

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E DA NATUREZA
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA FUNDAMENTAL**

TESE DE DOUTORADO

**SÍNTESE E ATIVIDADE BIOLÓGICA DE
FTALIMIDAS *N*-SUBSTITUÍDAS**

VERA LÚCIA MARQUES DE SENA

ORIENTADOR

Prof. Rajendra Mohan Srivastava

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E DA NATUREZA
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA FUNDAMENTAL

**SÍNTESE E ATIVIDADE BIOLÓGICA DE
FTALIMIDAS N-SUBSTITUÍDAS**

VERA LÚCIA MARQUES DE SENA

Tese de doutorado apresentada ao programa de Pós-graduação em Química do Departamento de Química Fundamental, como parte dos pré-requisitos para obtenção do título de Doutor em Ciências.

ORIENTADOR: Prof. Rajendra Mohan Srivastava

Tese submetida ao Corpo Docente do Programa de Pós-graduação em Química do Departamento de Química Fundamental da Universidade Federal de Pernambuco como parte dos requisitos necessários para a obtenção do Grau de Doutor em Química.

Aprovada:

Prof. Dr. Rajendra Mohan Srivastava
Departamento de Química Fundamental da UFPE

Prof. Dr. José Maria Barbosa Filho
Laboratório de Tecnologia Farmacêutica da UFPE

Profa. Dra. Luana Cassandra Breitenbach Barroso Coelho
Departamento de Bioquímica da UFPE

Profa. Dra. Simone Maria da Cruz Gonçalves
Departamento de Química Fundamental da UFPE

Prof. Dr. Marcelo Navarro
Departamento de Química Fundamental da UFPE

“Síntese e Atividade Biológica de Ftalimidas N-substituídas”

por

VERA LÚCIA MARQUES DE SENA

Departamento de Química Fundamental
Centro de Ciências Exatas e da Natureza
Universidade Federal de Pernambuco
Recife-PE-Brasil

05 de Agosto de 2003

*A Deus pela força de vontade em
mim depositada para a realização de
mais uma etapa em minha vida.*

*"Na glória dos grandes homens
colaboram muitas vezes mestres
anônimos, a quem cabe um pouco dos
brilhos do futuro."*

(Francisco Venâncio Filho)

AGRADECIMENTOS

Ao professor Rajendra Mohan Srivastava, pela orientação, competência profissional, apoio, dedicação, estímulo e paciência durante a execução deste trabalho.

À professora Vera L. M. Lima do Departamento de Bioquímica, pela colaboração, apoio, estímulo e amizade durante a realização dos testes de atividades lipídica e antiinflamatória.

Às professoras Kêsia X.F.R. Sena e Alda A. Chiappeta do Departamento de Antibiótico, pela colaboração na realização dos testes de atividade antimicrobiana.

À professora Simone Maria da Cruz Gonçalves, pela revisão e sugestões dadas.

Ao professor Ricardo Luiz Longo, Coordenador do Doutorado, pelo incentivo e exemplo profissional.

Aos técnicos da Central Analítica, Ricardo, Eliete (Lilica), Érida e Juliana pelos espectros de RMN, IV, UV, MS e pelas análises elementares.

À aluna de mestrado Shalom, pela colaboração na realização dos testes de atividades biológicas.

Aos amigos de Laboratório pela colaboração prestada durante a execução deste trabalho, Conceição (Ceça), Ladjane, João, Joselice e Ronaldo.

A todos colegas de mestrado, doutorado e iniciação científica, pela amizade, ajuda e estímulos nos momentos felizes e tristes por nós compartilhados.

A todas as pessoas deste departamento: professores, alunos e funcionários que de forma direta ou indireta contribuíram para o andamento desta tese. E em particular às bibliotecárias do CCEN, Ana e Joana pelo auxílio, atenção e amizade ao longo destes anos.

Um especial agradecimento a meus pais, filho e irmãos pela paciência e apoio necessário nas horas mais difíceis.

Ao CNPq, CAPES e UFPE, pelo auxílio a execução deste trabalho.

RESUMO

Este estudo relata a síntese, caracterização, reações e testes de atividades biológicas de ftalimidas *N*-substituídas. Um método mais rápido e eficiente para obtenção de ácidos *N*-arilftalâmicos (intermediários na síntese de *N*-arilftalimidas), foi desenvolvido, utilizando-se um forno de microondas doméstico.

Inicialmente, foram sintetizadas *N*-arilftalimidas **56a-o**, partindo-se de anidrido ftálico e aminas aromáticas. A reação de **56a-g,j** com reativo de Lawesson em tolueno, produziu-se *N*-aril-monotioftalimidas **58a-g,j** e *N*-aril-ditioftalimidas **56a-g,j**. Uma outra série de compostos, *N*-(aril e 1,2,4-triazol-3- e 4-il-aminometil)ftalimidas **62a-j,n,o** foram sintetizados pela condensação de *N*-hidroximetilftalimida com aminas aromáticas. Um mecanismo de formação desta série foi sugerido.

Através do impacto eletrônico, seguida pela utilização da técnica de decomposição induzida pela colisão (CID) e as medidas exatas de massas dos íons, nos levou a propor o modo de fragmentação mais adequado para seis *N*-arilftalimidas **56b-g**.

O teste de atividade hipolipidêmica de algumas das *N*-arilftalimidas, revelou que os compostos **56b,d** possuem atividade hipocolesterolêmica e os compostos **56b,d,f,g** hipotrigliceridêmica superior à pravastatina. Surpreendentemente, os ácidos *N*-arilftalâmicos **68a-g,n,o** apresentaram atividade hiperlipidêmica e aumentaram o peso dos animais. Um dos compostos **56h** demonstrou ter propriedade antiinflamatória similar à aspirina. Os ácidos *N*-arilftalâmicos **68a-g,n,o** também demonstraram tal atividade. Duas das ftalimidas tionadas **58a** e **59j** apresentaram atividade antimicrobiana excelentes.

ABSTRACT

The study herein relates the synthesis, characterization, reactions and biological activity tests of *N*-substituted phthalimides. A fast and efficient method for obtaining *N*-arylphthalamic acids (intermediates in the synthesis of *N*-arylphthalimides) has been developed using domestic microwave oven.

Initially, *N*-arylphthalimides **56a-g,j** were prepared starting from phthalic anhydride and aromatic amines. Reaction of **56a-g,j** with Lawesson's reagent in toluene, produced *N*-arylmonothiophthalimides **58a-g,j** and *N*-aryldithiophthalimides **58a-g,j**.

Another series of compounds, *N*-(aryl and 1,2,4-triazol-3- and 4-yl-aminomethyl)phthalimides **62a-j,n,o** have been synthesized by condensing *N*-hydroxymethylphthalimide with aromatic amines. A probable mechanism of formation of **62a-j,n,o** is suggested.

Electron-impact followed by the use Collision-Induced Decomposition (CID) technique and exact mass measurements of ions led us to propose the correct fragmentation modes for six *N*-arylphthalimides **56b-g**.

Hypolipidemic activity test of some *N*-arylphthalimides revealed that compounds **56b,d** are hypocholesterolemic and compounds **56b,d,f,g** are hypotriglyceridemic better than commercially available pravastatin. Surprisingly, *N*-arylphthalamic acids **68a-g,n,o** presented hyperlipidemic activity and also caused weight increase in animals. One of the compounds **56h** demonstrated to possess anti-inflammatory property similar to aspirin. Interestingly, *N*-arylphthalamic acids **68a-g,n,o** also have such activity. Two thiophthalimides **58a** and **59j** showed excellent antimicrobial attribute.

INDÍCE

<i>Lista de Abreviaturas</i>	VIII
<i>Lista de Esquemas</i>	X
<i>Lista de Figuras</i>	XI
<i>Lista de Tabelas</i>	XIV
1. INTRODUÇÃO	01
1.1- Generalidades	01
1.2- Ftalimidas	03
1.2.1- Nomenclatura da ftalimida e sua importância	03
1.2.2- Métodos de obtenção das ftalimidas	05
1.2.3- Caracterização das ftalimidas	07
1.3- Propriedades farmacológicas das ftalimidas	10
1.3.1- Atividade hipolipidêmica da ftalimida	14
1.3.2- Atividade antiinflamatória das ftalimidas	18
Bibliografia	21
2. OBJETIVOS	24
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	26
3.1- Síntese de ftalimidas N-substituídas	28
3.1.1- N-arilftalimidas e N-[1,2,4]-triazól-3- e 4-il-ftalimidas	28
3.1.1.1- Infravermelho (IV)	30
3.1.1.2- Ultravioleta (UV)	31
3.1.1.3- Ressonância magnética nuclear de hidrogênio (RMN ¹ H)	32
3.1.1.4- Modelo de fragmentação por espectrometria de massa	35
3.2- N-aril-monotioftalimidas e N-aril-ditioftalimidas	54
3.2.1- Infravermelho (IV)	57
3.2.2- Ressonância magnética nuclear protônica (RMN ¹ H)	60
3.3- Síntese de N-(aril e 1,2,4-triazol-3- e 4-il-aminometil)ftalimidas	62
3.3.1- Infravermelho (IV)	63
3.3.2- Ultravioleta (UV)	64

3.3.3- RMN ¹ H	67
3.4- Obtenção dos ácidos N-arilftalâmicos	69
3.4.1- Infravermelho (IV)	71
3.4.2- Ressonância nuclear protônica (RMN ¹ H)	71
3.5- Reações para obtenção de iminas e ácidos	72
3.5.1- Obtenção de iminas	72
3.5.1.1- Infravermelho (IV)	73
3.5.1.2- RMN ¹ H	74
3.5.2- Oxidação da hidroximetilftalimida	76
3.6.- Testes de atividades biológicas	77
3.6.1- Atividade hipolipidêmica da ftalimida e derivados	77
3.6.1.1- Teste da ação do carboximetilcelulose (CMC) a 1% (p/v), como veículo de solubilização das drogas sobre o peso e os níveis lipídicos em plasma de camundongos	78
3.6.1.2- Ação dos compostos 1 (ftalimida) e 56b-g (N-arilftalimidias) sobre os níveis lipídicos em plasma de camundongos	79
3.6.1.3- Ação da ftalimida sobre os níveis lipídicos em plasma de camundongos	81
3.6.2- Atividade hiperlipidêmica dos ácidos N-arilftalâmicos.	82
3.6.2.1- Ação do carboximetilcelulose (CMC) sobre o peso dos animais.	83
3.6.2.2- Ação dos ácidos N-arilftalâmicos (68a-g, n, o) sobre os níveis lipídicos em plasma de camundongos.	83
3.6.3- Atividade Antiinflamatória	86
3.6.3.1- Atividade antiinflamatória da ftalimida e ftalimidias N-substituídas.	86
3.6.3.2- Ação antiinflamatória da ftalimida e ftalimidias N-substituídas em camundongos brancos Swiss	84
3.6.3.3- Ação da atividade antiinflamatória crônica dos ácidos N-arilftalâmicos em camundongos brancos Swiss	88
3.6.3.4- Ação da atividade antiinflamatória aguda dos ácidos N-arilftalâmicos em camundongos brancos Swiss	90
3.6.4 - Atividade antimicrobiana	94
3.6.4.1 - Atividade antimicrobiana dos compostos N-[X(fenil-aminometil)]ftalimidias	95
3.6.4.2 - Atividade antimicrobiana das mono- e ditioftalimidias	97
Bibliografia	99

4. PROCEDIMENTOS EXPERIMENTAIS	102
4.1- Materiais empregados	103
4.2- Instrumentos utilizados	103
4.3- Síntese das <i>N</i> -arilftalimidas	104
4.3.1- Ftalimidas <i>N</i> -substituídas	104
4.4- Obtenção dos compostos mono- e ditioftalimidas <i>N</i> -substituídas	109
4.5- Obtenção dos compostos <i>N</i> -(aril e 1,2,4-triazol-3- e 4-il-aminometil)ftalimida	115
4.6- Síntese dos ácidos <i>N</i> -arilftalâmicos	121
4.7- Obtenção das iminas	125
4.8- Obtenção de ácido ftalimídico	127
4.9- Atividades biológicas das ftalimidas <i>N</i> -substituídas	128
4.9.1- Atividade hipolipidêmica	128
4.9.2- Atividade hiperlipidêmica	130
4.9.3- Atividade antiinflamatórias aguda e crônica	131
4.9.4- Atividade antimicrobiana	132
4.9.4.1- Microorganismos-testes, preparação dos inóculos e compostos	132
4.9.4.2- Testes de atividade antimicrobiana	132
Bibliografia	133
5. CONCLUSÕES	134
6. PERSPECTIVAS	137
Bibliografia	130
Ω - APÊNDICE	143
Apêndice 1:	144
• Espectro de Ressonância magnética nuclear de hidrogênio, em CDCl ₃ do composto <i>N</i> -(2-fluorfenil)ftalimida) 56e	144
• Espectro de Ressonância magnética nuclear, <i>J</i> -Resolvido, em CDCl ₃ do composto <i>N</i> -(2-fluorfenil)ftalimida) 56e	145
• Espectro de Ressonância magnética nuclear de hidrogênio, em CDCl ₃ do composto <i>N</i> -(3-fluorfenil)ftalimida) 56f	146
• Espectro de Ressonância magnética nuclear, <i>J</i> -Resolvido, em CDCl ₃ do composto <i>N</i> -	

(3-fluorfenil)ftalimida) 56f	147
• Espectro de Ressonância magnética nuclear de carbono, em CDCl ₃ do composto N-(3-fluorfenil)ftalimida) 56f	148
• Espectro de Ressonância magnética nuclear de hidrogênio, em CDCl ₃ do composto N-(4-fluorfenil)ftalimida) 56g	149
• Espectro de Ressonância magnética nuclear, HETCOR, em CDCl ₃ do composto N-(4-fluorfenil)ftalimida) 56g	150
Apêndice 2a:	151
• Espectro de IV em KBr do composto N-(4-Clorofenil)monotioftalimida 58d	151
• Espectro de IV em KBr do composto N-(4-Clorofenil)ditioftalimida 59d	152
Apêndice 2b:	153
• Espectro de RMN de hidrogênio do composto N-(4-Clorofenil)monotioftalimida 58d	153
• Espectro de RMN de hidrogênio do composto N-(4-Clorofenil)ditioftalimida 59d	154
Apêndice 3a:	155
• Espectro de IV em nujol do composto N-(2-Clorofenilaminometil)ftalimida 62b	155
• Espectro de IV em nujol do composto N-(4-Nitrofenilaminometil)ftalimida 62j	156
Apêndice 3b:	157
• Espectro de UV em metanol do composto N-(2-Clorofenilaminometil)ftalimida 62b	157
• Espectro de UV em metanol do composto N-(4-Nitrofenilaminometil)ftalimida 62b	158
Apêndice 3c:	159
• Espectro de RMN de hidrogênio do composto N-(2-Clorofenilaminometil)ftalimida 62b	159
• Espectro de RMN de hidrogênio do composto N-(4-Nitrofenilaminometil)ftalimida 62j	160
* - ANEXOS	161
Artigos publicados em periódico internacional	
Trabalhos publicados em anais de Congressos	
Resumos publicados em Congressos	

LISTA DE ABREVIATURAS

<i>AAS</i>	<i>Aspirina</i>
<i>Ar</i>	<i>Arila</i>
<i>CAD</i>	<i>Coronary artery disease (doenças das artérias coronárias)</i>
<i>DCC</i>	<i>Diciclohexilcarbodiimida</i>
<i>CID</i>	<i>Collision-Induced decomposition (decomposição induzida pela colisão)</i>
<i>CMC</i>	<i>Carboximetilcelulose</i>
<i>COX</i>	<i>Ciclo-oxigenase</i>
<i>dd</i>	<i>Duplo de duplete</i>
<i>dt</i>	<i>Duplete de triplete</i>
<i>DME</i>	<i>Dimetiletilenoglicol</i>
<i>DMF</i>	<i>Dimetilformamida</i>
<i>DMSO</i>	<i>Dimetil sulfóxido</i>
<i>EtOH</i>	<i>Etanol</i>
<i>EtOAc</i>	<i>Acetato de etila</i>
<i>GIPLs</i>	<i>Glicosilfosfatidilinositol</i>
<i>HDL</i>	<i>High density lipoprotein (lipoproteína de alta densidade)</i>
<i>Het</i>	<i>Heterocíclico</i>
<i>HMG-CoA</i>	<i>3-Hidroxi-3-metil-glutaril Coenzima-A</i>
<i>ib</i>	<i>Ibuprofeno</i>
<i>IV</i>	<i>Infravermelho</i>
<i>LDL</i>	<i>Low density lipoprotein (lipoproteína de baixa densidade)</i>
<i>LPL</i>	<i>Lipase lipoprotéica</i>

<i>LPS</i>	<i>Lipopolissacarídeo</i>
<i>MeOH</i>	<i>Metanol</i>
<i>m</i>	<i>Multiplete</i>
<i>MO.</i>	<i>Microondas</i>
<i>mmol</i>	<i>Milimol</i>
<i>MS</i>	<i>Massa</i>
<i>NSAIDs</i>	<i>Nonsteroidal antiinflammatory drugs (drogas antiinflamatória não esteroidais)</i>
<i>pe</i>	<i>Ponto de ebulição</i>
<i>pf</i>	<i>Ponto de fusão</i>
<i>PG</i>	<i>Prostaglandina</i>
<i>p/v</i>	<i>Peso/volume</i>
<i>QSAR</i>	<i>Quantitative Structure Activity Relationship (relação quantitativa estrutura atividade)</i>
<i>RL</i>	<i>Reativo de Lawesson</i>
<i>RMN ¹H</i>	<i>Ressonância magnética nuclear de hidrogênio</i>
<i>SIDA</i>	<i>Síndrome da imunodeficiência adquirida</i>
<i>t.a.</i>	<i>Temperatura ambiente</i>
<i>TG</i>	<i>Triglicerídeos</i>
<i>THF</i>	<i>Tetrahidrofurano</i>
<i>TLC</i>	<i>Thin layer chromatography (cromatografia em camada fina)</i>
<i>TNF</i>	<i>Tumour necrosis factor (fator de necrose tumoral)</i>
<i>UV</i>	<i>Ultravioleta</i>
<i>VLDL</i>	<i>Very low density lipoprotein (lipoproteína de muito baixa densidade)</i>

LISTA DE ESQUEMAS

Esquema 7:	<i>Síntese de ftalimidas N-substituídas</i>	28
Esquema 8:	<i>Mecanismo para obtenção das ftalimidas N-substituídas</i>	28
Esquema 9:	<i>Modelo de fragmentação por espectrometria de massa</i>	36
Esquema 10:	<i>Modelo para as principais fragmentações obtidas pela espectrometria de massa do composto p-clorofenilftalimida (56d)</i>	39
Esquema 11:	<i>Modelo para as principais fragmentações obtidas pela espectrometria de massa do composto 2-clorofenilftalimida (56b)</i>	43
Esquema 12:	<i>Modelo para as principais fragmentações obtidas pela espectrometria de massa do composto N-(4-fluorfenil)ftalimida (56g)</i>	46
Esquema 13:	<i>Principais fragmentações de massa do 2-[1H-(1,2,4)triazol-3-il]-isoindol-1,3-diona, obtidas pela ionização eletrônica</i>	50
Esquema 13a:	<i>Mecanismo de isomerização de 2-[1H-(1,2,4)triazol-3-il]-isoindole-1,3-diona (a) à 1-[1H-(1,2,4)triazol-3-il]isoindole-1-ona-3-imina a'</i>	51
Esquema 14:	<i>Principais fragmentações do 2-[1,2,4]triazol-4-il-isoindol-1,3-diona obtidas pelo impacto eletrônico</i>	53
Esquema 15:	<i>Síntese geral para obtenção de mono- e ditioftalimidas</i>	54
Esquema 16:	<i>Mecanismo de formação das N-aril-monotioftalimidas e N-aril-ditioftalimidas, a partir de N-arilftalimidas</i>	55
Esquema 17:	<i>Síntese de N-(aril e 1,2,4-triazol-3 e 4-il-aminometil)ftalimidas</i>	62
Esquema 18:	<i>Mecanismo de formação dos produtos N-(aril e 1,2,4-triazol-3- e 4-il-aminometil)ftalimida (62a-j, n, o) a partir de hidroximetilftalimida (61)</i>	63
Esquema 19:	<i>Síntese de ácidos N-arilftalâmicos</i>	70
Esquema 20:	<i>Síntese de iminas a partir de N-(4-aminofenil)ftalimida</i>	73
Esquema 21:	<i>Obtenção do ácido 1,3-dioxo-1,3-dihidro-isoindol-2-carboxilílico</i>	76

LISTA DE FIGURAS

Figura 1:	<i>Bioisósteros</i>	2
Figura 5:	<i>Caminhos de fragmentação da ftalimida</i>	9
Figura 6:	<i>Mecanismo de fragmentação da N-arilftalimida 19</i>	9
Figura 7:	<i>Molécula do colesterol</i>	10
Figura 8:	<i>Estrutura esquemática das lipoproteínas</i>	10
Figura 9:	<i>Molécula de triacilglicerol (triglicerídeos)</i>	12
Figura 10:	<i>Placa aterosclerótica</i>	13
Figura 15:	<i>Espectro de Infravermelho em KBr do composto 56n</i>	30
Figura 16:	<i>Numeração para identificação dos carbonos e respectivos prótons das N-arilftalimidas</i>	33
Figura 17:	<i>Espectro de RMN ¹H dos compostos 56n e 56o</i>	35
Figura 18:	<i>Estruturas das N-arilftalimidas</i>	36
Figura 19:	<i>Estruturas das N-arilftalimidas estudadas</i>	37
Figura 20:	<i>Espectro de massa do p-clorofenilftalimida (56d)</i>	37
Figura 10a:	<i>Rearranjo para obtenção do fragmento iônico d a partir do fragmento iônico c</i>	40
Figura 21:	<i>Espectro de massa do composto N-(3-clorofenil)ftalimida (56d)</i>	41
Figura 22:	<i>Espectro de massa do composto N-(o-clorofenil)ftalimida (56b)</i>	42
Figura 22a:	<i>Espectrometria de massa do composto N-(4-fluorfenil)ftalimida (56g)</i>	44
Figura 23:	<i>Espectrometria de massa do composto N-(3-fluorfenil)ftalimida (56f)</i>	47
Figura 24:	<i>Espectrometria de massa do composto N-(2-fluorfenil)ftalimida (56e)</i>	48

Figura 25:	<i>Espectro de massa de baixa resolução do 2-[1H-(1,2,4)triazol-3-il]-isoindol-1,3-diona 56n</i>	49
Figura 26:	<i>Espectro de massa de baixa resolução do 2-[1H-(1,2,4)triazol-4-il]-isoindol-1,3-diona 56o</i>	52
Figura 27a	<i>Espectros de infravermelho, em KBr, da fenilftalimida (56a)</i>	57
Figura 27b:	<i>Espectros de infravermelho, em KBr, dos compostos monotiofenilftalimida (58a) e ditiofenilftalimida (59a)</i>	58
Figura 29:	<i>Numeração para identificação dos carbonos e respectivos prótons das N-(X-fenilaminometil)ftalimidias</i>	67
Figura 30:	<i>Ácidos N-(1,2,4-triazol-3- e 4-il)ftalâmicos</i>	70
Figura 31:	<i>2-{4-[(4-X-benzilideno)-amino]fenil}-isoindol-1,3-diona</i>	74
Figura 32:	<i>Efeito do CMC 1% (p/v) sobre os níveis de colesterol e TG em plasma de camundongos albino Swiss. Animais: (□) antes (■) e após 16 dias de tratamento, usando 20 mg/kg/d</i>	78
Figura 33:	<i>Efeito dos compostos 1 e 56b-g, sobre os níveis de colesterol em plasma de camundongos albino Swiss. Animais: (□) antes e (■) após 16 dias de tratamento, usando 20 mg/kg/d</i>	79
Figura 34:	<i>Efeito dos compostos 1 e 56b-g, sobre os níveis de TG em plasma de camundongos albino Swiss. Animais: (□) antes e (■) após 16 dias de tratamento, usando 20 mg/kg/d</i>	80
Figura 35:	<i>Efeito antiinflamatório da ftalimida e o-nitrofenilftalimida (56h) em camundongos branco Swiss após tratamento com 1% de carragenina a 0,9% de NaCl. A representação das letras e N^o representam: s (controle-negativo, salina), AAS (controle-positivo, aspirina), carboximetilcelulose (CMC) e 1 (ftalimida)</i>	87

