

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
CAMPUS DE ARARAQUARA

OBTENÇÃO DE CANDIDATOS A FÁRMACOS
ANTI-INFLAMATÓRIOS NÃO ESTEROIDAIIS
DESTITUÍDOS DE GASTROTOXICIDADE

LÚCIA FIORAVANTI DE CASTRO

ORIENTADORA: Prof^a. Dr^a. Chung Man Chin

ARARAQUARA - SP

2008

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
CAMPUS DE ARARAQUARA

OBTENÇÃO DE CANDIDATOS A FÁRMACOS
ANTI-INFLAMATÓRIOS NÃO ESTEROIDAIIS
DESTITUÍDOS DE GASTROTOXICIDADE

LÚCIA FIORAVANTI DE CASTRO

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Área de Pesquisa e Desenvolvimento de Fármacos e Medicamentos, da Faculdade de Ciências Farmacêuticas, UNESP, como parte dos requisitos para obtenção do Título de Doutora em Ciências Farmacêuticas.

ORIENTADORA: Prof^a. Dr^a. Chung Man Chin

ARARAQUARA - SP

2008

Ficha Catalográfica

Elaborada Pelo Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação
Faculdade de Ciências Farmacêuticas
UNESP – Campus de Araraquara

C355o Castro, Lúcia Fioravanti de
Obtenção de candidatos a fármacos anti-inflamatórios não esteroidais
destituídos de gastrotoxicidade / Lúcia Fioravanti de Castro. – Araraquara,
2008.
110 f.

Tese (Doutorado) – Universidade Estadual Paulista. “Júlio de Mesquita
Filho”. Faculdade de Ciências Farmacêuticas. Programa de Pós Graduação em
Ciências Farmacêuticas

Orientador: Chung Man Chin

1.Anti-inflamatórios. 2.Hibridação molecular. 3.Química farmacêutica.
I.Chun Man Chin, orient.. II..Título.

CDD 615.19

CAPEL: 40300005

CANDIDATA: LÚCIA FIORAVANTI DE CASTRO

TÍTULO DA TESE:

**OBTENÇÃO DE CANDIDATOS A FÁRMACOS ANTI-INFLAMATÓRIOS NÃO
ESTEROIDAIIS DESTITUÍDOS DE GASTROTOXICIDADE**

A Comissão Julgadora dos trabalhos de defesa da Tese de Doutorado, em sessão pública realizada em 25/08/2008, consideraram a candidata:

() REPROVADA

(X) APROVADA

1) Examinador (*Prof. Dr. Antonio Gilberto Ferreira*) _____

2) Examinador (*Prof^a. Dr^a. Maria Lúcia Ribeiro*) _____

3) Examinador (*Prof^a. Dr^a. Maria do Carmo Longo*) _____

4) Examinador (*Prof^a. Dr^a. Márcia Silva*) _____

5) Presidente (*Prof^a. Dr^a. Chung Man Chin*) _____

“Todas as maravilhas de que precisas estão dentro de ti.”

Sir Thomas Browne

*Ao meu filho, João Vitor,
Com amor.*

AGRADECIMENTOS

A DEUS, por tudo que me concedeu e concederá.

Aos meus pais, João e Isaura que sempre me apoiaram e se dedicaram para que eu concluísse meus estudos. Pelo amor que vocês dedicam ao meu filho, OBRIGADA, pois sem a ajuda de vocês o meu caminho durante esta jornada teria sido muito mais difícil.

A minha irmã Patrícia, por ter me substituído nas horas em que permaneci dentro da Faculdade e longe do meu filho. Obrigada por cuidar dele na minha ausência, pelo amor e dedicação.

Ao meu amor e companheiro Carlos Alberto Cambiaghi, por seu amor, incentivo, compreensão e paciência. Obrigada por estar sempre comigo.

À Prof^ª. Dr^ª. Chung Man Chin, por ter acreditado que eu poderia desenvolver este trabalho de doutorado, pela confiança e pela amizade que se estabeleceu nesses anos de convivência.

Ao Prof. Dr. Antonio Gilberto Ferreira (UFSCar) pela obtenção dos espectros de RMN, sem os quais seria impossível a elucidação estrutural dos compostos aqui sintetizados e pela grande contribuição a esta tese durante a qualificação e defesa.

A Prof^ª. Dr^ª. Márcia Silva, por sua grande contribuição a esta tese durante a qualificação e defesa.

A Prof^ª. Dr^ª. Maria do Carmo Longo, por sua contribuição na orientação dos ensaios biológicos realizados durante este trabalho e por sua contribuição como membro participante da banca de defesa desta tese.

A Prof^ª. Dr^ª. Maria Lúcia Ribeiro pela disponibilidade de participar como membro da banca de defesa e pela contribuição significativa para o aprimoramento deste.

Ao meu amigo Prof. Dr. Antonio Távora de Albuquerque Silva, pela amizade, incentivo para concluir este trabalho, disponibilidade e ajuda ao término desta tese.

Ao pós-graduando Jean Leandro dos Santos, que com o passar dos anos e convivência juntos no laboratório passei a admirá-lo por sua competência e capacidade de ensinar e auxiliar a quem precise e pelas discussões técnicas durante e ao término deste trabalho.

Ao meu amigo do laboratório, o pós-graduando Ednir Vizioli, pelos ensaios biológicos realizados para esta tese e ajuda prestada em suas correções.

A minha amiga Dr^a. Eliana Serafim a qual tive o privilégio da convivência dentro e fora do laboratório.

Aos pós-graduandos Lorena Blau, Renato Menegon e Priscila Bosquesi com os quais tive a oportunidade de conviver.

Ao Osmar Redondo, Mateus Scontri e Luiz Eduardo dos Santos, pelo carinho e por todo o apoio no desenvolvimento desta pesquisa.

Aos alunos de iniciação científica Rafael Consolin Chelucci e Richard Chiqueto que contribuíram nos ensaios biológicos deste trabalho.

As minhas amigas de bancada Renata Bueloni e Heloísa Pinheiro pelo privilégio que tive de conviver e trabalhar com pessoas extremamente interessadas, curiosas e pela seriedade que tratam a pesquisa científica.

À Prof^a. Dr^a. Adélia Emília de Almeida pelo respeito e convivência científica no laboratório.

A toda equipe do *Lapdesf* (Laboratório de Pesquisa e Desenvolvimento de Fármacos), pela confiança depositada.

A toda equipe da biblioteca da FCFar-Unesp, pelo auxílio na busca e aquisição do material bibliográfico utilizado durante o trabalho.

A toda equipe de pós-graduação Laura Rosim, Cláudia Lúcia Molina e Sônia Ornallas Silva, pelo excelente trabalho e valiosas orientações frente à secretaria da pós-graduação.

A CAPES pela bolsa concedida.

A todos os que contribuíram direta ou indiretamente ao desenvolvimento deste trabalho.

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	IV
LISTA DE ESQUEMAS	V
LISTA DE ESPECTROS	VI
RESUMO	X
ABSTRACT	XI
1 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	1
1.1 PROCESSO INFLAMATÓRIO	1
1.1.1 PROTAGLANDINAS E CICLOOXIGENASES	3
1.2 ANTI-INFLAMATÓRIOS NÃO ESTEROIDAIIS (AINES)	9
1.2.1 REAÇÕES ADVERSAS DOS AINES	13
1.3 AINES SELETIVOS DE COX-2	14
1.4 TALIDOMIDA	18
1.5 CONSIDERAÇÕES GERAIS SOBRE MÉTODOS DE OBTENÇÃO DE FÁRMACOS	26
1.5.1 HIBRIDAÇÃO MOLECULAR	27
1.5.1.1 CLASSIFICAÇÃO DOS HÍBRIDOS - LIGANTES MÚLTIPLOS	30
2 OBJETIVOS	34
3 PLANEJAMENTO ESTRUTURAL	35
4 MATERIAIS E MÉTODOS	37
4.1 MATERIAL	37
4.1.1 REAGENTES E SOLVENTES	37
4.2 MÉTODOS	38

4.2.1 MÉTODO DE OBTENÇÃO DOS COMPOSTOS HÍBRIDOS	38
4.3 MÉTODOS ANALÍTICOS	40
4.3.1 CROMATOGRAFIA DE CAMADA DELGADA (CCD)	40
4.3.2 DETERMINAÇÃO DA FAIXA DE FUSÃO	40
4.3.3 ESPECTROSCOPIA NA REGIÃO DO INFRAVERMELHO (IV)	40
4.3.4 ESPECTROSCOPIA DE RMN ^1H E RMN ^{13}C	41
4.4 ENSAIOS BIOLÓGICOS	41
4.4.1 EDEMA DE PATA DE RATO INDUZIDO POR CARRAGENINA	41
4.4.2 TESTE DE GASTRO-TOXICIDADE	42
4.4.3 ENSAIO DE CONTORÇÕES ABDOMINAIS INDUZIDAS POR ÁCIDO ACÉTICO	44
4.5 PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL	45
4.5.1 PROCEDIMENTOS DE SÍNTESE	47
4.5.1.1 OBTENÇÃO DO DERIVADO HÍBRIDO DO ÁCIDO SALICÍLICO	47
4.5.1.1.1 MÉTODO 1A - OBTENÇÃO DO 2-HIDROXIBENZOATO DE METILA (2)	47
4.5.1.1.2 MÉTODO 1B - OBTENÇÃO DO 2-HIDROXIBENZOHIDRAZIDA (3)	48
4.5.1.1.3 MÉTODO 1C - OBTENÇÃO DO <i>N</i> -(1,3-DIOXO-1,3-DIIDRO-2 <i>H</i> -ISOINDOL-2-IL)-2-HIDROXIBENZAMIDA (4)	48
4.5.1.2 OBTENÇÃO DO DERIVADO HÍBRIDO DE NAPROXENO	49
4.5.1.2.1 MÉTODO 2A - OBTENÇÃO DO METIL 2-(6-METOXI-2-NAFTIL)PROPANOATO (6)	49
4.5.1.2.2 MÉTODO 2B - OBTENÇÃO DO 2- (6-METOXI-2-NAFTIL)PROPANOHIDRAZIDA (7)	50

4.5.1.2.3 MÉTODO 2C - OBTENÇÃO DO <i>N</i> -(1,3-DIOXO-1,3-DIIDRO-2 <i>H</i> -ISOINDOL-2-IL)-2-(6-METOXI-2-NAFTIL)PROPANAMIDA (8)	50
4.5.1.3 OBTENÇÃO DO DERIVADO HÍBRIDO DE DICLOFENACO	51
4.5.1.3.1 MÉTODO 3A - OBTENÇÃO DO METIL {2-[(2,6-DICLOROFENIL)AMINO] FENIL} ACETATO (10)	51
4.5.1.3.2 MÉTODO 3B - OBTENÇÃO DO 2-{2-[(2,6-DICLOROFENIL)AMINO]FENIL}ACETOHIDRAZIDA (11)	52
4.5.1.3.3 MÉTODO 3C - OBTENÇÃO DO 2-{2-[(2,6-DICLOROFENIL)AMINO]FENIL}- <i>N</i> -(1,3-DIOXO-1,3-DIIDRO-2 <i>H</i> -ISOINDOL-2-IL)ACETAMIDA (12)	53
4.5.1.4 OBTENÇÃO DO DERIVADO HÍBRIDO DE IBUPROFENO	54
4.5.1.4.1 MÉTODO 4A - OBTENÇÃO DO METIL 2-(4-ISOBUTILFENIL)PROPANOATO (14)	54
4.5.1.4.2 MÉTODO 4B - OBTENÇÃO DO 2-(4-ISOBUTILFENIL)PROPANOHIDRAZIDA (15)	55
4.5.1.4.3 MÉTODO 4C - OBTENÇÃO DO <i>N</i> -(1,3-DIOXO-1,3-DIIDRO-2 <i>H</i> -ISOINDOL-2-IL)-2-(4-ISOBUTILFENIL)PROPANAMIDA (16)	56
4.5.1.5 OBTENÇÃO DO DERIVADO HÍBRIDO DE CETOPROFENO	57
4.5.1.5.1 MÉTODO 5A - OBTENÇÃO DO METIL 2-(3-BENZOILFENIL)PROPANOATO (18)	57
4.5.1.5.2 MÉTODO 5B - OBTENÇÃO DO 2-(3-BENZOILFENIL)PROPANOHIDRAZIDA (19)	57
4.5.1.5.3 MÉTODO 5C - OBTENÇÃO DO 2-(3-BENZOILFENIL)- <i>N</i> -(1,3-DIOXO-1,3-DIIDRO-2 <i>H</i> -ISOINDOL-2-IL)PROPANAMIDA (20)	58
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	60
5.1 IDENTIFICAÇÃO ESTRUTURAL	61

5.2 EDEMA DE PATA DE RATO INDUZIDO POR CARRAGENINA	90
5.3 TESTE DE GASTRO-TOXICIDADE	93
5.4 ENSAIO DE CONTORÇÕES ABDOMINAIS INDUZIDO POR ÁCIDO ACÉTICO	97
6 CONCLUSÕES	99
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	100

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1:	PROCESSO INFLAMATÓRIO _____	02
FIGURA 2:	ÁCIDO ARAQUIDÔNICO EM DUAS VIAS DE METABOLIZAÇÃO, A DAS CICLOOXIGENASES E A DAS LIPOXIGENASES, FORMANDO EICOSANÓIDES _____	06
FIGURA 3:	PROTAGLANDINA SINTETASE 1 (PGHS 1) E PROTAGLANDINA SINTETASE 2 (PGHS 2) _____	07
FIGURA 4:	CLASSIFICAÇÃO E EXEMPLOS DOS AINEs _____	12
FIGURA 5:	EXEMPLOS DE AINEs INIBIDORES SELETIVOS DE COX-2 _____	16
FIGURA 6:	LASSBio-468 _____	23
FIGURA 7:	EXEMPLOS DE ANÁLOGOS DA TALIDOMIDA _____	24
FIGURA 8:	ANÁLOGOS CPS-11, CPS-45 E CPS-49 _____	24
FIGURA 9:	ESTRUTURA QUÍMICA DA TALIDOMIDA _____	25
FIGURA 10:	ÉSTER DE DICLOFENACO CONTENDO UM NITROSOTIOL (-S-NO) COMO PORÇÃO DOADORA DE ÓXIDO NÍTRICO _____	28
FIGURA 11:	EXEMPLO DE LIGANTE MÚLTIPLO CONJUGADO _____	31
FIGURA 12:	EXEMPLO DE LIGANTE MÚLTIPLO PRÉ-FUNDIDO _____	32
FIGURA 13:	EXEMPLO DE LIGANTE MÚLTIPLO FUNDIDO _____	33
FIGURA 14:	GÊNESE DOS NOVOS DERIVADOS FTALIMÍDICOS PLANEJADOS A PARTIR DOS PROTÓTIPOS TALIDOMIDA E ANTI-INFLAMATÓRIOS NÃO ESTEROIDAIAS (AINEs) _____	35
FIGURA 15:	EDEMA DE PATA DO HÍBRIDO DE NAPROXENO, POR VIA ORAL. ____	90
FIGURA 16:	EDEMA DE PATA DO HÍBRIDO DE DICLOFENACO, POR VIA ORAL. _____	91
FIGURA 17:	EDEMA DE PATA DO HÍBRIDO DE IBUPROFENO, POR VIA ORAL. _____	92

FIGURA 18:	FOTO REPRESENTATIVA DO PADRÃO IBUPROFENO COM LESÃO MÁXIMA EM ESTÔMAGO DE GRAU 5, AUMENTO DE 8 X.	94
FIGURA 19:	FOTO REPRESENTATIVA DO DERIVADO HÍBRIDO DE IBUPROFENO SEM LESÃO MACROSCÓPICA APARENTE DE GRAU 0, AUMENTO DE 8 X.	94
FIGURA 20:	FOTO REPRESENTATIVA DO PADRÃO NAPROXENO COM LESÃO MÁXIMA DE GRAU 5, AUMENTO DE 8 X.	95
FIGURA 21:	FOTO REPRESENTATIVA DO DERIVADO DE NAPROXENO SEM LESÃO MACROSCÓPICA APARENTE DE GRAU 0, AUMENTO DE 8 X.	95
FIGURA 22:	FOTO REPRESENTATIVA DO PADRÃO DICLOFENACO COM LESÃO MÁXIMA DE GRAU 5, AUMENTO DE 8 X.	96
FIGURA 23:	FOTO REPRESENTATIVA DO DERIVADO DE DICLOFENACO SEM LESÃO MACROSCÓPICA APARENTE DE GRAU 0, AUMENTO DE 8 X.	97
FIGURA 24:	PORCENTAGEM DE INIBIÇÃO DAS CONTORÇÕES ABDOMINAIS INDUZIDAS POR ÁCIDO ACÉTICO 0,1 N NA PRESENÇA DOS COMPOSTOS HÍBRIDOS	98

LISTA DE ESQUEMAS

ESQUEMA 1:	ROTA SINTÉTICA PARA OBTENÇÃO DOS DERIVADOS FTALIMÍDICOS _____	36
ESQUEMA 2:	ROTA DE SÍNTESE PARA OBTENÇÃO DOS ANTI-INFLAMATÓRIOS HÍBRIDOS DO ÁCIDO SALICÍCLICO, NAPROXENO, DICLOFENACO, IBUPROFENO E CETOPROFENO _____	39
ESQUEMA 3:	REAÇÃO GERAL DE ESTERIFICAÇÃO _____	60
ESQUEMA 4:	REAÇÃO DE FORMAÇÃO DAS HIDRAZIDAS _____	67

LISTA DE ESPECTROS

ESPECTRO 1:	INFRAVERMELHO DO ÉSTER METÍLICO DO NAPROXENO (KBr) _____	61
ESPECTRO 2:	RMN DE ^1H DO ÉSTER METÍLICO DO NAPROXENO _____	62
ESPECTRO 3:	RMN DE ^1H DO ÉSTER METÍLICO DO NAPROXENO - AMPLIAÇÃO ENTRE 1,5-4,0 PPM _____	63
ESPECTRO 4:	RMN DE ^1H DO ÉSTER METÍLICO DE IBUPROFENO _____	64
ESPECTRO 5:	RMN DE ^1H DO ÉSTER METÍLICO DO CETOPROFENO _____	65
ESPECTRO 6:	RMN DE ^1H DO ÉSTER METÍLICO DO CETOPROFENO - AMPLIAÇÃO NA REGIÃO DE 7,45-7,9 PPM _____	66
ESPECTRO 7:	RMN DE ^1H DA HIDRAZIDA DE ÁCIDO SALICÍLICO _____	68
ESPECTRO 8:	INFRAVERMELHO DA HIDRAZIDA DE NAPROXENO (KBr) _____	69
ESPECTRO 9:	INFRAVERMELHO DA HIDRAZIDA DE NAPROXENO SOBREPOSTO AO ÉSTER DE NAPROXENO (KBr) _____	70
ESPECTRO 10:	RMN DE ^1H DA HIDRAZIDA DE NAPROXENO _____	71
ESPECTRO 11:	RMN DE ^1H DA HIDRAZIDA DE IBUPROFENO _____	72
ESPECTRO 12:	RMN DE ^1H DA HIDRAZIDA DE CETOPROFENO _____	73
ESPECTRO 13:	INFRAVERMELHO DO ANTI-INFLAMATÓRIO HÍBRIDO DE ÁCIDO SALICÍLICO (KBr) _____	75
ESPECTRO 14:	RMN DE ^1H DO ANTI-INFLAMATÓRIO HÍBRIDO DE ÁCIDO SALICÍLICO _____	76
ESPECTRO 15:	RMN DE ^{13}C DO ANTI-INFLAMATÓRIO HÍBRIDO DE ÁCIDO SALICÍLICO _____	77
ESPECTRO 16:	RMN DE ^{13}C DO ANTI-INFLAMATÓRIO HÍBRIDO DE ÁCIDO SALICÍLICO – AMPLIAÇÃO ENTRE 115-170 PPM _____	78
ESPECTRO 17:	INFRAVERMELHO DO ANTI-INFLAMATÓRIO HÍBRIDO DE NAPROXENO (KBr) _____	79

ESPECTRO 18:	RMN DE ^1H DO ANTI-INFLAMATÓRIO HÍBRIDO DE NAPROXENO _____	80
ESPECTRO 19:	RMN DE ^{13}C DO ANTI-INFLAMATÓRIO HÍBRIDO DE NAPROXENO _____	81
ESPECTRO 20:	RMN DE ^{13}C DO ANTI-INFLAMATÓRIO HÍBRIDO DE NAPROXENO – AMPLIAÇÃO ENTRE 105-140 PPM _____	82
ESPECTRO 21:	RMN DE ^1H DO ANTI-INFLAMATÓRIO HÍBRIDO DE DICLOFENACO _____	83
ESPECTRO 22:	RMN DE ^1H ANTI-INFLAMATÓRIO HÍBRIDO DE DICLOFENACO – AMPLIADO NA REGIÃO AROMÁTICA _____	84
ESPECTRO 23:	RMN DE ^{13}C DO ANTI-INFLAMATÓRIO HÍBRIDO DE DICLOFENACO _____	85
ESPECTRO 24:	RMN DE ^1H DO ANTI-INFLAMATÓRIO HÍBRIDO DO IBUPROFENO _____	86
ESPECTRO 25:	RMN DE ^{13}C DO ANTI-INFLAMATÓRIO HÍBRIDO DO IBUPROFENO _____	87
ESPECTRO 26:	RMN DE ^1H DO ANTI-INFLAMATÓRIO HÍBRIDO DE CETOPROFENO _____	88
ESPECTRO 27:	RMN DE ^1H DO ANTI-INFLAMATÓRIO HÍBRIDO DE CETOPROFENO – AMPLIAÇÃO NA REGIÃO DE 7,2-8,5 PPM ____	89

RESUMO

A inflamação é uma importante reação fisiológica que ocorre a uma resposta de proteção do organismo desencadeada por estímulos físicos, químicos e biológicos que podem gerar dor, edema e em alguns casos levar à disfunção do órgão ou tecido. Durante o processo inflamatório tem-se a participação de várias substâncias entre as quais: prostaglandinas, citocinas, histamina, serotonina entre outras. Entre as citocinas pró-inflamatórias pode-se destacar: a interleucina-1 β , interleucina-6, interleucina-8 e o Fator de Necrose Tumoral- α . O principal fator limitante para uso de anti-inflamatórios não esteróides (AINEs) é sua toxicidade gastrointestinal, pois os AINEs de 1º geração como diclofenaco, ibuprofeno, ácido acetil salicílico e naproxeno inibem a COX-1 e a COX-2 promovendo a inibição de prostaglandinas importantes do processo fisiológico, como aquelas presentes nas células parietais do estômago, a responsável pela proteção gástrica. Utilizando-se da modificação molecular, planejou-se a obtenção de híbridos derivados de AAS, naproxeno, diclofenaco, ibuprofeno e cetoprofeno, visando obter compostos com menores índices de gastrotoxicidade. Foram obtidos os compostos *N*-(1,3-dioxo-1,3-diidro-2H-isoindol-2-il)-2-hidroxibenzamida, *N*-(1,3-dioxo-1,3-diidro-2H-isoindol-2-il)-2-(6-metoxi-2-naftil)propanamida, 2-{2-[(2,6-diclorofenil)amino]fenil}-*N*-(1,3-dioxo-1,3-diidro-2H-isoindol-2-il)acetamida, *N*-(1,3-dioxo-1,3-diidro-2H-isoindol-2-il)-2-(4-isobutilfenil)propanamida e 2-(3-benzoilfenil)-*N*-(1,3-dioxo-1,3-diidro-2H-isoindol-2-il)propanamida. A modificação realizada não alterou a atividade anti-inflamatória para o modelo edema de pata e de contorção abdominal em relação aos AINEs controle, enquanto que para o teste de gastrotoxicidade todos os derivados apresentaram grau zero de lesão na mucosa gástrica, contra cinco, grau máximo de lesão dos AINEs controle.

Palavras-chave: Anti-inflamatórios. Gastrotoxicidade. Hibridação Molecular. Química Farmacêutica.

ABSTRACT

The inflammation is an important physiologic reaction that occur to an answer of protection of the organism unchained by physical, chemical and biological stimulus that they can generate pain, edema and in some cases to take to the dysfunction of the organ or tissue. During the inflammatory process the participation of several substances is had among the ones which: prostaglandins, cytokines, hystamine, serotonin among another. Enter the pro-inflammatory cytokines it can stand out: interleukin-1 β , interleukin-6, interleukin-8 and Tumor Necrosis Factor- α . The main factor limiting for use of antiinflammatory non steroids (AINEs) is its toxicity gastrointestinal, because AINEs of 1st generation as diclofenac, ibuprofen, acid salycilic and naproxen inhibit at COX-1 and COX-2 promoting the inhibition of important prostaglandins of the physiologic process, how those presents in the parietal cells of the stomach, the responsible for the gastric protection. Being used of the molecular modification, it drifted him the obtaining of hybrid derived of AAS, naproxen, diclofenac, ibuprofen and ketoprofen, seeking to obtain composed with smaller gastrotoxicity indexes. They were obtained the compositions *N-(1,3-dioxo-1,3-diidro-2H-isoindol-2-yl)-2-hidroxi benzamide*, *N-(1,3-dioxo-1,3-diidro-2H-isoindol-2-yl)-2-(6-metoxi-2-naftil)propanamide*, *2-{2-[(2,6-diclorophenil)amino]phenil}-N-(1,3-dioxo-1,3-diidro-2H-isoindol-2-yl)acetamide*, *N-(1,3-dioxo-1,3-diidro-2H-isoindol-2-yl)-2-(4-isobutilphenil) propanamide* and *2-(3-benzoilphenil)-N-(1,3-dioxoisoindolin-2-yl)propanamide*. The accomplished modification didn't alter the activity antiinflammatory for the model paw edema and of abdominal contortion in relation to AINEs controls, while for the test of derived whole gastrotoxicity them they presented degree lesion zero in the mucous gastric, against five, maximum degree of lesion of AINEs controls.

Keywords: Antiinflammatory. Gastrotoxicity. Molecular Hybridation. Pharmaceutical Chemistry

1 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1.1 PROCESSO INFLAMATÓRIO

A inflamação constitui uma reação fisiológica de defesa e reparação do organismo desencadeada por estímulos físicos, químicos e biológicos que podem gerar dor, edema e em alguns casos levar à disfunção do órgão ou tecido (TAYLOR & YEDNOCK, 2004; LISTER *et al.*, 2007).

O processo inflamatório (Figura 1) pode se dividir em duas fases: agudo e crônico. A inflamação aguda é uma resposta imediata e inespecífica contra o agente agressor, levando de minutos até alguns dias, marcada pelo edema. É caracterizada por vasodilatação arteriolar e venular, com aumento da pressão hidrostática na microcirculação e fuga de líquido para o interstício. Há aumento da permeabilidade na microcirculação por contração celular do endotélio venular o que, por escape do conteúdo protéico, favorece a formação de exsudato inflamatório. Nas 24 horas seguintes, ocorre quimiotaxia com migração de polimorfonucleares e acúmulo de macrófagos no sítio da lesão. A resposta é sempre qualitativamente a mesma, independente do estímulo (BALLINA *et al.*, 2002; HAHN, 2006).

A inflamação quando fora de controle, autoperpetua-se, cronifica-se e acarreta lesão tecidual indesejada e desnecessária. A inflamação crônica é sempre precedida pela inflamação aguda e não se observam nessa fase os sinais característicos das reações agudas (dor, tumor, calor, rubor e perda de função). É caracterizada pelo aumento no grau de celularidade e outros elementos teciduais, diante da permanência do agente agressor. O processo inflamatório crônico inicia-se de maneira insidiosa, levando a uma resposta de baixo grau, latente, podendo ou não ser assintomática.

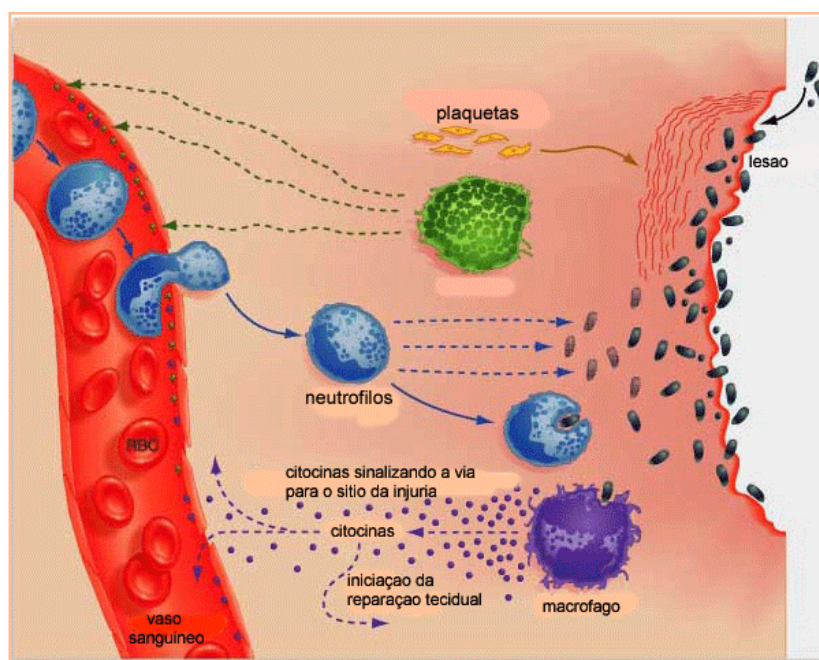


Figura 1 – Processo Inflamatório. Disponível em:<
<http://www.uic.edu/classes/bios/bios.100/lecture/sf04/amlect.23.htm>>. Acesso:
17 jun. 2008.

É originada por infecções persistentes por microrganismos, exposição prolongada a agentes tóxicos, endógenos ou exógenos e auto-imunidade, podendo durar semanas, meses e até anos. Promove destruição tecidual, proliferação local de tecido conjuntivo e ativação de fibroblastos, induzindo à fibrose (BALLINA *et al.*, 2002; HAHN, 2006).

Pode ser subdividida em: inespecífica, produtiva (ou hiperplásica), exudativa e granulomatosa. Em geral se caracteriza pela presença do sistema mononuclear macrofágico (linfócitos, macrófagos e plasmócitos), por destruição tecidual decorrente da presença do agente agressor e por tentativas de reparação. Durante o processo inflamatório tem-se a participação de várias substâncias entre as quais: prostaglandinas, citocinas, histamina, serotonina entre outras. Entre as citocinas pró-inflamatórias pode-se destacar: interleucina (IL) IL -1 β , IL-6, IL-8 e fator de necrose tumoral (TNF- α) (KRAYCHETE *et al.*, 2006).

A dor de origem inflamatória ou não, pode incapacitar física e emocionalmente o indivíduo. Conforme estatística americana acredita-se que a dor determine a incapacidade total ou parcial em aproximadamente 50 milhões de indivíduos, acarretando diminuição na qualidade de vida dos mesmos, além de acarretar uma carga pesada aos Sistemas de Saúde e aos Sistemas de Assistência Social, com predomínio de custos indiretos. (ZEITUNE & MONICI, 2000; HAHN, 2006).

As doenças músculo-esqueléticas são as causas mais comuns de dor intensa, entre elas, a osteoartrite (OA), doença que prevalece entre as que envolvem as articulações, incapacitando em torno de 10% das pessoas com mais de 60 anos de idade no mundo, comprometendo mais de 20 milhões de americanos e gerando custos para a economia dos Estados Unidos de 60 milhões de dólares por ano.

As estimativas apontam essa enfermidade, que afeta 9,6% dos homens e 18% das mulheres, como a quarta causa de incapacidade no ano de 2020 (HAHN, 2006). A artrite reumatóide (AR) atinge 0,3% a 1,0% da população mundial e no Brasil, 1% da população sofre desse mal, se levar em conta os dados do último censo do IBGE, realizado em 2000 (BRASIL, 2006).

Para o adequado manejo da dor, empregam-se medidas específicas ou sintomáticas, medicamentosas e não-medicamentosas e o tratamento deve estar condicionado ao diagnóstico e ao comportamento do paciente em relação à dor (SOLOMON *et al.*, 2005).

1.1.1 PROSTAGLANDINAS E CICLOOXIGENASES

As prostaglandinas (PGs) estão envolvidas em diversos processos fisiológicos e patológicos, incluindo, o processo inflamatório, vasodilatação ou vasoconstrição; contração ou relaxamento da musculatura brônquica ou uterina; hipotensão; ovulação; metabolismo ósseo; aumento do fluxo sanguíneo renal (resultando em diurese, natriurese, caliurese e estimulação da secreção de renina);

proteção da mucosa gástrica e regulação do fluxo sanguíneo local; inibição da secreção ácida gástrica; crescimento e desenvolvimento nervoso; resposta imunológica; hiperalgesia; regulação da atividade quimiotática celular; resposta endócrina; angiogênese; progressão metastática, dentre outras (WILLOUGHBY *et al.*, 2000; CARVALHO *et al.*, 2004).

Na maioria dos leitos vasculares, as PGs da família E (PGEs) são potentes vasodilatadores. A atividade vasodilatadora envolve principalmente arteríolas, esfíncteres pré-capilares e vênulas pós-capilares. A PGD₂ causa geralmente vasodilatação na vasculatura mesentérica, coronariana e renal, e vasoconstrição na circulação pulmonar enquanto a PGI₂ (prostaciclina) é um eficiente vasodilatador, podendo causar importante hipotensão arterial, enquanto o TXA₂ (tromboxano A₂) apresenta potente atividade vasoconstritora.

No sistema circulatório, as PGs modulam, também, a função plaquetária. A PGE₁, PGD₂ e a PGI₂ são inibidoras da agregação de plaquetas, ao passo que o TXA₂ é forte indutor. A PGI₂ é sintetizada pelo endotélio vascular, controlando a adesão de células ao endotélio e a agregação plaquetária, contribuindo com o mecanismo antitrombogênico da parede vascular intacta (MONCADA & VANE, 1978).

As PGEs e as PGI₂ inibem a secreção ácida gástrica estimulada pela alimentação, histamina ou gastrina e reduzem o volume de secreção, a acidez e o conteúdo de pepsina. As prostaglandinas são vasodilatadoras na mucosa gástrica e parece que estão envolvidas na regulação do fluxo sanguíneo local. A secreção de muco no estômago e intestino delgado é aumentada pelas PGEs. A presença de PGs no sistema gastrointestinal confere integridade da mucosa gástrica e células epiteliais (MORROW & ROBERTS, 2001; CLINARD *et al.*, 2004).

As prostaglandinas também influenciam a distribuição do fluxo sanguíneo renal, reabsorção de sódio e água e liberação de renina. A PGI₂, PGE₂ e PGD₂ determinam a secreção de renina no córtex renal, provavelmente por efeito direto

nas células justaglomerulares (VANE *et al.*, 1998; FITZGERALD & PATRONO, 2001; MORROW & ROBERTS, 2001; CARVALHO, 2002).

Tem sido demonstrado que as PGs são produzidas em neurônios e vasos do SNC com importante participação em diversas funções centrais, incluindo o controle do ciclo do sono e do despertar, a termogênese febril e a transmissão nociceptiva. As PGs e citocinas (IL-6) encontram-se também implicadas na fisiopatologia de doenças degenerativas encefálicas, como a esclerose múltipla, demência associada à síndrome de imunodeficiência adquirida (AIDS) e na doença de Alzheimer (JOUZEAU *et al.*, 1997; BLASKO *et al.*, 2004).

Os compostos da família das PGs e dos leucotrienos são denominados de eicosanóides, em virtude de serem derivados de ácidos graxos essenciais de vinte carbonos esterificados em fosfolipídios da membrana celular. A síntese dos eicosanóides, conforme a figura 2, pode ser desencadeada por diversos estímulos que ativam receptores de membrana, acoplados à proteína G, resultando na ativação da fosfolipase A₂ ou elevação da concentração intracelular do Ca²⁺. A fosfolipase A₂ hidrolisa fosfolipídios da membrana, particularmente fosfatidilcolina e fosfatidiletanolamina, formando o ácido araquidônico (JANEWAY *et al.*, 2001; MORROW & ROBERTS, 2001; CHANDRASEKHARAN *et al.*, 2002).

O ácido araquidônico poderá, dependendo do estímulo, seguir duas vias enzimáticas distintas: a via das ciclooxygenases (COXs), o qual desencadeia a biossíntese das PGs, PGI e TXs, e a via das lipoxigenases (LOX), responsável pela síntese dos leucotrienos (LTs), lipoxinas e outros compostos (CARVALHO *et al.*, 2004).

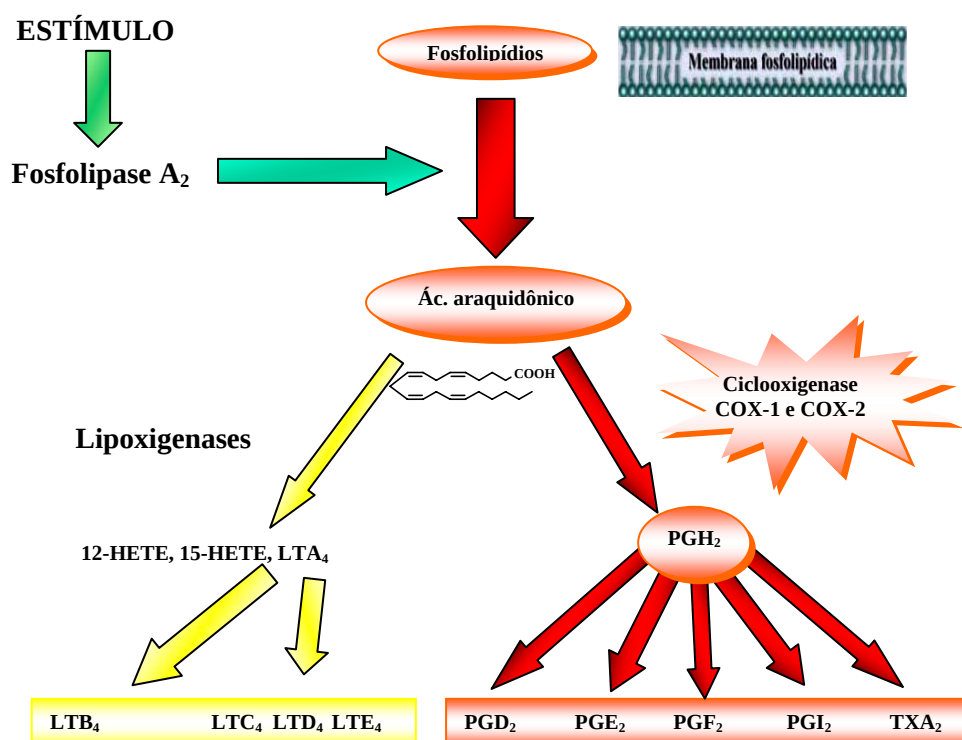


Figura 2 – Ácido araquidônico em duas vias de metabolização, a das ciclooxygenases e a das lipoxigenases, formando eicosanóides.

