

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO

INSTITUTO DE CIÊNCIAS EXATAS

CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA ORGÂNICA

SÍNTESE E AVALIAÇÃO FARMACOLÓGICA

DE NOVOS DERIVADOS

ISOCROMANILACETILIDRAZÔNICOS

A PARTIR DO SAFROL

Margareth Rôse de Lima Santos

Rio de Janeiro, 1995

Tese apresentada como um dos requisitos para a obtenção do grau de Mestre em Ciências, junto ao Curso de Pós-Graduação em Química Orgânica (CPGQO) da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ).

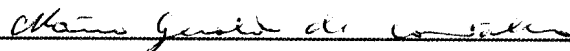
**SÍNTESE E AVALIAÇÃO FARMACOLÓGICA DE
NOVOS DERIVADOS
ISOCROMANILACETILIDRAZÔNICOS
A PARTIR DO SAFROL**

Margareth Rôse de Lima Santos

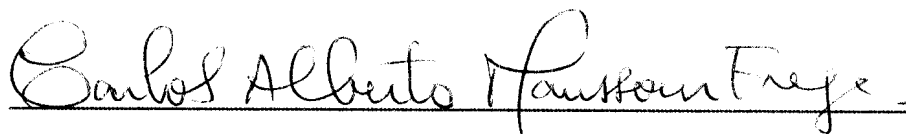
Aprovada em : 05/05/1995



Dr. Eliezer J. Barreiro



Dr. Mário Geraldo de Carvalho



Dr. Carlos Alberto Manssour Fraga

FICHA CATALOGRÁFICA

SANTOS, Margareth Rôse de Lima

Síntese e Avaliação Farmacológica de Novos Derivados
Isocromanilacetilidrazônicos a partir do Safrol
UFRRJ, CPGQO, 1995.

TESE : Mestre em Ciências (Química Orgânica)

1. Derivados Isocromanilacetilidrazônicos
2. Analgésicos
3. Atividade Farmacológica
4. Espectroscopia de RMN ^1H e ^{13}C
5. Teses

I - UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO

II - TÍTULO

*Este trabalho foi realizado no
Laboratório de Síntese de
Substâncias Bioativas (LASSBio)
da Faculdade de Farmácia da
UFRJ, sob a orientação dos
Professores Dr. Eliezer J. Barreiro
e Dr. Raimundo Braz-Filho .*

*Não tema o obstáculo,
ele obriga a juntar as energias esparsa
e cria o gosto pelo esforço.*

*Ao meu esposo Fábio,
Aos meus filhos Lisiane e Caio,
E aos meus pais Dirceu, Miro e Lila...
Estrelas que continuam iluminando a minha existência.*

AGRADECIMENTOS

Aos professores *Dr. Eliezer J. Barreiro* e *Dr. Raimundo Braz-Filho* pela oportunidade, orientação, estímulo e valiosas discussões teóricas que tornaram possível a realização deste trabalho.

À *Lídia* pela importante colaboração na execução da parte experimental.

Aos colegas do CPGQO- UFRRJ, *Frances, Sandra, Mareia Cristina, Izabel, Geize, Marcos, Lidia, Suzana, Solange, Alaíde, Mônica, Daniela*, pela convivência, amizade e estímulo.

Aos colegas do LASSBio-UFRJ, *Rita, Magali, Carlos Rangei, Adriane, Manssour, Luiza, Zezé, Abadia, Gabriela, Michele, Adriana, Estela Alcione, Carla, André, Luciana, Lis Helena, Nelilma, Emerson, Aline, Izabella, Michele* pela alegre convivência diária.

Ao professor *Dr. Mario Geraldo* (UFRRJ) pela amizade, sugestões valiosas, incentivo e realização dos espectros de *nOe* e bidimensionais de RMN¹H e ¹³C.

À professora *Ana Luiza*, ao *Sergio* e à *Kely* pela realização dos ensaios farmacológicos.

Aos funcionários, *Osmar, Pimentel, Áurea Tatagiba, Eli, Conceição, Carlão, Renato, Paulinho, Maurício* (UFRRJ), *Maria, Solange, Ivone, Janete, Renato* e *D. Otília* (in memorian) FF-UFRJ, pela convivência amigável, presteza e boa vontade.

Aos professores *Joaquim, Gizela, Antonio Freiras* e *Ana Luiza* (LASSBio) pela leitura crítica e valiosas sugestões que conduziram para uma melhor apresentação deste trabalho.

À *Adriane Regina* e *Carlos Alberto*, pela valiosa amizade e auxílio na idealização deste trabalho.

À *Marcia Cristina*, pela amizade eterna.

Ao *CNPq* e a *FAPERJ* pelo auxílio financeiro.

À *DEUS*, por ter tanto a agradecer.

RESUMO

RESUMO

No âmbito de uma linha de pesquisa que visa o planejamento de novas substâncias bioativas como prováveis inibidores de enzimas da cascata do ácido araquidônico, descrevemos neste trabalho a síntese, a análise espectroscópica e a avaliação farmacológica dos novos derivados isocromanilacetilidrazônicos. Estes compostos são obtidos em *ca.* de 85% de rendimento global, a partir do safrol, produto natural abundante isolado do óleo de Sassafráz

A análise dos espectros de RMN¹H (200 MHz) e ¹³C (50,3 MHz) evidenciou a presença de dois diastereoisômeros (*E*) e (*Z*) com a predominância do isômero (*E*). Os espectros bidimensionais de correlação homonuclear [¹Hx¹H-COSY) e heteronuclear [¹Hx¹³C-COSY:modulados com ¹J_{CH} e ⁿJ_{CH} (n=2 e 3-COLOC), RMN¹³C-DEPT e experiências de NOE por subtração de espectros (¹H{¹H}-NOE) foram utilizados na determinação da configuração dos diastereoisômeros e para a atribuição inequívoca dos deslocamentos químicos dos átomos de hidrogênio e carbono-13.

Os resultados farmacológicos obtidos indicam a unidade acilidrazona como importante farmacóforo, assim como a relevância do substituinte 4-(NCH₃)₂-fenila para a atividade analgésica observada.

ABSTRACT

ABSTRACT

In a research program aiming at the design of new compounds, active at the arachidonic acid cascade level, we describe in this work the synthesis, spectroscopic analysis and pharmacologic evaluation of new isochromanylacetylarylhydrazone derivatives. These new compounds were obtained in ea. 85% overall yields, from safrole used as starting material, an abundant natural product isolated from Sassafras oil.

The proton and carbon-13 nuclear magnetic resonance (NMR) spectra and assigned by the homonuclear ($^1\text{Hx}^1\text{H-COSY}$) and heteronuclear [$^1\text{Hx}^{13}\text{C-COSY}$:modulated with $^1\text{J}_{\text{CH}}$ and $^n\text{J}_{\text{CH}}$ (n=2 and 3,COLOC)] 2D shift-correlated spectra showed of the diastereoisomer (E) a major contribution in desired compound (1).

The results obtained from the pharmacological evaluation indicated that acylhydrazone moiety is an important pharmacophore to the observed activity, as well the relevance of the substituent 4-N (CH₃)₂ in the phenyl ring to analgesic activity

SUMÁRIO

SUMÁRIO

	Página
Resumo	i
Abstract	ii
Sumário	iii
Índice de Gráficos	v
Índice de Figuras	vi
Índice de Tabelas	viii
Índice de Esquemas	x
Índice de Quadros	xi
Índice de Espectros	xii
Lista de Abreviaturas	xv
<i>I- INTRODUÇÃO</i>	
1. - Farmacologia da dor	01
1.2- Analgésicos	02
1.3- Óxido Nítrico e analgesia	03
1.4- Processo inflamatório	05
1.5- Biossíntese dos icosanóides	06
1.5.1- Os produtos da via da Cicloxigenase	08
1.5.2- Os produtos da via da 5-Lipoxigenase	13
1.6- Inibidores Enzimáticos	15
<i>II- OBJETIVOS</i>	25
<i>III- RESULTADOS E DISCUSSÃO</i>	
1. - Metodologia Sintética	29
2. - Avaliação Farmacológica	56
2.1 - Teste de contorções abdominais induzidas pelo ácido acético	56
2.2 - Teste de edema de pata de rato induzido por carragenina	59

<i>IV CONCLUSÃO</i>	iv 62
<i>V - PARTE EXPERIMENTAL</i>	
1. - Materiais e Métodos	63
2. - Resultados Experimentais	65
2.1- Síntese do 3,4-Metilenodióxi-Fenilacetaldeído	65
2.2- Síntese do 3,4-Metilenodióxi-Feniletanol	66
2.3- Síntese do Éster etílico do Acido [1-(1-Metil-6,7-Metilenodióxi)- Isocromanil]-Acético	67
2.4- Síntese de [1-(1-Metil-6,7-Metilenodióxi)-Isocromanil]- Acetilidrazida	69
2.5- Síntese de [1-(1-Metil-6,7-Metilenodióxi)-Isocromanil]- Acetilidrazonas	70
<i>VI- ESPECTROS</i>	79
<i>VII - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</i>	147

ÍNDICE DE GRÁFICOS

	Página
Gráfico 1 - Inibição de COX-1 e COX-2 por AINEs	17
Gráfico 2 - Efeitos dos derivados Isocromanilacetilidrazônico sobre as contorções abdominais induzidas pelos ácido acético	58
Gráfico 3 - Efeitos dos derivados Isocromanilacetilidrazônicos sobre o edema de pata de rato induzido por carragenina	61

ÍNDICE DE FIGURAS

	Página
Figura 1 - Reação de formação do NO	04
Figura 2 - Diagrama mostrando resumo dos mediadores derivados dos fosfolipídeos e suas ações	07
Figura 3 - Reações de cicloxigenase e peroxidase catalisadas pela enzima Cicloxigenase	09
Figura 4 - Modelo peroxido-dependente para ativação da atividade cicloxigenase	10
Figura 5- Biossíntese dos prostanóides a partir do AA	11
Figura 6 - Biossíntese dos Leucotrienos a partir do AA	14
Figura 7 - Estruturas de alguns AINEs representativos	16
Figura 8 - Mecanismo proposto para as reações das Fenil Hidrazonas com as CO	20
Figura 9 - Relação bioisómera entre os inibidores de CO/5-LO e os novos derivados Pirazolilidrazônicos	21
Figura 10 - Análogos de AINES a partir do safrol	22
Figura 11 - Derivados ácidos 6,7-Metilenodióxi-Isocromanil acéticos	24
Figura 12 - ArW selecionados para construir a unidade Acetilidrazônica	28
Figura 13 - Análise retrossintética	30
Figura 14 - Mecanismo de formação do ozonídeo	32

Figura 15 -Configuração R e S dos enantiômeros constituintes da mistura racêmica de [1-(1-Metil-6,7-Metilenodioxo)- Isocromanil]-Acetilidrazida	37
Figura 16 - Espectro de massas de [1-(1-Metil-6,7-Metilenodioxo)- Isocromanil]-Acetilhidrazida	38
Figura 17 - Derivados Isocromanilacetilidrazônicos sintetizados	43
Figura 18 - Conformações indicadas como favorecidas para os estereoisômeros (E) e (Z)	47

ÍNDICE DE TABELAS

	Página
Tabela 1 - Atividade antiinflamatória em modelo de artrite de ratos de alguns AINES	23
Tabela 2 - Dados de RMN ¹ H e de ¹³ C do 3,4-Metilenodióxi-Feniletanol	34
Tabela 3 - Dados de RMN ¹ H e ¹³ C da [1-(1-Metil-6,7-Metilenodióxi)-Isocromanil]-Acetilidrazida	41
Tabela 4 - Características dos derivados Isocromanilacetilidrazônicos sintetizados	51
Tabela 5 - Principais absorções dos derivados Isocromanil acetilidrazônicos na espectroscopia do I.V	52
Tabela 6 - Dados de RMN ¹ H e ¹³ C de [1-(1-Metil-6,7-Metilenodióxi)-Isocromanil]-benzaldeído Acetilidrazona	57
Tabela 7 - Dados de RMN ¹ H e ¹³ C de [1-(1-Metil-6,7-Metilenodióxi)-Isocromanil]-2-furaldeído Acetilidrazona	59
Tabela 8 - Dados de RMN ¹ H e ¹³ C de [1-(1-Metil-6,7-Metilenodióxi)-Isocromanil]-p-dimetilamino-benzaldeído Acetilidrazona	60
Tabela 9 - Dados de RMN ¹ H e ¹³ C de [1-(1-Metil-6,7-Metilenodióxi)-Isocromanil]-m-nitro-benzaldeído Acetilidrazona	61
Tabela 10 - Dados de RMN ¹ H e ¹³ C de [1-(1-Metil-6,7-Metilenodióxi)-Isocromanil]-p-nitro-benzaldeído Acetilidrazona	62

Tabela 11 - Dados de RMN ¹ H e ¹³ C de [1-(1-Metil-6,7-Metilenodióxi)-Isocromanil]-p-metóxi-benzaldeído Acetilidrazona	63
Tabela 12 - Dados de RMN ¹ H e ¹³ C de [1-(1-Metil-6,7-Metilenodióxi)-Isocromanil]-p-bromo-benzaldeído Acetilidrazona	64
Tabela 13 - Efeito dos derivados Isocromanilacetilidrazônicos sobre as contorões abdominais induzidas pelos ácido acético	67
Tabela 14 - Efeito dos derivados Isocromanilacetilidrazônicos sobre o edema de pata de rato induzido por carragenina	71

ÍNDICE DE ESQUEMAS

	Página
Esquema 1 - Racionalização da proposta dos Novos Derivados Isocromanilacetilidrazônicos	27
Esquema 2 - Obtenção do homopiperonal por ozonólise do safrol	31
Esquema 3 - Redução do homopiperonal com NaBH ₄ para o álcool correspondente	33
Esquema 4 - Reação de hemicetalização do álcool homopiperonílico para obtenção do éster (46)	35
Esquema 5 - Reação de obtenção da Isocromanilacetilidrazida à partir do éster (46)	36
Esquema 6 - Reação de obtenção dos derivados Isocromanilacetilidrazônicos	42

ÍNDICE DE QUADROS

	Página
Quadro 1 - Valores de Π referente aos substituintes selecionados dos novos derivados isocromanilacetilidrazônicos.....	30

ÍNDICE DE ESPECTROS

	Página
Espectro 1 - I.V. (KBr), obtido do produto (40)	78.
Espectro 2 - RMN ¹ H do produto (40)	79
Espectro 3 - RMN ¹ H do produto (44)	80
Espectro 4 - RMN ¹³ C do produto (44)	81
Espectro 5 - RMN ¹ H PND e DEPT do produto (44)	82
Espectro 6 - E.M. do produto (46)	83
Espectro 7 - RMN ¹ H do produto (46)	84
Espectro 8 - RMN ¹³ C do produto (46)	85
Espectro 9 - I.V. (KBr), obtido do produto (37)	86
Espectro 10 - E.M. do produto (37)	87
Espectro 11 - RMN ¹ H do produto (37)	88
Espectro 12 - RMN ¹³ C do produto (37)	89
Espectro 13 - RMN ¹ H PND e DEPT do produto (37)	90
Espectro 14 - HOMOCOSY do produto (37)	91
Espectro 15 - HETEROCOSY do produto (37)	92
Espectro 16 - COLOC do produto (37)	93
Espectro 17 - Experiência de NOE do produto (37)	94
Espectro 18 - I.V. (KBr), obtido do produto (29a)	95
Espectro 19 - E.M. do produto (29a)	96
Espectro 20 - RMN ¹ H do produto (29a)	97
Espectro 21 - RMN ¹³ C do produto (29a)	98
Espectro 22 - RMN ¹ H PND e DEPT do produto (29a)	99
Espectro 23 - HOMOCOSY do produto (29a)	100
Espectro 24 - HETEROCOSY do produto (29a)	101
Espectro 25 - COLOC do produto (29a)	102
Espectro 26 - Experiência de NOE do produto (29a)	103
Espectro 27 - IV (KBr) do produto (29b)	104
Espectro 28 - RMN ¹ H do produto (29b)	105

Espectro 29 - RMN ¹³ C do produto (29b)	106
Espectro 30 - RMN ¹ H PND e DEPT do produto (29b)	107
Espectro 31 - HOMOCOSY do produto (29b)	108
Espectro 32 - HETEROCOSY do produto (29b)	109
Espectro 33 - COLOC do produto (29b)	110
Espectro 34 - Experiência de NOE do produto (29b)	111
Espectro 35 - IV (KBr), produto (29c)	112
Espectro 36 - E.M. do produto (29c)	113
Espectro 37 - RMN ¹ H do produto (29c)	114
Espectro 38 - RMN ¹³ C do produto (29c)	115
Espectro 39 - RMN ¹ H PND e DEPT do produto (29c)	116
Espectro 40 - HOMOCOSY do produto (29c)	117
Espectro 41 - HETEROCOSY do produto (29c)	118
Espectro 42 - COLOC do produto (29c)	119
Espectro 43 - IV (KBr), do produto (29d)	120
Espectro 44 -E.M. do produto (29d)	121
Espectro 45 - RMN ¹ H do produto (29d)	122
Espectro 46 - RMN ¹³ C do produto (29d)	123
Espectro 47 - HOMOCOSY do produto (29d)	124
Espectro 48 - IV (KBr), do produto (29e)	125
Espectro 49 -E.M. do produto (29e)	126
Espectro 50 - RMN ¹ H do produto (29e)	127
Espectro 51 - RMN ¹³ C do produto (29e)	128
Espectro 52 - HOMOCOSY do produto (29e)	129
Espectro 53 IV (KBr), produto (29f)	130
Espectro 54 - RMN ¹ H do produto (29f)	131
Espectro 55 - RMN ¹³ C do produto (29f)	132
Espectro 56 - RMN ¹ H PND e DEPT do produto (29f)	133
Espectro 57 - HOMOCOSY do produto (29f)	134
Espectro 58 - HETEROCOSY do produto (29f)	135
Espectro 59 - COLOC do produto (29f)	136

Espectro 60 - Experiência de NOE do produto (29f)	137
Espectro 61 - IV (KBr), obtido do produto (29g)	138
Espectro 62 - RMN ¹ H do produto (29g)	139
Espectro 63 - RMN ¹³ C do produto (29g)	140
Espectro 64 - RMN ¹ H PND e DEPT do produto (29g)	141
Espectro 65 - HETEROCOSY do produto (29g)	142
Espectro 66 - COLOC do produto (29g)	143
Espectro 67 - Experiência de NOE do produto (29g)	144

LISTA DE ABREVIATURAS

Δ	Refluxo
δ	Deslocamento químico
γ	Gama
AA	Acido araquidônico
cAMP	Adenosina monofosfato cíclico
ccf	Cromatografia de camada fina
cGMP	Guanidina monofosfato cíclico
cm ⁻¹	Centímetros recíprocos
CO	Cicloxigenase
ED ₅₀	Dose efetiva para redução de 50% do edema
EM	Espectro de massas
ev	Elétron-volt
g	Gramma
Hz	Hertz
IGF	Interconversão de grupos funcionais
IV	Infravermelho
J	Constante de acoplamento
kg	Quilograma
LO	Lipoxigenase
Lts	Leucotrienos
mg	Miligrama

MHz	Megahertz
NOs	Óxido nítrico sintase
NSAI	Antiinflamatório não-esteroidal
PF	Ponto de fusão
PAF	Fator de agregação plaquetária
PGs	Prostaglandinas
ppm	Partes por milhão
RMN	Ressonância magnética nuclear
TMS	Tetrametilsilano

INTRODUÇÃO

I. INTRODUÇÃO

1 . FARMACOLOGIA DA DOR

Definições do estado de dor podem ser subjetivas ou imprecisas, mas toda sensação dolorosa, independentemente de sua origem, consiste no estímulo nocivo e na reação do organismo à este estímulo.

Todo estímulo intenso (mecânico, térmico, biológico, químico ou elétrico) pode produzir dor. O agente nocivo é detectado pelas ramificações periféricas das fibras nervosas mais finas e numerosas do corpo. Essas fibras são chamadas de nociceptores, isto é, receptores de estímulo que provocam dor (Lico, 1985). São distinguidos de outros tipos de receptores por seu maior limiar de excitabilidade, já que normalmente só são ativados por estímulos capazes de causar lesão tecidual (Hang e Dale, 1993).

Podemos dizer, de uma maneira simplificada, que existem dois processos básicos de produção de dor. O que resulta de estímulos ambientes fortes capazes de ativar os nociceptores, que é o estímulo algésico, e o outro, associado ao processo inflamatório, que induz à sensibilização dos mesmos diminuindo o seu limiar. A este segundo processo chamamos de hiperalgesia.

O estímulo algésico ativa os nociceptores abrindo os canais de sódio membrânicos, causando uma variação no seu processo eletroquímico de repouso. Desta forma, induz atividade elétrica que, conduzida pelos nervos sensitivos até o sistema nervoso central (SNC), é interpretada como dor (Ferreira, 1985).

No fenômeno hiperalgésico, o estímulo não chega a ativar o nociceptor, induzindo apenas a sua sensibilização, de modo que outros estímulos fracos, anteriormente não dolorosos, passam agora a produzir a sensação de dor.

Uma variedade de autacóides produzidos durante a inflamação, são conhecidos por excitarem os nociceptores ou, mais usualmente, por sensibiliza-los a outros estímulos e, assim, contribuir para a hiperalgesia. Dentre eles podemos destacar a prostaglandina E₂ (PGE₂), a prostaciclina (PGI₂) e o leucotrieno B₄ (LTB₄). (Dray *et al*, 1994).

1.2 - ANALGÉSICOS

Analgésicos são utilizados para aliviar a dor sem causar a perda da consciência e são geralmente classificados como tendo ação central (narcóticos) ou periférica (não-narcóticos).

Os analgésicos de ação central são muito eficientes em uma variedade de situações clínicas, mas, para aliviar a dor causam vários efeitos que limitam sua utilidade clínica. (Capetola *et al*, 1980). Dentre as reações adversas mais críticas estão a tolerância, dependência e depressão respiratória, que são a causa da morte por "overdose" de opióides (Hite, 1990).

As principais ações farmacológicas dos analgésicos de ação central devem-se à complexação destes fármacos com receptores específicos localizados no SNC, interferindo desta maneira com os impulsos da dor nas vizinhanças do tálamo. (Korokolvas, 1988)

Os analgésicos de ação periférica apresentam um mecanismo de ação diferente dos narcóticos, atuando no próprio local onde ocorre o estímulo nocivo. São normalmente conhecidos como Antiinflamatórios Não-esteroidais (AINE) e tem os seus principais efeitos biológicos por agirem bloqueando a biossíntese de prostaglandinas (PGs) e metabólitos relacionados que causam dor, febre e inflamação, sozinhos ou em combinação com outros mediadores do processo inflamatório (Hamor, 1990).

Desde 1960 se conhece que o tecido injuriado libera no local prostanóides e que aplicação local de prostanóides facilitam a atividade das fibras C primárias aferentes a produzirem dor, sendo as DAINE, estruturalmente diversos, poderosos inibidores da cicloxigenase (CO) enzima responsável pela bioformação dos prostanóides (Malmberg e Yaksh, 1992)

Esta descoberta tem estimulado a pesquisa para a descoberta de novos agentes de ação periférica mais seguros e efetivos, capazes de aliviar a dor além de, se possível, apresentarem propriedades antiinflamatórias.

1.3 - ÓXIDO NÍTRICO E ANALGESIA

Óxido nítrico (NO) é reconhecido como um mensageiro molecular regulador da dilatação dos vasos sanguíneos, funções imunes e atua como um neurotransmissor no cérebro e no sistema nervoso periférico. O NO também age como tumoricida e bactericida. (Brune *et al*, 1994).

A importância do papel que o óxido nítrico representa no mecanismo de regulação e defesa do organismo está evidenciado no número crescente de publicações relacionados ao NO e NO sintase (NOS) (Moncada *et al*, 1994).

Alguns mediadores inflamatórios estimulam células do endotélio vascular para a liberação do vasodilatador óxido nítrico (NO). NO é importante para a comunicação intracelular nos tecidos periféricos e no SNC, incluindo as vias nociceptivas. Isto é normalmente conseguido pela ativação da guanilato-ciclase e a produção de cGMP (Meller e Gebhart, 1993).

A reação enzimática que conduz para a formação do NO é catalisada por duas isoformas de uma heme proteína relacionadas ao citocromo P-450 chamadas óxido nítrico sintase constitutiva e induzida (Schini *et al*, 1994). A reação catalisada pela enzima NOS (Figura 1) envolve a oxidação da L-arginina (1) para L-citrulina (2) e NO (Marletta, 1994).

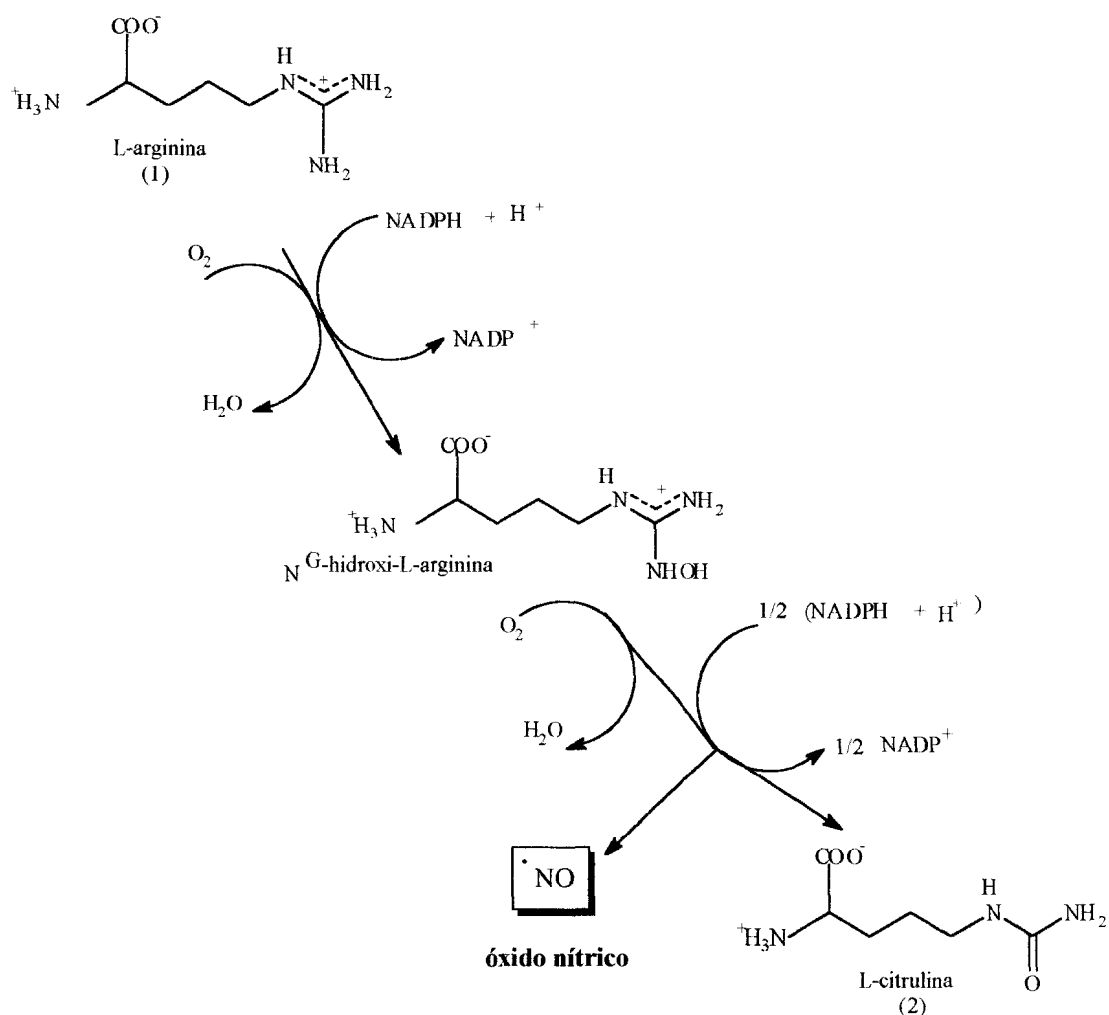


Figura 1 - Reação de formação do NO.

Ferreira *et al* (1992), demonstraram que a hiperalgesia produzida por carragenina e PGE₂ é antagonizada por substâncias geradoras de NO por aplicações tópicas de nitroglicerina. Além disso, a dor originada nas fibras periféricas é aumentada por inibidores de NOS (Wiesenfelt-Hallin *et al*, 1993).

Em trabalho recente, Duarte *et al* (1992) confirmaram a importância do papel na analgesia periférica da via NO-cGMP apresentando resultados onde a administração de cAMP, ou substâncias que estimulem sua síntese, como PGE₂, causam hiperalgesia, enquanto administração de cGMP causa analgesia. Com isso é proposto que a sensibilidade dos nociceptores pode ser controlada por um balanço

entre os níveis de cAMPe cGMP. Estes resultados confirmam a idéia da indução da analgesia periférica através do aumento dos níveis de cGMP, pela geração do NO (Duarte *et al*, 1990).

1.4- PROCESSO INFLAMATÓRIO

O termo reação inflamatória refere-se aos eventos que ocorrem nos tecidos em resposta a uma injúria. O processo inflamatório envolve uma série deles que podem ser iniciados por diferentes estímulos (químicos, físicos, térmicos, biológicos) e o resultado constitui a reação inflamatória aguda. Tais reações são protetoras, mas se desenvolvidas inapropriadamente são prejudiciais, e em alguns casos persistindo a injúria o processo caracteriza a inflamação crônica. (Hang e Dale, 1993)

Os sinais clínicos deste fenômeno podem estar relacionados ao fluxo aumentado nos vasos sanguíneos locais (calor e rubor), ao aumento da permeabilidade e/ou infiltração celular (tumor) e a liberação de várias substâncias no local da inflamação que induzem e potencializam a dor. (Willoughby, 1987)

Vários mediadores inflamatórios como a bradicinina, prostaglandinas e leucotrienos tem sido propostos por atuarem na hiperalgesia inflamatória, já que esses compostos causam decréscimo no limiar da dor, cabendo as prostaglandinas um maior papel na patogênese da inflamação (Belch, 1989).

1.5 - BIOSÍNTESE DOS ICOSANÓIDES

A família de prostaglandinas, leucotrienos e compostos relacionados são chamados icosanóides porque são derivados de ácidos graxos essenciais de vinte átomos de carbonos que contêm três, quatro ou cinco duplas ligações. No homem, o ácido araquidônico (AA) (3) é o precursor mais abundante, ingerido como constituinte da dieta, que esterificado a fosfolipídeos se acumula nas membranas celulares. A biossíntese de icosanóides é controlada e ocorre em resposta a estímulos físicos, químicos e hormonais (Moncada *et al*, 1985).

A etapa inicial da síntese é a ação da fosfolipase A₂, liberada após o estímulo, que pode originar não apenas o AA mas também o liso-gliceril-fosforilcolina (liso-PAF), que é o precursor de um outro potente mediador da inflamação, fator de ativação plaquetária (PAF) (Figura 2). Os corticosteróides inibem a formação dos icosanóides e do PAF, estimulando a liberação intracelular de proteínas conhecidas como lipocortinas, que modulam a atividade da fosfolipase A₂ (PLA₂) (Campbell, 1990)

O AA livre é metabolizado por várias vias oxidativas, uma envolvendo as enzimas cicloxigenase (CO) que inicia a biossíntese de prostaglandinas (PGs) e tromboxanas (TXs) e por outras envolvendo as enzimas lipoxigenase, onde a 5-lipoxigenase (5-LO) inicia a síntese de leucotrienos (LTs) (Figura 3).

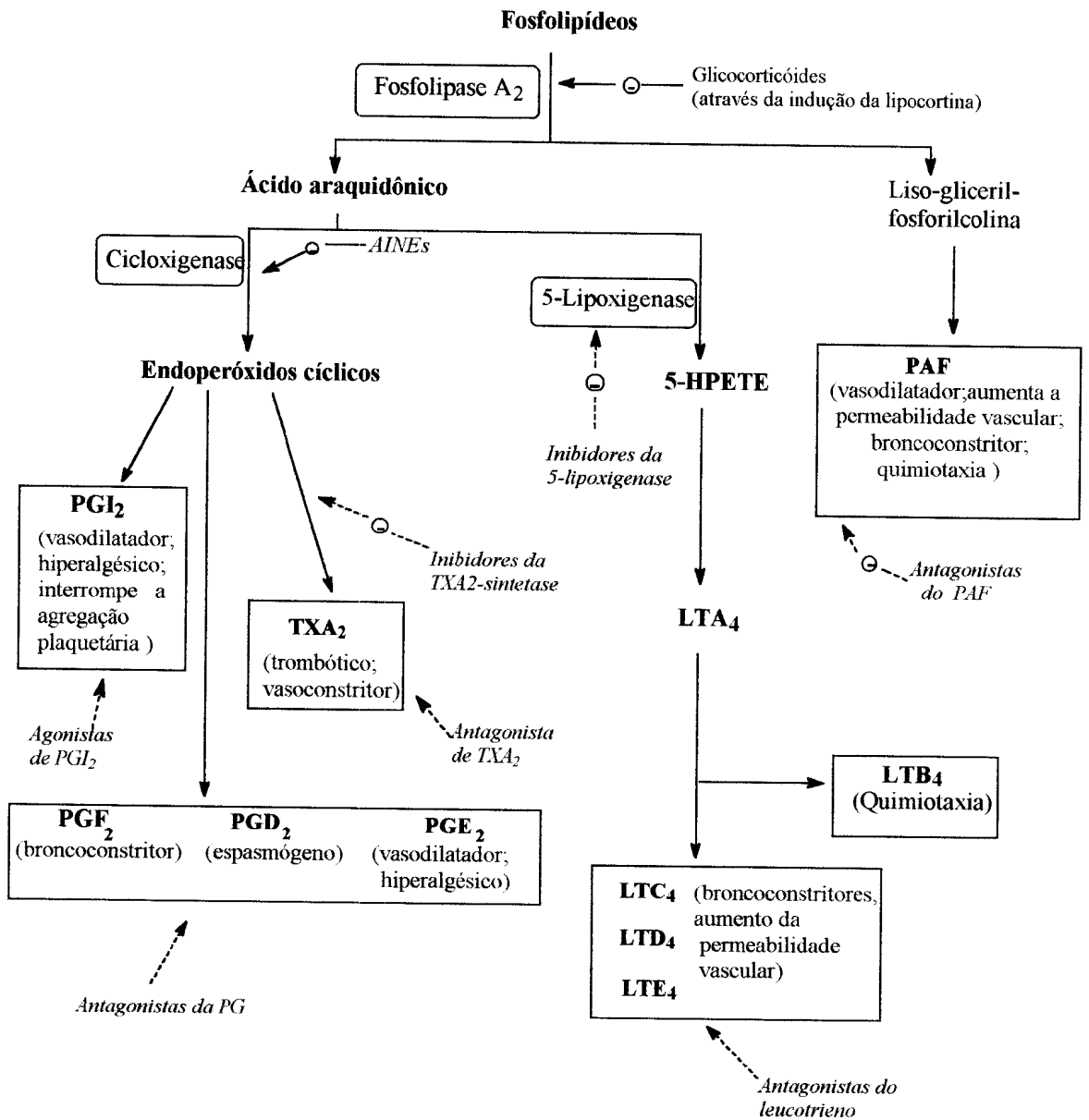


Figura 2 - Diagrama mostrando resumo dos mediadores derivados dos fosfolípidos e suas ações.

1.5.1 - OS PRODUTOS DA VIA DA CICLOXIGENASE

A cicloxigenase (CO) catalisa a formação de prostaglandina endoperóxido H₂ (PGH₂) (5) a partir do ácido araquidônico (AA) (3) liberado por ação da fosfolipase A₂ (PLA₂), sendo esta a reação central da biossíntese de prostaglandinas (PGs). Recentemente uma segunda isoforma da cicloxigenase foi identificada, a COX-2 (4 kilobase mRNA) (Kujubu *et al*, 1991; O'Banion, 1991), distinta da primeira, COX-1 (2,8 kilobase mRNA) (Merlie *et al*, 1988).

COX-1 é constitutiva, existente em vários tecidos, embora o seu nível de expressão varie para cada tipo de célula (Patrignani *et al*, 1994). Algumas células, incluindo as do endotélio vascular e plaquetas expressam grande quantidade de COX-1. Esta isoforma produz PGs que regula as funções gastrointestinais, dos rins e homeostasia vascular, explicando desta maneira um dos maiores efeitos colaterais dos AINES, que é a sua toxidez gástrica Wallace e Cirino, 1994).

A COX-2, forma induzida, é indetectável na maioria dos tecidos, mas sua expressão pode ser dramaticamente elevada durante a inflamação (Smith, 1994). A produção de PGs envolvidas na inflamação pela COX-2 é confirmada pelo fato de que ocorre a indução desta enzima por agentes inflamatórios e a redução por agentes antiinflamatórios (Meade, 1993).

O papel fisiológico da COX-1 e COX-2 poderá ser determinado definitivamente quando inibidores específicos para cada isoenzima forem desenvolvidos, mas sabe-se que a atividade enzimática e a afinidade pelo ácido araquidônico são essencialmente idênticas.

A enzima cicloxigenase possui atividades dioxigenase e peroxidase residentes em uma única proteína (Figura 3). A atividade dioxigenase desta enzima catalisa a inserção de duas moléculas de oxigênio no ácido araquidônico (AA) (3) para dar o composto 15-hidroperóxido (PGG₂) (4), e então a atividade peroxidase reduz o hidroperóxido para hidroxila, dando PGH₂. (5). O passo inicial da reação de cicloxigenase é abstração do átomo de hidrogênio 13-pró-S do ALA. Conforme descrito por Smith *et al* (1992), existe uma relação entre a atividade peroxidase e a remoção do hidrogênio 13-pró-S do ALA. Segundo modelo proposto (Figura 4), a

reação do hidroperóxido com o grupo heme no sitio da atividade peroxidase conduz para a formação do intermediário I ; isto ocorre concomitantemente com a redução do hidroperóxido para o correspondente álcool. O intermediário I produz uma segunda espécie heme oxidada ,o intermediário II, contendo um radical tirosil que finalmente abstrai o hidrogênio 13-pró-S do AA para iniciar a reação cicloxigenase.

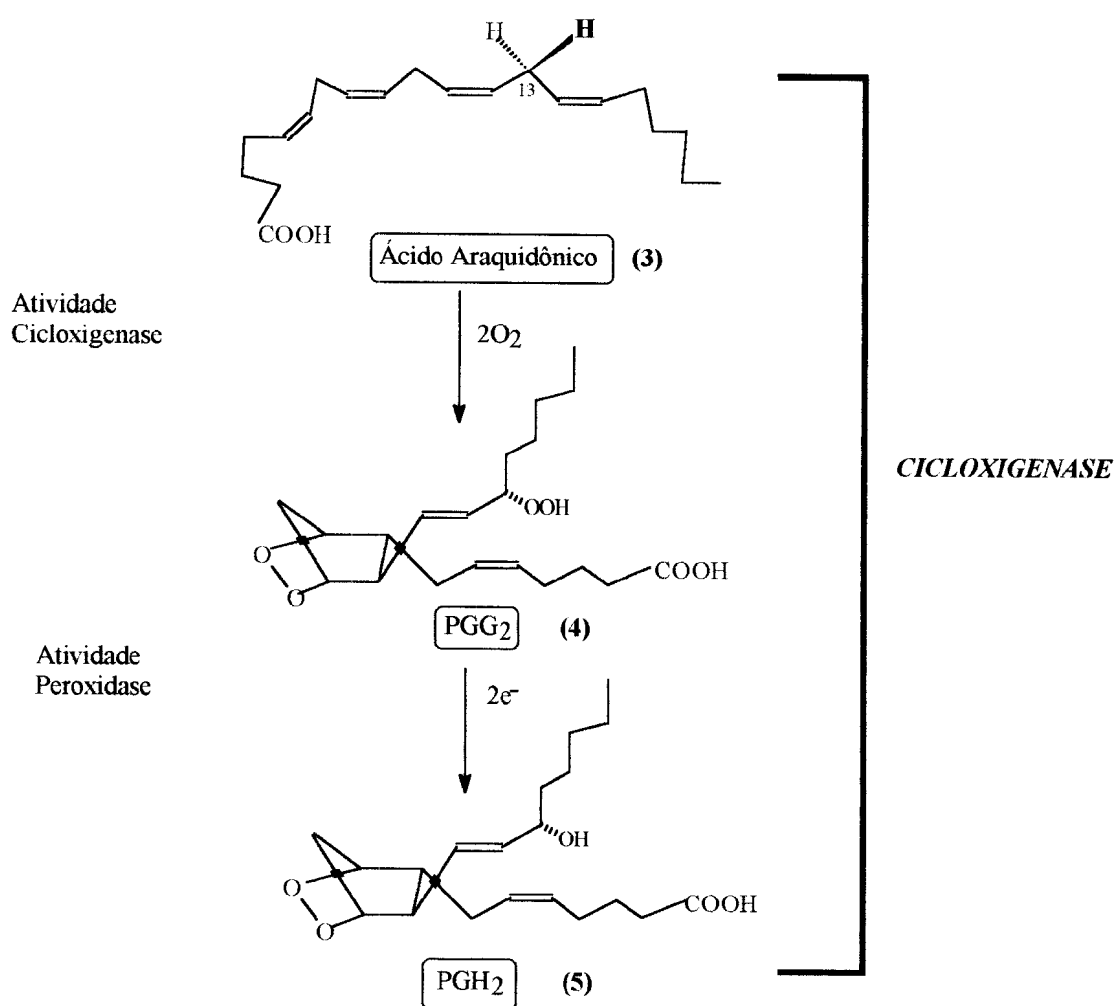


Figura 3 -Reações de cicloxigenas e peroxidase catalisadas pela enzimaCicloxigenase.

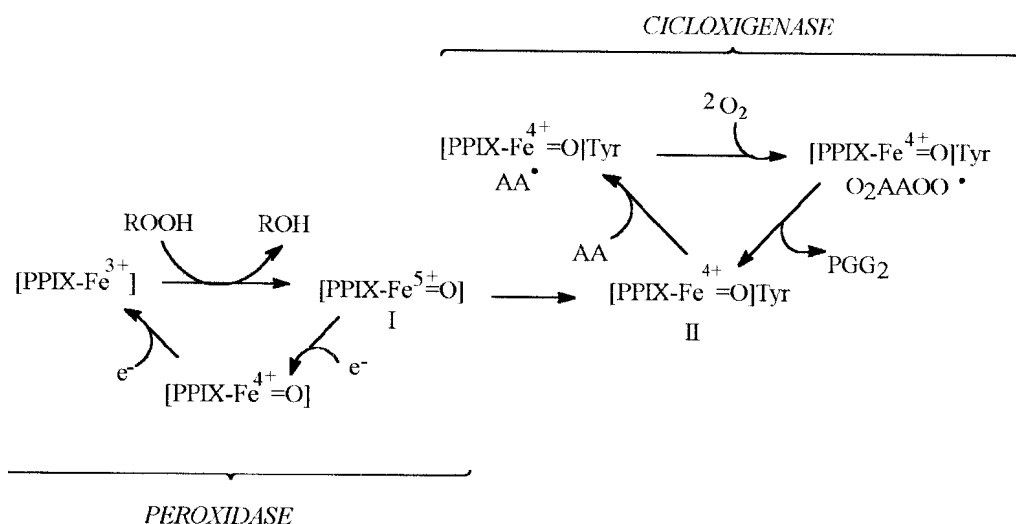


Figura 4 - Modelo peróxido-dependente para ativação da atividade cicloxigenase

Os endoperóxidos produzidos pela ação da CO sobre o AA (3), são quimicamente instáveis, e então, dependendo do tipo de célula, a PGH₂ (5) é enzimaticamente isomerizado ou reduzido para PGI₂ (6), PGE₂ (7), PGD₂ (8), ou tromboxana A₂ (TXA₂) (9) (Figura 5).

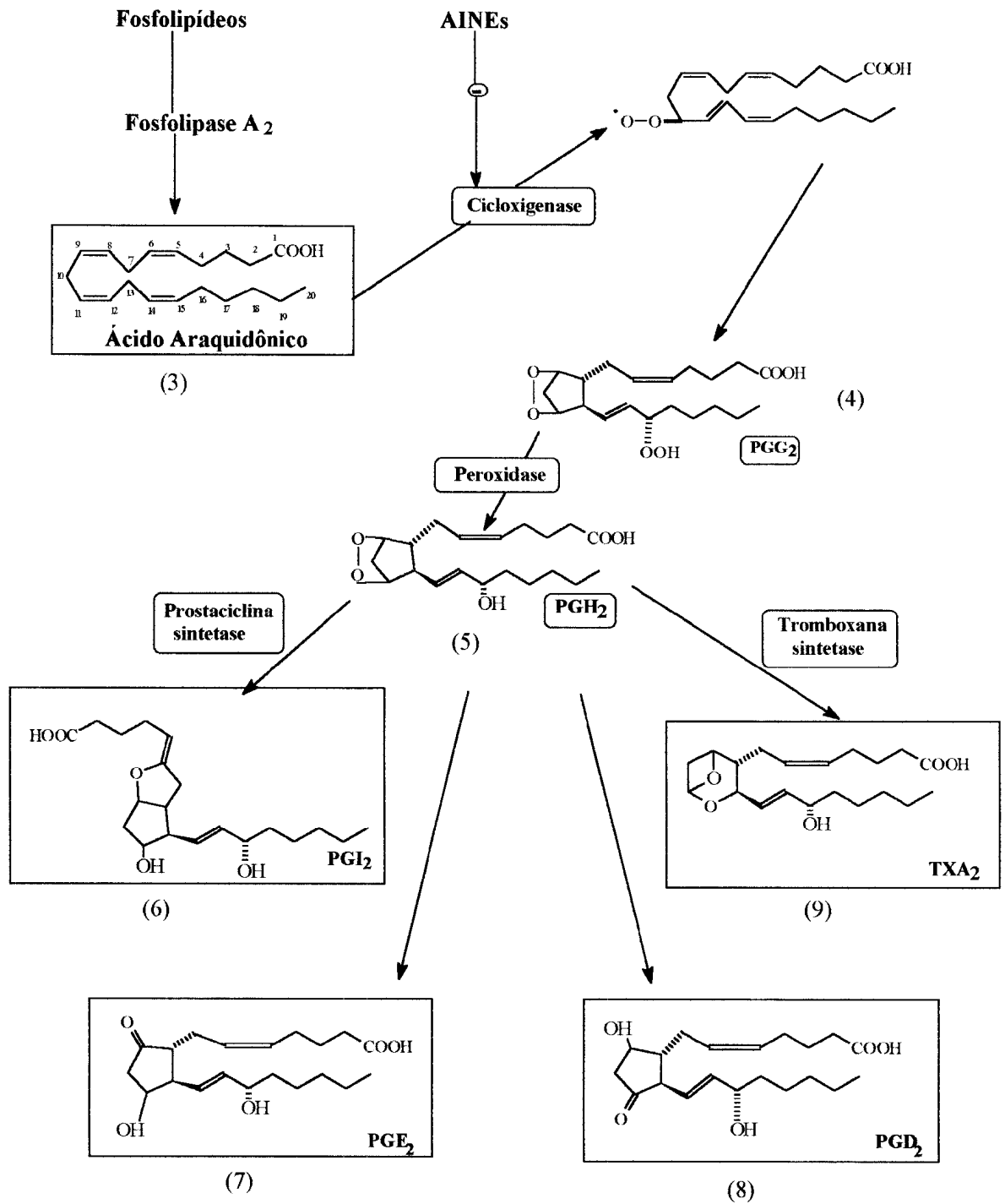


Figura 5 - Biossíntese dos Prostanóides a partir do Ácido Araquidônico

Nas plaquetas, esta via leva à síntese de tromboxana A₂, (TXA₂) (9), pela ação da tromboxa sintetase, no endotélio vascular à síntese de prostaciclina (PGI₂) (6), pela ação da prostaciclina sintetase, e, nos macrófagos, leva principalmente à síntese de prostaglandinas E₂ (PGE₂) (8). Os prostanóides produzem seus efeitos por interação com receptores específicos na membrana celular, que foram definidos por Coleman *et al* (1994)

A TXA₂ (9) é um dos mais potentes agentes vasoconstritor e agregante plaquetário conhecidos e tem um importante papel na manutenção da homeostasia vascular junto com a PGI₂, (6) que tem propriedades farmacológicas opostas. (Dickinson, 1991). Antagonistas de TXA₂, (9) inibidores de tromboxana sintetase (Yamamoto, 1993; Oashina, 1993), e análogos estáveis de PGI₂ (6) (Kato,1993) são sintetizados para amarem clinicamente como agentes terapêuticos em quadros de trombose, asma, isquemia e infarto do miocárdio.

Em 1972, Ferreira demonstrou que PGs da série E tem atividade hiperalgésica. Por conseguinte, embora não produzam dor, elas sensibilizam os receptores da dor para estimulação por outros agentes como a bradicinina e 5-hidroxitriptamina (5-HT), e Schepellman *et al* (1992) têm investigado a contribuição das PGI₂ (6) no mecanismo de hiperalgesia inflamatória comparada com PGE₂. (7).

Esta habilidade dos prostanóides para amplificar os efeitos da dor produzidos por outros agentes explica a ação analgésica das AINEs como a aspirina e a indometacina., que agem reduzindo os níveis de prostanóides endógenos removendo seu efeito amplificador.

1.5.2 - OS PRODUTOS DA VIA DA 5-LIPOXIGENASE

As lipoxigenases (LO) são enzimas que catalizam a oxidação de ácidos graxos, contendo um sistema 1,4-cis,cis-pentadieno, a hidroperóxidos. Estão presentes no pulmão, plaquetas e leucócitos, sendo que a principal enzima deste grupo é a 5-lipoxigenase (5-LO). A oxidação de ácidos graxos pela 5-LO é o primeiro passo na biossíntese de leucotrienos (LTs) (Figura 6), que têm sido relatado como mediadores da inflamação e reações de hipersensibilidade. (Kingsbury, 1993)

Os leucotrienos são uma classe de metabólitos do AA sintetizados nos leucócitos em resposta ao estímulo inflamatório e imunológico. Os efeitos biológicos dos LTs, incluem quimiotaxia dos leucócitos e agregação, contração da musculatura bronquial, formação de edema, além de ter sido sugerido que sejam potentes mediadores nos processos alérgicos e inflamatórios. (Hutchinson, 1990).

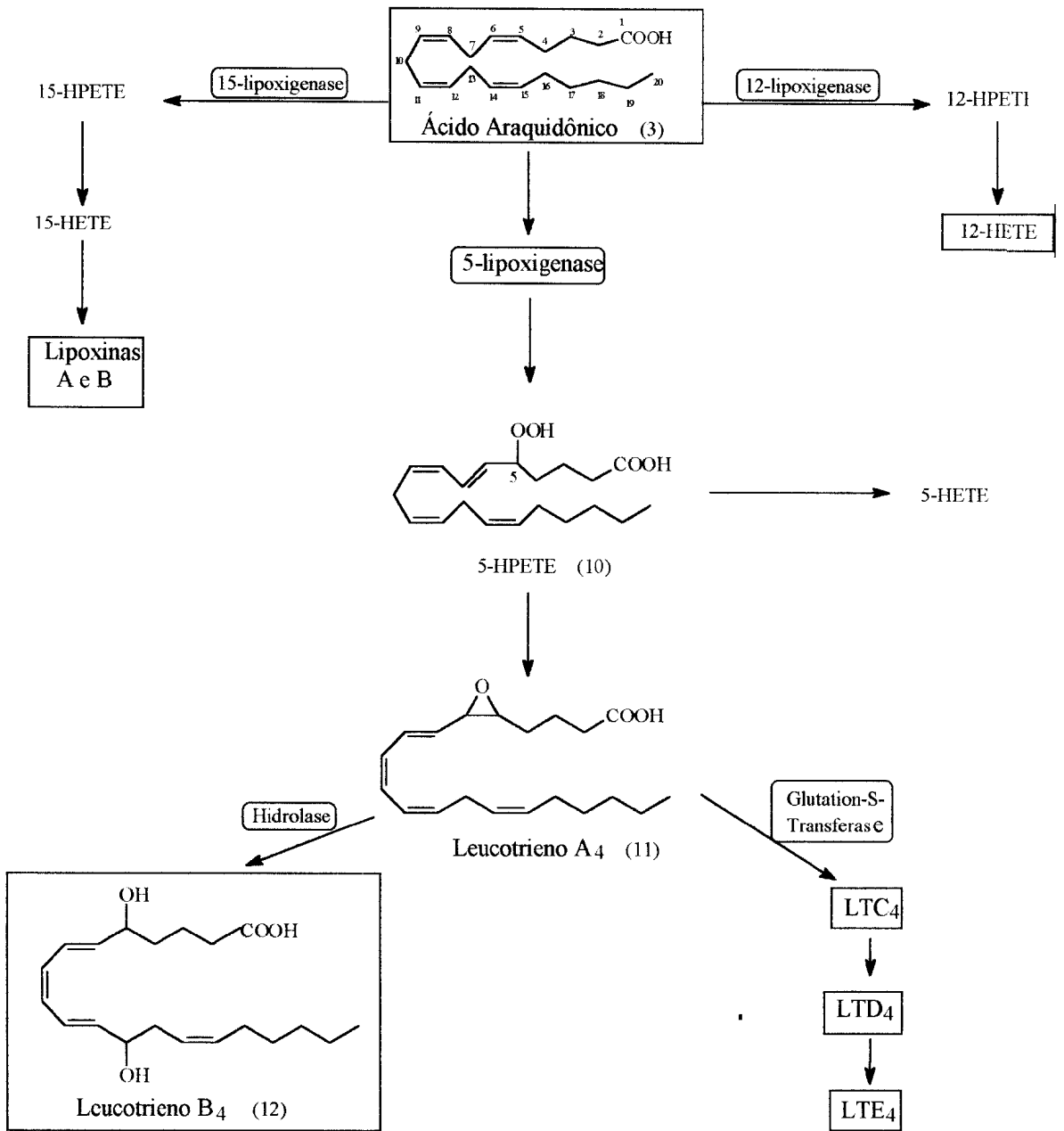


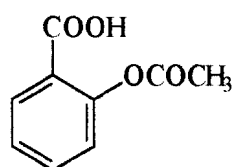
Figura 6- Biossíntese dos Leucotrienos à partir do Ácido Araquidônico.

1.6 - INIBIDORES ENZIMÁTICOS

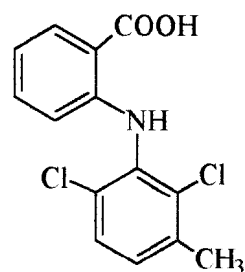
A produção de icosanóides pode ser interrompida em várias etapas, que incluem inibição da liberação do ácido araquidônico ou da atividade oxigenase dos ácidos graxos.

A inibição da fosfolipase A₂ (PLA₂) diminui a liberação de ácido graxo prevenindo a síntese de todos os metabólitos derivados da cascata biossintética. Neste sítio atuam os glicocorticóides inibindo a PLA₂ indiretamente pela indução da proteína lipocortina (Flower, 1979).

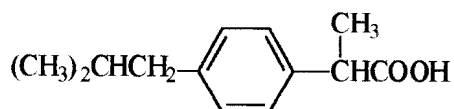
Sabendo-se que a ação clássica dos AINEs relaciona-se com o bloqueio do metabolismo do ácido araquidônico para prostaglandinas por inibição da enzima ciclooxigenase, explica-se desta maneira os efeitos antipiréticos, analgésicos e antiinflamatórios que a maioria das drogas apresentam. Os AINES estão entre os mais usados de todos os agentes terapêuticos e alguns exemplos importantes estão relacionados na figura 7.



