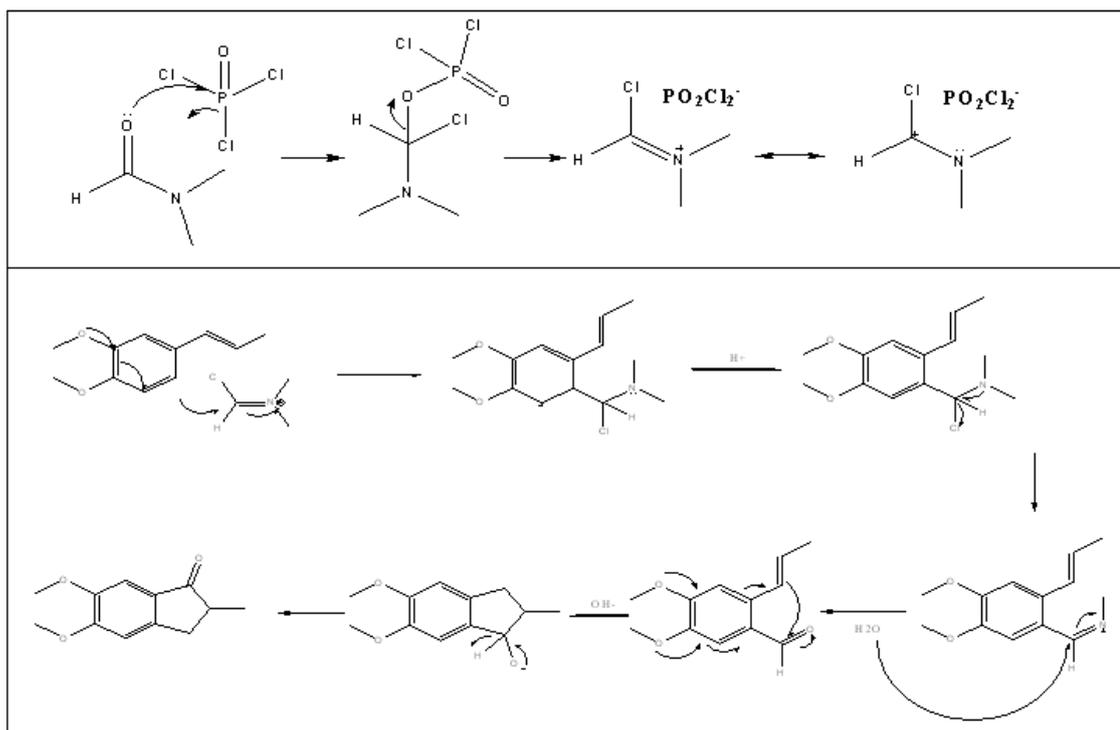


Figura 21 - Mecanismo de reação (Vilsmeier-Haack).

Fonte: ([http:// www. organic-chemistry.org/ namedreactions/vilsmeier-reaction.shtml](http://www.organic-chemistry.org/namedreactions/vilsmeier-reaction.shtml), consultado em 24 de junho 2012) (adaptado).

A análise do espectro na região do infravermelho (figura 22) evidenciou presença de um estiramento axial em 1687 cm^{-1} referente à carbonila indanônica, confirmando a efetividade da reação.

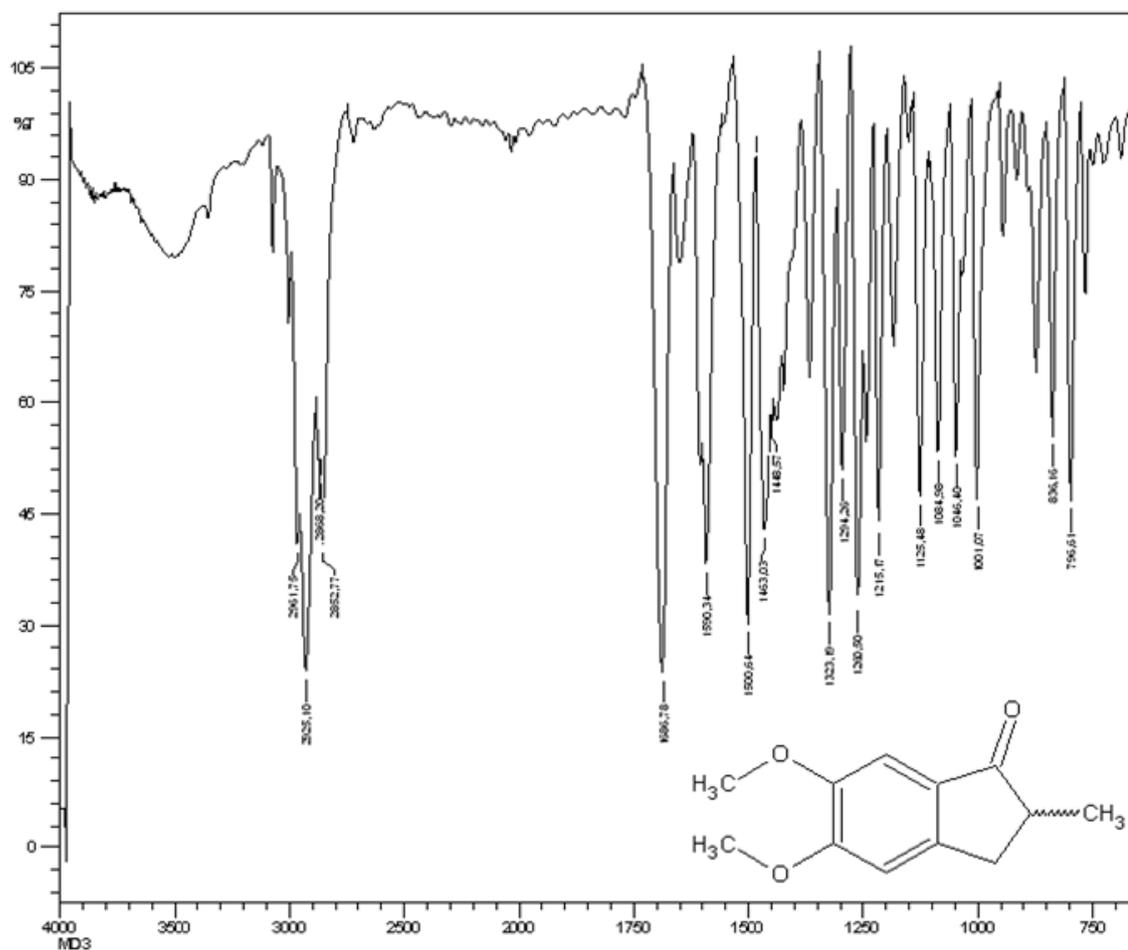


Figura 22 - Espectro na região do infravermelho (KBr) do intermediário (3).

A análise do espectro de RMN ^1H (figura 23) permite observar sinais δ 1,29 ppm δ 1,31 ppm (s, 3H) atribuídos aos hidrogênios presentes na metila indanônica, dois sinais referentes aos hidrogênios de metilas desblindadas em δ 3,91 ppm (s; 3H) e δ 3,97 ppm (s; 3H). Os sinais δ 6,87 ppm (s; 1H) e δ 7,18 ppm (s; 1H) caracterizam um sistema aromático tetra-substituído intermediário (3).

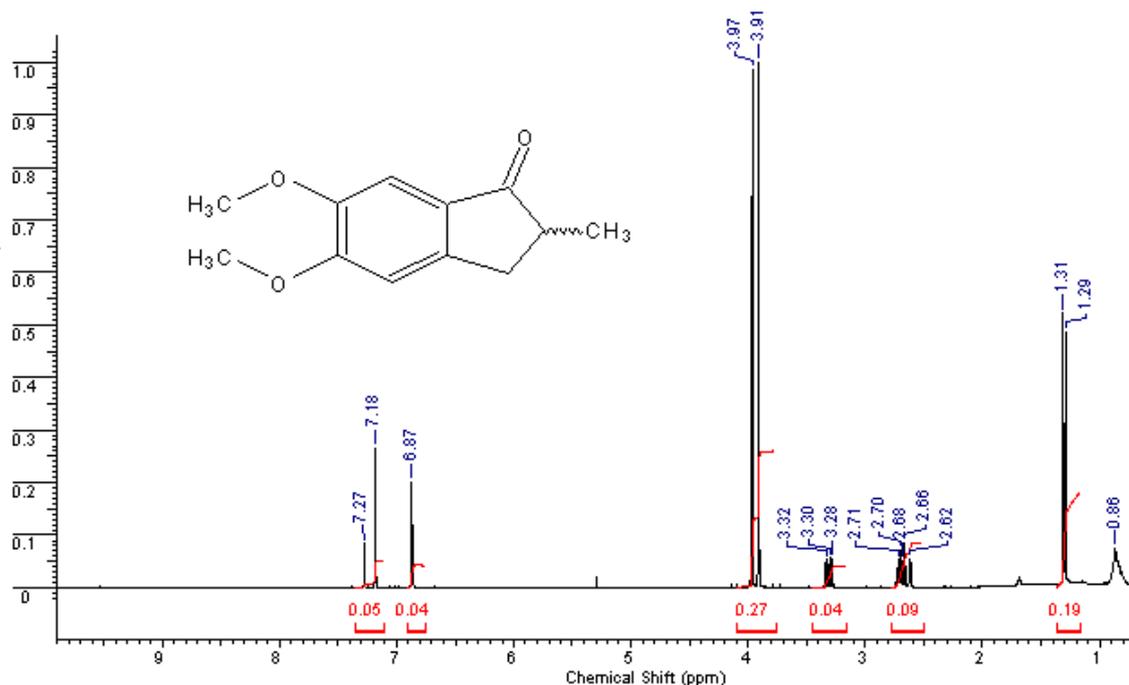


Figura 23 - Espectro de RMN de ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) do intermediário (3).

No espectro de RMN de (figura 24) observaram-se sinais em δ 41,0 ppm e δ 208,19 ppm, que foram atribuídos ao carbono α a carbonila e a carbonila respectivamente. Os deslocamentos de RMN ^1H e ^{13}C são coerentes e confirmam a formação do intermediário indanônico (3).

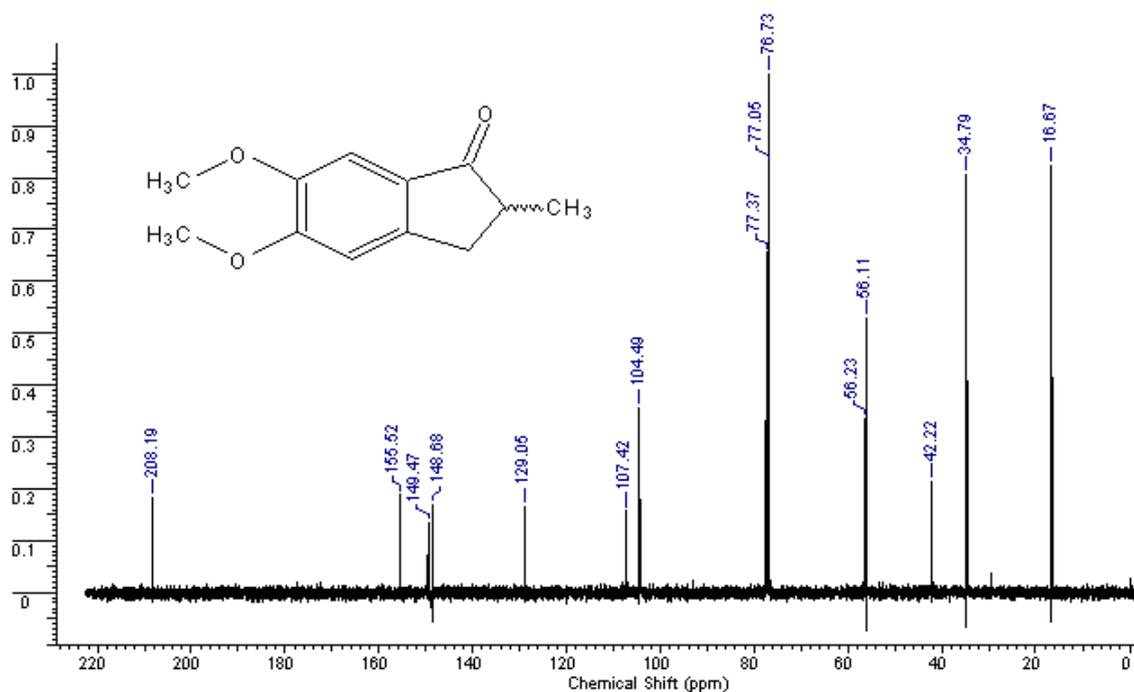


Figura 24 - Espectro de RMN de ^{13}C (CDCl_3 , 100 MHz) do intermediário (3).

5.1.4 Obtenção do 5,6-dimetoxi-2,2-dimetilindan-1-ona(4)

Depois de sintetizado o intermediário (3) foi realizada a C-alkilação. O hidrogênio α carbonílico foi substituído pelo grupamento metila com a eliminação do centro assimétrico (Figura 25).

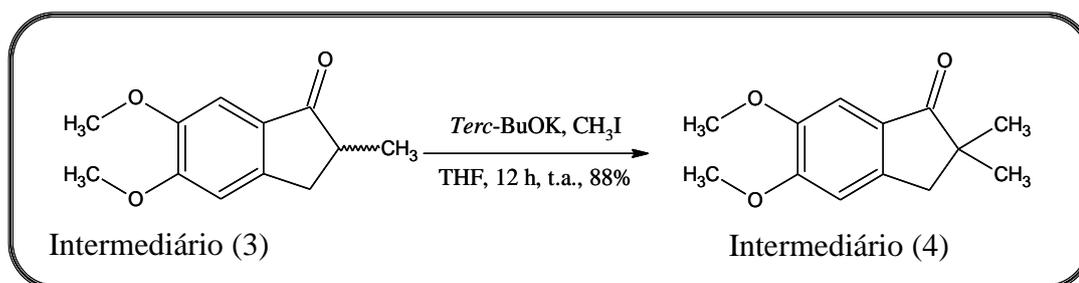


Figura 25 - Obtenção do intermediário (4) (5,6-dimetoxi-2,2-dimetilindan-1-ona).

O terbutóxido de potássio (*terc*-BuOK) apresenta características básicas favorecendo a desprotonação do carbono α com a formação do íon enolato, em seguida os elétrons π do íon enolato atacam o carbono eletrofílico do iodeto de metila promovendo uma substituição nucleofílica bimolecular (S_N2) finalizando a reação com formação do derivado indanônico com as metilas geminais. O mecanismo reacional está representado na figura a seguir:

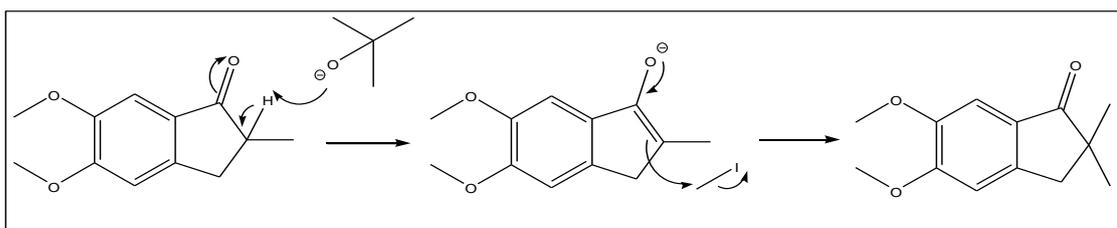


Figura 26 - Representação esquemática da C-alkilação.

A análise de RMN de 1H (figura 27) permitiu observar um sinal em δ 1,22 ppm (s, 6H) referente às metilas geminais e outro dois sinais em δ 3,91 (s, 3H) e δ 3,96 ppm (s; 3H) respectivamente, que foram atribuídos às metilas desblindadas dos substituintes metoxilas do anel aromático.

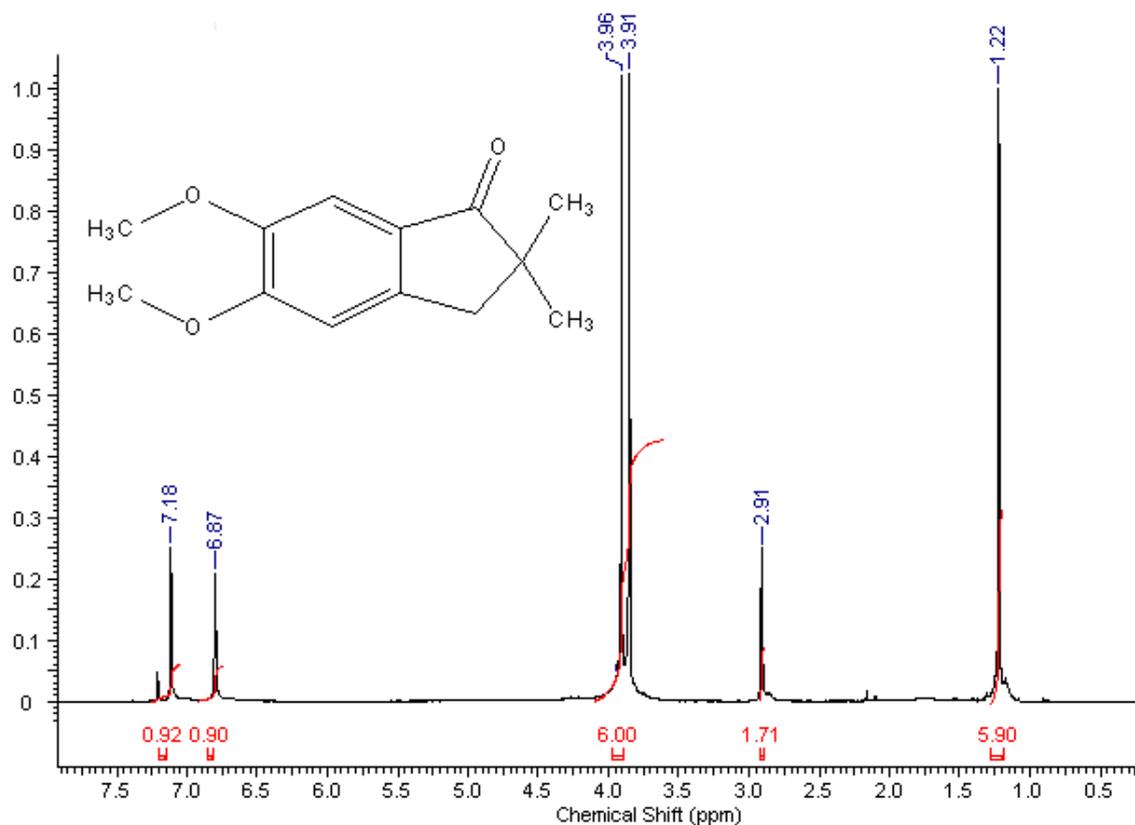


Figura 27 - Espectro de RMN de ¹H (CDCl₃, 400 MHz) do intermediário (4).

A análise do espectro de RMN de ¹³C (figura 28) do intermediário (4) foram observado sinal em δ 28,56 ppm que foi atribuídos às metilas geminais, além de um sinal em δ 211,07 ppm referente a carbonila indanônica. Estes valores de deslocamento químico são coerentes com a proposta estrutural, confirmando o intermediário indanônico bismetilado.

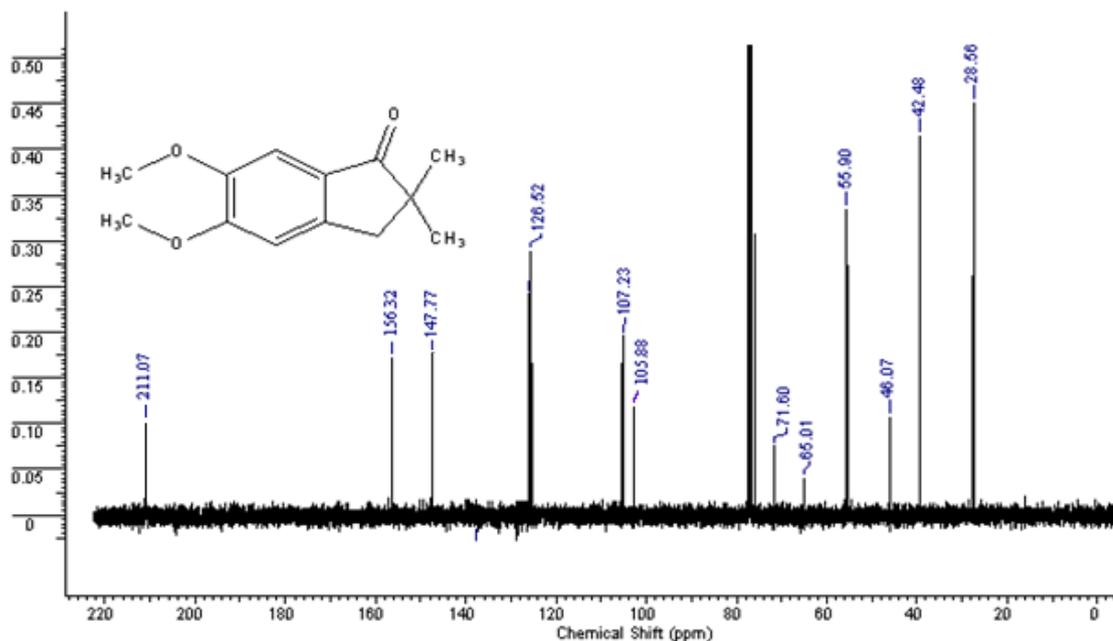


Figura 28 - Espectro de RMN de ^{13}C (CDCl_3 , 100 MHz) do intermediário (4).

5.1.5 Obtenção do intermediário oxímico (5) (1-hidroxi-5,6-dimetoxi-2,2-dimetilindan-1-imine)

O derivado obtido apresentou-se na forma de dois diastereisômeros (observados em cromatográfica em camada delgada (CCD) e depois confirmados nos posteriores métodos analíticos) na forma de um sólido marrom (PF 113-116 °C) em 99% de rendimento (figura 29) (GOPALSAMY, A; 2006 adaptado).

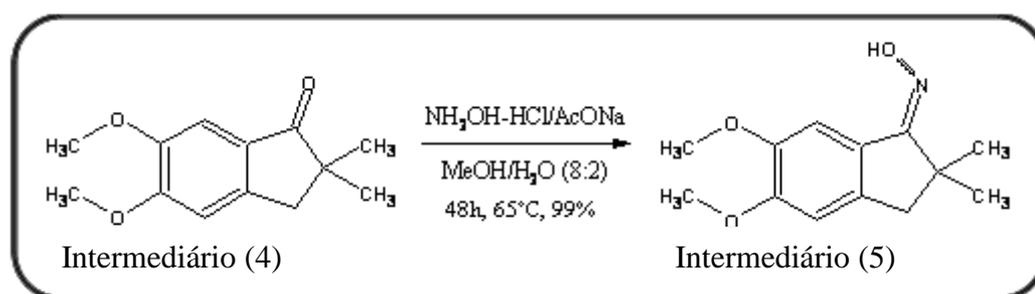


Figura 29 - Obtenção do intermediário (5).

Para a obtenção do intermediário (5), reagiu-se o intermediário (4) com cloridrato de hidroxilamina ($\text{NH}_2\text{OH.HCl}$) em solução hidrometanólica na presença de acetato de sódio um sal básico que tem a finalidade de favorecer o ataque nucleofílico da hidroxilamina ao carbono carbonílico para que ocorra a reação de adição nucleofílica

com a produção dos diasterisômeros (E/Z) oxímicos como representado no mecanismo de reação a seguir:

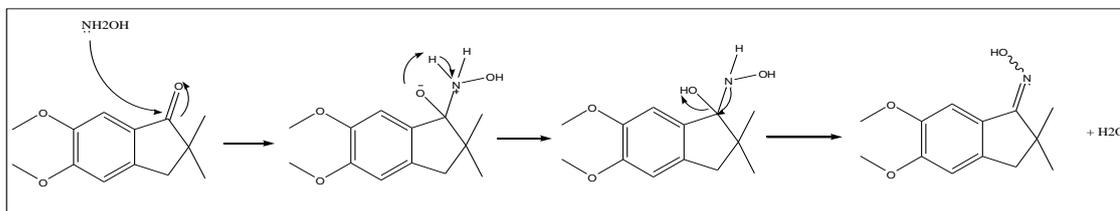


Figura 30 - Mecanismo de reação para obtenção da oxima.

O espectro na região do infravermelho (figura 31) não apresentou a carbonila indanônica (ν_{as} 1687 cm^{-1}) que estava presente nos compostos anteriores (03 e 04). Foi observada também presença de bandas de O-H (ν_{as} 3.467 cm^{-1}) e C=N (ν_{as} 1.601 cm^{-1}).

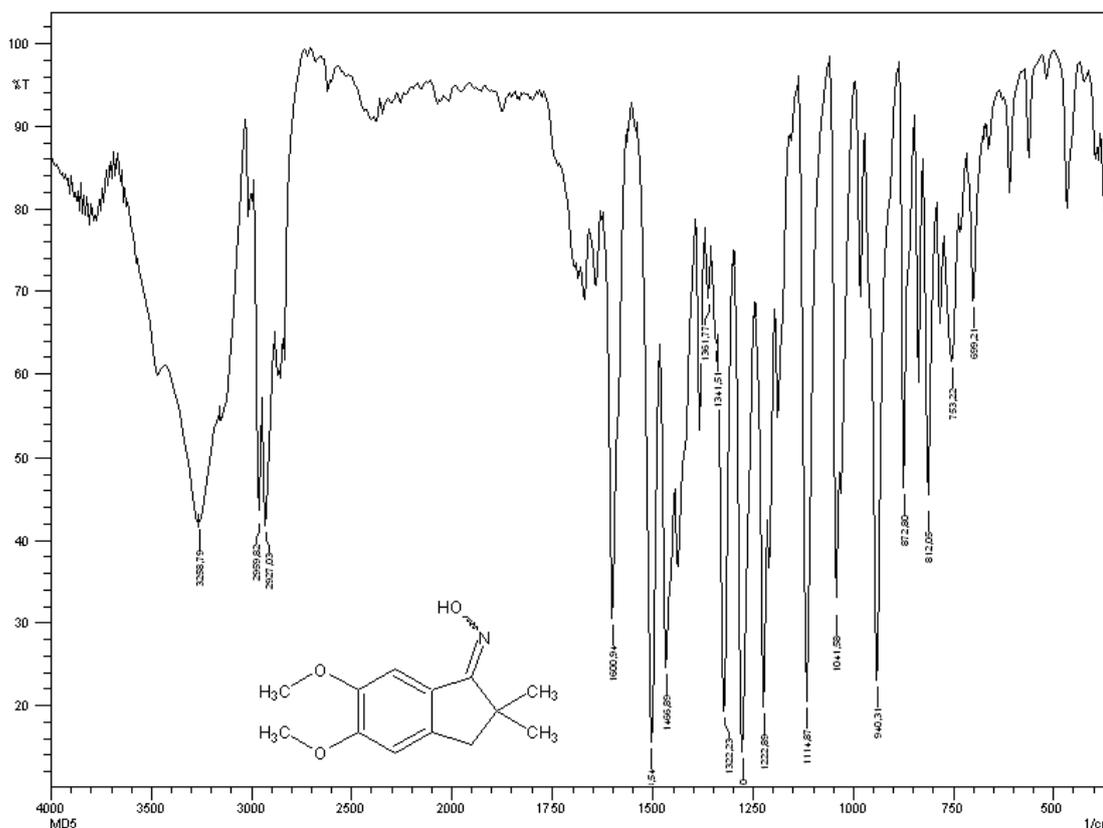


Figura 31 - Espectro na região do infravermelho (KBr) do intermediário (5).

A análise do espectro de RMN ^1H (figura 32) evidenciou um sinal em δ 1,35 ppm (s, 6H) referente as metilas geminais α a carbonila e outro dois sinais em δ 3,94 e 3,93

ppm (s, 6H) que foram atribuídos as metilas desblindadas dos substituintes metoxilas do anel aromático. Na região dos aromáticos foram observado dois sinais em δ 8,02(s,1H) e 7,28(s, 1H) ppm caracterizando, através da integração dos sinais presentes no RMN, a presença de dois diastereisômeros Z/E na proporção 10:8.

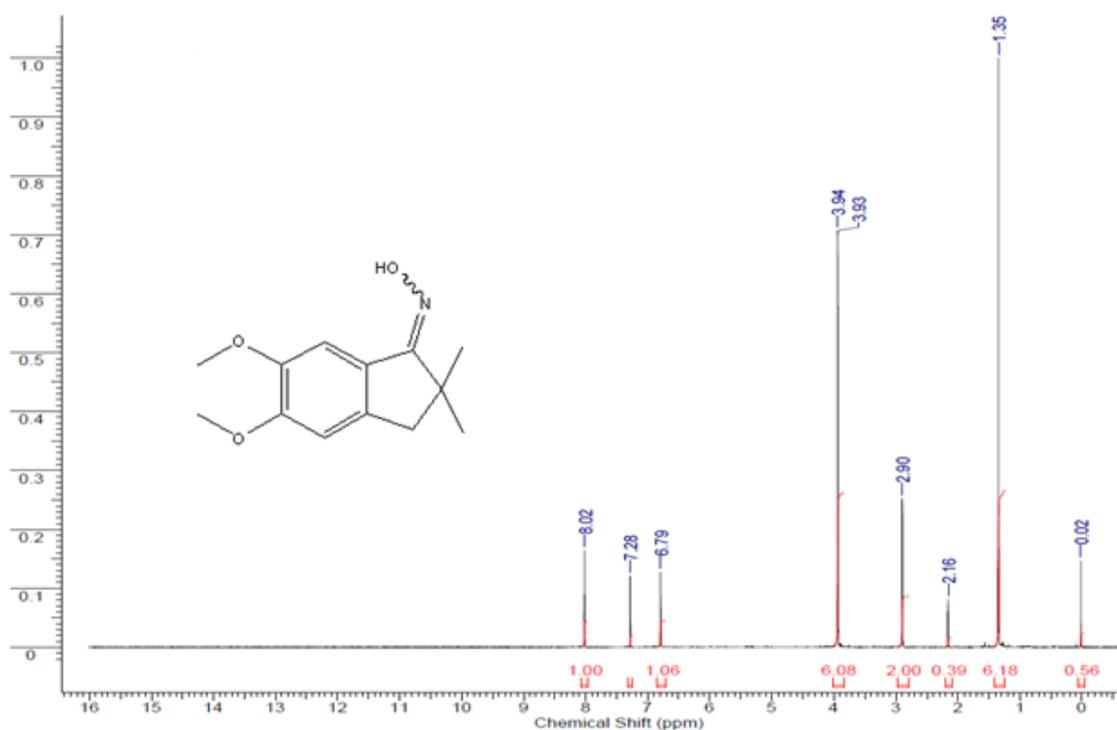


Figura 32 - Espectro de RMN ^1H (400MHz, CDCl_3) do intermediário oxímico (5).

O efeito anisotrópico encontrado em isômeros de oximas foi observado nos intermediários 5Z e 5E (figura 33). Esse efeito ocorre devido à interação do hidrogênio aromático com os pares de elétrons do oxigênio (KARABATSOS, G. J; HIS, N; 1967).

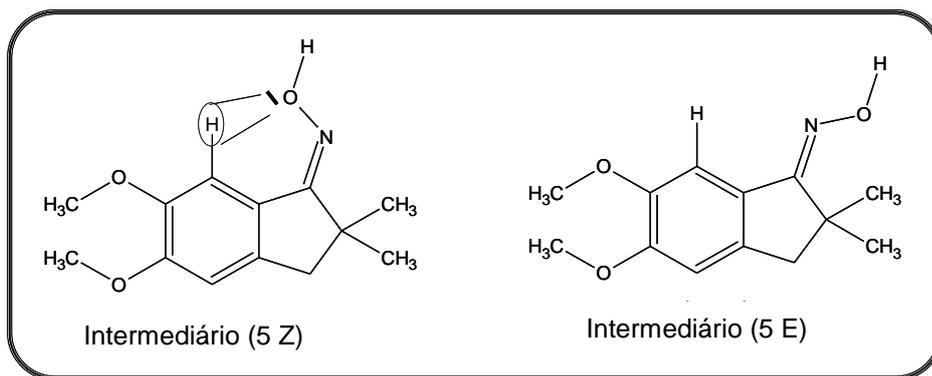


Figura 33 - Proposta do efeito anisotrópico dos pares de elétrons do oxigênio.

Observando o espectro de RMN ^{13}C (figura 34) nota-se a presença de um sinal em δ 28,56 ppm que foi atribuído às metilas geminais, além de sinais em δ 55,90 ppm e δ 55,80 ppm que foram atribuídos às metoxilas aromática. A ausência do sinal na região de carbonila e a presença de um sinal em δ 165,78 ppm que foi atribuído ao carbono imínico, confirma a estrutura da oxima (5).

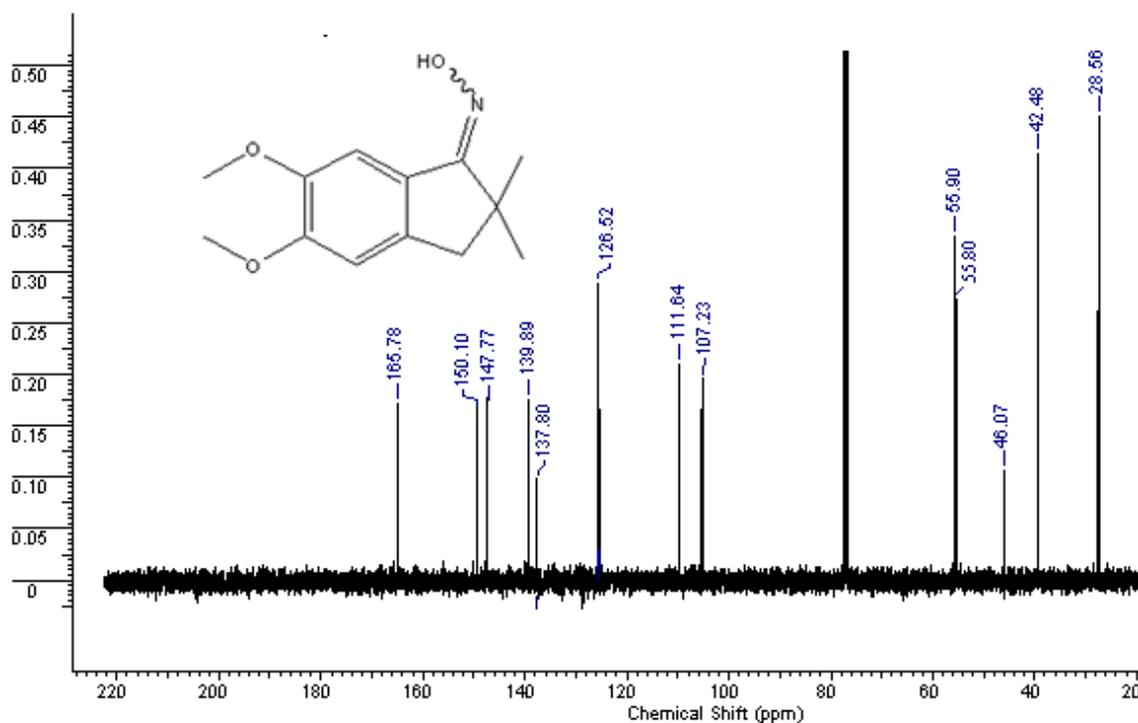


Figura 34 - Espectro de RMN de ^{13}C (CDCl_3 -100 MHz) do intermediário (5).