A COX, também conhecida como Prostaglandina Sintetase ou Prostaglandina Endoperóxido Sintetase (PGHS) (Figura 3), foi isolada em 1976 e clonada em 1988. A COX-1 foi a primeira a ser caracterizada e é expressa constitutivamente, ou seja, está presente nas células em condições fisiológicas, principalmente nos vasos sanguíneos, plaquetas, estômago e rins (RAZ *et al.*, 1989; VANE *et al.*, 1998; HOWARD & DELAFONTAINE, 2004).

Em 1991 foi identificado um gene que codificava uma segunda isoforma da enzima, a COX2 (PGHS-2) (Figura 3). As duas isoformas apresentam estrutura protéica primária similar e catalisam essencialmente a mesma reação (VANE *et al.*, 1998; KUMMER & COELHO, 2002; CARVALHO *et al.*, 2004).

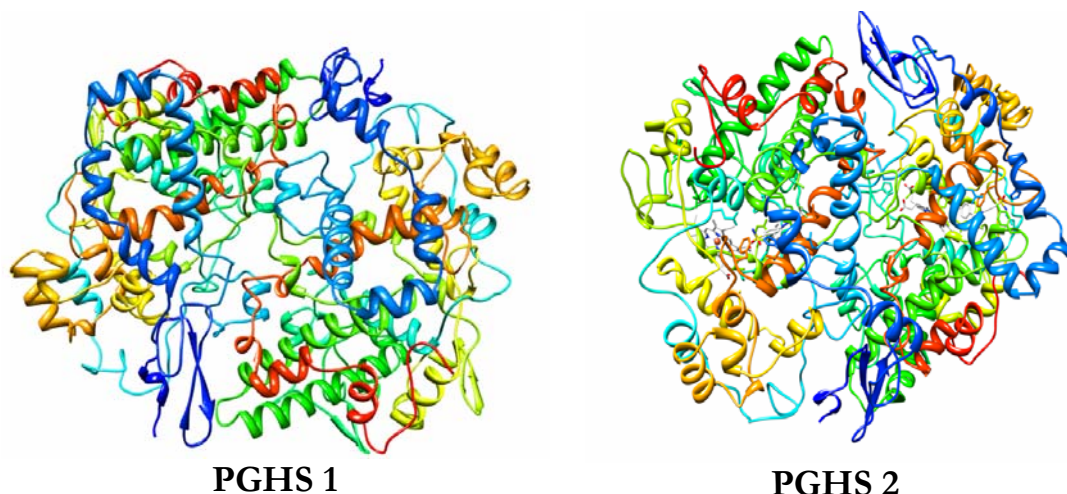


Figura 3 – Prostaglandina Sintetase 1 (PGHS 1) e Prostaglandina Sintetase 2 (PGHS 2). Disponível em: <<http://en.wikipedia.org/wiki/Cyclooxygenase>>. Acesso: 27 set. 2008.

A COX-2 é uma isoforma induzível na presença de citocinas (IL-1, IL-2 e do TNF- α), ésteres do forbol, fatores de crescimento e endotoxinas, sendo expressa caracteristicamente por células envolvidas no processo inflamatório, como macrófagos, monócitos e sinoviócitos. Por outro lado, a expressão da COX-2 pode ser inibida por glicocorticóides e citocinas anti-inflamatórias, IL-4, IL-13 e IL-10, enquanto que a PGE₂ promove regulação crescente (*up-regulation*) na expressão da COX-2 (VANE & BOTTING, 1995; JOUZEAU *et al.*, 1997; VANE *et al.*, 1998; VANE & BOTTING, 1998; MORISSET *et al.*, 1998; FITZGERALD & PATRONO, 2001).

A COX-2 pode, também, ser regulada de modo pós-transcricional. A perda desta regulação pode ocorrer pela mutação de proteínas que interagem especificamente em determinados elementos do RNAm da enzima, resultando em elevação na expressão enzimática, cujo mecanismo tem sido proposto como fator crucial na carcinogênese intestinal (HINZ & BRUNE, 2002)

Sabe-se que os lipopolissacarídeos (LPS) e as citocinas podem promover a indução de COX-2 em várias regiões do encéfalo e que a COX-1 é

constitutivamente expressa em diversos neurônios. A COX-1 é distribuída prevalentemente no prosencéfalo, onde as PGs podem estar envolvidas em funções de integração, como modulação do Sistema Nervoso Autônomo (SNA) e da vias sensoriais de transmissão (VANE *et al.*, 1998).

De maneira interessante, a COX-2 é expressa constitutivamente em alguns órgãos e em algumas regiões do encéfalo, destacando-se principalmente córtex, hipocampo, complexo amígdala-hipocampo (importante para a memória e comportamento), hipotálamo e medula espinhal. Dentre os circuitos neurais, a via regulatória da resposta febril é a melhor compreendida. A liberação de IL-1, a partir do estímulo de pirógenos, promove a síntese central de PGE₂ e esta, por sua vez, ativa o centro termorregulador situado na área pré-óptica do hipotálamo anterior, desencadeando a febre (VANE *et al.*, 1998; CARVALHO *et al.*, 2004).

Observou-se a presença de COX₂ na vasculatura renal, na mácula densa cortical, nas células intersticiais dos rins, no ducto coletor e na porção delgada da alça de Henle, apresentando aumento da sua expressão em determinadas áreas, com a progressão da idade (CARVALHO *et al.*, 2004)

A COX-1 é uma enzima constitutiva envolvida em diversos processos fisiológicos do organismo, como por exemplo, a produção de muco responsável pela proteção da mucosa gástrica ao ambiente ácido estomacal e a COX-2 pode ser induzida em resposta a agentes como citocinas, mitógenos, endotoxinas do processo inflamatório (SAPIRSTEIN *et al.*, 2005).

Mais recentemente, novas motivações para o uso clínico e para a pesquisa foram encontradas com a descrição de uma terceira variante da ciclooxigenase denominada de COX-3 (CHANDRASEKHARAN *et al.*, 2002).

A COX-3, possivelmente uma variante da COX-1 (pois é derivada do mesmo gene dessa isoforma), encontra-se distribuída principalmente no córtex cerebral, medula espinhal e coração, sendo mais sensível ao paracetamol do que a COX-1 e a COX-2. Postulou-se que a inibição da COX-3 poderia representar o

mecanismo central primário pelo qual os fármacos analgésicos e antipiréticos do tipo AINEs desenvolveriam suas atividades de redução da dor e da febre (CHANDRASEKHARAN *et al.*, 2002; CARVALHO *et al.*, 2004). Importante salientar, que o paracetamol não apresenta atividade em inibição de COX-1 e 2 devido à sua inativação pela presença de peróxidos. E apesar dos trabalhos sugerirem que a atividade do paracetamol está relacionada com sua inibição em COX-3, observa-se pelos trabalhos de CHANDRASEKHARAN e colaboradores (2002) que os valores de IC₅₀ de COX-3 para o paracetamol, é de 460 µM; 0,008 µM e 52 µM, para o diclofenaco e dipirona, respectivamente. Estes valores mostram que a inibição em COX-3 para o paracetamol é cerca de 57.500 vezes menor que o diclofenaco e 9 vezes menor que a dipirona

Trabalhos de KUMMER e COELHO (2002) sugerem que a COX-3, ao contrário das outras isoformas, não produziria prostanóides pró-inflamatórios, mas substâncias anti-inflamatórias (não relatadas), o que poderia explicar os períodos de remissão em pacientes com doenças inflamatórias crônicas, como a artrite reumatóide (WILLOUGHBY *et al.*, 2000; KUMMER & COELHO, 2002).

1.2 ANTI-INFLAMATÓRIOS NÃO ESTEROIDAIIS (AINEs)

Os agentes anti-inflamatórios não esteroidais (AINEs) são os fármacos mais largamente prescritos e usados em todo o mundo, desde a produção do ácido acetilsalicílico pela Bayer em 1899 (VANE & BOTTING, 1998; CARVALHO *et al.*, 2004). Os fármacos anti-inflamatórios são indicados quando o desconforto proveniente da dor e do edema e a limitação funcional forem maiores que os benefícios fisiológicos da reação inflamatória.

Os anti-inflamatórios estão entre os mais amplamente utilizados de todos os agentes terapêuticos e podem ser classificados em anti-inflamatórios esteroidais (AIEs) e não esteroidais (AINEs). Estima-se que exista mais de 50 AINEs diferentes no mercado, porém nenhum deles é ideal no controle ou na modificação

dos sinais e sintomas da inflamação, particularmente àqueles que ocorrem nas doenças articulares inflamatórias comuns (RANG *et al.*, 2001; SOUZA & FERRÃO, 2006).

No ano de 2000, 111.400.000 milhões de prescrições de AINEs foram receitadas para pacientes americanos, a um custo de 5 bilhões de dólares. Trinta e quatro por cento dos indivíduos com idade de 65 anos ou mais, fazem uso de AINEs diariamente e setenta por cento usam pelo menos uma vez na semana.

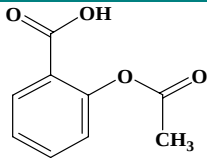
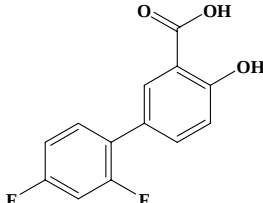
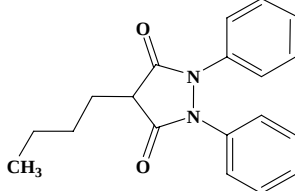
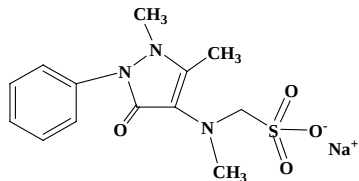
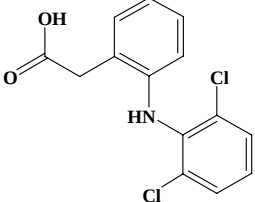
A utilização dos AINEs está associada com o risco de eventos gastrintestinais, e estudo norte americano tem indicado que, para cada dólar gasto com AINEs, \$0,66 a \$1,25 é gasto com os efeitos adversos gastrintestinais (DUBOIS *et al.*, 2004).

No Brasil, em 2000, o volume de vendas de anti-inflamatórios atingiu 606,25 milhões de reais. Em julho de 2004, totalizavam 782 milhões de reais. Um estudo realizado pela Organização Mundial da Saúde (OMS) na América Latina sobre automedicação mostrou que os AINEs representavam 5,6% dos medicamentos dispensados sem receita médica (HAHN, 2006).

John Vane em 1971 observou uma diminuição na concentração de PGs em tecido pulmonar tratado com salicilatos e a partir destes estudos, propôs-se que o mecanismo de ação dos AINEs estaria relacionado à inibição da formação de PGs devido à capacidade destes compostos inibirem a enzima ciclooxigenase (COX) que catalisa a conversão do ácido araquidônico em prostaglandina durante o processo fisiológico e inflamatório (FERREIRA *et al.*, 1973; MITCHELL *et al.*, 1994; MONCADA, 1997; VANE & BOTTING, 1998; KUMMER & COELHO: 2002; CARVALHO *et al.*, 2004; REIS & ROCHA, 2006).

Recentemente, foi observado que os AINEs parecem possuir um papel neuroprotetor reduzindo a incidência e o risco à doença de Alzheimer, retardando significativamente a evolução da doença (COMBS *et al.*, 2000; BLASKO *et al.*, 2004; VASTO *et al.*, 2007; KUMARI *et al.*, 2007).

Os AINEs de 1º geração inibem a COX-1 e a COX-2, sem seletividade, sendo que, seus efeitos adversos como nefrotoxicidade e toxicidade gástrica são devido à inibição da COX-1 e os efeitos terapêuticos estão relacionados com a inibição da COX-2 (MITCHELL *et al.*, 1994; STEEN *et al.*, 2008). A figura 4 mostra as classes de AINEs não específicos com seus respectivos exemplos.

CLASSIFICAÇÃO DOS AINEs		
CLASSE	FÁRMACOS	ESTRUTURAS
SALICILATOS	ácido acetil salicílico	
	diflunisal	
PIRAZOLONA	fenilbutazona	
	dipirona	
ÁCIDO FENILACÉTICO	diclofenaco	

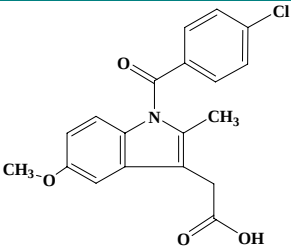
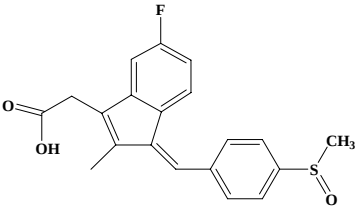
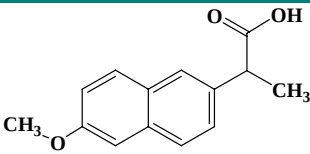
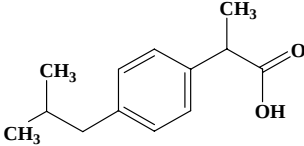
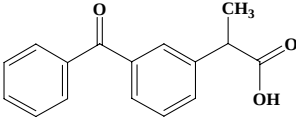
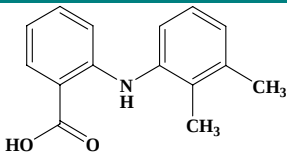
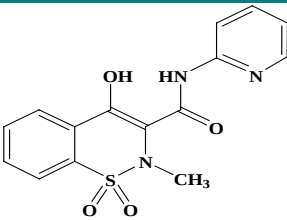
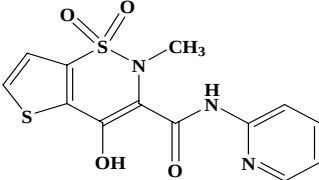
INDOLACÉTICO	indometacina	
	sulindaco	
ÁCIDO PROPIONICO	naproxeno	
	ibuprofeno	
	cetoprofeno	
ÁCIDO FENILANTRANÍLICO	ácido mefenâmico	
ÁCIDO ENÓLICO	piroxicam	
	tenoxicam	

Figura 4 - Classificação e exemplos dos AINEs.

1.2.1 REAÇÕES ADVERSAS DOS AINES

Além da gastroulceração, outros efeitos adversos têm sido relacionados com a utilização dos AINEs entre os quais: lesões cutâneas, insuficiência renal aguda, nefrite crônica, necrose papilar renal, distúrbios hepáticos, distúrbios da medula óssea (ONG *et al.*, 2007). Entretanto, o principal fator limitante para uso de AINEs é sua toxicidade gastrointestinal (HAHN, 2006).

Os AINEs são reconhecidamente como causadores de complicações gastrointestinais superiores, com um percentual em torno de 40% para sintomas dispépticos que levam a úlceras complicadas (hemorragia, perfuração ou obstrução pilórica). A prevalência de úlcera péptica crônica é de 20-30% e com úlcera gástrica é de aproximadamente seis vezes mais comum que com úlcera duodenal (HAWKINS & HANKS, 2000) e a utilização de outros fármacos concomitantemente aos AINEs aumenta o risco de hemorragia gastrointestinal.

HELIN-SALMMIVAARA e colaboradores (2003) estudaram a prescrição de AINEs com corticosteróides, agentes anticoagulantes ou inibidores seletivos da recaptação da serotonina (ISRS), assim como com o uso de gastroprotetores entre usuários contínuos e não contínuos de AINEs na Finlândia. Os resultados demonstraram que a prescrição combinada aumentou o risco potencial de hemorragia gastrointestinal em cinco vezes entre usuários contínuos de AINEs que em usuários não contínuos.

A prevenção de lesões gastrointestinais em pacientes usuários crônicos de AINEs pode ser obtida com diversos antiulcerosos. Na prática clínica, o uso de gastroprotetores (inibidores da bomba de prótons, antagonistas H₂, misoprostol e antiácidos) tornou-se rotina em pacientes usuários de medicamentos, quer esses utilizem ou não AINEs ou apresentem outros potenciais fatores de risco para o desenvolvimento de eventos adversos gastrointestinais (HAHN, 2006).

Os AINEs rompem com a barreira normal da mucosa gástrica de muco hidrofóbico e bicarbonato por dois mecanismos. O mecanismo principal, independente da via de administração, é resultado da inibição da COX-1.

No estômago, as PGs têm um papel de proteção vital, manutenção de fluxo sanguíneo para a mucosa, estimulação da secreção de bicarbonato e muco e regulação das células de movimento e reparação da mucosa. A perda da proteção gástrica pela inibição da síntese prostaglandinas torna o estômago vulnerável ao dano pelo suco gástrico (HAWKINS & HANKS, 2000).

No caso dos AINEs ácidos, como a aspirina, podem provocar dano da mucosa gástrica por efeito direto por inibição da fosforilação oxidativa mitocondrial, potencializando os efeitos adversos gástricos. Erosões da mucosa e hemorragias podem ser observadas após 90 minutos de ingestão de um único comprimido de aspirina (HAWKINS & HANKS, 2000).

As doenças inflamatórias crônicas como, por exemplo, artrite reumatóide, doença de Chron e osteoartrite exigem administração diária de AINEs, o que aumenta ainda mais a probabilidade de eventos adversos (WALLACE, *et al.*, 1990; BABUSH *et al.*, 2005; ONG *et al.*, 2007).

1.3 AINES SELETIVOS DE COX-2

Devido à falta de seletividade dos AINES e a necessidade de utilização de AINEs mais seletivos para COX-2 sem os efeitos adversos gastrintestinais, iniciou-se uma mobilização da indústria farmacêutica e dos centros de pesquisas em busca de fármacos que possuíssem a característica de atuar seletivamente sobre COX-2 (ROMSING & MOINICHE, 2004).

Em 1999, o celecoxib, primeiro AINE COX-2 seletivo para uso oral foi lançado no mercado pela empresa Farmacêutica Pfizer, sendo aparentemente destituído de efeitos gastrintestinais, o qual poderia ser usado por longos períodos. A partir daí, outros fármacos foram obtidos, como o rofecoxibe, etoricoxibe e o

valdecoxibe e recentemente, um inibidor específico de COX-2 para uso parenteral foi introduzido na terapêutica, o parecoxibe (HAREL, 2004) (Figura 5).

Com a ampla utilização desta nova classe de anti-inflamatórios na clínica, observou-se o aparecimento dos efeitos adversos relacionados a danos cardíacos (DUBOIS *et al.*, 1998).

Foi demonstrado que a COX-2 está localizada no endotélio e tem sido sugerido, que ela desempenha um papel vasoprotetor e antiaterogênico em virtude de seu maior produto, a PGI, o qual é um potente inibidor da agregação plaquetária, da ativação e adesão de leucócitos e do acúmulo de colesterol nas células vasculares (HINZ & BRUNE, 2002).

Desta forma, PGI desempenha uma importante função de neutralizar os efeitos cardiovasculares danosos do TXA₂ (metabólito produzido pela COX-1 com propriedades vasoconstritoras e adesão plaquetária). Desse modo, o uso de inibidores seletivos para COX-2, com o bloqueio da produção de PGI, sem bloqueio de TXA₂, permite que este último atue sem controle, ocasionando um desequilíbrio da coagulação sanguínea e da constrição vascular (CHENG *et al.*, 2002).

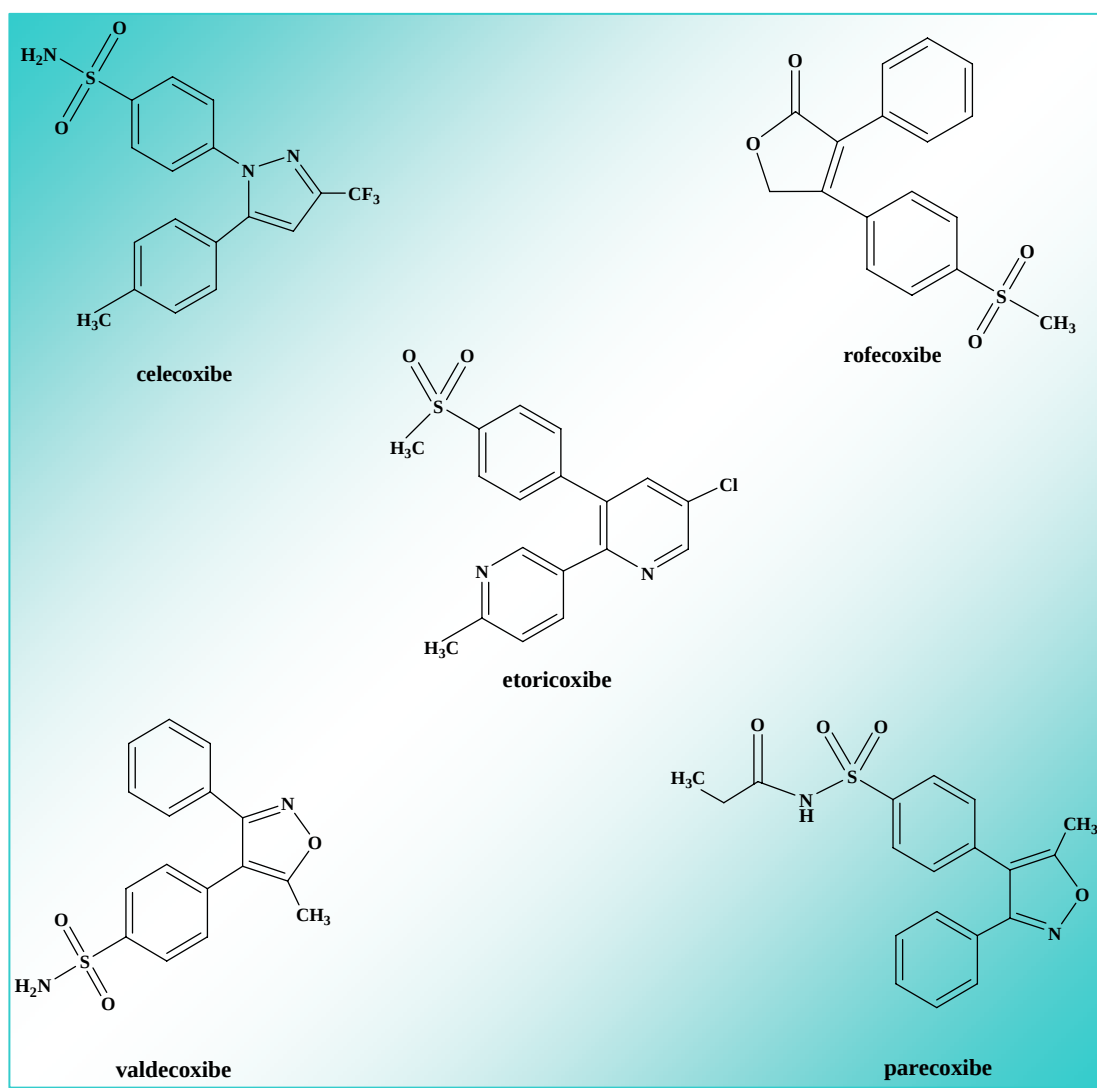


Figura 5 – Exemplos de AINEs inibidores seletivos de COX-2.

Divulgados em setembro de 2004, os resultados do estudo *Adenomatous Polyp Prevention on Vioxx* (APPROVe) causaram a pronta retirada do rofecoxib (Vioxx®) do mercado por parte da indústria que o comercializava, a Merck.. Este estudo baseou-se nas interpretações de que a enzima COX-2 é expressa em sítios de inflamação, como é o caso de neoplasias, onde se levantou a hipótese de que a sua inibição pudesse ser útil no tratamento ou prevenção de diversas doenças neoplásicas. Buscava-se determinar se o uso do rofecoxib por três anos alteraria o risco de recorrência de pólipos neoplásicos no intestino grosso. Após 18 meses de tratamento, a intervenção foi suspensa devido à associação do AINE a um

aumento significativo do risco cardiovascular (BRESALIER *et al.*, 2005; ARAUJO *et al.*, 2005).

Os resultados dos estudos envolvendo rofecoxib, celecoxib e valdecoxib convenceram os especialistas do maior risco de eventos adversos cardiovasculares dos AINEs seletivos COX-2, como infarto agudo do miocárdio, acidente vascular cerebral, hipertensão e insuficiência cardíaca (BRESALIER *et al.*, 2005; DRAZEN, 2005).

O surgimento destes efeitos adversos, mais grave e fatal tem colocado em discussão se o uso de agentes anti-inflamatórios com inibição específica desta isoforma teria realmente vantagens sobre os AINEs tradicionais (HINZ & BRUNE, 2002).

De acordo com ARAUJO e col. (2005), as recomendações clínicas desenvolvidas em sessões científicas do *American College of Cardiology* (ACC) para o uso de anti-inflamatórios são as seguintes:

- ✓ Uso continuado de aspirina em baixa dose, quando indicado;
- ✓ Alternativas aos AINEs devem ser consideradas, como paracetamol e terapias tópicas;
- ✓ Se o uso de um AINE for necessário, a primeira escolha é naproxeno associado a um inibidor de bomba de prótons;
- ✓ Inibidores específicos de COX-2 não devem ser usados a não ser que todas as estratégias acima falhem.

No caso do uso de inibidores de COX-2 ser imprescindível, os riscos e benefícios da terapia devem ser cuidadosamente analisados (SOLOMON *et al.*, 2005), além disso, o paciente deve estar ciente dos seus riscos, a dose deve ser a mais baixa possível e o tempo de tratamento o mais curto. É importante ressaltar que a avaliação de riscos permanece difícil já que ainda não se tem uma avaliação

adequada dos mesmos em estudos de longa duração envolvendo populações de alto e de baixo risco (TOPOL, 2004; DRAZEN, 2005; ARAUJO *et al.*, 2005).

1.4 TALIDOMIDA

Em 1954, uma pequena companhia farmacêutica alemã, a *Chemie Grünenthal*, tinha como objetivo aumentar os seus lucros aproveitando o “boom” dos antibióticos que ocorreu no pós-guerra. Os pesquisadores da *Grünenthal*, ao tentarem encontrar técnicas simples e pouco dispendiosas para produzir novos antibióticos sintetizaram um composto derivado do ácido glutâmico, a talidomida (*N*- α -ftalimidoglutarimida), sem, contudo, mostrar atividade antibacteriana desejada (BORGES & FRÖEHLICH, 2003).

O principal efeito demonstrado nos estudos realizados pela *Grünenthal* foi a capacidade da talidomida de provocar um sono profundo e apesar de seu potencial hipnótico ser semelhante ao dos barbitúricos, a intoxicação aguda pela talidomida era considerado um evento quase impossível, pois mesmo em altas doses, as taxas de letalidade entre ratos, cobaias e coelhos não foram significativas. Generalizando para humanos os resultados obtidos em animais de laboratório, a *Grünenthal* lançou o medicamento no mercado em outubro de 1957, indicado inicialmente como antiemético sedativo e hipnótico (OLIVEIRA *et al.*, 1999; TEO *et al.*, 2005; TEO, 2005).

A talidomida foi introduzida e amplamente prescrita na Europa, Austrália, Ásia, África e na América, excluindo os Estados Unidos e no início de 1960, foi muito usada para os enjoos matinais das grávidas e os seus efeitos danosos como a neuropatia e a teratogenicidade ficaram visíveis em mais de 10.000 bebês que nasceram com defeitos congênitos entre os anos de 1958-1961, ano em que a Food and Drug Administration (FDA), nos Estados Unidos, banuiu a talidomida do mercado (LIMA *et al.*, 2001; PANNIKAR, 2003; BITTENCOURT *et al.*, 2004; PENNA *et al.*, 2005).

Em 1965, o dermatologista israelense Dr. Sheskin, utilizou a talidomida para sedar os pacientes com lesões dolorosas causadas pelo eritema nodoso hansênico (ENH), verificando que as lesões inflamatórias regrediram. Desde então, a ação anti-inflamatória e imunomoduladora da talidomida tem sido explorada, ressurgindo como alternativa ao tratamento das dermatoses inflamatórias crônicas, incluindo as artrites e lúpus (BITTENCOURT *et al.*, 2004; PENNA *et al.*, 2005).

Atualmente, a talidomida é o fármaco de escolha para tratamento do ENH, pois inibe a expressão gênica seletiva do TNF- α através do bloqueio do RNAm que comanda a produção desta citocina e, conseqüentemente, as suas funções (SAMPAIO *et al.*, 1991; SAMPAIO *et al.*, 2002; BORGES & FRÖEHLICH, 2003; PENNA *et al.*, 2005). O FDA registrou em 1998 o Thalomid® para uso em ENH e no Brasil o uso da talidomida foi regulamentado pelo Ministério da Saúde (MS) na década de 1960 e recentemente, pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) (OLIVEIRA *et al.*, 1999).

No final da década passada, o Brasil figurava como único produtor de talidomida em escala comercial, com finalidade de suprir a demanda do Programa Controle de Hanseníase (PCH), sendo o único país endêmico de hanseníase que dispõe desse fármaco (PENNA *et al.*, 2005).

Em 1991, KAPLAN e colaboradores em ensaios *in vitro* demonstraram que a talidomida inibia a produção do TNF- α em monócitos e como os níveis sanguíneos de pacientes com hanseníase apresentavam TNF- α elevado, concluíram que a talidomida poderia inibir seletivamente esta citocina quando expressa em quantidade superior aquela necessária para a manutenção do sistema imunológico normal, comprovando o seu potencial imunorregulador (SAMPAIO *et al.*, 1991; LIMA *et al.*, 2001; BORGES & FRÖEHLICH, 2003; BITTENCOURT *et al.*, 2004).

A talidomida devido ao seu efeito supressor sobre o TNF- α , passou a ser um recurso na complicação pós-transplante alogênico de medula óssea, a Doença do

Enxerto contra Hospedeiro (DECH), um processo imunomediado que envolve o linfócito T, com manifestações mucocutâneas (LIM *et al.*, 1988; BORGES & FRÖEHLICH, 2003; BITTENCOURT *et al.*, 2004).

Desde a sua reintrodução muitas evidências foram divulgadas, como as relatadas por:

⇒ BARNHILL e colaboradores (1984) que justificaram o efeito anti-inflamatório da talidomida devido a sua capacidade em inibir a fagocitose de leucócitos em culturas.

⇒ D'AMATO e colaboradores em 1994, a partir de pesquisa com a talidomida, observaram seu efeito antivasculogênese em córnea de coelho, sendo seu uso sugerido em doenças como retinopatia diabética e tumores sólidos.

⇒ NEUBERT e colaboradores (1996), em trabalho realizado com macacos, mostraram que a talidomida regula moléculas de adesão celular e induz mudanças no padrão das integrinas, comprovando a sua propriedade imunomoduladora.

⇒ SINGHAL e colaboradores (1999) relataram os resultados dos estudos da talidomida em pacientes com Mieloma Múltiplo (MM), os quais sustentam as hipóteses de seu efeito antiangiogênico e imunomodulador. Esta doença, maligna é caracterizada pela infiltração medular com plasmócitos devido à angiogênese, que se ancora nos fatores estimulantes de crescimento do endotélio e dos fibroblastos, associados à ação das moléculas de adesão, das IL-6, IL-3, IL-1 β e IL-10, dos fatores estimulantes do crescimento de granulócitos e monócitos e do TNF- α (BITTENCOURT *et al.*, 2004).

Os mecanismos imunorregulatórios envolvidos na patogênese do mieloma e o fato de que o tumor requer a neovascularização para crescer, fazem com que os agentes antiangiogênicos como a talidomida, impeçam o tumor de crescer e metastatizar (SINGHAL *et al.*, 1999; KNELLER *et al.*, 2000).

O sucesso terapêutico fez com que a atividade da talidomida fosse mais bem estudada, sendo comprovada sua ação antitumoral através de vários mecanismos,

destacando-se o efeito antiangiogênico, a ação anti-IL-6, estímulo da apoptose, a supressão de TNF- α e a expansão de efeitos imunomodulatórios com a produção do interferon-gama (IFN- γ) e IL-2 (SINGHAL *et al.*, 1999; BARLOGIE *et al.*, 2001; RAJUKMAR *et al.*, 2002; BITTENCOURT *et al.*, 2004).

Estudos demonstram a possibilidade de a talidomida exercer atividade anti-HIV através da interferência na produção do TNF- α , que induz diretamente a expressão do HIV da célula infectada pela estimulação do fator nuclear kappa-B, fator celular de transcrição essencial para a expressão do HIV (POLI *et al.*, 1990; BORGES & FRÖEHLICH, 2003).

De acordo com MOREIRA e colaboradores (1993), estruturas análogas à talidomida têm demonstrado uma atividade antiviral maior que esta, quando utilizada sozinha. A atividade anti-HIV da ftalimida, molécula presente na talidomida foi confirmada em estudos realizados pelo grupo de pesquisa de MAKONKAWKEYOON em 1993 e em 1997, DERPOORTEN e colaboradores demonstram que derivados de *N*-1-fenilftalimida, *N*-adamantilbenzamida e *N*-1-adamantilftalimida apresentavam atividade antiviral.

O papel da talidomida no tratamento de muitas patologias associadas ao HIV parece ser bastante promissor. A caquexia é uma destas patologias, sendo caracterizada pela perda progressiva de peso e da musculatura, acompanhada de distúrbios metabólicos como anorexia ou diarreia. Considera-se a caquexia como o passo final na progressão da doença, levando à morte e a talidomida parece melhorar significativamente o quadro da caquexia, induzindo o ganho de massa corporal e revertendo os sintomas da mesma (BORGES & FRÖEHLICH, 2003). Embora haja indicações dos efeitos benéficos da talidomida em condições associadas ao HIV, sugere-se um cuidado e um controle no uso deste fármaco.

O TNF- α é produzido por muitos tipos celulares, incluindo monócitos e macrófagos, linfócitos T e B, neutrófilos, células tumorais e fibroblastos, sendo a chave reguladora de outras citocinas pró-inflamatórias incluindo IL-1 β , IL-6 e IL-8.

Em condições fisiológicas, baixos níveis de TNF- α conferem proteção contra agentes infecciosos, tumor e dano tecidual (ALEXANDRE-MOREIRA *et al.*, 2005).

Nos portadores de doenças inflamatórias crônicas, estes apresentam níveis elevados da citocina pró-inflamatória TNF- α , sendo que o nível elevado desta citocina desencadeia uma série de alterações maléficas como o desenvolvimento de doenças autoimunes, inflamatórias e imunopatológicas por exacerbar o processo inflamatório (AGGARWAL *et al.*, 2002; SURYAPRASAD & PRINDIVILLE *et al.*, 2003; KODAMAA, DAVIS & FAUSTMAN, 2005; POPA *et al.*, 2007; CLARK, 2007; KOCH *et al.*, 2007; SCHENK *et al.*, 2007).

Várias substâncias com ação direta sobre a inibição de TNF- α são relatadas e entre elas estão os inibidores da enzima conversora de TNF- α (TACE), os anticorpos neutralizantes (infiximab) e os fármacos com estrutura relacionados à talidomida (LIMA *et al.*, 2001; KLOTZ, TEMPL & SCHWAB, 2007).

O mecanismo de propriedades imunomodulatórias, anti-inflamatórias e antiangiogênicas da talidomida são ainda obscuros, embora estejam envolvidas as modulações de citocinas inflamatórias tais como TNF- α , IFN- γ , IL-10, IL-12, COX-2 e possivelmente o fator de transcrição nuclear κ B (NF- κ B) (FRANKS *et al.*, 2004). Há trabalhos sugerindo que a talidomida tem um papel na regulação dos linfócitos auxiliares (Th2), aumentando a produção de Th2, das citocinas IL-4 e IL-5 e inibição da produção dos linfócitos inflamatórios (Th1) e da citocina IFN- γ em células periféricas do sangue, estimuladas por antígenos e mitógenos (MARRIOT *et al.*, 1999; BORGES & FRÖEHLICH, 2003; FRANKS *et al.*, 2004).

Tem sido relatado que pacientes artríticos tratados com anticorpos monoclonais anti TNF- α (infiximab) apresentaram uma diminuição da dor associada à doença (RANKIN *et al.*, 1995). Esse fato demonstra que o TNF- α apresenta papel importante na hiperalgesia periférica, e sua inibição tem sido associada à redução da dor aguda e crônica, o que explica o efeito analgésico da

talidomida, primeiro fármaco anti-TNF- α introduzido na terapêutica (RIBEIRO *et al.*, 2000).

Atualmente, vários grupos de pesquisa tem se esforçado no desenvolvimento de análogos da talidomida com o objetivo de melhorar as suas propriedades farmacocinéticas e reduzir seus efeitos teratogênicos, procurando manter os grupos farmacofóricos e excluindo os toxicofóricos, visando a descoberta, desenvolvimento e comercialização de novas moléculas para câncer e doenças imunológicas.

LIMA e col. (2002) correlacionando a atividade anti-inflamatória do composto LASSBio-468 (Figura 6) com um possível efeito na produção de TNF- α , avaliaram os níveis desta citocina revelando a capacidade de inibição deste composto em torno de 72% para o recrutamento de neutrófilos induzidos por LPS, evidenciando a contribuição da ftalimida em modular as ações do TNF α .

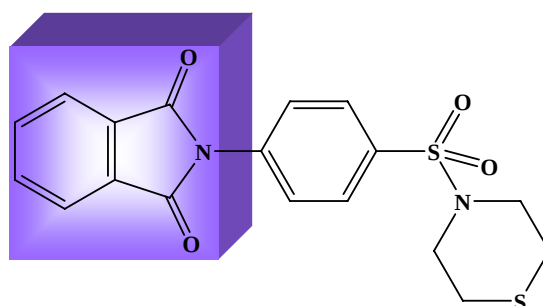


Figura 6 – LASSBio-468 (LIMA *et al.*, 2002).

A figura 7 mostra o exemplo de dois análogos da talidomida para o tratamento do M.M., sendo que a lenalidomida foi aprovada para uso terapêutico pelo FDA em 2004 (ANDERSON, 2005).

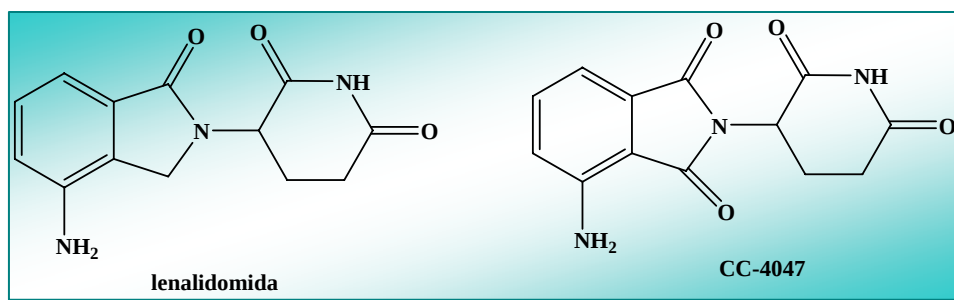


Figura 7 – Exemplos de análogos da talidomida.