- Figura 36:** *Inibição do edema induzido pela carragenina em camundongos após tratamento com os ácidos 68a-g,n,o. O símbolo s representa o controle-negativo (salina), o AAS o controle-positivo (aspirina) e o CMC o carboximetilcelulose (veículo de solubilização das drogas). Todos os compostos testados tiveram $p < 0,0001$, exceto o grupo controle CMC, que não apresentou nenhuma diferença significativa* 89
- Figura 37:** *Inibição do edema induzido pela carragenina em camundongos após tratamento com os ácidos 68a-g, n, o. O número 1 representa o controle-negativo (salina), as siglas: CMC (carboximetilcelulose), AAS (aspirina) e Ib (ibuprofeno)* 92
- Figura 38:** *Administração das drogas por via oral (gavagem)* 128
- Figura 39:** *Coleta do sangue de camundongo por punção do plexo coróide* 129
- Figura 40:** *Administração das drogas por via intraperitoneal* 130

LISTA DE TABELAS

Tabela 1:	<i>Solvente de cristalização, rendimentos e ponto de fusão dos compostos obtidos</i>	29
Tabela 2:	<i>Dados de absorções dos espectros de ultravioleta dos compostos 56a-g,n,o</i>	32
Tabela 3:	<i>Deslocamentos químicos de prótons dos compostos 56a-g</i>	34
Tabela 4:	<i>Dados da abundância relativa (%), fragmentos iônicos, massas moleculares observadas e calculadas*, obtidas a partir do espectro de massa de alta resolução dos compostos 56c e d</i>	38
Tabela 4a:	<i>Dados da abundância relativa (%), fragmentos iônicos, massas moleculares observadas e calculadas em colchetes, obtidas a partir do espectro de massa de alta resolução do composto 56b</i>	42
Tabela 5:	<i>Dados da abundância relativa (%), fragmentos iônicos, massas moleculares observadas e calculadas em colchetes, obtidas a partir do espectro de massa de alta resolução dos compostos 56e-g</i>	45
Tabela 6:	<i>Dados físicos e experimentais para os compostos 58d, j e 59d, j, obtidos da reação de tionação das N-arilftalimidas (56d, j) com RL</i>	56
Tabela 7:	<i>Dados dos espectros de absorção no IV (cm⁻¹) de algumas N-arilftalimidas, N-aril-monotioftalimidas e N-aril-ditioftalimidas</i>	59
Tabela 8:	<i>Deslocamentos químicos dos prótons dos compostos 58a, d, j e 59a, d, j</i>	61
Tabela 9:	<i>Absorções de alguns grupos no IV (em Nujol) dos compostos N-(aril e 1,2,4-triazol-3- e 4-il-aminometil)ftalimida (62a-j, n, o)</i>	64
Tabela 10:	<i>Dados de absorções dos espectros de ultravioleta dos compostos 62a-g</i>	65
Tabela 11:	<i>Deslocamentos químicos de prótons dos compostos 62a-j</i>	68
Tabela 12:	<i>Deslocamentos químicos referente aos prótons do composto 62o</i>	69
Tabela 13:	<i>Deslocamentos químicos dos prótons dos ácidos N-(1H-[1,2,4]triazol-3-il-ftalâmico (68n) e N-[1,2,4]triazol-4-il-ftalâmico (68o)</i>	72

Tabela 14: <i>Deslocamentos químicos dos prótons 2-{4-[(4-X-benzilideno)-amino]fenil}-isoindol-1,3-diona (71a-c)</i>	75
Tabela 15: <i>Efeito dos ácidos N-arilftalâmicos sobre os níveis de colesterol, triglicerídeos e peso dos camundongos após 14 dias de tratamento</i>	84
Tabela 16: <i>Microorganismos utilizados nos ensaios de atividade antimicrobiana</i>	95
Tabela 17: <i>Valores da zona de inibição (mm) dos controles antimicrobianos utilizados</i>	96
Tabela 18: <i>Atividade antimicrobiana in vitro de compostos N-[X(fenil-aminometil)]ftalimidas</i>	96
Tabela 19: <i>Atividade antimicrobiana in vitro das tioftalimidas</i>	97



INTRODUÇÃO

1. INTRODUÇÃO

1.1 - GENERALIDADES:

Nas últimas décadas, diversos grupos de pesquisadores vêm sintetizando substâncias com prováveis atividades biológicas. Às vezes, partem de uma substância com atividade conhecida e preparam produtos sintéticos modificados para testar suas atividades biológicas.

Inicialmente, os pesquisadores limitavam-se a isolar determinadas substâncias naturais a partir do extrato bruto de plantas com eficácia já conhecida. Mais recentemente, a química orgânica sintética passou não somente a criar análogos sintéticos e derivados, como também a criar substâncias totalmente inéditas, que vieram a se tornar fármacos.

Hoje sabemos que a importância medicinal de um fármaco é considerada de acordo com seu sítio ativo ou seu modo de ação. Em muitos casos, a atribuição do modo de ação pode ser apenas uma tentativa, podendo até muitas drogas serem classificadas em mais de um caminho. Por exemplo: algumas drogas produzem seus efeitos através de processos físico-químicos, outras produzem através da reatividade química, e nestes casos, a explicação para seu modo de ação ocorre nos receptores biológicos, ou seja, a área específica de uma proteína que iniciará uma mudança física ou química na célula quando esta absorve uma molécula do fármaco com forma e polaridade apropriadas conforme a sua geometria.¹ Quando um composto está ligado diretamente ao receptor, várias interações contribuem para a entalpia de ligação. Logo a finalidade de um composto por seu receptor é caracterizado pelas constantes de ligação do tipo que o composto pode fazer. As ligações podem ser:

a)- interações eletrostáticas, interações Coulombianas que favorecem ligações do tipo [íon-íon $\rightarrow ^+\text{NH}_3\text{.....}^-\text{O}_2\text{C}$], íon-dipolo $\rightarrow ^+\text{NH}_3\text{.....}^\delta-\text{O}=\text{C}$];

b)- interações hidrofóbicas resultando da ligação de uma região lipofílica não-polar iniciando outra;

c)- ligações através de pontes de hidrogênio, as quais contribuem com interações específicas que o composto pode fazer com seu receptor² e

d)- ligações covalentes, as quais envolvem a formação de uma ligação sigma entre dois átomos que contribuem cada qual com um elétron. Esse tipo de ligação ocorre com fármacos que apresentam grupamentos com acentuado caráter eletrofílico e bionucleófilos orgânicos.

No que diz respeito à atividade biológica, a literatura relata diversas informações sobre substâncias (ou drogas) que têm diversas atividades e apresentam pelo menos dois grupos químicos distintos (funções químicas) numa única molécula.³ Por exemplo, em alguns casos um dos grupos pode atuar apenas como um bioisótero (um grupo químico o qual pode substituir outro numa molécula sem afetar a atividade biológica da mesma) e em outros casos, dois ou mais grupos participam efetivamente contribuindo para a atividade biológica (Figura 1).

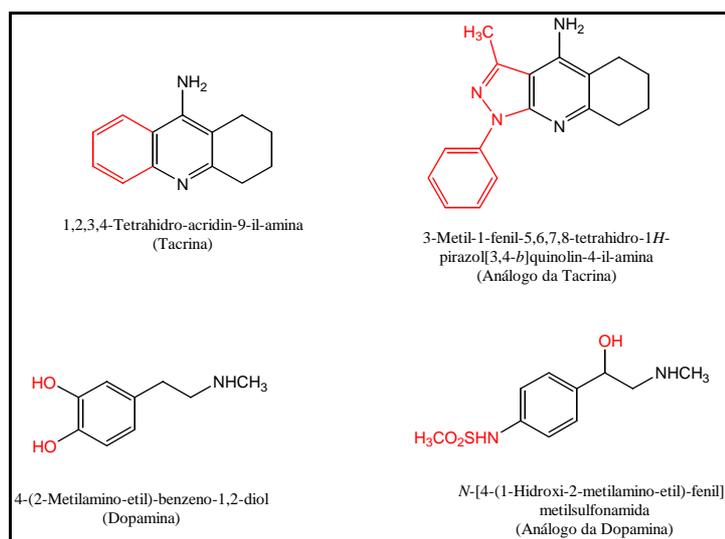


Figura 1 - Bioisósteros

1.2 - FTALIMIDAS

1.2.1 - Nomenclatura da ftalimida e sua importância:

Ftalimida [1*H*-isoindole-1,3(2*H*)-diona] **1** (Figura 2), nome adotado pelo Chemical Abstract (CAS N^o 85-41-6), pertence a família química das imidas.

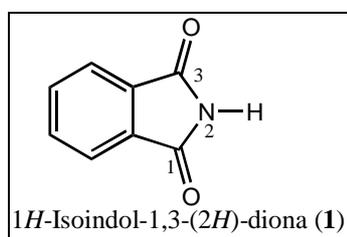


Figura 2

As ftalimidas constituem uma classe importante de compostos heteroaromáticos por apresentarem diferentes atividades biológicas tais como: atividade hipolipidêmica,⁴⁻⁶ hipotensiva,⁷ antitumoral,⁸ antiviral,⁹ antimicrobiana,¹⁰ anticonvulsiva,¹¹⁻¹³ antiinflamatória,¹⁴ fungicida,¹⁵ entre outras.¹⁶

A (±)-talidomida **2** (Figura 3) é um exemplo de uma ftalimida que é usada comercialmente. Ela é um derivado sintético do ácido glutâmico que consiste de um anel glutarimida e de um anel ftalimida. Em 1957, este fármaco foi amplamente utilizado como sedativo-hipnótico "seguro", pois não provocava o efeito tóxico nem a dependência dos barbitúricos.¹⁷ Após alguns anos de uso como sedativo e agente anti-naúseas, indicado no alívio do mal-estar matinal comum em gestantes, a talidomida foi retirada do mercado, devido as propriedades teratogênicas que se tornaram aparentes sendo responsáveis pelo nascimento de milhares de crianças com deformações congênitas.

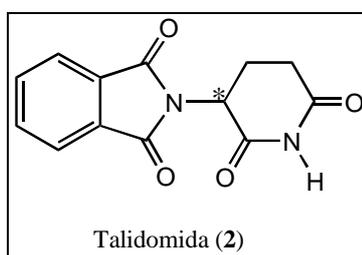


Figura 3

Quatro anos mais tarde, foi verificado que a talidomida (2) era também eficiente na redução do processo inflamatório associado ao leproma (lesões inflamatórias caracterizadas por nódulos que impede a circulação sanguínea ao longo dos nervos periféricos com conseqüente perda do tecido em pacientes portadores de hanseníase).¹⁸

Em estudos recentes, Wnendt e Zwingenberger relataram que o efeito teratogênico da talidomida (2) era proveniente do emprego do enantiômero de configuração (*S*), enquanto seu enantiômero (*R*) é desprovido de ação teratogênica,¹⁹ contudo a estereoespecificidade da ação teratogênica deste fármaco dependente da espécie animal estudada.²⁰ Estudos *in vitro* e *in vivo* em humanos demonstram que em torno de 8h após administração oral de um ou outro enantiômero (*R* ou *S*) puro, ocorre uma rápida interconversão entre as duas formas levando a formação da mistura racêmica no sangue.

Recentemente, a talidomida vem sendo usada clinicamente no tratamento de doenças auto-imunes relacionadas ao aumento da concentração plasmática de TNF- α (fator de necrose tumoral α). Este fármaco exerce efeito imunomodulador e antiinflamatório em uma ampla variedade de doenças tais como: artrite reumatóide, infecções oportunistas na síndrome da imunodeficiência adquirida (SIDA), após transplante de medula,²¹ lúpus e outras.²²

As ftalimidas, além da sua importância nas diferentes atividades biológicas descritas acima, pode-se também destacar suas aplicações na indústria como monômeros na síntese de polímeros e copolímeros termoestáveis (Figura 4).²³

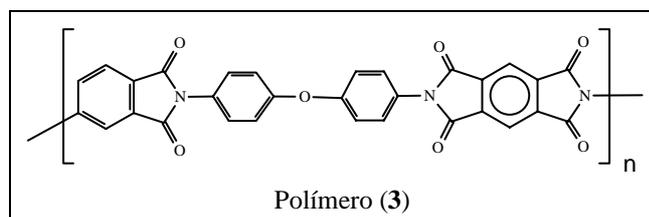
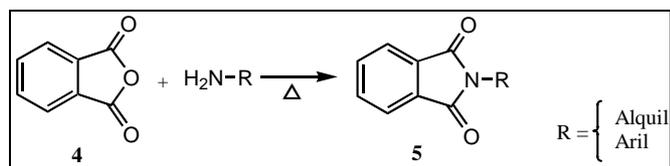


Figura 4

1.2.2 - Métodos de obtenção das ftalimidas:

Na síntese, as ftalimidas são consideradas como compostos heteroaromáticos devido a viabilidade da formação do anel imida. As principais rotas sintéticas mais utilizadas para sua preparação são as seguintes:

1 – Reação de aminas e compostos relacionados com o anidrido ftálico **4** (Esquema 1),²⁴ dicloreto ftaloil,²⁵ e *N*-(alcoxicarbonil)ftalimida que por aquecimento produz ftalimida como produto de condensação;²⁶

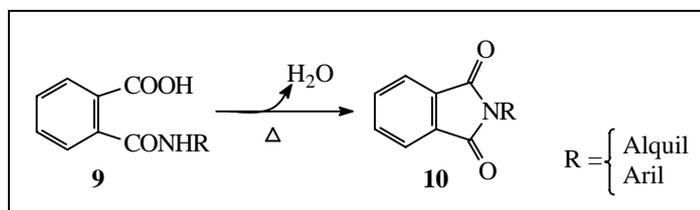


2 – Síntese de Gabriel, onde o sal ftalimida de potássio **6** reage com cloreto de benzila **7** em dimetil-formamida para se obter *N*-benzilftalimida **8** (Esquema 2);²⁷



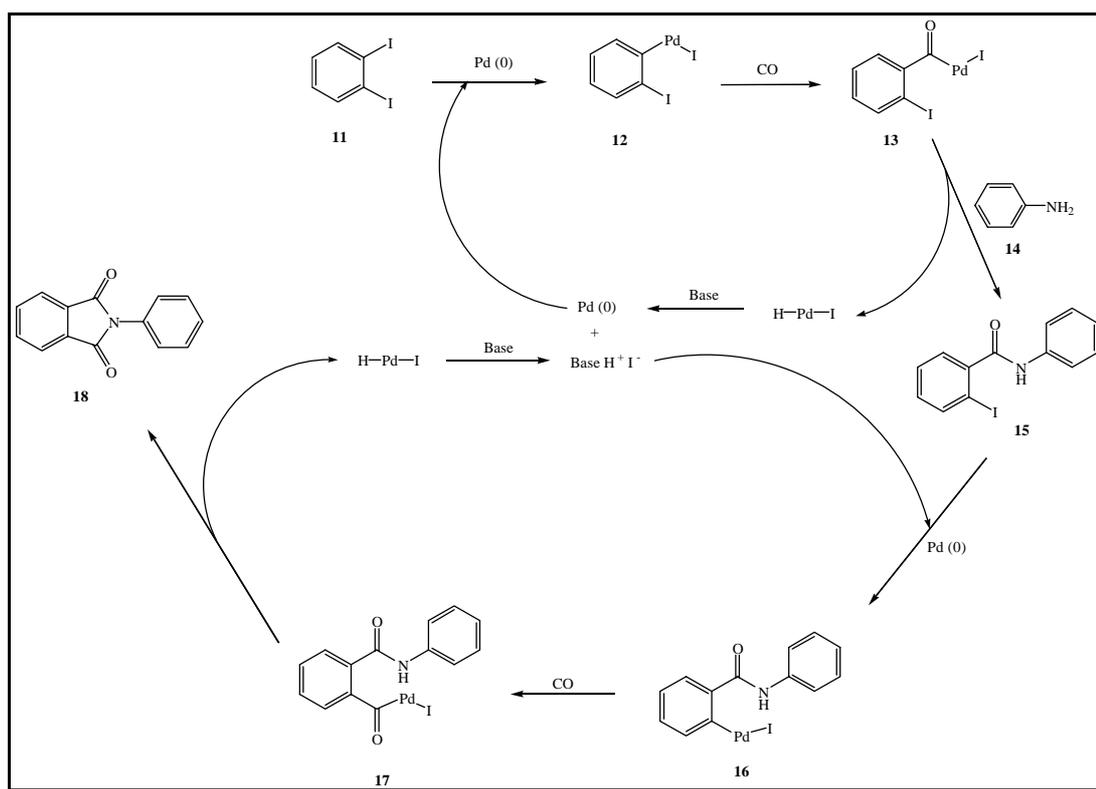
3 - Ciclização térmica de uma variedade de derivados bifuncionais tais como: ácido ftalâmico **9**

(Esquema 3), diamidas e dinitrilas;²⁸



Esquema 3

4- Tratamento de haletos aromáticos (brometos e iodetos) com quantidade catalítica das espécies de paládio (0) ou paládio (II) e uma amina primária e/ou secundária ou álcool na presença de monóxido de carbono e uma base (Esquema 4) utilizando solventes apróticos dipolares.²⁹



Esquema 4

O mecanismo desta reação envolve a espécie de paládio (0) que adiciona a uma das ligações C-I do composto **11** (iodeto de arila) produzindo o composto **12**, que em presença de CO produz rapidamente o complexo acil-paládio (**13**). Este complexo reage com anilina e o

iodo-amida (**15**) é formado. O hidro-iodo de paládio (II) gerado nesta etapa de reação elimina por redução o ácido iodídrico (HI), que é neutralizado pela base, e o paládio (0) é recuperado. O paládio regenerado, participa outra vez por reação oxidativa ligando-se ao iodo-aril para produzir o composto **16**. A inserção de CO produz um outro complexo acil (**17**). Nesta etapa de reação, o nitrogênio da amida ataca por reação intramolecular a carbonila resultando na ciclização do anel e formação da imida cíclica (**18**).

1.2.3 - Caracterização das ftalimidas:

A caracterização das ftalimidas (Figura 2) é mais comumente realizada através das espectroscopias de ultravioleta (UV), infravermelho (IV), ressonância magnética nuclear protônica (RMN ^1H) e espectrometria de massa.

1) - Ultravioleta (UV)

O espectro de absorção no ultravioleta do cromóforo ftalimida (**1**) apresenta várias bandas. A origem das bandas de alta intensidade na faixa de 200 a 240 nm é devida ao grupo C=O e ao sistema aromático. No entanto em derivados de ftalimidas e *N*-fenilftalimidas substituídas no anel fenila, a presença de um grupo doador de elétrons (grupos hidroxila ou metoxila) na posição *para* do anel fenila, causa um deslocamento batocrômico e aumenta a intensidade das bandas na faixa de 215-360 nm ($n \rightarrow \pi^*$).

Recentemente, Gawronski *et al.*,³⁰ com base em estudos de dicroísmo linear, relataram que os estados eletrônicos excitados do cromóforo ftalimida apresentam uma banda de baixa energia (340-320 nm), a qual foi identificada como a primeira banda de absorção atribuída as transições $n \rightarrow \pi^*$ (I) fora do plano polarizado. Em alta energia (II), o espectro eletrônico foi resolvido com a contribuição de cinco transições $\pi \rightarrow \pi^*$: a)- 300 nm, ao longo do eixo polarizado; b)- 275 nm, curto eixo polarizado; c)- 235 nm, curto eixo polarizado; d)- 220 nm, longo eixo polarizado e e)- 210 nm, curto eixo polarizado.

Como descrito acima, este cromóforo é composto de duas regiões principais: uma banda de baixa energia (260-350 nm) com baixa intensidade ($\epsilon < 2000 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) e a banda de alta

energia compreendida entre 200-260 nm, com transições intensas ($\epsilon_{\text{max}} = 36000 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$). A origem das bandas de alta intensidade na faixa de 200-260 nm, são provavelmente devido a uma transição $\pi \rightarrow \pi^*$ da ligação dupla do grupo funcional C=O na conjugação com o par de elétron desemparelhado do nitrogênio e do sistema aromático.

2) - *Infravermelho (IV)*

Os espectros de infravermelho das ftalimidas fornecem vibrações específicas referentes aos estiramentos dos grupos funcionais N-H (a) e C=O (b), característicos da molécula como um todo.

a)- *Vibrações do grupo funcional N-H*

A frequência de estiramento das vibrações N-H no espectro de absorção no infravermelho de imidas ocorre no faixa de 3000 a 3500 cm^{-1} .³¹

b)- *Vibrações do grupo funcional C=O*

O espectro de infravermelho das imidas usualmente exhibe duas bandas na região de estiramento da carbonila que são atribuídas a frequências de estiramento do grupo funcional C=O. O grupo imida tem uma simetria plana e duas frequências correspondentes as vibrações assimétrica e simétrica dos dois grupos carbonílicos. As ftalimidas, que são constituídas com anéis de cinco membros, em condições cristalinas em discos KBr são em torno de 1770 e 1700 cm^{-1} . Em geral, em soluções diluídas, as ftalimidas *N*-substituídas apresentam duas frequências nas respectivas faixas 1780-1775 e 1740-1715 cm^{-1} , e a diferença entre essas frequências é na faixa de 40 a 70 cm^{-1} , já o coeficiente de extinção para as bandas de alta e baixa frequência são 50-300 e 1100-2400 em soluções de tetracloreto de carbono a 10^{-4} M .³²

3) - *Ressonância magnética nuclear de hidrogênio (RMN ¹H)*

A caracterização do hidrogênio da imida através de RMN é um tanto indefinível por causa dos sérios efeitos de alargamento sobre a ressonância do próton causado pela interação com o núcleo quadrupolar do nitrogênio, que tem gradiente de campo elétrico diferente de zero.

No entanto, o próton hidrogênio da ftalimida tem aparecido em baixo campo em torno de 11,29 ppm e o acoplamento dos prótons aromáticos aparecem na faixa de 7,58-7,98 ppm.

4) - Espectrometria de massa

O espectro de massa da ftalimida (**1**) e certas ftalimidas N-substituídas exibem vários modos de fragmentações. Em geral, os principais caminhos de fragmentação (ftalimida - **1**) dos íons positivos (Figura 5) são os seguintes:³³

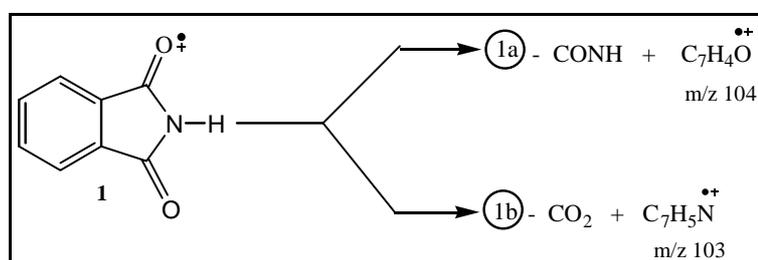


Figura 5 - Caminhos de fragmentação da ftalimida

1a)- Neste caminho, o íon molecular ftalimida (pico base) libera como íon positivo o fragmento $C_7H_4O^{\bullet+}$ em m/z 104.