Após a síntese do intermediário (5) (1-hidroxi-5,6-dimetoxi-2,2-dimetilindan-1-imine), procedeu-se reações de acoplamento com haletos aromáticos e outros derivados benzílicos para a obtenção dos diferentes éteres de oxima.

Dois haletos aromáticos já haviam sido sintetizados previamente pelo nosso grupo de pesquisa. São os seguintes:

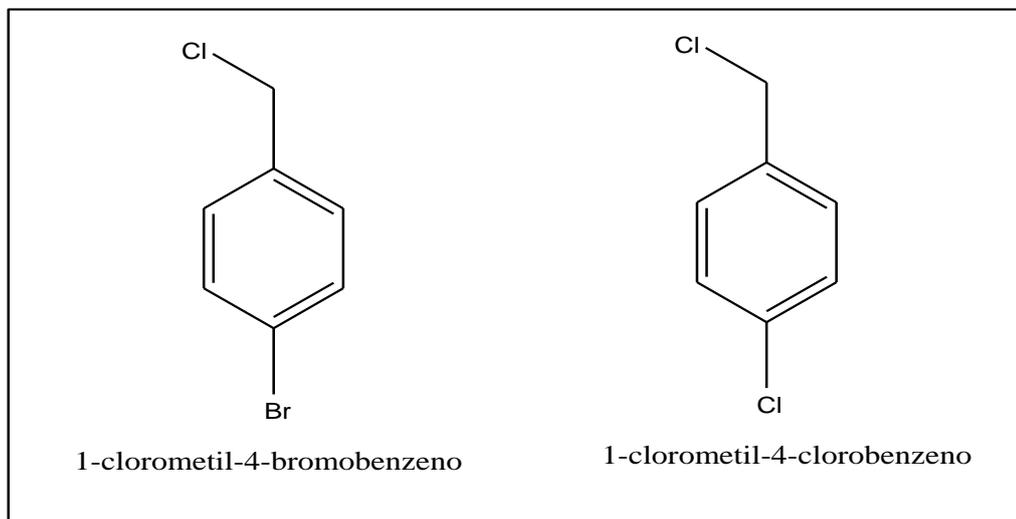


Figura 35 - Representação de haletos aromáticos.

5.1.6 Síntese dos cloretos de benzila

Os compostos aromáticos foram sintetizados com o intuito de, posteriormente, fazer a reação de acoplamento com o intermediário (5) para a obtenção dos éteres de oxima.

A síntese de haletos foi conduzida através da redução de aldeídos aromáticos que foram inicialmente convertidos em alcoóis e posteriormente foram transformados cloretos de benzila.

5.1.7 Obtenção de alcoóis a partir de aldeídos

Os agentes redutores geralmente utilizados são LiAlH_4 e NaBH_4 . Escolheu-se o NaBH_4 , um agente redutor brando, meio alcalino e a temperatura ambiente o que a facilita o isolamento (GABRIEL, A. J. A; et al; 2000, adaptado).

O álcool (7) foi obtido em 98% de rendimento, como um sólido branco (PF 40-43 °C). Este derivado foi obtido com 98% de rendimento através da redução do 4-tiometilbenzaldeído, na forma de um sólido branco PF (41-42°C).

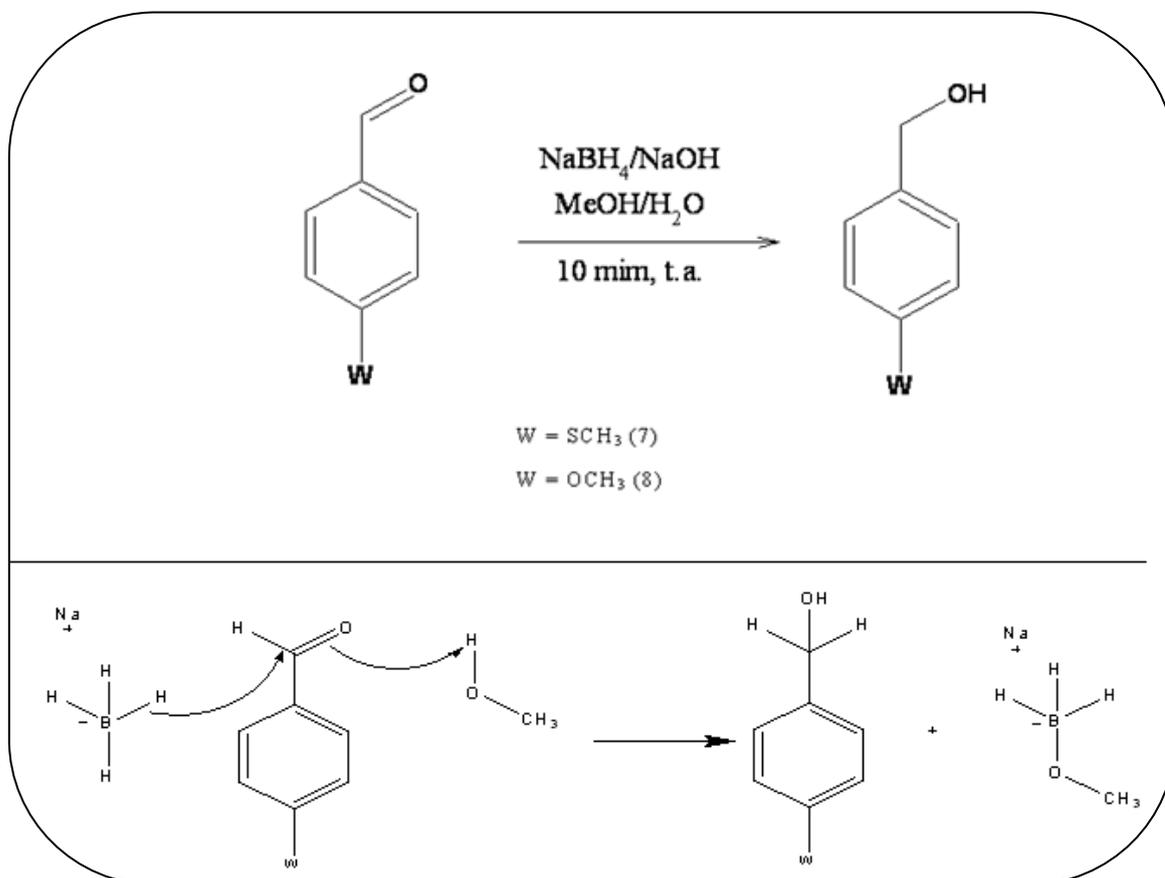


Figura 36 - Redução dos aldeídos (7) e (8) nos alcoóis correspondentes.

Observando o espectro na região do infravermelho (figura 36) pode-se detectar a banda de hidroxila referente ao comprimento ($\nu_{\text{as}} 3.331,07 \text{ cm}^{-1}$) sugerindo que a reação de redução de aldeído em álcool foi bem sucedida. Além da ausência da banda de C=O de aldeído do material de partida. Produzindo assim o intermediário (7) (1-(hidroximetil)-4-(metóxi)benzeno).

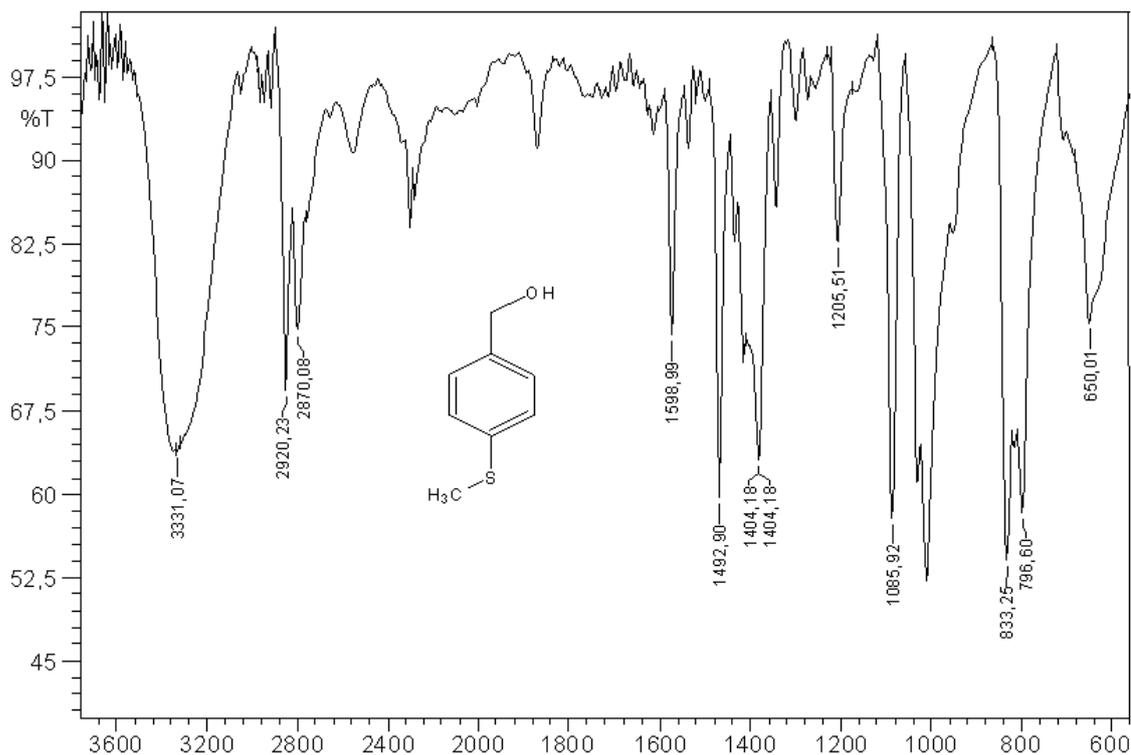


Figura 37 - Espectro na região do infravermelho (KBr) do intermediário (7).

Obtenção do 1-(hidroximetil)-4-(tiometil)benzeno (8) - derivado obtido com 98% de rendimento através da redução do 4-bromobenzaldeído, na forma de um sólido branco PF (69-70°C).

Observando o espectro na região do infravermelho (figura 38) detectou-se uma banda em ν_{as} 3.325,28 cm^{-1} referente à hidroxila sugerindo a efetividade da reação de redução do respectivo aldeído.

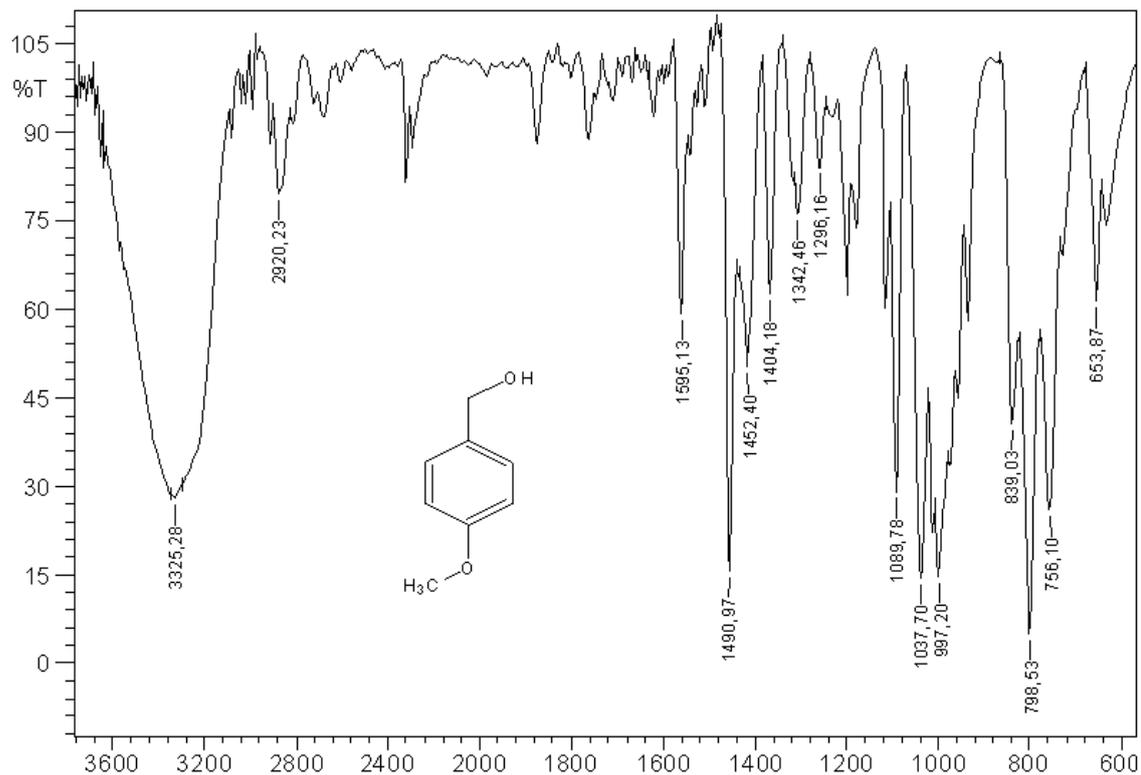


Figura 38 - Espectro na região do infravermelho (KBr) do intermediário (8).

5.1.8 Obtenção de haletos a partir dos alcoóis obtidos

Depois de obtidos os alcoóis foram transformados em cloretos reagindo com cloreto de tionila (SOCl_2),

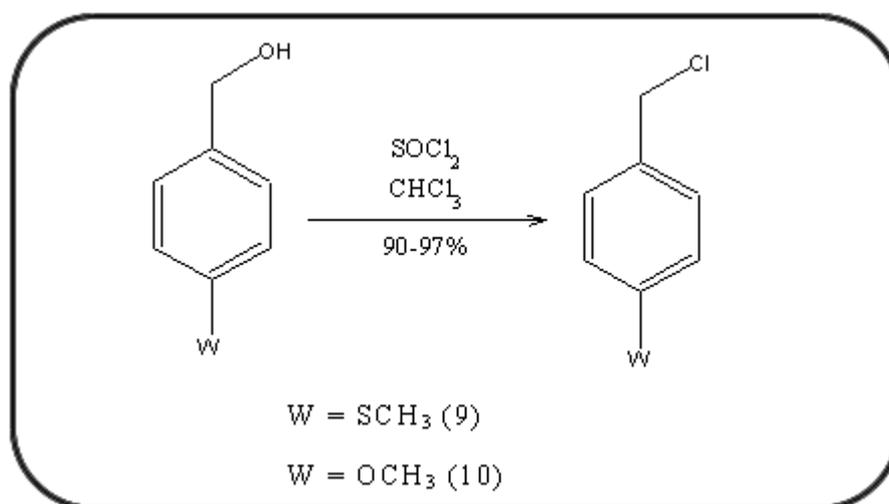


Figura 39 - Formação de cloretos a partir de álcool.

Observando os espectros na região do infravermelho (figura 40 e 41) a seguir observou-se a ausência da banda na região da hidroxila, confirmando a efetividade da reação para a obtenção dos cloretos.

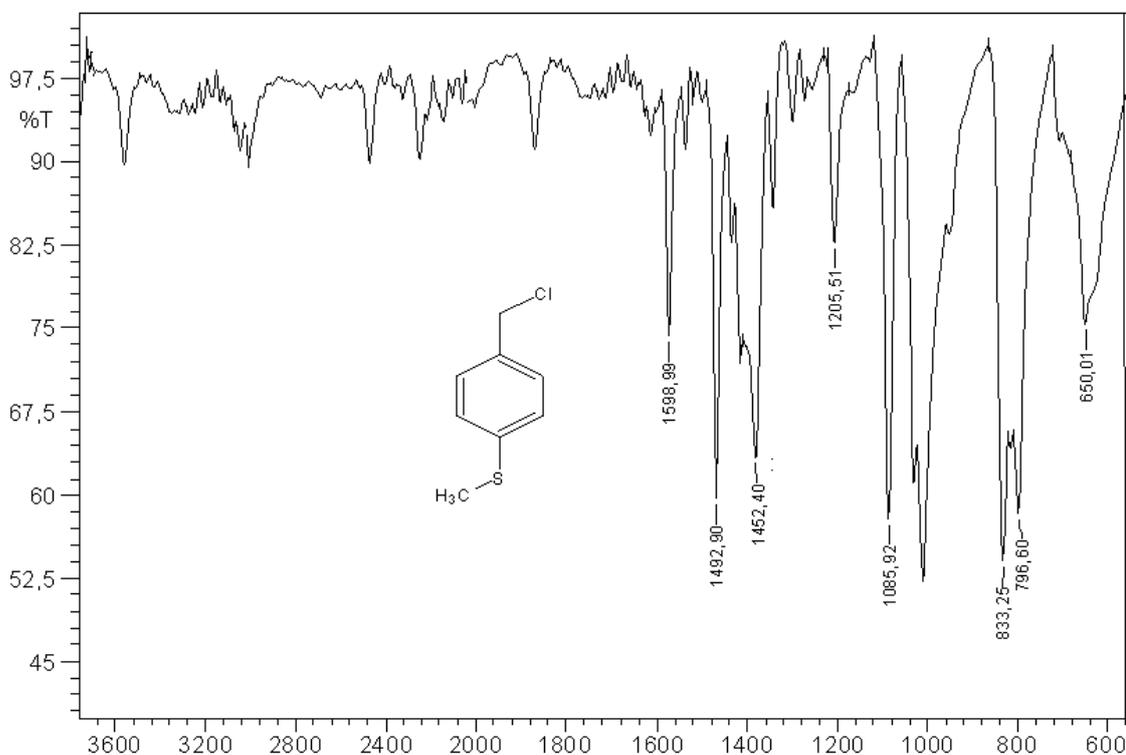


Figura 40 - Espectro na região do infravermelho (KBr) do intermediário (9).

1-(clorometil)-4-(tiometil)benzeno (9)

Este intermediário foi obtido em 90% de rendimento, na forma de um óleo viscoso marrom claro.

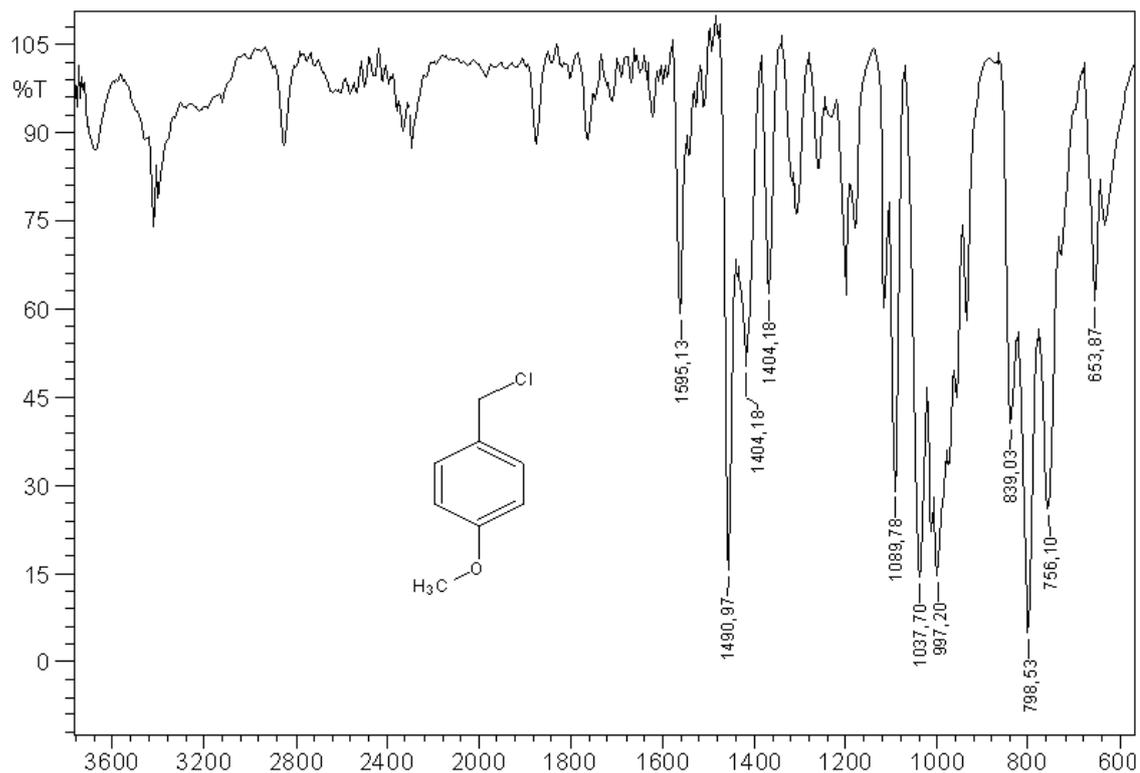


Figura 41 - Espectro na região do infravermelho (KBr) do intermediário (10).

1-(clorometil)-4-(metóxi)benzeno (10)

Este intermediário foi obtido em 93% de rendimento, na forma de um óleo viscoso amarelo claro.

5.1.9 Obtenção dos éteres de oxima

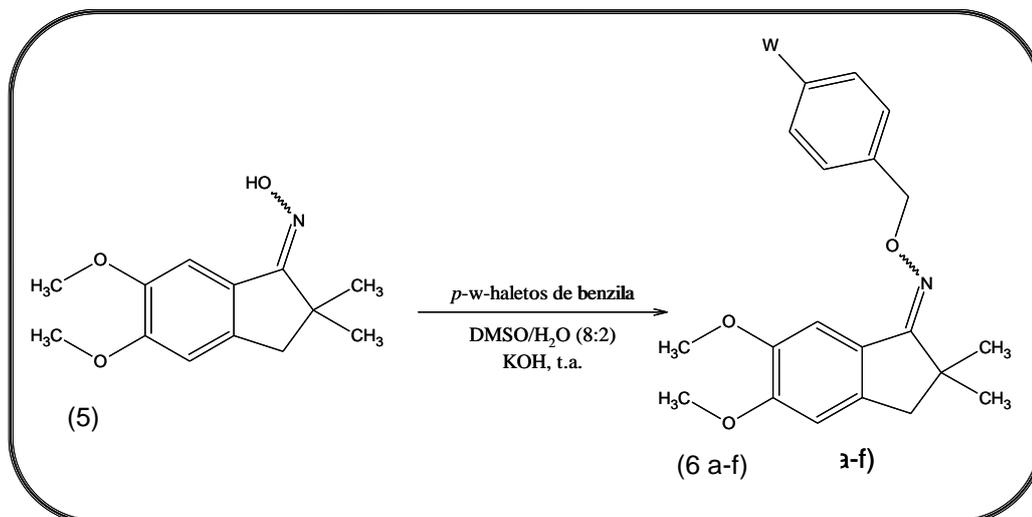


Figura 42 - Esquema representativo da síntese dos éteres de oxima.

Após obtido o intermediário oxímico (5), o mesmo foi submetido à reações de acoplamento com os haletos de benzila com o intuito de formação dos éteres de oxima (figura 43).

Foi utilizado o solvente aprótico DMSO em meio básico para favorecer a desprotonação da hidroxila oxímica e favorecer a reação que consiste em uma substituição nucleofílica bimolecular (S_N2). O mecanismo de reação está representado a seguir:

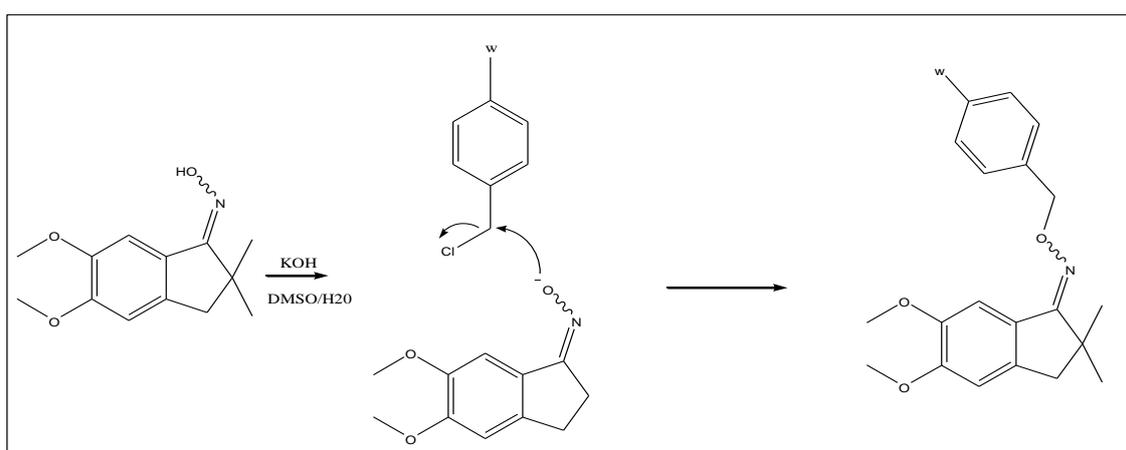


Figura 43 - Mecanismo de reação da reação de acoplamento.

Todos os produtos foram purificados por cromatografia em coluna com solução hexano/diclorometano (7/3).

Na tabela a seguir estão representadas as quatro reações de acoplamento para a produção dos derivados (6 a-f) de éteres de oxima produzidos a partir da reação do intermediário (5) com os haletos.

Tabela 2 - Representação esquemática de obtenção dos éteres de oxima.

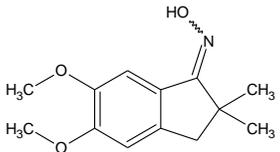
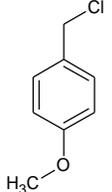
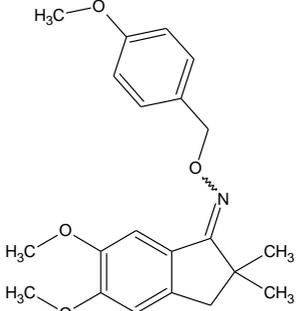
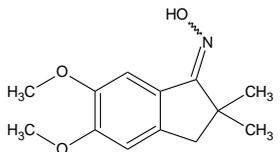
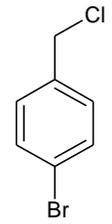
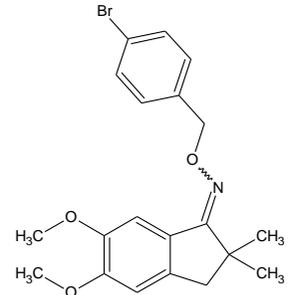
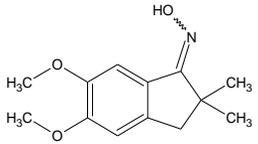
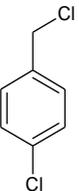
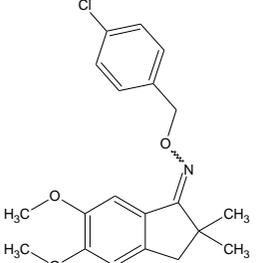
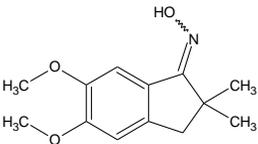
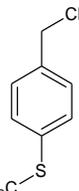
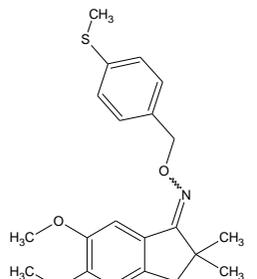
Oxima	Haleto	Éter de Oxima	
 <p data-bbox="268 678 504 710">Intermediário (5)</p>	 <p data-bbox="705 654 996 726">1-(clorometil)-4-(metóxi)benzeno (9) .</p>	 <p data-bbox="1097 670 1534 774">1 (Z/E)-5,6-dimetoxi-2,2-dimetil-inda-1-one O-(4-metoxilbenzil) oxima (6a).</p>	<p data-bbox="1579 662 1982 774">Reação com 87% de rendimento, obtenção de um sólido marrom (PF 68-72 °C).</p>
 <p data-bbox="268 1077 504 1109">Intermediário (5)</p>	 <p data-bbox="728 1077 974 1149">1-(clorometil)-4-(bromo)benzeno.</p>	 <p data-bbox="1097 1077 1534 1189">1 (Z/E)-5,6-dimetoxi-2,2-dimetil-indan-1-ona O-(4-bromobenzil) oxima(6d).</p>	<p data-bbox="1579 1069 1982 1173">Reação com 85% de rendimento, obtenção de um óleo amarelo.</p>

Tabela 2, conclusão

Oxima	Haletos	Éter de Oxima	
 <p data-bbox="286 603 486 635">Intermediário (5)</p>	 <p data-bbox="660 595 1037 627">1-(clorometil)-4-(cloro)benzeno.</p>	 <p data-bbox="1131 619 1500 707">1(Z/E)-5,6-dimetoxi-2,2-dimetil-indan-1-ona O-(4-clorobenzil) oxima(6e).</p>	<p data-bbox="1579 526 1977 587">Reação com 93% de rendimento, obtenção de um óleo amarelo.</p>
 <p data-bbox="286 1010 486 1042">Intermediário (5)</p>	 <p data-bbox="660 1002 1048 1062">1-(clorometil)-4-(tiometil)benzeno (12).</p>	 <p data-bbox="1131 1029 1500 1117">1(Z/E)-5,6-dimetoxi-2,2-dimetil-indan-1-ona O-(4-tiometilbenzil) oxima(6f).</p>	<p data-bbox="1568 898 1989 986">Reação com 93% de rendimento, obtenção sólido amarelo. (PF 63-65 °C).</p>

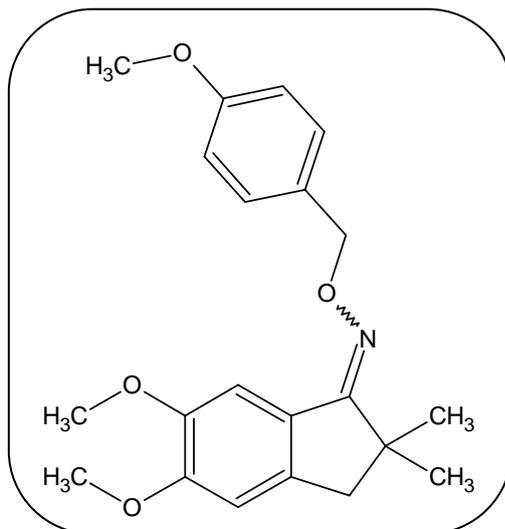


Figura 44 - Representação do éter de oxima (6a).

Analisando o espectro na região do infravermelho do éter de oxima (6a) (figura 45) observou-se ausência da banda referente à hidroxila, um estiramento axial em ν_{as} 1247 cm^{-1} referente à ligação C-O, ν_{as} 1600 cm^{-1} referente à ligação C=N, ν_{as} 1035 cm^{-1} referente ao N-O e o estiramento 1035 cm^{-1} do grupo O-CH₃.

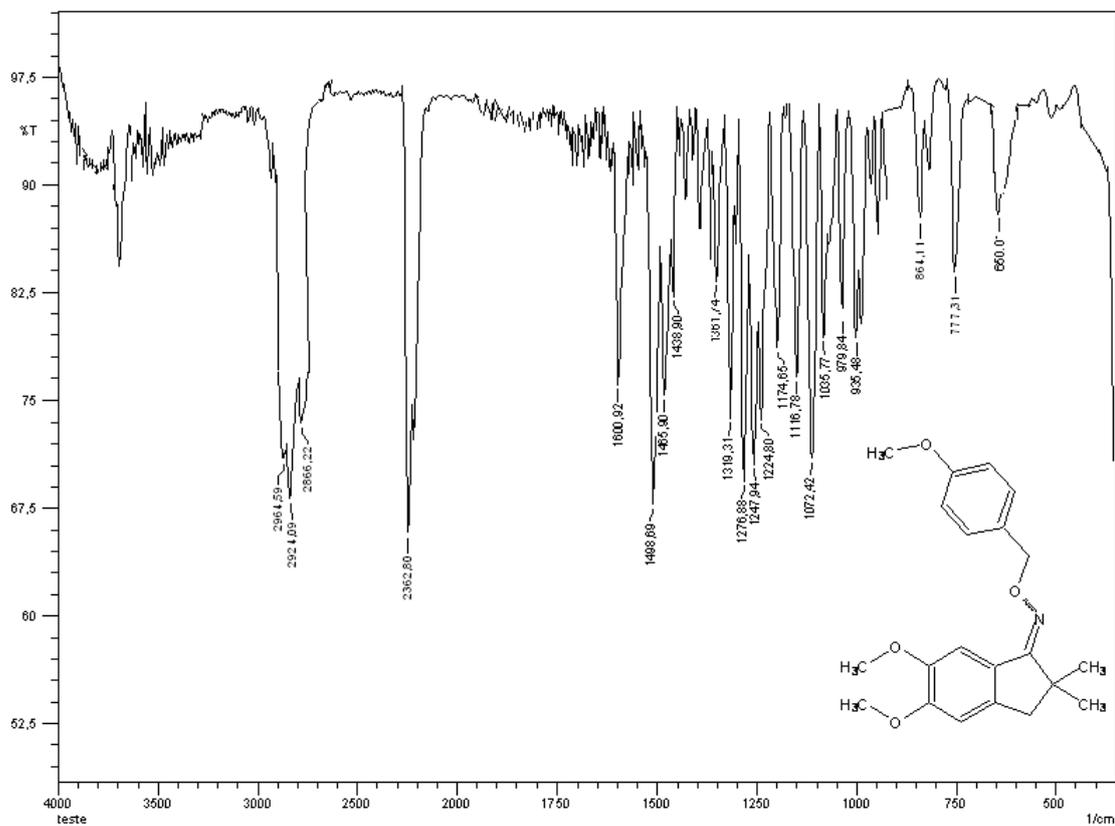
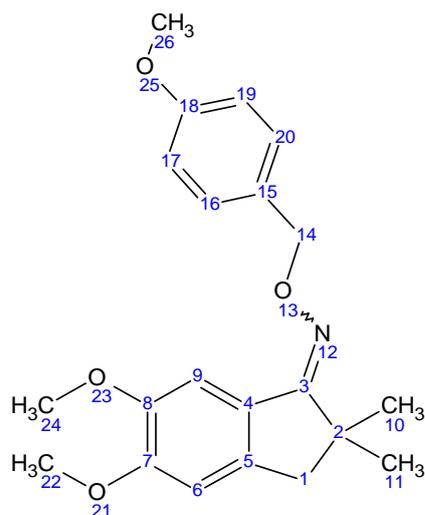


Figura 45 - Espectro de infravermelho (KBr) do éter de oxima (6a).