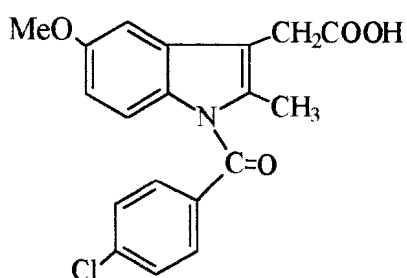
(13) Aspirina



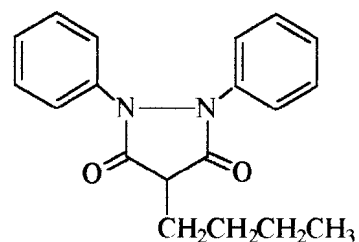
(17) Ácido Mefenâmico



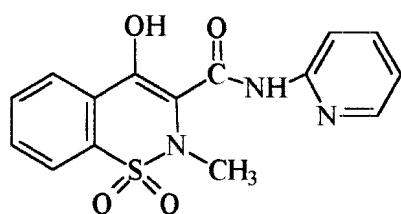
(14) Ibuprofeno



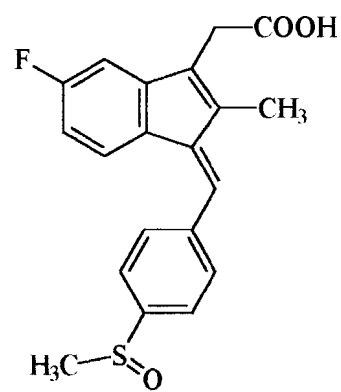
(15) Indometacina



(18) Fenilbutazona



(16) Piroxicam

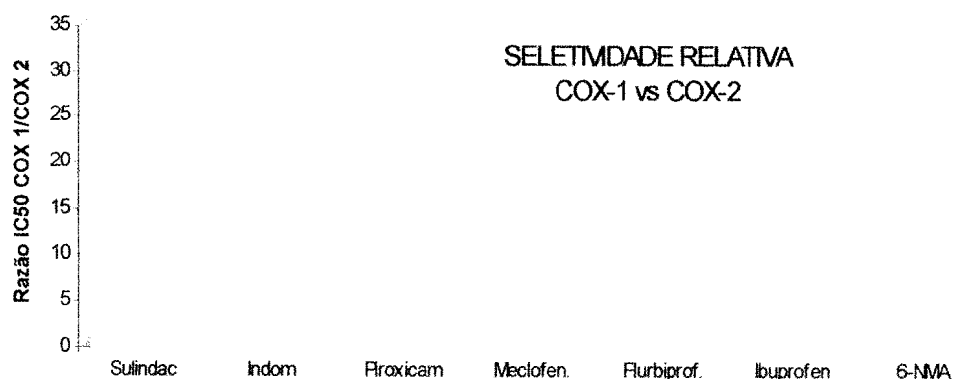


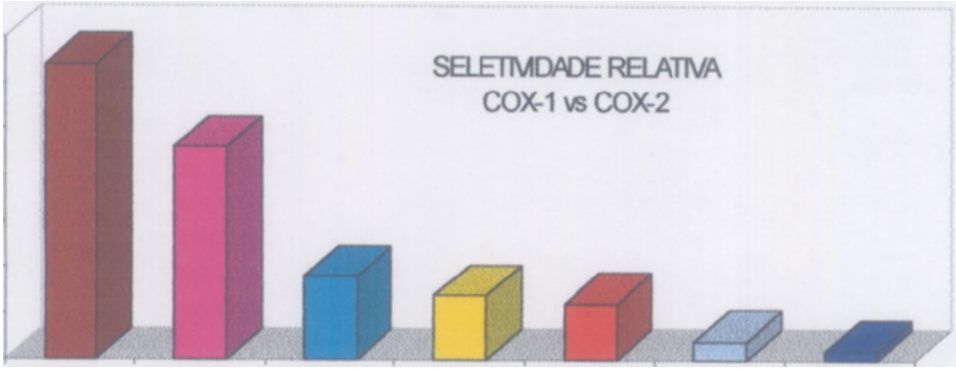
(19) Sulindac

Figura7 - Estruturas de algumas DAINEs representativas.

Confirmando a hipótese de que COX-1 e COX-2 tenham diferenças em sua sensibilidade farmacológica, Smith *et al* (1994) apresentaram resultados em que comparava a sensibilidade relativa destas enzimas *in vitro* usando uma série de conhecidos AINES. No teste foi analisado a preferência das drogas em inibir COX-1 e COX-2, assim como a comparável inibição de ambas enzimas (Gráfico 1). Sulfeto de sulindac, o metabólito ativo do sulindac, indometacina e piroxicam inibem preferencialmente COX-1. Ibuprofen e meclofenamato inibe ambas enzimas com comparável potência, já o ácido 6-metoxi-2-naftilacético, o metabólito ativo do Relafen[®], inibe preferencialmente COX-2.

Gráfico 1 - Inibição de COX-1 e COX-2 por AINES.

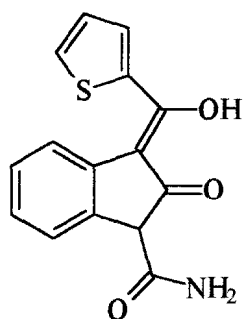




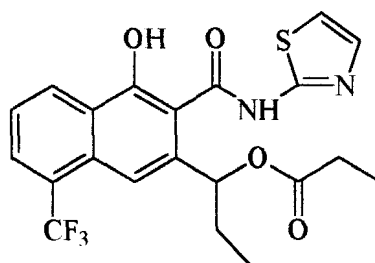
Como a isoforma "constitutiva" da cicloxigenase, COX-1, tem sido identificada em vários tecidos, é sugerido que inibidores seletivos da forma induzida, COX-2, impediriam a síntese de prostaglandinas (PGs) no sítio da inflamação (Futaki *et al*, 1993) conduzindo a uma menor lesão no tecido gástrico, observado pelo uso de DAINES (Wallace e Cirino, 1994).

Sabe-se que inibidores de cicloxigenase podem aumentar a conversão de ácido araquidônico para o pró-inflamatório leucotrieno B₄ via a enzima 5-lipoxigenase (5-LO). A potente atividade quimiotátil e algésica do leucotrieno B₄ (LTB₄) (Smith,1981; Levine *et al*, 1984), junto com a observação de que LTC₄ e LTD₄ aumentam a permeabilidade vascular, ressaltam a importância de intervenção como base terapêutica na biossíntese de leucotrienos (LTs). Acredita-se que compostos que inibam a atividade de ambas enzimas CO e 5-LO proporcionariam maior eficácia de ação. Atualmente, a maior parte dos nossos conhecimentos da biossíntese dos icosanóides está centralizado na oxigenase dos ácidos graxos, em particular pela via CO e 5-LO. Embora, existam diferenças, ambas enzimas pertencem a família das dioxigenases que catalisam a oxidação peroxi-dependente do ALA. Devido a esta similaridade e o mecanismo catalítico geral não é surpresa que existam um grande número de compostos que são capazes de inibi-las (Marshall *et al*, 1991).

Agentes antiinflamatórios contendo a porção β -cetocarboxamida, como o RU-43526 (9) e tenidap (10) foram sintetizados e apresentaram inibição dual COe 5-LO sendo considerados como uma nova classe de inibidores (Kuroda *et al*, 1992).

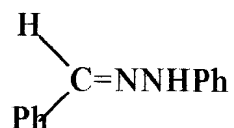


(20) Tenidap



(21) RU-43526

Mahy (1993) mostra que as fenilhidrazonas de aldeídos aromáticos (11) constituem uma nova classe de substrato para a atividade dioxigenase da enzima cicloxigenase, e que, o hidroperóxido derivado desta reação age como substrato para a atividade peroxidase, inibindo assim, a síntese de prostanóides por um mecanismo similar ao proposto para a oxidação dos ácidos graxos (Figura 8).



(22) Fenilhidrazona

Uma outra classe de substâncias heterocíclicas antiinflamatórias que apresentam a função hidrazônica são as aminofenilpirazolinias, evidenciadas inicialmente na literatura pelo BW 755c (17) e seus respectivos derivados (Copp *et al*, 1984) que mostraram-se ativas em modelos experimentais de inflamação, reduzindo edema, hiperalgesia e migração de leucócitos, por causar redução nas concentrações de prostaglandinas e leucotrienos em exudatos inflamatórios.

Destacamos também o derivado quinazolínico funcionalizado (18) (Kalsi *et al*, 1990), que atua como agente antiinflamatório bloqueando combinadamente a enzima cicloxigenase e 5-lipoxigenase (CO/5-LO) ampliando para a classe de derivados acilidrazônicos heterocíclicos o potencial inibitório duplo sobre as enzimas citadas.

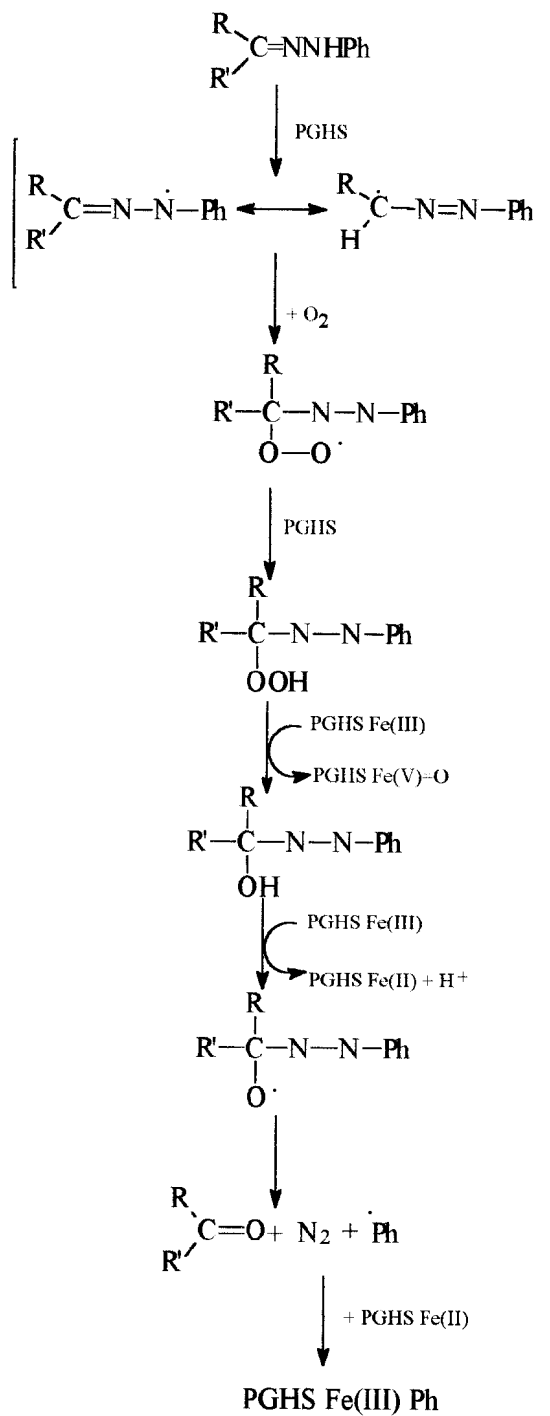


Figura 8- Mecanismo proposto para as reações das fenilidrazonas com as CO.

Inserido em um programa de pesquisa que objetiva a síntese de inibidores da cascata do ácido araquidônico*, Freitas (1991) sintetizou derivados pirazolil hidrazônicos (Figura 9) planejados como bioisósteros híbridos de (17) e (18), com possível ação a nível de CO/5-LO. Os compostos sintetizados foram avaliados quanto à sua atividade analgésica (Matheus *et al*, 1991), utilizando o teste de contorções abdominais induzidas pelo ácido acético e o resultado apresenta compostos com potência onze vezes superior à dipirona utilizada como padrão na mesma concentração. Este resultado sugere que a unidade acilhidrazônica seja um sítio farmacofórico para a atividade analgésica (Dias *et al*, 1994).

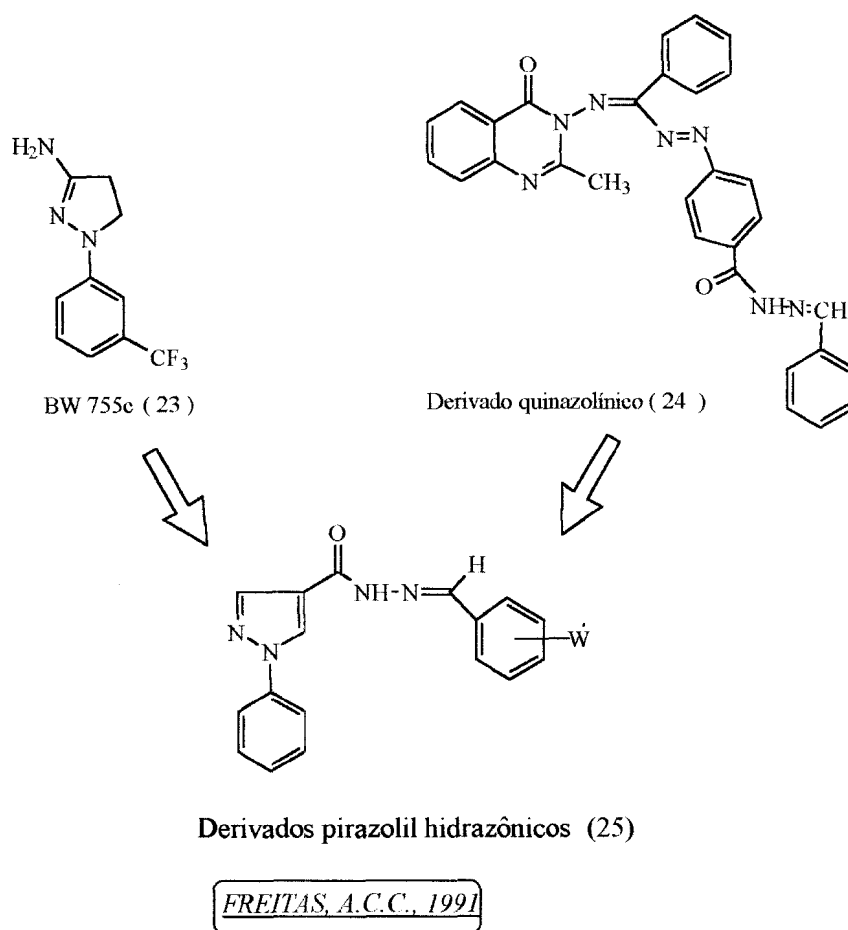


Figura 9 - Relação bioisósterica entre os inibidores da CO/5-LO e os novos derivados Pirazolilhidrazônicos.

Como parte de um contínuo trabalho de pesquisa* que busca a síntese de compostos bioativos, utilizando o safrol (20) como matéria-prima (Figura 10), foram descritas as sínteses de análogos da indometacina (21) (Barreiro, 1982), do sulindac (22) (Lima, 1992), do piroxicam (23) (Fraga, 1993) e do etodolac (24) (Silva, 1993).

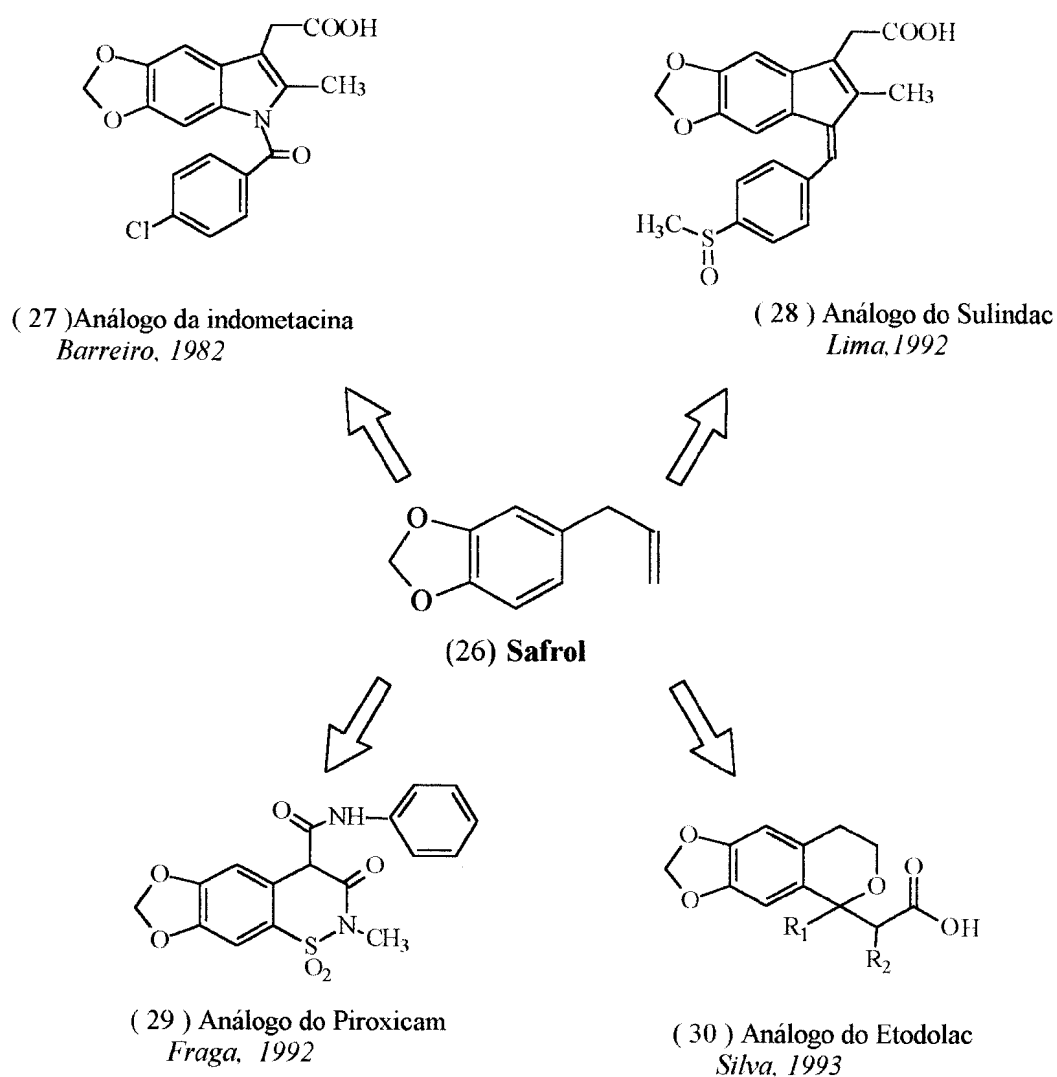
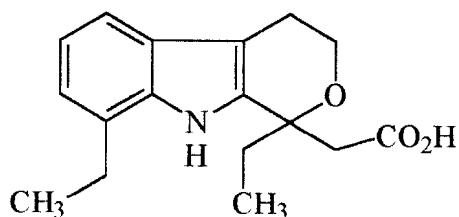


Figura 10 - Análogos a partir do safrol

*LASSBio-Laboratório de Avaliação e Síntese de Substâncias Bioativas-FF-UFRJ

Silva (1993) propôs a síntese de derivados 6,7 metilenodóxi-isocromanil acéticos (Figura 11) após avaliar os resultados apresentados por Humber *et al* (1976), descrevendo a síntese do etodolac (25) ,[1,8-dietil-1,3,4,9-tetrahidropirano-(3,4-b)-indol]-acético, e sua elevada atividade antiinflamatória comparada com a indometacina e fenilbutazona (Tabela 1)

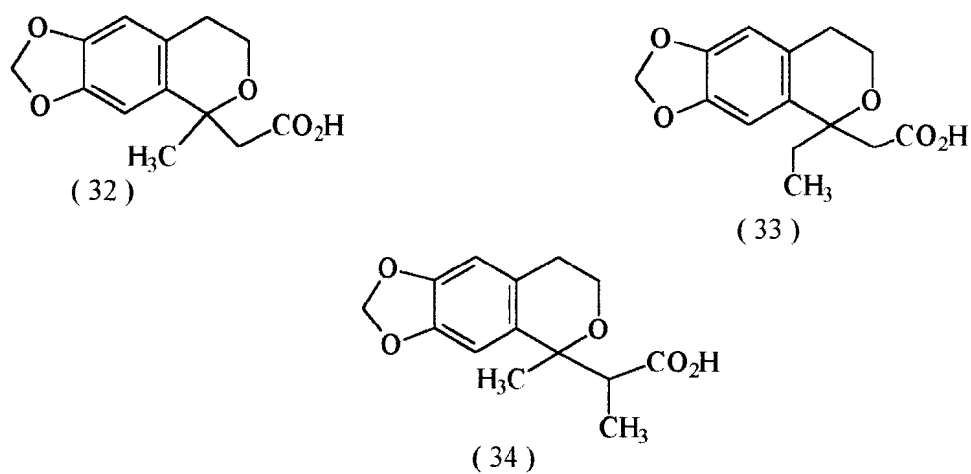


(31) Etodolac

Tabela 1 - Atividade Antiinflamatória em modelo de artrite em ratos de alguns AINEs

<i>DROGA</i>	<i>ED₅₀ mg/kg</i>
(4) Indometacina	0,2
(7) Fenilbutazona	5,4
(25) Etodolac	0,7

O composto (32) apresentou no teste modificado do edema de pata de rato induzido por carragenina (CIRPE), uma boa atividade antiinflamatória (34%) quando comparado com a observada para a indometacina (40%), na dose de 25 mg/kg, p.o. (Silva,1993),



SILVA, E.F.,1993

Figura 11 - Derivados ácidos 6,7-metilenodióxi-isocromanil-acéticos

OBJETIVOS

II - OBJETIVOS

A modificação molecular de substâncias bioativas objetivando a obtenção de novas substâncias mais ativas que aquelas de origem é uma estratégia amplamente utilizada no desenvolvimento de fármacos. A introdução ou eliminação de duplas ligações, substituição de grupamentos funcionais, processos de dissociação ou associação molecular e o bioisosterismo estão entre as diversas metodologias utilizadas no planejamento racional de novos fármacos.

Este trabalho está inserido em uma linha de pesquisa* que utiliza como matéria-prima o safrol (20), substância de origem natural, proveniente da destilação do óleo de sassafras (*Ocotea Pretiosa*), na obtenção de substâncias terapêuticamente úteis, ativas na cascata do ácido araquidônico

Como mencionado o derivado do safrol análogo ao etodolac (26), sintetizado por Silva (1993) apresentou um importante perfil antiinflamatório e propriedades analgésicas, que somados aos resultados farmacológicos obtidos por Matheus (1991) na avaliação dos compostos acilhidrazona pirazólicos (19) que mostraram uma atividade analgésica onze vezes mais intensa que o padrão dipirona, nos conduziram a propor a síntese dos derivados isocromanil acilidrazônicos (29), resultante da hibridização molecular da sub-unidade acetilidrazona de (19) e do derivado (26), definindo uma nova classe de derivados hidrazônicos (Esquema 1).

Os resultados farmacológicos obtidos quanto as propriedades analgésicas e antiinflamatórias desta classe contribuirão para avaliar as unidades farmacológicas relevantes, e um melhor entendimento quanto às futuras modificações estruturais necessárias a modular a atividade seletiva entre a ação analgésica e antiinflamatória.

*LASSBio - Laboratório de Avaliação e Síntese de Substâncias Bioativas

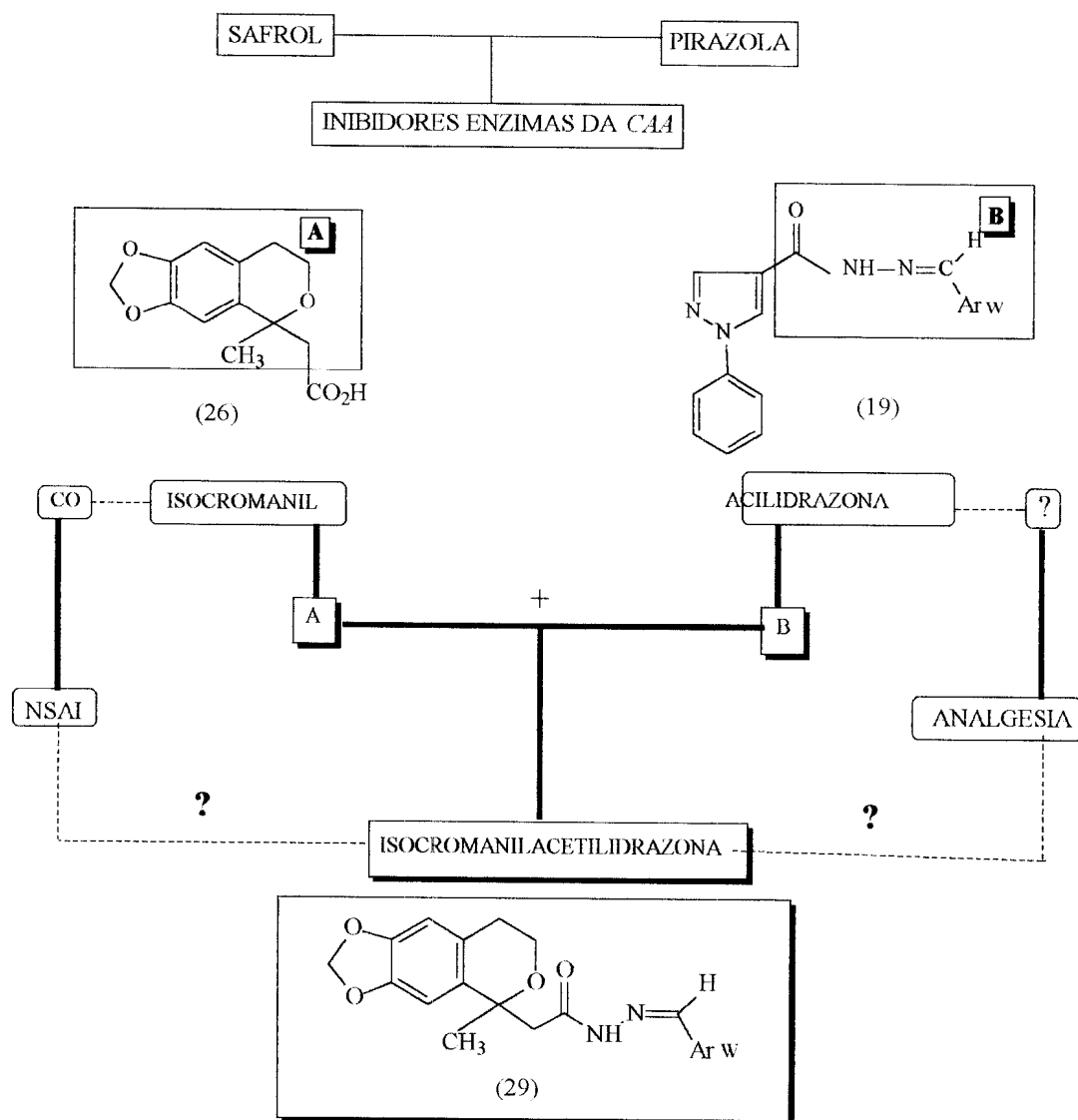
A natureza da sub-unidade arila presente na função hidrazônica, assim como dos substituintes W, foram definidos visando obterem-se compostos com distintos perfis lipofílicos e eletrônicos (Figura 12), além de se aplicar o princípio do bioisosterismo (Barreiro, 1991) de maneira a subsidiar, posteriormente, o estudo do provável papel destes substituintes quanto aos efeitos que causam na atividade observada (Quadro 2).

Quadro 1 - Valores de Π referente aos substituintes selecionados*.

Substituintes	
4-NO₂	-0,28
4-N(CH₃)₂	-0,08
4-OCH₃	-0,03
H	0,00
3-NO₂	0,11
4-Br	1,19

*Kubini, 1993

Esquema 1 - Racionalização da proposta dos novos derivados
ISOCROMANILACETILIDRAZONA



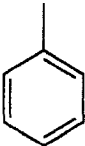
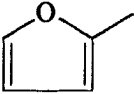
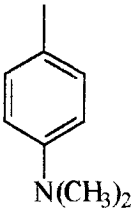
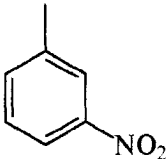
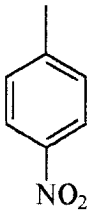
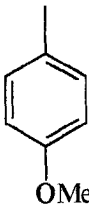
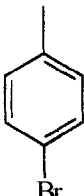
 (29a)	 (29b)
 (29c)	 (29d)
 (29e)	 (29f)
 (29g)	

Figura 12 - Ar-W selecionados para construir a unidade Acetilidrazona.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

III - RESULTADOS E DISCUSSÃO

1 - METODOLOGIA SINTÉTICA

A metodologia sintética proposta para a síntese dos derivados isocromanilacilidrazônicos (29) foi traçada baseando-se na análise retrossintética ilustrada na figura 13, a partir do safrol (20).

A análise retrossintética nos leva a identificar a isocromanilacetilidrazida (37) como intermediário chave. Pela análise mostrada, a simples condensação da isocromanilacetilidrazida com os aldeídos conduziria a obtenção dos derivados isocromanilacetilidrazônicos desejados (29).

Este intermediário-chave pode ser obtido por interconversão clássica de grupos funcionais a partir do ácido 6,7-metilenodióxi-isocromanil-acético (26) descrito por Silva (1993), que pode ser obtido através de uma reação de condensação ácido-catalisada, representando uma variante da reação de Friedel-Crafts, a partir do álcool (39), por sua vez obtido através da clivagem oxidativa do safrol (20).

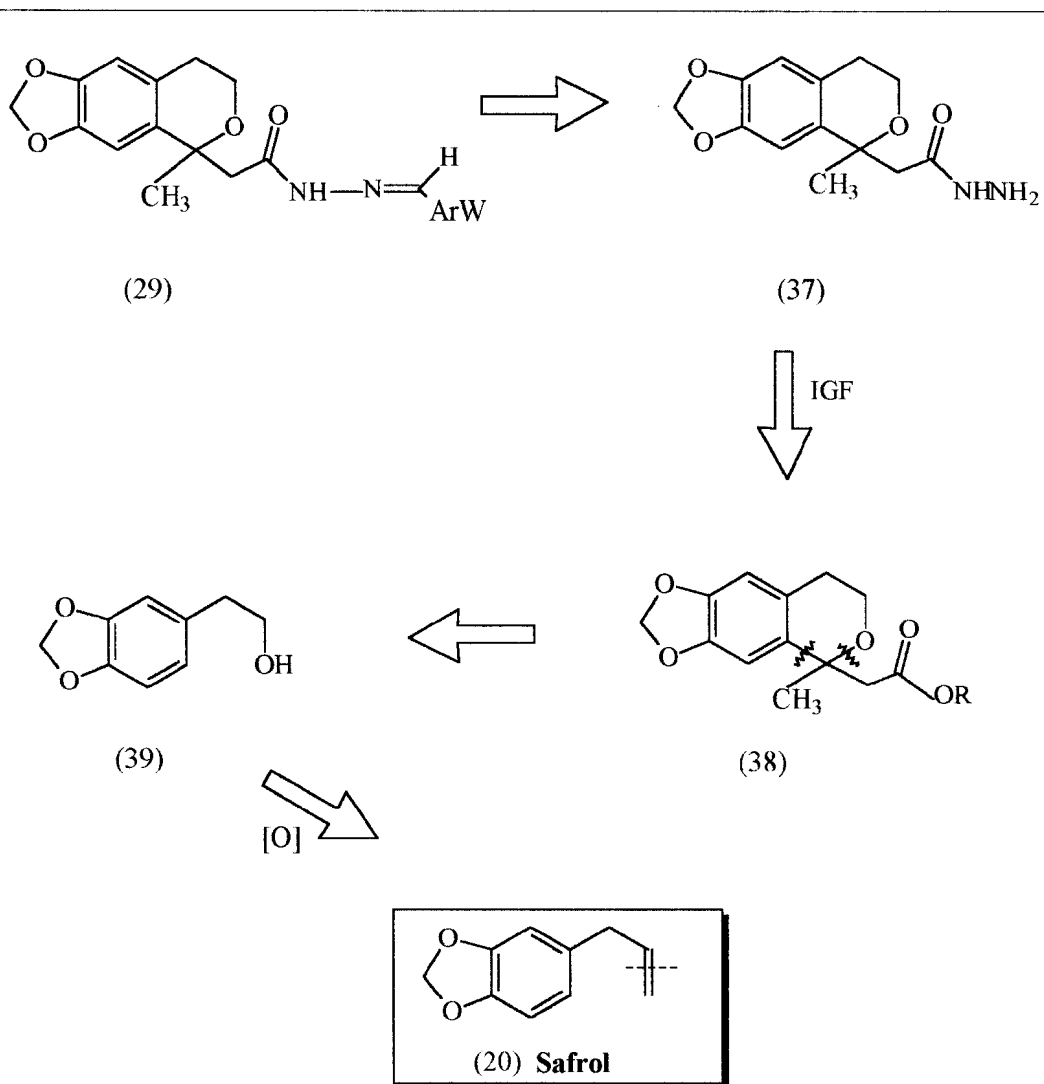
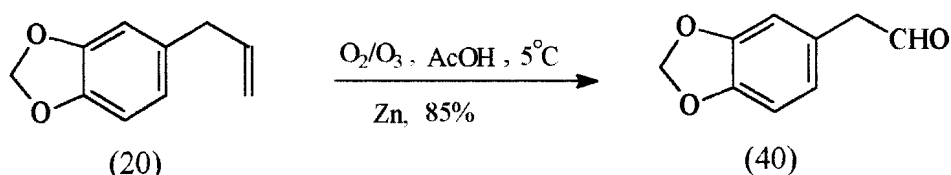


Figura 13 - Análise retróssintética

Em conformidade com a análise retrossintética ilustrada, esta via sintética necessitava inicialmente do 3,4-metilenodióxi-fenil-etanol (álcool homopiperonílico) (39). Segundo metodologia amplamente empregada no laboratório, decidimos prepará-lo a partir do homopiperonal (40), por simples redução. A preparação de 40, a partir do safrol (20) foi realizada explorando-se a clivagem oxidativa por ozonólise (Barreiro, 1985) (Esquema 2).

Esquema 2 - Obtenção do homopiperonal por ozólise do safrol (20).



Criegee et al. isolaram vários ozonídeos e determinaram suas estruturas (Kuczkowski, 1992), conduzindo-os a descrever a formação do ozonídeo em um mecanismo de três etapas (Figura 14). Inicialmente a reação de cicloadição entre o ozônio 1,3-dipolo e o alceno dipolarizado conduz para 41, que é chamado de molozonídeo ou ozonídeo primário. O molozonídeo (41) instável cliva para um composto carbonílico estável (40), e o chamado intermediário de Criegee (42). O óxido carbonílico (42) rapidamente combina-se com o composto carbonílico gerado para produzir 43 via a reação de cicloadição análoga à primeira etapa.

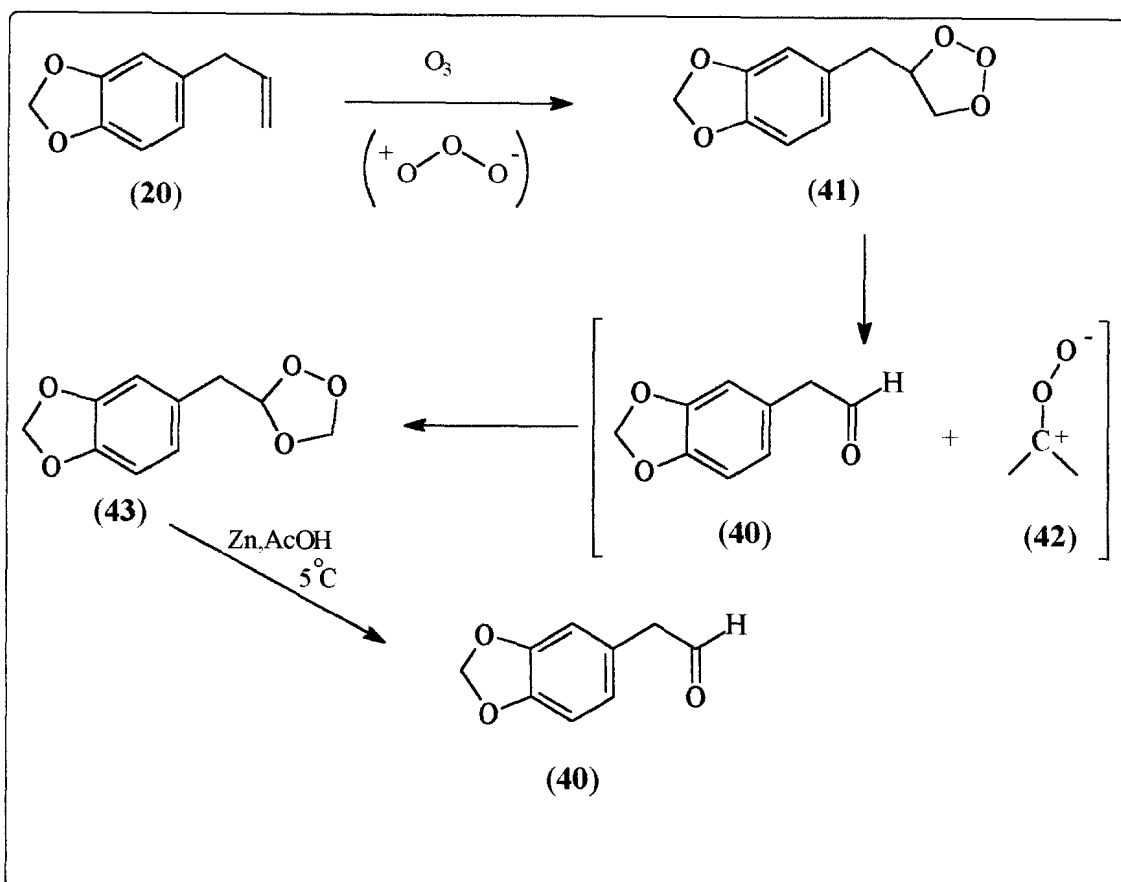
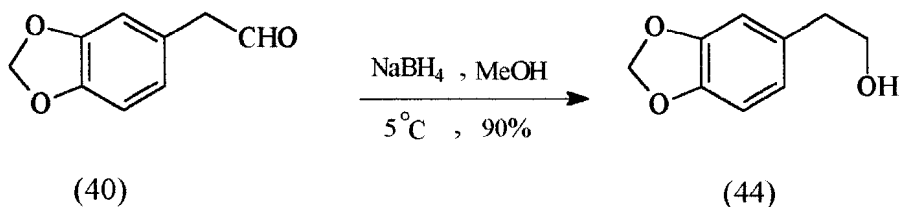


Figura 14 - Mecanismo de formação do ozonídeo proposto por Criegee..

Neste processo, o ozonídeo formado foi reduzido pela adição de zinco metálico ao meio reacional, obtendo-se o homopiperonal (40) em 85% de rendimento (Esquema 2).

A seguir o aldeído (40) após caracterização (Espectros nº 1 e 2) foi submetido a redução pelo boroidreto de sódio em metanol a $5^\circ C$, obtendo-se o álcool homopiperonílico (44) em 90% de rendimento (Barreiro, 1985) (Esquema 3).

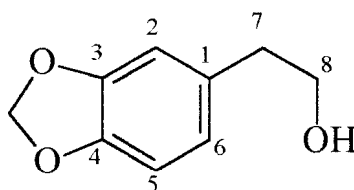
Esquema 3 - Redução do homopiperonal (40) com NaBH_4 para o álcool correspondente



O álcool 44 foi caracterizado espectroscopicamente usando-se RMN^1H e RMN^{13}C (Tabela 2). O espectro de RMN^1H (Espectro nº3) mostrou um sinal de deslocamento químico δ_{H} 2,53 atribuído ao próton hidroxílico, e dois sinais triplos em δ_{H} 2,71 ($J=6,7$) e δ_{H} 3,78 ($J=6,7$) correspondendo aos hidrogênios metileno benzílicos e carbinólicos respectivamente, além dos sinais do grupo metilenodióxi [δ_{H} 5,86 (s)] e dos hidrogênios aromáticos H-2 [δ_{H} 6,67 (d, $J=1,5$ Hz), H-5 [δ_{H} 6,70 (d, $J=7,8$ Hz) e H-6 [δ_{H} 6,62 (dd, $J=7,8$ e 1,5 Hz).

A análise comparativa dos espectros de RMN^{13}C - PND [Proton Noise Decoupled : todos os sinais de carbono-13 representados por singletos (Espectro nº4)] e RMN^{13}C -DEPT [Distortionless Enhancement by Polarization Transfer, $\theta = 90^\circ$: somente sinais de CH; $\theta = 135^\circ$: sinais de CH e CH_3 em fase oposta de CH_2 (Espectro nº 5); sinais de carbonos quaternários ausentes] permitiram reconhecer a multiplicidade dos sinais correspondentes a C (C-1, C-3 e C-4), CH (C-2, C-5 e C-6) e CH_2 (C-7, C-8 e OCH_2O) (Tabela 2).

Tabela 2 - Dados de RMN¹H (200MHz) e de ¹³C (50,3 MHz) de 44, registrado em CDCl₃ e TMS como referência interna. Deslocamentos químicos em δ =(ppm) e constante de acoplamento (J) em hertz.

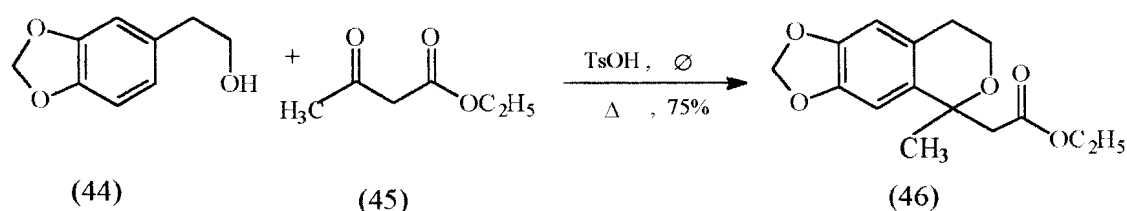


	δ_C	δ_H
C		
1	132,13	
3	147,25	
4	147,25	
CH		
2	107,89	6,67 (d,J=1,5)
5	109,02	6,71 (d,J=7,8)
6	121,51	6,63 (dd,J=7,8 e J=15)
CH₂		
7	38,43	2,71 (t,J=6,7)
8	63,17	3,78 (t,J=6,7)
OCH ₂ O	100,50	5,86 (s)
OH		2,53(sl)

A próxima etapa da rota sintética consiste em uma reação de hemiacetalização envolvendo o oxigênio do grupo hidroxila do álcool 44 e o acetoacetato de etila (45) (Silva, 1993). O heme-cetal pode formar o íon oxônio por catálise ácida equivalente a reação de Friedel-Crafts, que numa etapa subsequente sofre o ataque nucleofílico regioselectivo do C-6 do sistema aromático ativado, levando à construção do sistema heterocíclico desejado (Esquema 4).

Desta forma, o éster 46 foi obtido com 75% de rendimento quando refluxou-se uma solução benzênica do álcool 44 na presença de quantidade catalítica de ácido p-tolueno sulfônico (TsOH) e de acetoacetato de etila (45). O éster (46) mostrou-se contaminado pelo acetoacetato de etila, sendo purificado por extração com solução de KOH 30% (p/v) (Cabral, 1993).

Esquema 4 - Reação de hemicetalização do álcool homopiperonílico (44) para obtenção do éster 46.



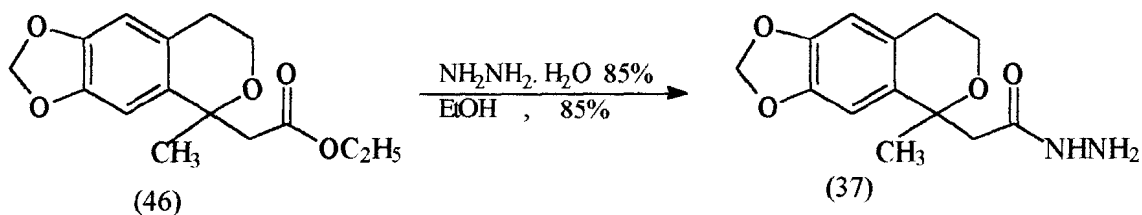
A análise dos espectros de RMN¹H do éster 46 (Espectro n° 7), permitiu reconhecer os sinais dos hidrogênios ligados ao C-11 em δ_H 2,90 e δ_H 2,73 (J=13,5 Hz) formando um sistema AB. Em δ_H 2,71 (J=6,76 Hz) observou-se a presença do triplete referente aos hidrogênios do grupo metileno benzílico. O grupo carboetoxi foi caracterizado pelos sinais δ_H 1,20 e δ_H 4,10. O sinal da metila ligado ao C-1 aparece como singlete em δ_H 1,27, sendo o sinal simples em δ_H 5,90 atribuído aos hidrogênio do grupamento metilenodióxi.

O espectro de RMN¹³C (Espectro n° 8) mostrou um sinal a δ_C 169,98 referente ao carbono da carbonila do éster etílico. O carbono do metilenodióxi foi identificado através de um sinal a δ_C 100,63. Em δ_C 75,20 observou-se o sinal referente ao carbono quaternário carbinólico do anel tetrahidropirano.

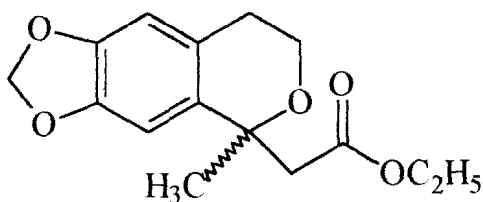
Conforme ilustrado na análise retrossintética (Figura 13) verifica-se que, a isocromanilacetilidrazida (37) foi considerada como um intermediário-chave para a

obtenção dos derivados isocromanilacetilidrazônicos (29). Desta forma, a próxima etapa da rota sintética estudada compreende sua formação a partir do éster (46) com hidrazina hidratada (85%) (Dias,1992), fornecendo o produto desejado sob a forma de cristais brancos, em 85% de rendimento (Esquema 5).

Esquema 5 - Reação de obtenção da isocromanilacetilidrazida (37) à partir do éster (46).



O éster 46 utilizado na preparação da hidrazida (37) compreende uma mistura dos enantiômeros (46a e 46b), o que determinou a formação dos produtos 37a (*R*) e 37b (*S*) como uma mistura racêmica (Figura 15).



46a- 1 α -CH₃ (*S*)

46b- 1 β -CH₃ (*R*)

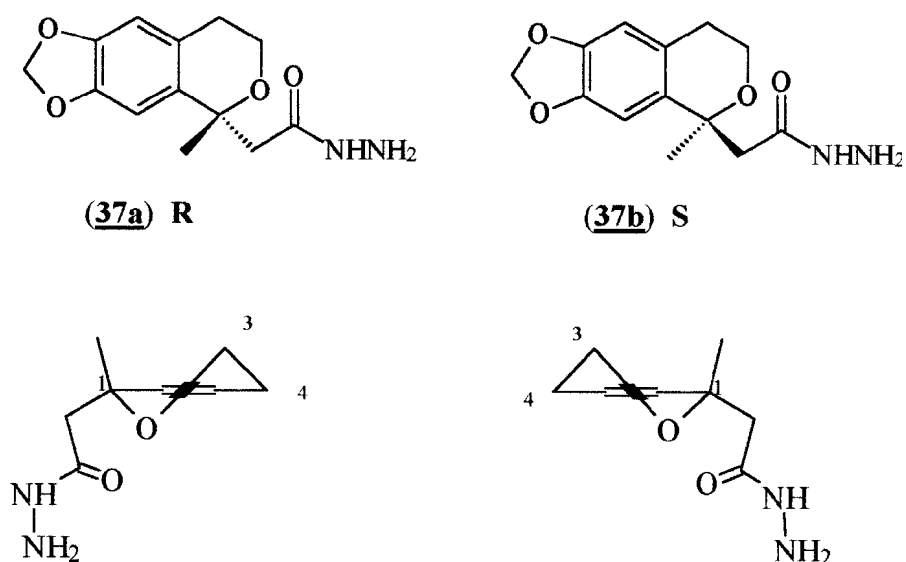
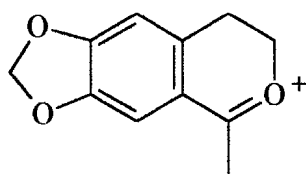


Figura 15 - Configuração R (37a) e S (37b) dos enantiômeros cocnstituintes da mistura racêmica das hidrazidas.

O espectro IV de 37 (Espectro nº 9) apresentou bandas nas regiões de absorção correspondentes a frequência de estiramento de NH (3360 cm^{-1}) e carbonila (1670 cm^{-1}).

A análise do padrão de fragmentação do espectro de massas (Figura 16; Espectro nº 10) revelou picos em m/z 264 (12%), atribuído ao íon molecular, e em m/z 191 (100%), formado pela cisão homolítica da ligação entre os carbonos 1 e 11, confirmando a estrutura proposta.



m/z 191

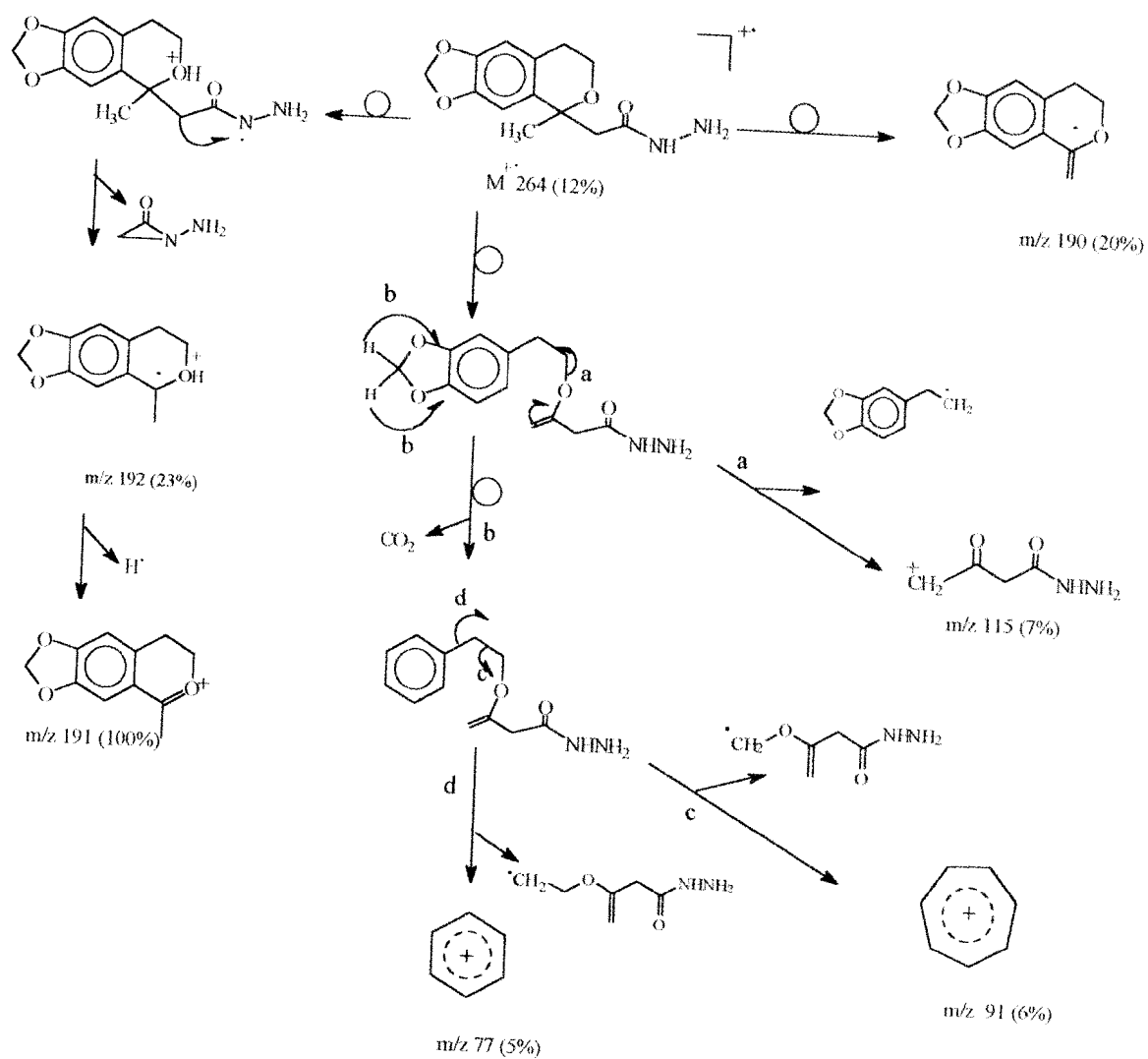


Figura 16 - Fragmentações propostas para Isocromanilacetilidrazida (37).

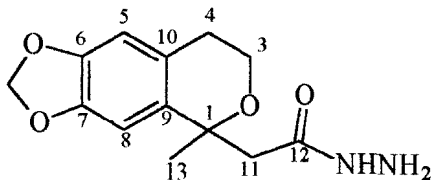
O espectro de RMN¹H (200 MHz, Espectro n° 11) apresentou sinais simples largos em δ_H 7,76, referente ao NH, e δ_H 3,76 correspondente ao NH₂. Os prótons aromáticos H-5 e H-8 apareceram representados pelos sinais simples δ_H 6,50 e 6,53, confirmando a não equivalência química destes átomos de hidrogênio. A correlação inequívoca dos deslocamentos químicos δ_H 6,50 com H-5 e δ_H 6,53 com H-8 foi estabelecida definitivamente com base em resultados de NOE (Espectro n° 17), obtido por subtração de espectros (¹H{¹H}-NOE) após irradiação dupla na frequência dos hidrogênios da metila (δ_H 1,48,3H-13), observando-se NOE=3% no H-8. O espectro bidimensional de correlação heteronuclear (Espectro n°15) de hidrogênio e carbono-13 ligados diretamente (¹Hx¹³C-COSY-¹J_{CH}), revelou a ligação destes átomos de hidrogênio com os respectivos carbonos representados pelos sinais δ_C 108,21 (C-5) e δ_C 105,26 (C-8). O menor deslocamento químico de C-8 (δ_C 105,26) em relação a C-5 (δ_C 108,21) decorre dos efeitos 7 exercidos pelo grupo metila C-13 (δ_C 27,09) e metilênico C-11 (δ_C 47,38).

O NOE (1%) observado no H-3 [δ_H 3,85-3,97 (m)] após irradiação na frequência de absorção dos hidrogênios metílicos [δ_H 1,48 (s)] serviu também para definir a posição axial ocupada preferencialmente pela metila. Este resultado pode ser justificado pela menor interferência estérica com o grupamento acilidrazina assumindo a posição equatorial, atenuando-se assim interações espaciais do tipo 1,3-diaxiais. O sinal em δ_H 3,85 (2H-3) foi correlacionado com o carbono que absorve em δ_C 59,47 (C-3) no espectro bidimensional de correlação heteronuclear de hidrogênio e carbono-13 a uma ligação (¹J_{CH}).

A atribuição dos deslocamentos químicos dos átomos de carbono (Tabela 3) foi baseada na análise comparativa dos espectros de RMN¹³C-PND (desacoplado de prótons) (Espectro n°12), RMN¹³C-DEPT (Distortionless Enhancement by Polarization Transfer) e nos espectros bidimensionais (2D) de correlação homonuclear de hidrogênio {COrrrelation SpectroscopY (¹Hx¹H-COSY)} (Espectro n°14) e heteronuclear de hidrogênio e carbono-13 através de uma ligação (¹Hx¹³C-COSY-¹J_{CH}) (Espectro n° 15) e a longa distância [¹Hx¹³C-COSY-nJ_{CH} (n=2 e 3, COLOC=COrrrelation spectroscopy via LOng-range Coupling)] (Espectro n° 16).

Os espectros DEPT (Espectro nº 13) permitiram reconhecer os sinais correspondentes a carbonos metínicos ($\theta=90$, somente sinais CH), metilênicos e metílicos ($\theta=135$, sinais de CH e CH₃ em fase oposta dos de CH₂). Os sinais de carbonos quaternários foram deduzidos pela diferença entre os sinais observados no espectro totalmente desacoplados (PND) e os registrados com a técnica DEPT. Os sinais de átomos de carbono quaternário não aparecem no DEPT porque a experiência envolve a modulação pela interação de átomos de carbono e hidrogênio ligados entre si.

Tabela 3 - Dados de RMN¹H (200MHz) e ¹³C (50.3 MHz) de **37**, registrado em CDCl₃ e TMS como referência interna. Deslocamentos químicos em δ (ppm) e constante de acoplamento (J) em Hz.