1b)- Demnitz *et al.*³⁴ mostraram que as N-arilftalimidas isomerizam à N-arilftalilisoimidas seguida por perda de CO_2 conforme figura 6. A perda de CO_2 foi estabelecida antes para o composto N-metilftalimida por Johnstone *et al.*

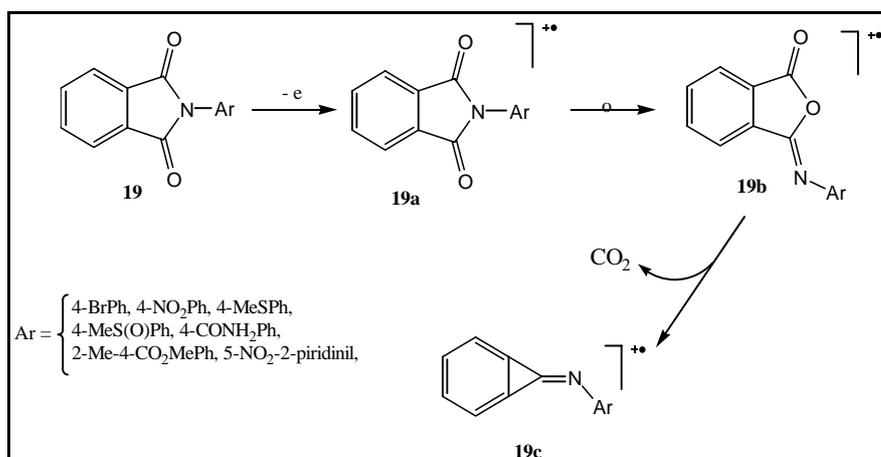


Figura 6 - Mecanismo de fragmentação da N-arilftalimida (**19**).

1.3 - PROPRIEDADES FARMACOLÓGICAS DAS FTALIMIDAS

Hiperlipidemias, ou seja, aumento dos níveis de colesterol (hipercolesterolemia) e triglicerídeos (hipertrigliceridemia) circulantes no plasma sanguíneo estão entre os fatores que mais ocasionam riscos no desenvolvimento de doenças das artérias coronárias (CAD), levando a morbidade e mortalidade em milhares de indivíduos em todo o mundo.³⁵

O colesterol (Figura 7) no corpo humano é derivado de duas fontes:

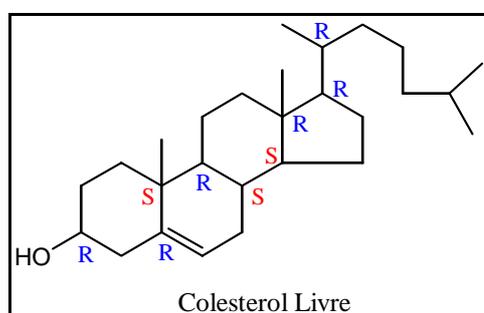


Figura 7 - Molécula do colesterol

a)- a partir da biossíntese endógena, e b)- proveniente da dieta alimentar.³⁶ Este esteroide é transportado na corrente sanguínea através das lipoproteínas (complexos macromoleculares constituídos de apoproteínas e lipídeos - Figura 8), que além da função de transporte participa também do mecanismo regulador da taxa desse lipídeo no plasma.³⁷

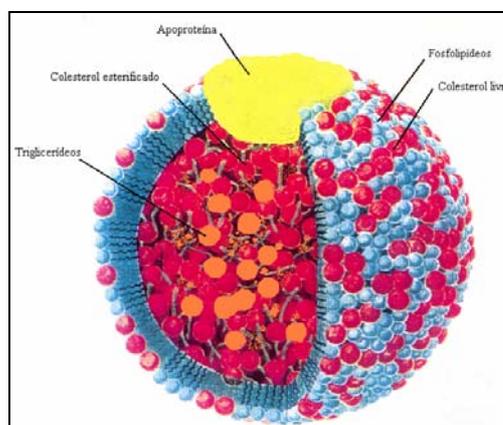
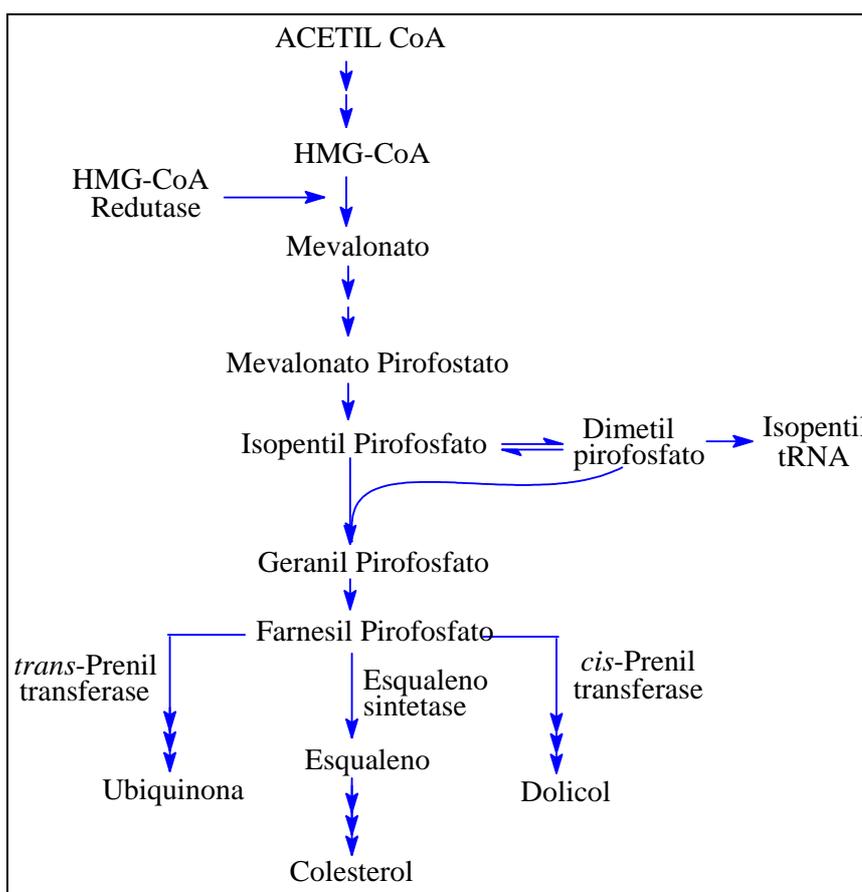


Figura 8 - Estrutura esquemática das lipoproteínas

O colesterol está sujeito também a um equilíbrio sensível, cuja etapa reguladora na biossíntese deste esterol é a conversão da 3-hidroxi-3-metilglutaril coenzima-A a mevalonato, que é mediada pela enzima 3-hidroxi-3-metil-glutaril coenzima-A (HMG-CoA) redutase num mecanismo de retroinibição (Esquema 5).³⁸



Esquema 5

Neste mecanismo, a acetil CoA é convertida a unidades de isoprenóides por uma seqüência de reações que se inicia com a formação da HMG-CoA, esta é precursora de dois intermediários isoprenóides (isopentil pirofostato e dimetil pirofostato). O equilíbrio existente entre esses dois isoprenóides é catalisada pela enzima isopentil pirofostato isomerase.

A enzima preniltransferase catalisa a formação do geranil pirofostato pela condensação dos dois isoprenóides. A formação do farnesil pirofostato é catalisada pela preniltransferase que

adiciona também por condensação uma unidade de isopentil pirofosfato. A partir desta etapa de reação (a partir do farnesil pirofosfato), ocorre uma seqüência de reações, as quais são mediadas por várias enzimas até a formação do lanosterol. A conversão do lanosterol a colesterol envolve uma seqüência de 18 etapas de reações catalisadas por várias enzimas.

Durante a biossíntese do colesterol, a atividade da enzima HMG-CoA redutase (enzima chave na biossíntese do colesterol) pode ser regulada através de dois caminhos:

a)- através da regulação na etapa limitante da reação por:

→ inibição competitiva,

→ efeito alostérico e

→ modificação covalente envolvendo fosforilação reversível.

b)- Regulação da concentração da enzima pela modulação de sua taxa através da síntese e degradação.

Os triglicerídeos (TG), ésteres de glicerol e dos ácidos graxos (Figura 9), são a principal fonte de armazenamento de energia, como tal, a principal constituinte da célula adiposa. Os TG plasmáticos também têm origem na gordura da alimentação previamente digerida e resintetizada na célula da mucosa intestinal (TG exógeno) e da síntese hepática (TG endógeno).

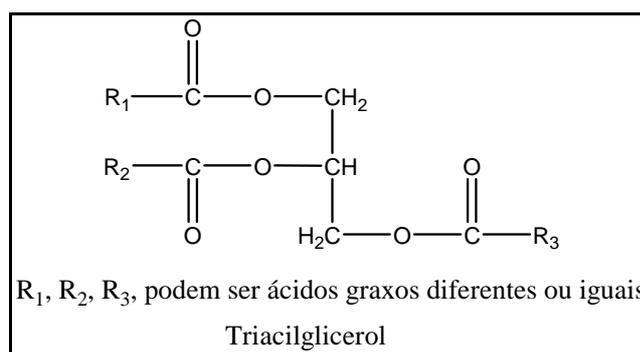


Figura 9 - Molécula de triacilglicerol (triglicerídeos)

Durante o jejum aparecem no sangue, apenas, os TG endógenos. Desta forma, como frações exógena e endógena do colesterol não podem ser distinguidas, os TG são diferenciados, segundo sua origem, pelo diferente meio de transporte no plasma. A importância fundamental

do colesterol e TG, nas patologias humanas, é a sua comprovada relação com o processo da aterogênese.³⁹

Há anos que a terapêutica das dislipidemias e doenças ateroscleróticas (doença caracterizada pela deposição de colesterol e seus ésteres no interior dos vasos sanguíneos - Figura 10, a qual predispõe ao derrame e infarto do miocárdio), são baseadas em dietas e quimioterapias.⁴⁰



Figura 10 - Placa aterosclerótica

Alguns inibidores da HMG-CoA redutase como por exemplo: mevastatina, lovastatina, simvastatina, pravastatina e outros, diminuem clinicamente o nível de colesterol total nas lipoproteínas de baixa densidade (LDL), reduzindo desta forma o número de morbidade e mortalidade em doenças da CAD.^{41, 42} Contudo, as drogas comercializadas para o tratamento das hipercolesterolemias e hipertrigliceridemias têm sido reduzidas devido a ocorrência de toxicidade hepática, alterações cardiovasculares e distúrbios gastrointestinais ou mesmo pelo fato de que esses agentes não reduzam efetivamente o colesterol e TG do plasma humano,⁴³ sendo necessário, neste caso, uma associação de drogas, o que aumenta ainda mais os efeitos colaterais.

Devido ao restrito número de drogas hipolipidêmicas disponíveis comercialmente, faz-se necessárias contínuas investigações por novos fármacos cada vez mais eficazes e com menores efeitos colaterais.

1.3.1 - Atividade hipolipidêmica das ftalimidas

O efeito antihiperlipidêmico da ftalimida e ftalimidas *N*-substituídas (Figura 11) foi primeiramente descrito em 1979 por Chapman *et al.*,⁴⁴ onde relataram que esta nova classe de compostos era efetiva na redução dos níveis de colesterol e TG em roedores; em doses relativamente baixas de 20mg/kg/d após 16 e 14 dias de tratamento respectivamente.

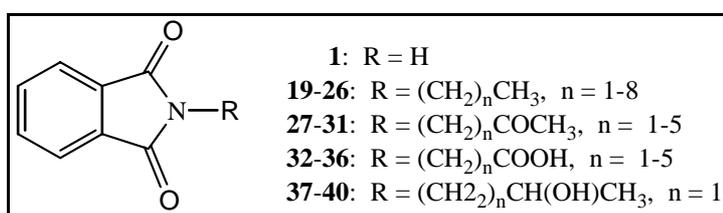


Figura 11

Nesta série avaliada, os compostos que apresentaram uma maior redução nos níveis de colesterol e triglicerídeos em plasma de camundongos foram: *N*-butilftalimida **22**, com 46 e 18%; 1-*N*-ftalimidobutan-3-ona **30**, com 37 e 42% e o ácido 3-*N*-ftalimidopropiônico **34** com 45 e 42% respectivamente.

Quatro anos mais tarde Hall *et al.*^{45, 46} relataram que o mecanismo de atuação dos compostos **30** e **34** (Figura 11), e de uma série de *N*-arilftalimidas (Figura 11a) estava relacionada com o processo de redução nos níveis de colesterol e TG, atuando de várias maneiras:

- 1- Suprimindo a atividade de enzimas chaves envolvidas na síntese *de novo* de colesterol e TG (atividade da acetil coenzima A redutase em 50% e a enzima HMG-Co A redutase em 26%);
- 2 - acelerando a excreção biliar do colesterol e
- 3 - bloqueando sua absorção pelo intestino via circulação entero-hepática.

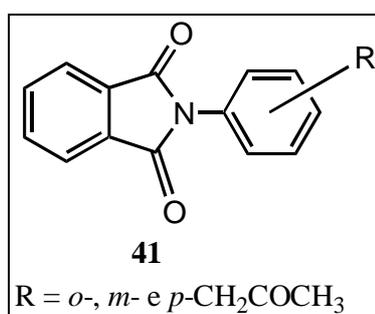


Figura 11a

Em 1984, Chapman et al.⁴⁷ examinando uma serie de derivados da *N*-arilftalimidas (Figura 11b), verificaram que a substituição no anel fenil afeta drasticamente a atividade hipolipidêmica da ftalimida. E que, quando um substituinte metoxi é introduzido na posição *orto* do anel fenila, a atividade hipolipidêmica é aumentada e os níveis de colesterol e TG é reduzido em 57% e 44% após 16 e 14 dias de tratamento respectivamente. Já um grupo etil no anel fenílico quase não afeta a atividade hipolipidêmica. Foi também observado que substituintes que aumentam lipofilicamente tendem a diminuir a atividade hipolipidêmica e se a substituição for feita por um grupo que retira elétrons geralmente leva a drogas mais potentes.

Substituinte R	Redução (%)	
	CT: 16d	TG: 14d
a: <i>o</i> -COOH	23	21
b: <i>m</i> -COOH	31	29
c: <i>p</i> -COOH	47	42
d: <i>o</i> -OCH ₃	57	44
e: <i>m</i> -OCH ₃	16	26
f: <i>p</i> -OCH ₃	45	34
g: <i>o</i> -CH ₂ CH ₃	03	08
h: <i>m</i> -CH ₂ CH ₃	18	05
i: <i>p</i> -CH ₂ CH ₃	11	04

Figura 11b

As observações referidas por Chapman *et al.* levaram a Ramos e Neto⁴⁸ a realizarem um estudo das relações quantitativas estrutura atividade (QSAR) em ftalimidas, o qual revelou através de índices eletrônicos que a planaridade e a introdução de um átomo eletronegativo em **R**₂, eram fatores importantes na atividade da ftalimida (Figura 11c). Por exemplo: a redução dos níveis de TG podem estar associados a eletronegatividade em **R**₂.

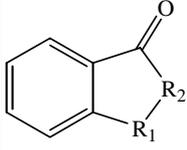
	Substituinte		Redução	
	R ₁	R ₂	%CT	%TG
 <p>43a-h</p>	a: CO	NH	43	56
	b: CH ₂	NH	13	22
	c: CNH	NH	44	41
	d: NH	NH	20	25
	e: CO	CH(C ₂ H ₅)	40	37
	f: CO	CH ₂	40	21
	g: CNH	CH ₂	38	41
	h: CO	CHCH ₃	42	39

Figura 11c

A partir dos resultados obtidos da análise anterior, Neto *et al.*⁴⁹ estenderam o estudo de QSAR para as *N*-arilftalimidas (Figura 11b), que embora sendo estruturas mais complexas, foi possível realizar uma análise conformacional detalhada, envolvendo barreira de rotação, diferenças de estabilidade entre confôrmeros estáveis e diferenças nas propriedades moleculares para conformações de energia de mínimo. Como também índices eletrônicos de energia de orbital de fronteira HOMO e LUMO, momentos dipolares e cargas eletrônicas. Foram também incluídos parâmetros fisicoquímicos dos substituintes como hidrofobicidade, o qual permitiu uma maior flexibilidade na obtenção da relação funcional atividade-estrutura destes compostos.

Os resultados obtidos nessa análise reforçaram as observações feitas por Chapman *et al.* por exemplo, compostos com substituintes menos lipofílico e com valores mais positivos em C_1 do grupo fenil e substituintes eletronegativos nas posições *orto* e *para* aumentam a carga na carbonila levando a drogas mais potentes (Figura 11b).

Em nosso laboratório, uma das linhas de pesquisas que vem sendo desenvolvida é a sínteses de ftalimidas *N*-substituídas com possíveis atividades hipolipidêmica, analgésica e/ou antiinflamatória.

Recentemente, Antunes e Srivastava⁵⁰ relataram a síntese de três novas ftalimidas ligadas a oxadiazol (Figura 11d) e através de cálculos semi-empíricos de orbitais moleculares do tipo AM1 (Austin Model 1), previram que estes compostos poderiam mostrar atividade hipolipidêmica promissora.

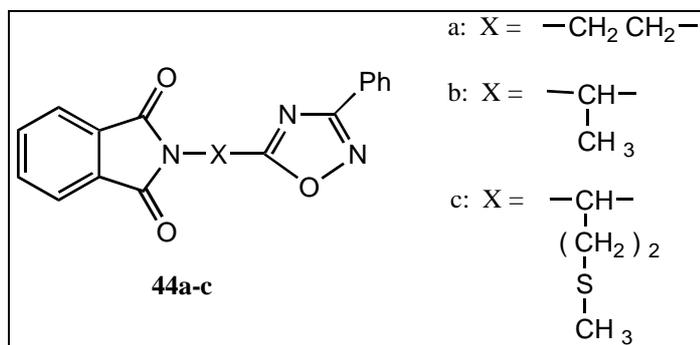


Figura 11d

Em 2001, Srivastava *et al.*⁵¹ investigando a atividade farmacológica de novos derivados da ftalimida (Figura 12), relataram que estes compostos eram eficientes em reduzir o colesterol e triglicerídeos de camundongos normolipidêmicos, sendo o composto **48**, o mais efetivo de todos causando uma redução de 21 e 25% nos níveis de colesterol e TG respectivamente.

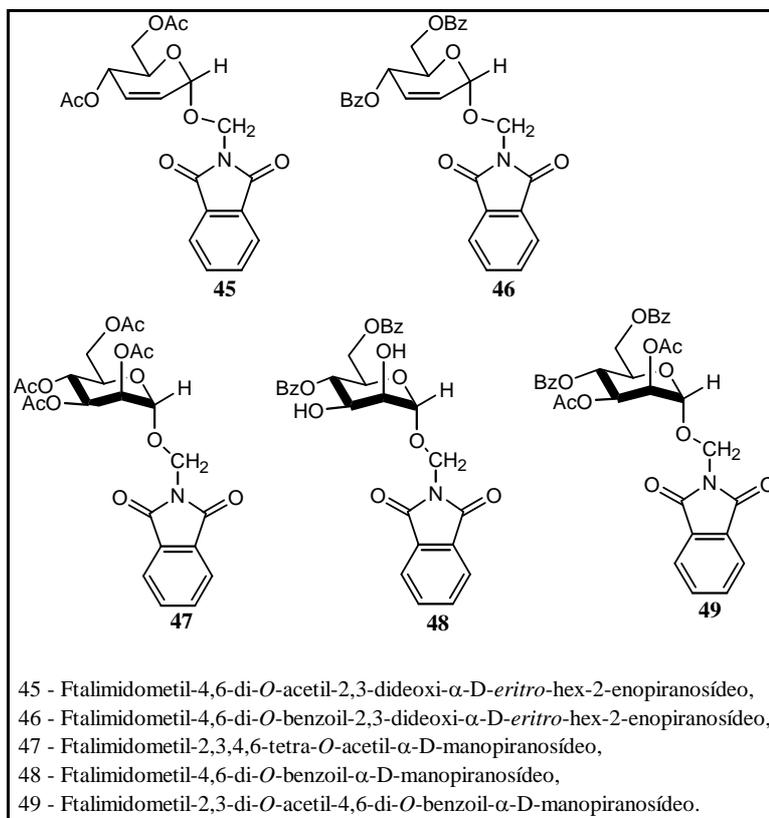


Figura 12

1.3.2 - Atividade antiinflamatória das ftalimidas

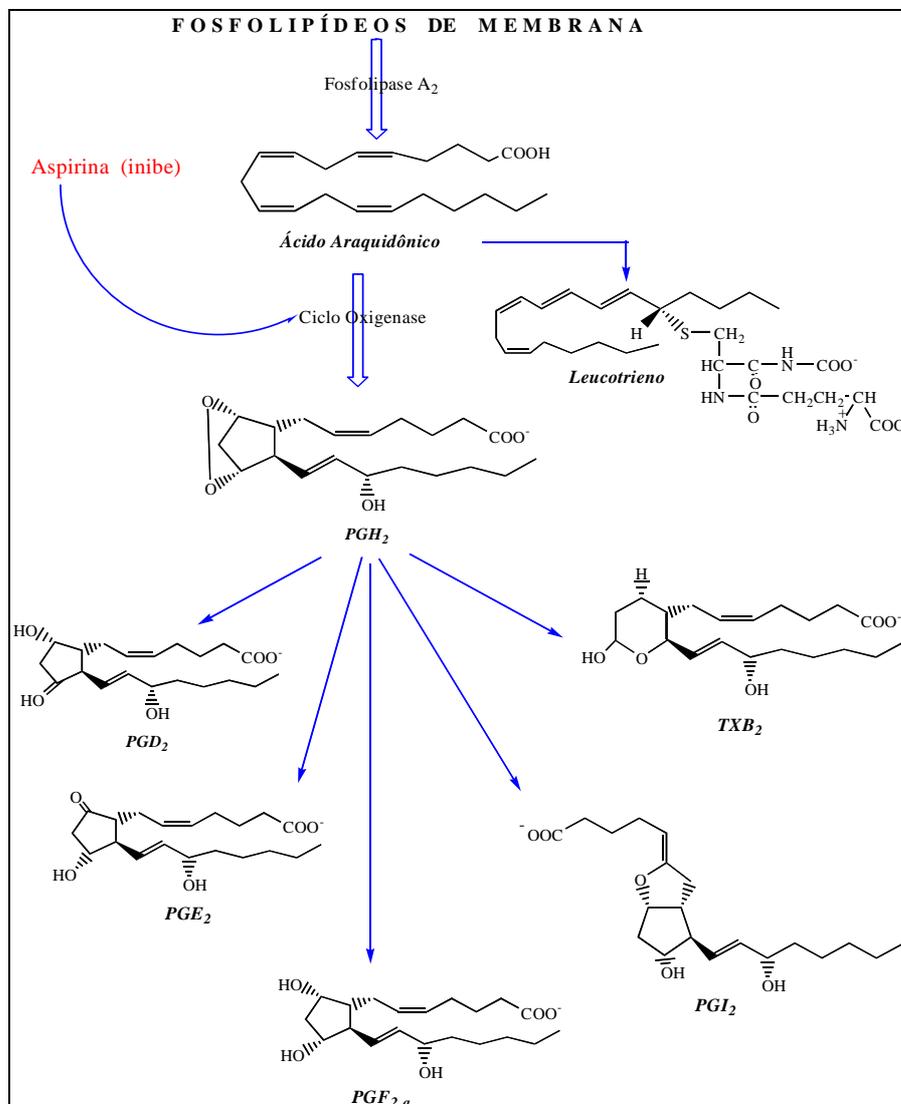
Como descrito no início deste capítulo, as ftalimidas também possuem atividade analgésica e/ou antiinflamatória,^{14, 21} no entanto não sabemos exatamente como elas atuam.