Observando os espectros de RMN dos compostos sintetizados foi possível identificar muitos pontos relevantes sobre a efetividade da síntese, dentre os quais pode-se destacar do carbono 14 tanto no RMN ^1H quanto RMN ^{13}C .

As figuras a seguir (figura 46 e 47) representam o composto (6a) com seus espectros RMN ^1H e ^{13}C com as tabelas comparativas dos sinais apresentados nos espectros com os respectivos hidrogênios e carbonos.



Composto	1	6	9	10 e 11	14	16 e 17	19 e 20	22	24	26
6a	2,76(s)	6,7(s)	7,79(s)	1,21(s)	5,05(s)	7,32(dd) J = 8,52	7,18(dd) J = 8,20	3,64(s)	3,8(s)	3,70(s)

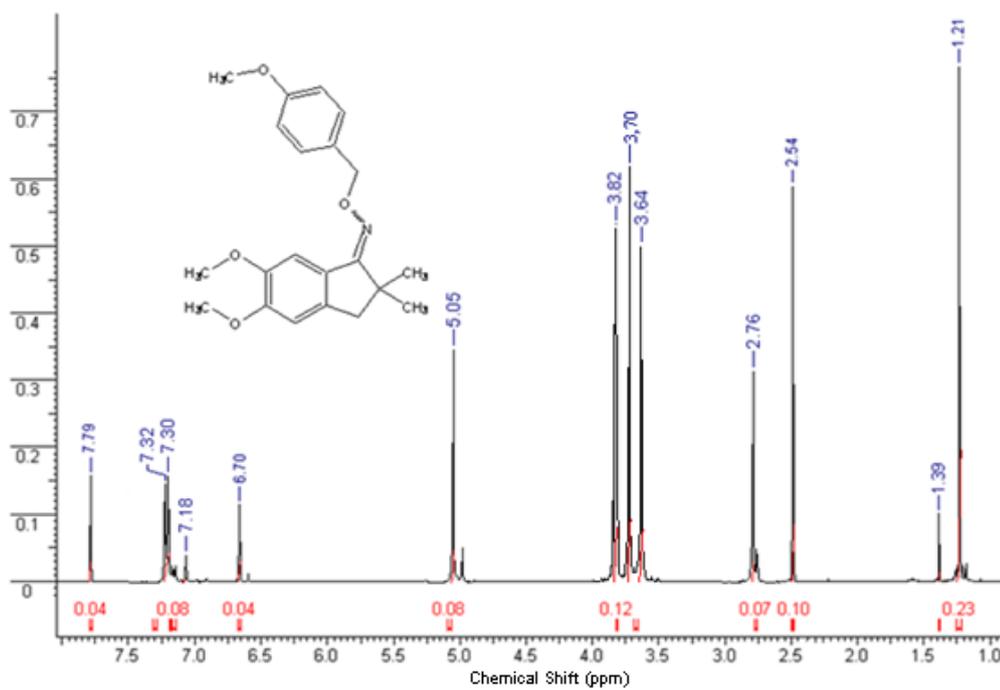


Figura 46 - Composto (6a), sinais do espectro RMN ^1H e tabela comparativa.

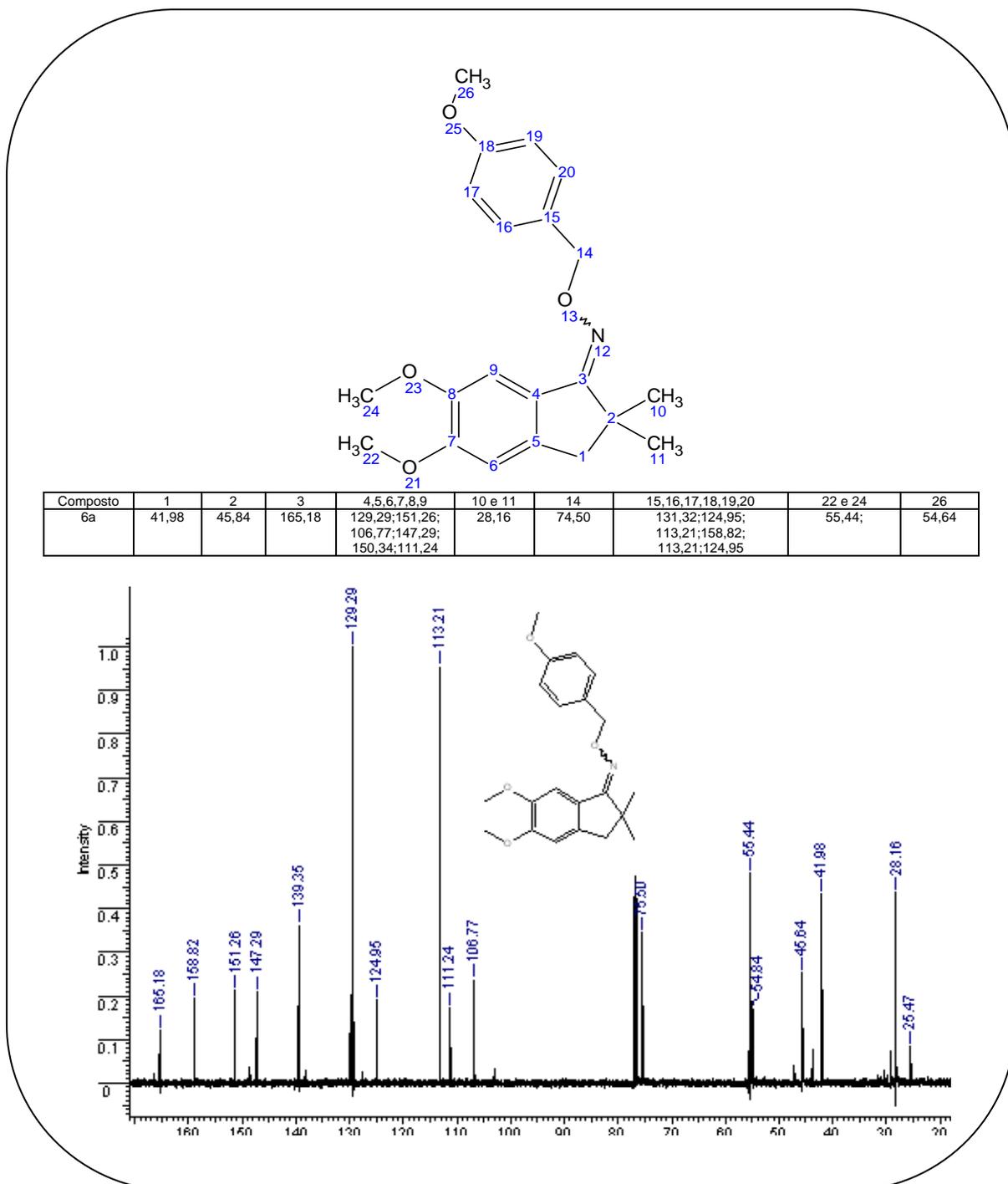


Figura 47 - Composto (6a), sinais do espectro RMN ^{13}C e tabela comparativa.

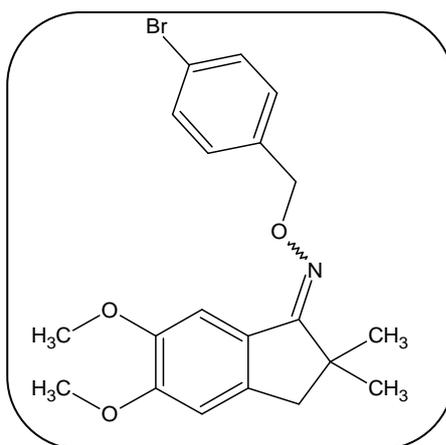


Figura 48 - Éter de oxima (6d).

Analisando o espectro na região do infravermelho (figura 49) do derivado (6d) observou-se um estiramento axial em ν_{as} 1276 cm^{-1} referente à ligação C-O, ν_{as} 1600 cm^{-1} referente à ligação C=N, ν_{as} 1072 cm^{-1} referente ao N-O.

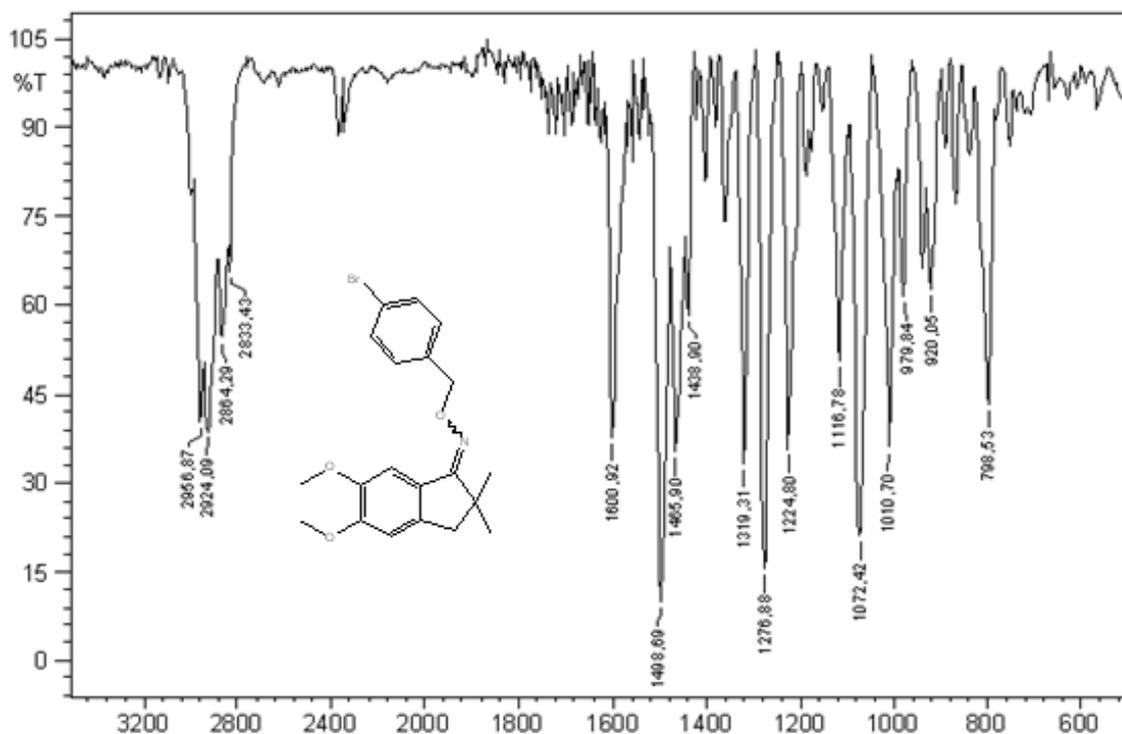


Figura 49 - Espectro na região do infravermelho (KBr) do éter de oxima (6d).

As figuras a seguir (figura 50 e 51) representam o composto (6d) com seus espectros RMN ^1H e ^{13}C com as tabelas comparativas dos sinais apresentados nos espectros com os respectivos hidrogênios e carbonos.

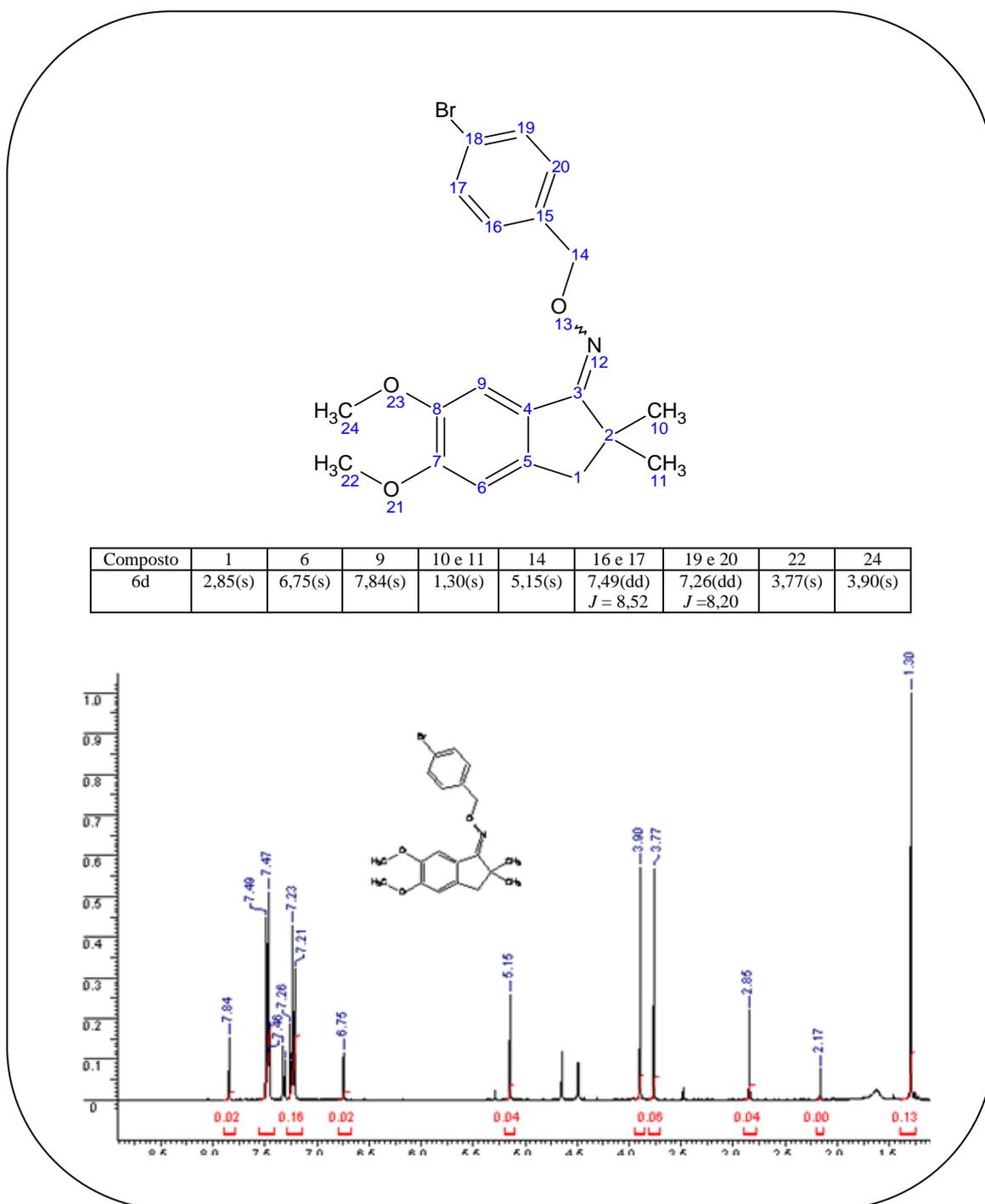


Figura 50 - Composto (6d), sinais do espectro RMN ^1H e tabela comparativa.

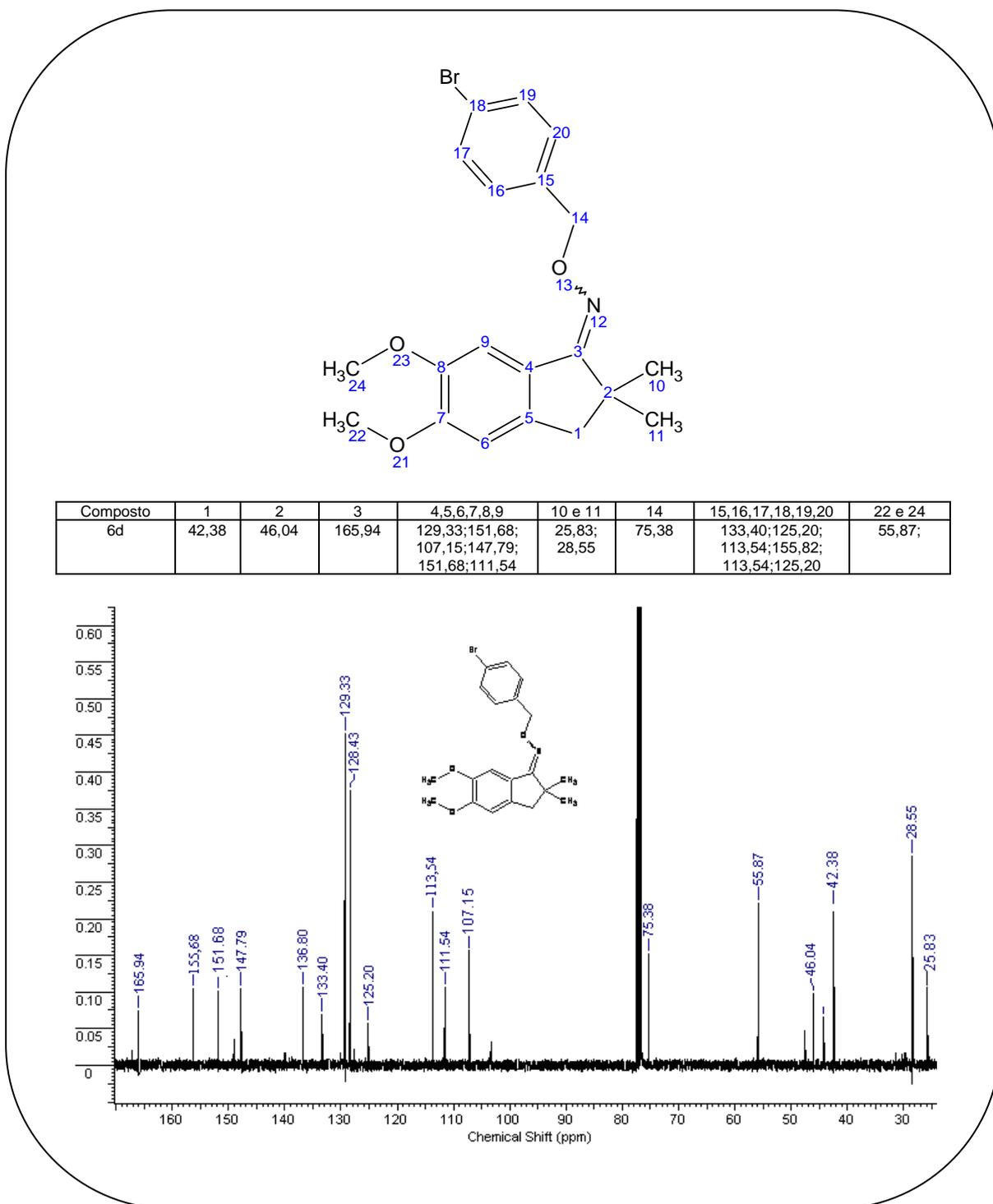


Figura 51 - Composto (6d), sinais do espectro RMN ^{13}C e tabela comparativa.

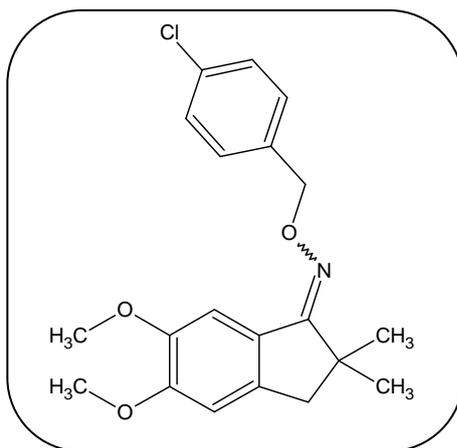


Figura 52 - Representação do éter de oxima (6e).

Analisando o espectro na região do infravermelho (figura 53) do derivado 6e observou-se um estiramento axial em ν_{as} 1276 cm^{-1} referente à ligação C-O, ν_{as} 1600 cm^{-1} referente à ligação C=N, ν_{as} 1014 cm^{-1} referente ao N-O. Análise de RMN ^1H

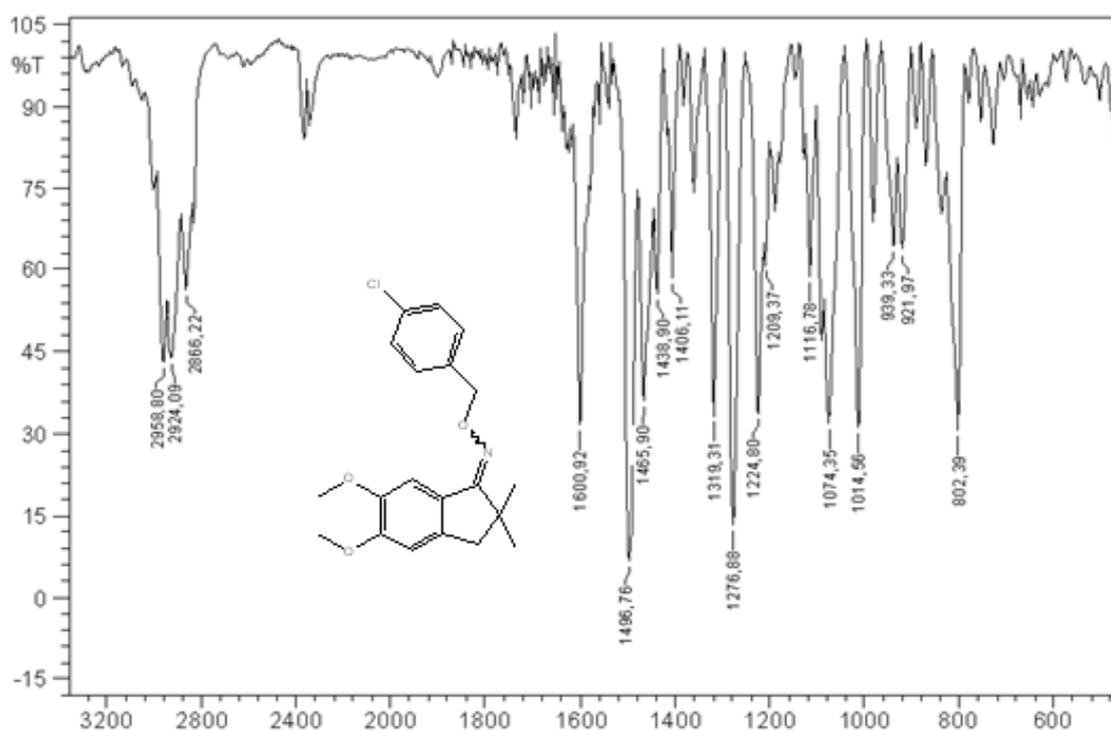


Figura 53 - Espectro na região do infravermelho (KBr) do éter de oxima (6e).

As figuras a seguir (figuras 54 e 55) representam o composto (6e) com seus espectros RMN ^1H e ^{13}C com as tabelas comparativas dos sinais apresentados nos espectros com os respectivos hidrogênios e carbonos.

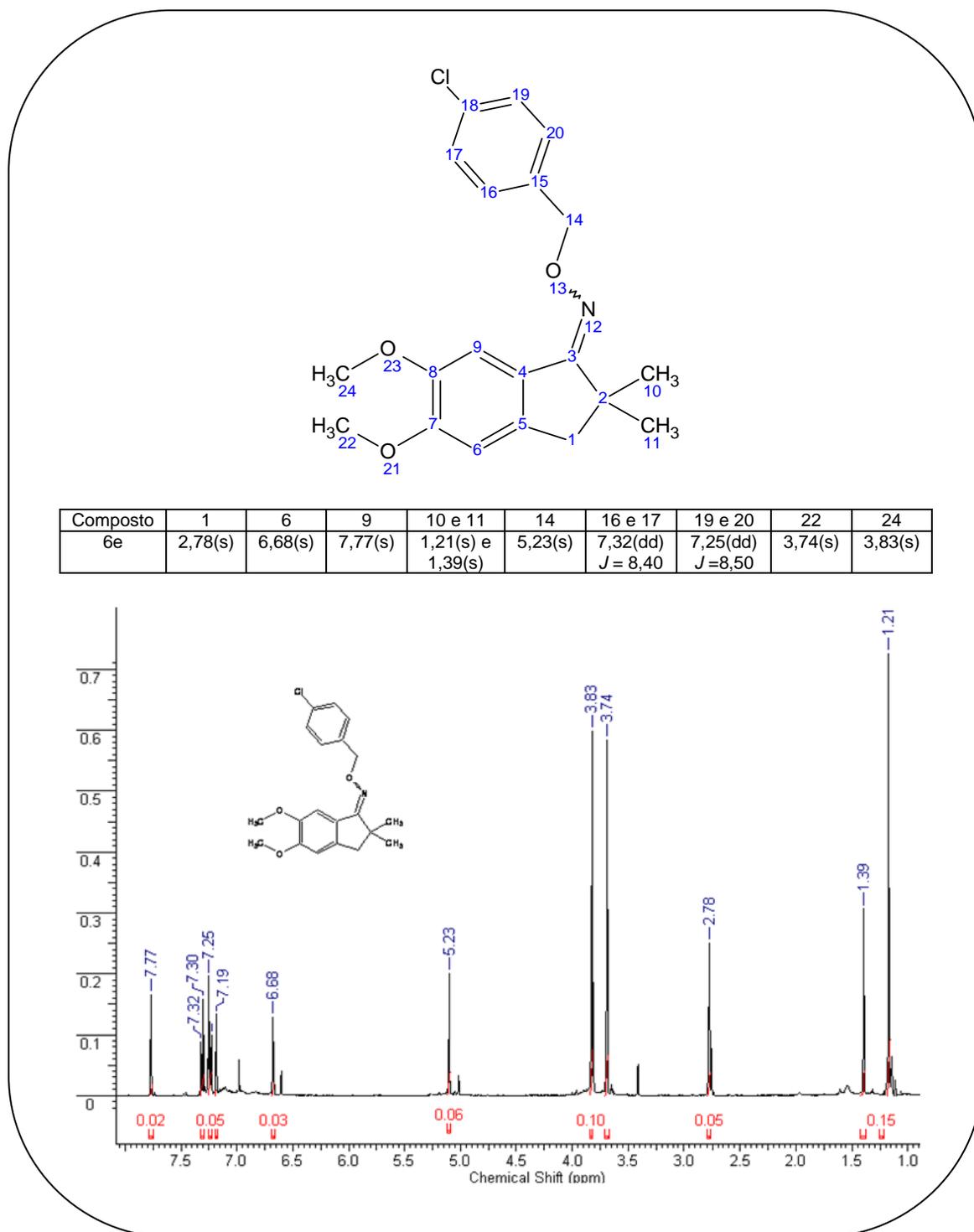
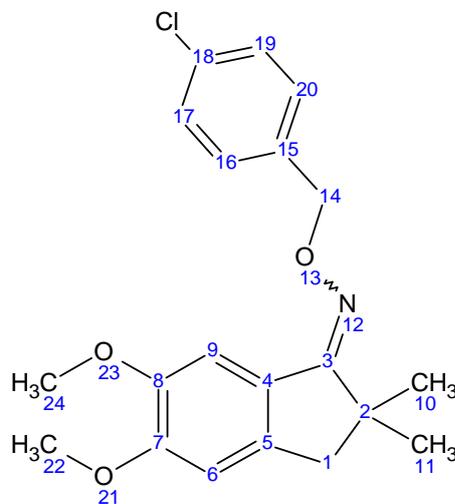


Figura 54 - Composto (6e), sinais do espectro RMN ^1H e tabela comparativa.



Composto	1	2	3	4,5,6,7,8,9	10 e 11	14	15,16,17,18,19,20	22 e 24
6e	42,52	46,07	166,10	129,33;151,85; 107,27;147,79; 151,85;111,54	25,91; 28,53	75,38	133,40;125,20; 112,82;154,13; 112,82;125,20	55,93;

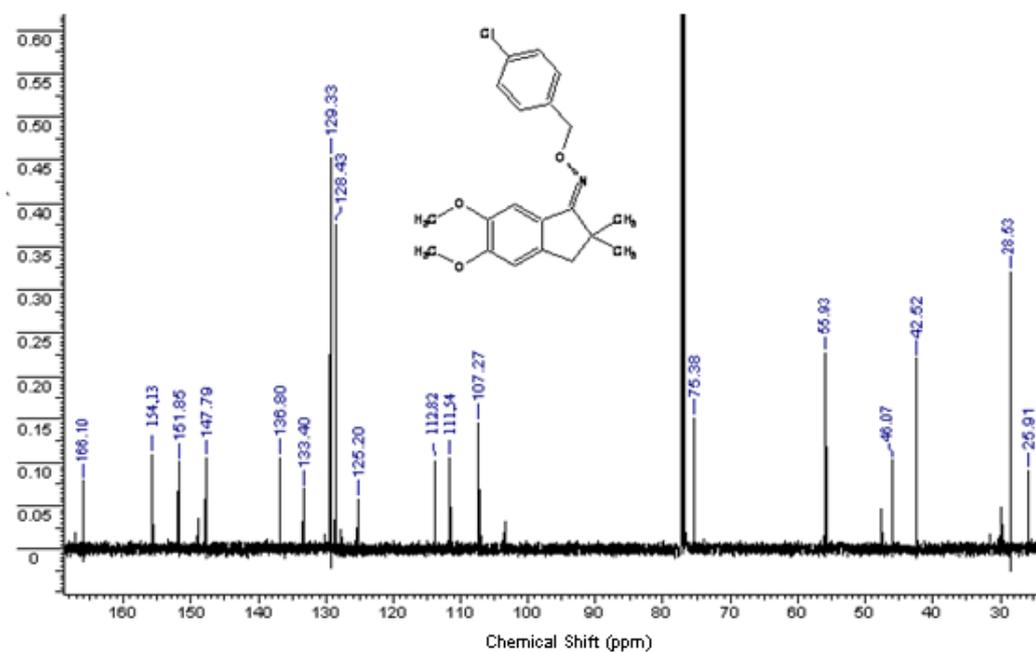


Figura 55 - Composto (6e), sinais do espectro RMN ^{13}C e tabela comparativa.

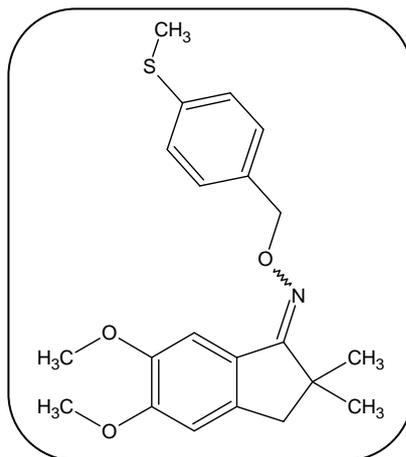


Figura 56 - Éter de oxima (6f)

Analisando o espectro na região do infravermelho (figura 57) do éter de oxima 6f observou-se um estiramento axial em ν_{as} 1276 cm^{-1} referente à ligação C-O, ν_{as} 1625 cm^{-1} referente à ligação C=N, ν_{as} 1010 cm^{-1} referente ao N-O, ν_{as} 1435 referente à ligação S-CH₃.

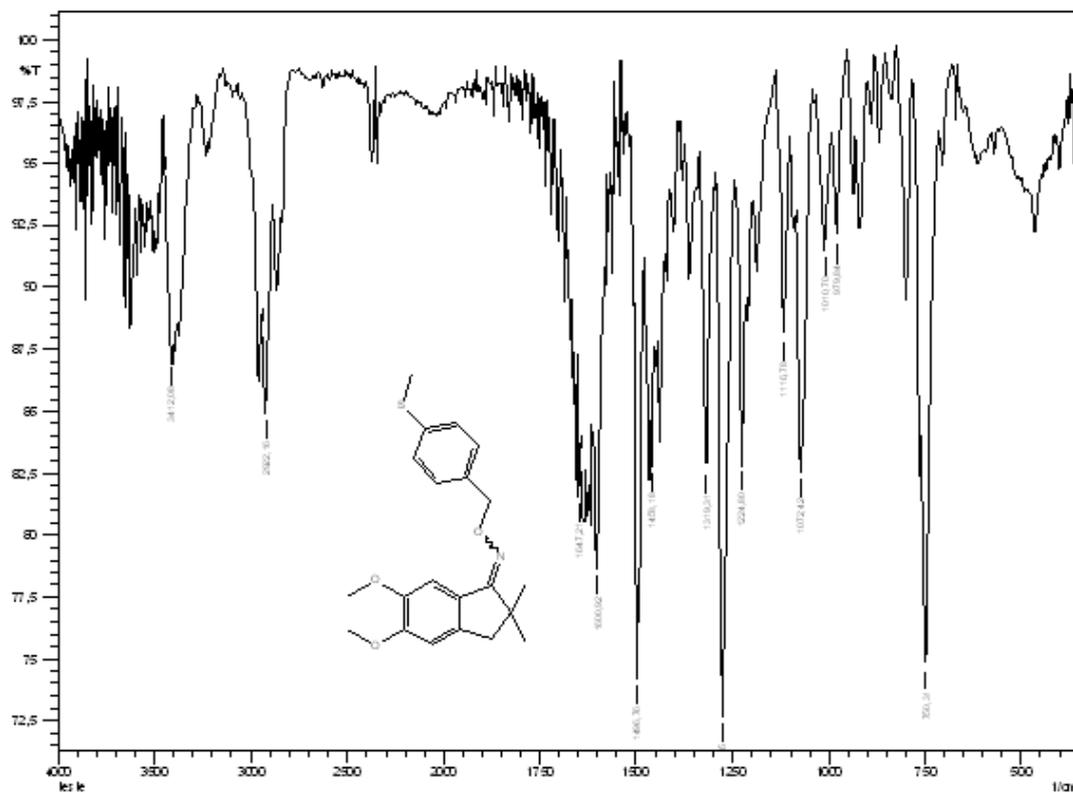


Figura 57 - Espectro na região do infravermelho (KBr) do éter de oxima (6f).

As figuras a seguir (figura 58 e 59) representam o composto (6f) com seus espectros RMN ^1H e ^{13}C com as tabelas comparativas dos sinais apresentados nos espectros com os respectivos hidrogênios e carbonos.

