

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE CIÊNCIAS EXATAS
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

DISSERTAÇÃO

**Planejamento e Síntese de Compostos Ftalazoilidrazínicos como
Agentes anti-TNF- α**

Fábio Barbosa Teixeira

2013





UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE CIÊNCIAS EXATAS
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

**PLANEJAMENTO E SÍNTESE DE COMPOSTOS
FTALAZOILIDRAZÍNICOS COMO AGENTES ANTI-TNF- α**

Fábio Barbosa Teixeira

Orientador

Prof. Dr. Arthur Eugen Kummerle

Dissertação submetida
como requisito parcial para obtenção
do grau de **Mestre em Ciências**, no
Programa de Pós-Graduação em
Química, área de concentração em
Química Orgânica.

Seropédica, RJ

Março de 2013

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE CIÊNCIAS EXATAS
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

FÁBIO BARBOSA TEIXEIRA

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Ciências**,
no Programa de Pós-Graduação em Química, área de concentração em Química Orgânica.

DISSERTAÇÃO APROVADA EM

Prof. Dr. Arthur Eugen Kümmerle (Orientador)

Prof. Dr. Cedric Stephan Graebin

Prof. Dr. Leandro S. M. Miranda

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela saúde concedida e por tudo com que me abençoa.

Aos meus pais José Roberto (*in memoriam*) e Léa, pela formação do meu caráter.

À Cassinha, minha querida esposa, por entender a importância disto para a nossa família e esforçar-se para alcançarmos nossos objetivos tanto ou mais do que eu durante toda a minha graduação e no mestrado.

Aos meus filhos Fabinho e Gabi, simplesmente por existirem e serem a razão maior do meu esforço em melhorar minha formação.

Ao Prof. Dr. Arthur Eugen Kümmerle, meu orientador, pela tranquilidade transmitida, pelos ensinamentos e pela paciência durante o curso, por entender que as minhas ausências devido ao trabalho não significavam falta de compromisso com o projeto.

À Profa. Dra. Rosane Nora Castro, por me indicar ao meu orientador desde a graduação e pelos ensinamentos transmitidos nas disciplinas de Cromatografia e Orgânica Avançada, além de ser um exemplo de dedicação ao trabalho.

Aos Profs. Drs. Mário Geraldo, Victor Rumjanek, Aurélio B. B. Ferreira, Carlos Maurício, Marco Edilson, Cedric e João Batista pelos conhecimentos transmitidos nas disciplinas ministradas ao longo do curso.

A todos os meus colegas do laboratório 48 e do LaDMol-QM, de síntese orgânica e química medicinal, que passam ou passaram pelas mesmas dificuldades típicas da nossa área.

Aos profissionais do Laboratório de Inflamação da FIOCRUZ, pela realização das avaliações de atividades biológicas dos compostos enviados.

Aos profissionais da Central Analítica-UFRRJ, por realizarem as análises necessárias para caracterização dos compostos.

RESUMO

TEIXEIRA, Fábio Barbosa. **Planejamento e Síntese de Compostos Ftalazoilidrazínicos como Agentes Anti-TNF- α** . 2013, p, Dissertação (Mestrado em Ciências, Química Orgânica). Instituto de Ciências Exatas, Departamento de Química, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2013.

Muitas classes de compostos orgânicos têm demonstrado promissores efeitos biológicos, dentre elas as imidas cíclicas, compostos que apresentam na estrutura o grupo –CO-N(R)-CO-, sendo R um átomo de hidrogênio, um grupo alquila ou um grupo arila. As ftalimidas, que apresentam conhecida atividade biológica, são compostos que têm sua história relacionada à talidomida, molécula que possui estrutura derivada da ftalimida, mas apresenta também um grupamento glutarimídico, podendo ser considerada a molécula mais relevante pertencente a esta classe de compostos. O anel ftalimídico é relatado como um interessante bióforo, constituindo subunidade estrutural de caráter farmacofórico para uma série de compostos com diferentes atividades farmacológicas, dentre elas a anti-inflamatória, segundo um mecanismo de inibição do fator de necrose tumoral alfa (TNF- α), uma citocina pró-inflamatória. Devido aos efeitos colaterais associados aos atuais medicamentos anti-TNF- α , que pertencem exclusivamente a classe dos fármacos biotecnológicos, e ao alto custo do tratamento, é importante a descoberta de novas micromoléculas anti-inflamatórias que atuem pela inibição da produção do TNF- α . Neste contexto, uma das primeiras moléculas descrita com esta atividade foi a talidomida, cuja ação farmacológica é atribuída ao grupo ftalimídico. Em função da confirmada atividade anti TNF- α das ftalimidas funcionalizadas, neste trabalho foi realizada a síntese, caracterização e verificada da atividade de ftalimidas *N*-hidrazil substituídas, as ftalazoilidrazidas. Estes compostos foram sintetizados a partir dos ácidos benzóicos e aldeídos correspondentes, que foram transformados em ésteres metílicos. Subsequente reação de hidrazinólise, com hidrazina hidratado, forneceu as hidrazidas correspondentes que foram posteriormente reagidas com anidrido ftálico, a fim de formar o anel ftalimídico. Esta série inicial foi ainda metilada por reação com iodeto de metila em meio básico. A síntese de ftalazoilidrazidas não-metiladas e *N*-metiladas tem como finalidade a análise do efeito da presença do grupo metila na possível atividade biológica dos compostos, pois é sabido que o grupo metila exerce efeitos estereoeletrônicos sobre as biomoléculas que podem levar a mudanças significativas nos efeitos biológicos das moléculas. Foram sintetizados 22 compostos finais com rendimentos entre 58% e 96%. A análise farmacológica dos mesmos mostrou que alguns derivados metilados foram capazes de inibir a produção de TNF- α em ensaios com macrófagos estimulados por LPS. A atividade apresentada mostra a importância biológica das ftalimidas e da *N*-metilação nesta série. Ademais, a síntese proposta mostrou-se adequada e prática, com a utilização de irradiação em microondas.

Palavras-chave: Ftalimidas, atividade anti-TNF- α , inflamação.

ABSTRACT

TEIXEIRA, Fábio Barbosa. **Planning and Synthesis of Phthalazoilidrazynic Compounds aiming Anti-TNF- α Agents**. 2013, p, Dissertation (Master in Science, Organic Chemistry). Instituto de Ciências Exatas, Departamento de Química, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2013.

Many classes of organic compounds have shown promising biological effects, and among them are the cyclic imides, compounds that have on their structure the fragment CO-N(R)-CO-, in which R is a hydrogen atom, an alkyl or an aryl group. The phthalimides, that have recognized biological activity, are compounds related to thalidomide, a molecule with structure derived from phthalimide, but also presents a glutarimídic group, being considered the most relevant molecule that belongs to this class of compounds. The phthalimidic ring is related as an interesting biophore, constituting a subunity structure of pharmacophore character for a series of compounds with different pharmacological activities, including the anti-inflammatory, according to a mechanism of inhibition of tumor necrosis factor alpha (TNF- α), a pro-inflammatory cytokine. Due to the side effects associated to current medications anti-TNF- α , that belong exclusively to the class of biotech drugs, and the high cost of treatment, the discovery of new anti-inflammatory micromolecules that act inhibiting the production of TNF- α is important. In this context, one of the first described molecules with this activity was thalidomide, whose pharmacological action is attributed to the phthalimidic group. In this work *N*-hydrazil substituted phthalimides, the phthalazoilidrazides were synthesized, charatered and tested for biological activity. These compounds were synthesized from benzoic acids and corresponding aldehydes, that were transformed into methyl esters. Subsequent hydrazinolysis reaction, with hydrazine hydrate, provided the corresponding hydrazides that, after, reacted with phthalic anhydride in order to form the phthalimidic ring. This initial series was still methylated by reaction with methyl iodide in basic medium. The synthesis of phthalazoilidrazides *N*-methylated and non-methylated intent to analyze the effect of the presence of the methyl group on the possible biological activity of the compounds, because it is known that the methyl group exerts estereoeletrônica effects over biomolecules that can lead to significant changes in biological effects of molecules. 22 final compounds were synthesized with yields between 58% and 96%. The pharmacological analysis showed that some methylated derivatives were able to inhibit the production of TNF- α in experiments with macrophages stimulated by LPS. The activity presented shows the biological importance of phthalimides and *N*-methylation in this series. Furthermore, the synthesis proposal proved adequate and practical using microwave irradiation.

Key words: Phthalimides, anti-TNF- α activity, inflammation.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Estrutura básica das principais imidas cíclicas.....	2
Figura 2. Mineral kladnoíta e cristais naturais amarelados de ftalimida.....	3
Figura 3. Talidomida e Ftalimida.....	5
Figura 4. Derivados ftalimídicos com atividade anticonvulsivante.....	6
Figura 5. <i>N</i> -arilftalimididas com atividade anti-Tuberculose (bactérias <i>M. Tuberculosis H37Ra</i>).....	7
Figura 6. Adamantilftalimididas com atividade antiproliferativas em células cancerosas de mama, cólon, leucemia e pulmão.....	8
Figura 7. Ftalimididas com atividade anti-influenza.....	8
Figura 8. Ampiquinona (17)	9
Figura 9. Estrutura básica de Tetrahidroftalimididas.....	9
Figura 10. Ftalimididas com atividade anti-HIV.....	10
Figura 11. Alvos da talidomida nos processos inflamatórios.....	17
Figura 12. Regulação bidirecional da produção de TNF- α pela talidomida (o eixo das abscissas mostra a concentração).....	18
Figura 13. <i>N</i> -alquil e <i>N</i> -arilftalimididas com atividade anti-inflamatória.....	19
Figura 14. Bis- ftalimididas com atividade anti-TNF- α	20
Figura 15. Ftalimididas substituídas com atividade anti TNF- α	20
Figura 16. Ftalimididas com atividade anti-TNF- α	21
Figura 17. Ftalazoilidrazidas sintetizadas neste trabalho.....	32
Figura 18. Códigos utilizados nos testes farmacológicos.....	79
Figura 19. Análise conformacional da ligação amídica sem e com a <i>N</i> -metilação das ftalazoilidrazidas.....	82

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Efeitos adversos em crianças por inibidores de TNF- α	14
Tabela 2. Complicações infecciosas em crianças por uso dos anti TNF- α	14
Tabela 3. Rendimentos reacionais e aspecto visual dos ésteres metílicos.....	58
Tabela 4. Rendimentos e propriedades das hidrazidas.....	60
Tabela 5. Dados de RMN- ^1H das hidrazidas 29 a-f e 29 h. Valores em ppm.....	61
Tabela 6. Dados de RMN- ^{13}C das hidrazidas 29 a-f e 29 h.....	61
Tabela 7. Dados de RMN- ^1H e RMN- ^{13}C do composto 29 g (bifenilidrazida). Valores em ppm.....	62
Tabela 8. Dados de RMN- ^1H e RMN- ^{13}C do composto 29 i (p-benzoxi-fenilidrazida). Valores em ppm.....	62
Tabela 9. Dados de RMN- ^1H e RMN- ^{13}C do composto 31 (benzilidrazida). Valores em ppm.....	62
Tabela 10. Dados de RMN- ^1H e RMN- ^{13}C do composto 32 (metilenodioxi-fenilidrazida). Valores em ppm.....	63
Tabela 11. Rendimentos e propriedades das ftalazoilidrazidas.....	65
Tabela 12. Dados de RMN- ^1H dos compostos 33 a-f e 33 h. Valores em ppm.....	66
Tabela 13. Dados de RMN- ^{13}C dos compostos 33 a-f e 33 h. Valores em ppm.....	66
Tabela 14. Dados de RMN- ^1H e RMN- ^{13}C do composto 33 g. Valores em ppm.....	67
Tabela 15. Dados de RMN- ^1H e RMN- ^{13}C do composto 33 i. Valores em ppm.....	67
Tabela 16. Dados de RMN- ^1H e RMN- ^{13}C do composto 34. Valores em ppm.....	67
Tabela 17. Dados de RMN- ^1H e RMN- ^{13}C do composto 35. Valores em ppm.....	68
Tabela 18. Dados espectroscópicos de infravermelho das ftalazoilidrazidas.....	68
Tabela 19. Picos de fragmentação de massas dos compostos 33 a-i.....	70

Tabela 20. Rendimentos e propriedades das <i>N</i> -metilftalazoilidrazidas.....	73
Tabela 21. Dados de RMN- ¹ H dos compostos 36 a-f e 36 h. Valores em ppm.....	74
Tabela 22. Dados de RMN- ¹³ C dos compostos 36 a-f e 36 h. Valores em ppm.....	74
Tabela 23. Dados de RMN- ¹ H e RMN- ¹³ C do composto 36 g. Valores em ppm.....	75
Tabela 24. Dados de RMN- ¹ H e RMN- ¹³ C do composto 36 i. Valores em ppm.....	75
Tabela 25. Dados de RMN- ¹ H e RMN- ¹³ C do composto 37. Valores em ppm.....	76
Tabela 26. Dados de RMN- ¹ H e RMN- ¹³ C do composto 38. Valores em ppm.....	76
Tabela 27. Dados espectroscópicos de infravermelho das <i>N</i> -metilftalazoilidrazidas...	77

LISTA DE ESQUEMAS

Esquema 1 – Método sintético para ftalimidas a partir do ácido âmico correspondente.....	4
Esquema 2 – Síntese de ftalimidas por ciclização direta em ácido acético.....	4
Esquema 3 – Síntese de ftalimidas em microondas sem o uso de solvente.....	4
Esquema 4 - Síntese de <i>N</i> -arilftalimidas em presença de iodotetrametilsilano.....	4
Esquema 5 - Reação entre o ácido e a amina para formação do composto(9).....	6
Esquema 6 - Rota sintética para a 4,5-dianilinoftalimida (DPPH), molécula com atividade inibitória da síntese de peptídeos neurotóxicos associados ao mal de Alzheimer.....	7
Esquema 7 – Proposta para síntese de ftalazoilidrazidas.....	22
Esquema 8 - Planejamento estrutural das ftalazoilidrazidas.....	25
Esquema 9 - Rota sintética dos Ésteres metálicos.....	27
Esquema 10 - Rota sintética para obtenção de Hidrazidas.....	30
Esquema 11 - Rota sintética para obtenção das Ftalazoilidrazidas.....	36
Esquema 12 - Síntese das <i>N</i> -metil-fenilftalazoilidrazidas.....	46
Esquema 13 – Mecanismo para a Esterificação em meio Ácido.....	56
Esquema 14 – Reação e mecanismo de Yamada a) composto (28) e b) composto (30).....	57
Esquema 15 - Mecanismo da reação de hidrazinólise de ésteres.....	59
Esquema 16 - Mecanismo para a síntese de ftalazoilidrazidas.....	64
Esquema 17 - Proposta de fragmentações de massas dos compostos 33 a-i.....	69
Esquema 18 - Proposta de fragmentações de massas do composto 34.....	70
Esquema 19 - Proposta de fragmentações de massas do composto 35.....	71
Esquema 20 – Mecanismo da reação de Metilação.....	71

Esquema 21 - Proposta de fragmentações de massas do composto 37.....	78
Esquema 22 - Proposta de fragmentações de massas dos compostos 36 a-i.....	78
Esquema 23 - Proposta de fragmentações de massas do composto 37.....	78

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 – Sobrevida da célula em presença dos compostos.....	80
Gráfico 2 - Concentração de TNF- α em função dos compostos testados.....	80
Gráficos 3, 4, 5 e 6 – Atividade em função da concentração para os compostos ativos.....	83

LISTA DE ABREVIATURAS

- AMPK Adenosina Monofosfato Cinase.
- CG-EM Cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas.
- c.c.d.a Cromatografia em Camada Delgada Analítica.
- DMEM - Dulbecco's Modified Eagle Medium (meio de cultura celular).
- DMF Dimetilformamida.
- DMSO-d₆ Dimetilsulfóxido deuterado.
- CDCl₃ Clorofórmio deuterado.
- ELISA Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (Teste diagnóstico).
- ENL Eritema Nodoso Leproso.
- IL Interleucina.
- IV Infravermelho.
- LPS Lipopolissacarídeos.
- M Massa Molar.
- NFκβ Fator Nuclear Kappa-Beta.
- PBS EDTA Solução salina tamponada com fosfato em ácido etilenodiaminotetracético
- P.F Ponto de Fusão.
- PGE2 Prostaglandina E2.
- Pot Potência do reator de microondas.
- RMN-¹³C Ressonância Magnética Nuclear de Carbono-13.
- RMN-¹H Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio-1.
- RPMI Roswell Park Memorial Institute (meio de cultura para crescimento celular).
- SFB Soro Fetal Bovino
- TMS Tetrametilsilano
- TNF-α Fator de Necrose Tumoral Alfa.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	1
1.1 Imidas cíclicas	1
1.2 Síntese de Ftalimidas.....	3
1.3 Atividades biológicas de Ftalimidas	5
1.4 Processos inflamatórios	10
1.5 A descoberta da Talidomida e o uso de Ftalimidas na inflamação.....	15
1.6 Efeito Anti-TNF- α da Talidomida e Ftalimidas.....	17
2 OBJETIVOS.....	23
2.1 Geral.....	23
2.2 Específicos.....	23
2.3 Planejamento Estrutural.....	24
3 MATERIAIS E MÉTODOS.....	26
3.1 Metodologia Sintética.....	26
3.2 Síntese dos Ésteres Metílicos (Benzoatos de Metila).....	27
3.3 Síntese das Hidrazidas.....	30
3.4 Síntese das Ftalazoilidrazidas.....	36
3.5 Síntese das <i>N</i> -metil-fenilftalazoilidrazidas.....	46
3.6 Protocolo Farmacológico.....	55
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	56
4.1 Síntese dos Ésteres Metílicos.....	56
4.2 Síntese das Hidrazidas.....	59
4.3 Síntese das Ftalazoilidrazidas.....	64
4.4 Síntese das <i>N</i> -metil-fenilftalazoilidrazidas.....	71
4.5 Resultados Farmacológicos.....	79
5 CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS.....	84
6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	85

1. INTRODUÇÃO

1.1 Imidas cíclicas

A busca e o uso de substâncias biologicamente ativas, que fossem capazes de trazer alívio ou cura para os processos dolorosos e doenças que afetam o Homem desde o seu aparecimento no planeta, sempre foram uma necessidade e uma preocupação. Desde os primórdios da civilização, o ser humano tenta esclarecer as razões para a ocorrência das doenças e da dor a elas relacionadas, assim como desenvolver procedimentos destinados ao seu controle (MADIGAN e RAJ, 2000).

A partir do final do séc. XIX e início do séc. XX, o advento das Químicas Orgânica e Analítica foi um importante passo na descoberta, desenvolvimento e síntese de novas substâncias com potencial biológico, pois, até então, a terapia era centrada no uso de compostos derivados de plantas cultivadas em instituições religiosas (BURGER, 1980; WERMUTH, 2008). O desenvolvimento da Química Medicinal, que ocorre a partir da década de 30, impulsiona de maneira efetiva o desenvolvimento de novos fármacos e, atualmente, a síntese orgânica é responsável por cerca de 75% dos fármacos existentes no mercado farmacêutico (MENEGATTI et al, 2001). Apesar da importância dos processos sintéticos, muitos dos protótipos de fármacos são derivados de produtos naturais, especialmente plantas, que possibilitam a descoberta de inúmeros compostos com atividade biológica (CECHINEL FILHO et al.,2003). Produtos naturais, sem modificações, fazem parte de apenas 6% dos fármacos de uso corrente, disponíveis no mercado, lançados entre 1981 e 2001. No entanto, sua importância na descoberta de novos fármacos é grande, pois, atualmente, quando um produto natural possui uma atividade farmacológica, ele é, em geral, quimicamente modificado para melhorar suas propriedades farmacocinéticas e farmacodinâmicas (NEWMAN, CRAGG, SNEADER, 2003).

Apesar da tamanha diversidade de fármacos hoje existentes, a busca por novas substâncias que sejam efetivas contra patologias ainda sem tratamento adequado ou que substituam os medicamentos existentes a custos menores e/ou com menores efeitos adversos impulsiona as pesquisas nessas áreas. Muitas classes de compostos orgânicos têm demonstrado promissores efeitos biológicos, e, dentre estas, pode-se destacar as imidas cíclicas (CECHINEL FILHO et al, 2003).

As imidas cíclicas são compostos que apresentam em suas estruturas o grupo -CO-N(R)-CO- , sendo R um átomo de hidrogênio, um grupo alquila ou um grupo arila, constituindo uma grande classe de compostos obtidos por síntese orgânica, divididas em subclasses: as maleimidas (1), as succinimidas (2), as naftalimidias (3), as glutarimidias (4) e as ftalimidias (5) (Figura 1), além de seus respectivos derivados (HARGREAVES et al, 1970).

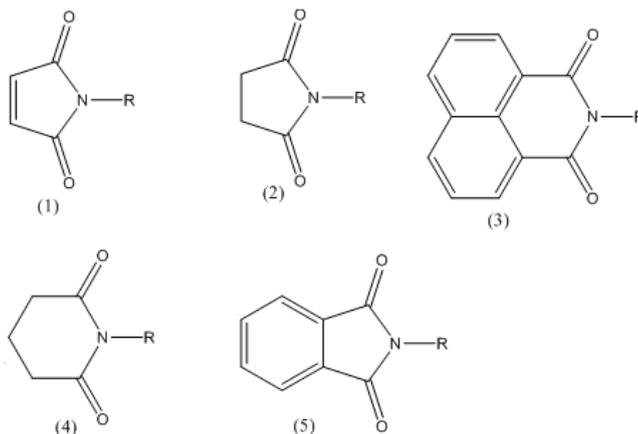


Figura 1. Estrutura básica das principais imidas cíclicas.

Nos últimos anos, os compostos imídicos cíclicos têm atraído a atenção da comunidade científica e sido extensivamente estudados, devido, principalmente, às suas potencialidades terapêuticas (MACHADO et al, 2005; FURGESON et al, 2006).

Vários efeitos biológicos apontam para um potencial uso farmacêutico das imidas cíclicas, devido à sua natureza hidrofóbica, que permite atravessar as membranas celulares, tendo sido demonstradas, principalmente, as atividades antitumoral (KOMODA et al, 2001) anti-inflamatória, antifúngica, antibacteriana (HARGREAVES et al, 1970), analgésica, antiespasmódica (CECHINEL FILHO,1995) antinociceptiva e anticonvulsivante (CAMPOS et al, 2000).

Uma outra razão para a continuidade dos estudos em Química Medicinal com as imidas cíclicas consiste na facilidade de obtenção com bons rendimentos e rotas sintéticas de fácil execução desta classe de compostos, o que permite uma rápida construção de coleções de moléculas com grande variedade estrutural (BUZZI et al, 2003).

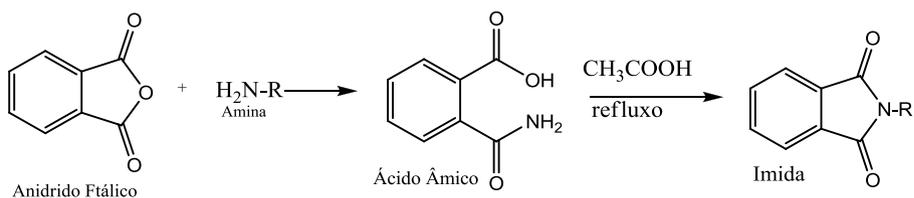
1.2 Síntese de Ftalimidas

A ftalimida ou 1,3-isoindolindiona ocorre naturalmente na forma de um mineral orgânico chamado kladnoíta (Figura 2), bastante raro, encontrado na República Tcheca, descoberto em 1942 e descrito pela primeira vez em 1959 pela Associação Internacional de Mineralogia (IMA), sendo gerado pela ação do fogo sobre rejeitos carboníferos, com cristais brancos, amarelados ou incolores (BACK e MANDARINO, 2008). Entretanto, estes cristais naturais apresentam apenas interesse científico, pois se encontram em distribuições pontuais com volumes muito pequenos, o que impossibilita sua exploração comercial (NEVES et al, 2008).

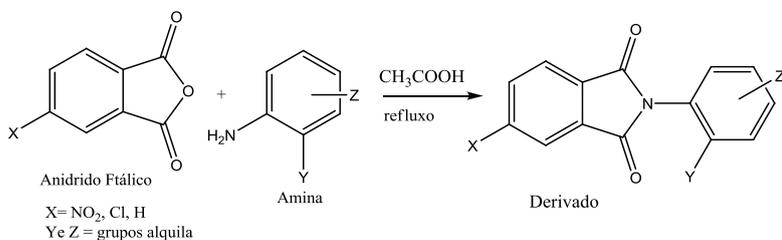


Figura 2. Mineral kladnoíta e cristais naturais amarelados de ftalimida.

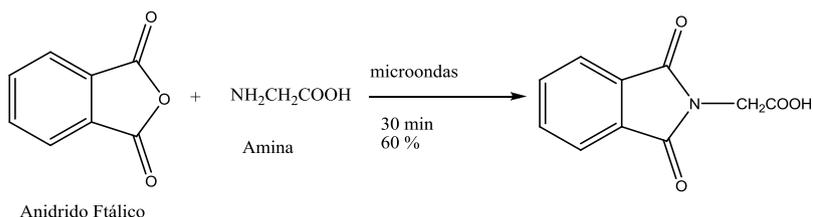
Sinteticamente, as ftalimidas podem ser obtidas pelo uso de vários métodos, sendo os mais usuais: a) preparação a partir do ácido âmico correspondente, o qual é formado pela agitação em meio etéreo do anidrido ftálico com uma amina apropriada, em refluxo com ácido acético por cerca de 2h (Esquema 1) (ANDRICOPULO et al, 1998; BUZZI et al, 2003); b) ciclização direta do anel imídico pela reação do anidrido ftálico com a amina em ácido acético sob refluxo (POUPAERT et al, 1995) ou com o uso de radiação de microondas nas mesmas condições da reação anterior, mas na ausência de solvente (ANTUNES et al, 1998) (Esquemas 2 e 3); e c) reação do anidrido ftálico com azidas apropriadas, em presença de iodotrimetilsilano, formado *in situ*, obtendo-se *N*-fenilftalimidas em poucos minutos de reação (KAMAL, LAXMAN, RAO, 1998).



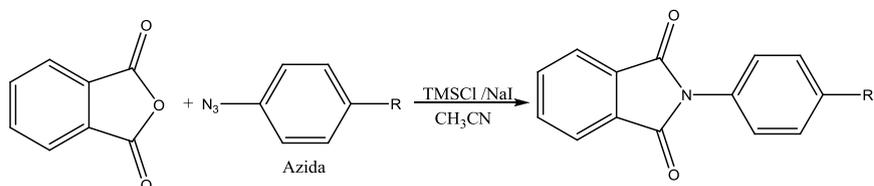
Esquema 1 – Método sintético para ftalimidas a partir do ácido âmico correspondente (ANDRICOPULO et al, 1998; BUZZI et al, 2003).



Esquema 2 – Síntese de ftalimidas por ciclização direta em ácido acético (POUPAERT et al, 1995).



Esquema 3 – Síntese de ftalimidas em microondas sem o uso de solvente (ANTUNES et al, 1998).



Esquema 4. Síntese de N-arilftalimidas em presença de iodotetrametilsilano (KAMAL, LAXMAN, RAO, 1998).

1.3 Atividades biológicas das Ftalimidas

A ftalimida e seus derivados constiuem uma importante classe de compostos heteroaromáticos que tem grande utilidade em química orgânica como grupo de proteção de aminas primárias, como intermediários na síntese de compostos heterocíclicos e alcalóides bioativos, na síntese de núcleos estruturais isoindolina, isoindolinona e ftalazinonas (CECHINEL FILHO, 2000).

As ftalimidas que apresentam atividade biológica são compostos que, normalmente, têm suas características biológicas diretamente relacionadas à toxicidade da talidomida (6), considerada a molécula historicamente mais relevante pertencente a esta classe de compostos e que possui em sua estrutura a sub-unidade ftalimídica (7) ligada a um grupamento glutarimídico (CECHINEL FILHO, 2000) (Figura 3).

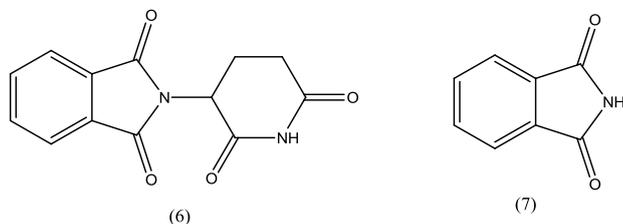


Figura 3. Talidomida e Ftalimida.

A despeito desta associação, o anel ftalimídico é relatado como um interessante bióforo, constituindo subunidade estrutural de caráter farmacofórico para uma série de compostos com diferentes atividades farmacológicas, dentre elas anti-convulsivante, anti-Parkinson, anti-Alzheimer, analgésica, anti-inflamatória, imunomoduladora (LIMA, 2001; LIMA et al., 2002), inibidora de HIV integrase (VERSCHUEREN et al., 2005), antiproliferativa (HORVAT et al, 2012), anti-influenza (IWAI et al, 2010), anti-*M.tuberculosis* (AKGÜN et al, 2012). Estudos mostram também atividade ativadora da adenosina monofosfato (AMP), presente na proteína Adenosina Monofosfato cinase (AMPK), molécula-alvo importante no tratamento de distúrbios metabólicos, como obesidade e diabetes tipo-2 (OH et al, 2010). Adicionalmente, estas atividades se mostraram dissociadas das atividades tóxicas relacionadas à talidomida, demonstrando que sua teratogenicidade não está correlacionada ao grupamento ftalimídico.

As Figuras 4-9 e Esquemas 5 e 6 demonstram as estruturas de compostos ftalimídicos que apresentam diversas atividades farmacológicas e algumas rotas sintéticas de obtenção das mesmas.

A síntese e as propriedades anticonvulsivantes de novas piperazinas e morfolinias acetamidas como **9**, inspiradas na ftalimida **8**, foram descritos por KAMINSKI e colaboradores (2011) (Esquema 5). O *screening* anticonvulsivante inicial realizado *in vivo* demonstrou que vários compostos desta série foram eficazes no teste de eletrochoque máximo (MES). O composto mais ativo desta série revelou uma proteção nas convulsões induzidas eletricamente a uma dose de 30 mg/kg por via oral em ratos, sendo mais potente do que a referência anticonvulsivante, a fenitoína (KAMINSKI et al, 2011).

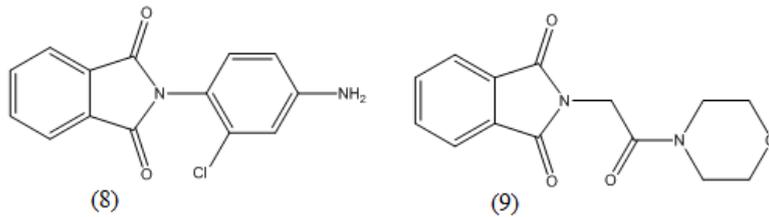
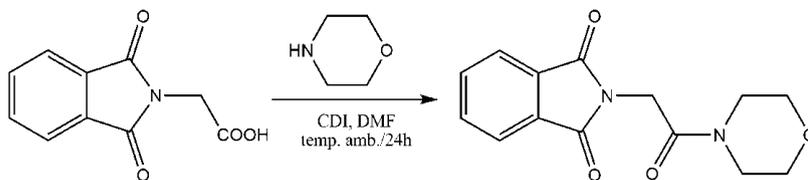


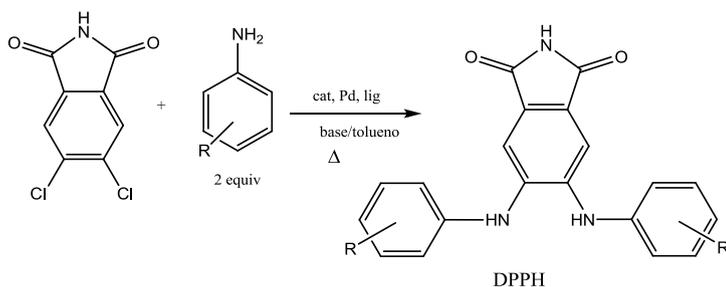
Figura 4. Derivados ftalimídicos com atividade anticonvulsivante (KAMINSKI et al, 2011).



Esquema 5. Reação entre o ácido e a amina para formação do composto (9) (KAMINSKI et al, 2011).

Moléculas inibidoras da formação de folhas β surgiram como potenciais agentes terapêuticos para a doença de Alzheimer. Testes randômicos com um grande número de compostos visando o decréscimo no conteúdo destas folhas de pré-agregados $A\beta$ -42 foram realizados. Das moléculas estudadas, a série mais promissora foi das 4,5-dianilinoftalimidas (DPPH, Figura 6) (BLANCHARD et al, 2004). Estes compostos demonstraram uma forte reversão da formação das folhas β (CI_{50} 15 μ m), bem como a capacidade de reduzir o influxo

de Ca^{2+} associado com fibrilas $\text{A}\beta$ (IC_{50} 0,7 μm). O Esquema 6 demonstra a rota sintética para a obtenção destas moléculas através do uso de catalisadores de paládio (HENNESSY, BUCHWALD, 2005).



Esquema 6. Rota sintética para a 4,5-dianilinoftalimida (DPPH) (HENNESSY, BUCHWALD, 2005).

A Figura 5 mostra derivados de ftalimida estruturalmente modificados que foram preparados por condensação de anidrido ftálico e tetrafluorftálico com sulfonamidas selecionadas, sintetizadas conforme o Esquema 2 (AKGÜN et al, 2012). Todos os compostos foram testados quanto à atividade contra o *Mycobacterium tuberculosis H37Ra*. Os derivados fluorados apresentaram uma atividade comparável a sulfonamidas antimicobacterium clássicas. A concentração inibitória mínima (MIC) de compostos foram maiores do que o da isoniazida (AKGÜN et al, 2012).

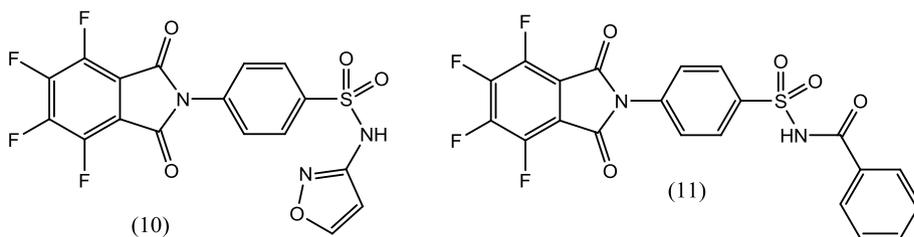


Figura 5. *N*-arilftalimidas com atividade anti-Tuberculose (AKGÜN et al, 2012).

Uma série de adamantil ftalimidas caracterizadas pela diferença no comprimento da cadeia entre a adamantila e a sub-unidade ftalimídica foram testados quanto à atividade anti-proliferativa *in vitro* sobre uma série de cinco linhas de câncer humano: MCF-7 (carcinoma

da mama), SW 620 (carcinoma do cólon), HCT 116 (carcinoma do cólon), MOLT-4 (leucemia linfoblástica aguda), H 460 (carcinoma do pulmão), e uma não tumoral HaCaT (queratinócitos humanos). Os compostos exibiram uma atividade antiproliferativa através da modulação do ciclo celular na fase G1/S (HORVAT et al, 2012). A atividade antiproliferativa dos compostos mostrados na Figura 6 está relacionada à atividade anti-TNF- α já descrita anteriormente.

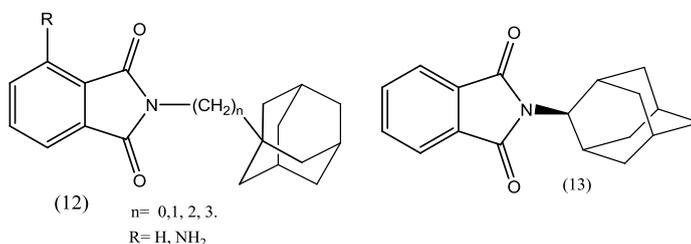


Figura 6. Adamantilftalimidas com atividade antiproliferativas em células cancerosas de mama, cólon, leucemia e pulmão (HORVAT et al, 2012).

A Figura 7 mostra estruturas de fenetilfenilftalimidas com atividade anti-influenza, derivadas da talidomida. Foi verificado que estes compostos possuíam a capacidade de inibir a atividade da endonuclease PA e retardar o crescimento do vírus influenza A (IWAI et al, 2010).

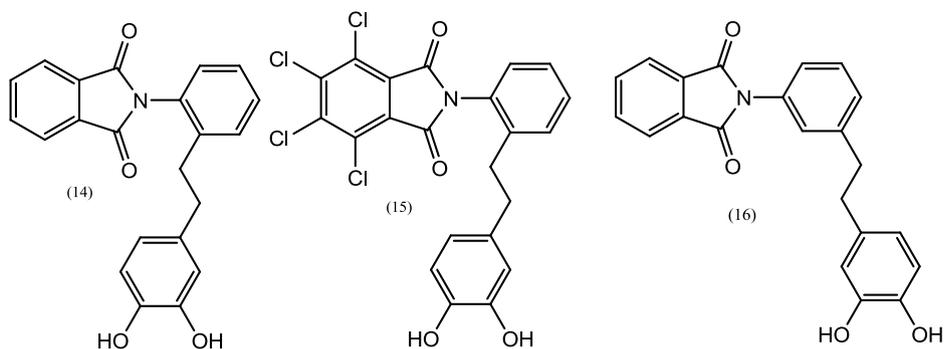


Figura 7. Ftalimidas com atividade anti-influenza (IWAI et al, 2010).

A Proteína Quinase ativada por Adenosina-5'-Monofosfato (AMPK) tem emergido como um alvo atraente para o tratamento de distúrbios metabólicos, incluindo a obesidade e diabetes do tipo 2. Oh e colaboradores (2010) descreveram uma nova micromolécula,

ampiquinona (**17**), contendo o núcleo ftalimida, como um ativador de AMPK indireto. Seu uso em linhagens celulares resultou em aumento da absorção de glicose em células musculares, emergindo como uma nova classe de agentes terapêuticos para o tratamento da diabetes e obesidade através da estimulação indireta de AMPK (OH et al, 2010) (Figura 8).

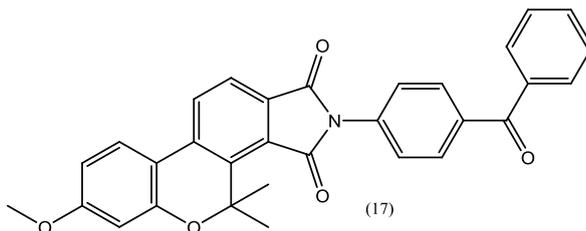


Figura 8. Ampiquinona (17)

Os efeitos analgésicos das ftalimidas, amplamente descritos na literatura, também foram observados para as tetrahydroftalimidas (Figura 9). Atividades cerca de cinco vezes superiores às do ácido acetil-salicílico e do paracetamol, fármacos analgésicos de referência, foram encontrados no modelo de contorções induzidas por ácido acético através da administração de uma dose de 10mg/Kg dos compostos ftalimídicos por via intraperitoneal (COSTA et al, 2007).

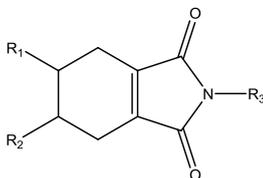


Figura 9. Estrutura básica de Tetrahydroftalimidas.

A atividade anti-HIV das ftalimidas está relacionada à atividade inibitória do TNF- α , pois este induz diretamente a expressão do HIV dentro da célula infectada pela estimulação do fator nuclear kappa-beta (NF κ β), que é um fator celular de transcrição essencial para a expressão do HIV. Desta forma, Furler e colaboradores desenvolveram a série de ftalimidas descritas na Figura 10, que apresentaram atividade anti-HIV (POLI, KINTER, JUSTEMENT, 1990; FURLER e UITTENBOGAART, 2010).

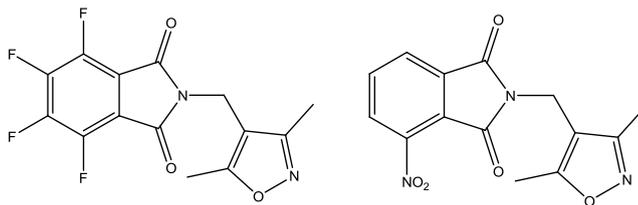


Figura 10. Ftalimidas com atividade anti-HIV.

Ademais, a atividade imunossupressora da talidomida e de ftalimidas análogas é conhecida e estudada para, dentre outras aplicações, minimizar a rejeição de órgãos transplantados, pois esta é uma das principais complicações para a sobrevivência dos pacientes. Em associação à ciclosporina, a talidomida previne a rejeição aguda em transplante alogênico cardíaco em ratos (TAMURA et al, 1990). Verificou-se também sua ação, sozinha, como agente de prevenção de rejeição em transplantes, em animais, de medula (VOLGESANG et al, 1988) e rins (WETTSTEIN e MEAGHER, 1997).

1.4 Processos inflamatórios

Os processos inflamatórios estão envolvidos em várias patologias tais como artrite reumatoide, asma, doenças autoimunes, contusões, tendinites e infecções respiratórias. Trata-se de um mecanismo de defesa do organismo, cujo objetivo é a eliminação da causa do dano ou lesão celular provocada por agentes patogênicos ou pela ação de agentes físicos (COTRAN et al, 2000).

A resposta inflamatória é inicialmente inespecífica, independente do tipo de agressão. A reação que ocorre após esse processo inicial depende de fatores associados ao agente agressor e ao tipo de tecido atingido. Assim, a inflamação pode mostrar uma variedade de quadros clínicos e o resultado final pode ser a cura ou a inflamação crônica, se o agente patogênico ou a substância nociva persistirem e a resposta for insuficiente, fazendo o processo evoluir (LUENGO, 2005).

A reação inflamatória consiste basicamente de uma reação inata ou inespecífica, que ocorre localmente, no interior dos tecidos, podendo se dividir em eventos vasculares (formação de edema), que envolvem a participação de mediadores produzidos no plasma, e

eventos celulares, onde são células que participam do processo (endoteliais, macrófagos, leucócitos e plaquetas), além de uma resposta imune específica ou adaptativa, que consiste na ação de anticorpos (linfócitos) específicos contra um tipo de agente (ABBAS, LICHTMAN, PILLAI, 2008).

A exposição celular e a lesão do tecido resultam na produção de diversos mediadores químicos, que respondem pelas características da região inflamada, dentre os quais podem ser citados a histamina, os metabólitos do ácido araquidônico (prostaglandinas, tromboxanos e leucotrienos), fator de ativação plaquetária, bradicinina, óxido nítrico, neuropeptídeos e citocinas (COTRAN et al, 2000; LUENGO, 2005; ABBAS, LICHTMAN, PILLAI, 2008; RANG et al, 2007).

Entre os mediadores mais característicos da dor inflamatória podem ser destacadas as quimiocinas e as citocinas, sendo, então, extremamente importantes no processo. As citocinas são pequenas proteínas e glicoproteínas (de peso molecular entre 8 e 30 kDa), que permitem a comunicação intercelular. A princípio, esses mediadores pareciam ser importantes apenas no processo de recrutamento de neutrófilos para o foco inflamatório, mas verificou-se sua ação na gênese da nocicepção (transmissão da dor) (CUNHA, 2000).

As citocinas constituem um grupo heterogêneo de polipeptídeos ativadores do sistema imunológico e mediadores de respostas inflamatórias, sendo classificadas em pró-inflamatórias e anti-inflamatórias, de acordo com seus efeitos sobre as células. Estão presentes em grande quantidade nos nervos periféricos, depois de dano parcial, e contribuem para a sensibilização nociceptiva (DICKENSON et al, 2002).

As principais citocinas que atuam nesse processo são as interleucinas (IL-1 β e IL-6) e o fator de necrose tumoral alfa (TNF- α). Liberadas juntamente com outras substâncias, por células gliais e imunológicas ativadas, estas citocinas pró-inflamatórias têm especial importância no desenvolvimento da hiperexcitabilidade do nervo periférico, bem como do respectivo neurônio (COUTAUX et al, 2005). Estas citocinas favorecem a aderência dos leucócitos ao endotélio, aumentam a síntese de prostaciclina e desencadeiam uma cascata de citocinas secundárias (como as quimiocinas), que atraem e ativam as células inflamatórias móveis (RANG et al, 2007).

Ademais, o TNF- α , devido a sua característica de indutor do aumento de moléculas de adesão, aumenta as propriedades quimiotáticas e a aderência de neutrófilos ao endotélio vascular, estimula a produção de radicais livres, e a síntese de outros mediadores inflamatórios como IL-1 e PGE2. Também induz mudanças nas propriedades coagulantes e anticoagulantes (BUCHANAN et al, 2004).

Embora outras citocinas e fatores de crescimento sejam importantes, o TNF- α desempenha papel preponderante na sensibilização periférica, de acordo com a seguinte hipótese: a substância liberada no local da lesão ativaria células endoteliais, células de Schwann e outras células endoneurais, produtoras de TNF- α , o que causaria atividade eletrofisiológica ectópica, de caráter doloroso. Estes eventos são paralelos ao aumento do transporte axonal de TNF- α , o que alteraria o funcionamento do neurônio situado no gânglio da raiz dorsal (DRG), embora de modo ainda não esclarecido. Estudos preliminares em humanos apontaram para a possibilidade da ação terapêutica dos inibidores de citocinas, como a talidomida e os glicocorticóides (CHUDLER e ANDERSON, 2002).

O TNF- α está presente nos mamíferos em quantidades basais e é produzido principalmente por macrófagos e células-T (além de outras como adipócitos e fibroblastos) como resposta a vários estímulos, tendo sido observada sua atividade em outros processos além dos pró-inflamatórios já conhecidos, dentre os quais a diferenciação, proliferação e morte celular (apoptose), através de um mecanismo via sinalização dependente da caspase, além do mecanismo via transcrição do fator NF κ B. O aumento da compreensão sobre a fisiopatologia relaciona o TNF- α a várias outras doenças como câncer, AIDS, diabetes e artrite reumatóide idiopática, o que levou ao desenvolvimento de estratégias para diminuir sua produção, dentre as quais o uso da talidomida e derivados ftalimídicos (PFIZENMAIER, WAJANT, GRELL, 1996).

Verificou-se também que pacientes com anemia falciforme apresentam significativo aumento dos níveis circulantes de citocinas, incluindo o TNF- α (MALAVÉ, et al 1993). Desta forma, o aumento dos níveis sanguíneos de TNF- α em pacientes portadores de anemia falciforme pode agravar as crises vaso-oclusivas e levar ao aparecimento de episódios infecciosos e inflamatórios (MALAVÉ et al, 1993; LANARO et al, 2009; PATHARE et al, 2003).

Os principais tipos de agentes anti-inflamatórios utilizados como fármacos são os anti-inflamatórios não-esteroidais (AINEs) e os glicocorticoides, como a dexametasona e a hidrocortisona, que têm o seu uso limitado devido aos efeitos adversos relacionados ao seu uso prolongado. Os AINEs constituem a primeira linha terapêutica, tendo ação inibitória sobre a formação de prostaglandinas e tromboxanos, e inibindo a ação da enzima ciclo-oxigenase (COX), mas seus efeitos colaterais ao nível dos sistemas gastrointestinal e cardíaco não permitem o uso crônico destes medicamentos (RANG et al, 2007).

Os inibidores de TNF- α surgem como alternativa aos AINEs no tratamento de doenças crônicas, como a artrite reumatoide e a Doença de Crohn. Atualmente são comercializados três agentes inibidores da ação do TNF- α : etanercepte, que consiste de dois receptores solúveis de TNF ligados à imunoglobulina G (IgG) (OLSEN e STEIN, 2004), infliximabe, um anticorpo quimérico (combinação de anticorpos humanos e de camundongos) e adalimumabe, um anticorpo humanizado. Todos estes inibidores bloqueiam a ação do TNF- α porque se ligam a esta citocina na forma solúvel e impedem sua interação com as células, não agindo diretamente sobre receptores celulares. Os fatores limitantes para o uso destes agentes consistem no alto custo da terapia, nos efeitos adversos e complicações infecciosas (LOVELL et al, 2003). Os efeitos mais comuns são complicações alérgicas, infecções e eventos auto-imunes (DECKER et al, 2004), além de outros menos frequentes verificados em crianças, como mostrado nas Tabelas 1 e 2 (QUARTIER et al, 2003; RAMANAN, 2003; KAIPIAIENEN-SEPPANEN e LEINO, 2003; FOELDVARI, KRUEGER, SCNEIDER, 2003; TUTAR, et al, 2004, STHEPENS et al, 2003).

Tabela 1 – Efeitos adversos em crianças por inibidores de TNF- α .

Fármaco	Efeito Adverso	Autor
Etanercepte	Cefaléia, dor abdominal, rinite, náusea, febre, eritema, depressão, reações no local da injeção	Lovell
<u>Etanercepte</u>	Maniferações psiquiátricas graves, pancitopenia, eritema vasculítico, ganho de peso (6 a 20 Kg), neuropatia óptica retrobulbar, uveíte	<u>Quartier</u>
Etanercepte	Síndrome de ativação macrofágica	Ramanan
Etanercepte e Infiximabe	Uveíte recorrente	Kaipaienen-Seppann
Etanercepte e Infiximabe	Colecistite aguda não-obstrutiva	Foeldvari
Infiximabe	Eritema maculopapularurticariforme	Tutar
Adalimumabe	Gastrite aguda	Lovell

Tabela 2. Complicações infecciosas em crianças por uso dos anti TNF- α .

N	Tempo	Fármaco	Complicações Infecciosas	Autor
58	2anos	Etanercepte	faringite, infecções de pele, gripe, otite e conjuntivite, herpes zoster, apendicite/ peritonite, sepse, infecções urinárias e de vias aéreas superiores	Lovell
61	18meses	Etanercepte	Apendicite	Quartier
82	26 meses	Infiximabe	Herpes zoster, Meningite por <i>Lysteria</i>	Sthepens
150	16 sem	Adalimumabe	Herpes genital, pneumonia	Lovell

Devido aos efeitos colaterais associados aos atuais medicamentos anti-TNF-a e ao alto custo do tratamento, por se tratarem de fármacos obtidos por processos biotecnológicos (biofármacos), é importante a descoberta de novas micromoléculas antiinflamatórias que atuem pela inibição da produção do TNF- α . Baseado neste princípio, uma das primeiras

moléculas descrita com esta atividade e utilizada hoje em dia, com severo controle, devido aos seus conhecidos efeitos colaterais, foi a talidomida.

1.5 A descoberta da talidomida e o uso de Ftalimidas na inflamação

A talidomida foi primeiramente sintetizada em 1953, pela companhia suíça Ciba, que abandonou suas pesquisas devido aos aparentes baixos efeitos farmacológicos. Apesar disso, o mesmo composto foi sintetizado em 1954 pela companhia alemã Chemie Grünenthal, que empreendeu seu desenvolvimento e comercialização como fármaco anticonvulsivante no tratamento da epilepsia, mas que, posteriormente, verificou-se que era ineficaz (RENDALL, 1990). Contudo, esta imida cíclica causava rápido efeito de indução ao sono, o que a levou a ser recomercializada como agente sedativo e hipnótico, sob o nome de *Contergan*, em 1956. Rapidamente, a talidomida tornou-se a pílula mais popular para dormir e para enjoo matinal em gestantes, pois apresentava baixa toxicidade e acreditava-se que seu consumo fosse seguro até mesmo para crianças (McBRIDE, 1961, WARKANY, 1971).

Ao final dos anos 1950, 14 companhias farmacêuticas comercializavam a talidomida em mais de 40 países, com diversos nomes como *Distival* (Inglaterra), *Kevadon* (Canadá), *Softenon* (Portugal), *Sedalis*, *Isomin* (Alemanha), dentre outros, com diferentes indicações clínicas e marcas comerciais (McBRIDE, 1961). Na realidade, a talidomida foi considerada uma verdadeira panaceia, tendo sido descrita com efeitos favoráveis nas distonias vegetativas, tirotoxicose, perturbações gástricas de origem nervosa, hipertensão lábil, asma brônquica, psicose e dano cerebral (MELLIN e KATZENSTEIN, 1962).

No Brasil, as licenças de produtos à base de talidomida foram concedidas no final da década de 1950, para a comercialização sob os nomes *Sedalis*, *Sedin* e *Slip*, na forma de comprimidos e gotas, todos com indicação para distúrbios do sono (SALDANHA, 1994).

Nos Estados Unidos, o FDA (Food and Drug Administration), órgão do governo responsável pela aprovação dos medicamentos, considerou que as indicações técnicas do fármaco não eram capazes de oferecer segurança total a seus usuários, ainda que não tivessem sido registrados efeitos colaterais, e atrasou o processo de aprovação em função de relatos sobre a causa de neuropatia periférica em adultos (KELSEY, 1988).

Pouco tempo depois, uma escalada nos números de casos de má-formação em recém-nascidos, a focomelia, foi verificada e, em sequência, fez-se o alerta sobre a teratogenicidade da talidomida. A substância foi retirada do mercado e os casos de focomelia caíram abruptamente. Cerca de 12000 crianças foram afetadas (LENZ, 1962, McBRIDE 1961).

A causa do problema mostrou a importância da configuração absoluta na atividade biológica das substâncias e foi revelada ao se estudar o metabolismo da talidomida, molécula quiral, que permitiu evidenciar que o enantiômero (*S*) era oxidado seletivamente, formando espécies eletrofílicas do tipo areno-óxido, os quais reagem com nucleófilos bioorgânicos, induzindo teratogenicidade, enquanto o enantiômero (*R*) era responsável pelos efeitos sedativos e analgésicos (BARREIRO e FRAGA, 2008).

Em 1993, foi criado um método computacional de modelagem molecular que permitiu prever o perfil farmacodinâmico de um par de enantiômeros, tornando-se uma importante ferramenta na análise da relação de potência e no coeficiente quiral, pois permite correlacionar a atividade terapêutica e outros efeitos de cada isômero, evitando, assim, que outros casos semelhantes ao da talidomida ocorram (SERI-LEVY e RICHARDS, 1993).

Apesar da tragédia, após o impacto inicial a talidomida continuou sendo testada como terapia contra muitas doenças pelos pesquisadores (RENDALL, 1990). Em 1965, o médico israelense Jacob Sheskin usou a droga como sedativo em pacientes que sofriam de eritema nodoso leproso (ENL), doença que causa dor aguda e febre, além de inflamações das articulações e músculos, verificando que a talidomida causava redução da dor e da inflamação, propriedades desconhecidas até então para a substância (SHESKIN, 1965).

Desde então, as pesquisas se intensificaram. Em 1998 a talidomida foi aprovada oficialmente para o tratamento da lepra e muitas atividades terapêuticas relacionadas à talidomida e seus derivados foram relatadas contra doenças como artrite reumatóide, fotodermatite, lúpus eritematoso, malária, tuberculose, AIDS, câncer de cólon, câncer de mama, tumor de próstata, mieloma, diabetes, glioblastoma, entre outras (HASHIMOTO, 1998; RAJE e ANDERSON. 1999; DAVIES et al, 2001).

Embora as propriedades anti-inflamatórias da talidomida tenham sido descobertas nos anos 1960, somente nos anos 1990 o mecanismo de ação dessa substância no tratamento de ENL foi proposto e compreendido, levando a um melhor entendimento sobre sua atividade

biológica. Seu alvo de ação farmacológica nos processos inflamatórios foi descoberto como sendo um inibidor da produção do fator de necrose tumoral alfa (TNF- α), através da modulação da produção de seu RNA mensageiro (SAMPAIO et al, 1993).

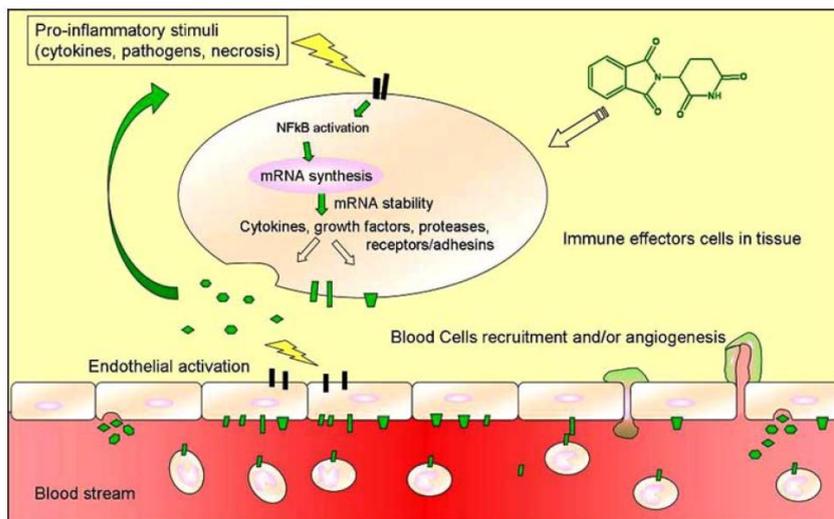


Figura 11. Alvos da talidomida nos processos inflamatórios (SAMPAIO et al, 1993).

1.6 Efeito anti-TNF- α da Talidomida e de Ftalimidias

Segundo Hashimoto, a atividade reguladora da talidomida sobre a produção de TNF- α mostrou ser bidirecional, dependente dos tipos de células utilizadas e dos estímulos para a sua produção, em testes realizados com dois tipos de culturas de células com leucemia, HL-60 e THP-1. Ambos os tipos de células começaram a produzir TNF- α quando estimuladas com vários compostos, como o tetradecanoilforbol 13-acetato (TPA, um ativador da proteína cinase C) e o ácido ocadóico (OA, um inibidor da proteína fosfatase 2A) (HASHIMOTO, 1998) (Figura 12).

Nas células HL-60, verificou-se que, com o estimulante TPA, a talidomida aumentou a produção de TNF- α (gráfico a), e com o estimulante OA verificou-se uma redução de 100%, na concentração de 100 μ M (gráfico b). Nas células THP-1, em ambos os estimulantes houve redução de 80-100%, mostrando-se a atividade anti TNF- α da talidomida.

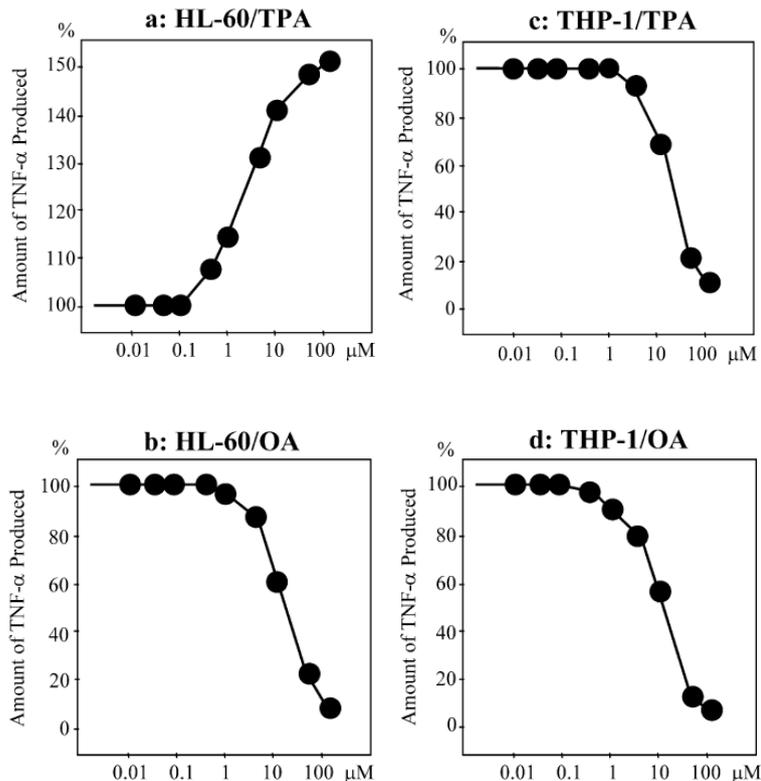


Figura 12. Regulação bidirecional da produção de TNF- α pela talidomida (o eixo das abcissas mostra a concentração da talidomida) (HASHIMOTO, 1997).

Outro modelo de estudos da atividade anti-TNF- α da talidomida envolveu o metabolismo do óxido nítrico, por estimulação de culturas celulares com lipopolissacarídeos (LPS). O LPS é um constituinte da parede celular de bactérias Gram-negativas e tem os seguintes efeitos no organismo: ativação do complemento (com a formação de C3a e C5a, proteínas que estimulam a liberação de histamina pelos mastócitos, causando, assim, vasodilatação e aumento da permeabilidade vascular. O C5a também ativa a via da lipoxigenase do metabolismo do ácido araquidônico, causando liberação de mais mediadores da inflamação), ativação do fator de Hageman (leva à ativação da coagulação, da fibrinólise e do sistema de cininas-liberação de bradicidina) e estimulação de resposta imune inata. O LPS desencadeia a produção de mediadores químicos para a inflamação em células (TWEEDIE et al, 2009) e o resultado obtido por esse modelo confirmou a inibição da produção de TNF- α .

Investigações estruturais realizadas mostraram que o grupo glutarimídico é o responsável pela atividade sedativa e hipnótica da talidomida, além do efeito teratogênico, já descrito acima, enquanto o grupo ftalimídico é o responsável pelo efeito anti-androgênico observado. Como este efeito está relacionado à atividade imunomodulatória pela regulação do fator de crescimento das citocinas, associou-se a atividade anti-TNF- α ao grupo ftalimídico (SHIBATA et al, 1995) e este passou a ser utilizado como farmacóforo para esta atividade em um sem número de compostos.

N-alquilftalimidas contendo um grupo esférico, como um adamantil (**18**) ou análogos, apresentaram potente atividade anti-TNF- α (TSUJI et al, 2000), assim como as *N*-arilftalimidas e análogos com substituintes mostraram atividade anti-inflamatória muito maiores que a talidomida, especialmente com grupos alquila na posição orto (**19**) (SHIBATA et al, 1994).

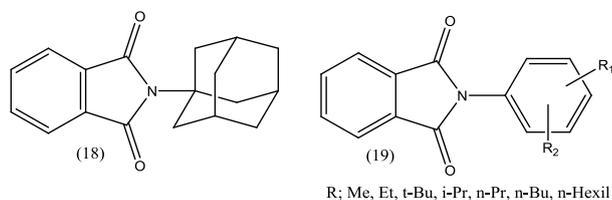


Figura 13. *N*-alquil e *N*-arilftalimidas com atividade anti-inflamatória (TSUJI et al, 1995; SHIBATA et al, 1994).

Almeida e colaboradores mostraram a atividade anti-TNF- α de compostos contendo dois grupos ftalimida (Figura 14), em células sanguíneas mononucleares periféricas (PBMC) humanas estimuladas com lipopolissacarídeos (LPS) *in vitro*, maiores que as verificadas para a talidomida (ALMEIDA et al, 2007).

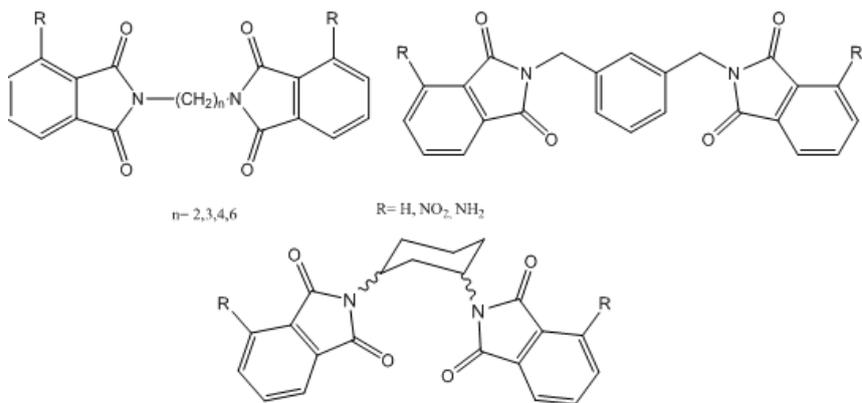


Figura 14. Bis-ftalimidas com atividade anti-TNF- α (ALMEIDA et al, 2007).