	¹ H x ¹³ C-COSY- ¹ J _{CH}		¹ H x ¹³ C-COSY- ⁿ J _{CH} (n=2 e 3 COLOC)	
	δC	δH	² J _{CH}	³ J _{CH}
C				
1	75,42		3H-13;2H-11	H-8
6	146,16			OCH ₂ O ; H-8
7	146,16			OCH ₂ O; H-5
9	132,61			3H-13 ; 2H-11;H-5
10	125,97		2H-4	2H-3 ; H-8
12	170,70		2H-11 ; NH-12	
CH				
5	108,21	6,50 (s)		H-4
8	105,26	6,53 (s)		
CH2				
3	59,47	3,85-4,00 (m)	2H-4	
4	29,00	2,51-2,60 (m)		H-5
11	47,38	2,61-2,90 (m)		3H-13
OCH ₂ O	100,73	5,87 (m)		
CH ₃	27,09	1,48 (s)		2H-11
NH		7,76 (sl)		
NH ₂		3,76 (sl)		

A última etapa da síntese proposta compreende a construção da função acilidrazona (Dias,1992). Os compostos desejados [29a-29g (Figura 17)] foram obtidos a partir da reação da acilidrazida (37) e aldeídos aromáticos selecionados (Figura 12) em etanol, catalisada por ácido clorídrico sob refluxo, com rendimentos variando de 75 a 94 % (Tabela 4).

Esquema 6 - Reação de obtenção dos derivados Isocromanilacetilidrazônicos (29)

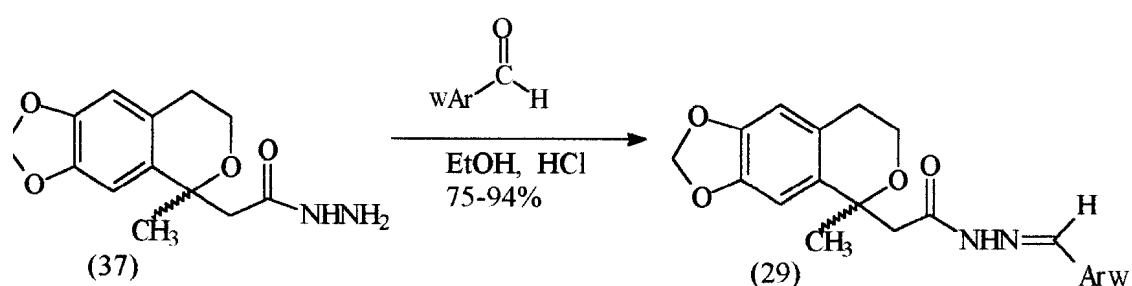
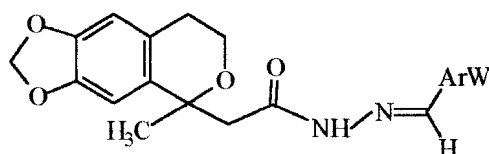


Tabela 4 - Características dos derivados Isocromanilacetilidrazônicos



COMPOSTO	ArW	RENDIMENTO	P.F. (°C)	CARACTERÍSTICA
29 a	-C ₆ H ₅	75%	78-80	sólido branco
29 b	-C ₄ H ₃ O	88%	88-91	sólido branco
29 c	4-N(CH ₃) ₂ -C ₆ H ₅	94%	93-94	crystal amarelo
29 d	3-NO ₂ -C ₆ H ₅	70%	183-184	sólido amarelo claro
29 e	4-NO ₂ -C ₆ H ₅	74%	226-228	sólido amarelo
29 f	4-OMe-C ₆ H ₅	82%	168-169	sólido branco
29 g	4-Br-C ₆ H ₅	78%	178-181	sólido branco

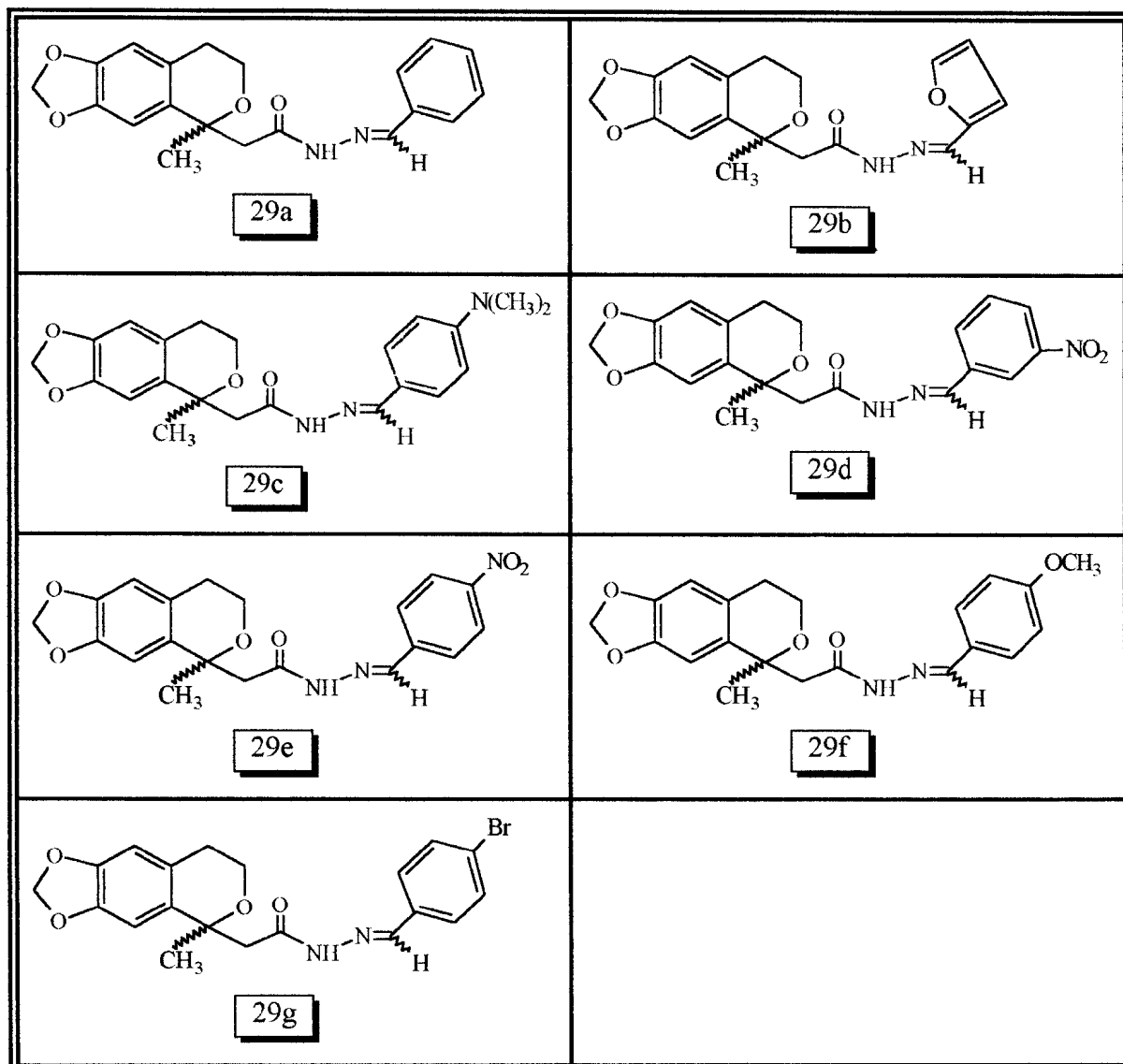
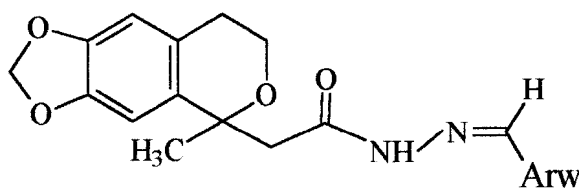


Figura 17- Derivados Isocromanilacetilidrazônicos sintetizados.

Nos espectro de IV (Espectros n^{os} 18, 27, 35, 43, 48, 53, 61) desta série observamos absorções em torno de 3.400 e 3.200 cm⁻¹ (Tabela 5) relacionadas as bandas de estiramentos axial resultantes das deformações simétricas e assimétricas de NH, além das absorções da carbonila. Os espectros de massas destes compostos mostraram-se coerentes com as estruturas propostas, apresentando o pico m/z 191 característico nesta série, presente em todos os derivados.

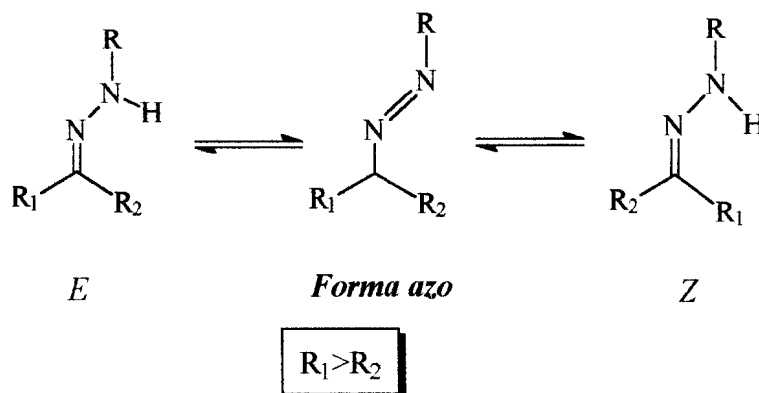
Tabela 5 - Principais absorções dos derivados Isocromanilacilidrazônicos na espectroscopia de IV.



<i>COMPOSTO</i>	<i>PRINCIPAIS ABSORÇÕES (cm⁻¹)</i>
29a	3.430;3.200 (NH); 1664 (C=O)
29b	3.450;3.215 (NH); 1670 (C=O)
29c	3.450;3.201 (NH); 1.655 (C=O)
29d	3.393;3.193 (NH); 1.669 (C=O)
29e	3.413;3.170 (NH); 1.665 (C=O)
29f	3.435;3.170 (NH); 1.661 (C=O)
29g	3.450;3.180 (NH); 1.662 (C=O)

A análise dos espectros de RMN¹H (Espectros n^{os} 20, 28, 37, 45,50, 54, 62) e ¹³C (Espectros n^{os} 21, 29, 38, 46, 51, 55, 63) (Tabelas 6 - 12) permitiu reconhecer a presença de dois diastereoisômeros *E* (70%) e *Z* (30%) como produtos esperados desta reação de adição-eliminação à carbonila do benzaldeído (Carey, 1990). Com base na mistura racêmica da acetilidrazida (37a e 37b) utilizada na preparação dos produtos (29 a-29g) pode-se deduzir que cada um dos diastereoisômeros *E* e *Z* contém dois outros enantiômeros, em decorrência do átomo de carbono quiral C-1 com configuração *R* e *S*.

Os isômeros foram caracterizados com base nos deslocamentos químicos dos átomos de hidrogênio H-7', HN-12 e carbono CH₂-11, C-12 e CH-7'. A possibilidade da presença da forma azo em quantidade suficiente para ser observada por RMN¹H e ¹³C, foi afastada definitivamente, embora esta forma tautomérica possa ser postulada como intermediária na interconversão *E* ↔ *Z*, essencial para alcançar o equilíbrio referido por Karabatsos *et al* (1963).



Os sinais de H-7'e HN-12 no estereoisômero *E* revelaram maiores deslocamentos químicos e intensidades [29a *E* : δ H 8,00 (s,H-7') e 9,83 (s,HN-12)] do que em *Z* [29a *Z* : δ H 7,70 (s,H-7') e 9,18 (s,HN-12)] (Tabela 6) como previsto pelos dados descritos na literatura (Bovey *et al*, 1987).

Os espectros bidimensionais de correlação heteronuclear de hidrogênio e carbono-13 via uma ligação (¹Hx¹³C-COSY-¹J_{CH}) (Espectros n^{os} 24, 32, 41, 58, 65) e a longa distância [¹Hx¹³C-COSy-ⁿJ_{CH} (n = 2 e 3)] (Espectros n^{os} 25, 33, 42, 59, 65)

foram utilizados para garantir as atribuições dos deslocamentos químicos dos átomos de hidrogênio e carbono-13 e identificar as estruturas dos estereoisômeros *E* e *Z* dos produtos sintetizados (29), como pode ser verificado através da análise envolvendo 29a*E* e 29a*Z* (Tabela 6), servindo como exemplo que se aplica aos outros produtos (Tabelas 7 a 12). A atribuição dos deslocamentos químicos dos átomos de hidrogênio 2H-3, 2H-4, H-5, H-8 e OCH₂O e carbono C-1 a C-10 utilizando estas experiências bidimensionais já foi discutida e, por isto, a discussão adicional restringe-se à parte restante da molécula 29a*E* e 29a*Z*.

As absorções em δ_H 8,01 (s) e 7,70 (s) correspondem a átomos de hidrogênio H-7' que estão ligados aos carbonos C-7' representados por sinais em δ_C 147,10 e 143,75 de *E* [C-H : δ_H 8,01 (S), δ_C 147,10 (d)] e *Z* [C-H : δ_H 7,70(S) , δ_C 143,75 (d)]. Os sinais de hidrogênio e carbono de *E* com maiores deslocamentos químicos são mais intensos. A atribuição dos deslocamentos químicos dos hidrogênios e carbonos CH₂-11, C-12 e CH₃-13 para cada um dos estereoisômeros *E* e *Z* baseou-se nos seguintes dados obtidos dos espectros bidimensionais acima referidos: a) o carbono metilênico C-11 de *E* que absorve em δ_C 48,37 está ligado aos hidrogênios que absorvem entre δ_H 3,0-2,7 (sistema AB que aparece superposto com os sinais dos hidrogênios metilênicos CH₂-4; b) o carbono metilênico de *Z* foi definido pelos sinais em δ_C 42,49 e δ_H 3,46 (d,J=13 Hz) e 3,10 (d,J=13 Hz); c) CH₃-13 : δ_C 27,20 e δ_H 1,56 (*E*), δ_C 28,36 e δ_H 1,63 (*Z*); d) o átomo de C-11 (δ_C 48,37) de *E* interage spin-spin com os 3H-13, interações através de três ligações (³J_{CH}), o mesmo ocorrendo com o C-11 (δ_C 42,49) de *Z* com 3H-13 (δ_H 1.63); e) o sinal do carbono carbonílico C-12 (δ_C 166,45) de *E* interage com HN-12 (δ_H 9,83) e 2H-11 (δ_H 3,0-2,7), enquanto o C-12 (δ_C 172,87) de *Z* acopla com os 2H-11 (δ_H 3,46 e 3,10), que afastaram definitivamente a possibilidade da presença da forma tautomérica azo, já que a interação do grupo carbonila com prótons metilênicos CH₂-7' envolveria ⁴J_{CH} e da CH₂-7' com os 3H-13 ⁷J_{CH}.

Com base nos deslocamentos químicos dos CH₂-11 de *E* (δ_C 48,37) e de *Z* (δ_C 42,49) pode-se indicar as conformações representadas (29 a-g) como favorecidas, demonstrando-se nos estereoisômeros *Z* o efeito γ do nitrogênio ligado

ao carbono C-7' sobre o carbono metilênico CH₂-11 e, conseqüentemente, o menor deslocamento químico quando comparado com o valor observado para *E* (Figura 20).

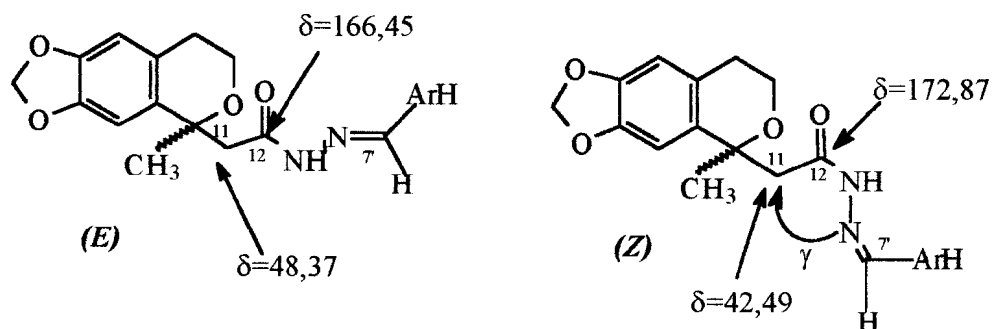
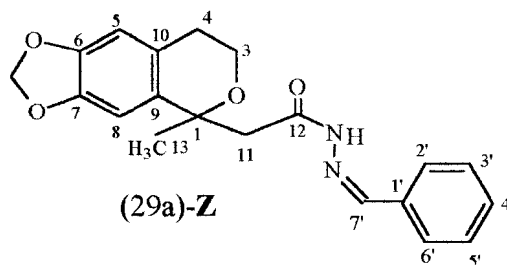
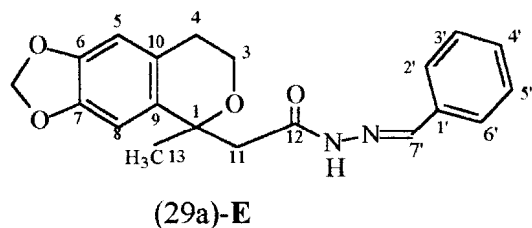


Figura 18 - Conformações indicadas como favorecidas para os estereoisômeros *E* e *Z*.

A maior blindagem eletrônica de C-12 de *E* pode ser justificada pela melhor acomodação de planaridade e facilidade de deslocalização eletrônica por mesomeria aumentando a densidade eletrônica do carbono carbonílico ($\delta=166,45$ ppm). As implicações estéticas nos estereoisômeros *Z* dificultam a planaridade necessária para a deslocalização eletrônica e, conseqüentemente, o carbono carbonílico apresenta menor densidade eletrônica, e em decorrência maior deslocamento químico ($\delta = 172,87$ ppm).

Tabela 6 - Dados de RMN¹H (200MHz) e ¹³C (50.3 MHz) de **29a**, registrado em CDCl₃ e TMS como referência interna . Deslocamentos químicos em δ (ppm) e constante de acoplamento (J) em Hz .

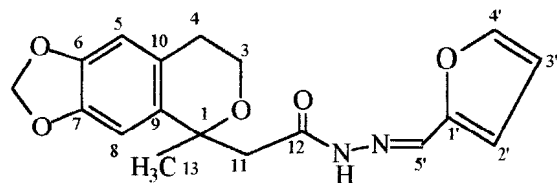
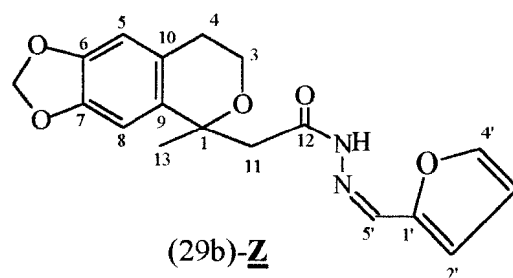


	¹ H x ¹³ C-COSY- ¹ J _{CH}		¹ H x ¹³ C-COSY - ⁿ J _{CH}		¹ H x ¹³ C-COSY- ¹ J _{CH}		¹ H x ¹³ C-COSY ⁿ J _{CH}	
	δ _C	δ _H	² J _{CH}	³ J _{CH}	δ _C	δ _H	² J _{CH}	³ J _{CH}
C								
1	75,97		3H-13		75,88			
6	146,25			H-8	145,77			H-8
7	146,37			H-5	145,89			H-5
9	132,34			3H-13;H-5	134,58			3H-13 ; H-5
10	126,48			H-8	125,79			H-8
12	166,45		NH ; 2H-11		172,87		2H-11	
1'	133,48		H-7'		133,85			
CH								
5	108,25	6,50 (s)			106,25	6,52 (s)		
8	105,39	6,59 (s)			105,51	6,66 (s)		
2'6'	127,46	7,70 (m)		H-7',H-4'	126,91	7,61(m)		H-7'; H-4'
3'5'	128,39	7,4-7,3			128,54	7,4-7,3		
4'	130,12	7,4-7,3			129,76	7,4-7,3		
7'	147,10	8,00 (s)		HN-12	143,75	7,70 (s)		
CH₂								
3	59,72	4,1-3,9 (m)			59,86	4,0-3,7 (m)		
4	29,18	2,8-2,5		H-5	29,24	2,75-2,50 (m)		
11	48,37	2,9-2,8 (m)	3H-13		42,49	3,46(d,J=14) 3,10(d,J=14)	3H-13	
OCH₂O	100,80	5,9-5,8(s)			100,60	5,9-5,8 (s)		
CH₃								
13	27,20	1,56 (s)			28,36	1,63 (s)		
NH		9,83 (sl)				9,18		

As modificações nos deslocamentos químicos dos átomos de carbono e hidrogênio aromáticos da unidade acilidrazônica dos derivados substituídos (29b-29g) (Tabelas 7-12), reveladas pela comparação com os dados correspondentes ao derivado não substituído (29a) (Tabela 6), são consistentes com as alterações eletrônicas provocadas pela influência dos grupos doadores e receptores de elétrons presentes nesta porção da molécula.

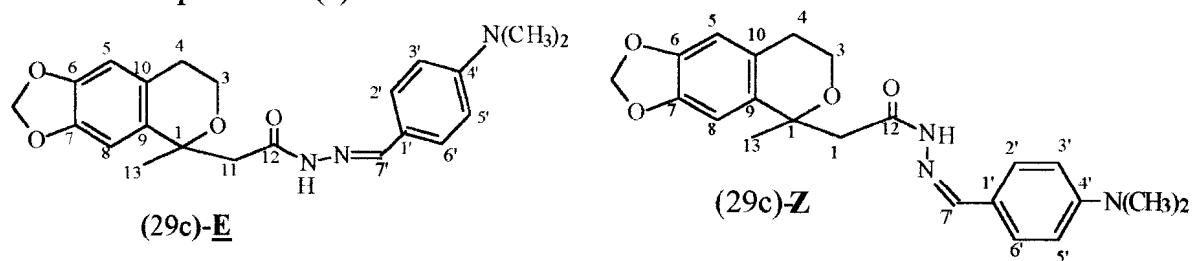
Após caracterização, os novos derivados isocromanilacetilidrazônicos (29a-29g) foram enviados para análise de possíveis atividades analgésicas e antiinflamatórias.

Tabela 7-Dados de RMN¹H (200MHz) e ¹³C (50.3 MHz) de **29 b**, registrado em CDCl₃ e TMS como referência interna . Deslocamentos químicos em δ (ppm) e constante de acoplamento (J) em Hz.

(29b)-E(29b)-Z

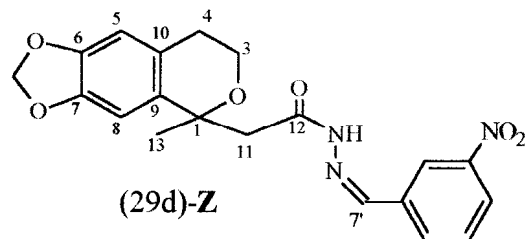
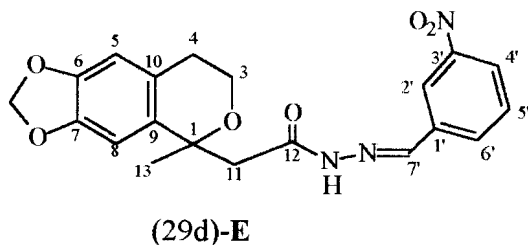
	¹ H x ¹³ C-COSY- ¹ J _{CH}		¹ H x ¹³ C-COSY- ⁿ J _{CH}		¹ H x ¹³ C-COSY- ¹ J _{CH}		¹ H x ¹³ C-COSY- ⁿ J _{CH}	
	δ _C	δ _H	² J _{CH}	³ J _{CH}	δ _C	δ _H	² J _{CH}	³ J _{CH}
C								
1	75,79		3H-13	H-8	75,79			
6	146,10			H-8	145,70			
7	146,19			H-5	145,77			
9	132,36			3H-13	134,54			
10	125,82			H-8	126,10			
12	166,60		NH		172,78		2H-11	
1'	149,06		H-5'	H-3'	149,19		H-5'	
CH								
5	108,04	6,49 (s)		H-4	111,63	6,44 (s)		H-4
8	105,29	6,57 (s)			111,63	6,64 (s)		
2'	133,38	7,24 (s)			129,82	7,20 (s)		
3'	112,87	6,67 (m)			112,37	6,67 (m)		
4'	144,17	7,46 (s)			144,00	7,46 (s)		
5''	137,31	8,21 (s)		NH	137,39	7,60 (s)	NH	
CH₂								
3	59,57	3,80-4,00 (m)			59,71	3,80-40,0 (m)		
4	29,03	2,55-2,65 (m)		H-5	28,75	2,55-2,65 (m)		
11	48,54	2,83 (d,J=14)		3H-13	42,31	3,45 (d,J=14)		3-H-13
		2,87 (d,J=14)				3,03 (d,J=14)		
OCH₂O	100,68	5,88 (s)			100,50	5,88 (s)		
CH₃								
13	27,15	1,54 (s)		2H-11	28,23	1,60 (s)		
NH		9,79 (sl)				9,40 (sl)		

Tabela 8 - Dados de RMN¹H (200MHz) e ¹³C (50.3 MHz) de **29c**, registrado em CDCl₃ e TMS como referência interna . Deslocamentos químicos em δ (ppm) e constantes de acoplamento (J) em Hz.



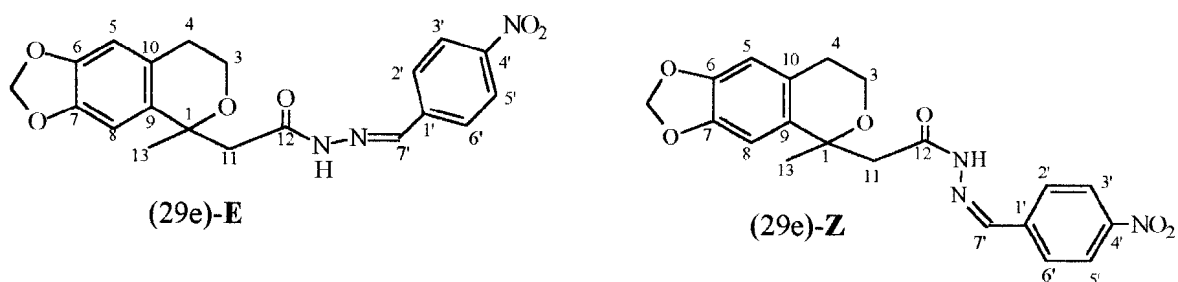
	¹ H x ¹³ C-COSY- ¹ J _{CH}		¹ H x ¹³ C-COSY - ⁿ J _{CH}		¹ H x ¹³ C-COSY- ¹ J _{CH}		¹ H x ¹³ C-COSY ⁿ J _{CH}	
	δ _C	δ _H	² J _{CH}	³ J _{CH}	δ _C	δ _H	² J _{CH}	³ J _{CH}
C								
1	75,82		3H-13		75,82			
6	146,19			H-8	146,00			
7	146,17			H-5	146,00			
9	132,52			3H-13;H-5	134,76			
10	125,76			H-8	126,33			
12	165,84				171,97			
1'	120,96		H-7'	H-3',5	121,54		H-7'	H-3',5'
4'	151,44			H2',6';NMe ₂	151,20			H-2',6';NMe ₂
CH								
5	108,14	6,49 (s)			108,14	6,52 (s)		
8	105,46	6,59 (s)			105,32	6,61 (s)		
2'6'	128,89	7,57(d,J=9)		H-7'	128,16	7,47(d,J=8,9)		H-7'; H-4'
3'5'	111,32	6,62(d,J=9)			111,55	6,66		
7'	147,90	7,83 (s)		H-2',6'	144,48	7,58 (s)		
CH₂								
3	59,56	4,2-3,8			59,72	4,1-3,9		
4	29,09	2,8-2,9			29,15	2,9-2,6		
11	48,07	2,9(d,J=12) 2,8(d,J=12)		3H-13	42,29	3,45 (d,J=12) 3,06 (d,J=12)		
OCH₂O	100,65	5,9-5,8 (m)			100,49	5,9-5,8 (m)		
CH₃								
13	27,09	1,55 (s)			28,50	1,62 (s)		
N(CH₃)₂	39,86	2,98 (s)			39,93	2,99 (s)		
NH		9,64 (s)						

Tabela 9 - Dados de RMN¹H (200MHz) e ¹³C (50.3 MHz) de **29d**, registrado em CDCl₃ e TMS como referência interna . Deslocamentos químicos em δ (ppm) e constantes de acoplamento (J) em Hz.



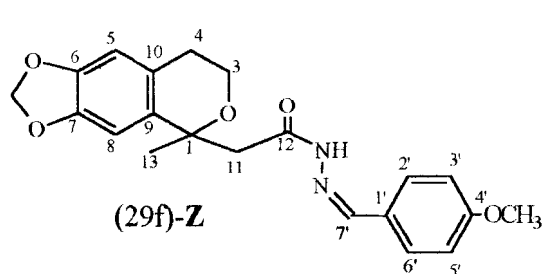
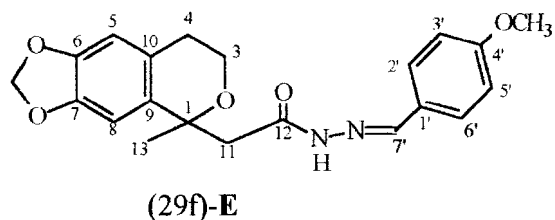
	¹ H x ¹³ C - COSY- ¹ J ^{CH}		¹ H x ¹³ C - COSY- ¹ J _{CH}	
	δ _C	δ _H	δ _C	δ _H
C				
1	76,10		76,10	
6	146,67		146,04	
7	146,67		146,04	
9	132,39		132,39	
10	125,87		125,87	
12	166,91		172,97	
1'	135,76		134,28	
3'	148,35		148,40	
CH				
5	108,43	6,49 (s)	108,43	6,49
8	105,53	6,58 (s)	105,39	6,64
2'	122,25	8,20	121,58	8,16
4'	124,38	8,11	124,11	8,07
5'	129,56	7,54	129,73	7,54
6'	132,58	7,90	132,33	7,81
7'	144,88	8,43	140,79	8,43
CH₂				
3	59,97	3,98-4,0 (m)	59,97	3,98-4,06 (m)
4	29,37	2,58-2,84 (m)	29,,37	2,58-2,84 (m)
11	48,98	2,87	43,14	3,18
		2,89		3,41
OCH₂O	100,96	5,87	100,75	5,82
CH₃				
13	27,36	1,55 (s)	28,52	1,63 (s)
NH		10,02		9,96

Tabela 10 - Dados de RMN¹H (200MHz) e ¹³C (50.3 MHz) de **29e**, registrado em CDCl₃ e TMS como referência interna . Deslocamentos químicos em δ (ppm) e constantes de acoplamento (J) em Hz.



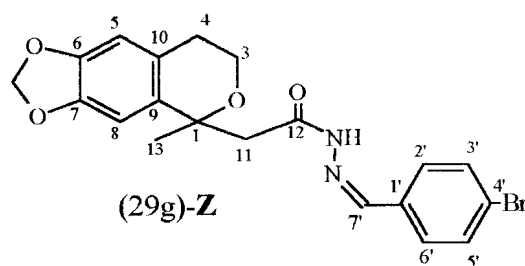
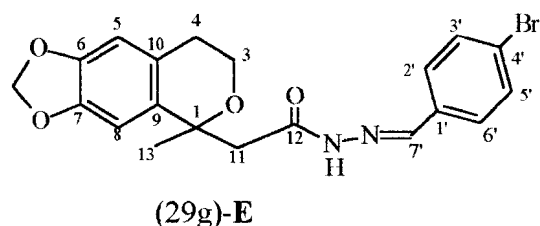
	¹ H x ¹³ C-COSY- ¹ J _{CH}		¹ H x ¹³ C-COSY- ¹ J _{CH}	
	δ _C	δ _H	δ _C	δ _H
C				
1	75,07		75,07	
6	145,39		145,38	
7	145,20		145,20	
9				
10	125,79		125,79	
12				
1'				
4'				
CH				
5	107,55	6,52	107,55	6,52
8	105,14	6,60	105,09	6,60
2'6'		7,86		7,86
3'5'		8,23		8,19
7'		8,70		8,33
CH₂				
3	58,87	4,05	58,87	4,05
4	28,57	2,67	28,57	2,67
11	46,78	2,89	42,02	2,89
OCH₂O	100,15	5,89	100,02	5,89
CH₃				
13	27,90	1,52	27,50	1,51
NH		9,90		9,90

Tabela 11 - Dados de RMN¹H (200MHz) e ¹³C (50.3 MHz) de **29f**, registrado em CDCl₃ e TMS como referência interna . Deslocamentos químicos em δ (ppm) e constantes de acoplamento (J) em Hz.



	¹ H x ¹³ C-COSY- ¹ J _{CH}		¹ H x ¹³ C-COSY- ⁿ J _{CH}		¹ H x ¹³ C-COSY- ¹ J _{CH}		¹ H x ¹³ C-COSY- ⁿ J _{CH}	
	δ _C	δ _H	² J _{CH}	³ J _{CH}	δ _H	δ _H	² J _{CH}	³ J _{CH}
C								
1	75,94		2H-11;3H-13	H-8	75,94		2H-11;3H-13	H-*
6	146,49			H-8	145,78			H-8
7	146,42			H-5	145,92			H-5
9	132,55			H-5;3H-13	134,77			H-5;3H-13
10	125,85			H-8	126,30			
12	166,20				172,39		NH;2H-11	
1'	126,67		H-7'	H-3',5	126,52		H-7'	H-3',5'
4'	161,23			H-2',6'	160,94			H-2',6'; MeO-4'
				MeO-4'				MeO-4'
CH								
5	108,26	6,48 (s)			108,26	6,50 (s)		
8	105,26	6,58 (s)			105,42	6,65 (s)		
2'6'	129,05	7,61 (m)		H-7'	128,42	7,54 (m)		H-7
3'5'	113,90	6,86 (m)			114,05	6,85 (m)		
7'	147,06	7,92 (s)		NH;H-2',6'	143,32	7,65 (s)		'H-2',6'
CH₂								
3	59,72	3,95-4,02(m)			59,86	3,95-4,02(m)		
4	29,22	2,57-2,75(m)		H-5	29,22	2,57-2,75(m)		H-5
11	48,43	2,76(d,J= 15) 2,94(d,J= 15)		3H-13	42,60	3,07(d,J=13) 3,45(d,J=13)		3H-13
OCH₂O	100,79	5,87 (s)			100,59	5,87 (s)		
CH₃								
13	27,20	1,55 (s)		2H-11	28,40	1,62 (s)		H-11a
OCH₃	55,16	3,79 (s)			55,16	3,79 (s)		
NH		9,75 (sl)				9,34 (sl)		

Tabela 12 - Dados de RMN¹H (200MHz) e ¹³C (50.3 MHz) de **29g**, registrado em CDCl₃ e TMS como referência interna . Deslocamentos químicos em δ (ppm) e constantes de acoplamento (J) em Hz..



	¹ H x ¹³ C-COSY ^l J _{CH}		¹ H x ¹³ C-COSY ⁻ⁿ J _{CH}		¹ H x ¹³ C-COSY ^{-l} J _{CH}		¹ H x ¹³ C-COSY ⁿ J _{CH}	
	δ _C	δ _H	² J _{CH}	³ J _{CH}	δ _C	δ _H	² J _{CH}	³ J _{CH}
9								
1	75,99		3H-13		75,90		3H-13	
6	146,35			H-8	145,80			H-8
7	146,46			H-5	145,88			H-5
9	132,85			H-5;3H-13	134,50			H-5;3H-11
10	125,78			H-8	126,52			H-8
12	166,53		HN-12;2H11		172,89		HN-12;2H-11	
1'	132,22		H-7'	H-3',5'	132,52		H-7'	H-3',5'
4'	124,38			H-2',6'	123,93			H-2',6'
CH								
5	108,30	6,49 (s)			108,30	6,51 (s)		
8	105,50	6,58 (s)			105,38	6,63 (s)		
2'6'	128,82	7,7-7,2			128,30	7,7-7,2		
3'5'	131,67	7,7-7,2			131,80	7,7-7,2		
7'	142,44	7,99 (s)			134,50	7,67 (s)		
CH₂								
3	59,78	4,05-3,60 (m)			59,91	3,84 (m)		
4	29,22	2,67 (m)		H-5	29,22	2,67 (m)		H-5
11	48,51	2,87(d,J=15) 2,82(d,J=15)		3H-13	42,61	3,48(d,J=13) 3,11(d,J=13)		3H-13
OCH₂O	100,87	5,89 (s)			100,68	5,83 (s)		
CH₃								
13	27,21	1,55 (s)			28,41	1,62 (s)		
NH		9,85 (s)				9,67		

2- AVALIAÇÃO FARMACOLÓGICA

A avaliação das propriedades analgésicas e antiinflamatórias destes novos compostos isocromanilacetilidrazônicos (29a-29g) foram realizados utilizando o teste de contorções abdominais induzidas pelo ácido acético (Fernandes, 1986) e o teste de edema de pata de rato induzido por carragenina (Ferreira, 1979).

Todos os resultados foram analisados estatisticamente através do teste "t" de Student para um nível de significância de $*p < 0,05$ e expressos em média \pm erro padrão.

2.1 - Testes de contorções abdominais induzidas pelo ácido acético

A administração de ácido acético na cavidade peritoneal de camundongos provoca algesia, que pode ser observada pelas contorções que os animais apresentam (Coolier, 1968). Tais contorções podem ser reduzidas pela administração prévia de drogas do tipo analgésicas e antiinflamatórias não-esteroidal. Como prostaglandina E_2 está entre a mais potente indutora de contorções abdominais dolorosas (Ferreira, 1973), substâncias que inibam a biossíntese de prostaglandinas são capazes de reduzirem a intensidade das contorções induzidas pelo ácido acético.

A atividade analgésica dos novos derivados isocromanilacetilidrazônicos (29a-g) foi determinada "*in vivo*" pelo teste de contorções abdominais induzidas pelo ácido acético 0,6% (0,1 ml/10g peso animal) em camundongos albinos*, utilizando a indometacina como padrão de analgesia. A solução de ácido acético foi administrada por via intraperitoneal uma hora após a administração oral das substâncias-teste, veiculadas em goma arábica (0,1 ml/20g peso animal) na dose de

(* Fornecidos pelo biotério do Instituto de Microbiologia - UFRJ)

100 μ moles/kg. O número de contorções observado foi registrado durante trinta minutos e comparados com o grupo controle, sendo a atividade expressa em porcentagem de inibição.

A tabela 13 ilustra os resultados obtidos no teste de contorções abdominais induzidas pelo ácido acético. A goma arábica administrada previamente não modifica de maneira significativa o número de contorções controle. A indometacina (30 μ moles/kg) reduz consideravelmente o número de contorções apresentando uma inibição de 41,4%. Os resultados indicam que os compostos 29c e 29e foram os únicos desta série que apresentaram uma atividade analgésica significativa com 53% e 33% de inibição, respectivamente. Os demais compostos não apresentaram uma inibição significantes das contorções.

Tabela 13 - Efeito dos derivados Isocromanilacilidrazônicos(29a-29g) sobre as contorções induzidas pelo ácido acético em camundongos.

Substância	Dose μ moles/kg	N	N ^o Contorções	Inibição %
Controle	-	35	99,3 \pm 33,5	-
Veículo	-	30	91,8 \pm 4,2	7,5
Indometacina	30	8	43,4 \pm 7,6	41,4*
29a	100	10	76,5 \pm 3,3	22,9 n.s.
29b	100	10	71,7 \pm 3,0	27,8 n.s.
29c	100	9	46,4 \pm 7,2	53,3*
29d	100	7	85,3 \pm 7,8	14,1 n.s.
29e	100	11	66,2 \pm 8,0	33,3*
29f	100	7	80,7 \pm 7,8	18,7 n.s.
29g	100	5	80,2 \pm 4,8	19,2 n.s.

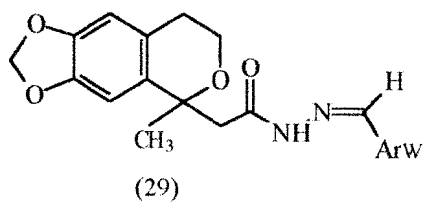
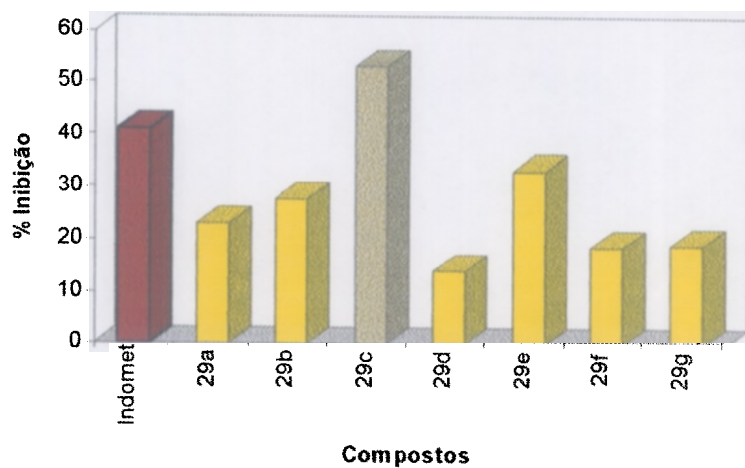
Os resultados são expressos em média \pm erro padrão.

.N = número de experimentos

.n.s. = não significativo

* $p < 0,05$ (teste "t" de Student)

Gráfico 2- Efeito dos derivados Isocromanilacilidrazônicos (29a-29g) sobre as contorções induzidas pelo ácido acético em camundongos.



 (29a)	 (29b)	 (29c)
 (29d)	 (29e)	 (29f)
	 (29g)	

O composto 29c, que apresenta o grupamento $-N(CH_3)_2$ na posição para do anel aromático do grupamento acetilidrazônico, mostra uma maior atividade analgésica. Este resultado soma-se a outros obtidos em nosso laboratório, onde compostos que possuem o mesmo grupamento citado apresentam a maior potência analgésica na sua série (Miranda *et al*, 1995) e confirma a relevância da função acilidrazona para a atividade analgésica sugerindo um caráter farmacofórico para o substituinte $-N(CH_3)_2$.

2.2 - Teste de edema de pata de rato induzida por carragenina (CIRPE)

Este ensaio é empregado na avaliação da capacidade da droga experimental em reduzir a formação do edema, um dos principais sintomas da inflamação, gerado pela administração de um agente irritante.

Foram utilizados ratos albinos de ambos os sexos, pesando entre 150-200g. Os compostos (29a-29g) foram suspensos em uma solução de goma arábica 5% e administradas por grupo de 5 animais, oralmente (0,1 ml/20g de peso animal), na dose de 100 μ moles/kg, uma hora antes da indução do edema, através da injeção de carragenina à 1% (solução em NaCl 0,9%) na região subplantar de uma das patas posteriores, e a pata contra-lateral tratada com igual volume da solução de NaCl (0,1 ml/pata). Após 3 horas os volumes das patas tratadas com carragenina e salina são medidos através de um plestimógrafo e o edema, ou a variação de volume, obtido pela diferença das duas. O grupo controle é tratado com igual volume do veículo utilizado na dissolução do composto. A porcentagem de inibição foi calculada pela comparação da média de variação do volume das patas dos grupos de animais tratados com os novos derivados (29a-29g) e com o grupo controle.

A tabela 14 apresenta os resultados obtidos com estes compostos na avaliação da atividade antiinflamatória. A indometacina (30moles/kg) apresenta uma inibição de 41,4% na formação do edema. O derivado 29g foi o único a apresentar uma atividade antiinflamatória significativa na ordem de 30%,

demonstrando que, em relação às propriedades antiinflamatórias esta classe não apresentou o perfil farmacológico esperado.

Tabela 14- Efeito dos derivados Isocromanilacilidrazônicos no edema de pata de rato induzido por carragenina.

Substância	Dose $\mu\text{moles/Kg}$	N	Varição de volume (μl)	Inibição %
Controle	-	10	557 \pm 36,4	-
Indometacina	30	11	326,5 \pm 48,9	41,4
29a	100	5	669,9 \pm 34,5	-20,14
29b	100	5	605,76 \pm 46,5	-8,6
29c	100	5	662,5 \pm 46,5	-18,8
29d	100	5	573, \pm 37,21	-2,9
29e	100	5	496,6 \pm 55,7	10,9
29f	100	5	611,74 \pm 32,4	-9,7
29g	100	4	385,5 \pm 42,1	30,9*

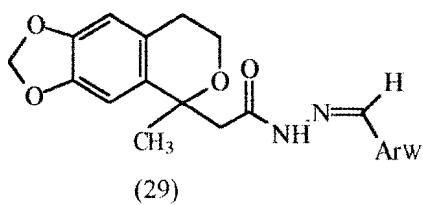
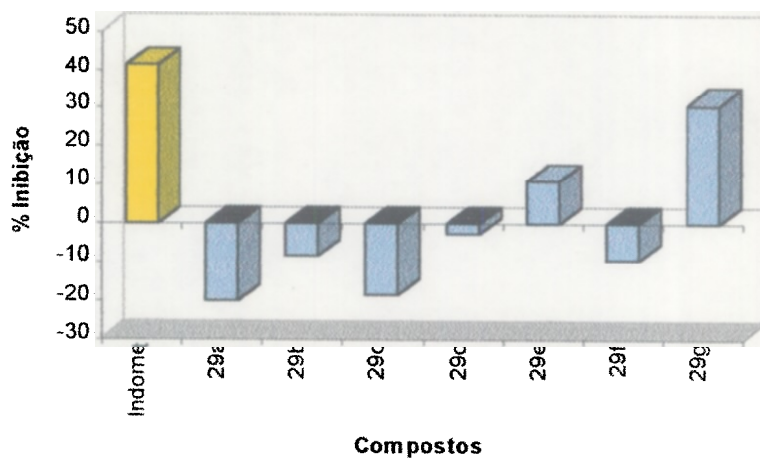
Os resultados são expressos em média \pm erro padrão.

N = número de experimentos

n.s. = não significativo

* $p < 0,05$ (teste "t" de Student)

Gráfico 3 - Efeito dos derivados Isocromanilacilidrazônicos no edema de pata de rato induzido por carragenina.



 (29a)	 (29b)	 (29c)
 (29d)	 (29e)	 (29f)
	 (29g)	

CONCLUSÃO

IV- CONCLUSÃO

A metodologia sintética empregada mostrou-se eficiente, permitindo a obtenção dos novos derivados Isocromanilacilidrazônicos (3a-3g) a partir do safrol (4) com rendimento médio global de 85%.

As técnicas de ressonância magnética nuclear, uni (1D) e bidimensional (2D) empregadas permitiram a determinação da configuração dos diastereoisômeros E (70%) e Z (30%) como produto nas reações de condensação para a obtenção dos derivados (3a-3g) e a atribuição inequívoca dos deslocamentos químicos de hidrogênio e carbono-13 destes compostos.

Os resultados farmacológicos obtidos, com os novos compostos planejados pelo emprego da estratégia de hibridização molecular de protótipo bioativos demonstraram um perfil analgésico, confirmando a relevância da unidade acilidrazona como farmacóforo destacando a importância do substituinte p-(NCH₃)₂-fenila para a atividade observada.

Relembrando a proposta de atividade das fenilidrazonas indicada por Mahy (1993) (Figura 8), poderíamos supor que os novos derivados isocromanilacetilidrazônicos (29a-29g) apresentariam-se como inibidores da enzima cicloxigenase, porém os resultados obtidos quanto a atividade analgésica e antiinflamatória sugerem que possam estar agindo por mecanismo diferente da inibição desta enzima.

A separação e avaliação farmacológica de cada isômero (*E*) e (*Z*) permitirá a correlação entre a atividade encontrada com a natureza da unidade fenila presente na função hidrazônica e um melhor entendimento quanto às futuras modificações necessárias a potencializar a atividade analgésica.

PARTE EXPERIMENTAL

V- PARTE EXPERIMENTAL

1 - Materiais e Métodos

O safrol utilizado foi obtido por destilação (p.e.=232-234°C) do óleo de sassafráz.

Os solventes utilizados para fins sintéticos foram tratados e redestilados.

A remoção dos solventes foi feita à pressão reduzida em evaporador rotatório Buchi 540.

A determinação dos pontos de fusão foi realizada em um aparelho Buchi 510.

Nas cromatografias de camada fina (ccf) foram utilizadas placas de alumínio Kiessel Gel 60 F 254, 0,2 mm de espessura (Merck-Darmsatdt).

As separações por cromatografia em coluna foram efetuadas utilizando-se sílica gel Gel 60-200 Mesh Riedl como adsorvente.

Os espectros na região do infravermelho (IV) foram obtidos em espectrofotômetros Perkin-Elmer, modelos 1420 e 1600 FT (CPGQO-UFRRJ), utilizando-se filme em KBr. Os valores para as absorções foram medidos em unidades de números de ondas (cm^{-1}).

Os espectros de massas de baixa resolução (EM) foram obtidos a 70 e/v em aparelho GC/NG Micromass 12 (NPPN-UFRRJ).

Os espectros de RMN uni-(1D) e bidimensionais (2D) foram registrados em um espectrômetro Bruker AC-200 (CPGQO-UFRRJ), operando a 200 MHz

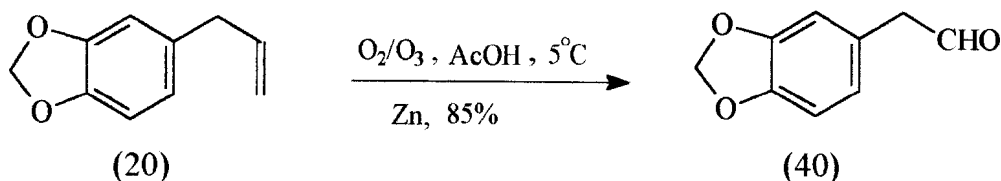
para hidrogênio (RMN ^1H) e 50,3 MHz para carbono-13 (RMN ^{13}C). Os deslocamentos químicos foram medidos em unidades ppm (δ), as áreas relativas dos sinais de absorção obtidas por integração eletrônica e as constantes de acoplamento (J) medidas em hertz (Hz). As amostras para análise foram dissolvidas em CDCl_3 contendo TMS como referência interna e colocadas em tubo de 5 mm de diâmetro. As seqüências de pulso utilizadas nas experiências bidimensionais estão contidas nos programas Bruker XHRCORR-AU, para correlação heteronuclear de hidrogênio e carbono-13 através de uma ligação ($D3=0,5/J_{\text{CH}}$ e $D4=0,5/2J_{\text{CH}}$, modulado com $^1J_{\text{CH}}=140,0$ Hz) e a longa distância ($D3=0,5/J_{\text{CH}}$ e $D4=0,5/2J_{\text{CH}}$, modulado com $^nJ_{\text{CH}}=7,0$ Hz, $n=2$ e 3), e COSY.AU, para correlação homonuclear ($^1\text{H} \times ^1\text{H}$ -COSY). Nas experiências unidimensionais de NOE (=Nuclear Overhauser Effect) usou-se o programa Bruker NOEDIFF.AU e de DEPT (=Distortinoless Enhancement by Polarization Transfer) o DEPTVAR.AU ($\theta =90^\circ$ e $\theta =1135^\circ$).

As áreas dos sinais foram obtidas por integração eletrônica e sua multiplicidade descrita como:

- s- singleto
- d- dubleto
- t- tripleto
- q- quarteto
- m - multipleto
- dd- duplo dubleto
- sl- singleto largo

2 - Resultados Experimentais

2.1 - Síntese do 3,4-Metilenodióxi-Fenilacetaldeído (40)*



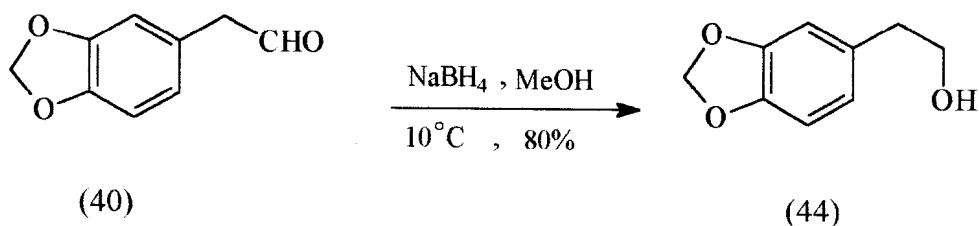
*Barreiro, 1985

Uma solução de 2,5 g (15,3 mmoles) de safrol em 10,0 ml de ácido acético glacial mantida a 5°C foi submetida a um fluxo de oxigênio (20-25 l/h) contendo cerca de 0,3 % de ozônio, durante cerca de quatro horas (acompanhamento por c.c.f.). Após este tempo adicionou-se ao meio reacional, 9,37 g (0,142 atg) de zinco pulverizado e manteve-se em agitação vigorosa por cerca de 2 horas. Filtrou-se o zinco, lavou-se com água e a solução foi tratada até pH=8, adicionando-se uma solução saturada de bicarbonato de sódio.

O filtrado foi extraído com diclorometano (5 x 30 ml), seco com sulfato de sódio e evaporado, produzindo após cromatografia em coluna de gel de sílica eluída com hexano:Acetato de Etila (9:1), um óleo amarelo claro, com rendimento de 85%.

I.V. (filme) ν cm^{-1} : 1726 (C=O); 930 - 809 (Ar.trissubstituído) [Espectro 1]
 RMN¹H (60 MHz) CDCl_3/TMS (δ =ppm) : 9,95 (CHO); (s,3H-Ar); 5,83 (s, OCH₂O). [Espectro 2]

2.2 - Síntese de 3,4-Metilenodióxi-Feniletanol (44)*



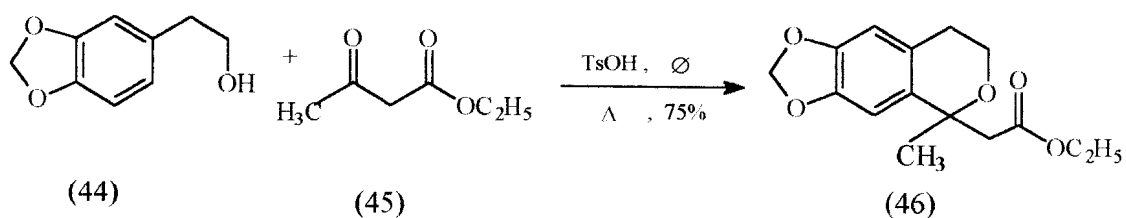
* Barreiro, 1985

Em um balão de 250,0 ml foram dissolvidos 2,0 g (12,5 mmoles) de (40) em 40,0 ml de metanol e resfriado à temperatura de 5°C. Depois, é adicionado 1,42 g (37,6 mmoles) de boroidreto de sódio (NaBH₄). Após 10 minutos, o meio reacional é diluído com diclorometano e deixado sob agitação magnética. Acompanhamento por cromatografia analítica da mistura reacional, confrontada com a substância de partida (Hexano: ACOEt 50%), indicou o término da reação. Posteriormente todo metanol foi removido sob pressão reduzida e uma solução de 1 M de fosfato monobásico de sódio é adicionado até pH=6. Em seguida é feita extração com diclorometano, seco com sulfato de sódio, fornecendo após filtração e evaporação do solvente à pressão reduzida, 3,4-metilenodióxi-feniletanol (44) em 90%.

RMN¹H (200 MHz) CDCl₃/TMS (δ=ppm) : 6,71 (d,J=7,8,H-5); 6,67 (sl,H-2); 6,63 (d,J=7,8,H-6); 5,86 (s, OCH₂O); 3,78 (t,J=6,7,H-8); 2,71 (t,J=6,7,H-7); 2,55 (sl,OH). [Espectro 3]

RMN¹³C (50,3 MHz) CDCl₃/TMS (δ=ppm) : 147,75 (C-3,4); 132,13 (C-1); 121,51 (C-6); 109,02 (C-5); 107,89 (C-2); 100,50 (OCH₂O); 63,17 (C-8); 38,43 (C-7). [Espectro 4]

2.3 - Síntese do Éster etílico do Ácido [1-(1-Metil-6,7-Metilenodióxi)-
Isocromanil]-Acético (46)*.



* (Silva, 1993)

Em balão de 25,0 ml equipado com condensador de refluxo e aparelho de Dean-Stark, foram adicionados 1,8 g (10,98 mmoles) de (44), 1,62 g (12,6 mmoles) de acetoacetato de etila (45),) 0,234g (1,26 mmoles) de ácido paratoluenossulfônico (TSOH) e 50,0 ml de benzeno. Em seguida a mistura é refluxada e deixada sob agitação magnética. Fazendo acompanhamento por c.c.f. (Hexano:ACOEt 15%), observou-se depois de 10 horas de reação o término da mesma.

Remoção do benzeno à pressão reduzida produziu um óleo, o qual foi retomado em éter etílico e lavado com seis porções de uma solução de KOH a 30% (p/v), a fim de remover o excesso do acetoacetato de etila (45) (Cabral, 1993).

Depois de tratamento da fase orgânica, obteve-se o éster como um óleo amarelo em 75% de rendimento.