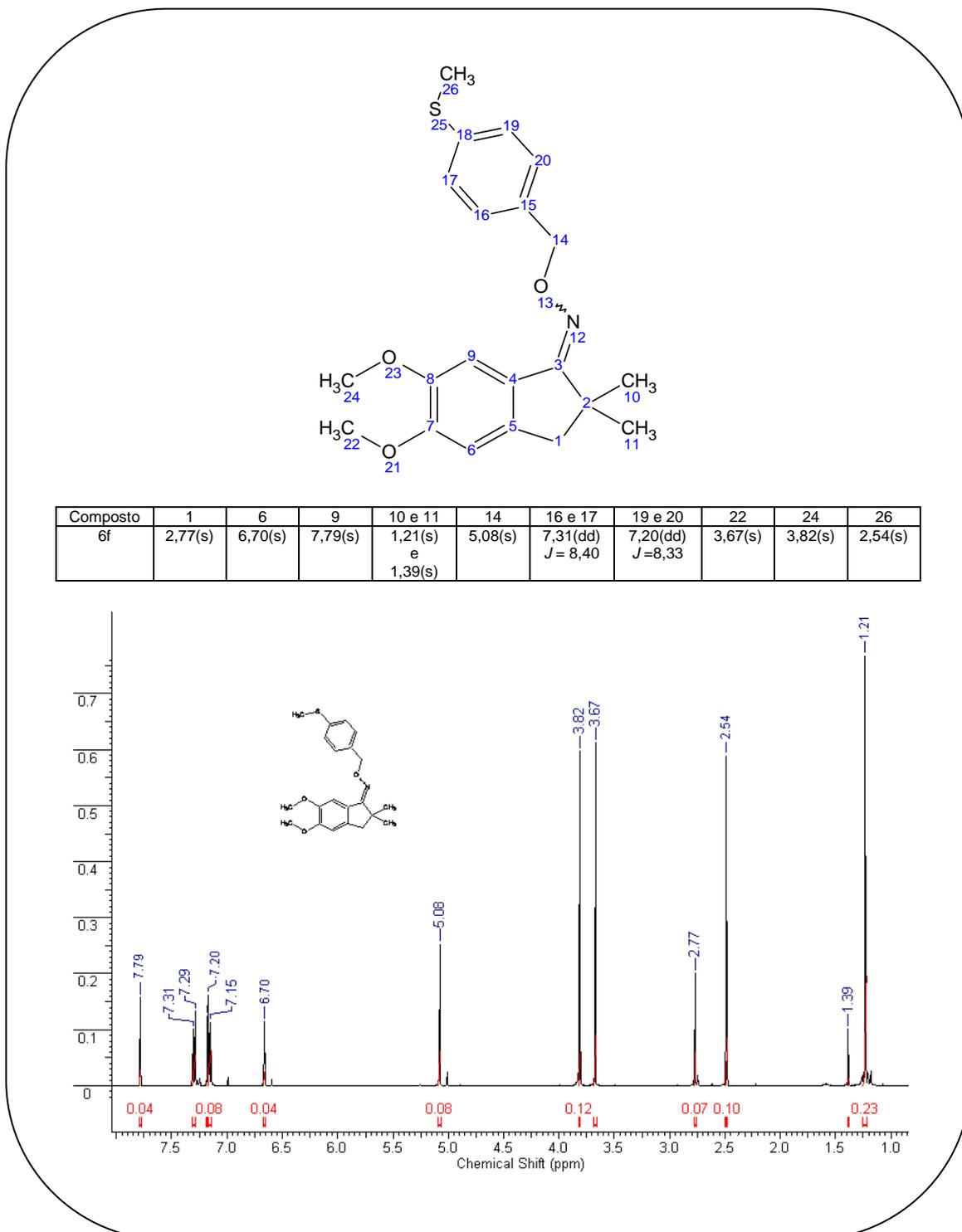


Figura 58 - Composto (6f), sinais do espectro RMN ^1H e tabela comparativa.

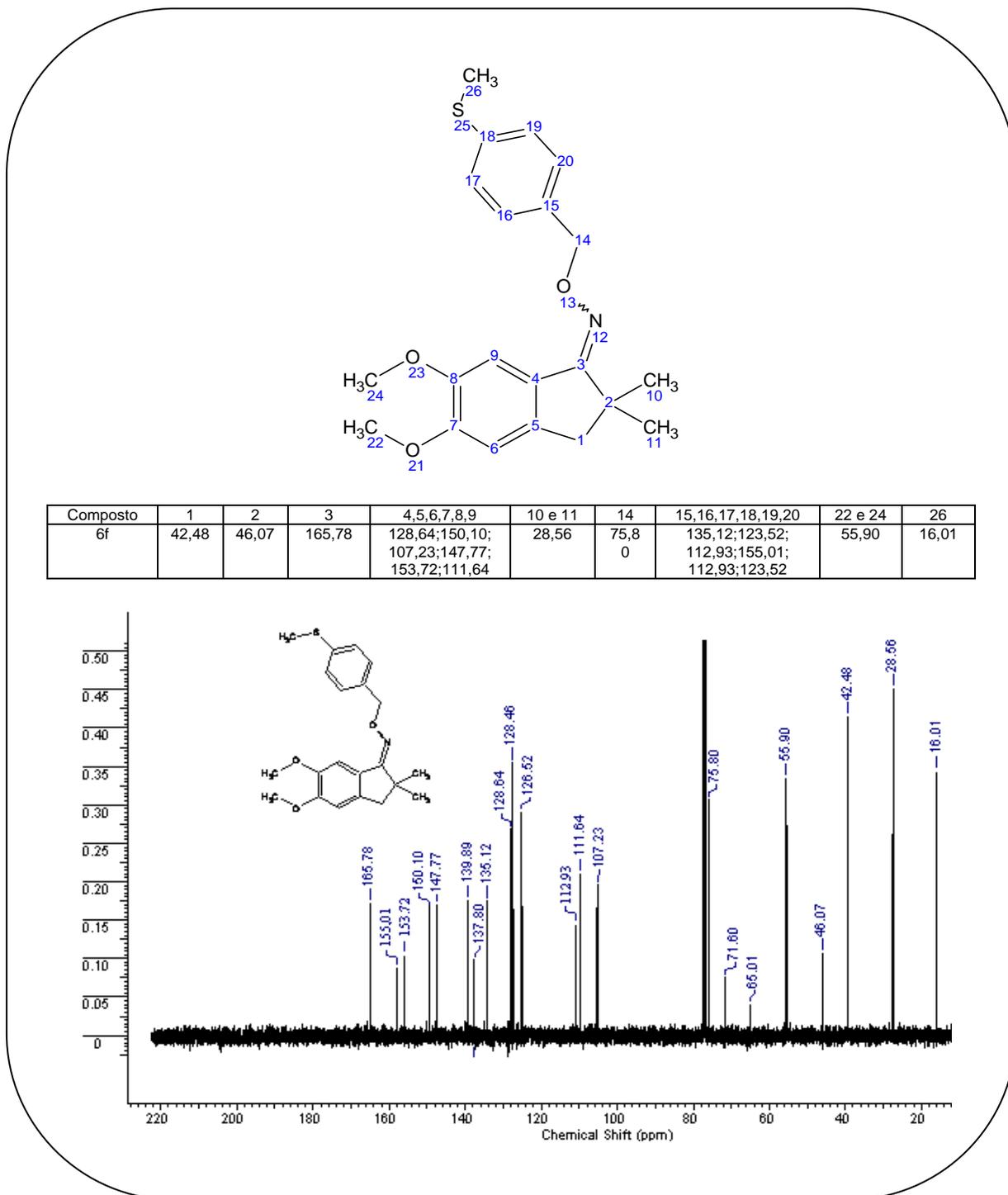


Figura 59 - Composto (6f), sinais do espectro RMN ^{13}C e tabela comparativa.

5.1.10 Reações com o composto 6f

Nessa etapa reacional foram feitas duas diferentes reações de oxidação do grupamento metilsulfeto. Para essa transformação observou-se duas opções viáveis de oxidantes: o periodado de sódio (NaIO_4) e o ácido metacloroperbenzóico (AMCPB). Analisando a literatura específica pode-se concluir que os oxidantes (NaIO_4 e AMCPB) poderiam levar o metilsulfeto aos dois estados de oxidação (metilsulfona e metilsulfóxido). Para chegar aos dois diferentes produtos deve-se alterar a temperatura, o tempo de reação e a concentração dos oxidantes (LEY, 1990 e LUZZIO,1998). Através da análise dos espectros na região do infravermelho dos produtos obtidos concluiu-se que, para essa reação, foi mais preciso fazer a oxidação parcial (transformação de metilsulfeto e metilsulfóxido) com o AMCPB e a oxidação total (transformação de metilsulfeto e metilsulfona) com o NaIO_4 .

5.1.10.1. Transformação do metilsulfeto em metilsulfóxido

Após a obtenção e caracterização do éter de oxima (6f) foi feita a oxidação do grupamento metilsulfóxido. Obtendo os éteres de oxima (6b) e (6c).

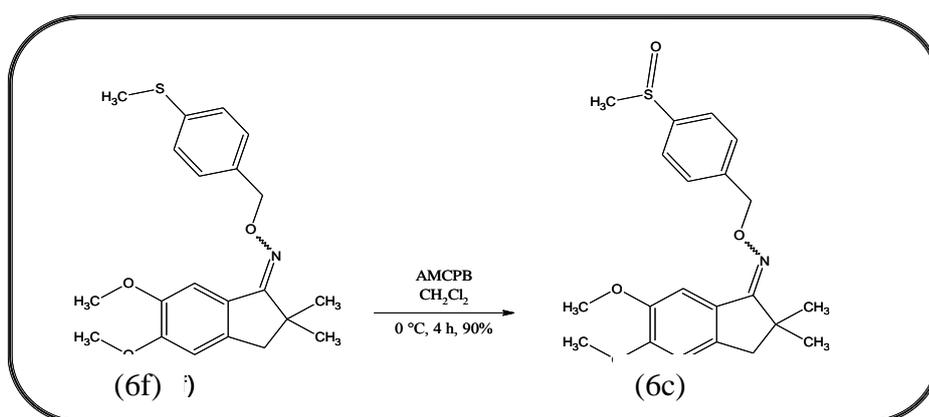


Figura 60 - Representação esquemática da obtenção do éter de oxima (6c).

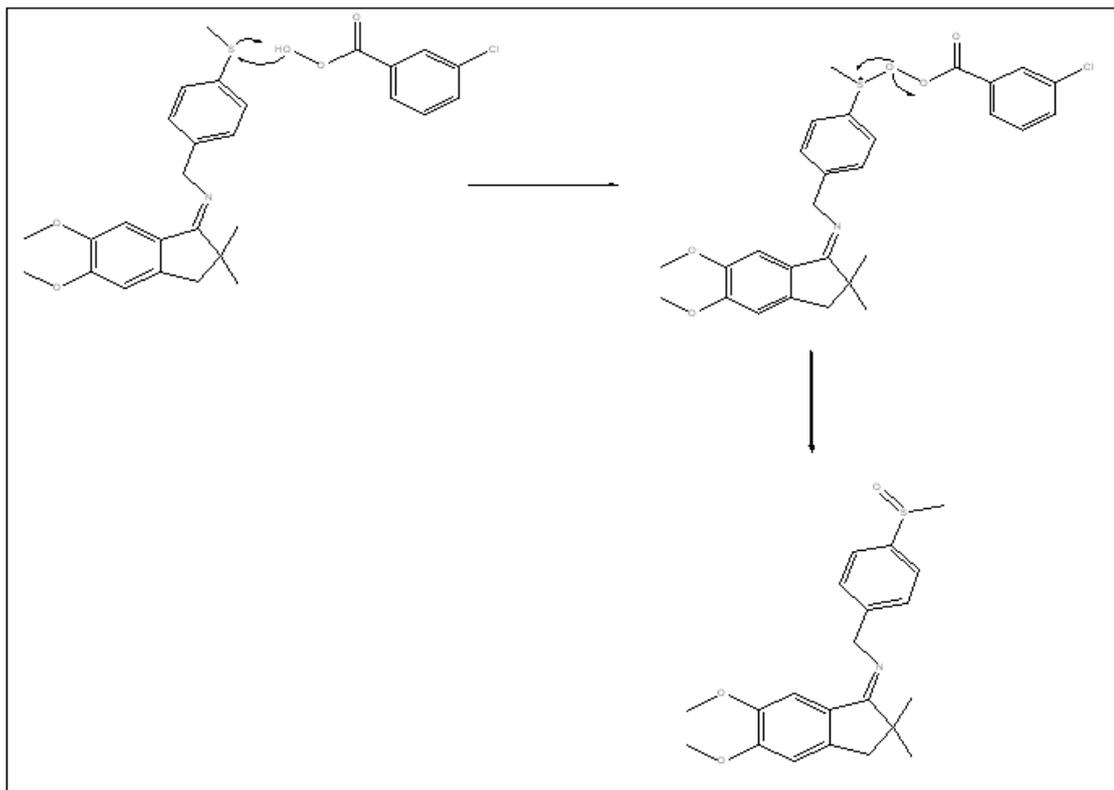


Figura 61 - Mecanismo de reação da oxidação do grupamento metilsulfeto em metilsulfóxido.

Fonte: (<http://www.masterorganicchemistry.com/2011/06/17/reagent-friday-m-cpba-meta-chloroperoxybenzoic-acid>) (adaptado, consultado em 02/06/2013).

Analisando a espectrometria na região do infravermelho (figura 62) do éter de oxima 6c observou-se um estiramento axial em ν_{as} 1276 cm^{-1} referente à ligação C-O, ν_{as} 1600 cm^{-1} referente à ligação C=N, ν_{as} 1014 cm^{-1} referente ao N-O, estiramento ν 1076 referente à SOCH_3 .

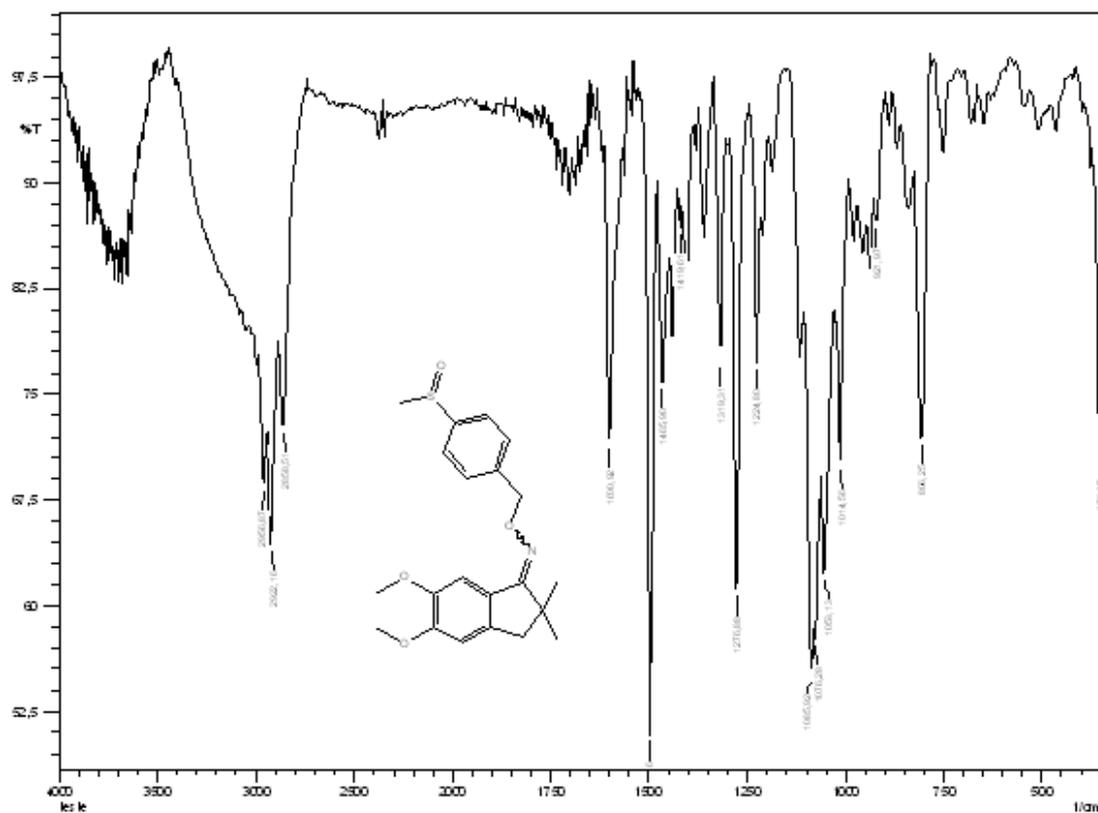


Figura 62 - Espectro na região do infravermelho (KBr) do éter de oxima (6c).

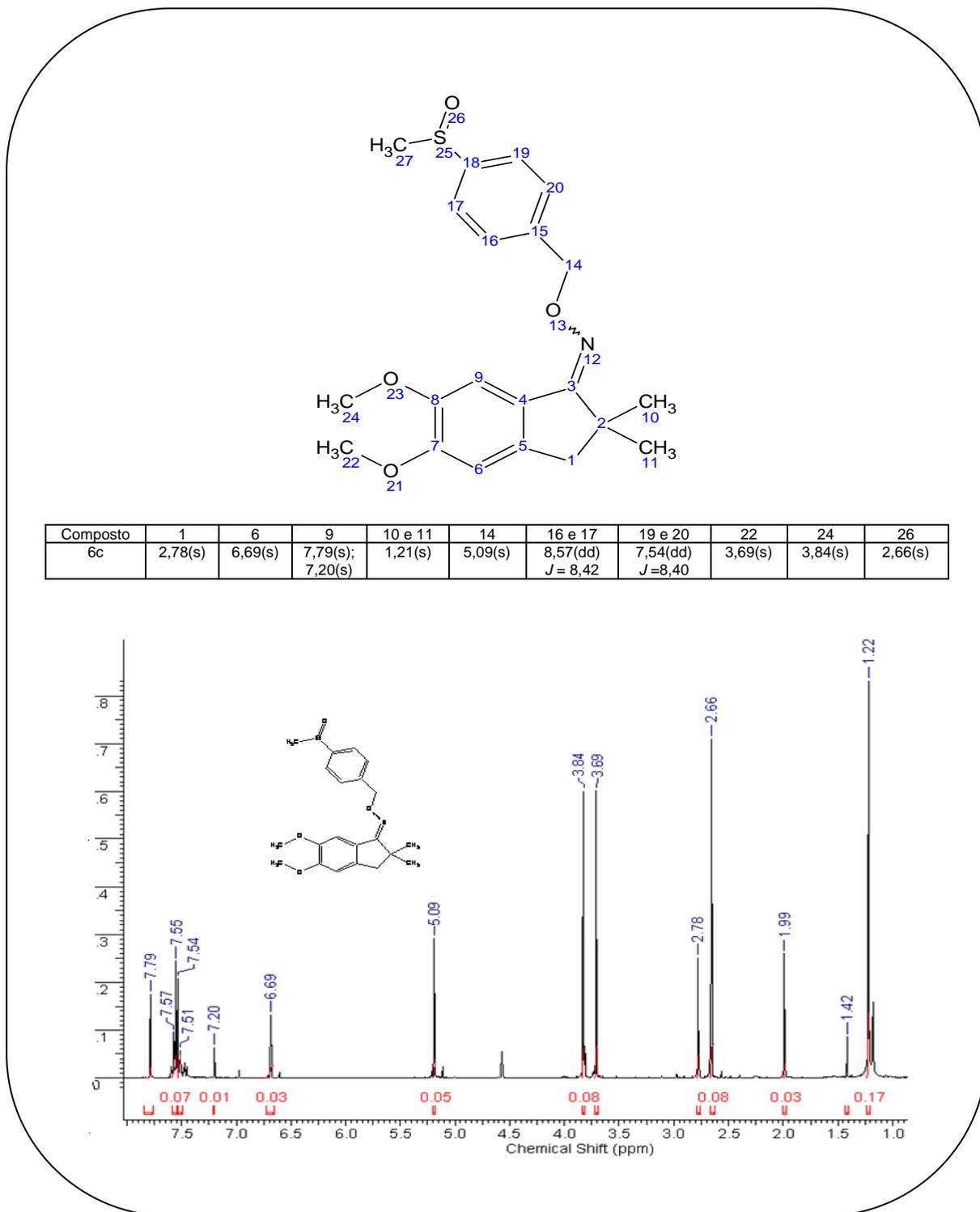
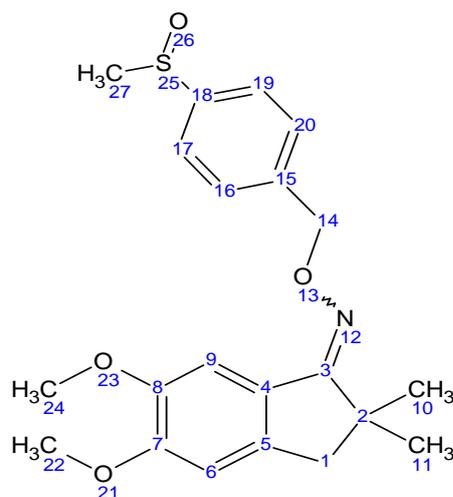


Figura 63 - Composto (6c), sinais do espectro RMN ^1H e tabela comparativa.



Composto	1	2	3	4,5,6,7,8,9	10 e 11	14	15,16,17,18,19,20	22 e 24	26
6c	42,60	46,07	166,10	128,60;151,94; 107,35;147,86; 153,03;111,58	28,53	75,35	140,16;126,52; 123,52;137,72; 123,52;126,52	55,93	44,03

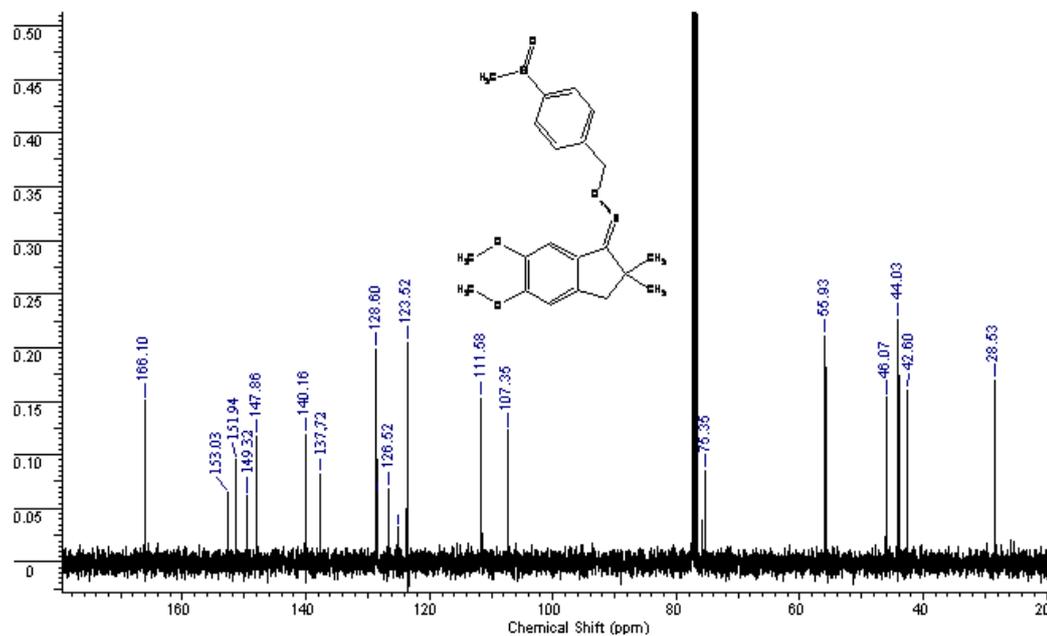


Figura 64 - Composto (6c), sinais do espectro RMN ^{13}C e tabela comparativa.

5.1.10.2 Transformação do metilsulfeto em metilsulfona (6b)

Através de uma nova oxidação do metilsulfeto presente no éter de oxima (6f) conseguiu-se obter o éter de oxima (6b) com a presença da metilsulfona.

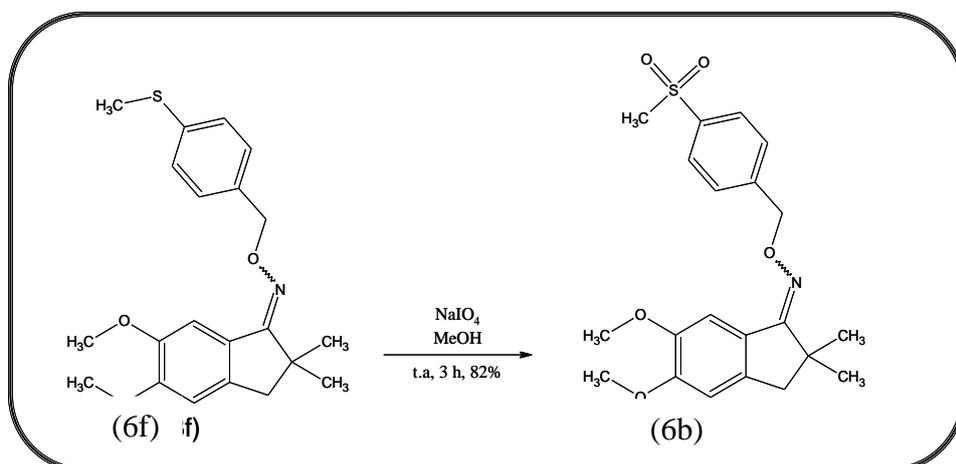


Figura 65 - Representação esquemática da síntese do éter de oxima (6b).

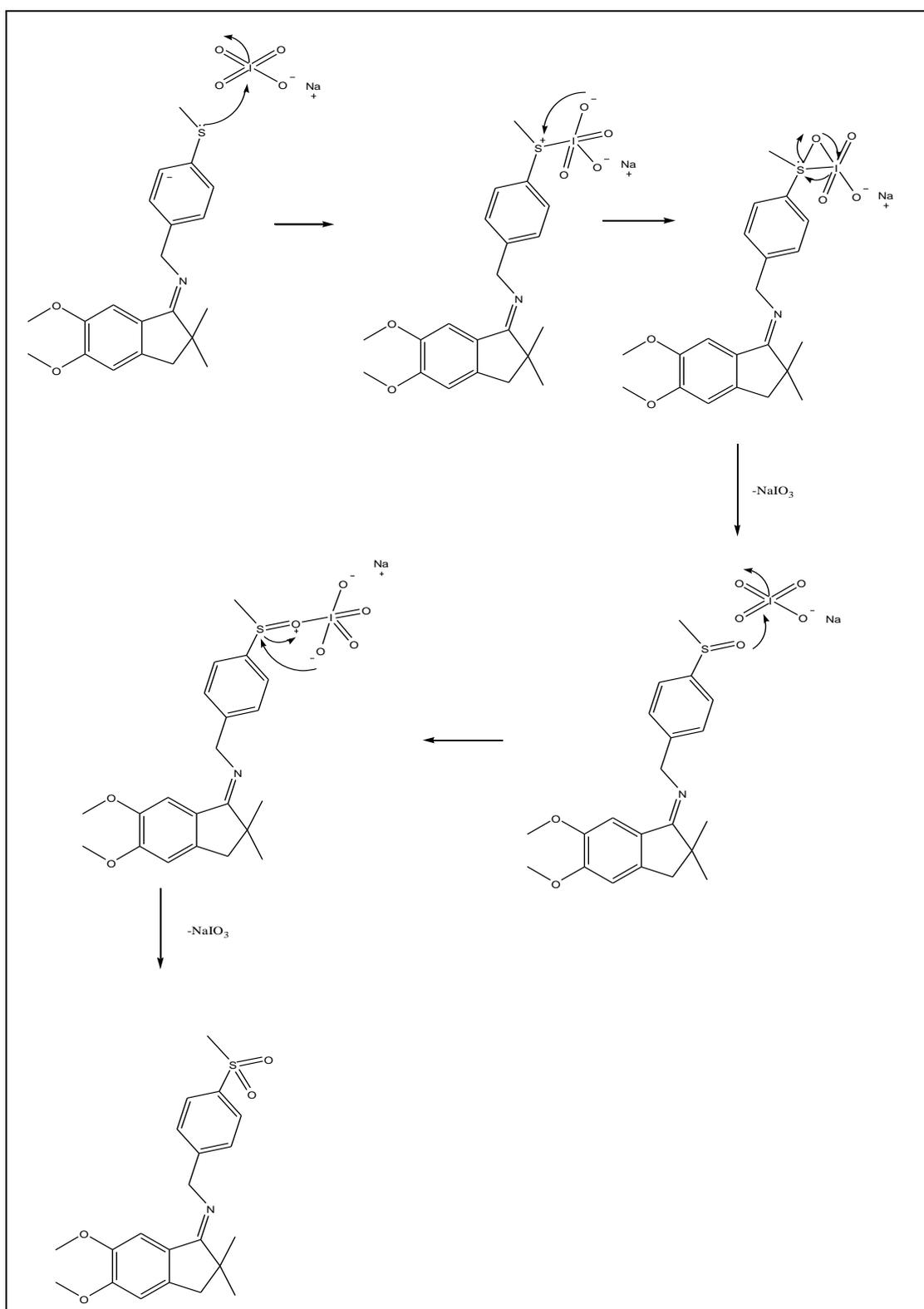


Figura 66 - Mecanismo de reação de oxidação do grupamento metilsulfeto em metilsulfona.

Fonte: (<http://www.masterorganicchemistry.com/2011/10/21/reagent-friday-sodium-periodate>)
(adaptado, consultado em 02/06/2013)

Analisando o espectro na região do infravermelho do éter de oxima (6c) (figura 67) observou-se um estiramento axial em ν_{as} 1276 cm^{-1} referente à ligação C-O, ν_{as} 1600 cm^{-1} referente à ligação C=N, ν_{as} 1014 cm^{-1} referente ao N-O, estiramento ν 1149 e 1317 cm^{-1} referente à SO_2CH_3 .

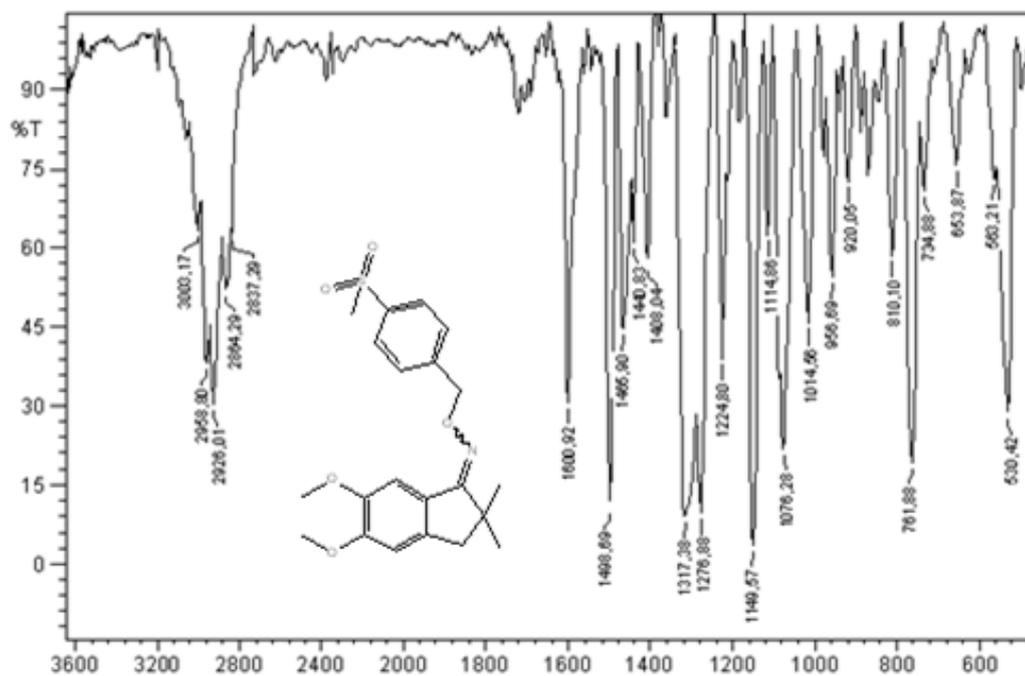


Figura 67 - Espectro na região do infravermelho (KBr) do éter de oxima (6b).

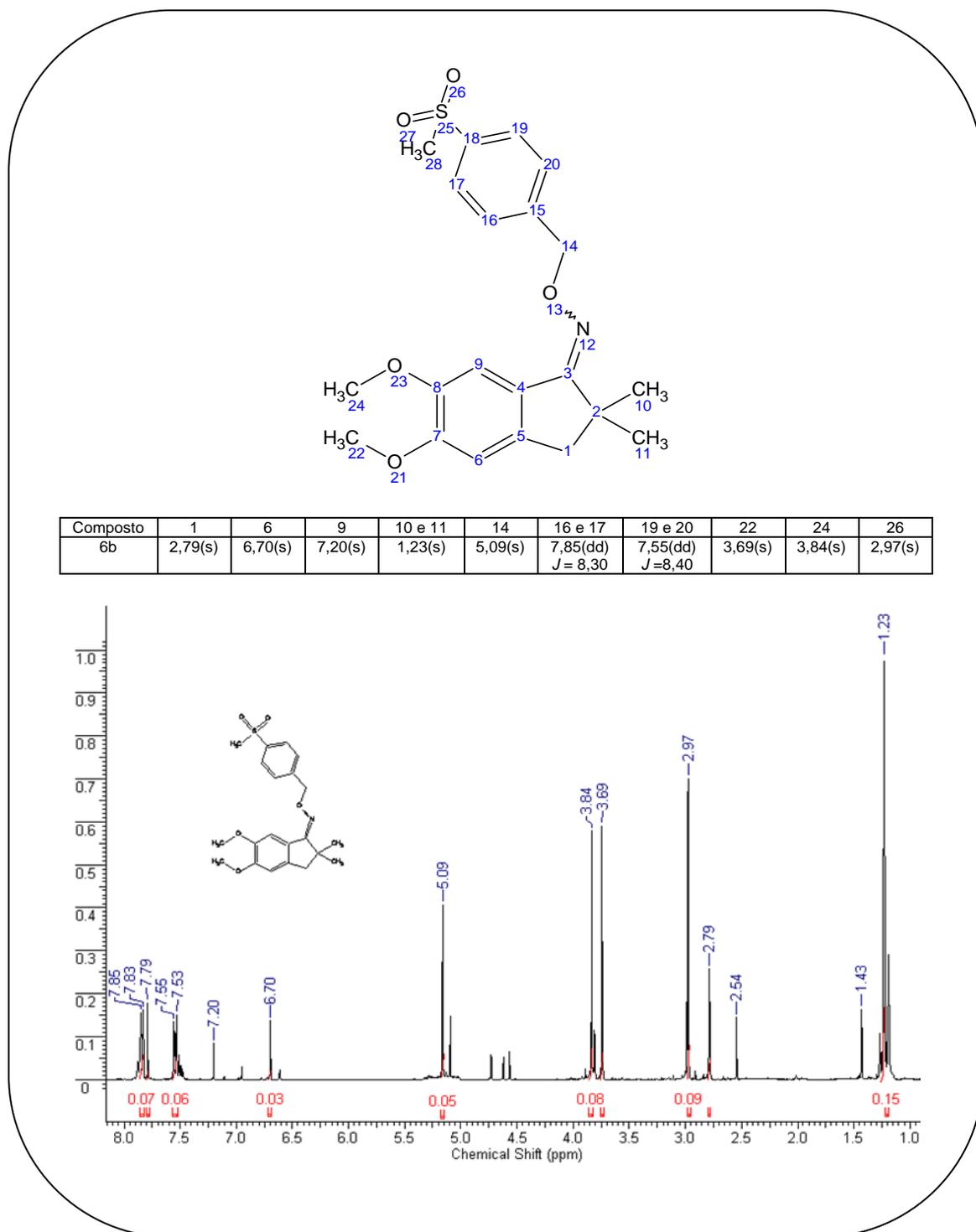


Figura 68 - Composto (6b), sinais do espectro RMN ^1H e tabela comparativa.