Análogos da talidomida, sendo um *N*-substituído, CPS-11, e dois análogos tetrafluorinados, CPS-45 e CPS-49, (Figura 8) apresentaram consistentemente alta potência e eficácia em ensaios *in vitro* para atividade antiangiogênica, levando a Celgene a requerer a patente de aplicação destes compostos em 2002 (ARAGON-CHING *et al.*, 2007).

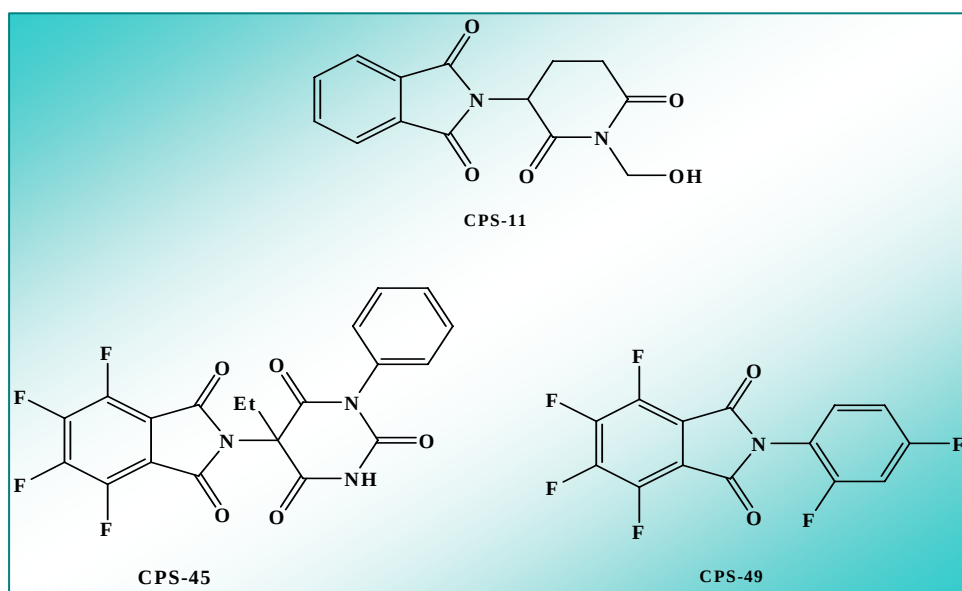


Figura 8 – Análogos CPS-11, CPS-45 e CPS-49.

O carbono 3' na estrutura da glutarimida da talidomida (Figura 9), é assimétrico e, por isso, pode existir nas formas opticamente ativas R ou S. A forma S é a responsável pela teratogenicidade, entretanto, a obtenção de fármacos assimétricos (S-talidomida), parecia inicialmente interessante, mas os pesquisadores observaram que o mesmo sofre biotransformação assimétrica rápida, isto é, são capazes da interconversão de R em S, *in vivo*. Estudos demonstram que o grupo ftalimídico da molécula é o grupo farmacofórico, enquanto que ao grupo glutarimídico foi atribuído a atividade toxicofórica (teratogênica) (ERIKSSON *et al.*, 1995; LIMA *et al.*, 2001; BORGES & FRÖEHLICH, 2003; FRANKS *et al.*, 2004).

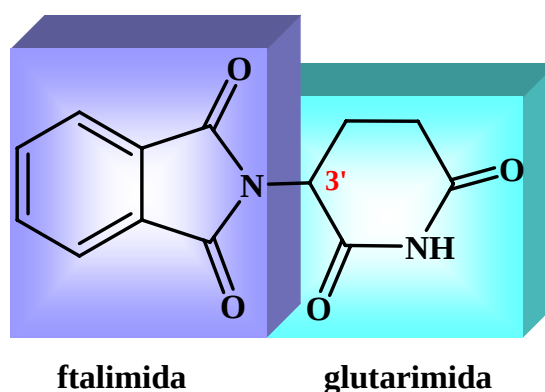


Figura 9 – Estrutura química da talidomida.

Portanto, a obtenção de novos análogos da talidomida contendo os principais farmacóforos para a atividade inibidora do TNF, e desprovida dos grupamentos toxicofóricos, responsáveis pela teratogenicidade, constitui objetivo ímpar para o desenvolvimento de novas possibilidades terapêuticas para o tratamento de patologias associadas ou agravadas pelo aumento dos níveis plasmáticos de TNF (ALEXANDRE-MOREIRA *et al.*, 2005; VALESINI *et al.*, 2007; WILLIAMS, PALEOLOG & FELDMANN, 2007).

1.5 CONSIDERAÇÕES GERAIS SOBRE MÉTODOS DE OBTENÇÃO DE FÁRMACOS

O planejamento racional de novos fármacos é um processo de várias etapas e interdisciplinar, onde participam diversos profissionais, e estimativas recentes apontam que seu custo envolva milhões de dólares (DIMASI *et al.*, 2003; SANTOS, 2007).

Em análise realizada para entender os caminhos da descoberta dos fármacos foi destacada a estratégia baseada na modificação molecular de fármacos ou protótipos já conhecidos. Entre as técnicas de modificação molecular podemos citar: latenciação, bioisosterismo, hibridação, homologia, anelação entre outras (WERMUTH, 2004).

A utilização da modificação molecular tem permitido a obtenção de compostos anti-inflamatórios ativos e com menores efeitos adversos, principalmente menores índices de gastroulceração. Sir James Black, ganhador do prêmio Nobel em medicina e fisiologia em 1988, aponta que a obtenção mais promissora de novos fármacos, é aquela que se utilizam como estratégia os processos de modificação molecular.

A modificação molecular consiste, basicamente, em a partir de protótipo de estrutura e ação biológica conhecidas, sintetizar congêneres, análogos ou homólogos estruturais do mesmo, obtendo compostos com aumento de potência, melhor perfil de atividade específica, melhor segurança e formulação mais adequada ao manuseio pelos profissionais da saúde, e melhor aceitabilidade pelos pacientes. Esses compostos são por vezes chamados de *me too* e devido à maior rapidez no desenvolvimento, é uma estratégia da indústria farmacêutica para possuir um medicamento/fármaco, que consiga uma parcela do mercado, no caso de uma nova classe (inovadora). São exemplos de compostos obtidos por essa estratégia os análogos da lovastatina: sinvastatina, provastatina, fluvastatina, atorvastatina, etc (FERREIRA & KOROLKOVAS, 1980; WERMUTH, 2004).

Entre as estratégias de modificação molecular mais utilizada em Química Farmacêutica Medicinal podemos citar: hibridação molecular, bioisosterismo e latenciação (CHUNG & FERREIRA, 1999; BARREIRO *et al.*, 2002; LIMA & BARREIRO, 2004; SILVA *et al.*, 2005), sendo a hibridação detalhada a seguir, em face de utilização desta estratégia de modificação molecular neste trabalho.

1.5.1 HIBRIDAÇÃO MOLECULAR

A hibridação é um processo de modificação molecular, baseado no mecanismo de ação, para obtenção de fármacos com a propriedade de reconhecimento de receptores por dois alvos terapêuticos distintos. Este processo apresenta vantagens farmacocinéticas sobre a administração concomitante de dois fármacos distintos (BARREIRO *et al.*, 2002).

A capacidade de um fármaco ser reconhecido por mais de um receptor no sistema biológico, que por vezes era considerado um problema, passou a ser uma estratégia da química farmacêutica medicinal para o desenvolvimento de compostos. A aspirina, por exemplo, que inicialmente foi usada para o alívio da dor, hoje também é indicada na redução da agregação plaquetária, prevenção de pré-eclâmpsia, câncer, anti-artrite, demonstrando o potencial multiligante desse fármaco (WEBER *et al.*, 2004).

VELAZQUÉZ e col. (2005) relatam compostos anti-inflamatórios obtidos através da estratégia de hibridação molecular com reduzido potencial gastroulcerogênico. Estes novos compostos contendo as estruturas dos anti-inflamatórios foram hibridizados com a subunidade 1-(pirrolidina-1-ila) diazeno-1,2-diolato ou 1-(N,N-dimetilamino)diazeno-1,2-diolato descrita como doadora de óxido nítrico. Os novos compostos híbridos possuíam atividade anti-inflamatória com reduzido potencial gastroulcerogênico (KNAUS & VELAZQUÉZ, 2006).

Derivados de diclofenaco obtidos através da estratégia de hibridação molecular levaram a obtenção de nitrosotiois doadores de óxido nítrico (Figura 10)

com potencial anti-inflamatório e reduzido perfil gastroulcero gênico. Estes híbridos após hidrólise da ligação éster liberariam o diclofenaco. Dessa forma, estes compostos podem também ser classificados como pró-fármacos (BANDARAGE *et al.*, 2000).

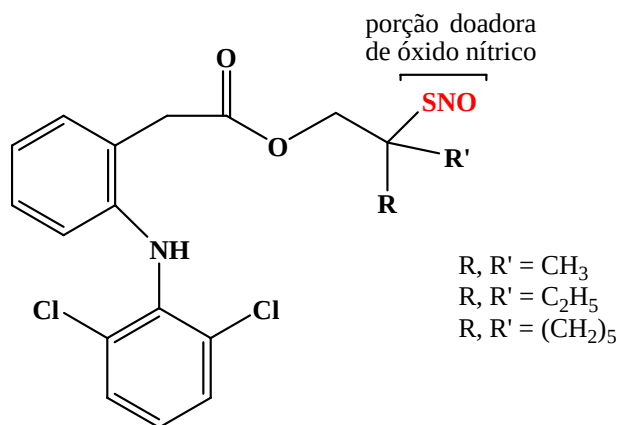


Figura 10 – Éster de diclofenaco contendo um nitrosotiol (-S-NO) como porção doadora de óxido nítrico (BANDARAGE *et al.*, 2000).

Compostos híbridos de naproxeno contendo a subunidade glicolamida nitrato, com potencial doador de óxido nítrico também são relatados como tendo potencial anti-inflamatório e reduzido potencial gastroulcero gênico (RANATUNGE *et al.*, 2006).

A utilização da modificação molecular tem permitido a obtenção de compostos anti-inflamatórios ativos e com menores efeitos adversos, principalmente menores índices de gastroulceração.

De acordo com ESPINOZA-FONSECA (2006), a capacidade de uma única molécula se ligar a múltiplos receptores tem várias denominações na literatura, como: ligantes duais, heterodímeros, bloqueio triplo e fármacos promíscuos, e pode apresentar vantagens, como:

1. Diferentes alvos de uma mesma rota metabólica podem ser inibidos por uma única molécula, aumentando a eficácia terapêutica;

2. Para uma molécula de estrutura química simplificada, pode-se não somente alterar a biodisponibilidade na célula, mas também sua capacidade de ser eficientemente eliminada depois de sua ação, devido à “promiscuidade” dos sistemas de distribuição e excreção.

Recentemente foi proposto o termo ligante múltiplo (LM). Este termo se refere apenas às substâncias planejadas para atuar nos alvos receptores determinados, e não àquelas que atuam em outros receptores, de forma não seletiva levando freqüentemente a efeitos deletérios. Um exemplo de fármaco que atua de forma não seletiva é o antipsicótico clozapina (MORPHY & RANKOVIC, 2005).

Devido à capacidade intrínseca de uma substância em se ligar a múltiplos alvos pode-se planejar compostos que atuem apenas nos receptores planejados. Esses compostos são obtidos da conjugação de características estruturais definidas de dois compostos bioativos distintos, em uma única molécula, e representa dentro da química farmacêutica medicinal a estratégia denominada hibridação molecular. Essa estratégia tem sido empregada para obtenção de diversos fármacos disponíveis no mercado e mostra-se atraente e promissora para identificação de novos protótipos (BARREIRO, 2002).

O planejamento de compostos que visa uma única atividade é mais simples do que o planejamento de híbridos, onde a molécula planejada alcance dois alvos distintos. Quando se planeja a obtenção de compostos híbridos devem-se levar em conta algumas considerações, por exemplo: que a combinação de dois grupos farmacofóricos em uma única molécula pode ocorrer na obtenção de um composto inativo; a relação estrutura atividade dos compostos assim como dos seus receptores, devem ser conhecidos; as interações com o receptor, as regiões hidrofílicas e hidrofóbicas, as regiões estericamente impedidas do receptor e o agente espaçante devem ser escolhidos de acordo com o que se conhece sobre eles. Se as moléculas que originam o novo composto híbrido possuir uma particular relação estrutura atividade, este tipo de planejamento pode ficar impossibilitado ou com difícil aplicação (SANTOS, 2007).

Problemas toxicológicos que não foram previstos no planejamento de híbridos podem invalidar esta estratégia, mesmo obtendo-se composto híbrido com o perfil farmacológico pretendido. A potência dos fármacos que deram origem aos híbridos planejados deve ser avaliada. Por exemplo, no planejamento de híbridos agonistas/antagonistas deve ser levado em consideração que a atividade dos antagonistas nos receptores está em concentração muito menor que aquelas requeridas pelos agonistas (SANTOS, 2007).

A utilização da modificação molecular, mais especificamente da hibridação molecular como ferramenta para descoberta de novos fármacos anti-inflamatórios e com menor potencial gastroulcero gênico é promissora e permite a obtenção de compostos com atividade, por vezes, superior ao do AINE modificado.

1.5.1.1 CLASSIFICAÇÃO DOS HÍBRIDOS - LIGANTES MÚLTIPLOS

Os ligantes múltiplos (LM) podem ser classificados conforme a estratégia de planejamento em: conjugados, pré-fundidos e fundidos (MORPHY & RANKOVIC, 2005).

Os ligantes múltiplos conjugados mantêm a arquitetura molecular dos protótipos, e são unidos covalentemente por uma ligação estável. O processo de obtenção de LM conjugados está intimamente relacionado com a estratégia de obtenção de pró-fármacos recíprocos, a principal diferença, está no fato de que nos pró-fármacos, a hibridação leva a um composto inativo, e a ligação não é estável, podendo ser rompida *in vivo* por processos químicos ou enzimáticos. Após esse rompimento, há liberação dos fármacos, que agora ativos, podem atuar em seus receptores específicos, exercendo suas ações (SANTOS, 2007).

Um exemplo de ligante múltiplo conjugado foi obtido por LOLLI e col. em 2001, onde o AINE ibuprofeno que é inibidor de COX-1 e COX-2 foi acoplado por uma ligação éster a duas porções da molécula de furoxano (Figura 11),

escolhida devido a sua habilidade de liberar NO, o qual protege a mucosa gástrica pela promoção da secreção de muco e aumento de fluxo sanguíneo, sendo sintetizado pela enzima óxido nítrico sintase (NOS) presente no estômago.

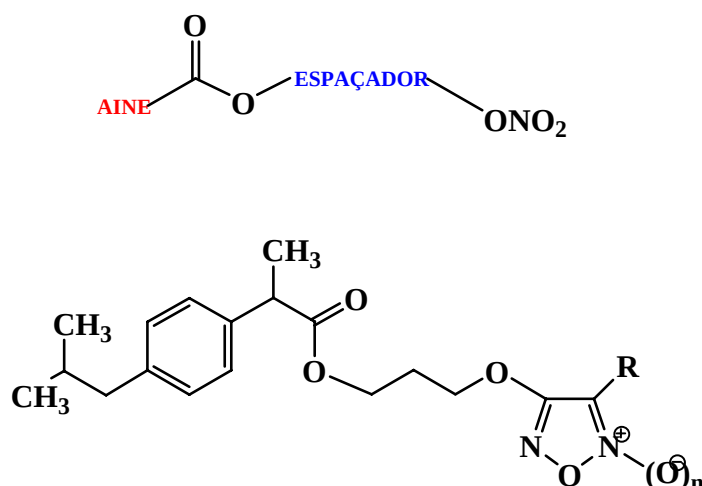


Figura 11 – Exemplo de ligante múltiplo conjugado.

Quando, no processo de hibridação, o tamanho do agente espaçante é diminuído a ponto das arquiteturas moleculares dos protótipos se tocarem, obtêm-se o que se denominam híbridos pré-fundidos.

KAWANISHI e col. em 1996 acoplaram o grupo farmacofórico do receptor hidrofóbico gastrina ao grupo farmacofórico hidrofílico histamínico H₂, identificando “regiões tolerantes” pela imposição do antagonista não peptídico (A) sobre o peptídeo *N*-acetil-CCK (B) (Figura 12). Foi atribuído que a região ao redor do grupo tolil do C3' iria estar suficientemente aberta para acomodar o antagonista H₂. De fato, o híbrido passou a ter atividade equilibrada para receptores H₂ e gastrina.

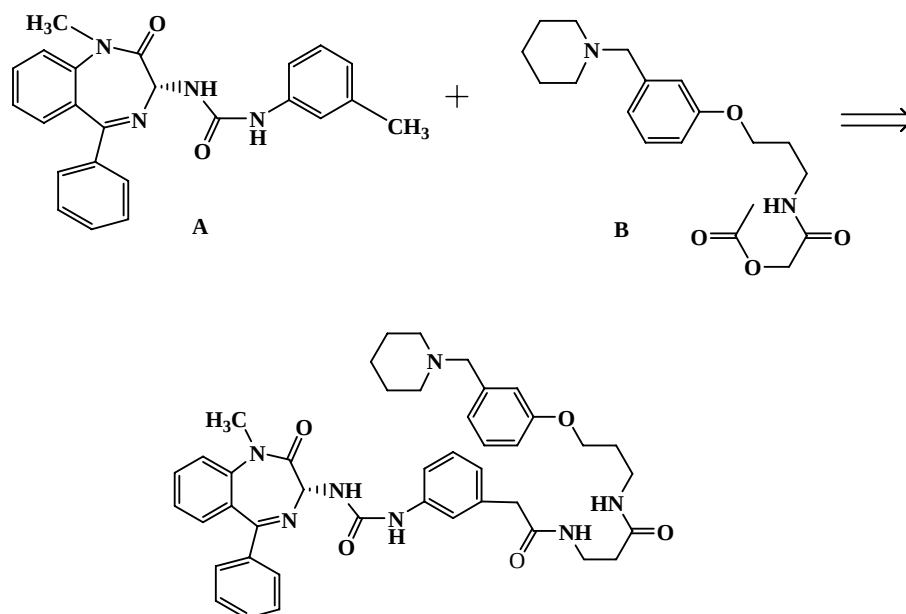


Figura 12 – Exemplo de ligante múltiplo pré-fundido.

O mais comum, no entanto, é observar compostos híbridos fundidos, em que se combinam as características estruturais de ambos os fármacos em uma única estrutura, com uma inovadora e diferenciada arquitetura molecular.

Para reduzir os efeitos adversos de um analgésico opióide, MONTERO e col. em 2002 acoplaram dois receptores agonistas a proteína G: o receptor μ -opióide e a I₂-imidazolina (Figura 13). O grupo guanidina do ligante I₂, agmatina (a) foi incorporado na molécula opióide fentanila (b), gerando um composto (c) que possuía a atividade de ambos receptores e com maior afinidade para o receptor opióide.

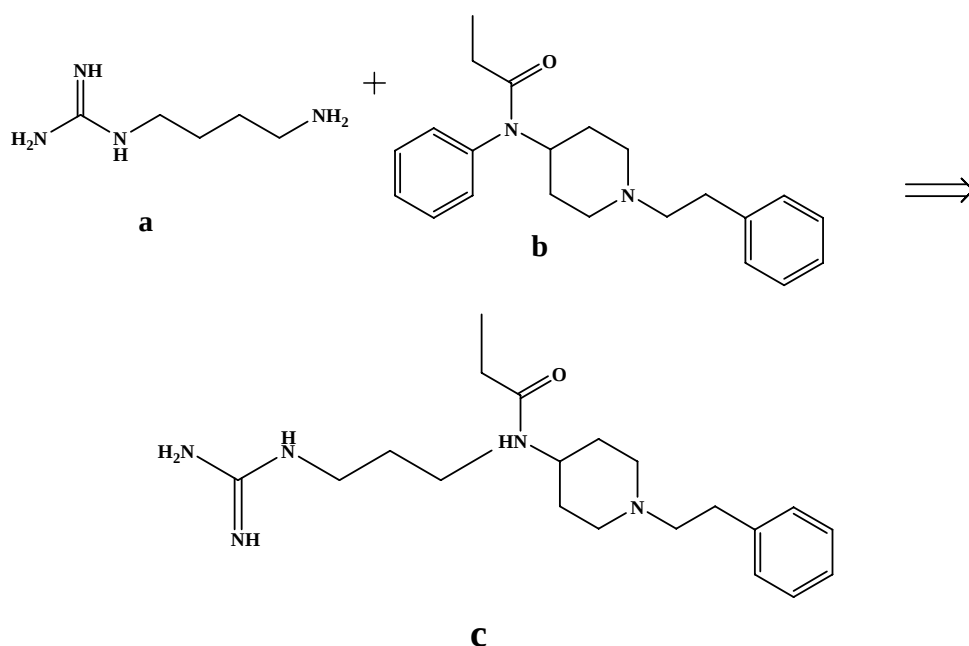


Figura 13 - Exemplo de ligante múltiplo fundido.

Compostos que apresentam potencial de ligante múltiplo possuem melhor potencial em doenças complexas, que aqueles com potencial ligante único. No entanto, para essa ação, é necessária uma validação dos receptores escolhidos como alvo, a fim de avaliar a real contribuição de uma substância com propriedade multiligante na doença (WERMUTH, 2004).

2 OBJETIVOS

Obtenção de anti-inflamatórios híbridos derivados de AAS, naproxeno, ibuprofeno, cetoprofeno e diclofenaco com diminuição de gastrotoxicidade e potencial atividade inibidora de TNF- α .

3 PLANEJAMENTO ESTRUTURAL

Foi planejada uma série de novos derivados ftalimídicos a partir da hibridação molecular da subunidade **A** (ftalimida) e supressão da subunidade glutamirídica (**B**) a qual é potencialmente toxicofórica, da talidomida (1) e anti-inflamatórios não esteroidais (AINEs) (2) como inibidores da ciclooxigenase e moduladores de $\text{TNF-}\alpha$ (Figura 14).

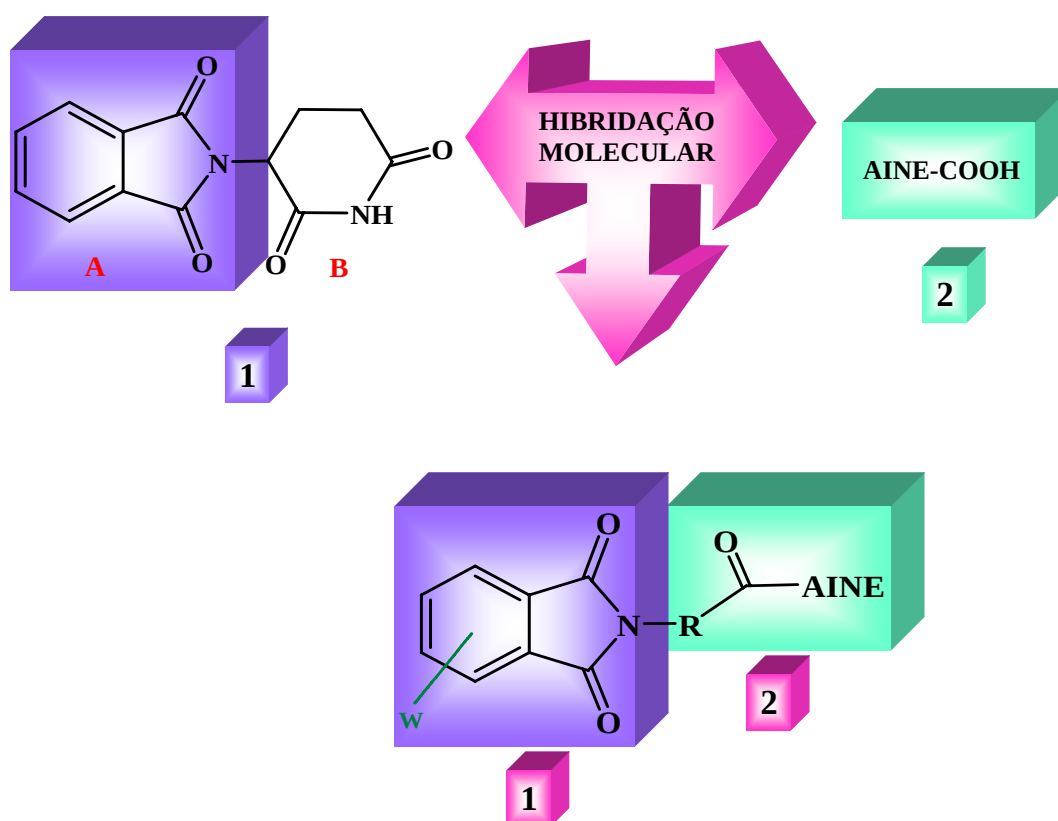
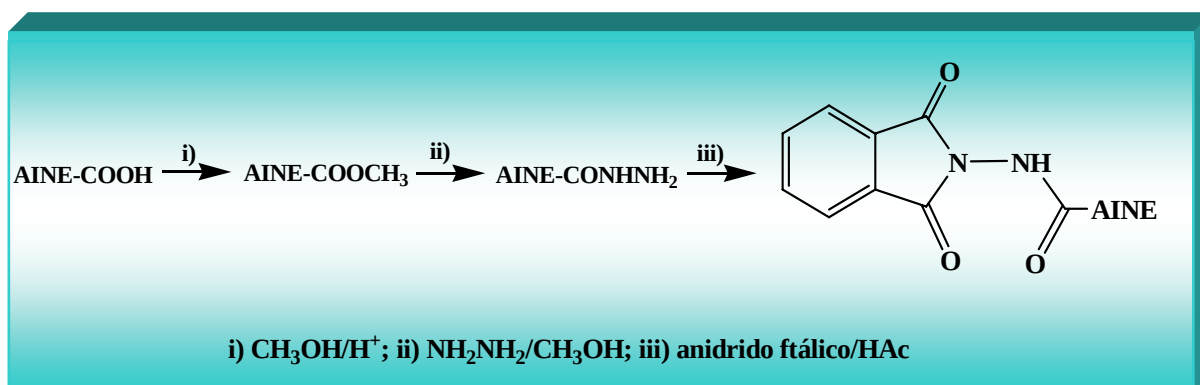


Figura 14 – Gênese dos novos derivados ftalimídicos planejados a partir dos protótipos talidomida (1) e anti-inflamatórios não esteroidais (AINEs)(2).

A talidomida é conhecida por suas propriedades analgésicas periféricas e anti-inflamatórias, decorrentes da inibição da expressão de RNAm para $\text{TNF-}\alpha$

(RIBEIRO *et al.*, 2000) e especificamente a subunidade ftalimídica (A), grupo farmacofórico principal para a ação moduladora direta sobre biossíntese de TNF- α , foi mantido nos derivados planejados (LIMA *et al.*, 2001; HASHIMOTO, 2002).

De acordo com o Esquema 1, os compostos ftalimídicos podem ser preparados por processos que compreende as etapas de reação de esterificação por catálise ácida explorando a nucleofilicidade do metanol, substituição nucleofílica do éster metílico por uma amina proveniente do hidrato de hidrazina para a formação do intermediário hidrazona, seguida da condensação da amina devidamente funcionalizada ao anidrido ftálico usando ácido acético como solvente.



Esquema 1 - Rota sintética para obtenção dos derivados ftalimídicos.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 MATERIAL

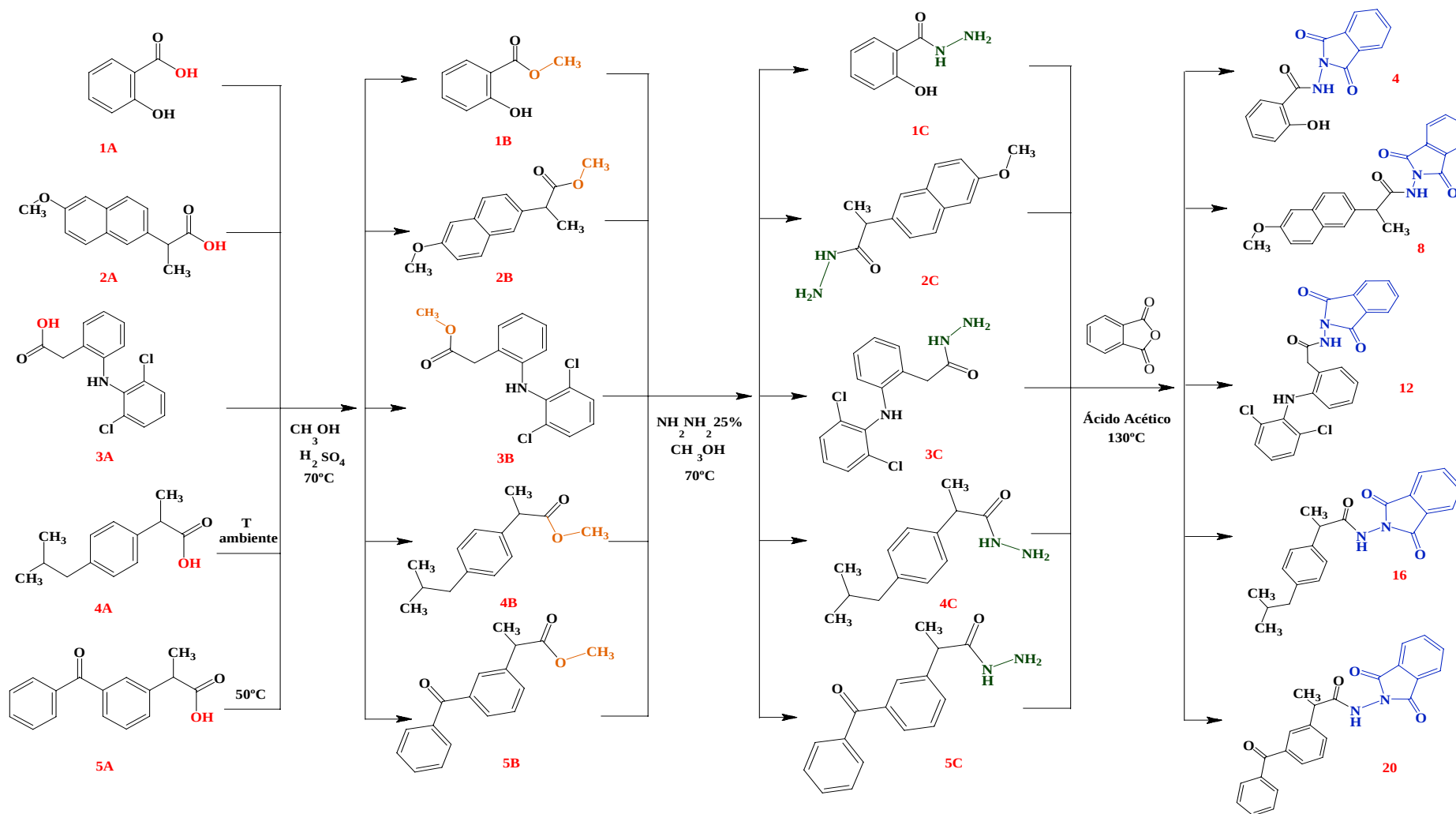
4.1.1 REAGENTES E SOLVENTES

- ✓ acetato de etila P.A. (Synth);
- ✓ ácido acético glacial P.A. (J. T. Baker);
- ✓ ácido cítrico P.A. (Synth);
- ✓ ácido clorídrico P.A. (Merck);
- ✓ ácido salicílico (Galena);
- ✓ ácido sulfúrico P.A. (Merck);
- ✓ anidrido ftálico (J. T. Baker);
- ✓ bicarbonato de sódio (Synth);
- ✓ cetoprofeno (Galena);
- ✓ clorofórmio (Synth);
- ✓ diclofenaco (Galena);
- ✓ diclorometano P.A. (Synth);
- ✓ hexano (Synth);
- ✓ hidrato de hidrazina 25%;
- ✓ hidróxido de sódio (Synth);
- ✓ ibuprofeno (Galena);
- ✓ metanol P.A. (Merck);
- ✓ naproxeno (Galena);
- ✓ sulfato de sódio anidro (Synth).

4.2 MÉTODOS

4.2.1 MÉTODO DE OBTENÇÃO DOS COMPOSTOS HÍBRIDOS

Os híbridos anti-inflamatórios foram obtidos reagindo-se os intermediários esterificados com hidrazina e acoplamento posterior com anidrido ftálico como mostrado no esquema a seguir:



Esquema 2 - Rota de síntese para obtenção dos anti-inflamatórios híbridos *N*-(1,3-dioxo-1,3-diidro-2H-isoindol-2-il)-2-hidroxibenzamida, *N*-(1,3-dioxo-1,3-diidro-2H-isoindol-2-il)-2-(6-metoxi-2-naftil)propanamide, 2-{2-[(2,6-diclorofenil)amino]fenil}-*N*-(1,3-dioxo-1,3-diidro-2H-isoindol-2-il)acetamida, *N*-(1,3-dioxo-1,3-diidro-2H-isoindol-2-il)-2-(4-isobutylfenil)propanamida e 2-(3-benzoylfenil)-*N*-(1,3-dioxo-1,3-diidro-2H-isoindol-2-il)propanamida.

4.3 MÉTODOS ANALÍTICOS

4.3.1 CROMATOGRAFIA DE CAMADA DELGADA (CCD)

Utilizou-se cromatofolhas de alumínio 20x20 cm Sílica gel 60 F₂₅₄ (Merck) para o acompanhamento das reações, com os seguintes sistemas eluentes (v/v):

- Diclorometano/metanol (90:10);
- Diclorometano/metanol (95:5);
- Hexano/acetato de etila (1:1);
- Hexano/acetato de etila (70:30).

A visualização das substâncias foi realizada em lâmpada ultravioleta (254-365 nm).

4.3.2 DETERMINAÇÃO DA FAIXA DE FUSÃO

As faixas de fusão dos compostos experimentais foram verificadas em aparelho para determinação de ponto de fusão capilar modelo SMP3 da Bibby Stuart Scientific.

4.3.3 ESPECTROSCOPIA NA REGIÃO DO INFRAVERMELHO (IV)

Os espectros de absorção no I.V., na região de 4.000 a 400 cm⁻¹, foram obtidos em pastilhas de KBr no espectrômetro infravermelho FTIR-8300 da SHIMADZU Corporation.

4.3.4 ESPECTROSCOPIA DE RMN ^1H E RMN ^{13}C

Os espectros de RMN ^1H e ^{13}C , foram obtidos no espectrômetro Bruker, modelo DRX-400. (400 MHz para a frequência do hidrogênio), utilizando-se como solventes DMSO- d_6 do laboratório de Ressonância Magnética Nuclear do Departamento de Química da Universidade Federal de São Carlos (UFSCar).

4.4 ENSAIOS BIOLÓGICOS

O Comitê de Ética em Pesquisa desta Faculdade considerou que os ensaios biológicos foram estruturados dentro dos princípios éticos na experimentação animal do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal – COBEA, manifestando-se favorável a execução do protocolo CEP/FCF/CAR. nº 09/2007.

As doses utilizadas na experimentação foram obtidas de BANDARAGE e col., 2000; RIBEIRO e col. 2000, LOLLI e col., 2001; BANOGLU e col. 2004 e RANATUNGE e col. 2006.

4.4.1 EDEMA DE PATA DE RATO INDUZIDO POR CARRAGENINA

Este ensaio foi realizado de acordo com BANDARAGE e col.(2000).

Foram utilizados de ratos machos, adultos, da espécie *Wistar* de peso 220 - 250 g, provenientes do Biotério Central da UNESP, Botucatu. Os animais foram transferidos para o biotério do Departamento de Fármacos e Medicamentos, onde foram mantidos em condições controladas de temperatura ($23 \pm 1^\circ\text{C}$) e luz (ciclo 12/12 horas, luz acesa às 7 horas). Ração e água foram fornecidos “ad libitum”. Os experimentos foram realizados na fase clara do ciclo de luz. Cada grupo consistiu de 6 animais.

Os grupos foram divididos em controle positivo (salina), controle fármaco (grupo AINE), grupo teste (AINE - híbridos). As doses dos compostos teste foram calculadas utilizando a molaridade como fator de correção para a dose referenciada:

30 mg/kg naproxeno (de acordo com RANATUNGE e col. 2006).

120 mg/kg ibuprofeno (de acordo com LOLLI e col., 2001).

15 mg/kg diclofenaco (de acordo com BANDARAGE e col., 2000).

50 mg/kg do composto 8 (hibrido naproxeno).

200 mg/Kg do composto 16 (hibrido ibuprofeno).

20 mg/Kg do composto 12 (hibrido diclofenaco).

O acompanhamento da inflamação e da atividade anti-inflamatória dos compostos foi realizado através de medições da espessura, em milímetros, das patas do rato antes dos tratamentos e de hora em hora, por 6 horas após a administração da carragenina, através de paquímetro. Os resultados foram expressos pela diferença entre as leituras das patas antes e após os tratamentos.

Ao iniciar a avaliação, utilizou-se do teste de homogeneidade da variância (Teste de Levene para certificar homogeneidade), em que os resultados com p não significativo (acima de 0,05), foram posteriormente submetidos à análise da variância (ANOVA). Já os resultados significativos, foram submetidos ao teste de comparações múltiplas (*post hoc*) como o teste de Newman – Keuls.

4.4.2 TESTE DE GASTRO-TOXICIDADE

A fim de caracterizar o perfil de lesão gástrica causado pelos novos derivados anti-inflamatórios foi medida a extensão das lesões causadas pela administração dos anti-inflamatórios. A ulcerogênese gástrica foi verificada nos mesmos animais dos grupos utilizados para o modelo de edema de pata.

Ao término do ensaio de edema de pata (grupo de 6 animais para cada grupo) os animais sofreram eutanásia em CO₂, e tiveram seus estômagos seccionados no ponto inferior esofágico e superior pilórico.

A exposição da mucosa gástrica foi no sentido do omento maior (grande curvatura) respeitando o fundo e a região do antro-pilórico como referência anatomica e lavados com solução salina. Esta foi observada através de uma lupa, quanto à coloração, integridade e lesão (gastro-ulceração).

Os compostos foram classificados segundo o grau de lesão causado em uma escala que varia entre 1-5.