E.M. (70 eV) : 278 (7%); 191 (100%); 149 (9%); 110 (31%). *[Espectro 6]*

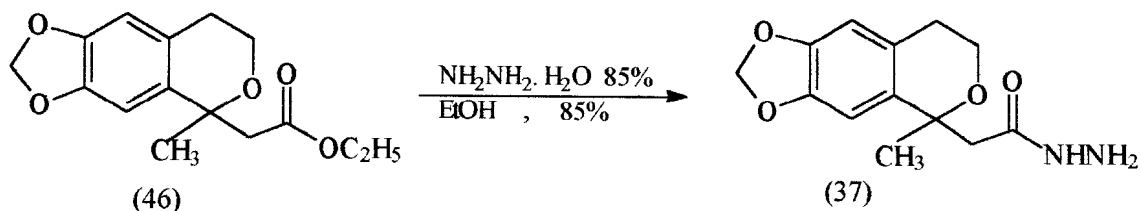
RMN¹H (300 MHz) CDCl₃/TMS (δ =ppm) : 6,56 (H-5,8); 5,9 (s,OCH₂O); 4,10 (q,2H-14); 3,91 (m,2H-3); 2,90 (d,J=13,5,2H-11); 2,73 (d,J=13,5,2H-11); 2,71 (m,2H-4); 1,27 (s,3H-13); 1,20 (t,3H-15). *[Espectro 7]*

RMN¹³C (75 MHz) CDCl₃/TMS (δ =ppm) : 169,98 (C=O); 145,94 (C-6); 133,78 (C-7); 125,45 (C-9); 115,88 (C-10); 108,28 (C-5); 105,18 (C-8); 100,63 (OCH₂O); 75,20 (C-1); 60,11 (C-3); 60,01 (C-11).

[Espectro 8]

2.4- Síntese de [1-(1-Metil-6,7-Metilenodióxi)-Isocromanil]-Acetilidrazida

(37)*



* Dias, 1992

Em balão de 100,0 ml de capacidade, equipado com condensador de refluxo, foram adicionados 1,30g (4,65 mmoles) do éster (46), cerca de 15 ml de etanol e adicionou-se então, 4,7 rol de hidrato de hidrazina 85%. A mistura permaneceu sob refluxo e agitação por 3 horas, e o término da reação foi observado por c.c.f. (Diclorometano:Etanol 5%).

O isolamento foi efetuado por concentração do produto e posteriormente vertido para uma mistura de água e gelo picado. A solução restante foi extraída com diclorometano, seca com sulfato de sódio, fornecendo após evaporação do solvente um produto de aspecto oleoso. Este óleo foi lavado com acetato de etila até que fosse obtido um sólido branco com p.f.= 154-155 °C em 85% de rendimento.

I.V. máx. (KBr) ν cm^{-1} : 3360 (NH) ; 1670 (C=O). [Espectro 9]

E.M. (70 eV)m/z, abundância relativa: 264 (13%), 192 (24%); 191 (100%) 115 (7%) 91 (6%); 77 (5%). [Espectro 10]

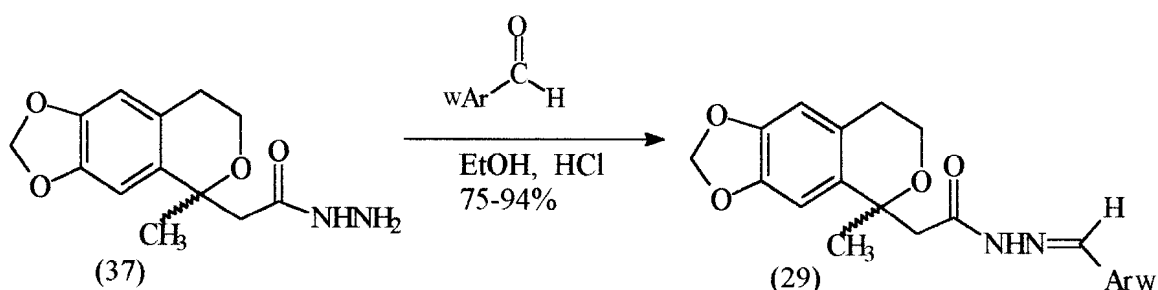
RMN¹H (200 MHz) CDCl₃/TMS (δ=ppm) : 7,76 (sl,NH); 6,53 (s,H-8); 6,50 (s,H-5); 5,87 (m, OCH₂O); 3,85 (m,H-3); 3,76 (sl,NH₂); 2,60 (m,H-4); 2,73 (m,,H-11); 2,68 (m ,H-11); 1,48 (s,H-13). [Espectro 11]

RMN¹³C (50,3 MHz) CDCl₃/TMS (d=ppm) : 170,70 (C=O); 146,16 (C-6,7); 132,61 (C-9); 125,97 (C-10); 108,21 (C-5); 105,26 (C-8); 100,73 (OCH₂O); 75,42 (C-1); 59,47 (C-3); 47,38 (C-11); 29,00 (C-4); 27,09 (C-13).

[Espectro 12]

2.5 - Síntese de [1-(1-Metil-6,7-Metilenodióxi)-Isocromanil]-

Acetilidrazonas(29)*



* Dias, 1992

Sobre 0,15g (0,57 mmoles) da hidrazida (37) adicionou-se etanol absoluto qsp dissolução. A mistura permaneceu sob refluxo, e após dissolução adicionou-se 0,57 mmoles dos derivados benzaldeídico e HCl concentrado em quantidade

catalítica. Observa-se o término da reação por c.c.f. (Diclorometano:Etanol 5%) e obtenção das isocromanilacetilidrazonas em cerca de 2 horas.

O isolamento foi efetuado por concentração da mistura reacional e posteriormente vertendo-a sobre uma mistura de água e gelo. A solução restante foi extraída com diclorometano seca com sulfato de sódio, fornecendo após evaporação do solvente os produtos (29a-29g) em torno de 85% de rendimento.

[1-(1-Metil-6,7-Metilenodióxi)-Isocromanil]-benzaldeído Acetilidrazona
[29a-(E),(Z)]

Rend.: 75%

P.F.: 78-80 °C

I.V. : máx. (KBr) ν cm^{-1} : 3430,3200 (NH); 1664 (C=O).

[Espectro 18]

E.M. (70 e V) m/z abundância relativa : 352 (3%); 208 (8%); 192 (14%); 191 (100%); 170 (11%). *[Espectro 19]*

Isômero (E)

RMN¹H (200 MHz) CDCl₃/TMS (δ =ppm) : 9,83 (s,NH); 8,00 (s,H-7'); 7,70 (m,H-2'6'); 7,4 (m,H-3'5',4'); 6,59 (s,H-8); 6,50 (s,H-5); 5,9 (s,OCH₂O); 4,1 (m,2H-3); 2,9 (m,2H-11); 2,8 (m,2H-4); 1,56 (s,3H-13). *[Espectro 20]*

RMN¹³C (50,3 MHz) CDCl₃/TMS (δ=ppm) : 166,45 (C=O); 147,10 (C-7'); 146,37 (C-7); 146,25 (C-6); 133,48 (C-1'); 132,34 (C-9); 130,12 (C-4'); 128,39 (C-3'5'); 127,46 (C-2'6'); 126,48 (C-10); 100,80 (OCH₂O); 75,97 (C-1); 59,72 (C-3); 48,37 (C-11); 29,18 (C-4); 27,20 (C-13). *[Espectro 21]*

Isômero (Z)

RMN¹H (200 MHz) CDCl₃/TMS (δ=ppm) : 9,18 (s,NH); 7,70 (s,H-7'); 7,61 (m,H-2'6'); 7,4 (m,H-3'5',4'); 6,66 (s,H-8); 6,52 (s,H-5); 5,9 (s,OCH₂O); 4,0 (m,2H-3); 3,46 (d,J=14, 2H-11); 3,10 (d,J=14, 2H-11); 2,75 (m,2H-4) 1,63 (s,3H-13). *[Espectro 20]*

RMN¹³C (50,3 MHz) CDCl₃/TMS (δ=ppm) : 172,87 (C=O); 143,75 (C-7'); 145,89 (C-7); 145,77 (C-6); 134,58 (C-9); 133,85 (C-1'); 129,76 (C-4'); 128,54 (C-3'5'); 126,91 (C-2'6'); 125,79 (C-10); 100,60 (OCH₂O); 75,88 (C-1); 59,86 (C-3); 42,49 (C-11); 29,24 (C-4); 28,36 (C-13). *[Espectro 21]*

[1-(1-Metil-6,7-Metilenodióxi)-Isocromanil]-2-furaldeído Acetilidrazona
[29b-(E),(Z)]

Rend.: 88%

P.F.: 88-91 °C

I.V. máx. (KBr) v cm⁻¹ : 3450,3215 (NH); 1670 (C=O)

[Espectro27]

Isômero (E)

RMN¹H (200 MHz) CDCl₃/TMS (δ=ppm) : 9,79 (s,NH); 8,21 (s,H-5'); 7,46 (s,H-4); 7,24 (s,H-2'); 6,67 (m,H-3'); 6,57 (s,H-8); 6,49 (s,H-5); 5,88 (s,OCH₂O); 3,8 (m,2H-3); 2,65 (m,2H-4); 2,87 (d,J=14, 2H-11); 2,83 (d,J=14, 2H-11); 1,54 (s,3H-13). *[Espectro 28]*

RMN¹³C (50,3 MHz) CDCl₃/TMS (δ=ppm) : 166,60 (C=O); 149,06 (C-1'); 146,19 (C-7); 146,10 (C-6); 144,17 (C-4'); 137,31 (C-5'); 132,36 (C-9); 133,38 (C-2'); 125,82 (C-10); 112,87 (C-3'); 108,04 (C-5); 105,29 (C-8); 100,68 (OCH₂O); 75,79 (C-1); 59,57 (C-3); 48,54 (C-11); 29,03 (C-4); 27,15 (C-13).

[Espectro 29]

Isômero (Z)

RMN¹H (200 MHz) CDCl₃/TMS (δ=ppm) : 9,40 (s,NH); 7,60 (s,H-5'); 6,64 (s,H-8); 6,44 (s,H-5); 5,88 (s,OCH₂O); 4,0 (m, 2H-3); 3,45 (d,J=14, 2H-11); 3,03 (d,J=14, 2H-11); 2,90 (m, 2H-4); 1,60 (s, 3H-13). [Espectro 28]

RMN¹³C (50,3 MHz) CDCl₃/TMS (δ=ppm) : 172,78 (C=O); 149,19 (C-1'); 145,77 (C-7); 145,70 (C-6); 144,00 (C-4'); 134,54 (C-9); 137,39 (C-5'); 111,63 (C-5); 111,63 (C-8); 100,50 (OCH₂O); 75,79 (C-1); 59,71 (C-3); 43,31 (C-11); 28,75 (C-4); 28,33 (C-13). [Espectro 29]

[1-(1-Metil-6,7-Metilenodióxi)-Isocromanil]-p-dimetilaminobenzaldeído

Acetilidrazona [29c-(E),(Z)]

Rend.: 94%

P.F. : 93-94 °C

I.V. máx. (KBr) v cm⁻¹ : 3450,3201 (NH); 1655 (C=O).

[Espectro 35]

E.M. (70 eV) m/z abundância relativa : 395 (4%); 191 (100%); 149 (50%); 148 (65%); 135 (18%); 77 (18%). [Espectro 36]

Isômero (E)

RMN¹H (200 MHz) CDCl₃/TMS (δ=ppm) : 9,64 (s,NH); 7,83 (s,H-7'); 7,57 (d,J=9,H-2'6'); 6,62 (d,J=9,H-3'5'); 6,59 (s,H-8); 6,49 (s,H-5); 5,9 (m,OCH₂O); 4,1 (m, 2H-3); 2,9 (m, 2H-4); 2,98 (s,N(CH₃)₂); 2,9 (d,J=14, 2H-11); 2,8 (d,J=14, 2H-11); 1,55 (s, 3H-13). [Espectro 37]

RMN¹³C (50,3 MHz) CDCl₃/TMS (δ=ppm): 165,84 (C=O); 151,44 (C-4'); 147,90 (C-7'); 146,19 (C-6); 146,17 (C-7); 132,52 (C-9); 128,89 (C-2'6'); 125,76 (C-10); 120,96 (C-1'); 111,32 (C-3'5'); 108,14(C-5); 105,46 (C-8); 100,65 (OCH₂O); 75,82 (C-1); 59,56 (C-3); 48,07 (C-11); 39,86 (N(CH₃)₂); 29,09 (C-4); 27,09 (C-13). [Espectro 38]

Isômero (Z)

RMN¹H (200 MHz) CDCl₃/TMS (δ=ppm) :8,90 (s,NH); 7,58 (s,H-7'); 7,47 (d,J=9,H-2'6'); 6,66 (d,J=9,H-3'5'); 6,61 (s,H-8); 6,52 (s,H-5); 5,9 m,OCH₂O); 4,1 (m, 2H-3), 3,50 (d,J=15, 2H-11); 3,06 (d,J=15, 2H-11); 2,99 (s,N(CH₃)₂); 2,9 (m, 2H-4); 1,62 (s, 3H-13). [Espectro 37]

RMN¹³C (50,3 MHz) CDCl₃/TMS (δ=ppm) : 171,97 (C=O); 151,20 (C-4'); 146,00(C-6,7); 144,48 (C-7'); 134,76 (C-9); 128,16 (C-2'6'); 126,33 (C-10); 121,54 (C-1'); 111,55 (C3'5'); 108,14 (C-5); 105,32 (C-8); 100,49 (OCH₂O); 75,82 (C-1); 59,72 (C-3); 42,29 (C-11); 39,93 (N(CH₃)₂); 29,15 (C-4); 28,50 (C-13). [Espectro 38]

[1-(1-Metil-6,7-Metilenodióxi)-Isocromanil]-m-nitrobenzaldeído

Acetilidrazona [29d-(E),(Z)]

Rend.: 70%

P.F. : 183-184 °C

I.V. máx. (KBr) ν cm^{-1} : 3393, 3193 (NH); 1665 (C=O) [Espectro 43]

E.M. (70 eV) : 397 (3%); 217 (6%) ; 191 (100%); 166 (17%); 135 (63%); 77 (15%). [Espectro 44]

Isômero (E)

RMN¹H (200 MHz) CDCl₃/TMS (δ =ppm) : 10,02 (s,NH); 8,43 (H-7'); 8,20 (H-2') 8,11 (H-4'); 7,90 (H-6'); 6,58 (s,H-8); 6,49 (s,H-5); 5,87 (OCH₂O); 3,98 (m, 2H-3); 2,89 (2H-11); 2,87 (2H-11); 2,84 (m, 2H-4); 1,55 (s, 3H-13). [Espectro 45]

RMN¹³C (50,3 MHz) CDCl₃/TMS (δ =ppm) : 166,91 (C=O); 148,35 (C-3'); 146,67 (C-6,7); 144,88 (C-7'); 135,67 (C-1'); 132,58 (C-6'); 132,33 (C-9); 129,56 (C-5'); 124,38 (C-4'); 122,25 (C-2'); 108,43 (C-5); 105,47 (C-8); 100,96 (OCH₂O); 76,10 (C-1); 59,97 (C-3); 48,96 (C-11); 29,37 (C-4); 27,36 (C-13).

[Espectro46]

Isômero (Z)

RMN¹H (200 MHz) CDCl₃/TMS (δ =ppm): 9,96 (s,NH); 8,43 (H-7'); 7,81 (H-6'); 6,64 (H-8); 6,57 (H-5); 6,16 (H-2'); 5,82 (OCH₂O); 4,06 (m, 2H-3) 3,41 (2H-11); 3,18 (2H-11); 2,84 (m, 2H-4). [Espectro 45]

RMN¹³C (50,3 MHz) CDCl₃/TMS (δ =ppm): 172,97 (C=O); 148,40 (C-3'); 146,04 (C-6,7); 136,00 (C-7'); 135,76 (C-1'); 132,33 (C-9); 129,56 (C-5'); 126,00 (C-10); 124,11 (C-4'); 121,58 (C-2'); 108,43 (C-5); 105,47 (C-8); 100,75 (OCH₂O); 76,10 (C-1); 59,97 (C-3); 43,14 (C-11); 29,37 (C-4); 28,52 (C-13).

[Espectro 46]

[1-(1-Metil-6,7-Metilenodióxi)-Isocromanil]-p-nitrobenzaldeídoAcetilhidrazona [29e-(E),(Z)]

Rend.: 74%

P.F. : 226 228 °C

I.V. máx. (KBr) ν cm^{-1} : 3413, 3170 (NH); 1665 (C=O). [Espectro 48]

E.M. : 397 (6%); 298 (22%); 191 (100%); 176 (32%); 149 (21%); 57 (22%).

[Espectro 49]

RMN¹H (200 MHz) CDCl₃/TMS (δ =ppm): 9,9 (s, NH); 8,70 (s, H-7'); 8,23 (H-3'5'); 7,86 (m, H-2'6'); 6,52 (H-5); 6,50 (H-8); 5,89 (OCH₂O); 4,05 (2H-3); 2,89 (2H-11); 2,67 (2H-4); 1,58 (3H-13). [Espectro 50]

RMN¹³C (50,3 MHz) CDCl₃/TMS (δ =ppm): 145,38 (C-6); 145,20 (C-7); 125,79 (C-10); 107,55 (C-5); 105,14 (C-8); 100,15 (OCH₂O); 75,07 (C-1); 59,87 (C-3); 46,78 (C-11); 28,57 (C-4); 27,90 (C-13). [Espectro 51]

RMN¹H (200 MHz) CDCl₃/TMS (δ =ppm): 9,90 (NH); 8,33 (H-7'); 8,19 (H-3'5'); 7,85 (H-2'6'); 6,52 (H-5); 6,60 (H-8); 5,89 (OCH₂O); 4,05 (H-3); 2,89 (H-11); 2,67 (H-4); 1,51 (H-13). [Espectro 50]

RMN¹³C (50,3 MHz) CDCl₃/TMS (δ =ppm): 145,38 (C-6); 145,20 (C-7); 125,79 (C-10); 107,55 (C-5); 105,09 (C-8); 100,02 (OCH₂O); 58,87 (C-3); 42,02 (C-11); 28,57 (C-4); 27,50 (C-13). [Espectro 51]

[1-(1-Metil-6,7-Metilenodióxi)-Isocromanil]-p-metóxi-benzaldeído
Acetilhidrazona [29f-(E),(Z)]

Rend.: 82%

P.F. : 168-169 °C

I.V. máx. (KBr) ν cm^{-1} : 3452, 3170 (NH); 1661 (C=O). [Espectro 53]

ISÓMERO (E)

RMN¹H (200 MHz) CDCl₃/TMS (δ =ppm): 9,75 (s,NH); 7,92 (s,H-7'); 7,85 (m,H-3'5'); 7,56 (m,H-2'6'); 6,58 (s,H-8); 6,48 (s,H-5); 5,87 (s,OCH₂O); 4,02 (m,2H-3); 3,79 (s,OCH₃); 2,9 (d,J=15,2H-11); 2,8 (d,J=15,2H-11); 2,7 (m,2H-3); 1,55 (3H-13). [Espectro 54]

RMN¹³C (50,3 MHz) CDCl₃/TMS (δ =ppm): 166,20 (C=O); 161,23 (C-4'); 147,06 (C-7'); 146,49 (C-6); 146,42 (C-7); 132,55 (C-9); 129,05 (C-2'6'); 126,67 (C-1'); 125,85 (C-10); 113,90 (C-3'5'); 108,26 (C-5); 105,26 (C-8); 100,79 (OCH₂O); 59,72 (C-3); 55,16 (OCH₃); 48,43 (C-11); 29,22 (C-4); 27,20 (C-13). [Espectro 55]

ISÓMERO (Z)

RMN¹H (200 MHz) CDCl₃/TMS (δ =ppm): 9,34 (s,NH); 7,85 (m, H-3'5'); 7,65 (s,H-7'); 7,56 (m,H-2'6'); 6,65 (s,H-8); 6,49 (s, H-5); 5,87 (s,OCH₂O); 4,02 (m, 2H-3); 3,45 (d,J=13, 2H-11); 3,07 (d,J=13, 2H-11); 2,7 (m, 2H-3); 1,62 (s, 3H-13). [Espectro 54]

RMN¹³C (50,3 MHz) CDCl₃/TMS (δ =ppm : 172,39 (C=O); 160,94 (C-4'); 145,92 (C-6); 145,78 (C-7); 143,32 (C-7'); 134,77 (C-9); 128,42 (C-2'6'); 126,52 (C-1'); 126,30 (C-10); 114,05 (C-3'5'); 108,26 (C-5), 105,42 (C-8); 100,59 (OCH₂O); 59,86 (C-3); 55,16 (OCH₃); 42,60 (C-11); 29,22 (C-4); 28,40 (C-13). [Espectro 55]

[1-(1-Metil-6,7-Metilenodióxi)-Isocromanil]-p-bromobenzaldeído
Acetilhidrazona [29g-(E),(Z)]

Rend.: 78%

P.F. : 178-181 °C

I.V. máx. (KBr) ν cm^{-1} : 3450, 3180 (NH); 1662 (C=O).

[Espectro 61]

ISÓMERO (E)

RMN¹H (200 MHz) CDCl₃/TMS (δ =ppm): 9,85 (s,NH); 7,99 (s,H-7'); 7,7-7,2 (H-2'6'); 7,7-7,2 (H-3'5'); 6,58 (s,H-8); 6,49 (s,H-5); 5,89 (s,OCH₂O); 4,03 (2H-3); 2,85 (d,J=15, 2H-11); 2,82 (d,J=15, 2H-11); 2,67 (2H-4); 1,62 (s, 3H-13). [Espectro 62]

RMN¹³C (50,3 MHz) CDCl₃/TMS (δ =ppm): 166,53 (C=O); 146,46 (C-6); 146,35 (C-7); 145,88 (C-7'); 132,85 (C-9); 132,22 (C-1'); 131,66 (C-3'5'); 128,82 (C-2'6'); 125,78 (C-10); 124,38 (C-4'); 108,30 (C-5); 105,38 (C-8); 100,87 (OCH₂O); 59,78 (C-3); 48,51 (C-11); 29,22 (C-4); 27,21 (C-13).

[Espectro 63]

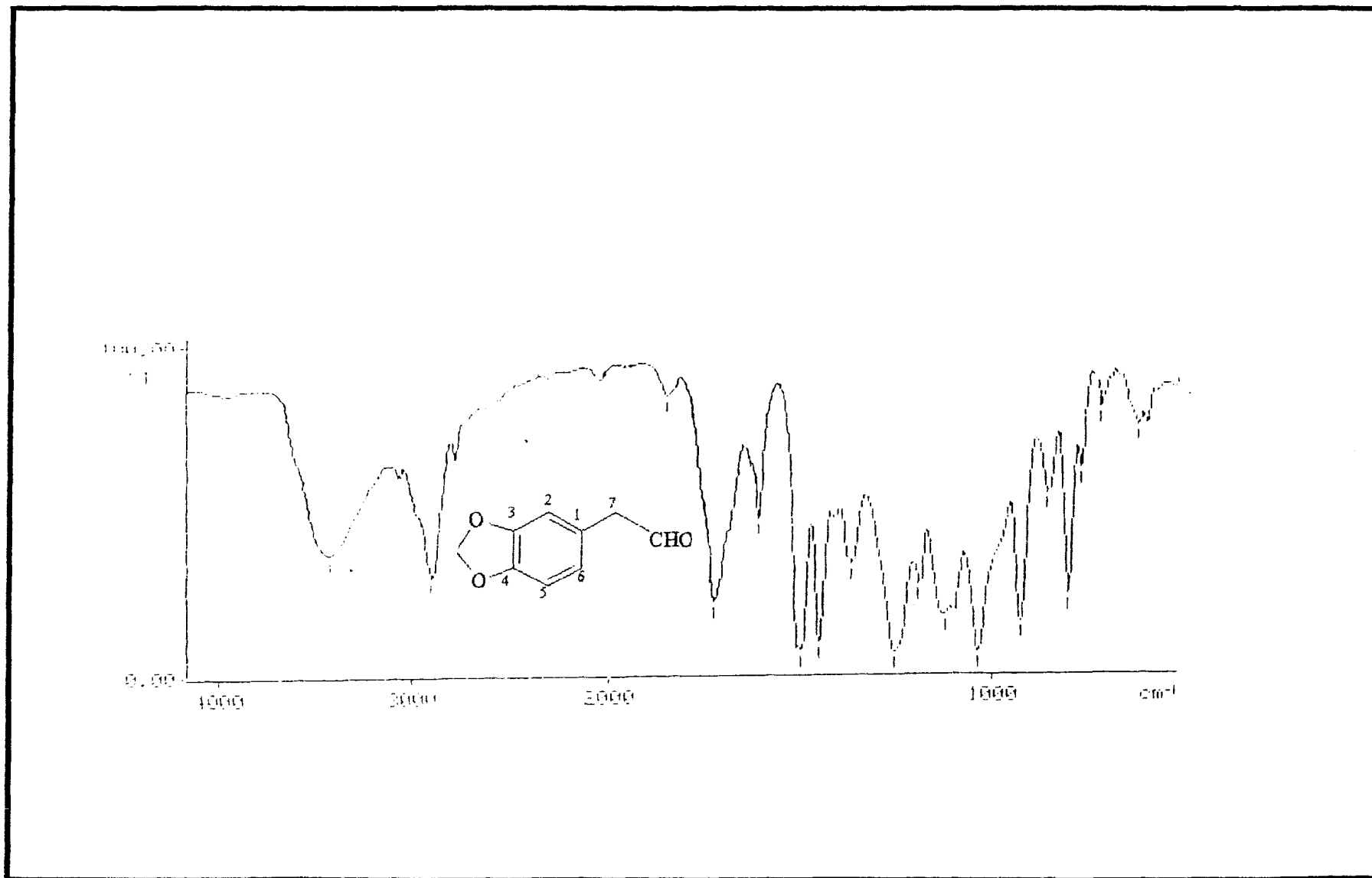
ISÓMERO (Z)

RMN¹H (200 MHz) CDCl₃/TMS (δ =ppm): 9,67 (s,NH); 7,67 (s,H-7'); 7,7-7,2 (H-2'6'); 7,7-7,2 (H-3'5'); 6,63 (H-8); 6,51 (s); 5,83 (OCH₂O); 3,84 (m, 2H-3); 3,48 (d,J=13, 2H-11); 3,11 (d,J=13, 2H-11); 2,67 (m, 2H-4); 1,71 (s, 3H-13).

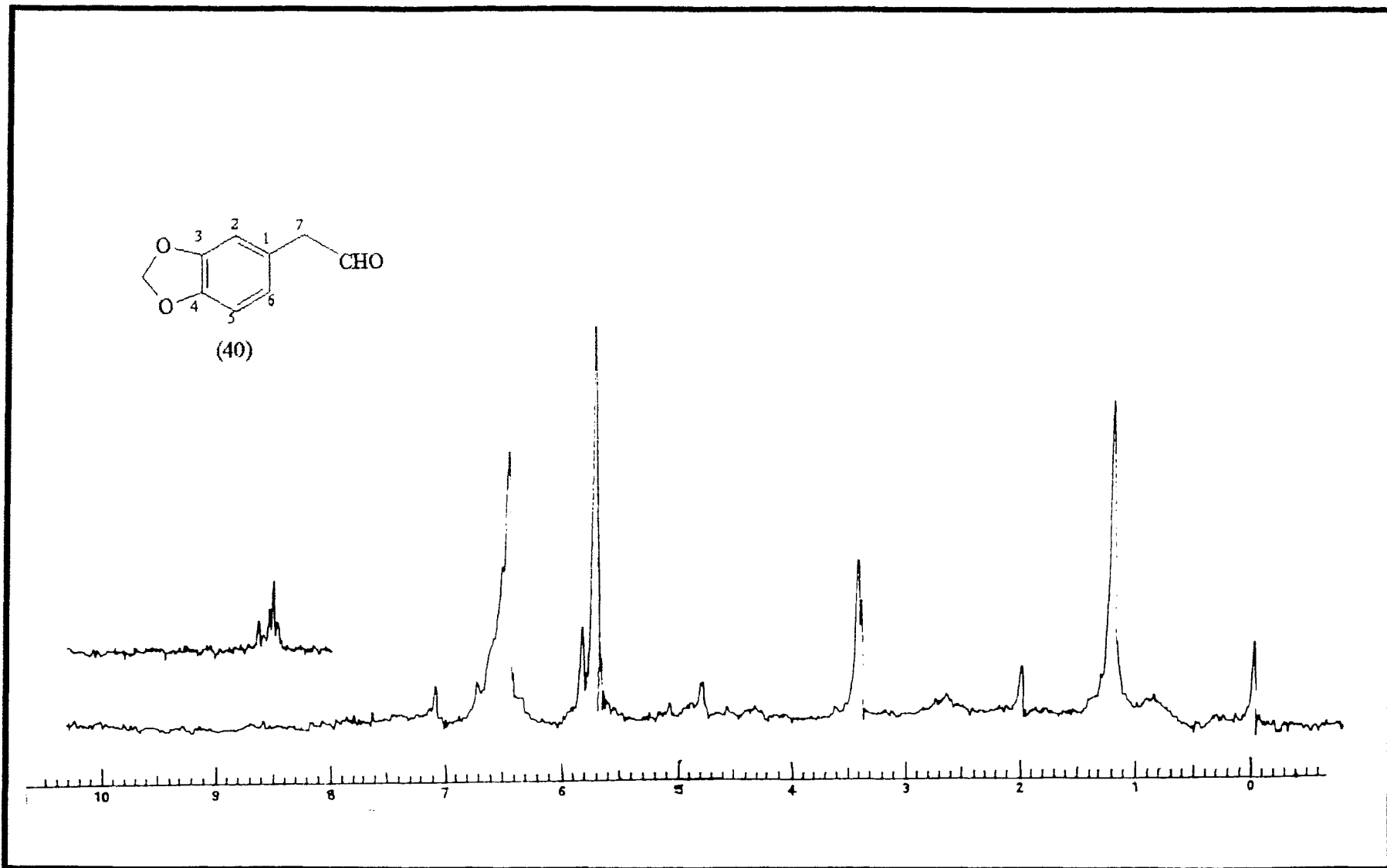
[Espectro 62]

RMN¹³C (50,3 MHz) CDCl₃/TMS (δ =ppm): 172,89 (C=O); 146,46 (C-6); 146,35 (C-7); 142,43 (C-7'); 134,50 (C-9); 132,52 (C-1'); 131,80 (C-3'5'); 128,30 (C-2'6'); 126,52 (C-10); 123,93 (C-4'); 108,30 (C-5); 105,50 (C-8); 100,68 (OCH₂O); 75,90 (C-1); 59,91 (C-3); 42,61 (C-11); 29,22 (C-4); 28,41 (C-13). [Espectro 63]

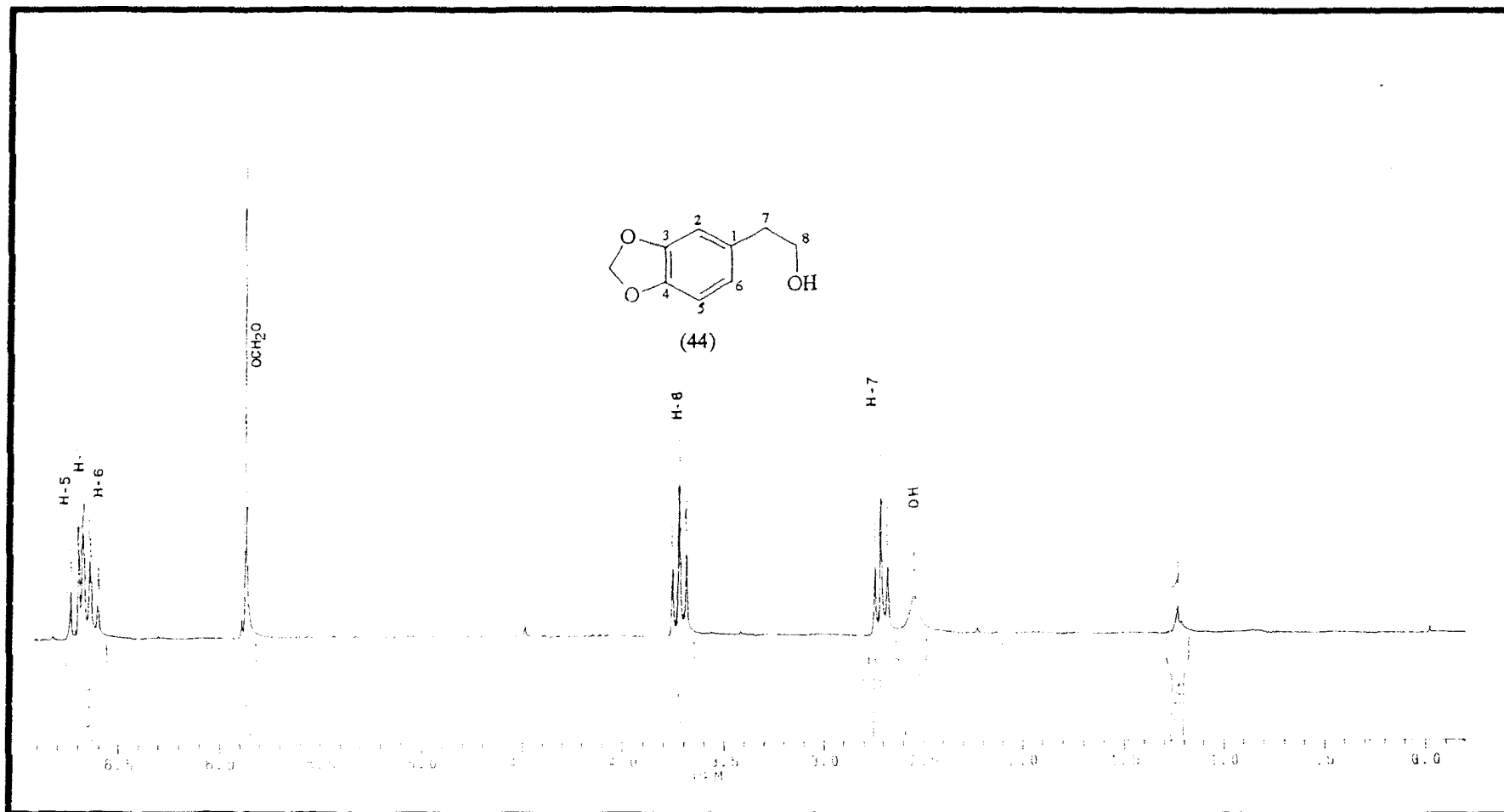
ESPECTROS



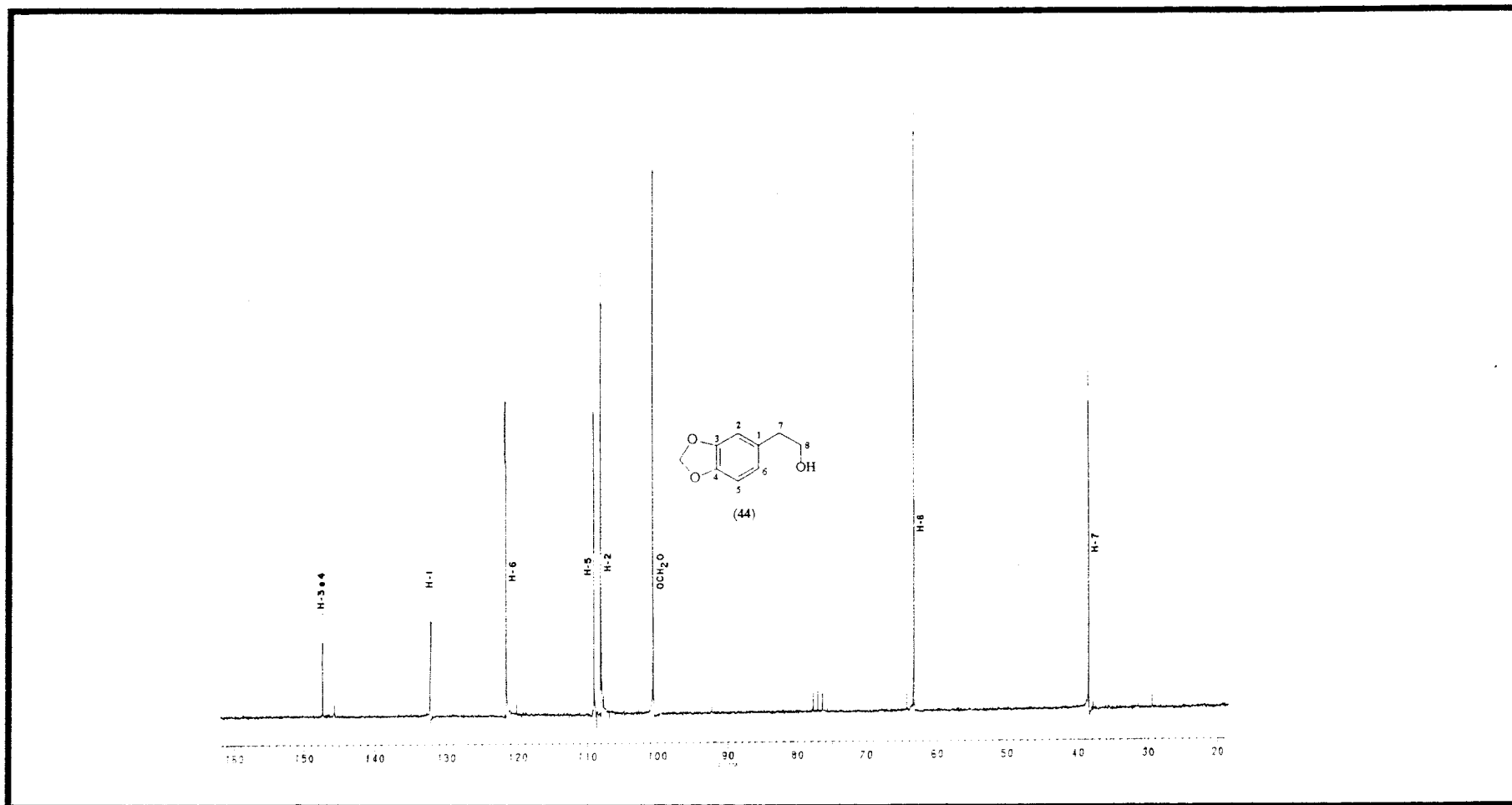
Espectro 1 - Espectro de infravermelho (KBr), obtido do produto (40).



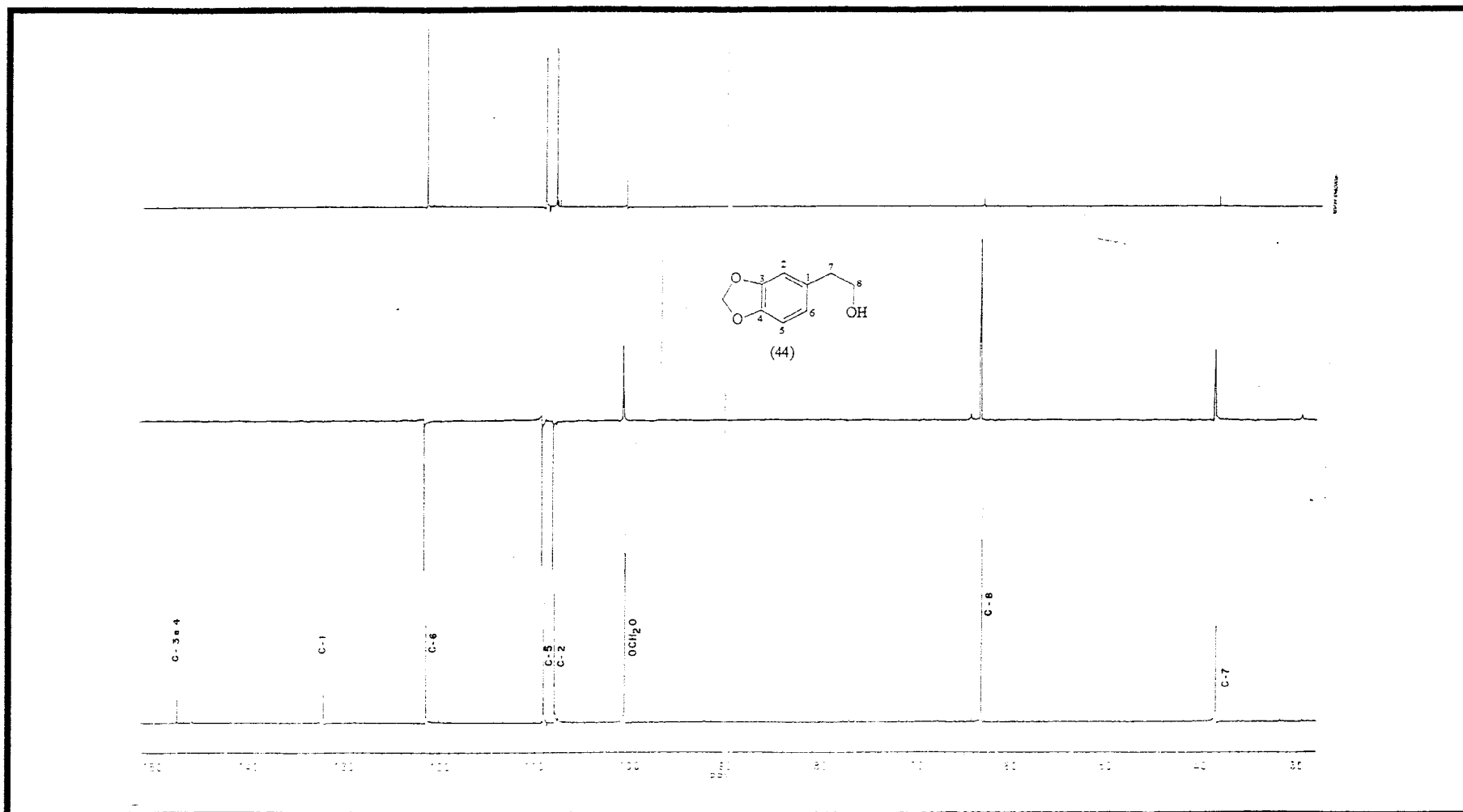
Espectro 2 -Espectro de RMN¹H (60 MHz) do produto (40) , registrado em CDCl₃ e TMS como referência interna.



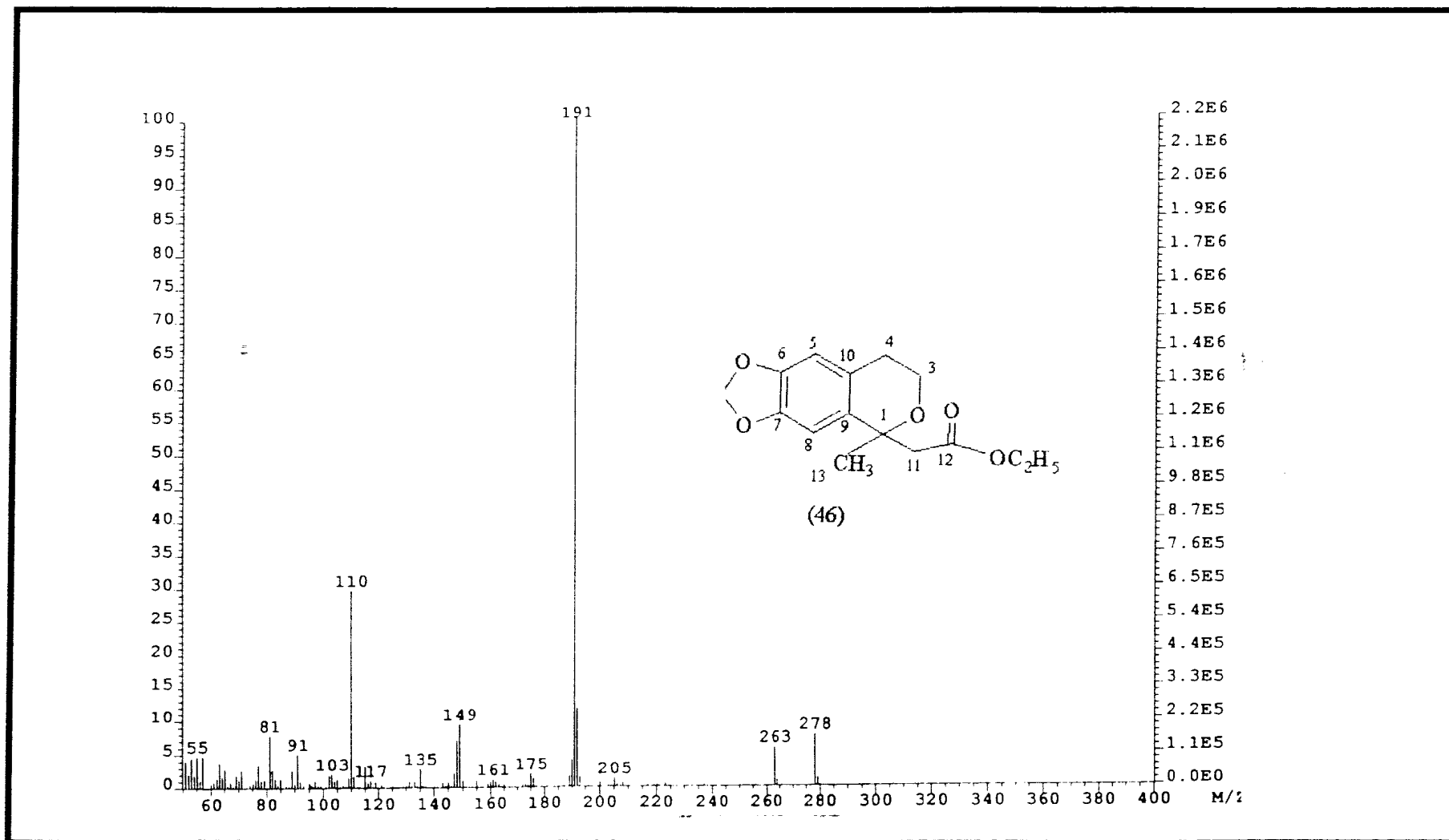
Espectro 3 -Espectro de RMN^1H (200 MHz) do produto (44), registrado em CDCl_3 e TMS como referência interna.



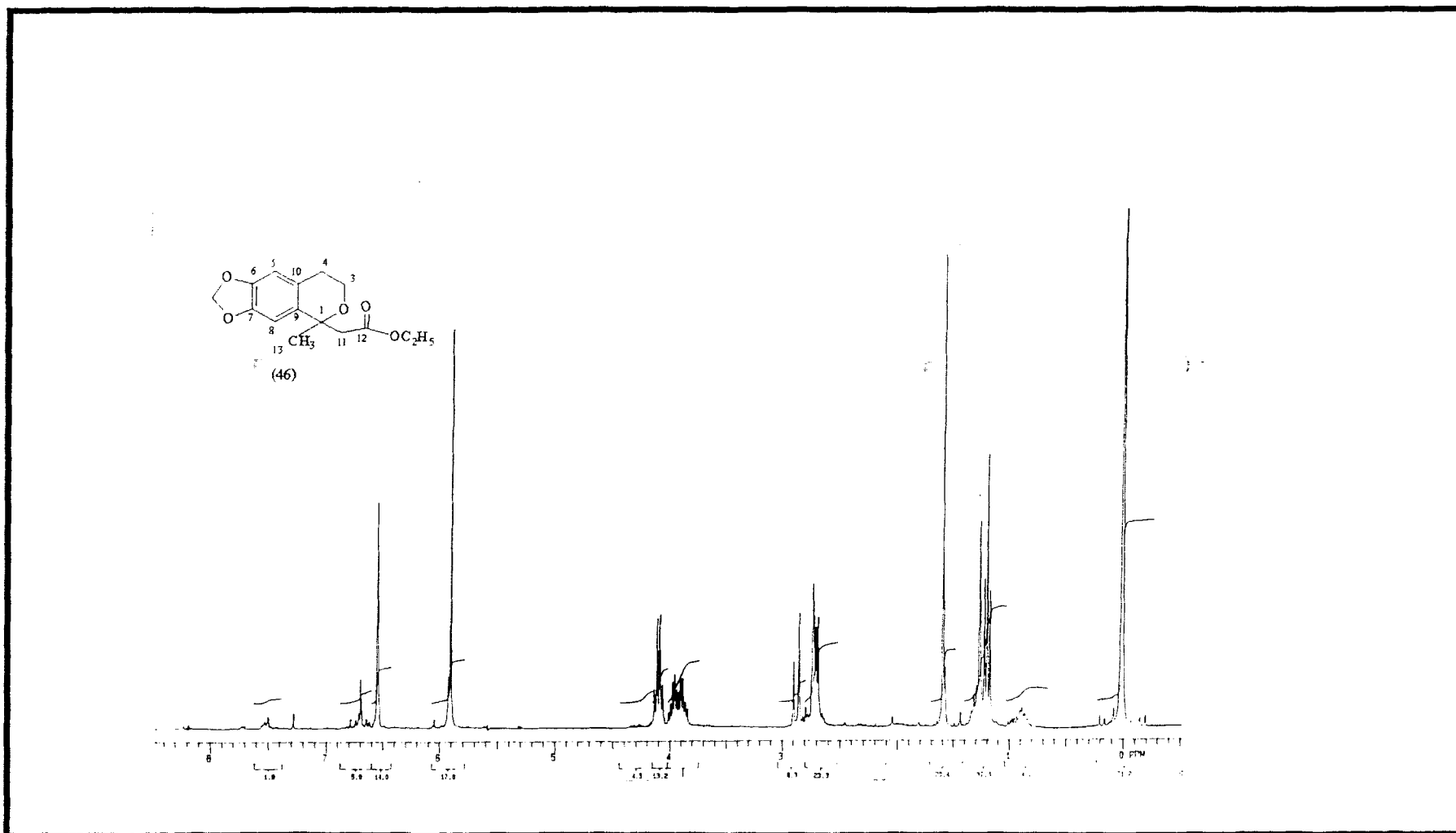
Espectro 4 - Espectro de RMN^{13}C (50,3 MHz) do produto (44), desacoplado de próton (PND), registrado em CDCl_3 e TMS como referência interna.



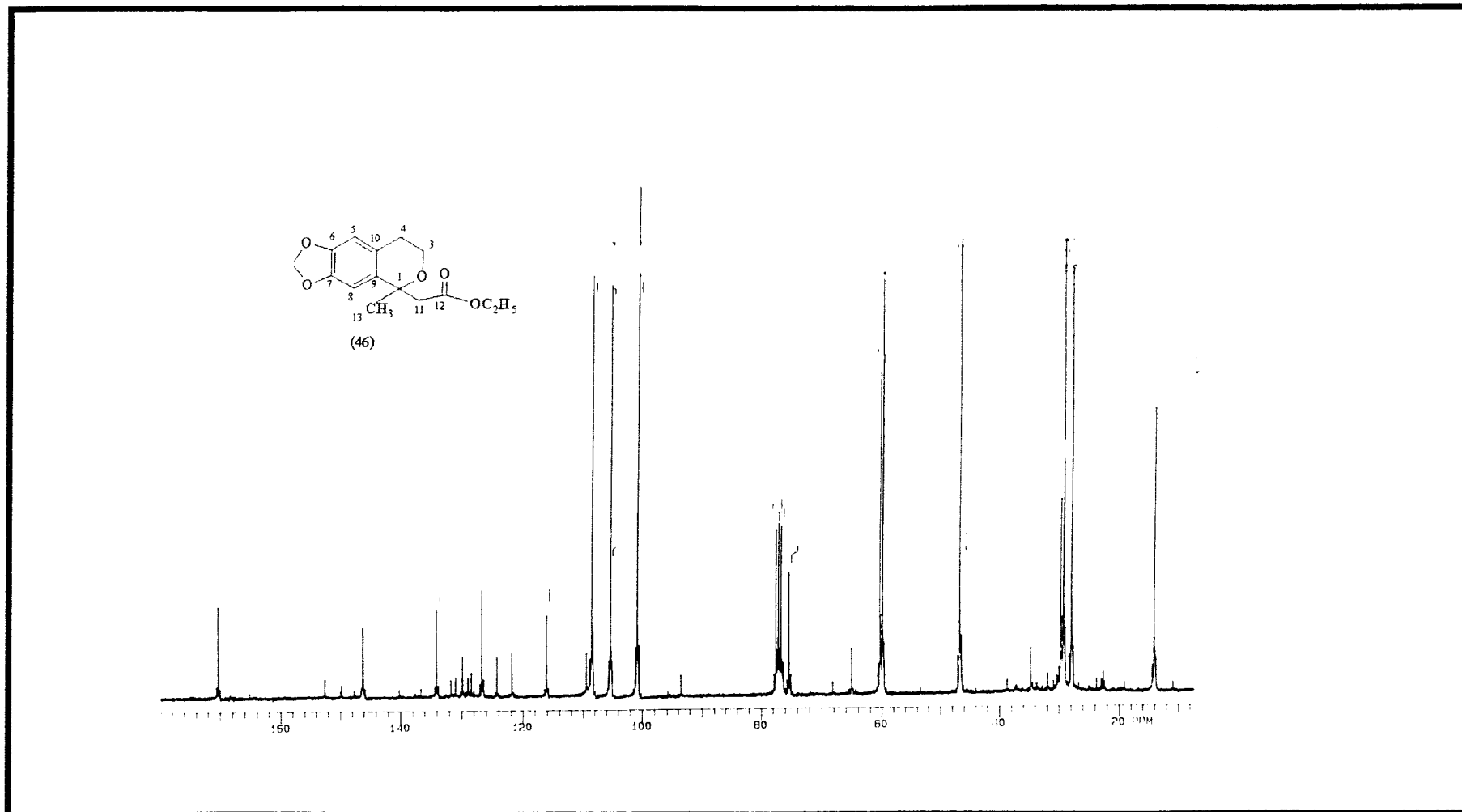
Espectro 5 - Espectro de RMN¹H PND e DEPT com $\varnothing = 90^\circ$ e $\varnothing = 135^\circ$ (50,3 MHz) do produto (44), registrado em CDCl_3 e TMS como referência interna.



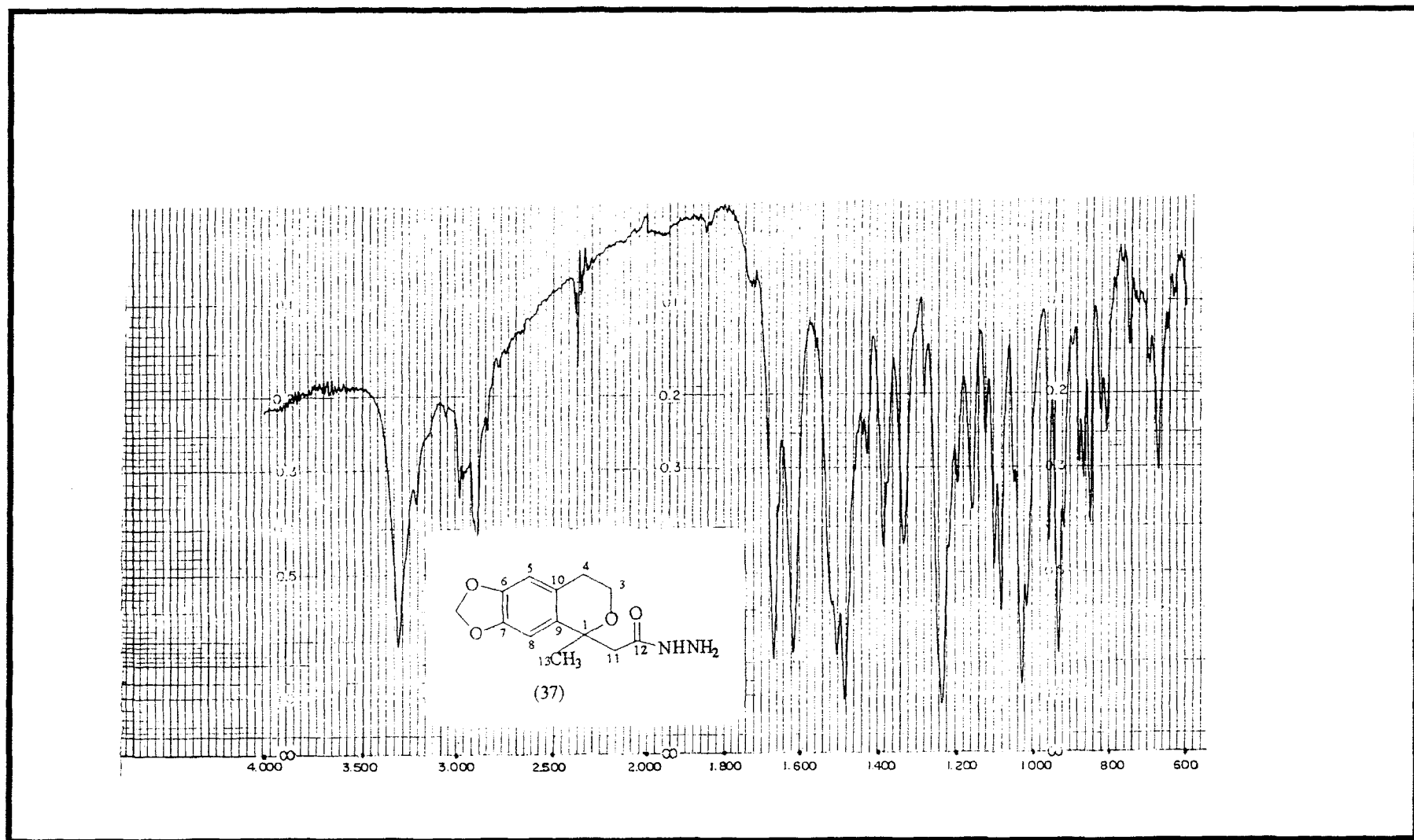
Espectro 6 - Espectro de massas do produto (46), obtido a 70 eV.