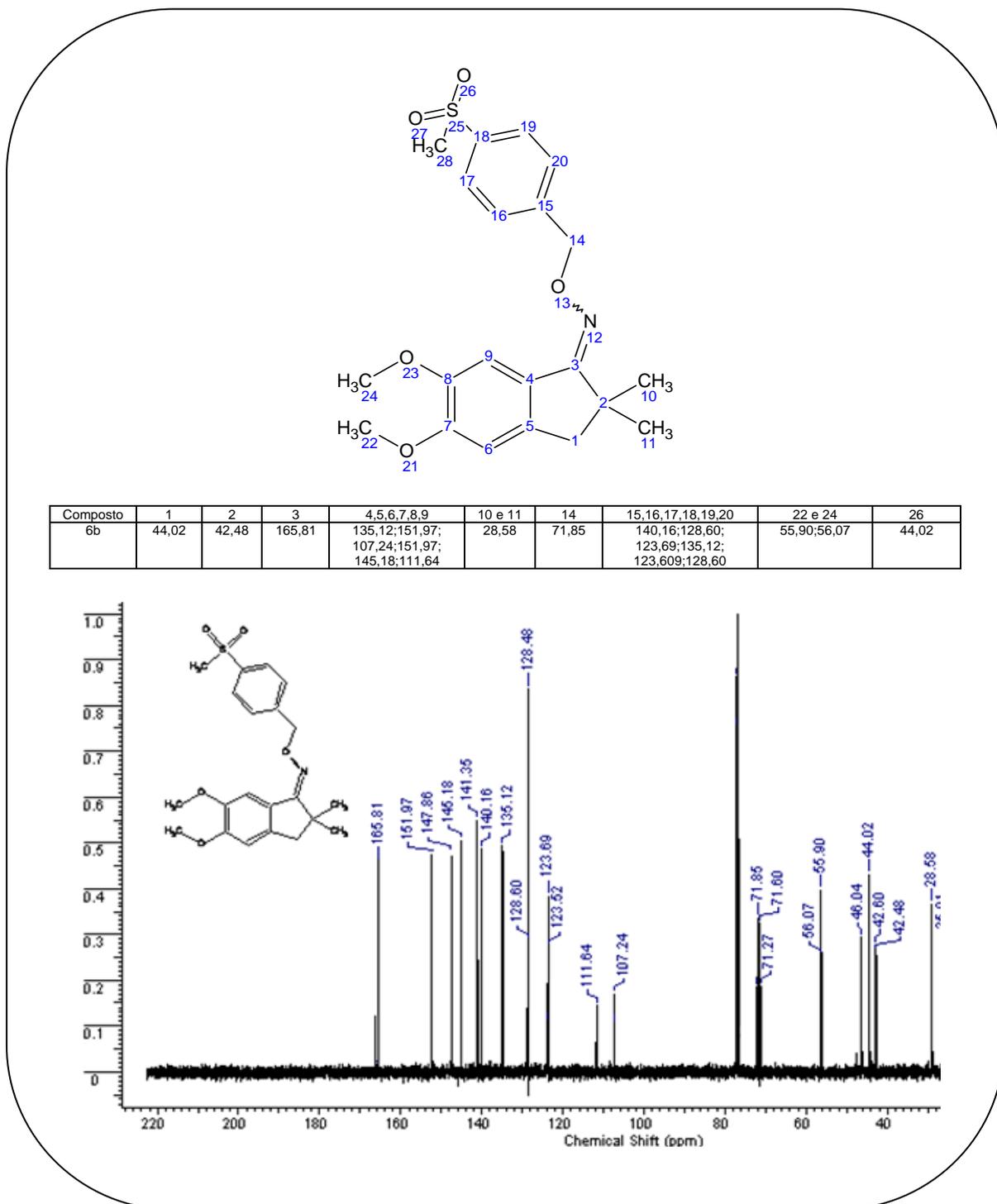


Figura 69 - Composto (6c), sinais do espectro RMN ^{13}C e tabela comparativa.

5.2 SÍNTESE DE UMA NOVA SÉRIE DE COMPOSTOS DE ÉTERES DE XOIMA MONOMETILADOS

5.2.1 Obtenção do intermediário (7) a partir do intermediário (3)

A partir do intermediário (3) fez-se uma nova rota sintética, transformando em uma oxima inédita (intermediário (7)).

Para a obtenção do intermediário (7), reagiu-se o intermediário (3) com cloridrato de hidroxilamina ($\text{NH}_2\text{OH}\cdot\text{HCl}$) em solução metanólica na presença de acetato de sódio. O derivado obtido apresentou-se na forma de dois diasterisômeros na forma de um sólido marrom (PF 63-66 °C) com 95% de rendimento (Figura 70) (GOPALSAMY, A; 2006 adaptado).

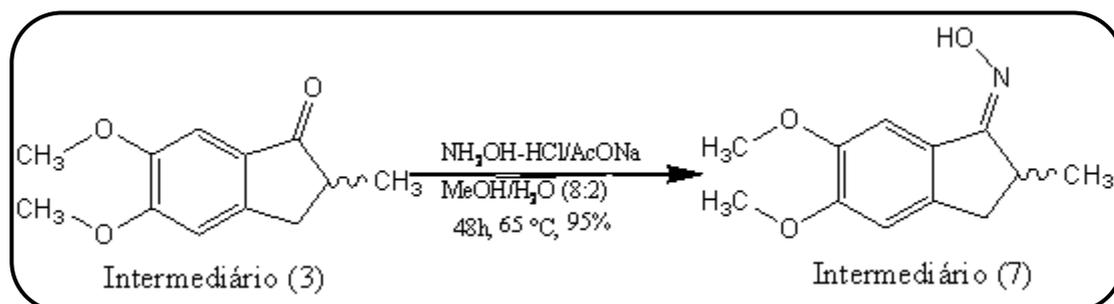


Figura 70 - Obtenção do intermediário (7).

Observando o espectro RMN ^1H (figura 71), observam-se sinais δ 3,91 ppm e 3,89 ppm que foram atribuídos aos hidrogênios presentes nas metoxilas, o sinal δ 1,26 ppm evidenciando a metila. O sinal δ 2,03 ppm foi atribuído ao hidrogênio da hidroxila oxímica.

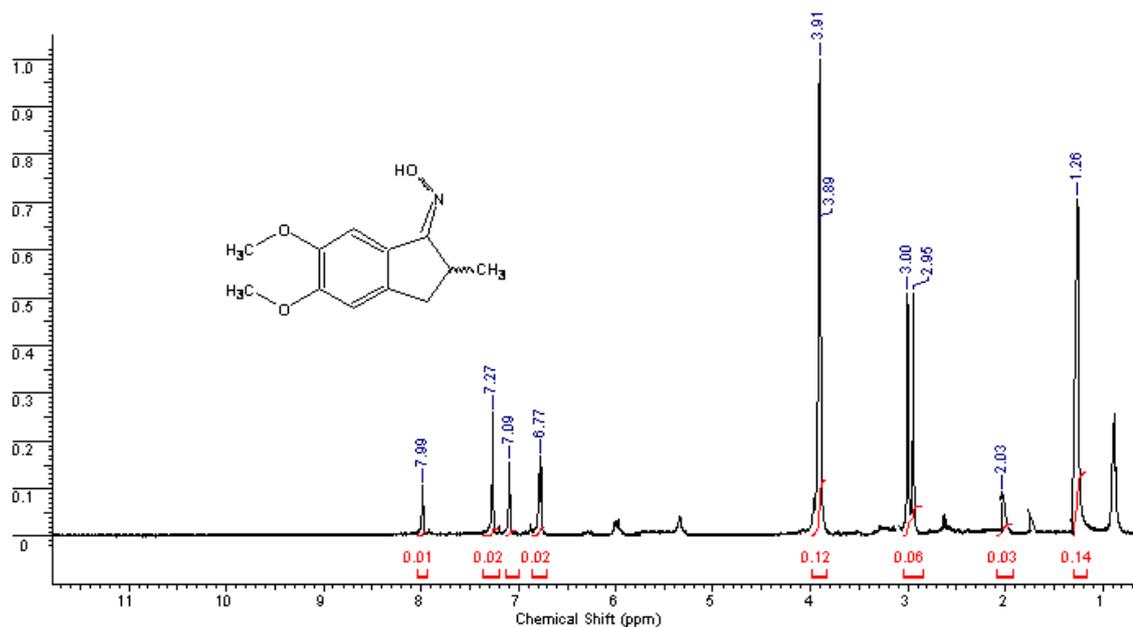


Figura 71 - Espectro RMN ^1H (CDCl_3 , 400MHz) intermediário (7).

Observando o espectro de RMN ^{13}C (Figura 72) observa-se sinais δ 18,46 ppm que foi atribuído à metila presente na estrutura, os sinais 55,93 e 56,04 foram atribuídos aos carbonos presentes nas metoxilas.

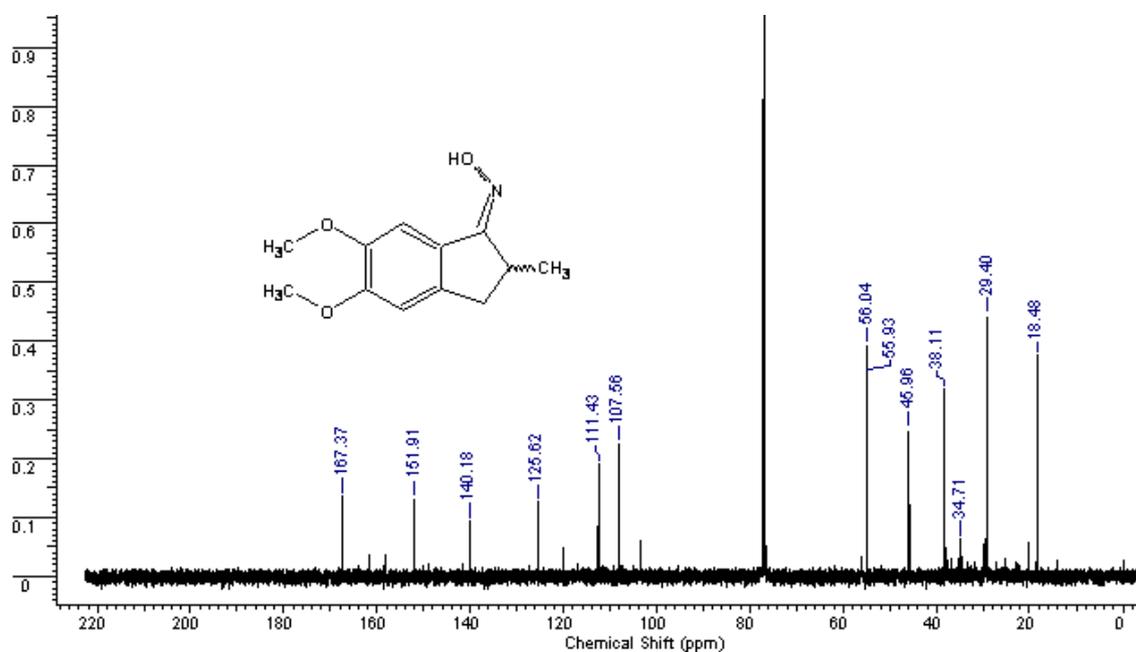


Figura 72 - Espectro RMN ^{13}C (CDCl_3 100MHz) do intermediário (7).

5.2.2 Obtenção de uma nova série de éteres de oxima monometiladas.

Após a obtenção da oxima (intermediário (7)) promoveu-se a reação de acoplamento dessa oxima com três diferentes haletos orgânicos representados no esquema a seguir.

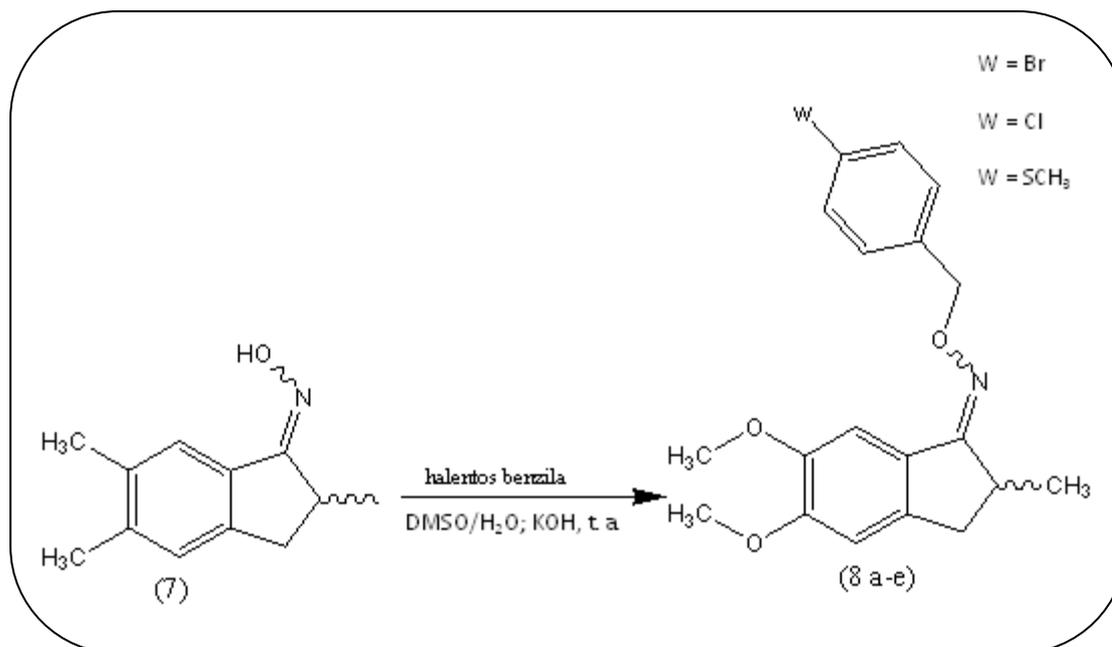
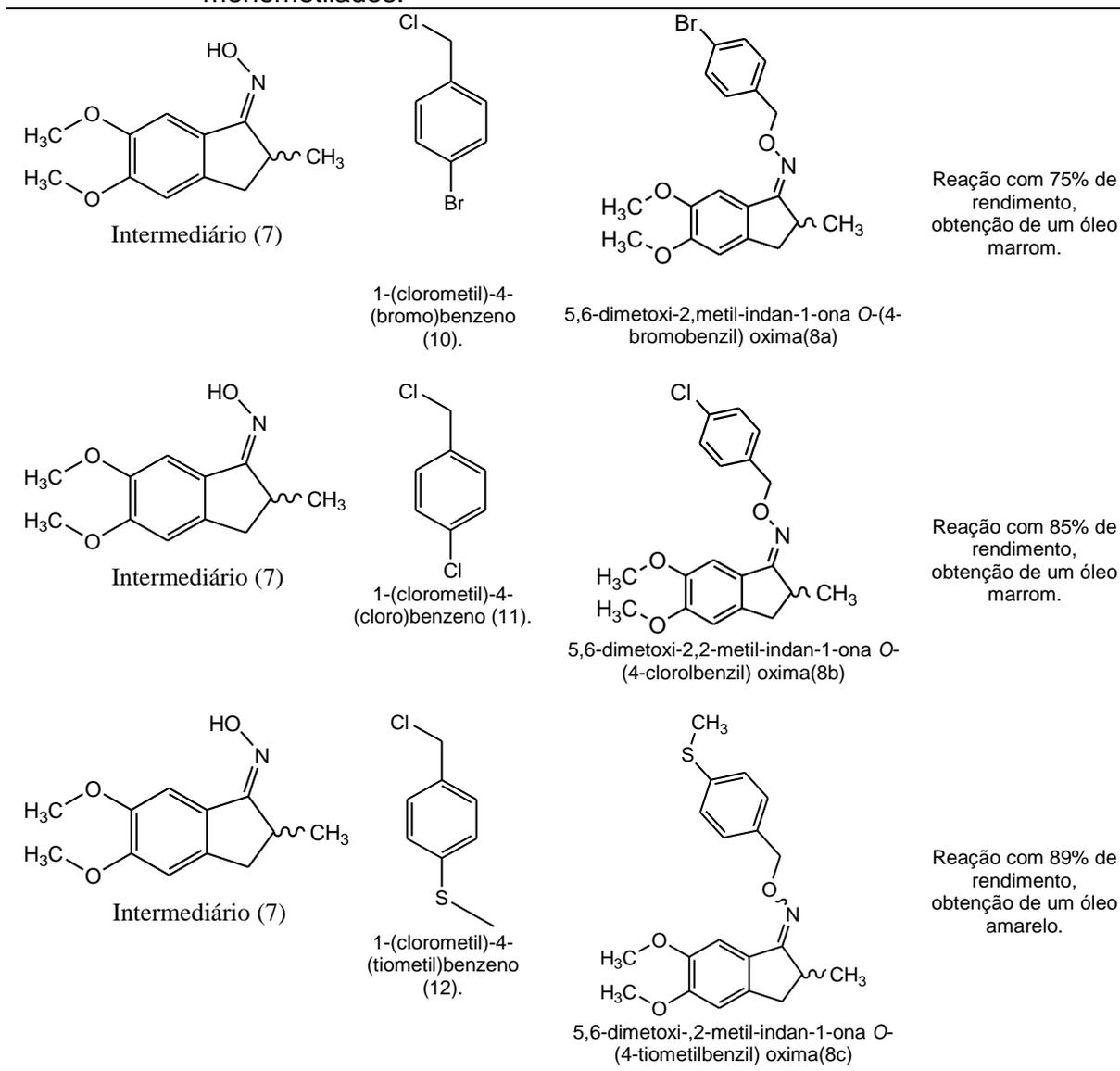


Figura 73 - Esquema representativo da reação de acoplamento com os haletos orgânicos.

As reações foram feitas em solução DMSO/H₂O (8:2) em meio básico (KOH), onde foi adicionado o intermediário (7) para ocorrer a desprotonação e em seguida foram adicionados os haletos. Como representado na tabela 3.

Os produtos obtidos também apresentaram-se na forma de diastereisômeros E/Z que foram identificados inicialmente por cromatografia em camada delgada como os derivados dimetilados. Os hidrogênios presentes no carbono 9 presentes nos RMN ¹H apresentaram-se mais desblindados entre 7,5 e 7,9ppm e menos desblindados 7,0 e 7,3ppm como representados nas figuras a seguir.

Tabela 3 - Representação esquemática de obtenção dos éteres de oxima monometilados.



As figuras a seguir (figura 74,75,76,77,78 e 79) representam os compostos (8a,8b,8c) com seus espectros RMN ^1H e ^{13}C com as tabelas comparativas dos sinais apresentados nos espectros com os respectivos hidrogênios e carbonos.

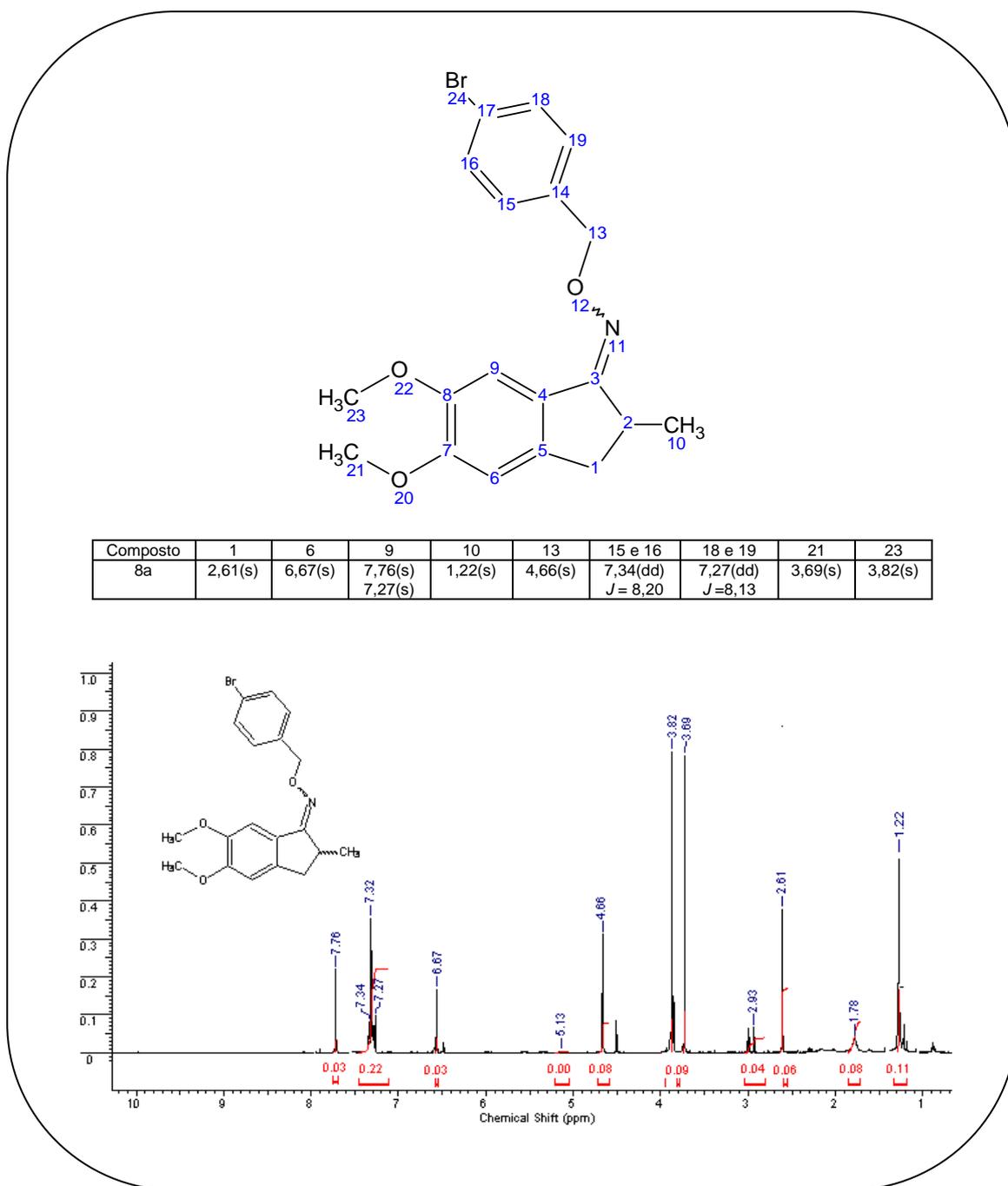


Figura 74 - Composto (8a), sinais do espectro RMN ¹H e tabela comparativa.

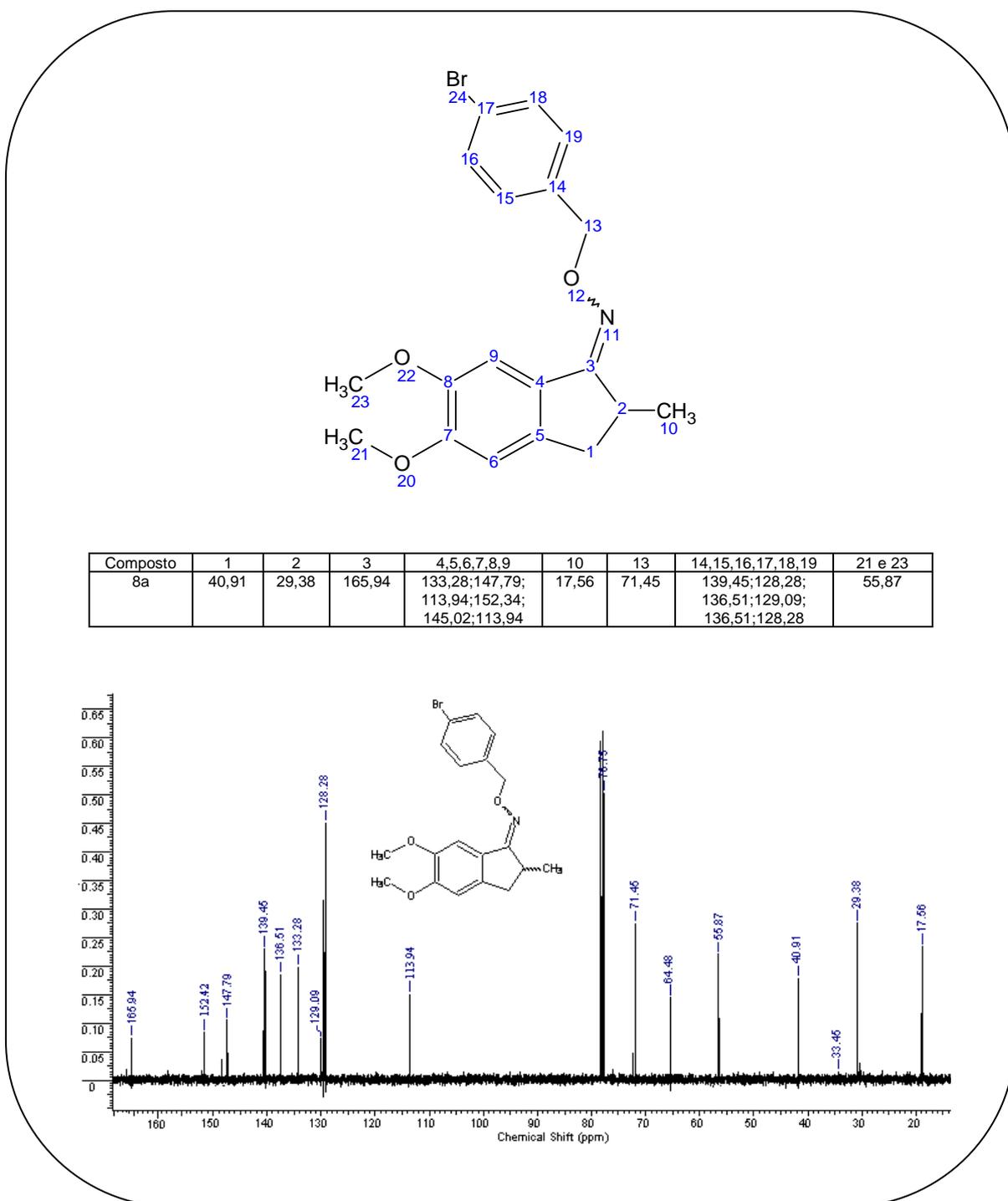


Figura 75 - Composto (8a), sinais do espectro RMN ^{13}C e tabela comparativa.

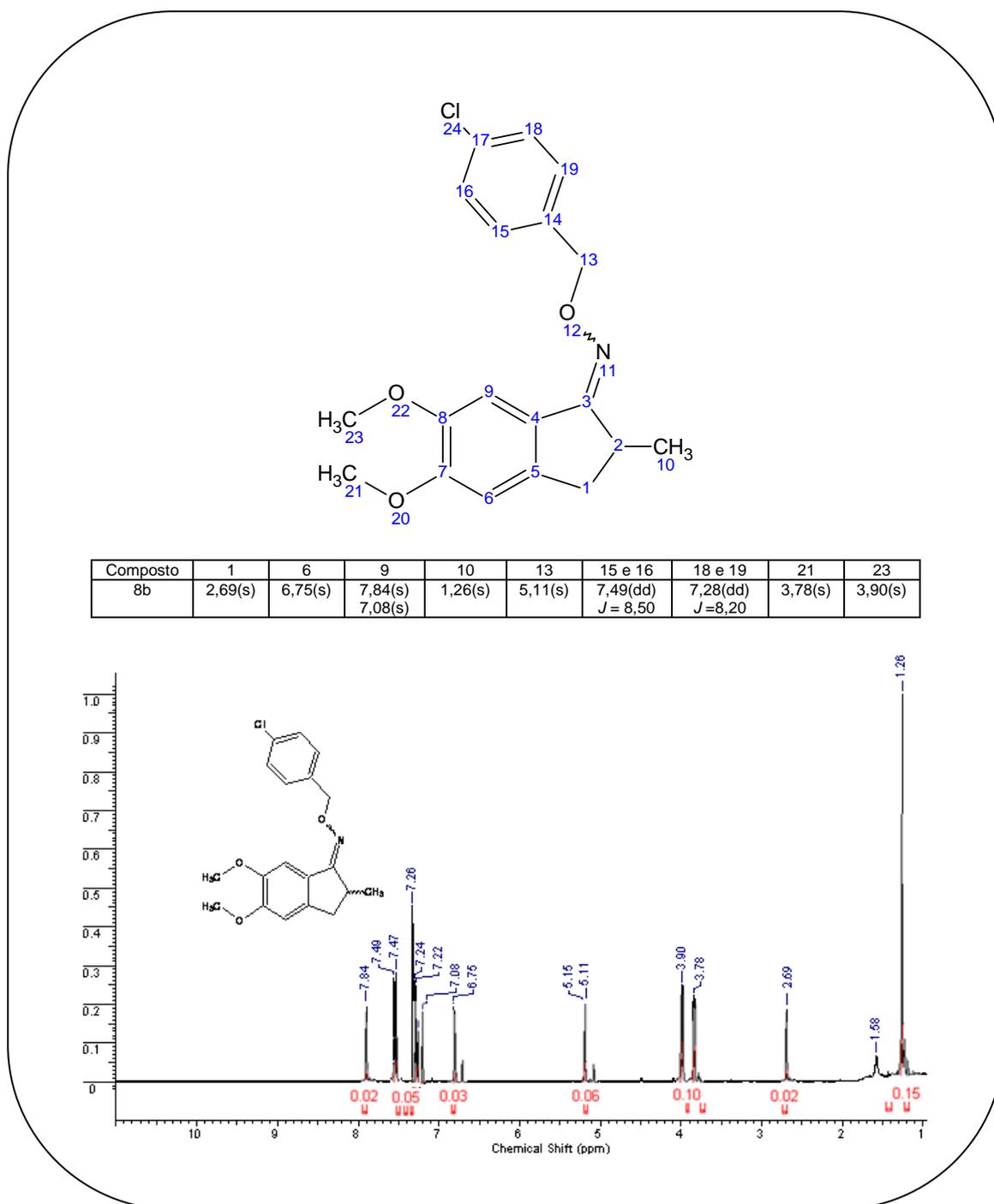


Figura 76 - Composto (8b), sinais do espectro RMN ¹H e tabela comparativa.

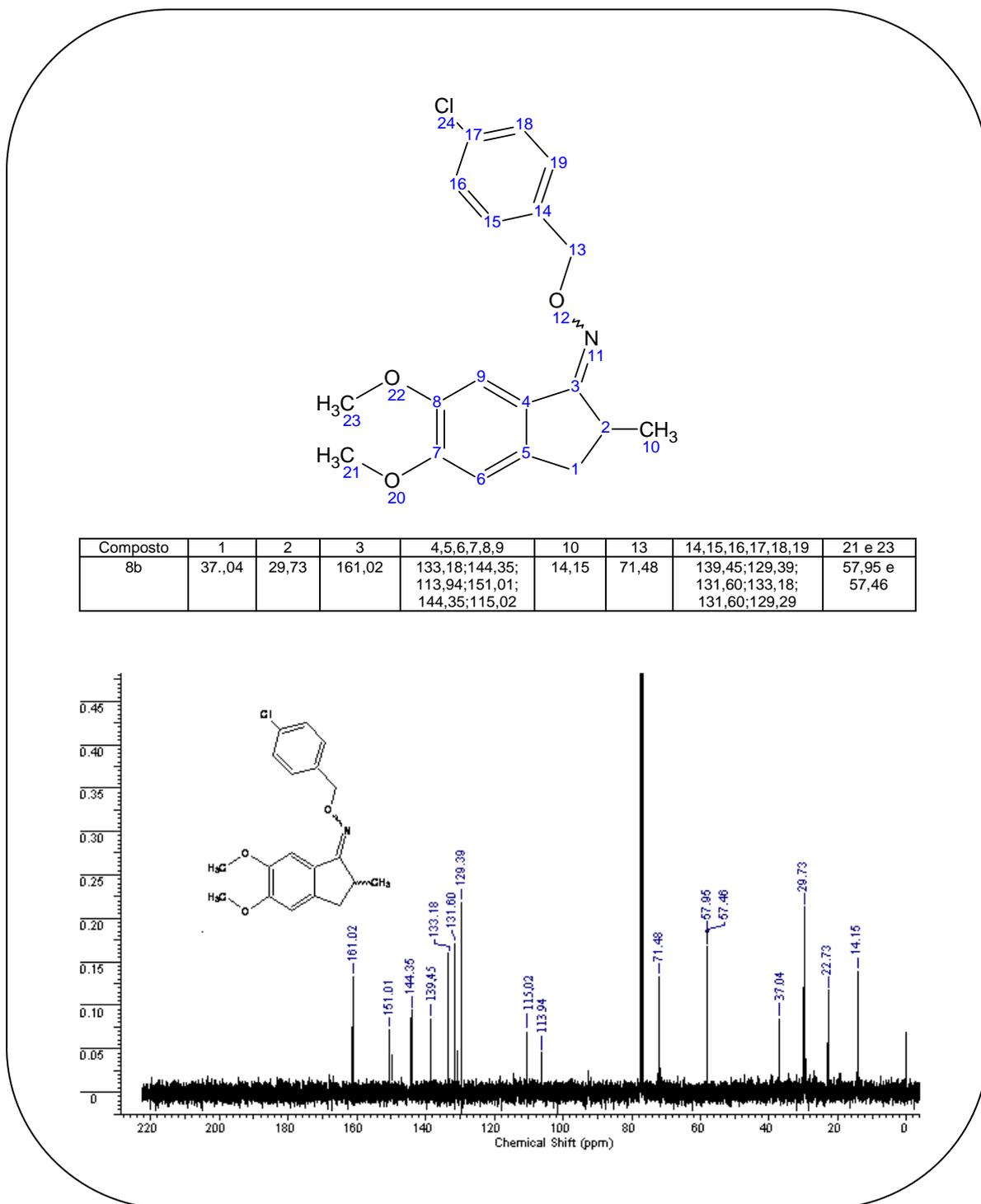


Figura 77 - Composto (8b), sinais do espectro RMN ^{13}C e tabela comparativa.