- lesões < 1mm = grau 1;
- lesões 1,5 à 2,5 mm = grau 2;
- lesões 2,5 à 3,5 mm = grau 3;
- lesões 3,5 à 4,5 mm = grau 4 e;
- lesões > 4,5 mm = grau 5.

Os resultados obtidos foram reportados como médias $\pm$ EPM (Erro Padrão da Média). Todos os resultados foram submetidos ao teste de homogeneidade de variância (Teste de Levene para certificar homogeneidade). Os resultados com p significativo ($<0,05$) foram posteriormente submetidos à análise de variância (ANOVA), seguido pelo teste de comparações múltiplas (*post hoc*) como o teste de Newman – Keuls; e somente foram considerados os valores de p quando se apresentaram iguais ou inferiores a 0,05. Foi considerado grau zero para os compostos que não lesionaram a mucosa gástrica. Os resultados obtidos foram reportados seguindo os critérios de LOLLI e col. 2001; RANATUNGE e col. 2006.

4.4.3 ENSAIO DE CONTORÇÕES ABDOMINAIS INDUZIDAS POR ÁCIDO ACÉTICO

O perfil do antinociceptivo foi avaliado através do ensaio de contorções abdominais induzidas por ácido acético em camundongos (COOLIER *et al.*, 1968). Neste ensaio utilizaram-se camundongos machos suíços, albinos, pesando de 25 - 30 g, mantidos em jejum por um período de aproximadamente 8 horas. As substâncias-teste tiveram como veículo a goma arábica 5% e foram administradas por via oral (gavage) na dose de 1 $\mu\text{mol/Kg}$ e 100 $\mu\text{mol/Kg}$ para os derivados híbridos AS **(4)**, híbrido naproxeno **(8)**, híbrido diclofenaco **(12)** e híbrido cetoprofeno **(20)** de acordo com RIBEIRO e col. (2000).

Após a administração de goma arábica (grupo controle) e grupo teste (híbridos), injetou-se ácido acético 0,1 N (0,1 mL/10 g de peso) na cavidade peritoneal dos animais e em seguida iniciou-se a contagem das contorções abdominais durante 30 minutos.

Cada grupo consistiu de 6 animais e os resultados foram expressos como média $\pm$ EPM e submetidos ao teste T de Student. Foram considerados significativos quando os valores $p < 0,05$.

4.5 PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

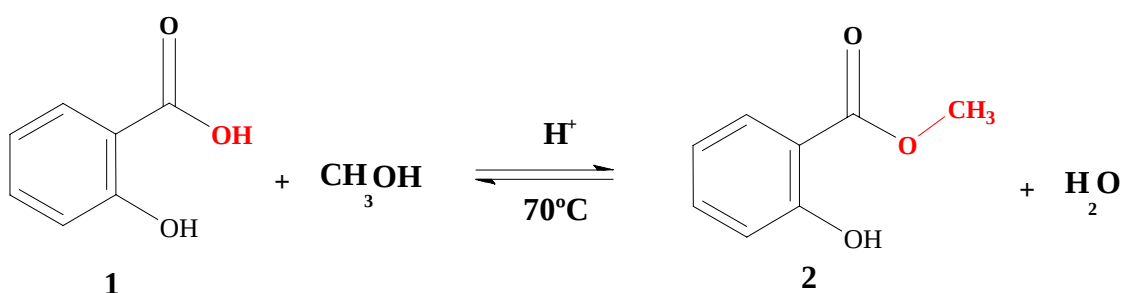
MÉTODOS	REAGENTES	CATALISADOR	T °C	REFLUXO (HORAS)	EXTRAÇÃO	ISOLAMENTO DO PRODUTO
1A	Ácido salicílico + metanol	H ₂ SO ₄ conc.	70	5	Tetracloroeto de carbono	Destilação do filtrado sob pressão reduzida
1B	Éster do ácido salicílico + metanol + hidrato de hidrazina 25%	-----	70	16	-----	Resfriamento da mistura reacional e eliminação do solvente sob pressão reduzida
1C	Hidrazida de ácido salicílico + anidrido ftálico + ácido acético glacial	-----	130	3	-----	Cristalização em água
2A	naproxeno + metanol	H ₂ SO ₄ conc.	70	24	-----	Cristalização em água
2B	Éster do naproxeno + metanol + hidrato de hidrazina 25%	-----	70	48	-----	Resfriamento da mistura reacional com precipitação do produto
2C	Hidrazida de naproxeno + anidrido ftálico + ácido acético glacial	-----	130	3	-----	Resfriamento da mistura reacional e adição de NaOH até pH 7,0
3A	diclofenaco + metanol	HCl conc.	70	6	-----	Resfriamento da mistura reacional e neutralização do pH com solução saturada de bicarbonato de sódio seguido da precipitação do produto
3B	Éster do diclofenaco + metanol + hidrato de hidrazina 25%	-----	70	24	-----	Resfriamento da mistura reacional.

MÉTODOS	REAGENTES	CATALISADOR	T °C	REFLUXO (HORAS)	EXTRAÇÃO	ISOLAMENTO DO PRODUTO
3C	Hidrazida de diclofenaco + anidrido ftálico + ácido acético glacial	-----	130	4	-----	cristalização
4A	Ibuprofeno + metanol	H ₂ SO ₄ conc.	ambiente	24	-----	Eliminação do solvente sob pressão reduzida
4B	Éster do ibuprofeno + metanol + hidrato de hidrazina 25%	-----	50	24	-----	Cristalização
4C	Hidrazida de ibuprofeno + anidrido ftálico + ácido acético glacial	-----	130	5	-----	Resfriamento da mistura reacional e adição de NaOH até pH 7,0, seguido da precipitação do produto
5A	cetoprofeno + metanol	H ₂ SO ₄ conc.	50	8	-----	Eliminação do solvente sob pressão reduzida
5B	Éster do cetoprofeno + metanol + hidrato de hidrazina 25%	-----	50	24	-----	Cristalização em água
5C	Hidrazida de cetoprofeno + anidrido ftálico + ácido acético glacial	-----	130	5	-----	Resfriamento da mistura reacional e adição de NaOH até pH 7,0, seguido da precipitação do produto

4.5.1 PROCEDIMENTOS DE SÍNTESE

4.5.1.1 OBTENÇÃO DO DERIVADO HÍBRIDO DO ÁCIDO SALICÍLICO

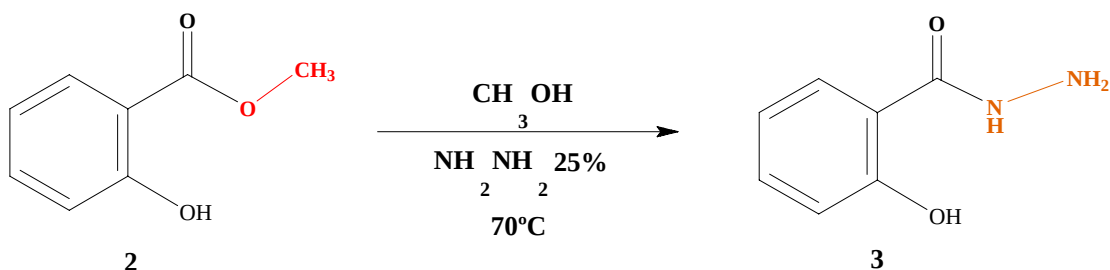
4.5.1.1.1 MÉTODO 1A - OBTENÇÃO DO 2-HIDROXIBENZOATO DE METILA (2)



Pesou-se 14 g (0,1 mol) de AS (1), 32 g (40,5 mL, 2 moles) de metanol seco e 8 mL de ácido sulfúrico concentrado. Os reagentes foram adicionados em um balão de fundo redondo e submetidos a refluxo, por 5 horas. A reação foi acompanhada por CCD (fase móvel: diclorometano/metanol 90:10).

O metanol foi concentrado pela metade e o produto, após resfriamento, foi extraído com 10 mL de tetracloreto de carbono. Lavado com solução saturada de bicarbonato de sódio, repetindo este processo até não ocorrer mais a formação de dióxido de carbono. Lavou-se mais uma vez com água destilada e a fase orgânica, então, foi seca com sulfato de magnésio anidro, filtrado e em seguida, submetida a destilação sob pressão reduzida. O rendimento da reação foi de 70%. (C₈H₈O₃; PM = 152,14; d= 1,18 g.mL⁻¹ (20°C)).

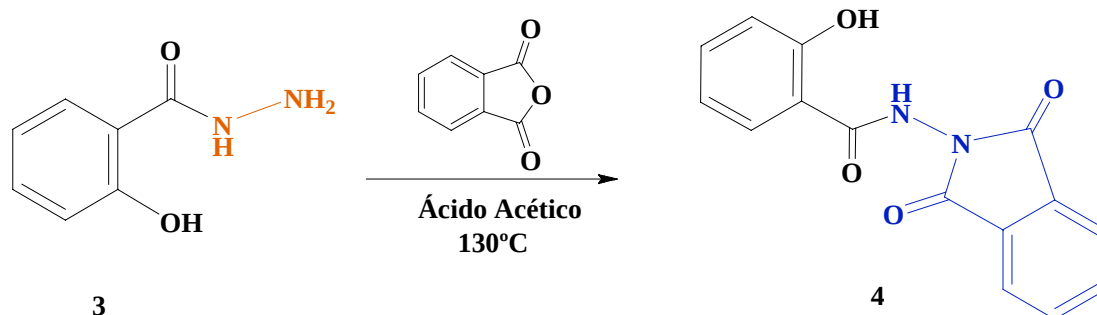
4.5.1.1.2 MÉTODO 1B - OBTENÇÃO DO 2-HIDROXIBENZOHIDRAZIDA (3)



Adicionou-se em um balão de 125 mL, 10 mL de salicilato de metila (2) (77,5 mmol), 50 mL de metanol e 31 mL de hidrato de hidrazina 25%, sendo a mistura dos reagentes submetida a refluxo por 16 horas. A reação foi acompanhada por CCD (fase móvel: diclorometano/metanol 90:10).

Em seguida a reação foi resfriada e o volume do solvente eliminado à pressão reduzida para fornecer 10,62 g de um sólido branco amorfo com faixa de fusão entre 146°-149°C e com rendimento de 90% (C₇H₈O₂N; PM = 152,15).

4.5.1.1.3 MÉTODO 1C - OBTENÇÃO DO *N*-(1,3-DIOXO-1,3-DIIDRO-2*H*-ISOINDOL-2-IL)-2-HIDROXIBENZAMIDA (4)

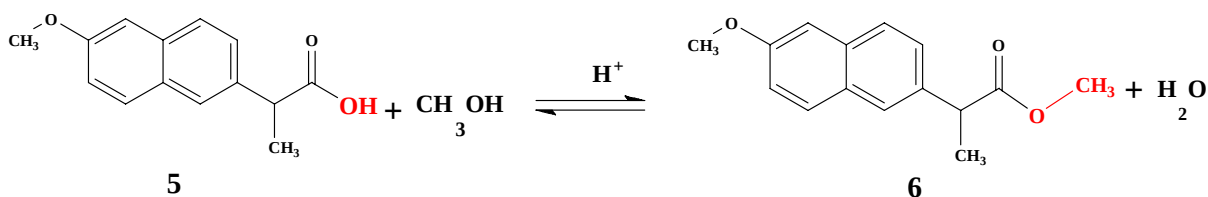


Em um balão de 50 mL conectado a um condensador de refluxo adicionou-se 0,5 g da hidrazida do ácido salicílico (**3**) (3,28 mmol), 15 mL de ácido acético glacial e 0,487 g de anidrido ftálico. A reação foi realizada a 130°C, sob agitação por 3 horas, acompanhando-se por CCD (fase móvel: diclorometano/metanol 90:10).

Após resfriamento, o produto cristalizado foi separado e lavado com água gelada para fornecer 0,79 g de um sólido branco, sendo mantido em dessecador. O rendimento da reação foi de 85% ($C_{15}H_{10}N_2O_4$; PM = 282,06).

4.5.1.2 OBTENÇÃO DO DERIVADO HÍBRIDO DE NAPROXENO

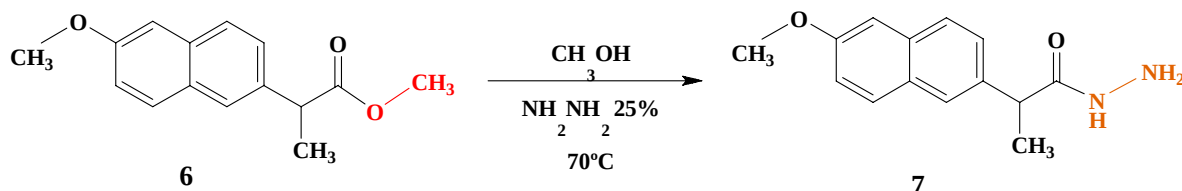
4.5.1.2.1 MÉTODO 2A - OBTENÇÃO DO METIL 2-(6-METOXI-2-NAFTIL)PROPANOATO (**6**)



Em um balão de 125 mL adicionou-se 0,7 g de naproxeno (**5**) (3 mmol), 50 mL de metanol e 2 gotas de ácido sulfúrico concentrado. A reação foi mantida por 6 horas, em refluxo e acompanhado por CCD (fase móvel: diclorometano/metanol 90:10).

Após resfriamento, o produto cristalizado foi separado e lavado com água gelada para fornecer 0,69 g de um produto amorfo de coloração alaranjada com faixa de fusão entre 94°-95,5°C. O rendimento da reação foi de 98,6% ($C_{15}H_{16}O_3$; PM = 244,11).

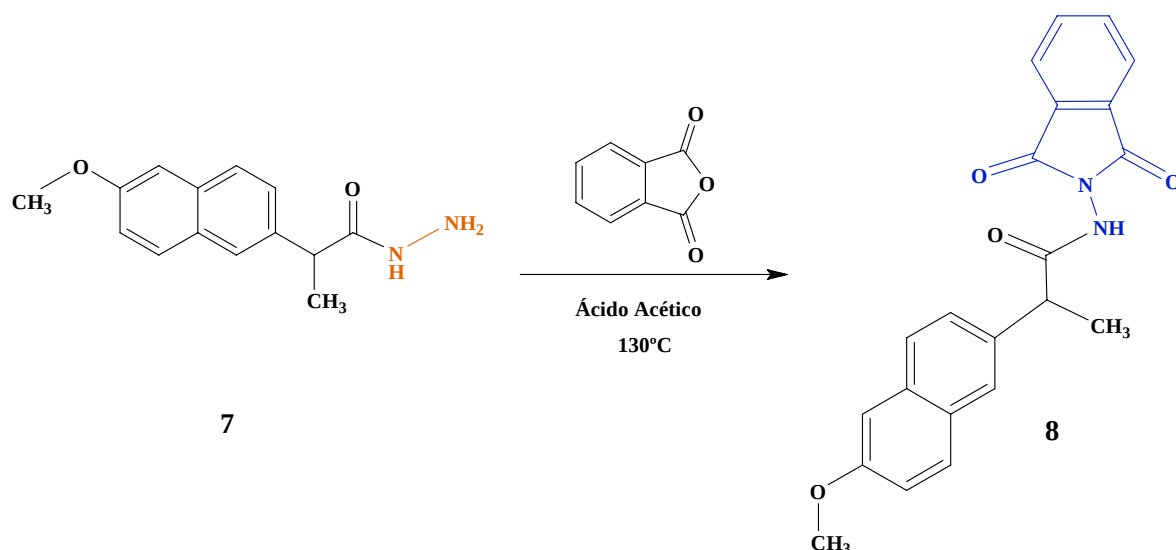
4.5.1.2.2 MÉTODO 2B - OBTENÇÃO DO 2- (6-METOXI-2-NAFTIL) PROPANOHIDRAZIDA (7)



Em um balão de 125 mL adicionou-se 0,5 g de éster de naproxeno (6), 50 mL de metanol e 8 mL de hidrato de hidrazina 25%, acoplado a um sistema de refluxo e agitação. A reação foi acompanhada por CCD e após 24 horas, verificou-se a formação de um produto diferente. (fase móvel: hexano/acetato de etila 1:1).

Após resfriamento, o produto cristalizado foi separado e lavado com água gelada para fornecer 0,38 g de um sólido amorfo de coloração branca com faixa de fusão entre 129-133°C, com rendimento de 76% (C₁₄ H₁₆ N₂ O₂; PM = 244,11).

4.5.1.2.3 MÉTODO 2C - OBTENÇÃO DO *N*-(1,3-DIOXO-1,3-DIIDRO-2*H*-ISOINDOL-2-IL)-2-(6-METOXI-2-NAFTIL)PROPANAMIDA (8)

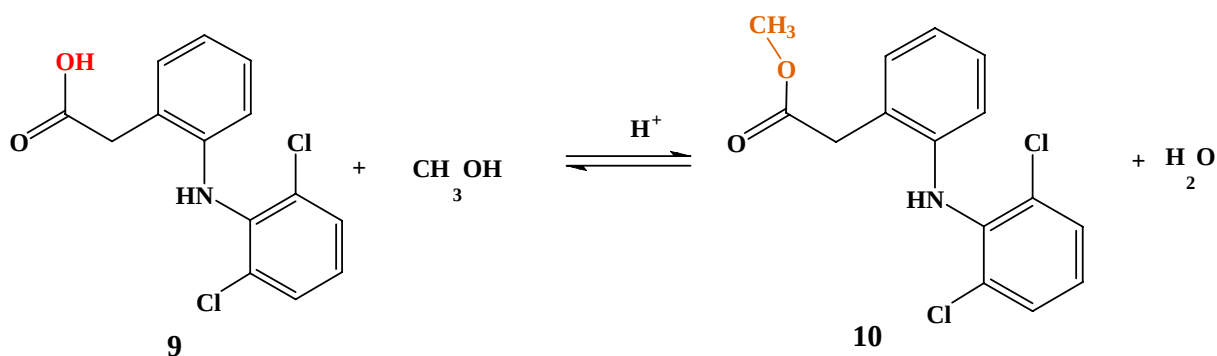


Em um balão de 125 mL conectado a um condensador de refluxo adicionou-se 0,4 g de hidrazida de naproxeno (**7**) (1,63 mmol), 10 mL de ácido acético glacial e 0,243 g de anidrido ftálico (1,63 mmol). A reação permaneceu sob refluxo (130°C) durante 3 horas. A reação foi acompanhada por CCD (fase móvel: hexano/acetato de etila 1:1).

Após o término da reação e resfriamento, adicionou-se NaOH 20% até pH = 7,0. O precipitado foi filtrado e seco, obtendo-se 0,53 g, sendo o rendimento da reação de 83% ($C_{22}H_{18}N_2O_4$; PM = 374,13).

4.5.1.3 OBTENÇÃO DO DERIVADO HÍBRIDO DE DICLOFENACO

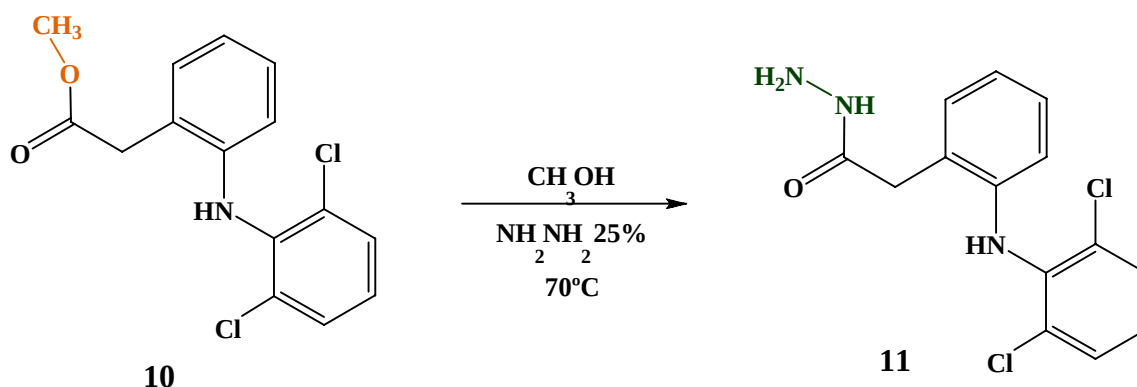
4.5.1.3.1 MÉTODO 3A - OBTENÇÃO DO METIL {2-[(2,6-DICLOROFENIL) AMINO] FENIL} ACETATO (**10**)



Adicionaram-se em um balão de 125 mL 0,5 g (1,68 mmol) de diclofenaco (**9**), 40 mL de metanol e 3 gotas de ácido clorídrico concentrado. A mistura reacional foi mantida sob refluxo e agitação, a temperatura de 70°C por 6 horas. A reação foi acompanhada por CCD (fase móvel: diclorometano/metanol 90:10). O isolamento foi feito com a adição de gelo à mistura reacional (~ 4 mL) e o pH foi neutralizado utilizando solução de bicarbonato de sódio saturada. Houve formação de precipitado de cor branco que foi filtrado e lavado com água gelada para

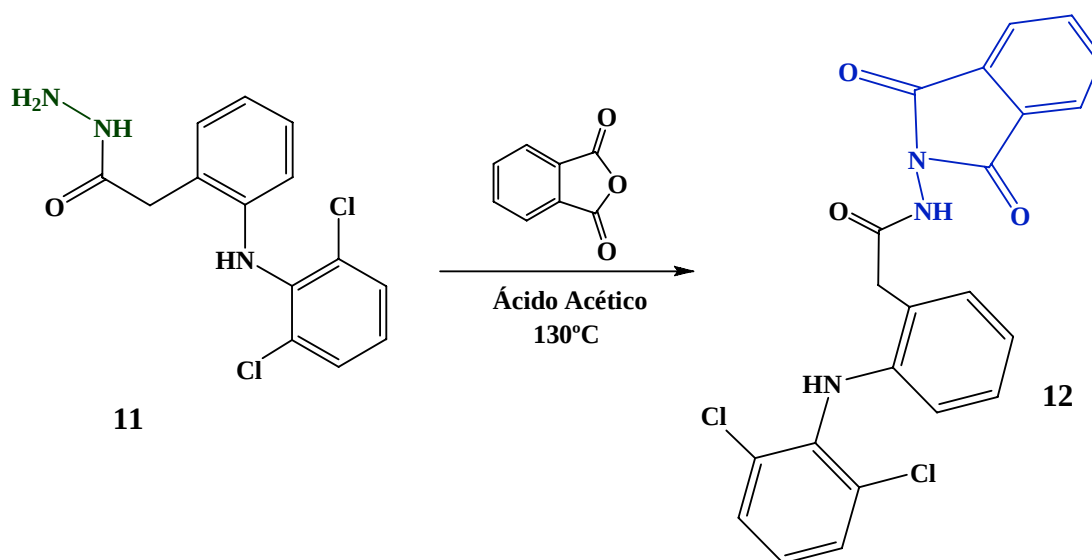
fornecer 0,48 g do éster metílico de diclofenaco, com faixa de fusão entre 279°–282°C e rendimento de 91% ($C_{15}H_{13}Cl_2NO_2$; PM = 310,17).

4.5.1.3.2 MÉTODO 3B - OBTENÇÃO DO 2-{2-[(2,6-DICLOROFENIL)AMINO]FENIL}ACETOHIDRAZIDA (11)



Em um balão de 125 mL adicionou-se 0,5 mg (1,61 mmol) de éster metílico de diclofenaco (**10**), 20 mL de metanol e 6 mL de hidrato de hidrazina 25%. A reação permaneceu sob agitação e refluxo por 24 horas. A reação foi acompanhada por CCD (fase móvel: diclorometano/metanol 90:10). Após o término de reação, adicionou-se gelo à mistura reacional (~ 4 mL), sendo a mesma mantida por 8 horas na geladeira, ocorrendo a formação de precipitado de cor branco que foi filtrado sob pressão reduzida e lavado com água gelada para fornecer 0,45 g da hidrazida de diclofenaco, que teve faixa de fusão entre 160°-161,6°C com rendimento de 90% ($C_{14}H_{13}Cl_2N_3O$; PM = 310,175).

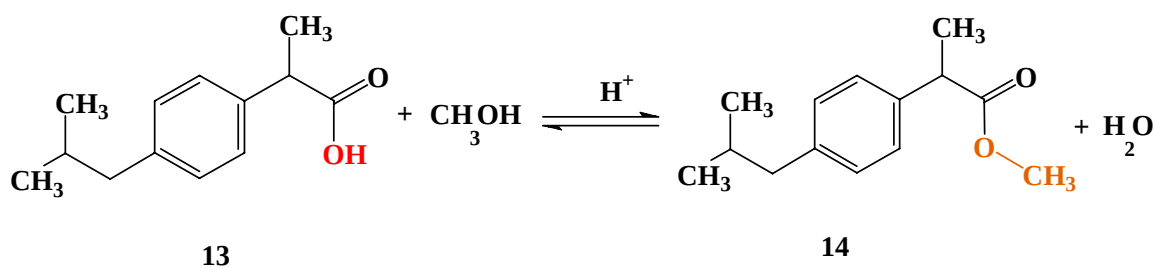
4.5.1.3.3 MÉTODO 3C - OBTENÇÃO DO 2-{2-[(2,6-DICLOROFENIL)AMINO]FENIL}-*N*-(1,3-DIOXO-1,3-DIIDRO-2*H*-ISOINDOL-2-IL)ACETAMIDA (12)



Em um balão de 50 mL adicionou-se 100 mg de hidrazida de diclofenaco (11), 45 mg de anidrido ftálico e 7 mL de ácido acético glacial, mantendo a reação sob agitação e refluxo por 4 horas. A reação foi acompanhada por CCD (fase móvel: diclorometano/metanol 90:10). Depois de 4 horas, a mistura reacional foi resfriada em banho de gelo, seguida da precipitação de um sólido branco, o qual foi filtrado sob pressão reduzida e lavado com água gelada para fornecer 0,13 g do produto final com faixa de fusão entre 255,8°–259,6 °C com um rendimento de 96% ($C_{22}H_{15}Cl_2N_2O_3$; PM = 440,28).

4.5.1.4 OBTENÇÃO DO DERIVADO HÍBRIDO DE IBUPROFENO

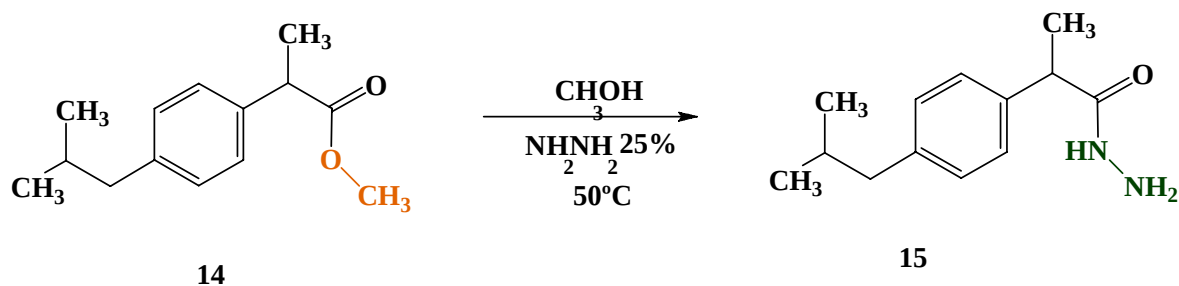
4.5.1.4.1 MÉTODO 4A - OBTENÇÃO DO METIL 2-(4-ISOBUTILFENIL) PROPANOATO (14)



Em um balão de 125 mL adicionou-se 0,3 g de ibuprofeno (**13**) (1,45 mmol), 20 mL de metanol (CH₃OH) e 2 gotas de ácido sulfúrico (H₂SO₄), sob refluxo e temperatura ambiente, por 24 horas. A reação foi acompanhada por CCD (fase móvel: diclorometano/metanol 95:5).

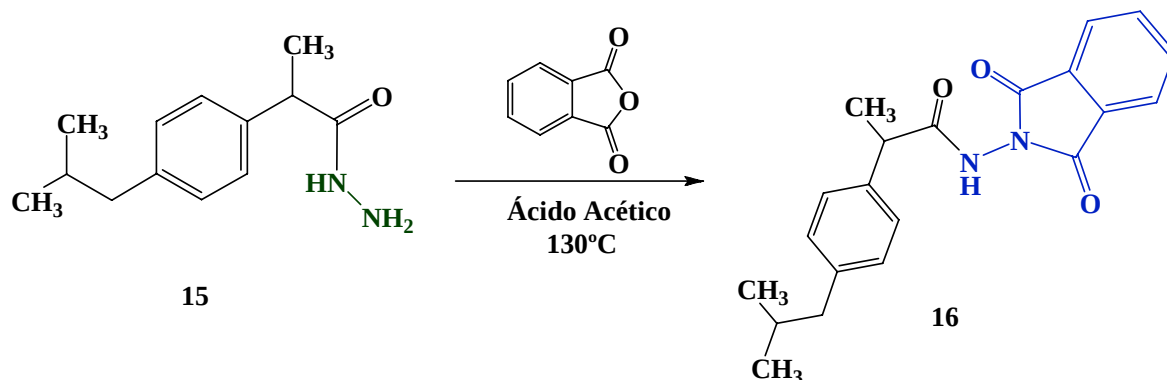
Após o término da reação, o solvente foi evaporado em temperatura ambiente sob pressão reduzida para obter 0,32 g de um sólido amorfo de coloração branca com faixa de fusão entre 68°-69°C com rendimento de 100% (C₁₄H₂₀O₂; PM = 220,3).

4.5.1.4.2 MÉTODO 4B - OBTENÇÃO DO 2- (4-ISOBUTILFENIL) PROPANOHIDRAZIDA (15)



Em um balão de 125 mL de fundo redondo adicionou-se 0,32 g do éster de ibuprofeno (**14**) (1,45 mmol), 20 mL de metanol e 10 mL de hidrato de hidrazina 25%. A reação procedeu-se sob refluxo, sob agitação e temperatura de 50°C por 24 horas, sendo acompanhada por CCD (fase móvel: diclorometano/metanol 90:10). O isolamento reacional foi feito com a adição de cerca de 4 mL água/gelo, ocorrendo a formação de um precipitado que foi filtrado sob pressão reduzida e lavado com cerca de 10 mL de água gelada, fornecendo 0,186 g de um sólido amorfo de coloração branca com faixa de fusão entre 80°-82°C e com rendimento de 58% (C₁₃H₂₀N₂O; PM = 220,3).

4.5.1.4.3 MÉTODO 4C - OBTENÇÃO DO *N*-(1,3-DIOXO-1,3-DIIDRO-2*H*-ISOINDOL-2-IL)-2-(4-ISOBUTILFENIL) PROPANAMIDA (16)

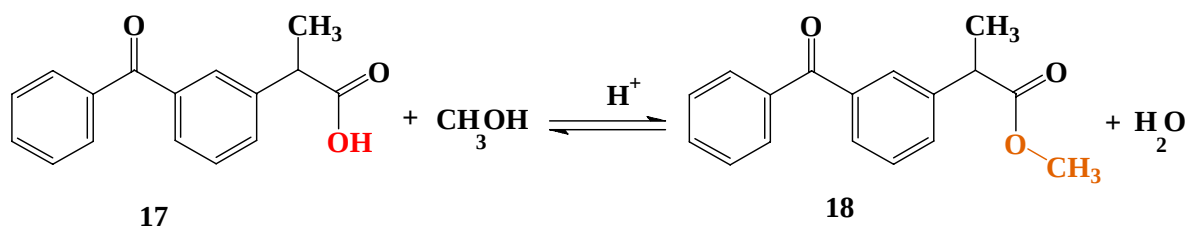


Em um balão de 50 mL adicionou-se 0,32 g da hidrazida de ibuprofeno (**15**) (1,45 mmol), 0,215 g de anidrido ftálico e 7 mL de ácido acético. A reação permaneceu sob refluxo e agitação por 5 horas, acompanhada por CCD (fase móvel: diclorometano/metanol 95:5).

Em seguida retirou-se o balão do refluxo e este foi colocado em banho de gelo para o resfriamento da mistura reacional e adicionou-se NaOH 20% até pH 7,0. O precipitado formado foi filtrado e lavado com água gelada fornecendo 0,4 g de um sólido amorfo branco com rendimento de 78% ($C_{21}H_{22}N_2O_3$; PM = 350,41).

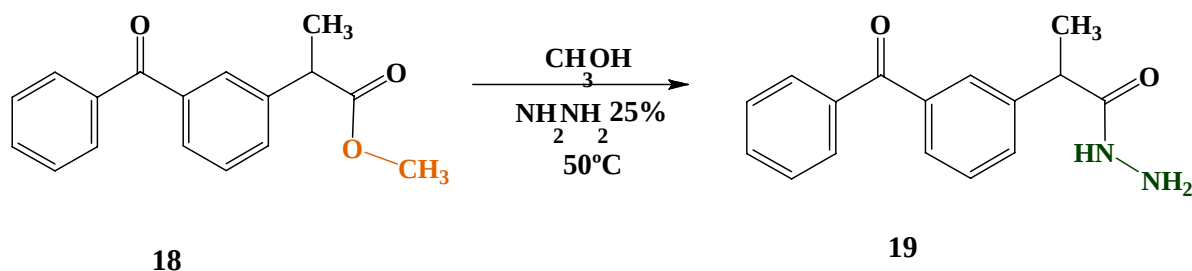
4.5.1.5 OBTENÇÃO DO DERIVADO HÍBRIDO DE CETOPROFENO

4.5.1.5.1 MÉTODO 5A - OBTENÇÃO DO METIL 2-(3-BENZOILFENIL)PROPANOATO (18)



Em um balão de 125 mL conectado a um condensador de refluxo adicionou-se 0,5 g de cetoprofeno (**17**) (1,96 mmol), 50 mL de metanol e 2 gotas de ácido sulfúrico concentrado. A reação permaneceu sob aquecimento a 50°C e agitação por 8 horas, acompanhada por CCD (fase móvel: hexano/acetato de etila 70:30). O solvente foi eliminado sob pressão reduzida, obtendo-se 0,527 g de um produto sólido amorfo de coloração branca com rendimento de 100% (C₁₇H₁₆O₃; PM=268,11).

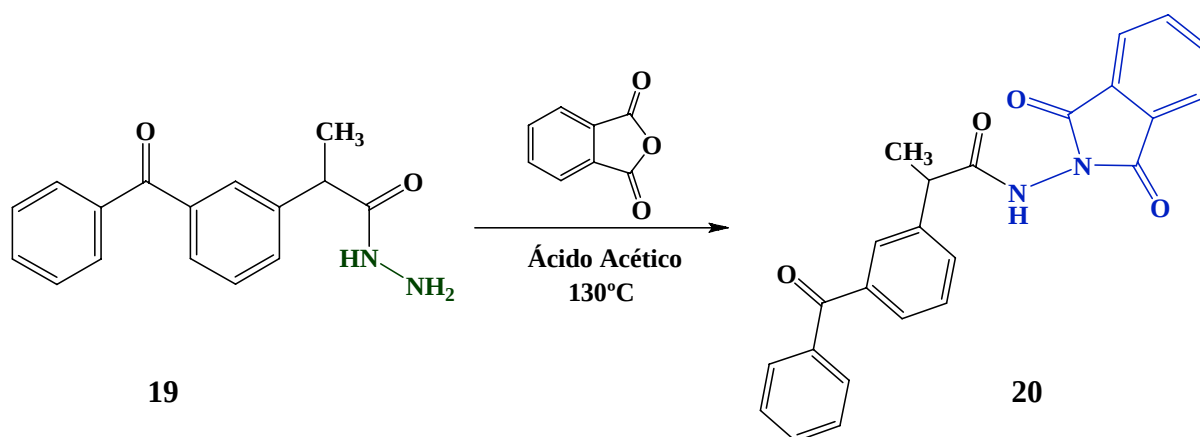
5.5.1.5.2 MÉTODO 5B - OBTENÇÃO DO 2-(3-BENZOILFENIL)PROPANOHIDRAZIDA (19)



Em um balão de 125 mL adicionou-se 0,5 g de éster de cetoprofeno (**18**) (1,86 mmol), 50 mL de metanol e 9 mL de hidrato de hidrazina 25%. A reação foi mantida sob refluxo e agitação por 24 horas, acompanhada por CCD (fase móvel: hexano/acetato de etila 70:30).

O volume do solvente da reação foi reduzido por destilação sob pressão reduzida, seguido da adição de cerca de 4 mL de água/gelo, ocorrendo a formação de um precipitado, que foi filtrado e lavado com água gelada fornecendo 0,375 g de um sólido amorfo de coloração branca com rendimento de 75% ($C_{16}H_{16}N_2O_2$; PM = 268,12).

4.5.1.5.3 MÉTODO 5C - OBTENÇÃO DO 2-(3-BENZOILFENIL)-N-(1,3-DIOXO-1,3-DIIDRO-2H-ISOINDOL-2-IL) PROPANAMIDA (**20**)



Em um balão de 125 mL adicionou-se 0,5 g de hidrazida de cetoprofeno (**19**) (1,86 mmol), 10 mL de ácido acético glacial e 0,277 g de anidrido ftálico (1,86 mmol).

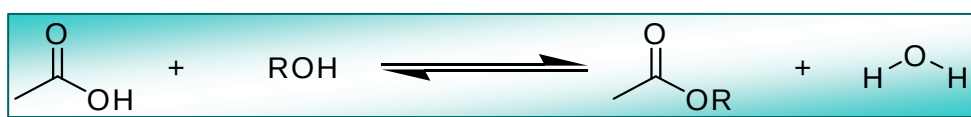
A reação foi mantida sob refluxo (130°C) por cerca de 5 horas, sendo acompanhada por CCD (fase móvel: hexano/acetato de etila 70:30). Após esse período, resfriou-se a reação em banho de gelo e adicionou-se hidróxido de sódio

20% até pH = 7, onde verificou-se a formação de precipitado, o qual foi filtrado sob pressão reduzida e lavado com água gelada para fornecer 0,505 g de um sólido amorfo branco com rendimento de 68% ($C_{24}H_{18}N_2O_4$; PM = 542,52).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os compostos híbridos de AINES foram obtidos a partir da reação dos seus ésteres correspondentes, seguida de uma substituição nucleofílica por adição de uma hidrazina para a formação de uma amina e posterior condensação desta amina funcionalizada ao anidrido acético.

1ª etapa reacional – Formação do éster metílico



Esquema 3 - Reação geral de esterificação.