A atividade anti TNF- α de ftalimidas derivadas da talidomida foi demonstrada por Lima e colaboradores, modificando estruturalmente a talidomida pela introdução de substituintes no anel ftalimídico e pela alteração da glutarimida por grupos alifáticos, aromáticos e heterocíclicos (Figura 15) (LIMA et al, 2006).

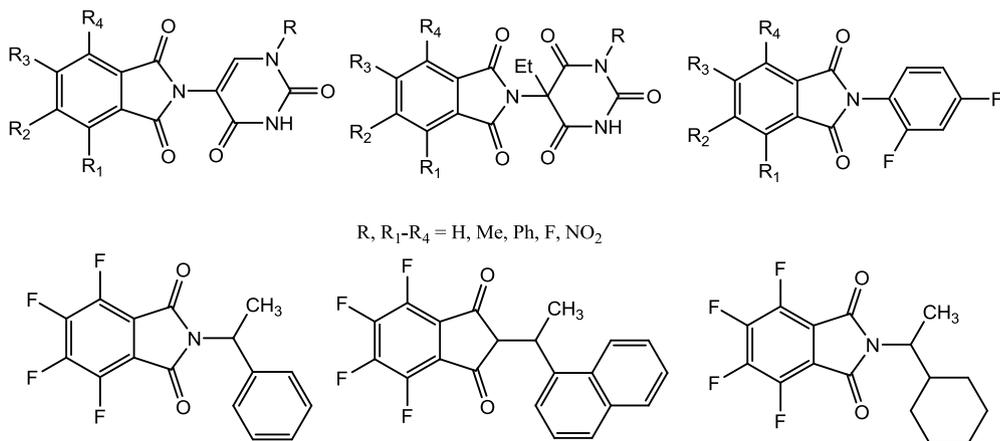


Figura 15. Ftalimidas substituídas com atividade anti TNF- α (LIMA et al, 2006).

Recentemente, em 2010, Akgun e Karamlekoglu publicaram uma revisão mostrando as atividades anti-inflamatórias de uma diversidade de outras moléculas análogas à talidomida com atividades inibitórias da produção do TNF- α (Figura 16) (AKGUN e KARAMELEKOGLU, 2010) e diversos trabalhos são frequentemente publicados apresentando novas ftalimidas relatando a mesma atividade.

substituídas, as ftalazoilidrazidas (**20-22**) (Figura 17), partindo dos ácidos benzoicos e aldeídos, passando pelos ésteres metílicos, para a síntese das hidrazidas por reação com hidrazina e posterior reação com anidrido ftálico, a fim de formar o anel ftalimídico (Esquema 7).

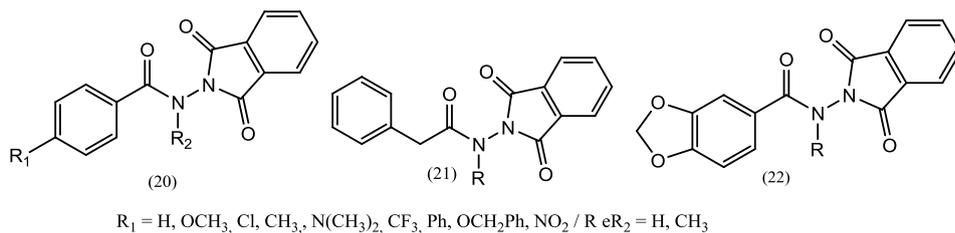
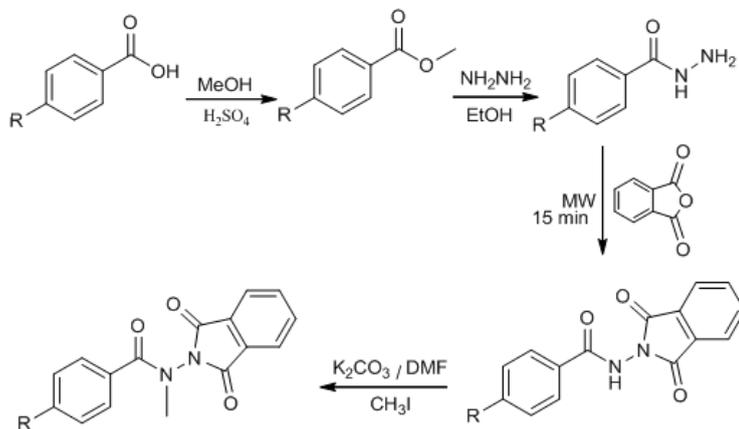


Figura 17. Ftalazoilidrazidas sintetizadas neste trabalho.



Esquema 7 – Proposta para síntese de ftalazoilidrazidas.

2. OBJETIVOS

2.1 GERAL

Sintetizar, usando radiação de microondas, ftalazoilidrazidas e *N*-metilftalazoilidrazidas aromáticas funcionalizadas, planejadas como possíveis inibidoras da produção do TNF- α e testar suas atividades anti-inflamatórias frente a linhagens de macrófagos.

2.2 ESPECÍFICOS

- a) Sintetizar ésteres metílicos a partir das reações dos respectivos ácidos benzoicos (**23**) e do ácido fenilacético (**25**) com metanol (Esterificação de Fisher) e através da reação de Yamada, a partir dos aldeídos.
- b) Sintetizar hidrazidas, através de reações de hidrazinólise dos ésteres funcionalizados.
- c) Sintetizar ftalazoilidrazidas, em reator de microondas, por reações das hidrazidas com anidrido ftálico.
- d) Sintetizar *N*-metilftalazoilidrazidas, em reator de microondas, através de reações de *N*-metilação (com iodeto de metila, usando carbonato de potássio como base e *N,N*-dimetilformamida como solvente).
- e) Caracterizar os compostos sintetizados, através de técnicas espectroscópicas (IV, CG-EM, RMN ^1H e ^{13}C).
- f) Avaliar a atividade biológica anti-TNF- α *in vitro* das moléculas sintetizadas.

2.3 PLANEJAMENTO ESTRUTURAL

O planejamento mostrado no Esquema 8 envolve as etapas de simplificação molecular, hibridação molecular e homologação (inserção do grupo metileno – CH₂): a primeira etapa do planejamento consistiu da simplificação molecular do protótipo quinazolínico descrito como inibidor do NF-κB, através da abertura deste anel heteroaromático (em verde pode-se ver a estrutura que origina a subunidade benzamídica dos compostos planejados e seu homólogo superior).

Esta técnica de simplificação molecular foi inicialmente empregada na obtenção de compostos estruturalmente mais simples, a partir de protótipos naturais ativos, estruturalmente complexos (BARREIRO, 2002), mas hoje em dia é amplamente empregada no planejamento de novos compostos bioativos a partir, também, de estruturas sintéticas.

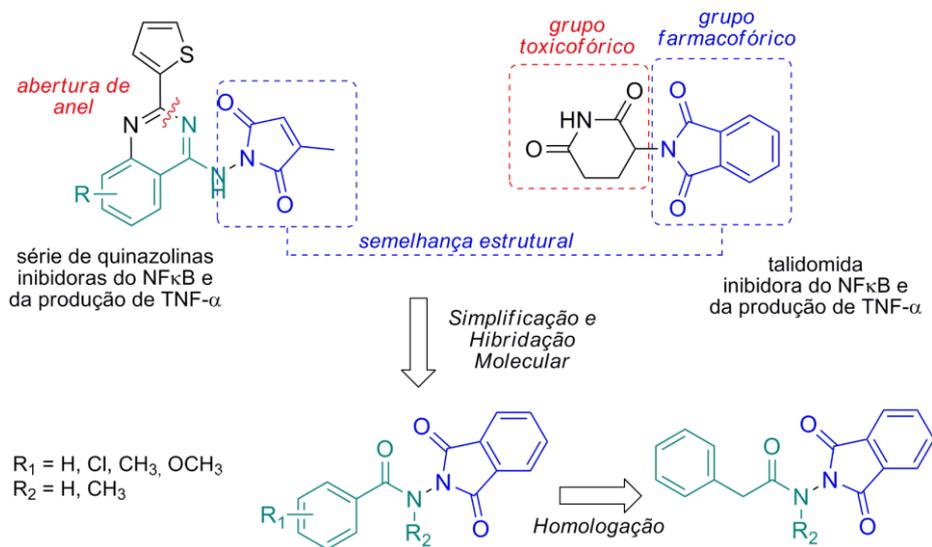
Em seguida, lançou-se mão da estratégia de hibridação molecular, que tem como princípio a conjugação de características estruturais definidas de dois compostos bioativos distintos em uma única nova molécula (BARREIRO e FRAGA, 2008), através da troca da metil-maleimida do protótipo quinazolínico, pela subunidade ftalimídica da talidomida, conhecido farmacóforo para a atividade inibitória do TNF-α.

A escolha de um grupo farmacofórico no planejamento de novos protótipos é importante, pois as interações do composto-protótipo com o receptor, característica da fase farmacodinâmica da ação dos fármacos, são muito específicas e este grupamento compreende a subunidade estrutural essencial à atividade farmacológica observada em um dado composto bioativo. Esta subunidade pode ser representada por grupamento(s) funcional(is) ou um arranjo estrutural que, modificado, reduz, senão elimina, a atividade (WERMUTH e LANGER, 1993).

Os substituintes em R foram escolhidos de forma a se variar ao máximo as características físico-químicas dos compostos utilizando grupos com diferentes valores de π -hansch (parâmetros de lipofilicidade) e σ -hammett (parâmetros eletrônicos).

Por fim, uma *N*-metilação foi planejada explorando-se a acidez do hidrogênio amídico dos compostos iniciais. Esta derivatização teve como princípio explorar as modificações estruturais que o grupo metila exerce sobre a conformação de amidas, efeito este que está amplamente descrito e que pode originar compostos com características estruturais e farmacológicas completamente distintas, pois é sabido que o grupo metila, apesar de fazer apenas interações de dipolo induzido, as mais fracas que ocorrem (BARREIRO e FRAGA,

2008), exerce efeitos estereoeletrônicos sobre as biomoléculas (CHU, 1980), que podem levar a mudanças significativas nos efeitos biológicos das moléculas, como a seletividade entre biorreceptores, o aumento de potência ou proteção frente ao metabolismo enzimático (WERMUTH, 2008).



Esquema 8. Planejamento estrutural das ftalazoilidrazidas.

3 MATERAIS E MÉTODOS

3.1 Metodologia Sintética

A fase orgânica das reações foi tratada com sulfato de sódio anidro, filtrada e o solvente foi evaporado à pressão reduzida em evaporador rotatório IKA RV10 e/ou Fisatom modelo 802D.

Para a cromatografia em camada delgada analítica (c.c.d.a.) foram utilizadas placas de alumínio Kieselgel 60 (HF-254, Merck) com 0,2 mm de espessura.

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

A determinação dos pontos de fusão foi realizada em aparelho Quimis modelo Q340.23 e os valores não foram corrigidos.

Nas cromatografias de adsorção em coluna, utilizou-se gel de sílica 100-200 *mesh* (Merck) como fase estacionária e *n*-hexano:acetato de etila ou CH₂Cl₂ como fase móvel.

Para as sínteses em microondas foi usado um reator DISCOVER, da marca CEM.

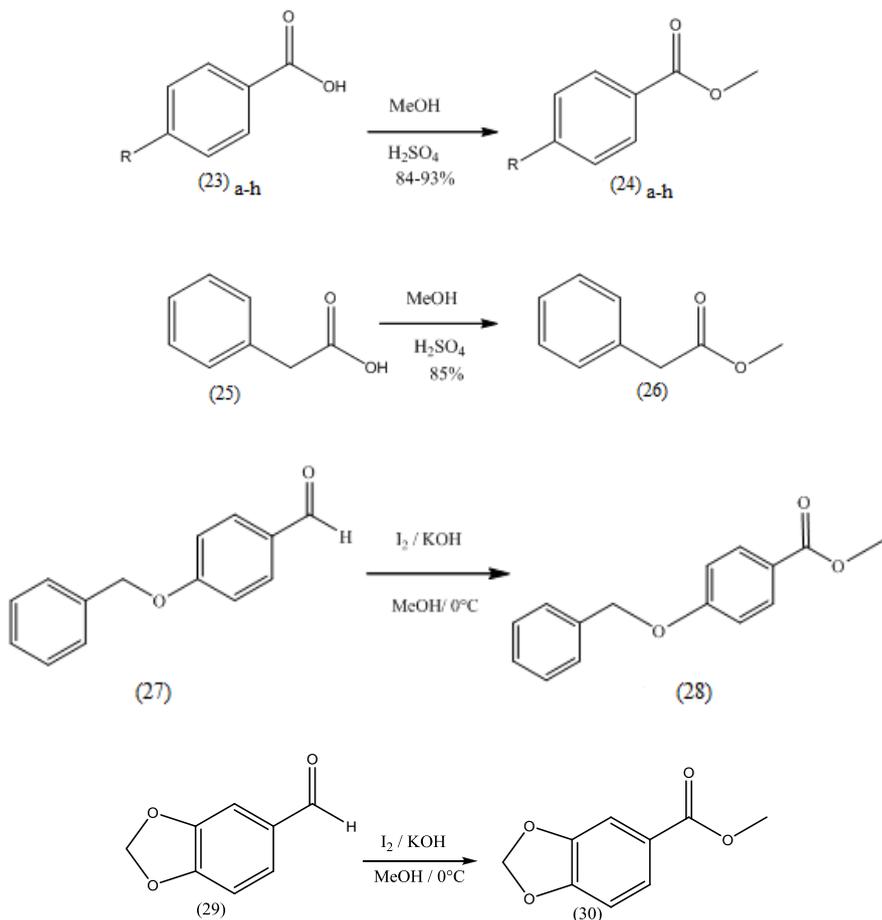
Os espectros de infravermelho (IV) foram obtidos em um espectrômetro Bruker vertex 70 (Central Analítica-UFRRJ). As amostras foram examinadas sob a forma de pastilhas de brometo de potássio (KBr) e filme em cloreto de sódio (NaCl). Os valores de absorção foram pulsados em número de onda, utilizando como unidade o centímetro recíproco (cm⁻¹).

Os espectros de CG-EM foram obtidos em aparelho Shimadzu GCMS-QP2010 Plus (Central Analítica-UFRRJ).

Os espectros de RMN-¹H e RMN-¹³C foram obtidos em aparelhos Bruker DPX-400 (Central Analítica-UFRRJ) ou Bruker DRX-500 (Central Analítica-UFRRJ), operando a 400 MHz e 500 MHz, respectivamente. As amostras foram dissolvidas em DMSO-d₆ ou CDCl₃ contendo tetrametilsilano (TMS) como referência interna e colocadas em tubos de 5 mm de diâmetro.

As áreas dos picos foram obtidas por integração eletrônica e sua multiplicidade descrita com: s-singlete / d-dublete / t-triplete / q-quarteto / m-multiplete / dd-duplo dublete.

3.2 Síntese dos Ésteres metílicos (Benzoatos de metila)



a: R=H, b: R=OCH₃, c: R=Cl, d: R=CH₃, e: R=N(CH₃)₂, f: R=CF₃, g: R=Ph, h: R=NO₂.

Esquema 9. Rota sintética dos Ésteres metílicos.

Procedimento geral para a formação dos ésteres (24) a-h e (26)

Em balões de fundo redondo de 125 mL foram colocados o ácido correspondente (23 a-i e 25), metanol em excesso, ácido sulfúrico concentrado, agitou-se e colocou-se a mistura reacional sob refluxo (condensador) a 60°C por 3 horas. Após esse tempo, o excesso de metanol foi evaporado em rotaevaporador. A mistura foi transferida para um funil de separação e sofreu partição com 3 frações de 30mL de diclorometano (CH₂Cl₂), além de 1

fração de 15 mL de carbonato de sódio (Na_2CO_3) a 20% e 1 fração de 20 mL de água destilada. A fase aquosa foi descartada e a fase orgânica foi evaporada, o produto foi filtrado a vácuo, pesado e o rendimento determinado.

Procedimento geral para a formação do éster (28) (YAMADA, et al, 1992).

A uma solução de *p*-benzoxibenzaldeído (27) em 4 mL de metanol, mantida a 0°C, adicionou-se seguidamente, uma solução de KOH em 4 mL de metanol e uma solução de I_2 em 4 mL de metanol. As soluções metanólicas de KOH e I_2 devem ser adicionadas separadas e rapidamente, pois o agente oxidante (HIO) gerado “*in situ*” não é estável e pode ser rapidamente convertido a KIO_3 . A reação foi acompanhada por cromatografia em camada delgada analítica e após 3h foi evidenciado o total consumo dos produtos de partida. Ao meio reacional foram adicionadas pequenas porções de solução aquosa saturada de NaHSO_3 , até o total desaparecimento da coloração castanha. A purificação do produto (28) foi realizada por redução do volume de solvente por evaporação à pressão reduzida e subsequente precipitação em gelo seguida de filtração em funil de Büchner levando, após secura do produto (90% de rendimento), a um precipitado branco.

Procedimento geral para a formação do éster (30) (YAMADA et al, 1992).

A uma solução de 0,045 g (0,30 mmol) de piperonal (29) em 4 mL de metanol, mantida à 0°C, adicionou-se seguidamente, uma solução de 0,050 g (0,09 mmol) de KOH em 4 mL de metanol e uma solução de 0,100g de I_2 (0,39 mmol) em 4 mL de metanol. A reação foi acompanhada por cromatografia em camada fina e após *ca.* 1h foi evidencializado o total consumo do produto de partida (95). Ao meio reacional foram adicionadas pequenas porções de solução aquosa saturada de NaHSO_3 , até o total desaparecimento da coloração castanha. A purificação do produto foi realizada por redução do volume de solvente por evaporação à pressão reduzida e subsequente precipitação em gelo seguida de filtração em funil de Büchner levando, após secura do produto,(90% de rendimento), a um precipitado branco. P.F.=53°C (Rf *n*-hexano:acetato 30% = 0,48).

24 a – Benzoato de metila (M=136g/mol).

Obteve-se um óleo amarelado, com rendimento de 92%,.

24 b – *p*-metoxibenzoato de metila (M= 166g/mol).

Obteve-se um sólido branco, com rendimento de 90%.

24 c – *p*-clorobenzoato de metila (M=170,5g/mol).

Obteve-se um sólido branco, com rendimento de 93%.

24 d – *p*-metilbenzoato de metila (M=150 g/mol)

Obteve-se um sólido de cor bege, com rendimento de 90%.

24 e – *p*-dimetilaminobenzoato de metila (M=179 g/mol).

Obteve-se um sólido amarelo, com rendimento de 88%.

24 f – *p*-trifluorometilbenzoato de metila (M=204g/mol)

Sólido branco, obtido com 86% de rendimento.

24 g – *p*-fenilbenzoato de metila (M=212 g/mol).

Sólido bege, obtido com 91% de rendimento.

24 h- *p*-nitrobenzoato de metila (M=181 g/mol).

Obteve-se um sólido branco, com rendimento de 87%.

26 – 2-fenilacetato de metila (M=150 g/mol).

Obteve-se um sólido branco, com rendimento de 85%.

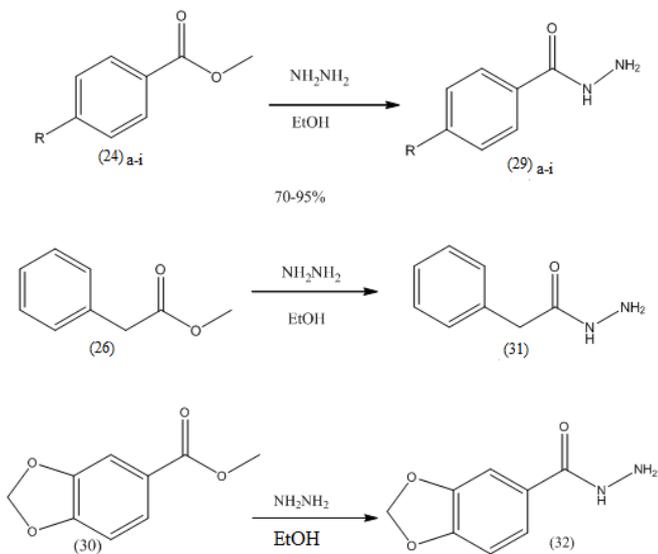
28 – *p*- benzoxibenzoato de metila (M= 242 g/mol).

Sólido branco amarelado, com rendimento de 58%.

30 – Metilenodioxibenzoato de metila (M=180 g/mol).

Sólido acinzentado, com rendimento de 85%.

3.3 Síntese das hidrazidas.



a: R=H, b: R=OCH₃, c: R=Cl, d: R=CH₃, e: R=N(CH₃)₂, f: R=CF₃, g: R=Ph, h: R=NO₂, i: R=OCH₂Ph.

Esquema 10. Rota sintética para obtenção de Hidrazidas.

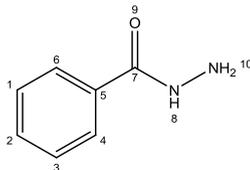
Procedimento geral para a formação das hidrazidas (29), (31) e (32)

Em balões de 50 mL, foram colocados os ésteres correspondentes, sendo solubilizados em etanol. Em seguida, foram adicionados 10 equivalentes molares de hidrato de hidrazina para cada éster. A mistura reacional foi colocada sob refluxo a 80°C, com agitação, até que, por cromatografia em camada delgada analítica fosse verificado o término da reação (3h). Então, o excesso de etanol foi evaporado em rotavapor e a mistura foi vertida para um becher contendo água e gelo. Verificou-se a precipitação dos produtos, que foram filtrados. As soluções residuais contendo os produtos não-precipitados foram, isoladamente, transferidas para funis de separação e sofreram partição com acetato de etila. A fase aquosa foi descartada e a fase orgânica foi tratada com sulfato de sódio (Na_2SO_4) e evaporado o acetato. O produto foi filtrado e seco.

As hidrazidas não foram caracterizadas com espectrometria de massas, pois não eluem na coluna de cromatografia gasosa.

29 a - Fenilidrazida (M. = 136 g/mol).

Obteve-se um sólido de coloração levemente amarelada, com rendimento de 82% (2,45g) e ponto de fusão 104-105°C.

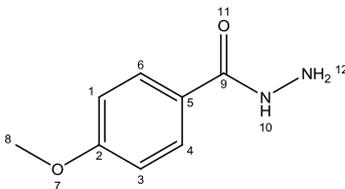


RMN-¹H (500 MHz) DMSO-d₆ / TMS (δ-ppm): 9,78 (s, N-H, H₈), 7,82 (d, C-H, 2H, H₄ e H₆), 7,47 (m, C-H, 3H, H₁, H₂ e H₃), 4,50 (s, 2H, NH₂, H₁₀).

RMN-¹³C (500 MHz) DMSO-d₆ / TMS (δ-ppm): 165,91 (C=O, C₇), 133,29 (C₅), 131,01 (C-H, C₂), 128,26 (C-H, C₁ e C₃), 126,92 (C-H, C₄ e C₆).

29 b - *p*-metoxifenilidrazida (M. = 166 g/mol).

Obteve-se um sólido de coloração acinzentada, com rendimento de 85% (0,6g) e ponto de fusão 128-129°C.

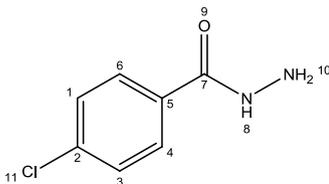


RMN-¹H (500 MHz) DMSO-d₆ / TMS (δ-ppm): 9,62 (s, N-H, H₁₀), 7,81 (d, C-H, 2H, H₄ e H₆), 6,96 (d, C-H, 2H, H₁ e H₃), 4,43 (s, 2H, NH₂, H₁₂), 3,79 (s, 3H, O-CH₃, H₈).

RMN-¹³C (500 MHz) DMSO-d₆ / TMS (δ-ppm): 165,65 (C=O, C₉), 161,42 (C₂), 128,70 (C-H, C₄ e C₆), 125,51 (C₅), 113,50 (C-H, C₁ e C₃), 55,27 (CH₃-O, C₈).

29 c – *p*-clorofenilidrazida (M= 170,5 g/mol).

Obeve-se um sólido branco, com rendimento de 85% (0,6g) e ponto de fusão 164-165°C.

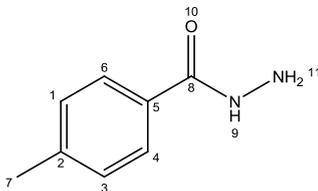


RMN-¹H (500 MHz) DMSO-d₆ / TMS (δ-ppm): 9,85 (s, N-H, H₈), 7,83 (d, C-H, 2H, H₄ e H₆), 7,51 (d, C-H, 2H, H₁ e H₃), 4,52 (s, NH₂, 2H, H₁₀).

RMN-¹³C (500 MHz) DMSO-d₆ / TMS (δ-ppm): 165,35 (C=O, C₂), 136,42 (C₂), 132,62 (C₅), 129,41 (d, C-H, C₄ e C₆), 128,94 (d, C-H, C₁ e C₃).

29 d – *p*-metilfenilidrazida (M= 150g/mol)

Um sólido cinza foi obtido, com rendimento de 92% e ponto de fusão 109-110 °C.

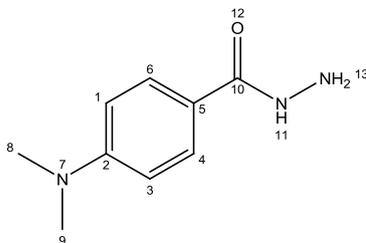


RMN-¹H (500 MHz) DMSO-d₆ / TMS (δ-ppm): 9,72 (s, N-H, H₉), 7,75 (d, H₄ e H₆), 7,26-7,27 (d, H₁ e H₃), 4,48 (s, NH₂, H₁₁), 2,36 (s, CH₃, H₇).

RMN-¹³C (500 MHz) DMSO-d₆ / TMS (δ-ppm): 166,37 (C=O, C₈), 141,39 (C₂), 130,98 (C₅), 129,33 (C-H, C₁ e C₃), 127,44 (C-H, C₄ e C₆), 21,44 (CH₃, C₇).

29 e – *p*-dimetilaminofenilidrazida (M= 179 g/mol)

Foi obtido um sólido amarelo, com rendimento de 80% e ponto de fusão 137-138°C.

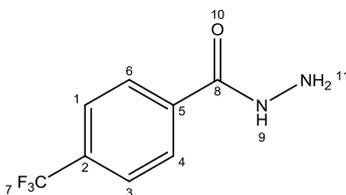


RMN-¹H (500 MHz) DMSO-d₆ / TMS (δ-ppm): 9,42 (s, N-H, H₁₁), 7,72 (d, C-H, 2H, H₄ e H₆), 6,70 (d, C-H, 2H, H₁ e H₃), 4,36 (s, NH₂, H₁₃), 2,97 (s, N-CH₃, 6H, H₈ e H₉).

RMN-¹³C (500 MHz) DMSO-d₆ / TMS (δ-ppm): 166,74 (C=O, C₁₀), 152,50 (C₂), 128,72 (C-H, C₄ e C₆), 120,42 (C₅), 111,35 (C-H, C₁ e C₃), 40,21 (N-CH₃, C₈ e C₉).

29 f – *p*-trifluorometilfenilidrazida (M= 204 g/mol).

Um sólido bege foi obtido, com rendimento de 90% e ponto de fusão 140-141 °C.

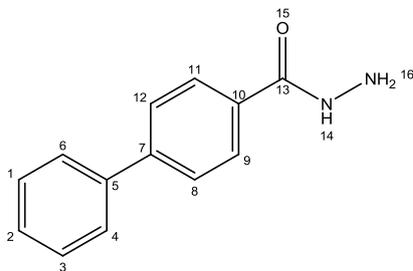


RMN-¹H (500 MHz) DMSO-d₆ / TMS (δ-ppm): 10,05 (s, N-H, H₉), 8,03-8,04 (d, C-H, 2H, H₄ e H₆), 7,85 (d, C-H, 2H, H₁ e H₃), 4,64 (s, NH₂, 2H, H₁₁).

RMN-¹³C (500 MHz) DMSO-d₆ / TMS (δ-ppm): 165,02 (C=O, C₈), 137,61 (C-H, C₅), 131,36 (q, C-CF₃, C₂), 128,35 (C-H, C₄ e C₆), 125,83 (C-H, C₁ e C₃).

29 g – bifenilidrazida (M= 212 g/mol).

Obeve-se um sólido branco, com rendimento de 75% e ponto de fusão 120-121°C.

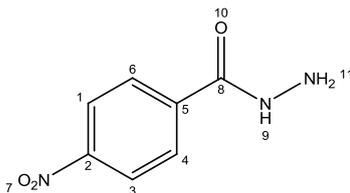


RMN-¹H (200 MHz) DMSO-d₆ / TMS (δ-ppm): 9,85 (s, 1H, N-H), 7,93 (d, 2H, H₉ e H₁₁), 7,77-7,69 (m, 4H, H₈, H₁₂, H₄ e H₆), 7,52-7,36 (m, 3H, H₃, H₁ e H₂), 4,55 (s, 2H, NH₂).

RMN-¹³C (200 MHz) DMSO-d₆ / TMS (δ-ppm): 166,13 (C=O, C₁₃), 143,17 (C₇), 139,74 (C₅), 132,66 (C₁₀), 129,57 (C₉ e C₁₁), 128,55 (C₂), 128,17 (C₁ e C₃), 127,37 (C₈ e C₁₂), 127,08 (C₄ e C₆).

29 h - *p*-nitro fenilidrazida (M= 181 g/mol).

O produto é um sólido amarelado, obtido com 80% de rendimento e ponto de fusão 153-154°C.

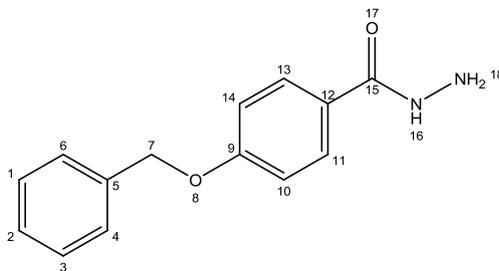


RMN-¹H (500 MHz) DMSO-d₆ / TMS (δ-ppm): 10,16 (s, N-H, H₉), 8,32 (d, C-H, 2H, H₁ e H₃), 8,07 (d, C-H, 2H, H₄ e H₆), 4,67 (s, NH₂, H₁₁).

RMN-¹³C (500 MHz) DMSO-d₆ / TMS (δ-ppm): 164,39 (C=O, C₈), 149,41 (C-NO₂, C₂), 139,51 (C₅), 128,94 (C-H, C₁ e C₃), 124,07 (C-H, C₄ e C₆).

29 i – *p*-benzoxifenilidrazida (M= 242 g/mol).

Obteve-se um sólido branco, com 74% rendimento e ponto de fusão 144-145°C.

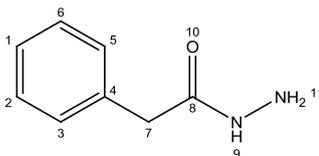


RMN-¹H (500 MHz) DMSO-d₆ / TMS (δ-ppm): 9,64 (s, N-H, H₁₆), 8,05 (d, 2H, H₁₁ e H₁₃), 7,52 (d, 2H, H₄ e H₆), 7,44 (m, H₁ e H₃), 7,38 (m, H₂), 7,22 (d, H₁₀ e H₁₄), 5,25 (s, 2H, H₇), 4,43 (s, 2H, NH₂, H₁₈).

RMN-¹³C (500 MHz) DMSO-d₆ / TMS (δ-ppm): 165,20 (C=O, C₁₅), 162,31 (C-O, C₉), 136,98 (C₅), 130,35 (C-H, C₁₁ e C₁₃), 129,01 (C-H, C₁ e C₃), 128,39 (C-H, C₂), 128,36 (C-H, C₄ e C₆), 123,49 (C₁₂), 115,37 (C-H, C₁₀ e C₁₄), 70,01 (C₇).

31 - Benzilidrazida (M= 150 g/mol).

Sólido acinzentado, com rendimento de 80% e ponto de fusão 108-109°C.

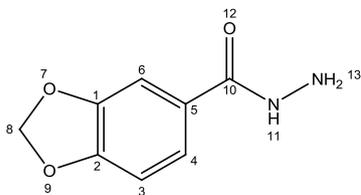


RMN-¹H (500 MHz) DMSO-d₆ / TMS (δ-ppm): 9,26 (s, N-H, H₈), 7,30 (dd, C-H, 2H, H₂ e H₆), 7,28 (d, C-H, H₁), 7,24 (d, C-H, 2H, H₃ e H₅), 4,25 (s, NH₂, 2H, H₁₁), 3,42 (s, CH₂, 2H, H₇).

RMN-¹³C (500 MHz) DMSO-d₆ / TMS (δ-ppm): 170,09 (C=O, C₈), 136,77 (C₄), 129,45 (C-H, C₃ e C₅), 128,68 (C-H, C₂ e C₆), 126,86 (C-H, C₁), 40,98 (CH₂, C₇).

32 – Benzodioxioilcarboidrazida (M= 180 g/mol).

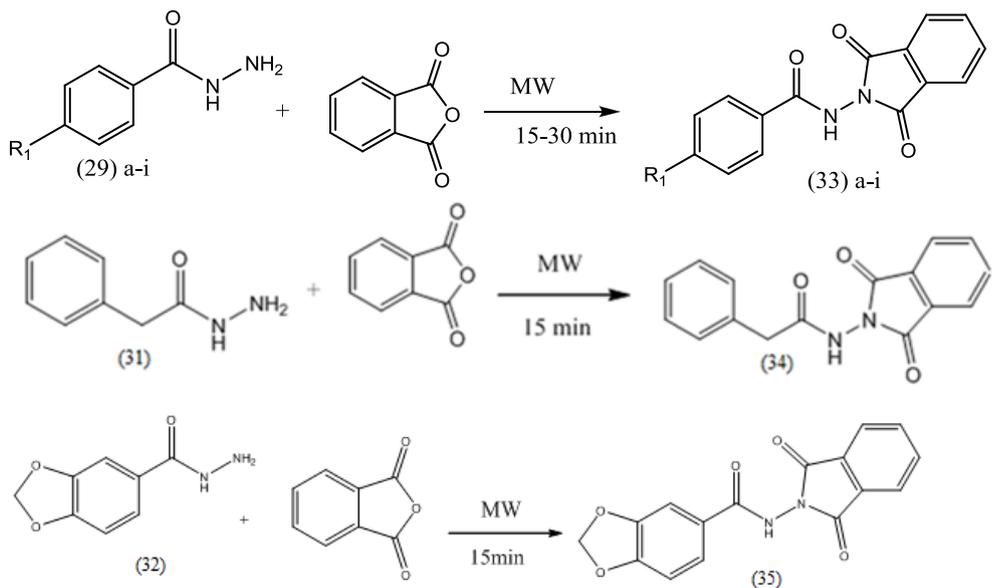
Obteve-se um sólido branco, com rendimento de 84% e ponto de fusão 170-171°C.



RMN-¹H (400 MHz) DMSO-d₆ / TMS (δ-ppm): 9,62 (s, N-H, H₁₁), 7,45 (s, C-H, H₆), 7,41 (d, C-H, H₄), 6,96 (d, C-H, H₃), 6,08 (s, O-CH₂-O, 2H, H₈), 3,87 (s, NH₂, 2H, H₁₃).

RMN-¹³C (400 MHz) DMSO-d₆ / TMS (δ-ppm): 165,30 (C=O, C₁₀), 149,61 (C₂), 147,31 (C₁), 127,21 (C₅), 121,93 (C-H, C₄), 107,9 (C-H, C₆), 107,01 (C-H, C₃), 101,65 (O-CH₂-O, C₈).

3.4 Síntese das Ftalazoilidrazidas



a: R=H, b: R=OCH₃, c: R=Cl, d: R=CH₃, e: R=N(CH₃)₂, f: R=CF₃, g: R=Ph, h: R=NO₂, i: R=OCH₂Ph.

(45- 86%)

Esquema 11. Rota sintética para obtenção das Ftalazoilidrazidas

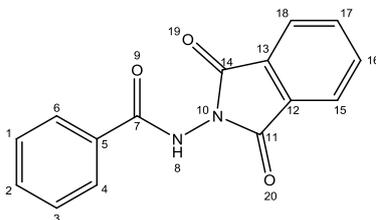
Procedimento geral para a síntese das ftalazoilidrazidas (33), (34) e (35)

Em um gral com pistilo foram pulverizados e misturados as respectivas hidrazidas com 1,1 equivalentes molares de anidrido ftálico e, como verificou-se com c.c.d.a., após a reação, que estava com muito excesso, reduziu-se para 1,05 equivalentes, transferidos para um balão de 50mL, sem solvente, com agitador magnético e o balão foi colocado no reator de microondas com a seguinte programação: Pot. = 50W, Temp. = 130°C, Pressão normal, Run Time = 2 minutos e Tempo de reação = 15 minutos (esta programação foi denominada HIDFTA). Após a verificação do final da reação com c.c.d.a., o produto foi recristalizado em etanol, filtrado a vácuo e seco.

33 a- Fenilftalazoilidrazida (M= 266 g/mol).

Obeve-se um sólido branco, com rendimento de 71% (0,28g), ponto de fusão 209-210°C, caracterizado por espectrometria de massas com os seguintes picos:

m/z 266 (1%), m/z 249 (1%), m/z 207 (1%), m/z 161 (1%), m/z 147 (1%), m/z 133 (1%), m/z 119 (1%), m/z 105 (100%), m/z 90 (1%), m/z 77 (35%), m/z 63 (1%), m/z 51 (5%) e m/z 40 (1%).



RMN-¹H (400 MHz) DMSO-d₆ / TMS (δ-ppm): 11,36 (s, N-H), 8,04 (d, C-H, 2H, H₄ e H₆), 8,0 (dd, C-H, 2H, H₁₆ e H₁₇), 7,97-7,98 (d, C-H, 2H, H₁₅ e H₁₈), 7,70 (m, C-H, H₂), 7,59 (dd, C-H, 2H, H₁ e H₃).

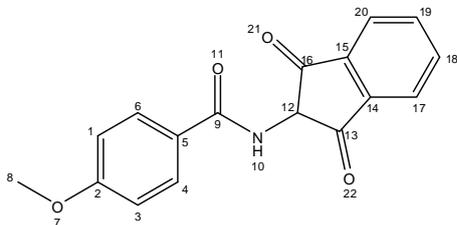
RMN-¹³C (400 MHz) DMSO-d₆ / TMS (δ-ppm): 165,86 (C=O, C₇, C₁₁ e C₁₄), 135,91(C-H, C₁₆ e C₁₇), 133,33, C-H, C₂), 131,17 (C₅), 129,95 (C₁₂ e C₁₃), 129,3 (C-H, C₁ e C₃), 128,25 (C-H, C₄ e C₆), 124,36 (C-H, C₁₅ e C₁₈).

I.V. Max. (KBr) γ - cm⁻¹: 3228,05 (N-H), 1739,06 (C=O da ftalimida, C₁₁ e C₁₄), 1652,26 (C=O, C₇).

33 b – *p*-metoxifenilftalazoilidrazida (M= 296 g/mol)

Obteve-se um sólido bege com ponto de fusão 228-229 °C, e rendimento de 80 %, com os seguintes picos no espectro de CG-EM:

m/z 296 (1%), m/z 161 (1%), m/z 147 (1%), m/z 135 (100%), m/z 120 (1%), m/z 107 (20%), m/z 92 (20%), m/z 77 (30%), m/z 64 (10%), m/z 50 (5%), m/z 41 (1%).



RMN-¹H (400 MHz) DMSO-d₆ / TMS (δ-ppm): 11,18 (s, N-H), 8,02 (d, C-H, 2H, H₄ e H₆), 7,98 (dd, C-H, 2H, H₁₈ e H₁₉), 7,96 (d, C-H, 2H, H₁₇ e H₂₀), 7,17 (d, C-H, 2H, H₁ e H₃), 3,87 (s, O-CH₃, 3H, H₈).

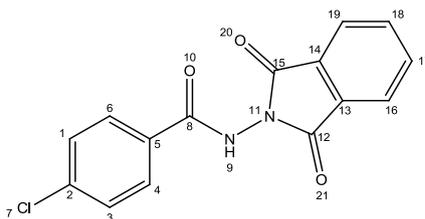
RMN-¹³C (400 MHz) DMSO-d₆ / TMS (δ-ppm): 166,02 (C=O, C₁₃ e C₁₆), 165,30 (C=O, C₉), 163,21 (C-O, C₂), 135,87 (C-H, C₁₈ e C₁₉), 130,31 (C-H, C₄ e C₆), 129,96 (C₁₄ e C₁₅), 124,32 (C-H, C₁₇ e C₂₀), 123,27 (C₅), 114,53 (C-H, C₁ e C₃), 55,99 (CH₃, C₈).

I.V. Max. (KBr) γ - cm⁻¹: 3215,23 (N-H), 3014,64 (C-H, sp²), (C-H, sp³), 1739,64 (C=O da ftalimida), 1643,3 (C=O, C₉), 1606,65 (C=C, aromático).

33 c – *p*-clorofenilftalazoilidrazida (M= 300,5 g/mol)

Obteve-se um sólido branco, de ponto de fusão 257-258°C, com rendimento de 86%, cujo espectro de CG-EM apresentou os picos:

m/z 300 (3%), m/z 283 (1%), m/z 161 (91%), m/z 141 (35%), m/z 139 (100%), m/z 113 (10%), m/z 111 (30%), m/z 85 (1%), m/z 76 (10%), m/z 63 (1%), m/z 50 (5%), m/z 40 (1%).



RMN-¹H (400 MHz) DMSO-d₆ / TMS (δ-ppm): 11,48 (s, N-H), 8,01 (m, 6H, H₄, H₆, H₁₇, H₁₈, H₁₆, H₁₉), 7,68 (d, 2H, H₁ e H₃).

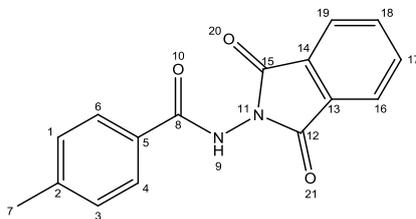
RMN-¹³C (400 MHz) DMSO-d₆ / TMS (δ-ppm): 165,75 (C=O, C₈), 164,94 (C=O, C₁₂ e C₁₅), 138,21 (C-Cl, C₂), 135,93 (C-H, C₁₇ e C₁₈), 130,2 (C-H, C₄ e C₆), 129,93 (C₅, C₁₃ e C₁₄), 129,47 (C-H, C₁ e C₃), 124,39 (C-H, C₁₆ e C₁₉).

I.V. Max. (KBr) γ - cm⁻¹: 3344,46 (N-H), 1735,88 (C=O da ftalimida, C₁₂ e C₁₅), 1681,87 (C=O, C₈).

33 d – *p*- metilfenilftalazoilidrazida (M= 280 g/mol)

Obteve-se um sólido branco, com rendimento de 88%, e ponto de fusão 223-224° C. Picos apresentados no espectro de CG-EM:

m/z 280 (1%), m/z 263 (1%), m/z 221 (1%), m/z 207 (1%), m/z 193 (1%), m/z 161 (1%), m/z 147 (1%), m/z 133 (!%), m/z 119 (100%), m/z 104 (10%), m/z 91 (50%), m/z 76 (20%), m/z 65 (30%), m/z 50 (10%), m/z 41 (2%).



RMN-¹H (500 MHz) DMSO-d₆ / TMS (δ-ppm): 11,27 (s, N-H), 8,04-8,05 (d, C-H, 2H, H₄ e H₆), 7,99-8,0 (dd, C-H, 2H, H₁₇ e H₁₈), 7,90 (d, C-H, 2H, H₁₆ e H₁₉), 7,41 (d, C-H, 2H, H₁ e H₃), 2,43 (s, CH₃, 3H, H₇).

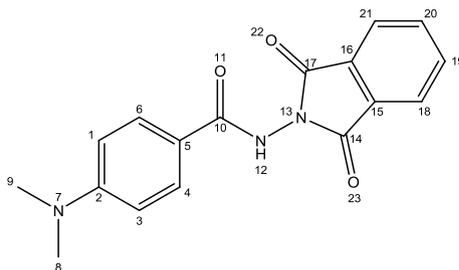
RMN-¹³C (500 MHz) DMSO-d₆ / TMS (δ-ppm): 165,96 (C=O, C₁₂ e C₁₅), 165,72 (C=O, C₈), 143,55 (C₂), 135,95 (C-H, C₁₇ e C₁₈), 133,99 (C₅), 129,99 (C₁₃ e C₁₄), 129,84 (C-H, C₁ e C₃), 128,33 (C-H, C₄ e C₆), 124,40 (C-H, C₁₆ e C₁₉), 21,62 (CH₃, C₇).

I.V. Max. (KBr) γ - cm⁻¹: 3350,24 (N-H), 1741,66 (C=O da ftalimida, C₁₂ e C₁₅), 1672,23 (C=O, C₈),

33 e – *p*-dimetilaminofenilftalazoilidrazida (M= 309 g/mol).

Obteve-se um sólido amarelo, com rendimento de 70% e ponto de fusão 239-240 °C. O espectro de CG-EM apresentou como principais picos:

m/z 309 (1%), m/z 281 (1%), m/z 207 (1%), m/z 193 (1%), m/z 161 (1%), m/z 148 (100%), m/z 132 (1%), m/z 120 (10%), m/z 104 (25%), m/z 91 (15%), m/z 77 (30%), m/z 63 (5%), m/z 42 (40%), m/z 40 (1%).



RMN-¹H (500 MHz) DMSO-d₆ / TMS (δ-ppm): 10,90 (s, N-H, H₁₂), 8,03 (d, C-H, 2H, H₁₉ e H₂₀), 8,00 (d, C-H, 2H, H₁₈ e H₂₁), 7,85-7,86 (d, C-H, 2H, H₄ e H₆), 6,81 (d, C-H, 2H, H₁ e H₃), 3,05 (s, N-CH₃, 2H, H₈ e H₉).

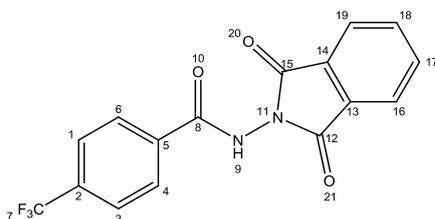
RMN-¹³C (500 MHz) DMSO-d₆ / TMS (δ-ppm): 166,32 (C=O, C₂₂ e C₂₃), 165,54 (C=O, C₁₀), 153,49 (C₂), 135,89 (C-H, C₁₉ e C₂₀), 132,12 (C₁₅ e C₁₆), 130,07 (C-H, C₄ e C₆), 129,85 (C-H, C₁₈ e C₂₁), 128,15 (C₅), 111,36 (C-H, C₁ e C₃), 40,15 (N-CH₃, C₈ e C₉).

I.V. Max. (KBr) γ - cm⁻¹: 3259,59 (N-H), 2923,99 (C-H, sp³, C₈ e C₉), 1739,74 (C=O da ftalimida, C₁₄ e C₁₇), 1651,01 (C=O, C₁₀), 1602,79 (C=C, aromático).

33 f – *p*-trifluorometilfenilftalazoilidrazida (M= 334 g/mol)

Obeve-se um sólido bege, com rendimento de 53% e ponto de fusão 210-211 °C.

m/z 334 (1%), m/z 315 (1%), m/z 295 (1%), m/z 207 (1%), m/z 173 (100%), m/z 154 (1%), m/z 145 (55%), m/z 125 (10%), m/z 104 (25 %), m/z 95 (15%), m/z 76 (45%), m/z 63 (2%), m/z 50 (30%), m/z 40 (1%).



RMN-¹H (500 MHz) DMSO-d₆ / TMS (δ-ppm): 11,67 (s, N-H), 8,21 (d, C-H, 2H, H₄ e H₆), 8,07 (d, C-H, 2H, H₁₇ e H₁₈), 8,05 (d, C-H, 2H, H₁₆ e H₁₉), 8,01-8,02 (d, C-H, 2H, H₁ e H₃).

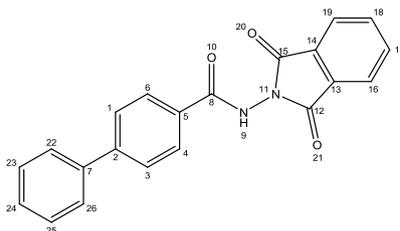
RMN-¹³C (500 MHz) DMSO-d₆ / TMS (δ-ppm): 165,69 (C=O, C₁₂ e C₁₅), 164,94 (C=O, C₈), 136,01 (C-H, C₁₇ e C₁₈), 134,95 (C₅), 132,72 (q, C₂), 129,96 (C₁₆ e C₁₉), 129,29 (C-H, C₄ e C₆), 126,43 (C-H, C₁ e C₃), 124,48 (C-H, C₁₆ e C₁₉).

I.V. Max. (KBr) γ - cm⁻¹: 3232, 59 (N-H), 1743,59 (C=O da ftalimida, C₁₂ e C₁₅), 1666,44 (C=O, C₈).

33 g – *p*-bifenilftalazoilidrazida (M= 342 g/mol).

Obeve-se um sólido branco, com rendimento de 77% e ponto de fusão 211-212 °C.

m/z 342 (2%), m/z 281 (1%), m/z 209 (1%), m/z 182, (15%), m/z 181 (100%), m/z 154 (25%), m/z 152 (60%), m/z 127 (10%), m/z 115 (2%), m/z 104 (25%), m/z 89 (1%), m/z 76 (40%), m/z 63 (5%), m/z 50 (20%), m/z 40 (1%).



RMN-¹H (500 MHz) DMSO-d₆ / TMS (δ-ppm): 11,43 (s, N-H), 8,09 (d, 2H, H₄ e H₆), 8,06-8,07 (dd, 2H, H₁₇ e H₁₈), 8,01 (dd, 2H, H₁₆ e H₁₉), 7,93 (d, 2H, H₁ e H₃), 7,72 (m, 2H, H₂₂ e H₂₆), 7,54-7,55 (dd, 2H, H₂₃ e H₂₅), 7,47 (m, H₂₄).

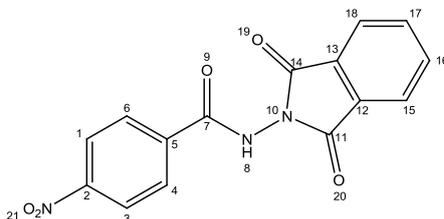
RMN-¹³C (500 MHz) DMSO-d₆ / TMS (δ-ppm): 165,93 (C=O, C₁₃ e C₁₄), 165,58 (C=O, C₈), 144,73 (C₂), 143,77 (C₇), 135,97 (C-H, C₁₇ e C₁₈), 131,82 (C₅), 130,01 (C₁₃ e C₁₄), 129,58 (C-H, C₄ e C₆), 129,02 (C-H, C₂₃ e C₂₄), 128,80 (C-H, C₁ e C₃), 128,69 (C₂₄), 127,51 (C-H, C₂₂ e C₂₆), 124,43 (C-H, C₁₆ e C₁₉).

I.V. Max. (KBr) γ - cm⁻¹: 3242,23 (N-H), 1741,66 (C=O da ftalimida), 1658,73 (C=O, C₈),

33 h – *p*-nitro-fenilftalazolidrazida (M= 311 g/mol).

Obteve-se um sólido amarelo, com rendimento de 65% e ponto de fusão 236-237 °C. Espectro de massas com os picos principais abaixo:

m/z 311 (1%), m/z 281 (1%), m/z 267 915), m/z 207 (1%), m/z 193 (15), m/z 161 (1%), m/z 150 (85%), m/z 134 (2%), m/z 120 (25%), m/z 104 (80%), m/z 92 (40%), m/z 76 (100%), m/z 64 (5%), m/z 50 (50%), m/z 40 (1%).



RMN-¹H (500 MHz) DMSO-d₆ / TMS (δ-ppm): 11,78 (s, N-H), 8,45-8,46 (d, 2H, H₁ e H₃), 8,24 (d, 2H, H₄ e H₆), 8,06 (d, 2H, H₁₆ e H₁₇), 8,02 (d, 2H, H₁₅ e H₁₈).

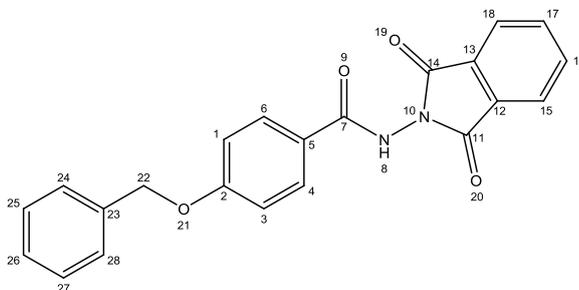
RMN-¹³C (500 MHz) DMSO-d₆ / TMS (δ-ppm): 165,61 (C=O, C₁₁ e C₁₄), 164,57 (C=O, C₇), 150,45 (C₂), 136,64 (C₅), 136,04 (C-H, C₁₆ e C₁₇), 129,93 (C-H, C₄ e C₆), 129,91 (C₁₂ e C₁₃), 124,56 (C-H, C₁ e C₃), 124,51 (C-H, C₁₅ e C₁₈).

I.V. Max. (KBr) γ - cm⁻¹: 3348,31 (N-H), (C-H, sp²), 1731,81 (C=O da ftalimida, C₁₁ e C₁₄), 1689,59 (C=O, C₇), (C=C, aromático).

33 i- *p*-benzoxifenilftalazoilidrazida (M= 372 g/mol).

Obeve-se um sólido branco, com rendimento de 58% e ponto de fusão 235-236 °C.

m/z 372 (1%), m/z 281 (1%), m/z 267 (1%), m/z 211 (20%), m/z 207 (1%), m/z 193 (1%), m/z 181 (1%), m/z 161 (1%), m/z 147 (1%), m/z 133 (15), m/z 121 (1%), m/z 104 (5%), m/z 91 (100%), m/z 76 (10%), m/z 65 (10%), m/z 50 (5%), m/z 40 (1%).



RMN-¹H (500 MHz) DMSO-d₆ / TMS (δ-ppm): 11,2 (s, N-H), 8,04 (dd, H₄ e H₆), 7,99-8,0 (m, H₁₆ e H₁₇), 7,98 (d, H₁₅ e H₁₈), 7,51 (d, H₂₄ e H₂₈), 7,44 (t, H₂₅ e H₂₇), 7,38 (t, H₂₆), 7,22 (d, H₁ e H₃), 5,25 (s, 2 H, H₂₂).

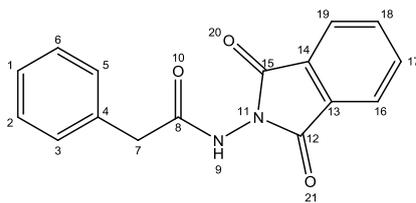
RMN-¹³C (500 MHz) DMSO-d₆ / TMS (δ-ppm): 166,05 (C=O, C₁₁ e C₁₄), 165,25 (C=O, C₇), 162,31 (C-O, C₂), 136,98 (C₂₃), 135,92 (C-H, C₁₆ e C₁₇), 130,35 (C-H, C₄ e C₆), 130,01 (C₁₂ e C₁₃), 129,01 (C-H, C₂₇ e C₂₅), 128,39 (C-H, C₂₆), 128,36 (C-H, C₂₄ e C₂₈), 124,38 (C-H, C₁₅ e C₁₈), 123,49 (C₅), 115,37 (C-H, C₁ e C₃), 70,01 (C₂₂).

I.V. Max. (KBr) γ - cm⁻¹: 3215,23 (N-H), 3014,64 (C-H, sp²), (C-H, sp³), 1739,64 (C=O da ftalimida, C₁₁ e C₁₄), 1643,3 (C=O, C₇), 1606,65 (C=C, aromático).

34 – Benzilftalazoilidrazida (M= 280 g/mol).

Obeve-se um sólido branco, com rendimento de 78% e ponto de fusão 225-226°C.

m/z 280 (1%), m/z 207 (91%), m/z 189 (1%), m/z 162 (1%), m/z 148 (1%), m/z 130 (1%), m/z 118 (100%), m/z 104 (10%), m/z 91 (90%), m/z 76 (5%), m/z 65 (10%), m/z 50 (2%), m/z 40 (1%).



RMN-¹H (500 MHz) DMSO-d₆ / TMS (δ-ppm): 10,98 (s, N-H), 7,97 (d, H₁₇e H₁₈), 7,95 (d, H₁₆e H₁₉), 7,37-7,38 (d, H₃ e H₅), 7,30 (dd, H₁), 7,29 (dd, H₂ e H₆), 3,74 (s, CH₂, H₇).

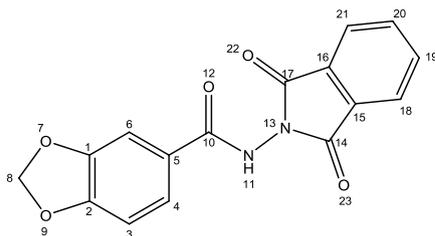
RMN-¹³C (500 MHz) DMSO-d₆ / TMS (δ-ppm): 170,11 (C=O, C₈), 165,67 (C=O, C₁₂ e C₁₅), 135,34 (C₄), 135, 78 (C-H, C₁₇ e C₁₈), 129,97 (C₁₄ e C₁₃), 129,55 (C-H, C₃ e C₅), 128,88 (C-H, C₂ e C₆), 127,28 (C-H, C₁), 124,24 (C-H, C₁₆ e C₁₉), 39,99 (CH₂, C₇).

I.V. Max. (KBr) γ - cm⁻¹: 3194,01 (N-H), 3005 (C-H, sp²), 1751,31 (C=O da ftalimida, C₁₂ e C₁₅), 1674,16 (C=O, C₈).

35 – Benzodioxioilftalazoilidrazida (M= 310 g/mol).

Obteve-se um sólido branco, com ponto de fusão 244-245 °C, com os seguintes picos no espectro de massas:

m/z 310 (2%), m/z 281 (10%), m/z 267 (1%), m/z 207 (1%), m/z 193 (1%), m/z 161 (1%), 149 (100%), m/z 133 (1%), m/z 121 (30%), m/z 104 (15%), m/z 91 (10%), m/z 76 (25%), m/z 65 (60%), m/z 50 (20%), m/z 40 (1%).

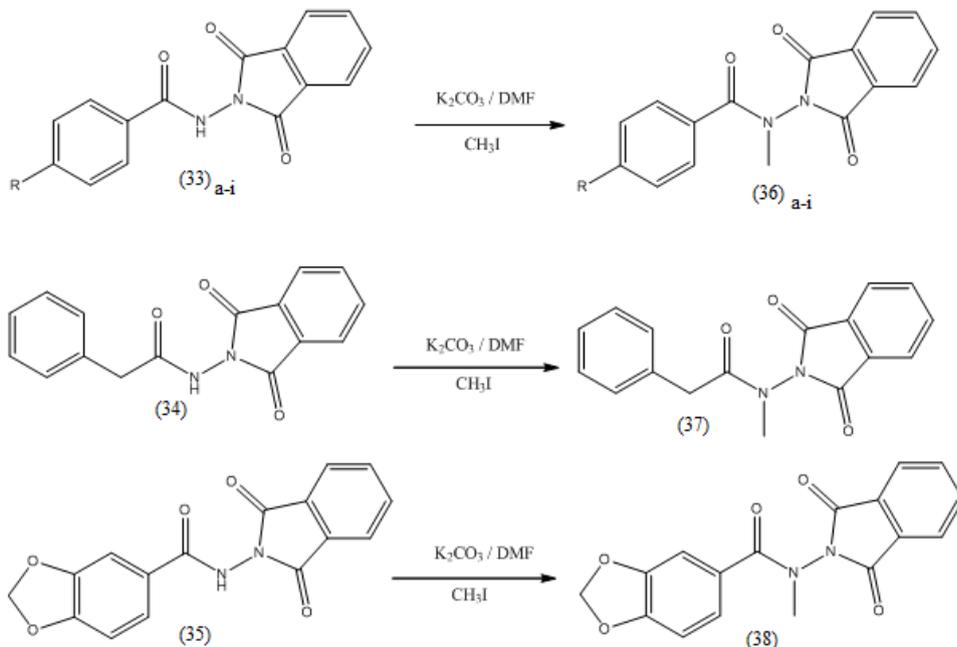


RMN-¹H (500 MHz) DMSO-d₆ / TMS (δ-ppm): 11,20 (s, N-H), 8,04 (d, 2H, H₁₉ e H₂₀), 8,02 (d, 2H, H₁₈ e H₂₁), 7,63 (d, H₄), 7,50 (s, H₆), 7,13-7,14 (d, H₃), 6,2 (s, 2H, H₈).

RMN-¹³C (500 MHz) DMSO-d₆ / TMS (δ-ppm): 165,98 (C=O, C₁₄ e C₁₇), 164,96 (C=O, C₁₀), 151,55 (C₂), 148,22 (C₁), 135,93 (C-H, C₁₉ e C₂₀), 129,99 (C₁₅ e C₁₆), 124,90 (C₅), 124,38 (C-H, C₁₈ e C₂₁), 123,88 (C-H, C₄), 108,84 (C-H, C₆), 108,02 (C-H, C₃), 102,61 (CH₂, C₈).

I.V. Max. (KBr) $\gamma - \text{cm}^{-1}$: 3248,02 (N-H), 2898,92 (C-H, sp^3), 1745,52 (C=O da ftalimida, C_{14} e C_{17}), 1666,44 (C=O, C_{10}), 1263-1290 (C-O), 1481-1504 (C=C, aromático).

3.5 Síntese das *N*-metil-fenilftalazoidrazidas



a: R=H, b: R=OCH₃, c: R=Cl, d: R=CH₃, e: R=N(CH₃)₂, f: R=CF₃, g: R=Ph, h: R=NO₂, i: R=OCH₂Ph
(45 - 85%).

Esquema 12. Síntese das *N*-metil-fenilftalazoidrazidas.

Procedimento geral para a síntese das *N*-metil-fenilftalazoidrazidas (36), (37) e (38)

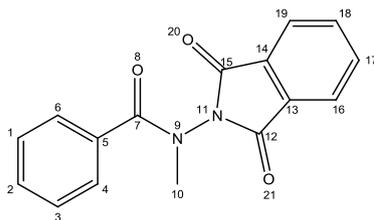
Em balões de 25 mL foram colocadas as respectivas ftalazoidrazidas, 2,0 equivalentes molares de K_2CO_3 e 5 mL/100mg de DMF, e após 10 minutos de agitação à temperatura ambiente, adicionou-se 3 eq. molares de CH_3I e cada balão foi colocado no reator de microondas com a seguinte programação: Pot = 50W, Temp. = 55°C, Pressão normal, Run Time = 2 minutos e Tempo de reação = 30min (esta programação foi denominada

ALQACETONA). O excesso de solvente foi evaporado, adicionou-se gelo picado no balão e filtrou-se o produto.

36 a -N-metil-fenilftalazoilidrazida (M= 280 g/mol).

Obteve-se um sólido branco, com rendimento de 85% e ponto de fusão 139-140 °C, que apresentou os seguintes fragmentos no espectro de massas:

m/z 280 (1%), m/z 251 (1%), m/z 236 (1%), m/z 175 (5%), m/z 148 (1%), m/z 133 (5%), m/z 118 (1%), m/z 105 (100%), m/z 90 (1%), m/z 77 (35%), m/z 63 (1%) e m/z 43 (1%).