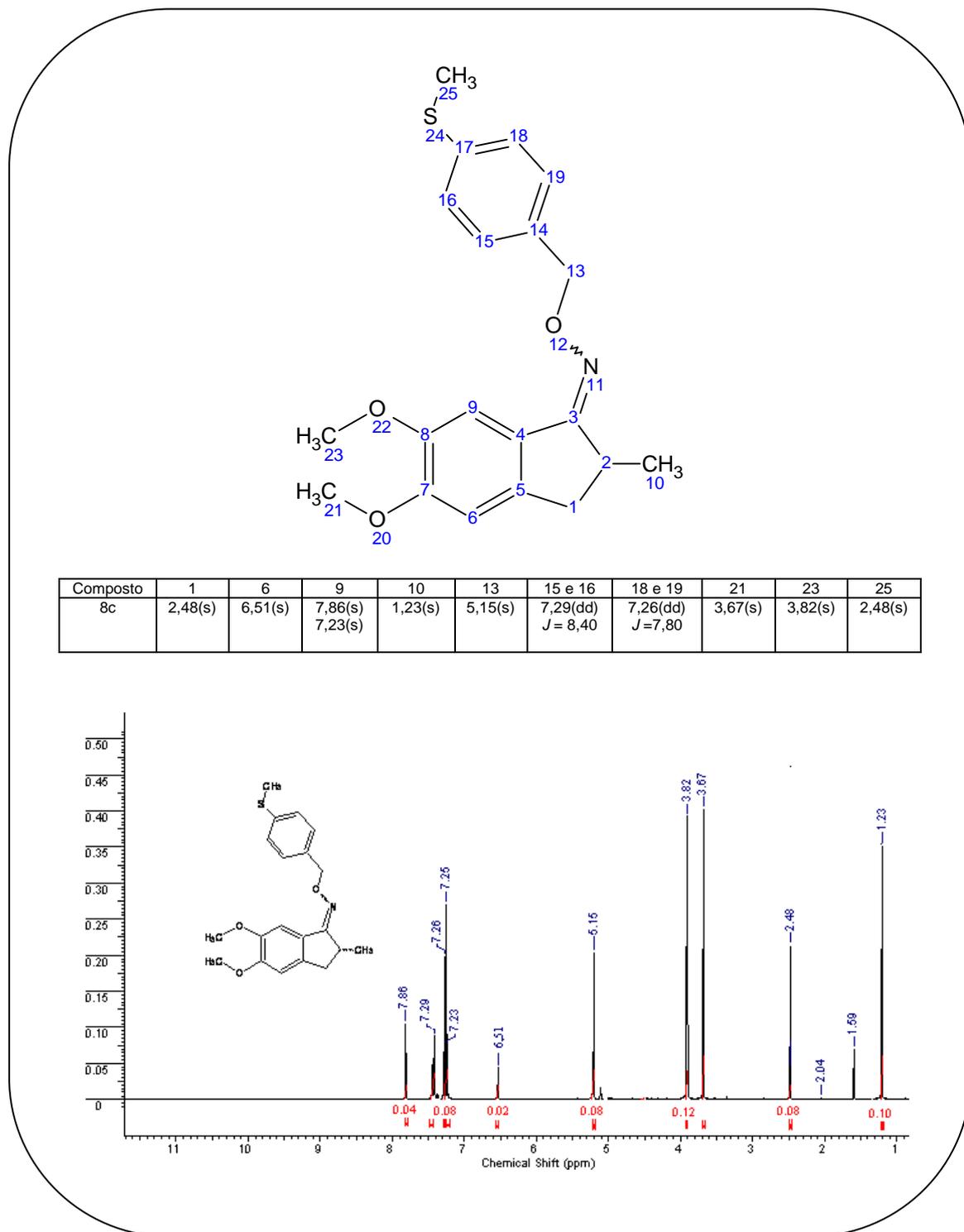
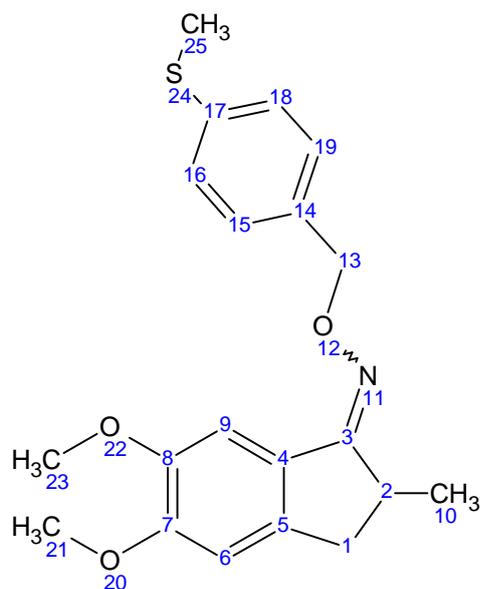


Figura 78 - Composto (8c), sinais do espectro RMN ¹H e tabela comparativa.



Composto	1	2	3	4,5,6,7,8,9	10	13	14,15,16,17,18,19	21 e 23	25
8c	42,48	28,56	165,78	128,64;147,77; 111,94;150,10; 153,72;112,93	16,01	75,80	139,89;128,46; 126,52;135,12; 126,52;128,46	55,90	14,92

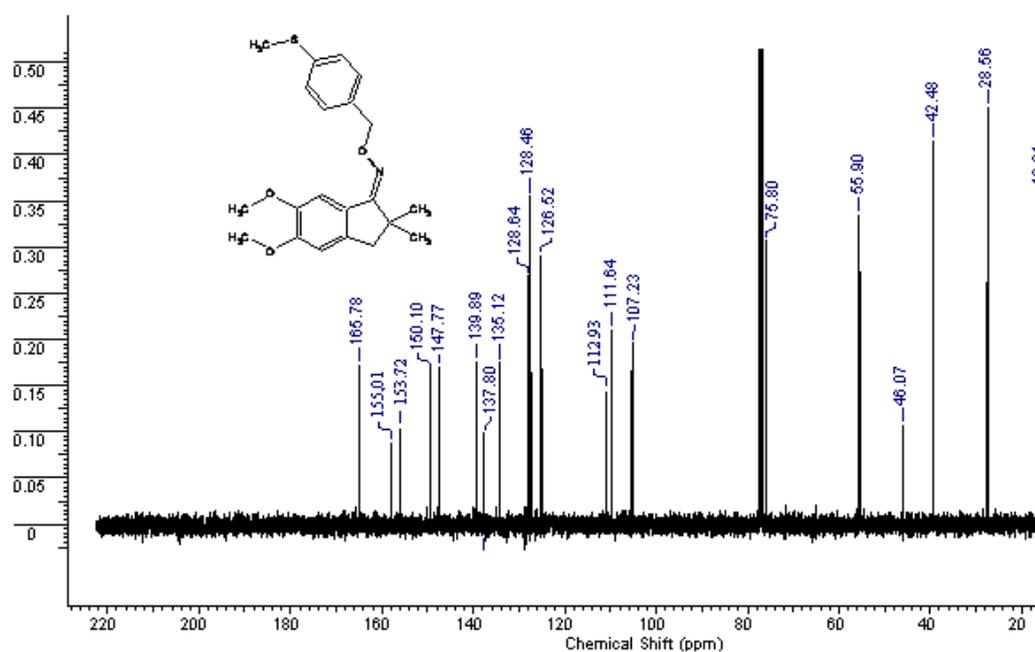


Figura 79 - Composto (8c), sinais do espectro RMN ^{13}C e tabela comparativa.

5.2.3 Reações de transformação do composto 8c

Nessa etapa reacional foram feitas duas diferentes reações de transformação do grupamento metilsulfeto:

5.2.3.1 Transformação do metilsulfeto em metilsulfóxido

Após a obtenção e caracterização do éter de oxima (8c) foi feita a reação de oxidação para a obtenção do grupamento metilsulfóxido. Obtendo os éteres de oxima (8d).

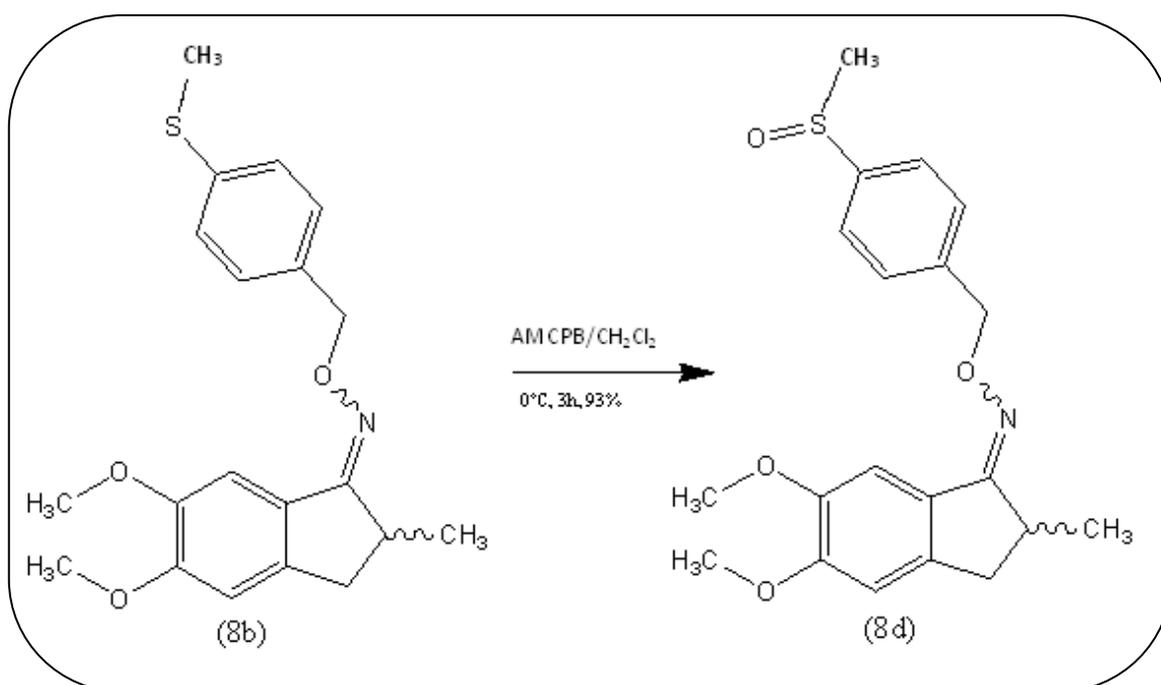


Figura 80 - Esquema representativo da obtenção do composto (8d).

As figuras a seguir (figura 80,81) representam os composto (8d) com seus espectros RMN ¹H e ¹³C com as tabelas comparativas dos sinais apresentados nos espectros com os respectivos hidrogênios e carbonos.

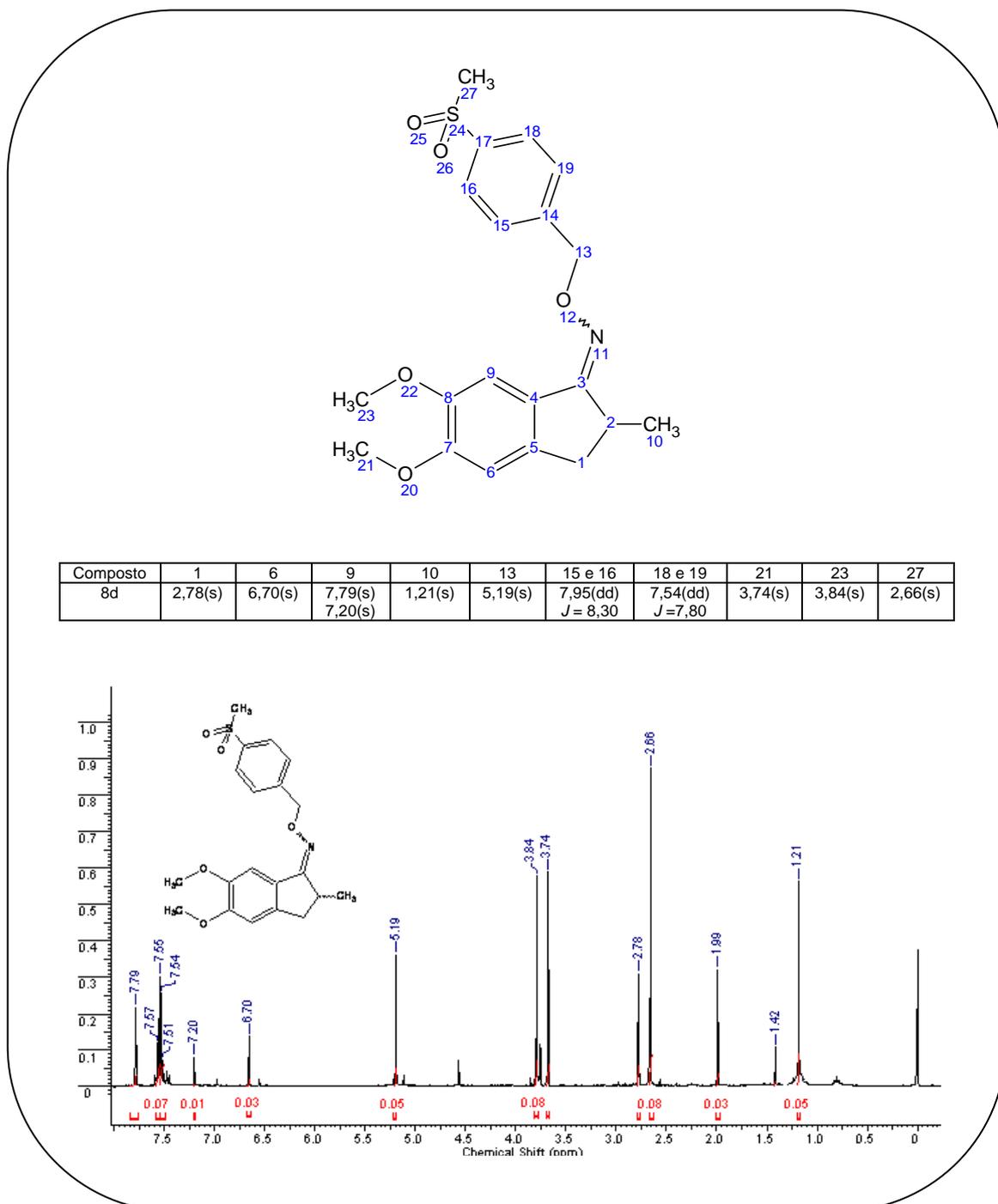
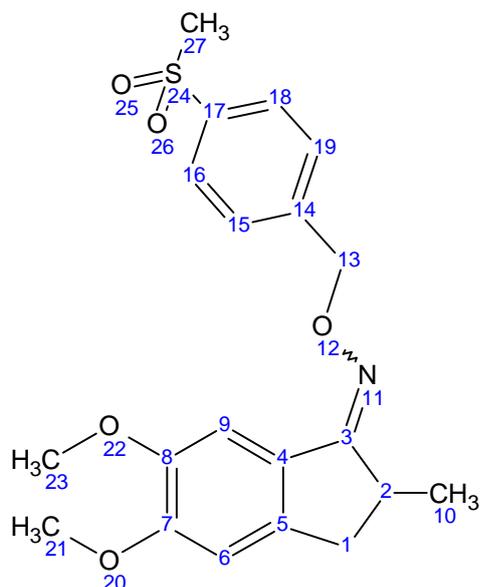


Figura 81 - Composto (8d), sinais do espectro RMN ^1H e tabela comparativa.



Composto	1	2	3	4,5,6,7,8,9	10	13	14,15,16,17,18,19	21 e 23	25
8d	42,48	28,58	166,21	128,64;147,81; 113,59;145,18; 147,81;107,32	16,01	71,61	140,22;126,74; 126,52;129,33; 124,93;126,74	55,98	13,92

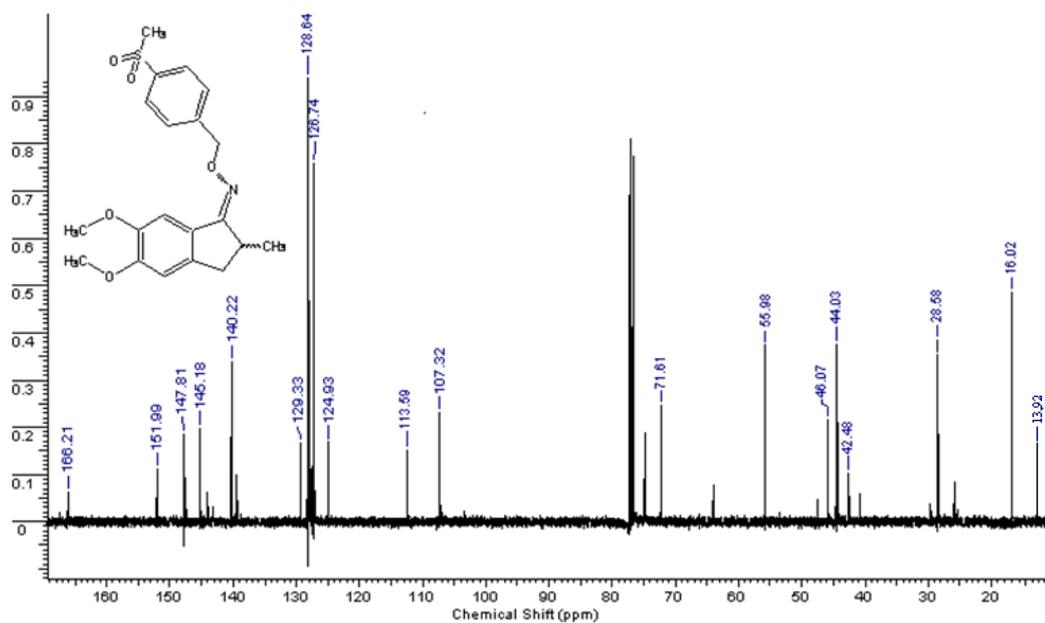


Figura 82 - Composto (8d), sinais do espectro RMN ^{13}C e tabela comparativa.

5.2.3.2 Transformação do metilsulfeto em metilsulfona

Através de uma nova oxidação do metilsulfeto presente no éter de oxima (8c) conseguiu-se obter o éter de oxima (8e) com a presença da metilsulfona

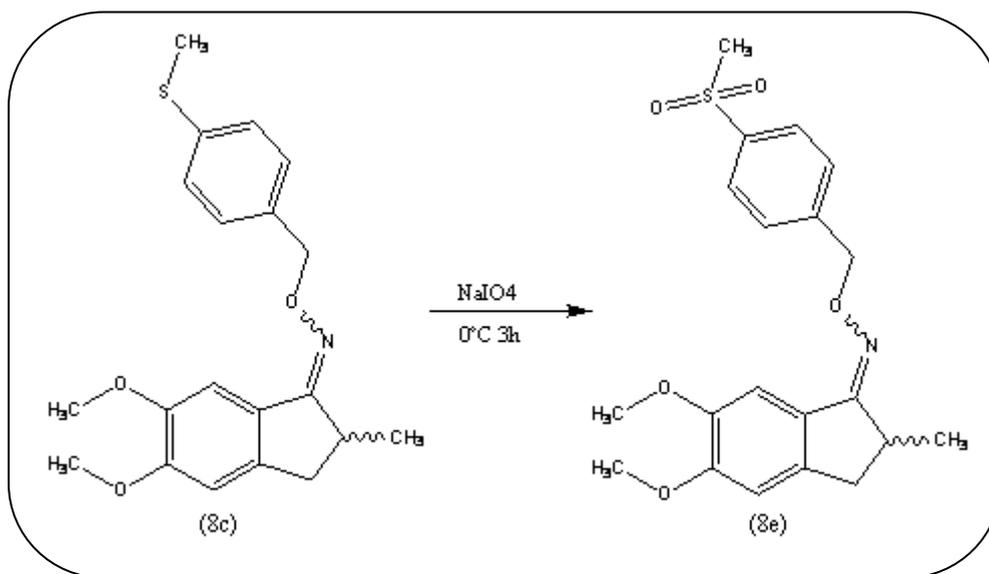
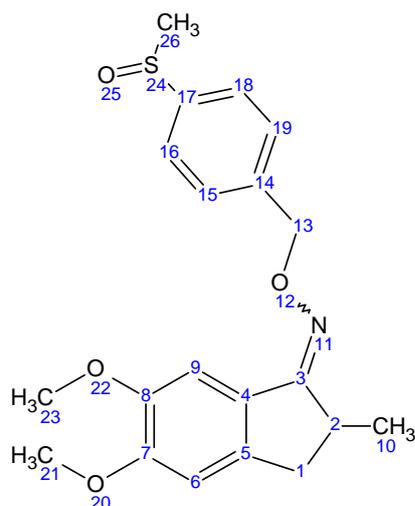


Figura 83 - Esquema representativo para a obtenção do composto (8e)

As figuras a seguir (figura 84,85) representam os composto (8e) com seus espectros RMN ¹H e ¹³C com as tabelas comparativas dos sinais apresentados nos espectros com os respectivos hidrogênios e carbonos.



Composto	1	6	9	10	13	15 e 16	18 e 19	21	23	26
8e	2,97(s)	6,69(s)	7,85(s) 7,20(s)	1,22(s)	5,23(s)	7,83(dd) J = 8,20	7,55(dd) J = 7,60	3,71(s)	3,83(s)	2,64(s)

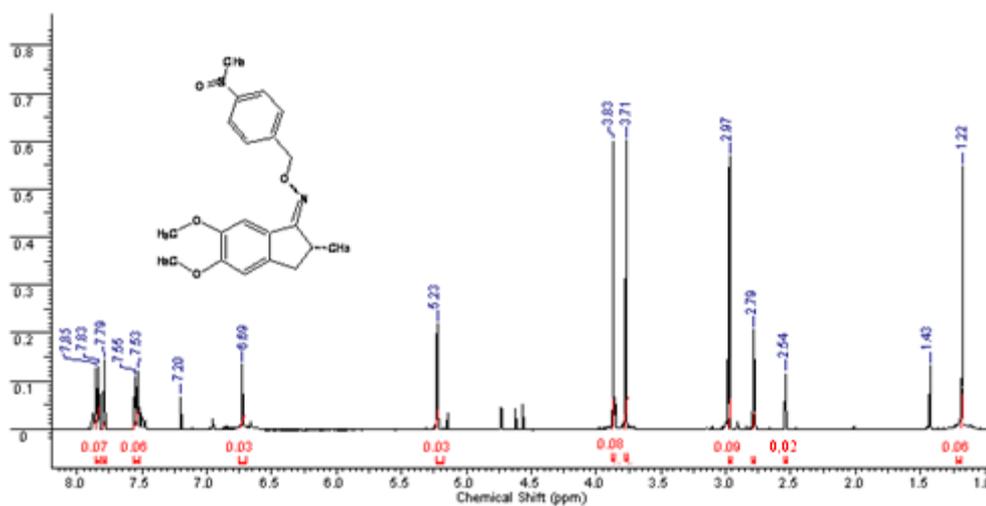
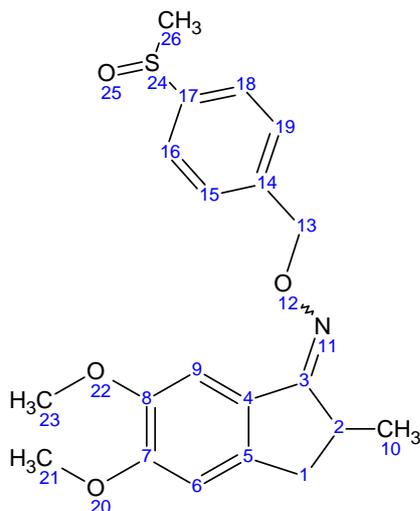


Figura 84 - Composto (8e), sinais do espectro RMN ^1H e tabela comparativa.



Composto	1	2	3	4,5,6,7,8,9	10	13	14,15,16,17,18,19	21 e 23	25
8e	43,18	28,58	163,28	128,64;147,81; 111,47;145,18; 147,81;107,32	16,0 2	74,86	140,22;126,74; 126,52;129,33; 124,93;126,74	55,90	14,56

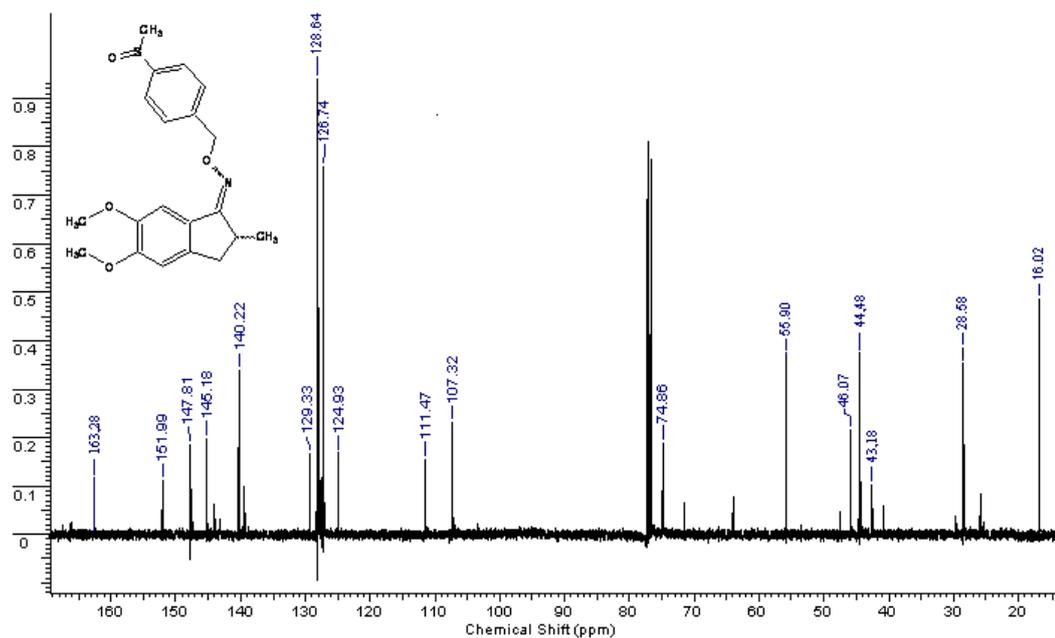


Figura 85 - Composto (8e), sinais do espectro RMN ^{13}C e tabela comparativa.

5.3 ENSAIOS FARMACOLÓGICOS

5.3.1 Avaliação farmacológica da atividade anti-inflamatória

Os ensaios para a determinação de possíveis atividades anti-inflamatórias foram feitos em duas diferentes instituições: No Departamento de Fisiologia e Farmacologia do Centro de Ciências Médicas da Universidade Federal Fluminense sob a supervisão da Profa. Dra. Fernanda Carla Ferreira de Brito e no Departamento de Ciências Fisiológicas do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade Federal de Alfenas coordenado pela pós-doutoranda Dra. Fabiana Vilela.

5.3.1.1 Ensaio de contorções abdominais induzidas por ácido acético

No teste de contorção abdominal o ácido acético (0,6%) foi administrado por via intraperitoneal (ip) uma hora após a administração dos compostos teste. Após a injeção desse agente nociceptivo em ratos ou camundongos, observam-se respostas que consistem em uma sequência de contorções e extensões do abdômen, algumas vezes acompanhada por torções do tronco e extensão dos membros posteriores do animal (WHITTLE, 1964).

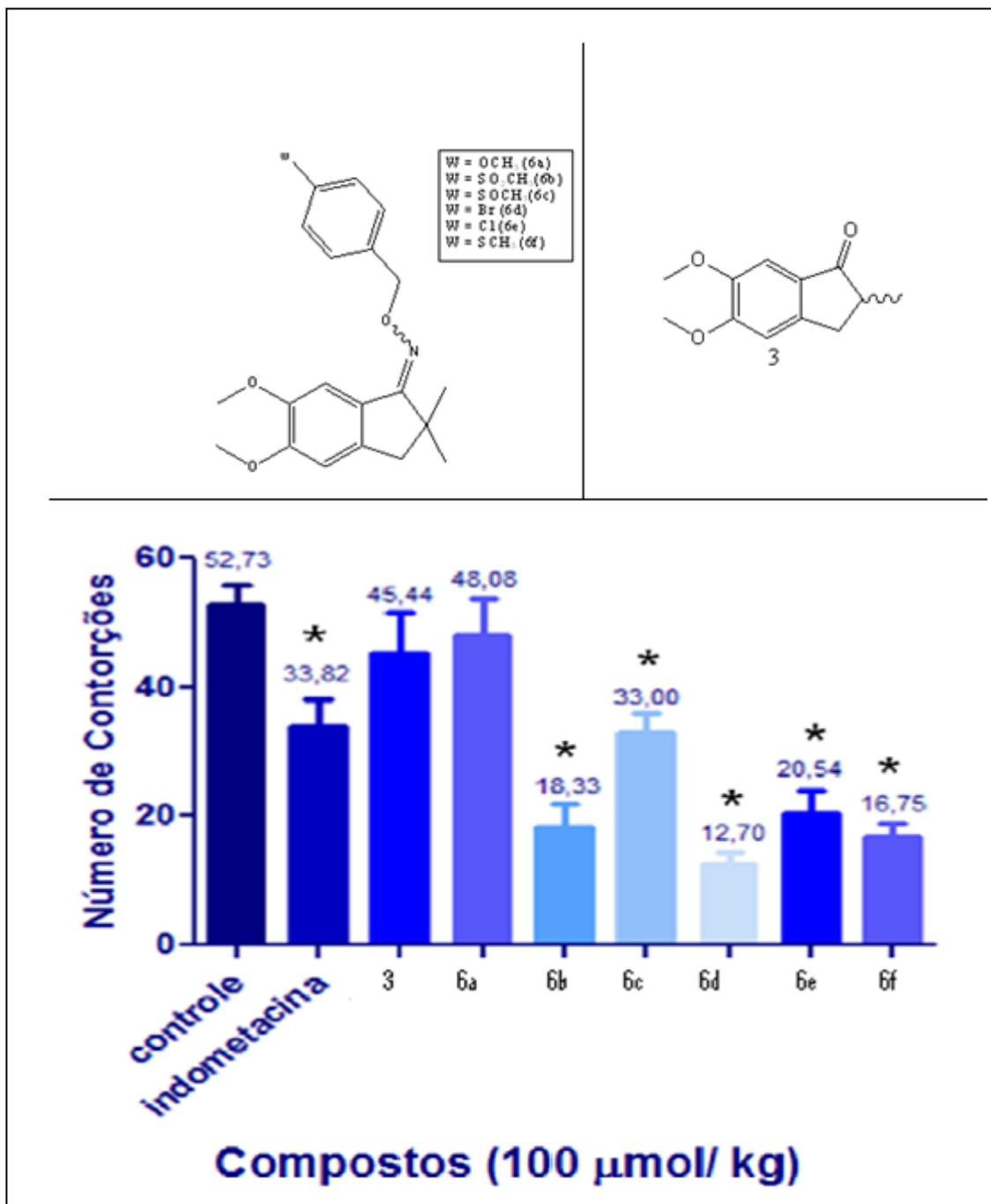


Figura 86 - Avaliação farmacológica dos derivados sintetizados no ensaio de contorções abdominais induzidas por ácido acético. Avaliação do efeito dos compostos éteres de oxima nas contorções abdominais induzidas por ácido acético 0,1N em camundongos suíços. Valores expressos como média \pm erro padrão da média (n = 10-12 animais), Teste "t" de Student, *p<0,05 quando comparado com grupo controle.

Os compostos 6b, 6c, 6d, 6e, 6f, apresentaram uma redução do número de contorções quando comparado com o grupo controle. Como esperado a indometacina também exerceu o mesmo efeito (figura 86).

5.3.1.2 Análise do ID₅₀ no teste de edema de pata induzido por carragenina

A avaliação do ID₅₀ analisou a dose necessária para a inibição de 50% da atividade anti-inflamatória dos compostos sintetizados.

A análise do ID₅₀ foi feita com o objetivo de complementar os estudos de atividades anti-inflamatórias já realizados pelo nosso grupo de estudo e também para comparar com os teste de inibição de contorções abdominais induzidas por ácido acético.

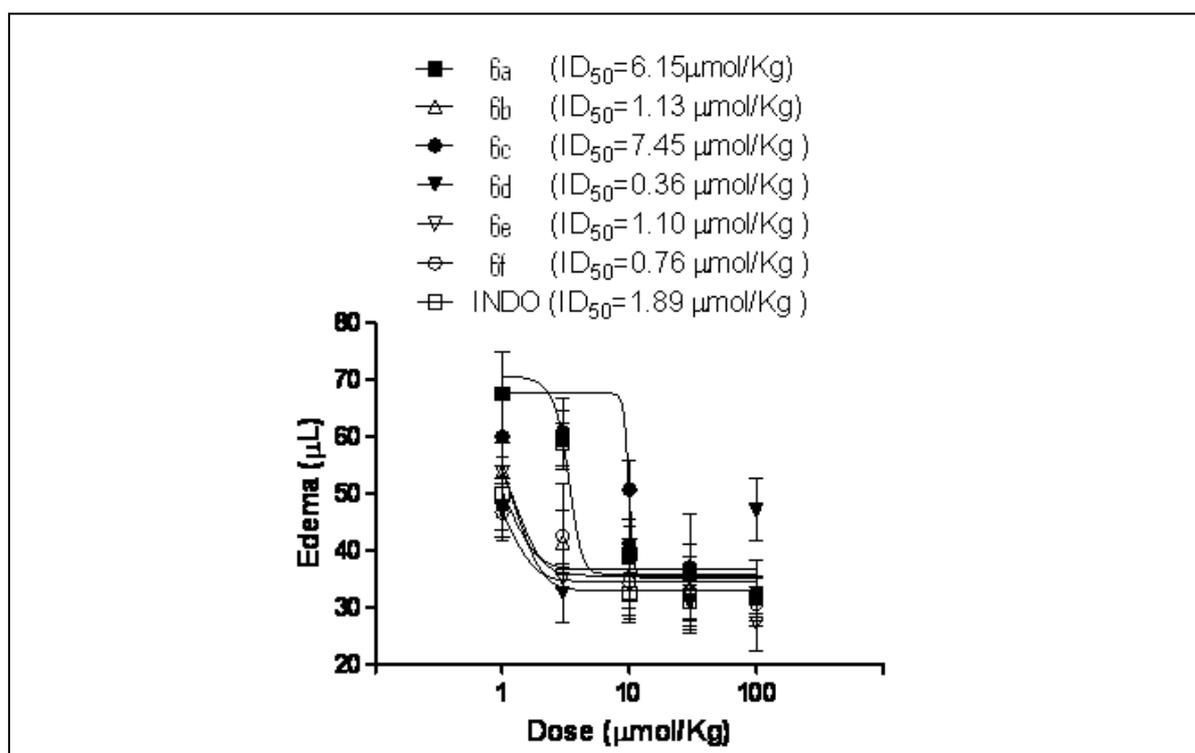


Figura 87 - Gráfico ID₅₀ com os éteres de oxima sintetizados. Os resultados obtidos foram analisados utilizando um software GraphPad versão 5.0 e expressos como média ± erro padrão da média (EPM). Para o cálculo da ID₅₀ foi realizada regressão não linear.