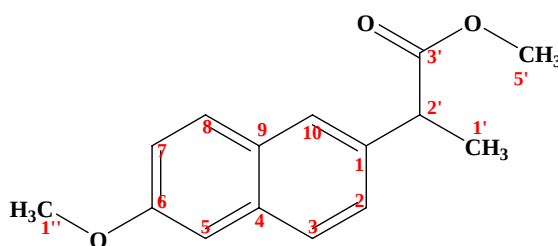
Conforme representado no esquema 3, os ácidos carboxílicos catalisados por ácido reagem com os álcoois para formarem ésteres e água. Na ausência de ácidos fortes essas reações ocorrem de forma muito lentas, mas atingem o equilíbrio, num intervalo de tempo de poucas horas, quando se refluxa o álcool e o ácido com pequenas quantidades de ácido sulfúrico ou clorídrico concentrados. Como o equilíbrio desfavorece a formação do éster, ele deve ser deslocado no sentido de formação do produto. Uma das maneiras de se fazer isso é a utilização de excesso de um dos reagentes (SOLOMONS & FRYHLE, 2002).

A preparação dos ésteres de AINES seguiu-se de forma similar, excetuando-se a temperatura utilizada para o éster de ibuprofeno e cetoprofeno, devido a formação de subprodutos. Para o ibuprofeno, a temperatura de reação ideal foi a ambiente, enquanto que com cetoprofeno, a temperatura de reação foi de 50°C a 60°C.

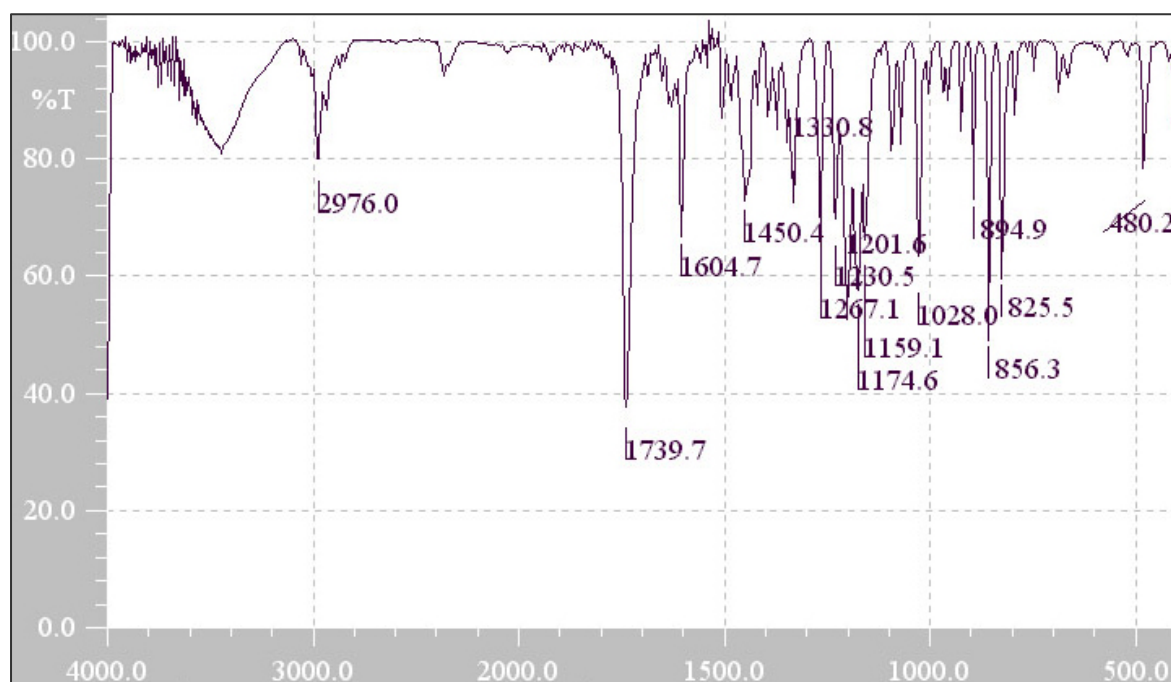
5.1 IDENTIFICAÇÃO ESTRUTURAL

Para auxílio na interpretação dos espectros de IV e RMN foram utilizadas as seguintes referências: DYER, 1969; SILVERSTAIN *et al.*, 2000; PAVIA *et al.*, 1996 e PRETSCH *et al.*, 2001.

PREPARAÇÃO DO METIL 2-(6-METOXI-2-NAFTIL) PROPANOATO (6)



Infravermelho (pastilha KBr): ν 2976 (C-H CH_2 e CH_3); ν 1739,7 (C=O éster); ν 1604, 1450 (C-H aromático); ν 1267 (C-O) cm^{-1} .

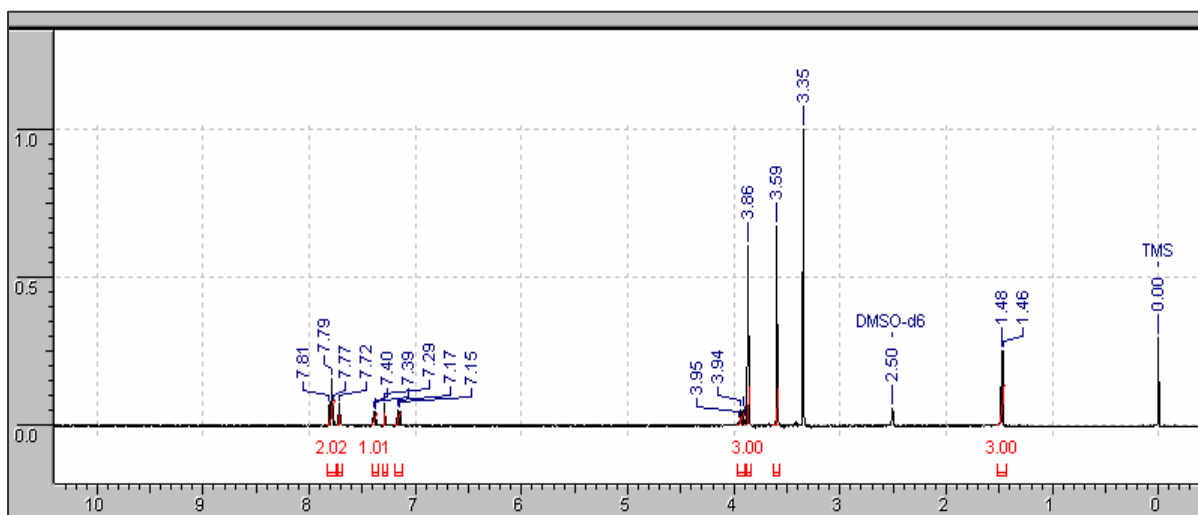


Espectro 1 - Infravermelho do metil 2-(6-metoxi-2-naftil) propanoato (composto 6).

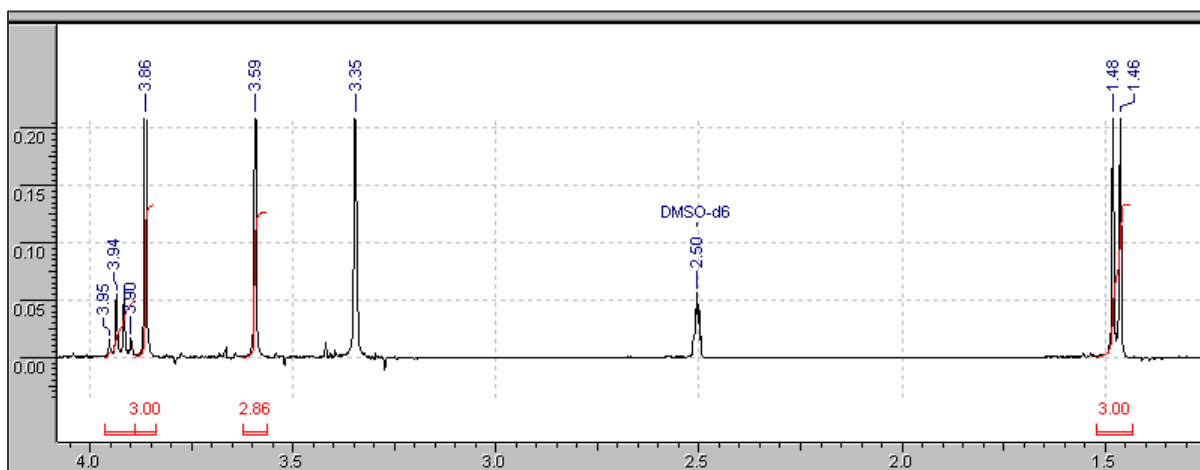
O espectro de infravermelho do éster metílico do naproxeno (Espectro 1) mostra o estiramento axial da carbonila de um éster na região de 1739 cm^{-1} . Este sinal está ausente na molécula de naproxeno que possui uma carbonila de ácido

carboxílico na região de 1630 cm^{-1} (espectro não mostrado) sugerindo que houve a modificação estrutural.

RMN ^1H (400MHz; DMSO- d_6): δ 1,47 (H1'; d ; 3H; $J = 7,17\text{ Hz}$); 3,59 (H5'; s ; 3H); 3,86 (H1''; s ; 3H); 3,94 (H2'; q ; 1H; $J = 15,12\text{ Hz}$); 7,15 (H7; dd ; 1H; $J_{orto}=8,70\text{ Hz}$ e $J_{meta}=2,00\text{ Hz}$); 7,29 (H5; d ; 1H; $J_{meta}=2,00\text{ Hz}$); 7,38 (H2; dd ; 1H; $J_{orto}=8,53\text{ Hz}$ e $J_{meta}=1,87\text{ Hz}$); 7,72 (H10; d ; 1H; $J = 1,03\text{ Hz}$); 7,79 (H3 e H8; 2 H; $J_{orto} = 8,87\text{ Hz}$) ppm.



Espectro 2 - RMN de ^1H do metil 2-(6-metoxi-2-naftil) propanoato (composto 6) em DMSO- d_6 obtido em espectrômetro Bruker, modelo DRX-400.

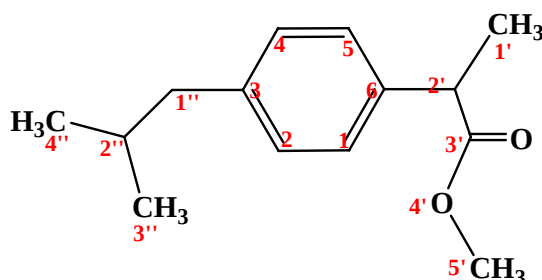


Espectro 3 - RMN de ^1H do metil 2-(6-metoxi-2-naftil)propanoato (composto 6) em DMSO- d_6 obtido em espectrômetro Bruker, modelo DRX-400 - ampliação entre 1,5-4,0 ppm.

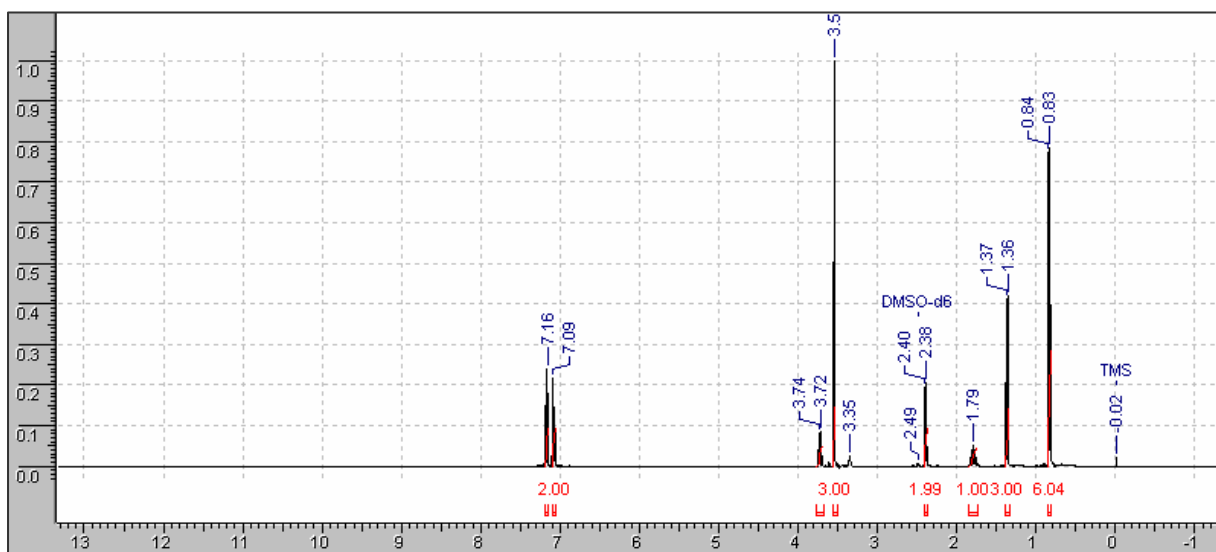
Pelo espectro 2 de RMN ^1H pode-se visualizar através das integrais que todos os hidrogênios da estrutura proposta estão presentes. Na ampliação do espectro de RMN ^1H (Espectro 3) é possível verificar a presença de um singlete com integração igual a três na região de 3,59 ppm referentes à metila (grupo CH_3) do éster.

Este conjunto de dados permite concluir que o éster metílico do naproxeno foi obtido.

PREPARAÇÃO DO METIL 2-(4-ISOBUTILFENIL) PROPANOATO (14)



RMN ^1H (400MHz; DMSO- d_6): δ 0,83 (H3'' e 4''; d ; 6H; $J = 6,64$ Hz); 1,36 (H1'; d ; 3H; $J = 7,19$ Hz); 1,75-1,86 (H2''; m ; 1H); 2,39 (H1''; d ; 2H; $J = 7,21$ Hz); 3,55 (H5'; s ; 3H); 3,73 (H2'; q ; 1H; $J = 14,30$ Hz); 7,09 (H4 e H 2; d ; 2H; $J = 8,20$ Hz) e 7,16 (H5 e H1; d ; 2H; $J = 8,20$ Hz) ppm.

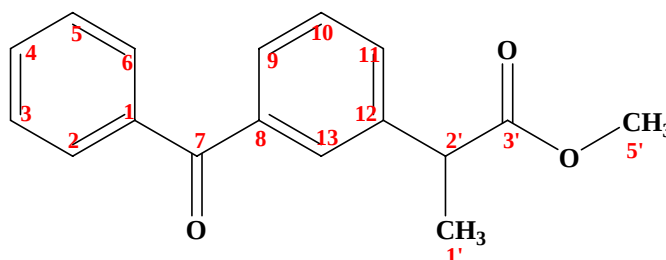


Espectro 4 - RMN de ^1H do metil 2-(4-isobutilfenil)propanoato (composto 14) em DMSO- d_6 obtido em espectrômetro Bruker, modelo DRX-400.

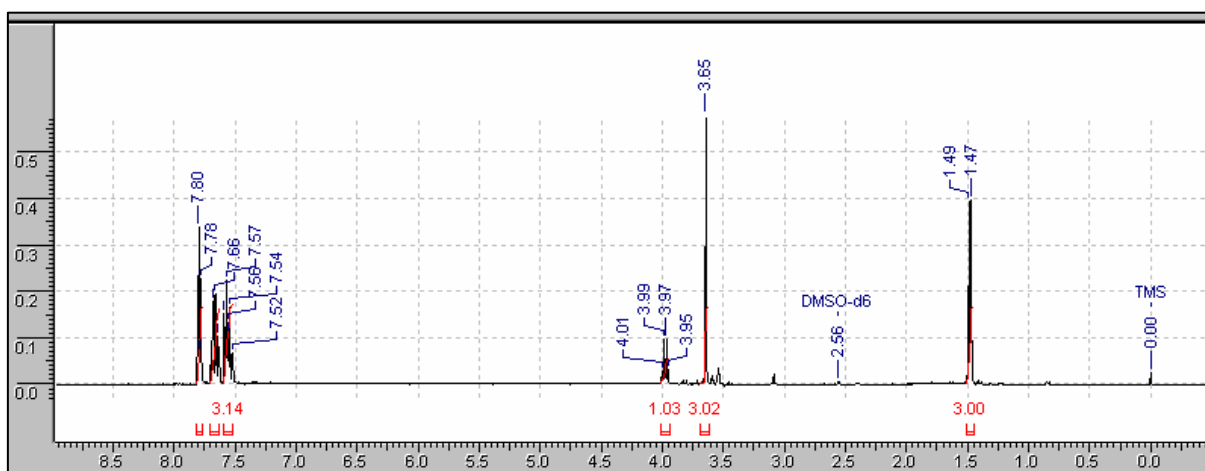
No espectro 4 de RMN ^1H observa-se em 0,83 ppm os hidrogênios das metilas 3'' e 4'' não ligadas a heteroátomos com suas respectivas integrais e em 3,55 ppm pode-se verificar um singlete com 3 hidrogênios da metila do éster metílico. Na região aromática localizada em 7,09 ppm e 7,16 ppm, notam-se os quatro

hidrogênios aromáticos (H4 e H2, H5 e H1) com a mesma constante de acoplamento ($J = 8,20$ Hz) devido a simetria da molécula.

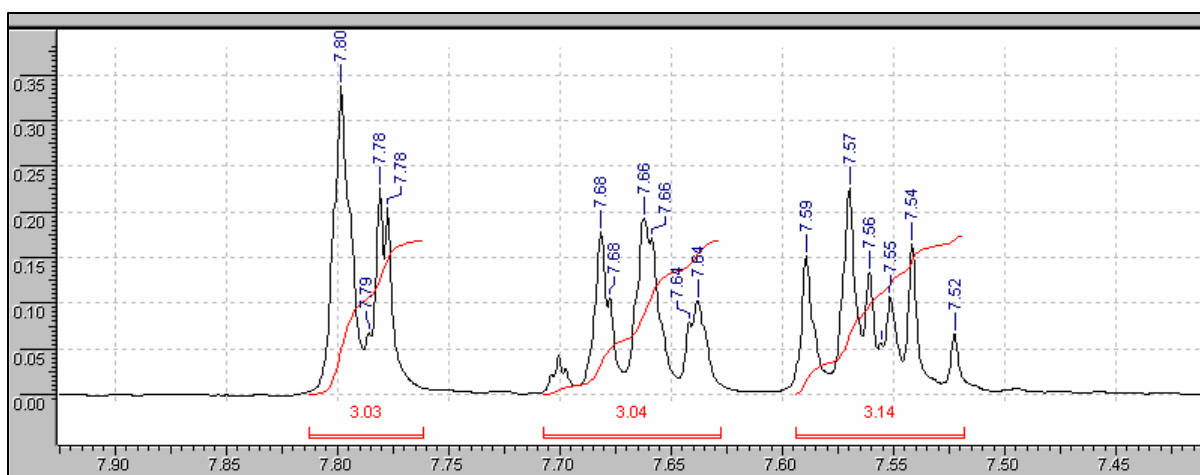
PREPARAÇÃO DO METIL 2-(3-BENZOILFENIL) PROPANOATO (18)



RMN ^1H (400MHz; DMSO- d_6): δ 1,45 (H1'; *d*; 3H; $J = 7,16$ Hz); 3,65 (H5'; *s*; 3H); 3,98 (H2'; *q*; 1H; $J = 15,26$ Hz); 7,66 (H5 e H3, *t*; 1H; $J = 9,57$ Hz); 7,68 (H9; *d*; 1H; $J = 9,57$ Hz); 7,78 (H2, H6 e H13; 3H; $J = 1,37$ Hz) ppm.



Espectro 5 - RMN de ^1H do metil 2-(3-benzoilfenil) propanoato (composto 18) em DMSO- d_6 obtido em espectrômetro Bruker, modelo DRX-400.



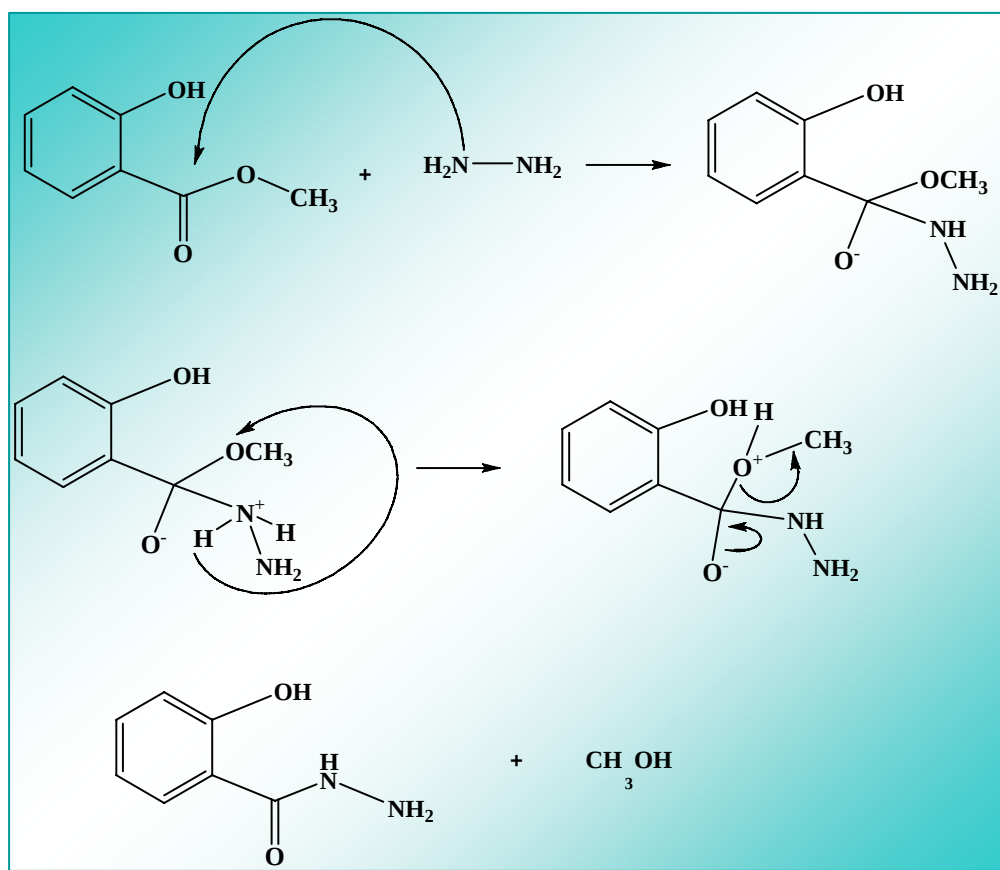
Espectro 6 - RMN de ^1H do metil 2-(3-benzoilfenil)propanoato (composto 18) em DMSO- d_6 obtido em espectrômetro Bruker, modelo DRX-400 - ampliação na região de 7,45-7,9 ppm.

No espectro de RMN ^1H (Espectro 5) pode-se observar em 3,65 ppm a presença de um singlete com integração igual a três referente a introdução do grupamento metila do éster. Os hidrogênios dos carbonos (2 e 6) tem pico de absorção em 7,78 ppm por serem simétricos, assim como os hidrogênios dos carbonos (3 e 5) com pico de absorção em 7,66 ppm. Quando se faz a análise da ampliação aromática (Espectro 6), observa-se que embora a integração esteja correta, o que auxilia na confirmação da estrutura pretendida, não é possível observar os picos de absorção dos hidrogênios dos carbonos 4, 10 e 11.

2ª etapa reacional – Formação da hidrazida

A obtenção das hidrazidas (Esquema 4) a partir dos ésteres metílicos explorou as reações de substituição nucleofílica bimolecular. Os pares de elétrons livres do nitrogênio da hidrazina funcionando como nucleófilo se adicionam ao carbono carbonílico. Há quebra da ligação π e formação do intermediário tetraédrico. Ao restabelecer a ligação π que havia sido rompida, há quebra da ligação C-O e eliminação da metoxila (CH_3O). A estrutura formada tem a carga

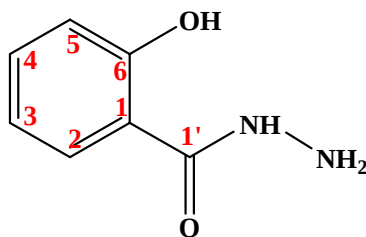
neutralizada após abstração de um próton pela metoxila, levando a formação da hidrazida.



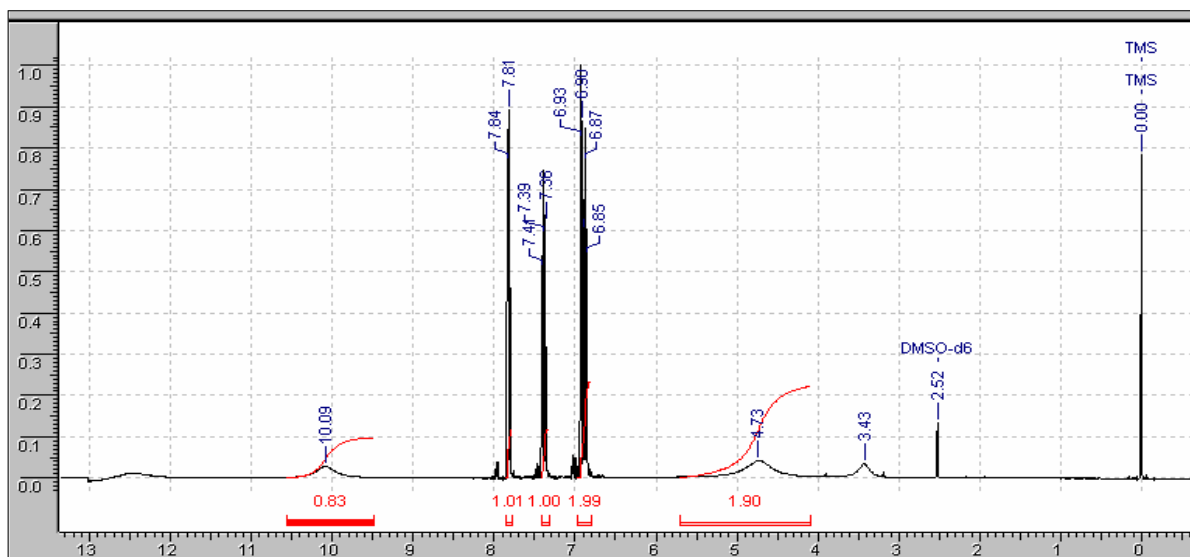
Esquema 4 – Reação de formação das hidrazidas.

Todos os compostos responderam a reação com o hidrato de hidrazina levando a obtenção do intermediário hidrazona. Em algumas reações devido ao baixo ponto de fusão dos reagentes não foi possível utilizar aquecimento, o que levou a um aumento dos tempos reacionais.

PREPARAÇÃO DO 2-HIDROXIBENZOHIDRAZIDA (3) - HIDRAZIDA DE ÁCIDO SALICÍLICO



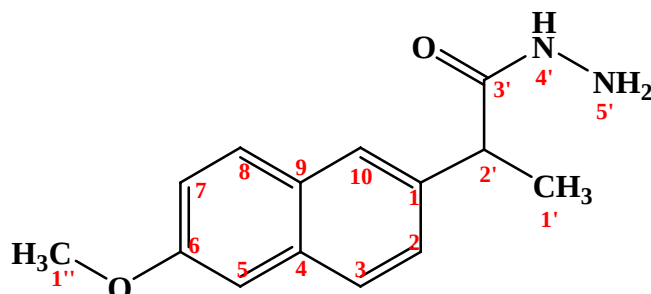
RMN ^1H (400MHz; DMSO- d_6): δ 6,87 (H3; *t*; 1H; $J = 1,20$ Hz); 6,89 (H5; *d*; 1H; $J = 1,17$ Hz); 7,38 (H4; *ddd*, 1H; $J_{\text{orto}} = 7,34$ Hz e $J_{\text{meta}} = 1,71$ Hz); 7,83 (H2; *dd*; 1H; $J_{\text{orto}} = 7,85$ Hz e $J_{\text{meta}} = 1,71$ Hz) ppm.



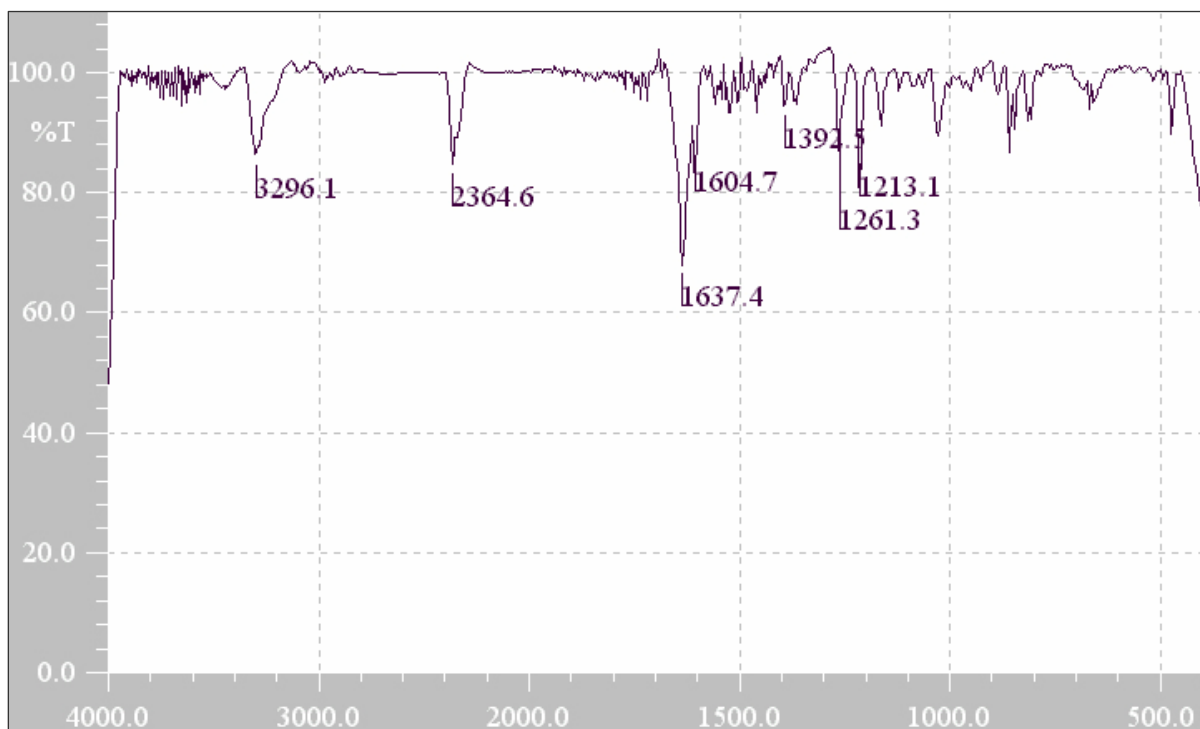
Espectro 7 - RMN de ^1H do 2-hidroxibenzohidrazida (composto 3) em DMSO- d_6 obtido em espectrômetro Bruker, modelo DRX-400.

A substituição nucleofílica do éster metílico pela hidrazina leva a formação da hidrazida. Pelo espectro 7 de RMN ^1H pode-se observar a presença dos hidrogênios N-H da hidrazida provavelmente em δ 4,73 ppm com as respectivas integrações e a ausência dos hidrogênios na região de aproximadamente 3,6 ppm referente à metila do éster do ácido salicílico.

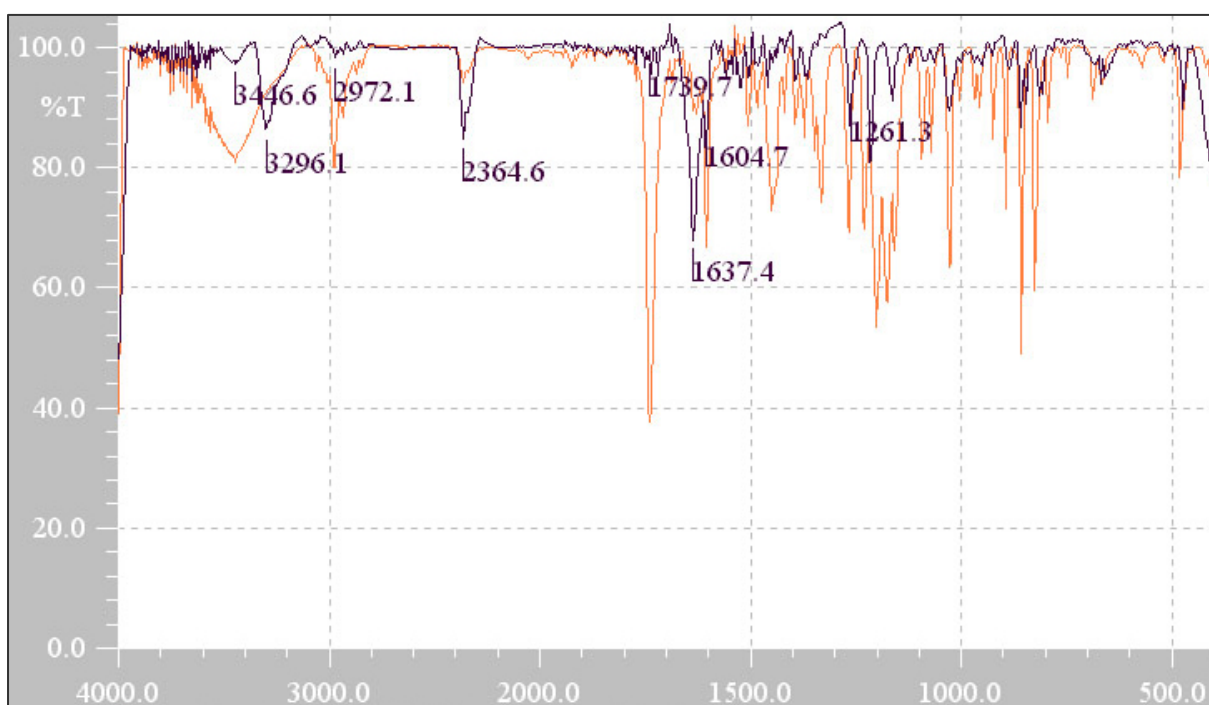
**PREPARAÇÃO DO 2-(6-METOXI-2-NAFTIL)PROPANOHIDRAZIDA (7) -
HIDRAZIDA DE NAPROXENO**



Infravermelho (pastilha KBr): ν 3296 (N-H); 2365 (C-H CH_2 e CH_3); ν 1637 (C=O_{hidrazida}); ν 1604 (C-H_{aromático}); ν 1261 (C-O); ν 1213 (C-N) cm^{-1} .



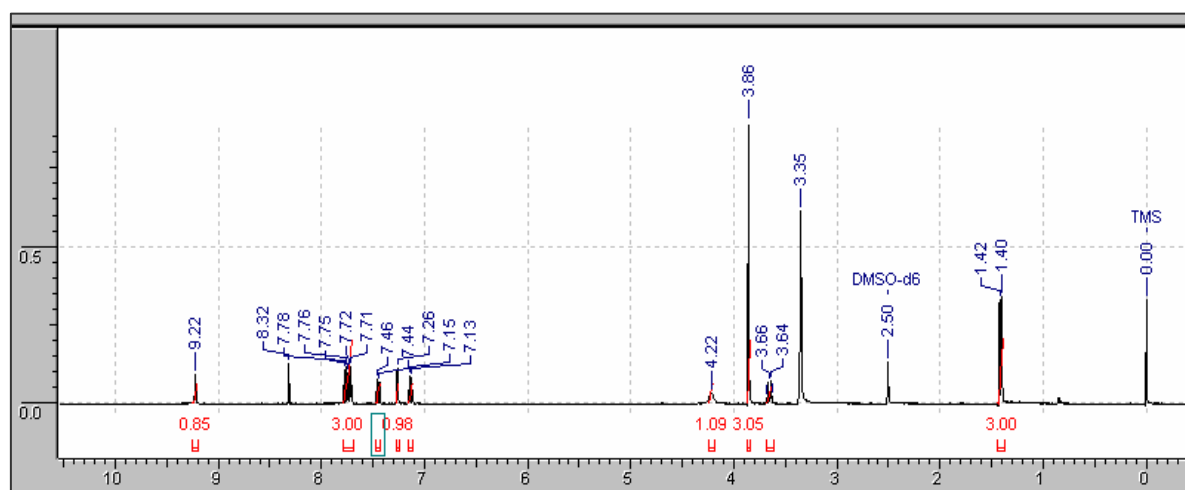
Espectro 8 - Infravermelho do metil 2-(6-metoxi-2-naftil) propanohidrazida (composto 7).



Espectro 9 - Infravermelho do metil 2-(6-metoxi-2-naftil) propanohidrazida (composto 7) sobreposto ao éster de naproxeno (6).

No espectro 8 de infravermelho observa-se a banda de absorção referente ao estiramento axial da carbonila da hidrazida aparecendo em 1637 cm^{-1} diferentemente da carbonila do éster metílico de naproxeno que apresenta absorção em 1732 cm^{-1} . No espectro 9 observa-se a sobreposição dos espectros do éster metílico (alaranjado) com a hidrazida (preto) e fica evidente o deslocamento da carbonila e o aparecimento dos estiramentos N-H em aproximadamente 3296 cm^{-1} .

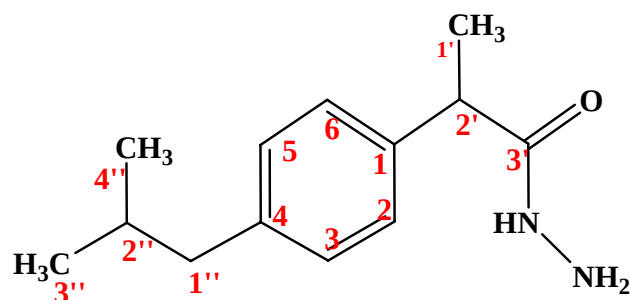
RMN ^1H (400MHz; DMSO- d_6): δ 1,41 ($\text{H1}'$; d ; 3H; $J = 7,00$ Hz); 3,65 ($\text{H2}'$; q ; 1H; $J = 14,65$ Hz); 3,86 ($\text{H1}''$; s ; 3H); 7,13 (H7 ; dd ; 1H; $J_{\text{orto}} = 8,87$ Hz e $J_{\text{meta}} = 2,56$ Hz); 7,26 (H5 ; s ; 1H); 7,45 (H2 ; dd ; 1H; $J_{\text{orto}} = 8,54$ Hz e $J_{\text{meta}} = 1,88$ Hz); 7,71 (H10 ; s ; 1H); 7,75 (H3 ; d ; 1H; $J_{\text{orto}} = 8,53$ Hz); 7,79 (H8 ; d ; 1H; $J_{\text{orto}} = 9,05$ Hz) ppm.