Os analgésicos são drogas utilizadas para o alívio da dor e são classificados como narcóticos (as drogas que agem a nível do sistema nervoso central) e não narcóticos. Os analgésicos não narcóticos atuam à nível do local onde ocorre o estímulo hiperálgico e a maioria são conhecidas como drogas antiinflamatórias não esteroidais (NSAIDs).⁵²

A inibição da síntese das prostaglandinas pela aspirina e pelas NSAIDs foi primeiramente descrita por Vane em 1971, e são frequentemente usadas em doenças do músculo esquelético e outras causas de dores agudas e crônicas.⁵³ A enzima responsável pela síntese das prostaglandinas é a ciclo-oxigenase (COX). Existem três isoformas desta enzima, a COX-1, a COX-2 e a COX-3.⁵⁴ A COX-1, está envolvida nas funções fisiológicas normais incluindo a produção de prostaglandinas protetoras do estômago e com a ativação plaquetária. A enzima COX-2 é induzida principalmente durante a inflamação e reparação do tecido, ela também está envolvida na reprodução e função renal.⁵⁵ A COX-3 recentemente relatada por Willoughby *et al.*, ainda não tem função conhecida, sabe-se apenas que esta nova isoforma aparece durante a febre e a dor e que ela é sensível a drogas antipiréticas e analgésicas como por exemplo, acetaminofen.^{56, 57}

As drogas antiinflamatórias (corticosteróides) atuam inibindo de forma indireta a atividade da fosfolipase A₂ e portanto reduzem a liberação de ácido araquidônico com conseqüente inibição e formação das prostaglandinas, leucotrienos e tromboxanas (esquema 6).⁵⁸

Um importante mecanismo de liberação desse ácido envolve a síntese de eicosanóides resultante da inflamação do tecido. Por sua vez, o processo inflamatório envolve uma série de eventos que podem ser elucidados por inúmeros estímulos (agentes infecciosos, isquemia, interações antígeno-anticorpo, entre outros). A nível macroscópico a resposta geralmente é acompanhada por sinais clínicos familiares de eritema, sensibilidade e dor.⁵⁹



PG = Prostaglandinas. As classes PGE, consiste de β-hidroxicetonas; PGF, consiste de 1,3 diois; PGA são as α,β-cetonas insaturadas e os números nas letras referem-se as duplas ligações C–C. Entretanto as PGE₂, contém duas duplas ligações.

Esquema 6

Um antiinflamatório não esteróide como por exemplo: a aspirina (salicilato de acetila (50) Figura 13) atua inibindo a biossíntese das prostaglandinas na primeira etapa de sua síntese (Esquema 6). Já os antiinflamatórios ibuprofeno 51, indometacina 52a e fenilbutazona 52b

(Figura 13), atuam inibindo a COX por competição com o ácido araquidônico ou com peroxiácido. Ambas as enzimas (COX-1 e COX-2) são inibidas pelas NSAIDs. Contudo, os inibidores da COX-2 tem pouco efeito sobre a atividade da COX-1.

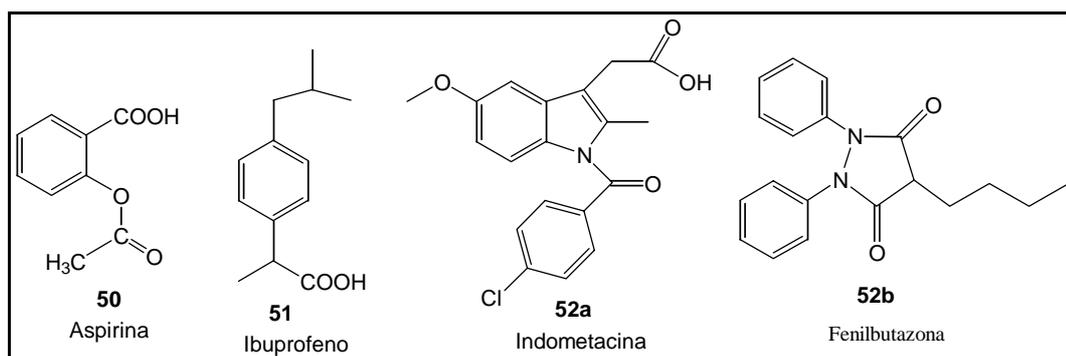


Figura 13

Recentemente, em nosso laboratório, Antunes *et al.*⁶⁰ relataram a síntese de sete derivados de ftalimidas ligados a oxadiazóis por uma função alquila, os quais apresentaram atividade analgésica superior à aspirina (Figura 14).

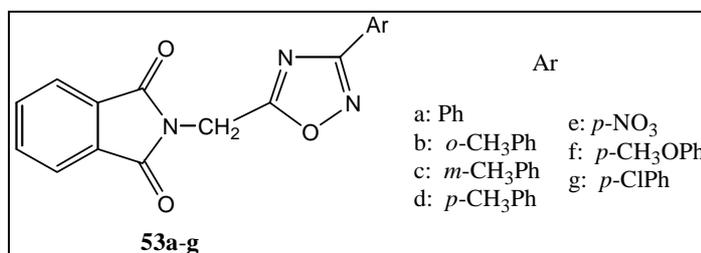


Figura 14

Potencialmente, esses compostos (**53a-g**) atuaram como NSAIDs, contudo estudos estão sendo desenvolvidos para verificar se estes compostos inibem uma ou ambas isoformas da COX (COX-1 e COX-2). Testes preliminares com o composto **53a** revelaram que ele atua nas duas fases da dor (fase inicial ou não inflamatória, e fase inflamatória), indicando que este composto (**53a**) atua como analgésico e possível antiinflamatório.

BIBLIOGRAFIA

- 1- M. Harfenenist, D.J. Heuser, D.J. Joyner, C.T. Lind, J.F. Batchelor, H.L. White. *J. Med. Chem.*, 39, 1857 (1996).
- 2- D.J. Heuser, D.J. Joyner, P.J. Vodrstoð, . *Biomed. Pharmac.*, 43, 463 (1998).
- 3- D.N. Nicolaides, C. Fylaktakidou, K.E. Litinas. *J. Heterocycl. Chem.*, 33, 967 (1996).
- 4- A.R.K. Murthy, O.T. Wong, D.J. Reynolds, I.H. Hall. *Pharm. Res.*, 4, 21 (1987).
- 5- J.M. Chapman, S.D. Wyrick, P.J. Voorstoð, J.H. Magner, G.H. Cocolas, I.H. Hall, *J. Med. Chem.*, 26, 237 (1984).
- 6- J.M. Chapman, P.J. Vodrstoð, G.H. Cocolas, I.H. Hall. *J. Med. Chem.*, 26, 237 (1983).
- 7- J.B. Press, W.B. Wright, P.S. Chan Jr., J.W. Marisco, M.F. Hang, J.Tauber, A. S. Tomcufcik. *J. Med. Chem.*, 29, 816 (1986).
- 8- R. Shimazawa, H. Takayama, Y. Fujimoto, M. Komoda, K. Dodo, R. Yamasaki, R. Shirai, Y. Koiso, K.Miyata, F. Kato, M. Kato H. Miyachi, Y. Hashimoto. *J. Enzyme Inhibition*, 14, 259 (1999).
- 9- J.M. Hoffman, J.S. Wai, C.M. Thomas, R.B. Levin, J.A. O'Brien, M.E. Goldman, *J. Med. Chem.*, 35, 3784 (1992).
- 10- G. Orzeszko, B. Kaminska, A. Orzeszko, B.J. Starosciak. *Farmaco*, 55, 619 (2000).
- 11- V. Bailleux, L. Vallé, P.J. Nuyts, J. Vamecq. *Biomed. Pharmac.*, 43, 463 (1993).
- 12- V. Bailleux, L. Vallé, P.J. Nuyts, J. Vamecq. *Biomed. Pharmac.*, 49, 75 (1995).
- 13- J. Vamecq, K. Van Derpoorten, J.H. Poupaert, J. Balzarini, E. De Clercq, J.P. Stables. *Life Sci.*, 63, 267 (1998).
- 14- H. Miyachi, A. Azuma, A. Ogasawara, E. Uchimura, N. Watanabe, Y. Kobayashi, F. Kato, M. Kato, Y. Hashimoto. *J. Med. Chem.*, 40, 2858 (1997).
- 15- H. Tolkmith, H.O. Beil. *Science*, 155, 85 (1967).
- 16- A. Da Settimo, G. Primofiore, P.L. Ferrarine, O. Live. *Eur. J. Med. Chem.*, 16, 59 (1981).
- 17- H. Schumacher, R.L. Smith, R.T. Williams. *Brit. J. Pharmacol.*, 25, 324 (1965).
- 18- J. Sheskin. *J. Clin. Pharm. Ther.*, 6, 303 (1965).
- 19- S. Wnendt, K. Zwingenberger. *Nature*, 385, 303 (1997).
- 20- W.L. Scott, R. Fradkin, I.G. Wilson. *Teratology*, 16, 333 (1977).

- 21- G.H. Muller, L.G. Corral, M.G. Shire, H. Wang, A. Moreira, G. Kaplan, D.I. Stirling. *J. Med. Chem.*, 39, 3238 (1996).
- 22 - Y. Hashimoto. *Bioorg. Med. Chem.*, 10, 461 (2002).
- 23- J.K. Im, J.C. Jung. *Polymer*, 41, 8709 (2000).
- 24- J. Gawronski, F. Karmierczak, K. Gawronska, U. Rychlewska, B. Nordén, A. Holmén. *J. Am. Chem. Soc.*, 120, 12083 (1998).
- 25- R.R. Buckles, W.J. Probst. *J. Org. Chem.*, 22, 1728 (1957).
- 26- M.K. Hargreaves, J.G. Pritchard, H.R. Dave. *Chem. Rev.*, 70, 439 (1970).
- 27- G. Oddo, E. Calderaro. *Gazz. Chim. Ital.*, 53, 67 (1923).
- 28- M.R. Grammett. *Comprehensive Organic Chemistry. The Synthesis and Reaction of Organic Compounds*, (D. Barton and D. Ollis, Eds.), Pergamon Press, Oxford, vol. 2, 1979, p. 980.
- 29- R.J. Perry, S.R. Turner. *J. Org. Chem.*, 56, 6573 (1991).
- 30- J. Gawronski, F. Kazmierczak, K. Gawronska, U. Rychlewska, B. Nordén, A. Holmén. *J. Am. Chem. Soc.*, 120, 12083 (1998).
- 31- R. M. Silverstein, G.C. Bassler, T.C. Morrill. *Spectrometric Identification of Organic compounds*. 5th ed, (2001), New York, John Wiley & Sons, Inc., p. 102.
- 32- T. Matsuo. *Bull. Chem. Soc. Jap.*, 37, 1844 (1964).
- 33- R.A.W. Johnstone, B.J. Millard, D.S. Milligton. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, 5, 600 (1966).
- 34- J. Demnitz, B.A. Monteiro, M.N. Ramos, R.M. Srivastava. *Heterocycl. Commun.*, 3, 115 (1997).
- 35- D.R. Sliko, A.D White. *Trends. Pharmacol. Sci.*, 12, 194 (1991).
- 36- J.S. Owen, Y. Imai. *Biomemb. Nut.* 195, 569 (1990).
- 37- D. Voet, J. G.Voet. *Lipid Metabolism in: Biochemistry*. New York: John Willey & Sons, Inc. 3^a ed., 1990, p. 618-665.
- 38- J. Shephard. *Am. J. Cardiol.*, 76, 113 (1995).
- 39- V.P. Farreras, C. Rozman. *Medicina Interna*. Guanabara Koogan S.A. (2001)
- 40- S.P. Fortmann, D.J. Maron. *Sci. Amer. Overview*, 1992, 33 pp.

- 41- D.R. Illingworth, J.A. Tobert. *Clin. Ther.*, 16, 366 (1994).
- 42- T.P. Carr, R.L. Hamilton, L.L. Rudel. *J. Lipid Res.*, 36, 25 (1995).
- 43- W.L. Bencze, Hypolipidemic Agents. In: *Handbook of Experimental Pharmacology*. New York: Springer-Verlag, v. 40, p. 349-408 (1975).
- 44- J.M. Chapman; G.H. Cocolas, I. H. Hall. *J. Med. Chem.*, 22, 1399 (1979).
- 45- I.H. Hall, P.J. Voorstad, M. Chapman, G.G. Cocolas. *J. Pharm. Sci.*, 72, 845 (1983).
- 46- J.M. Chapman, G.G. Cocolas, I.H. Hall. *J. Pharm. Sci.*, 72, 1344 (1983).
- 47- J.M. Chapman, D.D. Wyricky, P.J. Voorstad, J.H. Magnire, G.G. Cocolas, I.H. Hall. *J. Pharm. Sci.*, 73, 1488 (1984).
- 48- M.N. Ramos, B.B. Neto. *J. Comp. Chem.* 11, 569 (1990).
- 49- M.D. Neto, W.C. Pinheiro Filho, B.B. Neto, M.N. Ramos. *J. Braz. Chem. Soc.*, 4, 1399 (1993).
- 50- R. Antunes, R.M. Srivastava. *Heterocycl. Commun.*, 20, 247 (1996).
- 51- R. M. Srivastava, F.J.S. Oliveira, L.P. Silva J.R. Freitas Filho, S. P. Oliveira, V.L.M. Lima. *Carbohydr. Res.*, 332, 335 (2001).
- 52- S.H. Ferreira. *Nature New Biol.*, 240, 200 (1972).
- 53- J.R. Vane. *Nature*, 231, 232 (1971).
- 54- D.A. Willoughby, A.R. Moore, P.R. Colville-Nash. *Lancet*, 355, 646 (2000).
- 55- P. Brooks, P. Emery, J.F. Evans, H. Fenner, C.J. Hawkey, C. Patrono. *Rheumatol.*, 38, 779 (1999).
- 56 - R.M. Botting. *Clin. Infectious Diseases*, 31, 202 (2000).
- 57 - J.E. Dinchuk, R.Q. Liu, J.M. Trzaskos. *Immunol. Lett.*, 86, 121 (2003).
- 58- B.P. Wallmer, R.J. marttaliano, C.Hersion, R.L. Cate, R.Tizard, L.K. Sinclair. *Nature*, 320, 77 (1986).
- 59- P.A. Insel, in: *Goodman & Gilman's. The Pharmacological Basis of Therapeutics*, J.G. Hardman, P.B. Molinoff, R.W. Rudolon, A.G. Gilman. Eds., 9th International edition, McGraw-Hill, New York, NY, 617-620 (1996).
- 60- R. Antunes, H. Batista, R.M. Srivastava, G. Thomas, C.C. Araújo. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 8, 3071 (1998).



2 - OBJETIVOS

Baseado na importância das diversas atividades biológicas exibidas pelos compostos (ftalimidas *N*-substituídas) descritos na introdução, e visto que até agora a literatura não relata nenhum derivado ftalimida ligado diretamente a anéis heterocíclicos (1,2,4-triazóis) ou por uma função alquila desses compostos. Este trabalho visa:

- 1) - Sintetizar ftalimidas *N*-substituídas tendo um anel heterocíclico ligado diretamente ao nitrogênio das mesmas, além de envolver variação no tipo de núcleo ou tamanho da cadeia.
- 2) - Caracterizar as estruturas dos compostos sintetizados por meios espectroscópicos (RMN ¹H, IV, UV, etc...).
- 3) - Realizar estudos de fragmentação por espectrometria de massas; utilizando técnicas modernas para estabelecer o modelo de fragmentação mais adequado.
- 4) - Realizar testes de atividade hipolipidêmica *in vitro* e *in vivo* dos compostos obtidos, além de fazer novas avaliações farmacológicas a fim de investigar outras atividades biológicas como: atividades antiinflamatória, antifúngica e antimicrobiana.



**RESULTADOS
E
DISCUSSÃO**

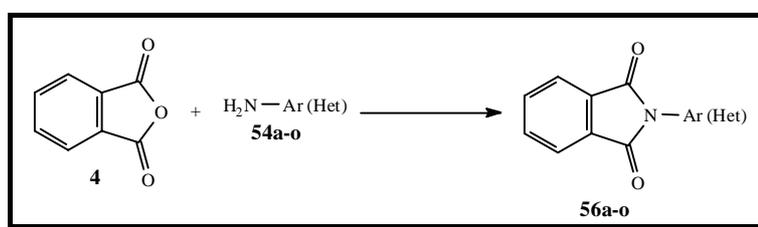
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Vários métodos para obtenção de ftalimidas *N*-substituídas foram relatados no capítulo 1. Neste capítulo, nós relatamos a síntese de treze *N*-aril- (**56a-m**) ou *N*-heterocíclicoftalimidas (**56n-o**), dez *N*-(*X*-fenilaminometil)ftalimidas **62a-j**, duas *N*-([1,2,4]triazol-3- e 4-il-aminometil)ftalimidas **62n,o**, nove ácidos ftalâmicos *N*-substituídos (**68a-g,n,o**; três iminas **71a-c** e um ácido ftalimídico **72**, além de várias tioftalimidas (**58a-g,j** e **59a-g,j**). No entanto, até a presente data a literatura não relata o nitrogênio das ftalimidas ligadas a compostos triazólicos ou através de uma função alquila da ftalimidas, nem sua transformação a correspondentes tionados através da reação com Reativo de Lawesson. Neste estudo, também, avaliamos a atividade antihiperlipidêmica, hiperlipidêmica e anti-inflamatória de algumas das ftalimidas *N*-substituídas sintetizadas e alguns de seus intermediários.

3.1 – Síntese de Ftalimidas N-Substituídas

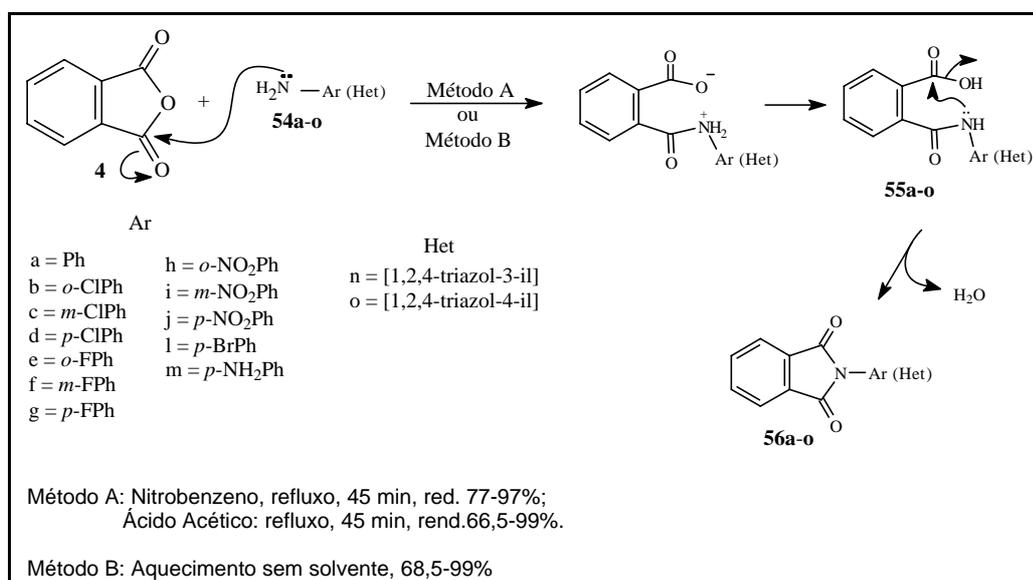
3.1.1 - N-Arilftalimidas e N-[1,2,4]Triazol-3- e 4-il-ftalimidas

Vários métodos de obtenção das ftalimidas têm sido relatados, como descrito no capítulo 1, páginas cinco e seis. Neste estudo, nós utilizamos o anidrido ftálico **4** e uma amina aromática **54a-o** ou uma amina heterocíclica **54n-o** como material de partida para síntese das ftalimida N-substituídas (**56a-o**), conforme esquema 7.



Esquema 7 - Síntese de ftalimidas N-substituídas

O mecanismo, para obtenção desses compostos (**56a-o**), se processa através de um ataque nucleofílico promovido pelo átomo de nitrogênio das aminas (**54a-o**) ao carbono carbonílico do anidrido ftálico **4** e formação dos ácidos N-arilftalâmicos (intermediário **55a-o**) com subsequente desidratação e formação das N-arilftalimidas **56a-o**, conforme Esquema 8.



Esquema 8 - Mecanismo para obtenção das ftalimidas N-substituídas

Desta forma quatorze *N*-arilftalimidas foram sintetizadas (Tabela 1), oito delas (**56a-d,f,g,j** e **g**) com excelentes rendimentos (77-99%) e seis (**56e,h,i,l,m-o**) com rendimentos razoáveis (50,6-68,2%). Dois métodos para obtenção desses compostos foram usados: no método A, foram aquecidos sob refluxo quantidades equimolares de anidrido ftálico (**4**) e uma arilamina (**54a-o**) em um solvente apropriado. No método B, os reagentes acima mencionados, foram aquecidos em banho de óleo sem solvente. A tabela 1, mostra os rendimentos obtidos na utilização dos dois métodos. Das ftalimidas *N*-substituídas sintetizadas, os compostos **56n,o** são novos.

Tabela 1- Solvente de cristalização, rendimentos e ponto de fusão dos compostos obtidos.

Compostos	Solventes de Crist.	Rendimento (%)		Ponto de fusão (°C)	Lit.
		Mét. A	Mét. B		
56a**	ETOH	97,8	99,0	210	205,5-206 ¹
56b**	ETOH	77,0	85,4	145,5-144	143 ²
56c**	ETOH	93,6	90,2	168,5-169	166,8 ³
56d**	ETOH	99,0	94,0	200,6-201,2	201-202 ²
56e**	ETOH	67,0	70,1	184-185	184-186 ⁴
56f**	ETOH	89,1	80,3	201-201,4	200-201 ⁵
56g**	ETOH	98,3	98,1	180,6-181,2	180-181,5 ⁵
56h**	CH ₃ CO ₂ H	66,5	68,5	201,4-202,3	201-202 ⁴
56i**	CH ₃ CO ₂ H	68,2	99,0	267,4-268,1	269-271,3 ⁴
56j**	CH ₃ CO ₂ H	79,8	70,3	247,3-248	245-246 ⁶
56l**	EtOH	-	82,5	203,6-204,2	203-204 ⁶
56m**	CH ₃ CO ₂ H	90,4	94,0	279,1-278,8	277-278 ⁶
56n*	MeOH	50,6	69,0	305,1-306	-
56o*	MeOH	57,3	75,41	269,7-270,4	-

*Novos Compostos, ** Os rendimentos para estes compostos são maiores do que os obtidos na literatura, sendo estes relatados em procedimentos experimentais (Capítulo 3).

Os compostos sintetizados foram identificados através da análise dos espectros de IV, UV, RMN-¹H, ponto de fusão e espectrometria de massa. A análise elementar foi realizada apenas para os novos compostos **56n-o**.

3.1.1.1 – Infravermelho (IV)

Já existe na literatura, uma descrição dos sinais no espectro de IV referentes às vibrações em ftalimidas *N*-substituídas. Os espectros de infravermelho (IV) dos compostos **56a-m** não mostraram nenhuma banda de absorção na região de 3100-3600 cm^{-1} , o que indica a ausência de grupos –OH ou –NH. O composto **56n** (Figura 15) mostrou uma absorção em 3392 indicando a presença do grupo –NH do anel triazol.