Analisando o gráfico apresentado (figura 87) observa-se que os compostos 6b, 6d, 6e, 6f tiveram um ID₅₀ inferior ao ID₅₀ padrão utilizado (indometacina). Este resultado reforça o resultado de inibição das contorções induzidas pelo ácido acético destas substâncias, indicando um grande poder anti-inflamatório.

Foi observado que os compostos que possuem menor ID₅₀ (6b, 6d, 6e e 6f) foram os compostos que apresentaram maior inibição no número de contorções abdominais.

Comparando os ensaios de inibição de contorções abdominais induzidas por ácido acético e a análise do ID₅₀ no teste de edema de pata induzido por carragenina verifica-se que os compostos que produziram maior inibição das contorções abdominais foram os que possuíram menor ID₅₀, como mostrado na tabela abaixo:

Tabela 4 - Tabela comparativa entre as atividades dos compostos para os ensaios de contorções abdominais e análise de ID₅₀.

Substância	Nº Contorções Abdominais	ID ₅₀ (µmol/kg)
Controle	52,73	-
Indometacina	33,82	1,89
6b	18,33	1,13
6d	12,70	0,36
6e	20,54	1,10
6f	16,75	0,76

Analisando os ensaios pode-se observar que os compostos presentes na tabela acima apresentaram atividades analgésicas e anti-inflamatórias quando comparados ao controle e a indometacina.

5.3.1.3 Avaliação do efeito dos compostos éteres de oxima na agregação plaquetária

Fármacos com atividades anti-inflamatórias e analgésicas, como os salicilatos, possuem também atividade anti-agregante plaquetária. O ácido acetilsalicílico (AAS) inibe irreversivelmente a enzima cicloxigenase impedindo a formação de tromboxano A₂(TXA₂) nas plaquetas ativadas no processo de coagulação (HAMILTON, 2008). Por essa razão foram feitos os ensaios para verificar a possível atividade anti-agregante plaquetária dos éteres de oxima sintetizados. Outra classe de fármaco representada pelo clopidogrel possui mecanismo de ação diferenciado do ácido acetilsalicílico, pois inibe seletivamente a ligação do difosfato de adenosina (ADP) promovendo a inibição da agregação (GOODMAN, 2010).

Observando esses dois mecanismos distintos de ação foram utilizados dois agonistas de agregação plaquetária para a avaliação: o colágeno e o ADP.

O colágeno é o componente mais trombogênico da matriz subendotelial. Ele

se liga a seus receptores específicos na superfície plaquetária, para promover a adesão, ativação e agregação plaquetária no local da lesão vascular (SURIN, 2007). O difosfato de adenosina (ADP) foi reconhecido como indutor da agregação plaquetária no início da década de 1960. Embora seja um fraco agonista plaquetário, ele exerce uma função chave na agregação plaquetária porque, uma vez secretado dos grânulos densos, amplifica a ativação plaquetária induzida por outros agonistas, inclusive pelos agonistas fracos como: serotonina, epinefrina e quimiocinas (GACHET, 2001).

A avaliação do efeito dos compostos éteres de oxima na agregação plaquetária foi induzida por colágeno 5 µg/mL e ADP 5 µM em ratos Wistar.

Todos os ensaios foram utilizados os compostos nas concentrações 100 µM e 300 µM.

Tabela 5 - Resultados sobre a inibição da agregação plaquetária induzida por ADP ou colágeno.

Grupo	Concentração	N	ADP 5µM (%inibição)	Colágeno 5µg/mL (%inibição)
DMSO	100 µM	5	-	-
	300 µM	5	-	-
3	100 µM	5	23,7	-14,6
	300 µM	5	8,3	16,6
6a	100 µM	5	36,0	15,9
	300 µM	5	8,7	33,5*
6b	100 µM	5	23,7	7,3
	300 µM	5	7,9	42,1*
6c	100 µM	5	-6,8	-10,7
	300 µM	5	5,7	50,6*
6d	100 µM	5	-3,2	-8,2
	300 µM	5	10,0	32,5*
6e	100 µM	5	-9,0	-9,4
	300 µM	5	3,7	21,9
6f	100 µM	5	23,7	14,4
	300 µM	5	7,3	34,7*

Avaliação do efeito dos compostos éteres de oxima na agregação plaquetária induzida por colágeno 5 µg/mL e ADP 5 µM em PRP de ratos wistar. Valores expressos como média ± erro padrão da média (n = 5), teste "t" de student, *p<0,05 quando comparado com grupo controle.

O composto 3, na concentração de 300 µM, apresentou uma inibição de 16% frente ao colágeno e na concentração de 100 µM apresentou uma inibição de 23,7% frente ao agonista ADP. O composto 6a na concentração de 100 µM apresentou uma inibição de agregação plaquetária de 36% frente ao agonista ADP e apresentou uma

inibição de 33,5% na concentração de 300 μ M frente ao agonista colágeno. O composto 6b apresentou uma inibição na concentração de 300 μ M de 42,1% frente ao colágeno e na concentração de 100 μ M uma inibição de 23,7% frente ao agonista ADP. O composto 6c apresentou uma inibição mais significativa na concentração de 300 μ M promovendo uma inibição de 50,6% de agregação frente ao colágeno. O composto 6e apresentou na concentração de 300 μ M uma inibição de 21,9% frente ao agonista colágeno e o composto 6f apresentou na concentração 300 μ M uma inibição de 34,7% frente ao colágeno.

O composto 6a apesar de não ter apresentado redução significativa do número de contorções abdominais em camundongos apresentou atividade de inibição de agregação plaquetária na concentração de 300 μ M frente ao agonista de agregação plaquetária colágeno e uma inibição de 36% na concentração 100 μ M frente ao agonista ADP.

Os compostos 6b, 6d e 6f apresentaram inibição da agregação plaquetária frente ao agonista colágeno, significativa inibição das contorções abdominais quando comparados ao controle no ensaio de contorções abdominais induzidas por ácido acético e ID_{50} de pequeno valor quando comparados aos grupos controle no teste de edema de pata induzido por carragenina.

6 CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS

Os ensaios farmacológicos realizados confirmaram a ação anti-inflamatória e analgésica.

Os ensaios para a avaliação da possível ação anti-agregante plaquetária dos éteres de oxima sintetizados demonstrou uma significativa inibição de agregação dos compostos 6a, 6b, 6c, 6d e 6f na concentração de 300 μ M frente ao agonista colágeno e do composto 6a na concentração de 100 μ M frente ao agonista ADP. Testes adicionais deverão ser realizados com outros agonistas de agregação plaquetária como o ácido araquidônico e usando como controle fármacos de referência como o ácido acetilsalicílico e o clopidogrel com o objetivo de estabelecer de maneira confiável seus possíveis mecanismos de ação.

A confirmação das atividades anti-inflamatórias e analgésicas abre perspectivas para o prosseguimento e aprofundamento dos estudos desses compostos; como ensaios para avaliar as atividades desses compostos em animais de maior porte.

Os compostos (6a, 6b, 6c, 6d e 6f) ainda estão sendo testados para comprovar outros diferentes efeitos anti-inflamatórios e analgésicos. Quando os testes finalizarem nosso grupo de estudo se concentrará na publicação de seus resultados. Nosso grupo de estudo sintetizou e padronizou uma nova série de éteres de oxima, abrindo perspectiva para sintetizar uma maior quantidade para submetê-los a ensaios farmacológicos para a análise de seu possível potencial anti-inflamatório.

7 PARTE EXPERIMENTAL

7.1 GENERALIDADES

Todas as etapas sintéticas foram feitas no Laboratório de Fitoquímica e Química Medicinal (LFQM) da Universidade Federal de Alfenas (UNIFAL-MG).

Os espectros de Ressonância Magnética Nuclear (RMN) unidimensional foram registrados em um espectrômetro da marca Bruker AVANCE-400 do Instituto de Química da Universidade Federal de São Carlos (UFSCAR) operando a 400 MHz para hidrogênio (RMN de ^1H) e 100 MHz para carbono (RMN de ^{13}C). As amostras foram solubilizadas em solvente deuterado (CDCl_3), utilizando como referência interna o TMS (Tetrametilsilano). Os valores de deslocamento químico são dados em ppm (parte por milhão) e as constantes de acoplamentos J em Hertz (Hz). As áreas dos picos foram obtidas por integração eletrônica.

Espectros na região do infravermelho (IV) foram registrados em aparelho da marca Shimadzu modelo Prestig-21 acoplado a um microcomputador munido de software IR solution, do LABIQ (Laboratório Interdisciplinar de Química) da Universidade Federal de Alfenas (UNIFAL-MG). As análises foram feitas em pastilhas de brometo de potássio (KBr) e as absorções expressas em números de ondas (cm^{-1}).

A medida da faixa de fusão foi obtida em graus Celsius ($^{\circ}\text{C}$) e determinada em equipamento Marte (PFM II). A amostra foi triturada e empacotada em tubo capilar para registrar o valor de temperatura da primeira evidência visível até a completa fusão ou decomposição do sólido. A determinação foi feita em triplicata.

Para cromatografia em camada delgada (CCD) foram utilizadas cromatofolhas de sílica gel, UV254, na espessura de $0,2\ \mu\text{m}$ e em suporte de alumínio, nas dimensões necessárias para cada caso e utilizando n-hexano/acetato de etila como mistura de eluente, variando-se a proporção.

As visualizações das substâncias foram realizadas em lâmpada de U.V nos seguintes comprimentos de onda: 254-365 nm.

Para a remoção dos solventes, utilizou evaporador rotatório da marca (Ika[®]-Werke, modelo HB4 basic e/ou Heidolph, modelo Laborata 4000) em banho-maria com temperatura inferior a $50\ ^{\circ}\text{C}$.

Os solventes e reagentes utilizados foram de grau P.A, e quando se fez necessário houve uma secagem de solventes, conforme o método abaixo:

- N,N*-Dimetilformamida (DMF): agitação por 48 horas juntamente com uma mistura 50:50 (m/m) de sulfato de sódio (Na_2SO_4) e sulfato de magnésio (MgSO_4), ambos anidros;
- tetrahidrofurano (THF): refluxado exaustivamente com sódio metálico e benzofenona sendo destilado posteriormente.

7.2 OBTENÇÃO DO 4-ALIL-1,2-DIMETOXIBENZENO (1)

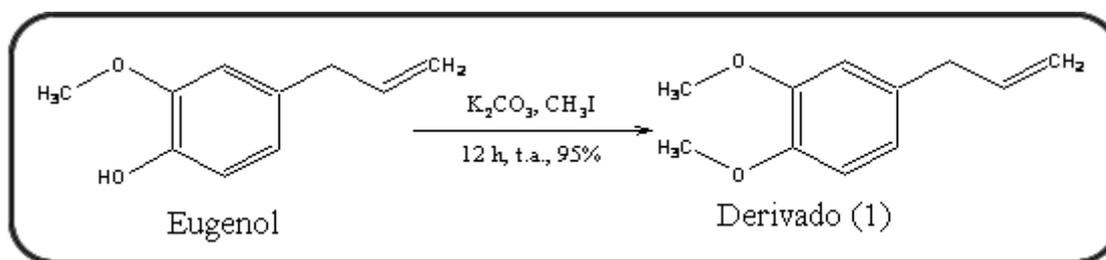


Figura 88 - Obtenção do intermediário (1) (4-alil-1,2-dimetoxibenezeno).

Em um balão monotubulado de 250 mL foram adicionados eugenol (6 g, 36,36 mmol), K_2CO_3 (15,45 g, 111,9 mmol) e CH_3I (15,75 g, 110,8 mmol) em acetona (55 mL) a temperatura ambiente por 12 horas. Decorrido este tempo, adicionou-se água (50 mL) ao meio reacional, que em seguida foi lavado com diclorometano (4 x 15 mL). A fase orgânica foi lavada com solução saturada de NaCl , seca com Na_2SO_4 anidro, filtrada e concentrada em evaporador rotatório sobre pressão reduzida, fornecendo um óleo caramelo em 92% de rendimento. (BEZERRA-NETO, 2006).

7.3 ISOMERIZAÇÃO 4-ALIL-1,2-DIMETOXIBENZENO

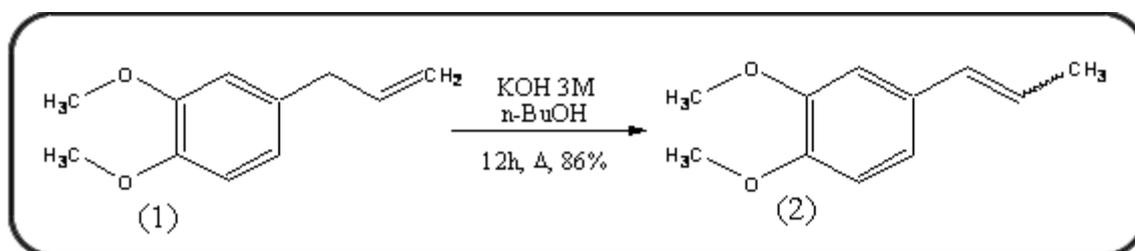


Figura 89 - Obtenção do intermediário estirênico (2) (1,2-dimetoxi-4-(prop-1-enil)benzeno).

Em um balão monotubulado de 250mL acoplado a um condensador, foram adicionados 5,98g (33,34mmol) de (1), 25mL de solução KOH/n-BuOH 3M em uma temperatura de 125°C por 12h. Decorrido o tempo, foram adicionados 50mL de água ao meio reacional, sem seguida, foi feita a neutralização com solução 20% (v/v) de HCl. Feita a neutralização, a solução foi colocada em um funil de separação e extraída com diclorometano (4 x 25mL); em seguida a fase orgânica foi lavada com solução saturada de NaCl, seca com Na₂(SO₄), filtrada e seca em rotavapor. O produto final foi um óleo viscoso marrom claro com 95% de rendimento (SANTOS, R; 2006).

7.4 OBTENÇÃO DO DERIVADO INDANÔNICO: 2,3-diidro-5.6-dimetoxi-2-metilindan-1-ona (3)

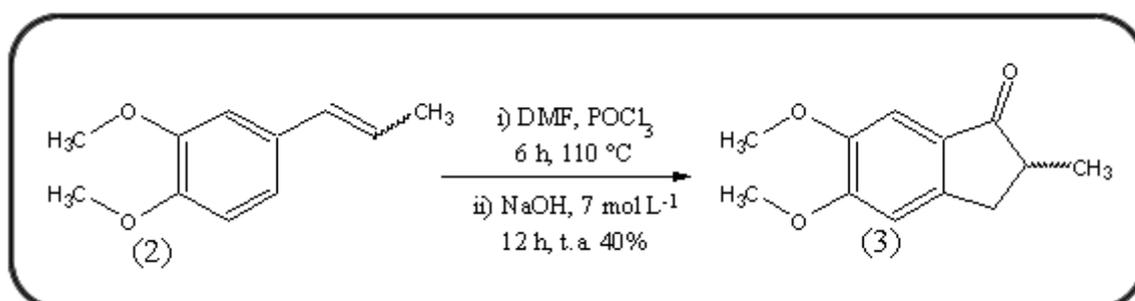


Figura 90 - Obtenção do intermediário (3) (5.6-dimetoxi-2-metilindan-1-ona).

A reação foi feita utilizando um balão bitubulado de 100mL acoplado a um condensador em atmosfera de nitrogênio, em seguida foram adicionados DMF anidro (8,2mL) e o POCl₃ (2,10mL) em banho de gelo sobre agitação. Esperou-se 30 minutos até a solução ficar com uma coloração característica (salmão), em seguida

foi adicionado 5,67g (31,77mmol) de (2) e elevada a temperatura até 118 °C mantendo sob agitação por 6 horas. Após o meio reacional foi transferido para um balão de 500mL contendo água e gelo; em seguida o pH do meio foi elevado para 10 através de solução NaOH 7M e mantido sobre agitação por 12 horas em temperatura ambiente. Decorrida as 12 horas o pH do meio foi neutralizado com solução de HCl 20%. Posteriormente a fase orgânica foi lavada com solução saturada de NaCl e seca com Na₂SO₄ anidro, filtrada e concentrada em rotavapor. O produto obtido foi purificado em coluna cromatográfica flash eluída em solução (hexano/acetato 30%) fornecendo um resíduo sólido amarelo com P.F 138 – 141°C, com 28% de rendimento (SANTOS, R; 2006).

7.5 OBTENÇÃO DO 5,6-DIMETOXI-2,2-DIMEILINDAN-1-ONA (4)

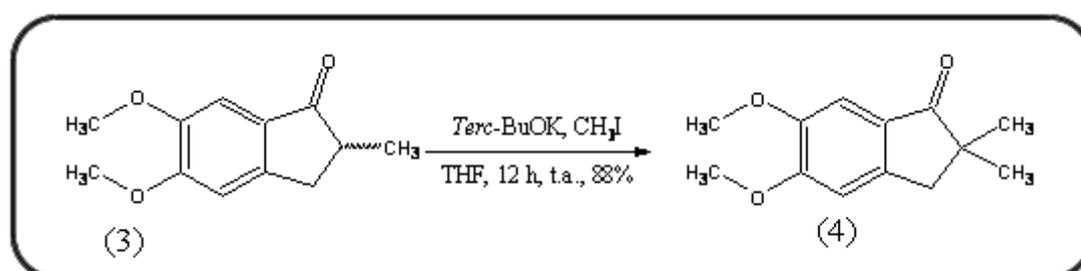


Figura 91 - Obtenção do intermediário (4) (5,6-dimetoxi-2,2-dimetilindan-1-ona).

Em um balão de 100mL foram adicionados 2,72g (24,12mmol) de *terc*-BuOK solubilizados em 50mL de tetraidrofurano, em seguida foram colocados 1,83g (8,89mmol) de (3), após 30 minutos, foram adicionados 4,5g (32,16mmol) de iodeto de metila (CH₃I); a reação permaneceu em agitação magnética por 12 horas em temperatura ambiente. Passado o tempo reacional, o solvente (THF) foi retirado em rotavapor com pressão reduzida, obtendo um resíduo sólido ao qual foram adicionados 70mL de água. Em seguida o pH foi ajustado para 7 com solução 20% (v/v) de HCl, em seguida o resíduo foi lavado com solução saturada de NaCl e seca com Na₂SO₄, filtrada e concentrada em rotavapor a pressão reduzida. O resíduo obtido foi purificado em coluna cromatográfica flash onde foi utilizado eluente (hexano/acetato 30%) fornecendo um sólido branco (4) com faixa de fusão 92-94°C com rendimento de 92%. Foi obtido 1,8g(8,18mmol) de (4) (Figura 74) (RANU, B. C; JANA, U; 1999 adaptado).

7.6 OBTENÇÃO DO INTERMEDIÁRIO OXÍMICO (5)

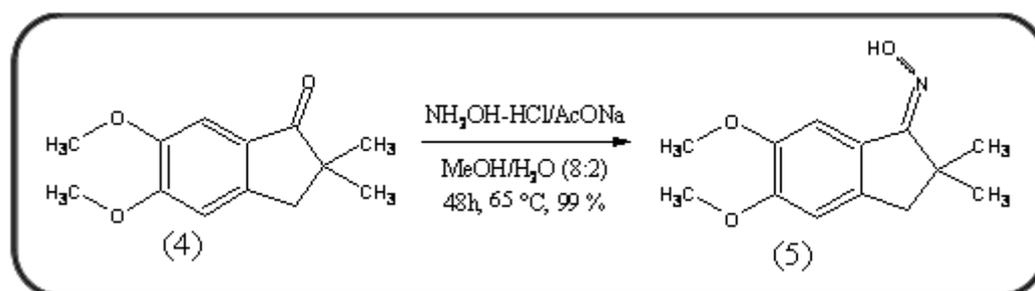


Figura 92 - Obtenção do intermediário (5) (1-hidroxi-5,6-dimetoxi-2,2-dimetilindan-1-imine).

Em um balão monotubulado de 100mL foram adicionados o derivado (4) (1,8g;8,18mmol), AcONa (5,25g, 62,5mmol), NH₂OH.HCl (4,52g; 62,5mmol), 20mL de solução MeOH/H₂O (8.2, v/v). O balão foi adaptado a um condensador de refluxo e colocado para agitação magnética por 48 horas a uma temperatura de 65°C. Decorrido o tempo reacional adicionou-se 40mL de água ao meio reacional. Em seguida, a mistura foi transferida para um funil de separação e extraída com diclorometano (4 x 15mL). A fase orgânica foi lavada com solução saturada de NaCl, seca com Na₂SO₄ anidro, filtrada e o solvente eliminado em rotavapor. O resíduo sólido foi purificado em coluna cromatográfica *flash* utilizado-se eluente

hexano/acetato (30%) o que forneceu um sólido de coloração marrom com um rendimento de 97% (GOPALSAMY, A; 2006 adaptado).

7.7 PROCEDIMENTO GERAL PARA A PREPARAÇÃO DOS ALCOÓIS BENZÍLICOS (7 E 8)

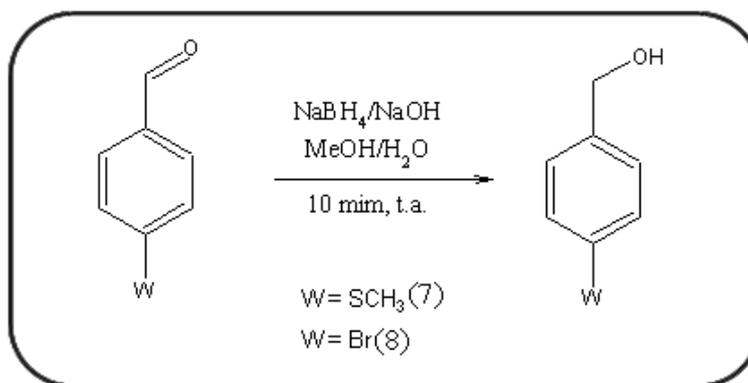


Figura 93 - Redução do grupamento aldeído.

Em um balão monotubulado de 50 mL foram adicionados o respectivo aldeído (1,97 mmol), NaBH_4 (0,11 g; 2,95 mmol) solubilizado em MeOH (5 mL) e em seguida NaOH (2 mL) (20% m/v). Após análise por CCD e verificação do fim da reação, adicionou-se água (30 mL) ao meio reacional, que em seguida foi extraído com diclorometano (4 x 15 mL). A fase orgânica foi lavada com solução saturada de NaCl, seca com Na_2SO_4 anidro, filtrada e concentrada em evaporador rotatório (GABRIEL, A. J. A; et al; 2000 adaptado).

Álcool 4-(tiometil) benzílico (7)

Este derivado foi obtido em 98% de rendimento, pela redução do 4-tiometilbenzaldeído, na forma de um sólido branco (P.F 40-43 °C).

Álcool 4-bromobenzílico (8)

Este derivado foi obtido em 95% de rendimento, pela redução do 4-bromobenzaldeído, na forma de um sólido branco (P.F 75-78 °C).

7.8 PROCEDIMENTO GERAL PARA PREPARAÇÃO DOS HALETOS BENZÍLICOS (9, 10, 11, 12)

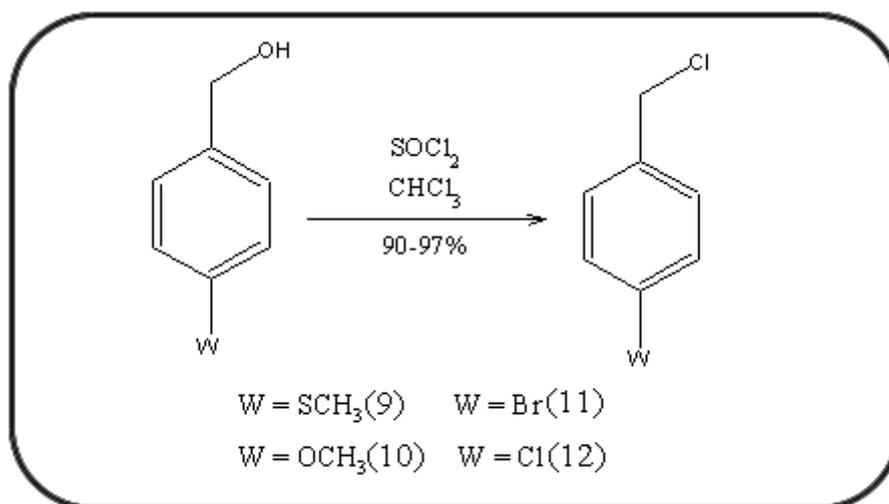


Figura 94 - Cloração da hidroxila

Em um balão monotubulado de 50 mL foram adicionados (1,97 mmol) dos respectivos alcoóis solubilizados em clorofórmio (5 mL). Em seguida, adicionou-se SOCl_2 (3 mL) e o meio reacional permaneceu a temperatura ambiente. Após análise por CCD e verificação do fim da reação, adicionou-se cuidadosamente solução saturada de NaHCO_3 ao balão reacional e, em seguida, a mistura foi extraída com clorofórmio (4 x 15 mL). A fase orgânica foi lavada com solução saturada de NaCl , seca com Na_2SO_4 anidro, filtrada e concentrada em evaporador rotatório sobre pressão reduzida (SHINKAI, S; et al; 1985 adaptado).

1-(clorometil)-4-(tiometil)benzeno (9)

Este derivado foi obtido em 90% de rendimento, na forma de um óleo viscoso marrom claro.

1-(clorometil)-4-(metóxi)benzeno (10)

Este derivado foi obtido em 93% de rendimento, na forma de um óleo viscoso amarelo claro.

1-(clorometil)-4-(bromo)benzeno (11)

Este derivado foi obtido em 92% de rendimento, na forma de um óleo viscoso amarelo claro.

1-(clorometil)-4-(cloro)benzeno (12)

Este derivado foi obtido em 97% de rendimento, na forma de um óleo viscoso amarelo claro.

7.9 OBTENÇÃO DOS ÉTERES DE OXIMA

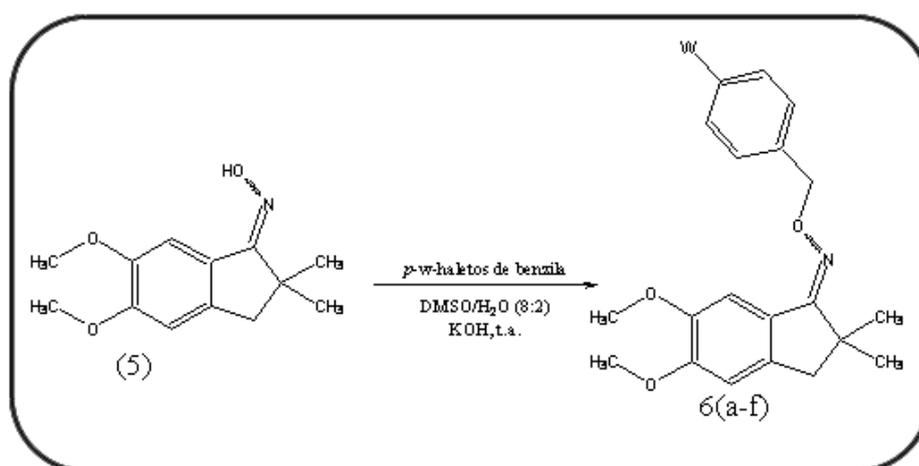


Figura 95 - Obtenção dos éteres de oxima.

Em um balão monotubulado de 50mL foram adicionados 100mg (0,42mmol) da oxima (5), DMSO/H₂O (8:2) 15mL e KOH (0,1g, 2,77mmol) colocados em agitação magnética por 30 minutos. Decorrido o tempo foram adicionados os respectivos haletos. As reações duraram entre 3 e 24 horas. Após dos produtos fez-se a purificação por cromatografia em coluna (hexano/acetado(7:3)).

7.10 OBTENÇÃO DO INTERMEDIÁRIO (7)

Para a obtenção do intermediário (7), foi utilizado um balão de 100mL, neste reagiu-se 130mg do intermediário (3) com 2,5g de cloridrato de hidroxilamina ($\text{NH}_2\text{OH}\cdot\text{HCl}$) em solução metanólica na proporção (8:2) onde foi adicionado 3,2g acetato de sódio. Essa reação teve a duração de 48h.

O derivado obtido apresentou-se na forma de um sólido marrom (PF 63-66 °C) com 95% de rendimento (figura 96) (GOPALSAMY, A; 2006 adaptado).

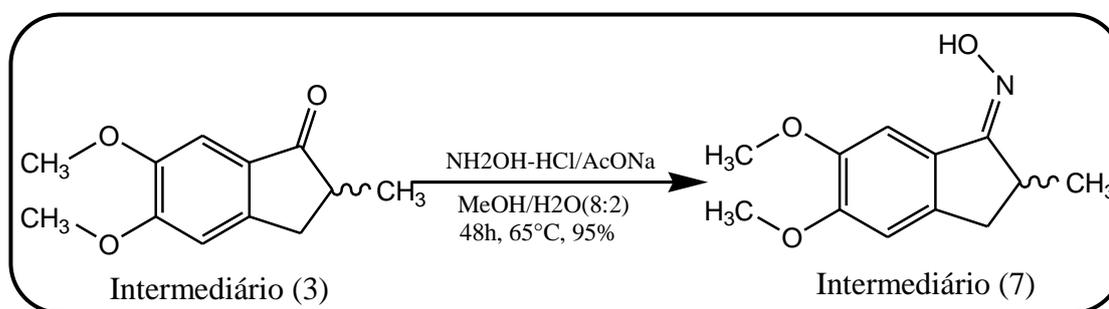


Figura 96 - Obtenção do intermediário (7) (1-hidroxi-5,6-dimetoxi-2-metilindan-1-imine).

7.11 PROCEDIMENTO PARA OBTENÇÃO DOS ÉTERES DE OXIMA MONOMETILADOS:

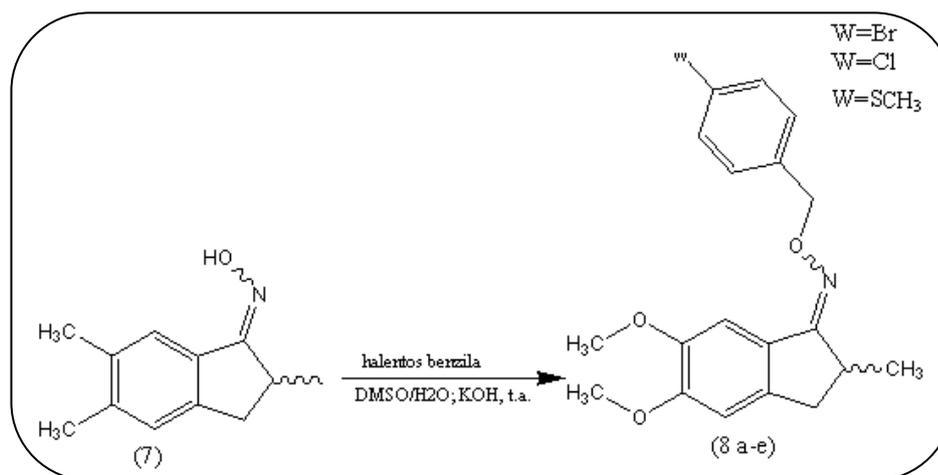


Figura 97 - Representação esquemática da adição do haleto de alquila à oxima

Usou-se para reação um balão de 100ml onde foi adicionado 0,02g do intermediário 7, 10mL de solução de DMSO (8:2) com 0,1g de KOH e deixado em agitação por 1 hora. Em seguida os haletos foram adicionados. As reações foram

feitas a temperatura ambiente e duraram entre 6 e 48 horas. Depois de comprovado o término da reação com cromatografia em camada delgada foi feito o isolamento do produto através da adição de 50mL de solução saturada de NaCl, em seguida essa solução foi lavada com acetato de sódio (6x10ml). Em seguida a fase orgânica foi seca com MgSO₄. Todos os produtos obtidos foram purificados em cromatografia em coluna.

7.12 PROCEDIMENTO PARA OBTENÇÃO DO COMPOSTO 5,6-DIMETOXI-2-METILINDAN-1-ONE O-[4(METILSULFONIL)BENZIL] OXIMA (8c)

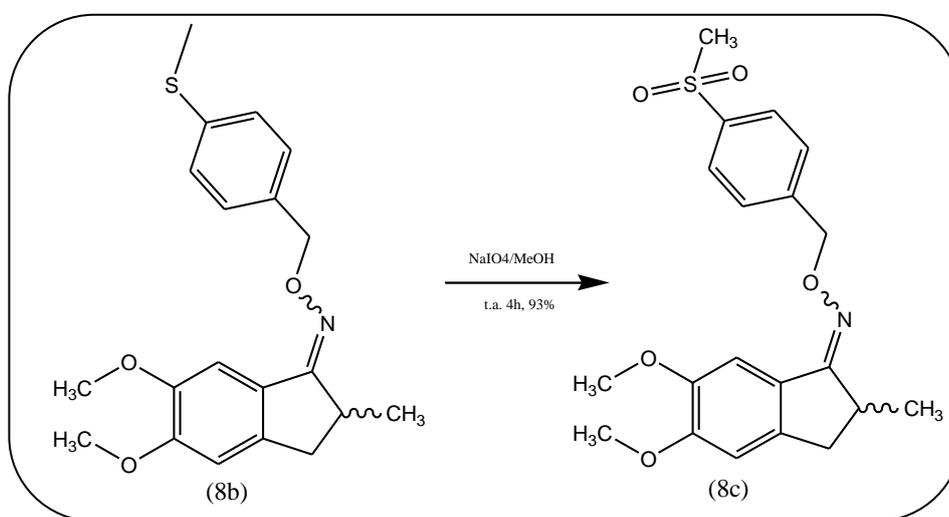


Figura 98 - Representação da oxidação total do grupamento tiometil em sulfona.