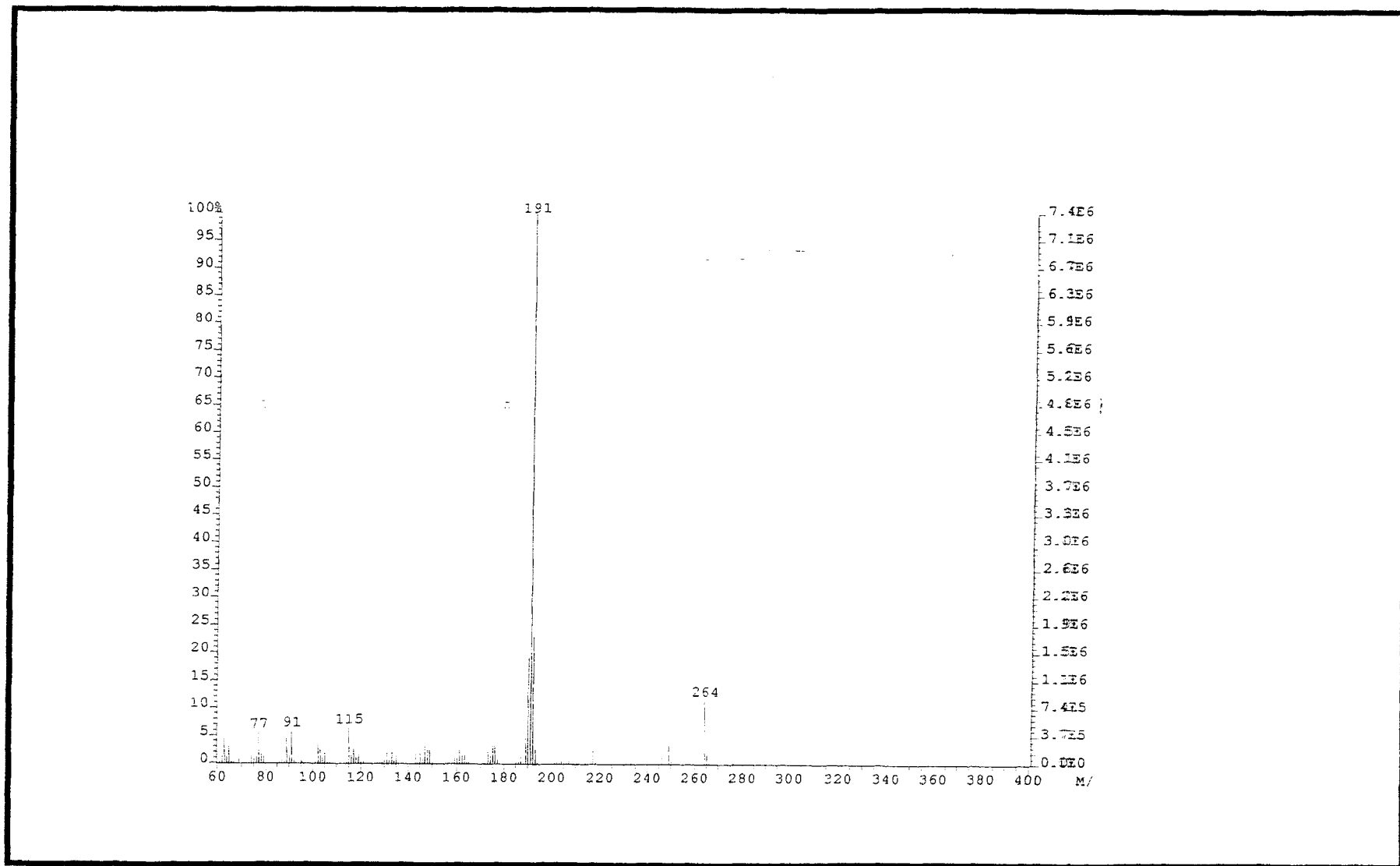
Espectro 7 - Espectro de RMN^1H (200 MHz) do produto (46), registrado em CDCl_3 e TMS como referência interna.



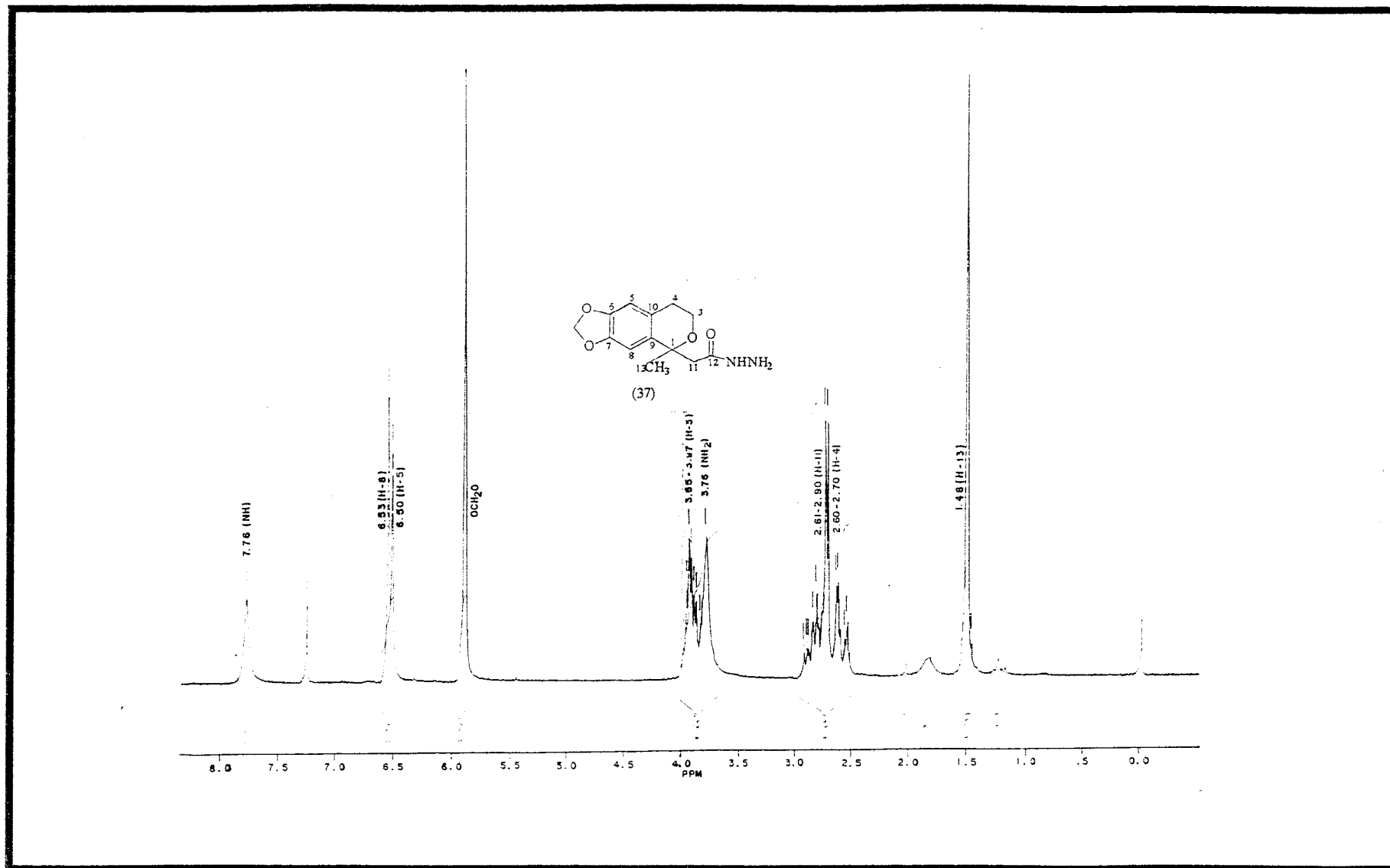
Espectro 8 - Espectro de RMN¹³C (50,3 MHz) do produto (46), desacoplado de próton (PND), registrado em CDCl₃ e TMS como referência interna.



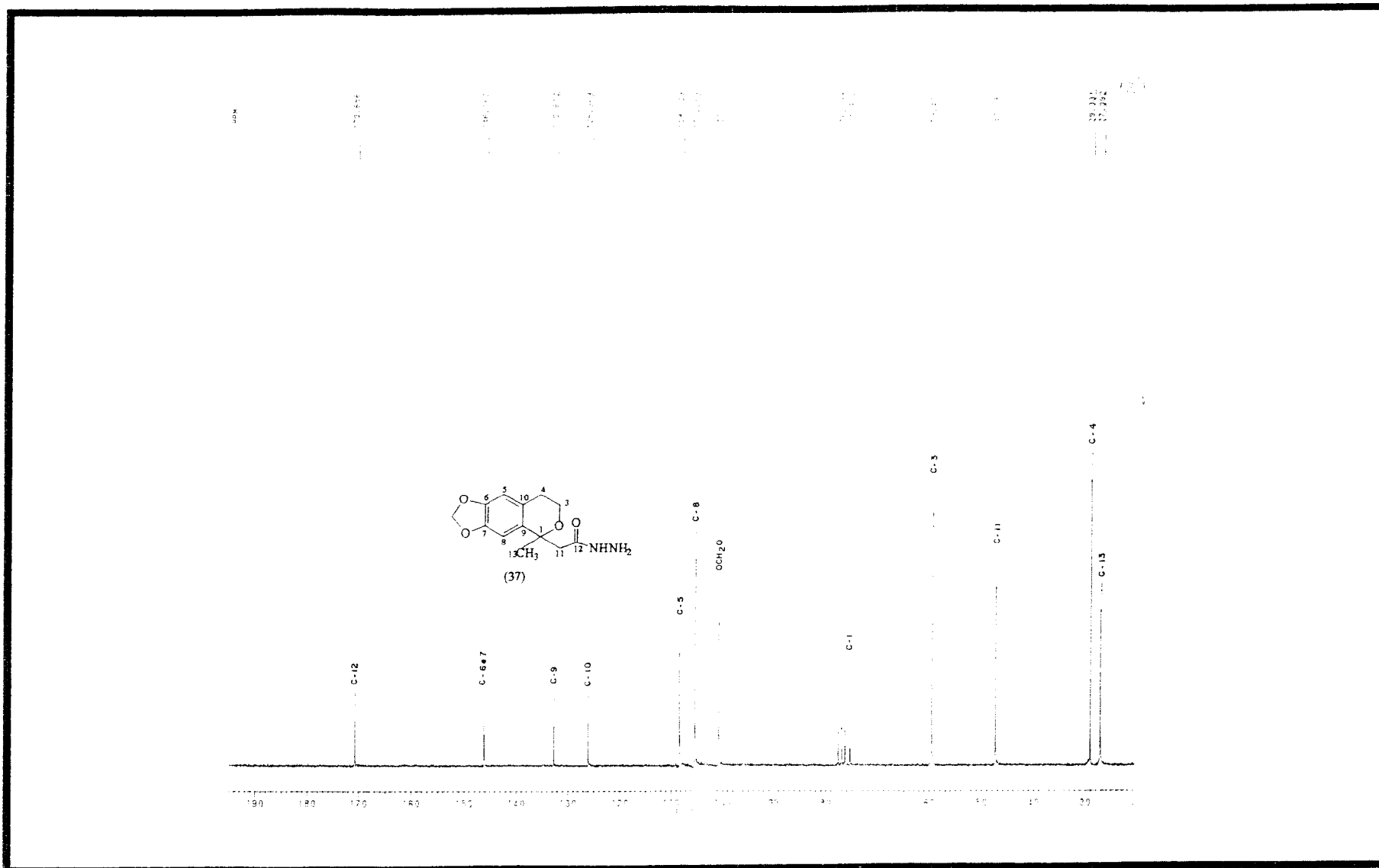
Espectro 9 - Espectro de infravermelho (KBr), obtido do produto (37).



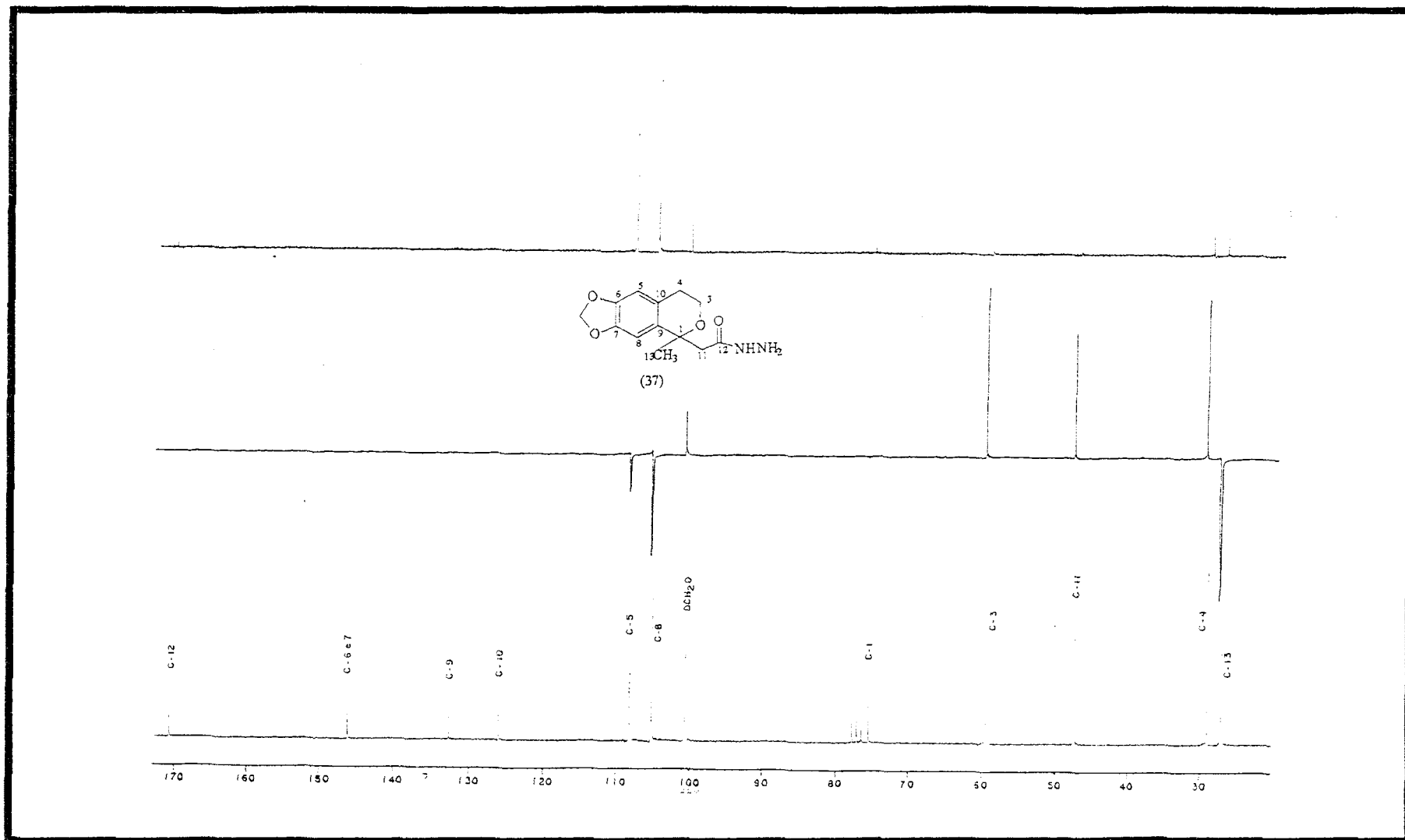
Espectro 10 - Espectro de massas do produto (37), obtido a 70 eV.



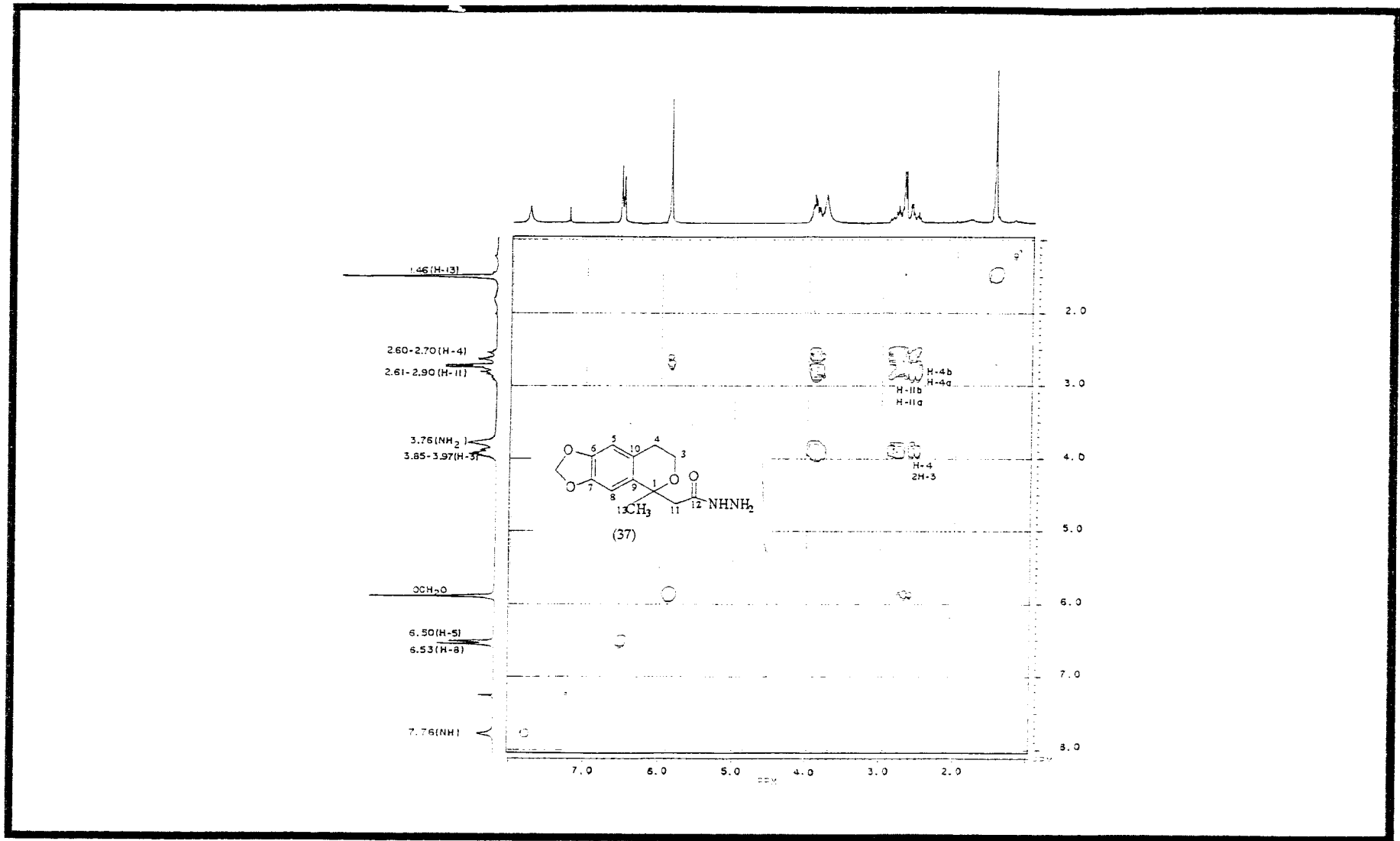
Espectro 11 - Espectro de RMN¹H (200 MHz) do produto (37), registrado em CDCl₃ e TMS como referência interna.



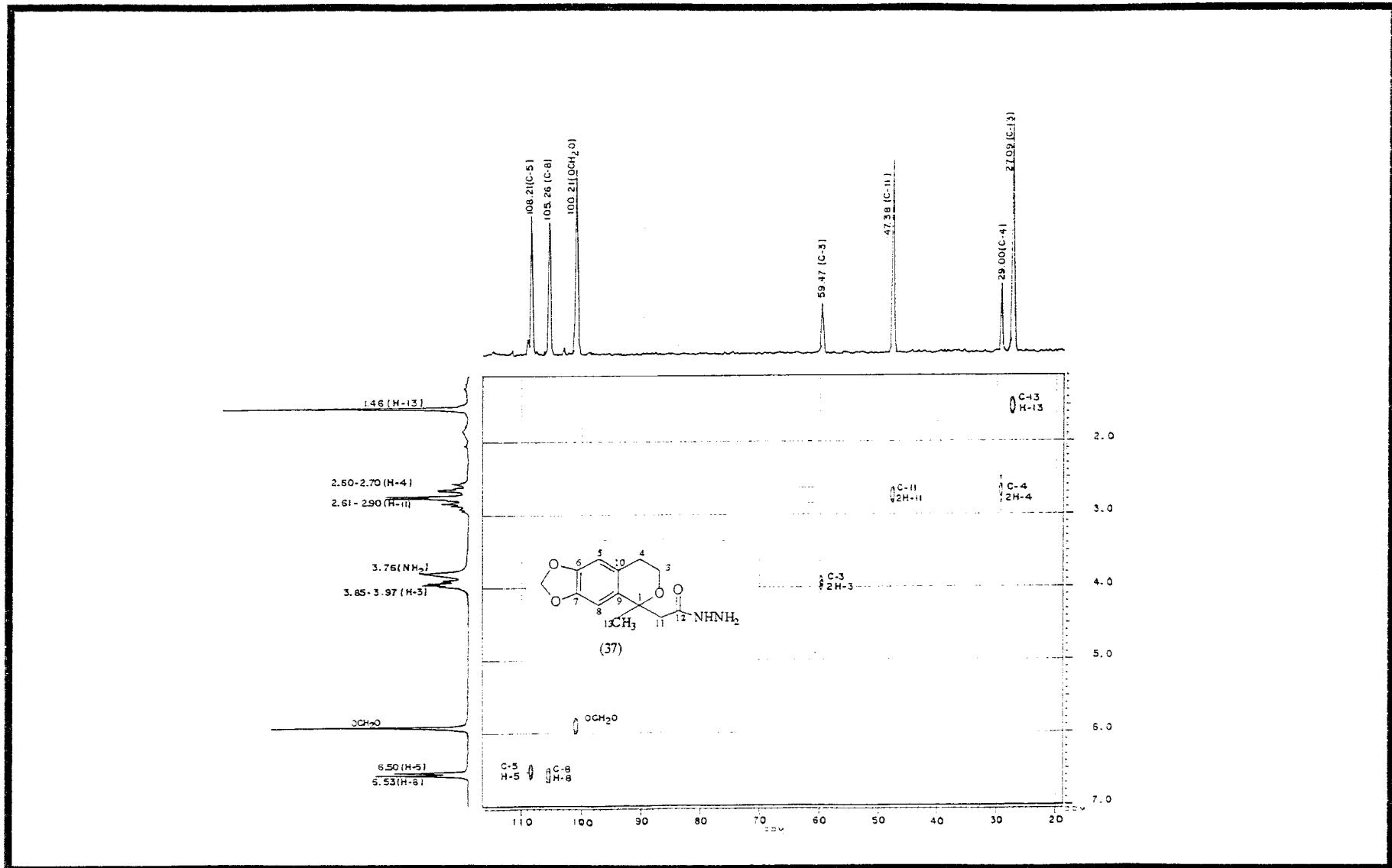
Espectro 12 - Espectro de RMN^{13}C (50,3 MHz) do produto (37), desacoplado de próton (PND), registrado em CDCl_3 e TMS como referência interna.



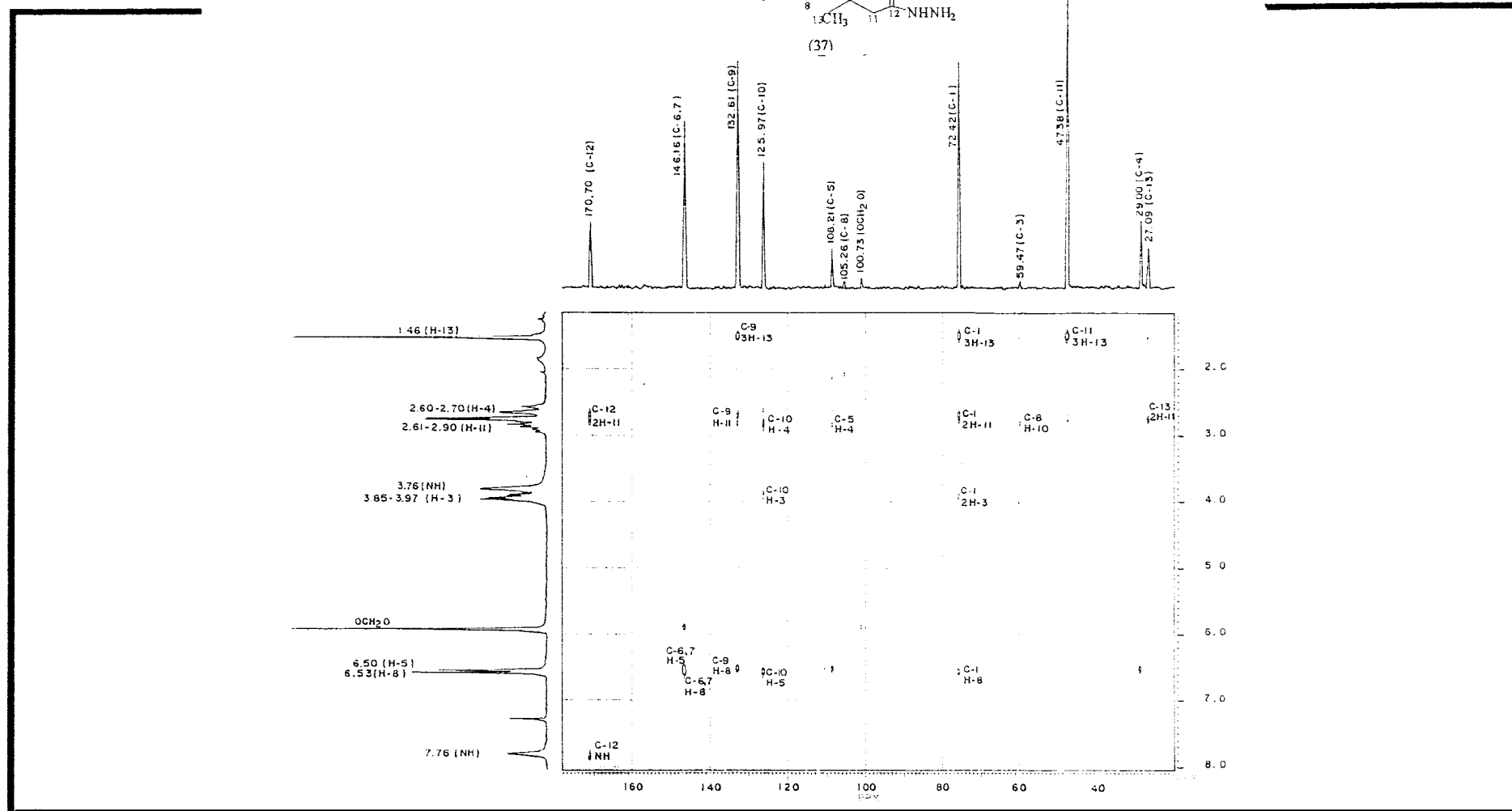
Espectro 13 - Espectro de RMN¹³C PND e DEPT com $\phi = 90^\circ$ e $\phi = 135^\circ$ (50,3 MHz) do produto (37), registrado em CDCl₃ e TMS como referência interna.



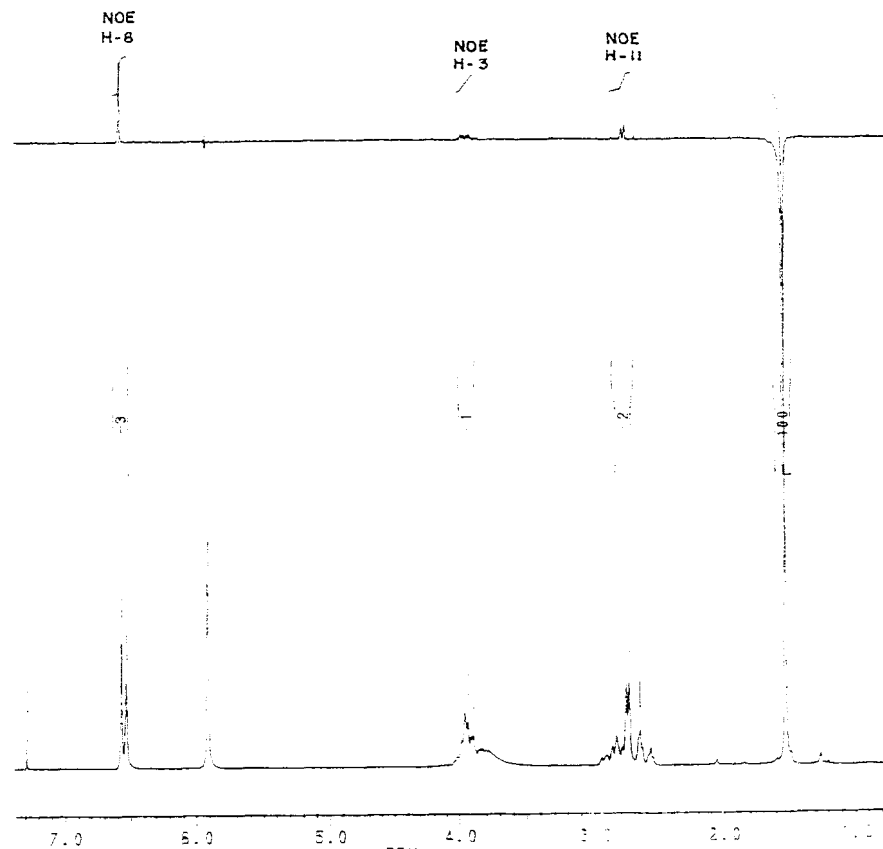
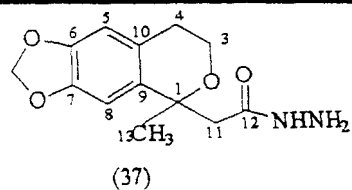
Espectro 14 - Espectro bidimensional de correlação homonuclear de hidrogênio e hidrogênio ($^1\text{H} \times ^1\text{H}$ -COSY) do produto (37), em CDCl_3 como solvente.



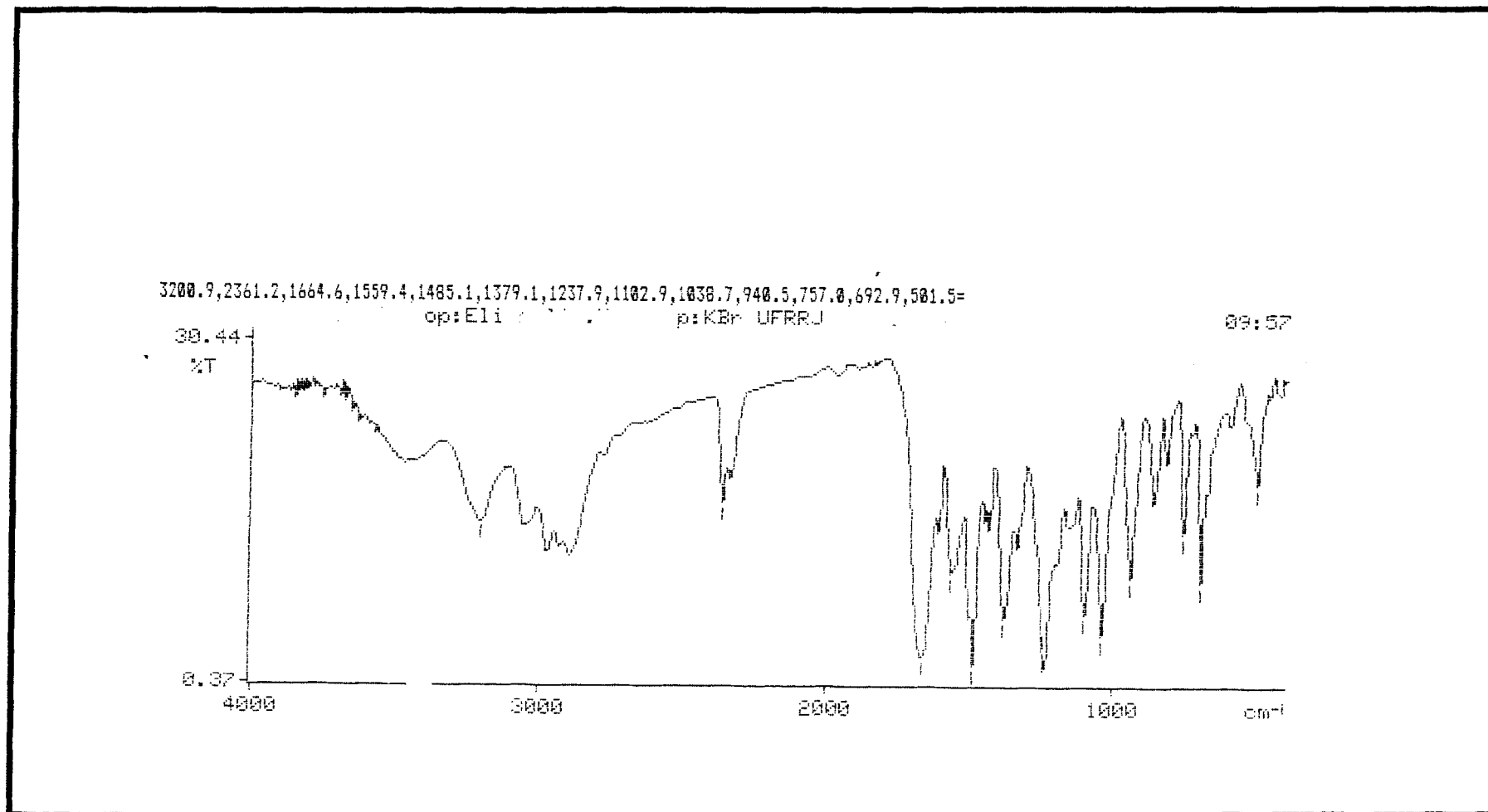
Espectro 15 - Espectro bidimensional de correlação heteronuclear de hidrogênio e carbono-13 via uma ligação ($^1\text{H} \times ^{13}\text{C}^{-1}J_{\text{CH}}$) do produto (37) em CDCl_3 como solvente.



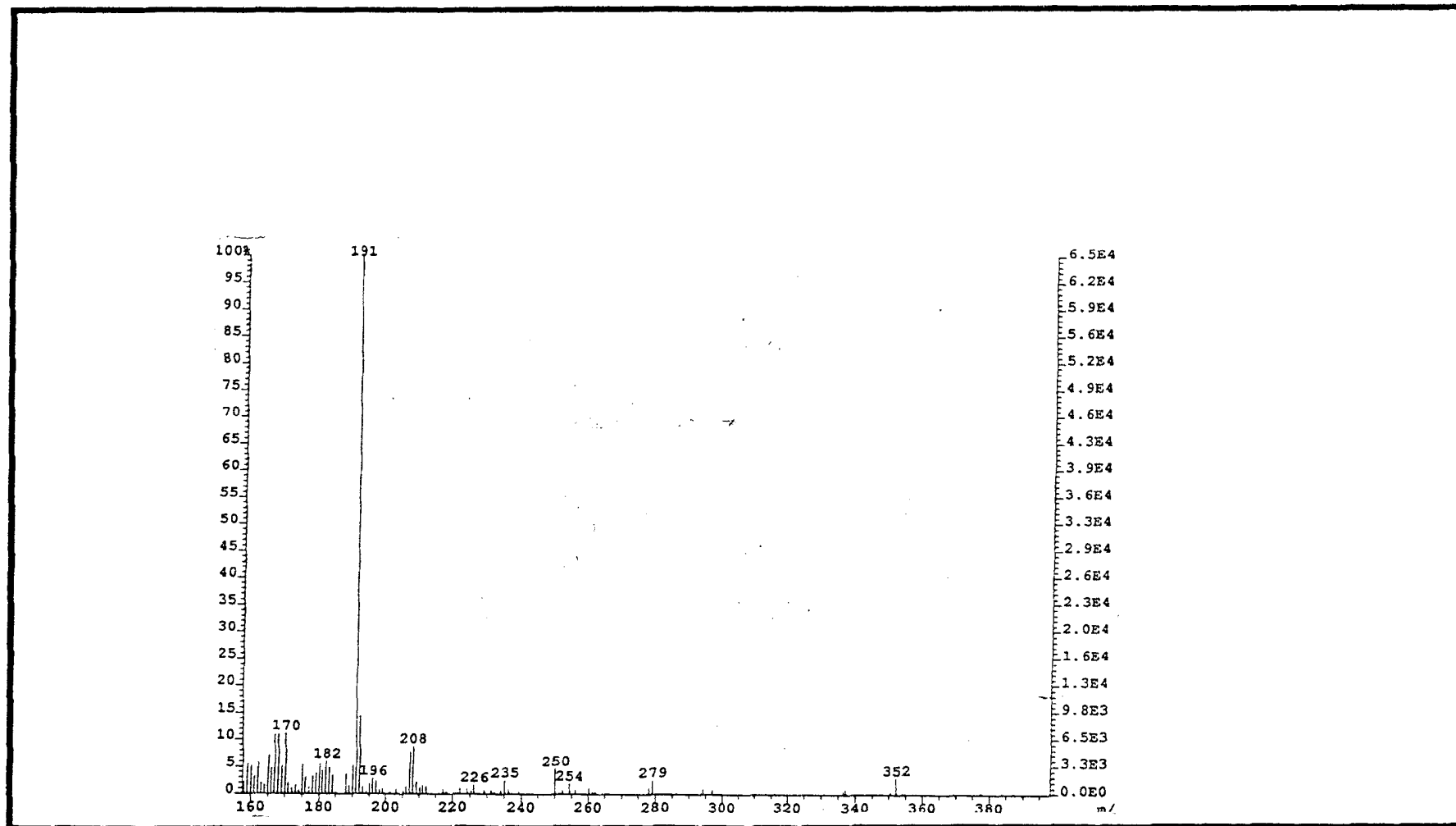
Espectro 16 - Espectro bidimensional de correlação heteronuclear de hidrogênio e carbono-13 a longa distância [¹H x ¹³C-COSY-ⁿJ_{CH} (n=2 e 3) do produto (37), em CDCl₃ como solvente.



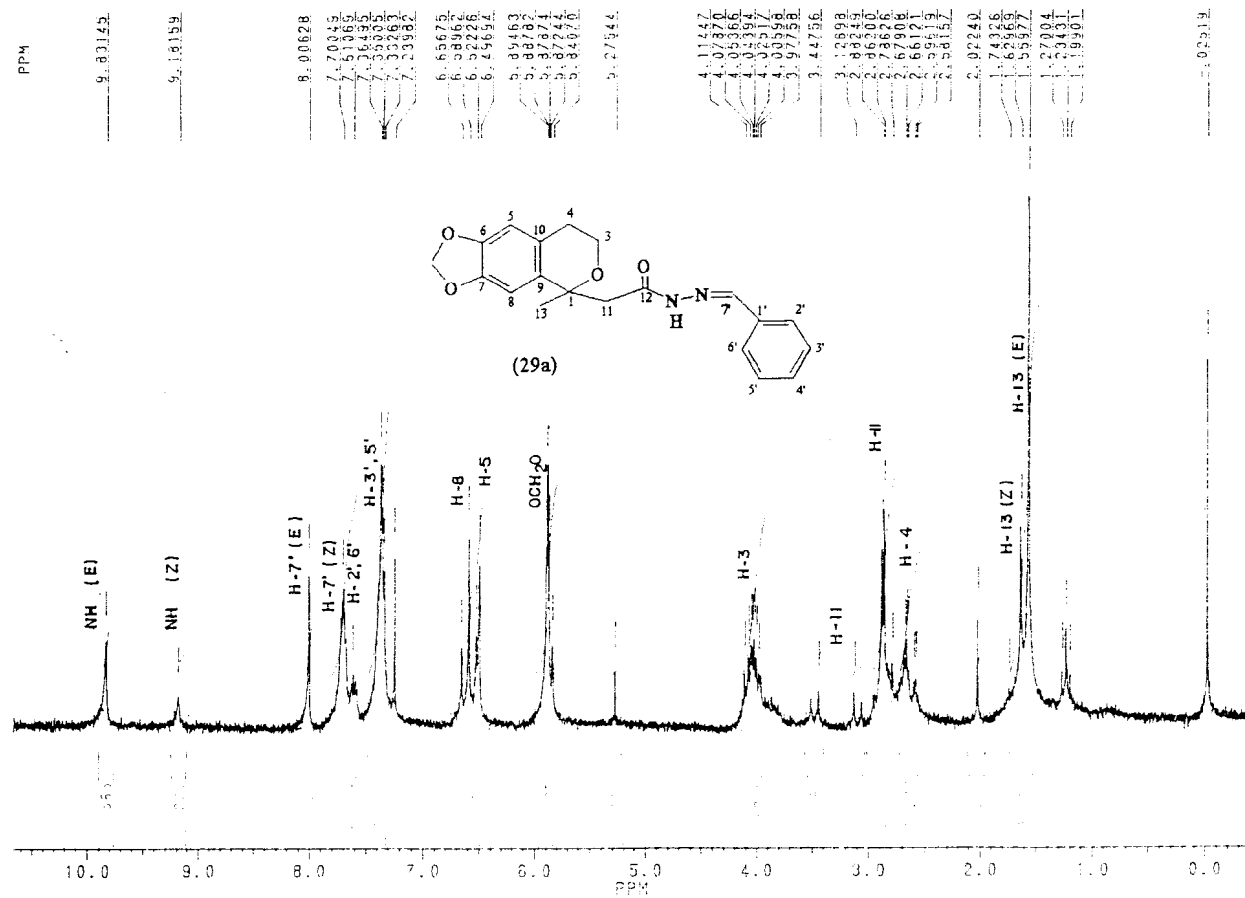
Espectro 17 - Experiência de NOE por subtração de espectros ($^1\text{H}\{^1\text{H}\}$ -NOE) do produto (37), em CDCl_3 como solvente.



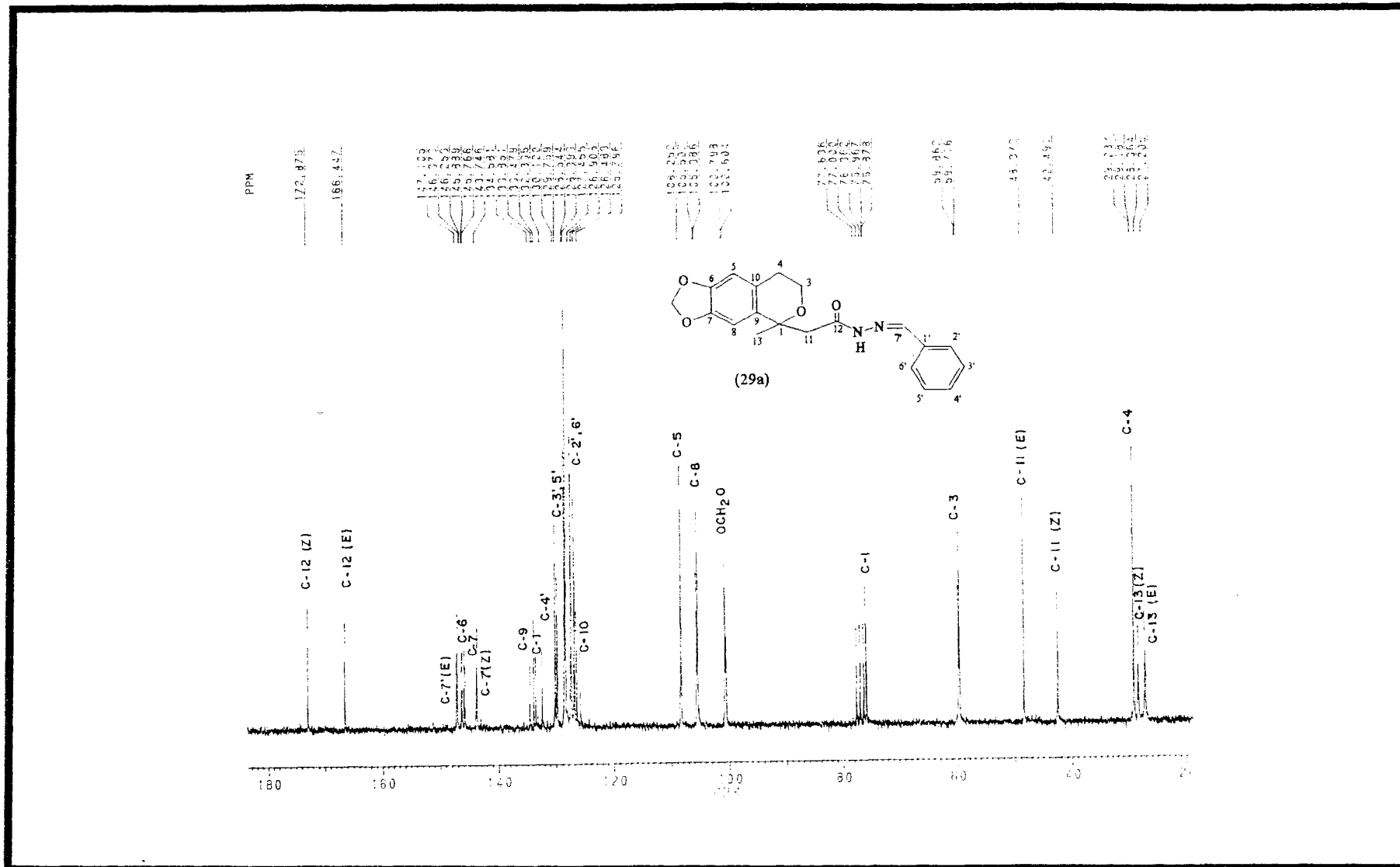
Espectro 18 - Espectro de infravermelho (KBr), obtido do produto(29a).



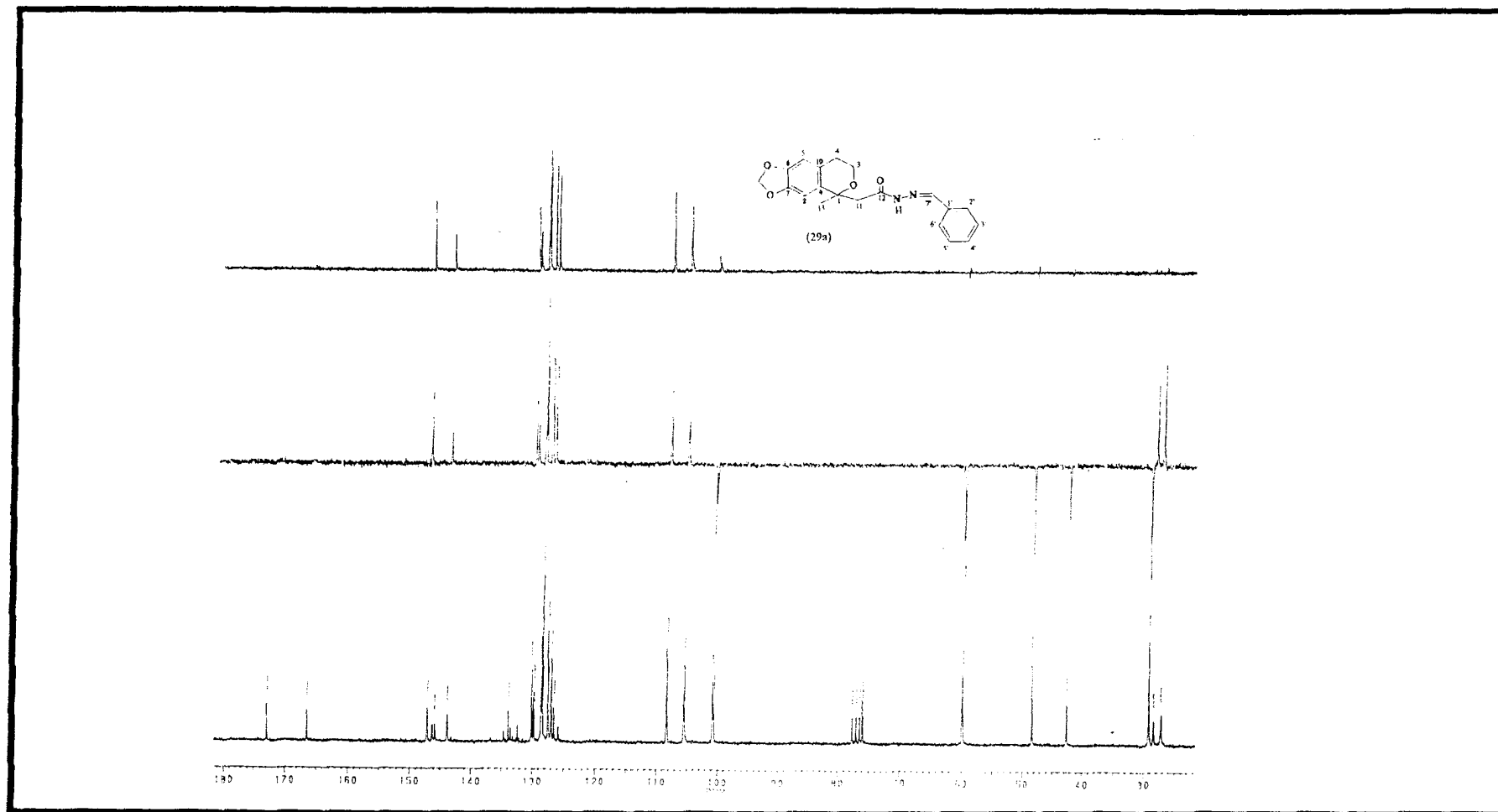
Espectro 19 - Espectro de massas do produto (29a), obtido a 70 eV.



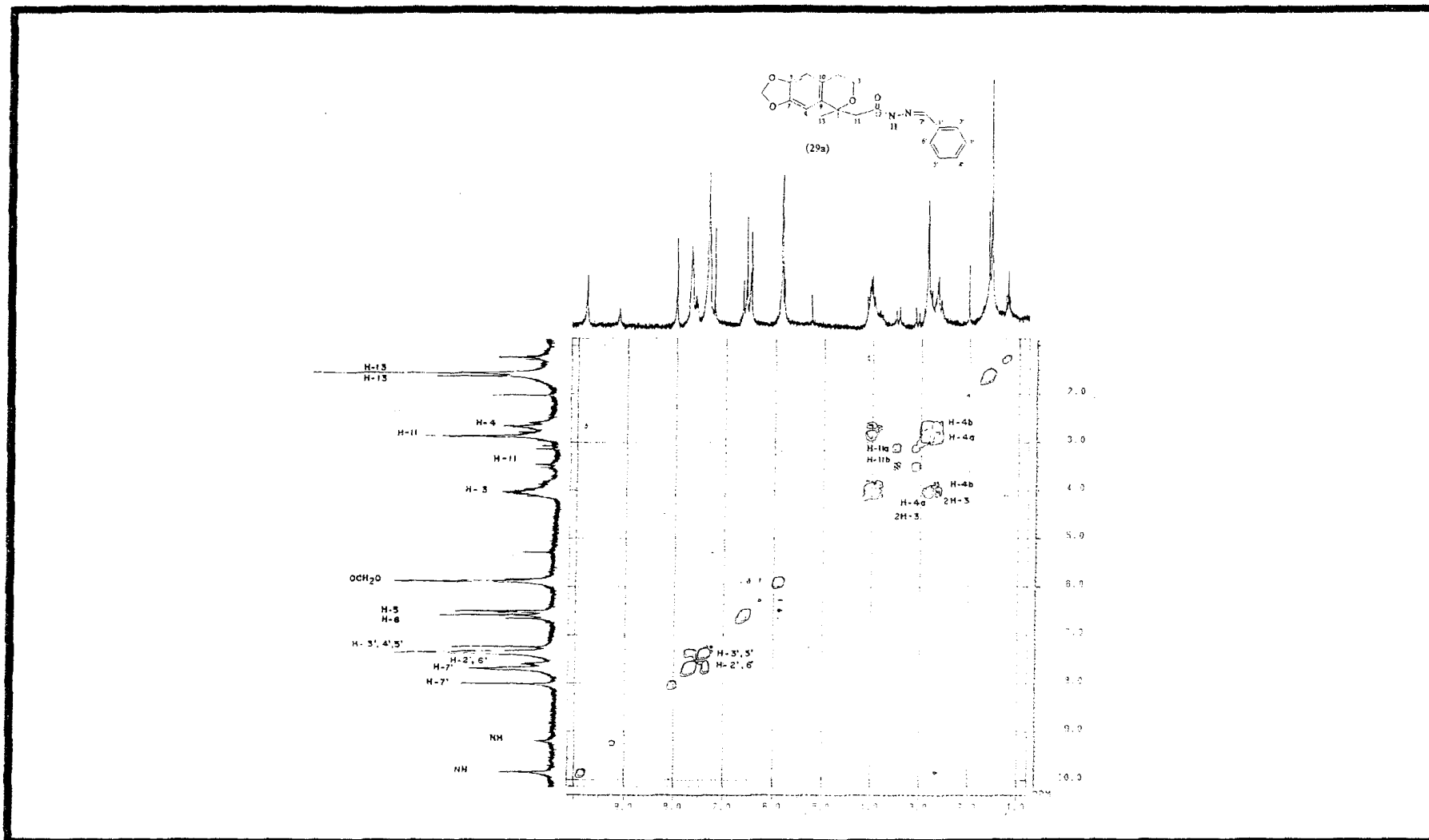
Espectro 20 - Espectro de RMN¹H (200 MHz) do produto(29a), registrado em CDCl₃ e TMS como referência interna.