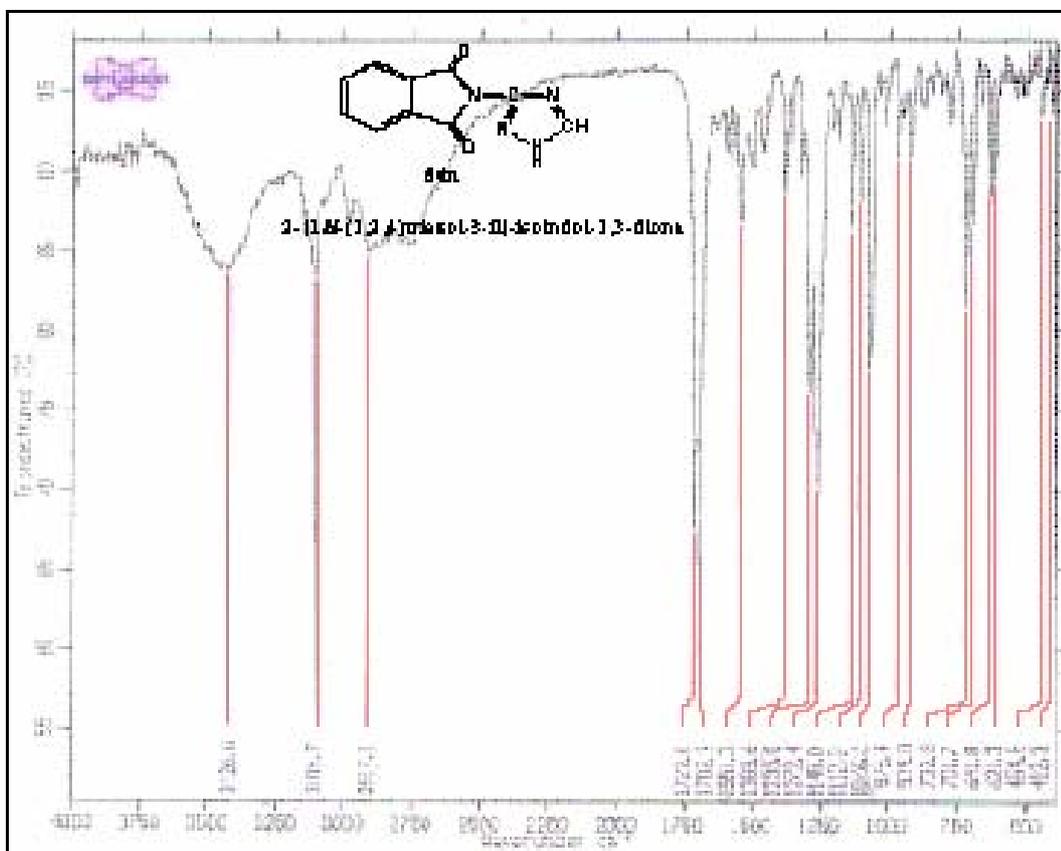


Figura 15 - Espectro de infravermelho em KBr do composto **56n**

Em todos os espectros foram observados duas fortes absorções em torno de 1777 e 1711 cm^{-1} , essas absorções são devido aos estiramentos vibracionais de deformação axial assimétrico e simétrico do grupo carbonila (C=O) presente no anel da ftalimida.³ Os espectros, para os compostos com derivados 1,2,4-triazólicos, exibiram absorções entre 1686 a 1526 cm^{-1} característica dos grupo C=N,⁷ mais que também podem ser das ligações C=C do anel aromático.

3.1.1.2 – Ultravioleta (UV)

Os espectros de ultravioleta (UV) dessas ftalimidas *N*-substituídas apresentam absorções em duas principais regiões: uma região de baixa energia com transições $n \rightarrow \pi^*$, e uma região de alta energia com transições $\pi \rightarrow \pi^*$.

A região de baixa energia, das ftalimidas *N*-substituídas (compostos **56a-n**), apresentou picos de absorções entre $\lambda_{\max} = 258-288$ nm, os quais representam a excitação de um elétron do orbital não ligante, provavelmente do orbital atômico não ligante (*n*) do oxigênio da carbonila, para o orbital antiligante π^* desses mesmos grupos. A região de alta energia apresentou picos de absorções entre $\lambda_{\max} = 205-248$ nm, os quais podem indicar as transições que um elétron π do anel aromático sofre quando este é excitado ao orbital antiligante π^* . Observações semelhantes foram descritas na literatura para *N*-alquilftalimidas.⁵

Ao analisarmos os espectros de UV desses compostos verificamos que a substituição de um átomo de H por um átomo de Cl nas posições *orto*-, *meta*- ou *para*- causa um deslocamento batocrômico nas transições $n \rightarrow \pi^*$ de aproximadamente λ_{\max} 8 nm, no entanto quando essa substituição foi feita por um átomo de F na posição *meta*- esse deslocamento foi de 5 nm. O mesmo não foi observado para as posições *o*- ou *p*- do anel fenila da ftalimida.

Mais detalhes sobre os resultados da análise dos espectros de UV dos compostos **56a-g, n** e **o** podem ser observados na Tabela 2. Os resultados sobre os demais compostos são relatados no capítulo 3, referente aos dados experimentais.

Tabela 2 – Dados de absorções dos espectros de ultravioleta dos compostos **56a-g,n,o**.

Compostos	Transições $n \rightarrow \pi^*$		Transições $\pi \rightarrow \pi^*$	
	λ_{\max} (nm)	ϵ_{\max} (L mol ⁻¹ cm ⁻¹)	λ_{\max} (nm)	ϵ_{\max} (L mol ⁻¹ cm ⁻¹)
56a	280	1750	205	19020
			228	14729
56b	288	1613	217	22797
56c	287	1865	218	18287
56d	288	2854	222	32197
			241	26983
56e	280	1773	222	26411
56f	285	2432	222	21510
56g	281	1941	221	23727
56n	282	1391	206	23750
			223	11605
56o	274	1752	205	23382
			221	12286

*Os espectros de UV foram medidos em espectrofotômetro U3200 Hitachi, empregando metanol como solvente.

Na análise dos dados de UV para os derivados triazólicos (**56n,o**) foi observado uma variação de λ_{\max} -6 nm nas transições $n \rightarrow \pi^*$ do composto **56o** com relação a fenilftalimida (**56a**), essa diminuição no λ_{\max} pode ser devido as baixas transições no anel triazólico.

3.1.1.3 – Ressonância magnética nuclear de hidrogênio (RMN ¹H)

Embora, já exista na literatura uma descrição dos sinais no espectro de ressonância nuclear protônica (RMN-¹H) referente aos principais deslocamentos químicos em ftalimidas N-substituídas,⁶ encontramos algumas variações devido às substituições no anel aromático. O espectro de RMN ¹H, das ftalimidas N-substituídas (Figura 16), é constituído de dois dubleto de

dubletos que se encontram a baixo campo, por exemplo, os compostos **56a-g**, **n**, **o**, apresentaram sinais para H-4 e H-7 com deslocamento (δ) entre 8,00 e 7,97 ppm, e para H-5 e H-6 entre 7,73 e 7,81 ppm; e uma mistura de sinais também a baixo campo referente aos prótons do grupo *N*-aril substituído com deslocamentos (δ) que variaram entre 7,65 e 7,10 ppm.

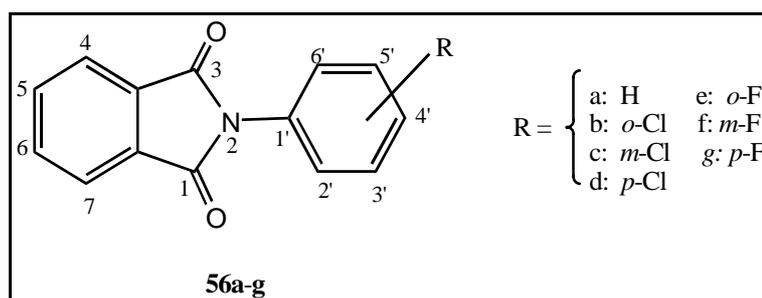


Figura 16 - Numeração para identificação dos carbonos e respectivos prótons das *N*-arilftalimidas

A Tabela 3, mostra detalhes para os compostos mencionados acima. Os espectros de RMN ^1H dos compostos **56a-g** mostraram deslocamentos entre δ 7,11-7,50 ppm apresentando fortes sinais com várias linhas indicando um alto grau de complexidade, principalmente os compostos contendo um átomo de flúor em posição *o*, *m* e *p* do anel fenil substituído devido aos acoplamentos do átomo de H com o átomo de F. A determinação dos deslocamentos desses prótons (Tabela 3) só foram possíveis com auxílio dos espectros de RMN de ^{13}C , ^{19}F , Cosy e J-resolvido. Os espectros de RMN ^1H , ^{13}C e J-resolvido dos compostos **5e-g** encontram-se no apêndice 1.

Tabela 3 - Deslocamentos químicos de prótons dos compostos **56a-g**.*

Comp.	¹ H-RMN δ (ppm) e J (Hz)	
	H-4, H-5, H-6 e H-7	H-Aril
56a	δ= 7,95 (dd, 2H, J= 3,0 e J= 5,4; H-4 e H-7), δ= 7,79 (dd, 2H, J= 3,0 e J= 5,4; H-5 e H-6),	δ= 7,52 (m, 1H, H-5' and H-3'); 7,47 (m, 2H, H-6' e H-2'); 7,40 (m, 1H, H-4').
56b	δ= 8,00 (dd, 2H, J= 3,0 e J= 5,4; H-4 e H-7), δ= 7,83 (dd, 2H, J= 3,0 e J= 5,4; H-5 e H-6),	δ= 7,58 (m, 1H, H-3'); 7,48-7,42 (m, 2H, H-5' e H-6'); 7,38 (m, 1H, H-4').
56c	δ= 7,98 (dd, 2H, J= 3,0 e J= 5,4; H-4 e H-7), δ= 7,82 (dd, 2H, J=3,0 e J= 5,4; H-5 e H-6).	δ= 7,41-7,35 (m, 2H, H-4' e H-6'), 7,43 (t, 1H, H-5'), 7,40-7,36 (m, 1H, H-2').
56d	δ= 7,97 (dd, 2H, J= 3,0 e J= 5,4; H-4 e H-7), δ= 7,81 (dd, 2H, J=3,0 e J= 5,4; H-5 e H-6).	δ= 7,49 (d, 2H, J= 9,0; H-3' e H-5'), 7,42 (d, 2H, J= 9,0; H-2' e H-6').
56e	δ= 7,97 (dd, 2H, J= 3,0 e J= 5,4; H-4 e H-7), δ= 7,83 (dd, 2H, J=3,0 e J= 5,4; H-5 e H-6).	δ= 7,50-7,20 (m, 4H, H-6', H-5', H-4' e H-3').
56f	δ= 7,96 (dd, 2H, J= 3,0 e J= 5,7; H-4 e H-7), δ= 7,80 (dd, 2H, J=3,0 e J= 5,7; H-5 e H-6).	δ= 7,47 (ddd, 1H, J _{5',4'} = 8.1, J _{5',6'} = 8.1 e J _{5',F} = 6.0, H-5'), 7.30 (ddd, 1H, J _{6',5'} = 8.1, J _{6',4'} = 0.9 e J _{6',2'} = 2.1, H-6'), 7.24 (dt, 1H, J _{2',F} = 9.0, J _{2',4'} = 2.4 and J _{2',6'} = 2.4, H-2'), 7.11 (dddd, 1H, J _{4',F} = 8.4, J _{4',5'} = 8.1, J _{4',2'} = 2.4 e J _{4',6'} = 0.9, H-4').
56g	δ= 7,95 (dd, 2H, J= 3,0 e J= 5,4; H-4 e H-7), δ= 7,80 (dd, 2H, J=3,0 e J= 5,4; H-5 e H-6).	δ= 7,43 (m, 2H, H-2' e H-6'), 7,19 (m, 2H, H-3' e H-5').

* Espectros de RMN ¹H em 300 MHz, CDCl₃ como solvente e tetrametilsilano como padrão interno de referência. Deslocamentos químicos (δ), em ppm e J em Hz.

Os espectros de RMN ¹H, dos compostos com derivados triazólicos (Figura 17), apresentaram: um simpleto em campo baixo com deslocamento químico δ= 8,68 ppm para um H (**56n**) referente ao anel triazólico, e um simpleto contendo dois H (**56o**) com deslocamento químico δ= 8,72 ppm. Os prótons referentes ao anel ftalimida desses compostos apresentaram deslocamento químico entre δ= 8,01 e 7,71 ppm, com integração para quatro H. Detalhes para os demais compostos se encontram no Capítulo 3 (parte experimental).

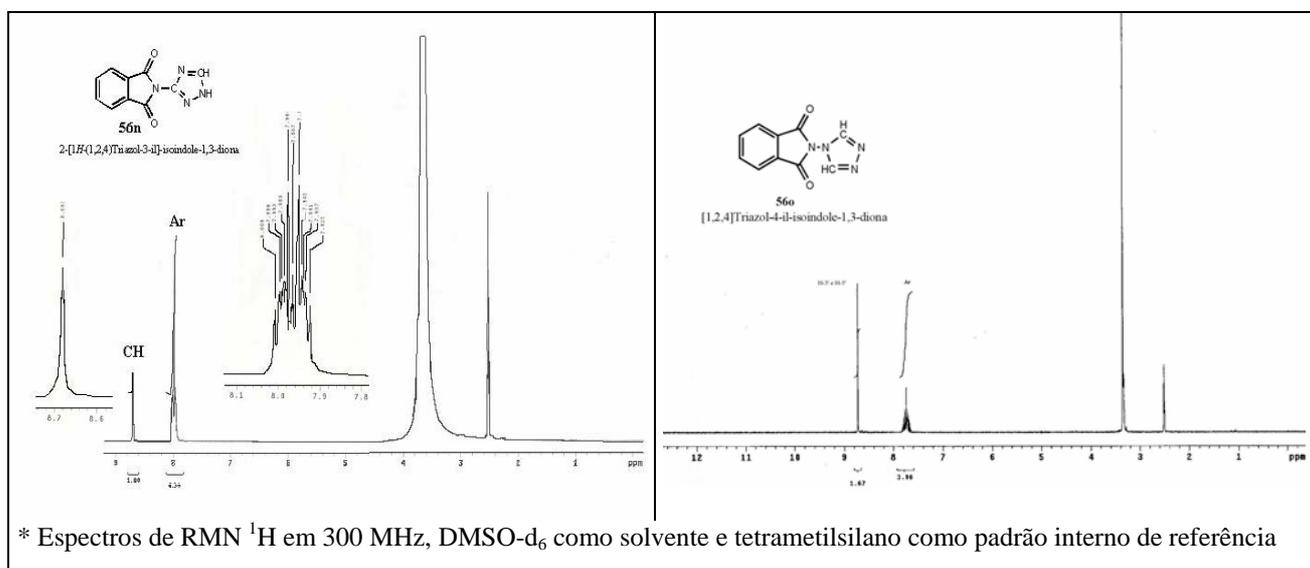


Figura 17 - Espectro de RMN dos compostos **56n** e **56o**.

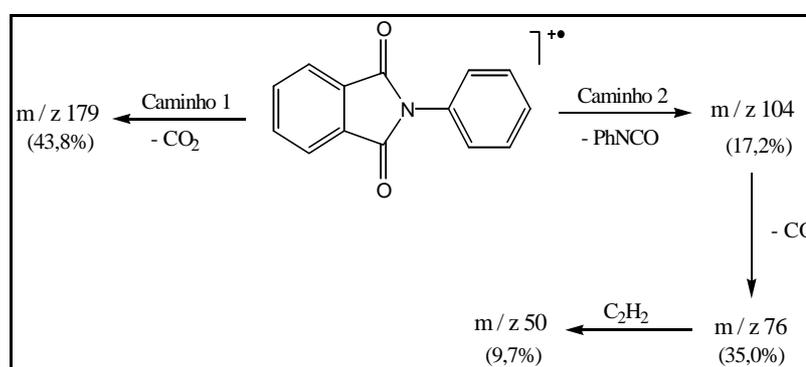
Cálculos de orbitais moleculares (AM1) do composto **56n** mostraram que o anel triazólico não é coplanar com o anel ftalimídico e o ângulo de torção C(1)-N(2)-C(3') e N(2') é 180°. O mesmo acontece para o composto **56o**, sendo o ângulo de torção para os C(1)-N(2)-N(4') e N(2'), 130°.

3.1.1.4 – Modelo de Fragmentação por Espectrometria de Massa

Como foi explicado na introdução (Cap. 1), as ftalimidas possuem diversas atividades biológicas.⁸⁻¹⁰ Uma das mais importante, entre elas, é a propriedade que tem a ftalimida e seus derivados em reduzir a taxa de colesterol e triglicerídeos em plasma de roedores.¹¹ Depois desse trabalho, vários autores têm relatado diversas ftalimidas como agente hipolipidêmico.¹²⁻¹⁴ Em nossos estudos, também, mostramos, pela primeira vez, que substituintes como flúor ou cloro no anel fenílico são ativos em reduzir o colesterol e triglicerídeos em plasma de camundongos.¹⁵

Devido a esta importância, decidimos avaliar um modelo de fragmentação para as ftalimidas N-substituídas (**56b-g** e **n,o**), por espectrometria de massa. Esta fragmentação da molécula, em íons positivos, é feita em função da razão pela carga (m/z), sendo esta considerada a carga com valor unitário para a maioria dos íons formados.

Inicialmente, *N*-metilftalimida foi examinada por ionização eletrônica em 1966 por Johnstone *et al.*¹⁶ Estes autores confirmaram, pela medida de massas exatas, de que o íon *M*-44 era devido a perda de CO₂ do íon molecular. No mesmo ano, pesquisadores ingleses¹⁷ relataram o modo de fragmentação de *N*-fenilftalimidas e sugeriram dois caminhos principais. O primeiro caminho envolve perda de CO₂ do íon molecular e o segundo caminho mostra a perda de isocianeto de fenila de M^{o+} seguida por perdas sucessivas de CO e C₂H₂ (Esquema 9).



Esquema 9 - Modelo de fragmentação por espectrometria de massa

Em 1997, *N*-arilftalimidas foram investigadas pela espectrometria de massa de baixa resolução, contudo não foi possível avaliar o modo de fragmentação desses íons com precisão. Mais recentemente, Srivastava *et al.*,¹⁸ investigaram tais dissociações por MS/MS e alta resolução de seis *N*-arilftamidas (Figura 18). Nesse estudo, os autores puderam avaliar o modelo de fragmentação e medindo as massas exatas puderam estabelecer as quebras mais apropriadas.

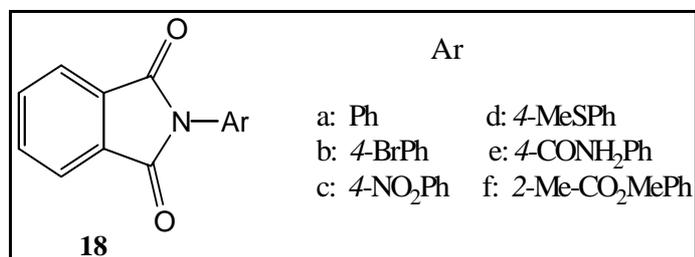


Figura 18 – Estruturas das *N*-arilftalimidas

Até o presente momento, não há relatos na literatura que descreva um modelo de fragmentação para compostos contendo um outro átomo de halogênio como F ou Cl no anel fenil das *N*-arilftalimidas ou 3- ou 4-il-1,2,4-triazol ligado ao nitrogênio da ftalimida.

Na primeira etapa desse estudo, relatamos as principais fragmentações de seis *N*-arilftalimidas (Figura 19) por MS/MS e alta resolução contendo um átomo de Cl ou F nas posições *o*-, *m*- e *p*- do anel fenil das *N*-arilftalimidas. Na segunda etapa, relatamos as fragmentações do segundo grupo de moléculas (1,2,4[triazol-3- ou 4-il]ftalimida).

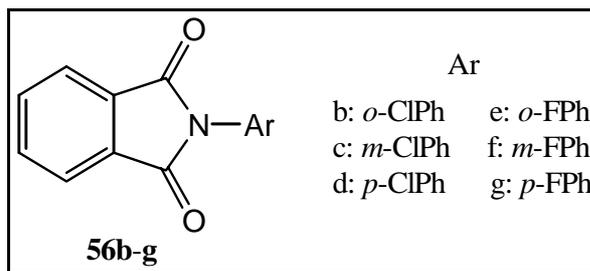


Figura 19 – Estruturas das *N*-arilftalimidas estudadas

Estas fragmentações foram confirmadas pela MS/MS e pela medida de massas exatas. Como o composto *p*-clorofenilftalimida (**56d**) e *m*-clorofenilftalimida (**56c**), são relativamente mais simples em termo de fragmentações, gostaríamos de descrevê-los primeiro.

O espectro de massa para o composto *p*-clorofenilftalimida (**56d**) é mostrado na Figura 20.

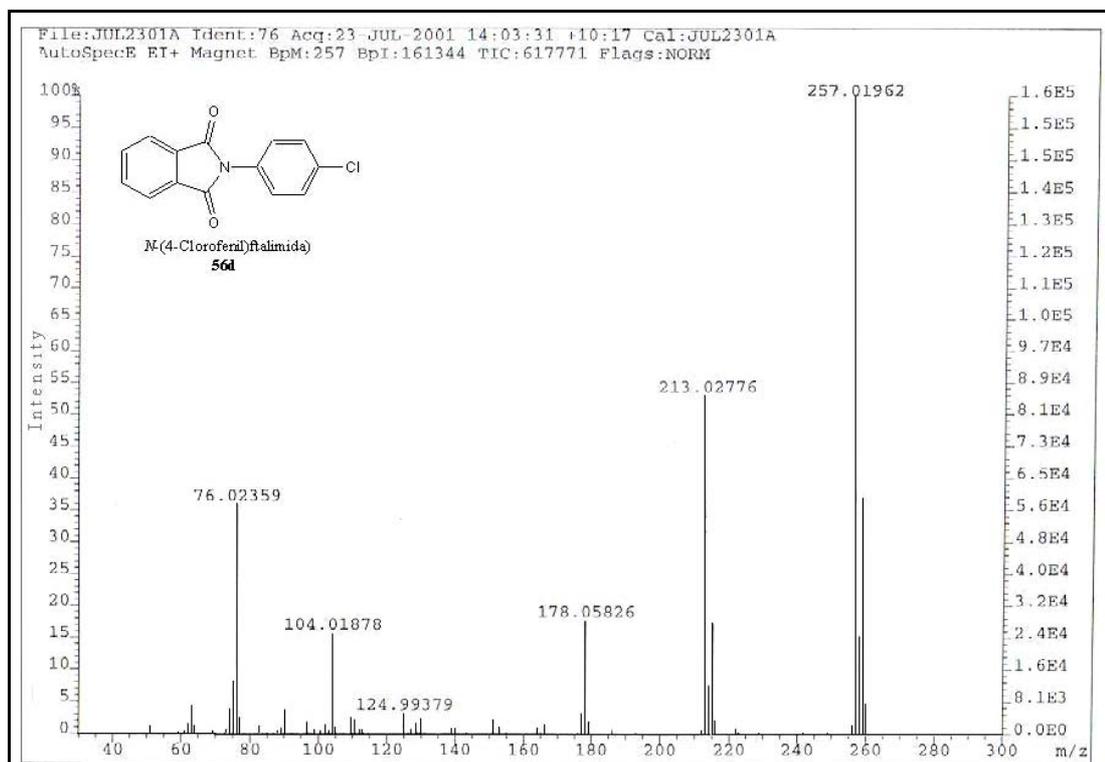


Figura 20 – Espectro de massa do *p*-clorofenilftalimida (**56d**)

A tabela 4, lista os principais fragmentos dos compostos **56c** e **56d**, obtidos através da espectrometria de massa de alta resolução.

Tabela 4 - Dados da abundância relativa (%), fragmentos iônicos, massas moleculares observadas e calculadas*, obtidas a partir do espectro de massa de alta resolução dos compostos **56c** e **d**.