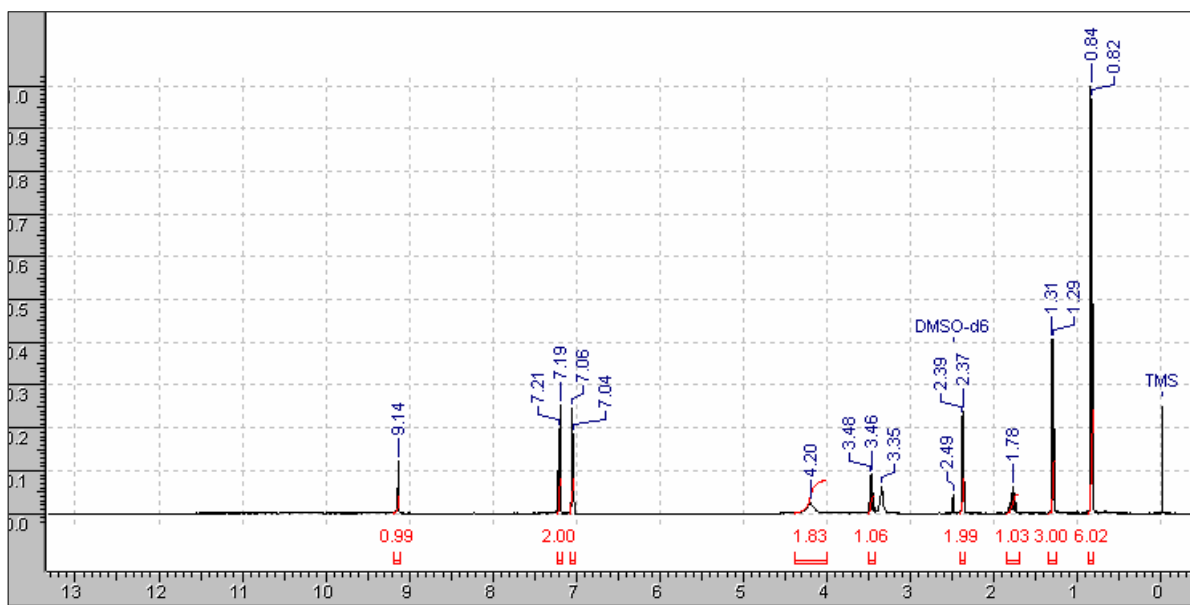
Espectro 10 - RMN de ^1H do metil 2-(6-metoxi-2-naftil) propanohidrazida (composto 7) em DMSO- d_6 obtido em espectrômetro Bruker, modelo DRX-400.

No espectro 10 de RMN ^1H observa-se o que pode ser os hidrogênios N-H da hidrazida em δ 9,22 ppm. Nota-se neste espectro também a ausência dos hidrogênios na região de aproximadamente 3,55 ppm referentes à metila do éster metílico utilizado como reagente, sugerindo que pode ter ocorrido a obtenção da hidrazida desejada.

PREPARAÇÃO DO 2-(4-ISOBUTILFENIL)PROPANOHIDRAZIDA (15) - HIDRAZIDA DE IBUPROFENO



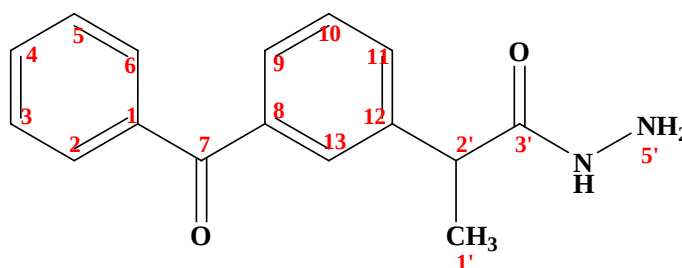
RMN ^1H (400MHz; DMSOd): δ 0,83 ($\text{H}3''$; $\text{H}4''$; d ; 6H; $J = 6,48$ Hz); 1,30 ($\text{H}1'$; d ; 3H; $J = 7,17$ Hz); 1,73-1,85 ($\text{H}2''$; m ; 1H); 2,38 ($\text{H}1''$; d ; 2H; $J = 7,16$ Hz); 3,47 ($\text{H}2'$; q ; 1H; $J = 15,24$ Hz); 7,05 ($\text{H}5$; d ; 2H; $J = 8,20$ Hz); 7,20 ($\text{H}6$; d ; 2H; $J = 8,03$ Hz); ppm.



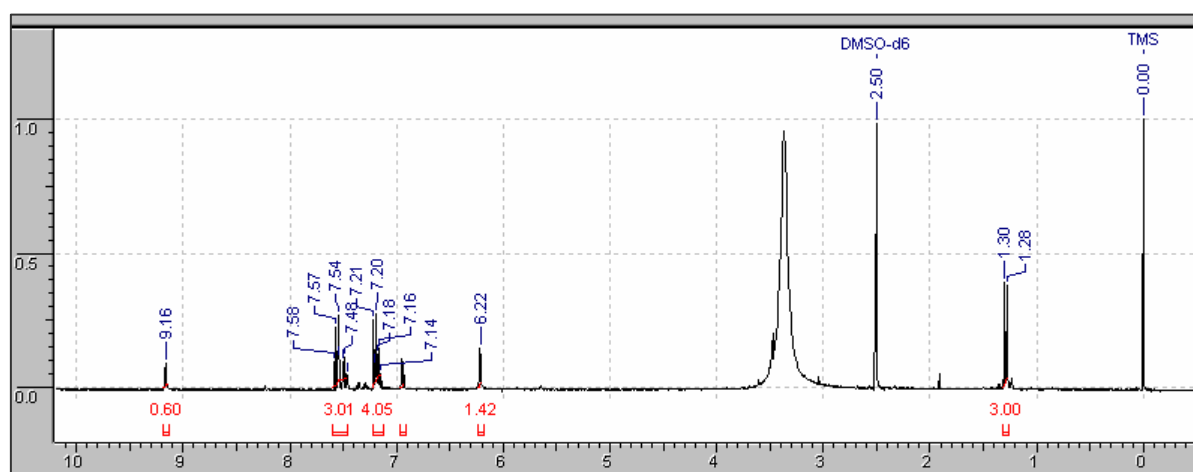
Espectro 11 - RMN de ^1H do 2-(4-isobutilfenil)propanohidrazida (composto 15) em DMSO-d6 obtido em espectrômetro Bruker, modelo DRX-400.

Pelo espectro 11 de RMN ^1H pode-se observar a presença dos hidrogênios N-H da hidrazida em δ 9,14 ppm com as respectivas integrações. Nota-se neste espectro também a ausência dos hidrogênios na região de aproximadamente 3,55 ppm referentes à metila do éster metílico utilizado como reagente sugerindo a formação da hidrazida de ibuprofeno.

OBTENÇÃO DO 2- (3-BENZOILFENIL)PROPANOHIDRAZIDA (19) - HIDRAZIDA DE CETOPROFENO



RMN ^1H (400MHz; DMSO- d_6): δ 1,29 (H1'; d ; 3H; $J = 6,99$ Hz); 7,16 (H13; s ; 1H); 7,46 (H4; t ; 1H; $J = 1,59$ Hz); 7,48 (H10; t ; 1H; $J = 3,00$ Hz); 7,50 (H5 e H3; t ; 1H; $J = 1,62$ Hz) ppm.



Espectro 12 - RMN de ^1H do 2-(3-benzoylphenyl)propanohidrazida (composto 19) em DMSO- d_6 obtido em espectrômetro Bruker, modelo DRX-400.

Verifica-se no espectro 12 de RMN ^1H o que pode ser pelos sinais de δ 6,22 e δ 9,16 ppm os hidrogênios N-H da hidrazida e em 3,65 ppm a ausência dos hidrogênios referentes à metila do éster metílico de cetoprofeno que foi utilizado como reagente para a obtenção de sua hidrazida. Não foi possível observar todos os sinais dos hidrogênios aromáticos da hidrazida, somente os picos dos hidrogênios H3, H4, H5 e H10 o que sugere a presença dos anéis aromáticos. Mesmo sem a confirmação estrutural total deste intermediário, com RMN ^{13}C , prosseguiu-se com as reações, utilizando este produto.

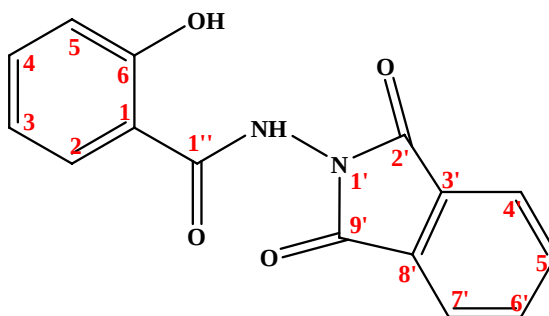
3ª etapa reacional – Formação dos derivados ftalimídicos

A obtenção direta de derivados ftalimídicos *N*-substituídos podem ser facilmente preparados explorando a acidez do hidrogênio imídico em meio básico, e a nucleofilicidade do ânion formado na presença de diferentes espécies eletrofílicas (LIMA, 2001).

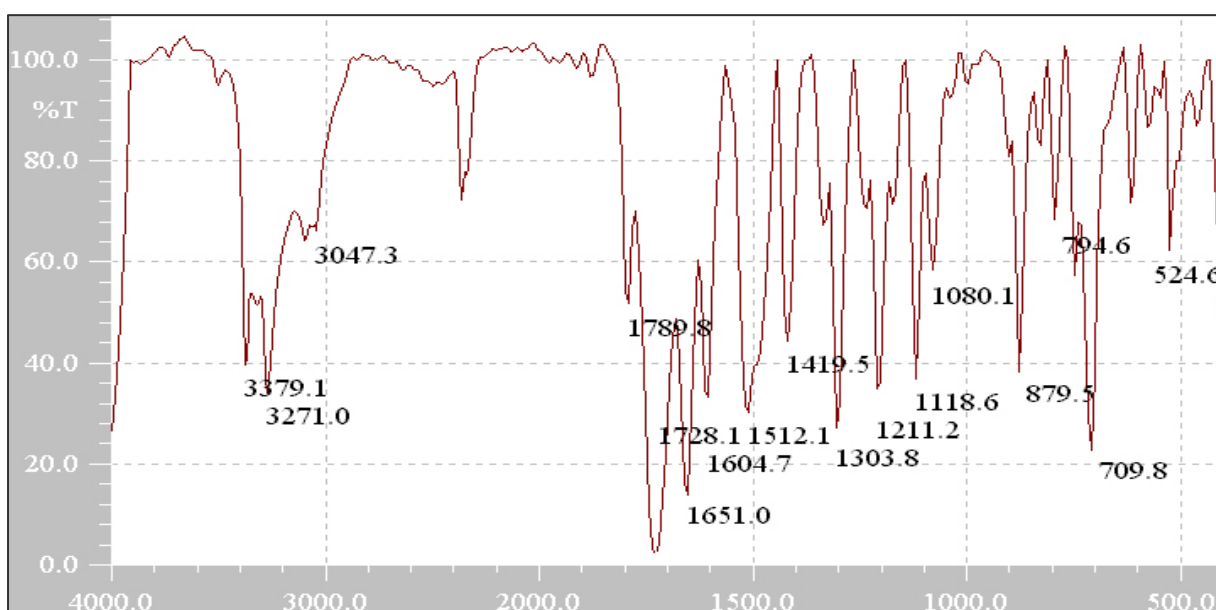
A preparação dos AINEs derivados da ftalimida ocorre partindo-se dos intermediários de síntese de AINEs correspondentes, obtidos a partir da segunda etapa reacional ocorrida para a formação da sua respectiva hidrazida que juntamente com o anidrido ftálico resultará na formação dos derivados ftalimídicos.

PREPARAÇÃO DO ANTI-INFLAMATÓRIO HÍBRIDO DO ÁCIDO SALICÍLICO

(4)

N-(1,3-dioxo-1,3-diidro-2*H*-isoindol-2-il)-2-hidroxibenzamida

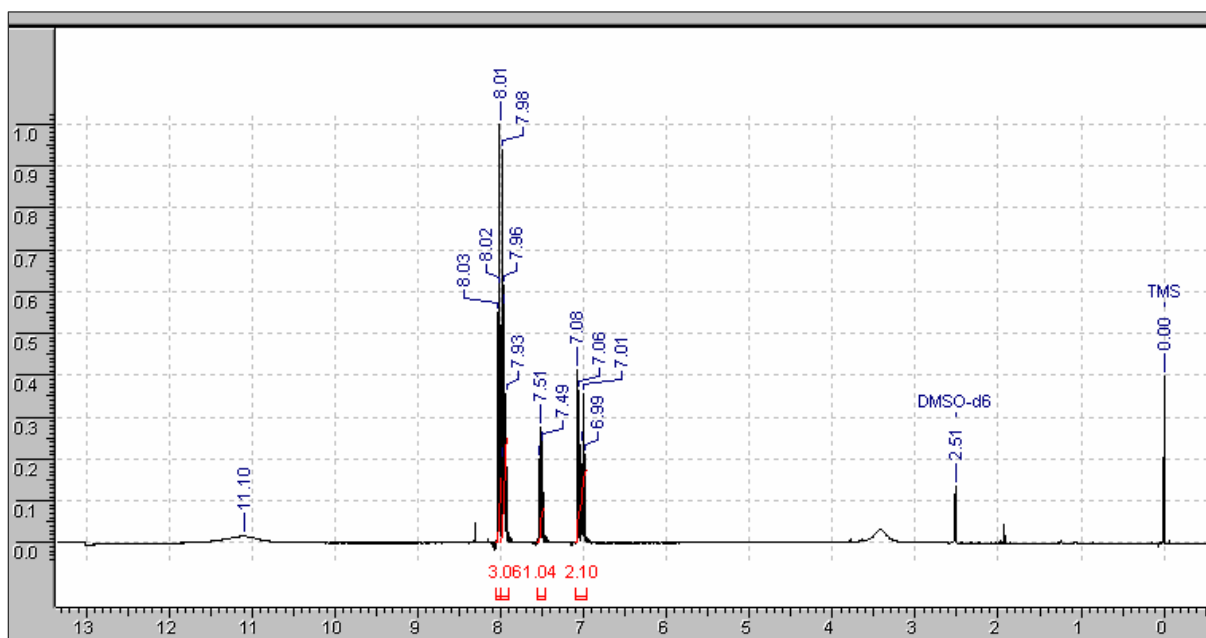
Infravermelho (pastilha KBr): ν 3271 (N-H); 2956 (C-H CH_2 e CH_3); ν 1651 (C=O hidrazida); ν 1604, 1419,5 (C-H aromático); ν 1303 (C-O); ν 1211 (C-N) cm^{-1} .



Espectro 13 - Infravermelho do *N*-(1,3-dioxo-1,3-diidro-2*H*-isoindol-2-il)-2-hidroxibenzamida (composto 4) (anti-inflamatório híbrido de ácido salicílico).

Na análise por IV pode-se observar a presença das carbonilas da subunidade ftalimida em aproximadamente 1790 e 1740 cm^{-1} .

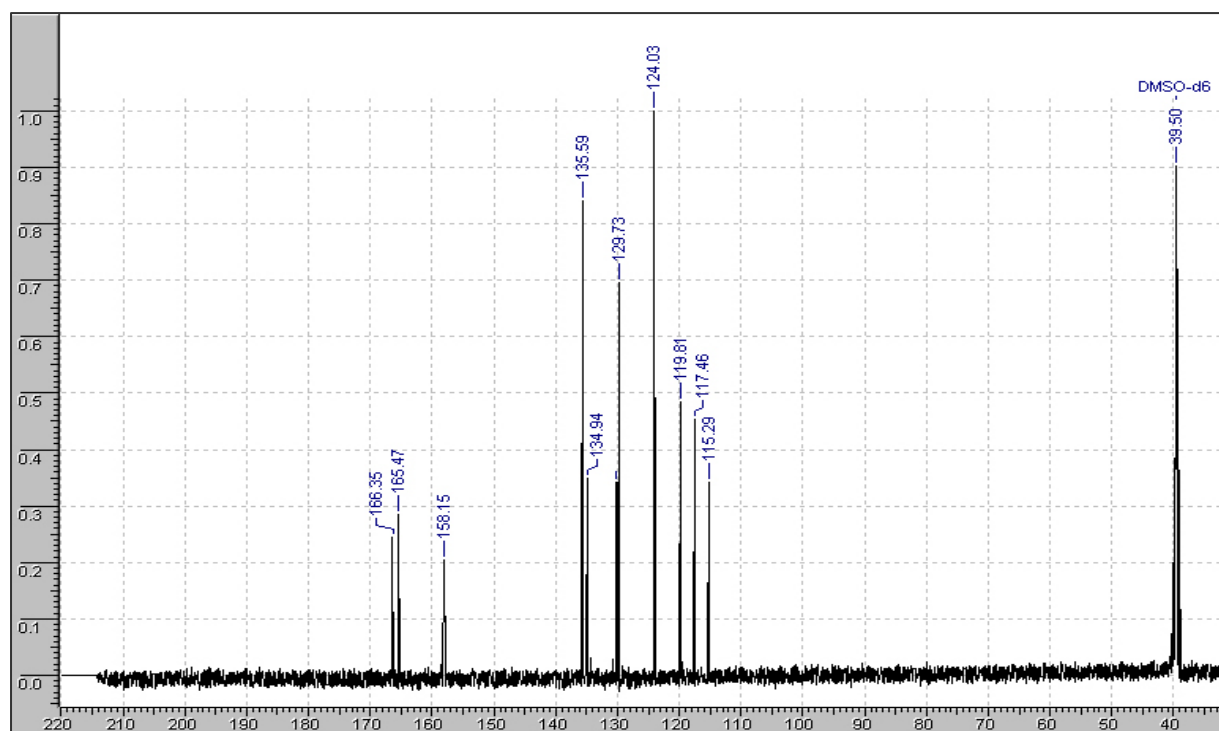
RMN ^1H (400MHz; DMSOd): δ 7,01 (H5' e H6'; t ; $1H$; $J = 1,27$ Hz); 7,03 (H4' e H7'; d ; $1H$; $J = 1,03$ Hz); 7,06 (H2; d ; $1H$; $J = 0,86$ Hz); 7,08 (H5; d ; $1H$; $J = 0,85$ Hz); 7,51 (H4; t ; $1H$; $J = 1,87$ Hz) ppm.



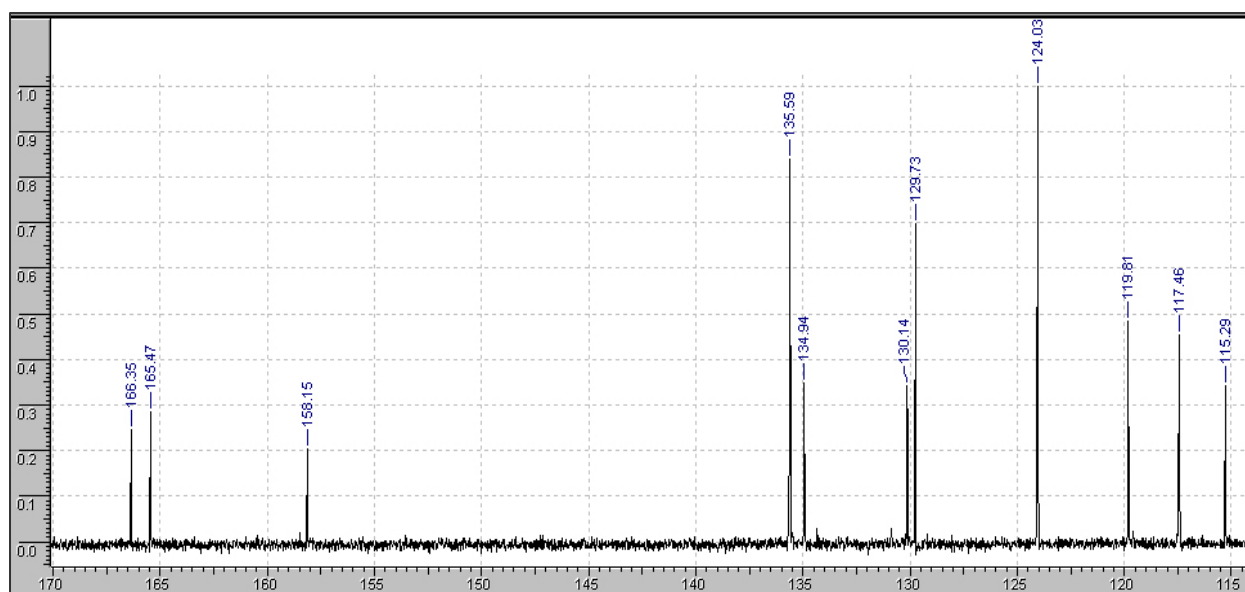
Espectro 14 - RMN de ^1H do *N*-(1,3-dioxo-1,3-diidro-2*H*-isoindol-2-il)-2-hidroxibenzamida (composto 4) (anti-inflamatório híbrido de ácido salicílico) em DMSO- d_6 obtido em espectrômetro Bruker, modelo DRX-400.

No espectro 14 pode-se observar a ausência do hidrogênio N-H do NH_2 em δ 4,73 ppm e os sinais em δ 7,01 e δ 7,03 ppm dos hidrogênios H5', H6', H4' e H7 do anel aromático da ftalimida e os hidrogênios H2, H4 e H5 em δ 7,06, 7,51 e 7,08 ppm, respectivamente, do anel aromático da estrutura do derivado do ácido salicílico, o que sugere a obtenção do anti-inflamatório híbrido de ácido salicílico.

RMN ^{13}C (400MHz; DMSO-d₆): δ 166,35 (C2'); 165,47 (C1''); 158,15 (C6); 135,6 (C1); 134,94 (C3'); 130,14 (C5); 129,73 (C2); 124,03 (C4'); 119,81 (C4); 117,46 (C3); 115,3 (C5') ppm.



Espectro 15 - RMN de ^{13}C do *N*-(1,3-dioxo-1,3-diidro-2*H*-isoindol-2-il)-2-hidroxibenzamida (composto 4) (anti-inflamatório híbrido de ácido salicílico) em DMSO-d₆ obtido em espectrômetro Bruker, modelo DRX-400.

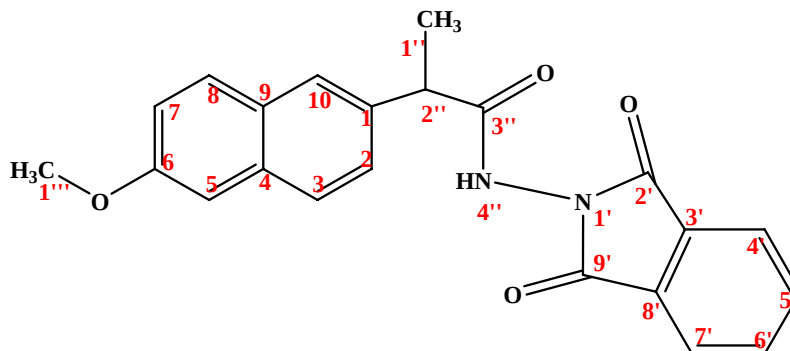


Espectro 16 - RMN de ^{13}C do *N*-(1,3-dioxo-1,3-diidro-2*H*-isoindol-2-il)-2-hidroxibenzamida (composto 4) (anti-inflamatório híbrido de ácido salicílico) em DMSO- d_6 obtido em espectrômetro Bruker, modelo DRX-400 – ampliado 115-170 ppm.

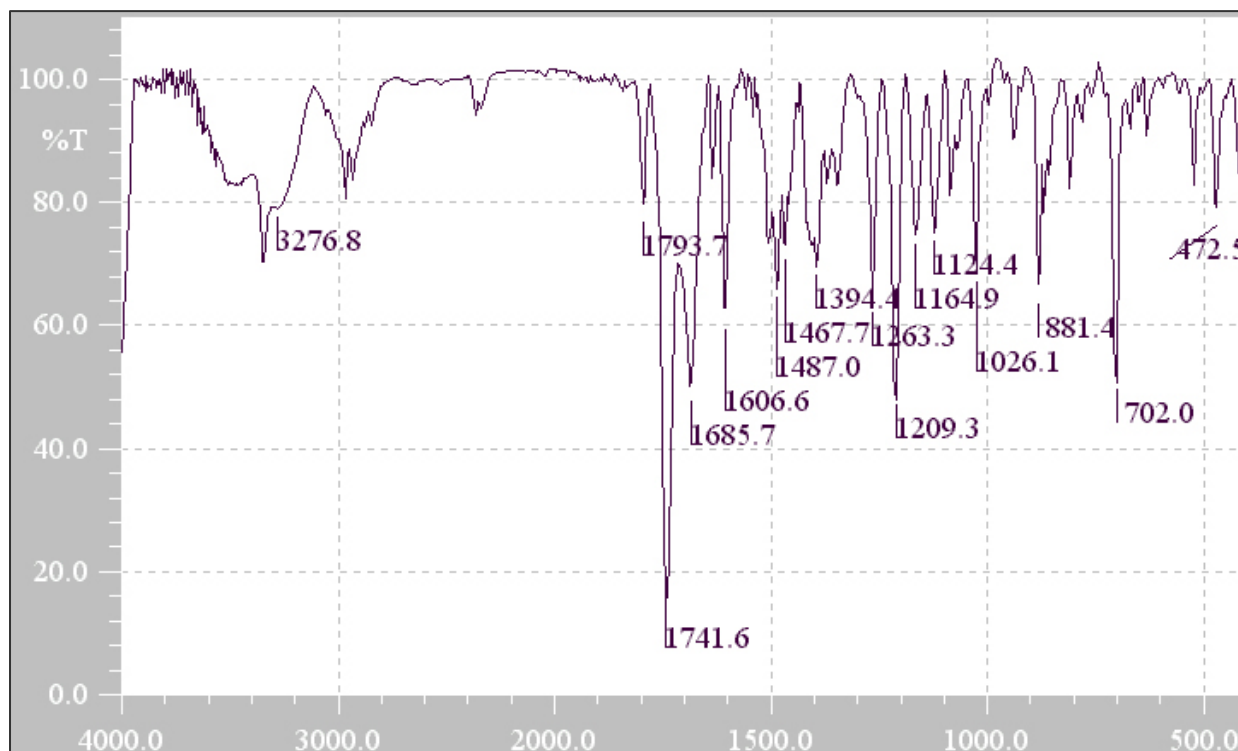
A análise dos espectros 15 e 16 relacionado ao RMN de ^{13}C do anti-inflamatório híbrido de ácido salicílico indicaram a sua formação. Observou-se o sinal em 166,35 ppm do C2' indicando a presença de grupamento carbonila de imida e em 165,47 ppm do C1'' confirmando o grupo CONH de carbonila de amida, o que sugere acoplamento da molécula de ftalimida com a hidrazida de ácido salicílico originando o respectivo híbrido.

PREPARAÇÃO DO ANTI-INFLAMATÓRIO HÍBRIDO DE NAPROXENO (8)

N-(1,3-dioxo-1,3-diidro-2*H*-isoindol-2-il)-2-(6-metoxi-2-naftil)propanamida



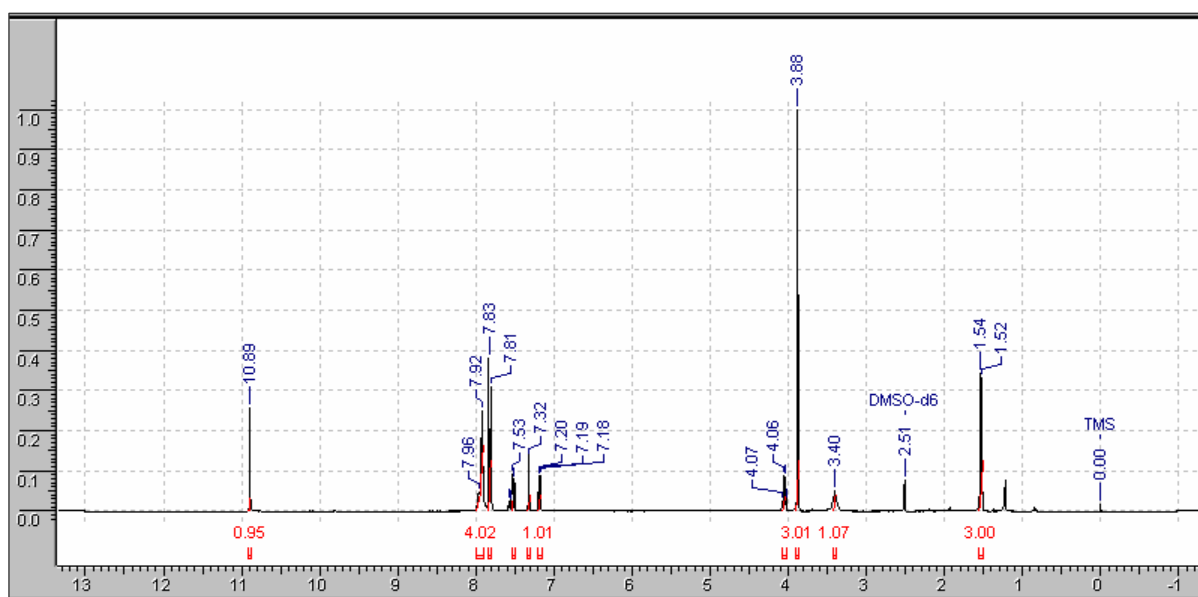
Infravermelho (pastilha KBr): ν 3276 (N-H); ν 1793 e 1741 (C=O_{imida}); ν 1685 (C=O_{hidrazida}); ν 1606, 1467 (C-H_{aromático}); ν 1263 (C-O); ν 1209 (C-N) cm⁻¹.



Espectro 17 - Infravermelho do *N*-(1,3-dioxo-1,3-diidro-2*H*-isoindol-2-il)-2-(6-metoxi-2-naftil)propanamida (composto 8) (anti-inflamatório híbrido de naproxeno).

Pelo espectro 17 de IV pode-se observar em 3276 cm^{-1} o estiramento axial da ligação N-H e a ausência do estiramento N-H de NH_2 presente na hidrazida. As absorções em $\nu\ 1793\text{ cm}^{-1}$ e em $\nu\ 1741\text{ cm}^{-1}$ indicam a presença do estiramento axial da carbonila da imida presente no sistema ftalimídico. Estes dados de infravermelho apontam que ocorreu a reação de condensação entre a hidrazida de naproxeno e o anidrido ftálico.

RMN ^1H (400MHz; DMSO- d_6): δ 1,53 (H1'; *d*; 3H; $J = 7,17\text{ Hz}$); 3,88 (H1'''; *s*; 3H); 4,06 (H2'; *q*; 1H; $J = 15,74\text{ Hz}$); 7,18 (H5; *dd*; 1H; $J_{\text{orto}} = 9,04\text{ Hz}$ e $J_{\text{meta}} = 2,56\text{ Hz}$); 7,53 (H10; *dd*; 1H; $J_{\text{orto}} = 8,53\text{ Hz}$ e $J_{\text{meta}} = 1,54\text{ Hz}$); 7,83 (H4 e H9; *d*; 2H; $J = 8,53\text{ Hz}$); 7,92 (H7; *s*; 1H) ppm.

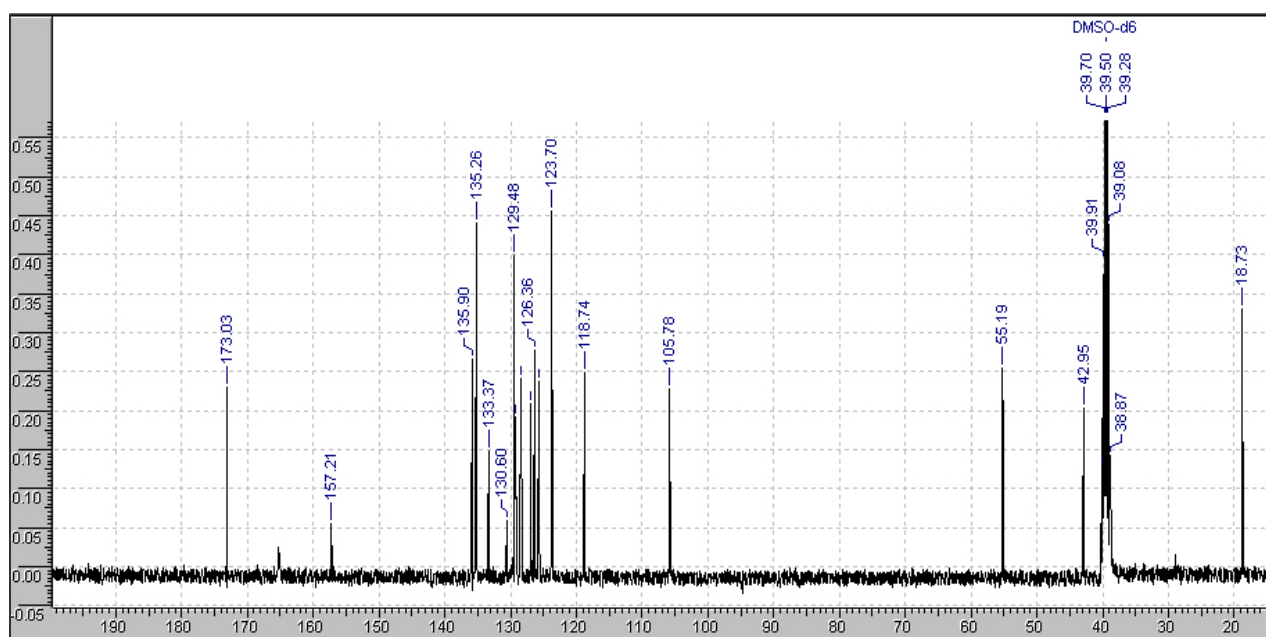


Espectro 18 - RMN de ^1H do *N*-(1,3-dioxo-1,3-diidro-2*H*-isoindol-2-il)-2-(6-metoxi-2-naftil) propanamida (composto 8) (anti-inflamatório híbrido de naproxeno) em DMSO- d_6 obtido em espectrômetro Bruker, modelo DRX-400.

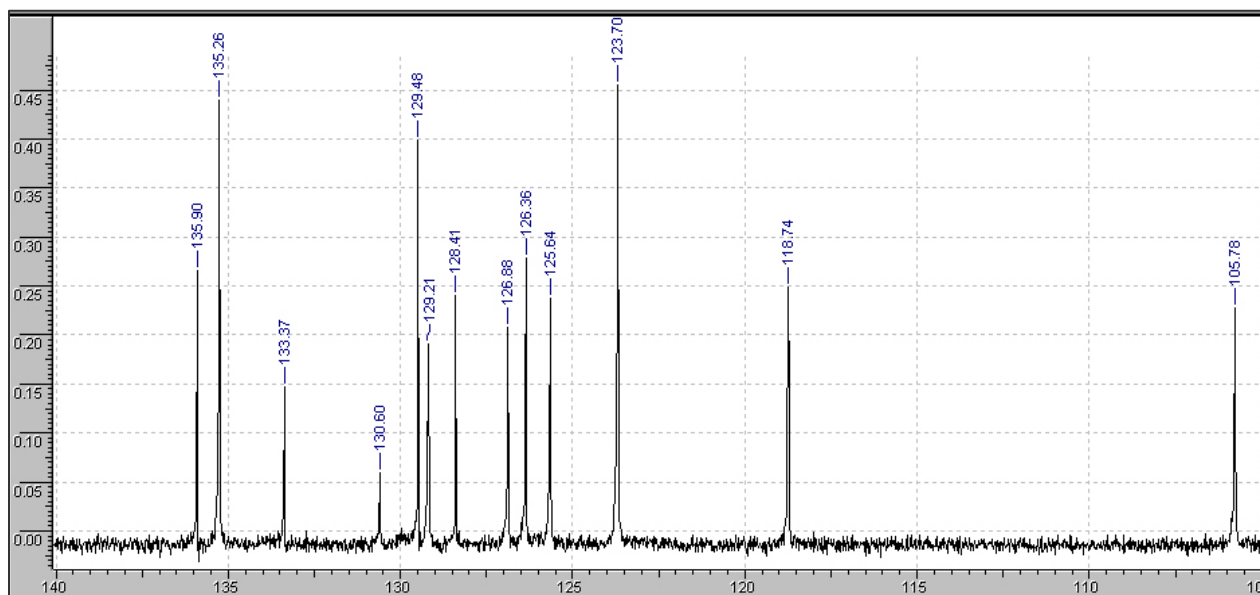
No espectro 18 de RMN ^1H observa-se que a integração é adequada à estrutura proposta, mas os sinais não estão muito bem definidos o que impossibilita

verificar se os hidrogênios do sistema ftalimídico estão presentes. Pela análise do espectro, os sinais que se verifica são os dos hidrogênios das metilas e do anel aromático do naproxeno, não sendo possível a confirmação do composto 8 somente por RMN ^1H .

RMN ^{13}C (400MHz; DMSO-d₆): δ 173,03 (C9''); 157,21 (C3'); 135,9 (C6); 135,26 (C8''); 133,37 (C1); 129,48 (C8); 129,21 (C3); 128,41 (C2'); 126,88 (C5/C7); 126,36 (C4''); 125,64 (C4); 123,7 (C2/C10); 118,74 (C6''); 105,76 (C9); 42,95 (C1'''); 18,73 (C1') ppm.



Espectro 19 - RMN de ^{13}C do *N*-(1,3-dioxo-1,3-diidro-2*H*-isoindol-2-il)-2-(6-metoxi-2-naftil) propanamida (composto 8) (anti-inflamatório híbrido de naproxeno) em DMSO-d₆ obtido em espectrômetro Bruker, modelo DRX-400.

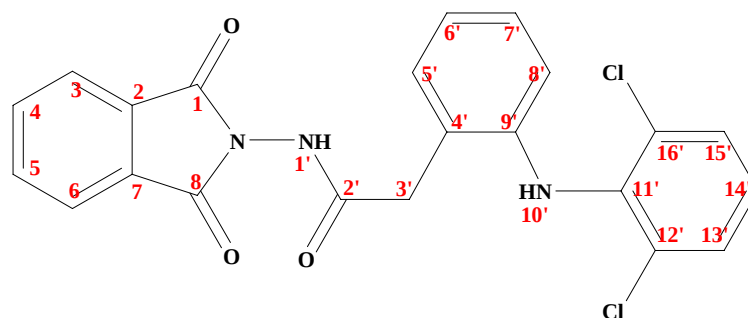


Espectro 20 - RMN de ^{13}C do *N*-(1,3-dioxo-1,3-diidro-2*H*-isoindol-2-il)-2-(6-metoxi-2-naftil) propanamida (composto 8) (anti-inflamatório híbrido de naproxeno) em DMSO- d_6 obtido em espectrômetro Bruker, modelo DRX-400 – ampliação entre 105-140 ppm.