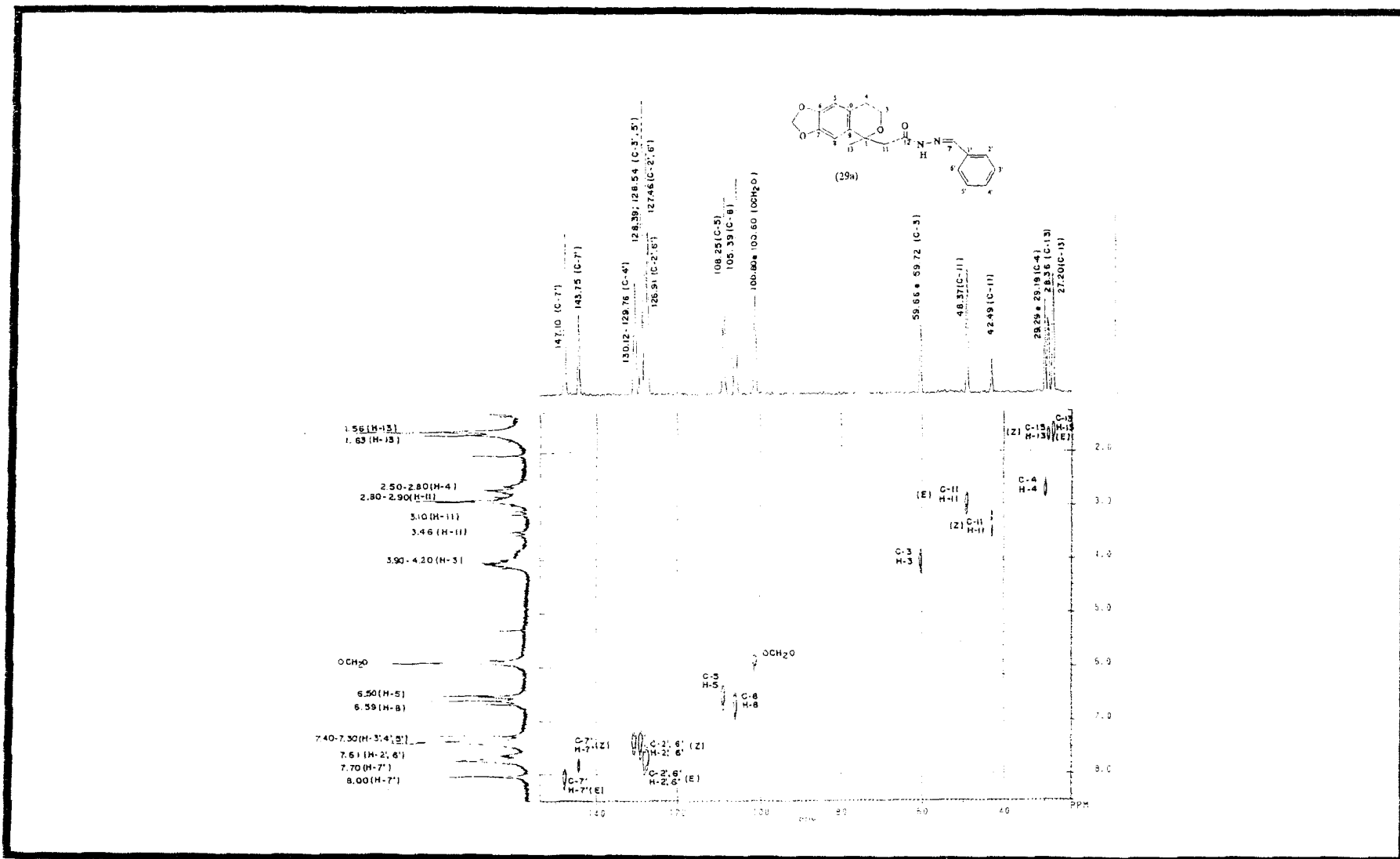
Espectro 21 - Espectro de RMN¹³C (50,3 MHz) do produto (29a), desacoplado de próton (PND), registrado em CDCl₃ e TMS como referência interna.



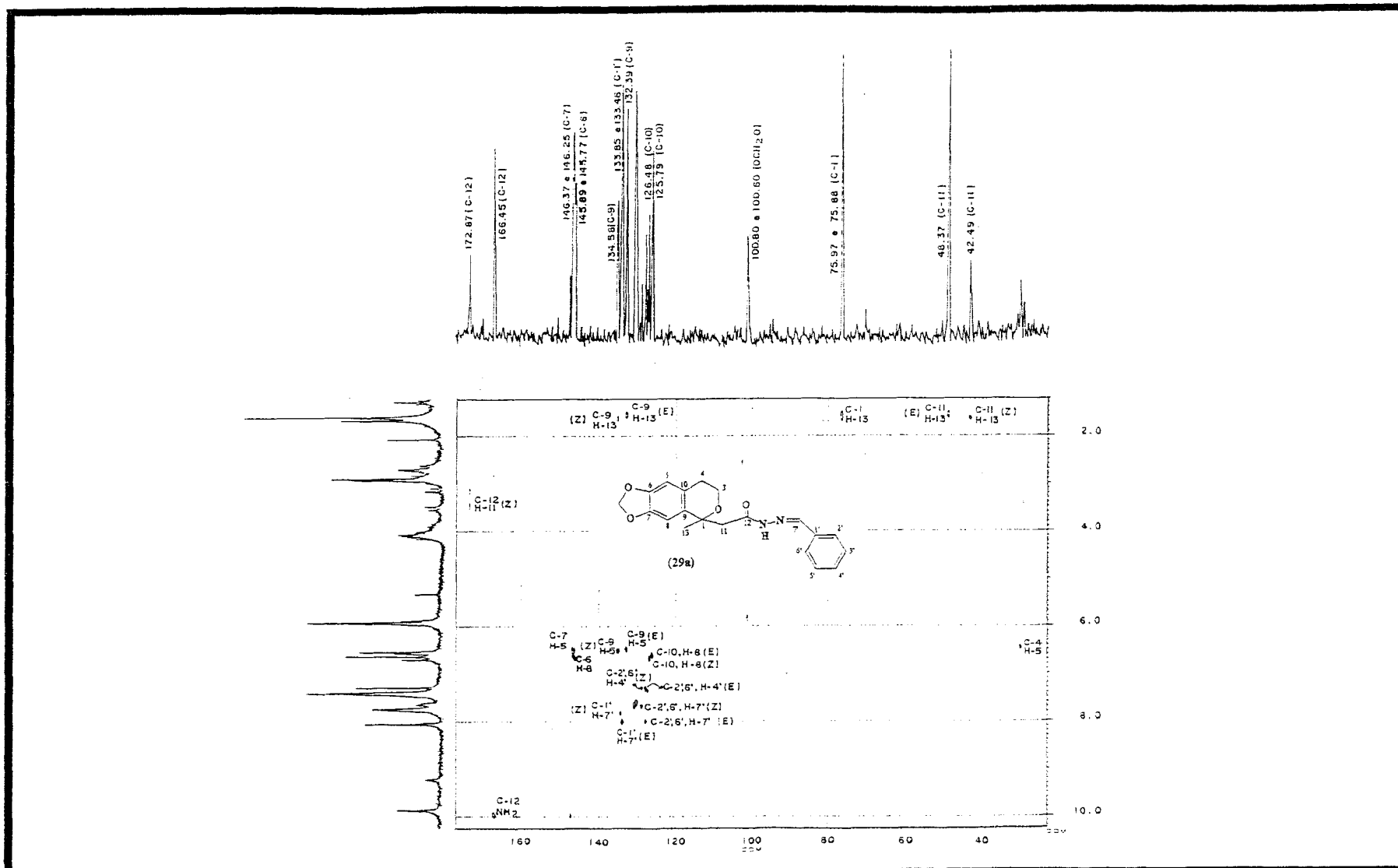
Espectro 22 - Espectro de RMN¹H PND e DEPT com $\varnothing = 90^\circ$ e $\varnothing = 135^\circ$ (50,3 MHz) do produto (29a), registrado em CDCl_3 e TMS como referência interna.



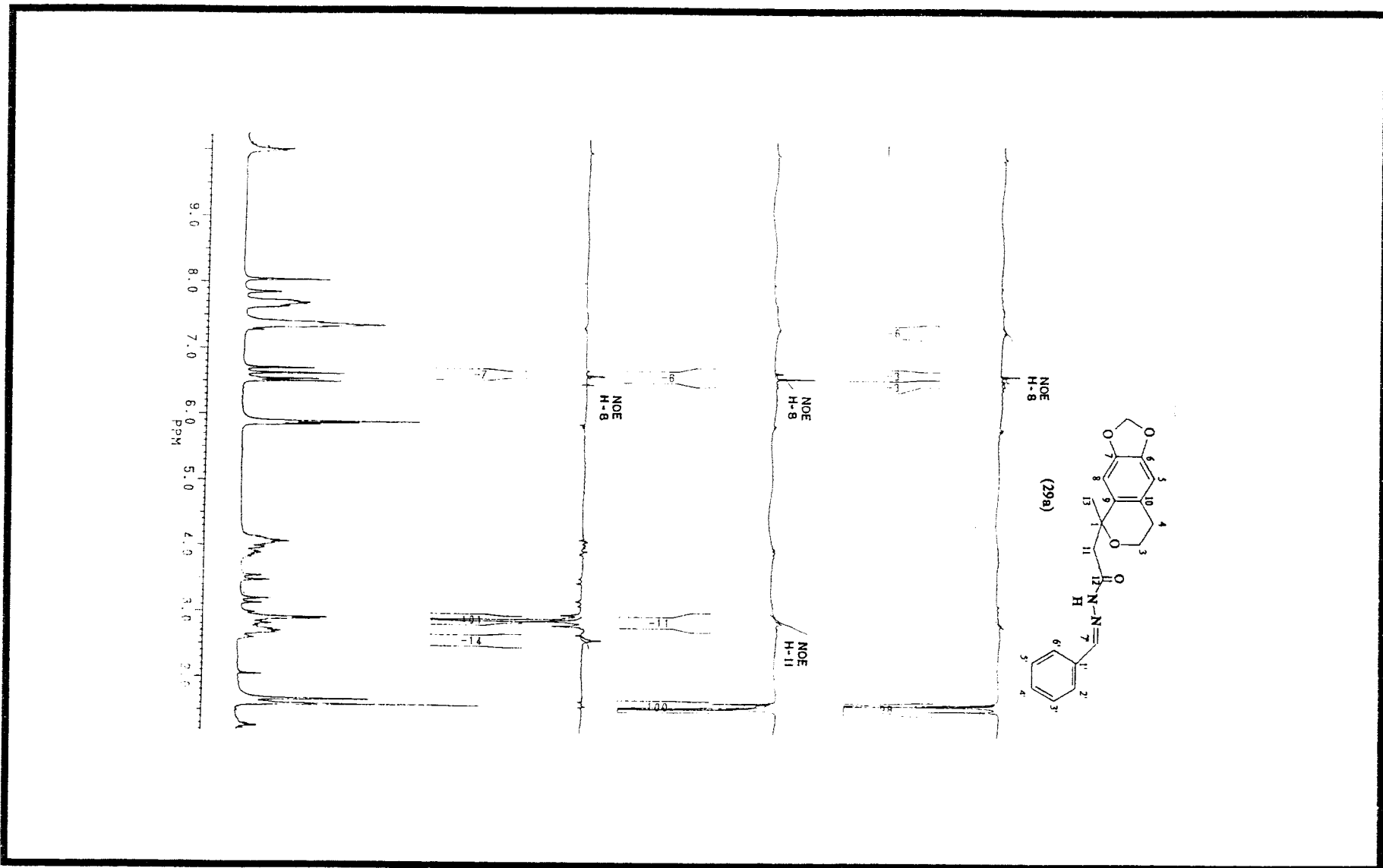
Espectro 23 - Espectro bidimensional de correlação homonuclear de hidrogênio e hidrogênio ($^1\text{H} \times ^1\text{H-COSY}$) do produto (29a), em CDCl_3 como solvente.



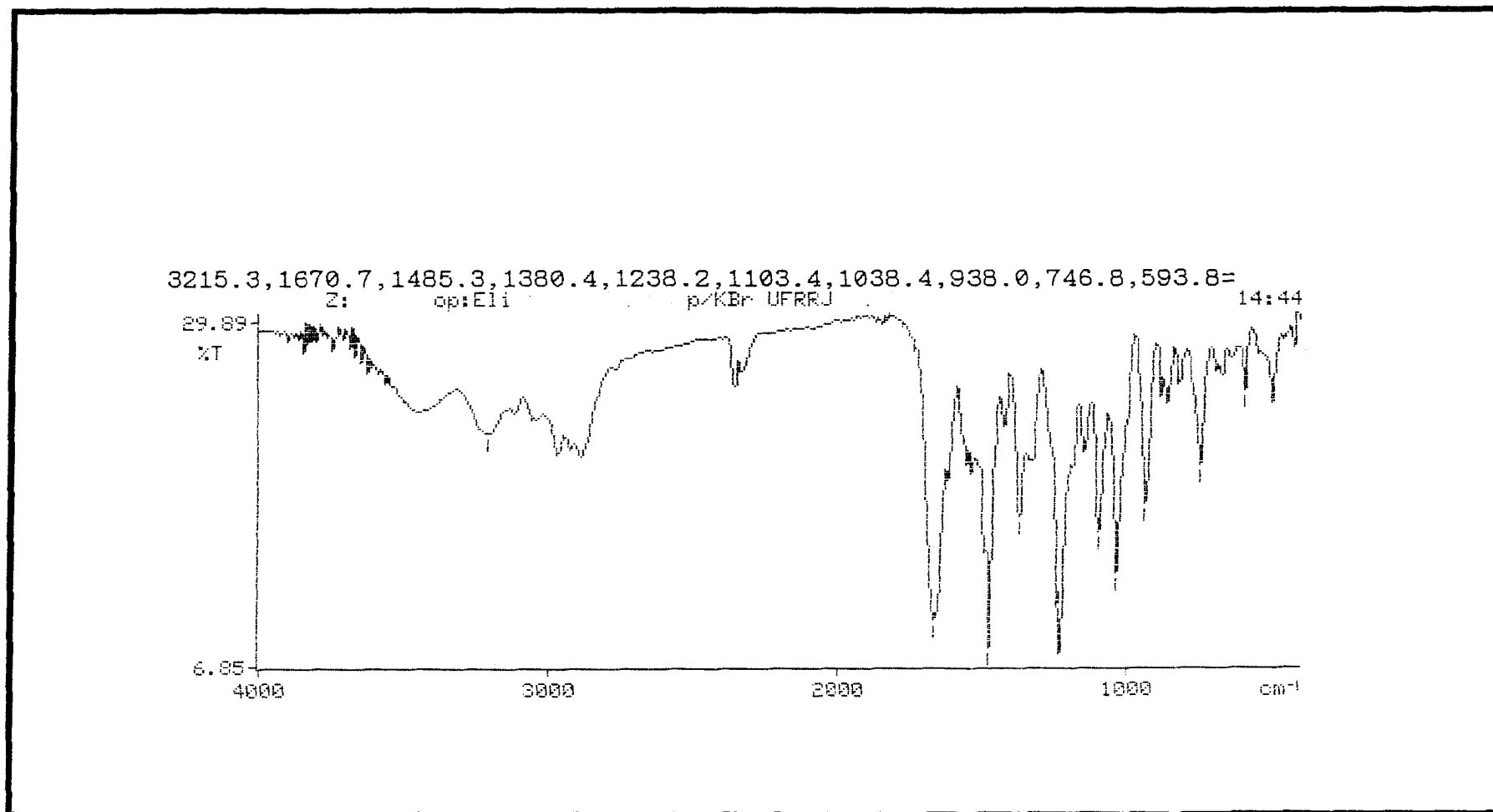
Espectro 24 - Espectro bidimensional de correlação heteronuclear de hidrogênio e carbono-13 via uma ligação ($^1\text{H} \times ^{13}\text{C}-^1\text{J}_{\text{CH}}$) do produto (29a) em CDCl_3 como solvente.



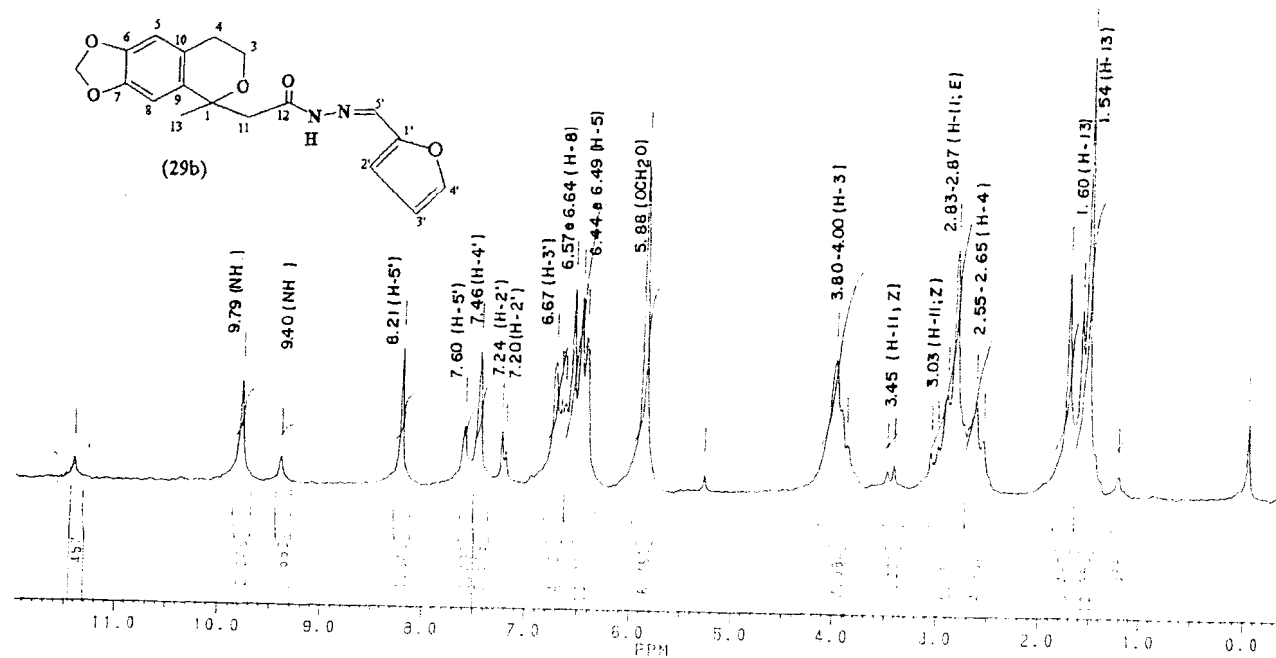
Espectro 25 - Espectro bidimensional de correlação heteronuclear de hidrogênio e carbono-13 a longa distância [$^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -COSY- $^n\text{J}_{\text{CH}}$ ($n=2$ e 3)] do produto (29a), em CDCl_3 como solvente.



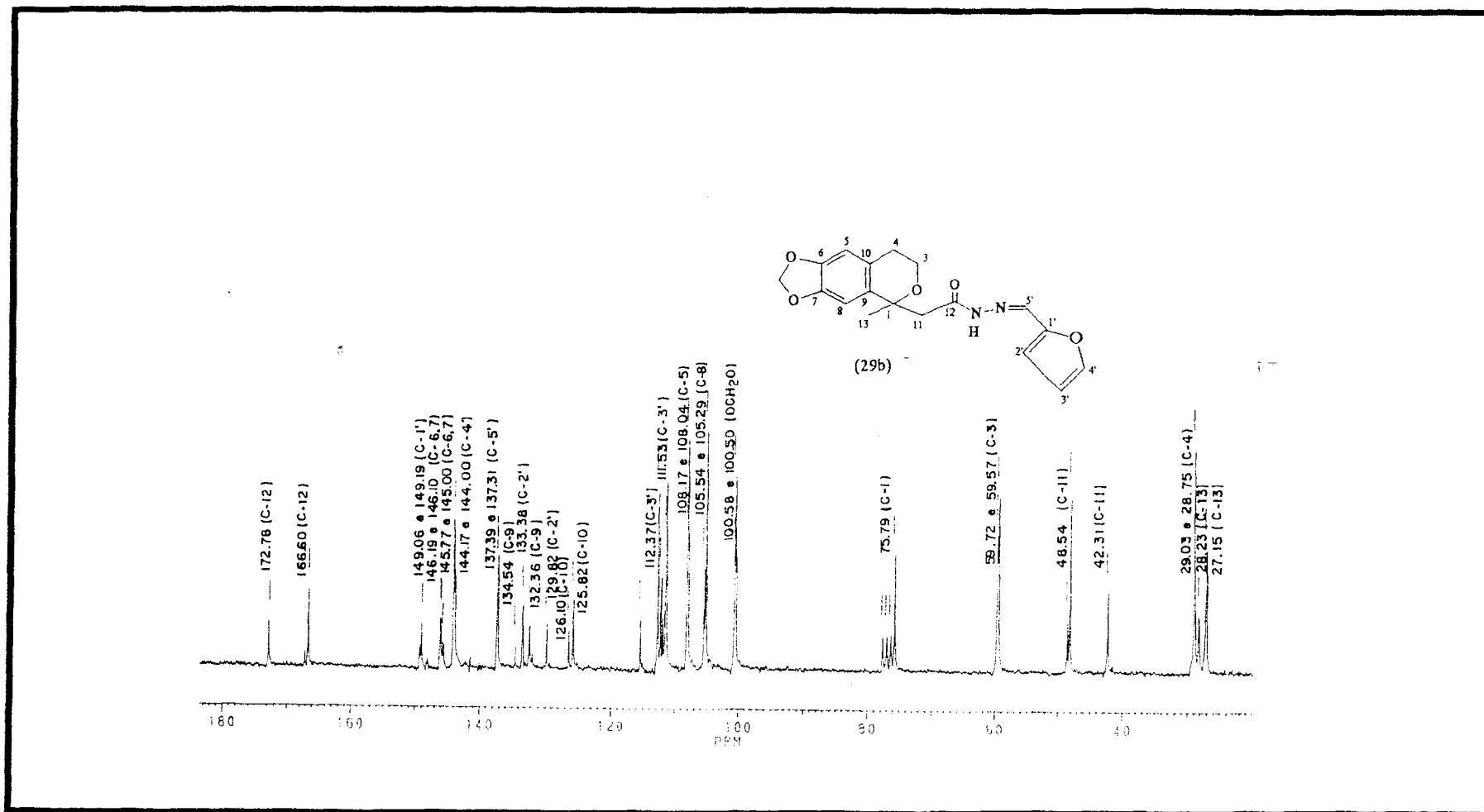
Espectro 26 - Experiência de NOE por subtração de espectros ($^1\text{H}\{^1\text{H}\}$ -NOE) do produto (29a), em CDCl_3 como solvente.



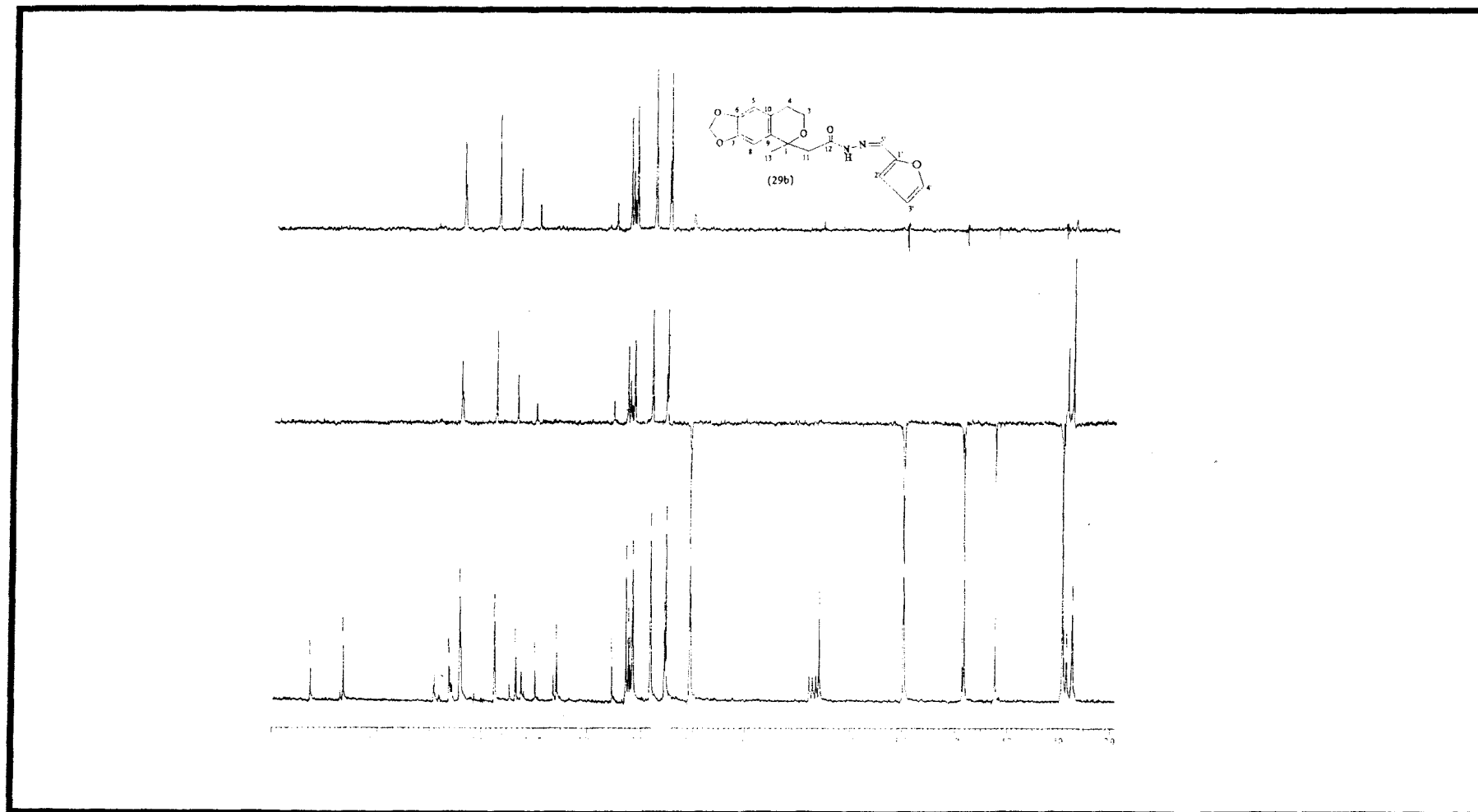
Espectro 27 - Espectro de infravermelho (KBr), obtido do produto (29b).



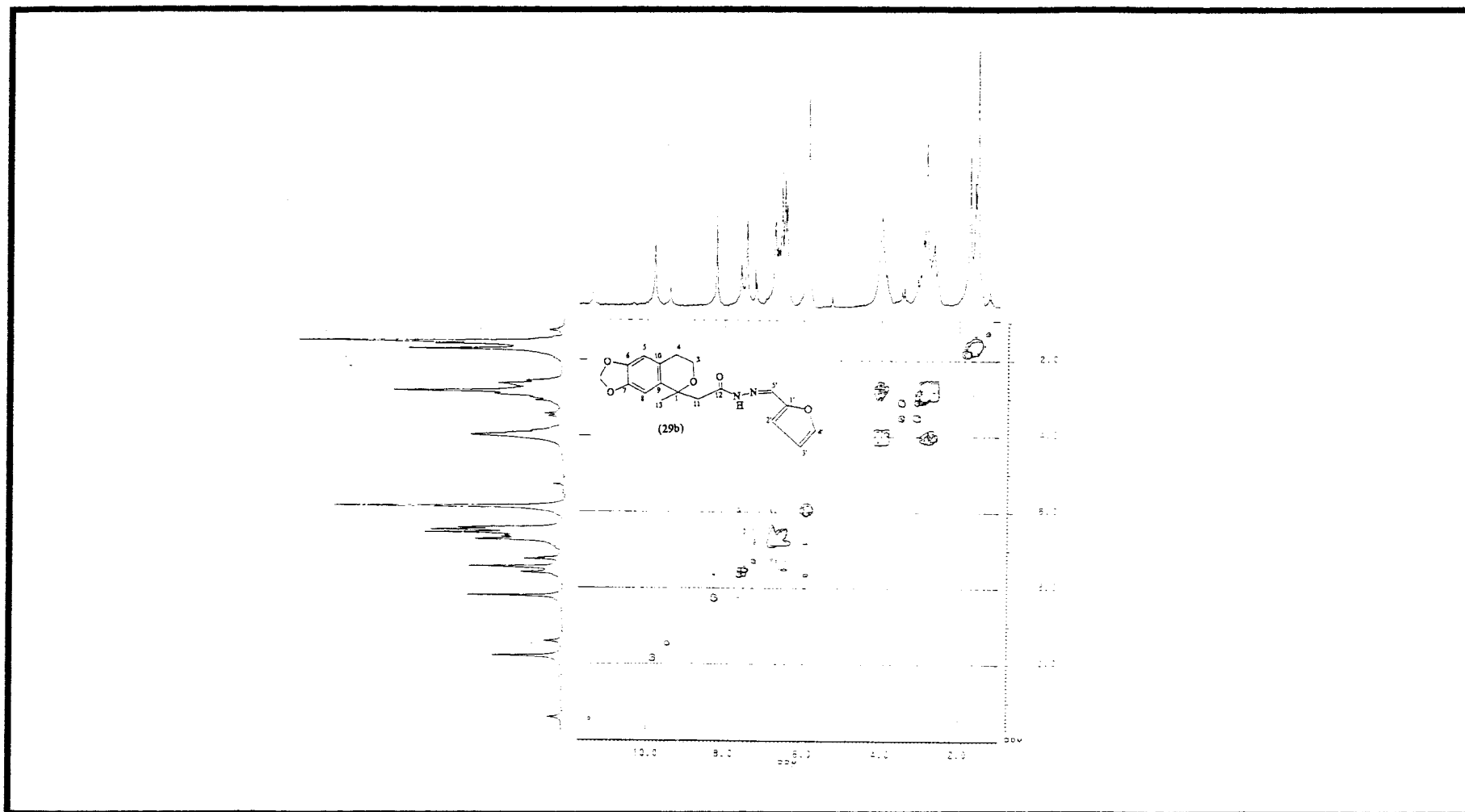
Espectro 28 - Espectro de RMN^1H (200 MHz) do produto (29b), registrado em CDCl_3 e TMS como referência interna.



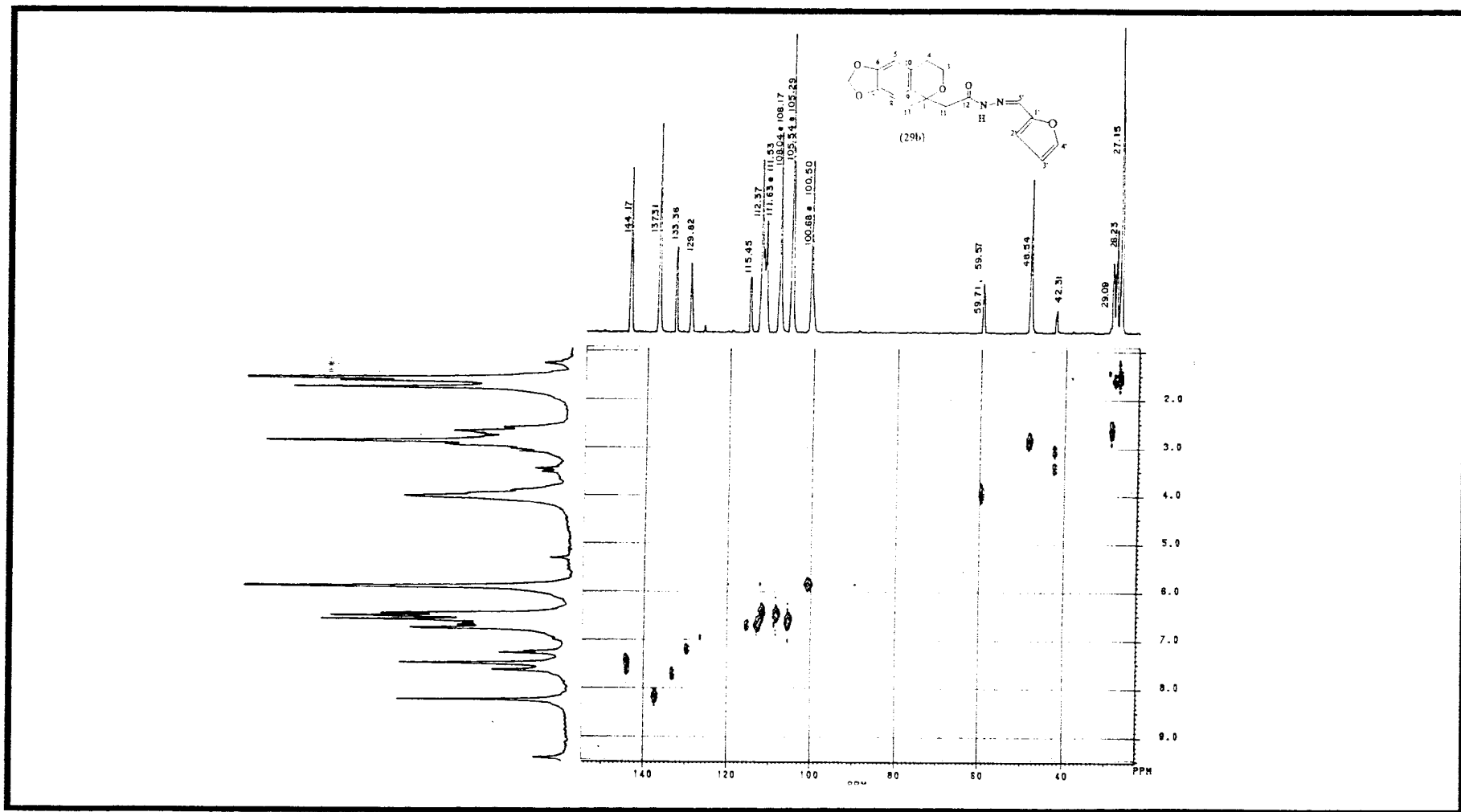
Espectro 29 - Espectro de RMN^{13}C (50,3 MHz) do produto (29b), desacoplado de próton (PND), registrado em CDCl_3 e TMS como referência interna.



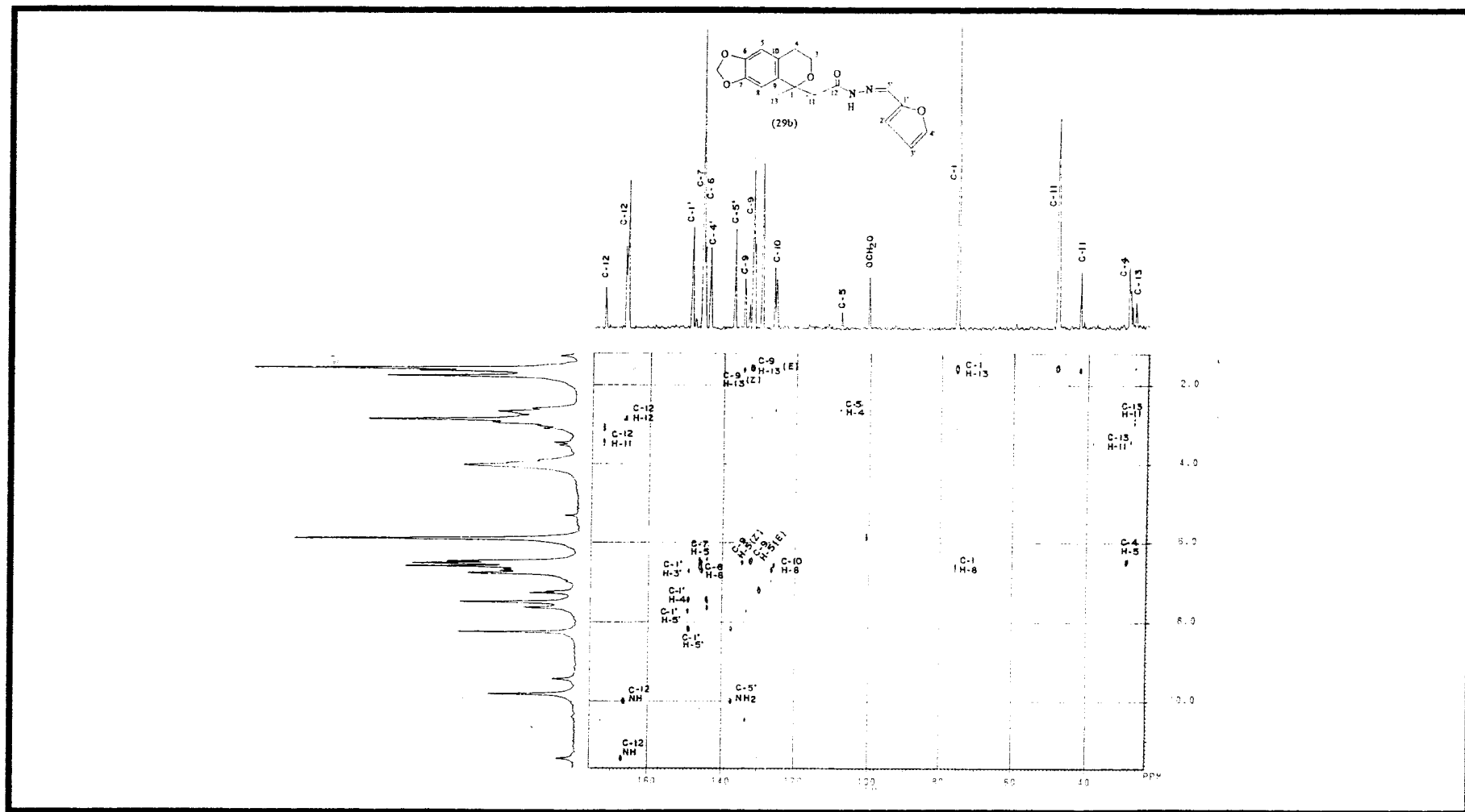
Espectro 30 - Espectro de RMN¹H PND e DEPT com $\varnothing = 90^\circ$ e $\varnothing = 135^\circ$ (50,3 MHz) do produto (29b), registrado em CDCl₃ e TMS como referência interna.



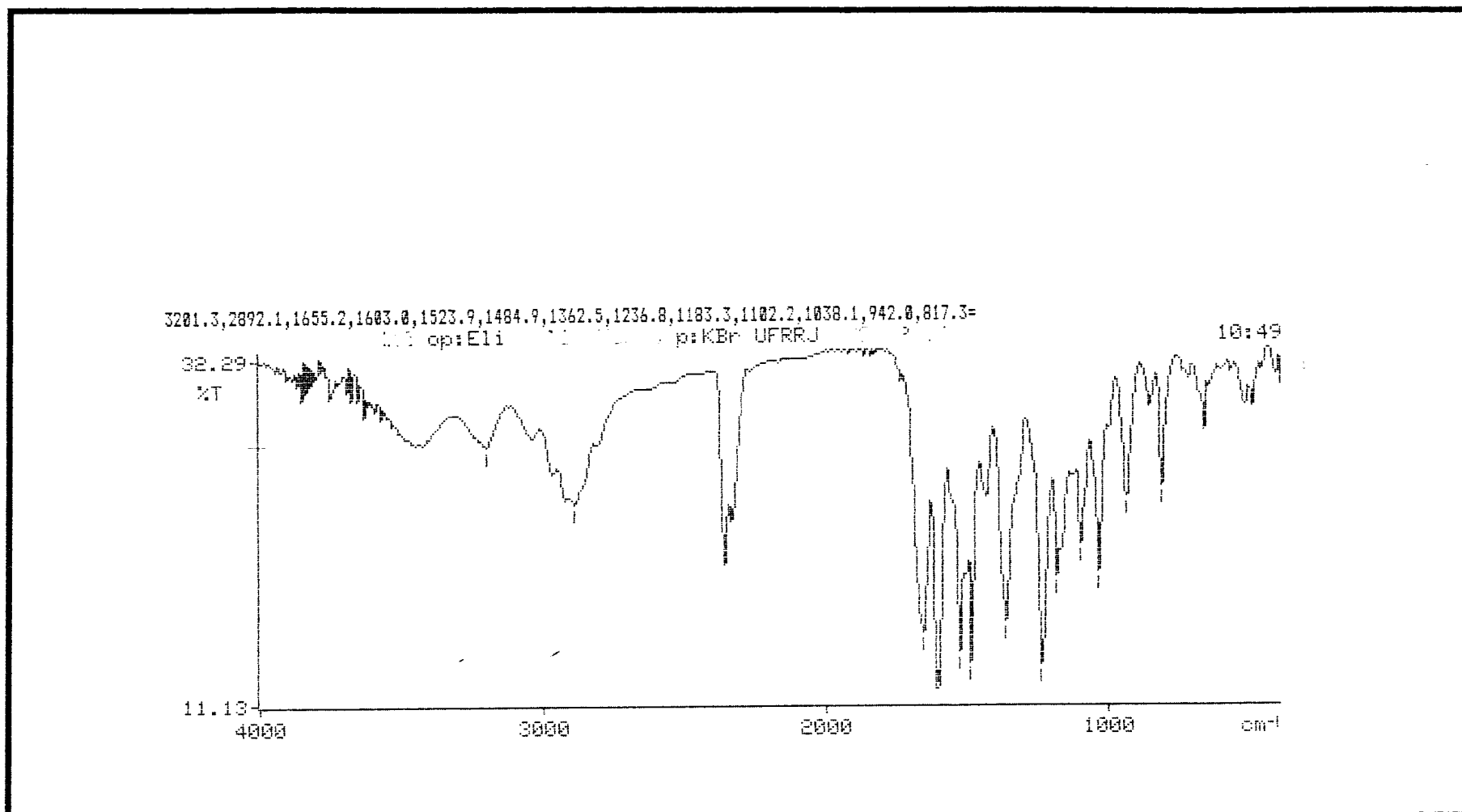
Espectro 31 - Espectro bidimensional de correlação homonuclear de hidrogênio e hidrogênio ($^1\text{H} \times ^1\text{H}$ -COSY) do produto (29b), em CDCl_3 como solvente.



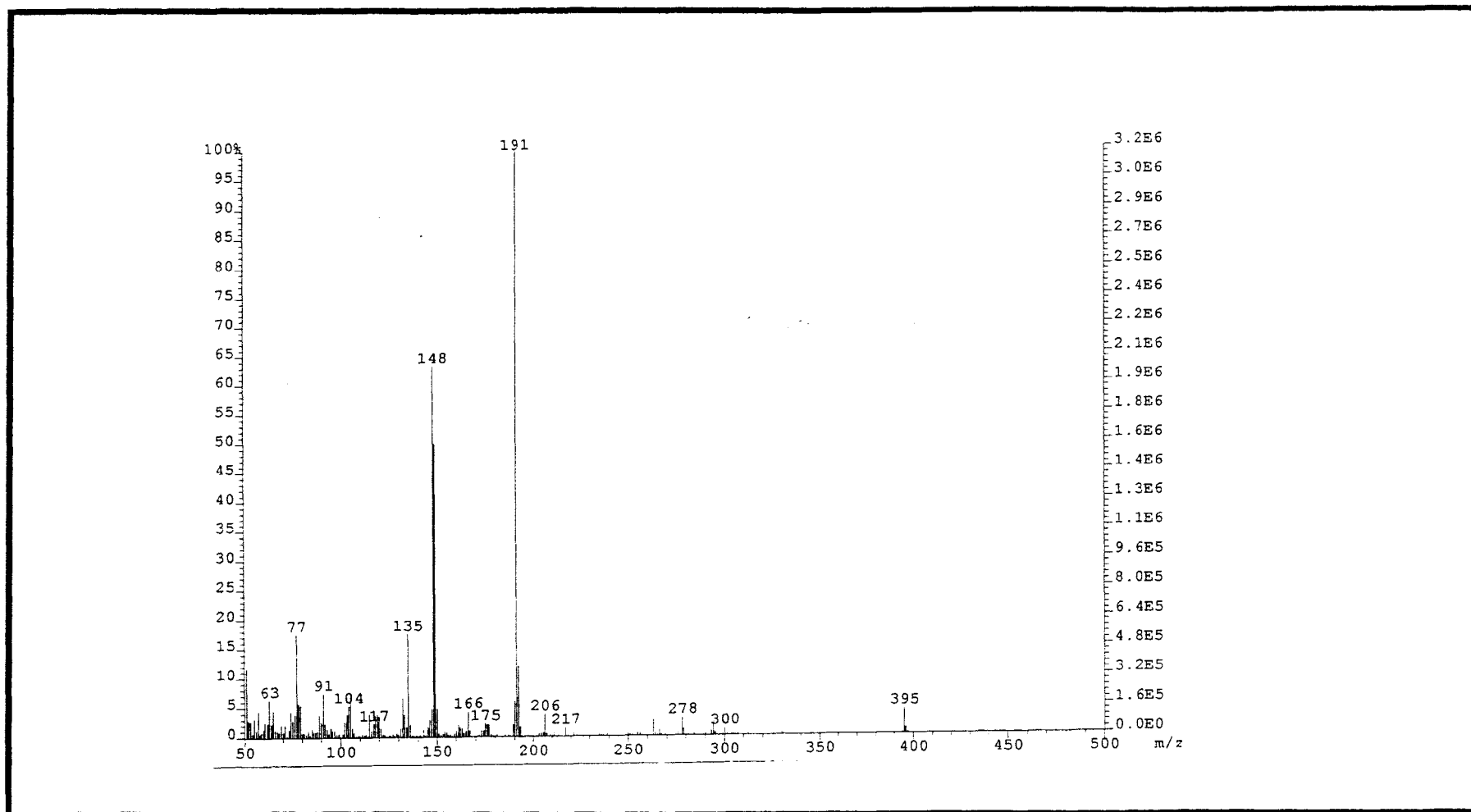
Espectro 32 - Espectro bidimensional de correlação heteronuclear de hidrogênio e carbono-13 via uma ligação ($^1\text{H} \times ^{13}\text{C}-^1\text{J}_{\text{CH}}$) do produto (29b) em CDCl_3 como solvente.



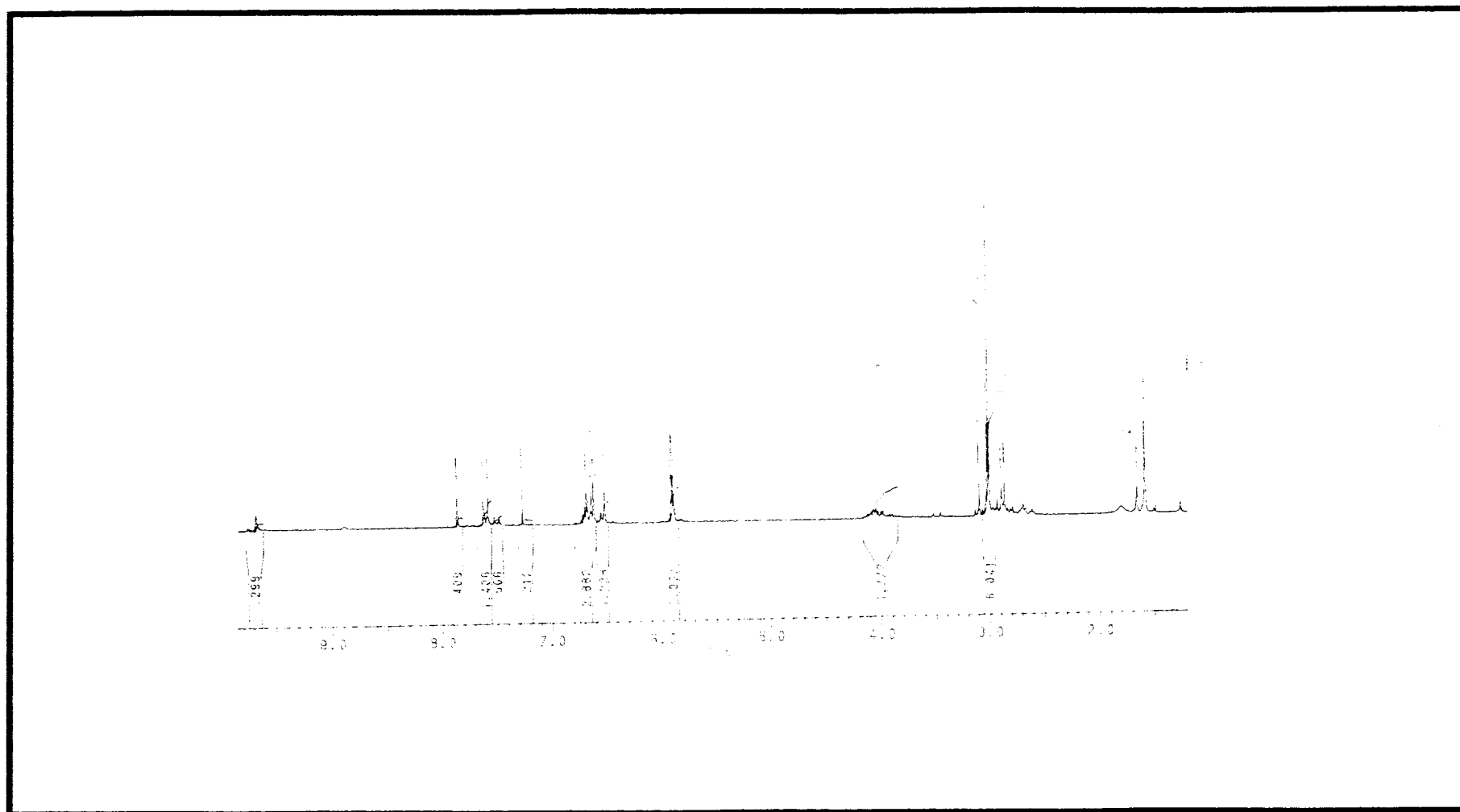
Espectro 33 - Espectro bidimensional de correlação heteronuclear de hidrogênio e carbono-13 a longa distância $[\text{}^1\text{H} \times \text{}^{13}\text{C}\text{-COSY-}^n\text{J}_{\text{CH}} (n=2 \text{ e } 3)]$ do produto (29b), em CDCl_3 como solvente.



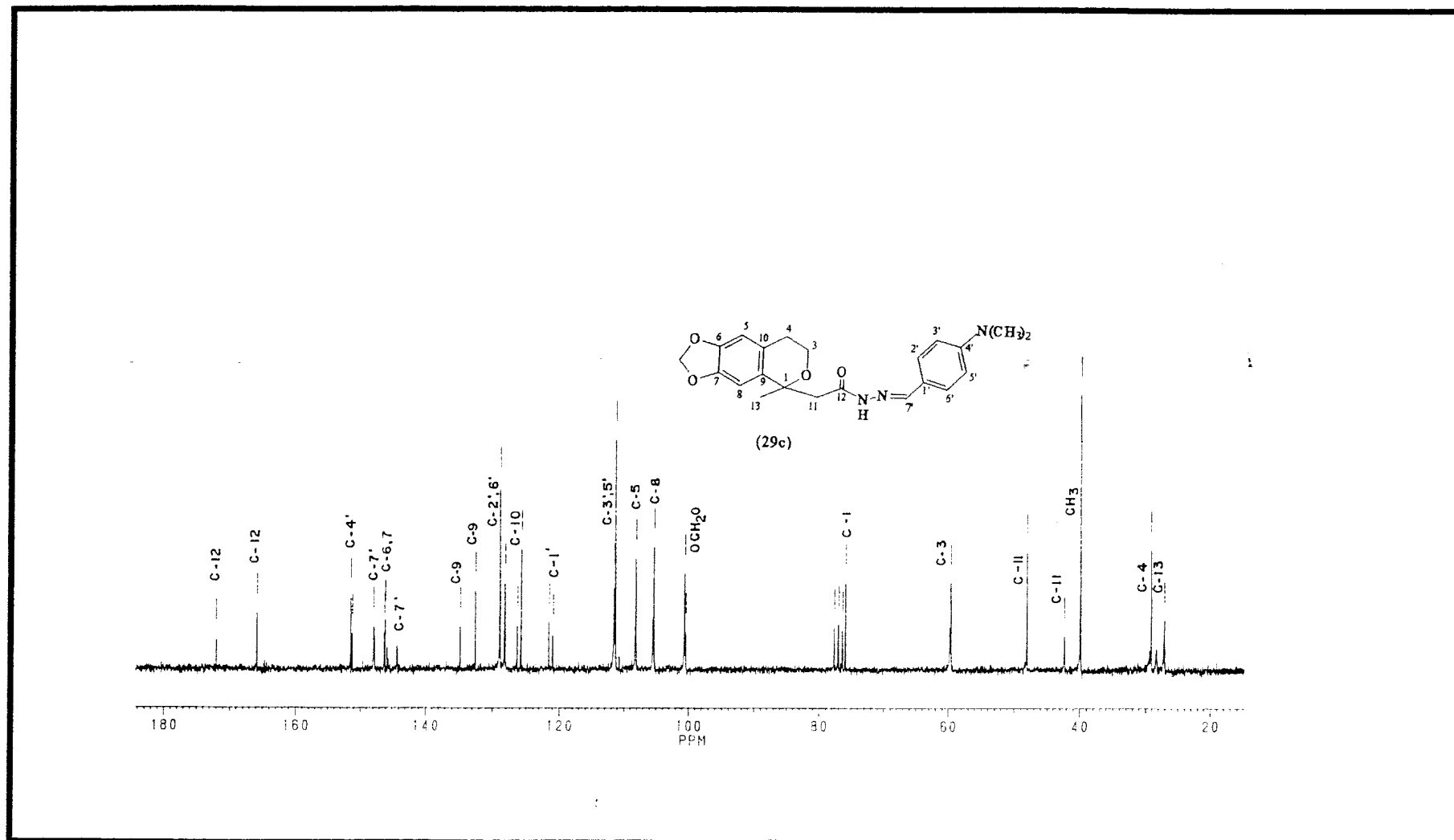
Espectro 35 - Espectro de infravermelho (KBr), obtido do produto (29c).



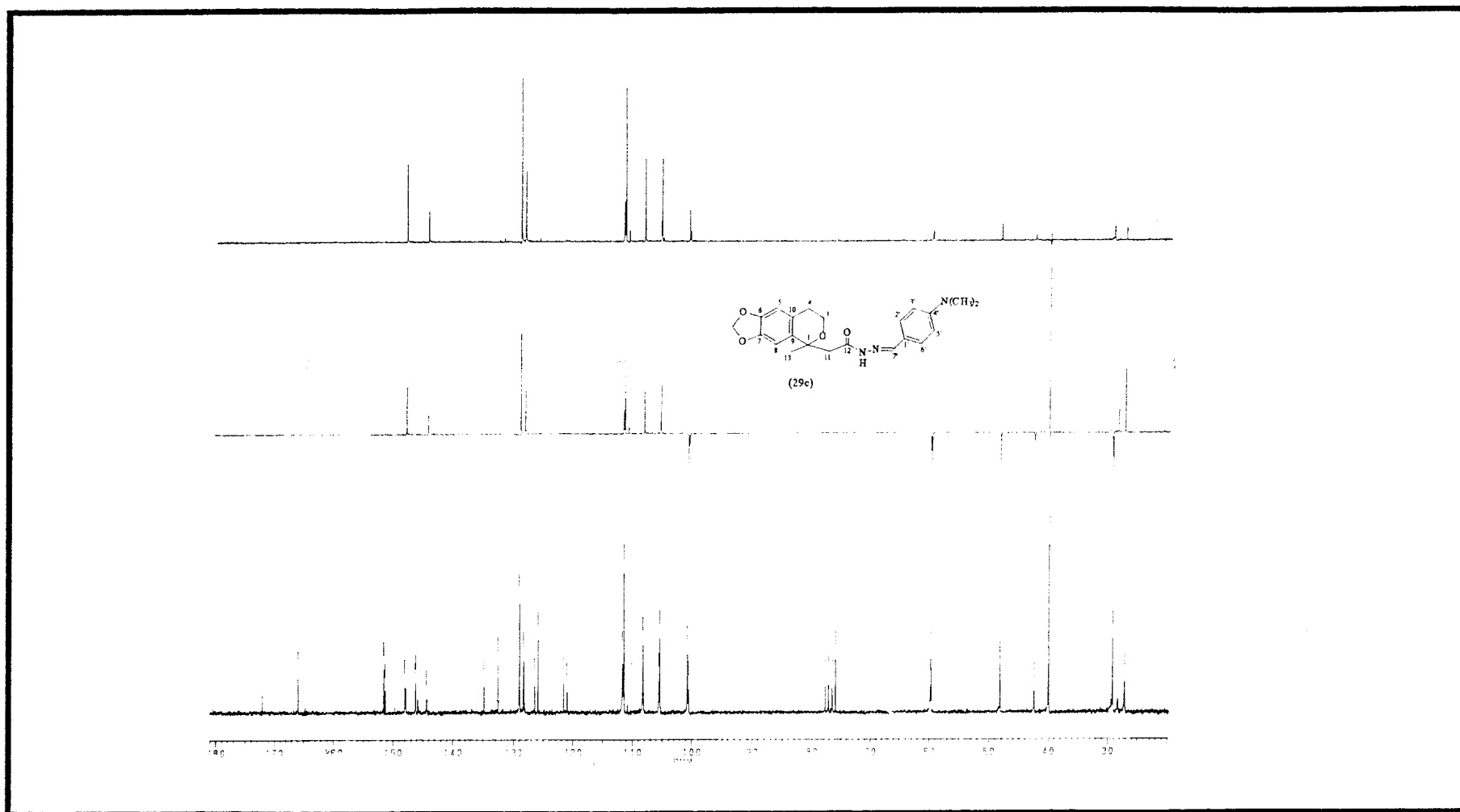
Espectro 36 - Espectro de massas do produto (29c) , obtido a 70 eV.