RMN-¹H (400 MHz) DMSO-d₆ / TMS (δ-ppm): 7,87 (d, H₁₇ e H₁₈), 7,87 (d, H₁₆ e H₁₉), 7,35 (d, H₄ e H₆), 7,32 (dd, H₁ e H₃), 7,34 (dd, H₂), 3,32 (s, 3H, H₁₀).

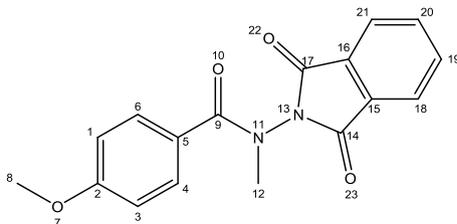
RMN-¹³C (400 MHz) DMSO-d₆ / TMS (δ-ppm): 172,43 (C=O, C₇), 164,72 (C=O, C₁₂ e C₁₅), 135,85 (C-H, C₁₇ e C₁₈), 134,10 (C₅), 131,18 (C-H, C₂), 129,46 (C₁₃ e C₁₄), 128,74 (C-H, C₁ e C₃), 126,42 (C-H, C₄ e C₆), 124,35 (C-H, C₁₆ e C₁₉), 35,93 (CH₃, C₁₀).

I.V. Max. (KBr) γ - cm⁻¹: 3062,83 (C-H, sp²), 1739,74 (C=O da ftalimida, C₁₂ e C₁₅), 1670,3 (C=O, C₇), (C-N, C₁₀).

36 b – N-metil- p-metoxifenilftalazoilidrazida (M= 310 g/mol)

Obteve-se um sólido bege rendimento de 80 % e ponto de fusão 130-132 °C. Principais picos no espectro de CG-EM:

m/z 310 (2%), m/z 207 (1%), m/z 175 (1%), m/z 163 (1%), m/z 147 (1%), m/z 135 (100%), m/z 120 (1%), m/z 107 (20%), m/z 92 (15%), m/z 77 (25%), m/z 64 (5%), m/z 50 (2%), m/z 40 (1%).



RMN-¹H (400 MHz) DMSO-d₆ / TMS (δ-ppm): 7,92 (m, 4H, H₁₈, H₁₉, H₂₀ e H₂₁), 7,34 (d, 2H, H₄ e H₆), 6,88-6,89 (d, 2H, H₁ e H₃), 3,70 (s, O-CH₃ 3H, H₈), 3,31 (s, N-CH₃, 3H, H₁₂).

RMN-¹³C (400 MHz) DMSO-d₆ / TMS (δ-ppm): 172,14 (C=O, C₉), 164,90 (C=O, C₁₄ e C₁₇), 162,05 (C₂), 135,90 (C₁₉ e C₂₀), 129,63 (C₁₅ e C₁₆), 128,78 (C-H, C₄ e C₆), 125,88 (C₅), 124,45 (C-H, C₁₈ e C₂₁), 114,16 (C-H, C₁ e C₃), 55,71 (O-CH₃, C₈), 36,19 (N-CH₃, C₁₂).

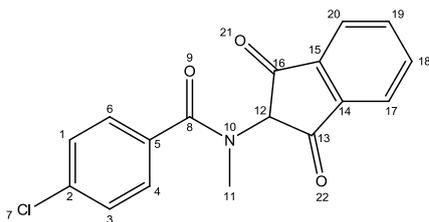
I.V. Max. (KBr) γ - cm⁻¹: 3026,21 (C-H, sp²), 2929,78 (C-H, sp³, C₈ e C₁₂), 1735,88 (C=O da ftalimida, C₁₄ e C₁₇), 1670,3 (C=O, C₉), 1606,65 (C=C, aromático), 1255,62 (C-O), (C-N, C₁₂).

36 c – N-metil-p-clorofenilftalazoilidrazida (M= 314,5 g/mol)

Obeve-se um sólido branco, com rendimento de 77% e ponto de fusão 174-175 °C.

Principais picos de massas:

m/z 314 (1%), m/z 286 (1%), m/z 270 (1%), m/z 257 (1%), m/z 207 (1%), m/z 175 (5%), m/z 167 (2%), m/z 141 (30%), m/z 139 (100%), m/z 113 (8%), m/z 111 (25%), m/z 85 (1%), m/z 76 (10%), 63 (1%), m/z 50 (3%), m/z 43 (1%).



RMN-¹H (500 MHz) DMSO-d₆ / TMS (δ-ppm): 7,96 (m, 4H, H₁₇, H₁₈, H₁₉, H₂₀), 7,47 (d, 2H, H₄ e H₆), 7,41 (d, H₁ e H₃), 3,38 (s, N-CH₃, 3H, H₁₁).

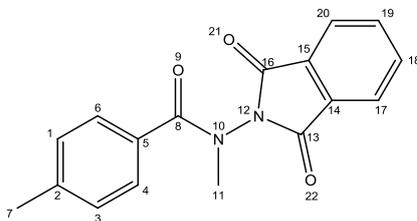
RMN-¹³C (500 MHz) DMSO-d₆ / TMS (δ-ppm): 171,50 (C=O, C₈), 164,77 (C=O, C₁₃ e C₁₆), 136,02 (C-H, C₁₈ e C₁₉), 132,88 (C₂), 129,55 (C₁₄ e C₁₅), 129,13 (C-H, C₄ e C₆), 128,58 (C-H, C₁ e C₃), 124,57 (C-H, C₁₇ e C₂₀), 122,25 (C₅), 36,08 (CH₃, C₁₁).

I.V. Max. (KBr) γ - cm⁻¹: 3059 (C-H, sp²), 2923,99 (C-H, sp³), 1735,88 (C=O da ftalimida, C₁₃ e C₁₆), 1651,01 (C=O, C₈), 1597,01 (C=C, aromático), 717,5 (C-Cl).

36 d – N-metil- p- metilfenilftalazoidrazida (M= 294 g/mol)

Obeve-se um sólido branco, com rendimento de 83% e ponto de fusão 134-135 °C.
Picos no espectro de massas:

m/z 293 (1%), m/z 265 (1%), m/z 207 (1%), m/z 193 (1%), m/z 175 (1%), m/z 165 (1%), m/z 147 (1%), m/z 130 (1%), m/z 119 (100%), m/z 104 (10%), m/z 91 (50%), m/z 76 (15%), m/z 65 (25%), m/z 50 (10%), m/z 40 (1%).



RMN-¹H (500 MHz) DMSO-d₆ / TMS (δ-ppm): 7,89-7,90 (m, 4H, H₁₇, H₁₈, H₁₉, H₂₀), 7,25 (d, 2H, H₄ e H₆), 7,13 (d, 2H, H₁ e H₃), 3,37 (s, N-CH₃, 3H, H₁₁), 2,21 (s, CH₃, 3H, H₇).

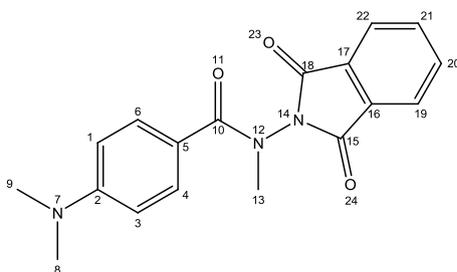
RMN-¹³C (500 MHz) DMSO-d₆/ TMS (δ-ppm): 172,45 (C=O, C₈), 164,81 (C=O, C₁₃ e C₁₆), 141,21 (C₂), 135,89 (C-H, C₁₈ e C₁₉), 131,15 (C₅), 126,67 (C-H, C₁ e C₃), 129,56 (C₁₄ e C₁₅), 129,32 (C-H, C₄ e C₆), 124,44 (C-H, C₁₇ e C₂₀), 36,05 (N-CH₃, C₁₁), 21,33 (C₇).

I.V. Max. (KBr) γ - cm⁻¹: 3053,22 (C-H, sp²), 2918,2 (C-H, sp³), 1737,81 (C=O da ftalimida, C₁₃ e C₁₆), 1651,01 (C=O, C₈), 1610,51 (C=C, aromático), (C-N, C₁₁).

36 e – *N*-metil- *p*-dimetilaminofenilftalazoilidrazida (M= 323g/mol).

Obteve-se um sólido amarelo, com rendimento de 60% e ponto de fusão 155-156°C . O espectro de massas apresentou como principais picos:

m/z 323 (3%), m/z 281 (1%), m/z 207 91%), m/z 175 (1%), m/z 161 (1%), m/z 148 (100%), m/z 132 (1%), m/z 120 (2%), m/z 104 (3%), m/z 91 (2%), m/z 77 (3%),



RMN-¹H (500 MHz) DMSO-d₆/ TMS (δ-ppm): 8,02-8,03 (dd, 2H, H₂₀ e H₂₁), 7,98 (dd, 2H, H₁₉ e H₂₂), 7,85 (d, 2H, H₄ e H₆), 6,80 (d, 2H, H₁ e H₃), 3,37 (s, N-CH₃, 3H, H₁₃), 3,04 (s, N-(CH₃)₂, 6H, H₈ e H₉).

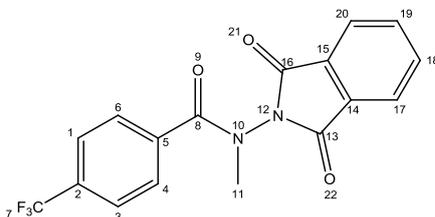
RMN-¹³C (500 MHz) DMSO-d₆/ TMS (δ-ppm): 166,98 (C=O, C₁₅ e C₁₆), 166,24 (C=O, C₁₀), 154,12 (C₂), 136,51 (C-H, C₂₀ e C₂₁), 130,72 (C₁₆ e C₁₇), 130,52 (C-H, C₄ e C₆), 124,95 (C-H, C₁₉ e C₂₂), 117,90 (C₅), 112,02 (C-H, C₁ e C₃), 40,79 (N-(CH₃)₂, C₈ e C₉), 36,95 (N-CH₃, C₁₃).

I.V. Max. (KBr) γ - cm⁻¹: 3039,71 (C-H, sp²), 2918,2 (C-H, sp³), 1733,95 (C=O da ftalimida, C₁₅ e C₁₈), 1662,59 (C=O, C₁₀), 1610,51 (C=C, aromático), 1041,53 (C-N).

36 f – *N*-metil-*p*-trifluorometil-fenilftalazoilidrazida (M= 348 g/mol)

Obteve-se um sólido bege, com rendimento de 58% e ponto de fusão 170-171°C.

m/z 348 (1%), m/z 320 (1%), m/z 304 (15), m/z 291 (1%), m/z 219 (1%), m/z 201 (1%), m/z 186 (1%), m/z 173 (100%), m/z 154 (15), m/z 145 (55%), m/z 125 (5%), m/z 104 (35%), m/z 95 (15%), m/z 76 (45%), m/z 63 (1%), m/z 50 (20%), m/z 40 (1%).



RMN-¹H (500 MHz) DMSO-d₆ / TMS (δ-ppm): 7,92 (m, 4H, H₁₇, H₁₈, H₁₉, H₂₀), 7,76 (d, 2H, H₄ e H₆), 7,58 (d, 2H, H₁ e H₃), 3,40 (s, N-CH₃, 3H, H₁₁).

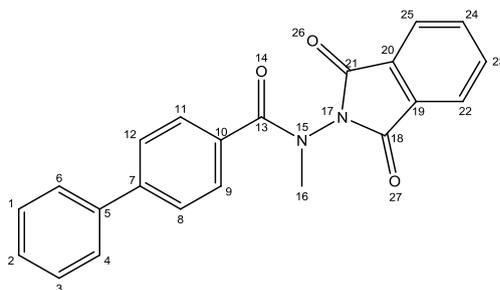
RMN-¹³C (500 MHz) DMSO-d₆ / TMS (δ-ppm): 171,20 (C=O, C₈), 164,70 (C=O, C₁₃ e C₁₆), 138,16 (C₅), 136,01 (C-H, C₁₈ e C₁₉), 129,48 (C₁₄ e C₁₅), 128,98 (C₂), 127,47 (C-H, C₄ e C₆), 126,04 (C-H, C₁ e C₃), 124,55 (C-H, C₁₇ e C₂₀), 35,97 (N-CH₃, C₁₁).

I.V. Max. (KBr) γ - cm⁻¹: 3062,86 (C-H, sp²), 2923,99 (C-H, sp³), 1737,81 (C=O da ftalimida, C₁₃ e C₁₆), 1683,8 (C=O, C₈), 1128,32 (C-N).

36 g – *N*-metil-*p*-bifenilftalazoilidrazida (M= 356 g/mol).

Obteve-se um sólido branco, com rendimento de 78% e ponto de fusão 163-164°C.

m/z 356 (5%), m/z 281 (1%), m/z 226 (1%), m/z 209 (1%), m/z 182 (15%), m/z 181 (100%), m/z 154 (20%), m/z 152 (35%), m/z 127 (2%), m/z 115 (1%), m/z 104 (5%), m/z 91 (1%), m/z 76 (5%), m/z 63 (1%), m/z 50 (1%), m/z 40 (1%).



RMN-¹H (500 MHz) DMSO-d₆ / TMS (δ-ppm): 7,92 (dd, 4H, H₂₂, H₂₃, H₂₄, H₂₅), 7,68-7,69 (d, 2H, H₉ e H₁₁), 7,63-7,64 (d, 2H, H₈ e H₁₂), 7,46 (m, 3H, H₁, H₂, H₃), 7,39-7,40 (d, 2H, H₄ e H₆), 3,38 (s, N-CH₃, 3H, H₁₆).

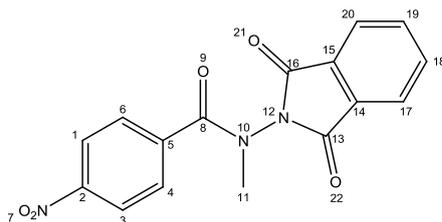
RMN-¹³C (500 MHz) DMSO-d₆ / TMS (δ-ppm): 169,62 (C=O, C₁₃), 164,89 (C=O, C₁₈ e C₂₁), 142,68 (C₇), 139,06 (C₅), 135,95 (C-H, C₂₃ e C₂₄), 132,90 (C₁₀), 129,60 (C₁₉ e C₂₀), 129,50 (C-H, C₉ e C₁₁), 128,65 (C-H, C₂), 127,41 (C-H, C₁ e C₃), 127,23 (C-H, C₄ e C₆), 126,96 (C-H, C₈ e C₁₂), 124,51 (C-H, C₂₂ e C₂₅), 36,12 (N-CH₃, C₁₆).

I.V. Max. (KBr) γ - cm⁻¹: 3030,07 (C-H, sp²), 2925,92 (C-H, sp³), 1735,88 (C=O da ftalimida, C₁₆ e C₂₁), 1662,59 (C=O, C₁₃).

36 h– N-metil- p-nitrofenilftalazoilidrazida (M= 325 g/mol).

Obeve-se um sólido amarelo, com rendimento de 45% e ponto de fusão 172-173°C.

m/z 325 (1%), mn/z 309 (1%), m/z 297 (1%), m/z 279 (1%), m/z 248 (1%), m/z 221 (1%), m/z 207 (1%), m/z 193 (1%), m/z 175 (10%), m/z 161 (1%), m/z 150 (90%), m/z 130 (15%), m/z 120 (20%), m/z 104 (95%), m/z 92 (25%), m/z 76 (100%), m/z 64 (10%), m/z 50 (40%), m/z 40 (1%).



RMN-¹H (500 MHz) DMSO-d₆ / TMS (δ-ppm): 8,20 (d, 2H, H₁ e H₃), 7,90-7,91 (m, 4H, H₁₇, H₁₈, H₁₉, H₂₀), 7,60 (d, 2H, H₄ e H₆), 3,38 (s, N-CH₃, 3H, H₁₁).

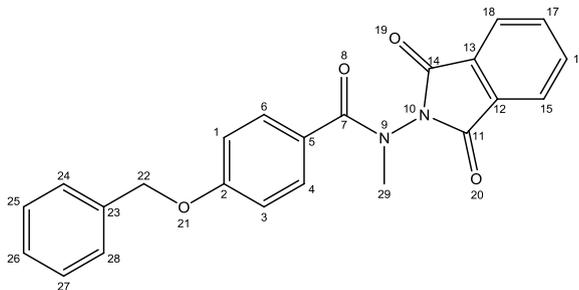
RMN-¹³C (500 MHz) DMSO-d₆ / TMS (δ-ppm): 170,79 (C=O, C₈), 164,64 (C=O, C₁₃ e C₁₆), 149,00 (C₂), 140,11 (C₅), 136,00 (C-H, C₁₈ e C₁₉), 129,50 (C₁₄ e C₁₅), 128,02 (C-H, C₄ e C₆), 124,58 (C-H, C₁ e C₃), 124,27 (C-H, C₁₇ e C₂₀), 35,96 (N-CH₃, C₁₁).

I.V. Max. (KBr) γ - cm⁻¹: 3087,93 (C-H, sp²), 2923,99 (C-H, sp³), 1732,02 (C=O da ftalimida, C₁₃ e C₁₆), 1679,94 (C=O, C₈).

36 i – N-metil- p-benzoxifenilftalazoilidrazida (M= 386 g/mol).

Obteve-se um sólido branco, com rendimento de 53% e ponto de fusão 178-179°C

m/z 386 (1%), m/z 281 (1%), m/z 267 (1%), m/z 211 (15%), m/z 209 (1%), m/z 193 (1%), m/z 175 (1%), m/z 165 (1%), m/z 152 (1%), m/z 121 (1%), m/z 104 (10%), m/z 91 (100%), m/z 76 (10%), m/z 65 (15%), m/z 50 (5%), m/z 40 (1%).



RMN-¹H (500 MHz) DMSO-d₆ / TMS (δ-ppm): 7,92 (m, 4H, H₁₅, H₁₆, H₁₇, H₁₈), 7,38 (m, 3H, H₂₅, H₂₆, H₂₇), 7,33 (d, 2H, H₂₄ e H₂₈), 7,32 (d, H₄ e H₆), 6,96 (d, 2H, H₁ e H₃), 5,04 (s, 2H, H₂₂), 3,29 (s, N-CH₃, 3H, H₂₉).

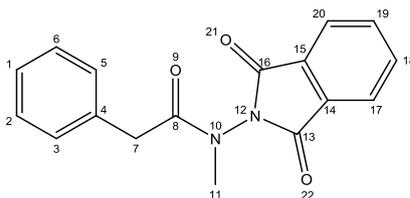
RMN-¹³C (500 MHz) DMSO-d₆ / TMS (δ-ppm): 170,79 (C=O, C₇), 164,89 (C=O, C₁₁ e C₁₄), 160,52 (C₂), 135,91 (C-H, C₁₆ e C₁₇), 131,89 (C₂₃), 128,90 (C-H, C₄ e C₆), 128,40 (C-H, C₂₅ e C₂₇), 128,38 (C₁₂ e C₁₃), 126,72 (C-H, C₂₆), 125,31 (C₅), 124,45 (C-H, C₂₄ e C₂₈), 122,24 (C-H, C₁₅ e C₁₈), 114,94 (C-H, C₁ e C₃), 69,79 (CH₂, C₂₂), 36,17 (N-CH₃, C₂₉).

I.V. Max. (KBr) $\gamma - \text{cm}^{-1}$: 3028,14-3057,07 (C-H, sp^2), (C-H sp^3), 1732,02 (C=O da ftalimida, C_{11} e C_{14}), 1668,37 (C=O, C_7), 1346,27 (C-O), (C-N, C_{29}).

37 – *N*-metil-benzilftalazoilidrazida (M= 280 g/mol).

Obteve-se um sólido branco, com rendimento de 75% e ponto de fusão 141-142°C.

m/z 294 (3%), m/z 281 (1%), m/z 265 (1%), m/z 203 (1%), m/z 193 (1%), m/z 176 (50%), m/z 165 (1%), m/z 148 (40%), m/z 130 (30%), m/z 118 (45%), m/z 104 (35%), m/z 91 (100%), m/z 76 (30%), m/z 65 (25%), m/z 50 (15%), m/z 40 (1%).



RMN- ^1H (500 MHz) DMSO- d_6 / TMS (δ -ppm): 8,00 (d, H_{18} e H_{19}), 7,98 (d, H_{17} e H_{20}), 7,34 (dd, H_1), 7,24 (d, H_3 e H_5), 7,10 (dd, H_2 e H_6), 3,59 (s, CH_2 , H_7), 3,19 (s, CH_3 , H_{11}).

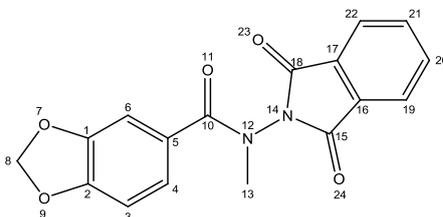
RMN- ^{13}C (500 MHz) DMSO- d_6 / TMS (δ -ppm): 172,94 (C=O, C_8), 165,10 (C=O, C_{13} e C_{16}), 135,71 (C-H, C_{18} e C_{19}), 135,01 (C_4), 130,33 (C_{14} e C_{15}), 129,86 (C-H, C_3 e C_5), 128,67 (C-H, C_2 e C_6), 127,12 (C-H, C_1), 124,42 (C-H, C_{17} e C_{20}), 38,63 (CH_2 , C_7), 35,45 (CH_3 , C_{11}).

I.V. Max. (KBr) $\gamma - \text{cm}^{-1}$: 3028,14 (C-H, sp^2), 2914,35 (C-H, sp^3), 1739,74 (C=O, da ftalimida, C_{13} e C_{16}), 1072,39 (C-N).

38 – *N*-metil-metilenodióxi-fenilftalazoilidrazida (M= 324 g/mol)

Obteve-se um sólido, com rendimento de 80% e ponto de fusão 157-158°C.

m/z 324 (5%), m/z 281 (1%), m/z 267 (1%), m/z 207 (1%), m/z 193 (1%), m/z 175 (1%), m/z 162 (1%), m/z 149 (100%), m/z 130 (3%), m/z 121 (30%), m/z 104 (20%), m/z 91 (15%), m/z 76 (25%), m/z 65 (60%), m/z 50 (15%), m/z 40 (1%).



RMN-¹H (500 MHz) DMSO-d₆ / TMS (δ-ppm): 7,97 (m, 4H, H₁₉, H₂₀, H₂₁, H₂₂), 6,90 (m, 3H, H₃, H₄, H₆), 6,05 (s, 2H, H₈), 3,41 (s, N-CH₃, 3H, H₁₃).

RMN-¹³C (500 MHz) DMSO-d₆ / TMS (δ-ppm): 170,05 (C=O, C₁₀), 164,94 (C=O, C₁₅ e C₁₈), 150,48 (C₂), 149,78 (C₁), 135,97 (C-H, C₂₀ e C₂₁), 129,63 (C₁₆ e C₁₇), 127,44 (C₅), 124,53 (C-H, C₁₉ e C₂₂), 121,38 (C-H, C₄), 108,58 (C-H, C₆), 107,30 (C-H, C₃), 102,25 (CH₂, C₈), 36,27 (N-CH₃, C₁₃).

I.V. Max. (KBr) γ - cm⁻¹: 3074,43 (C-H, sp²), 2895,06 (C-H, sp³), 1733,95 (C=O da ftalimida, C₁₅ e C₁₈), 1662,59 (C=O, C₁₀), 1610,51 (C=C, aromático), 1039,6 (C-N).

3.6 Protocolo Farmacológico

Os testes farmacológicos foram realizados no Laboratório de Inflamação da FIOCRUZ, em células do tipo macrófago – peritoniais e alveolares.

Procedimento

Análise com macrófagos peritoniais

Camundongos Swiss-Webster (n=10) foram sacrificados em câmara de CO₂. Para a obtenção dos macrófagos peritoniais, foi injetado 3 ml de PBS + EDTA 10 mM na cavidade abdominal de cada animal. Em seguida, a suspensão de células foi centrifugada em 1500 rpm a 4°C por 10 min. Foram plaqueados 500.000 células / poço e incubados por 1h na estufa a 37°C com 5% de CO₂ em meio RPMI com 2% de SFB. Após este período, o RPMI foi descartado e substituído por RPMI sem soro. As células foram tratadas por 1h com os compostos e, em seguida, estimuladas com LPS 0,5µg/ml, ficando incubada por 6h. Após esse período, o sobrenadante foi recolhido, congelado em nitrogênio líquido e armazenado em freezer a -80°C para posterior quantificação de citocinas. A quantificação de TNF-a foi realizada através da técnica de ELISA com o KIT da R&D de acordo com o manual do fabricante.

Análise com macrófagos alveolares

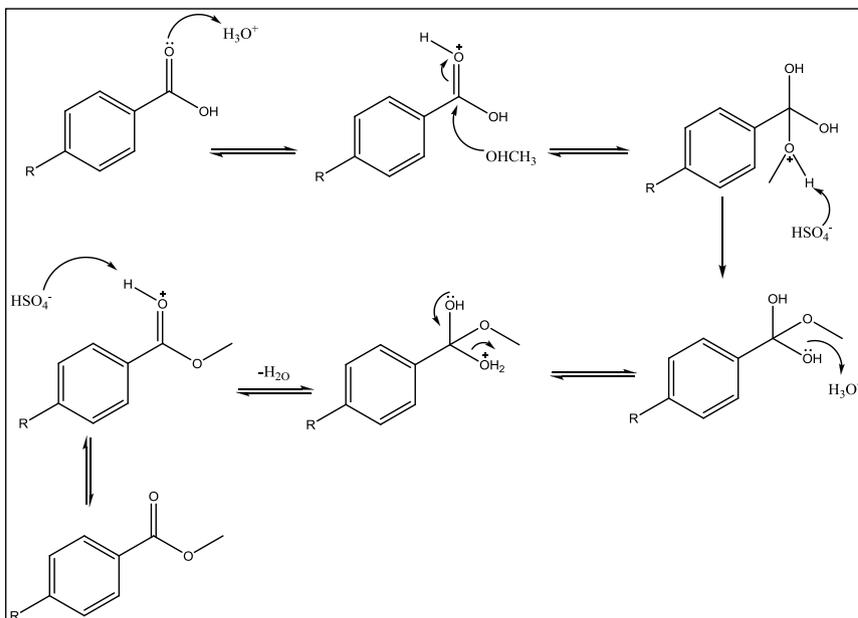
Foram utilizadas células da linhagem AMJ2C11 provenientes do HACC/UFRJ. Foram plaqueados 250.000 células / poço e incubados por 24h na estufa a 37°C com 5% de CO₂ em meio DMEM com 2% de SFB. Após este período, o DMEM foi descartado e substituído por DMEM sem soro. As células foram tratadas por 1h com os compostos e, em seguida, estimuladas com LPS 1 µg/ml, ficando incubada por 24h. Após esse período, o sobrenadante foi recolhido, congelado em nitrogênio líquido e armazenado em freezer a -80°C para posterior quantificação de citocinas. A quantificação de TNF-a foi realizada através da técnica de ELISA com o KIT da R&D de acordo com o manual do fabricante.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Síntese dos Ésteres Metílicos

24 a-h e 26 - Esterificação de Fischer

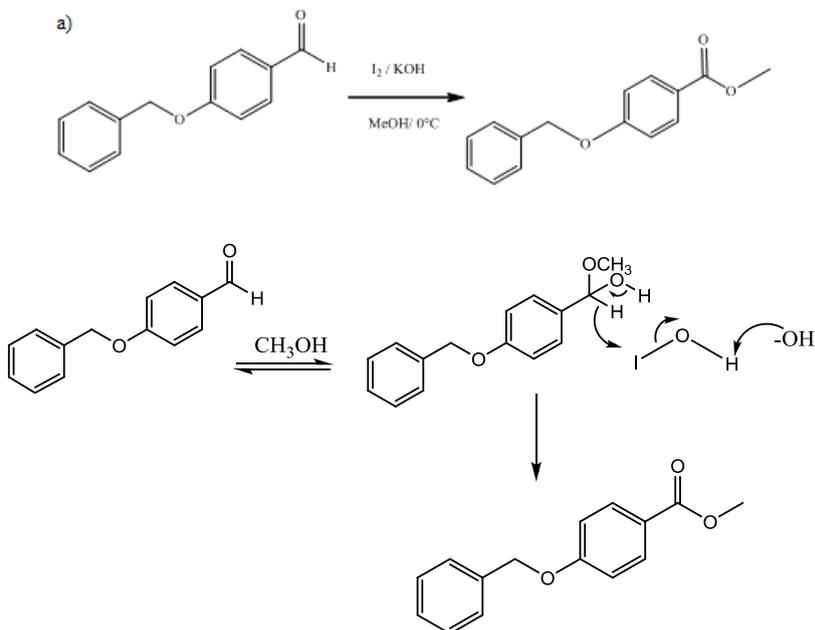
As reações de esterificação são catalisadas por ácidos fortes, geralmente H_2SO_4 , atingindo o equilíbrio em poucas horas. Como a posição de equilíbrio determina a quantidade de éster formado, usa-se um excesso de metanol, reagente mais acessível do que os ácidos benzóicos, em termos de custo, para melhorar o rendimento, deslocando-se o equilíbrio para a direita. O mecanismo é típico de reações de adição-eliminação nucleofílica com catálise ácida, em carbonos acílicos e está representado no Esquema 13 (SOLOMONS e FRYHLE, 2000).



Esquema 13 – Mecanismo para a Esterificação em meio Ácido.

28 e 30 – Esterificação de Yamada

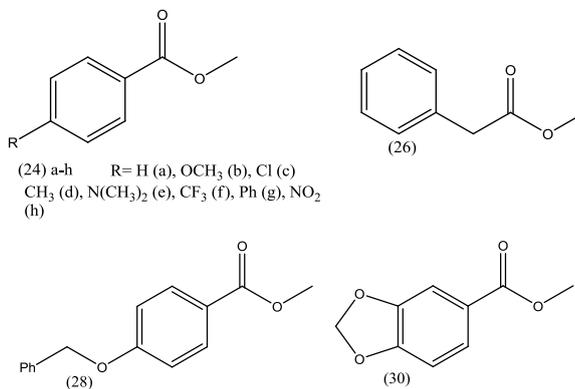
Esta reação “*one-pot*” permite sintetizar o éster metílico a partir de aldeídos, quando a indisponibilidade ou estabilidade do ácido não permitir a Esterificação de Fischer. Apesar desta metodologia, que explora o emprego sequencial de soluções metanólicas de I_2 e KOH a $0^\circ C$, não ter seu mecanismo completamente esclarecido, sabe-se que provavelmente envolve a oxidação do intermediário hemiacetal pelo ácido hipoidoso (HIO) formado “*in situ*” (YAMADA, S. *et al.*, 1992) (Esquema 14).



Esquema 14 – Reação e mecanismo da oxidação de Yamada

A Tabela 3 descreve os rendimentos, o ponto de fusão e o aspecto visual dos ésteres sintetizados.

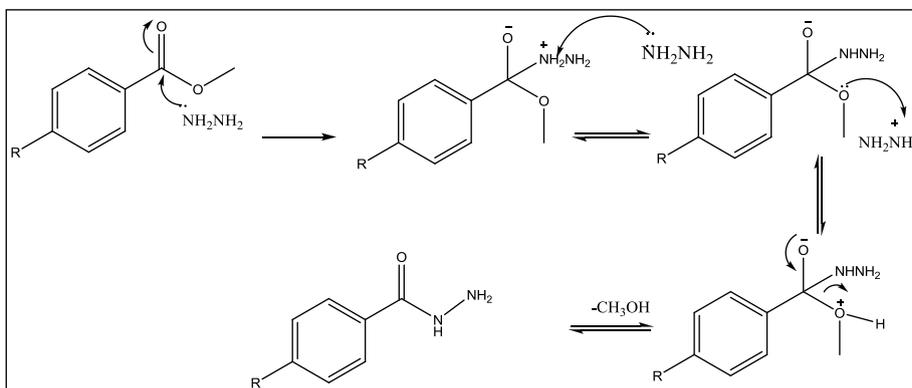
Tabela 3. Rendimentos reacionais e aspecto visual dos ésteres metílicos.



Composto	Rendimento	Aspecto Físico
24 a	92%	Óleo amarelado
24 b	90%	Sólido branco
24 c	93%	Sólido branco
24 d	90%	Sólido bege
24 e	88%	Sólido amarelo
24 f	86%	Sólido branco
24 g	91%	Sólido bege
24 h	87%	Sólido branco
26	85%	Sólido branco
28	58%	Sólido branco amarelado
30	90%	Sólido bege

4.2 Síntese das Hidrazidas 29 a-i, 31 e 32

A reação de ésteres com amônia (amonólise) ou com aminas primárias e secundárias é sinteticamente útil para a síntese de amidas. Quando se usa hidrazina, o produto é uma hidrazida e a reação é uma hidrazinólise. Para a obtenção das hidrazidas propostas, reagiu-se os ésteres correspondentes (**24 a-h**, **26**, **28** e **30**) com hidrato de hidrazina a 80%, sob refluxo em etanol (LIMA, 1998). O mecanismo da reação é do tipo adição-eliminação em carbonilas (e está descrito no Esquema 15).



Esquema 15 – Mecanismo da reação de hidrazinólise de ésteres.

A comparação dos espectros de RMN-¹H das hidrazidas (**29 a-i**, **31** e **32**) com os dados descritos por Lima (LIMA et al, 2000), permitiu-nos atribuir aos hidrogênios ligados aos átomos de nitrogênio do grupamento hidrazida os dois sinais singletos variando de δ 9,42-10,16 (CO-NH-) e δ 4,36-4,67 (-NH₂). As tabelas a seguir descrevem as propriedades e todos os dados de RMN-¹H e RMN-¹³C referentes às hidrazidas obtidas.

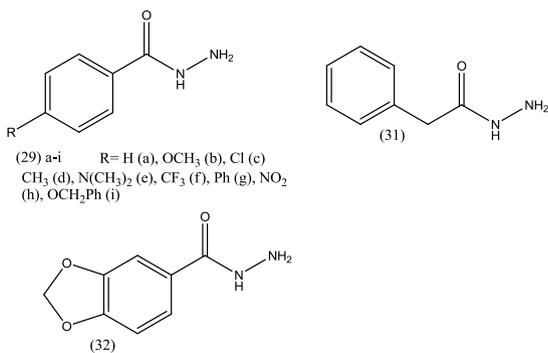
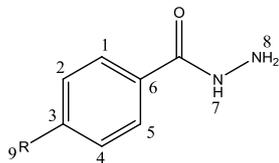
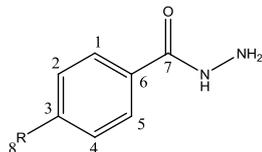


Tabela 4. Rendimentos e propriedades das hidrazidas

Composto	Rendimento	P.F (°C)	Aspecto Visual
29 a	82%	104-105	Amarelado
29 b	85%	128-129	Acinzentado
29 c	85%	164-165	Branco
29 d	92%	109-110	Cinza
29 e	80%	137-138	Amarelo
29 f	90%	140-141	Bege
29 g	75%	120-121	Branco
29 h	80%	153-154	Amarelo
29 i	74%	144-145	Branco
31	80%	108-109	Cinza
32	84%	170-171	Bege

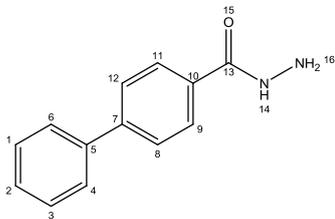
Tabela 5. Dados de RMN-¹H das hidrazidas **29 a-f** e **29 h**. Valores em ppm.

Composto	NH	NH ₂	H ₁ e H ₅	H ₂ e H ₄	H ₆	OCH ₃	CH ₃	N(CH ₃) ₂
	(s)	(s)	(d)	(d)	(dd)	(s)	(s)	(s)
29 a	9,78	4,50	7,82	7,47	7,47	-	-	-
29 b	9,62	4,43	7,81	6,96	-	3,79	-	-
29 c	9,85	4,52	7,83	7,51	-	-	-	-
29 d	9,72	4,48	7,75	7,26	-	-	2,36	-
29 e	9,42	4,36	7,72	6,70	-	-	-	2,97
29 f	10,05	4,64	8,03	7,85	-	-	-	-
29 h	10,16	4,67	8,07	8,32	-	-	-	-

Tabela 6. Dados de RMN-¹³C das hidrazidas **29 a-f** e **29 h**.

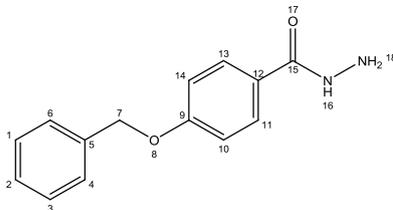
Composto	C=O	C ₁ e C ₅	C ₂ e C ₄	C ₃	C ₆	OCH ₃	CH ₃	N(CH ₃) ₂
29 a	165,91	126,92	128,26	131,01	133,29	-	-	-
29 b	165,65	128,70	113,50	161,42	125,51	55,27	-	-
29 c	165,35	129,41	128,94	136,42	132,62	-	-	-
29 d	166,37	127,44	129,33	141,39	130,98	-	21,44	-
29 e	166,74	128,72	111,35	152,50	120,42	-	-	40,21
29 f	165,02	128,35	125,83	131,36	137,61	-	-	-
29 h	164,39	124,07	128,94	149,41	139,51	-	-	-

Tabela 7. Dados de RMN-¹H e RMN-¹³C do composto **29 g** (bifenilidrazida). Valores em ppm.



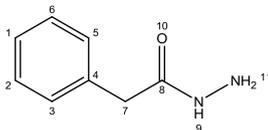
1 e 3	4 e 6	2	5	7	8 e 12	9 e 11	10	13	14	16	
RMN- ¹ H	7,52 (m)	7,69 (m)	7,36 (m)	-	-	7,77 (m)	7,93 (m)	-	-	9,85(s)	4,55 (s)
RMN- ¹³ C	128,17	127,08	128,55	139,7	143,2	127,37	129,57	132,66	166,13	-	-

Tabela 8. Dados de RMN-¹H e RMN-¹³C do composto **29 i** (p-benzoxi-fenilidrazida). Valores em ppm.



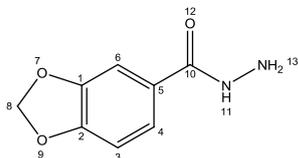
1 e 3	2	5	4 e 6	7	9	10 e 14	11 e 13	12	15	16	18	
RMN- ¹ H	7,44 (m)	7,38 (m)	-	7,52 (d)	5,25 (s)	-	7,22 (d)	8,05 (d)	-	-	9,62 (s)	4,43 (s)
RMN- ¹³ C	129,01	128,39	136,98	128,36	70,01	162,31	115,37	130,35	123,49	165,20	-	-

Tabela 9. Dados de RMN-¹H e RMN-¹³C do composto **31** (benzilidrazida). Valores em ppm.



1	2 e 6	4	3 e 5	7	8	9	11	
RMN- ¹ H	7,28 (d)	7,30 (dd)	-	7,24 (d)	3,24 (s)	-	9,26 (s)	4,25 (s)
RMN- ¹³ C	126,86	128,68	136,77	129,45	40,98	170,09	-	-

Tabela 10. Dados de RMN-¹H e RMN-¹³C do composto **32** (metilenodioxi-fenilhidrazida). Valores em ppm.



	1	2	3	4	5	6	8	10	11	13
RMN- ¹ H	-	-	6,96 (d)	7,41(d)	-	7,45(s)	6,08(s)	-	9,62(s)	3,87(s)
RMN- ¹³ C	147,31	149,61	107,01	121,93	127,21	107,90	101,65	165,30	-	-

O espectro de RMN-¹³C do composto **29 f** (R= CF₃) não apresenta o sinal do átomo de carbono ligado aos átomos de flúor, devido ao pouco tempo de aquisição na análise da amostra, que deve ser de, pelo menos, vinte minutos para a obtenção do sinal. O sinal do átomo de carbono aromático ligado ao grupo CF₃ é um quarteto de baixa intensidade, devido ao seu acoplamento com os átomos de flúor.

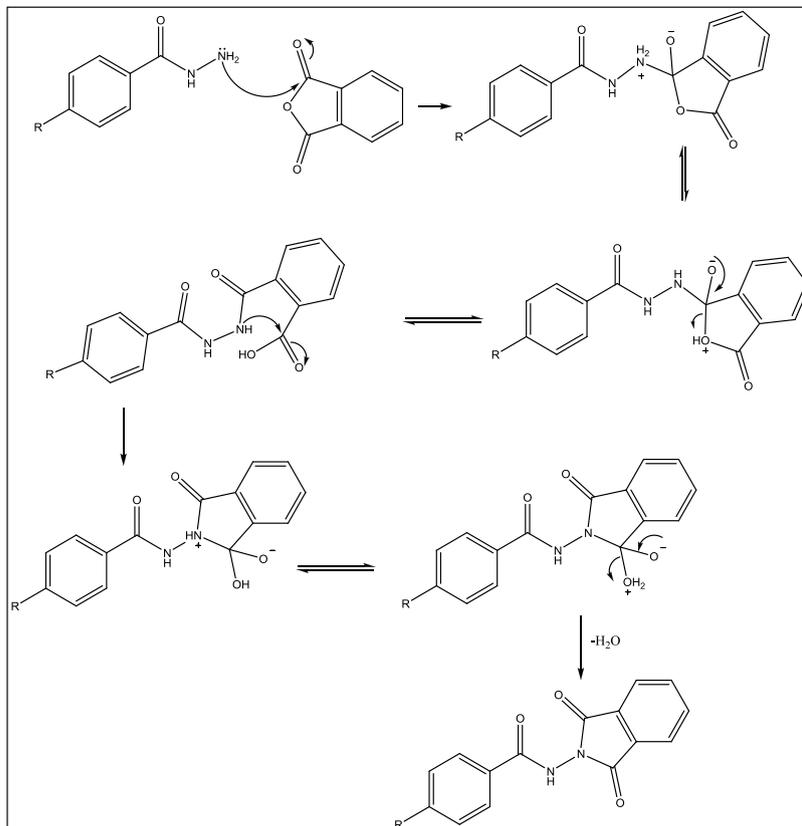
4.3 Síntese das Ftalazoilidrazidas **33 a-i**, **34** e **35**

As ftalazoilidrazidas de interesse foram obtidas através da reação das correspondentes hidrazidas (**29a-i**, **31** e **32**) com anidrido ftálico, previamente purificado. Esta purificação se faz necessária devido à instabilidade do anidrido frente à umidade, gerando seu correspondente ácido ftálico que influencia negativamente os rendimentos reacionais.

A reação foi realizada em fase sólida, sendo favorecida pela utilização da radiação em microondas, que diminui consideravelmente o tempo de reação e aquece rapidamente, minimizando as dificuldades das reações em meios heterogêneos, sem prejuízos para os rendimentos, em geral superiores aos de reações semelhantes que usam aquecimento convencional (KAPPE e STADLER, 2005).

O mecanismo reacional descrito no Esquema 16 mostra o ataque inicial à carbonila exercido pelo nitrogênio mais nucleofílico, uma vez que o nitrogênio amídico tem sua nucleofilicidade reduzida com relação ao outro, devido ao efeito retirador de elétrons por indução e ressonância exercido pela carbonila (Esquema 16). Adicionalmente, podemos ver que a etapa final de formação da ftalimida se dá pela eliminação de água, o que, mais uma

vez, justifica o uso da reação em fase sólida, devido à sua pronta evaporação e eliminação do meio reacional, não favorecendo a reversibilidade da reação.



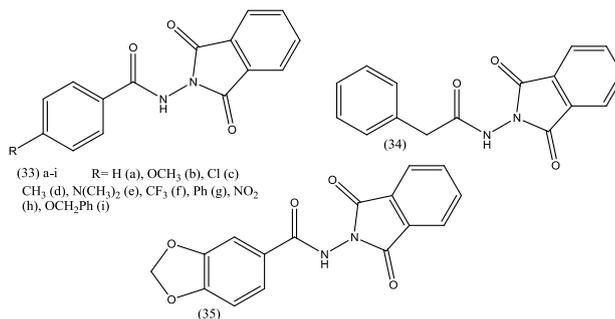
Esquema 16 – Mecanismo para a síntese de ftalazolidrazidas.

A comparação dos espectros de RMN-¹H das ftalazolidrazidas (**33 a-i**, **34** e **35**), frente aos dados obtidos para as hidrazidas reagentes (produtos de partida), mostra o desaparecimento dos sinais singletos na faixa de δ 4,36-4,67 relativos aos hidrogênios ligados ao átomo de nitrogênio amínico final da hidrazida (-NH₂) e mostra também a mudança no deslocamento químico da faixa de δ 9,42-10,16 do átomo de hidrogênio ligado ao nitrogênio do grupo amida (CO-NH-), para a faixa de δ 10,90-11,78. Esta mudança para valores mais altos pode ser explicada pelo efeito retirador de elétrons por indução e ressonância exercido pelas duas carbonilas do anel ftalimídico introduzido na estrutura, levando a uma desproteção, ou menor blindagem, do átomo de hidrogênio, por densidade eletrônica.

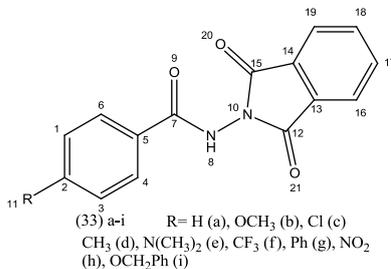
Os espectros de RMN-¹³C das ftalazoidrazidas, comparados aos das hidrazidas, apresentam sinal adicional referentes às duas carbonilas do anel ftalimídico na faixa de δ 164,9-166,3, com o dobro da intensidade do sinal referente à carbonila da hidrazida. Além disso, ambos os espectros de RMN (¹H e ¹³C), apresentaram sinais adicionais nas faixas referentes ao anel aromático da ftalimida adicionada às estruturas.

As tabelas a seguir descrevem as propriedades e todos os dados referentes às ftalazoidrazidas obtidas.

Tabela 11. Rendimentos e propriedades das ftalazoidrazidas



Composto	Rendimento	P.F (°C)	Aspecto Visual
33 a	71%	209-210	Branco
33 b	80%	228-229	Bege
33 c	86%	257-258	Branco
33 d	88%	223-224	Branco
33 e	70%	239-240	Amarelo
33 f	53%	210-211	Bege
33 g	77%	211-212	Branco
33 h	65%	236-237	Amarelo
33 i	58%	235-236	Branco
34	78%	219-220	Branco
35	80%	244-245	Branco

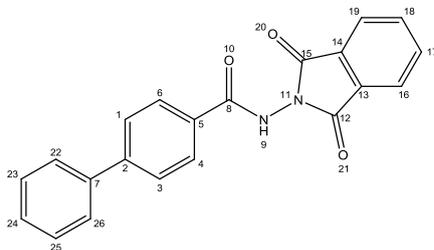
Tabela 12. Dados de RMN-¹H dos compostos **33 a-f** e **33 h**. Valores em ppm.

Composto	H ₁ e H ₃	H ₄ e H ₆	H ₈	H ₁₆ e H ₁₉	H ₁₇ e H ₁₈	H ₁₁	OCH ₃	CH ₃	N(CH ₃) ₂
		d	s	d	dd	s	s	s	s
33 a	7,59 (dd)	8,04	11,36	7,97	8,00	7,70	-	-	-
33 b	7,17 (d)	8,02	11,18	7,96	7,98	-	3,87	-	-
33 c	7,68 (d)	8,01	11,48	8,01	8,01	-	-	-	-
33 d	7,41 (d)	8,04	11,27	7,90	7,99	-	-	2,43	-
33 e	6,81 (d)	7,85	10,90	8,00	8,03	-	-	-	3,05
33 f	8,01 (d)	8,21	11,67	8,05	8,07	-	-	-	-
33 h	8,45 (d)	8,24	11,78	8,02	8,06	-	-	-	-

Tabela 13. Dados de RMN-¹³C dos compostos **33 a-f** e **33 h**. Valores em ppm.

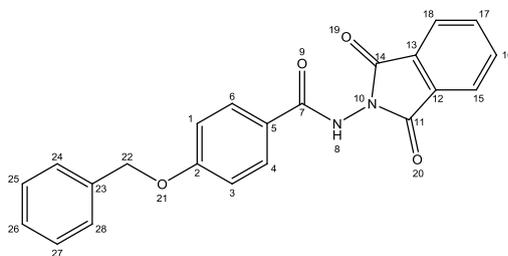
Composto	C ₁ e C ₃	C ₄ e C ₆	C ₂	C ₅	C ₇	C ₁₂ e C ₁₅	C ₁₃ e C ₁₄	C ₁₆ e C ₁₉	C ₁₇ e C ₁₈	OCH ₃	CH ₃	N(CH ₃) ₂
33 a	129,30	128,25	133,33	131,2	165,8	165,86	129,95	124,36	135,91	-	-	-
33 b	114,53	130,31	163,21	123,3	165,3	166,02	129,96	124,32	135,87	55,99	-	-
33 c	129,47	130,20	138,21	129,9	165,7	164,94	129,93	124,39	135,93	-	-	-
33 d	129,84	128,33	143,55	134,0	165,7	165,96	129,99	124,40	135,95	-	21,62	-
33 e	111,36	130,07	153,49	128,1	162,9	166,32	132,12	129,85	135,89	-	-	40,15
33 f	124,56	129,29	132,72	134,9	164,9	165,69	129,96	124,48	136,01	-	-	-
33 h	124,56	129,93	150,45	136,6	164,6	165,61	129,91	124,51	136,04	-	-	-

Tabela 14. Dados de RMN-¹H e RMN-¹³C do composto **33 g**. Valores em ppm.



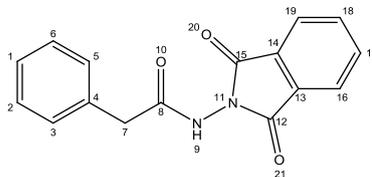
	1 e 3	2	4 e 6	5	7	8	9	12 e 15	13 e 14	16 e 19	17 e 18	22 e 26	23 e 25	24
	(d)		(d)				(s)			(d)	(d)	(d)	(m)	(m)
RMN- ¹ H	7,93	-	8,09	-	-	-	11,43	-	-	8,01	8,06	7,72	7,54	7,47
RMN- ¹³ C	128,8	144,7	129,6	131,8	143,8	165,6	-	165,93	130,01	124,43	135,97	127,51	129,02	128,69

Tabela 15. Dados de RMN-¹H e RMN-¹³C do composto **33 i**. Valores em ppm.



	1 e 3	2	4 e 6	5	7	8	11 e 14	12 e 13	15 e 18	16 e 17	22	23	24 e 28	25 e 27	26
	(d)		(d)			(s)			(d)	(d)	(s)		(d)	(m)	(m)
RMN- ¹ H	7,22	-	8,04	-	-	11,2	-	-	7,98	8,00	5,25	-	7,51	7,44	7,38
RMN- ¹³ C	115,4	162,3	130,3	123,5	165,2	-	166,05	130,01	124,38	135,92	70,01	136,98	128,36	129,01	128,39

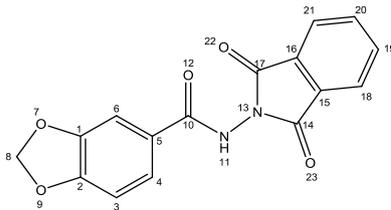
Tabela 16. Dados de RMN-¹H e RMN-¹³C do composto **34**. Valores em ppm



	1	2 e 6	3 e 5	4	7	8	9	12 e 15	13 e 14	16 e 19	17 e 18
RMN- ¹ H	7,30	7,29	7,37	-	3,74	-	10,98	-	-	7,95	7,97

RMN-¹³C 127,28 128,88 129,55 135,3 39,99 170,1 - 165,67 129,97 124,24 135,78

Tabela 17. Dados de RMN-¹H e RMN-¹³C do composto **35**. Valores em ppm.



	1	2	3	4	5	6	8	10	11	14 e 17	15 e 16	18 e 21	19 e 20
RMN- ¹ H	-	-	7,13	7,63	-	7,50	6,20	-	11,20	-	-	8,02	8,04
RMN- ¹³ C	148	151	108	123,9	124,9	108,8	102,6	165	-	165,98	129,99	124,38	135,93

Tabela 18. Dados espectroscópicos de infravermelho das ftalazoilidrazidas.

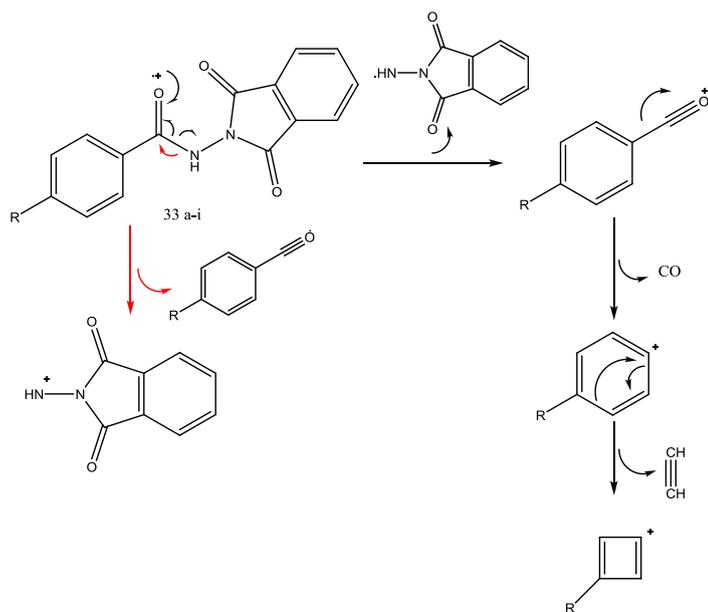
Principais absorções no I.V (cm ⁻¹)								
Composto	N-H	C=O (Ftalimida)	C=O (Amida)	C-H (sp ²)	C=C (Arom.)	C-H (sp ³)	C-O	C-N
33 a	3228,05	1739,06	1652,26					
33 b	3215,23	1739,64	1643,30	3014,64	1606,65			
33 c	3344,46	1735,88	1681,87					
33 d	3350,24	1741,66	1672,23					
33 e	3259,59	1739,74	1651,01		1602,79	2923,99		
33 f	3232,59	1743,59	1666,44					
33 g	3242,23	1741,66	1658,73					
33 h	3348,31	1731,81	1689,59					
33 i	3215,23	1739,64	1643,30	3014,64	1606,65			

34	3194,01	1751,31	1674,16	3005		
35	3248,02	1745,52	1666,44		1504	2898,92

A formação dos principais íons dos espectros de massas das ftalazoilidrazidas estão representados na proposta de fragmentação mostrada nos esquemas abaixo. A técnica de ionização por impacto de elétrons (EI), usada pelo aparelho, leva a uma fragmentação excessiva das moléculas, devido à alta energia do feixe ionizador (70 eV), o que explica a baixa intensidade dos íons com maiores massas, incluídos os íons moleculares (M^+) de todas as moléculas analisadas.

Todos os espectros de massas apresentaram como pico base, ou como um pico em grande intensidade, o íon derivado da clivagem da ligação amídica C-N adjacente à carbonila benzílica, pois esta leva à formação do íon acílio, que é estabilizado por ressonância, ($R-C\equiv O^+ \leftrightarrow R-C^+=O$), aumentando seu tempo de vida, podendo ser usado com um *fingerprint* para esta série.

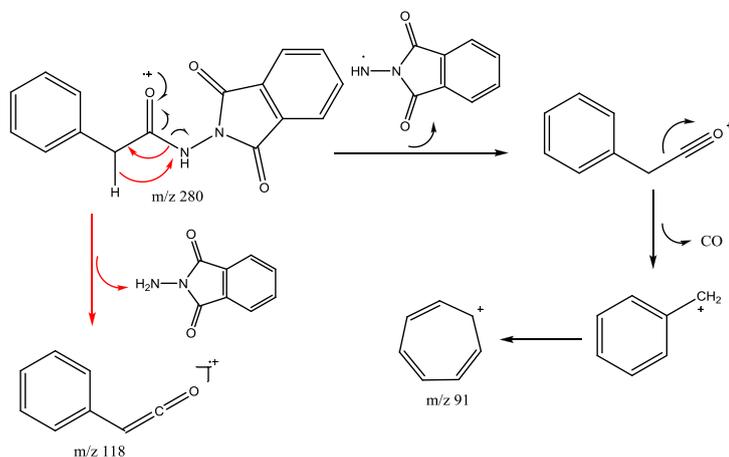
Apenas os compostos **33 i** e **34**, apresentaram como íon molecular o também estável íon tropílio ($C_7H_6^+$), devido à presença de um grupo metileno (CH_2) ligado ao anel aromático, que permite a expansão do anel de 6 para o anel de 7 membros. Apesar disto, ambos ainda apresentam o íon derivado da clivagem C-N citada com grande intensidade, como citado acima.



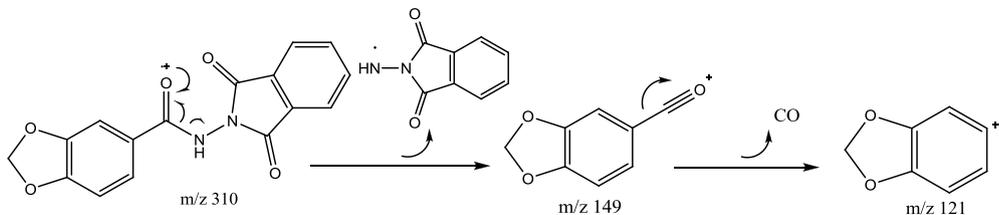
Esquema 17. Proposta de fragmentações de massas dos compostos **33 a-i**.

Tabela 19. Picos de fragmentação de massas dos compostos 33 a-i.

Composto	Substituinte R	Íon molecular (M^+) (m/z)	Pico base (m/z)
33 a	H	266	105
33 b	OCH ₃	296	135
33 c	Cl	300	139/141
33 d	CH ₃	280	119
33 e	N(CH ₃) ₂	309	148
33 f	CF ₃	334	173
33 g	Ph	342	181
33 h	NO ₂	311	150
33 i	OCH ₂ Ph	372	91



Esquema 18. Proposta de fragmentações de massas do composto **34**.

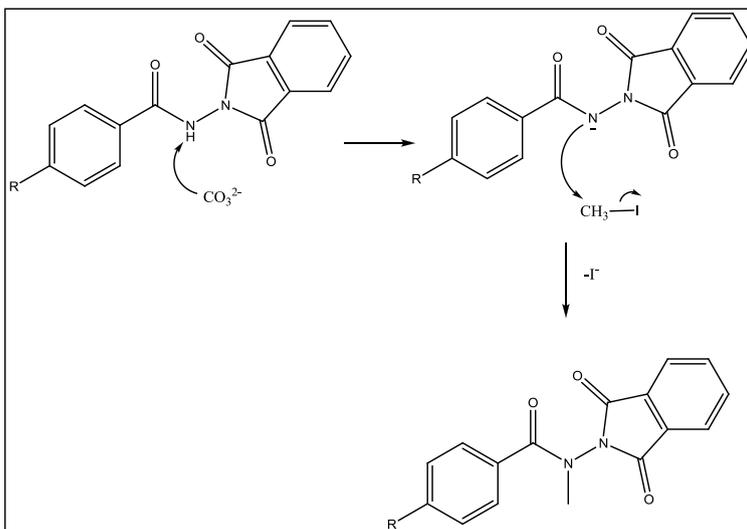


Esquema 19. Proposta de fragmentações de massas do composto **35**.

4.4 Síntese das *N*-metil-fenilftalazoidrazidas **36 a-i**, **37** e **38**

Os compostos *N*-metil-fenilftalazoidrazidas foram sintetizados através de reação de *N*-alquilação das ftalazoidrazidas (**33 a-i**, **34** e **35**) em meio básico de carbonato de potássio em DMF, utilizando iodeto de metila como agente alquilante.

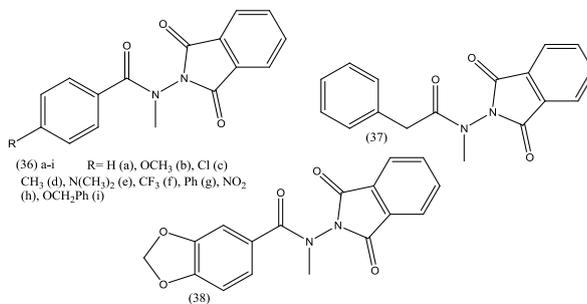
Esta etapa consiste de uma reação de substituição nucleofílica do tipo bimolecular (S_N2), onde o nucleófilo gerado pela abstração do hidrogênio ácido ligado ao nitrogênio amídico ataca o carbono parcialmente positivo ligado ao halogênio. Isto é feito pelo carbonato de potássio, um sal de caráter básico, com o ânion carbonato atuando como base (Esquema 20).



Esquema 20 – Mecanismo da reação de metilação.

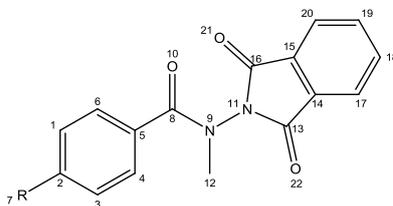
O iodeto de metila é o substrato mais comum usado em reações de metilação desse tipo, visto que o iodo é um melhor grupo de saída, com relação aos demais halogênios. O iodeto que é liberado após o ataque nucleofílico é uma base fraca, que pode melhor estabilizar a carga negativa, diminuindo a energia de ativação e aumentando, assim, a velocidade da reação. Os solventes mais utilizados são os polares apróticos (não têm ligações OH), que dissolvem os compostos iônicos e solvatam muito bem os cátions, aumentando a reatividade do ânion básico, que não é solvatado. A constante dielétrica (ϵ) quantifica a capacidade de solvatação e, quanto maior, mais pronunciado este efeito. Isto explica o melhor consumo dos reagentes, como previamente observado (TEIXEIRA, 2010), quando usado o DMF ($\epsilon = 38,3$), com maior constante dielétrica que a acetonitrila ($\epsilon = 37,5$) e a acetona ($\epsilon = 20,7$) (LAKOWICZ, 1999), nesta ordem, tendo sido escolhido como padrão.

A tabela 20 mostra os rendimentos reacionais, os pontos de fusão e o aspecto visual das *N*-metil-fenilftalazoidrazidas.

Tabela 20. Rendimentos e propriedades das *N*-metil-fenilftalazolidrazidas.

Composto	Rendimento	P.F (°C)	Aspecto Visual
36 a	85%	139-140	Branco
36 b	80%	141-142	Bege
36 c	77%	174-175	Acinzentado
36 d	83%	134-135	Branco
36 e	60%	155-156	Amarelo
36 f	58%	170-171	Bege
36 g	78%	163-164	Branco
36 h	45%	172-173	Amarelo
36 i	53%	178-179	Branco
37	75%	141-142	Branco
38	65%	157-158	Bege

Tabela 21. Dados de RMN-¹H dos compostos **36 a-f** e **36 h**. Valores em ppm.