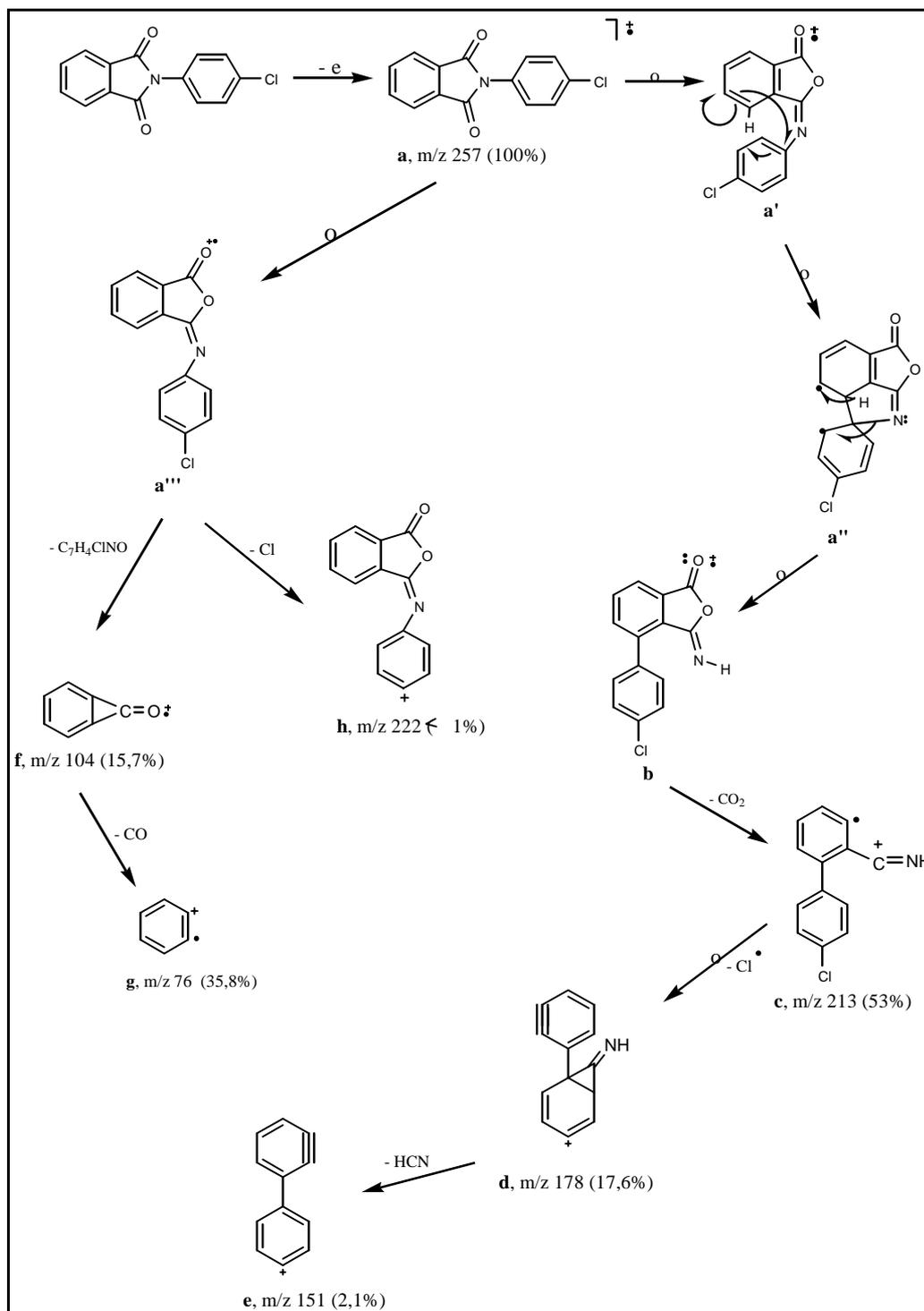
Comp.	M + 2	M + 1	M ⁺ (a)	c	d	e	f	g	i
56d	259,0166	258,0235	257,0196	213,0278	178,0655	151,0458	104,0188	76,0236	– **
	[259,0212]	[258,0212]	[257,0242]	[213,0344]	[178,0655]	[151,0546]	[104,0261]	[76,0312]	–
	(36,94%)	(15,39%)	(100%)	(52,96%)	(17,62%)	(2,1%)	(15,7%)	(35,84%)	–
56c	259,0186	258,0243	257,0214	213,0299	178,0603	151,0497	104,0213	76,0312	222,0477
	[259,0212]	[258,0212]	[257,0242]	[213,0344]	[178,0655]	[151,0546]	[104,0261]	[76,0312]	[222,0553]
	(32,92%)	(17,04%)	(100%)	(36,62%)	(12,46%)	(1,03%)	(16,49%)	(29,36%)	(1,52%)

* As massas moleculares calculadas são as descritas entre colchetes. ** O fragmento iônico *i* para o composto **56d** em m/z 222, não foi observado na espectrometria de massa de alta resolução, contudo, este fragmento foi mostrado na MS/MS originado do íon em m/z 257.

Foi observado através da espectrometria de MS/MS que o íon molecular em m/z 257 do composto *p*-clorofenilftalimida **56d**, produz principalmente os fragmentos iônicos em m/z 213 (*c*), 178 (*d*), 151 (*e*), 104 (*f*), 76 (*g*) e um fragmento iônico em m/z 50 proveniente da perda de um fragmento neutro (eteno). Um possível mecanismo para obtenção desses fragmentos é apresentado no esquema 10.

O MS/MS do composto *m*-clorofenilftalimida **56c**, além dos íons provenientes do íon molecular (M⁺) descritos acima, apresentou um outro fragmento iônico em m/z 222, também proveniente do íon molecular em m/z 257. O MS/MS desse íon (222), apresentou decomposição iônica semelhante aos fragmentos iônicos do composto *o*-clorofenilftalimida **56b** (Esquema 11), sendo estes, os fragmentos iônicos em m/z 194, 166, e 140.

No Esquema 10, apresentamos um modelo de fragmentação para este composto (**56d**).



Esquema 10 - Modelo para as principais fragmentações obtidas pela espectrometria de massa do composto *p*-clorofenilftalimida (**56d**)

Este composto, por impacto eletrônico forneceu o íon molecular em m/z 257 como pico base. O pico satélite de ^{37}Cl apareceu em m/z 259 (37,0%) confirmando que a molécula possui um átomo de cloro.

Como foi esperado, o íon **a** sofreu um rearranjo ao fragmento **b** e perdeu CO_2 para fornecer o fragmento **c** em m/z 213 (53,0%). Este tipo de rearranjo também foi confirmado por Srivastava *et al.*, onde verificaram que a *N*-fenilftalimida após perder um elétron por ionização isomeriza a *N*-fenilftalilisoimida para ejetar CO_2 . Através do MS/MS, foi observado que o íon **c** sofre uma série de rearranjos (Figura 10a) e por perda de um átomo de cloro, chega-se ao fragmento iônico **d** em m/z 178 (17,6%). O íon **d** por sua vez, perde um fragmento neutro de ácido cianídrico (HCN) para gerar um íon **e** em m/z 151 (2,1%).

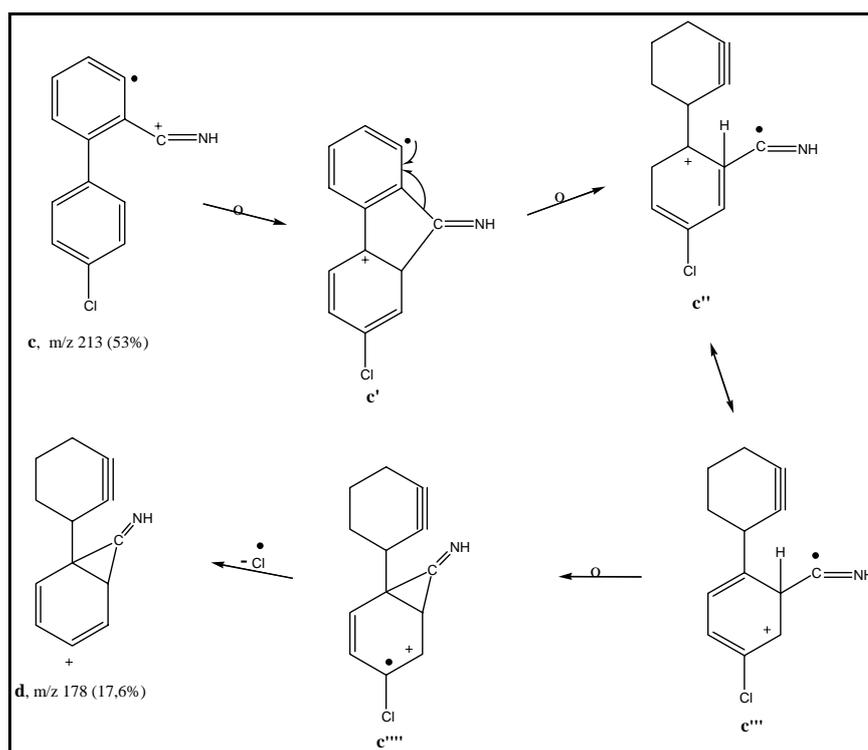


Figura 10a - Rearranjo para obtenção do fragmento iônico **d** a partir do fragmento iônico **c**

O íon **a** também nos forneceu um outro fragmento iônico (**f**), porém menos abundante do que o fragmento iônico **c**. O fragmento **f** apareceu em m/z 104 com 15,7% de abundância e foi gerado pela perda de 1-cloro-4-isocianato de benzeno ($\text{C}_7\text{H}_4\text{ClNO} - \text{M}-153$). O fragmento **g** em m/z 76 (35,8%) foi fornecido por perda de um fragmento neutro CO (Esquema 10). O

fragmento iônico **g**, ejeta uma molécula neutra de eteno para gerar um fragmento em m/z 50 (1,2%).

O espectro de massa do *N*-(*m*-clorofenil)ftalimida (**56c**) também apresentou o íon molecular em m/z 257 (100%), pico satélite em 259 (32,9%) e os fragmentos iônicos provenientes do íon molecular foram similares ao composto **56d**, contudo o fragmento iônico em m/z 222 teve uma abundância natural de 1,32 % (Figura 21).

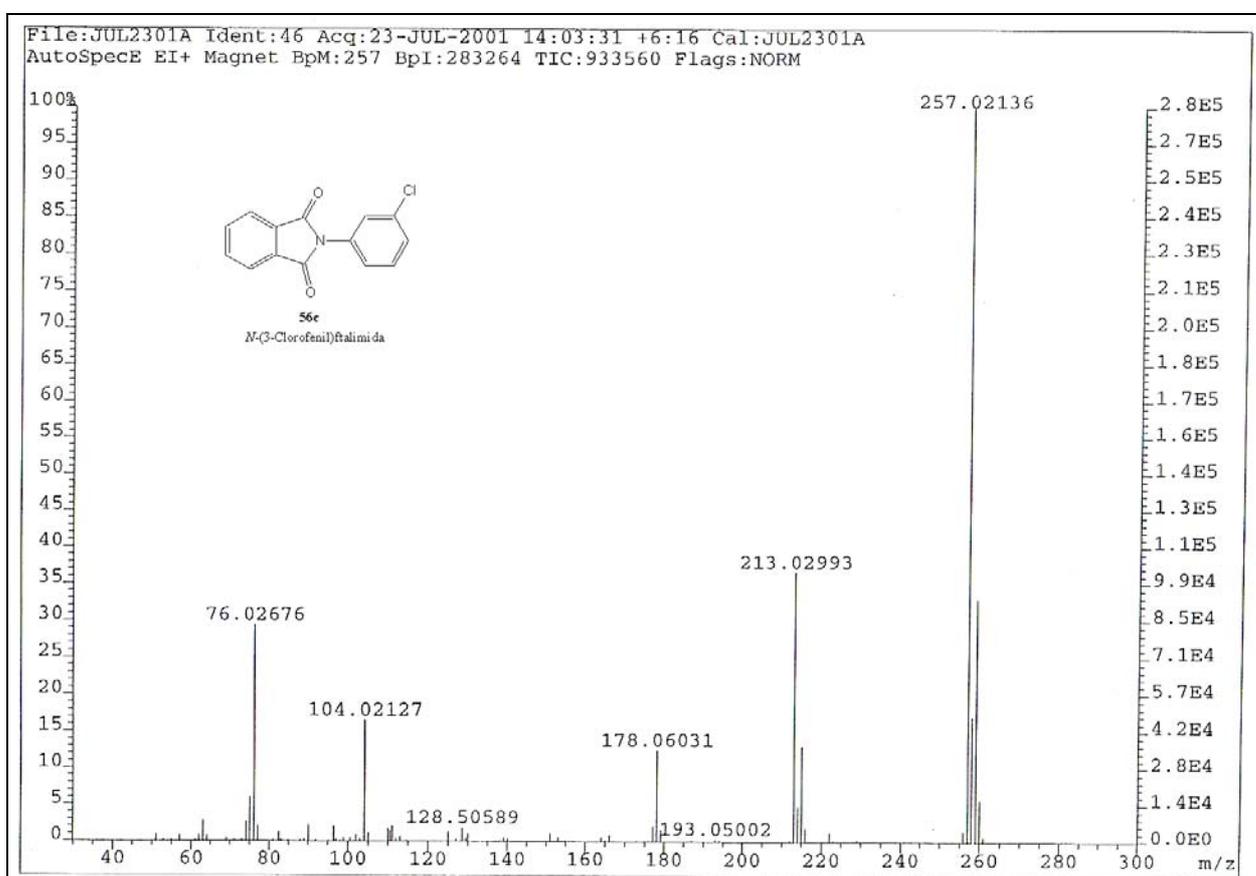


Figura 21 - Espectro de massa do composto *N*-(3-clorofenil)ftalimida (**56d**)

O espectro do composto **56b** *N*-(*o*-clorofenil)ftalimida (Figura 22), e a tabela 4a, lista os principais fragmentos do composto **56b**, obtidos através da espectrometria de massa de alta resolução.

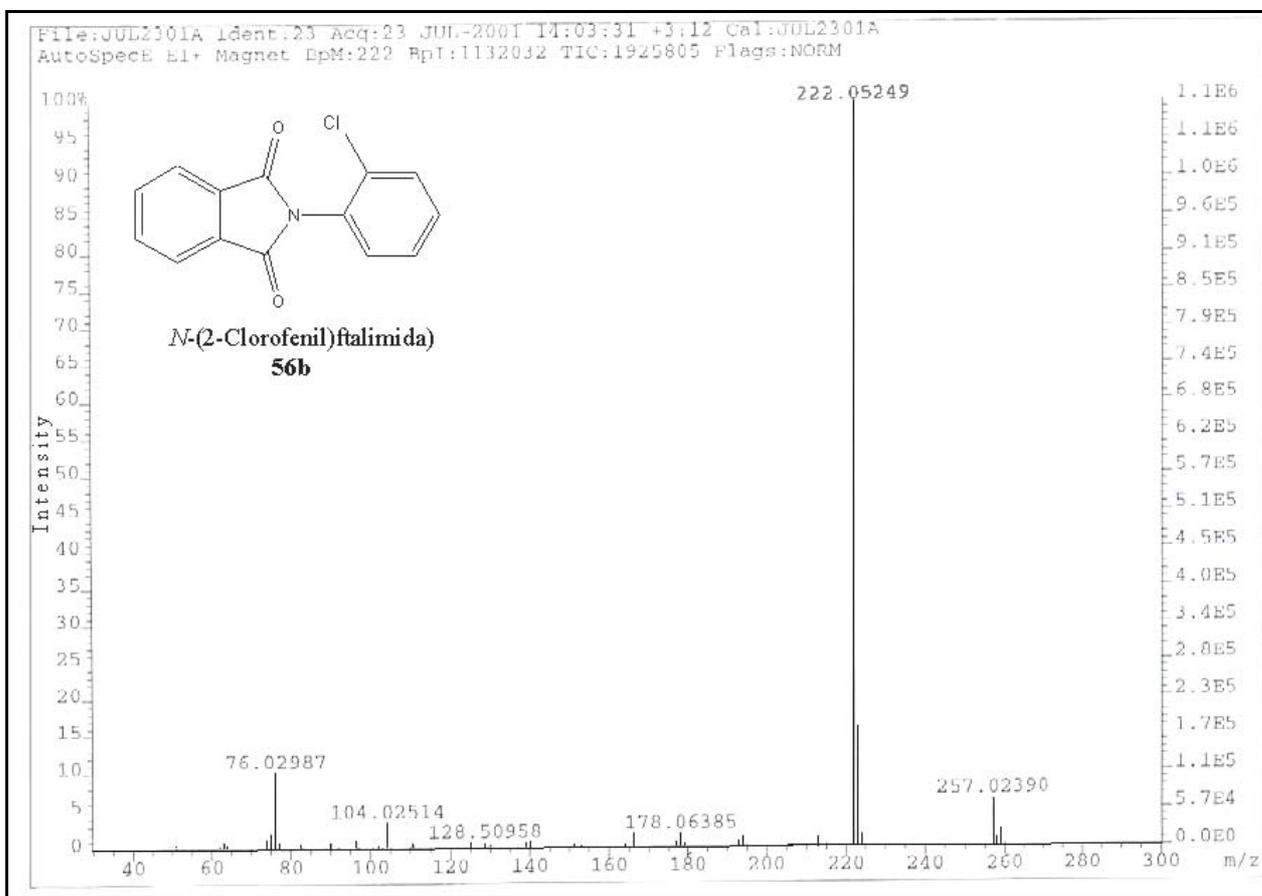


Figura 22 - Espectro de massa do Composto *N*-(*o*-clorofenil)ftalimida (**56b**)

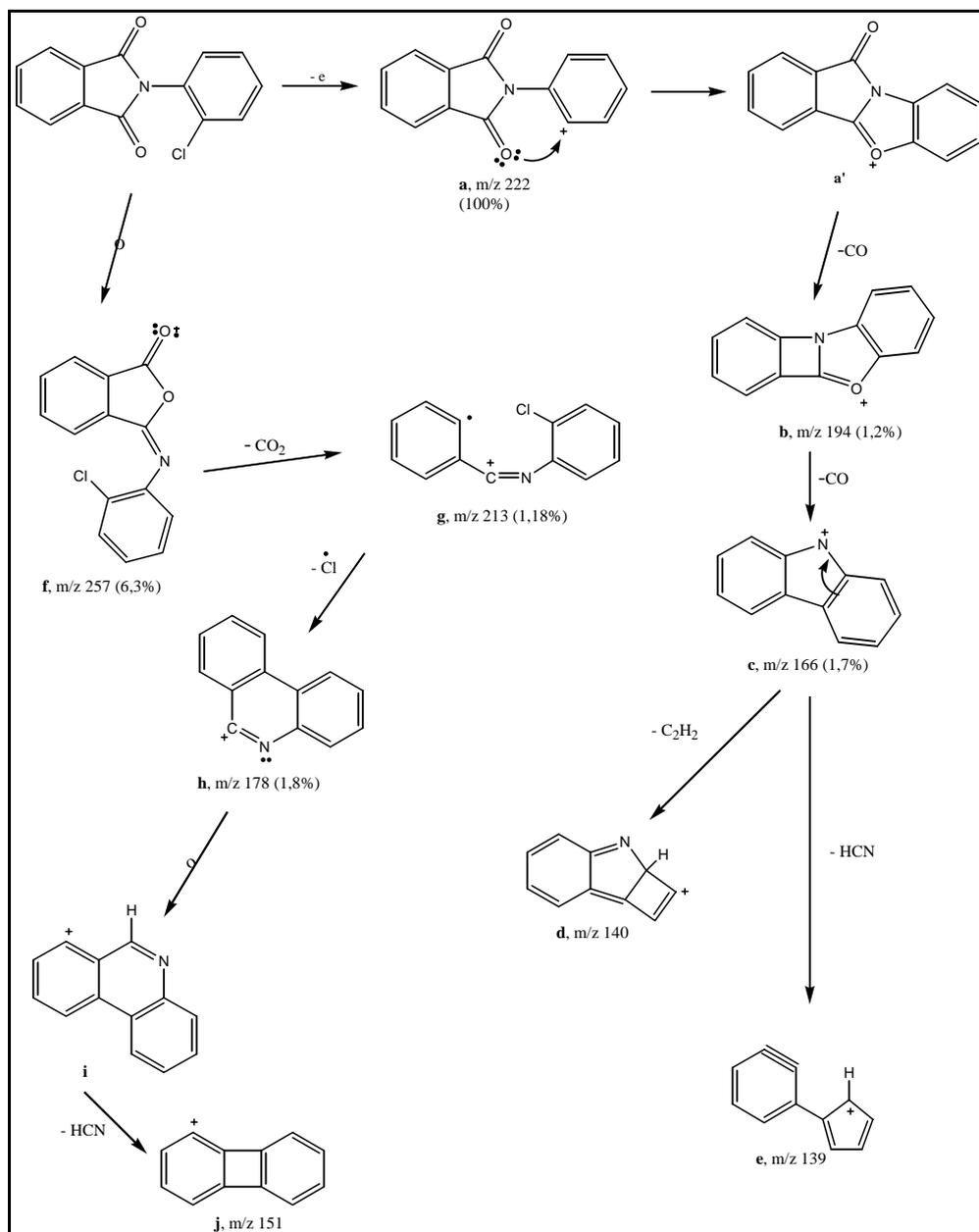
Tabela 4a - Dados da abundância relativa (%), fragmentos iônicos, massas moleculares observadas e calculadas em colchetes, obtidas a partir do espectro de massa de alta resolução do composto **56b**.

Comp.	$M + 2$	M^+ (f)	a	b	c	d	e	g	h	i
56b	259,0204	257,0239	222,0525	194,0589	166,0630	140*	139*	213,0325	178,0639	151
	[259,0212]	[257,0196]	[222,0553]	[194,0604]	[166,0655]	-	-	[213,0344]	[178,0655]	-
	(2,12%)	(6,28%)	(100%)	(1,22%)	(1,70%)	-	-	(1,18%)	(1,76%)	-

* Os fragmentos iônicos *d* e *e* em m/z 140 e 139 respectivamente, não foram observados na espectrometria de massa de alta resolução do composto **56d**, contudo, este fragmento foi mostrado na MS/MS originados do íon em m/z 166.

Diferente dos seus isômeros **56c,d**, o *o*-clorofenilftalimida **56b** apresentou íon molecular (f, m/z 257) em intensidade muito baixa (6,3%). Parece que a ejeção do átomo de cloro na posição *orto* do M^{o+} ocorre com muita facilidade deixando a carga positiva no carbono. Como o oxigênio da carbonila está bem localizado, o par de elétrons do oxigênio ataca o carbono

deficiente formando um anel de cinco membros apresentando o pico base em m/z 222 (100%) (Esquema 11).



Esquema 11 - Modelo para as principais fragmentações obtidas pela espectrometria de massa do composto *o*-clorofenilftalimida (**56b**)

Foi verificado que, a partir do pico base, surgem dois fragmentos de intensidade muito baixa, um em m/z 194 (1,2%) e o outro em m/z 166 (1,7%). O fragmento iônico em m/z 194 (**b**) foi gerado por perda de CO, e o fragmento em m/z 166 (**c**) foi fornecido através da perda de outra molécula de CO.

Uma análise de MS/MS, do fragmento iônico **c**, revelou a presença de dois novos fragmentos: um em m/z 140 (**d**) e outro em m/z 139 (**e**). Um possível mecanismo para se chegar a estrutura desses fragmentos iônicos é através da ressonância que ocorre a partir do íon **c** até chegar a uma forma estrutural mais estabilizada para ejetar os fragmentos **d** e **e**. O fragmento **d** foi fornecido pela perda de uma molécula de eteno (C_2H_2), e o fragmento **e** através da perda de HCN.

O íon molecular **f** também isomeriza para perder uma molécula de CO_2 e fornecer o fragmento iônico **g** em m/z 213 (1,18%). Diferente de seus isômeros **56b** e **d**, ao perder o átomo de cloro, o fragmento **h** em m/z 178, procura a forma estrutural mais estabilizada e sofre rearranjo até chegar a forma estrutural **i**, e ejetar uma molécula neutra de HCN para então chegar ao fragmento iônico **j** em m/z 151.

Os espectros de massas dos compostos *N*-(fluorfenil)ftalimida (**56e-g**, Figuras 22a, 23 e 24 respectivamente), em alguns casos, apresentaram comportamentos similares aos *N*-(clorofenil)ftalimida (**56b-d**). A tabela 5, lista os principais fragmentos dos compostos **56e-g**, obtidos através da espectrometria de massa de alta resolução.