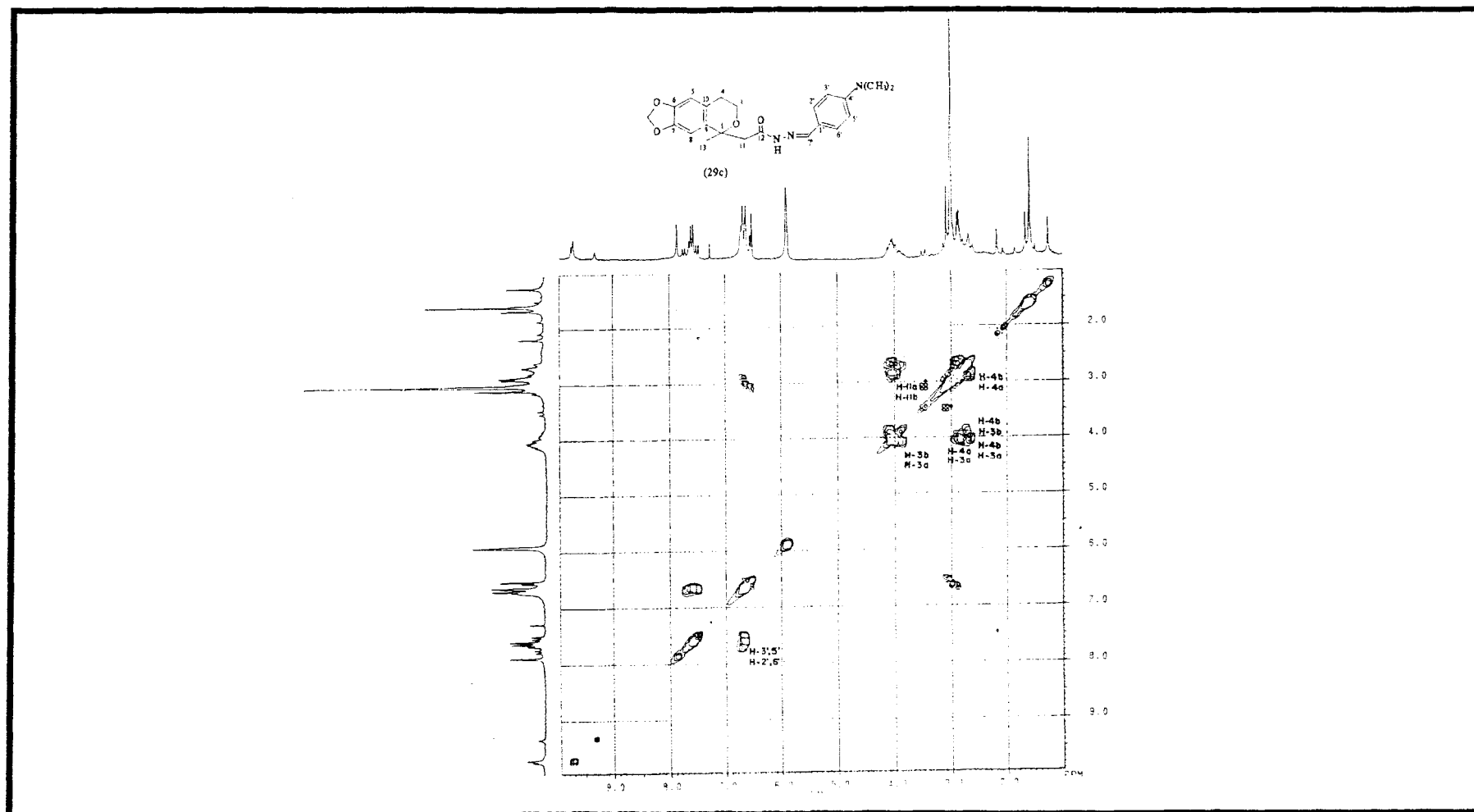
Espectro 37 - Espectro de RMN^1H (200 MHz) do produto (29c), registrado em CDCl_3 e TMS como referência interna.



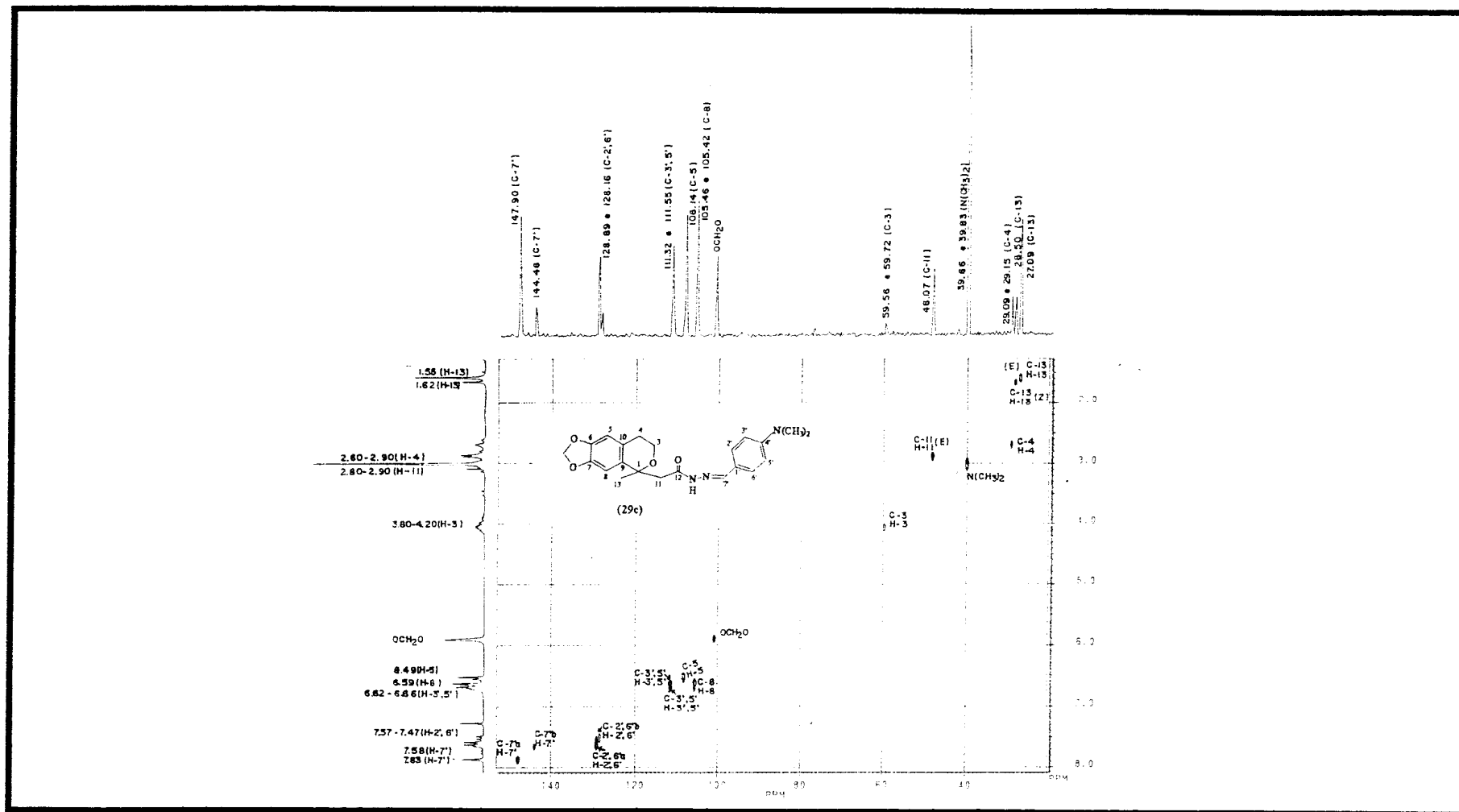
Espectro 38 - Espectro de RMN ^{13}C (50,3 MHz) do produto (29c), desacoplado de próton (PND), registrado em CDCl_3 e TMS como referência interna.



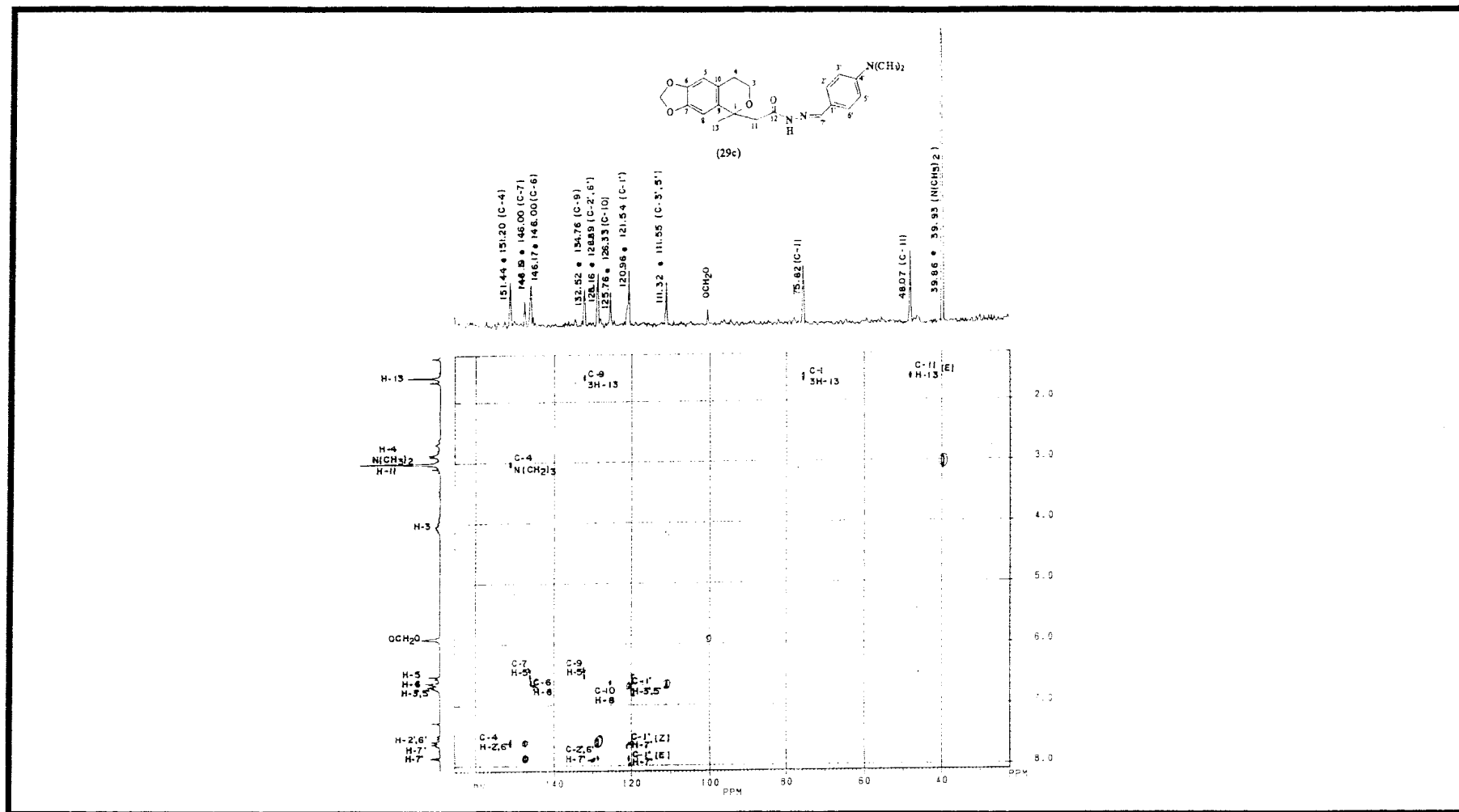
Espectro 39 - Espectro de RMN¹H PND e DEPT com $\varnothing = 90^\circ$ e $\varnothing = 135^\circ$ (50,3 MHz) do produto (29c), registrado em CDCl₃ e TMS como referência interna.



Espectro 40 - Espectro bidimensional de correlação homonuclear de hidrogênio e hidrogênio ($^1\text{H} \times ^1\text{H}$ -COSY) do produto (29c), em CDCl_3 como solvente.

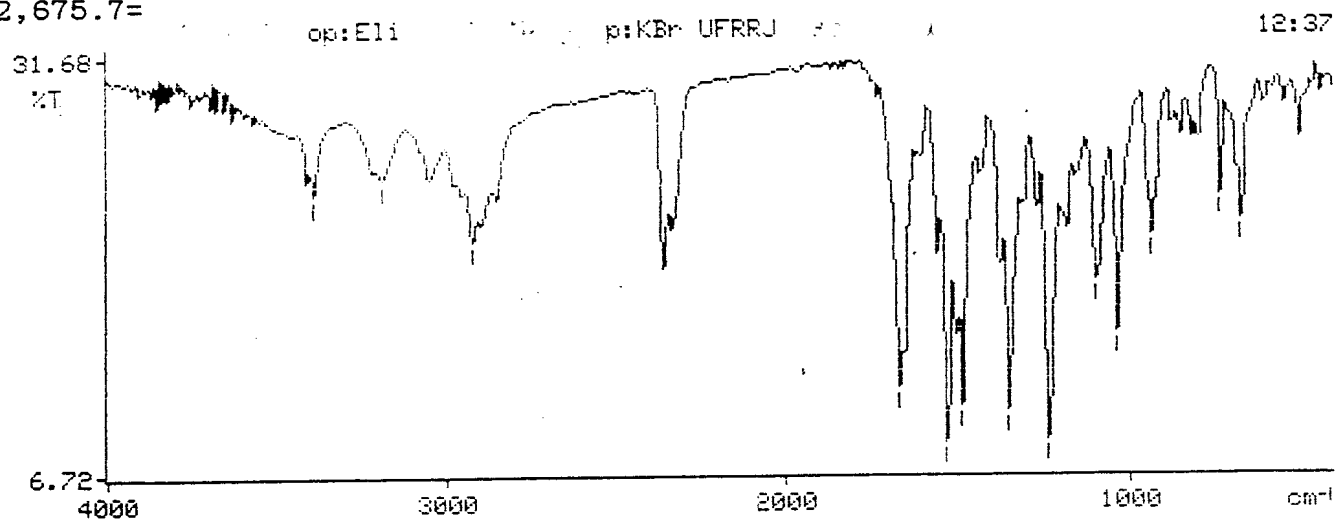


Espectro 41 - Espectro bidimensional de correlação heteronuclear de hidrogênio e carbono-13 via uma ligação ($^1\text{H} \times ^{13}\text{C} - ^1\text{J}_{\text{CH}}$) do produto (29c) em CDCl_3 como solvente.

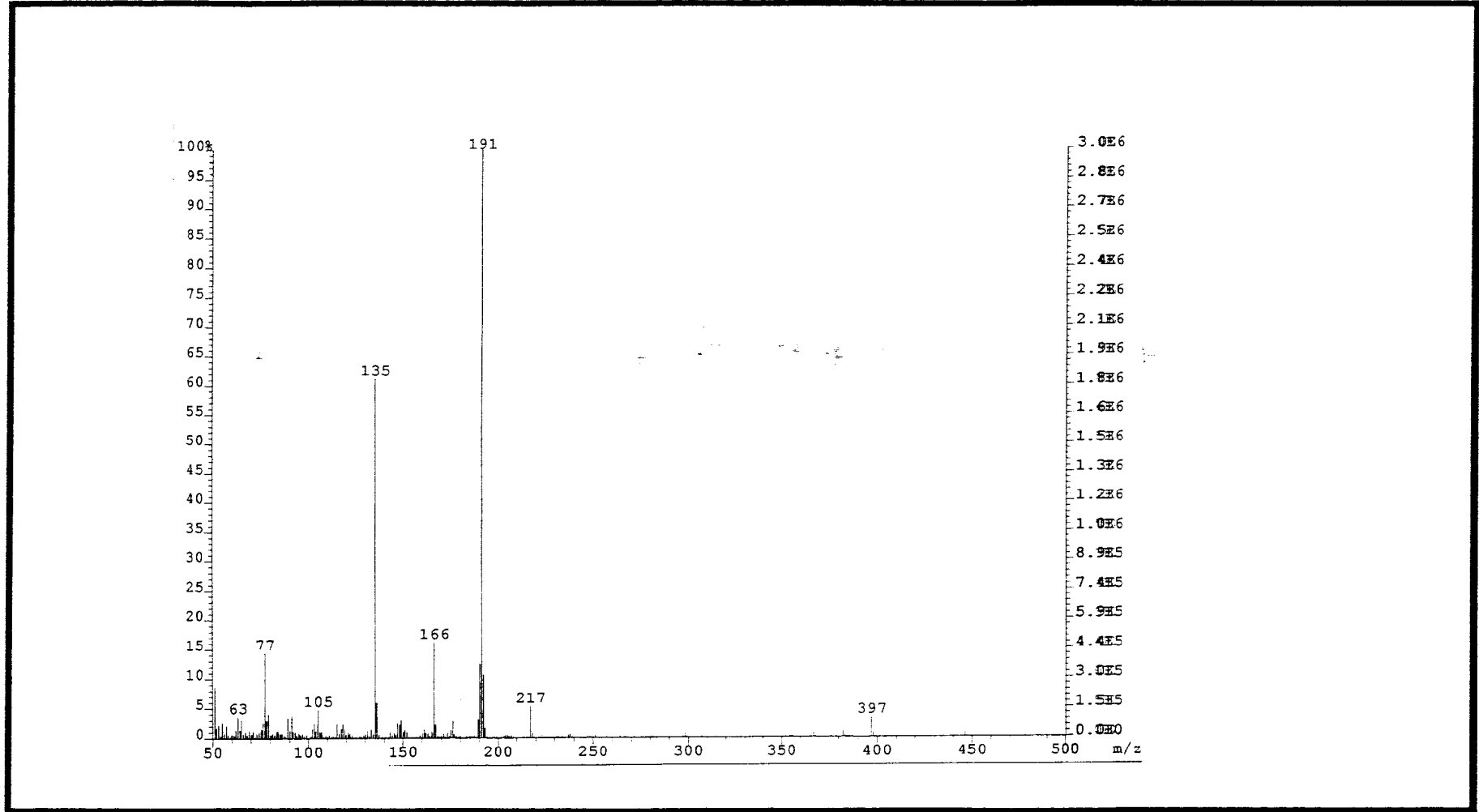


Espectro 42 - Espectro bidimensional de correlação heteronuclear de hidrogênio e carbono-13 a longa distância [$^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -COSY- $^n\text{J}_{\text{CH}}$ ($n=2$ e 3)] do produto (29c), em CDCl_3 como solvente.

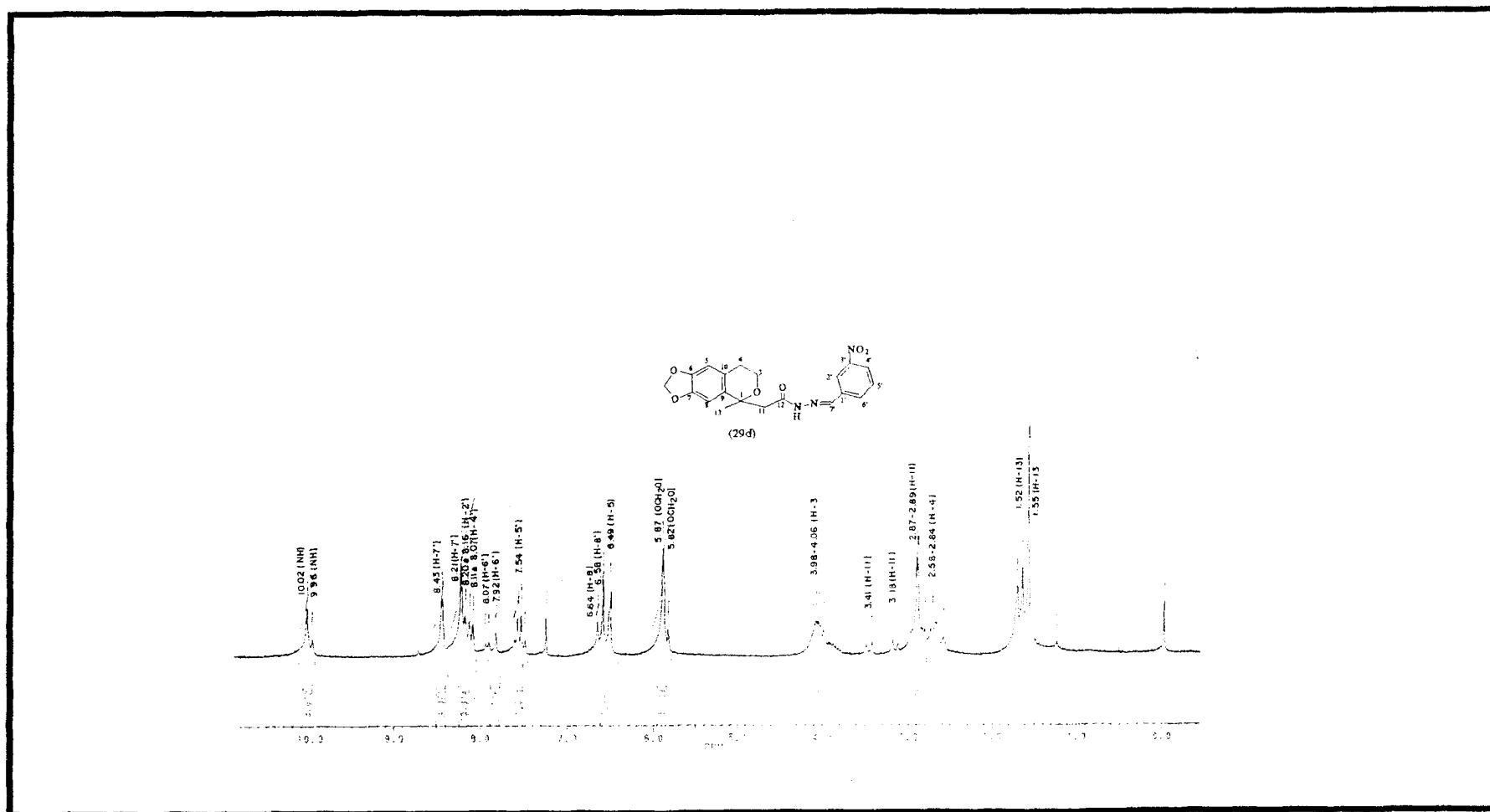
scan stopped
destination region unchanged
1 scan, 8.0cm⁻¹
3393.1, 3193.6, 2925.4, 1669.9, 1528.1, 1485.8, 1352.4, 1236.7, 1101.9, 1037.8, 939.6, 736
2, 675.7=



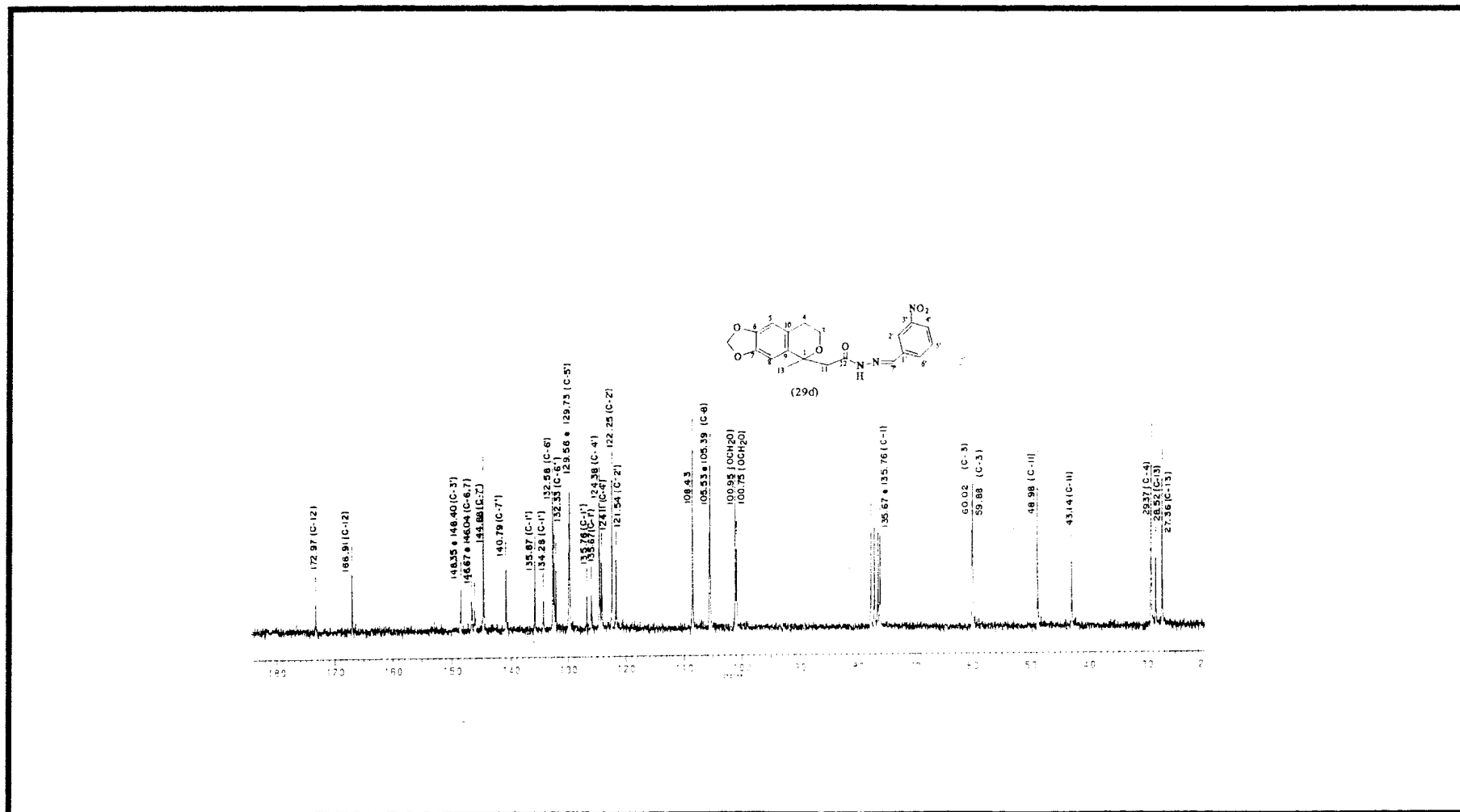
Espectro 43 - Espectro de infravermelho (KBr), obtido do produto(29d).



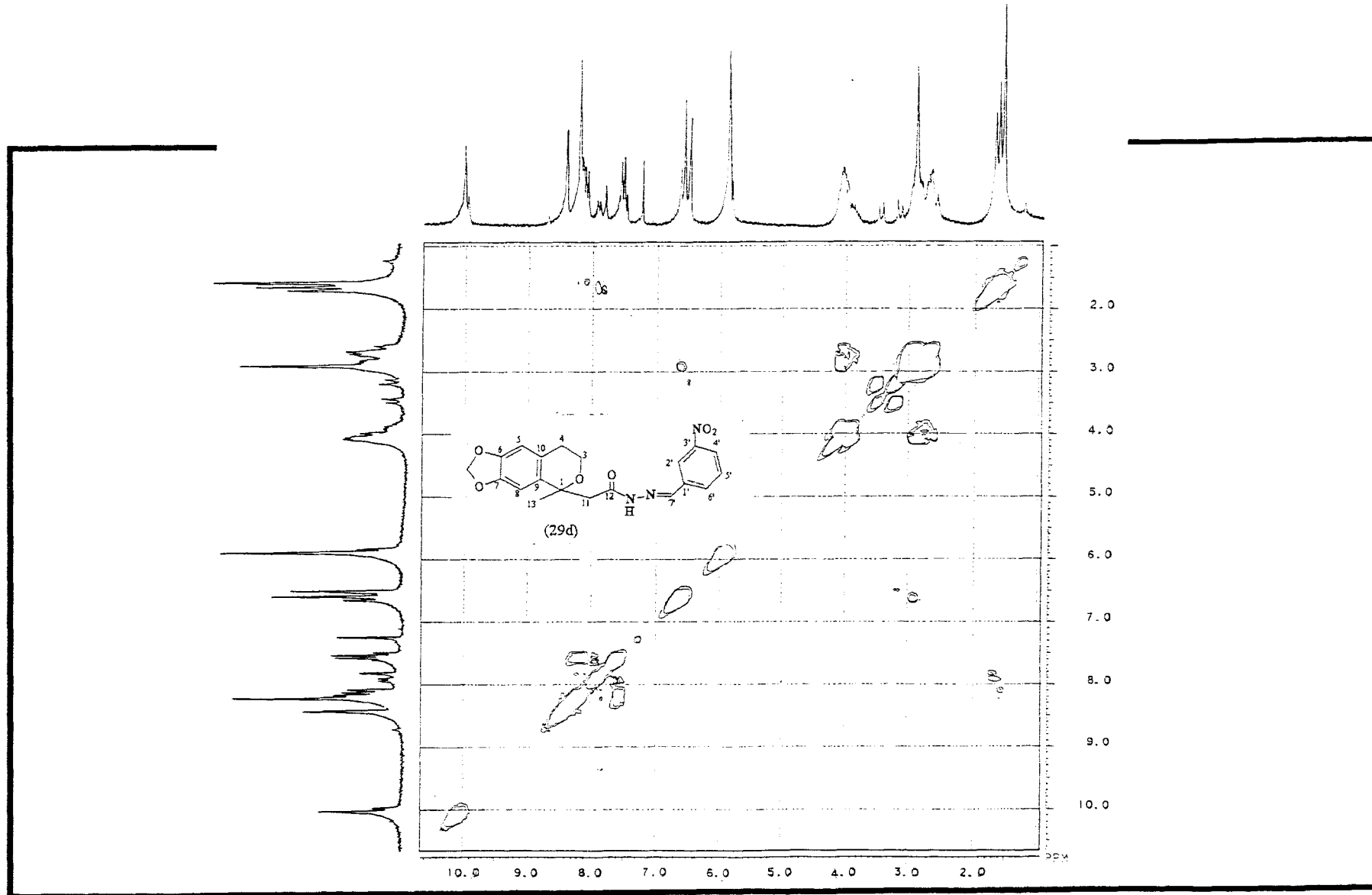
Espectro 44 - Espectro de massas do produto (29d) , obtido a 70 eV.



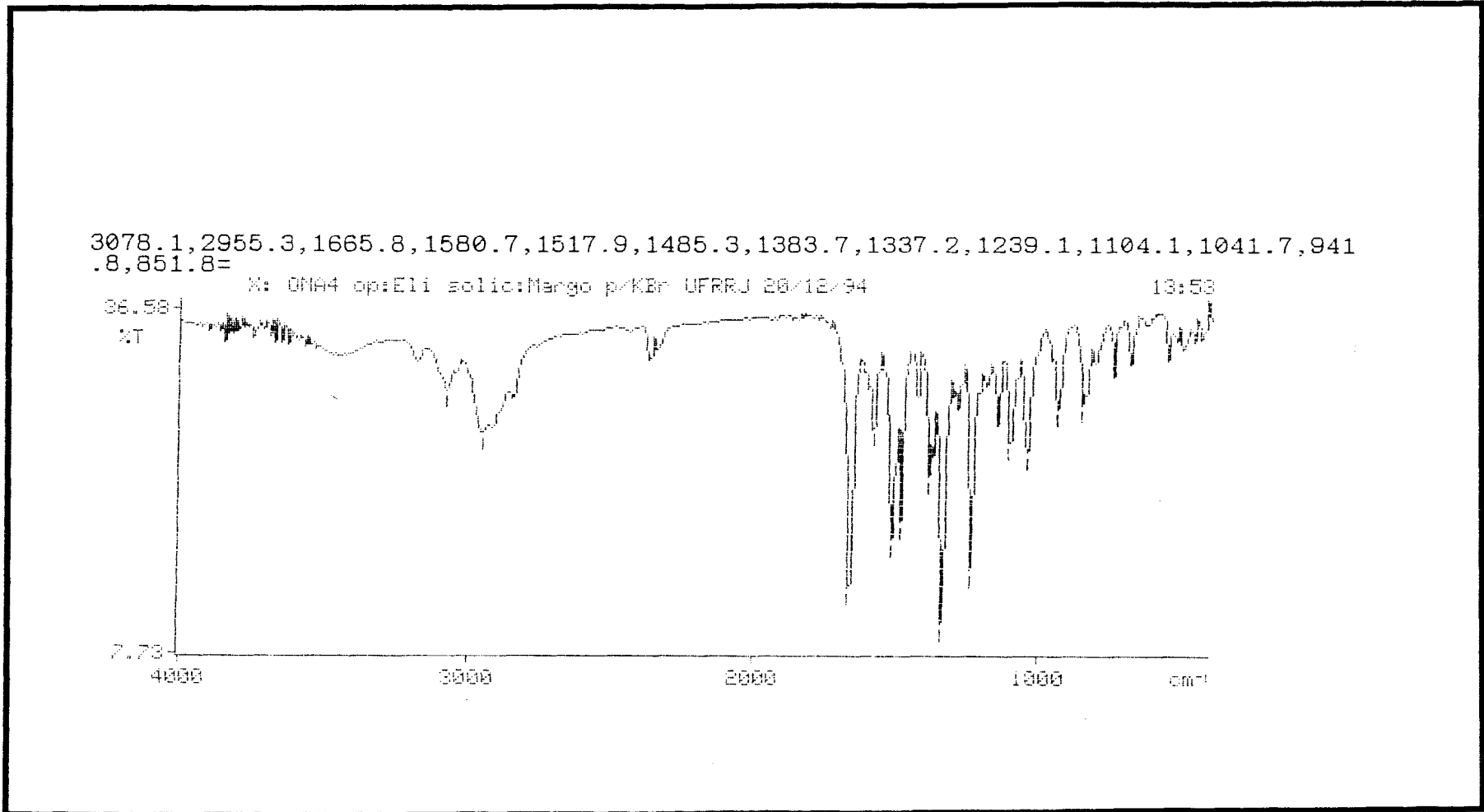
Espectro 45 - Espectro de RMN¹H (200 MHz) do produto (29d), registrado em CDCl₃ e TMS como referência interna.



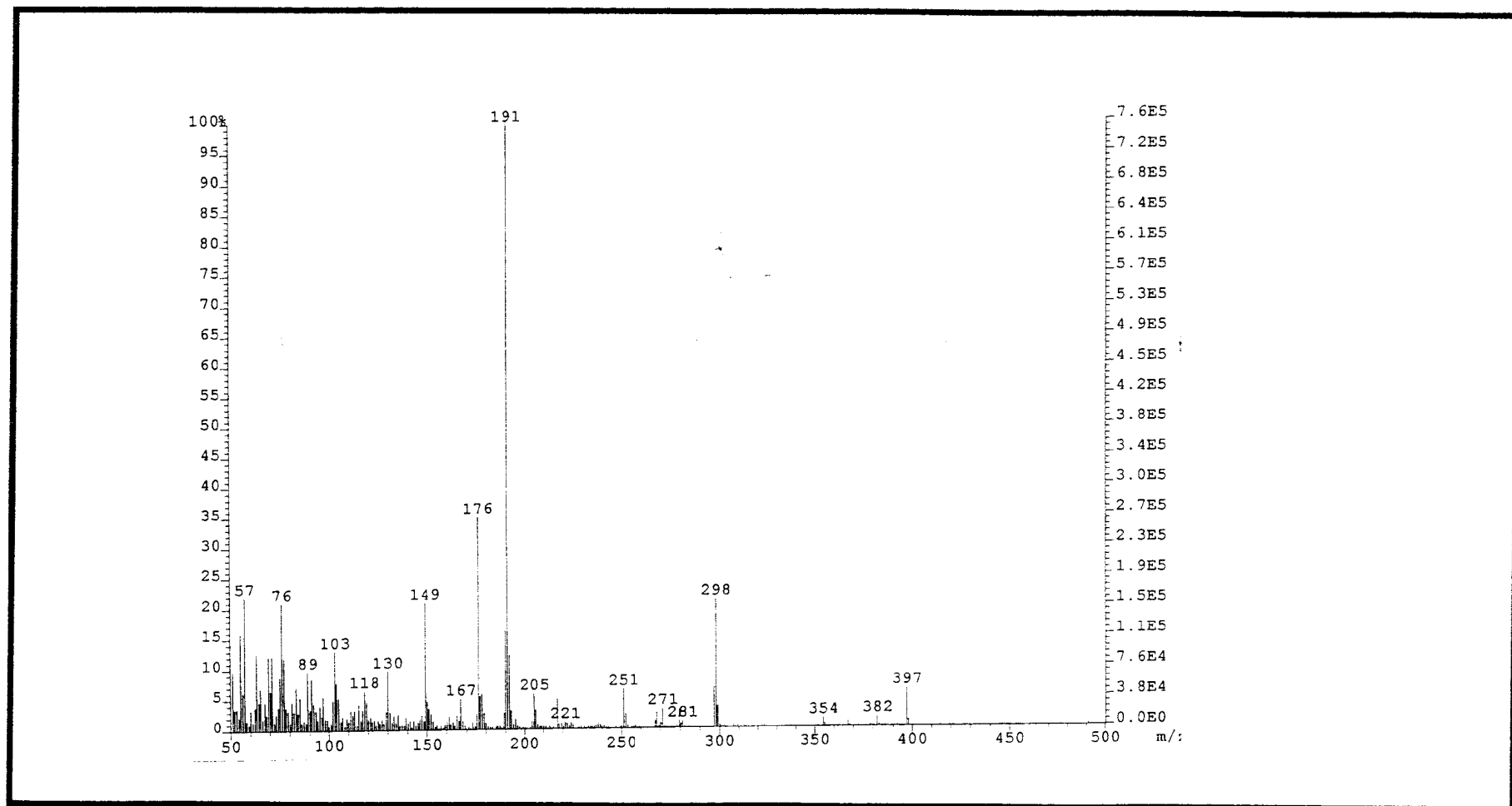
Espectro 46 - Espectro de RMN¹³C (50,3 MHz) do produto (29d), desacoplado de próton (PND), registrado em CDCl₃ e TMS como referência interna.



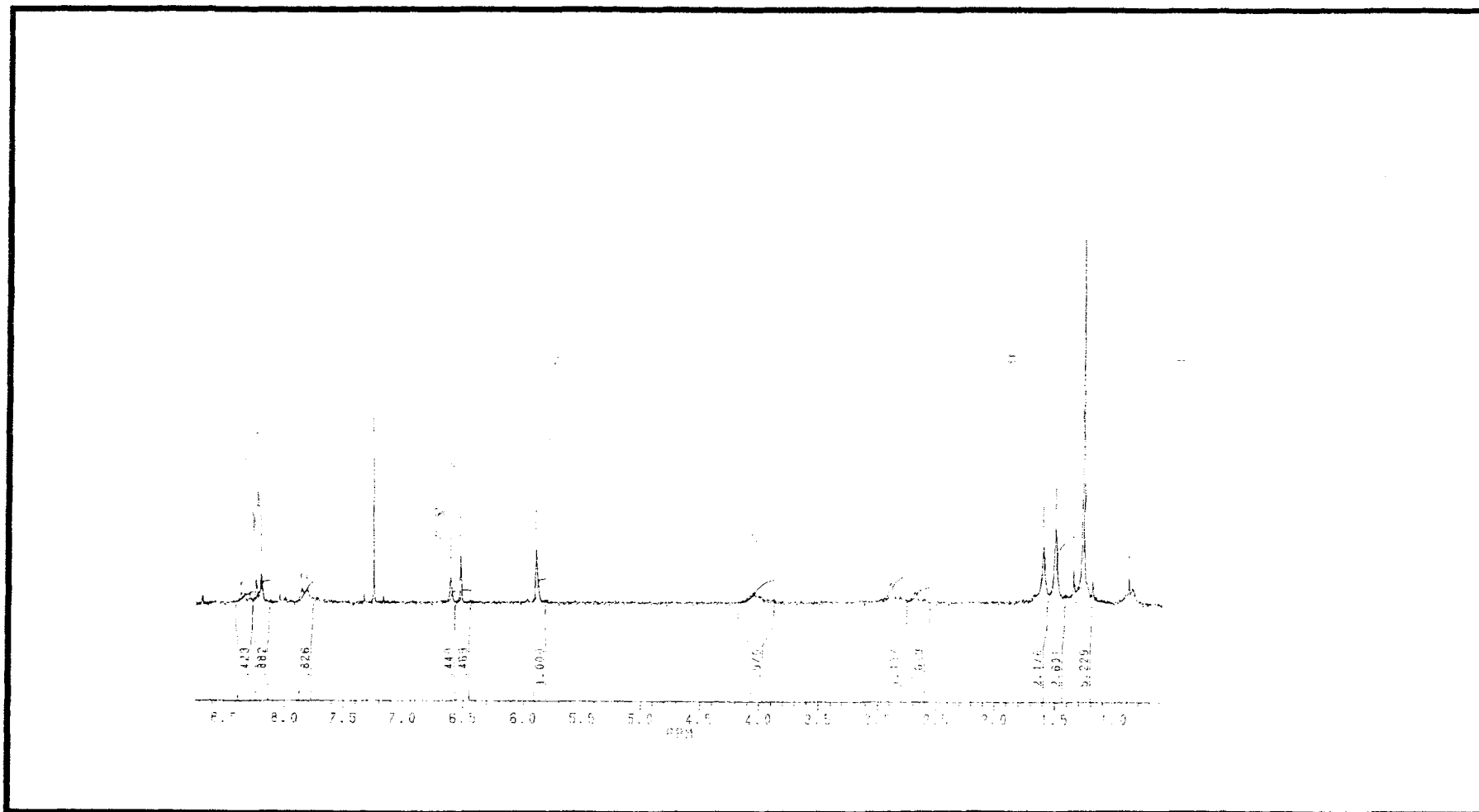
Espectro 47 - Espectro bidimensional de correlação homonuclear de hidrogênio e hidrogênio (¹H x ¹H-COSY) do produto (29d), em CDCl₃ como solvente.



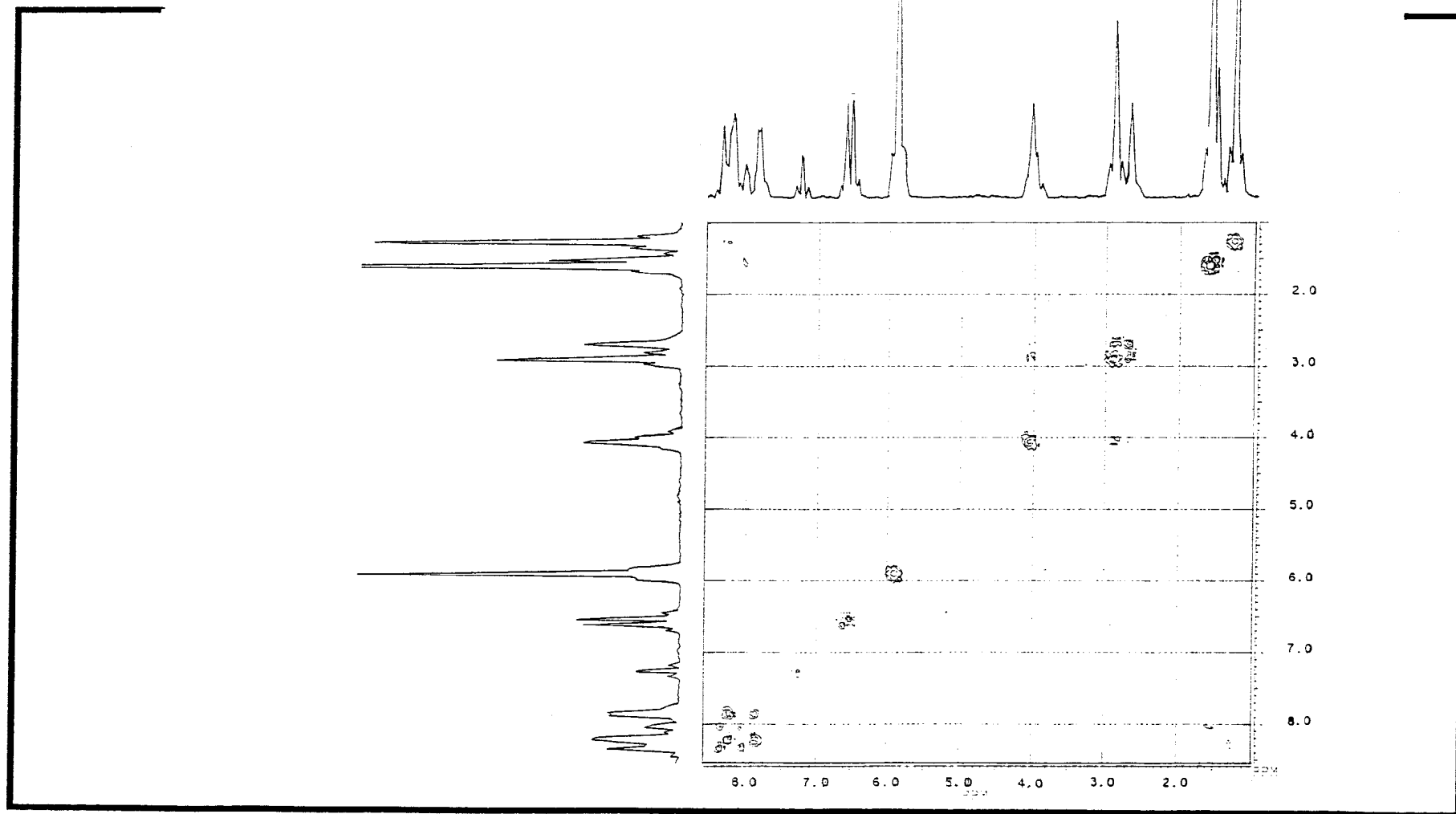
Espectro 48 - Espectro de infravermelho (KBr), obtido do produto (29e).



Espectro 49 - Espectro de massas do produto (29e) , obtido a 70 eV.

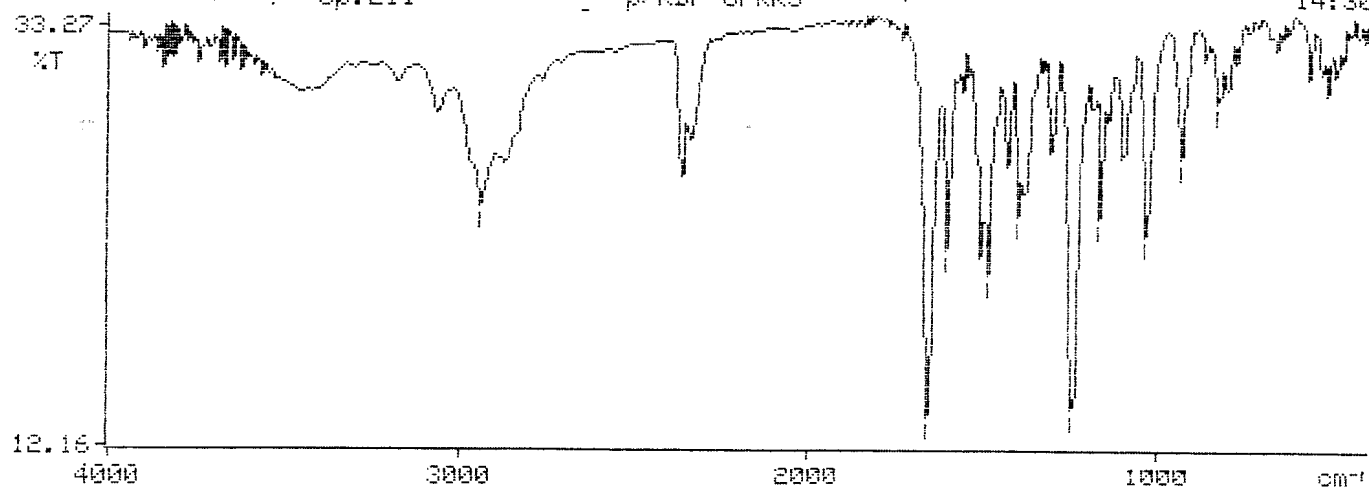


Espectro 50 - Espectro de RMN¹H (200 MHz) do produto (29e), registrado em CDCl₃ e TMS como referência interna.

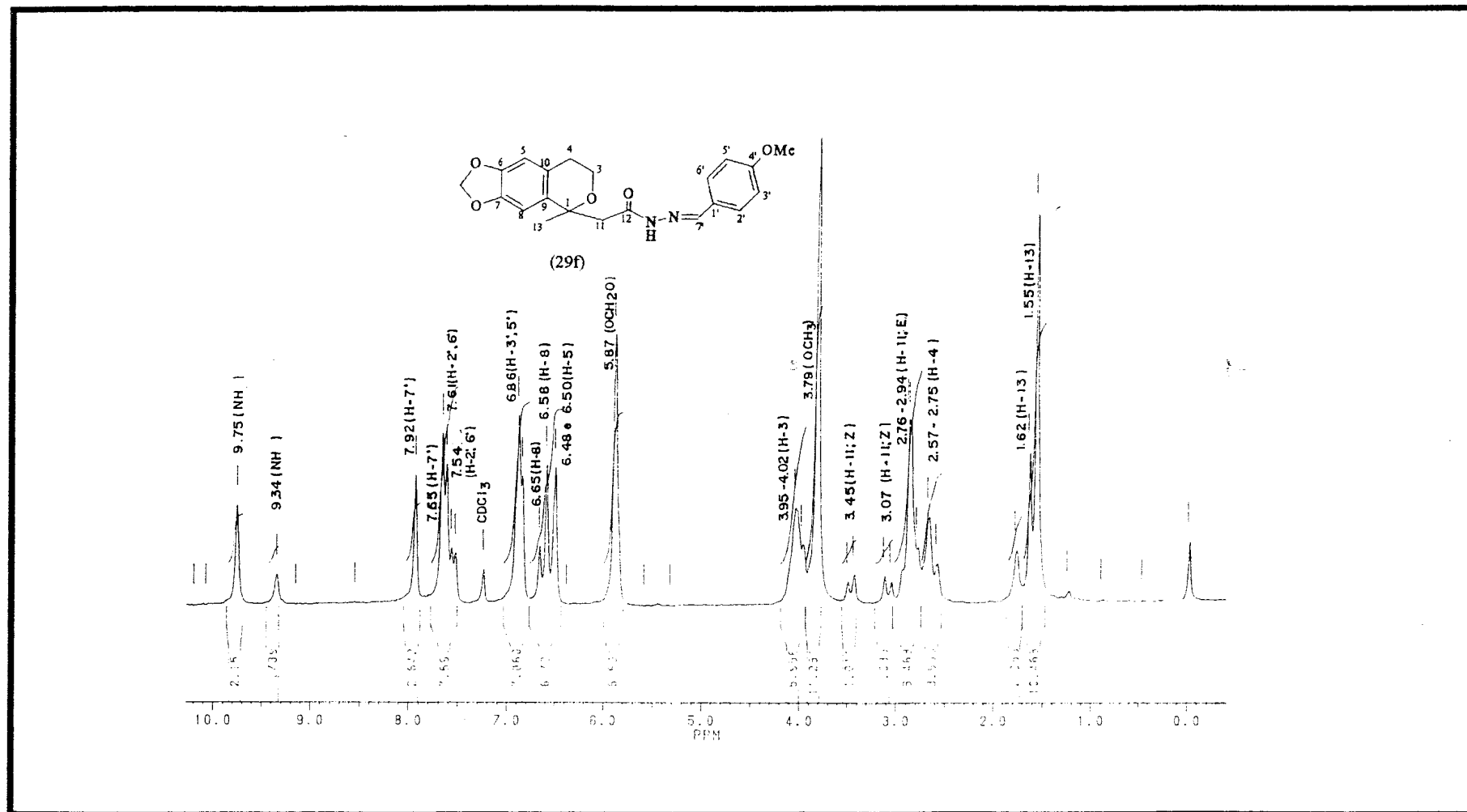


Espectro 52 - Espectro bidimensional de correlação homonuclear de hidrogênio e hidrogênio ($^1\text{H} \times ^1\text{H}$ -COSY) do produto (29e), em CDCl_3 como solvente.

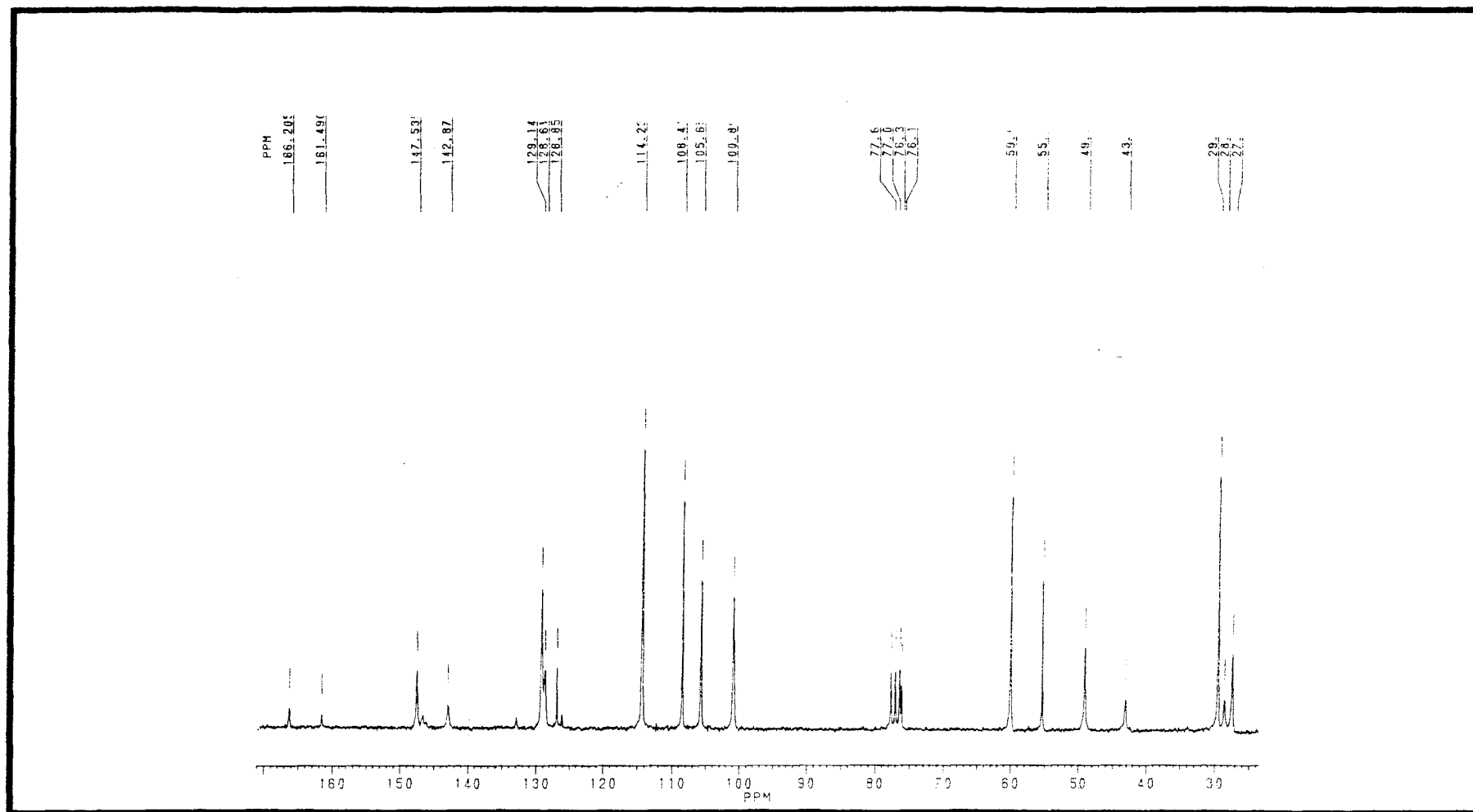
SCAN Y 1
FLAT Y 0.0623 0.0216
COMMENT Y op:Eli solic:Margo p/KBr UFRRJ
2947.4,1661.9,1607.7,1487.4,1398.9,1242.6,1167.3,1036.8,940.6,835.3=
op:Eli p/KBr UFRRJ 14:30



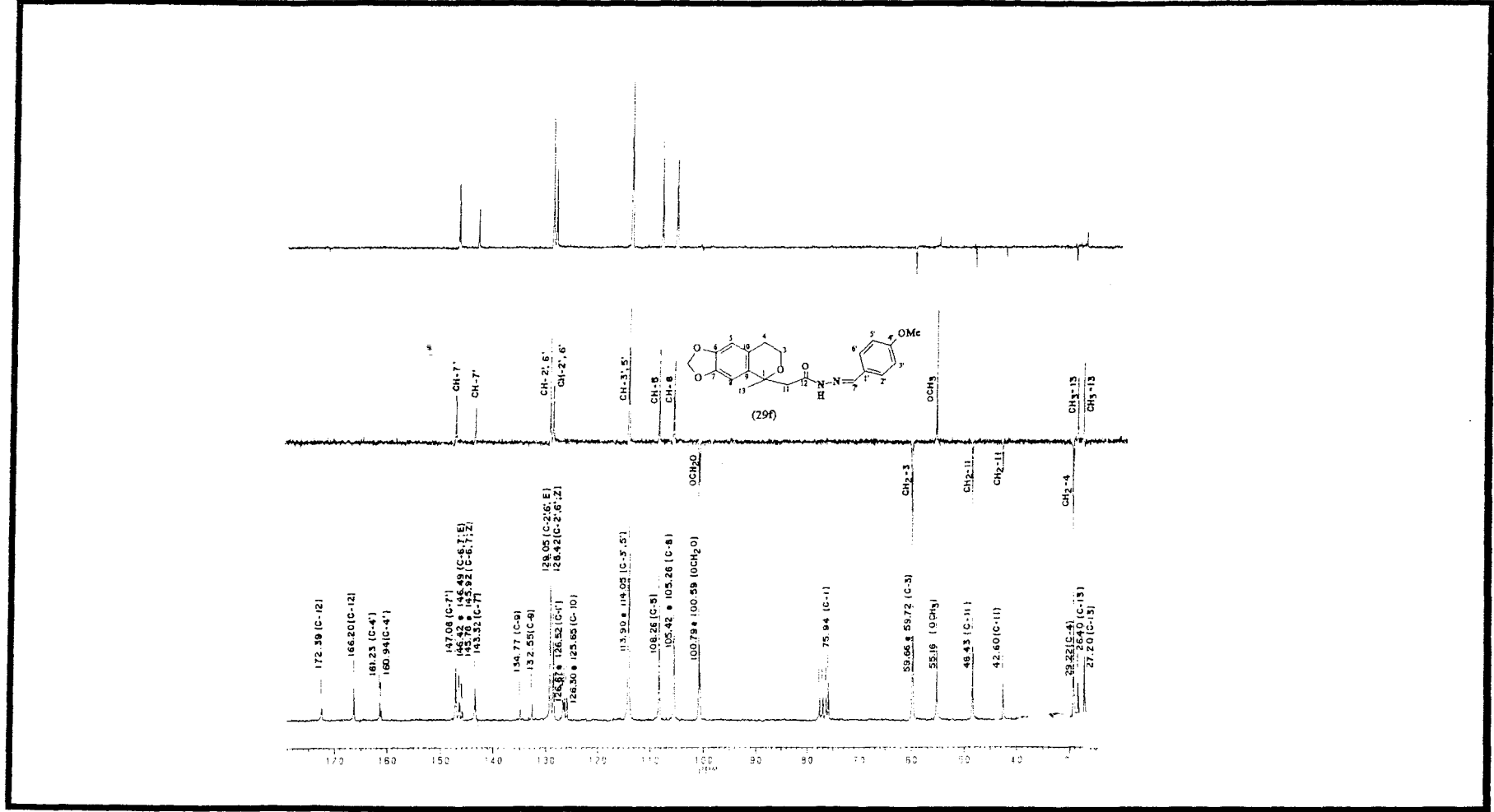
Espectro 53 - Espectro de infravermelho (KBr), obtido do produto (29f).