Em um balão de 50mL foram adicionados 0,025g do composto 8b, 10mL de metanol e 0,044g de periodato de sódio (NaIO₄), a solução ficou a temperatura ambiente sob agitação por 4 horas, depois de identificado o término da reação por cromatografia em camada delgada adicionou-se 30mL de solução saturada de NaCl, que em seguida foi extraída com diclorometano (6x10mL) (BEZERRA-NETO, 2006). Em seguida a fase orgânica foi seca com MgSO₄, o produto posteriormente foi purificado por cromatografia em coluna. O produto obtido foi um sólido branco PF (54°C-57°C).

7.13 PRODEDIMENTO PARA OBTENÇÃO DO 5,6-DIMETOXI-2-METILINDA-1-ONE O-[4-(METILSULFINIL)BENZIL] OXIMA (8D)

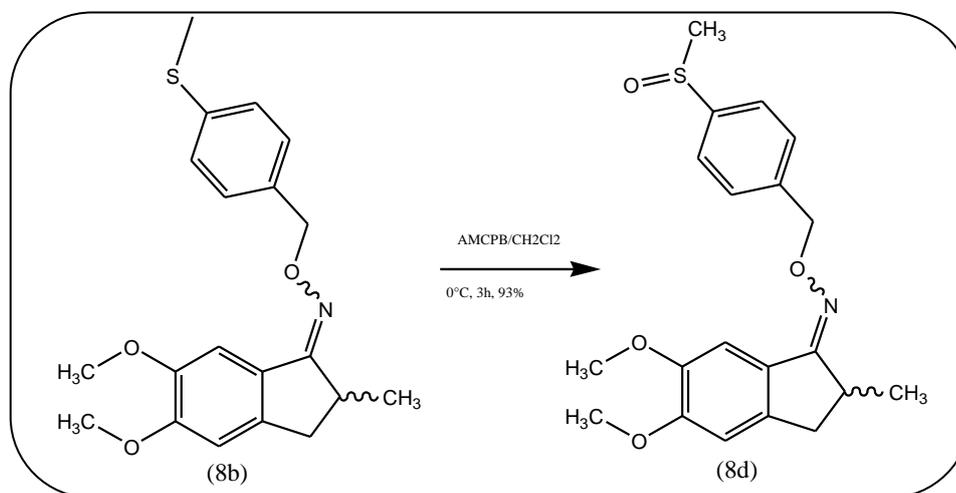


Figura 99 - Representação da transformação do metilsulfeto em sulfóxido.

Em um balão de 50mL, foram adicionados 0,025g do composto 8b, 10mL de diclorometano em banho de gelo (0°C). Em seguida foi adicionado 0,015g do ácido metacloroperbenzóico (AMCPB) e o sistema ficou sob agitação por 3 horas até ser observada o término da reação por cromatográfica em camada delgada. Após finalizada a reação adicionou-se vagarosamente solução saturada de bicarbonato de sódio (NaHCO₃), afim de neutralizar um possível excesso do ácido. Em seguida a solução foi lavada com diclorometano (6x10mL) e a fase orgânica seca com MgSO₄. O produto obtido posteriormente foi purificado por cromatografia em coluna perfazendo um rendimento de 93% (JANUZ,J.M; et al:1998). O produto obtido trave-se de um sólido amarelo claro PF (42°C-45°C).

7.14 METODOLOGIAS PARA OS ENSAIOS FARMACOLÓGICOS

7.14.1 Metodologia utilizada para o ensaio de contorções abdominais induzida por ácido acético

Os testes foram feitos em camundongos albinos de ambos os sexos (18-25g) (n=10, para cada grupo experimental) são submetidos a um pré-tratamento por via oral

(VO) com as substâncias teste (dose de screening = 100 $\mu\text{mol/kg}$), dissolvidas em etanol 10% com 10% de Tween 80 (veículo) e 80% de água. No teste de contorção abdominal o ácido acético (0,6%) (WHITTLE, 1964) é administrado por via intraperitoneal (ip) uma hora após a administração das substâncias teste. Dez minutos após a administração de ácido acético, o número de contorções por animal é registrado durante 20 minutos. Animais controle recebem um volume igual de veículo. A atividade analgésica é expressa como uma porcentagem de inibição de contorções, quando comparado com o grupo controle.

7.14.2 Metodologia utilizada para ensaio de ID₅₀ para teste de edema de pata induzido por carragenina

Após 60 minutos dos tratamentos com as diferentes doses das substâncias teste, o edema de pata foi induzido pela injeção de carragenina (400 $\mu\text{g/pata}$) como agente inflamatório no volume de 20 μL , que foi aplicada na região plantar da pata posterior direita dos animais. Após três horas da administração da carragenina, a pata na qual a inflamação foi induzida foi imersa até a região tíbio-társica na cuba do pletismógrafo e o edema foi medido de acordo com a alteração do volume na cuba (VELOSO et al., 2012). A ID₅₀ foi estimada neste experimento utilizando diferentes doses das substâncias testes e do fármaco padrão (1, 3, 10, 30 e 100 $\mu\text{mol/Kg}$) (VIEGAS et al., 2008).

7.14.3 Metodologia utilizada para avaliação da agregação plaquetária *ex vivo*

A atividade antiagregante plaquetária dos compostos foi determinada *ex vivo* pelo método de Born e Cross (BORN G. V. R. e CROSS M. J. 1963) em plasma rico em plaquetas (PRP) citratado de ratos, monitorada em um agregômetro Chrono-log modelo 560-CA. Esse método consiste no monitoramento da agregação plaquetária através da transmitância, onde um feixe de luz, de comprimento de onda igual a 240nm, atravessa a suspensão de plaquetas. O aparelho é calibrado para que o

PRP corresponda a 0% de transmitância, e o plasma pobre em plaquetas (PPP) corresponda a 100% de transmitância. Quando as plaquetas se encontram em sua forma discóide, em repouso, essa suspensão é opaca e a transmitância é dita zero. No momento em que se dá a agregação plaquetária, formam-se os agregados plaquetários, permitindo a passagem de luz através da suspensão plaquetária, aumentando quantitativamente a transmitância, proporcionalmente ao processo de agregação. Os registros da agregação plaquetária serão obtidos através de um programa Aggrolink, versão 5.2 (Chrono-Log Corporation).

Os agonistas são mantidos a 0°C durante os experimentos. A agregação plaquetária é registrada até atingir a reversão da agregação ou por 3 minutos após ter atingido a agregação máxima. As curvas de agregação são obtidas em duplicata para cada tratamento. A agregação plaquetária é expressa em porcentagem de agregação.

Ratos machos Wistar pesando entre 250 à 350g foram utilizados para a obtenção de sangue, através de punção cardíaca. O sangue foi coletado em solução aquosa de citrato trissódico 3,8%, na proporção de 9 volumes de sangue para 1 volume de citrato. O PRP foi obtido por centrifugação por 12 minutos a 1200 rpm, à temperatura ambiente. O PPP foi obtido por centrifugação do sedimento a 3000 rpm, por 10 minutos à mesma temperatura. O PRP foi utilizado até três horas após sua obtenção, pois após esse período as plaquetas perdem sua capacidade máxima de agregação. Os agonistas utilizados foram difosfato de adenosina (ADP), na faixa de concentração entre 1µM e 20 µM e colágeno na faixa de concentração entre 1µg e 20µg/mL. Os compostos foram administrados por via oral na concentração de 100µM e 300µM. Todos os resultados foram analisados estatisticamente pela análise da variância (ANOVA) one way para um nível de significância de *p<0,05 e testamos a significância estatística das diferenças entre os grupos pelo teste de Dunnett (*p<0,05). Os resultados são expressos em média ± erro padrão da média utilizando-se o programa GRAPH PAD PRISM versão 5.0 (GraphPad Prism Software Inc., San Diego, CA).

REFERÊNCIAS

ADCOCK, I. M; LANE, S. J; Corticosteroid-insensitive asthma: molecular mechanisms. **Journal of Endocrinology**, v. 178, n. 3, p. 347-355, 2003.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA, ANVISA, Disponível em: (<http://www.anvisa.gov.br/>) Acessado em: 23 de maio de 2012.

ANTI, S. M. A; GIORGI, R. D. N; CHAHADE, W, B. Steroidal antiinflammatory drugs: glucocorticoids. **Einstein**, n. 6, supl. 1, p. 159-165, 2008.

ANZINI, M, et al. Synthesis, Biological Evaluation, and Enzyme Docking Simulations of 1,5 Diarylpyrrole-3-Alkoxyethyl Ethers as Selective Cyclooxygenase-2 Inhibitors Endowed with Anti-inflammatory and Antinociceptive Activity. *Journal Medicinal Chemistry*, v. 51, n. 18, p. 4476-4481, 2008.

ARDOIN, S. P; SUNDY, J.S, **Update on nonsteroidal antiinflammatory drugs**, *Current Opinion Rheumatology*. v. 18, n. 3, p. 221-226, 2006.

ASHMAWI, H. A. et al. Efeito Analgésico de Antagonistas do Receptor da Histamina H1 em Modelo de Dor Provocada por Formalina em Ratos. **Revista Brasileira de Anestesiologia**, v. 59, n. 4, p. 461-470, 2009.

BARREIRO, E. J; FRAGA, C. A. M. A utilização do safrol, principal componente químico do óleo de sassafrás, na síntese de substâncias bioativas na cascata do ácido araquidônico: antiinflamatórios, analgésicos e anti-trombóticos. **Química Nova**, v. 22, n. 5, p. 744-759, 1999.

BARREIRO, E.J; FRAGA, C. A. M.; MIRANDA, A. L. P; Rodrigues, C. R. A química medicinal de N-acilidrazonas: Novos compostos–protótipos e fármacos analgésicos, antiinflamatório e anti-trombótico. **Química Nova**, v. 25, n. 1, p. 129-148, 2002.

BAZAN, N.G. COX-2 as a multifunctional neuronal modulator. **Nature Medicine**, v.7, p.414-415, 2001.

BEZERRA-NETTO, H. J. C. **Planejamento, síntese e avaliação farmacológica de novos derivados 6-nitro-benzodioxola-N-acilidrazônicos, desenhados como candidatos a protótipo de fármacos analgésicos e anti-inflamatórios, sintetizados a partir do safrol.** 2004. 384f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) Faculdade de Farmácia, UFRJ, Rio de Janeiro, 2004.

BIAVA, M et.al. Synthesis, in vitro, and in vivo biological evaluation and molecular docking simulations of chiral alcohol and ether derivatives of the 1,5-diarylpyrrole scaffold as novel anti-inflammatory and analgesic agents. **Bioorganic and Medicinal Chemistry**, v. 16, n. 17, p. 8072-8081, 2008.

BOTTING, R. M. Cyclooxygenase: Past, present and future. A tribute to John R. Vane (1927–2004). **Journal of Thermal Biology**, v. 31, n. 1-2, p. 208-219, 2006.

BRENOL, J.C.T. et al. Artigo de Revisão: Antiinflamatórios não hormonais (AINHs) convencionais, **Revista Brasileira de Medicina**, 22 mar. 2013. Disponível em: <http://www.moreirajr.com.br/revistas.asp?fase=r003&id_materia=326>. Acesso em: 22 mar.2013.

BRUNE, K; HINZ, B. **The discovery of antiinflammatory drugs.** Arthritis and Rheumatism. v. 50, n. 8, p. 2391-2399, 2004.

CANNON, G.W. Cyclooxygenase-2 selective inhibitors. **Drugs of Today**, v. 35, n. 7, p. 481-487, 1999.

CAPELLI, A. et al. 3-substituted -1,5-diaryl-2-alkyl-pyrroles highly selective and orally effective COX-2 inhibitor. **World Intellectual Property Organization**, 2008, WO-2008/014821 A1.

CARVALHO, W. A, SALES, R. D, Rios-Santos Specific Cyclooxygenase-2 Inhibitor Analgesics: Therapeutic Advances. **Revista Brasileira de Anestesiologia**, v. 54, n. 3, p.448-464, 2004.

CASTILHO, M. S. **Planejamento Racional de Drogas contra Tripanosomatídeos: gGAPDH de *Trypanosoma cruzi* e XPR1 de *Leishmania major*.**2004.187f. Tese (Doutorado em Física Molecular) Instituto de Física de São Carlos, USP, São Carlos, 2004.

CELLOTI, F; LAUFER, S. Antiinflammatory drugs: New multitarget compounds to face an old problem. The dual inhibition concept. **Pharmacological Research**, v. 43, n. 5, p. 429-436, 2001.

CHANDRASEKHARAN, N.V. et al. COX-3, a cyclooxygenase-1 variant inhibited by acetaminophen and other analgesic/antipyretic drugs: cloning, structure, and expression. **Proceedings National Academy Sciences**, v. 99, n. 21, p. 13926-13931, 2002.

CHEN, Q. H; RAO, P. N. P; KNAUS, E. E. Synthesis and biological evaluation of a novel class of Rofecoxib analogues as dual inhibitors of cyclooxygenases (COXs) and lipoxygenases (LOXs). **Bioorganic and Medicinal Chemistry**, v. 14, n. 23, p. 7898-7909, 2006.

Correspondin Indanones. **Journal Organic Chemistry**, v. 39, n. 9, p. 1242-1247, 1974.

COSTA, P. R. R. Safrol e eugenol: Estudo da reatividade química e uso em síntese de produtos naturais biologicamente ativos e seus derivados. **Química Nova**, v. 23, n. 3, p. 357-369, 2000.

COUTINHO, M. A. S; MUZITANO, M. F; COSTA, S. S. Flavonóides: Potenciais agentes terapêuticos para processo inflamatório. **Revista Virtual de Química**, v. 1, n. 3, p. 241-256, 2009.

DA SILVA, R. C. **Novos compostos anti-inflamatórios – éteres de oximas – planejamento estrutural, obtenção e avaliação farmacológica**. Dissertação (Mestrado em Química) UNIFAL-MG, Alfenas, MG, 2010

DRAY, A; Inflammatory mediator of pain. **British Journal on Anaesthesia**, v. 75, p.125-131, 1994.

DUBOIS, R. N. et al. Cyclooxygenase in biology and disease. **Journal of Federation of American Societies for Experimental Biology**. v. 12, p. 1063-1073, 1998.

EL-GAMAL, M. I. et al. Synthesis and anti-inflammatory activity of novel (substituted) benzylidene acetone oxime ether derivatives: Molecular modeling study. **European Journal Medicinal Chemistry**. v. 45, p. 1403-1414, 2010.

ESPERIDÃO, S. et al. Ação Crônica do Ácido Acetilsalisílico na Prenhez da Rata. **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia**, v. 20, n. 5, p. 245-249, 1998.

FARMER, J. P. In vitro and in vivo pharmacological evidence of selective cyclooxygenase - 2 inhibition by nimesulide: An overview. **Inflammation Research**, v. 46, n. 11, p. 437-446, 1997.

FLOWER, R. J. The development of cox-2 inhibitors. **Nature Reviews**, v. 2, p. 179-191, 2003.

FREITAS, A. C. C., BARREIRO, E. J. Perspectivas terapêuticas de fármacos que atuam na cascata do ácido araquidônico, **Rev. Bras.Farm**, v. 75, p. 76, 1994.

FROLOV, R. V; SLAUGHTER, M. M; SINGH, S; Effects of celecoxib on ionic currents and spontaneous firing in rat retinal neurons. **Neuroscience**, v. 154, n. 4, p. 1525-1532, 2008.

GABRIEL, A. J. A; CASTRO, R. N; LIMA, M. E. F. Synthesis of a New Strigol Analogue fer corom Natural Safrole. **Journal Brazilian Chemical Society**, v. 11, n. 4, p. 371-374, 2000.

GACHET, C. ADP. Receptors of platelets and their inhibition. *Thromb. haemost.*, v. 86, p. 222-232, 2001.

GANS, K. A. et al. Antiinflammatory and safety profile of DuP 697, a novel orally effective prostaglandin synthesis inhibitors. **The Journal Pharmacology and Experimental Therapeutics**. v. 254, n. 1, p. 180-187, 1990.

GOMES, S. A. **Síntese e modelagem molecular de carboidratos com potencial atividade anti-glucosidase**. 2008. 247f. Dissertação (Doutorado em Ciências Farmacêuticas) Faculdade de Ciências Farmacêuticas , USP. Ribeirão Preto. 2008.

GOODMAN e GILMAN. **As bases farmacológicas da terapêutica**. Guanabara Koogan 11ª edição; Rio de Janeiro, 2005:

GOODMAN e GILMAN. **As bases farmacológicas da terapêutica**. Guanabara Koogan 12ª edição, Rio de Janeiro, 2012.

GOPALSAMY, A. et al. 1,2,4-Oxadiazolidin-3,5-diones and 1,3,5-triazin-2,4,6-triones as cytosolis phospholipase A₂ inhibitors, **Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters**, v. 16, n. 11, p. 2978-2981, 2006.

GUYTON, A. C., HALL, J. E. **Tratado de fisiologia médica**, 11^a Ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2006.

HALIZIK, M. Nitric oxide: its effects and significance in the human body. **Cas Lek Cesk.** v. 137, n. 9, p. 259-263, 1998.

HAMILTON, J. R. Protease-activated receptors as targets for antiplatelet therapy. **Blood Reviews**, doi:10.1016/j.blre.2006.06.002, 2008.

HANSON, M. PETER. **Nature Immunology**, v 06, n. 12, 2005.

HARIG, M; NEUMANN, B; STAMMLER, H. S; KUCK, D. 2,3,6,7,10,11-Hexamethoxytribenzotriquinacene: Synthesis, Solid-State Structure, and Functionalization of a Rigid Analogue of Cyclotriveratrylene. **European Journal Organic Chemistry**, v. 2004, n. 11, p. 2381-2397, 2004.

HEIKE, S; SCHOTTELIUS, A; REHWINKEL, H; ASADULLAH, K. Dissociation of transactivation from transrepression by a selective glucocorticoid receptor agonist leads to separation of therapeutic effects from side effects. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 101, n. 1, p. 227-232, 2004.

HENRIQUEZ, M. G. et al. Mouse paw edema: A new model for inflammation? **Brazilian Journal of Medical Biology Research**. v.20, n. 2, p. 243-249, 1987.

HLA, T., NEILSON, K. Human cyclooxygenase-2 c-DNA. **Proc. Nat. Acad. Sci.USA** v. 89, p. 7384, 1992.

JANUSZ, J. M. et al. New cyclooxygenase-2/5- lipooxygenase inhibitors 1. 7-*tert*-butyl-2,3-dihydro-3,3-dimethylbenzofuran derivatives as gastrointestinal safe antiinflammatory and analgesic agents: discovery and variation of the 5-keto substituent. **Journal of Medicinal Chemistry**. v. 41, n. 18, p. 1112-1123, 1998.

KARABATSOS, G. J; HIS, N. Structural Studies by Nuclear Magnetic Resonance-XI; Conformations and configurations of oxime O-Methyl Ethers. **Tetrahedron**, v. 23, n. 3, p. 1079-1091, 1967.

KIS, B; SNIPES, J. A; BUSIJA, D. W. Acetaminophen and the Cyclooxygenase-3 Puzzle: Sorting out Facts, Fictions, and Uncertainties. **Perspectives in Pharmacolog.**, v. 315, n. 1, p. 1-7, 2005.

KULKARNI, S. K, JAIN, N. K, SINGH, A; Cyclooxygenase isoenzymes and newer therapeutic potential for selective COX-2 inhibitors. **Methods Findings in Experimental and Clinical Pharmacology**, v. 22, n. 5, p. 291-298, 2000.

KUMMER, C. L, TERESA, C. R. B. C. Antiinflamatórios Não Esteroidais Inibidores da COX-2: Aspectos Atuais. **Revista Brasileira de Anestesiologia**, v. 52, n. 4, p. 498-512, 2002.

KURAISHI, Y., HARADA, Y., ARATANI, S., SATOH, M., TAKAGI, H. Separate involvement of the spinal noradrenergic and serotonergic systems in morphine analgesia: the differences in mechanical and thermal algesic tests. **Brain Res**, v.273, p. 245-252, 1983.

LAGES, A. S; ROMEIRO, N. C; FRAGA, C. A. M; BARREIRO, E. J; Inibidores seletivos de PGHS: Nova estratégia para tratamento da inflamação. **Química Nova**, v. 21, n. 6, p. 761-771, 1998.

LAVICH, T.R.; CORDEIRO, R.S.B.; SILVA, P.M.R.; MARTINS, M.A.. A novel hot-plate test sensitive to hyperalgesic stimuli and non-opioid analgesics. **Braz. J. of Med. & Biolog. Reseach**, v. 38, p. 445-451, 2005.

LEY, S.V. Comprehensive Organic Synthesis, Fleming, Pergamon, **Oxford**, v. 7, p.251-289, 1990.

LI, C. B; CUI, Y; ZHANG, W. Q; LI, J. L; ZHANG, S. M; CHOI, M. C. K; CHAN, A. S. C. A convenient and efficient procedure for oxime ether. **Chinese Chemical Letters**, v. 13, n. 2; p.95-96, 2002.

LIANG, J.H., DONG, L.J., WANG, H., et al. Synthesis and antibacterial activities of 6-O-methylerythromycin A 9-O-(3-aryl-2-propenyl) oxime ketolide, 2,3-enol ether, and alkylide analogues. **European Journal Of Medicinal Chemistry**, v. 45 n. 9, p. 3627-3635, 2010.

LIMA, L. M; FRAGA, C. A. M; BARREIRO, E. J. Agentes Antiasmáticos Modernos: Antagonista de Receptores de Leucotrienos Cisteínicos. **Química Nova**, v. 25, n. 5, p. 825-834, 2002.

LUZZIU, F. A. **Organic Reaction**, v. 53, p.201-221, 2003.

MAGALHÃES, C. P. et al. Efeitos do tratamento de neonatal com inibidor seletivo de recaptura da 5-HT sobre o desenvolvimento anatômico Crânio-encefálico. **Arquivos de Neuro-Psiquiatria**, v. 64, n. 4, p. 990-993, 2006.

MAHDI, J. G; MAHDI, A. J; BOWEN, I. D. The historic analysis of aspirin discovery, its relation to the willow tree and antiproliferative and anticancer potential. **Journal Compilation Cell Proliferation**, v. 39, n. 2, p. 147-155, 2006.

MAKADIA, P., SHAH, S. R., PINGALI H, et al. Effect of structurally constrained oxime-ether linker on PPAR subtype selectivity: Discovery of a novel and potent series of PPAR-pan agonists. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 19, n. 2, p. 771-782, 2011.

MARCHESELLI, V.L; BAZAN, N.G. Sustained induction of prostaglandin endoperoxide synthase-2 by seizures in hippocampus - Inhibition by a plateletactivating factor antagonist. **Journal of Biological Chemistry**, v. 271, n. 40, p. 24794-24799, 1996.

MASFERRER, J. L., SEIBERT, K.; ZWEIFEL B.; NEEDLEMAN, P. Endogenous glucocorticoids regulate an inducible cyclooxygenase enzyme. *Proc. Nat. Acad. Sci.USA*, v. 89, p. 3917, 1992.

MENEZES, G. B; CARA, D. C; REZENDE, R. F; Antiinflammatory drugs: Basic knowledge to a safe prescription. **Scientific-Clinical Odontology**, v. 8, n. 1, p. 7-12, 2009.

MIRANDA, H. F; SIERRALTA, F; PRIETO, J. C. Synergism between NSAIDs in the orofacial formalin test in mice. **Pharmacology, Biochemistry and Behavior**, v. 92, n. 2, p. 314-318, 2009.

MORAIS, F. V; MOLINA, H. M; BORGES, D. R; KOUYOUUMDJIAN, D. Enzima inativadora de bradicinina liberada pelo fígado preservado *ex-vivo*. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v. 45, n. 1, p. 19-23, 1999.

MORDINI, A; PERUZZI, D; RUSSO, F; VALACCHI, M; REGINATO, G; BRANDI, A. Superbase –promoted rearrangement of oxiranes to cyclopropanones. **Tetrahedron**, v. 61, n. 13, p. 3349-3360, 2005.

MOREAU, A; PRAVEEN, P. N; KNAUS, E. E. Synthesis and biological evaluation of acyclic triaryl (Z) olefins possessing a 3,5-di-tert-butyl-4-hydroxyphenyl pharmacophore: Dual inhibition of cyclooxygenases and lipoxygenases. **Bioorganic and Medicinal Chemistry**, v. 14, n. 15, p. 5340-5350, 2006.

NAMAS, R; GHUMA, A; HERMUS, L; ZAMORA, R; BILLIAR, T.R. The acute inflammatory response in trauma / hemorrhage and traumatic brain injury: current state and emerging prospects, p. 97-103, www.ljm.org.ly, 2009.

NAVIDPOUR, L; SHAFAROODI, H; ADBI, K; AMINI, M. Design, synthesis, and biological evaluation of substituted 3-alkylthio-4,5-diaryl-4H-1,2,4-triazoles as selective COX-2 inhibitors. **Bioorganic and Medicinal Chemistry**, v. 14, n. 18, p. 2507-2517, 2006.

OLIVEIRA, M. S. **O papel da ciclo-oxigenase-2 e da prostaglandina E₂ nas convulsões induzidas por pentilenotetrazol**. Dissertação (Mestrado em Bioquímica) UFRGS, Porto Alegre, RS, 2007.

PLETNEV, A. A; LAROCK, R. C. Carbopalladation of Nitriles: Synthesis of Benzocyclic Ketones and Cyclopentenones via Pd-Catalyzed Cyclization of ω -(2-Iodoaryl) alkanenitriles and Related Compounds. **Journal Organic Chemistry**, v. 67, n. 26, p. 9428-9438, 2002.

RAMALHO, T. C; ROCHA, M. V. J; CUNHA, E. F. F; FREITAS, M. P. The search for new COX-2 inhibitor: a review of 2002-2008 patents. **Journal Expert Opinion**. v. 19, n. 8, p. 1-36, 2009.

RANG, H. P; DALE, M. M; RITTER, J. M; **Farmacologia**, 6^a ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2007.

RANU, B. C; JANA, U. A New Redundant Rearrangement of Aromatic Ring Fused Cyclic α -Hydroxydithiane Derivatives. Synthesis of Aromatic Ring Fused Cyclic 1,2-Diketones with One-Carbon Ring Expansion. **Journal Organic Chemistry**, v. 64, p. 6380-6386, 1999.

RAO, P. N. P; AMINI, M; LI, H; AMGAD G. Design, Synthesis, and Biological Evaluation of 6-Substituted-3-(4-methanesulfonylphenyl)-4-phenylpyran-2-ones: A Novel Class of Diarylheterocyclic Selective Cyclooxygenase-2 Inhibitors. **Journal Medicinal Chemistry**, v. 46, n. 23, p. 4872-4882, 2003.

REDDY, R. M. V; BILLA, V. K; PALLELA, V. R; MALLIREDDIGARI, M. R; Design, synthesis and biological evaluation of 1-(4-sulfamylphenyl)-3-trifluoromethyl-5-indolyl pyrazolines as ciclooxigenases and lipoxygenases inhibition. **Bioorganic and Medicinal Chemistry**, v. 26, p. 3907-3916, 2008.

RIBEIRO, I. G. et al. Synthesis And Analgesic Profile Of New Planned Imidazo[1,2-A] Pyridine Acylarylhydrazones Derivatives. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 33, n. 3, p. 225-235, 1998.

SALLES, M. J. C; SPROVIEREI, S. R. S; BEDRIKOW, A. C; PEREIRA, S. L; CARDENUTO, P. R. C. Síndrome da resposta inflamatória sistêmica/sepsis – revisão e estudo da terminologia e fisiopatologia. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v. 45, n. 1, p. 86-92, 1999.

SANTOS, M. R. L; BARREIRO, E. J; BRAZ-FILHO, R; MIRANDA, A. L. P. The Synthesis Of New Isochromanylacetylhydrazones Designed As Probable Non-Addictive Analgesic Agents. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 8, p. 471-478, 1997.

SCHAIBLE, H.G; SCHIMIDT, R.F. Excitation and sensitization of fine articular afferents from cat's knee joint by prostaglandin E₂. **Journal of Physiology**, v. 403, p. 91-104, 1988.

SCHAKE, H; SCHOTTELIUS, A; DOCKE, W. D; STREHLKE, P; JAROCH, S. Dissociation of transactivation from transrepression by a selective glucocorticoid receptor agonist leads to separation of therapeutic effects from side effects. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 101, n. 1, p. 227-232, 2004.

SCHUG, S.A; GARRET, W.R; GILLESPIE, G. Opioid and non-opioid analgesics. **Best Practice & Research Clinical Anaesthesiology**, v. 17, n.1, p. 91-110, 2003.

SEIBERT, K; Composition of cyclooxygenase-2 selective inhibitor and acetaminophen for treatment and prevention of inflammation, inflammation-mediated disorders and pain. **United State Patent Application Publication**, 2006, US-2006/0236308 A1.

SHI, S; KLOTS, U. Clinical use pharmacological properties of selective COX-2 inhibitors. **European Journal Clinical Pharmacol.** v. 64, n. 3, p. 233-252, 2008.

SILVA, P. **Farmacologia**, 8ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2010.

SILVA, T. H; ANDREI, C. C., FERREIRA, D. T., FACCIONE, M., FARIA, T. J. Da química medicinal à química combinatória e modelagem molecular, um curso prático. Barueri, SP: Manole S.A. ; 2003.

SIMMONS, D.L; BOTTING, R.M; HLA T. Cyclooxygenase isozymes: The biology of prostaglandin synthesis and inhibition. **Pharmacological Reviews**, v 56, p. 387-437, 2004.

SMITH, W.L; WITT D, L, GARAVITO, R.M. Cyclooxygenases: structural, cellular and molecular biology. *Annu Rev Biochem.* Vol 69, p.145-182.

SING, G; TRIADAFILOPOULOS, G. Epidemiology of NSAID induced gastrointestinal complications. *Journal Rheumatology. Supplement.* Vol. 56, p. 18-24, 2004.

SONG, I. H; GOLD, R; STRAUB, R. H; New Glucocorticoids on the horizon: repress, don't active! *Journal of Rheumatology.* Vol. 32, No. 7, p.1199-1207, 2005.

SOUZA, J. S; FERRÃO, M. F; Aplicação da Espectroscopia no infravermelho no controle de qualidade de medicamentos contendo diclofenaco de potássio. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 42, n. 3, p. 437-445, 2006.

STAHN, C; LOWENBERG, M; HOMMES, D. W; BUTTGEREIT, F; Molecular mechanism of glucocorticoid action and selective glucocorticoid receptor agonist. **Molecular and Cellular Endocrinology**, v. 275, n. 1-2, p. 71-78, 2007.

SUN, R.F., LI, Y.Q., LU, M.Y., et al. Synthesis, larvicidal activity, and SAR studies of new benzoylphenylureas containing oxime ether and oxime ester group. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 20, n. 15, p. 4693-4699, 2010.

SURIN, W. R; BARTHWAL, M. K; DIKSHIT, M. Platelet collagen receptors, signalling and antagonism: Emerging approaches for the prevention of intravascular thrombosis. *Thrombosis Research*, doi: 10.1016/j.thromres.2007.10.005 (2007).

SZABÓ, G; FISCHER, J; KIS-VARGA, A; GYIRES, K. New celocoxib derivatives as antiinflammatory agents. **Journal Medicinal Chemistry**, v. 51, n. 1, p. 142-147, 2008.

TAVARES, L. C. QSAR: A abordagem de Hansch. **Química Nova**, v. 27, n. 4, p. 631-639, 2004.

TROST, B. M; LATIMER, L. H; Generation and alkylation of dianion (homoenolate) of a 1-indanone. **Journal Organic Chemistry**, v. 42, n. 19, p. 3212-3214, 1977.

USHIYANA, S. et al. Preclinical Pharmacology Profile of CS-706, a Novel Cyclooxygenase-2 Selective Inhibitor, with Potent Antinociceptive and Anti-Inflammatory Effects. **European Journal of Pharmacology**, n. 578, p. 76-86, 2008.

VAJJA, B.N.; JULURI, S.; KUMARI, M.; KOLE, L.; CHAKRABARTI, R.; JOSHI, V.D. Lipopolysaccharide-induced paw edema model for detection of cytokine modulating anti-inflammatory agents. **Int. Immunopharmacol**, v. 4, p. 901-909, 2004.

VANE, J.R. Inhibition of prostaglandin synthesis as a mechanism of action for aspirin-like drugs. **Nature New Biology**, v. 31, p. 232-235, 1971.

VELOSO, M.P. **planejamento, síntese e avaliação farmacológica de novos protótipos pirazólicos, candidatos à inibidores seletivos de PGHS**. Dissertação (Doutorado em Química), Universidade Federal do Rio de Janeiro, 2000.

VIEGAS Jr.; MOREIRA, M. S. A.; FRAGA, C. A. M.; BARREIRO, E. J.; BOLZANI, V. S.; MIRANDA, A. L. P. **Chem Pharmaceutical Bulletin**, v. 56, p.407-412, 2008.

WALKER, K. PERKINS, M. DRAY, A. Kinins and kinin receptors in the nervous system. **Neurochemistry International**, v. 26, n. 1, p. 1-16, 1995.

WALLACE, J. L., CIRINO, G. The development of gastrointestinal-sparing nosteroidal anti-inflammatory drugs. **Trend. Pharmac. Sci**, v. 15, p. 405, 1994.

WHITTLE, B.A., Release of a kinin by intraperitoneal injection of chemical agents in mice. **Int. J. Neuropharmacol**, v 3, p. 369- 378, 1964.

WITIAK, D.T. et al. **Current Opinion in Pharmacology**, v 5, n 2, p. 2004-2010, 2005.

XIE, W., CHIPMAN, J. G.; ROBERTSON, D. L.; ERIKSON, R. L.; SIMMONS D. L. Expression of a mitogen-responsive gene encoding prostaglandin synthase is regulated by mRNA splicing. **Proc. Nat. Acad. Sci.USA**, v. 88, p. 2692, 1991.

XIE, W.L; CHIPMAN, J.G; ROBERTSON, D.L. Expression of a mitogenresponsive gene encoding prostaglandin synthase is regulated by mRNA splicing. **Proceedings National Academy Science USA**, 1991.

ZARGHI, A. KAKHGI, S. HADIPOOR, A. DAREEE, B.HEDAYATI, M. Design and synthesis of 1,3-diarylurea derivatives as selective cyclooxygenase (COX-2) inhibitors. **Bioorganic and Medicinal Chemistry**. v. 18, n. 4, p. 1336-1339, 2008.