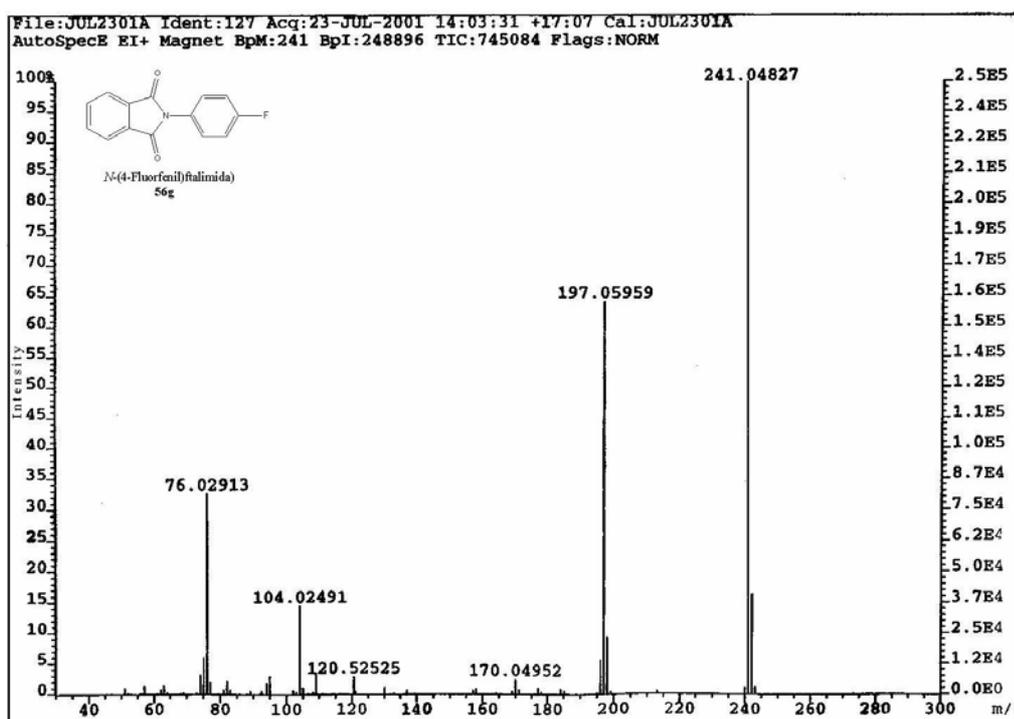


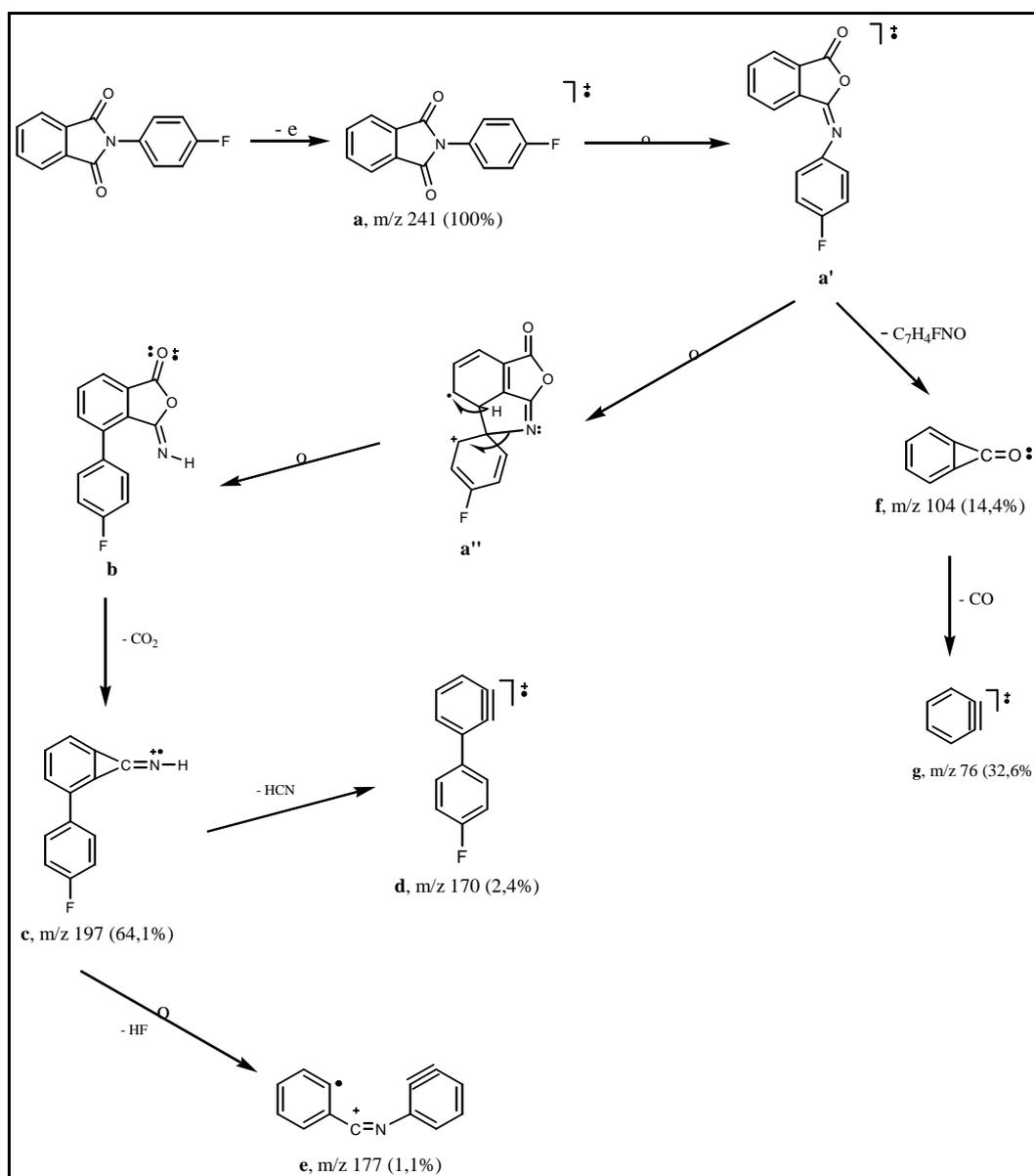
Figura 22a – Espectrometria de massa do composto *N*-(4-fluorfenil)ftalimida (**56g**)

Tabela 5 - Dados da abundância relativa (%), fragmentos iônicos, massas moleculares observadas e calculadas em colchetes, obtidas a partir do espectro de massa de alta resolução dos compostos **56e-g**.

Comp.	M + 2	M + 1	M ⁺ (a)	c	d	e	f	g	i
56e	243,0557	242,0532	241,0487	197,0619	170,0502	177	104,0273	76,0315	222,0511
	[243,0547]	[242,0537]	[241,0537]	[197,0639]	[170,0530]	–	[104,0261]	[76,0312]	222,0553
	(1,43%)	(15,59%)	(100%)	(68,95%)	(1,93%)	–	(22,05%)	(34,06%)	(2,48%)
56f	243,0554	242,0527	241,0487	197,0609	170,0495	177	104,0249	76,0298	222
	[243,0547]	[242,0537]	[241,0537]	[197,0639]	[170,0530]	–	[104,0261]	[76,0312]	–
	1,31%)	(15,55%)	(100%)	(66,88%)	(2,12%)	–	(15,93%)	(28,99%)	–
56g	243,0546	242,0524	241,0483	197,0596	170,0495	177,0526	104,0249	76,0291	222
	[243,0547]	[242,0537]	[241,0537]	[197,0639]	[170,0530]	[177,0530]	[104,0261]	[76,0312]	–
	(1,25%)	(16,19%)	(100%)	(64,10%)	(2,44%)	(1,05%)	(14,43%)	(32,62%)	–

O espectro de massa do *N*-(4-fluorfenil)ftalimida (**56g**) (Esquema 12) mostrou o íon molecular **a** em *m/z* 241 (100%), como pico base. Semelhante a maioria das *N*-fenilftalimidas, este composto isomeriza a *N*-(4-fluorfenilftal)isoimida **a'** sofre rearranjo a **b** para perder uma molécula de CO₂ e fornecer o fragmento iônico **c**, em *m/z* 197 com 64,1% da abundância natural.

Usando a técnica de MS/MS, foi verificado que o íon (**c**) produzia dois fragmentos em baixa intensidade. Um em *m/z* 170 (**d**), e o outro em *m/z* 177 (**e**). O fragmento **d** com 2,4% de abundância natural foi gerado pela perda de uma molécula de HCN. E o fragmento **e** com 1,1% de abundância natural, diferente do comportamento apresentado para o composto *N*-(4-clorofenil)ftalimida **56d** que ejeta apenas o átomo do halogênio Cl, o íon **e** é gerado pela perda de uma molécula de HF. A perda de uma molécula neutra de HF em certos casos é conhecida.¹⁹



Esquema 12 - Modelo para as principais fragmentações obtidas pela espectrometria de massa do composto *N*-(4-fluorfenil)ftalimida (**56g**)

O íon molecular **a**, após sofrer isomerização a **a'** perde uma molécula de C_7H_4NOF (1-fluoro-4-isocianato de benzeno) para fornecer o fragmento iônico **f**, em m/z 104 (14,4%). O fragmento **g** é gerado após ejeção da outra molécula de CO .

O espectro de massa do *N*-(3-fluorfenil)ftalimida **56f** (Figura 23), também, apresentou o íon molecular em m/z 241 (100%), e os fragmentos iônicos provenientes do íon molecular, foram similares ao composto **56g** (Figura 22a).

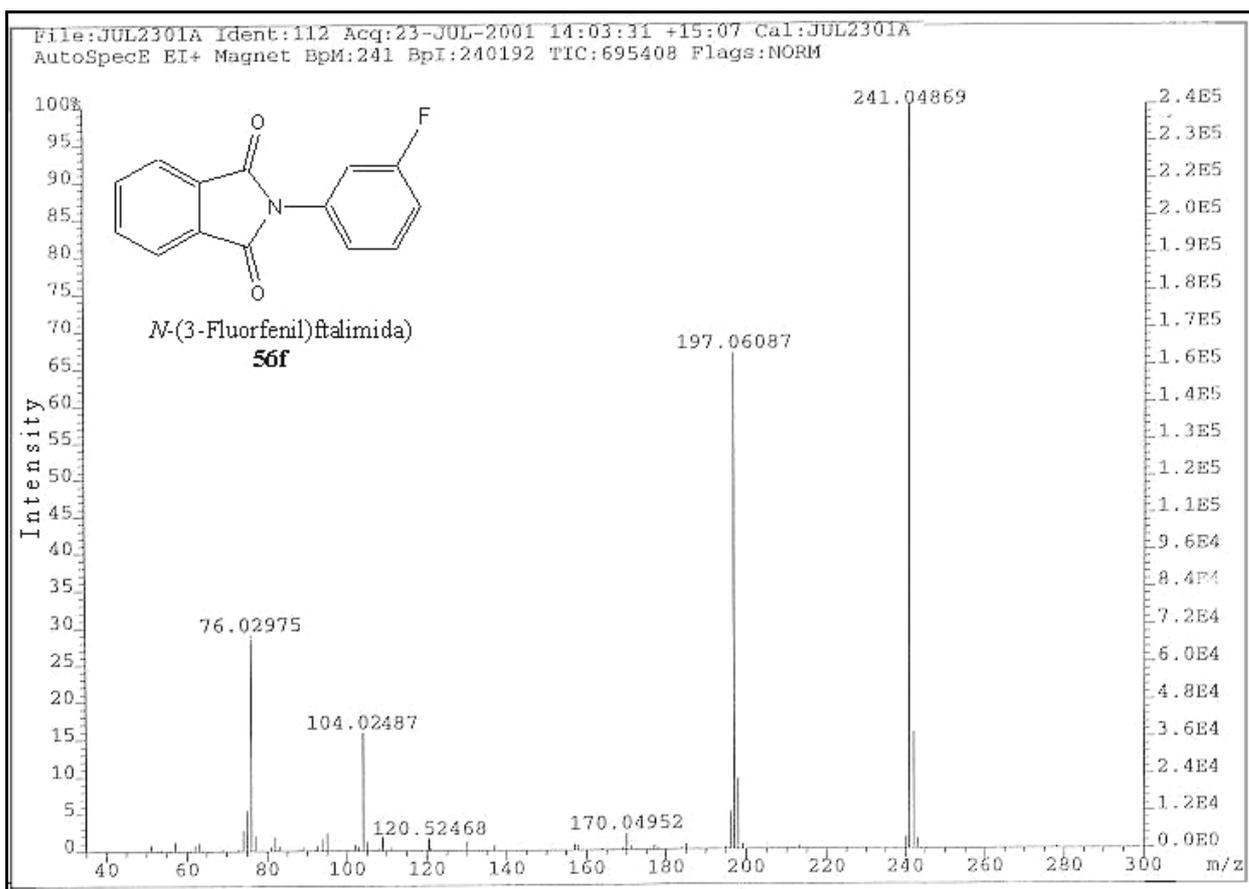


Figura 23 – Espectrometria de massa do composto *N*-(3-fluorfenil)ftalimida (**56f**)

O comportamento do composto *N*-(*o*-fluorfenil)ftalimida **56e** (Figura 24), diante do impacto por ionização eletrônica, apesar de pensarmos que poderia apresentar fragmentações iônicas semelhantes ao *N*-(*o*-clorofenil)ftalimida **56b**, apresentou fragmentações similares aos seus isômeros **56f** e **g**, figuras 22a e 23 respectivamente.

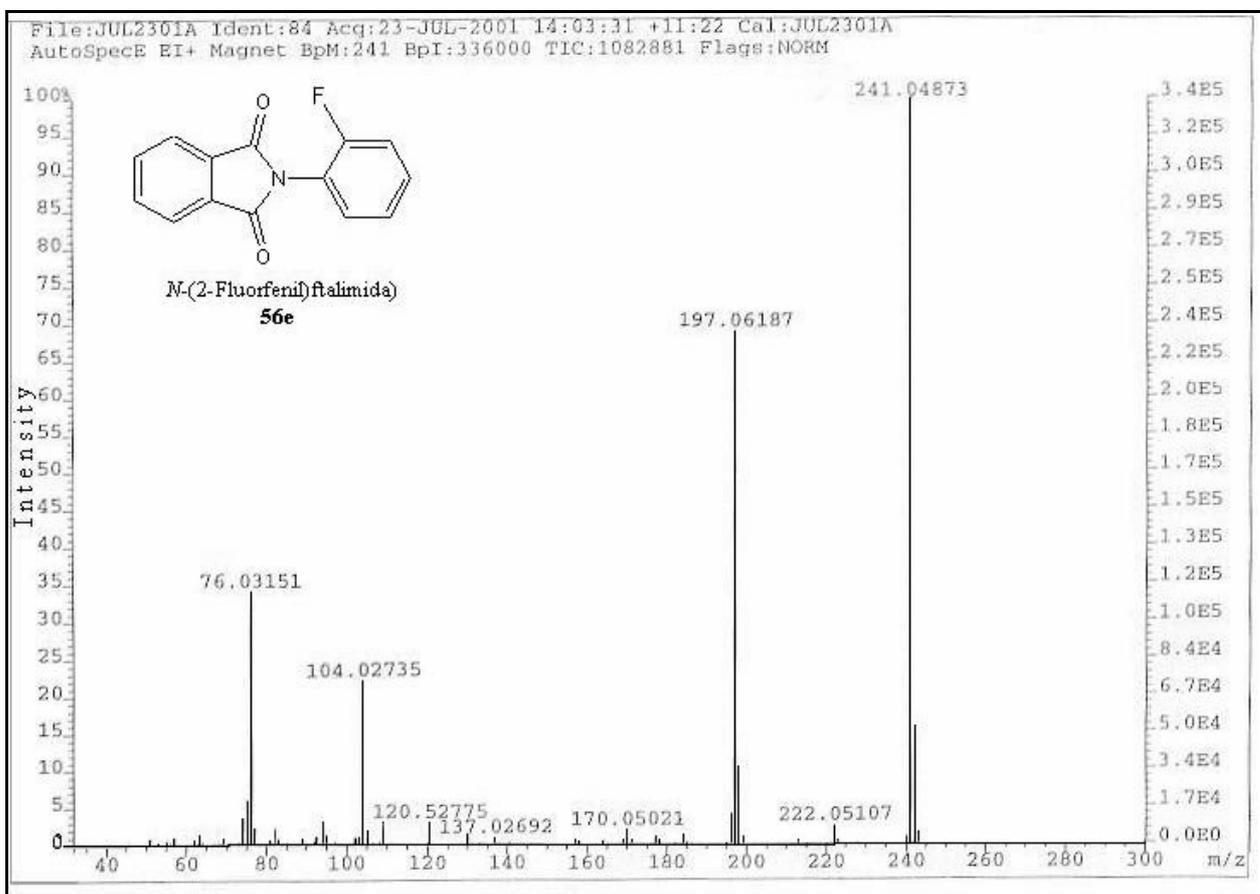


Figura 24 – Espectrometria de massa do composto *N*-(2-fluorfenil)ftalimida (**56e**)

A Figura 25, mostra o espectro de massa com as fragmentações do composto 2-[1H-(1,2,4)triazol-3-il]-isoindole-1,3-diona (**56n**), obtidas pelo impacto de ionização eletrônica.

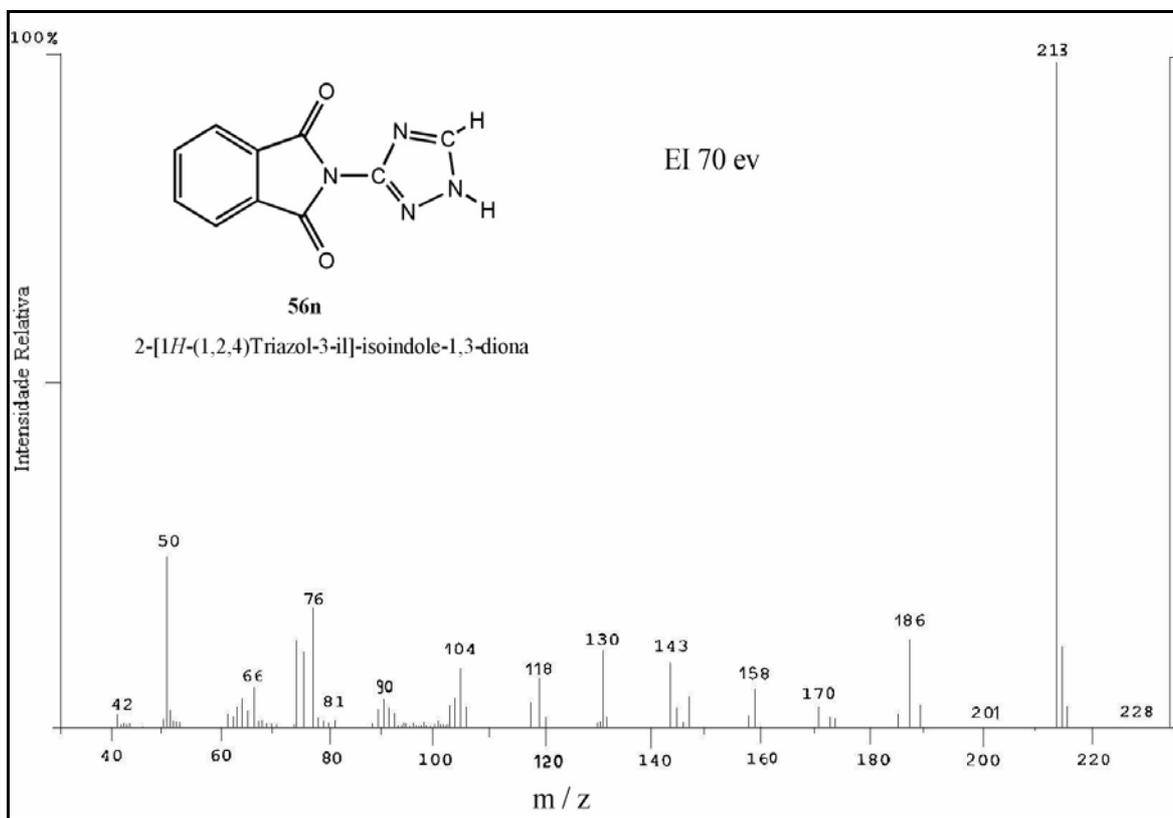


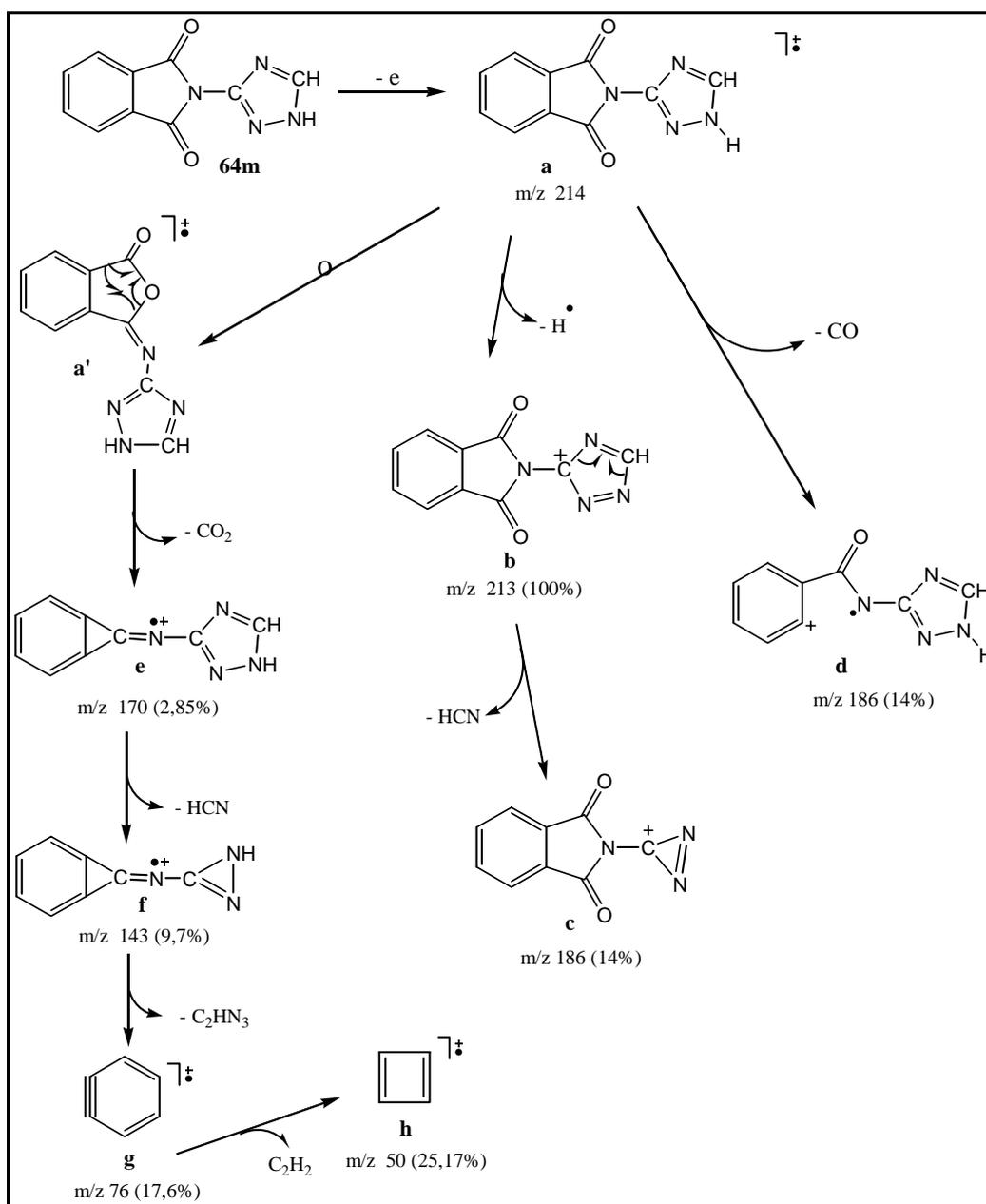
Figura 25 – Espectro de massa de baixa resolução do 2-[1H-(1,2,4)triazol-3-il]-isoindole-1,3-diona **56n**

Ao analisarmos, o espectro de massa do composto 2-[1H-(1,2,4)triazol-3-il]-isoindole-1,3-diona **56n** (Figura 25), verificamos que o íon molecular **a** de massa 214 m/z apareceu com abundância de 27,6%. Foi observado, por exemplo, que este íon perde um hidrogênio radical que por rearranjo pode chegar ao fragmento **b** de massa 213 m/z que é o pico base (Esquema 13). Pela eliminação de um fragmento de massa 27 (HCN) (quebra entre o C-5 e N-4), a partir do pico base **b** e pelo restabelecimento da ligação entre o N-1 e o C-3, tem-se a formação de um pico **c**, em m/z 186 (14,05%).