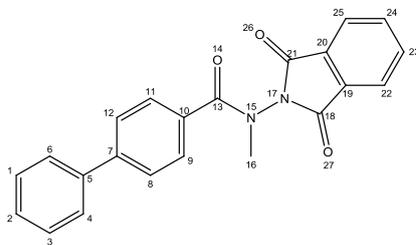


Composto	1 e 3	4 e 6	12	17 e 20	18 e 19	H ₇	OCH ₃	(CH ₃) ₇	N(CH ₃) ₂
36 a	7,32	7,35	3,32	7,87	7,87	7,34	-	-	-
36 b	6,88	7,34	3,31	7,92	7,92	-	3,70	-	-
36 c	7,41	7,47	3,38	7,96	7,96	-	-	-	-
36 d	7,13	7,25	3,37	7,89	7,89	-	-	2,21	-
36 e	6,80	7,85	3,04	7,98	8,02	-	-	-	3,04
36 f	7,58	7,76	3,40	7,92	7,92	-	-	-	-
36 h	8,20	7,60	3,38	7,91	7,91	-	-	-	-

Tabela 22. Dados de RMN-¹³C dos compostos **36 a-f** e **36 h**. Valores em ppm.

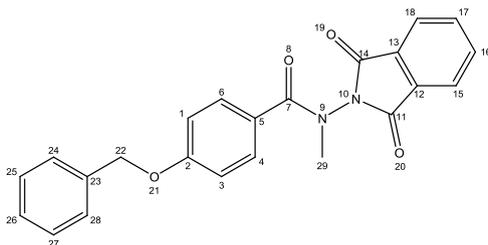
Composto	1 e 3	2	4 e 6	5	8	12	13 e 16	14 e 15	17 e 20	18 e 19	OCH ₃	CH ₃	N(CH ₃) ₂
36 a	128,74	131,2	126,4	134,1	172,4	35,9	164,72	129,46	124,35	135,85	-	-	-
36 b	114,16	162,0	128,8	125,9	172,1	36,2	164,90	129,63	124,45	135,90	55,71	-	-
36 c	128,58	132,9	129,1	122,2	171,5	36,1	164,77	129,55	124,57	136,02	-	-	-
36 d	126,67	141,2	129,3	131,1	172,4	36,0	164,81	129,56	124,44	135,89	-	21,33	-
36 e	112,02	154,1	130,5	117,9	166,2	36,9	166,98	130,72	124,95	136,51	-	-	40,79
36 f	126,04	128,9	127,5	138,2	171,2	35,9	164,70	129,48	124,55	136,01	-	-	-
36 h	124,58	149,0	128,0	140,1	170,8	35,9	164,64	129,50	124,27	136,00	-	-	-

Tabela 23. Dados de RMN-¹H e RMN-¹³C do composto **36 g**. Valores em ppm



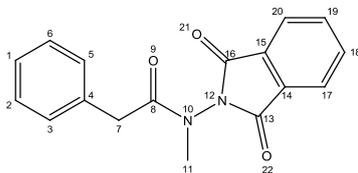
	1 e 3	2	4 e 6	5	7	8 e 12	9 e 11	10	13	16	18 e 21	19 e 20	22 e 25	23 e 24
RMN- ¹ H	7,46	7,46	7,39	-	-	7,63	7,68	-	-	3,38	-	-	7,92	7,92
RMN- ¹³ C	127,4	128,6	127,2	139	142,7	126,9	129,5	132,9	169	36,12	164,89	129,6	124,5	135,95

Tabela 24. Dados de RMN-¹H e RMN-¹³C do composto **36 i**. Valores em ppm.



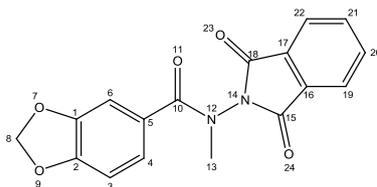
	1 e 3	2	4 e 6	5	7	11 e 14	12 e 13	15 e 18	16 e 17	22	23	24 e 28	26	25 e 27
RMN- ¹ H	6,96	-	7,32	-	-	-	-	7,92	7,92	5,04	-	7,33	7,38	7,38
RMN- ¹³ C	170,8	160,5	128,9	125	170,8	164,9	128,4	122,24	135,91	69,8	131,9	124,4	126,7	128,4

Tabela 25. Dados de RMN-¹H e RMN-¹³C do composto **37**. Valores em ppm.



	1	2 e 6	3 e 5	4	7	8	11	13 e 16	14 e 15	17 e 20	18 e 19
RMN- ¹ H	7,34	7,10	7,24	-	3,59	-	3,19	-	-	7,98	8,00
RMN- ¹³ C	127,1	128,69	129,8	135	38,6	172,9	35,45	165,10	130,33	124,42	135,71

Tabela 26. Dados de RMN-¹H e RMN-¹³C do composto **38**. Valores em ppm



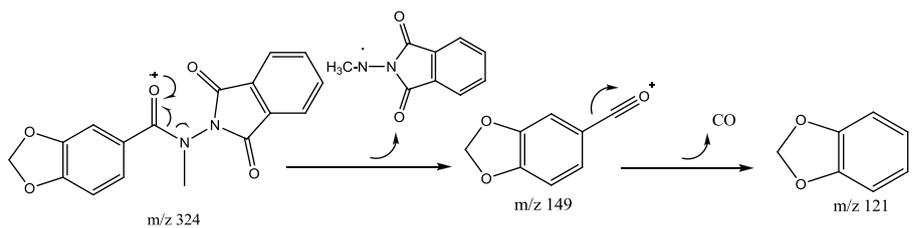
	1	2	3	4	5	6	8	10	13	15 e 18	16 e 17	19 e 22	20 e 21
RMN- ¹ H	-	-	6,90	6,90	-	6,90	6,05	-	3,41	-	-	7,97	7,97
RMN- ¹³ C	149,8	150,5	107,3	121,4	127,4	108,6	102,2	170,1	36,27	164,94	129,63	124,53	135,97

Analisando os espectros de RMN-¹H das *N*-metil-fenilftalazoidrazidas (**36 a-i**, **37** e **38**), observa-se, em relação aos mesmos compostos não-metilados, o desaparecimento do sinal singlete entre 10-11 ppm, correspondente ao H amídico, e o aparecimento de um singlete integralizando 3 hidrogênios em torno de 3-4 ppm, correspondente aos 3H metílicos. O aparecimento de um sinal em torno de 40 ppm, característico de C ligado a N, ausente no espectro do composto não-metilado, confirma a metilação. Os demais dados de deslocamentos químicos continuaram semelhantes.

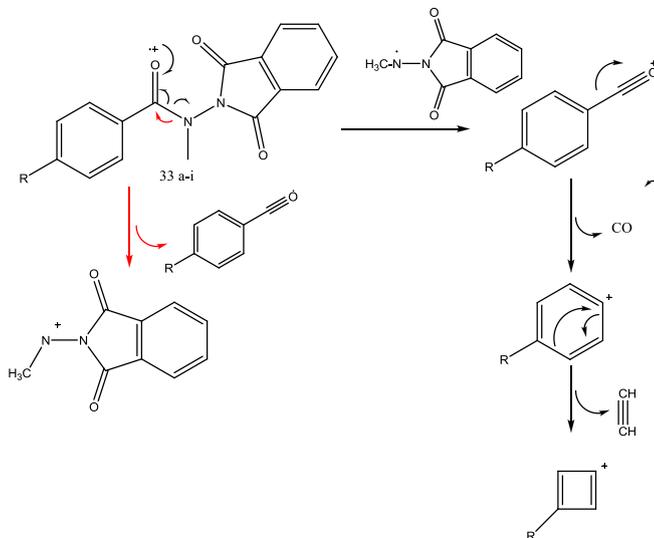
Tabela 27. Dados espectroscópicos de infravermelho das *N*-metil-fenilftalazoilidrazidas.

Composto	Principais absorções no I.V (cm ⁻¹)						
	C=O (Ftalimida)	C=O (Amida)	C-H (sp ²)	C=C (Arom.)	C-H (sp ³)	C-O	C-N
36 a	1739,74	1670,3	3062,83				
36 b	1735,88	1670,3	3026,21	1606,65	2929,78	1255,62	
36 c	1735,88	1651,0	3059,00	1597,01	2923,99	-	
36 d	1737,81	1651,1	3053,22	1610,51	2918,20	-	
36 e	1735,95	1662,6	3039,71	1610,51	2918,20	-	1041,53
36 f	1737,81	1683,8	3062,86		2923,99	-	1128,32
36 g	1735,88	1662,59	3030,07		2925,92	-	
36 h	1732,02	1679,94	3087,93		2923,99	-	
36 i	1732,00	1668,37	3028,14			1346,27	
37	1739,74		3028,14		2914,35		1072,39
38	1733,95	1662,59	3074,43	1610,51	2895,06	-	1039,60

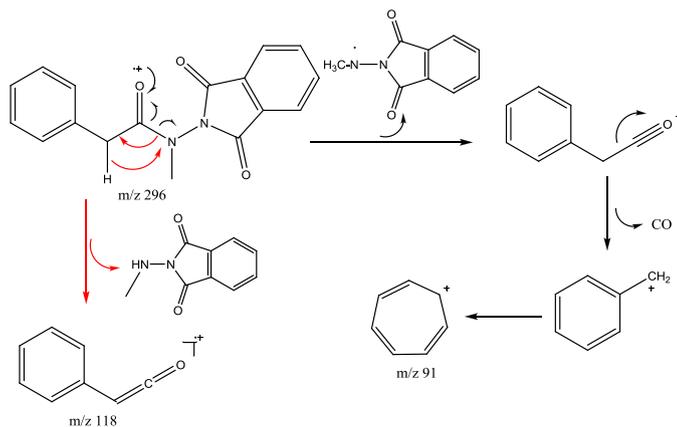
A formação dos principais íons dos espectros de massas das *N*-metil-fenilftalazoilidrazidas está representada na proposta de fragmentação mostrada nos esquemas abaixo. De maneira geral, os espectros de massas destes compostos não apresentaram diferença com relação aos compostos não-metilados, quando analisamos os principais picos, visto que estes não sofreram alterações estruturais pela introdução do grupo CH₃. Somente os picos derivados de fragmentações contendo o anel ftalimídico, todos de intensidade muito baixa, apresentaram alterações nos valores de *m/z* em relação aos compostos não-metilados.



Esquema 21. Proposta de fragmentações de massas do composto **38**.



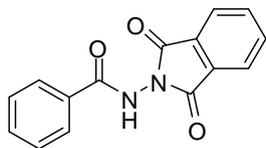
Esquema 22. Proposta de fragmentações de massas dos compostos **36 a-i**.



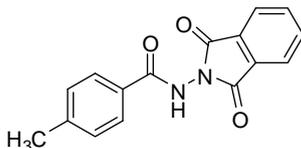
Esquema 23. Proposta de fragmentações de massas do composto **37**.

4.5 Resultados Farmacológicos

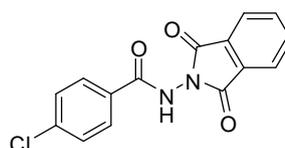
Como os testes farmacológicos foram realizados em outra instituição, as moléculas avaliadas receberam um código interno de nosso laboratório, como indicado abaixo.



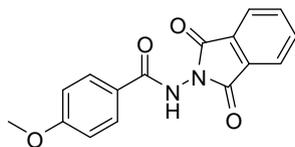
Código: LDQM-IN-1



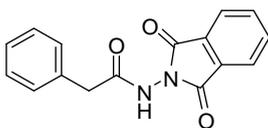
Código: LDQM-IN-2



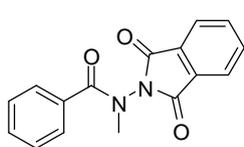
Código: LDQM-IN-3



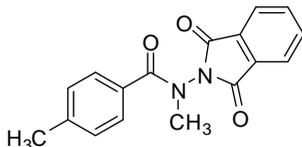
Código: LDQM-IN-4



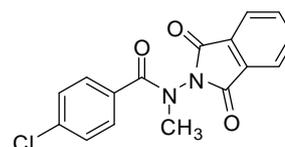
Código: LDQM-IN-6



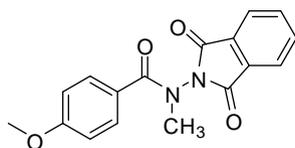
Código: LDQM-IN-7



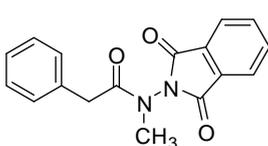
Código: LDQM-IN-8



Código: LDQM-IN-9



Código: LDQM-IN-10



Código: LDQM-IN-11

Figura 18 – Códigos utilizados nos testes farmacológicos.

Os gráficos abaixo mostram a produção de TNF- α após a indução do processo inflamatório por lipopolissacarídeos (LPS) em células de macrófagos peritoniais. O primeiro gráfico relaciona a presença das moléculas nas células e sua relação com a sobrevivência (eixo das coordenadas), isto é, se os compostos apresentam toxicidade à célula, na concentração de 10^{-4}

mol.L⁻¹ (M=mol.L⁻¹), na presença do veículo do ensaio (DMSO) e na presença e ausência do LPS. Verificou-se que nenhum composto diminuiu a sobrevivência das células, pela comparação com o controle (duas primeiras barras no gráfico), indicando que os mesmos não são tóxicos nem para as células não-estimuladas (NE), nem para as células nas condições experimentais, isto é, na presença de LPS.

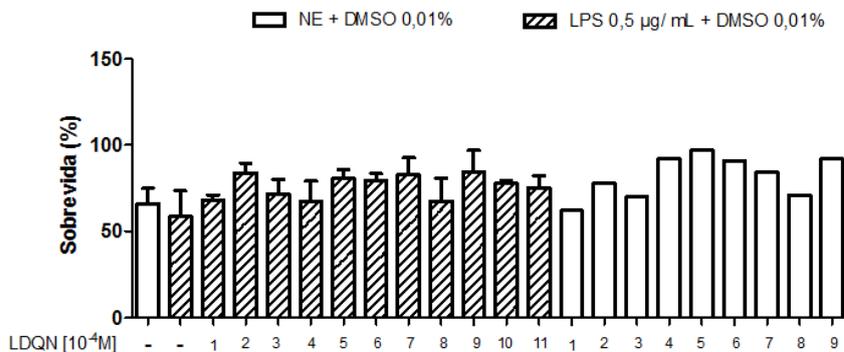


Gráfico 1 – Sobrevivência da célula em presença dos compostos. NE – não-estimulada.

O Gráfico 2 mostra o potencial anti-inflamatório dos compostos, na concentração de 10⁻⁴ mol/L (100µM), através da avaliação da inibição da produção da citocina pró-inflamatória TNF-α induzida pela presença de LPS. Adicionalmente, os compostos foram avaliados também na ausência de LPS para verificar se os mesmos poderiam induzir a produção de TNF-α, possuindo um caráter pró-inflamatório.

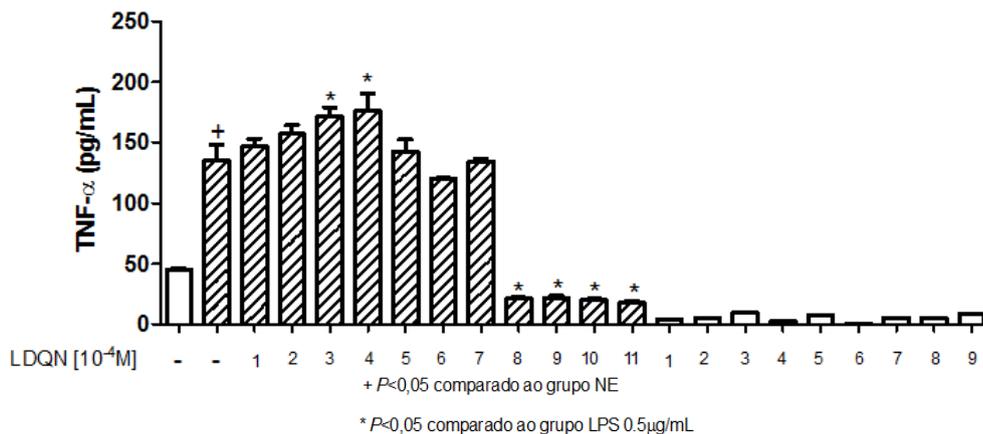


Gráfico 2 - Concentração de TNF-α em função dos compostos testados.

Como demonstrado, os compostos LDQM 8 (**36 d**), LDQM 9 (**36 c**), LDQM 10 (**36 b**) e LDQM 11 (**37**), inibiram a produção de TNF- α de maneira estatisticamente significativa, quando comparados com o controle das células excitadas por LPS (segunda barra, indicada por +). A análise do ensaio na ausência de LPS demonstrou que nenhum dos compostos avaliados apresenta indícios de atividade pró-inflamatória.

Os resultados obtidos demonstraram uma curiosidade: todos os compostos que apresentaram atividade anti-TNF- α (**36 b-d** e **37**) se tratavam de derivados *N*-metilados. Isto levanta duas hipóteses: a primeira, mais direta, de que a *N*-metilação poderia levar a um ponto adicional de interação hidrofóbica na amida, em detrimento da possibilidade da formação de uma ligação de hidrogênio; e a segunda que trata da já descrita mudança conformacional induzida pela *N*-metilação de grupos amida (WIBERG, 1999; OTANI et al, 2003).

Sem um alvo enzimático ou receptor conhecido para nossa série de compostos, a primeira hipótese se tornou um pouco difícil de comprovar, pois não sabemos ainda os requisitos estruturais da série para a ligação ao biorreceptor alvo. No entanto, a segunda hipótese pôde ser avaliada por um estudo teórico de análise conformacional.

Desta forma, procedemos um estudo conformacional sobre a ligação amídica utilizando o programa SpartanPro na base AM1. O ângulo de diedro utilizado para o cálculo foi aquele formado pelos átomos O=C-N-H (ftalazoilidrazidas, A) ou O=C-N-C (ftalazoilidrazonas, B) e definiu-se um giro deste diedro em 360° em 20 etapas.

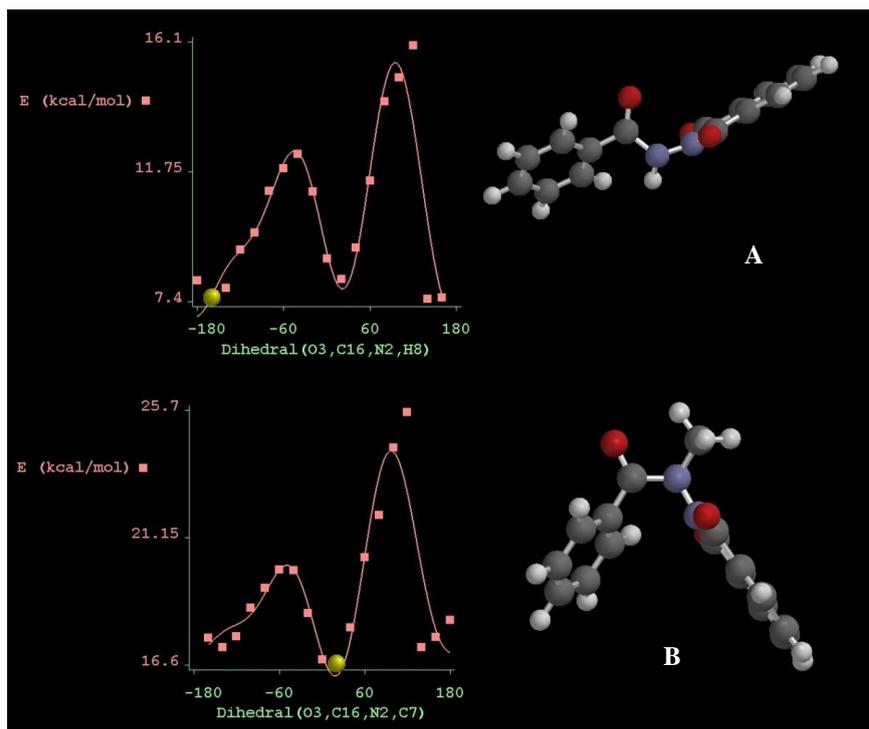
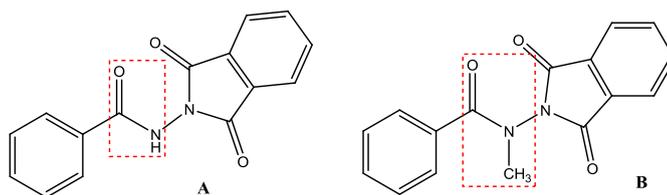
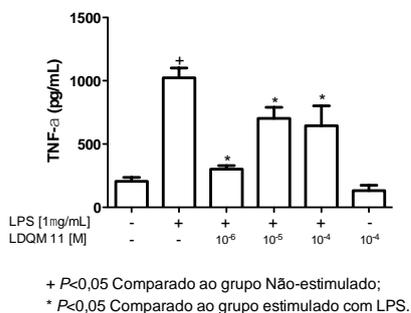
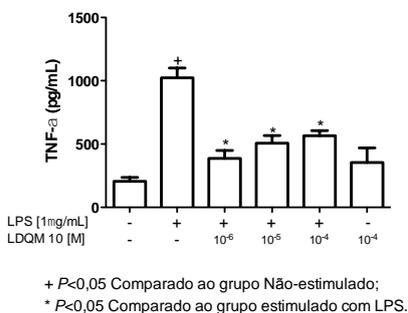
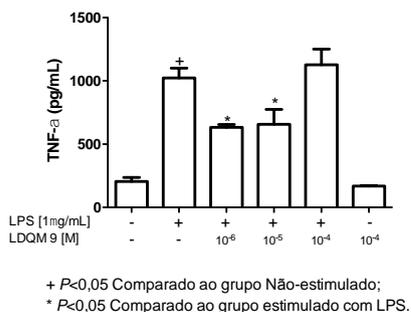
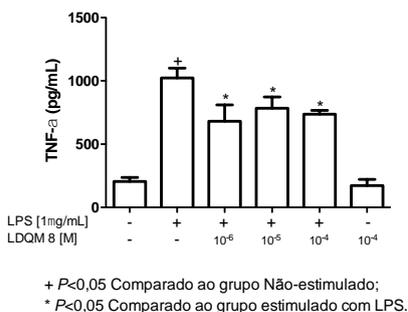


Figura 19. Análise conformacional da ligação amídica sem e com a *N*-metilação das ftalazolidrazidas.

Pode-se perceber que os mínimos conformacionais originados em cada série são distintos: na série não-metilada o hidrogênio da amida se encontra em uma posição *trans* em relação ao oxigênio da carbonila, enquanto a metila se encontra em posição *cis* com relação ao mesmo oxigênio. Isto faz com que a série *N*-metilada assuma uma conformação mais compacta, em forma de grampo, enquanto a não-metilada se mantém em uma conformação mais estendida. Isto está bem descrito na literatura (KÜMMERLE et al, 2012, KÜMMERLE et al, 2009) e poderia justificar a diferença das atividades observadas, uma vez que essa diferença conformacional entre as séries pode levar a diferentes formas de interação com o

bioreceptor. Estes cálculos serão refinados para melhor entendimento desta diferença conformacional.

Em seguida, para avaliação da efetividade dos compostos em concentrações mais baixas, decidiu-se realizar ensaios de inibição da produção de TNF- α sobre macrófagos alveolares desafiados com LPS, utilizando concentrações dos compostos de até 1 μ mol/L. Os resultados mostrados nos gráficos abaixo demonstram que mesmo a 1 μ M os compostos continuam apresentando inibição da produção desta citocina, com destaque para LDQM-8 e 11, que se mantêm com inibições maiores que 80%. Curiosamente, percebemos que para alguns compostos (LDQM-9, 10 e 11) a inibição se tornou maior com a redução da concentração dos compostos e isto pode ser explicado por uma questão de solubilidade neste modelo. Em altas concentrações os compostos apresentavam precipitações nos ensaios biológicos, o que poderia levar a uma menor eficácia na ação inibitória, já que a presença de partículas sólidas pode ser entendida como um agente agressor à célula e esta responder com a produção de TNF- α . Já em menores concentrações, esse problema era reduzido e passamos a ver a ação dos compostos sem interferentes físicos externos.



Gráficos 3, 4, 5 e 6 – Atividade em função da concentração para os compostos ativos.

5 CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS

As moléculas sintetizadas apresentaram atividade anti-TNF- α para alguns derivados metilados, mostrando a importância biológica deste grupo e a confirmação da atividade dos compostos ftalimídicos.

As modificações estruturais efetuadas a partir da série de quinazolinas descritas com atividade anti-TNF- α , propostas no planejamento estrutural, resultaram em compostos com a atividade biológica esperada, confirmando a eficácia das técnicas aqui aplicadas na gênese de moléculas visando atividade biológica.

A síntese proposta mostrou-se adequada e prática, apesar de ter apresentado, para alguns derivados, dificuldades nas etapas de ciclização do anel ftalimídico, e na etapa de metilação (devido à sobra de produto de partida), problemas sanados com modificações no tempo de reação e adição de reagente.

Os rendimentos obtidos foram satisfatórios e os compostos foram obtidos em teores de pureza superiores a 98%.

Os resultados farmacológicos mostraram a importância da análise conformacional das moléculas na avaliação da atividade biológica, pois a organização espacial dos átomos influencia na interação da molécula com o seu receptor.

Pelos resultados observados para alguns compostos metilados conclui-se que a substituição do átomo de hidrogênio amídico por um grupo metila resulta em uma restrição conformacional que tem efeito direto favorável na atividade biológica.

A maior atividade de alguns compostos em concentrações mais baixas pode ser explicada em função da baixa solubilidade e mostra a importância das avaliações de lipofilicidade (parâmetro π -hansch).

As avaliações das atividades biológicas de alguns compostos não foram realizadas a tempo, gerando a perspectiva de novos resultados satisfatórios.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Abbas, A., K.; Lichtman, A., H.; Pillai, S., (trad. Farias, A., S.); *Imunologia Celular e Molecular*, 6ª ed., Elsevier, Rio de Janeiro, **2008**.

Akgun, H.; Karamelekoglu, I.; *Anti-Inflammatory & Anti-Allergy Agents in Medicinal Chemistry: Recent Developments of Thalidomide Derivatives Possessing Anti-Inflammatory Activity*, 9, 71-81, **2010**.

Akgun, H.; Karamelekoglu, I.; Berk, B.; Kurnaz, I.; Sarbyk, G.; *Bioorg. Med. Chem: Synthesis and anti-mycobacterial activity of some phthalimide derivatives*, 20, 4149-4154, 2012.

Almeida, M. V.; Teixeira, F. M.; Souza de, M. V. N.; Amarante, G. W.; Alves, C. C. S.; Cardoso, S. H.; Mattos, A. M.; Ferreira, A. P.; Teixeria, H. C.; *Chem Pharm Bull.: Thalidomide Analogs from Diamines: Synthesis and Evaluation as Inhibitors of TNF- α Production*, 55, 2, 223-227, **2007**.

Andricopulo, A., D.; Filho, A., W.; Corrêa, R.; Santos, A., R., S.; Nunes, R., J.; Yunes, R., A.; Cechinel Filho, V.; *Pharmazie*, 53, 493, **1998**.

Antunes, R.; Batista, H.; Srivastara, R., M.; Thomas, G.; Araújo, C., C.; *Bioorg. Med. Chem. Lett*, 8, 3071, **1998**.

Back M. E.; Mandarino J. A. *Fleischer's glossary of Mineral Species. Tucson: The Mineralogical Record*, 343. **2008**.

Barreiro, E.J.; Fraga, C.A.M. *Química Medicinal: As Bases Moleculares da Ação dos Fármacos*, 2ª edição, ARTMED, Porto Alegre, **2008**.

Barreiro, E.J. *Estratégia de Simplificação Molecular no Planejamento Racional de Fármacos: A Descoberta de Novo Agente Cardioativo*, *Quim. Nova*, 25, 1172-1180, **2002**.

Blanchard, B. J.; Chen, A.; Rozeboom, L. M.; Stafford, K. A.; Weigele, P.; Ingram, V. M. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 101, 14326, **2004**.

Buchanan, G.R.; Debaun, M.R.; Quinn, C.T.; Steinberg, H. *Hematology: Sickle cell disease*. 35-47, **2004**.

Burger, A. *Burger's Medicinal Chemistry*, 4th ed, Willey, Nova York, 1980.

Buzzi, F., C.; Corrêa, R.; Cechinel Filho, V.; In: *Ciências Farmacêuticas: Contribuição ao desenvolvimentpo de novos fármacos e medicamentos*, Itajaí: Univali, cap.2, p. 59-105, **2003**.

Campos, F., B.; Corrêa, R.; Cechinel Filho, V.; *Síntese de Moléculas Bioativas: o exemplo das imidas cíclicas*, In: *Ciências Farmacêuticas: Contribuição ao desenvolvimentpo de novos fármacos e medicamentos*, Itajaí: Univali, p. 57-105, **2000**.

Cechinel Filho, V.; Corrêa, R.; Nunes, R., J.; Calixto, J., B.; Yunes, R., A.; *Pharm. Sci.*, 1, 399, **1995**.

Cechinel Filho, V.; *Quím. Nova: Principais avanços e perspectivas na área de produtos naturais ativos: estudos desenvolvidos no NIQFAR/UNIVALI*, 25 (3), p. 680-685, **2000**.

Cechinel Filho, V.; Campos, F. de; Yunes, R., A.; Corrêa, R.; Nunes, R., J.; *Quím. Nova: Aspectos Químicos e Potencial Terapêutico de Imidas Cíclicas: uma revisão da literatura*, V. 6, n° 2, p. 230-241, **2003**.

Chu, K. C.; *The Basis of Medicinal Chemistry: The quantitative analysis of structure-activity- relationships*, New York, Jonh Wiley, 393-418, **1980**

Chudler, E., H.; Anderson, L., C.; *Archives of Oral Biology: Behavioral and Eletrophysiological Consequences of deafferentation following chronic constriction of the infraorbital nerve in adult rats*, v. 47, p. 165-172, **2002**.

Costa, B. B. C.; Corrêa, R.; Souza M. M. de; Pretto, J. B.; Ardenghi, J. V.; Campos-Buzzi, F. de; Cechinel-Filho, V.; *Z Naturforsch: Antinociceptive Effects of Tetrahidrophthalimides and Related Compounds*, 62, 201-206, **2007**.

Cotran, R., S.; Kumar, V.; Collins, T.; (trad. Barbosa, J., B.; De Vasconcelos, M., M.; Voeux, P., J.; *Robbins – Patologia Estrutural e Funcional*, 6ª ed., Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, **2000**.

Coutaux, A.; Adam, F.; Willer, J., C.; Chelly, J., E.; *Joint Bone Spine: Hyperalgesia and allodynia: peripheral mechanisms*, v. 72, p. 359-371, **2005**.

Cunha, F., Q.; *Br. J. Pharmacol.: Interleukine-8 as a mediator of symphatetic pain*; v. 104, n°3, p. 765-767, **2000**.

Davies, F., E.; Raje, N., E.; Hideshima, T.; Lentzsch, S.; Young., G.; Tai, Y., T.; Lin, B.; Podar, K.; Gupta, D.; Chauhan, D.; Treon, S., P.; Richardson, P., G.; Schlossman, r., I.; Morgan, G., J.; Muller, G., W.; Stirling, D., I.; Anderson, K., C.; *Blood*, 98, 210, **2001**.

Decker L.; Ambrust W.; Rademaker C. M.; Prakken B.; Kuis W.; Wulffraat N. M.; *Clin Exp Rheumatol: Safety of anti-TNF therapy in children with juvenile idiopathic arthritis*, 22, 252-258, **2004**.

Dickenson, A., H.; Matthews, E., A.; Suzuki, R.; *European Journal of Pain: Neurobiology of neuropathic pain: mode of action of anticonvulsants*, v. 6, suplemento A, p. 51-60, **2002**.

Foeldvari, I.; Krueger, E.; Schneider, T.; *Ann. Rheum. Dis.: Acute, non obstructive, steril colecystitis associated with etanercept and infliximab for the treatment of juvenile poliarticular rheumatoid arthritis*, 62, 908-909, **2003**.

Ferguson, D., Y.; Dreher, M., R.; Chilkoti; *J. Control. Rel.: Structural optimization of a "smart" doxorubicin-poypeptide conjugate for thermally targeted delivery to solid tumors*, v. 110, p. 362-369, **2006**.

Furler, R. L.; Uittenbogaart, C. H.; *Immunologic Research: Signaling through the P38 and ERK pathways: Acommon link between HIV replication and the immune response*, 48, 99-109, **2010**.

Hargreaves, M., K.; Pritchard, J., G.; Dave, H., R.; *Chem. Rev.*, 70, 439, **1970**.

Hashimoto, Y.; *Curr. Med. Chem*, 5, 63, **1998**.

Hennessy, E. J.; Buchwald, S. L.; *J. Org. Chem: Synthesis of 4,5-Dianilinophthalimide and Related Analogues for Potential Treatment of Alzheimer's Disease via Palladium-Catalyzed Amination*, 70, 7371-7375, **2005**.

Horvat, M.; Uzelac, L.; Marjanovic, M.; Cindro, N.; Frankovic, O.; Kralj, M.; Basaric, N.; Mlinaric-Majerski, K.; *Chem Biol, Drug Des.: Evaluation of Antiproliferative Effect of N-(alkyladamantyl)phthalimides In Vitro*, 79, 497-506, **2012**.

Iwai, Y.; Takahashi, H.; Hatakeyama, D.; Motoshima, K.; Ishikawa, M.; Sugita, K.; Hashimoto, Y.; Harada, Y.; Itamura, S.; Odagiri, T.; Tashiro, M.; Sei, Y.; Yamaguchi, K.; Kuzuhara, T.; *Bioorg. Med. Chem.: Anti-influenza Activity of Phenethylphntylphthalimide analogs Derived from Thalidomide*, 18, 5379-5390, **2010**.

Kaipiaien-Seppanen, O.; Leino, M.; *Ann Rheum. Dis.: Recurrent uveitis in a patient with juvenile spondyloarthritis associated with tumor necrosis factor alfa inhibitors*, 62, 88-89, **2003**.

Kamal, A., Laxman, E., Rao, N. V., *Tetrahedron Lett*, 39, 8733, **1998**.

Kaminski, K.; Obniska, J.; Wiklik, B.; Atamanyuk, D.; *Eur. J. Med. Chem.: Synthesis and Anticonvulsant Properties of New Acetamide Derivatives of Phthalimide, and its Saturated Cyclohexane and Norbornene Analogs*, 46, 4634-4641, **2011**.

Kappe, C. O.; Stadler, A.; *Microwaves in Organic and Medicinal Chemistry*, Wiley-VHC, Weinheim, **2005**.

Kelsey, F., O.; *Teratology*, 38, 221, **1988**.

Komoda, M.; Kakuta, H.; Takahashi, H.; Fujimoto, Y.; Kadoya, S.; Kato, F.; Hashimoto, Y.; *Bioorg. Med. Chem.: Specific inhibitor of puromycin-sensitive aminopeptidase with a homophthalimide skeleton: identification of a target molecule and a structure- activity relationship study*, 9 (1), p. 121-131, **2001**.

Kümmerle, A.E., Schmitt, M., Cardozo, S.V.S., Lugnier, C., Villa, P., Lopes, A.B., Romeiro, N.C., Justiniano, H., Martins, M.A., Fraga, C.A.M., Bourguignon, J.-J., Barreiro, E.J, *J. Med. Chem: Design, synthesis, and pharmacological evaluation of N-acylhydrazones and novel conformationally constrained compounds as selective and potent orally active phosphodiesterase-4 inhibitors*, 7525-7545, **2012**.

Kümmerle, A.E., Raimundo, J.M., Leal, C.M., da Silva, G.S., Balliano, T.L., Pereira, M.A., de Simone, C.A., Sudo, R.T., Zapata-Sudo, G., Fraga, C.A.M., Barreiro, E.J., *Eur. J. Med. Chem.: Studies towards the identification of putative bioactive conformation of potent vasodilator arylidene N-acylhydrazone derivatives*, 44, 4004-4009, **2009**.

Lakowicz, J. R. *In Principles of Fluorescence Spectroscopy*, 2^a ed., Kluwer Academic/Plenum Publishers, New York, **1999**.

Lanaro, C.; Franco-Penteado, C. F.; Albuquerque, D. M.; Saad, S. T.; Conran, N.; Costa, F. F; *Biol.: Altered Levels of cytokines and inflammatory mediators in plasma and leucocytes of sickle cell anemia patients and effects of hydroxyurea therapy*, 85, 2, 235-242, **2009**.

Lenz, W.; *Lancet*, 1, 271, **1962**.

Lima L. M. *Planejamento, síntese e avaliação farmacológica de novos candidatos à protótipos de fármacos antiinflamatórios e antiasmáticos*. [Tese] Rio de Janeiro: Instituto de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro, **2001**.

Lima L. M.; Castro P.; Machado A. L.; Fraga C. A. M.; Lugnier C.; Moraes V. L. G.; Barreiro E. J.; *Bioorg Med Chem: Synthesis and anti inflammatory activity of phtalimide derivates, designed as new thalidomids analogues*, 10, 3067-3073, **2002**.

Lima L. M.; Fraga C. A. M.; Koatz, V. L. G.; Barreiro E. J.; *Anti-Inflammatory & Anti-Allergy Agents in Medicinal Chemistry: Thalidomide and Analogs as Anti-Inflammatory and Immunomodulator Drug Candidates*, 5, 79-95, **2006**.

Lovell, D., J.; Giannini, H., E.; Reiff, A.; *Arthritis Reum.: long term efficacy and safety of etanercept in children with poliarticular course juvenile rheumatoid arthritis*, 48, 218-226, **2003**.

Lima, P.C.; *Síntese e Avaliação das propriedades Antinociceptivas de Novas Acilidrazonas Derivadas do Safrol*, Rio de Janeiro, 1998. Dissertação (Mestrado em Química Orgânica)-IQ, UFRJ, **1998**.

Luengo, M., B.; *Rev. Eletrôn. Farm.*, 2, 64, **2005**.

Machado, A., L.; Lima, L., M.; Araújo-Jr; *Bioorg. Med. Chem: Designing, synthesis and Antiinflammatory activity of novel phtalimide derivatives, structurally related to thalidomide*, v. 15, p. 1169-1172, **2005**.

Madigan; Raj; *Br. Med.: Post traumatic pain syndromes*, v. 288, p. 169-170, **2000**.

Malavé, I.; Perdomo, Y.; Escalona, E.; Rodriguez, E.; Anchustegui, M.; Malavé, H. *Acta Haematol: Level of Tumor Necrosis Factor alpha/cachectin (TNF alpha) in sera from patients with sickle cell disease*. v. 90, 172-176, **1993**.

McBride, W., G.; *Lancet*, 2, 1358, **1961**.

Mellin, G. W.; Katzenstein, M.; *Engl .J. Med.: The Saga of Thalidomide*, 267, 1184-1193, **1962**.

Menegatti, R.; Fraga, C., A., M.; Barreiro, E. J.; *Quim. Nova Escola: A importância da síntese de fármacos*, 3, p. 16-22, **2001**.

Neves P. C. P. das; Schenato F.; Bachi F. A. *Introdução à Mineralogia Prática. Canoas*, ULBRA, 326, **2008**.

Newman, D. J.; Cragg, G. M.; Snader, K. M.; *J. Nat. Prod: Natural Products as Sources of New Drugs over the Period 1981-2002*, 66, 1022-1037, **2003**.

Oh, S.; Kim, J. S.; Hwang, J. H.; Lee, H. Y.; Ryu, M. J.; Park, J.; Kim, S. J.; Jo, Y. S.; Kim, Y. K.; Lee, C.; Kweon, K. R.; Shong, M.; Park, S. B.; *J. Med. Chem.: Antidiabetic and Antiobesity Effects of Ampikinone (6f), a Nove Smalll Molecule Ativator of AMP-Actuvated Protein Kinase*, 53, 7405-7413, **2010**.

Olsen, N., J.; Stein., M., C.; *New Eng. J.Med.: New drus for Rheumatoid Arthritis*, 350, 2167-2179, **2004**.

Otani, Y.; Nagae, O.; Naruse, Y.; Inagaki, S.; Ohno, M.; Yamaguchi, K.; Yamamoto, G.; Uchiyama, M.; Ohwada, T.; *J. Am. Chem. Soc: An Evaluation of Amide Group Planarity in 7-Azabicyclo[2.2.1]heptane Amides. Low Amide Bond Rotation Barrier in Solution*, 125, 15191-15199, **2003**.

Pathare, A.; Kindi, S. A.; Daar, S.; Dennison, D.; *Hematology: Cytokines in sickle cell disease*, 8, 5, 329-337, **2003**.

Pfizenmaier, K.; Wajant, H.; Grell, M.; *Cytokine Growth Factor Rev.*, 7, 22, **1996**.

Poli, G.; Kinter, A.; Justement, J. S.; *Proc. Nat. Acad. Sci : Tumor Necrosis Factor Alpha functions in an Autocrine Manner in the Induction of Human Immunodeficiency Virus Expression*, 87, 782-785, **1990**.

Poupaert, J., H.; Gaetane, H.; Barbeaux, P.; Lambert, D.; Henichart, J.; *Pharmacology*, 47, 89, **1995**.

Quartier, P.; Taupin, P.; Bourdeaut, F, et al; *Arthritis Rheum.: Efficacy of etanercept for the treatment of juvenile idiopathic arthritis according to the Onset Type*, 48, 93-101, **2003**.

Raje, N.; Anderson, K.; *New England J. Med.*, 341, 1606, **1999**.

Ramanan, A., V.; Scheneder, R.; *J. Rheumatol: Macrophage activation syndrome following initiation of etanercept in a child with systemic onset juvenile arthritis*, 30, 401-403, **2003**.

Rang, H., P.; Dale, M., M.; Ritter, J., M.; Flower, R., J. (trad. Do Nascimento, A., P.); *Farmacologia*, 6ª ed., Elsevier, Rio de Janeiro, **2007**.

Rendall, T., J.; *Am. J. Med. Assoc.*, 263, 1467, **1990**.

Saldanha, P. H.; *Rev.Bras. Genet.: A Tragédia da Talidomida e o Advento de Teratologia Experimental*, 17, 4, 449-464, **1994**.

Sampaio, E., P.; Zmuidinas, A.; Frindt, P.; Smith, K., A.; Kaplan, G.; *J. Exp. Med.*, 177, 1675, **1993**.

Seri-Levy, A.; Richards, G.; *Tetrahedron Asymmetry*, 4, 1917, **1993**.

Sheskin, J.; *Clin. Pharm. Ther.*, 6, 303, **1965**.

Shibata, Y., Sasaki, K.; Nishimura, K.; Hashimoto, Y.; Iwasaki, S.; *Biol. Pharm. Bull.*, 17, 1532, **1994**.

Shibata, Y.; Sasaki, K.; Hashimoto, Y.; Iwasaki, S.; *Biol. Pharm. Bull.*, 18, 1228, **1995**.

Silverman, R., B.; *The Organic Chemistry of Drug Design and Drug Action*, 2nd ed., Ed., Elsevier Academic Press, San Diego, **2004**.

Solomons, C. T. W.; Fryhle, C. B.; *Química Orgânica*, LTC editora, Rio de Janeiro, 2000.

Sthepens, M., C.; Shepanski, M., A.; Mamula, P.; Markowitz, J., E.; Brown, K., A.; Baldassano, R., N.; *Am. J. Gastroenterol.*, 98, 104-111, **2003**.

Tamura, F.; Volgesang, G. B.; Reitz, B. A.; Baumgartner, W. A.; Herskovitz, A.; *Transplantation: Combination Thalidomide and Cyclosporine for Cardiac Allograft Rejection*, 49, 20-25, **1990**.

Teixeira, F. B. *Síntese "one-pot", em microondas, de N-metilidrazidas como intermediários de produtos bioativos*. Rio de Janeiro, 2010, Monografia, ICE-DQ, UFRRJ, **2010**.

Tsuji, M.; Koiso, Y.; Takahashi, H.; Hashimoto, Y.; Endo, Y.; *Biol. Pharm. Bull.*, 23, 513, **2000**.

Tutar, E.; Eriki, F.; Naçar, N.; Arici, S.; Atalay, S.; *Rheumatology*, 43, 674-675, 2004.

Tweedie, D.; Luo, W.; Short, R., G.; Brossi, A.; Holloway, H., W.; Li, Y.; Yu, Q., S.; Greig, N., H.; *J. Neurosci. Meth.: A cellular model of inflammation for identifying TNF-alpha synthesis inhibitors*, 183, 182-187, **2009**.

Verschuren W.G., Dierynck I., Amssoms K. I. E., Hu L., Boonants P. M. J. G., Pille G. M. E., Daeyert F. F. D., Hertogs K., Surleraux D. L. N. G, Wigerinck P. B. T. P. . *J Med.Chem.: Design and optimization of tricyclic phtalimide analogues as novel inhibitors of HIV-1 integrase*, 48(6):1930-1940, **2005**.

Volgesang, G. B.; Wells, M. C.; Santos, G. W.; Chen T. L.; Hess, A. D.; *Transplant Proc.: Combination Low-dose Thalidomide and Cyclosporine Prophylaxis for Acute Graft-versus-Host-Disease iin Rat Mismatched Model*, 20, 226-228, **1988**.

Warkany, J.; *Year Med. Book Pub.: Congenital Malformations (Notes and Comments)*, Chicago, 49-129, **1971**.

Weiberg, K.; *Acc Chem. Res.: The Interaction of Carbonil Groups with Substituents*, 32, 922-929, **1999**.

Wermuth, C., G; *The Practice of Medicinal Chemistry*, Ed., Academic Press, Londres, **2008**.

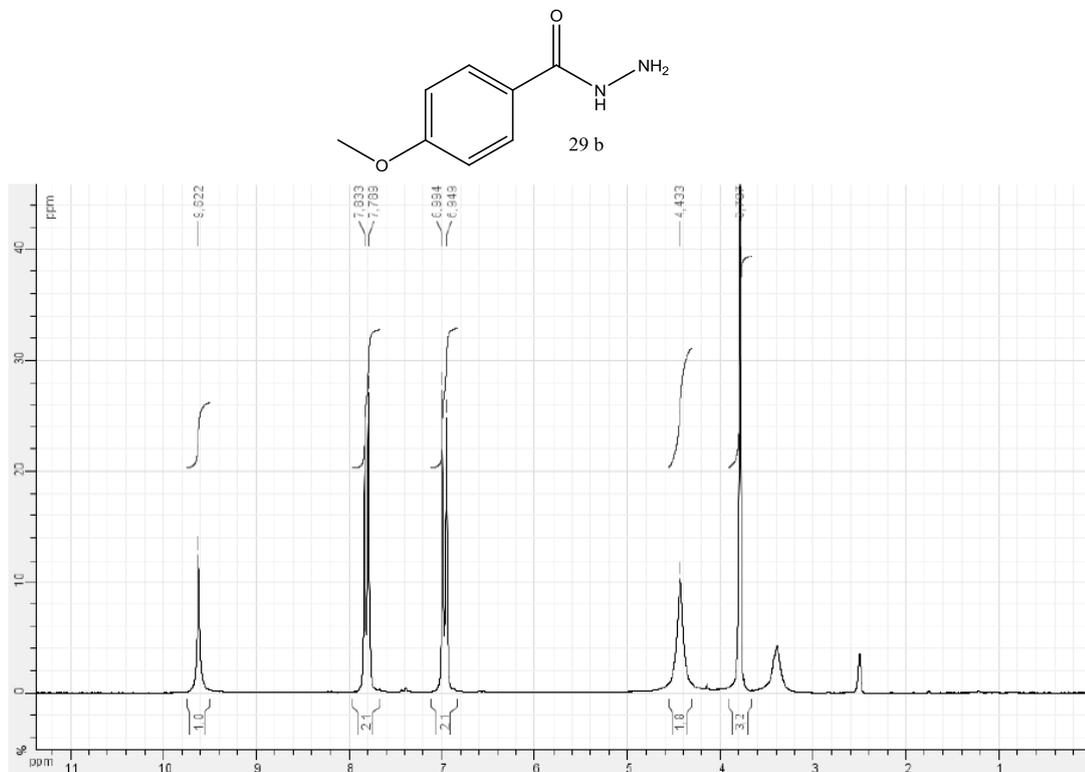
Wermuth, C.G. & Langer, T.; *Pharmacophore identification, em 3D QSAR in Drug Design. Theory Methods and application*, Kubinyi, H., Ed., ESCOM, Leiden, pp. 117-136, **1993**.

Wettstein, A. R.; Meagher, A. P.; *Lancet: Thalidomide in Chron's Disease*, 350, 1445-1446, **1997**.

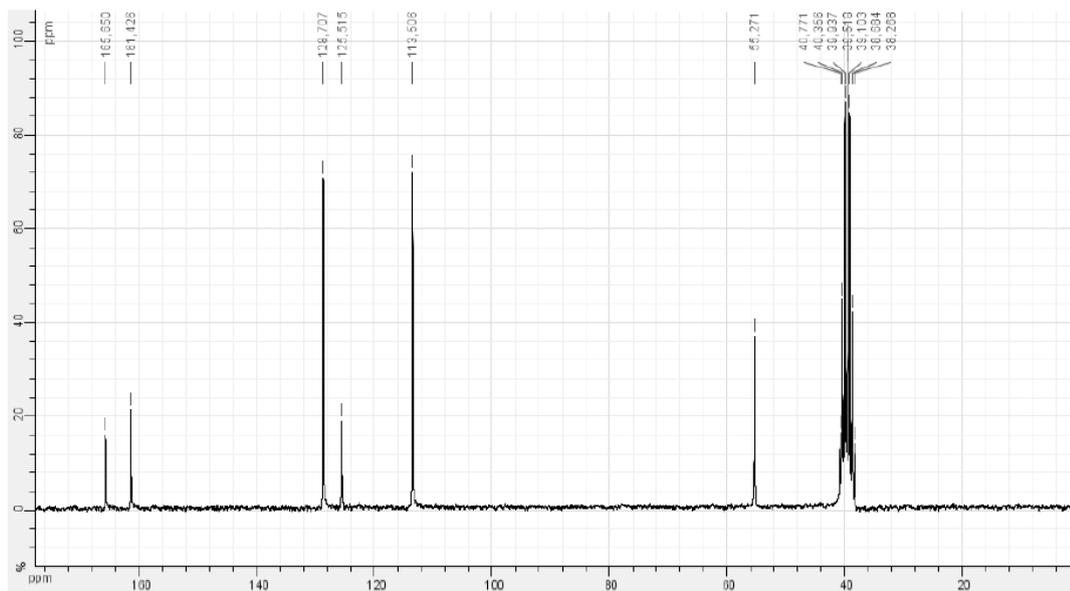
Yamada, S.; Morizono, D.; Yamamoto, K. *Tetrahedron Lett: Mild Oxidation of Aldehydes to the Coresponding Carboxylic Acids and Esters: Alkaline Iodine Oxidation Revisited*, 33, 4329-4332, **1992**.

ANEXO

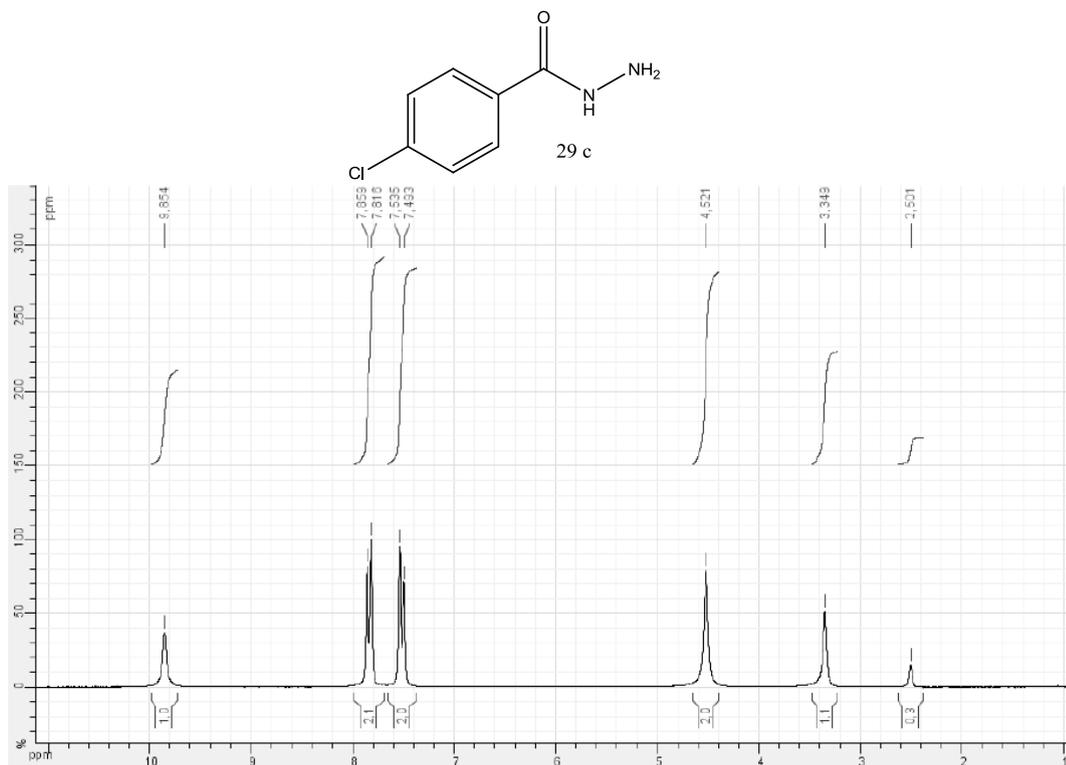
Espectro de RMN-¹³C (50 MHz) da hidrazida 29 a (DMSO-d₆).



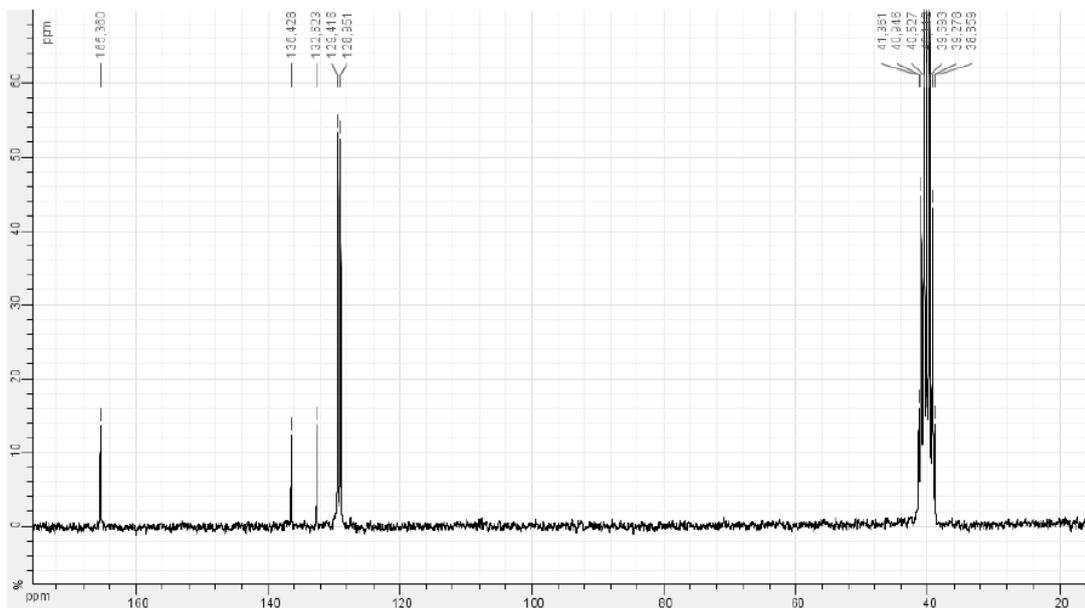
Espectro de RMN-¹H (200 MHz) da hidrazida 29 b (DMSO-d₆).



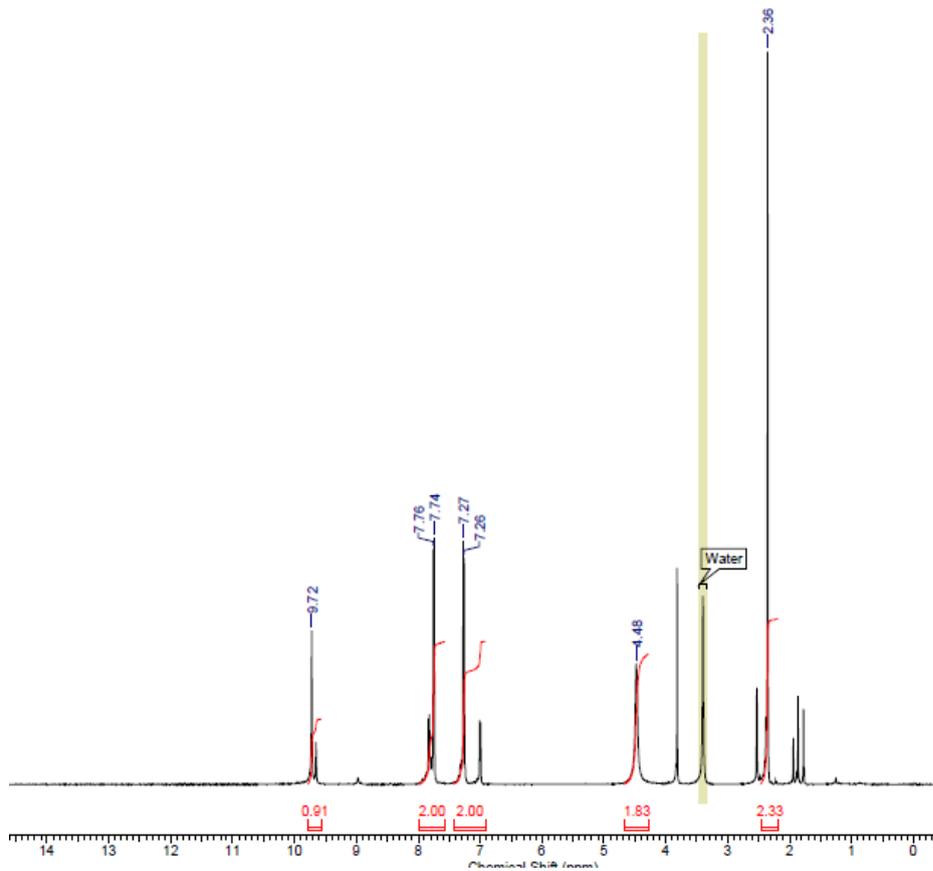
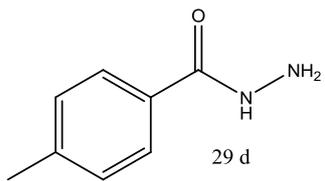
Espectro de RMN-¹³C (50 MHz) da hidrazida 29 b (DMSO-d₆).



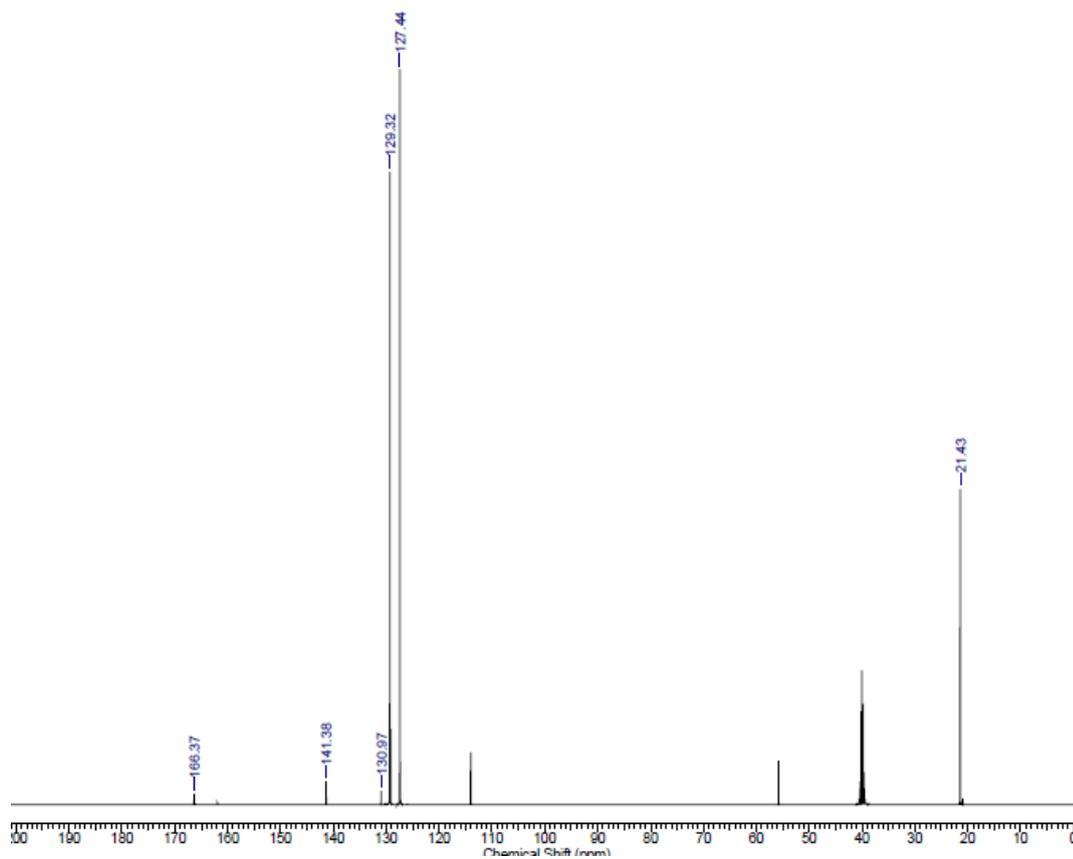
Espectro de RMN-¹H (200 MHz) da hidrazida 29 c (DMSO-d₆).



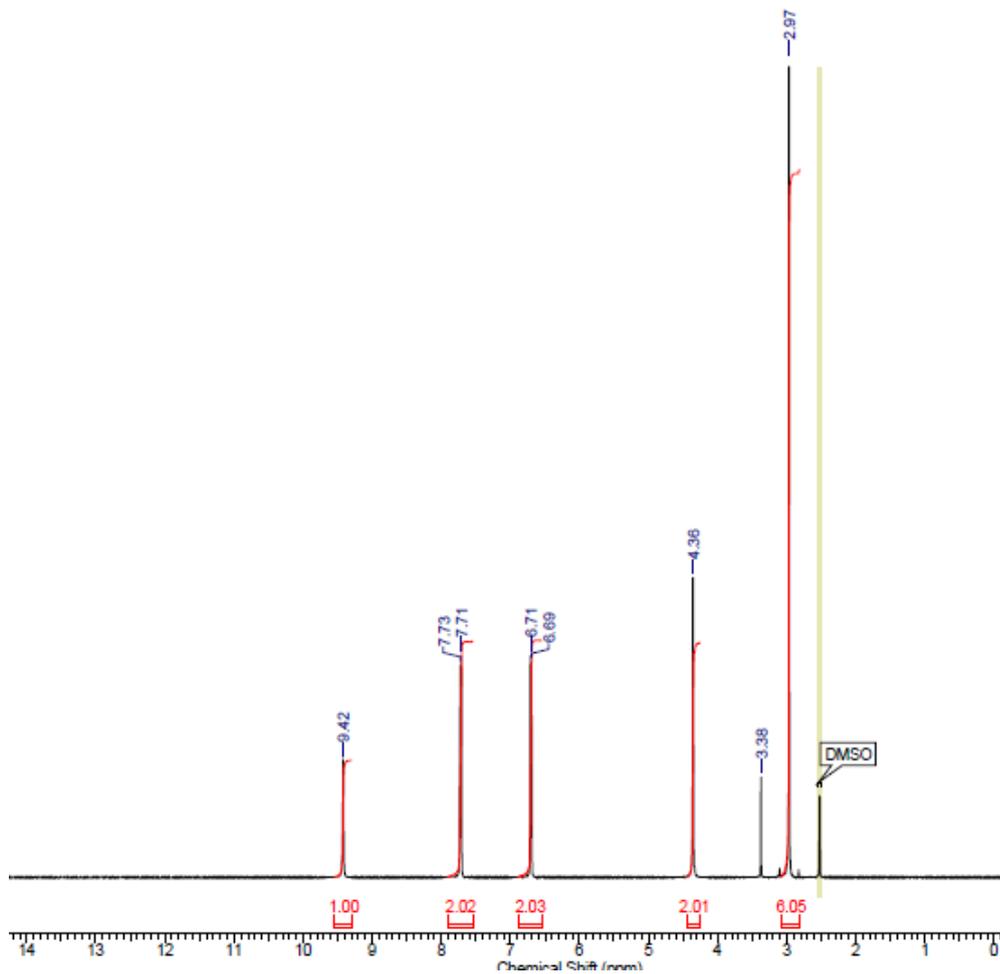
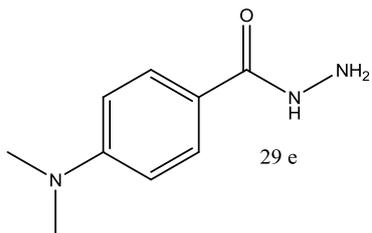
Espectro de RMN-¹³C (50 MHz) da hidrazida 29 c (DMSO-d₆).