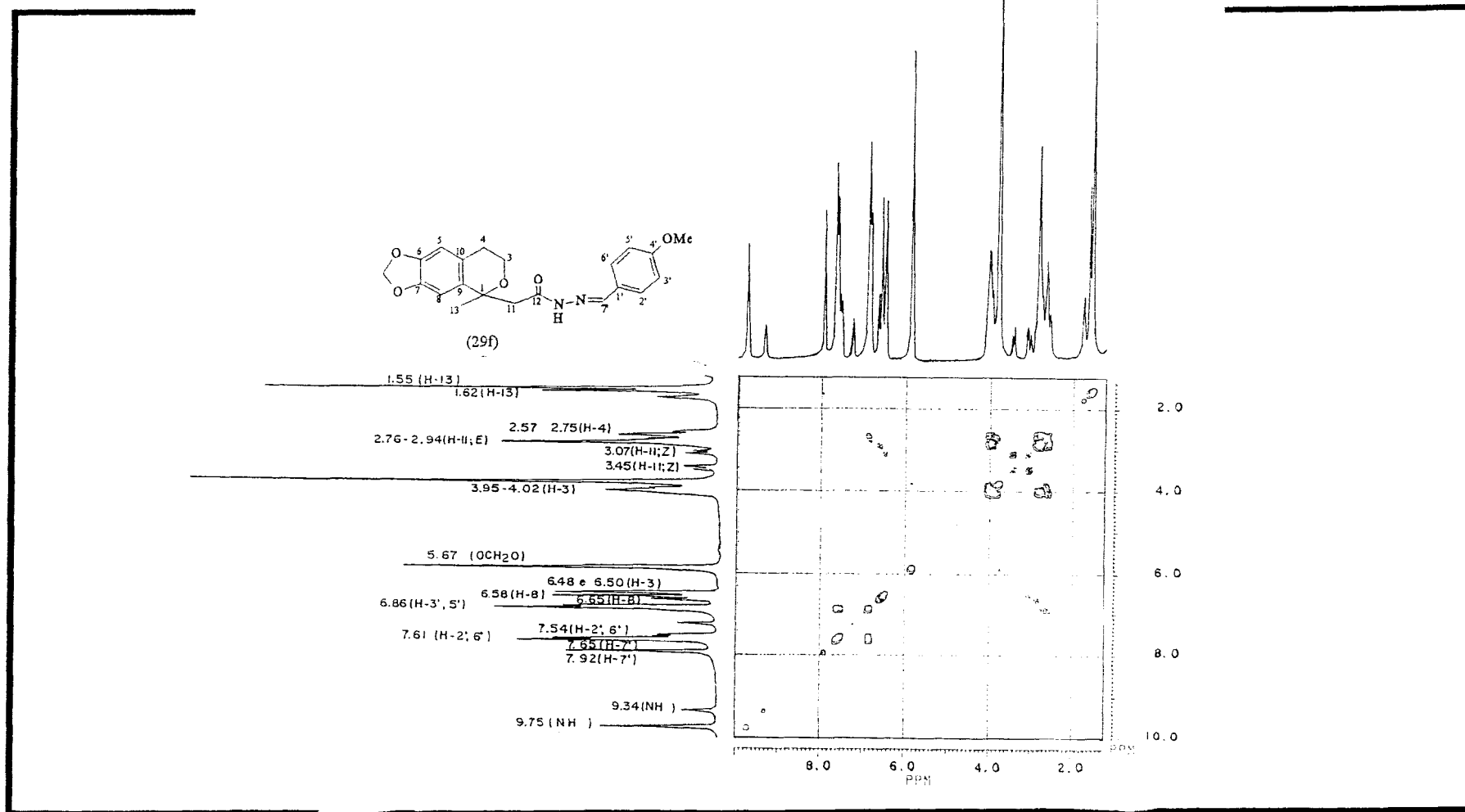
Espectro 54 - Espectro de RMN¹H (200 MHz) do produto (29f), registrado em CDCl₃ e TMS como referência interna.



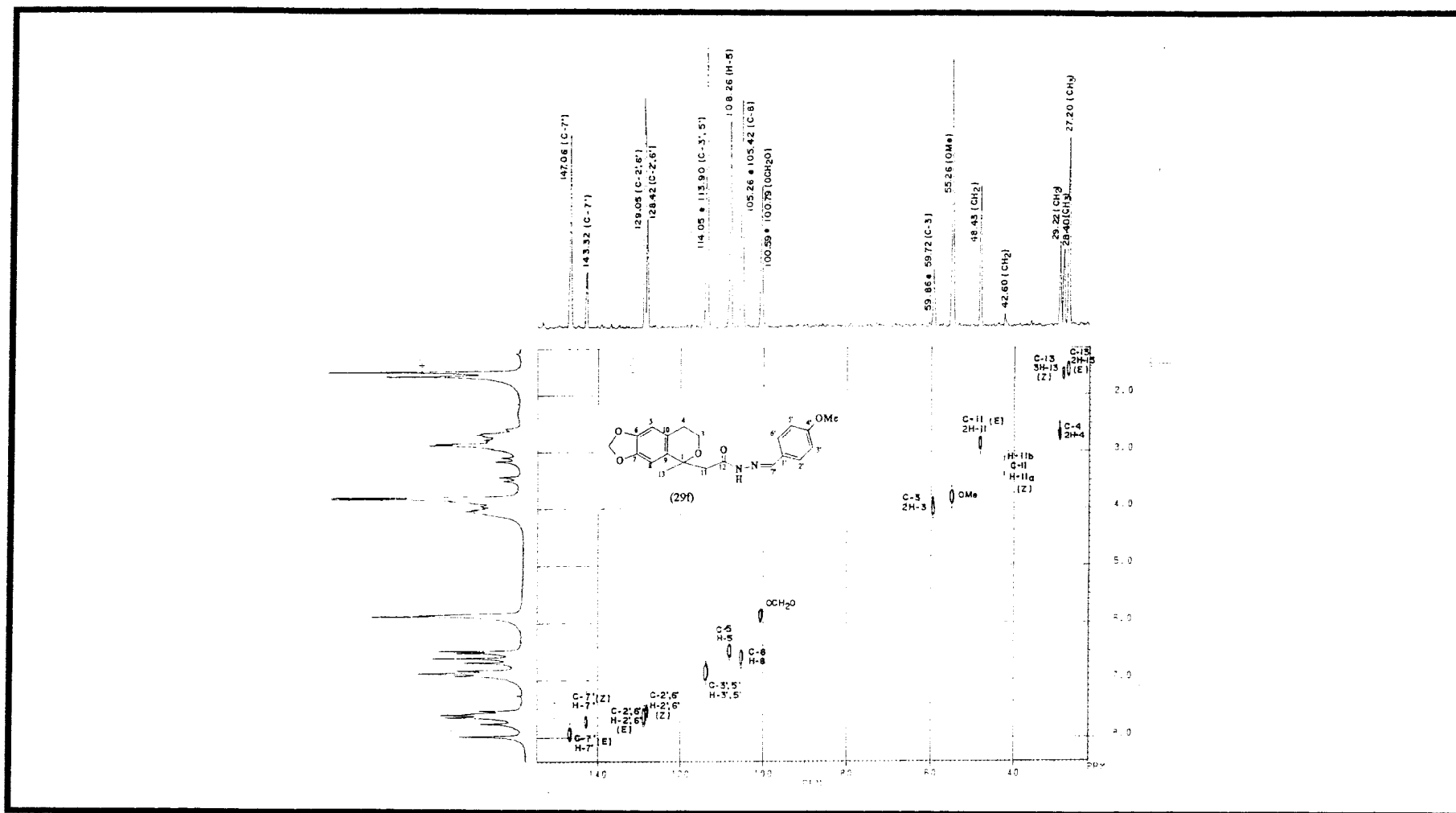
Espectro 55 - Espectro de RMN¹³C (50,3 MHz) do produto (29f), desacoplado de próton (PND), registrado em CDCl₃ e TMS como referência interna.



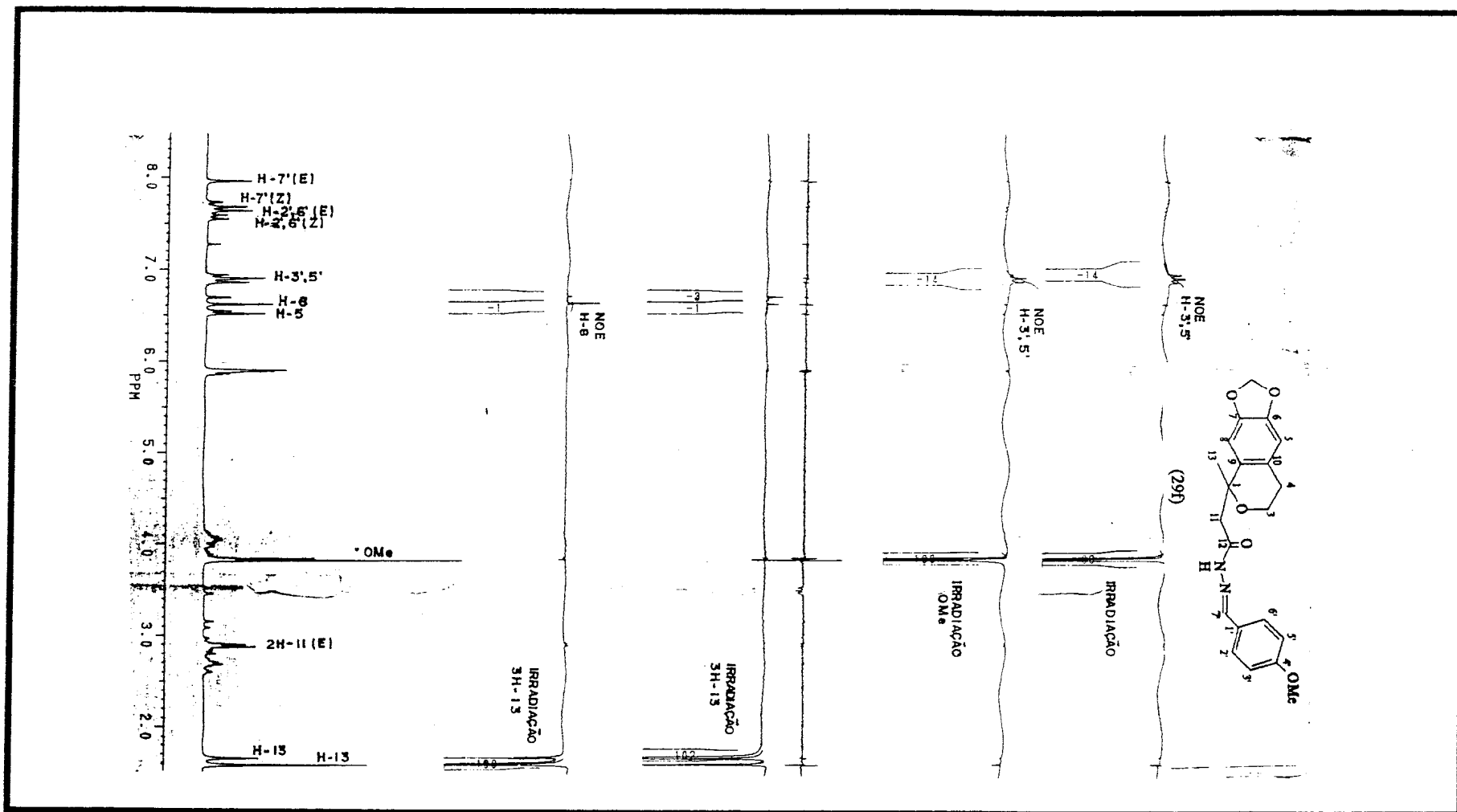
Espectro 56 - Espectro de RMN¹H PND e DEPT com $\varnothing = 90^\circ$ e $\varnothing = 135^\circ$ (50,3 MHz) do produto (29f), registrado em CDCl₃ e TMS como referência interna.



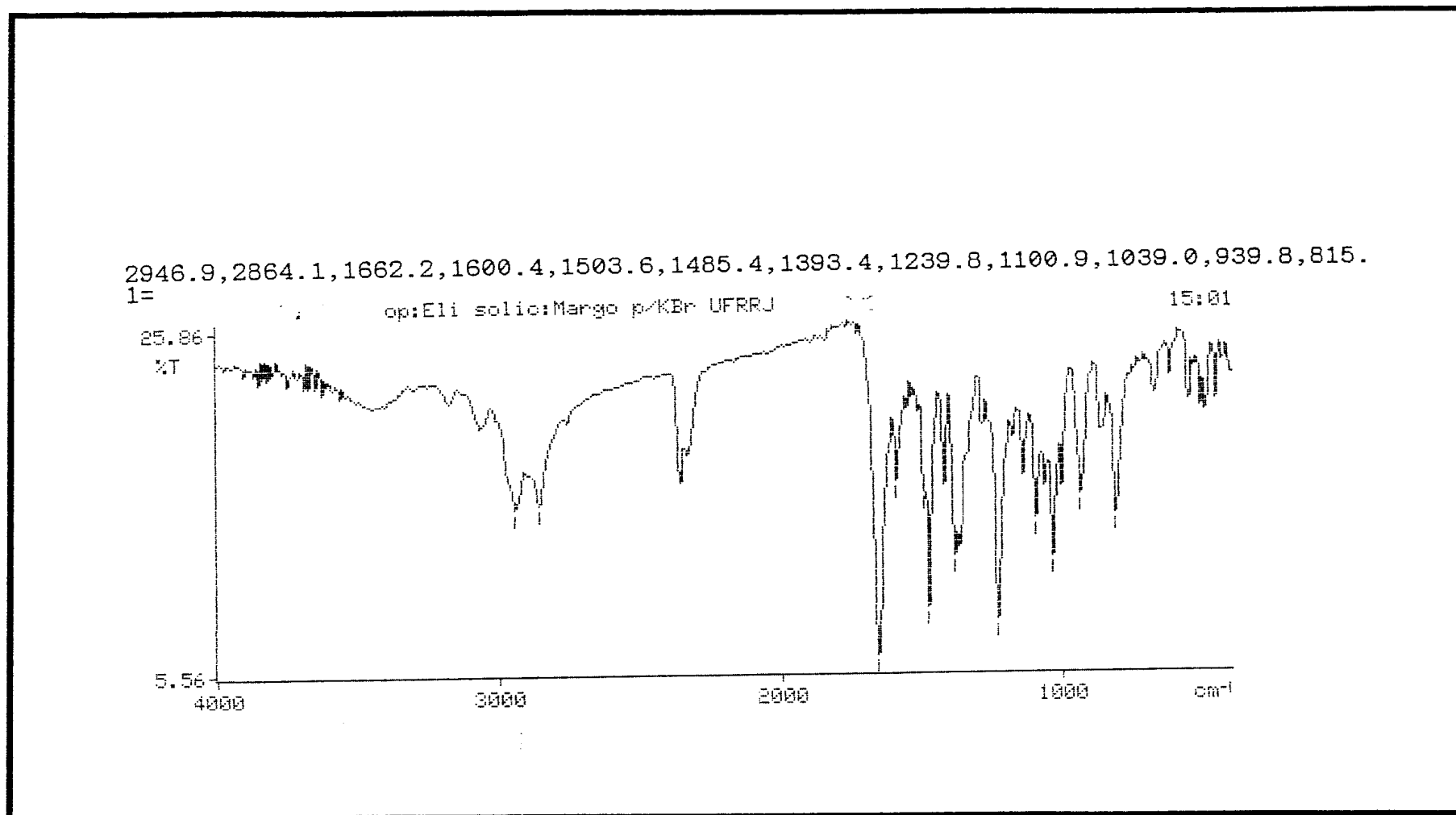
Espectro 57 - Espectro bidimensional de correlação homonuclear de hidrogênio e hidrogênio (^1H x ^1H -COSY) do produto (29f), em CDCl_3 como solvente.



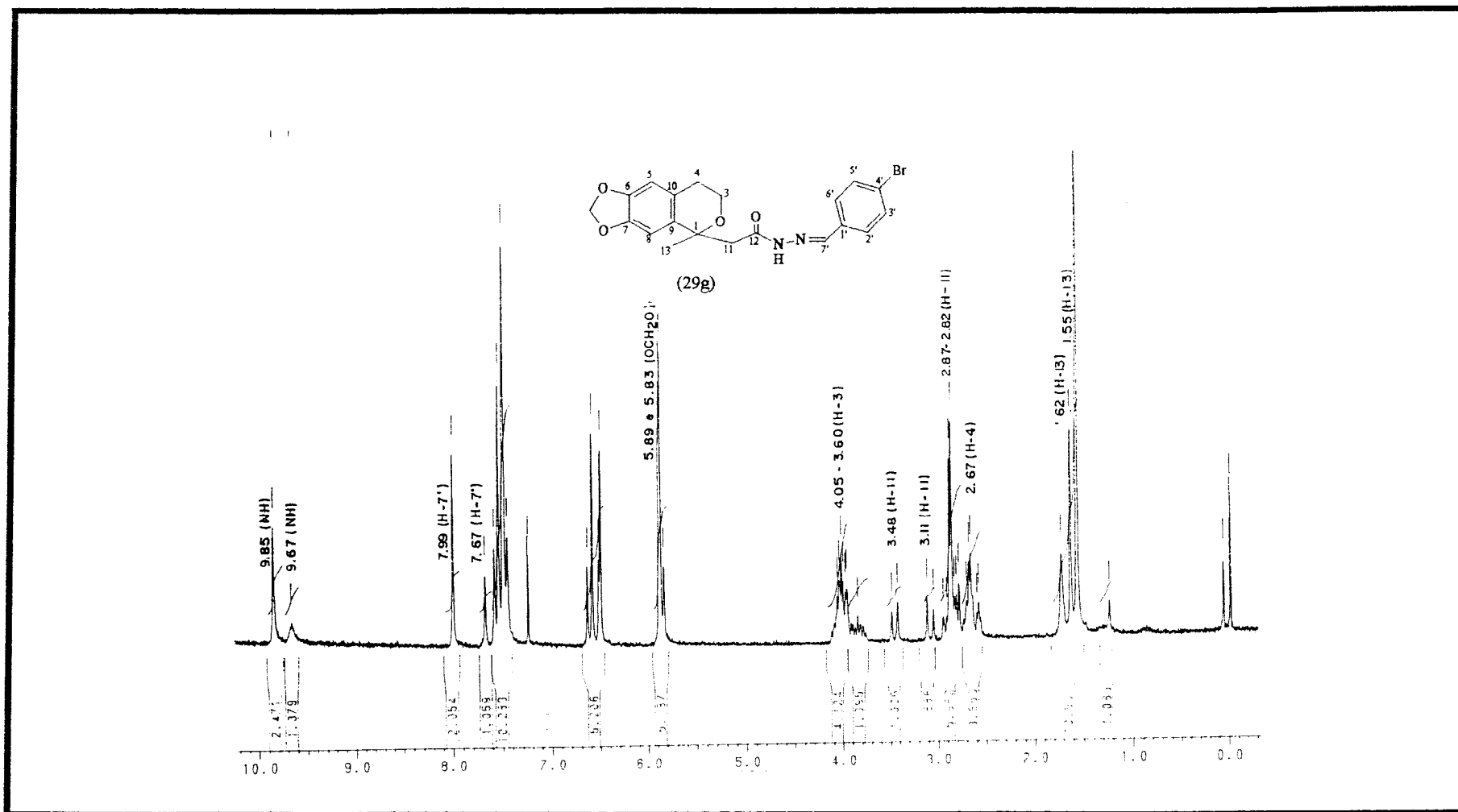
Espectro 58 - Espectro bidimensional de correlação heteronuclear de hidrogênio e carbono-13 via uma ligação ($^1\text{H} \times ^{13}\text{C}-^1\text{J}_{\text{CH}}$) do produto (29f) em CDCl_3 como solvente.



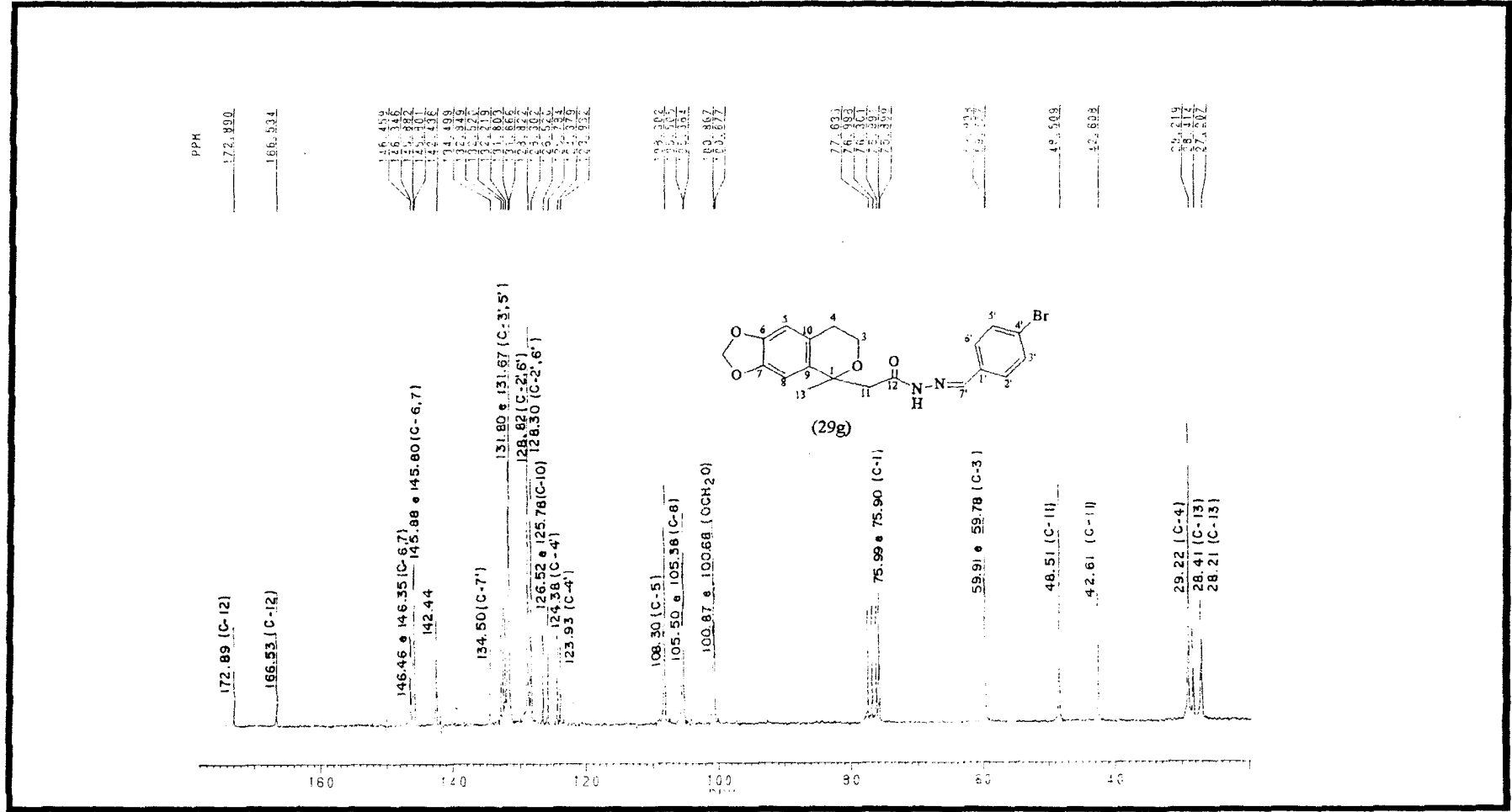
Espectro 60 - Experiência de NOE por subtração de espectros ($^1\text{H}\{^1\text{H}\}$ -NOE) do produto (29f), em CDCl_3 como solvente.



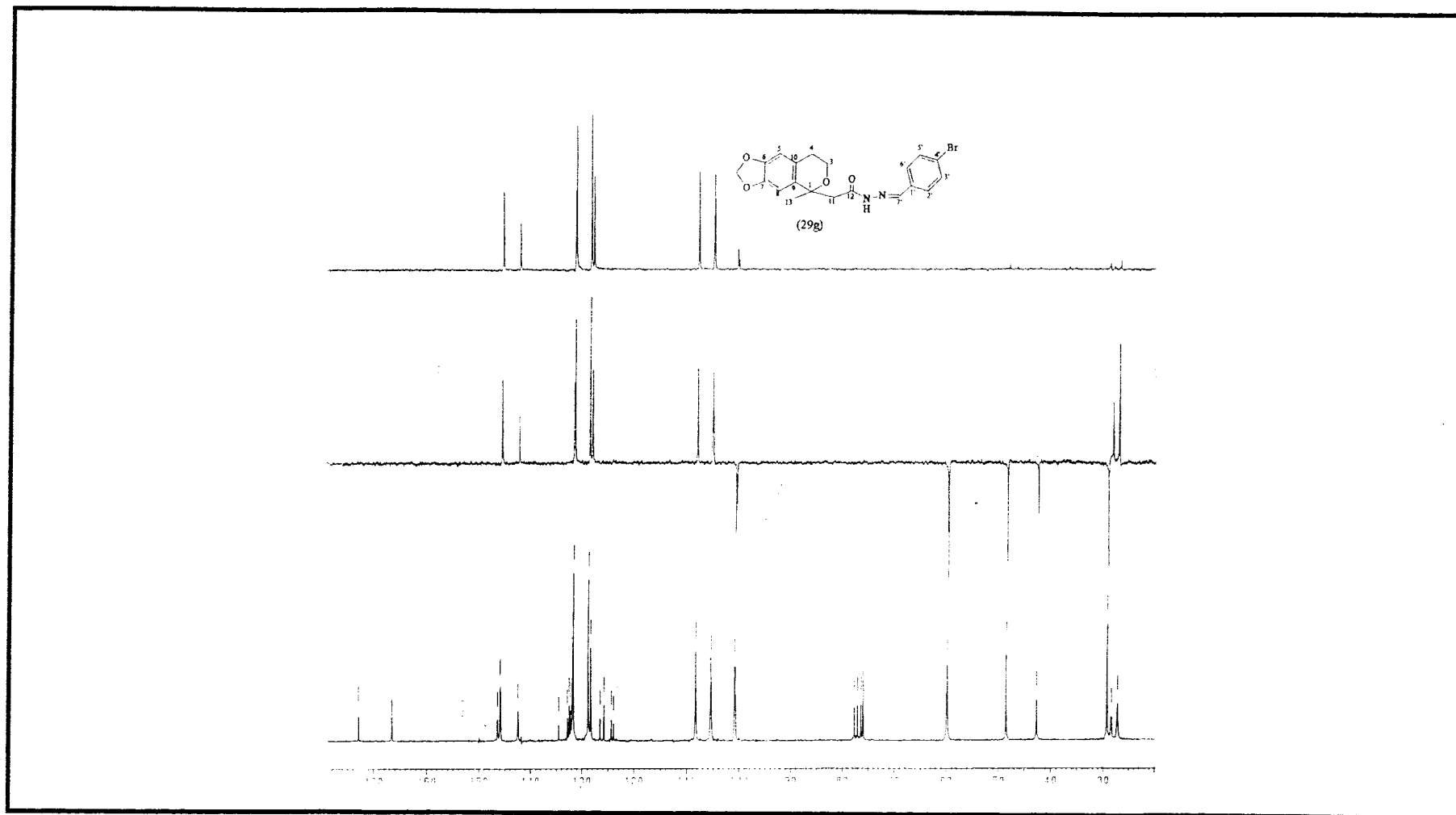
Espectro 61 - Espectro de infravermelho (KBr), obtido do produto (29g).



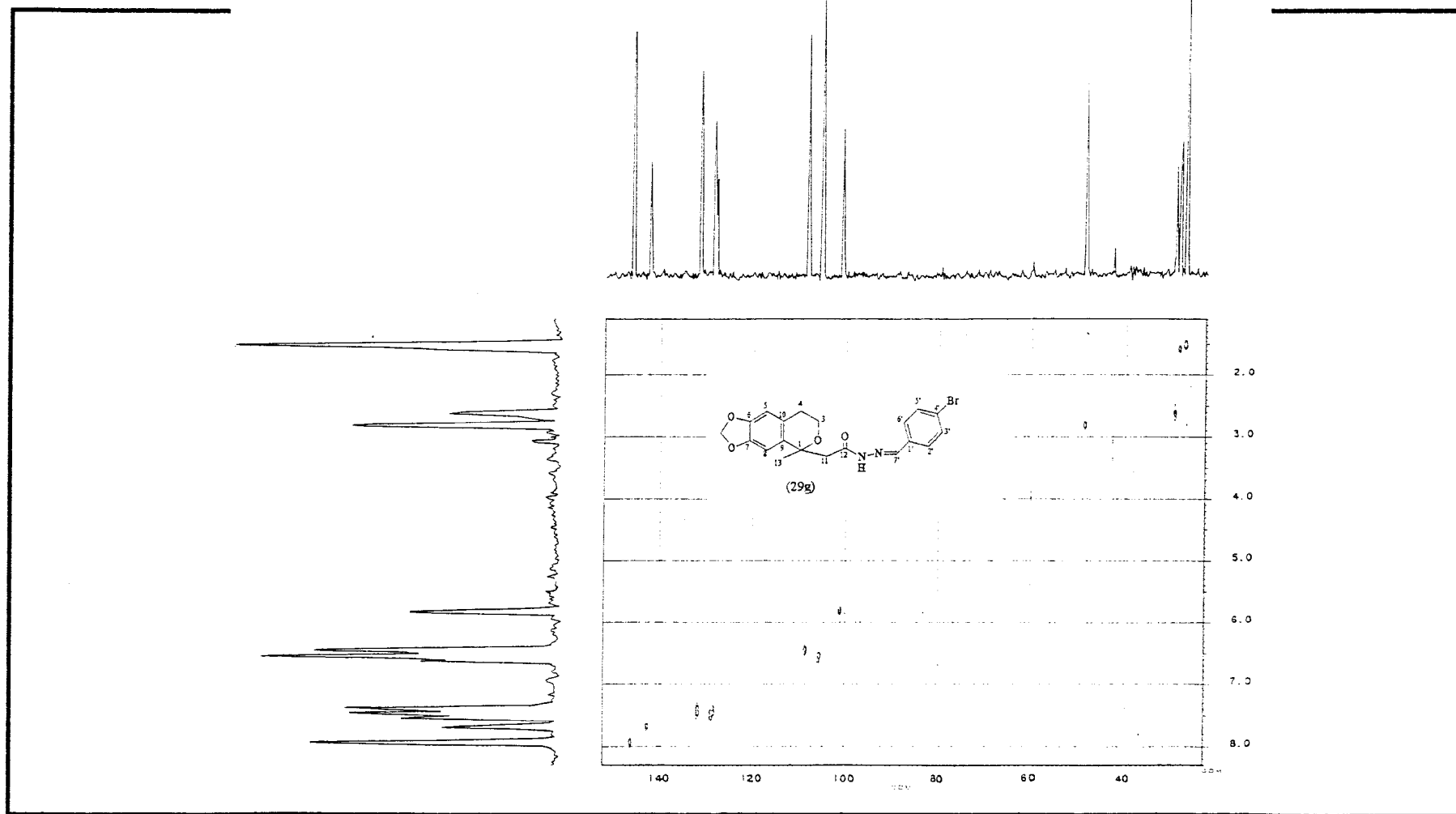
Espectro 62 - Espectro de RMN^1H (200 MHz) do produto (29g), registrado em CDCl_3 e TMS como referência interna.



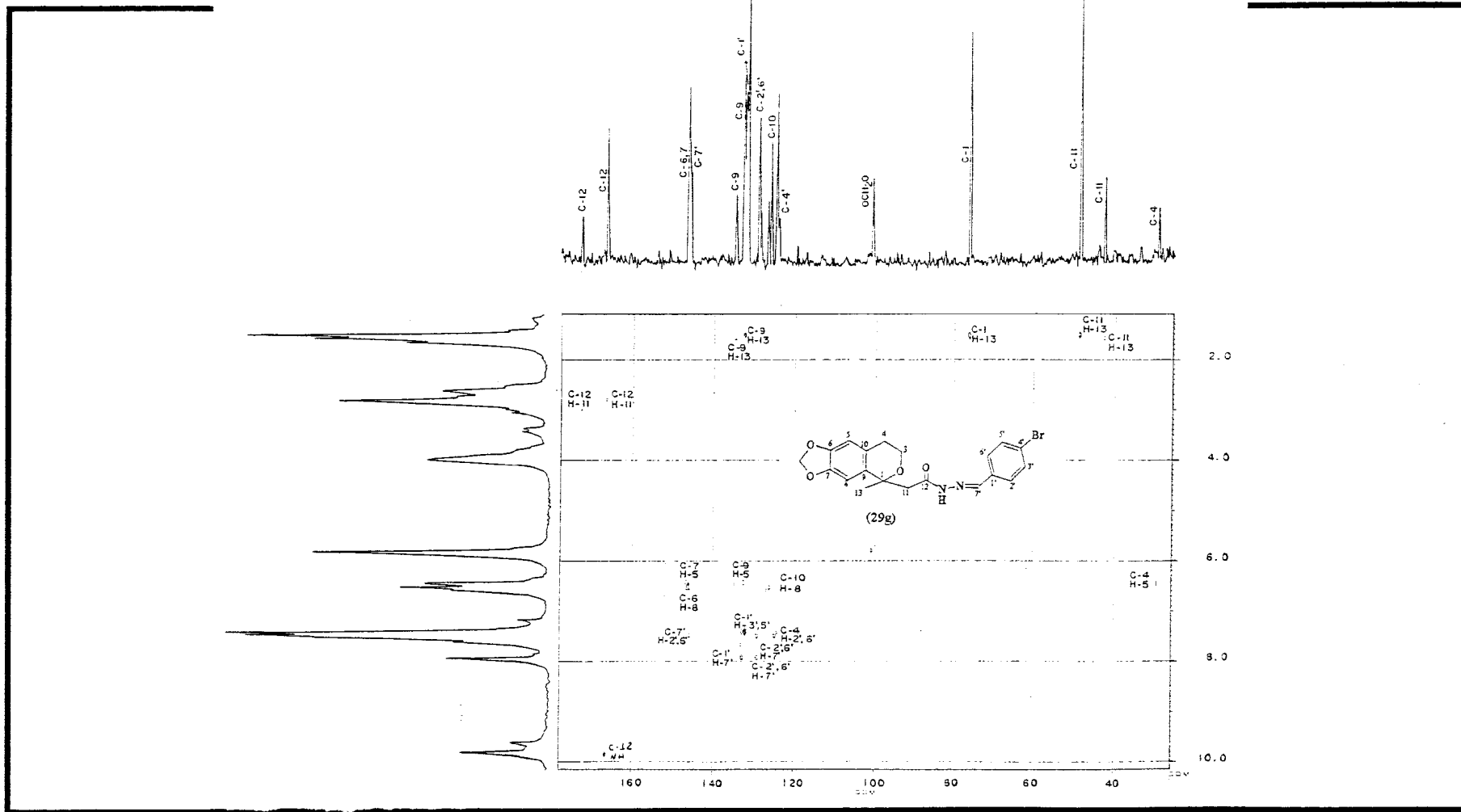
Espectro 63 - Espectro de RMN¹³C (50,3 MHz) do produto (29g), desacoplado de próton (PND), registrado em CDCl₃ e TMS como referência interna.



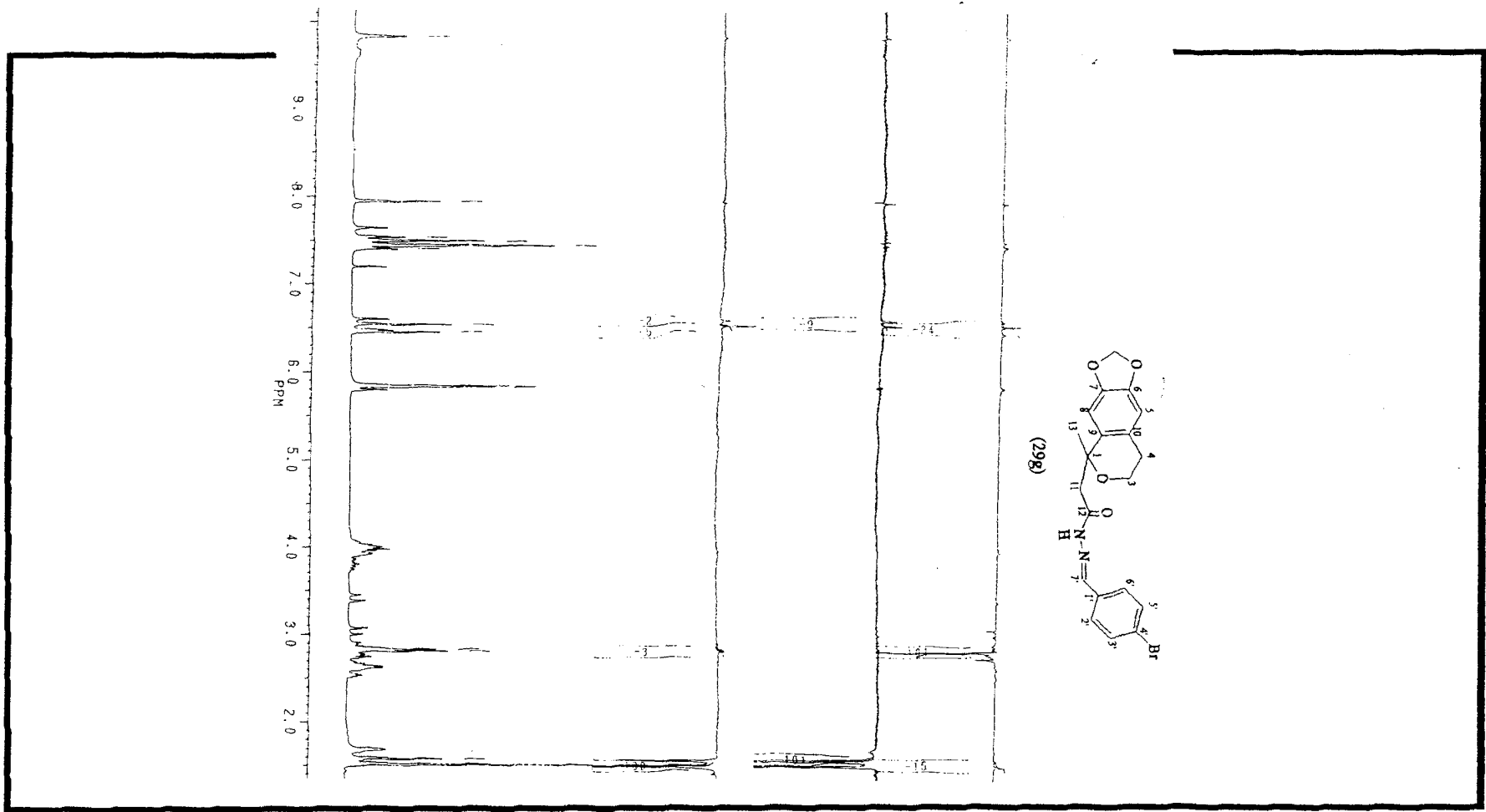
Espectro 64 - Espectro de RMN¹H PND e DEPT com $\varnothing = 90^\circ$ e $\varnothing = 135^\circ$ (50,3 MHz) do produto (29g), registrado em CDCl₃ e TMS como referência interna.



Espectro 65 - Espectro bidimensional de correlação heteronuclear de hidrogênio e carbono-13 via uma ligação ($^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ - $^1\text{J}_{\text{CH}}$) do produto (29g) em CDCl_3 como solvente.



Espectro 66 - Espectro bidimensional de correlação heteronuclear de hidrogênio e carbono-13 a longa distância $[^1\text{H} \times ^{13}\text{C}\text{-COSY-}^n\text{J}_{\text{CH}} (n=2 \text{ e } 3)]$ do produto (29g), em CDCl_3 como solvente.



Espectro 67 - Experiência de NOE por subtração de espectros ($^1\text{H}\{^1\text{H}\}$ -NOE) do produto (29g), em CDCl_3 como solvente.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

VII - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BAILEY, P.S. (1982) *Ozonation in Organic Chemistry*, 2, Academic Press, New York.
- BARREIRO, E.J. (1991) Bioisosterismo: importante estratégia de modificação molecular para o planejamento racional de medicamentos, *Rev. Bras. Farm.*, 72, 2.
- BARREIRO, E.J. COSTA, P.R.R., COELHO, F.A.S., FARIAS, F.M.C. (1985) Synthesis of new derivatives from safrole isolated from sassafras oil, *J.Chem. Research (M)*, 2301.
- BARREIRO, E.J. , COSTA, P.R.R., BARROS, P.R., QUEIROZ, W.M. (1982) Prostaglandins Analogues. Part2. Synthesis of New Derivatives from Safrole Isolated from Sassafras Oil, *J.Chem. Research (S)*, 102.
- CABRAL, L.M. (1993) Síntese de Novos Agentes NSAÍ a partir do Safrol *Tese de Mestrado*, IQ-UFRJ.
- CAPETOLA, R.J., SHRIVER D.A., ROSENTHALE, M.E.; (1980) Suprofen, a new peripheral analgesic, *J. Pharm. Exp. Ther.*, 214, 1, 16
- COLEMAN, R.A., SMITH, W.L. and NARUMIYA, S. (1994) Classification of prostanoid receptors: properties, distribution,, and structure of the receptors and their subtypes, *Amer. Soc. Pharmacol. Exp. Ther.*, 46 (2), 205.
- COPP, F.C., ISLIP, P.J. and TATESON, J.E. (1984) 3-N-substitued amino-1-3-(trifluoromethyl)-phenyl-2-pyrazolin have enhanced activity against arachidonate 5-lipoxygenase and cyclooxygenase, *Biochem. Pharmacol.*, 33(2), 33.
- DICKINSON, P.R., CROSS, P.E.; (1991) The story of thromboxane A2, *Chemistry in Brithain*, 991.
- DIAS, L.R.S., ALVIM, M.J.F.F., FREITAS. A.C.C., BARREIRO, J.E., MIRANDA, A.L.P., (1994) Synthesis and analgesic properties of 5-acylaryhydrazones 1-H pyrazolo [3,4-b] pyridine derivatives, *Pharmac. Acta Helvetiae*, 69, 163.
- DIAS, L.R.S. (1992) Síntese e Avaliação Farmacológica de Derivados 5-arilidrazono pirazolo (3,4-b) piridínicos , *Tese de Mestrado*, IQ-UFRJ.
- DRAY, A. URBAN, L. , DICKENSON A.:(1994) Pharmacology of chronic pain, *TIPS*, 15, 190.

- DUARTE, I.D.G., (1992) Analgesia by direct antagonism of nociceptor sensitization involves the arginine-nitric oxide- cGMP pathway, *Eur. J. Pharm.*, **217**, 225.
- DUARTE, I.D.G., LORENZETTI, B.B., FERREIRA, H.S.;(1990) Peripheral analgesia and activation of the nitric oxide-cyclic GMP pathway, *Eur. J. Pharm.*, **186**, 289.
- FERNANDES, R.M. (1986) Contribuição para o conhecimento do efeito antiinflamatório e analgésico do bálsamo de copaíba e alguns de seus constituintes. *Tese de Mestrado* , Departamento de Farmacologia Básica e Clínica da UFRJ.
- FERREIRA, S.H.(1985) ; Aspirina x Dor, como funcionam estas drogas, *Ciência Hoje*, **3**, 56.
- FERREIRA, S.H., LORENZETTI, B.B., FACCIOLI, L.H.; (1992) Blockade of hyperalgesia and neurogenic oedema by topical application of nitroglycerin, *Eur. J., Pharm.*, **217**, 207.
- FERREIRA., S.H., (1979) A new method for measuring variations of rat paw volume, *J. Pharm. Pharmacol.*, **31**, 648.
- FERREIRA, S.H., MONCADA, S. and VANE, J.R. (1973) Prostaglandin and the mechanism of analgesia produced by aspirin-like drugs, *Br. J. Pharmacol.* **49**, 86.
- FERREIRA, S.H. (1972) Prostaglandins, aspirin-drugs and analgesia, *Nature New Biol.*, **231**, 200.
- FORD-HUTCHINSON, A.W.:(1991) FLAP: a novel drug target for inhibiting the synthesis of leukotrienes, *TIPS*, **12**, 68.
- FRAGA, C.A.M., BARREIRO, E.J.; (1992) The synthesis of a new benzothiazine derivative, related to oxicams, synthesized from natural safrole, *J. Heterocyclic Chem.*, **29**, 1667.
- FREITAS, A.C.C., Síntese e avaliação farmacológica de derivados pirazólicos funcionalizados, inibidores de enzimas da cascata do ácido araquidônico. **Tese de Doutorado**, IQ-UFRJ, 1991.
- FUTAKI, K.; NS-398, (1994) A new anti-inflammatory agent, selectively inhibits prostaglandin G/H synthase/cyclooxygenase (COX-2) activity in vitro, *Prostaglandins*, **47**, 55.

- FUTAKI, N., *et al.*, (1993) Selective inhibition of NS-398 on prostanoid production in inflamed tissue in rat carrageenan-air-pouch inflammation, *J. Pharm. Pharmacol.*, **45**, 753.
- GYIRES, K.; (1994) Some of the factors that may mediate or modify the gastrointestinal mucosal damage induced by non-steroidal anti-inflammatory drugs, *Agents Actions*, **41**, 73.
- HAMOR, H.G., (1990) Nonsteroidal anti-inflammatory drugs, *in Principles of Medicinal Chemistry*, Foye, W.D., Ed., Lea & Fabinger, New York, 3rd edition, 503.
- HITE, J.G. (1990) Analgesics, *in Principles of Medicinal Chemistry*, Foye; 3rd edition; W.D., Ed.; Lea & Fabinger, New York, 503.
- HUMBER, L.G., Demerson, C., Philips, A.H. (1976) Etodolic acid and related compounds chemistry and antiinflammatory action of some potents di- and trisubstituted 1,3,4,9-tetrahydropyrano [3,4-b] indole-1-acetics acids, *J. Med. Chem.*, **19**, 391.
- HUTCHINSON, A.W.F. (1990) Leukotriene B₄ in inflammation, *Crit. Rev. Immunol.*, **10**, 1.
- KALINOWSKI, H.O., BERGER, S. and BRAUN, S. (1988) *Carbon-13 NMR Spectroscopy*, John Wiley & Sons ltd., London, 242.
- KALSI, R., *et al.*, (1990) Anti-inflammatory activity of quinazolinoformazans, *J. Pharm. Sci.*, **70**, 317.
- KATO, Y., TAKEMOTO, M., KAZUO, A.; (1993) Prostanoids and related compounds, *Chem. Pharm. Bull*, **41**, (11) 2003.
- KARABATSOS, G.J., TALER, R.A., (1963) Structural studies by nuclear magnetic resonance. V. Phenylhydrazones, *J. Am. Chem. Soc.*, **85**, 3624.
- KINGSBURY, W.D., PENDRAK, I., LEBER, J.D., BOEHM, J.C., MALLET, B., HENRY, M.S., FOLEY, J.J., SCHMIDT, D.B. and DAINES, R.A. (1993) Synthesis of Structural Analogs of Leukotriene B₄ and Their Receptor Binding Activity, *J. Med. Chem.*, **36**, 3308.
- KOROKOLVAS, A & BURCKHALTER, J.H.; (1988) *Química Farmacêutica*, Rio de Janeiro, Ed. Guanabara, p.p. 159, 181, 416,
- KUBINI, (1993), *Hansch Analysis and Related Approaches*, 1st edition Ed. Weinheim, Germany, 23.

- KUCZKOWSKI, R.L.:(1992) The structure and mechanism of formation of ozonides, *Chem. Soc. Rev.* **79**, 83.
- KUJUBU, D.A., et al., (1991) TIS10, a phorbol ester tumor promoter-inducible m-RNA from swiss 3T3 cell, encodes a novel prostaglandin synthase/cyclooxygenase homologue, *J. Biol. Chem.*, **266**, 20, 12866.
- KURODA, T., et al., (1992) A novel synthesis and potent antiinflammatory activity of 4 - hydroxy - 2 (1H) -oxo-1-phenyl-1,8-naphthyridine-3-carboxamides, *J. Med. Chem.*, **35**, 1130.
- LEVINE, J.D., LAN, W. and KWAIT, G. (1984) Leukotriene B₄ produces hyperalgesia that is dependent upon polymorphonuclear leukocytes, *Science*, **225**, 743.
- LICO, M.C. (1985) Modulação da dor.. Mecanismos analgésicos endógenos, *Ciência Hoje*, **4** (21), 67.
- LIMA, M.E.F., BARREIRO, E.J., (1992) The synthesis and anti-inflammatory properties of a new Sulindac analogues from natural Safrole, *J. Pharm. Sci.*, **81**, 12, 1219.
- MAHY, J.P. GASPARD, S., MANSUY, D.:(1993) Phenylhydrazones as new good substrates for the dioxygenase and peroxidase reactions of prostaglandin synthase. Formation of iron (III)-phenyl complexes, *Biochemistry*, **32**, 4014.
- MARLETTA, M.A.:(1993) Nitric Oxide synthase structure and mechanism, *J.Biol. Chem.*, **268**, 12231.
- MARSHALL, P.J.,et al. (1991) Inhibition of inflammatory cytokine production and of 5-lipoxygenase- and cyclooxygenase- mediated metabolism of arachidonic acid, *Bioche. Pharmacol.*, **42**, 813.
- MATHEUS, M.E.; OLIVEIRA, L.F.; FREITAS, A.C.C.; CARVALHO, A.M.A.S.P.; BARREIRO,E.J.,(1991) Antinoceptive property of new 4-acyl-aryhydrazone pyrazole compounds. *Braz. J. Med. Biol. Res.*, **24**, 1219.
- MEADE, E.A., SMITH, W.L., DE WITT, D.L.; (1993) Differential inhibition of prostaglandin endoperoxide synthase (cyclooxygenase) isozymes by aspirin and other non-steroidal antiinflammatory drugs, *J. Biol. Chem.*, **268**,(9), 6610.
- MELLER, S.T. and GEBHART, G.F. (1993) *Pain*, **52**, 127.

- MERLIE, J.P., FAGAN, D., MUDD, J. and NEEDLEMAN, P. (1988) Isolation and characterization of the complementary DNA for sheep seminal vesicle prostaglandin endoperoxid synthase (cyclooxygenase), *J. Biol. Chem.*, **263**, 3550
- MONCADA, S., KNOWLES, R.G.; (1994) Nitric oxide synthase in mammals, *Biochem. J.*, **298**, 249.
- MIRANDA, A.L.P. *et al* (1995) Efeito Analgésico de Novos Derivados Acilidrazono obtidos do safrol, X Reunião Anual da Federação de Sociedade de Biologia Experimental (sob apreciação).
- MONCADA, S., FLOWER, R.J., VANE, J.R. (1985) Prostaglandins, prostacyclin and thromboxane A₂. In: *The pharmacological bases of therapeutics* Gilman, A.G., Goodman, L.S.; Rall, T.W., Murad, F. (Eds.), Macmillan, New York, 28.
- OHSHIMA, E., SATO, A., OBASE, H. (1993) Dibenzoxepin Derivatives; Tromboxane A₂ Synthase Inhibition and Thromboxane A₂ Receptor antagonism Combined in one Molecule. *J. Med. Chem.* **36**, 1613.
- O'BANION, M.K., Sadoweski, H.B., Winn, V. and Young, D.A. (1991) A serum- and glucocorticoid- regulated 4 kilobase mRNA a cyclooxygenase-related protein, *J. Biol. Chem.*, **266**, 23261.
- PATRIGNANI, P. *et al*, (1994) Biochemical and pharmacological characterization of the cyclooxygenase activity of human blood prostaglandin endoperoxide synthases, *J. Pharmacol. Exper. Ther.*, **271**, 1705.
- SCHEPELMANN, K., *et al*, (1992) Inflammatory mediators and nociception in the joint: excitation and sensitization of slowly conducting afferent fibers of cat's knee by prostaglandin I₂, *Neuroscience*, **50**,(1), 237.
- SCHINI, V.B. *et al*, (1994) Inducible nitric oxide synthase in vascular smooth muscle, *Drug Res.*, **44**, 433.
- SILVA, E.F., BARREIRO, E.J.; (1993) The synthesis and antiinflammatory activity of 1-alkyl-isochroman-1-yl-acetic acids derivatives, *J. Braz. Chem. Soc.*, **4**,40.
- SILVA, E.F. (1992) Síntese e Avaliação Farmacológica de Novos Análogos do Etodolac a partir do Safrol, *Tese de Mestrado*, IQ-UFRJ.
- SMITH W.L., MEADE, E.A., DE WITT, D.L.; (1994) Pharmacology of prostaglandin endoperoxide synthase isozymes-1 and -2, *Ann. New York Acad. Sci.*, 136.
- SMITH, M.J.H., (1981) Leukotriene B₄, *Gen. Pharmacol.*, **12**, 211.

- SMITH, W.L., et al.,(1992) Tyrosyl radicals and their role in hydroperoxide-dependent activation and inactivation of prostaglandin endoperoxide synthase, *Biochemistry*, **31**, 3.
- WALLACE, J.I., CIRINO, G.; (1993) The development gastrointestinal-sparing nonsteroidal anti-inflammatory drugs, *TIPS*, **15**, 405.
- WIESENFELT-HALLEN, Z., et al., (1993), *J. Neurophysiol.*, **70**, 2350.
- WILLOUGHBY, D.A., (1987) Inflammation mediators and mechanism, New York, Ed. Churchill Livingstone, 247.
- YAMAMMOTO, Y., KAMIYA, K. TERAQ, S.; (1993) Modeling of human thromboxane A₂ receptor and analysis of three receptor-ligand interaction, *J. Med. Chem.* **36**, 820.