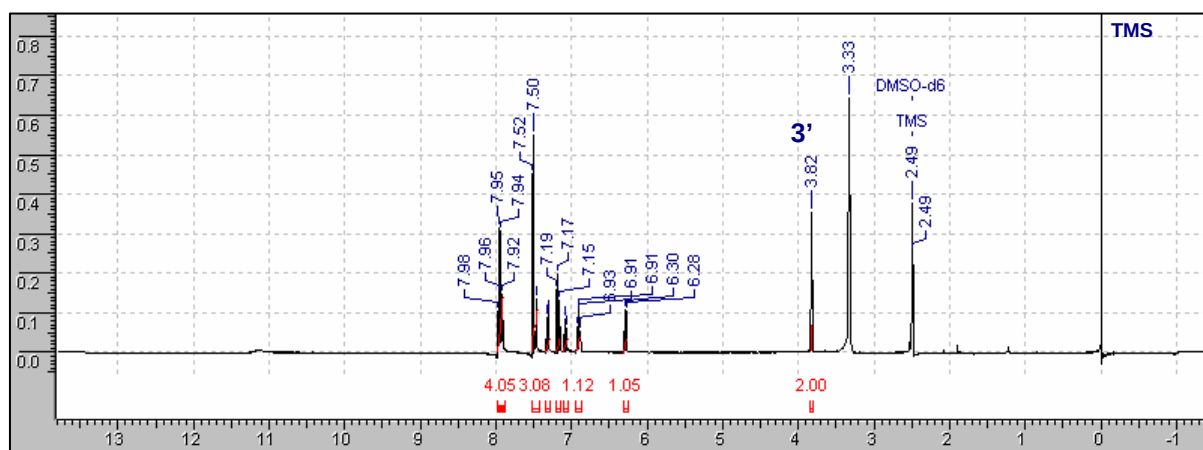
Os espectros 19 e 20 do RMN de ^{13}C do anti-inflamatório híbrido de naproxeno confirma a estrutura deste híbrido pelos sinais observados em 173,03 ppm característico de carbonila de imida, o que indica o grupo ftalimida, sinal em 157,21 ppm de carbonila de amida (CONH), em 18,73 ppm sinal que sugere o grupo CH_3 ($\text{C1}'$) ligado ao CH ($\text{C2}'$) com sinal em 128,41 ppm, indicando que a reação de condensação da hidrazida de naproxeno com o anidrido ftálico resultou na formação do composto planejado.

PREPARAÇÃO DO ANTI-INFLAMATÓRIO HÍBRIDO DE DICLOFENACO (12)

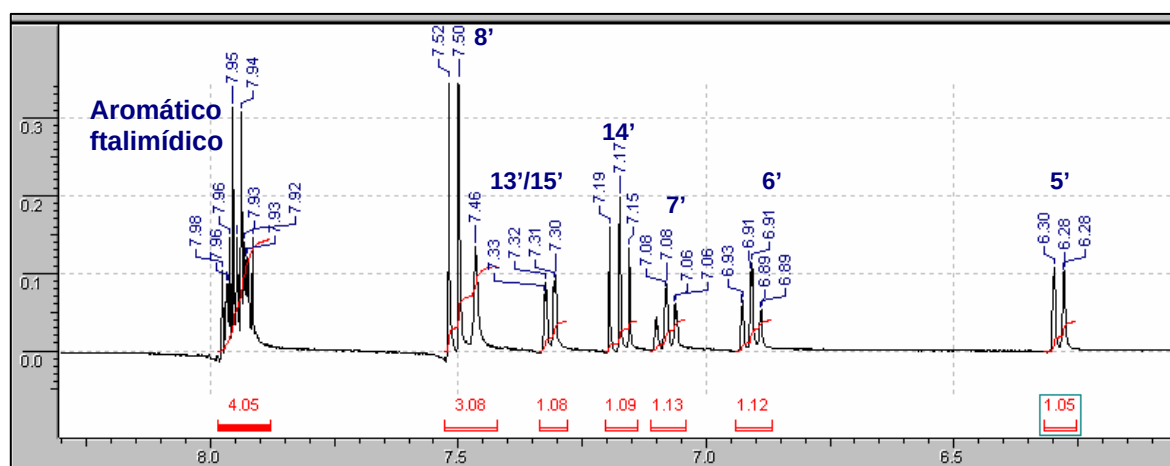
2-{2-[(2,6-diclorofenil)amino]fenil}-N-(1,3-dioxo-1,3-diidro-2H-isoindol-2-il)acetamida



RMN ^1H (400MHz; DMSO- d_6): δ 7,50 (H8'; *d*; 1H); 7,31 (H13' e H15'; *d*; 1H); 7,17 (H14'; *t*; 1H); 7,08 (H7'; *t*; 1H); 6,91 (H6'; *t*; 1H); 6,28 (H5'; *d*; 1H); 3,82 (H3'; *s*; 2H) ppm.



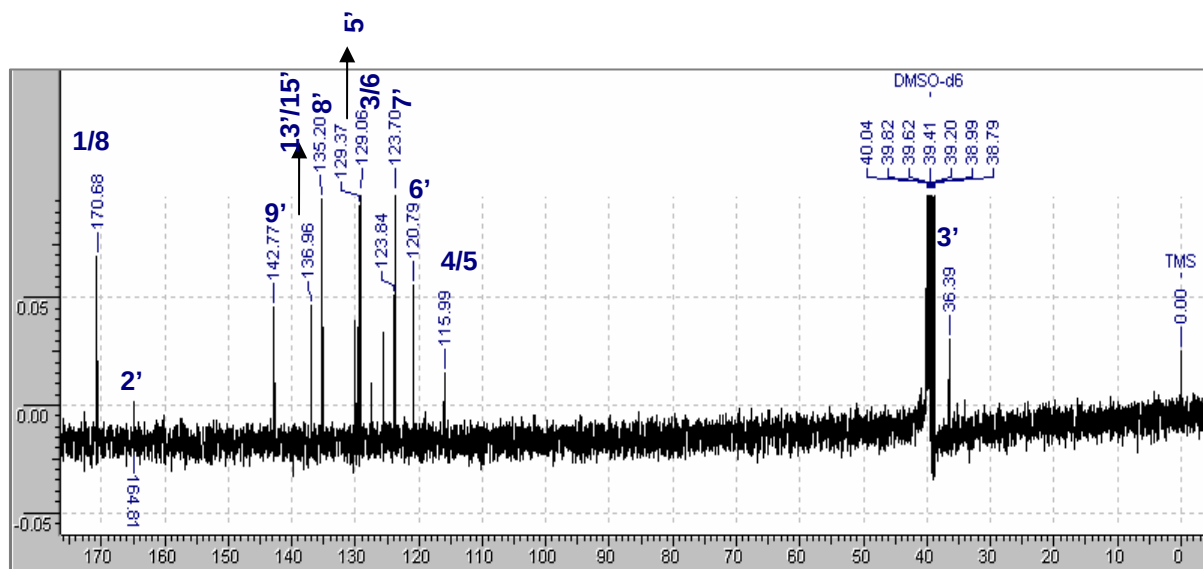
Espectro 21 - RMN de ^1H do 2-{2-[(2,6-diclorofenil)amino]fenil}-N-(1,3-dioxo-1,3-diidro-2H-isoindol-2-il) acetamida (composto 12) (anti-inflamatório híbrido de diclofenaco) em DMSO- d_6 obtido em espectrômetro Bruker, modelo DRX-400.



Espectro 22 - RMN de ^1H do 2-{2-[(2,6-diclorofenil)amino]fenil}-N-(1,3-dioxo-1,3-diidro-2*H*-isoindol-2-il) acetamida (composto 12) (anti-inflamatório híbrido de diclofenaco) em DMSO-d_6 obtido em espectrômetro Bruker, modelo DRX-400 – ampliado na região aromática.

Os espectros 21 e 22 de RMN ^1H do anti-inflamatório híbrido de diclofenaco foi possível verificar os sinais dos hidrogênios H13'e H15' em 7,31 ppm e H14' em 7,17 ppm indicando a presença do anel aromático com os heteroátomos Cl e o sinal de um singlete em 3,82 ppm do H3' que faz ligação com o anel benzênico dos sinais dos H (5', 6', 7' e 8') indicando que se tem a molécula do diclofenaco, mas não confirma a presença da ftalimida, sendo preciso analisar o espectro de RMN ^{13}C para confirmar a estrutura deste híbrido.

RMN ^{13}C (400MHz; DMSO- d_6): δ 170,68 (C1 e C8); 164,81 (C2'); 142,77 (C9'); 136,96 (C13'/C14'); 135,20 (C8'); 129,37 (C5'); 129,06 (C3' e C6); 123,70 (C7'); 120,79 (C6'); 115,99 (C4/C5); 36,39 (C3') ppm.

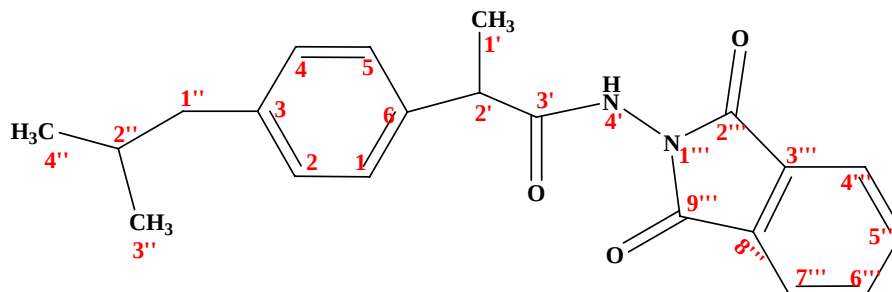


Espectro 23 - RMN de ^{13}C do 2-{2-[(2,6-diclorofenil)amino]fenil}-N-(1,3-dioxo-1,3-diidro-2H-isoindol-2-il) acetamida (composto 12) (anti-inflamatório híbrido de diclofenaco) em DMSO- d_6 obtido em espectrômetro Bruker, modelo DRX-400.

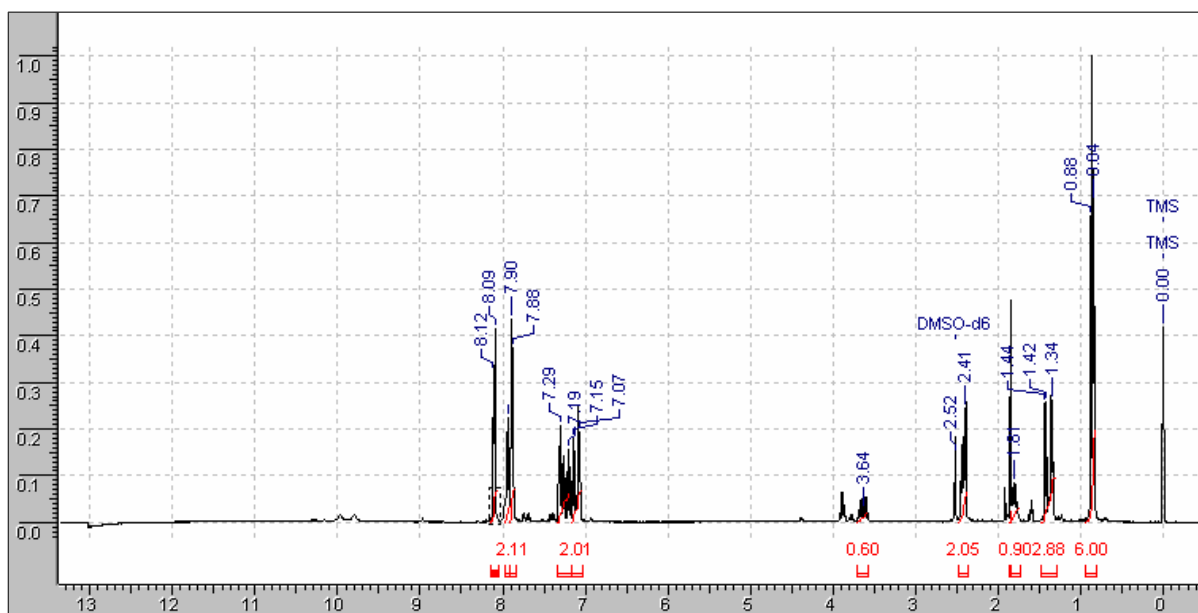
No espectro 23 do RMN de ^{13}C observa-se nos C1 e C8 o sinal em 170,68 ppm característico de carbonila de imida, confirmando a presença da ftalimida e o sinal do C2' em 164,81 ppm confirma a presença da carbonila de amida, indicando a ligação da ftalimida com este grupamento químico. Os carbonos 3' (36,39 ppm), os carbonos do anel aromático ligado a molécula de NH e esta ao anel aromático dos C13'/15' (136,96 ppm), sugere a formação do composto 12.

PREPARAÇÃO DO ANTI-INFLAMATÓRIO HÍBRIDO DO IBUPROFENO (16)

N-(1,3-dioxo-1,3-diidro-2*H*-isoindol-2-il)-2-(4-isobutilfenil) propanamida



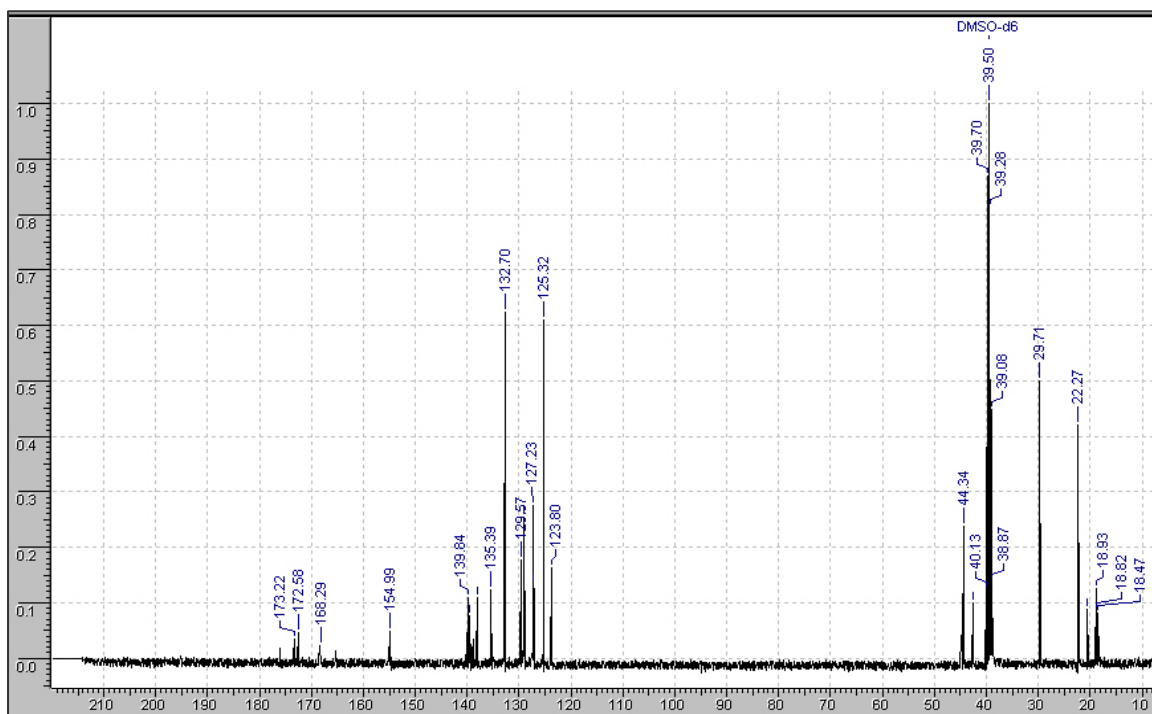
RMN ^1H (400MHz; DMSO- d_6): δ 0,86 (H4'' e H3''; *d*; 6H; *J* = 5,94 Hz); 1,42 (H1'; *d*; 3H; *J* = 7,00 Hz); 1,75-1,83 (H2''; *m*; 1H); 2,41 (H1''; *d*; 2H; *J* = 7,00 Hz); 3,61 (H2'; *q*; 1H; *J* = 14,91 Hz); 7,09 (H4; *d*; 2H; *J* = 7,85 Hz); 7,19 (H5; *d*; 2H; *J* = 8,02 Hz); 7,89 (H5''' e H6'''; *dd*; 2H; *J* = 9,20 Hz); 8,11 (H4''' e H7'''; *d*; 2H; *J* = 9,22 Hz) ppm.



Espectro 24 - RMN de ^1H do *N*-(1,3-dioxo-1,3-diidro-2*H*-isoindol-2-il)-2-(4-isobutilfenil) propanamida (composto 16) (anti-inflamatório híbrido do ibuprofeno) em DMSO- d_6 obtido em espectrômetro Bruker, modelo DRX-400.

No espectro 24 de RMN ^1H do híbrido de ibuprofeno não se verifica o sinal em δ 4,2 ppm do hidrogênio N-H do NH_2 da hidrazida de ibuprofeno e aparece o sinal dos hidrogênios ftalimídicos em δ 7,89 ppm ($\text{H5}'''$ e $\text{H6}'''$) e δ 8,11 ppm ($\text{H4}'''$ e $\text{H7}'''$). Também se pode verificar os sinais em δ 1,42 ppm do hidrogênio $\text{H1}'$ da metila que na molécula de ibuprofeno encontra-se ligado ao mesmo carbono do $\text{H2}'$ deste composto. Os hidrogênios H4 e H5 com sinais em δ 7,09 e 7,19 ppm, respectivamente, indicam a presença do anel aromático, assim como os sinais de seis hidrogênios em δ 0,86 ppm das metilas ($\text{H4}''$ e $\text{H3}''$) presentes também na molécula de ibuprofeno.

RMN ^{13}C (400MHz; DMSO- d_6): δ 173,22 ($\text{C2}'''/\text{C9}'''$); 172,58 ($\text{C3}''$); 168,29 ($\text{C3}'''$); 154,99 (C6); 139,84 (C3); 135,39 ($\text{C4}'''$); 132,7 ($\text{C5}'''$); 129,57 ($\text{C5}/\text{C1}$); 127,23 (C4); 125,32 ($\text{C2}''$); 123,8 ($\text{C1}''$); 29,71 ($\text{C1}'$); 22,27 ($\text{C4}''$) ppm.

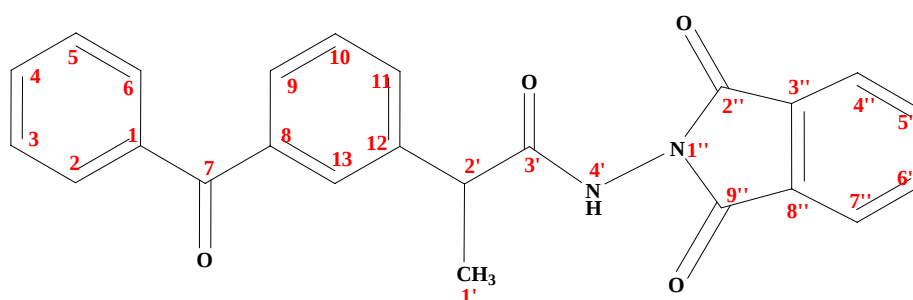


Espectro 25 - RMN de ^{13}C do *N*-(1,3-dioxo-1,3-diidro-2*H*-isoindol-2-il)-2-(4-isobutilfenil) propanamida (composto 12) (anti-inflamatório híbrido do ibuprofeno) em DMSO- d_6 obtido em espectrômetro Bruker, modelo DRX-400.

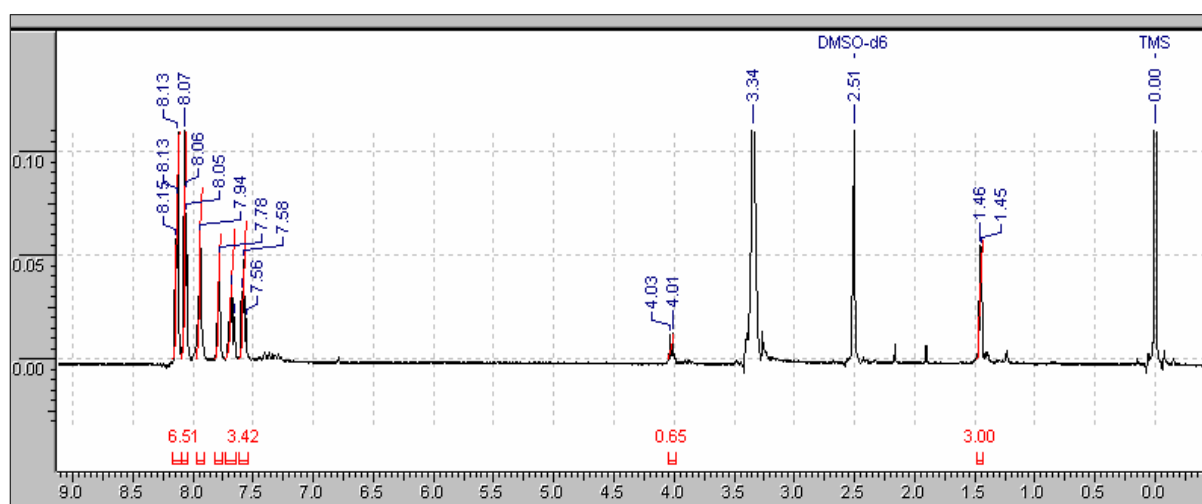
Através da análise do espectro 25 de RMN ^{13}C verificou-se que a obtenção do híbrido de ibuprofeno pode ter sido possível devido aos sinais em 173,22 ppm do grupamento de RNCO confirmando a molécula de ftalimida e 172,58 ppm característicos de CONH.

PREPARAÇÃO DO ANTI-INFLAMATÓRIO HÍBRIDO DE CETOPROFENO (20)

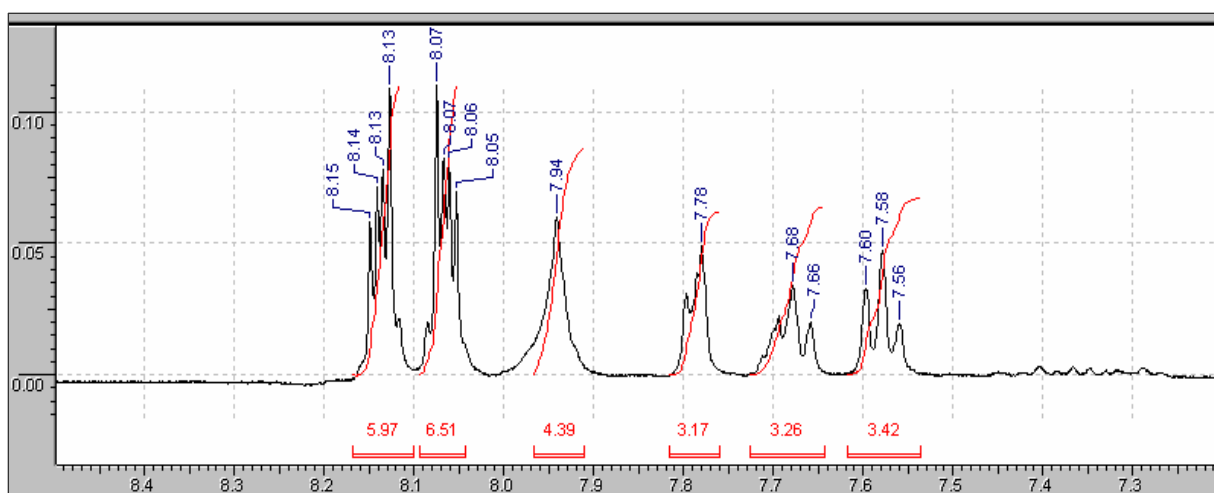
2-(3-benzoilfenil)-N-(1,3-dioxo-1,3-diidro-2H-isoindol-2-il) propanamida



RMN ^1H (400MHz; DMSO- d_6): δ 1,45 (H1'; d ; 3H; J = 7,00 Hz); 7,60 (H4'' e H7''; d ; 1H; J = 7,68 Hz); 7,68 (H5'' e H6''; t ; 1H; J = 8,54 Hz); 7,94 (H13; s ; 1H); 8,07 (H11; d ; 1H; J = 2,39 Hz); 8,14 (H9 e H6; d ; 1H; J = 2,56 Hz); 8,15 (H3 e H4; t ; 1H) ppm.



Espectro 26 - RMN de ^1H do 2-(3-benzoilfenil)-N-(1,3-dioxo-1,3-diidro-2H-isoindol-2-il) propanamida (composto 20) (anti-inflamatório híbrido de cetoprofeno) em DMSO- d_6 obtido em espectrômetro Bruker, modelo DRX-400.



Espectro 27 - RMN de ^1H do 2-(3-benzoilfenil)-*N*-(1,3-dioxo-1,3-diidro-2*H*-isoindol-2-il) propanamida (composto 16) (anti-inflamatório híbrido de cetoprofeno) em DMSO- d_6 obtido em espectrômetro Bruker, modelo DRX-400 – ampliação 7,2-8,5 ppm.

Nos espectros 26 e 27 (ampliado) de RMN ^1H pode-se observar os sinais em δ 7,60 ppm ($\text{H}_{4''}$ e $\text{H}_{7''}$) e δ 7,68 ppm ($\text{H}_{5''}$ e $\text{H}_{6''}$) dos hidrogênios da ftalimida e os sinais dos deslocamento de δ 1,45 ppm do $\text{H}_{1'}$ da metila e dos hidrogênios do anel aromático (H_3 , H_4 , H_6 , H_9 , H_{11} e H_{13}) da molécula do cetoprofeno, demonstrando que provavelmente obteve-se o seu híbrido.

5.2 EDEMA DE PATA DE RATO INDUZIDO POR CARRAGENINA

A atividade anti-inflamatória dos novos derivados ftalimídicos foi avaliada através do modelo de edema de pata induzido por carragenina. Neste modelo os derivados anti-inflamatórios de naproxeno (**8**), diclofenaco (**12**) e ibuprofeno (**16**) foram testados na concentração de 50 mg/Kg, 20 mg/Kg e 200 mg/Kg, respectivamente, apresentando atividade anti-inflamatória, por vezes, superior ao AINE padrão.

ANTI-INFLAMATÓRIO HÍBRIDO DE NAPROXENO (**8**)

N-(1,3-dioxo-1,3-diidro-2H-isoindol-2-il)-2-(6-metoxi-2-naftil) propanamida

Esta metodologia promove pico máximo de inflamação após a segunda hora da administração da carragenina. A figura 15 mostra os resultados de atividade do composto híbrido de naproxeno (**8**).

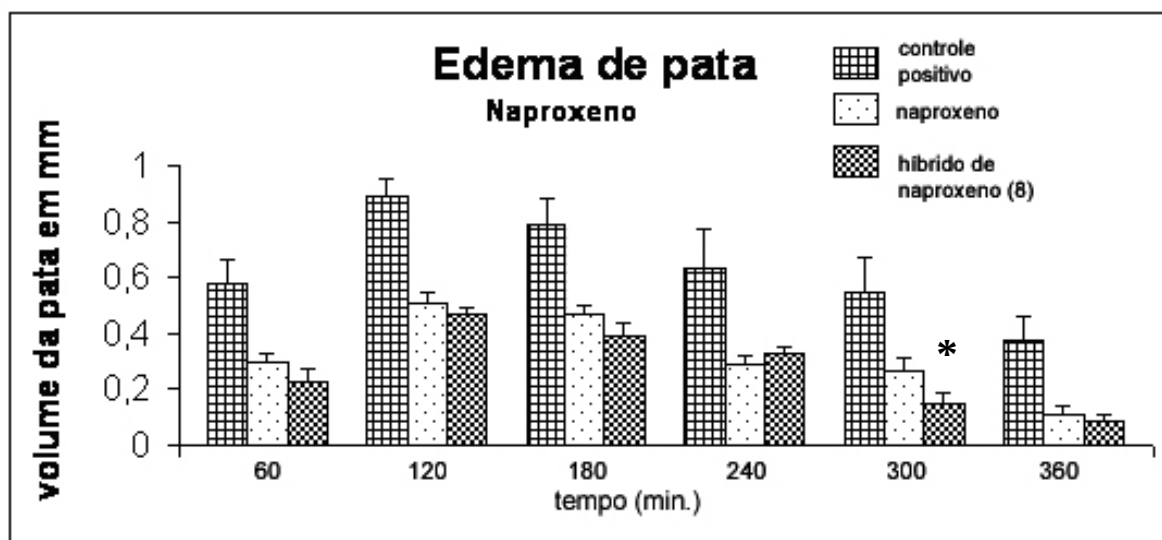


Figura 15 - Edema de pata do híbrido de naproxeno (**8**), por via oral. Controle positivo (carragenina, sem tratamento), AINE padrão = naproxeno e o AINE modificado = derivado híbrido. (* $p < 0,05$)

Observa-se através da figura 15, que a atividade anti-inflamatória do naproxeno modificado, não alterou esta atividade em geral, sendo somente significativo após 300 minutos.

ANTI-INFLAMATÓRIO HÍBRIDO DE DICLOFENACO (12)

2-{2-[(2,6-diclorofenil)amino]fenil}-N-(1,3-dioxo-1,3-diidro-2H-isoindol-2-il)acetamida

A figura 16 mostra os resultados de atividade do composto híbrido de diclofenaco (12).

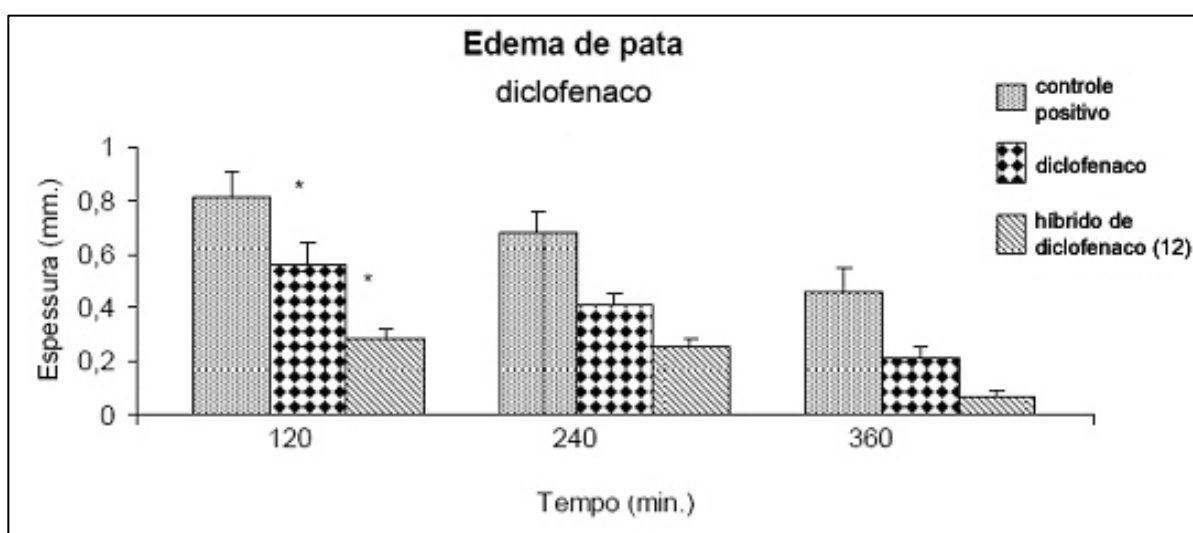


Figura 16 - Edema de pata do híbrido de diclofenaco (12), por via oral. Controle positivo (carragenina, sem tratamento), AINE padrão = diclofenaco e o AINE modificado = derivado híbrido. (* $p < 0,05$)

O híbrido de diclofenaco apresentou atividade anti-inflamatória significativa quando comparado ao controle positivo (carragenina) e ao AINE padrão diclofenaco. Durante o tempo de 120 minutos observa-se uma atividade anti-inflamatória significativamente superior à do diclofenaco, mostrando que o híbrido de diclofenaco pode ser utilizado na fase aguda da inflamação. Este mesmo perfil de atividade se mantém nos tempos 240 e 360 minutos.

ANTI-INFLAMATÓRIO HÍBRIDO DE IBUPROFENO (16)

N-(1,3-dioxo-1,3-diidro-2H-isoindol-2-il)-2-(4-isobutílfenil)propanamida

A figura 17 mostra os resultados de atividade do composto híbrido de ibuprofeno (16).

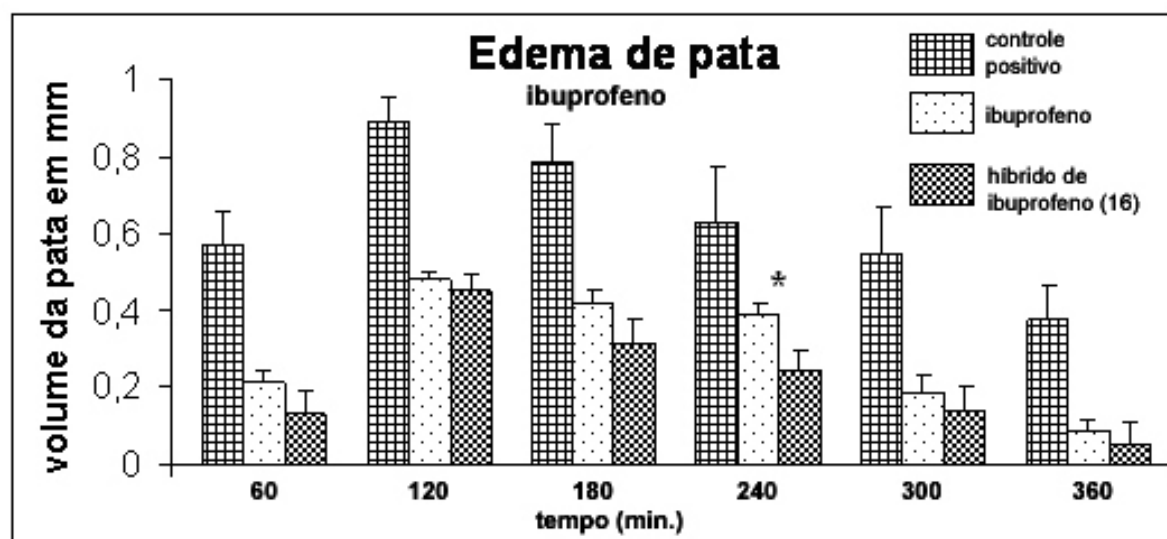


Figura 17 – Edema de pata do híbrido de ibuprofeno (16), por via oral. Controle positivo (carragenina, sem tratamento), AINE padrão = ibuprofeno e o AINE modificado = derivado híbrido. (* $p < 0,05$)

O híbrido de ibuprofeno (16) apresentou atividade anti-inflamatória significativa quando comparado ao controle positivo, e atividade superior quando comparado com o ibuprofeno na quarta hora.

A modificação molecular realizada para estes compostos envolve a introdução de um grupo ftalimídico, que apresenta possível atividade anti-inflamatória por mecanismo diferente ao promovido pela carragenina. A carragenina provoca a inflamação aguda, com a ativação da cascata do ácido araquidônico, sendo o naproxeno, diclofenaco e ibuprofeno, ativos, por inibição da COX-2 desta cascata, enquanto que os derivados ftalimídicos apresentam atividade anti-inflamatória por inibição de TNF- α (SAMPAIO *et al.*, 1991; LIMA *et al.*, 2001; BITTENCOURT *et al.*, 2004).

Durante o processo inflamatório crônico ocorre a participação de várias citocinas pró-inflamatórias, entre elas a interleucina IL-1 β , IL-6, IL-8 e TNF- α (KRAYCHETE *et al.*, 2006). O TNF- α apresenta maiores concentrações no curso da inflamação, ou seja, em tempos superiores aos 360 minutos utilizados no teste. Isto significa que não se está avaliando a contribuição da subunidade ftalimídica inibidora da síntese de TNF- α . Por isso, embora a atividade anti-inflamatória em primeiro momento não tenha sido muito superior à dos AINES correspondentes, estes experimentos foram de suma importância para demonstrar que a modificação molecular realizada não promove alteração e nem perda da atividade anti-inflamatória original.

Após a observação de que esta modificação molecular não altera a atividade anti-inflamatória, realizou-se a observação do potencial gastro-ulcerativo. Caso os resultados para este efeito adverso, presente nos AINEs estudados fosse incrementado, a continuidade dos ensaios com estas moléculas não seria justificável. Os compostos serão posteriormente, testados quanto à atividade anti-inflamatória crônica, que envolve a participação de TNF- α .

5.3 TESTE DE GASTROTOXICIDADE

Foi realizada a avaliação das lesões gástricas causadas pelos compostos derivados do ibuprofeno (**16**), naproxeno (**8**) e diclofenaco (**12**). Os resultados destes ensaios foram surpreendentes, não esperados, uma vez que não houve o aparecimento de ulcerações nos estômagos dos animais quando tratados com os derivados, ao contrário dos anti-inflamatórios padrões testados. Estes resultados, mostrados nas figuras 19, 21 e 23, sugerem que a modificação molecular promoveu a diminuição ou supressão do efeito gastroulcerogênico dos AINEs.

ANTI-INFLAMATÓRIO HÍBRIDO DE IBUPROFENO (16)

A figura dos tecidos de estômago dos animais tratados com ibuprofeno e híbrido de ibuprofeno estão apresentados nas figuras 18 e 19, respectivamente.

O grau de lesão do ibuprofeno foi classificado como 5, enquanto que com o híbrido, zero, sendo verificado que com o híbrido houve uma pequena alteração da coloração.

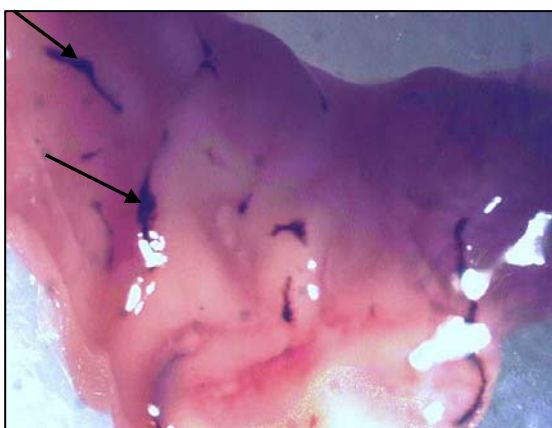


Figura 18 - Foto representativa do padrão ibuprofeno com lesão máxima em estômago de grau 5, aumento de 8 X. As setas em preto demonstram lesões com quadro hemorrágico.

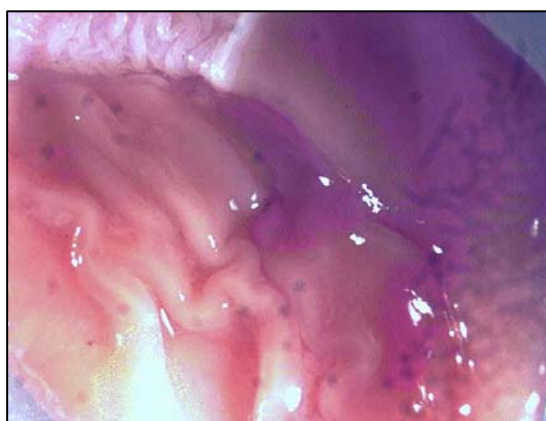


Figura 19 - Foto representativa do derivado híbrido de ibuprofeno sem lesão macroscópica aparente de grau 0, aumento de 8 X.