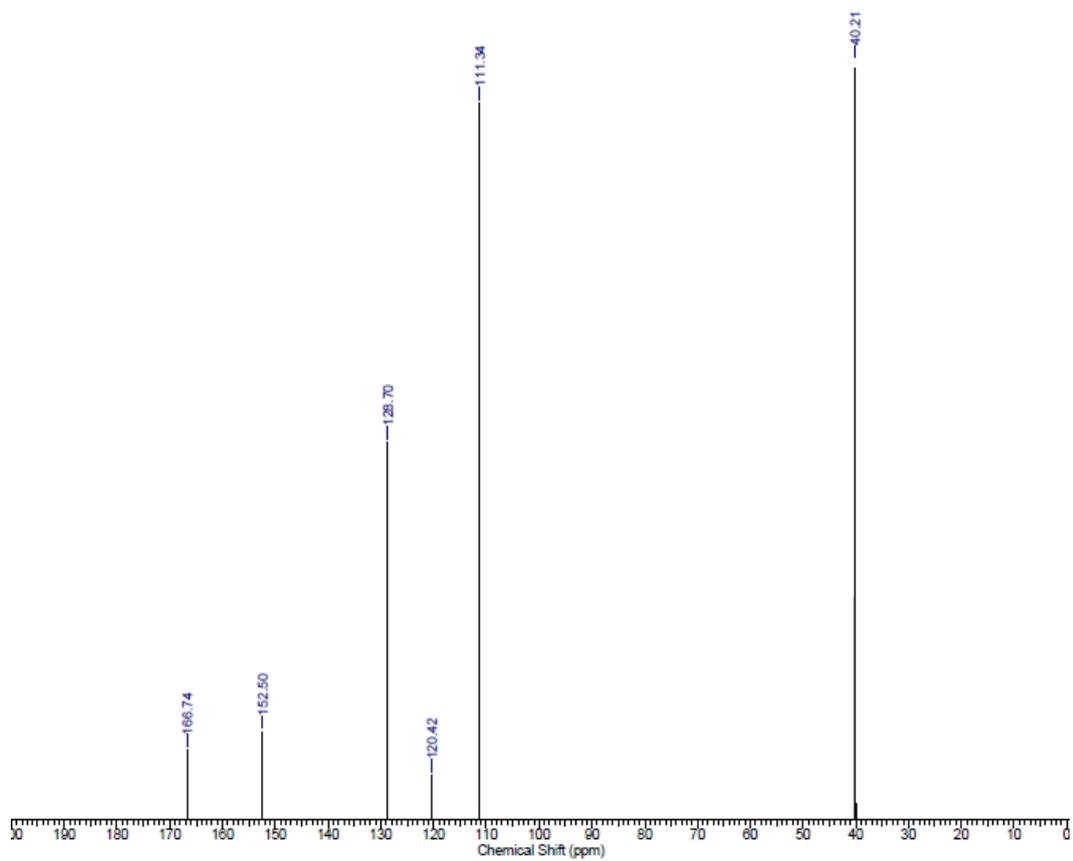
Espectro de RMN- ^1H (500 MHz) da hidrazida 29 d (DMSO-d_6).



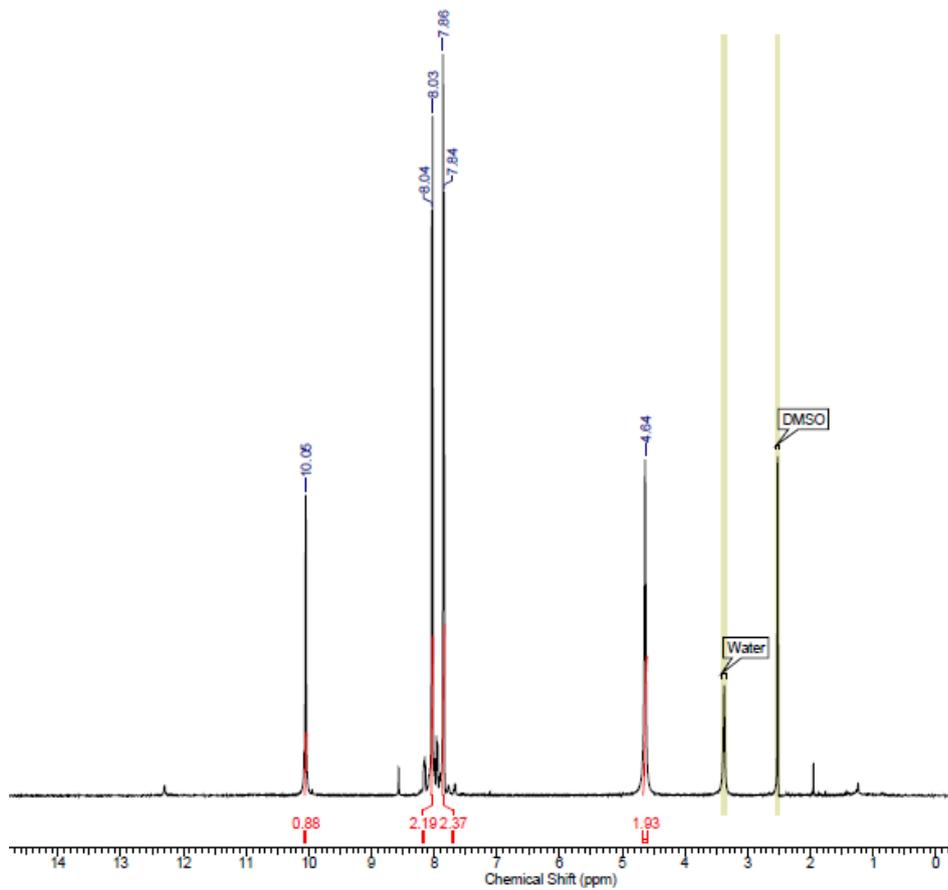
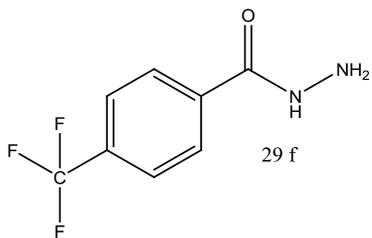
Espectro de RMN- ^{13}C (500 MHz) da hidrazida 29 d (DMSO- d_6).



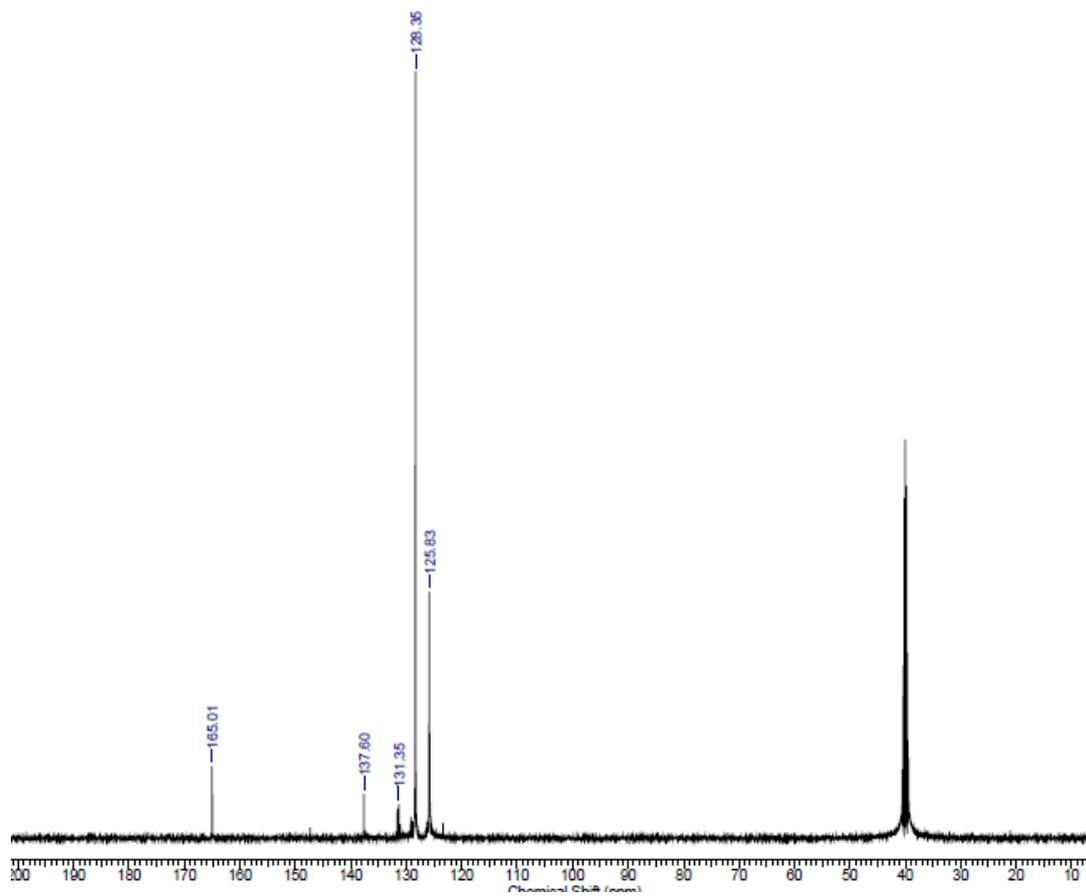
Espectro de RMN-¹H (500 MHz) da hidrazida 29 e (DMSO-d₆).



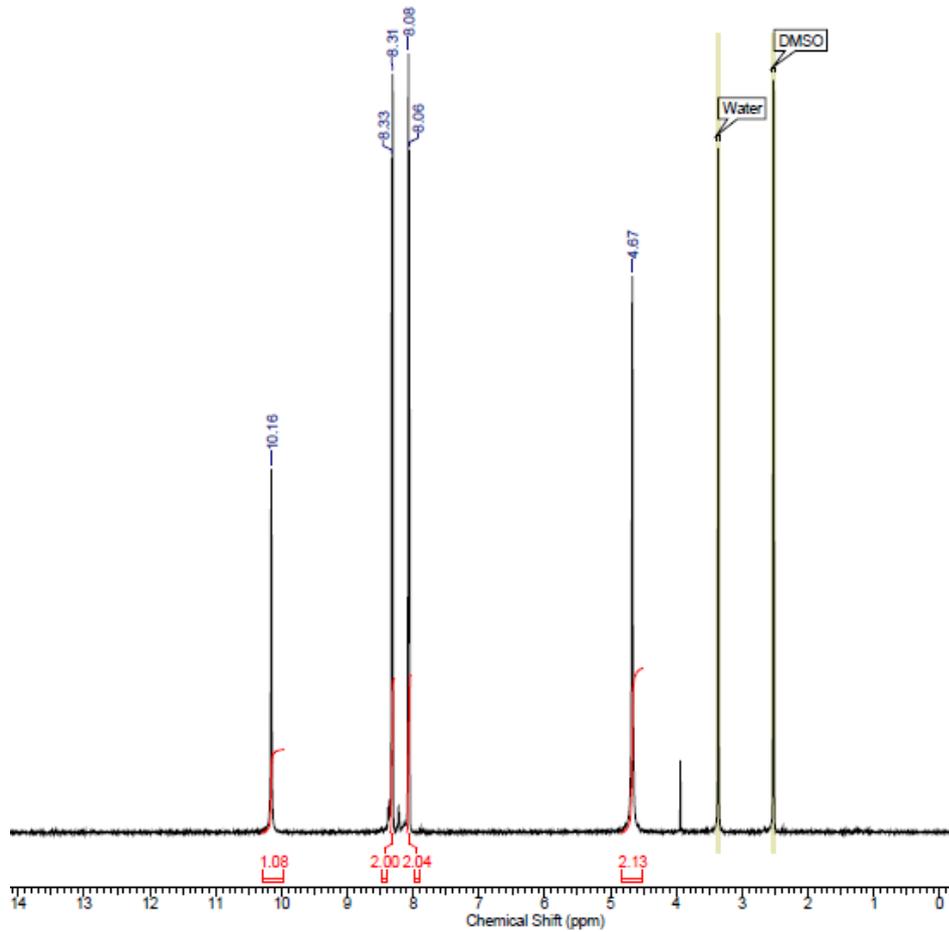
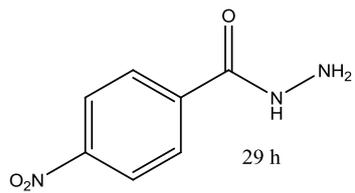
Espectro de RMN- ^{13}C (500 MHz) da hidrazida 29 e (DMSO- d_6).



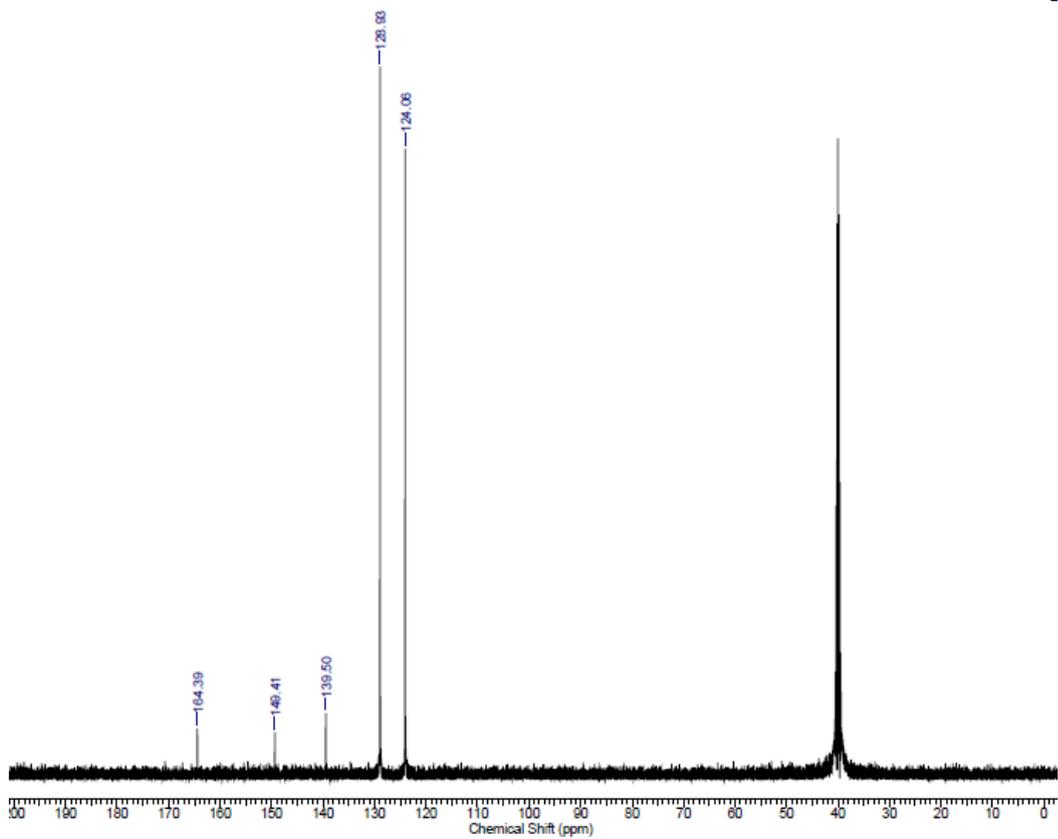
Espectro de RMN-¹H (500 MHz) da hidrazida 29 f (DMSO-d₆).



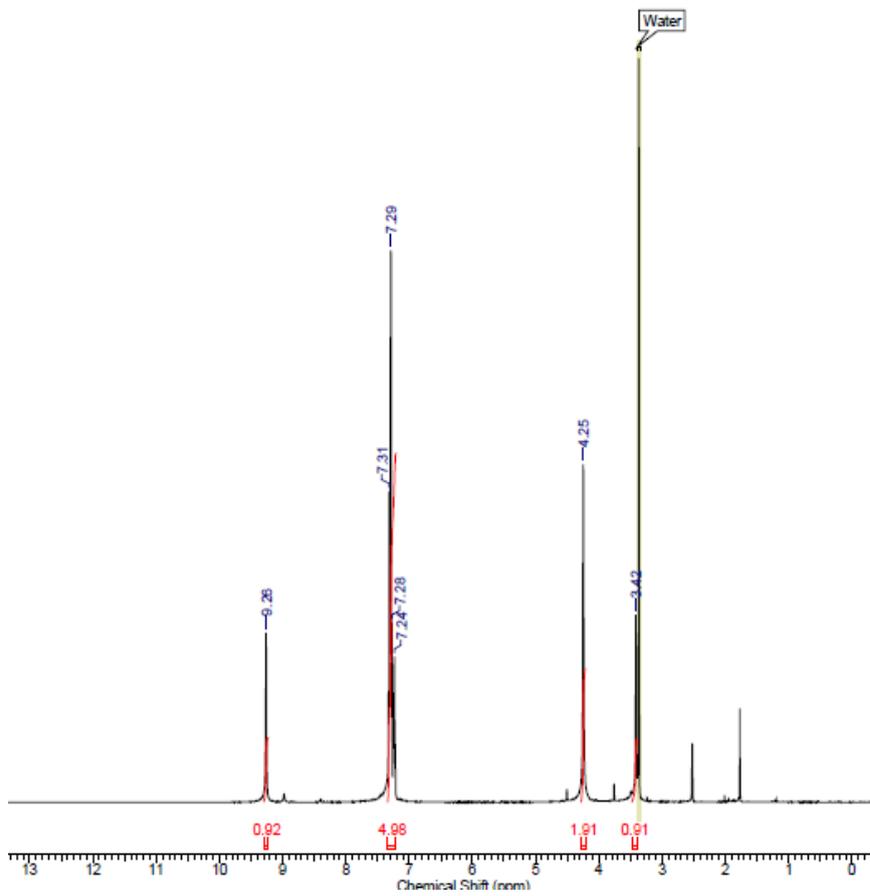
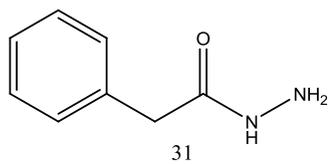
Espectro de RMN- ^{13}C (500 MHz) da hidrazida 29 f (DMSO- d_6).



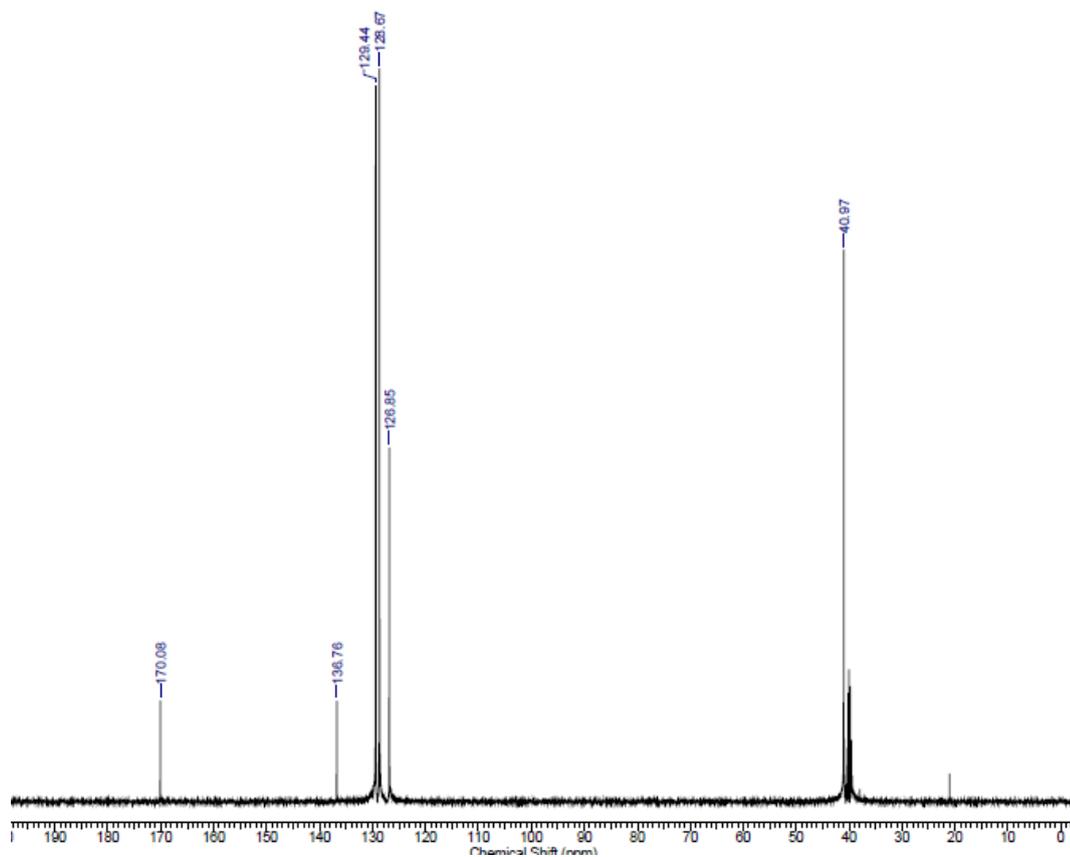
Espectro de RMN-¹H (500 MHz) da hidrazida 29 h (DMSO-d₆).



Espectro de RMN- ^{13}C (500 MHz) da hidrazida 29 h (DMSO- d_6).



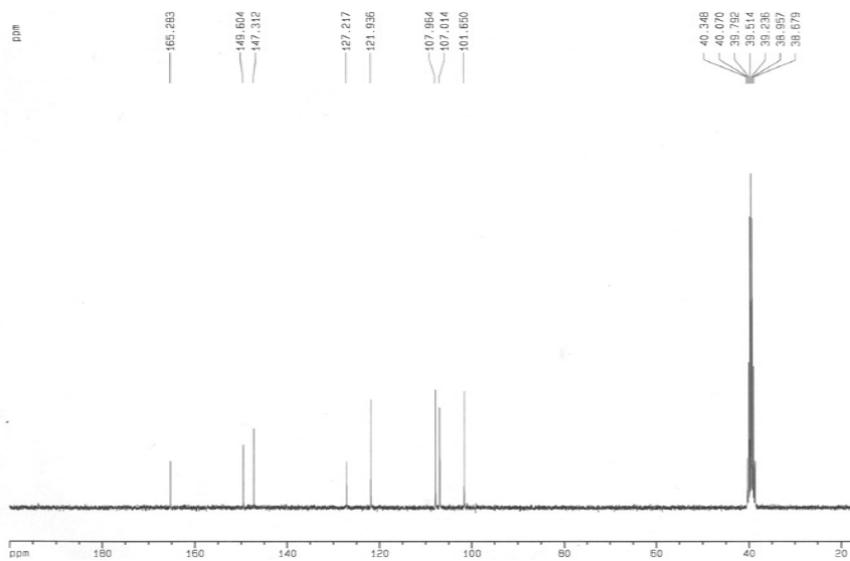
Espectro de RMN-¹H (500 MHz) da hidrazida 31 (DMSO-d₆)



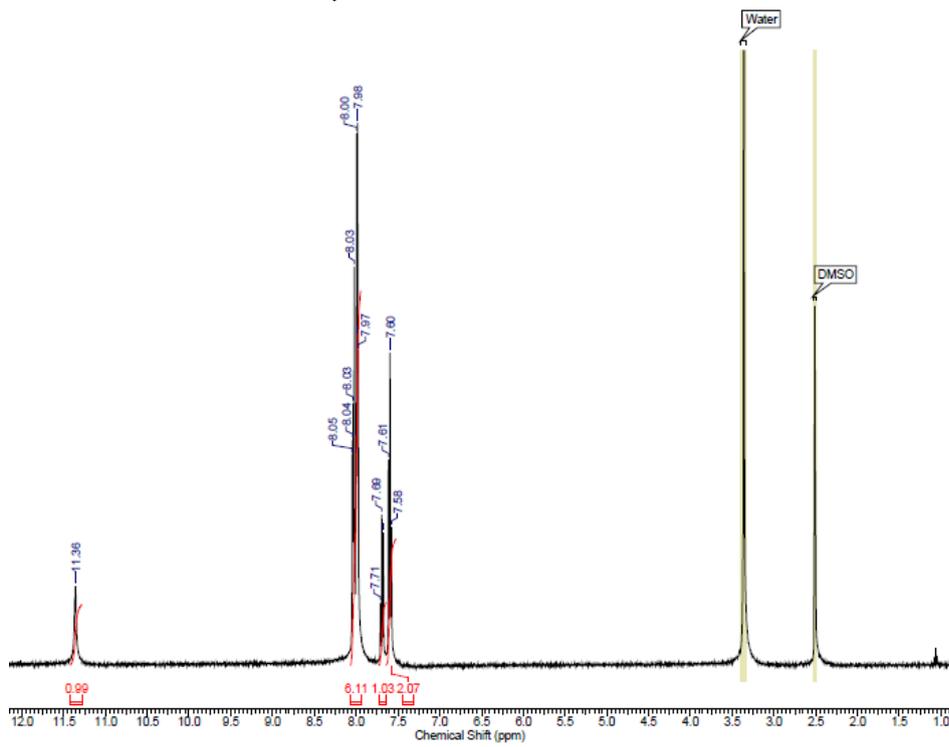
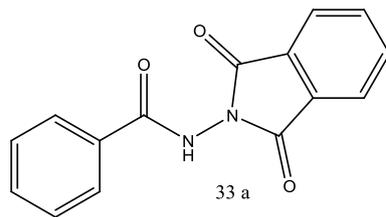
Espectro de RMN- ^{13}C (500 MHz) da hidrazida 31 (DMSO- d_6).



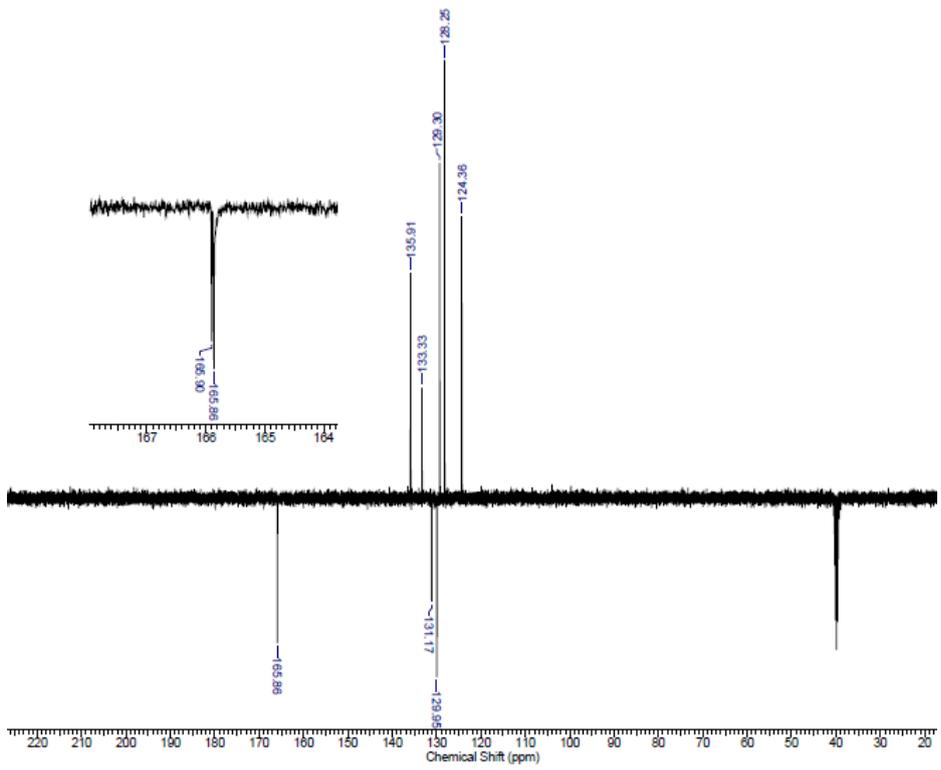
Espectro de RMN-¹H (200 MHz) da hidrazida 32 (DMSO-d₆).



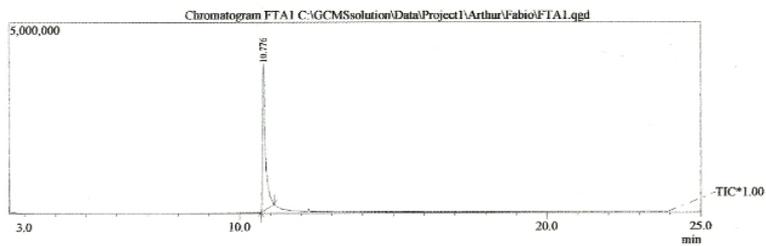
Espectro de RMN-¹³C (50 MHz) da hidrazida 32 (DMSO-d₆).



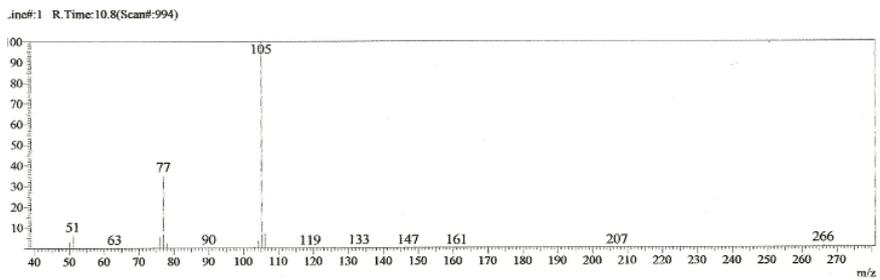
Espectro de RMN-¹H (400 MHz) da ftalazoilidrazida 33 a (DMSO-d₆).



Espectro de RMN-¹³C (400 MHz) da ftalazoilidrazida 33 a (DMSO-d₆).

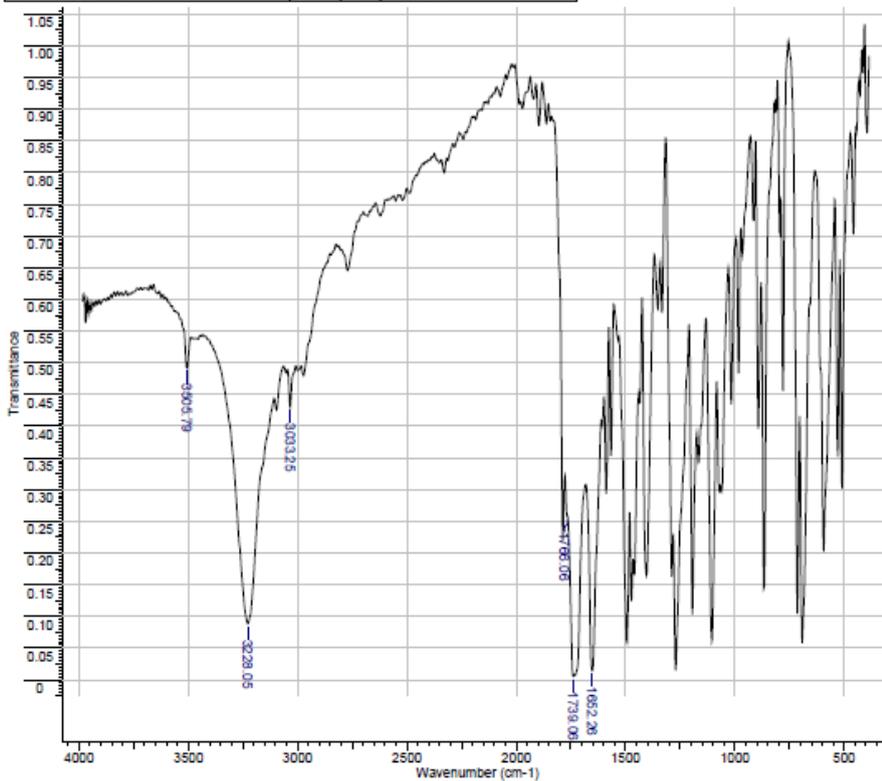


Spectrum



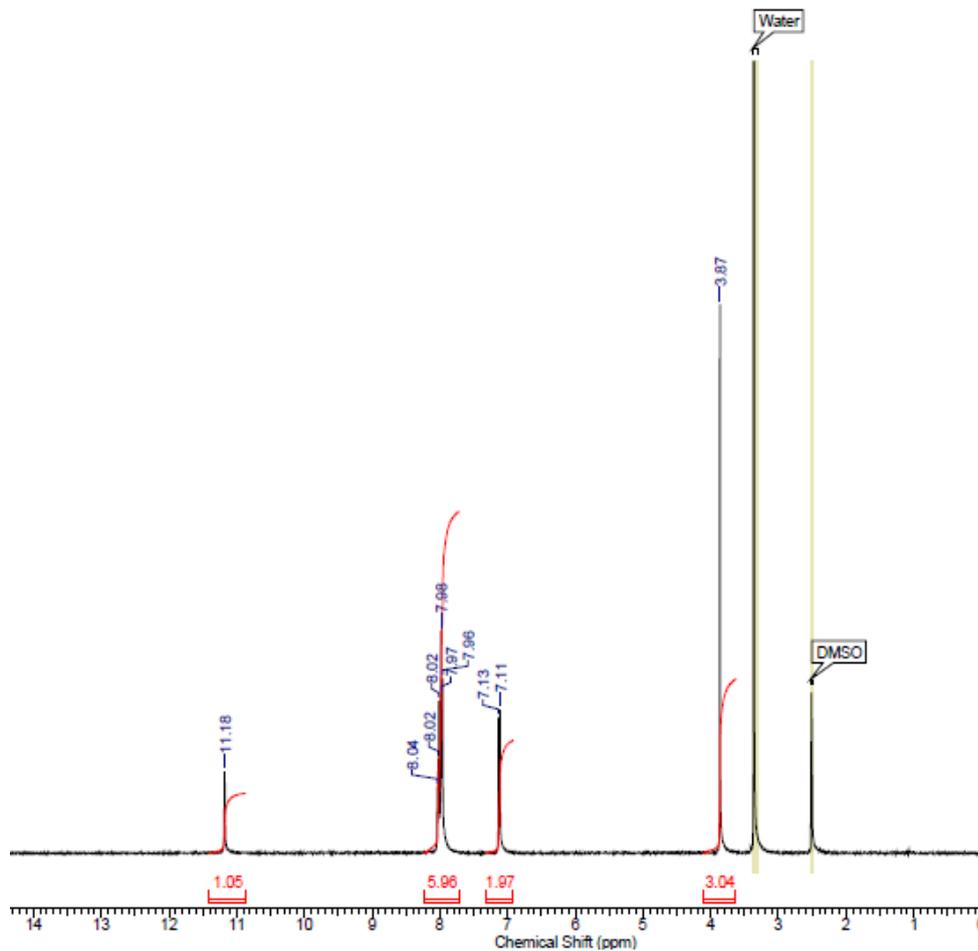
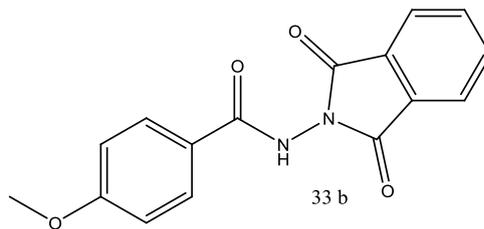
Espectro de massas da ftalazoilidrazida 33 a.

Title FTA 1 - FABIO - ARTHUR			
File Name C:\DOCUMENTS AND SETTINGS\CLIENTE-PC\DESKTOPIV F. BIO\FTA 1 - FABIO - ARTHUR_0			
Date Stamp	24/09/2012 10:29:16.518 (GMT-3)		Date 04 Oct 2012 16:29:58
Technique	Infrared	Instrument VERTEX 70	Spectral Region IR
X Axis	Wavenumber (cm-1)	Y Axis Transmittance	Spectrum Range 387.0000 - 3984.1240
Points Count	1866	Data Spacing 1.9288	

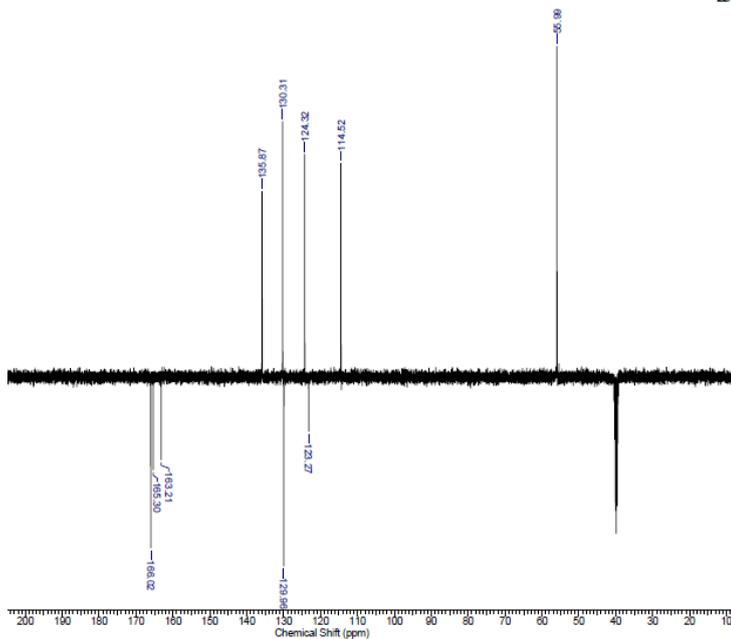


No	cm-1	T	Intensity
1	1652.26	0.014	VS
2	1739.06	0.006	VS
3	1766.06	0.259	S
4	3033.25	0.430	M
5	3228.05	0.089	VS
6	3505.79	0.492	M

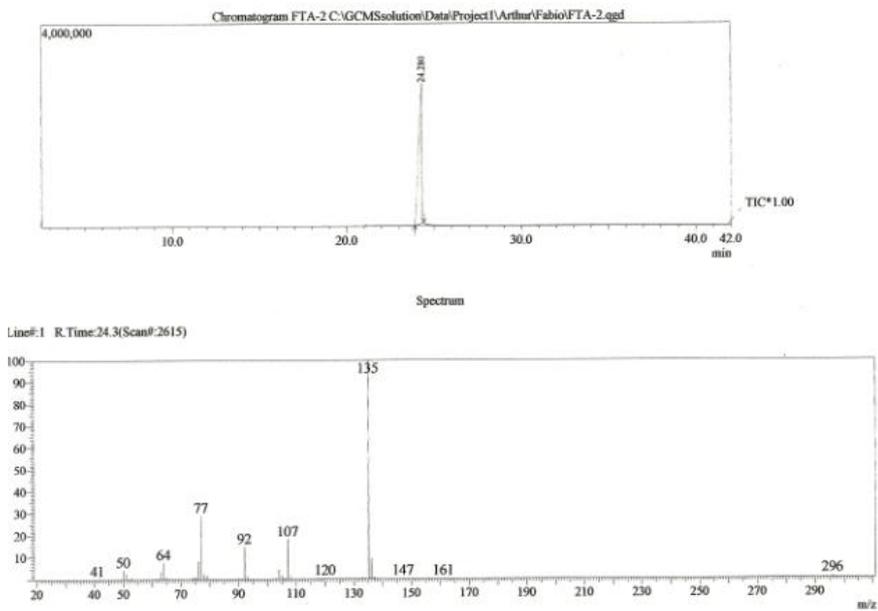
Espectro de Infravermelho da ftalazoilidrazida 33 a (KBr).



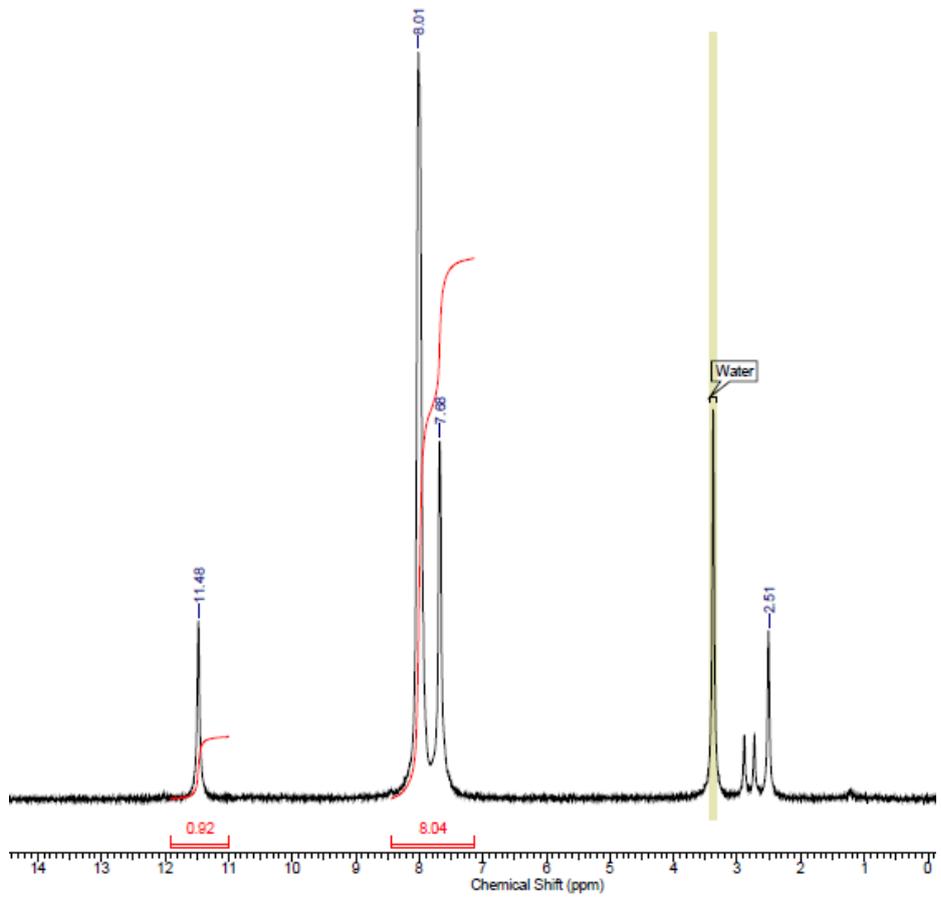
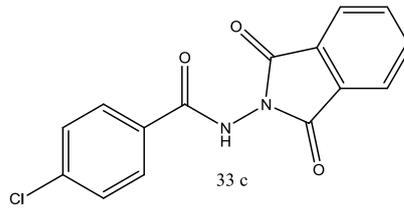
Espectro de RMN-¹H (400 MHz) da ftalazolidrazida 33 b (DMSO-d₆).



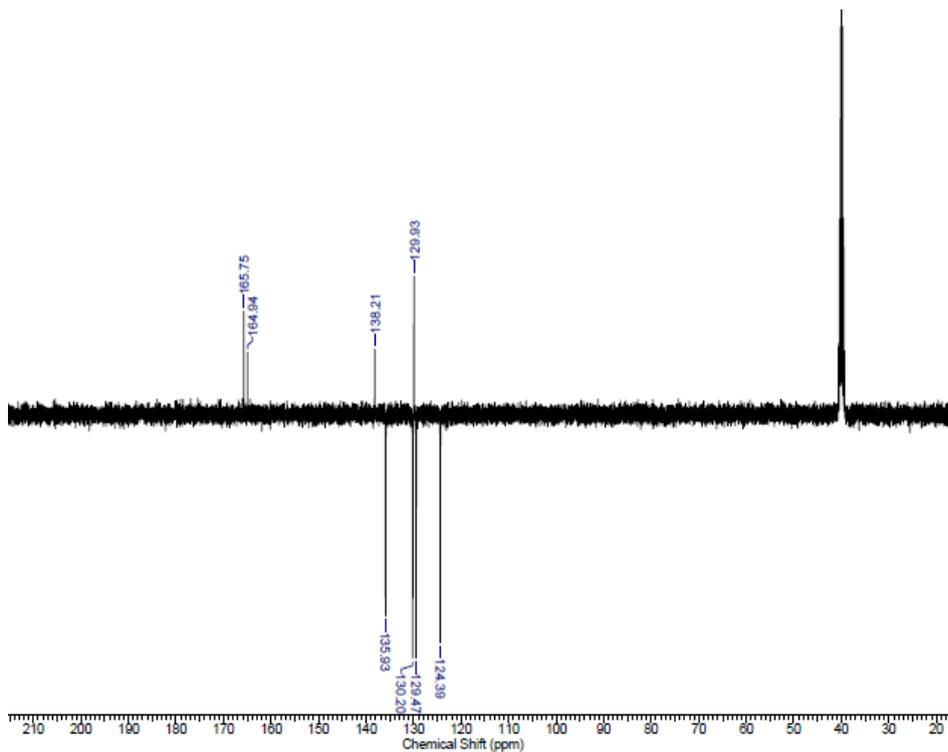
Espectro de RMN- ^{13}C (400 MHz) da ftalazoilidrazida 33 b (DMSO-d_6).



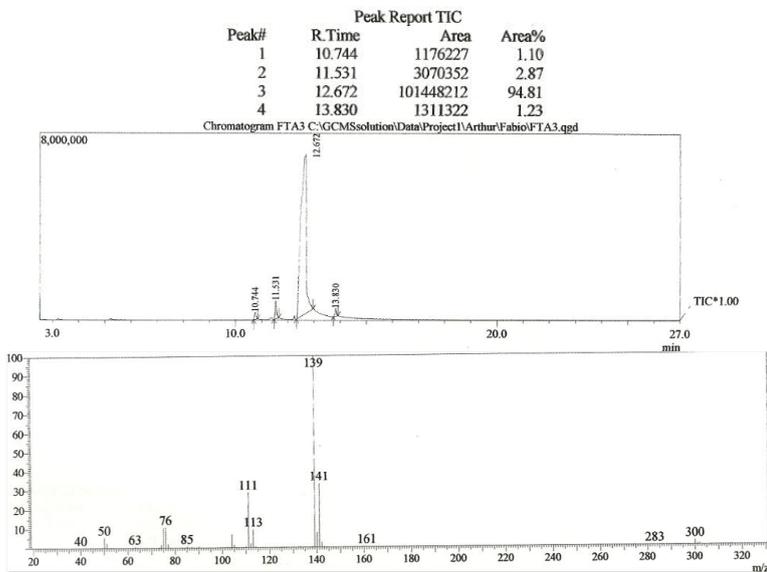
Espectro de massas da ftalazoilidrazida 33 b.



Espectro de RMN-¹H (400 MHz) da ftalazolidrazida 33 c (DMSO-d₆).

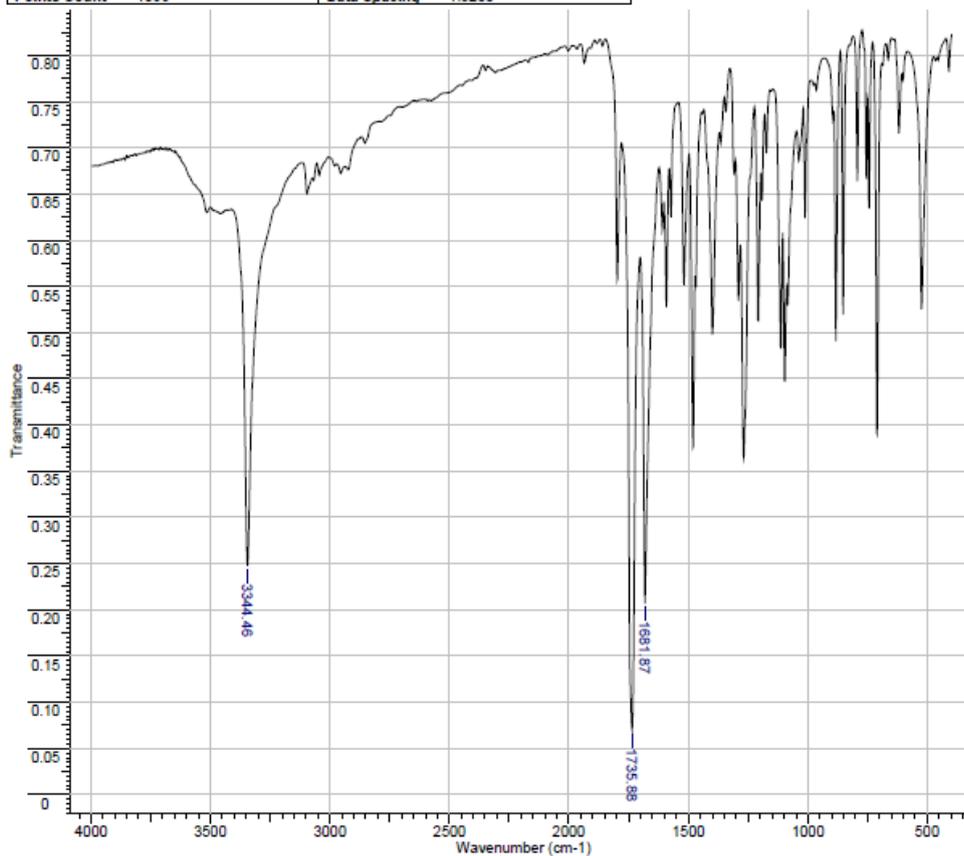


Espectro de RMN-¹³C (400 MHz) da ftalazoilidrazida 33 c (DMSO-d₆).



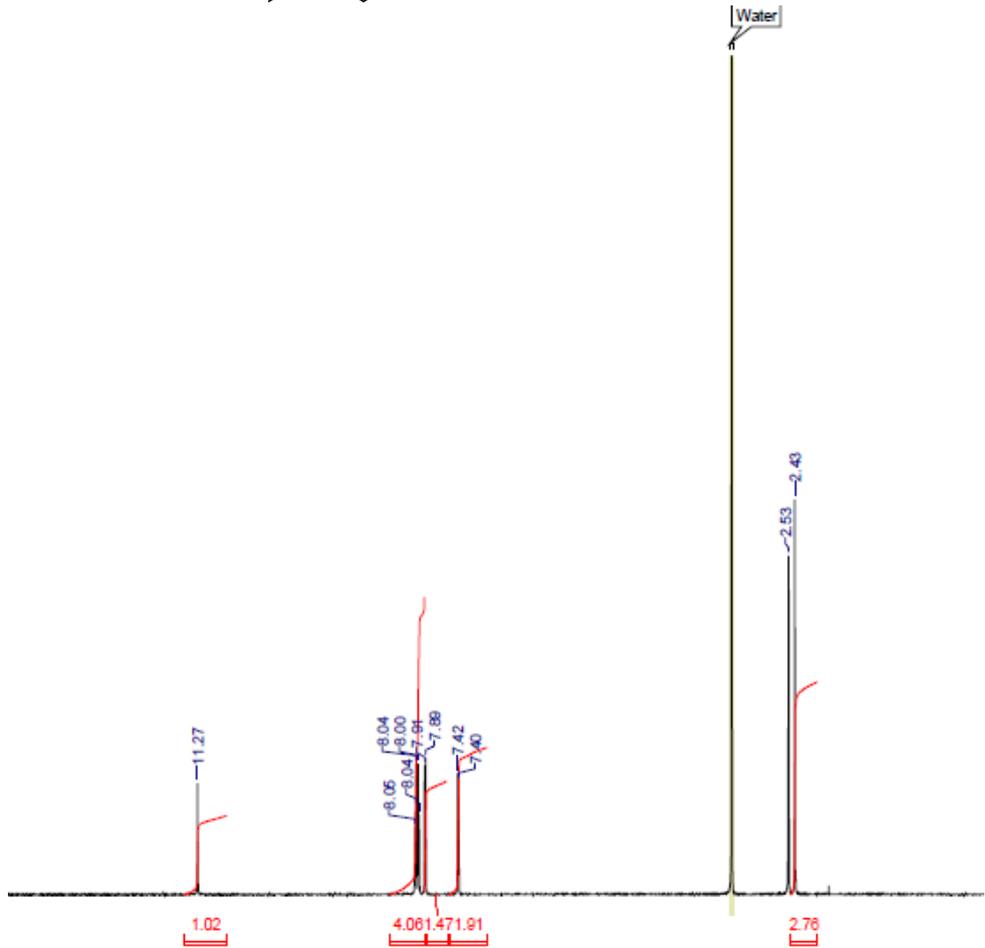
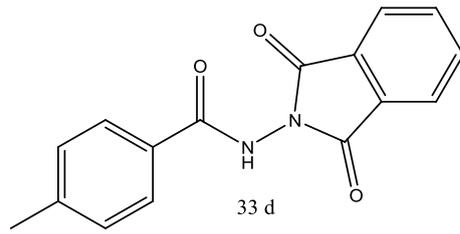
Espectro de massas da ftalazoilidrazida 33 c.

Title FTA 3 . FABIO - ARTHUR			
File Name C:\DOCUMENTS AND SETTINGS\CLIENTE-PC\DESKTOP\IV F' BIO\FTA 3 . FABIO - ARTHUR.0			
Date Stamp 24/08/2012 10:47:17.615 (GMT-3)		Date 04 Oct 2012 16:28:58	
Technique Infrared	Instrument VERTEX 70	Spectral Region IR	
X Axis Wavenumber (cm-1)	Y Axis Transmittance	Spectrum Range 399.2520 - 3996.3760	
Points Count 1866	Data Spacing 1.9288		

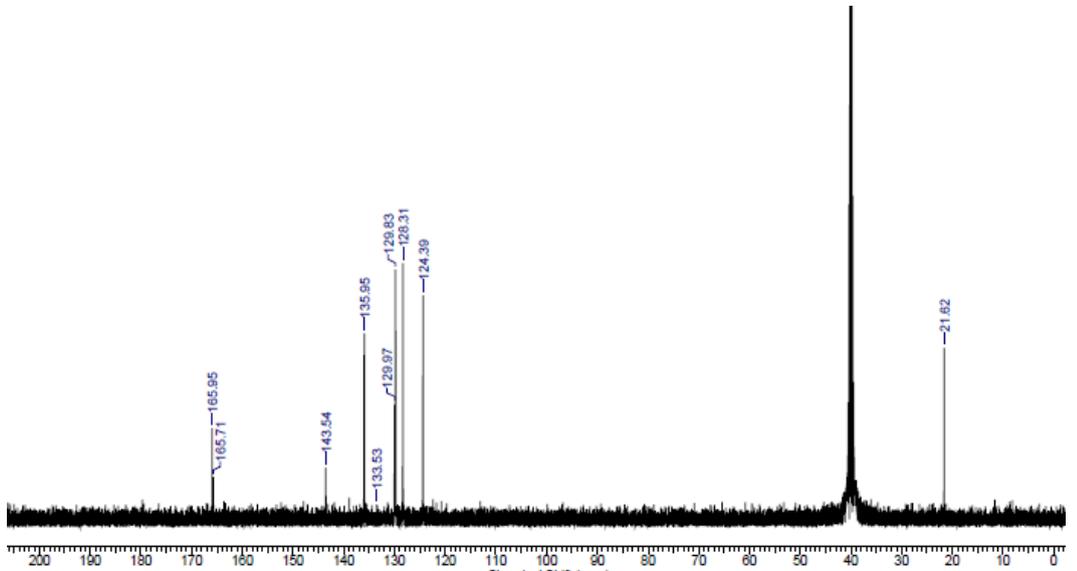


No	cm-1	T	Intensity
1	1681.87	0.207	S
2	1735.88	0.070	VS
3	3344.46	0.248	S

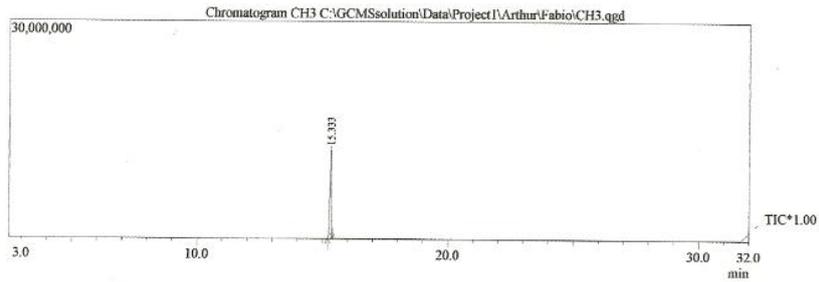
Espectro de Infravermelho da ftalazoilidrazida 33 c (KBr).



Espectro de RMN- ^1H (500 MHz) da ftalazoidrazida 33 d (DMSO-d_6).

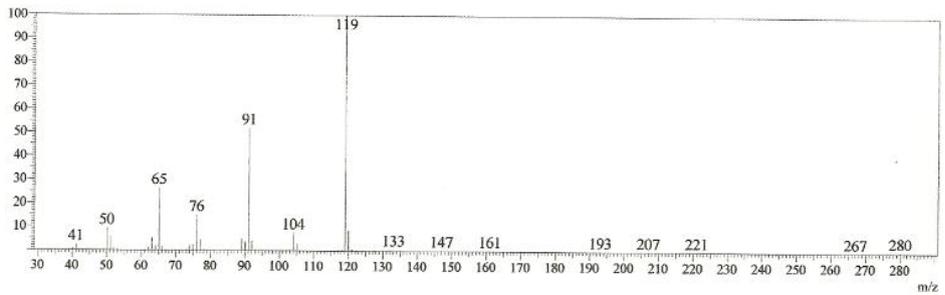


Espectro de RMN-¹³C (500 MHz) da ftalazoilidrazida 33 d (DMSO-d₆).



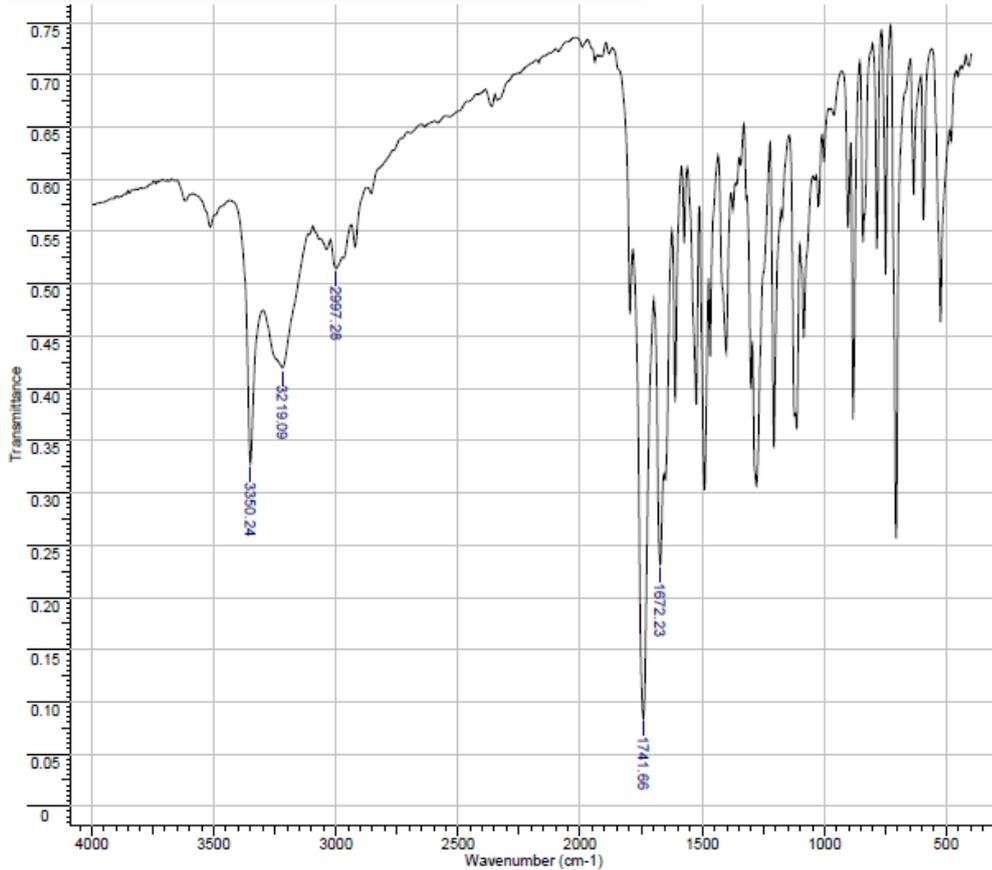
Spectrum

Line#:1 R.Time:15.3(Scan#:1541)



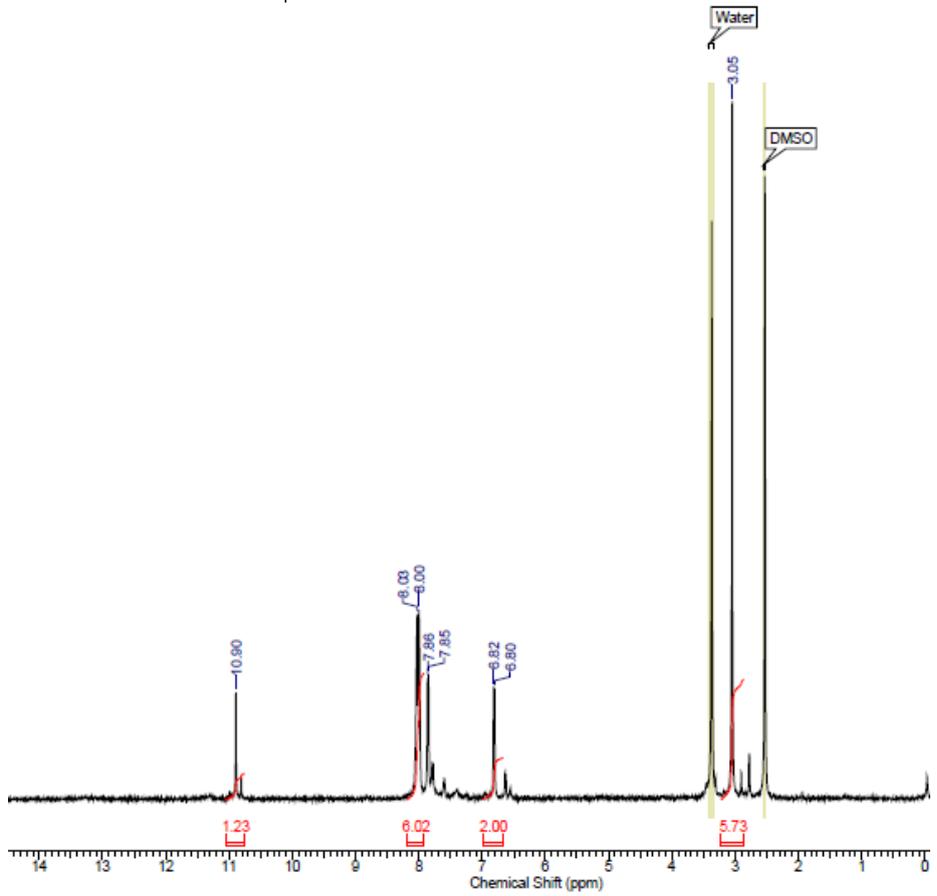
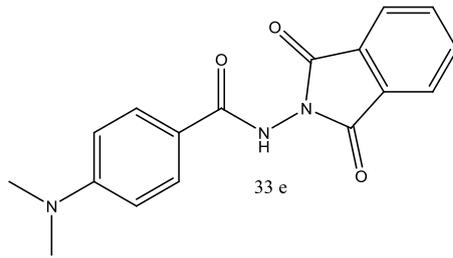
Espectro de massas da ftalazoilidrazida 33 d.

File Name	C:\DOCUMENTS AND SETTINGS\CLIENTE-PC\DESKTOP\IV F\ BIO\FTA 4 _ FABIO - ARTHUR_0		
Date Stamp	24/09/2012 10:56:16.485 (GMT-3)		
Technique	Infrared	Instrument	VERTEX 70
X Axis	Wavenumber (cm-1)	Y Axis	Transmittance
Points Count	1868	Data Spacing	1.9288
			Spectral Region IR
			Spectrum Range 399.2520 - 3996.3780

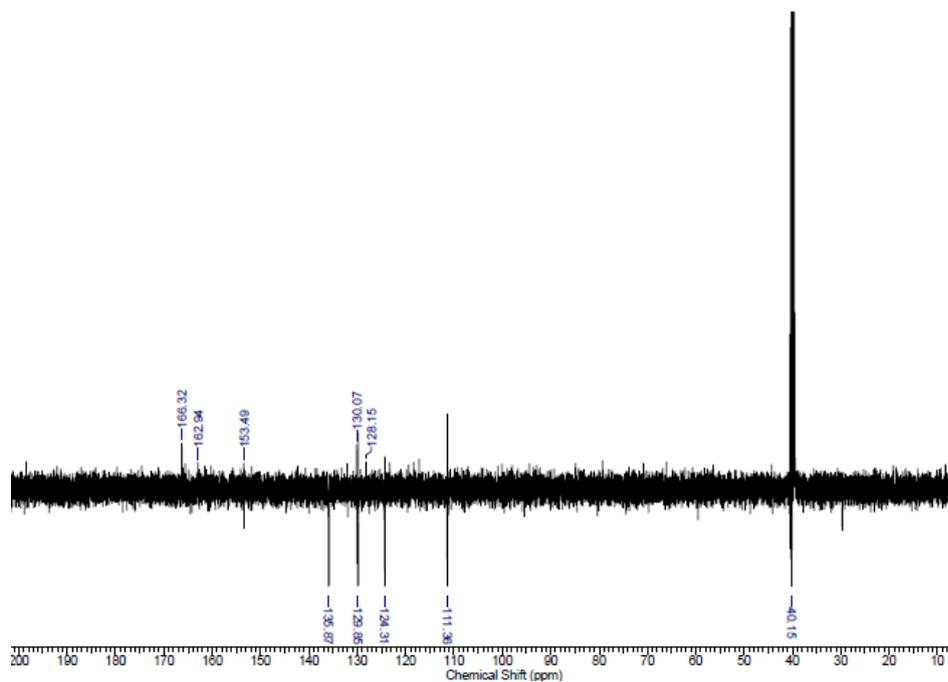


No	cm-1	T	Intensity
1	1672.23	0.232	S
2	1741.66	0.085	VS
3	2997.28	0.515	M
4	3219.09	0.420	M
5	3350.24	0.328	S

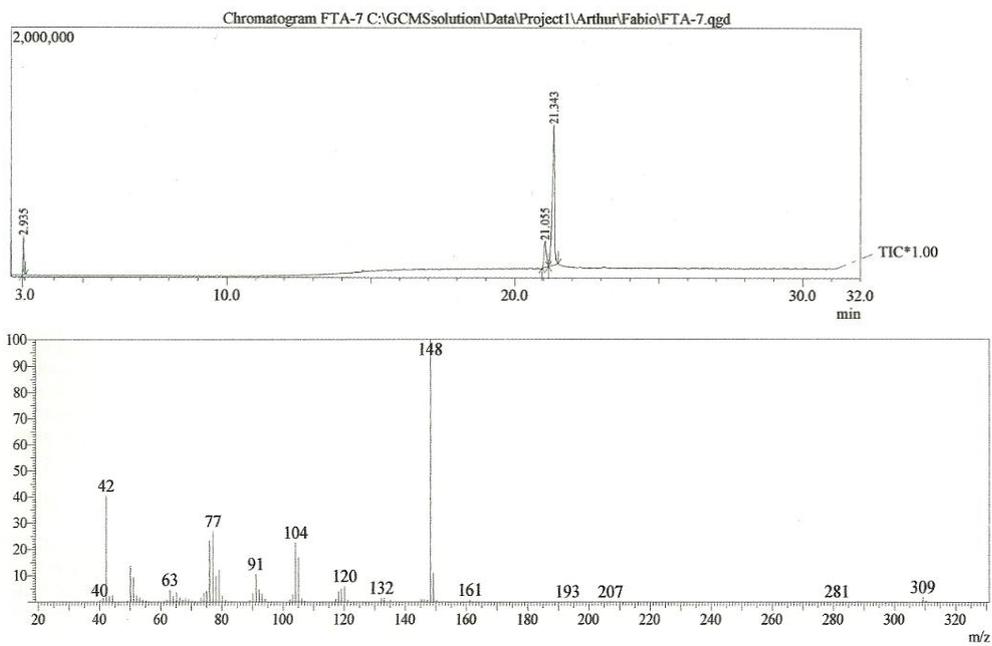
Espectro de Infravermelho da ftalazoilidrazida 33 d (KBr).



Espectro de RMN-¹H (500 MHz) da ftalzoilidrazida 33 e (DMSO-d₆).

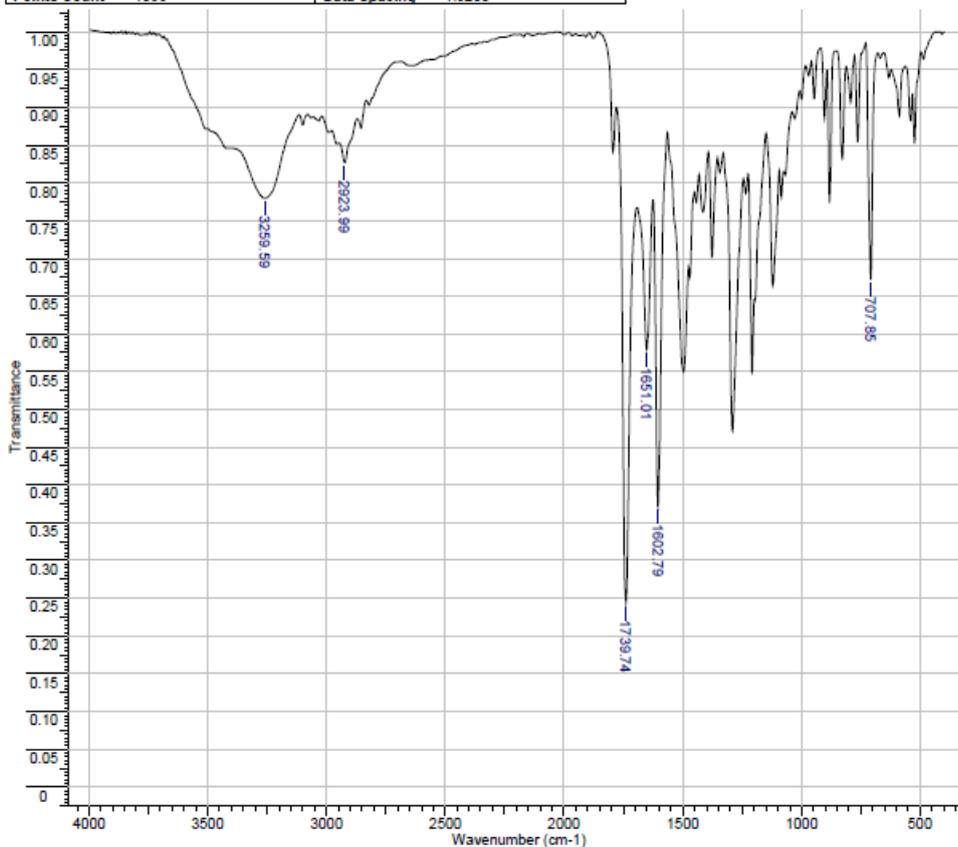


Espectro de RMN-¹³C (500 MHz) da ftalazoilidrazida 33 e (DMSO-d₆).



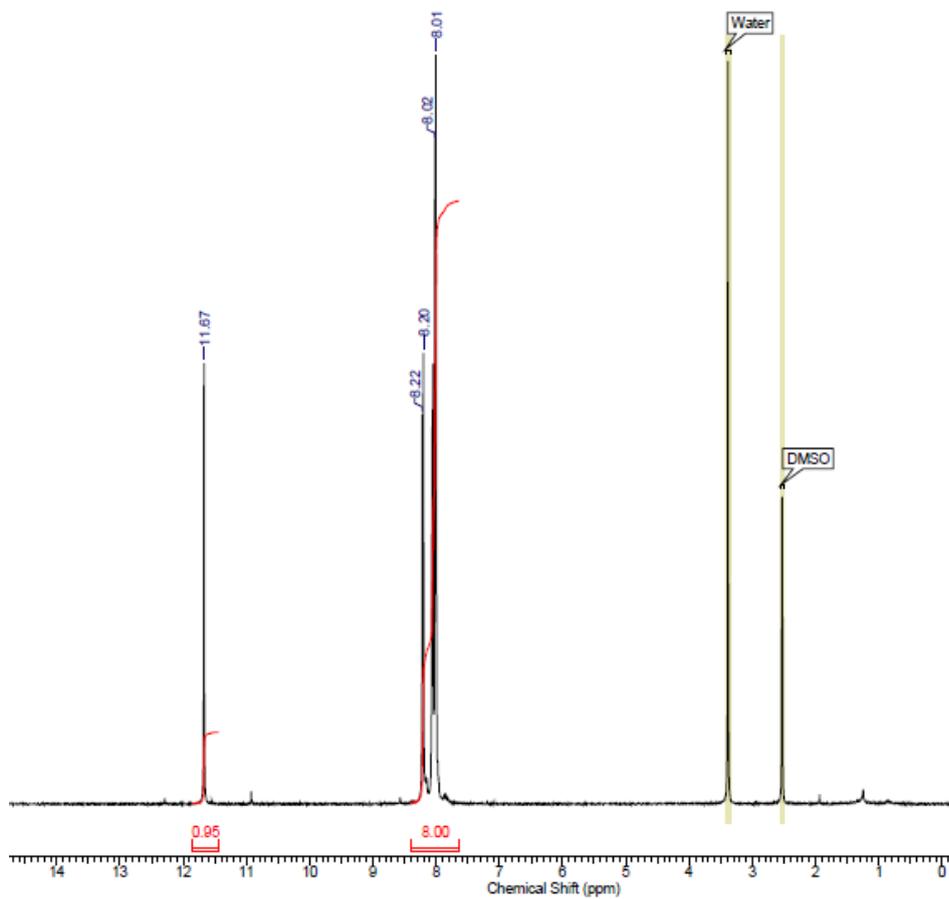
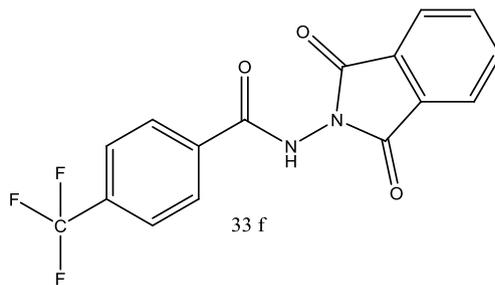
Espectro de massas da ftalazoilidrazida 33 e.

Date Stamp	24/09/2012 11:14:29.740 (GMT-3)	Date	04 Oct 2012 16:29:56
Technique	Infrared	Instrument	VERTEX 70
X Axis	Wavenumber (cm-1)	Y Axis	Transmittance
Points Count	1866	Data Spacing	1.9288
		Spectral Region	IR
		Spectrum Range	399.2520 - 3998.3760

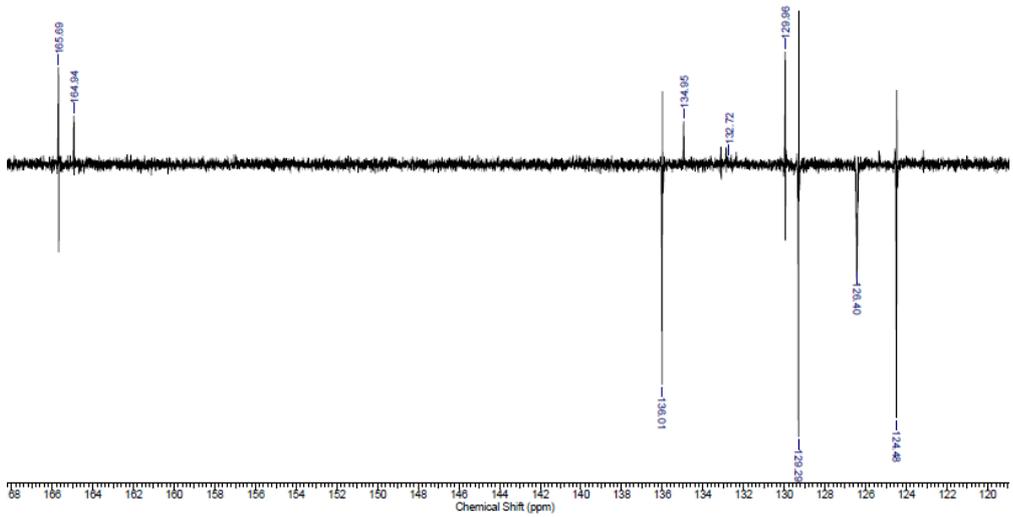


No	cm-1	T	Intensity
1	707.85	0.672	M
2	1602.79	0.371	S
3	1651.01	0.579	M
4	1739.74	0.244	VS
5	2923.99	0.826	W
6	3259.59	0.780	W

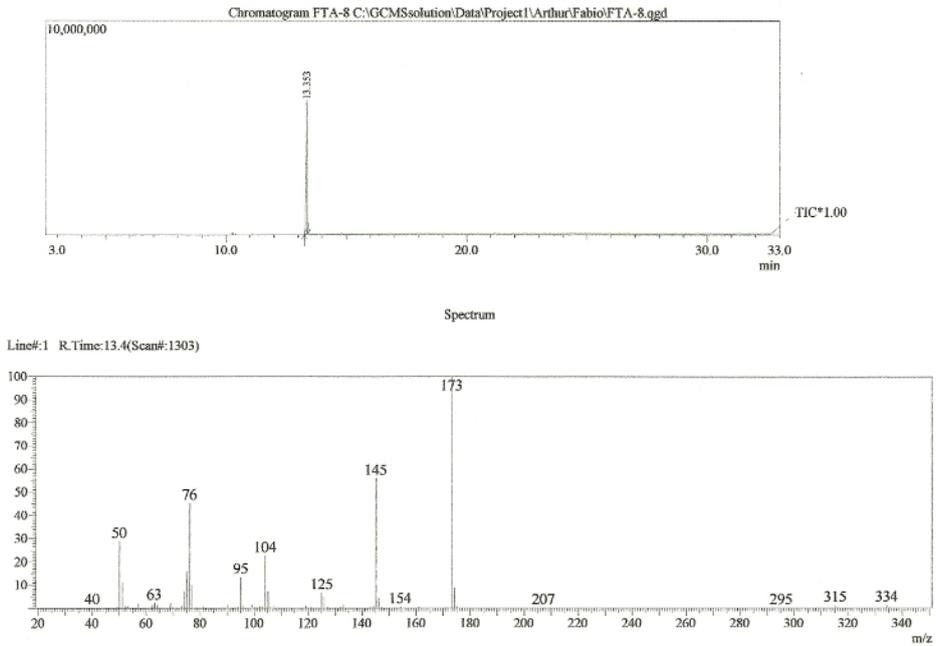
Espectro de Infravermelho da ftalazoilidrazida 33 e (KBr).



Espectro de RMN-¹H (500 MHz) da ftalazolidrazida 33 f (DMSO-d₆).

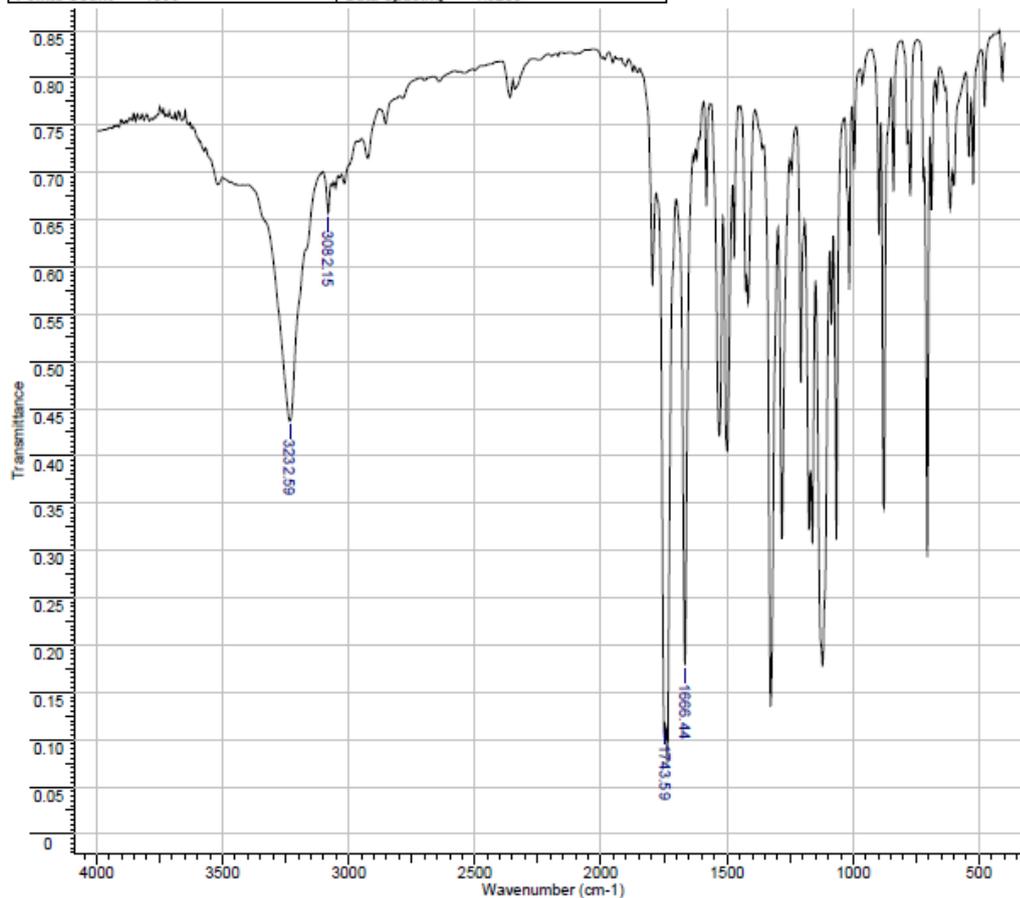


Espectro de RMN-¹³C (500 MHz) da ftalazoilidrazida 33 f (DMSO-d₆).



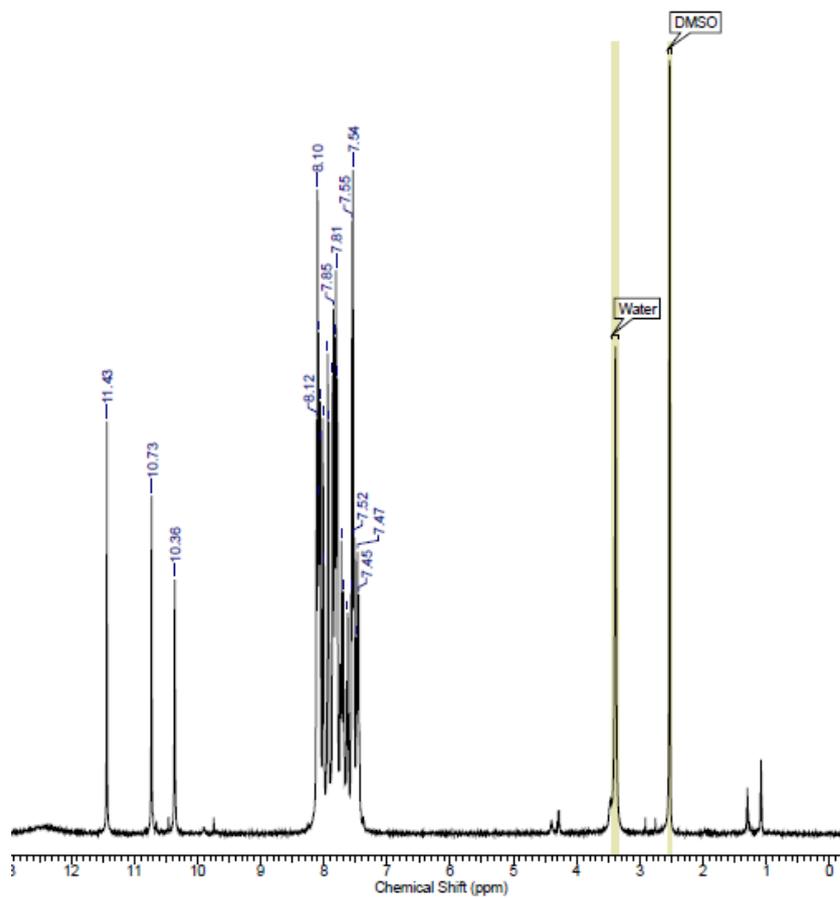
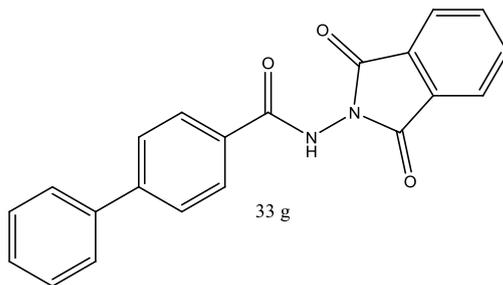
Espectro de massas da ftalazoilidrazida 33 f.

Title	FTA 8 . FABIO - ARTHUR		
File Name	C:\DOCUMENTS AND SETTINGS\CLIENTE-PC\DESKTOP\IV F' BIO\FTA 8 . FABIO - ARTHUR.0		
Date Stamp	24/09/2012 11:21:53.187 (GMT-3)	Date	04 Oct 2012 18:30:12
Technique	Infrared	Instrument	VERTEX 70
X Axis	Wavenumber (cm-1)	Y Axis	Transmittance
Points Count	1886	Data Spacing	1.9288
			Spectral Range 399.2520 - 3996.3760

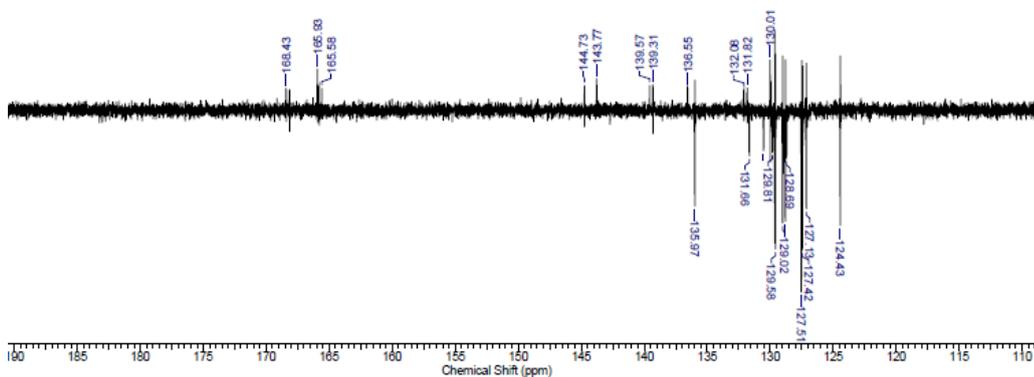


No	cm-1	T	Intensity
1	1666.44	0.178	S
2	1743.59	0.115	VS
3	3082.15	0.657	W
4	3232.59	0.436	M

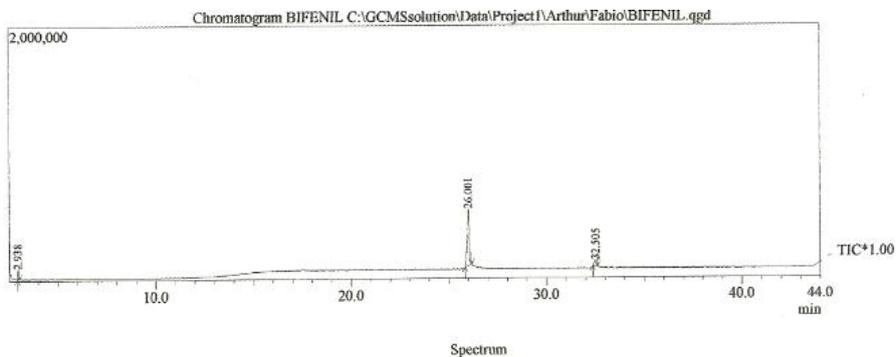
Espectro de Infravermelho da ftalazoilidrazida 33 f (KBr).



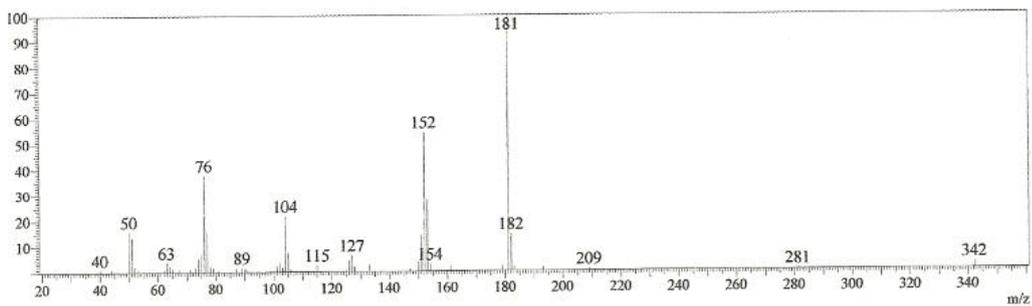
Espectro de RMN-¹H (500 MHz) da ftalazolidrazida 33 g (DMSO-d₆).



Espectro de RMN-¹³C (500 MHz) da ftalazoilidrazida 33 g (DMSO-d₆).

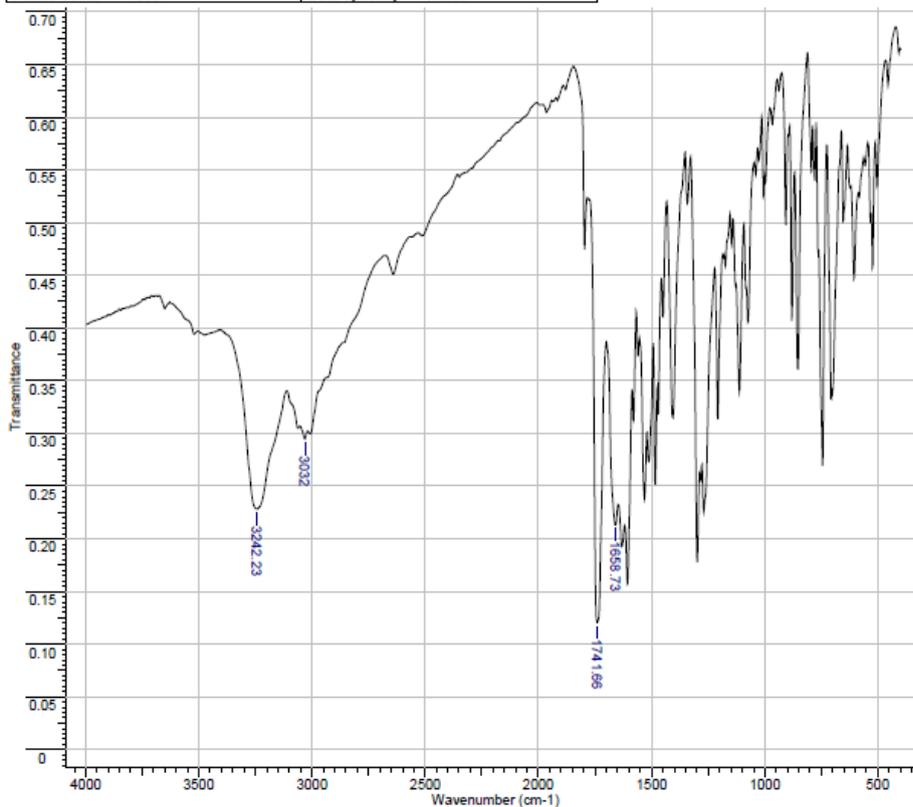


Line#:1 R. Time:26.0(Scan#:2821)



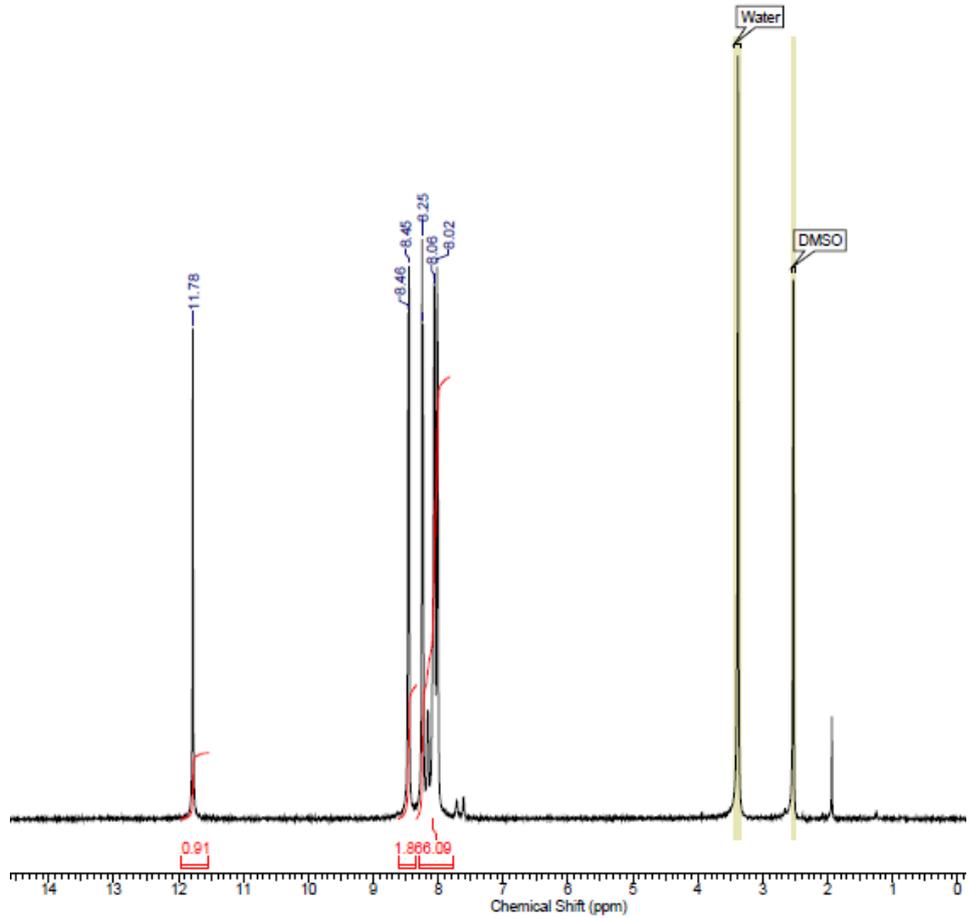
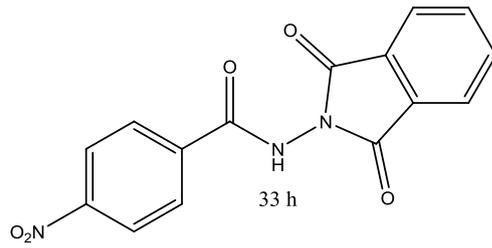
Espectro de massas da ftalazoilidrazida 33 g.

Title FTA 9 . FABIO - ARTHUR			
File Name C:\DOCUMENTS AND SETTINGS\CLIENTE-PC\DESKTOPIV F' BIO\FTA 9 . FABIO - ARTHUR.0			
Date Stamp	24/09/2012 11:53:50.521 (GMT-3)	Date	04 Oct 2012 16:30:12
Technique	Infrared	Instrument	VERTEX 70
X Axis	Wavenumber (cm-1)	Y Axis	Transmittance
Points Count	1866	Spectrum Range	399.2520 - 3996.3780
		Data Spacing	1.9288

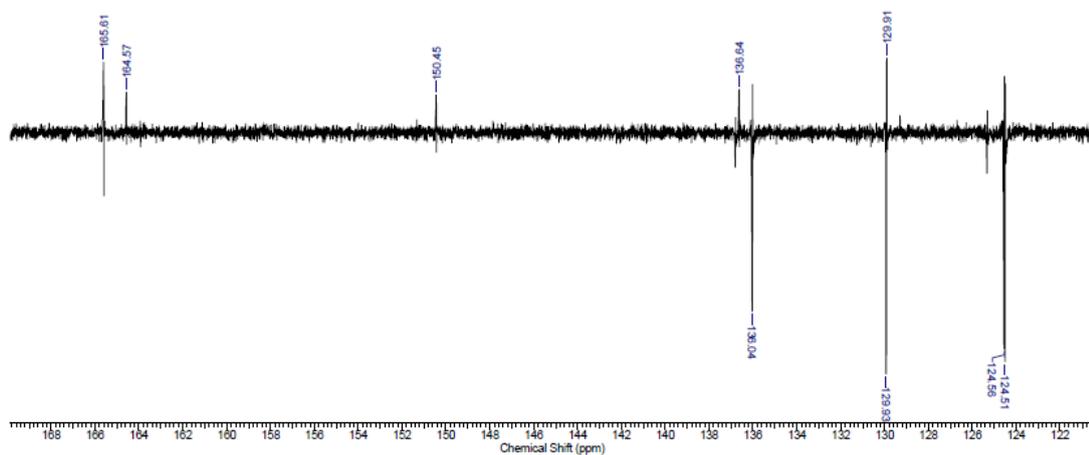


No	cm-1	T	Intensity
1	1658.73	0.213	S
2	1741.66	0.121	VS
3	3032.00	0.265	S
4	3242.23	0.228	S

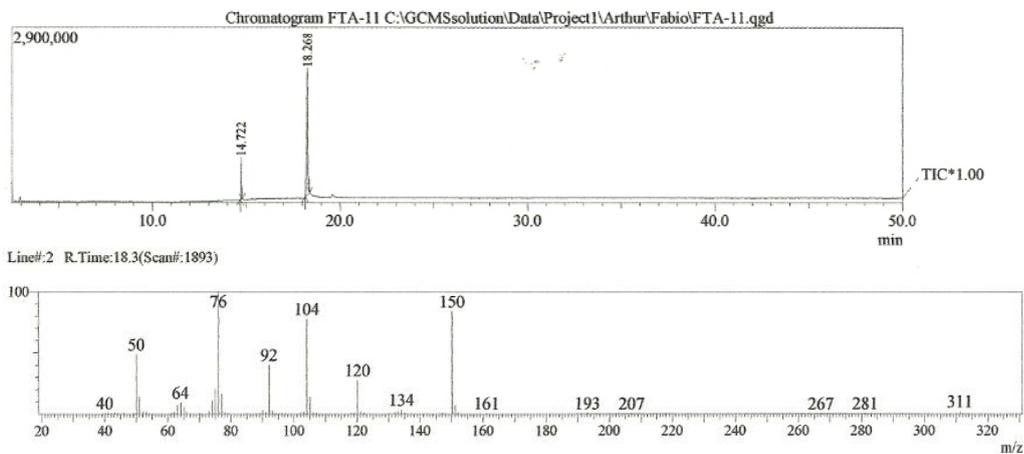
Espectro de Infravermelho da ftalazolidrazida 33 g (KBr).



Espectro de RMN-¹H (500 MHz) da ftalazolidrazida 33 h (DMSO-d₆).

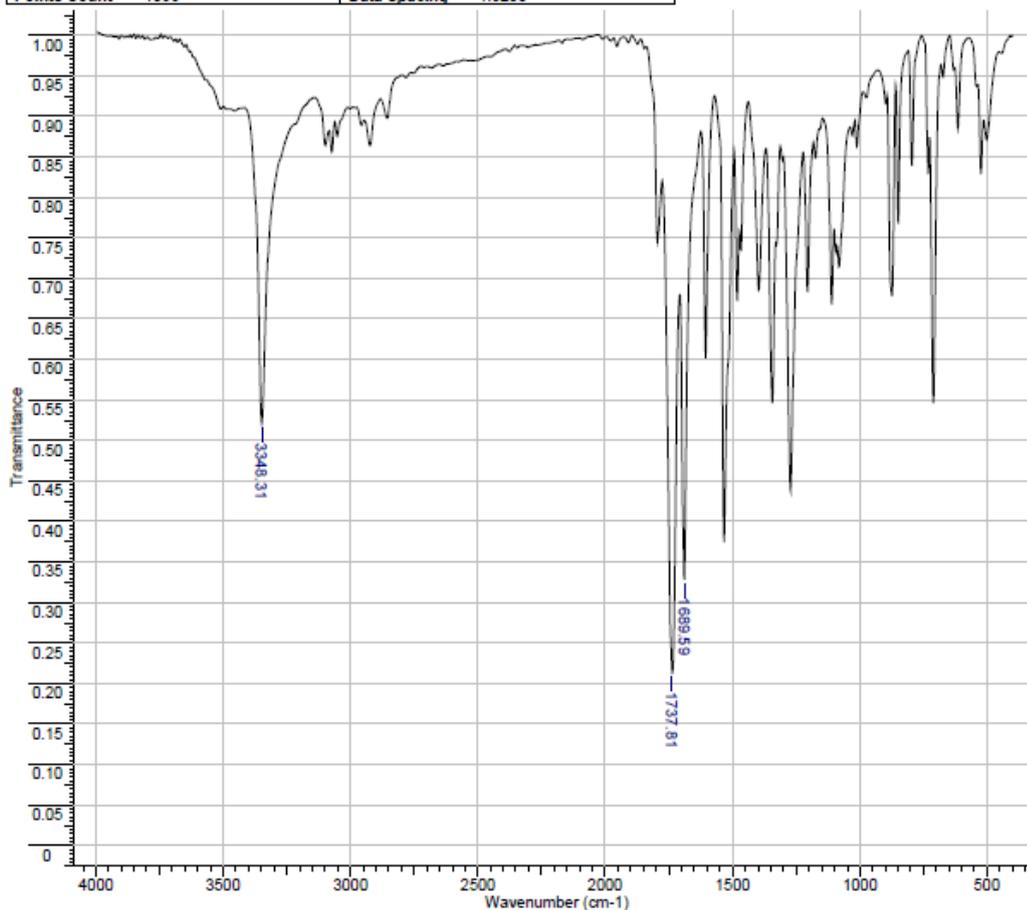


Espectro de RMN-¹³C (500 MHz) da ftalazoilidrazida 33 h (DMSO-d₆).



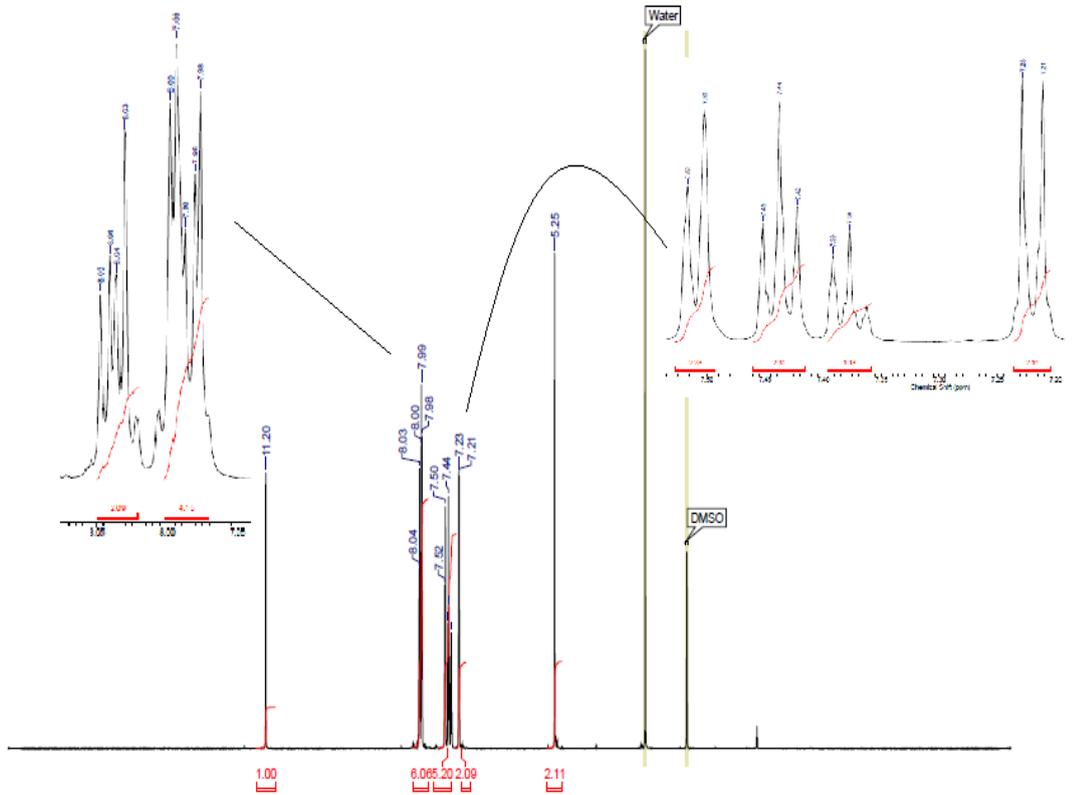
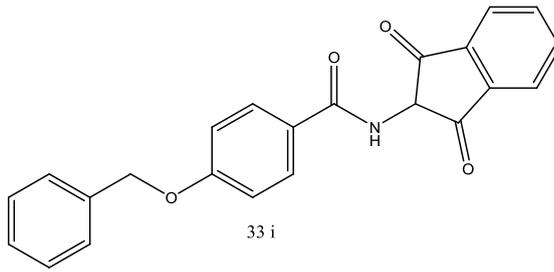
Espectro de massas da ftalazoilidrazida 33 h.

Title FTA 11 . FABIO - ARTHUR			
File Name C:\DOCUMENTS AND SETTINGS\CLIENTE-PC\DESKTOP\IV F\ BIO\FTA 11 . FABIO - ARTHUR_0			
Date Stamp 24/09/2012 12:07:32.836 (GMT-3)		Date 04 Oct 2012 16:30:12	
Technique Infrared	Instrument VERTEX 70	Spectral Region IR	
X Axis Wavenumber (cm-1)	Y Axis Transmittance	Spectrum Range 399.2520 - 3996.3760	
Points Count 1886	Data Spacing 1.9288		

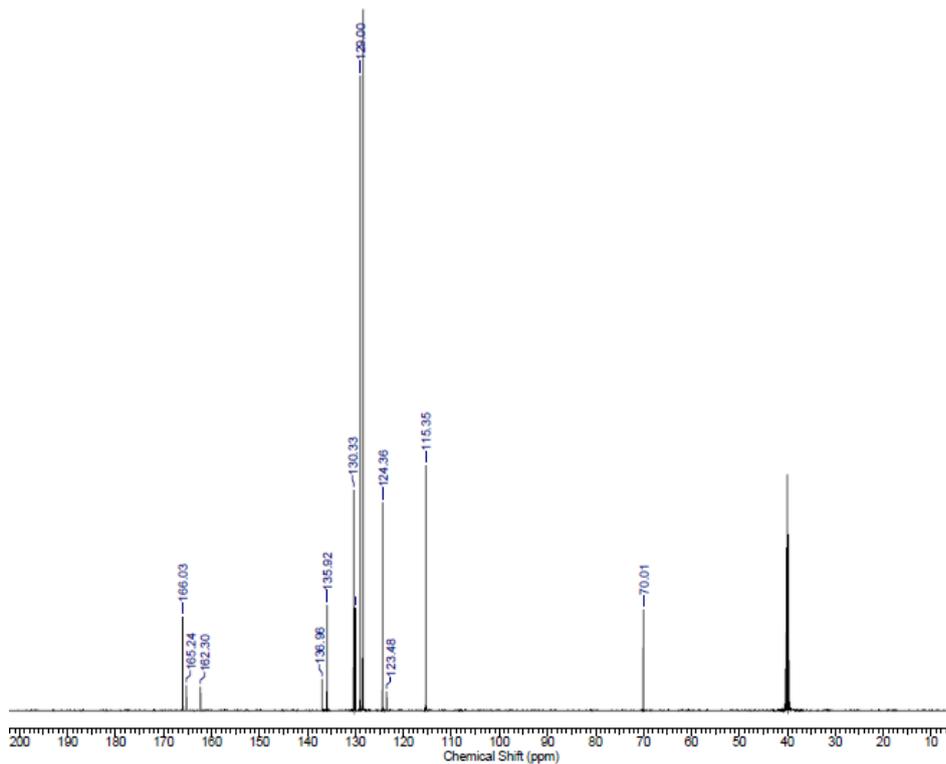


No	cm-1	T	Intensity
1	1689.59	0.329	S
2	1737.81	0.213	VS
3	3348.31	0.521	S

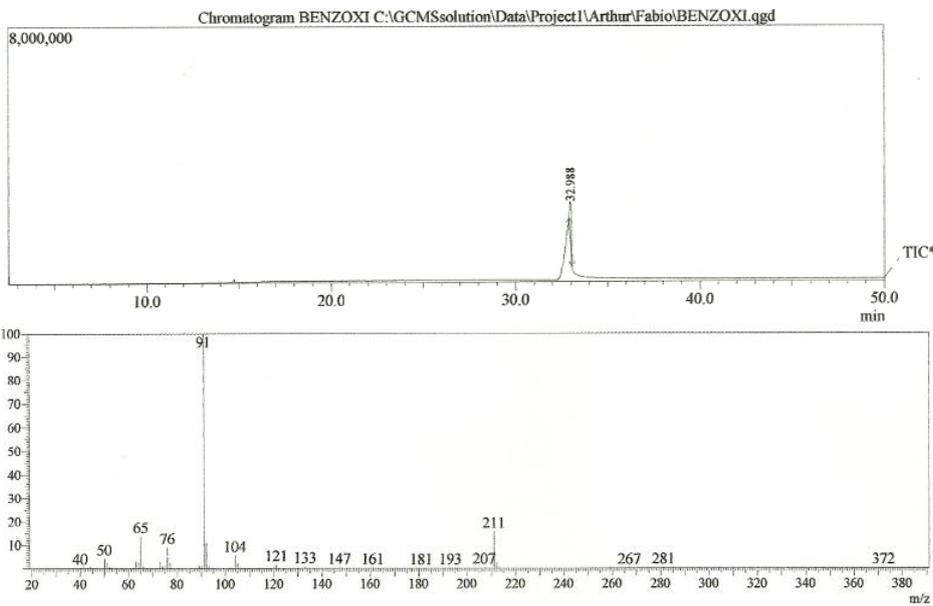
Espectro de Infravermelho da ftalazoidrazida 33 h (KBr).



Espectro de RMN-¹H (500 MHz) da ftalazolidrazida 33 i (DMSO-d₆).

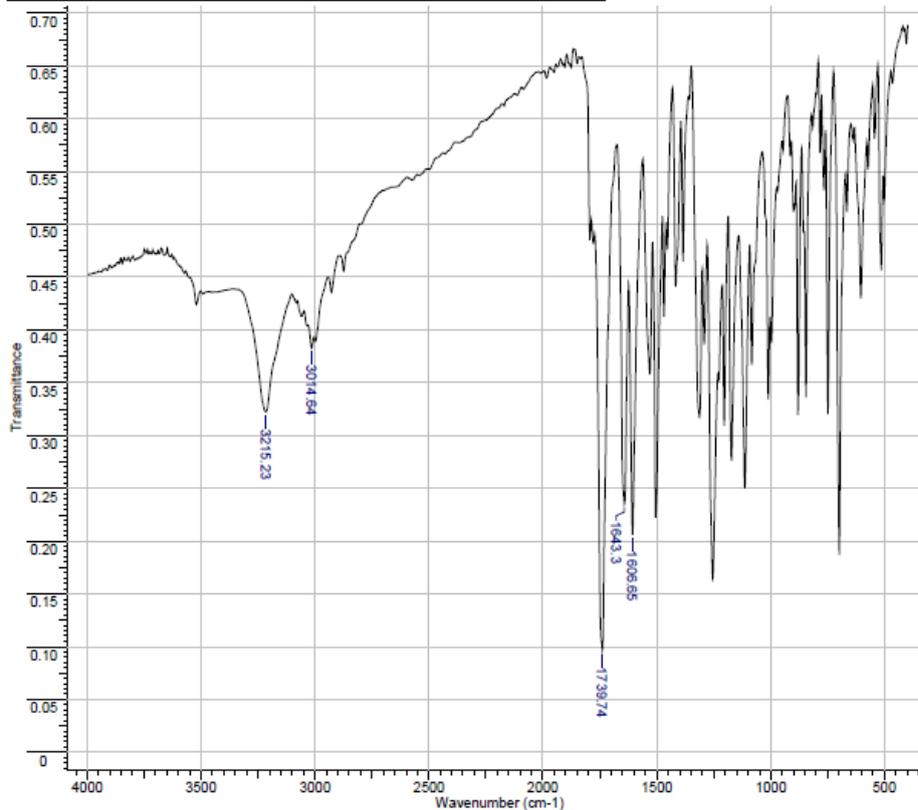


Espectro de RMN-¹³C (500 MHz) da ftalazoilidrazida 33 i (DMSO-d₆).



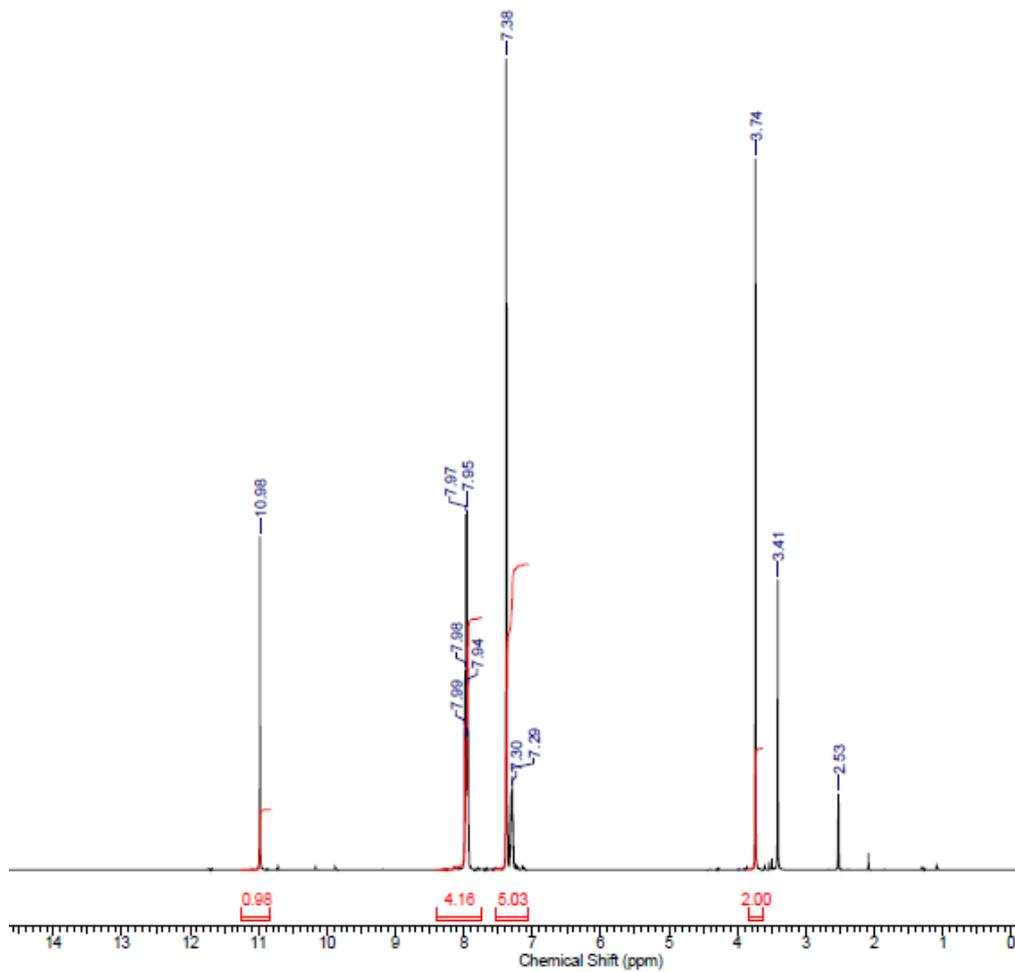
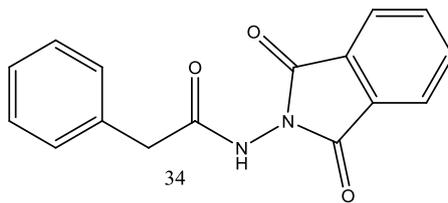
Espectro de massas da ftalazoilidrazida 33 i.

Technique	Infrared	Instrument	VERTEX 70	Spectral Region	IR
X Axis	Wavenumber (cm-1)	Y Axis	Transmittance	Spectrum Range 399.2520 - 3996.3760	
Points Count	1866	Data Spacing	1.9288		

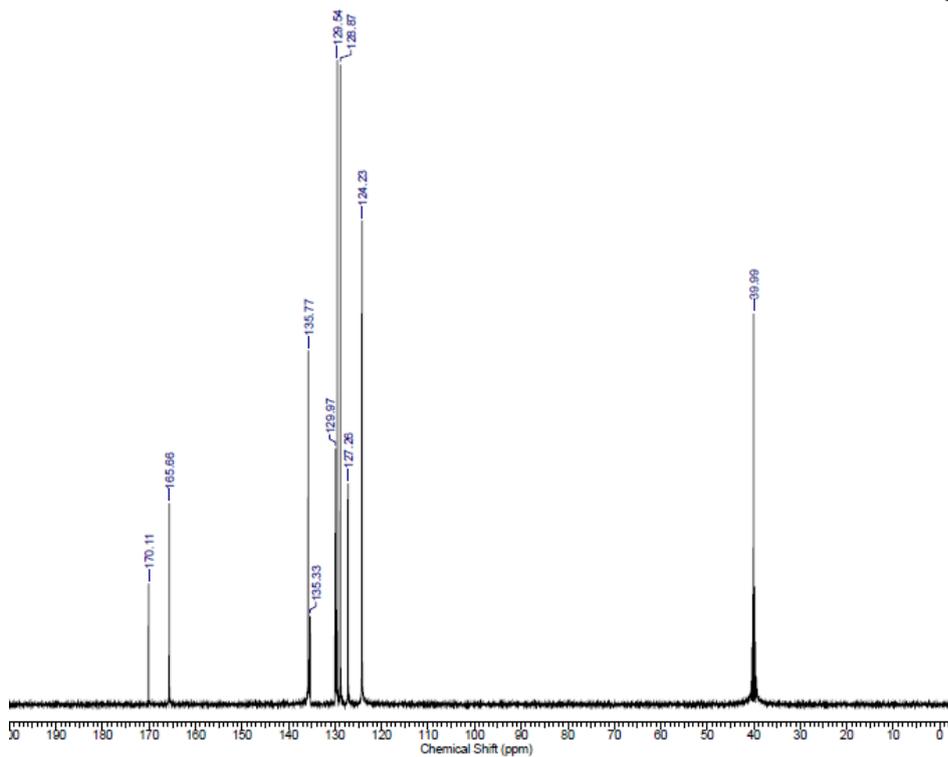


No	cm-1	T	Intensity
1	1606.65	0.207	S
2	1643.30	0.235	S
3	1739.74	0.096	VS
4	3014.64	0.383	M
5	3215.23	0.322	S

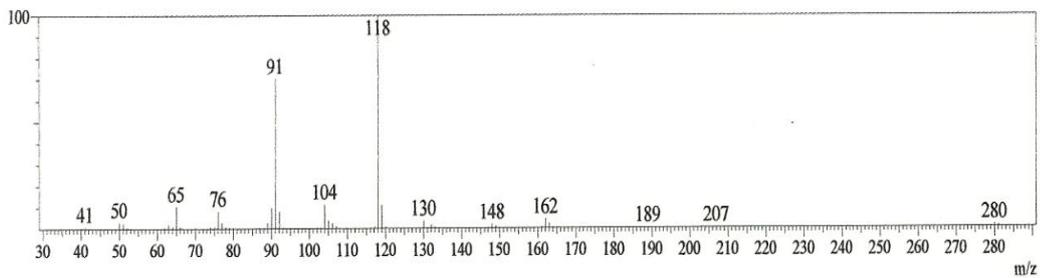
Espectro de Infravermelho da ftalazoilidrazida 33 i (KBr).



Espectro de RMN-¹H (500 MHz) da ftalazoilidrazida 34 (DMSO-d₆).

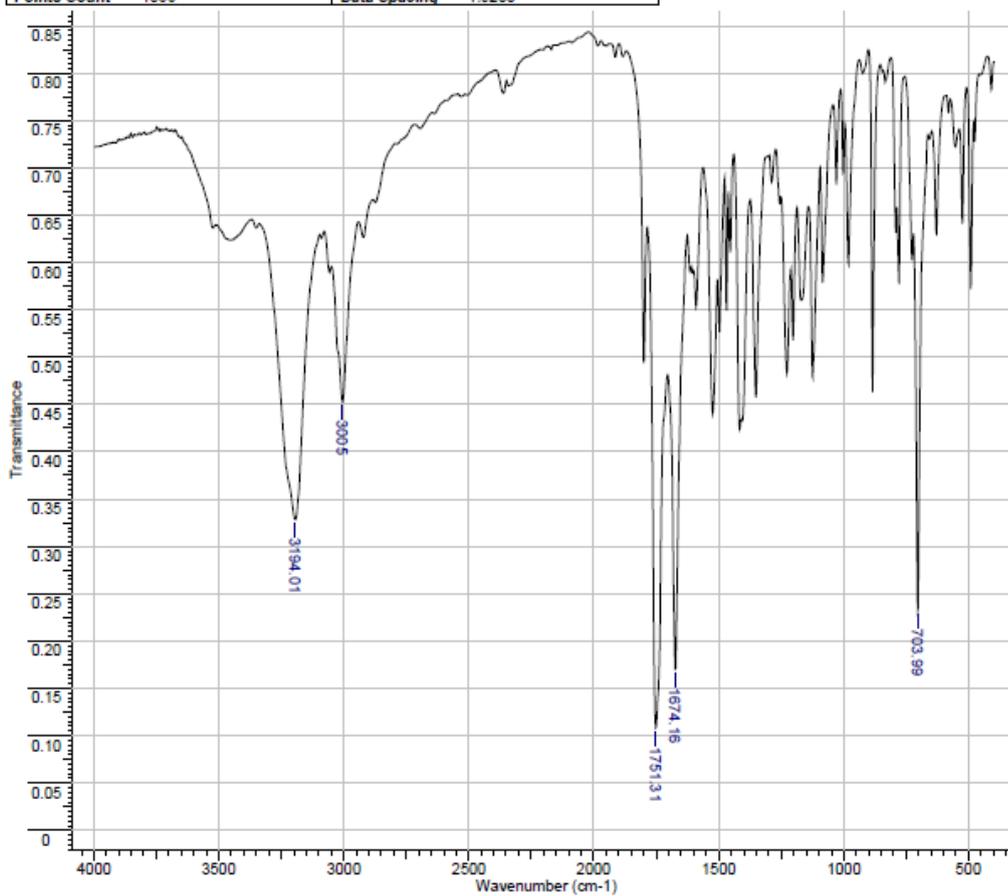


Espectro de RMN-¹³C (500 MHz) da ftalazoilidrazida 34 (DMSO-d₆).



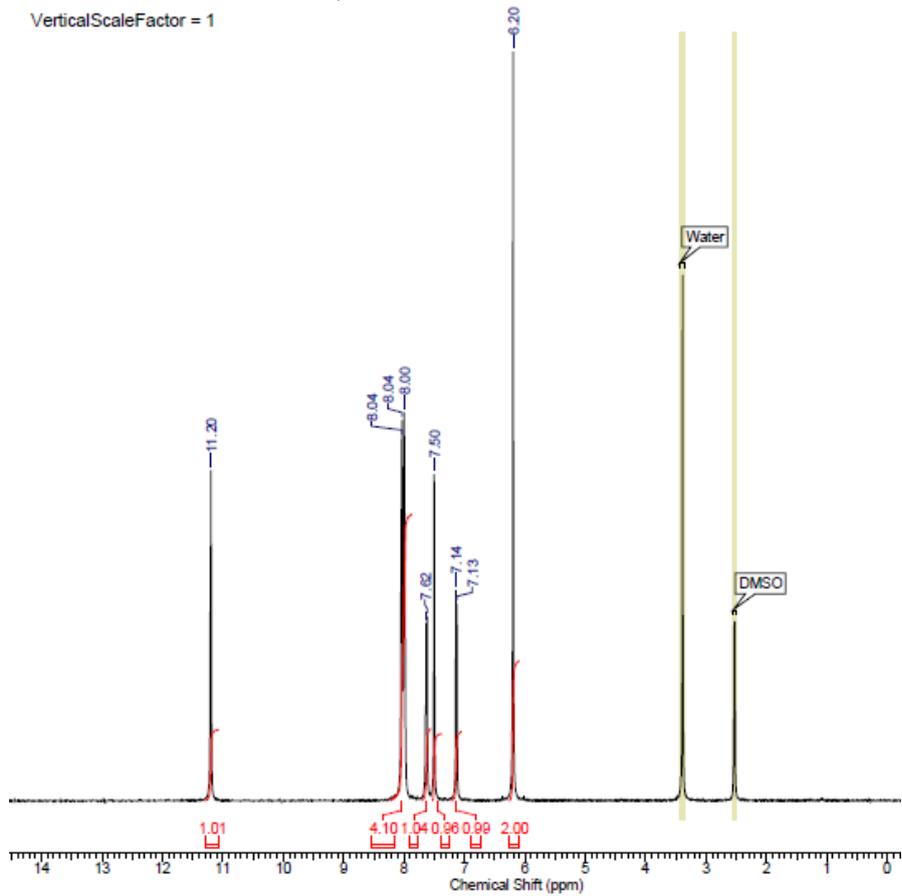
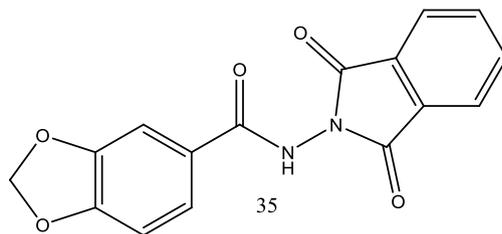
Espectro de massas da ftalazoilidrazida 34.