ANTI-INFLAMATÓRIO HÍBRIDO DE NAPROXENO (8)

Igualmente ao observado com o ibuprofeno, com o naproxeno, o mesmo comportamento em promover gastro-ulceração foi observado e classificado de acordo com as lesões, em grau 5 (Figura 20), e o derivado híbrido (figura 21), em grau zero.

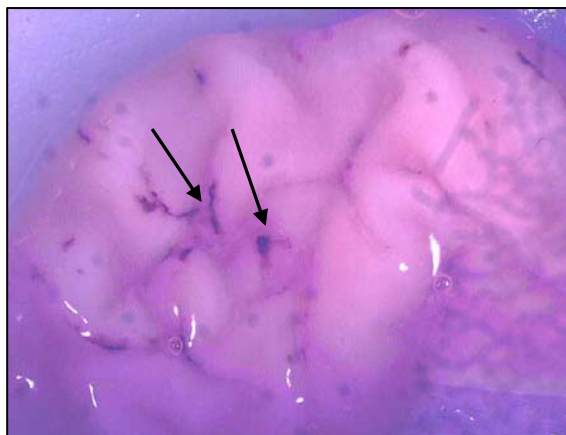


Figura 20 - Foto representativa do padrão naproxeno com lesão máxima de grau 5, aumento de 8 X. As setas em preto demonstram lesões com quadro hemorrágico.

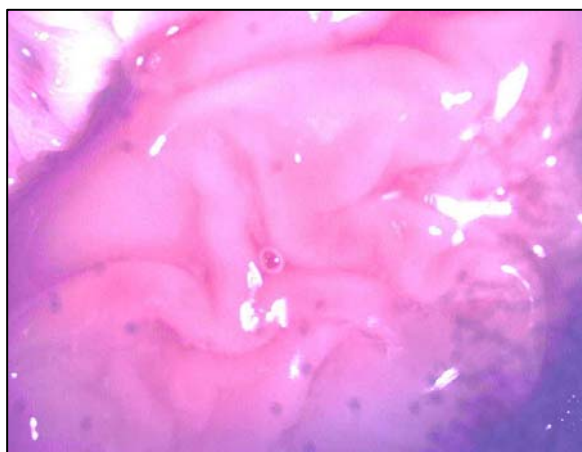


Figura 21 - Foto representativa do derivado de naproxeno sem lesão macroscópica aparente de grau 0, aumento de 8 X.

Não foi observado macro e microscopicamente alterações morfológicas ou de coloração do tecido estomacal que se mostrou semelhante ao estômago dos ratos onde se administrou salina.

ANTI-INFLAMATÓRIO HÍBRIDO DE DICLOFENACO (12)

Foram observados os seis estômagos dos animais tratados com o híbrido de diclofenaco derivado da ftalimida e comparado com o diclofenaco (anti-inflamatório de referência nesse teste). O diclofenaco apresentou grau de lesão classificado como 5 (Figura 22) e o anti-inflamatório híbrido de diclofenaco não apresentou lesão na mucosa gástrica (Figura 23), esse fato permitiu classificá-lo como grau zero. Observou-se ainda, uma pequena alteração da coloração da mucosa dos animais tratados com o anti-inflamatório híbrido de diclofenaco.

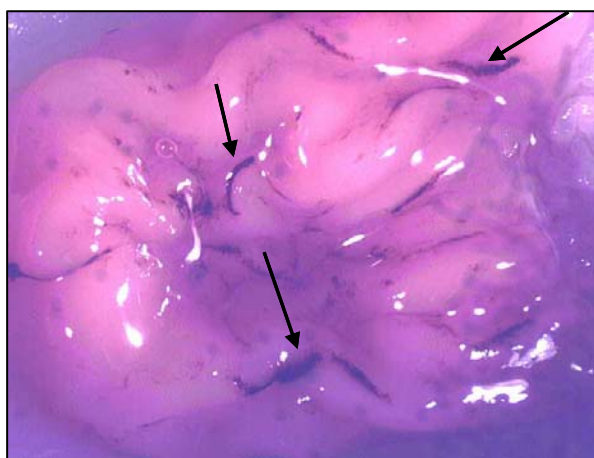


Figura 22 - Foto representativa do padrão diclofenaco com lesão máxima de grau 5, aumento de 8 X. As setas em preto demonstram lesões com quadro hemorrágico.



Figura 23 - Foto representativa do derivado de diclofenaco sem lesão macroscópica aparente de grau 0, aumento de 8 X.

Nas Figuras (19; 21 e 23) pode-se visualizar que os compostos derivados ftalimídicos não causaram ulceração gástrica em estômagos de ratos tratados nas doses indicadas, que foi a dose que apresentou atividade anti-inflamatória. As mucosas gástricas apresentaram um aspecto semelhante a salina.

Através da avaliação do potencial de gastroulceração dos novos compostos anti-inflamatórios é possível inferir que quando comparado aos AINEs disponíveis, esses compostos são macroscopicamente menos ulcerogênicos.

5.4 ENSAIO DE CONTORÇÕES ABDOMINAIS INDUZIDO POR ÁCIDO ACÉTICO

Esse teste foi realizado com os compostos anti-inflamatórios híbridos do ácido salicílico **(4)**, naproxeno **(8)**, cetoprofeno **(20)** e diclofenaco **(12)** e no controle foi usado goma arábica 5% que não apresenta atividade analgésica, sendo considerada com 0% de inibição.

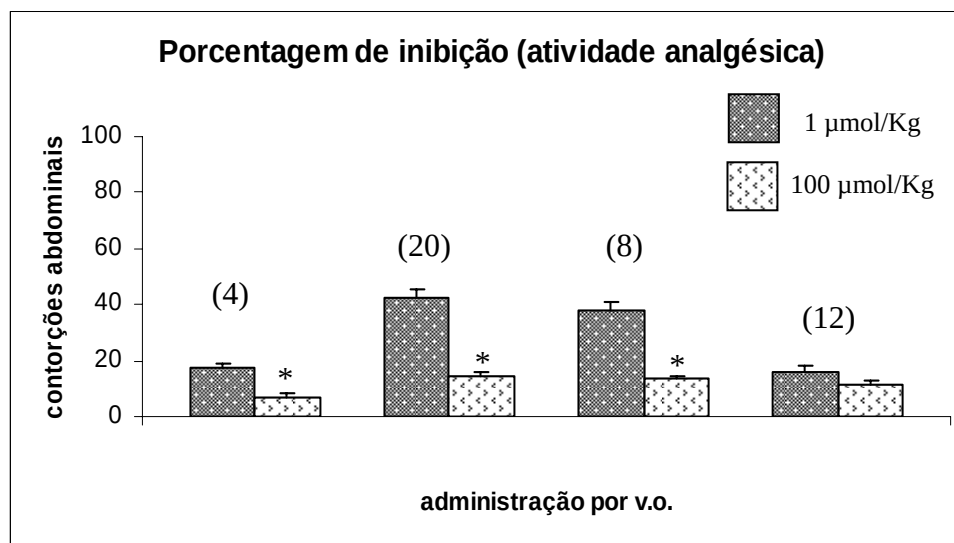


Figura 24 - Porcentagem de inibição das contorções abdominais induzidas por ácido acético 0,1 N na presença dos compostos híbridos nas concentrações de 1 µmol/Kg e 100 µmol/Kg. (goma arábica 5% -controle- não apresentou atividade analgésica). Padrão da média de 6 animais. (* $p < 0,05$ foi considerado significativo ao nível de 95% de confiança no teste de *t* Student).

Na Figura 24 pode-se observar que o composto híbrido derivado do ácido salicílico **(4)** apresentou na concentração de 100 µmol/Kg atividade inibitória da contorção abdominal em torno de 17,2%, demonstrando que o novo derivado apresentou baixa atividade analgésica. Já os anti-inflamatórios híbridos do naproxeno **(8)**, cetoprofeno **(20)** e diclofenaco **(12)** apresentaram na concentração de 1 µmol/Kg atividade inibitória da contorção abdominal em torno de 37,9%, 42,5% e 16,2%, respectivamente, sendo considerada adequada uma inibição mínima de 50% como padrão de resposta biológica.

6 CONCLUSÕES

Foram obtidos cinco novos compostos, derivados anti-inflamatórios, híbridos de AAS (4), naproxeno (8), diclofenaco (12), ibuprofeno (16) e cetoprofeno (20), com rendimentos variando entre 68% e 96%.

A atividade anti-inflamatória dos híbridos de naproxeno e ibuprofeno avaliada pelo modelo edema de pata induzido por carragenina não mostrou diferenças significativas quando comparado aos fármacos padrão. Enquanto que para o derivado híbrido de diclofenaco, em 120 minutos mostrou atividade anti-inflamatória superior ao seu AINE controle ($p < 0,05$).

O potencial de gastroulceração foi analisado para os compostos híbridos, tendo sido classificados como grau zero de lesão contra grau 5 (máximo), obtidos para os AINEs controle, sugerindo que a modificação realizada promoveu a diminuição da gastrotoxicidade dos AINEs.

Os compostos híbridos não promovem atividade na contorção animal, demonstrando que os mesmos não apresentam atividade analgésica.

Em geral, os compostos obtidos apresentam vantagens terapêuticas por atuarem em alvos distintos na mesma doença e se constituem uma nova perspectiva de abordagem terapêutica para o tratamento de doenças inflamatórias crônicas.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ACD/ChemSketch (v 4.0) – Advanced Chemistry Development inc. 1999.

AGGARWAL, B. B.; SHISHODIA, S.; ASHIKAWA, K.; BHARTI, A. C. The role of TNF and its family members in inflammation and cancer: lessons from gene deletion current drug targets. **Inflamm. & Allergy**, v.1, p. 327-341, 2002.

ALEXANDRE-MOREIRA, M. S.; TAKIYAC, C. M.; ARRUDAD, L. B.; PASCARELLIC, B.; GOMES, E. R. N.; NETO, H. C. C. F.; LIMA, L. M.; BARREIRO, E. J. LASSBio-468: a new achiral thalidomide analogue which modulates TNF- α and NO production and inhibits endotoxic shock and arthritis in an animal model. **Int. Immunopharmacol.**, v. 5, p.485–494, 2005.

ANDERSON, K. C. Lenalidomide and thalidomide: mechanisms of action-similarities and differences. **Semin. Hematol.**, v. 42, p. S3- S 8, 2005.

ARAGON-CHING, J. B.; LI, H.; GARDNER, E. R.; FIGG, W. D. Thalidomide analogues as anticancer drugs. **Recent Patents Anticancer Drug Discov.**, v. 2, p. 167–174, 2007.

ARAUJO, L. F.; SOEIRO, A. M.; FERNANDES, J. L.; SERRANO JR, C. V. Eventos cardiovasculares: um efeito de classe dos inibidores de COX-2. **Arq. Bras. Cardiol.**, v. 85, p. 222-229, 2005.

BABUSH, J. G.; TRIPP, M. L.; HOWELL, T.; BLAND, J. S.; DARLAN, G.; LERMAN, R.; LUKACZER, D. O. **Anti-inflammatory pharmaceutical compositions for reducing inflammation and the treatment or prevention of gastric toxicity.** WO 2005/039483 A2, 2005.

BALLINA, J.; CARMONA, L.; LAFFON, A. Impacto del consumo de AINE em la población general española. Resultados del estudio EPISER. **Rev. Esp. Reumatol.**, v. 7, p. 337-342, 2002.

BANDARAGE, U. K.; CHEN, L.; FANG, X.; GARVEY, D. S.; GLAVIN, A.; JANERO, D. R.; LETTS, L. G.; MERCER, G. J.; SAHA, J. K.; SCHROEDER, J. D.; SHUMWAY, M. J.; TAM, S. W. Nitrosothiol esters of diclofenac: synthesis and pharmacological characterization as gastrointestinal-sparing prodrugs. **J. Med. Chem.**, v.43, p. 4005-4016, 2000.

BARLOGIE, B.; DESIKAN, R.; EDDLEMON, P. *et al.* Extended survival in advanced and refractory multiple myeloma after single-agent thalidomide: identification of prognostic factors in a phase 2 study of 169 patients. **Blood.**, v. 98, p. 492-494, 2001.

BARNHILL, R. L.; DOLL, N. L.; MILLIKAN, L. E.; HASTINGS, R. C.. Studies on the antiinflammatory properties of thalidomide. **Ach. Dermatol. Res.**, v. 269, p. 275-280, 1984.

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

BARREIRO, E. J.; FRAGA, C. A. M.; MIRANDA, A. L. P.; RODRIGUES, C. R. A química medicinal de N-acilidrazonas: novos compostos-protótipos de fármacos analgésicos, antinflamatórios e anti-trombóticos. **Quim. Nova**, n. 1., p.129-148, 2002.

BITTENCOURT, R.; ALMEIDA, A. D.; BITTENCOURT, H. N. S. *et al.* Talidomida e mieloma múltiplo: verificação dos efeitos terapêuticos através de parâmetros clínico e laboratoriais. **Rev. Bras. Hematol. Hemoter.**, v. 26, p. 245-255, 2004.

BLASKO, I.; STAMPFER-KOUNTCHEV, M.; ROBATSCHER, P.; VEERHUIS, R.; EIKELENBOOM, P.; GRUBECK-LOEBENSTEIN, B. How chronic inflammation can affect the brain and support the development of Alzheimer's disease in old age: the role of microglia and astrocytes. **Aging Cell.**, p.169–176, 2004.

BORGES, L. G.; FRÖEHLICH, P. E.. Talidomida – novas perspectivas para utilização como anti-inflamatório, imunossupressor e antiangiogênico. **Rev. Assoc. Med. Bras.**, v. 49, p. 96-102, 2003.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Estado de Saúde. **Novas armas contra a artrite reumatóide.** 11/01/2006. Disponível em: <<http://www.saude.df.gov.br>>. Acesso em: 19 jun. 2008.

BRESALIER, R. S.; SANDLER, R. S.; QUAN, H. *et al.* Cardiovascular events associated with rofecoxib in a colorectal adenoma chemoprevention trial. **N. Engl. J. Med.**, v. 352, p. 1092-1102, 2005.

CARVALHO, W. A. Analgésicos, antipiréticos e anti-inflamatórios, In: SILVA, P. **Farmacologia**. 6. ed., Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002, p. 431-455.

CARVALHO, W. A.; CARVALHO, R. D. S.; RIOS-SANTOS, F. Analgésicos inibidores específicos da ciclooxigenase-2: avanços terapêuticos. **Rev. Bras. Anesthesiol.**, v. 54, p. 448-464, 2004.

CHANDRASEKHARAN, N. V.; DAI, H.; ROOS, K. L. *et al.* COX-3, a cyclooxygenase-1 variant inhibited by acetaminophen and other

analgesic/antipyretic drugs: cloning, structure and expression. **Proc. Natl. Acad. Sci.**, v. 99, p. 13926-13931, 2002.

CHEM DRAW ULTRA 8.0. Cambridge Soft Corporation. 2003.

CHENG et al. Role of prostacyclin in the cardiovascular response to thromboxane A₂. **Science**, v. 296, p. 539-541, 2002.

CHUNG, M. C., FERREIRA, E.I. O processo de latenciação no planejamento de fármacos. **Quim. Nova**, v.22, n.1, p.75-84 , 1999.

CLARK, I.A. How TNF was recognized as a key mechanism of disease. **Cytokine & Growth Factor Rev.**, v.18, p. 335–343, 2007.

CLINARD, F.; SGRO, C.; BARDOU, M.; HILLON, P.; DUMAS,, M.; KREFT-JAIS, C. et. al. Association between concomitant use of several systemic NSAIDs and as excess risk of adverse drug reaction. A case/non-case study from the French pharmacovigilance system database. **Eur. J. Clin. Pharmacol.**, v. 60, p. 279-283, 2004.

COMBS, C, K.; JOHNSON, D. E.; KARLO, J. C.; CANNADY, S. B.; LANDRETH, G. E.. Inflammatory mechanisms in alzheimer's disease: inhibition of β -amyloid-stimulated proinflammatory responses and neurotoxicity by PPAR γ agonists. **J. Neurosci.**, v. 20, p. 558–567, 2000.

D'AMATO, R. J.; LOUGNAN, M. S.; FLYNN, E.; FOLKMAN, J.. Thalidomide is inhibitor of angiogenesis. **Proc. Natl. Acad. Sci.**, v. 91, p. 4.082-4.085, 1994.

DERPOORTEN, K. V.; BALZARINI, J.; DE CLERCQ, E.; POUPAERT, J. H. Anti-HIV activity of N-1 adamantyl- 4 aminophthalimide. **Biomed. Pharmacother.**,v. 51, p. 464-468, 1997.

DIMASI, J.A.; HANSEN, R.W.; GRABOWSKI, H.G. The price of innovation: new estimates of drug development costs. **J. Health Econ.**, v. 22, p.151–185, 2003.

DRAZEN, J. M. COX-2 inhibitors: a lesson in unexpected problems. **N. Engl. J. Med.**, v. 352, p. 1131-1132, 2005.

DUBOIS, R. N. et al. Cyclooxygenase in biology and disease. **FASEB J.**, v. 12, p. 1063-1073, 1998.

DUBOIS, R. W.; MELMED, G. Y.; HENNING, J. M.; LAINES, L. Guidelines for the appropriate use of non-steroidal anti-inflammatory drugs, cyclo-oxygenase-2-specific inhibitors and proton pump inhibitors in patients requiring chronic anti-inflammatory therapy. **Aliment. Pharmacol. Ther.**, v. 19, p. 197-208, 2004.

DYER, J. R. **Aplicações da espectroscopia de absorção aos compostos orgânicos**. São Paulo: Edgard Blucher, 1969. p. 24-138.

ERIKSSON, T.; BJORKMAN, S.; ROTH, B.; FYGE, A.; HOGLUND, P.. Stereospecific determination, chiral inversion in vitro pharmacokinetics in humans of the enantiomers of thalidomide. **Chirality**, v. 7, p. 44-52, 1995.

ESPINOZA-FONSECA, L.M. The benefits of multi-target approach in drug design and discovery. **Bioorg. Med. Chem.**, v.14, p.896-897, 2006.

FERREIRA, E.I.; KOROLKOVAS, A. Pró-fármacos e latenciação. **Quim. Nova**, v. 3, p.113-128, 1980.

FERREIRA, S. H.; MONCADA, S.; VANE, J. R. Prostaglandins and the mechanism of analgesia produced by aspirin-like drugs. **Br. J. Pharmacol.**, v. 49, p. 86-97, 1973.

FITZGERALD, G. A.; PATRONO, C. The coxibs, selective inhibitors of cyclooxygenase-2. **N. Engl. J. Med.**, v. 345, p. 433-442, 2001.

FRANKS, M. E.; MACPHERSON, G. R., FIGG, W. D.. Thalidomide. **Lancet**, v. 363, p. 1802-11, 2004.

HAHN, S. R. **Avaliação farmacoepidemiológica de anti-inflamatórios não-esteróides (AINE) em hospital geral do interior do RS**. 2006. 97f. Dissertação (Mestrado. Ciências Médicas). Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2006.

HAREL, Z. Cyclooxygenase-2 specific inhibitors in the treatment of dysmenorrhea. **J. Pediatr. Adolesc. Gynecol.**, v. 17, p. 75-79, 2004.

HAWKINS, C.; HANKS, G. W. The gastroduodenal toxicity of nonsteroidal anti-inflammatory drugs. A review of the literature. **J. Pain Symptom Manage.**, v.20, n.2, p. 140-151, 2000.

HELIN-SALMMIVAARA, A.; KLAUKKA, T.; HUUPPONEN, R. Heavy users of non-steroidal anti-inflammatory drugs: a nationwide prescription database study in Finland. **Eur. J. Clin. Pharmacol.**, v. 59, p. 477-482, 2003.

HINZ, B.; BRUNE, K. Cyclooxygenase-2 10 years later. **J. Pharmacol. Exp. Ther.**, v. 300, p. 367-375, 2002.

HOWARD, P.; DELAFONTAINE, P. Nonsteroidal anti-Inflammatory drugs and cardiovascular risk. **J. Am. Coll. Cardiol.**, v. 43, n. 4, 2004.

JANEWAY, C. A.; TRAVERS, P.; WALPORT, M. et. al. **Immunobiology. The immune system in health and disease**. 5th Ed., New York: Garland Publishing; Churchill Livingstone, 2001.

JOUZEAU, Y.; TERLAIN, B.; ABID, A. et. al. Cyclooxygenase isoenzymes. How recent findings affect thinking about non-steroidal anti-inflammatory drugs. **Drugs**, v. 53, p. 563-582, 1997.

KAWANISHI, Y.; ISHIHARA, S.; TSUSHIM, T.; SENO, K.; MIYAGOSHI, M.; HAGISHITA, S.; ISHIKAWA, M.; SHIMA, N.; SHIMAMURA, M.; ISHIHARA, Y. Synthesis and pharmacological evaluation of highly potent dual histamine H₂ and gastrin receptor antagonists. **Bioorg. Med. Chem. Lett.**, v. 6, p. 1427-1430, 1996.

KLOTZ, U.; TEML, A.; SCHWAB, M. Clinical pharmacokinetics and use of infliximab. **Clin. Pharmacokinet.**, v. 46, p. 645-660, 2007.

KNAUS, E. E.; VELAZQUEZ, C. **Novel NSAIDs possessing a nitric oxide donor diazen-1-ium-1,2-diolate moiety and their use as antiinflammatory agents for the treatment of cardiovascular and gastrointestinal diseases**. PCT Int. Appl. (2006), 53 pp. WO 2006125016 A1 20061123 CAN 146:7607 AN 2006:1226302.

KNELLER, A.; RAANANI, P.; HARDAN, I., *et al.* Therapy with thalidomide in refractory multiple myeloma patients—the revival of an old drug. **Br. J. Haematol.**, v. 108, p. 391-393, 2000.

KOCH, A. A.; ZACHAROWSKI, K.; BOEHM, O.; STEVENS, M.; LIPFERT, P.; GIESEN, H. J. V.; WOLF, A.; FREYNHAGEN, R. Nitric oxide and pro-inflammatory cytokines correlate with pain intensity in chronic pain patients. **Inflamm. Res.**, v. 56, p. 32-37, 2007.

KODAMAA, S.; DAVIS, M.; FAUSTMAN, D. L.. The therapeutic potential of tumor necrosis factor for autoimmune disease: a mechanistically based hypothesis. **Cell. Mol. Life Sci.**, v. 62, p. 1850–1862, 2005.

KRAYCHETE, D. C; CALASANS, M. T. A.; VALENTE, C. M. L. Pro-inflammatory Cytokines and Pain. **Rev. Bras. Reumatol.**, v. 46, n.3, p. 199-206, 2006.

KUMARI, B et al. Protective effect of non-selective and selective COX-2 inhibitors in acute immobilization stress-induced behavioral and biochemical alterations. **Pharmacol. Rep.**, v. 59, p. 699-707, 2007.

KUMMER, C. L.; COELHO, T. C. R. B. Anti-inflamatórios não-esteróides inibidores da ciclooxigenase-2 (COX-2): Aspectos atuais. **Rev. Bras. Anesthesiol.**, v. 52, p. 498-512, 2002.

- LIM, S. H.; MCWHANNELL, A.; VORA, A. J.; BOUGHTON, B. J.. Successful treatment with thalidomide of acute graft-versus-host disease after bone marrow transplantation. **Lancet**, v. 331, p. 117, 1988.
- LIMA, L. M.; BARREIRO, E. J. Bioisosterism, an Useful stratey for molecular modification and Drug Design. **Curr. Med. Chem.**, v. 11, p. 1345-1359, 2004.
- LIMA, L. M.; CASTRO, P.; MACHADO, A. L.; FRAGA, C. A. M.; LUGNIER, C.; MORAES, V. L. G.; BARREIRO, E. J. Synthesis and anti-inflammatory activity of phthalimide derivatives, designed as new thalidomide analogues. **Bioorg. Med. Chem.**, v. 10, p. 3067-3073, 2002.
- LIMA, L. M.; FRAGA, C. M.; BARREIRO, E. J. O renascimento de um fármaco: talidomida. **Quim. Nova**, v. 24, p. 683-688, 2001.
- LISTER, F. M.; SHARKEY, J.; SAWATZKY, D. A.; HODGKISS, J. P.; DAVIDSON, D. J.; ROSSI, A. G.; FINLAYSON, K. The role of the purinergic P2X₇ receptor in inflammation. **J. Inflamm.**, v. 4, p. 1-14, 2007.
- LOLLI, M. L.; CENA, C.; MEDANA, C.; LAZZARATO, L.; MORINI, G.; CORUZZI, G.; MANARINI, S.; FRUTTERO, R.; GASCO, A. A new class of ibuprofen derivatives with reduced gastrototoxicity. **J. Med. Chem.**, v. 44, p. 3463-3468, 2001.
- MAKONKAWKEYOON, S.; LIMSON-POBRE, R. N.; MOREIRA, A. L.; SCHAUF, V.; KAPLAN, G.. Thalidomide inhibits the replication of human immunodeficiency virus type 1. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA**, v. 90, p. 5974-5978, 1993.
- MARRIOT, J. B.; MULLER, G.; DALGLEISH, A. G. Thalidomide as an emerging immunotherapeutic agent. **Immunol. Today**, v. 20, p. 538-540, 1999.
- MITCHELL, J. A.; AKARASEREENONT, P.; THIEMERMANN, C.; FLOWER, R. J.; VANE, J. R. Selectivity of nonsteroidal anti-inflammatory drugs as inhibitors of constitutive and inducible cyclooxygenase. **Proc. Natl. Acad. Sci.**, v. 90, p. 11693-11697, 1994.
- MONCADA, S. Prostaglandin endoperoxides and thromboxanes: formation and effects. **Arch. Pharmacol.**, v. 297, p. S81-S84, 1977.
- MONTERO, A.; GOYA, P.; JAGEROVIC, N.; LUIS, F.; CALLADO, L.; MEANA, J.; GIRON, R.; GOICOECHEA, C.; MARTIN, I. Guanidinium and aminoimidazolium derivatives of N-(4-piperidy)propanamides as potencial ligands for opioid and I₂-imidazoline receptors: synthesis and pharmacological screening. **Bioorg. Med. Chem.**, v. 10, p. 1009-1018, 2002.

- MOREIRA, A. L.; SAMPAIO, E. P.; ZMUIDZINAS, A.; FRINDT, P.; SMITH, K. A.; KAPLAN, G. Thalidomide exerts its inhibitory action on tumor necrosis factor α by enhancing mRNA degradation. **J. Exp. Med.**, v. 177, p. 1675-1680, 1993.
- MORISSET, S.; PATRY, C.; LORA, M. et. al. Regulation of cyclooxygenase-2 expression in bovine chondrocytes in culture by interleukin 1α , tumor necrosis factor α , glucocorticoids and 17β -estradiol. **J. Rheumatol.**, v. 25, p. 1146-1153, 1998.
- MORPHY, R.; RANKOVIC, Z. Designed multiple ligands. An emerging drug discovery paradigm. **J. Med. Chem.**, v.48, p. 6523-6543, 2005.
- MORROW, J. D.; ROBERTS, L. J. Lipid – Derived autacoids. Eicosanoids and platelet-activating factor, in: HARDMAN, J. G.; LIMBIRD, L. E.; GILMAN, A. G. – **Goodman & Gilman's the pharmacological basis of therapeutics**. New York, McGraw-Hill, p. 669-685, 2001.
- NEUBERT, R.; HINZ, N.; THIEL, R.; NEUBERT, D. Down regulation of adhesion receptors on cells of primate embryos as a probable mechanism of teratogenic action of thalidomide. **Life Sci.**, v. 58, p. 337-348, 1996.
- OLIVEIRA, M. A.; BERMUDEZ, J. A. Z.; SOUZA, A. C. M. Talidomida no Brasil: vigilância com responsabilidade compartilhada? **Cad. Saúde Públ.**, v. 15, p. 99-112, 1999.
- ONG, C.K.S.; LIRK, P.; TAN, C.H.; SEYMOUR, R.A. An evidence-based update on nonsteroidal anti-inflammatory drugs. **Clin. Med. & Res.**, v. 5, p. 19-34, 2007.
- PAVIA, D. L.; LAMPMAN, G. M.; KRITZ, G. S. **Introduction to spectroscopy: a guide for students of Organic chemistry**. 2nd ed. Fort Worth: Saunders Golden Sunburst, 1996. 511 p.
- PENNA, G. O.; MARTELLI, C. M. T.; STEFANI, M. M. A.; MACEDO, V. O.; MAROJA, M. F.; CHAUL, A.. Talidomida no tratamento do eritema nodoso hansênico: revisão sistemática dos ensaios clínicos e perspectivas de novas investigações. **An. Bras. Dermatol.**, v. 80, p. 511-522, 2005.
- POLI, G.; KINTER, A.; JUSTEMENT, J. S.. Tumor necrosis factor alpha functions in an autocrine manner in the induction of human immunodeficiency virus expression. **Proc. Natl. Acad. Sci.**, v. 87, p. 782-785, 1990.
- POPA, C.; NETEA, M. G.; VAN RIEL, P. L. C. M.; VAN DER MEER, J. W. M.; STALENHOF, A. F. H.. The role of TNF- α in chronic inflammatory conditions, intermediary metabolism, and cardiovascular risk. **J. Lipid Res.**, v.48: p. 751–762, 2007.

PRETSCH, E.; BÜHLMANN, P.; AFFOLTER, C. A.; HERRERA, A.; MARTINEZ, R. **Determinación estructural de compuestos orgánicos**. Barcelona: Springer-Verlag Ibérica, 2001. 482 p.

RANATUNGE, R. R.; AUGUSTYNIK, M. E.; DHAWAN, V.; ELLIS, J. L.; GARVEY, D. S.; JANERO, D. R.; LETTS, L. G.; RICHARDSON, S. K.; SHUMWAY, M. J.; TROCHA, A. M.; YOUNG, D. V.; ZEMTSEVA, I. S. Synthesis and anti-inflammatory activity of a series of N-substituted naproxen glycolamides: Nitric oxide-donor naproxen prodrugs. **Bioor. Med. Chem.**, v. 14, p. 2589-2599, 2006.

RANG, H. P.; DALE, M. M.; RITTER, J. M. **Farmacologia**. 4 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p. 189, 195-203, 2001.

RANKIN, E. C., CHOY, E. H., KASSIMOS, D., KINGSLEY, G. H., SOPWITH, A. M., INSENBURG, D. A., PANAYI, G. S.. The therapeutic effects of an engineered human anti-tumor necrosis factor alpha antibody_CDP571. in rheumatoid arthritis. **Br. J. Rheumatol.**, v. 34, 1995, p. 334–342.

RAZ, A.; WYCHE, A.; NEEDLEMAN, P. Temporal and pharmacological division of fibroblast cyclooxygenase expression into transcriptional and translational phases. **Proc. Natl. Acad. Sci.** v. 86, p. 1657-1661, 1989.

REIS, F. J.; ROCHA, N. P. Efeito analgésico de longa duração da dipirona sobre a hiperalgesia persistente induzida pela constrição do nervo ciático em ratos: participação do óxido nítrico. **Braz. J. Pharm. Sci.**, v. 42, p. 513-522, 2006.

RIBEIRO, R. A.; VALE, M. L.; FERREIRA, S. H.; CUNHA, F. Q. Analgesic effect of thalidomide on inflammatory pain. **Eur. J. Pharmacol.**, v. 391, p.97-103, 2000.

ROMSING, J.; MOINICHE, S. A systematic NSAIDs, or different COX-2 inhibitors for post-operative pain. **Acta Anaesthesiol. Scand.**, v. 48, p. 525-546, 2004.

SAMPAIO, E. P.; HERNANDEZ, M. O.; CARVALHO, D. S.; SARNO, E. N. Management of erythema nodosum leprosum by thalidomide: thalidomide analogues inhibit M. leprae induced TNF alpha production in vitro. **Biomed. Pharmacother.**, v. 56, p. 13-9, 2002.

SAMPAIO, E. P.; SARNO, E. N.; GALILLY, R.; COHN, Z. A.; KAPLAN, G. Thalidomide selectively inhibits tumor necrosis factor alpha production by stimulated human monocytes. **J. Exp. Med.**, v.173, p. 699-703, 1991.

SANTOS, J. L. **Planejamento, síntese e avaliação farmacológica de compostos híbridos potencialmente ativos para o tratamento dos sintomas da anemia falciforme.** 2007. 197f. Dissertação (Mestrado). Faculdade de Ciências Farmacêuticas. Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”. Araraquara, 2007.

SAPIRSTEIN, A.; SAITO, H.; TEXEL, S. J.; SAMAD, T. A.; O'LEARY, E.; BONVENTRE, J. V. Cytosolic phospholipase A2 alpha regulates induction of brain cyclooxygenase-2 in a mouse model of inflammation. **Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.**, v. 288, p.1774-82, 2005.

SCHENK, M.; BOUCHON, A.; SEIBOLD, F.; MUELLER, C. TREM-1–expressing intestinal macrophages crucially amplify chronic inflammation in experimental colitis and inflammatory bowel diseases. **J. Clin. Invest.**, v. 117, p. 3097–3106, 2007.

SILVA, A. T. A.; CHUNG, M. C.; CASTRO, L. F.; GÜIDO, R. V.; FERREIRA, E. I. Advances in prodrug design. **Mini Rev. Med. Chem.**, v. 10, p. 893-914, 2005.

SILVERSTAIN, R. M.; BASSLER, G. C.; MORRILL, T. C. **Identificação espectrométrica de compostos orgânicos.** 6. ed. Rio de Janeiro: LTC, 2000. 460p.

SINGHAL, S.; MEHTA, J.; DESIKAN, R. et al. Antitumor activity of thalidomide in refractory multiple myeloma. **N. Engl. J. Med.**, v. 341, p. 1565-1571, 1999.

SOLOMON, S. D.; McMURRAY, J. J.; PFEFFER, M. A.; FOWLER, R.; FINN, P. et. al. Cardiovascular risk associated with celecoxib in a clinical trial for colorectal adenoma prevention (APC) study investigators. **N. Engl. J. Med.**, v. 352, p. 1071-1080, 2005.

SOLOMONS, T. W. G.; FRYHLE, C. B. **Química orgânica 2.** 7. ed. Rio de Janeiro: LTC, 2002. p.100.

SOUZA, J. S.; FERRÃO, M. F. Aplicações da espectroscopia no infravermelho no controle de qualidade de medicamentos contendo diclofenaco de potássio. Parte I: Dosagem por regressão multivariada. **Braz. J. Pharma. Sci.**, v. 42, p. 437-445, 2006.

STEEN, K. S. S.; NURMOHAMED, M. T.; VISMAN, I.; HEIJERMAN, M.; BOERS, M.; DIJKMANS, B. A. C.; LEMS, W. F. Decreasing incidence of symptomatic gastrointestinal ulcers and ulcer complications in patients with rheumatoid arthritis. **Ann. Rheum. Dis.**, v. 67, p. 256–259, 2008.

TAYLOR, J.; YEDNOCK, T. A. **Administration of agents for the treatment of inflammation.** EP 1485127 (A2) 15 december 2004.

- TEO, S. K, STIRLING, D. I.; ZELDIS, J. B. Thalidomide as a novel therapeutic agent: new uses for an old product. **Drug Discov. Today**, v. 10, p. 107-114, 2005.
- TEO, S. K.. Properties of thalidomide and its analogues: Implications for anticancer therapy. **A. A. P. S. J.**, v. 7, p. E14-E19, 2005.
- TOPOL, E. J. Failing the public health – rofecoxib, Merk, and the FDA. **N. Engl. J. Med.**, v. 351, p. 1707-1709, 2004.
- VALESINI, G.; IANNUCELLI, C.; MAROCCHI, E.; PASCOLI, L.; SCALZI, V.; DI FRANCO, M. Biological and clinical effects of anti-TNF α treatment. **Autoimmun. Rev.**, v.7, p. 35–41, 2007.
- VANE, J. R. Inhibition of prostaglandin synthesis as a mechanism of action for aspirin-like drugs. **Nat. New Biol.**, v. 231, p. 232-235, 1971.
- VANE, J. R.; BAKHLE, Y. S.; BOTTING, R. M. Cyclooxygenases 1 and 2. **Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.**, v. 38, p. 97-120, 1998.
- VANE, J. R.; BOTTING, R. M. Mechanism of action of nonsteroidal anti-inflammatory drugs. **Am. J. Med.**, v. 104, p. 2S-8S, 1998.
- VANE, J. R.; BOTTING, R. M. New insights into the mode of action of anti-inflammatory drugs. **Inflamm. Res.**, p. 1-10, 1995.
- VASTO, S.; CANDORE, G.; DURO, G.; LIO, D.; GRIMALDI, M. P.; CARUSO, C. Alzheimer's disease and genetics of inflammation: a pharmacogenomic vision. **Pharmacogenomics**. v. 8, p. 1735-1745, 2007.
- VELAZQUÉZ, C.; PRAVEEN RAO, P. N.; KNAUS, E. E. Novel nonsteroidal antiinflammatory drugs possessing a nitric oxide donor diazen-1-ium-1,2-diolate moiety: design, synthesis, biological evaluation, and nitric oxide release studies. **J. Med. Chem.**, v. 48, p. 4061-4067, 2005.
- WALLACE, J. L.; KEENAN, C. M.; GRANGER, D. N. Gastric ulceration induced by nonsteroidal anti-inflammatory drugs is a neutrophil-dependent process. **Am. J. Physiol.**, v. 259, p. 462-467, 1990.
- WEBER, A.; CASINI, A.; HEINE, A.; KUHN, D.; SUPURAN, C. T.; SCOZZAFAVA, A.; KLEBE, G. Unexpected nanomolar inhibition of carbonic anhydrase by COX-2-selective celecoxib: New pharmacological opportunities due to related binding site recognition. **J. Med. Chem.**, v.46, p.550-557, 2004.
- WERMUTH, C. G. Selective optimization of side activities: another way for drug discovery. **J. Med. Chem.**, v.47, n.6, p.1303-1312, 2004.

WILLIAMS, R. O.; PALEOLOG, E.; FELDMANN, M. Cytokine inhibitors in rheumatoid arthritis and other autoimmune diseases. **Curr. Op. Pharmacol.**, v. 7, p. 412–417, 2007.

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

ZEITUNE, J. M. R.; MONICI, L. T. Gastrites. **Rev. Bras. Med.**, v. 57, 2000.