Technique	Infrared	Instrument	VERTEX 70	Spectral Region	IR
X Axis	Wavenumber (cm-1)	Y Axis	Transmittance	Spectrum Range 399.2520 - 3996.3760	
Points Count	1866	Data Spacing	1.9288		

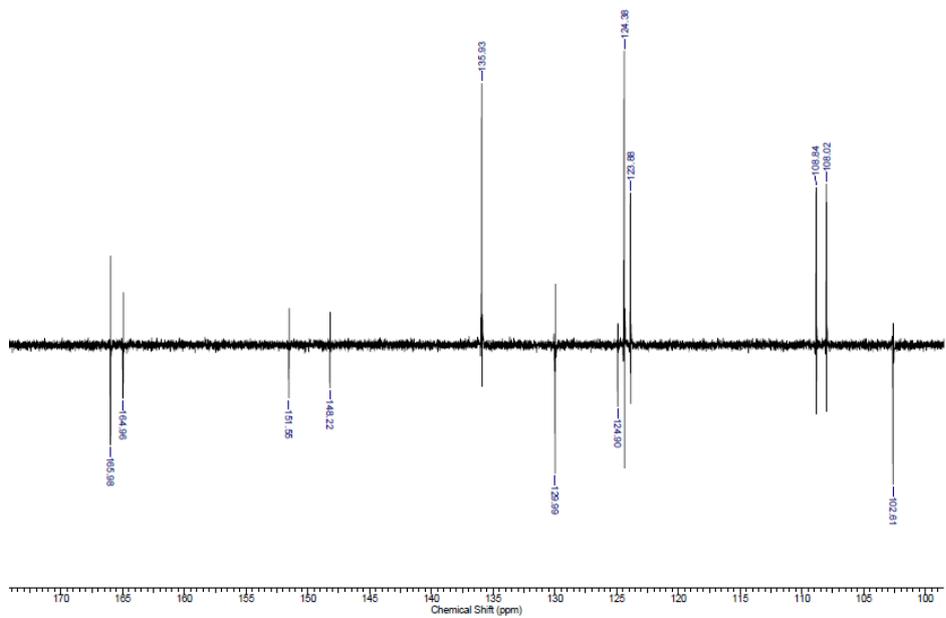


No	cm-1	T	Intensity
1	703.99	0.233	S
2	1674.16	0.170	VS
3	1751.31	0.109	VS
4	3005.00	0.453	M
5	3194.01	0.328	S

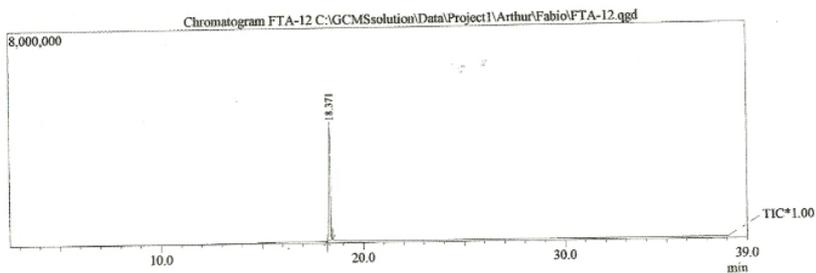
Espectro de Infravermelho da ftalazoilidrazida 34 (KBr).



Espectro de RMN-¹H (500 MHz) da ftalazolidrazida 35 (DMSO-d₆).

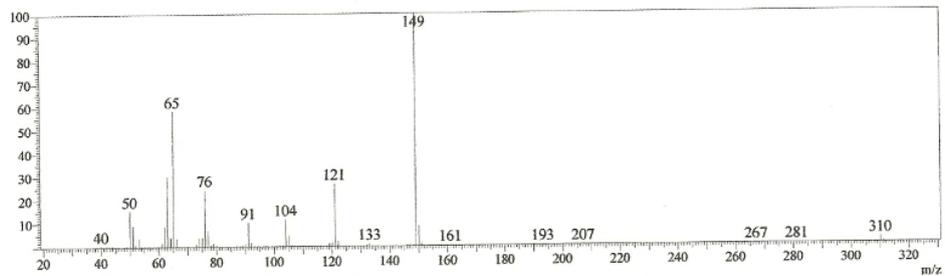


Espectro de RMN-¹³C (500 MHz) da fthalazolidrazida 35 (DMSO-d₆).



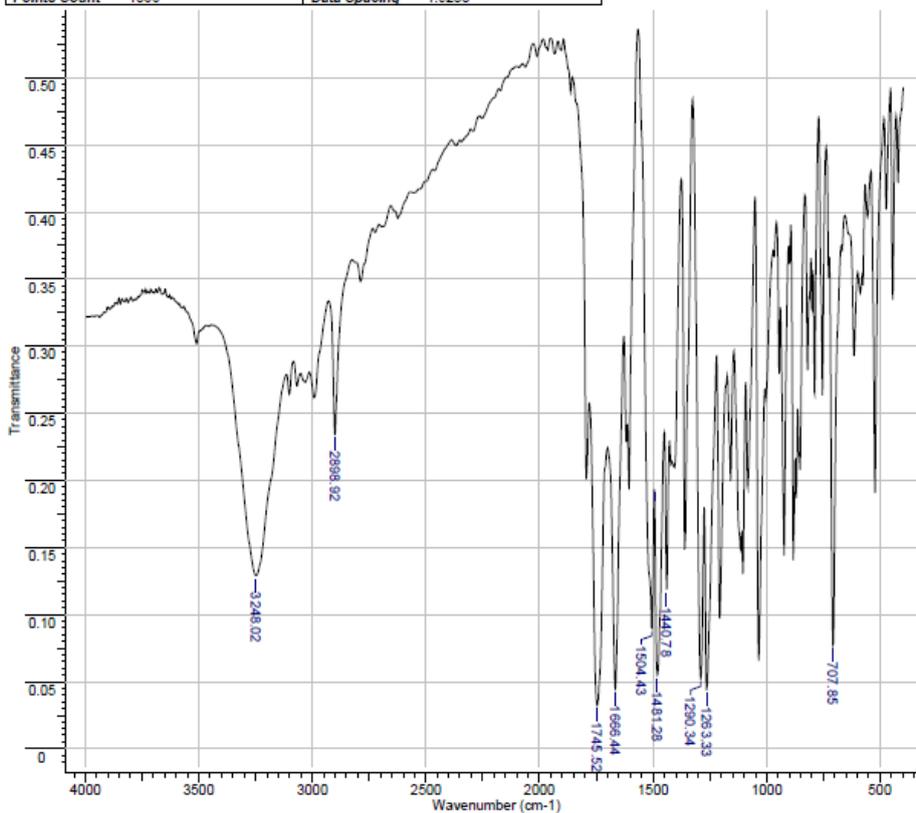
Spectrum

Line#:1 R.Time:18.4(Scan#:1905)



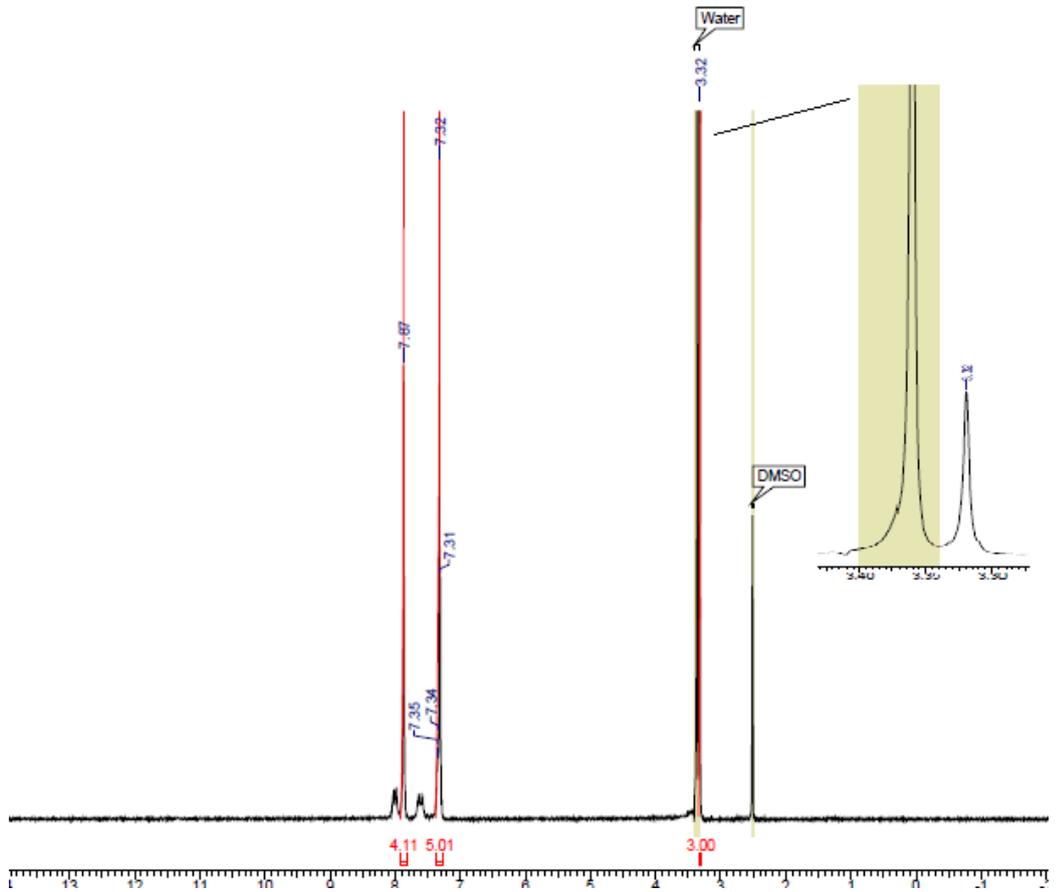
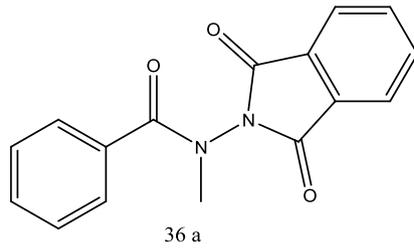
Espectro de massas da fthalazolidrazida 35.

Title	FTA 12 . FABIO - ARTHUR		
File Name	C:\DOCUMENTS AND SETTINGS\CLIENTE-PC\DESKTOP\IV F' BIO\FTA 12 . FABIO - ARTHUR.0		
Date Stamp	24/09/2012 12:17:01.438 (GMT-3)	Date	04 Oct 2012 16:30:12
Technique	Infrared	Instrument	VERTEX 70
X Axis	Wavenumber (cm-1)	Y Axis	Transmittance
Points Count	1866	Data Spacing	1.9288
			Spectral Range 399.2520 - 3996.3760

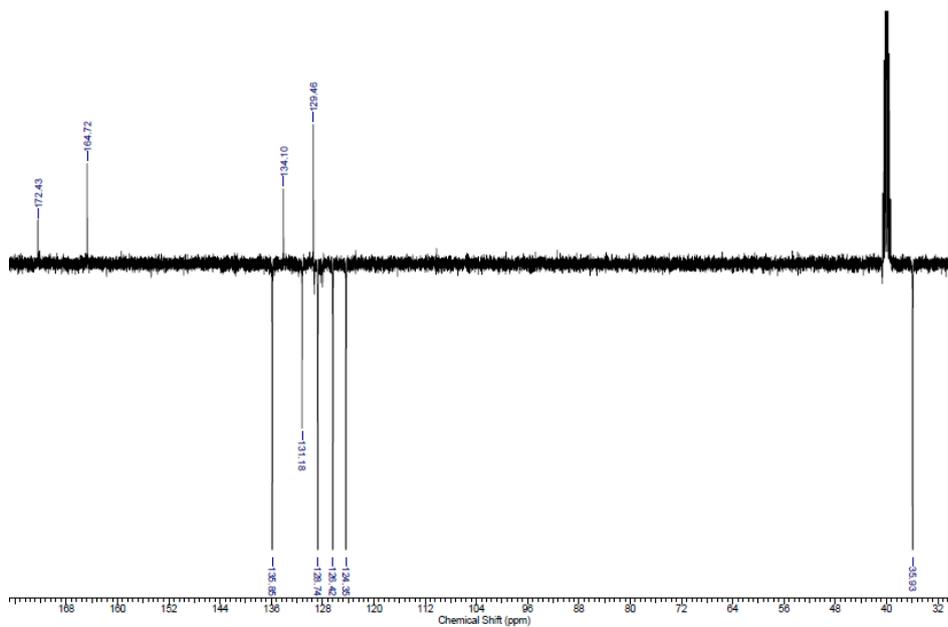


No	cm-1	T	Intensity
1	707.85	0.077	VS
2	1263.33	0.044	VS
3	1280.34	0.052	VS
4	1440.78	0.119	S
5	1481.28	0.055	VS
6	1484.78	0.194	S
7	1504.43	0.090	S
8	1686.44	0.045	VS
9	1745.52	0.032	VS
10	2898.92	0.234	M
11	3248.02	0.129	S

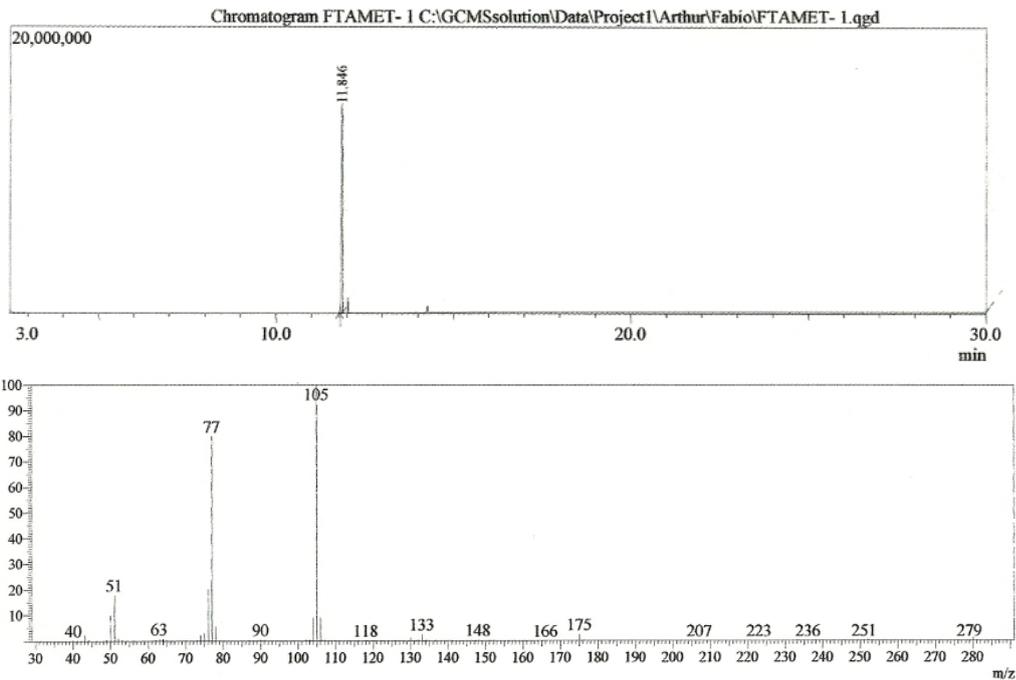
Espectro de Infravermelho da ftalazoilidrazida 35 (KBr).



Espectro de RMN- ^1H (400 MHz) da *N*-metil-fenilftalazolidrazida 36 a (DMSO-d_6).

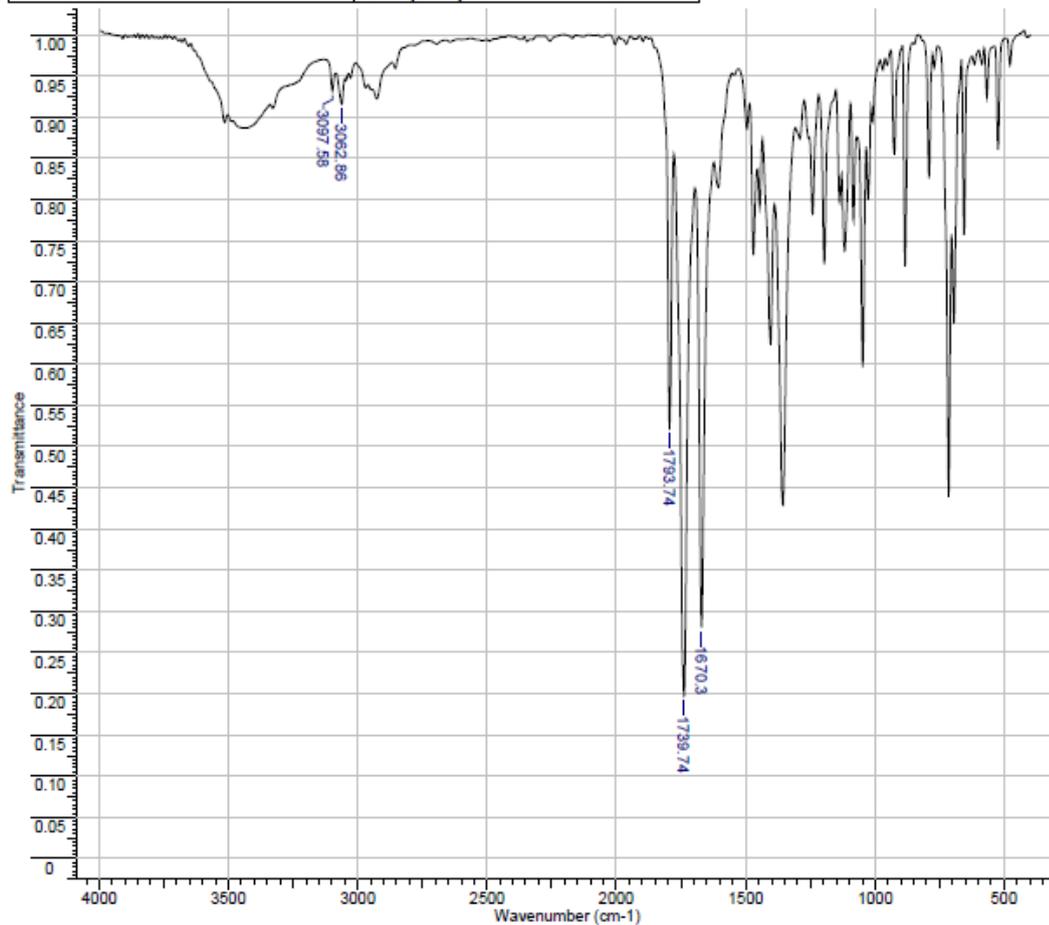


Espectro de RMN-¹³C (400 MHz) da *N*-metil-fenilftalazoilidrazida 36 a (DMSO-d₆).



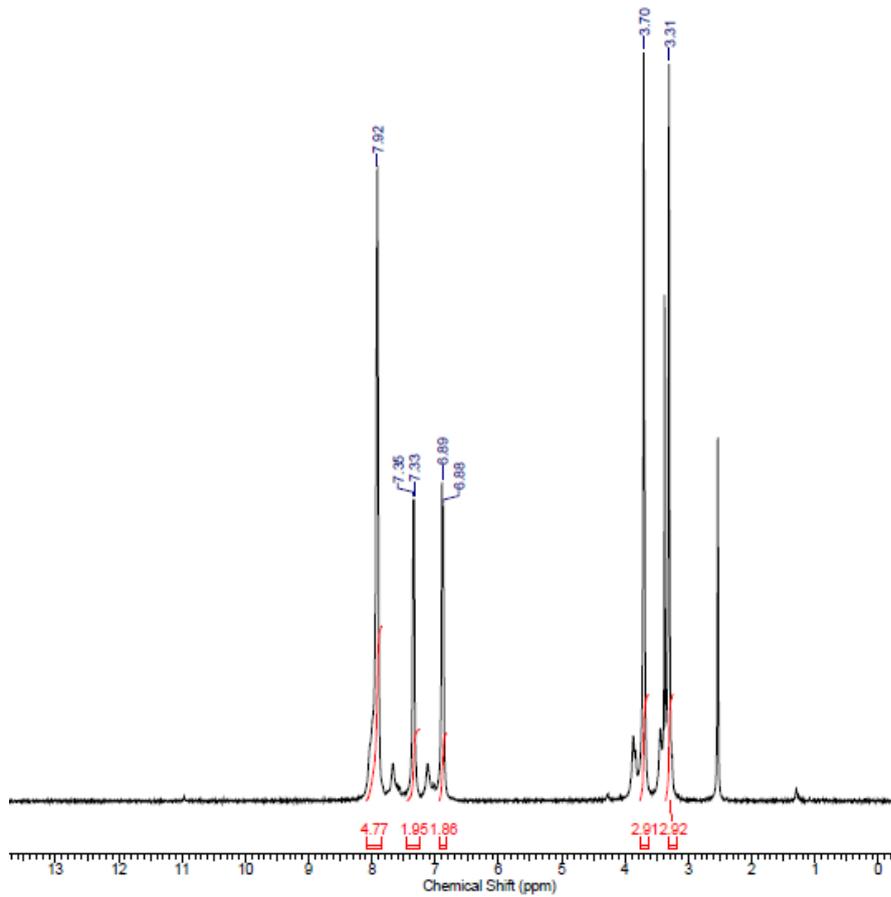
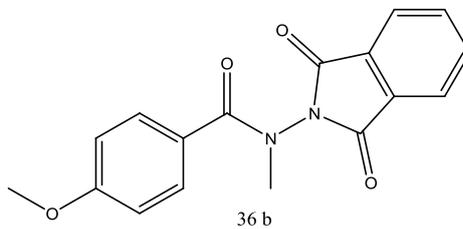
Espectro de massas da *N*-metil-fenilftalazoidrazida 36 a.

Technique	Infrared	Instrument	VERTEX 70	Spectral Region	IR
X Axis	Wavenumber (cm-1)	Y Axis	Transmittance	Spectrum Range 399.2520 - 3996.3760	
Points Count	1866	Data Spacing	1.9288		

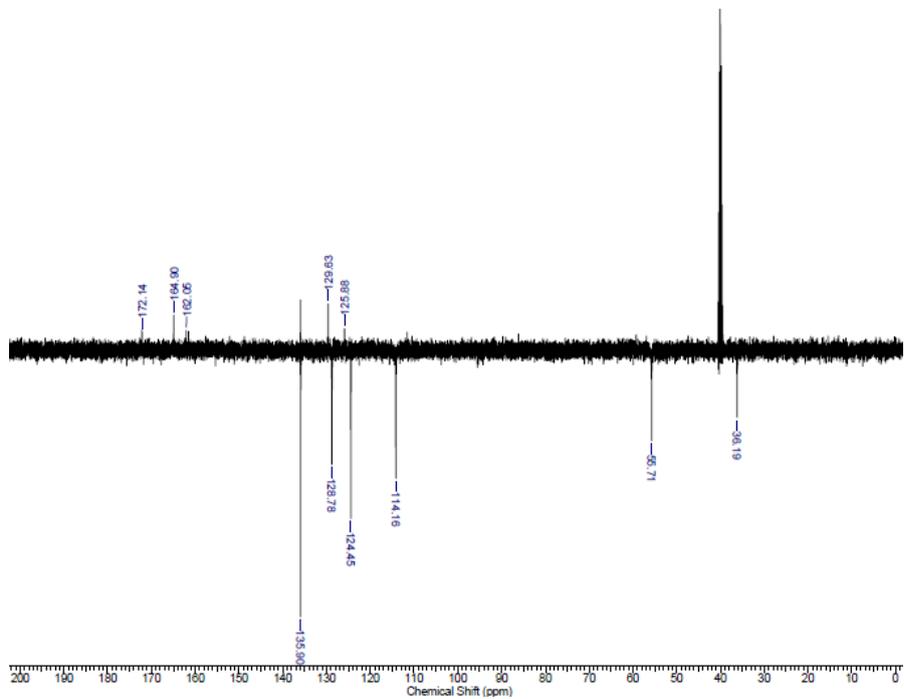


No	cm-1	T	Intensity
1	1670.30	0.280	S
2	1739.74	0.197	VS
3	1793.74	0.520	M
4	3062.86	0.916	W
5	3097.58	0.932	VW

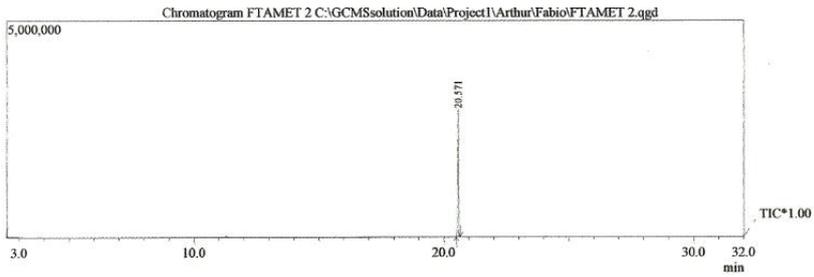
Espectro de Infravermelho da *N*-metil-fenilftalazoidrazida 36 a (KBr).



Espectro de RMN- ^1H (500 MHz) da *N*-metil-feniltalazolidrazida 36 b (DMSO- d_6).

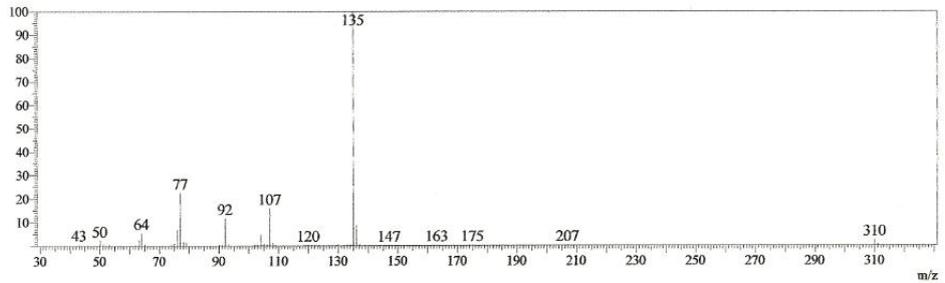


Espectro de RMN- ^{13}C (500 MHz) da *N*-metil-fenilftalazoilidrazida 36 b (DMSO- d_6).



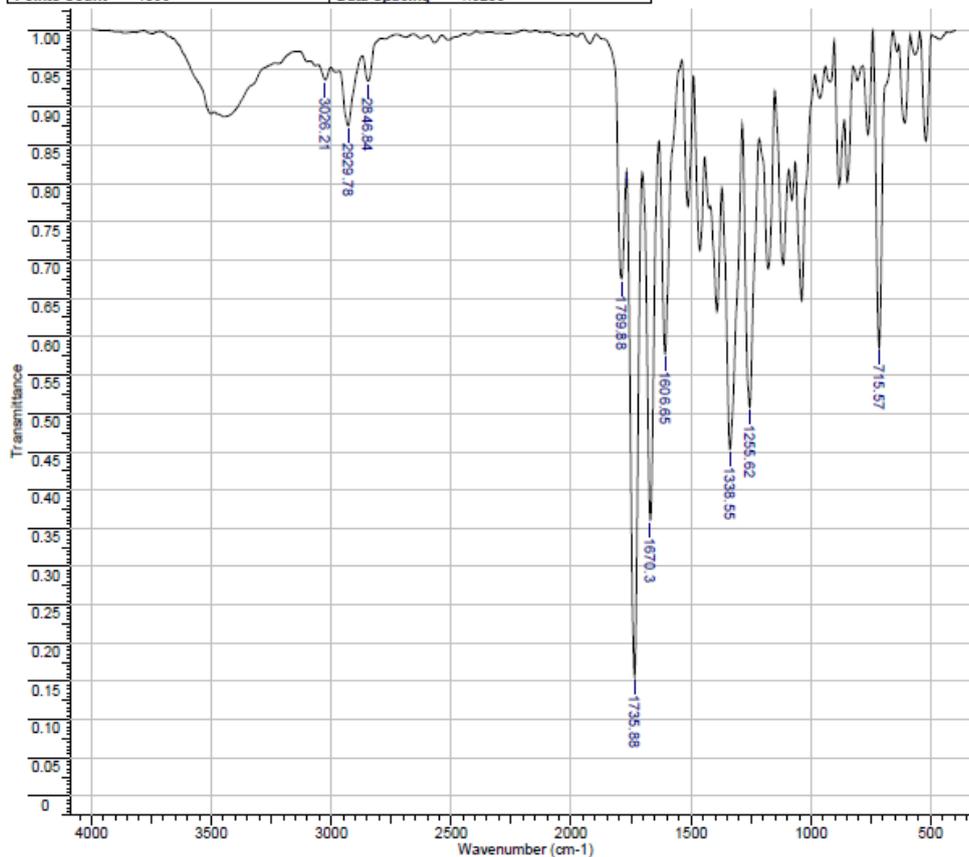
Spectrum

Line#: 1 R. Time: 20.6 (Scan#: 2170)



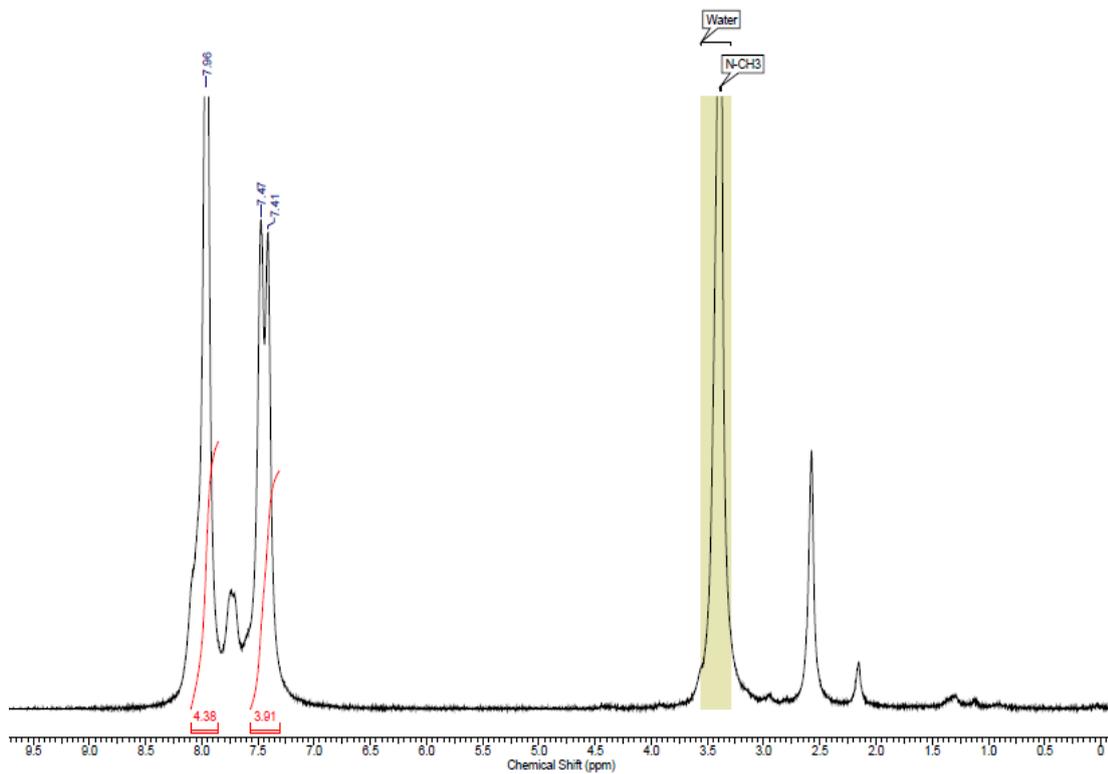
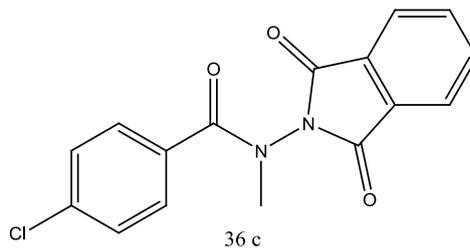
Espectro de massas da *N*-metil-fenilftalazoidrazida 36 b.

File Name	C:\DOCUMENTS AND SETTINGS\CLIENTE-PC\DESKTOP\IV F' BIOIFTA MET 2 - FABIO - ARTHUR_0		
Date Stamp	10/07/2012 11:00:07.988 (GMT-3)	Date	04 Oct 2012 16:29:56
Technique	Infrared	Instrument	VERTEX 70
X Axis	Wavenumber (cm-1)	Y Axis	Transmittance
Points Count	1886	Data Spacing	1.9288
		Spectral Region	IR
		Spectrum Range	399.2520 - 3996.3760

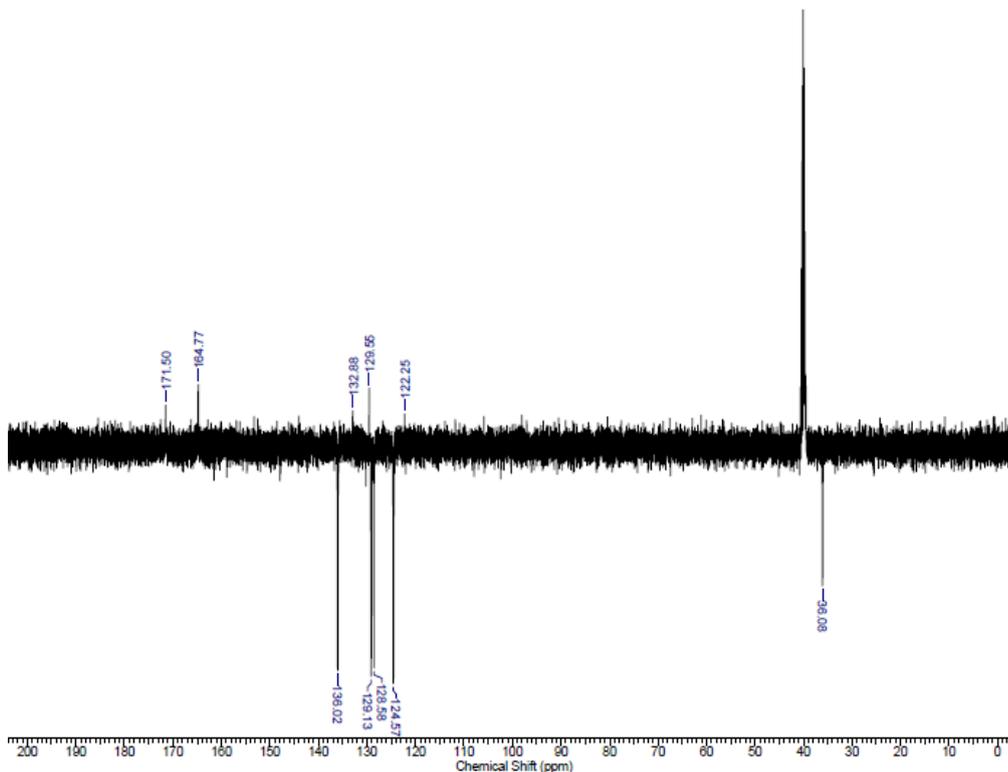


No	cm-1	T	Intensity
1	715.57	0.588	M
2	1255.62	0.508	M
3	1338.55	0.453	S
4	1606.65	0.578	M
5	1670.30	0.361	S
6	1735.88	0.156	VS
7	1789.87	0.816	W
8	1789.88	0.676	M
9	2846.84	0.934	VW
10	2929.78	0.876	W
11	3026.21	0.936	VW

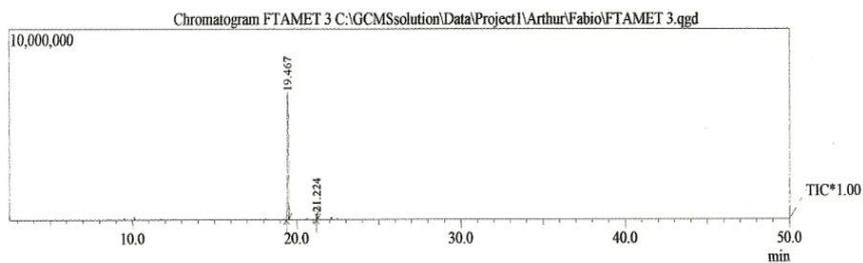
Espectro de Infravermelho da *N*-metil-fenilftalazoilidrazida 36 b (KBr).



Espectro de RMN-¹H (500 MHz) da *N*-metil-fenilftalazoilidrazida 36 c (DMSO-d₆).

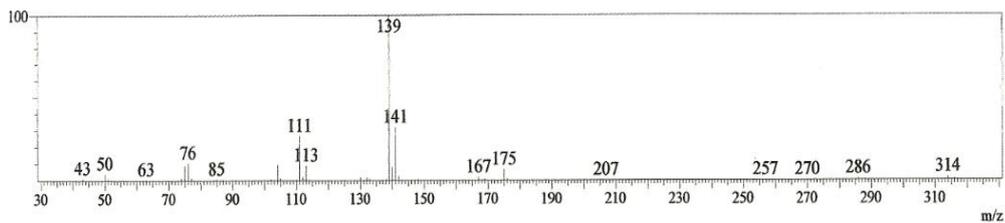


Espectro de RMN-¹³C (500 MHz) da *N*-metil-fenilftalazoidridazida 36 c (DMSO-d₆).



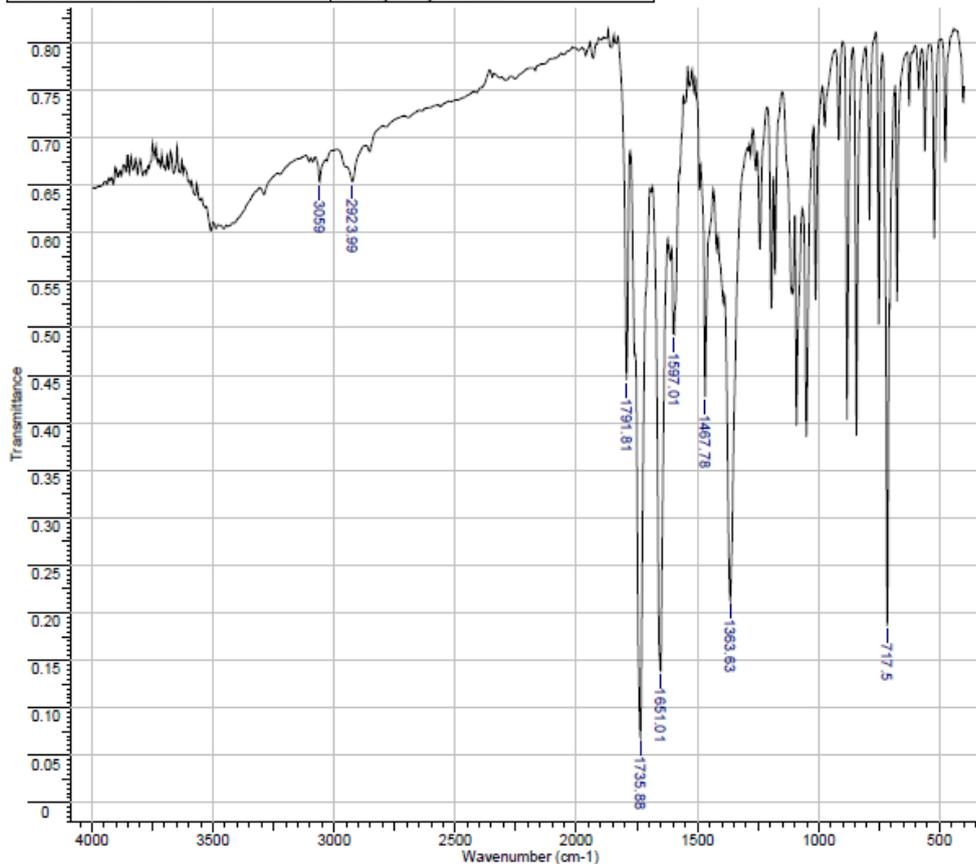
Spectrum

Line#:1 R.Time:19.5(Scan#:2037)



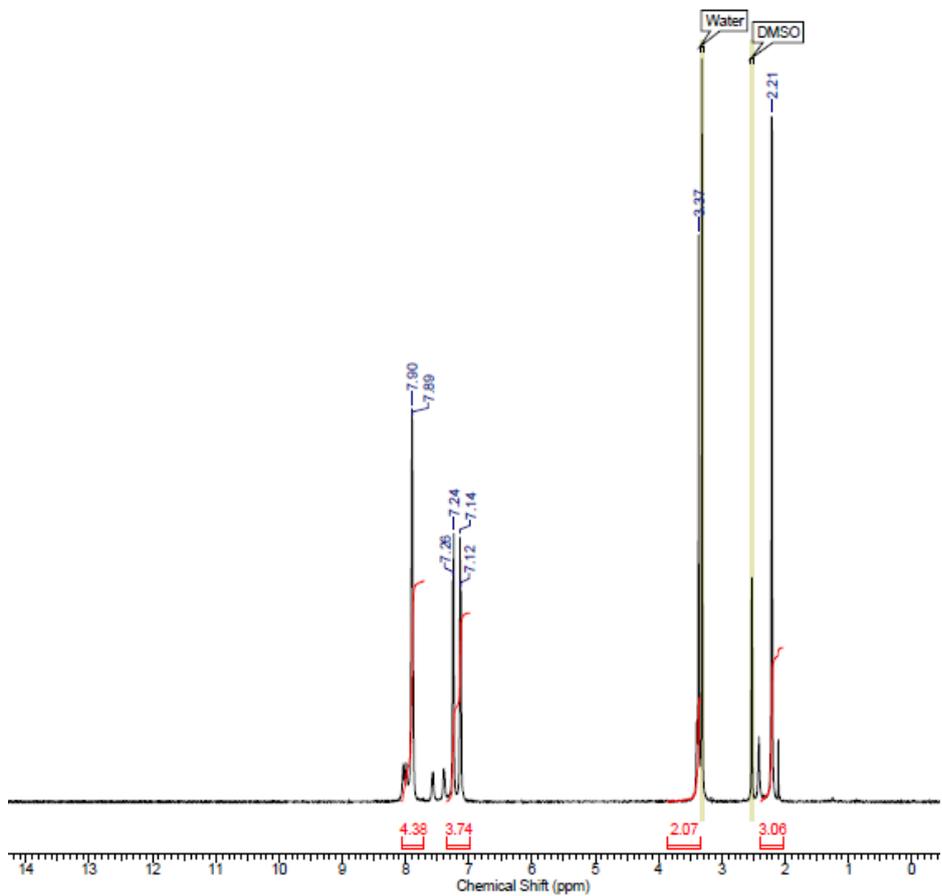
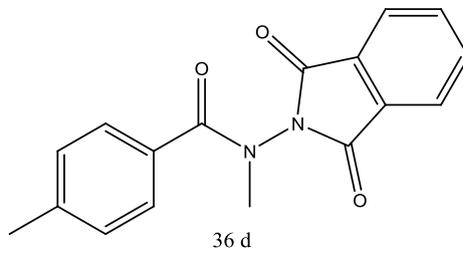
Espectro de massas da *N*-metil-fenilftalazoidrazida 36 c.

Title		FTAMET 3 . FABIO - ARTHUR	
File Name		C:\DOCUMENTS AND SETTINGS\CLIENTE-PC\DESKTOP\IV F' BIO\FTAMET 3 . FABIO - ARTHUR.0	
Date Stamp	24/09/2012 12:40:24.781 (GMT-3)	Date	04 Oct 2012 16:30:12
Technique	Infrared	Instrument	VERTEX 70
X Axis	Wavenumber (cm-1)	Y Axis	Transmittance
Points Count	1866	Data Spacing	1.9288
		Spectral Region IR	
		Spectrum Range 399.2520 - 3996.3760	

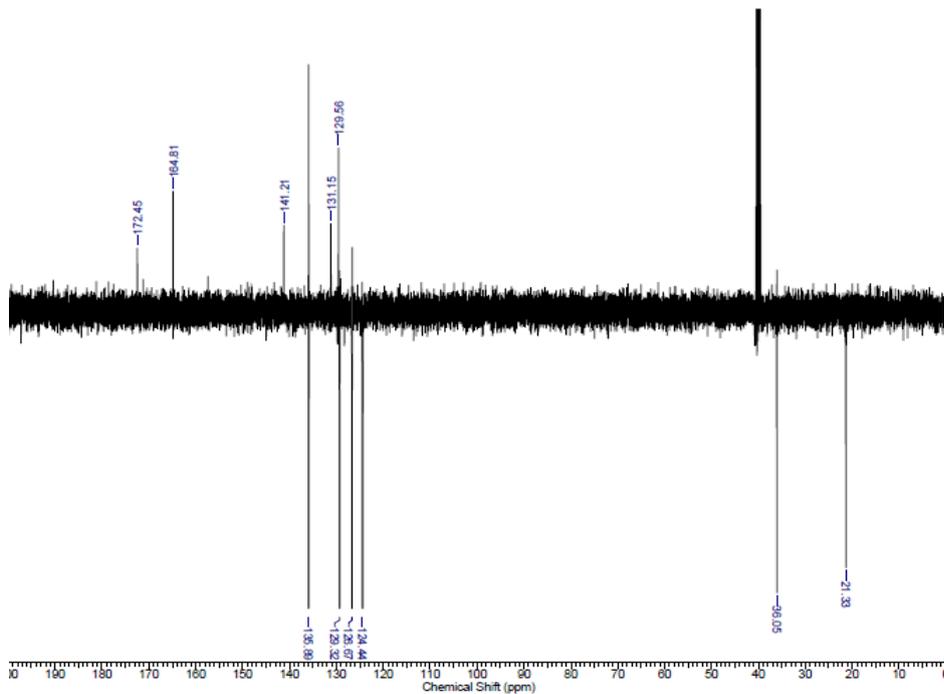


No	cm-1	T	Intensity
1	717.50	0.186	S
2	1363.63	0.213	S
3	1467.78	0.427	M
4	1597.01	0.493	M
5	1651.01	0.140	VS
6	1735.88	0.068	VS
7	1791.81	0.445	M
8	2923.99	0.654	W
9	3059.00	0.653	W

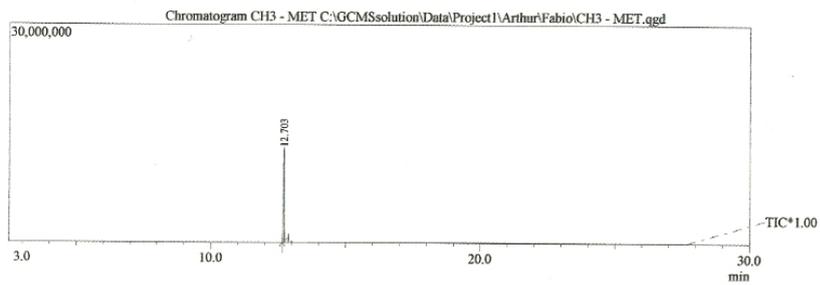
Espectro de Infravermelho da *N*-metil-fenilftalazoidrazida 36 c (KBr).



Espectro de RMN-¹H (500 MHz) da *N*-metil-feniltalazoilidrazida 36 d (DMSO-d₆).

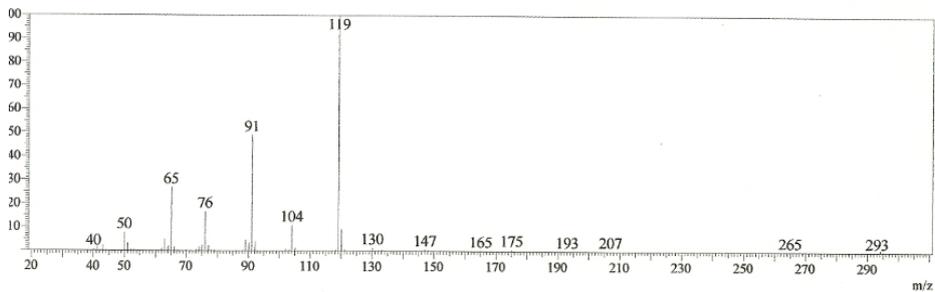


Espectro de RMN- ^{13}C (500 MHz) da *N*-metil-fenilftalazoilidrazida 36 d (DMSO- d_6).



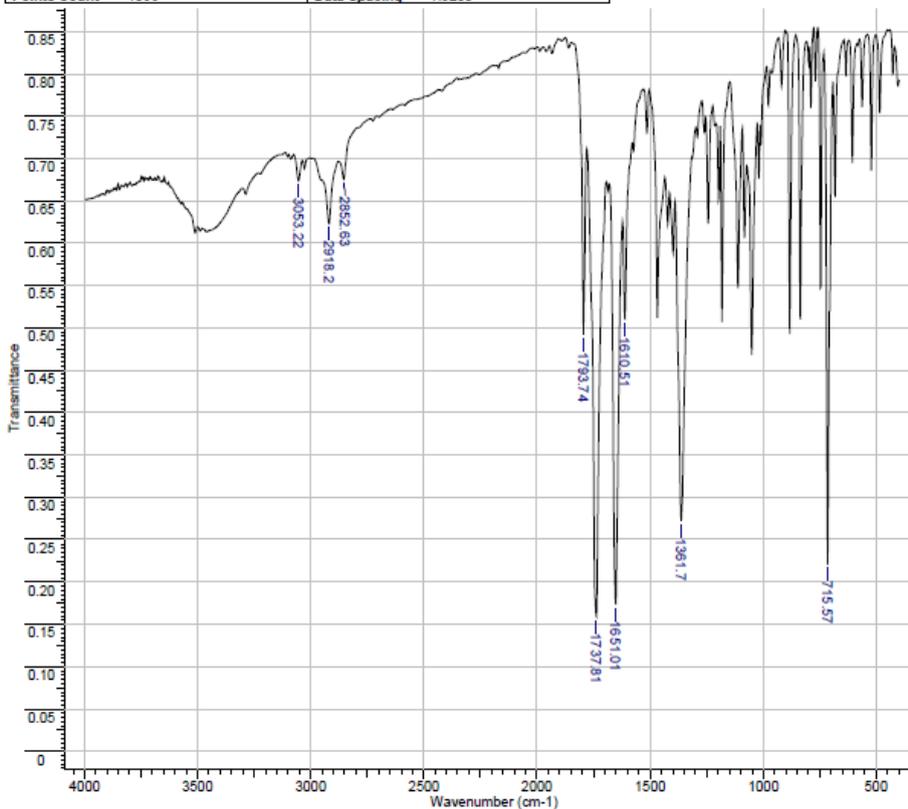
Spectrum

ine#:1 R.Time:12.7(Scan#:1225)



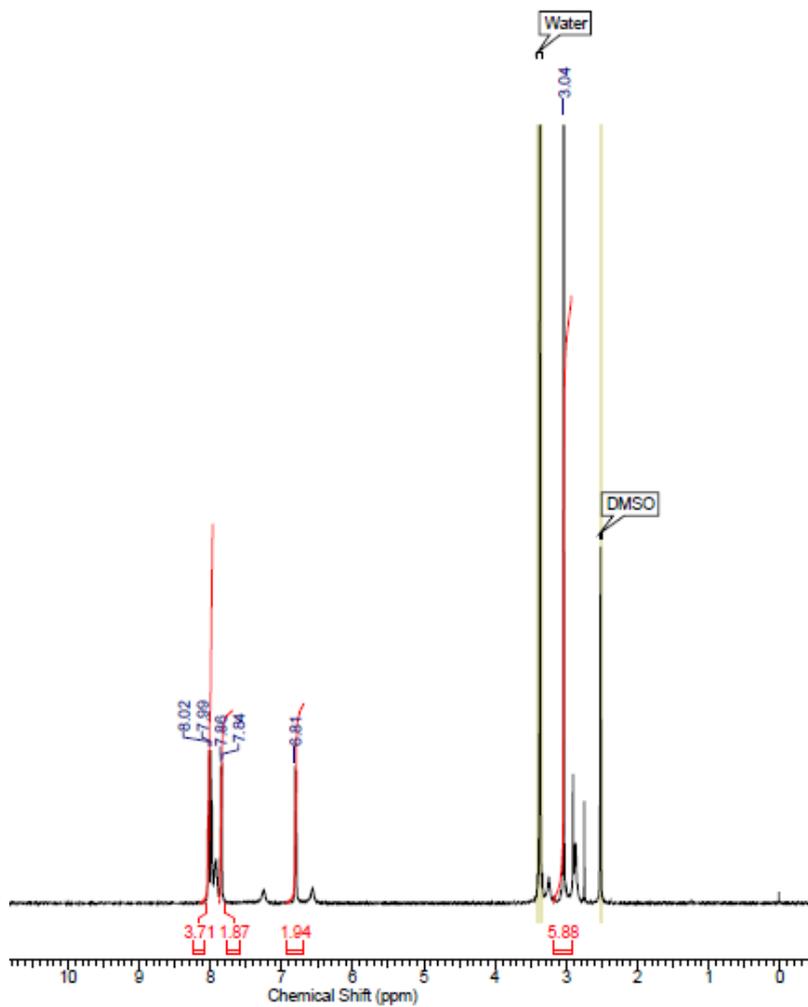
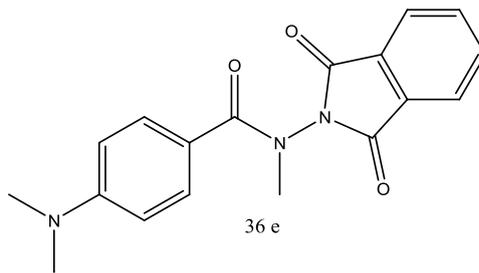
Espectro de massas da *N*-metil-fenilftalazoidrazida 36 d

Title	FTAMET 4 - FABIO - ARTHUR		
File Name	C:\DOCUMENTS AND SETTINGS\CLIENTE-PC\DESKTOPIV F' BIO\FTAMET 4 - FABIO - ARTHUR.D		
Date Stamp	24/09/2012 12:48:15.091 (GMT-3)	Date	04 Oct 2012 16:30:12
Technique	Infrared	Instrument	VERTEX 70
X Axis	Wavenumber (cm-1)	Y Axis	Transmittance
Points Count	1866	Data Spacing	1.9288
		Spectral Region	IR
		Spectrum Range	399.2520 - 3996.3760

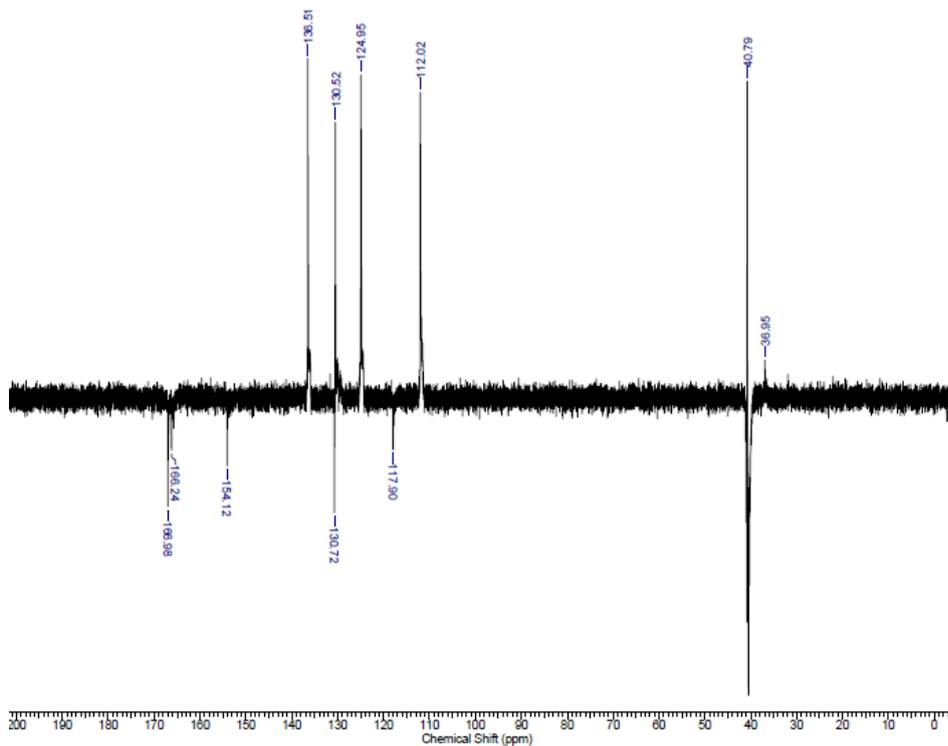


No	cm-1	T	Intensity
1	715.57	0.220	VS
2	1361.70	0.272	S
3	1610.51	0.510	M
4	1651.01	0.173	VS
5	1737.81	0.159	VS
6	1793.74	0.492	M
7	2852.63	0.675	W
8	2918.20	0.623	M
9	3063.22	0.673	W

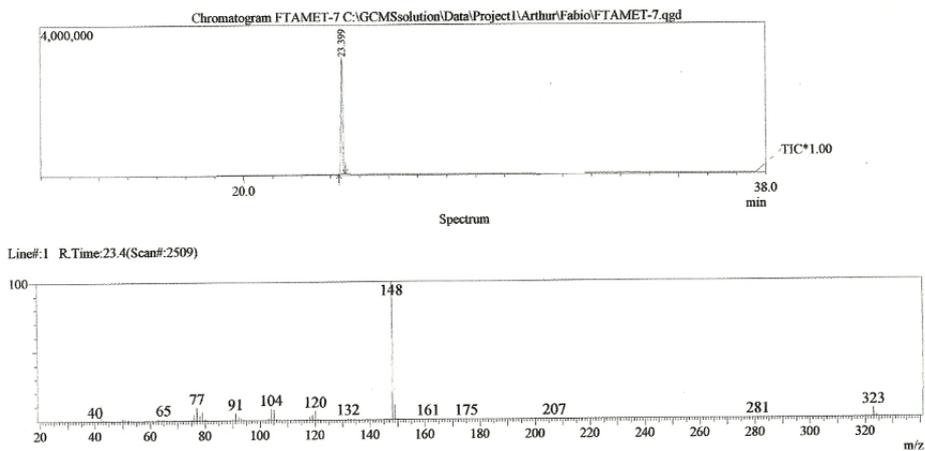
. Espectro de Infravermelho da *N*-metil-fenilftalazoidrazida 36 d (KBr).



Espectro de RMN-¹H (500 MHz) da *N*-metil-fenilftalazoilhidrazida 36 e (DMSO-d₆).

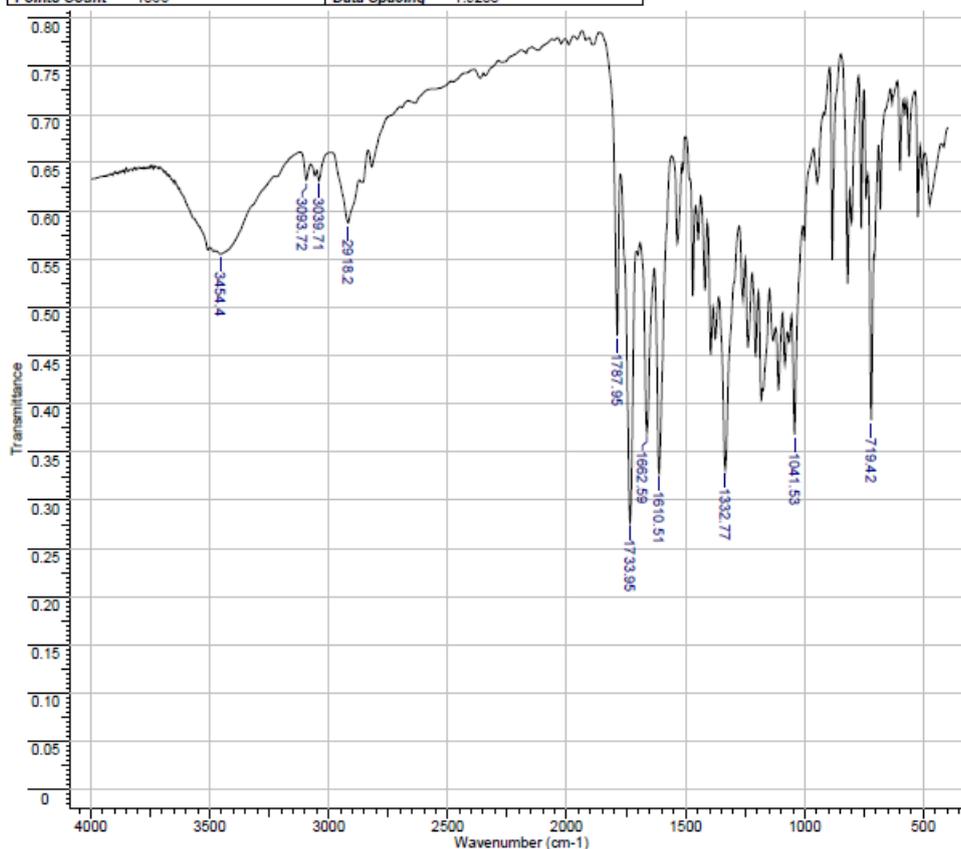


Espectro de RMN-¹³C (500 MHz) da *N*-metil-fenilftalazoidrazida 36 e (DMSO-d₆).



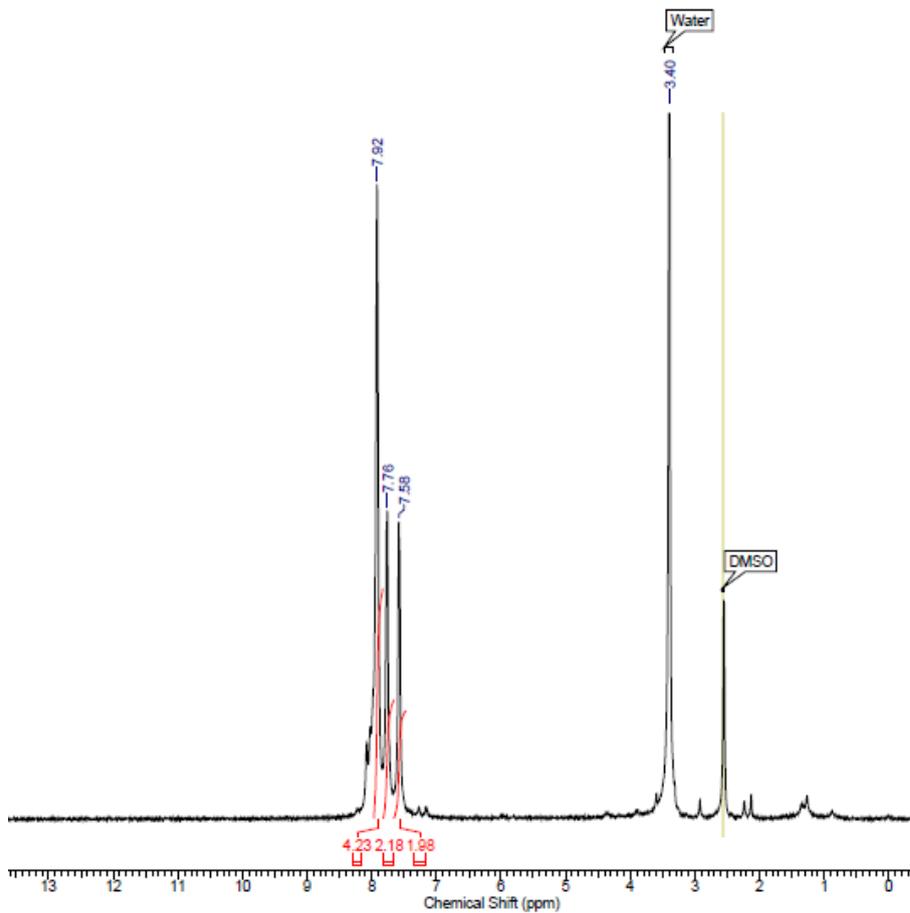
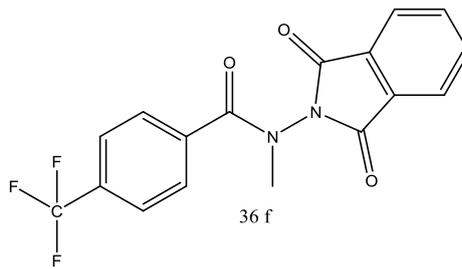
Espectro de massas da *N*-metil-fenilftalazoidrazida 36 e.

Title FTAMET 7 . FABIO - ARTHUR			
File Name C:\DOCUMENTS AND SETTINGS\CLIENTE-PC\DESKTOP\IV F' BIO\FTAMET 7 . FABIO - ARTHUR_0			
Date Stamp	24/09/2012 13:02:23.621 (GMT-3)	Date	04 Oct 2012 16:30:12
Technique	Infrared	Instrument	VERTEX 70
X Axis	Wavenumber (cm-1)	Y Axis	Transmittance
Points Count	1866	Data Spacing	1.9288
		Spectral Region IR	
		Spectrum Range 3999.2520 - 3996.3760	

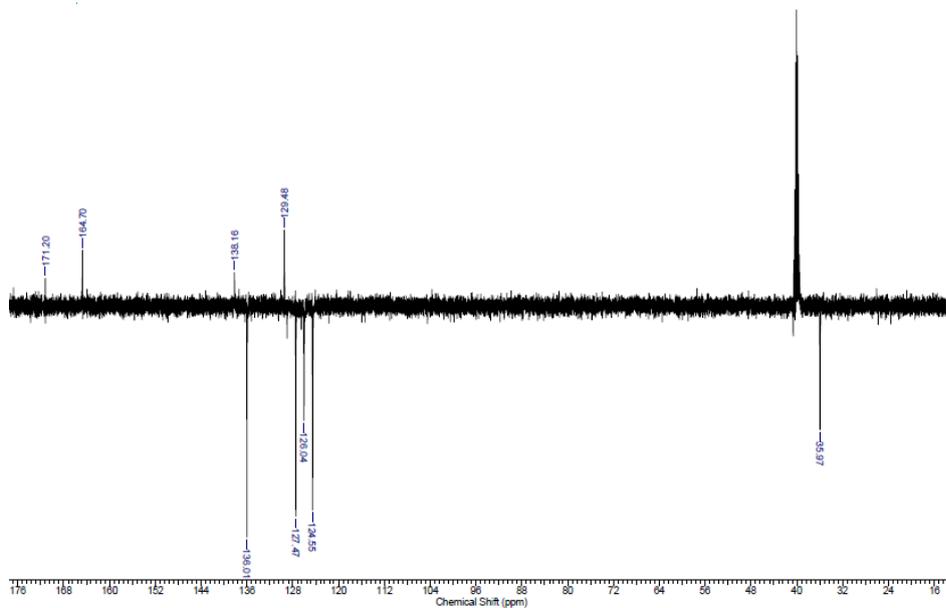


No	cm-1	T	Intensity
1	719.42	0.363	S
2	1041.53	0.368	S
3	1332.77	0.332	S
4	1610.51	0.328	VS
5	1662.59	0.369	S
6	1733.95	0.277	VS
7	1787.95	0.471	S
8	2918.20	0.588	M
9	3039.71	0.632	M
10	3093.72	0.632	M
11	3454.40	0.555	M

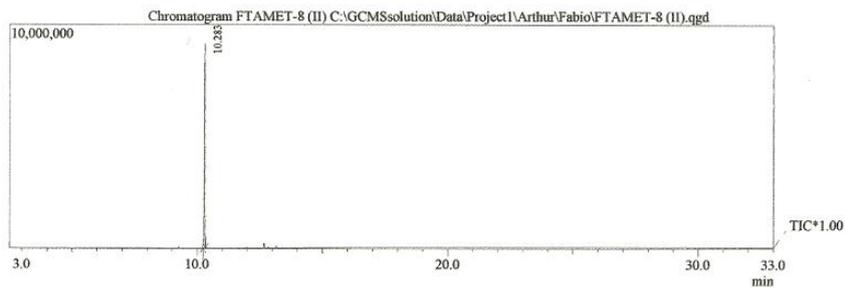
Espectro de Infravermelho da *N*-metil-fenilftalazoilidrazida 36 e (KBr).



Espectro de RMN-¹H (500 MHz) da *N*-metil-feniltalazolidinazida 36 f (DMSO-d₆).

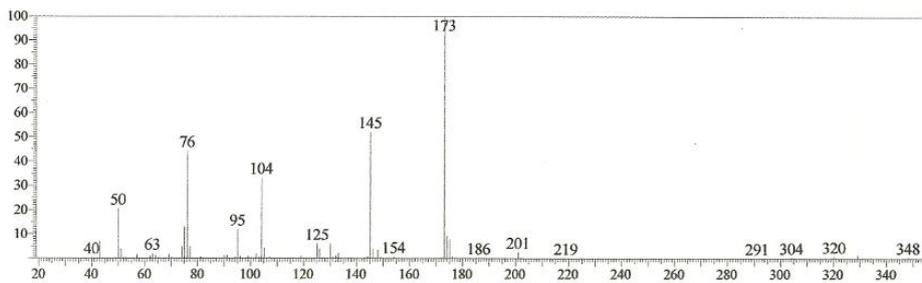


Espectro de RMN- ^{13}C (500 MHz) da *N*-metil-fenilftalazolidrazida 36 f (DMSO- d_6).



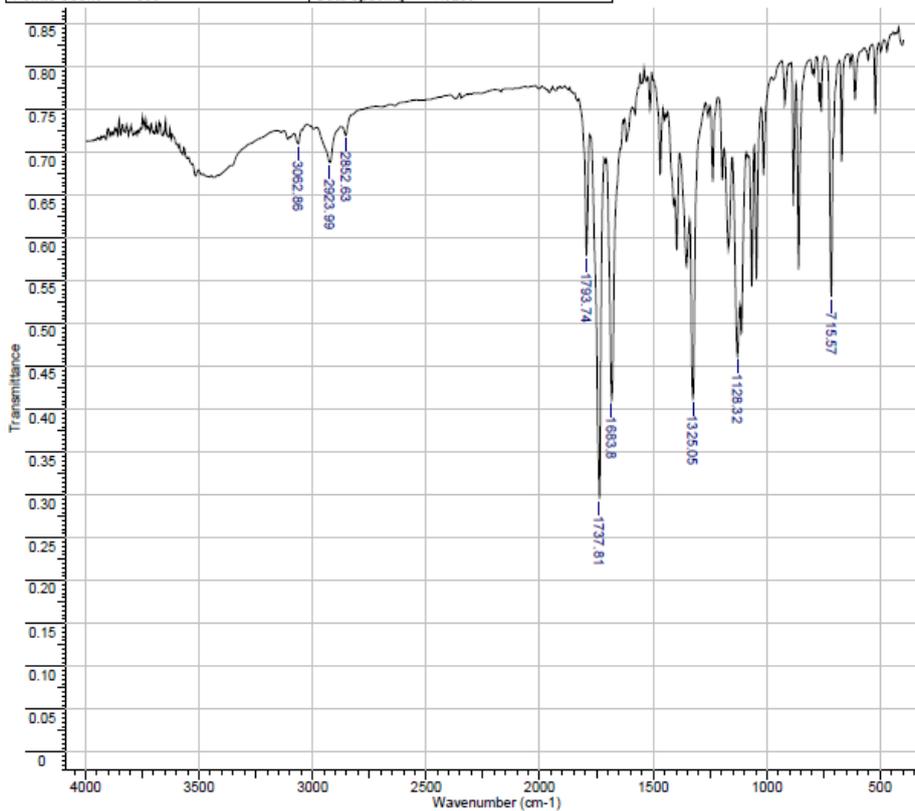
Spectrum

Line#:1 R.Time:10.3(Scan#:935)



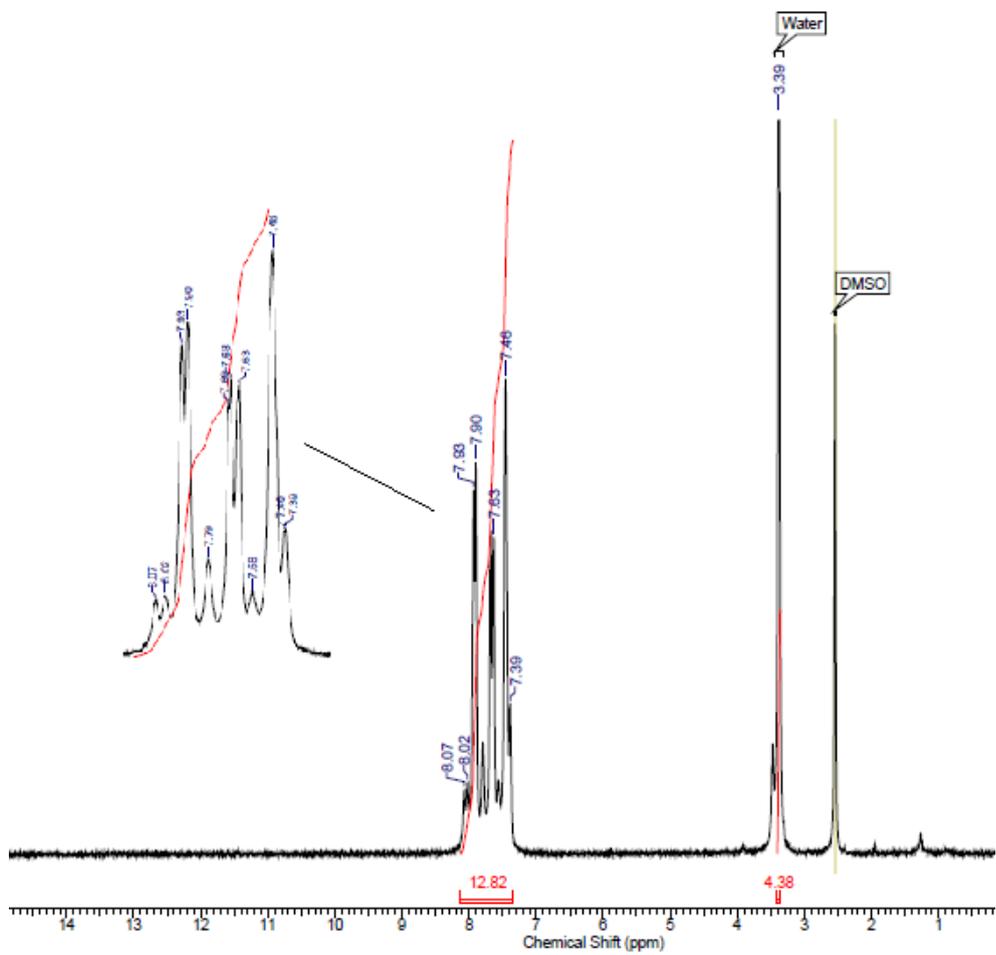
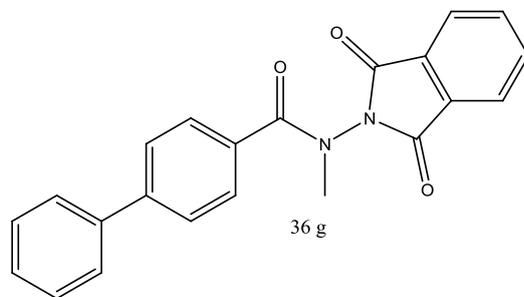
Espectro de massas da *N*-metil-fenilftalazolidrazida 36 f.

Title		FTAMET 8 . FABIO - ARTHUR			
File Name				C:\DOCUMENTS AND SETTINGS\CLIENTE-PC\DESKTOPIV F' BIO\FTAMET 8 . FABIO - ARTHUR_0	
Date Stamp		24/09/2012 13:07:17.946 (GMT-3)		Date	04 Oct 2012 16:30:12
Technique		Instrument		Spectral Region	
Infrared		VERTEX 70		IR	
X Axis		Y Axis		Spectrum Range	
Wavenumber (cm-1)		Transmittance		399.2520 - 3996.3760	
Points Count		Data Spacing			
1866		1.9288			

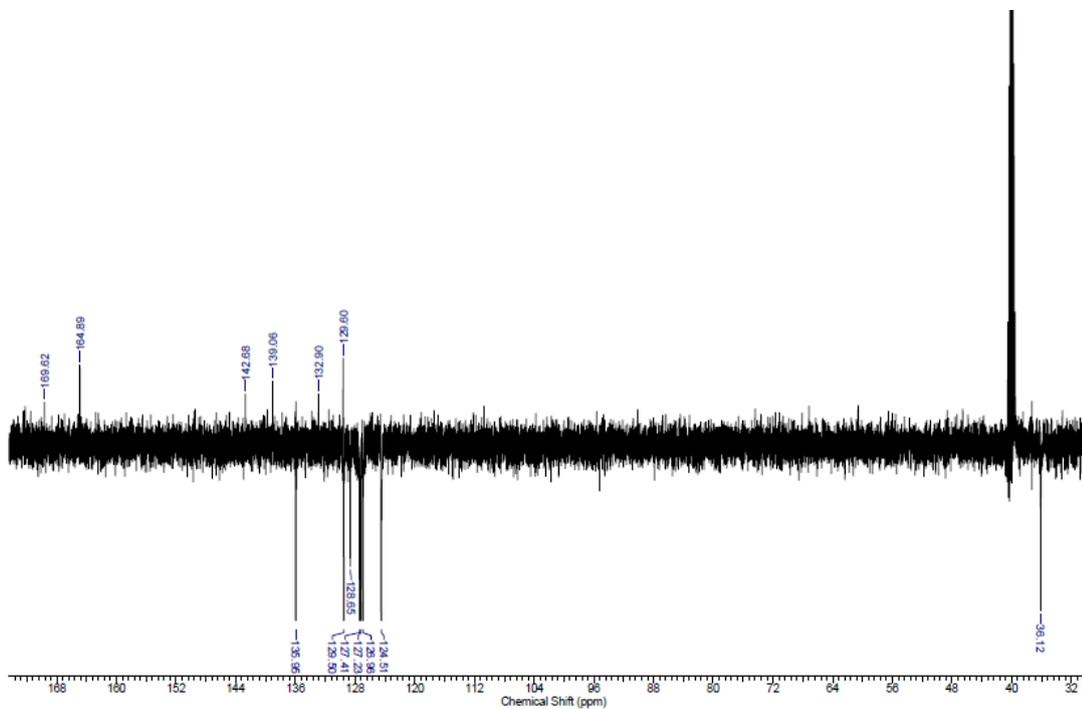


No	cm-1	T	Intensity
1	715.57	0.532	M
2	1128.32	0.462	S
3	1325.05	0.413	S
4	1683.80	0.411	S
5	1737.81	0.296	VS
6	1793.74	0.579	M
7	2852.63	0.720	W
8	2923.99	0.688	W
9	3062.86	0.710	W

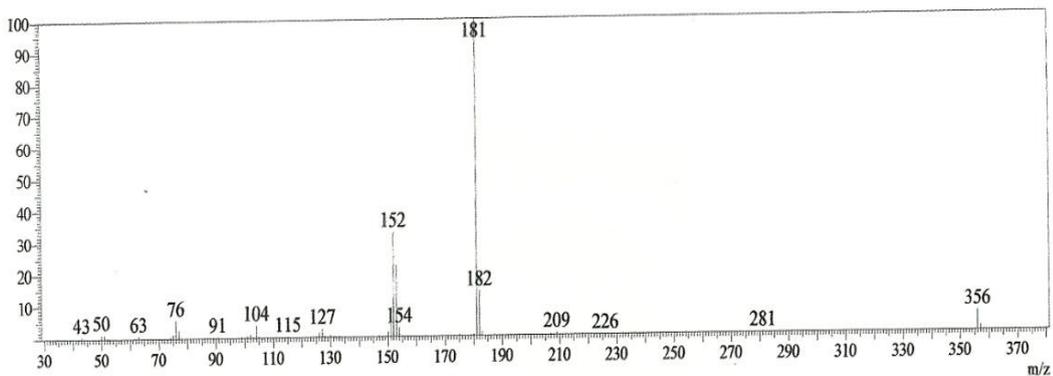
Espectro de Infravermelho da *N*-metil-fenilftalazoilidrazida 36 f (KBr).



Espectro de RMN-¹H (500 MHz) da *N*-metil-fenilftalazoilidrazida 36 g (DMSO-d₆).

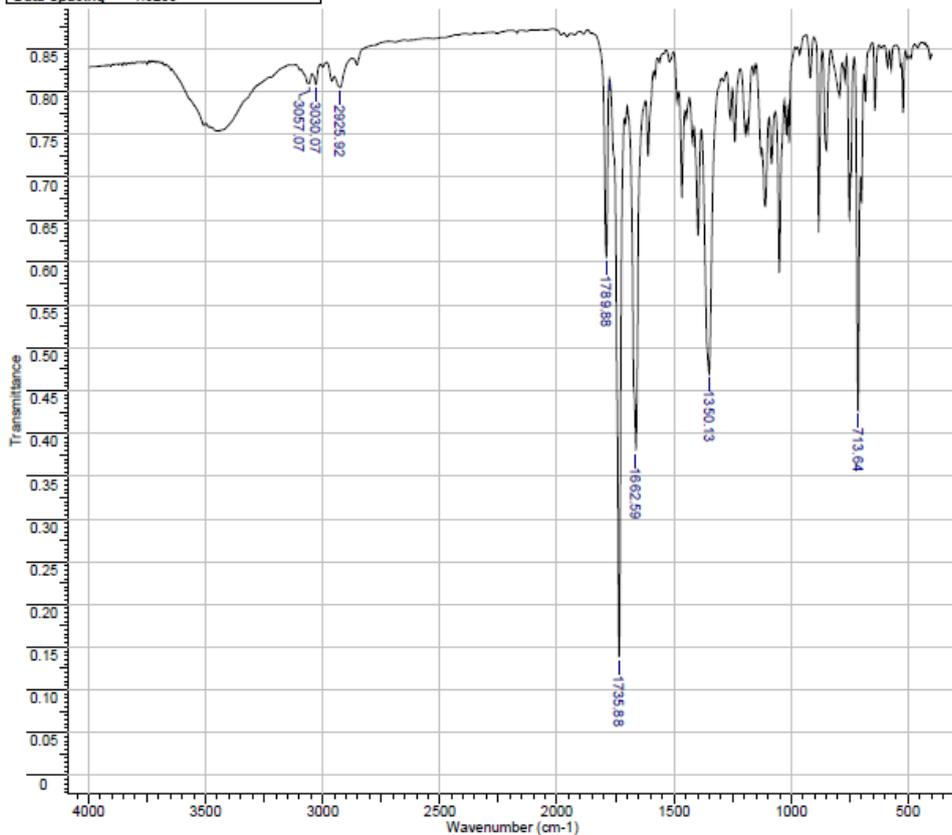


Espectro de RMN-¹³C (500 MHz) da *N*-metil-fenilftalazoidrazida 36 g (DMSO-d₆).



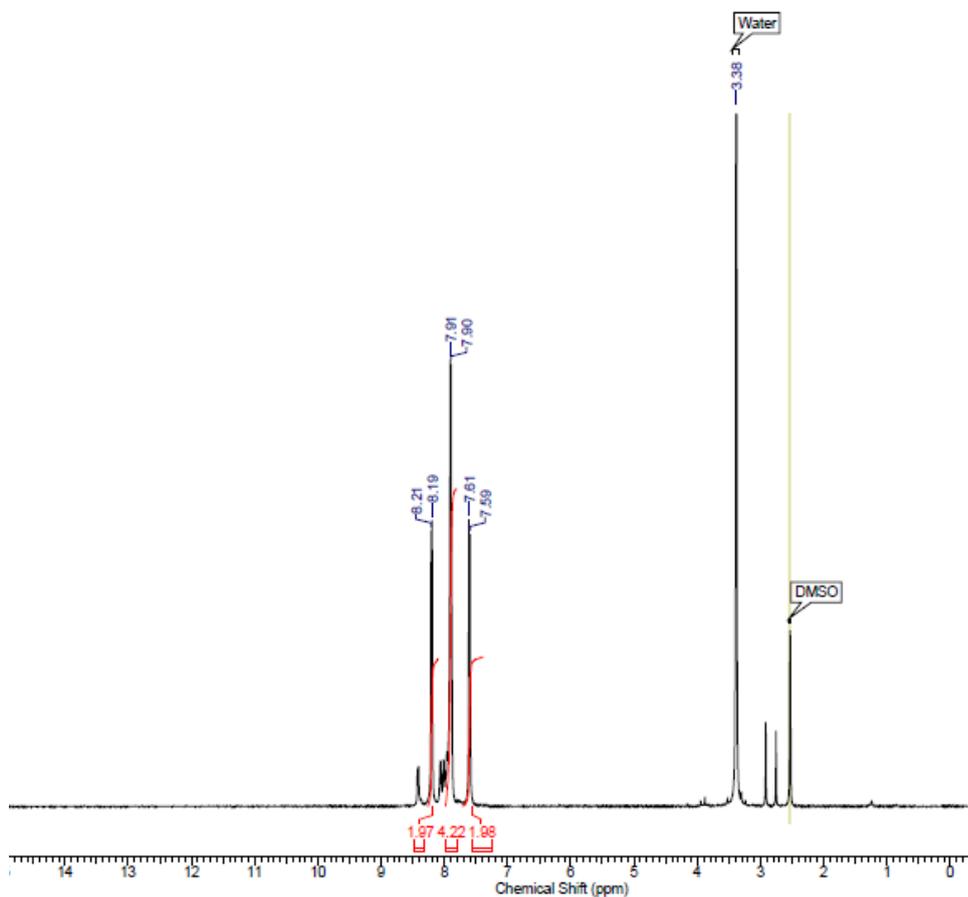
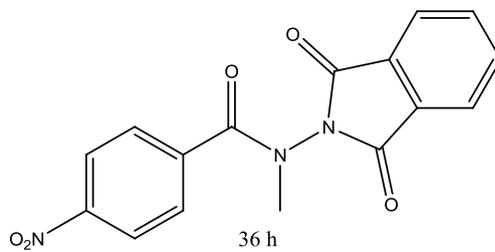
Espectro de massas da *N*-metil-fenilftalazoidrazida 36 g.

Title	FTAMET 9 . FABIO - ARTHUR		
File Name	C:\DOCUMENTS AND SETTINGS\CLIENTE-PC\DESKTOPIV F\ BIO\FTAMET 9 . FABIO - ARTHUR.0		
Date Stamp	24/09/2012 13:13:53.880 (GMT-3)	Technique	Infrared
Instrument	VERTEX 70	Spectral Region	IR
Y Axis	Transmittance	Spectrum Range	399.2520 - 3996.3760
Data Spacing	1.9288	X Axis	Wavenumber (cm-1)
		Points Count	1866

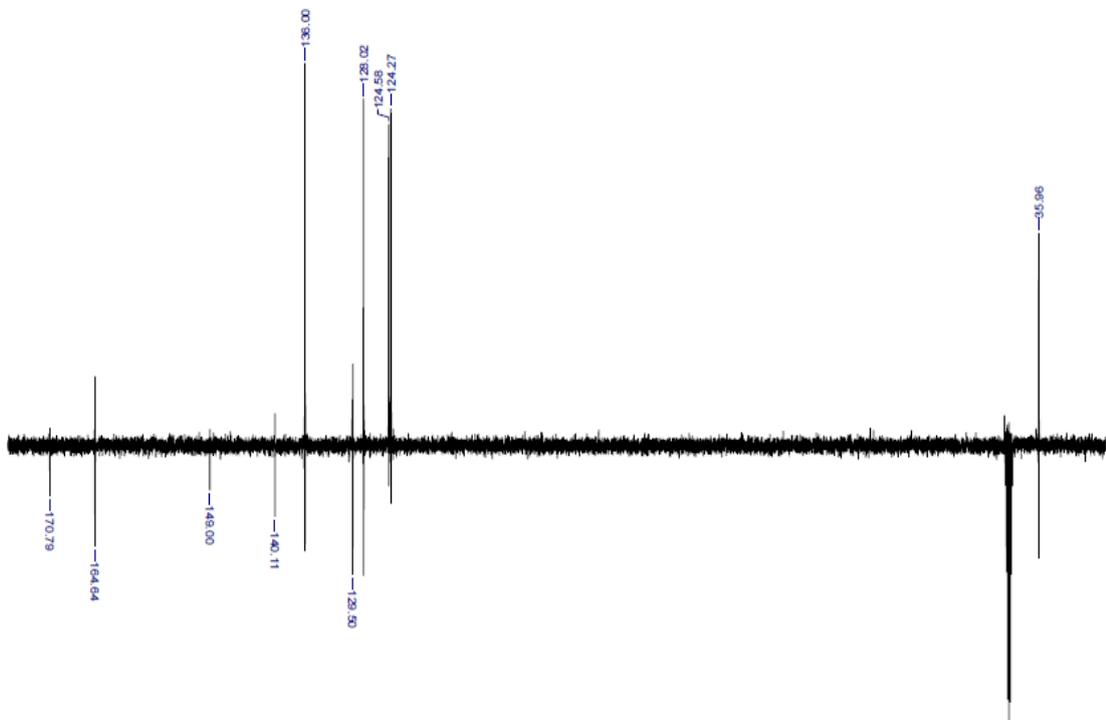


No	cm-1	T	Intensity
1	713.64	0.427	S
2	1350.13	0.470	M
3	1662.59	0.380	S
4	1735.88	0.138	VS
5	1776.38	0.815	VW
6	1789.88	0.605	M
7	2925.92	0.805	VW
8	3030.07	0.808	VW
9	3057.07	0.809	VW

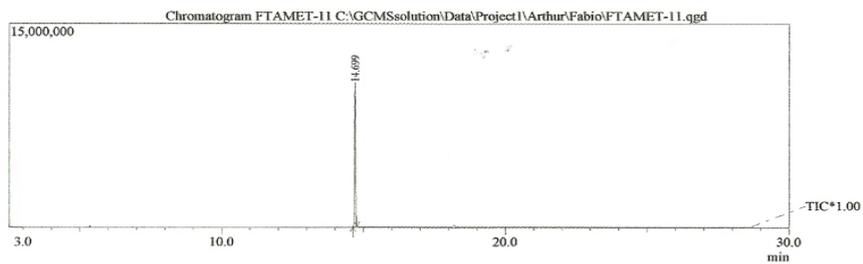
Espectro de Infravermelho da *N*-metil-fenilftalazoidrazida 36 g (KBr).



Espectro de RMN-¹H (500 MHz) da *N*-metil-fenilftalazoilidrazida 36 h (DMSO-d₆).

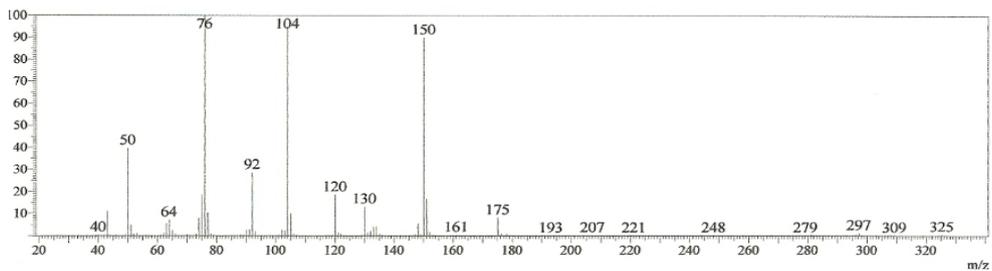


Espectro de RMN-¹³C (500 MHz) da *N*-metil-fenilftalazolidrazida 36 h (DMSO-d₆).



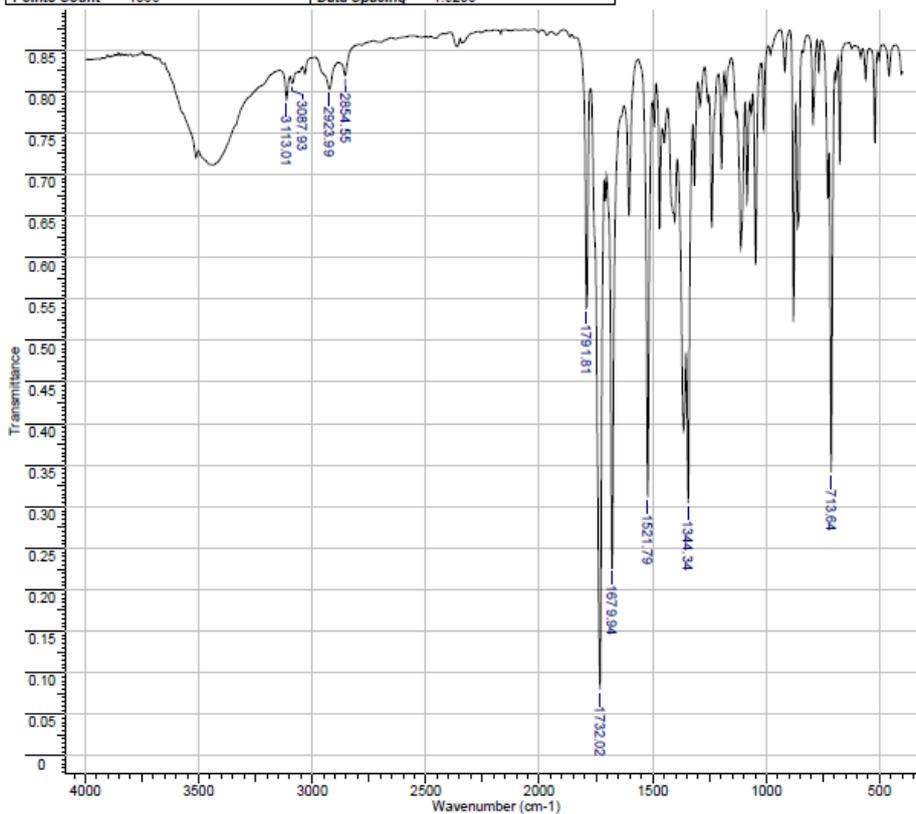
Spectrum

Line#:1 R.Time:14.7(Scan#:1465)



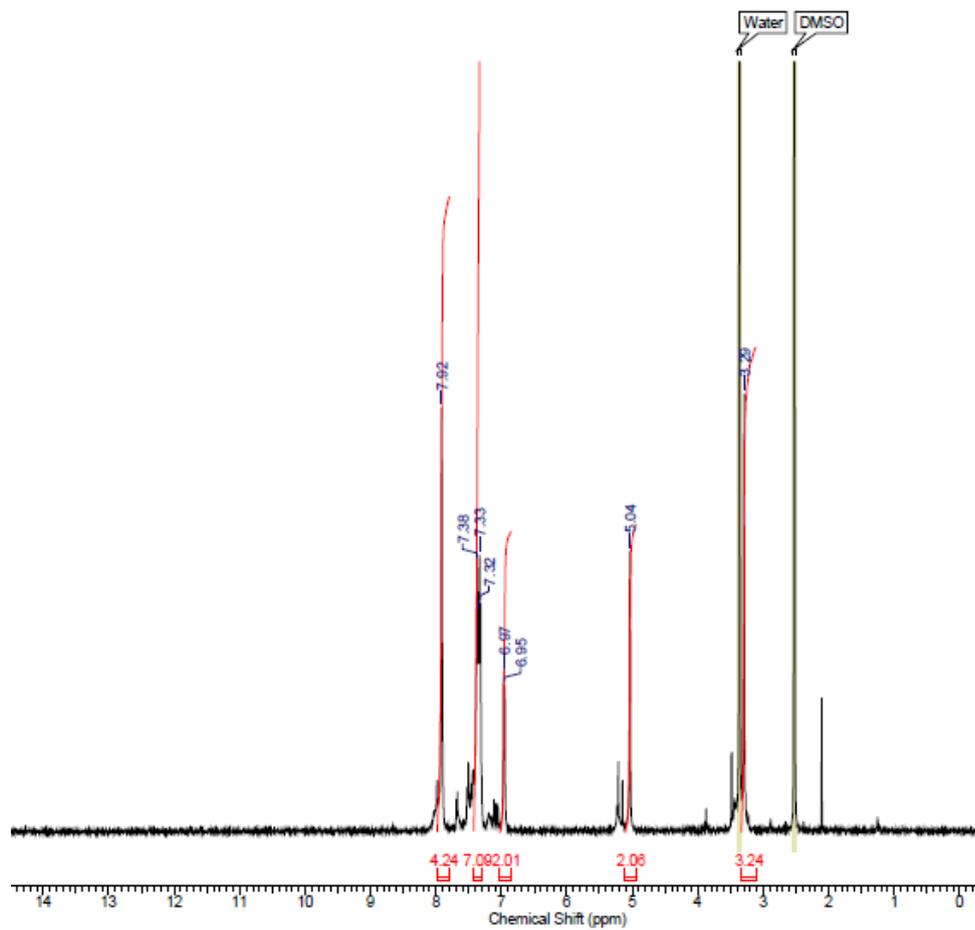
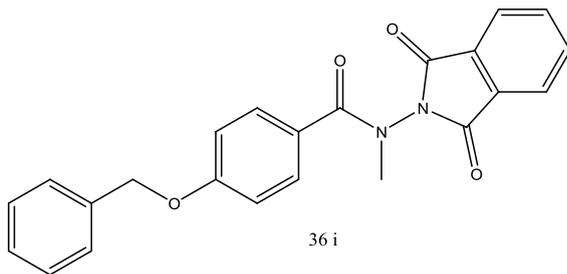
Espectro de massas da *N*-metil-fenilftalazolidrazida 36 h.

Title FTAMET 11 . FABIO - ARTHUR			
File Name C:\DOCUMENTS AND SETTINGS\CLIENTE-PC\DESKTOP\IV F' BIO\FTAMET 11 . FABIO - ARTHUR.0			
Date Stamp	24/09/2012 13:27:31.134 (GMT-3)	Date	04 Oct 2012 16:30:12
Technique	Infrared	Instrument	VERTEX 70
X Axis	Wavenumber (cm-1)	Y Axis	Transmittance
Points Count	1866	Data Spacing	1.9288
		Spectral Region IR	
		Spectrum Range 399.2520 - 3996.3760	

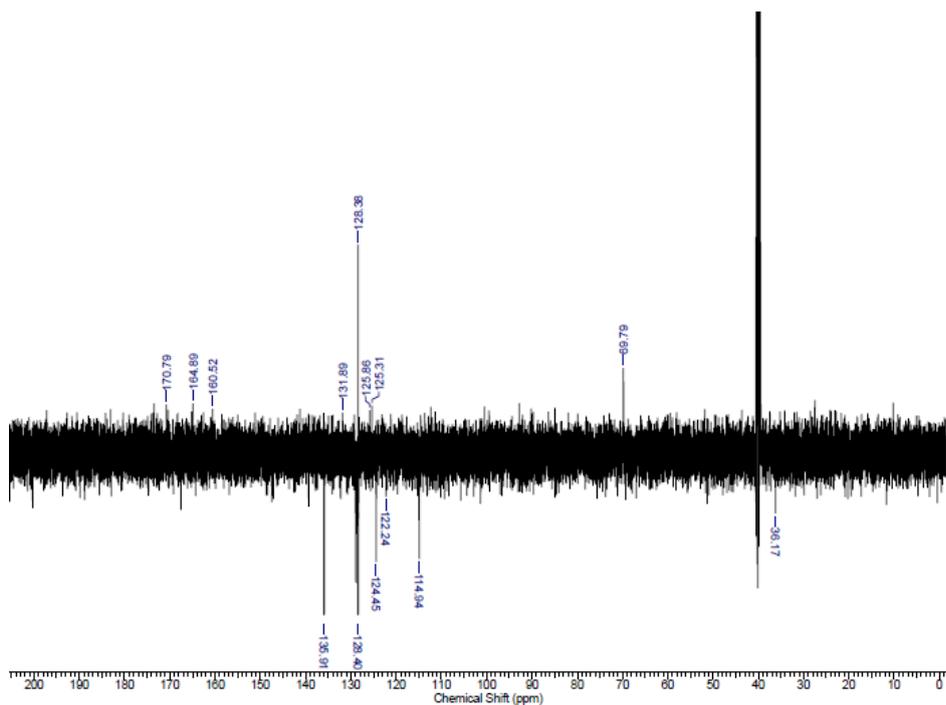


No	cm-1	T	Intensity
1	713.64	0.341	S
2	1344.34	0.304	S
3	1521.79	0.312	S
4	1679.94	0.226	S
5	1732.02	0.079	VS
6	1791.81	0.539	M
7	2854.55	0.819	VW
8	2923.99	0.803	VW
9	3087.93	0.810	VW
10	3113.01	0.790	W

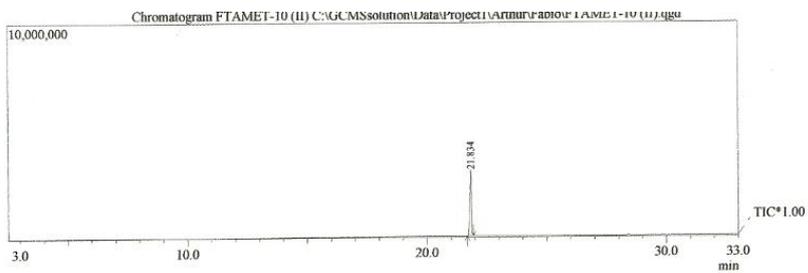
Espectro de Infravermelho da *N*-metil-fenilftalazolidrazida 36 h (KBr).



Espectro de RMN-¹H (500 MHz) da *N*-metil-fenilftalazoilidrazida 36 i (DMSO-d₆).

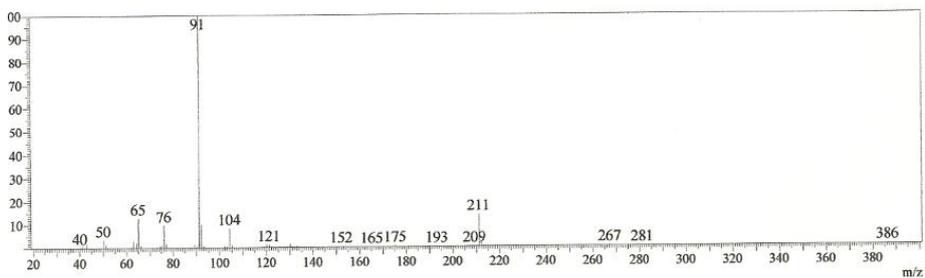


Espectro de RMN-¹³C (500 MHz) da *N*-metil-fenilftalazoilidrazida 36 i (DMSO-d₆).



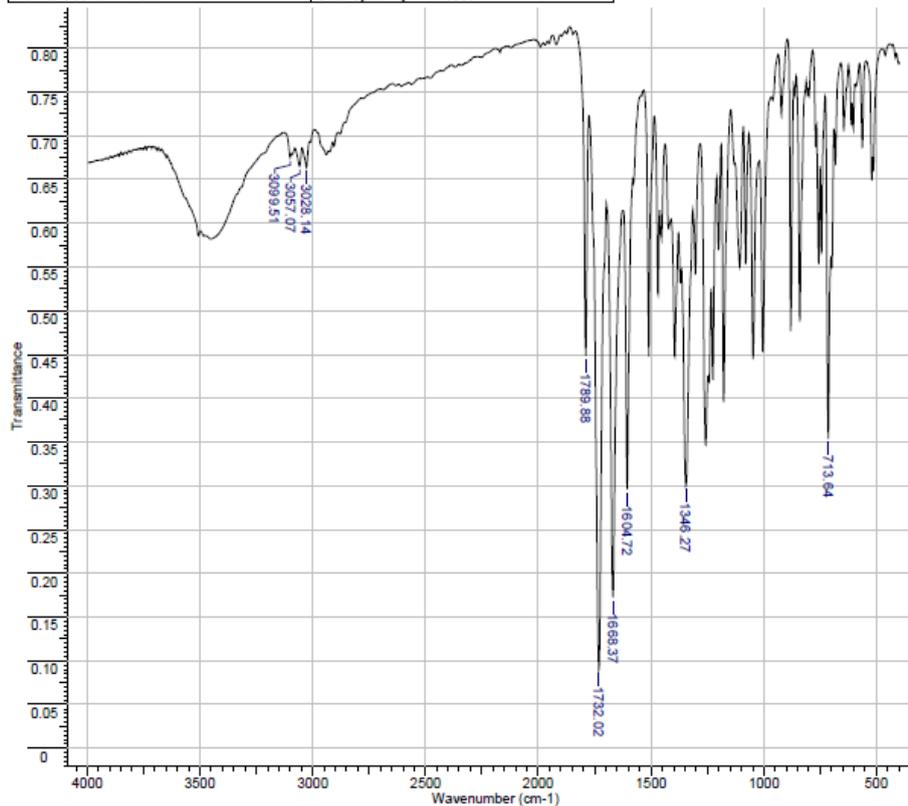
Spectrum

ineff:1 R.Time:21.8(Scan#:2321)



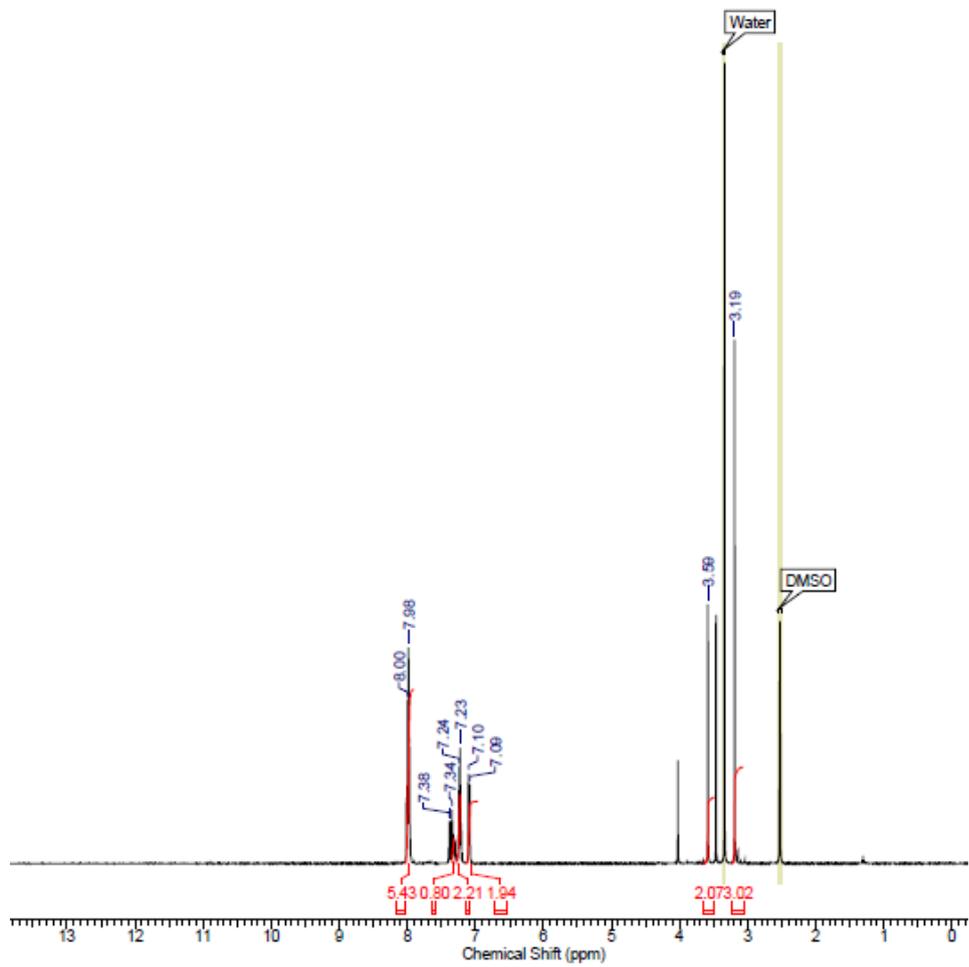
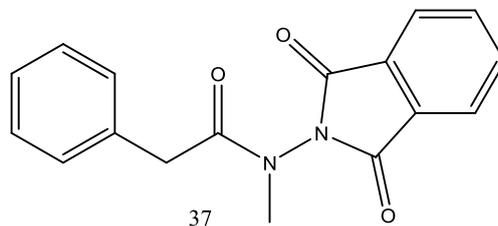
Espectro de massas da *N*-metil-fenilftalazoilidrazida 36 i.

Title	FTAMET 10 . FABIO - ARTHUR		
File Name	C:\DOCUMENTS AND SETTINGS\CLIENTE-PC\DESKTOP\IV F. BIO\FTAMET 10 . FABIO - ARTHUR.0		
Date Stamp	24/09/2012 13:19:46.726 (GMT-3)	Date	04 Oct 2012 16:30:12
Technique	Infrared	Instrument	VERTEX 70
X Axis	Wavenumber (cm-1)	Y Axis	Transmittance
Points Count	1886	Data Spacing	1.9288
			Spectral Region IR
			Spectrum Range 399.2520 - 3996.3760

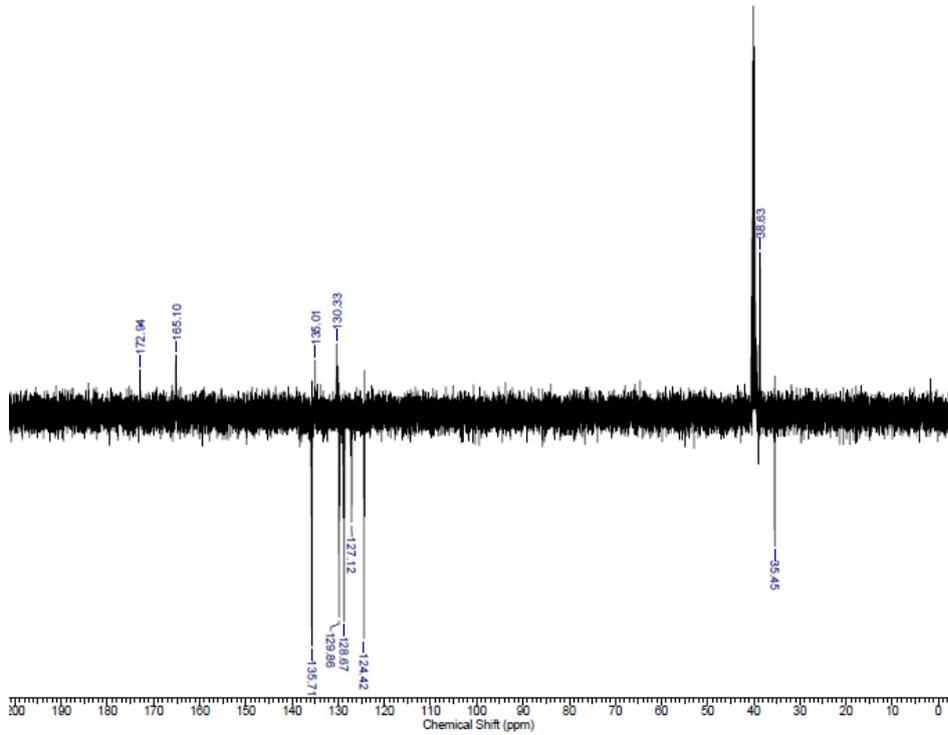


No	cm-1	T	Intensity
1	713.64	0.354	S
2	1346.27	0.300	S
3	1604.72	0.296	S
4	1688.37	0.172	S
5	1732.02	0.090	VS
6	1789.88	0.448	M
7	3028.14	0.663	W
8	3057.07	0.665	W
9	3099.51	0.675	W

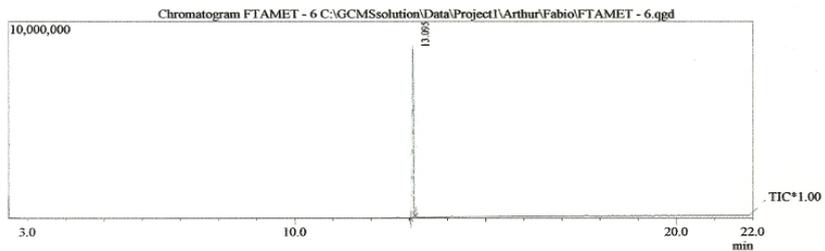
Espectro de Infravermelho da *N*-metil-fenilftalazoilidrazida 36 i (KBr).



Espectro de RMN-¹H (500 MHz) da *N*-metil-fenilftalazolidrazida 37 (DMSO-d₆).

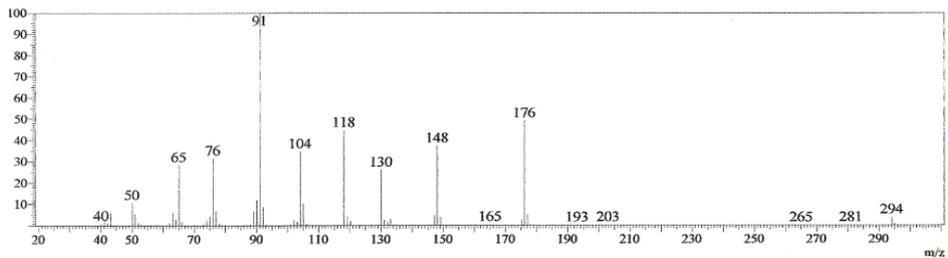


Espectro de RMN-¹³C (500 MHz) da *N*-metil-fenilftalazoidrazida 37 (DMSO-d₆).



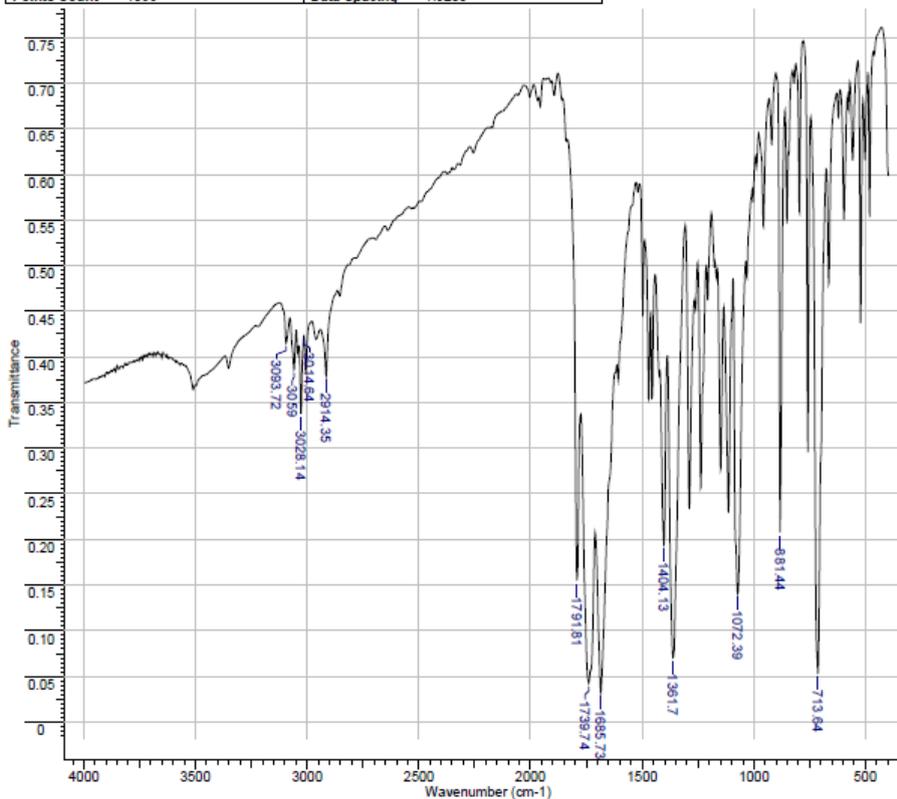
Spectrum

Line#:1 R.Time:13.1(Scan#:1272)



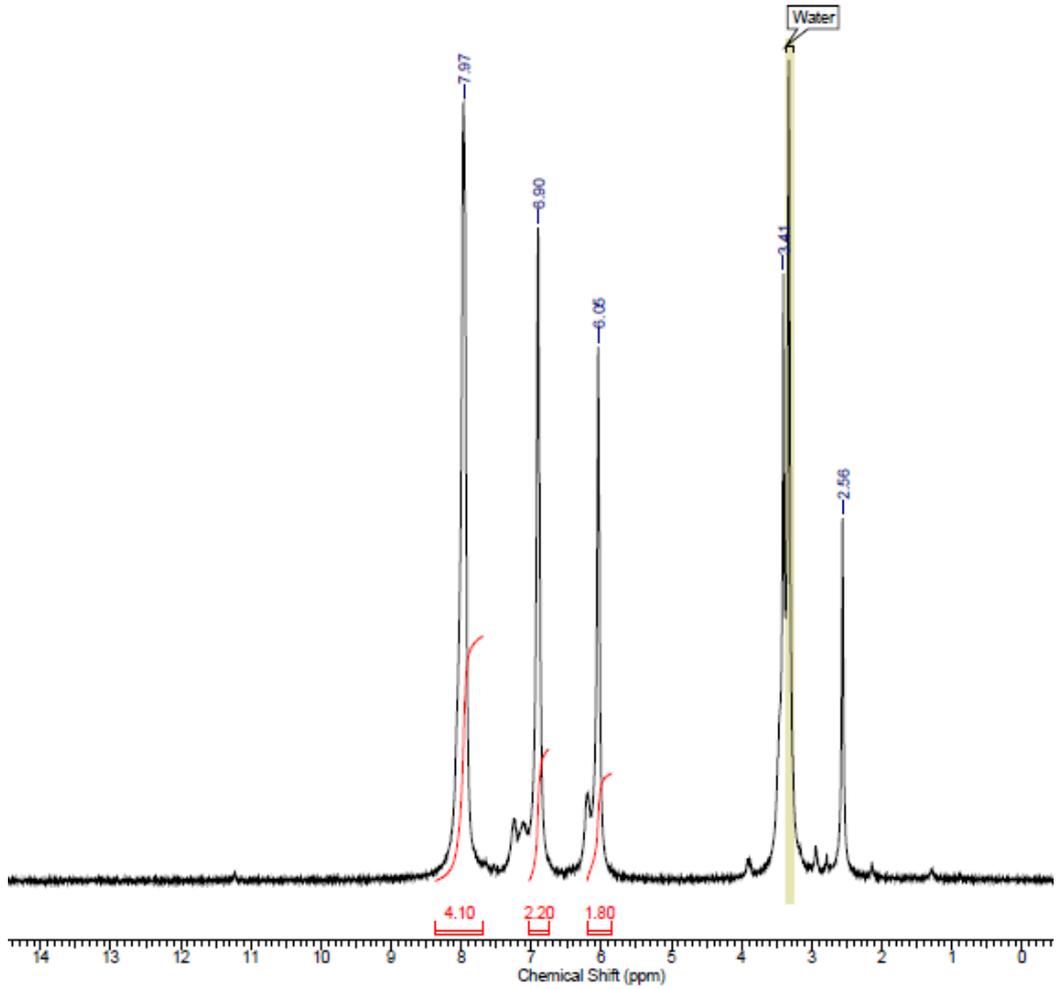
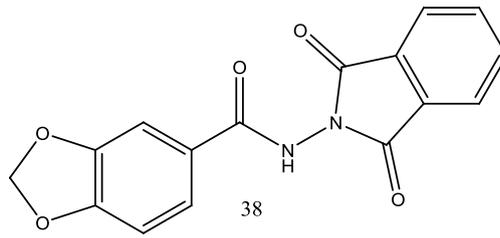
Espectro de massas da *N*-metil-fenilftalazoidrazida 37.

Title	FTAMET 6 _FABIO - ARTHUR		
File Name	C:\DOCUMENTS AND SETTINGS\CLIENTE-PC\DESKTOP\IV F' BIO\FTAMET 6 _FABIO - ARTHUR 0		
Date Stamp	24/09/2012 12:55:19.242 (GMT-3)	Date	04 Oct 2012 16:30:12
Technique	Infrared	Instrument	VERTEX 70
X Axis	Wavenumber (cm-1)	Y Axis	Transmittance
Points Count	1866	Spectrum Range	399.2520 - 3996.3760
		Data Spacing	1.9288

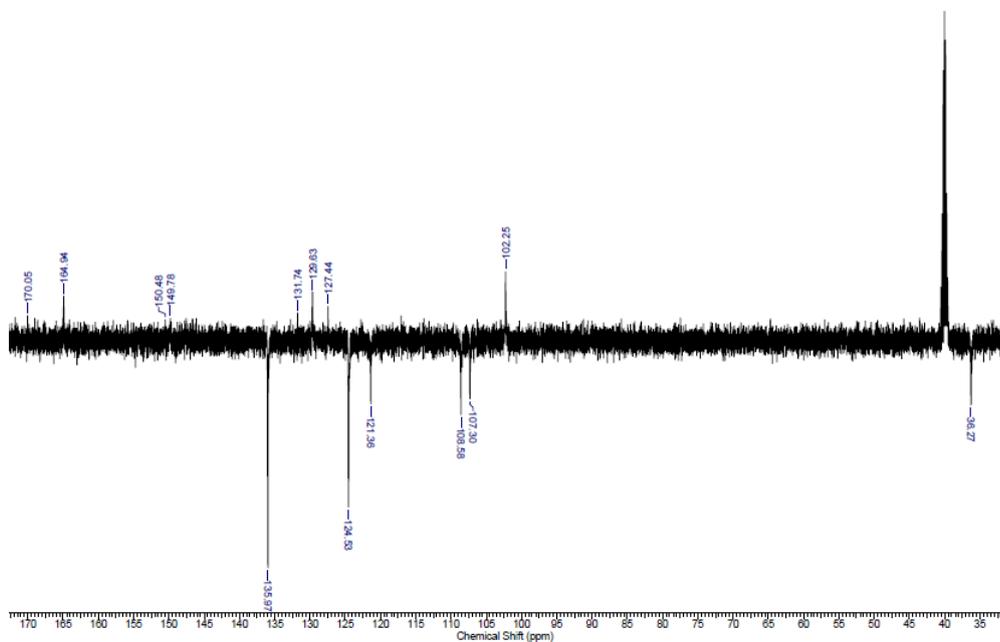


No	cm-1	T	Intensity
1	713.64	0.053	VS
2	881.44	0.207	S
3	1072.39	0.140	S
4	1361.70	0.070	VS
5	1404.13	0.194	S
6	1685.73	0.031	VS
7	1739.74	0.042	VS
8	1791.81	0.155	S
9	2914.35	0.379	M
10	3014.64	0.422	M
11	3028.14	0.338	M
12	3059.00	0.386	M
13	3093.72	0.415	M

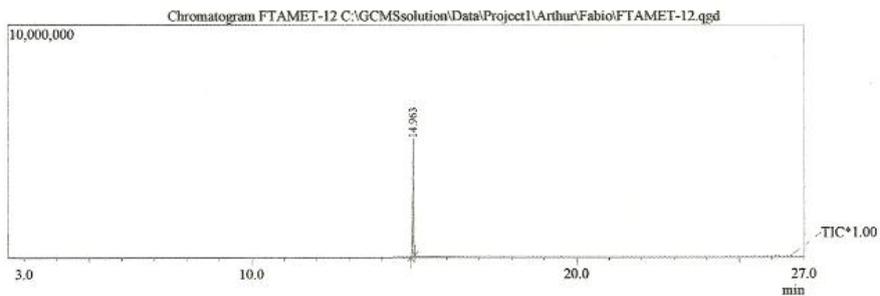
Espectro de Infravermelho da *N*-metil-fenilftalazoilidrazida 37 (KBr).



Espectro de RMN- ^1H (500 MHz) da *N*-metil-fenilftalazoilidrazida 38 (DMSO-d_6).

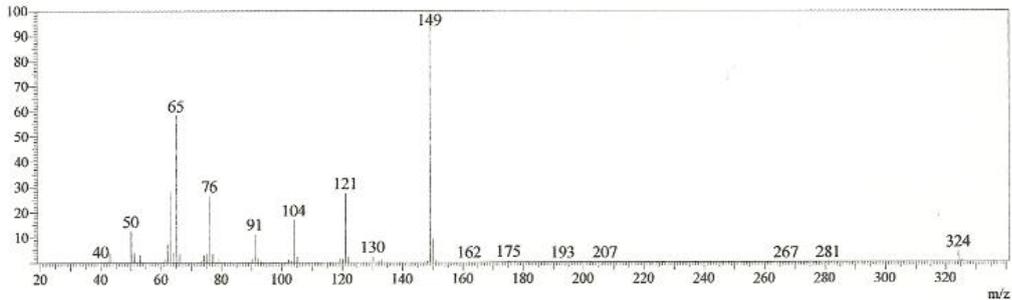


Espectro de RMN-¹³C (500 MHz) da *N*-metil-fenilftalazoilidrazida 38 (DMSO-d₆).



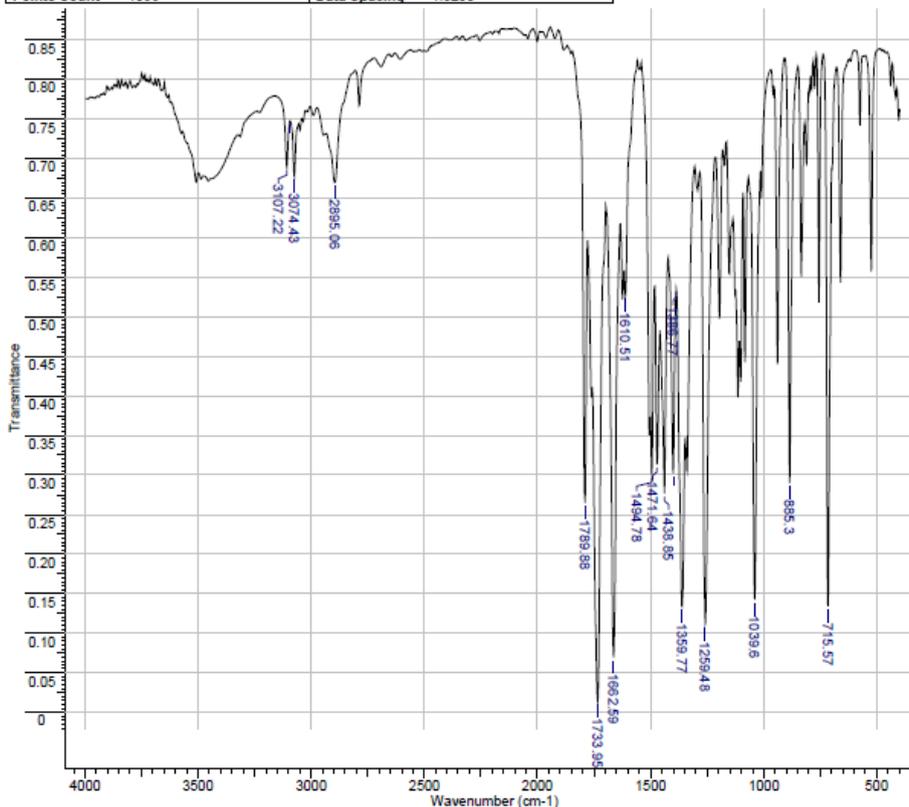
Spectrum

Line#:1 R.Time:15.0(Scan#:1497)



Espectro de massas da *N*-metil-fenilftalazoilidrazida 38.

Title FTAMET 12 . FABIO - ARTHUR			
File Name C:\DOCUMENTS AND SETTINGS\CLIENTE-PC\DESKTOPIV F' BIOIFAMET 12 . FABIO - ARTHUR.0			
Date Stamp	24/09/2012 13:34:37.200 (GMT-3)	Date	04 Oct 2012 16:30:12
Technique	Infrared	Instrument	VERTEX 70
X Axis	Wavenumber (cm-1)	Y Axis	Transmittance
Points Count	1866	Data Spacing	1.9288
Spectral Region IR			
Spectrum Range 399.2520 - 3996.3760			



No	cm-1	T	Intensity
1	715.57	0.134	S
2	885.30	0.289	S
3	1039.60	0.143	S
4	1259.48	0.112	S
5	1359.77	0.134	S
6	1386.77	0.535	M
7	1400.27	0.302	S
8	1438.85	0.277	S
9	1471.64	0.314	S
10	1494.78	0.300	S
11	1610.51	0.527	M
12	1662.59	0.070	VS
13	1733.95	0.014	VS
14	1789.88	0.264	S
15	2895.06	0.670	W
16	3074.43	0.677	W
17	3091.79	0.748	W
18	3107.22	0.689	W

Espectro de Infravermelho da *N*-metil-fenilftalazoilidrazida 38 (KBr).