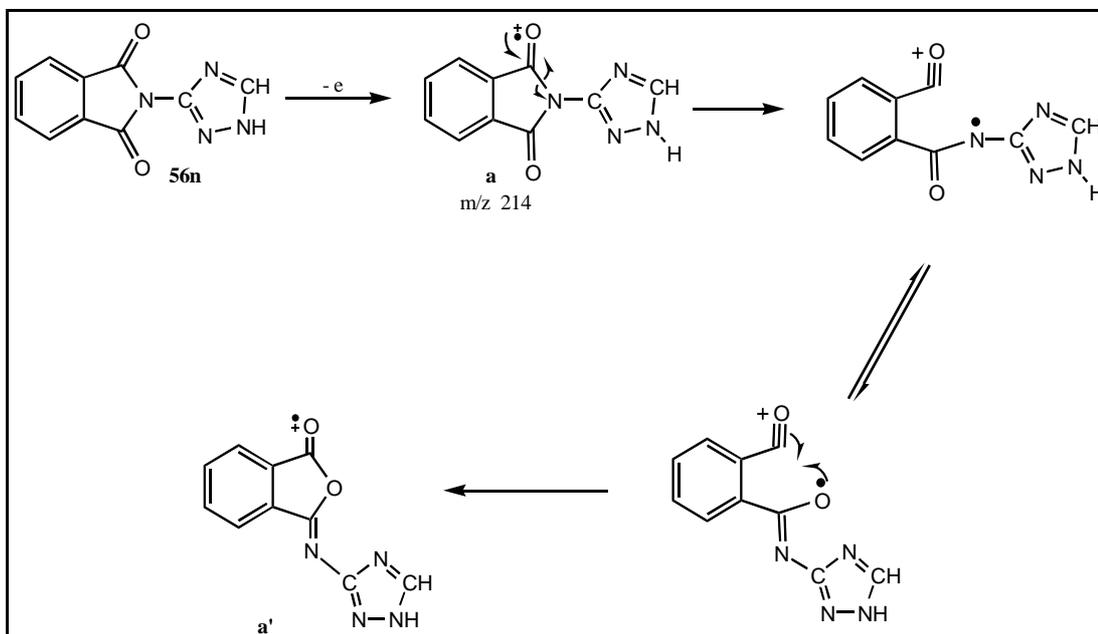
Observamos, também, que o íon molecular **a** possivelmente sofreu isomerização de 2-[1H-(1,2,4)triazol-3-il]-isoindole-1,3-diona à 1-[1H-(1,2,4)triazol-3-il]isoindole-1-ona-3-imina **a'** (Esquema 13a) por perda de um fragmento neutro de massa 44 (CO₂) originando um fragmento iônico **e**, em m/z 170 (2,85%) (Esquema 13). Esta forma de isomerização, seguida pela perda de CO₂, também foi explicado por Demnitz *et al.* para as ftalimidas.

O íon molecular, também, perde um fragmento neutro de massa 28 (CO) para fornecer um fragmento iônico **d**, em m/z 186 (14,1%). Com a quebra da ligação, entre N-1' e C-3' e

eliminação de uma molécula neutra de massa 27 (HCN), foi obtido um fragmento **f**, m/z 143 (9,71%), e que por perda de uma molécula de massa 67 (C_2N_3H) forneceu um fragmento **g**, em m/z 76 (17,6%). Este, por sua vez, perde uma molécula de eteno (C_2H_2) de massa 26 para fornecer o fragmento **h**, em m/z 50 (25,2%) (Esquema 13).



Esquema 13 – Principais fragmentações de massa do 2-[1H-(1,2,4)triazol-3-il]-isotindol-1,3-diona, obtidas pela ionização eletrônica



Esquema 13a - Mecanismo de isomerização de 2-[1H-(1,2,4)triazol-3-il]-isoindole-1,3-diona (**a**) à 1-[1H-(1,2,4)triazol-3-il]isoindole-1-one-3-imina **a'**

Na Figura 26, apresentamos o espectro de massa do composto 2-[1,2,4]triazol-4-il-isoindole-1,3-diona **56o**.

Ao analisarmos, os fragmentos iônicos produzidos pelo impacto de ionização eletrônica do composto **56o**, percebemos claramente que o modo de fragmentação deste composto foi diferente do obtido para o composto **56n**.

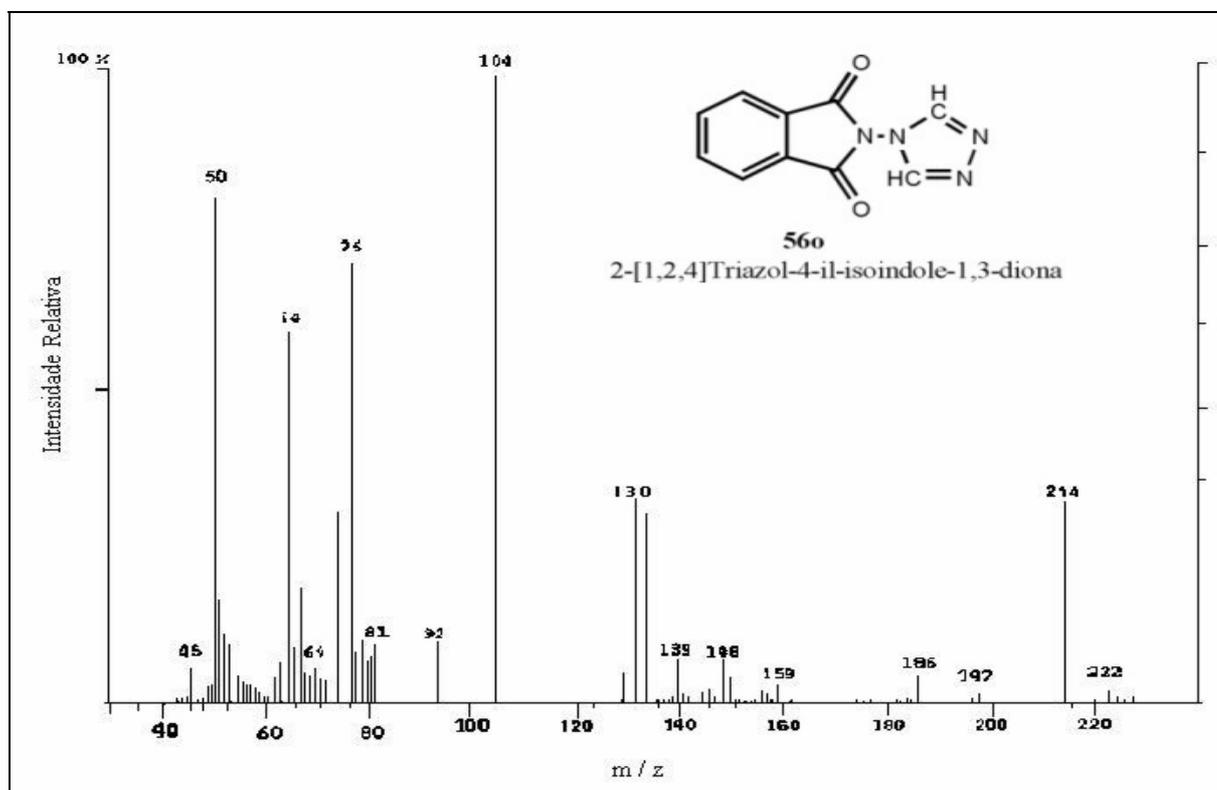


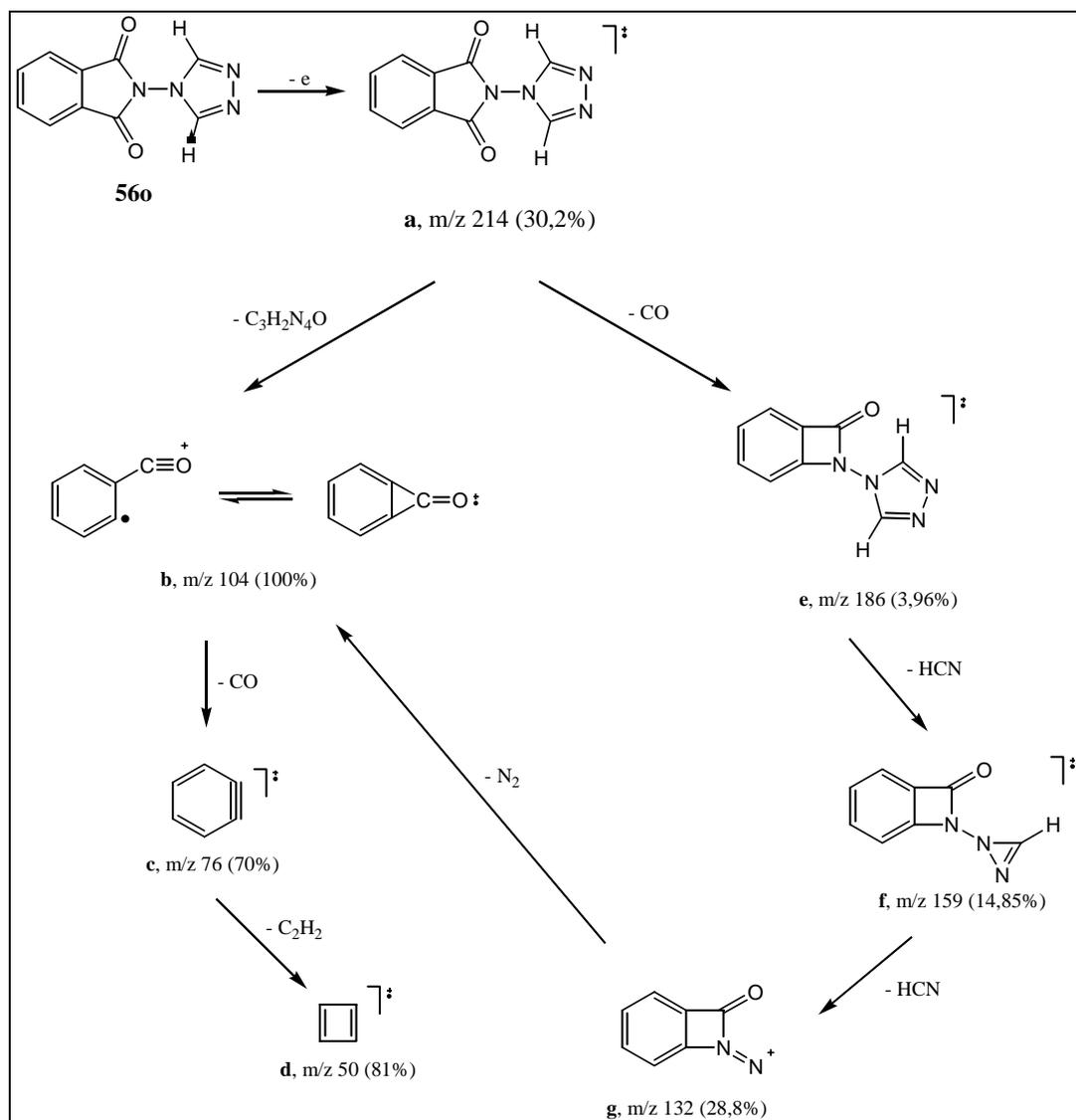
Figura 26 – Espectro de massa de baixa resolução do 2-[1H-(1,2,4)triazol-4-il]-isoindol-1,3-diona **560**

No esquema 14, apresentamos um possível modelo de fragmentação para este composto.

Diferente da maioria da ftalimidas *N*-substituídas, este composto (**560**), ao ser submetido ao impacto por ionização eletrônica à 70 ev, mostrou íon molecular **a**, em m/z 214 com 30,2% de abundância natural fornecendo como pico base o íon molecular **b**, biciclo[4.1.0]hepta-1,3,5-trien-7-ona em m/z 104 e 100 % de abundância natural relativa. Este íon **b**, foi fornecido pela perda de uma molécula neutra de 4-isocianato-4*H*-[1,2,4]triazol e massa molecular 110 g/mol.

O pico base **b**, ao perder uma molécula de CO (massa molecular 28), fornece o fragmento iônico ciclohexa-1,3-dien-5-ino **c**, em m/z 76 (70%). Este fragmento iônico ao perder uma molécula de etino (C_2H_2), fornece o íon ciclobutadieno **d**, em m/z 50. Este tipo de decomposição iônica a partir do íon ciclobutadieno é comum às ftalimidas.

O íon molecular **a**, também apresenta um outro caminho de decomposição para os fragmentos iônicos que é comum às ftalimidas (Esquema 14).



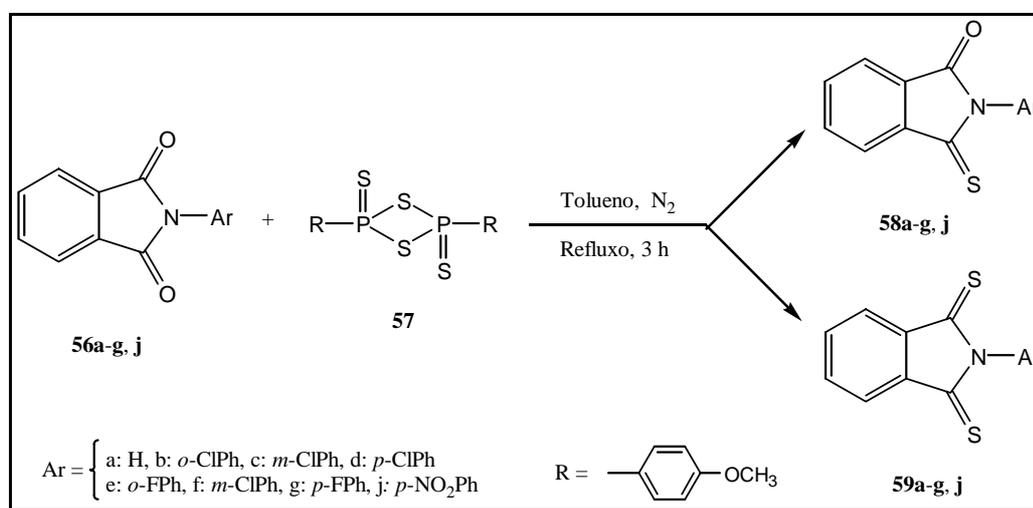
Esquema 14 – Principais fragmentações do 2-[1,2,4]triazol-4-il-isoindol-1,3-diona obtidas pelo impacto eletrônico

Este caminho é fornecido pela perda de uma molécula CO diretamente do íon molecular durante a ejeção do fragmento iônico 7-[1,2,4]triazol-4-il-7-aza-biciclo[4.2.0]octa-1,3,5-trien-8-ona **e**, em m/z 186 e intensidade muito baixa com 3,96% de abundância natural relativa. A decomposição iônica fornecida por este íon, nos apresenta duas perdas sucessivas de HCN. Os fragmentos iônicos **f**, em m/z 159 (14,85%) e **g**, em m/z 132 (28,8%).

Interessantemente, o fragmento iônico **g**, também pode fornecer o pico base, contudo este caminho é menos seguido; uma vez que o caminho mais favorável para se chegar ao pico base é o apresentado no modelo de fragmentação descrito acima (Esquema 14).

3.2 – *N*-Aril-monotioftalimidas e *N*-Aril-ditioftalimidas

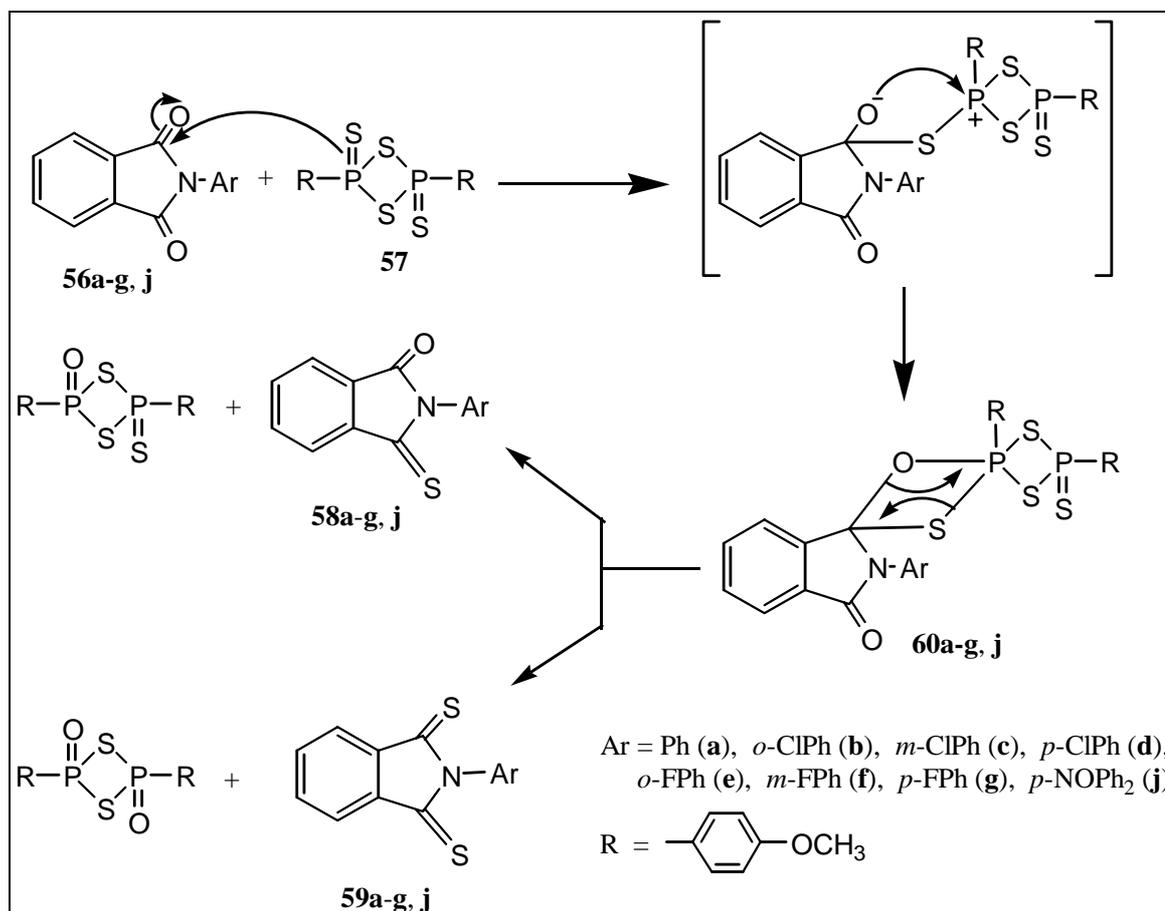
Após obtenção das arilftalimidas, acima mencionadas, tentamos obter os seus correspondentes *N*-aril-monotioftalimidas **58a-g,j** e *N*-aril-ditioftalimidas **59a-g,j** (Esquema 15) através da reação com 2,4-bis(4-metoxifenil)-1,3,2,4-ditiofosfoetano-2,4-dissulfito, mais conhecido como reagente de Lawesson (RL). Este reagente tem sido amplamente usado como um versátil reagente para conversão de uma ampla variedade de compostos carbonílicos à tiocarbonílicos.^{20,21}



Esquema 15 - Síntese geral para obtenção de mono- e ditioftalimidas

A formação das *N*-aril-monotioftalimidas e *N*-aril-ditioftalimidas segue o mecanismo proposto por Brian and Bradshaw,²² onde envolve um ataque nucleofílico do átomo de enxofre sobre o carbono carbonílico da ftalimida, seguida por uma ligação muito forte formada entre

fósforo-oxigênio que direciona a troca do átomo de enxofre pelo átomo de oxigênio (Esquema 16).



Esquema 16. Mecanismo de formação das *N*-aril-monotioftalimidas e *N*-aril-ditioftalimidas, a partir de *N*-arilftalimidas

De início, tentou-se reagir a fenilftalimida **56a** (1 mol) com RL (0,5 mol) para se obter uma monotionação, usando como solvente tetrahidrofurano (THF) sob refluxo à atmosfera inerte (argônio), segundo o método de Yde *et al.*, que sintetizaram compostos monotionados a partir de imidas cíclicas. Por cromatografia em camada fina (TLC), foi observado uma mancha que pela sua altura na placa $R_f \cong 0,68$ tinha o mesmo R_f da banda referente a ftalimida, mas que poderia ser o produto desejado visto que as diferenças das massa diferiam muito pouco. Contudo, de posse da análise por espectrometria de massa foi verificado que a fenilftalimida não tinha reagido.

Fizemos novas tentativas variando o solvente, o mesmo aconteceu quando foi utilizado dioxano ou nitro-benzeno como solventes. Ao ser utilizado éter dimetil etileno glicol (DME) e fazendo-se reagir o substrato (composto **56a**) com RL (mol/mol), obteve-se cerca de 6% do produto ditionado. Quando foi utilizado tolueno, verificou-se por TLC a presença de duas bandas de intensidade, aproximadamente iguais, uma com $R_f \cong 0,65$ similar ao substrato e outra com $R_f \cong 0,71$ acima do substrato, obtendo-se aproximadamente 98% dos compostos tionados (mono e di). Ao serem padronizados os parâmetros (solvente ideal, temperatura, tempo de reação e proporção substrato-RL), partimos para obtenção dos compostos desta série.

A proporção entre o substrato e RL varia no rendimento total dos compostos mono e ditionados obtidos. A tabela 6, mostra o rendimento total para alguns dos compostos obtidos.

Tabela 6 - Dados físicos e experimentais para os compostos **58d, j** e **59d, j**, obtidos da reação de tionação das N-arilftalimidas (**56d, j**) com RL.*

Composto, RL	Tempo de Reação (min)	Mono			Di		
		Prod.	Rend.**	pf.** *	Prod.	Rend.**	pf.* **
56d , RL (1:1)	170	58d	51,7	172,6-173,3	59d	48,3	198,0-200,0
	300		67,2			30,8	
	(1:0,3)		300			10,0	
56j , RL (1:2)	300	58j	6,1	224,2-224,8	59j	82,1	248,0-250,2
	(1:1)		56,9			40,5	
	(1:0,5)		77,4			17,3	

*A reação foi realizada em atmosfera inerte utilizando tolueno como solvente. **Os rendimentos (rend*) foram expressos em percentagem (%). ***Pontos de fusão (pf.) expressos em graus celsius (°C).

O material obtido da reação foi purificado através de cromatografia em coluna de sílica gel G, eluindo-se inicialmente os compostos monotionados com ciclo-hexano (100%) e os ditionados com uma mistura de ciclo-hexano/acetado de etila (99,75:0,25 v/v). As estruturas foram caracterizadas mediante análise dos espectros de IV, RMN ^1H e espectrometria de massa.

3.2.1 – Infravermelho (IV)

As ftalimidas, por exemplo, possuem vibrações específicas referente ao grupo carbonila (C=O), onde mostra duas fortes absorções entre 1780 e 1711 referente aos estiramentos vibracionais assimétrico e simétrico, como descrito no item 3.1.1.1 deste capítulo. A comprovação de obtenção dos compostos mono e ditionados foi possível com o desaparecimento das vibrações referente à carbonila. As Figuras 27a e b, mostram, claramente, através dos espectros de IV, a substituição do oxigênio da fenilftalimida (**56a**) pelo enxofre para obtenção dos compostos monotiofenilftalimida (**58a**) e ditiofenilftalimida (**59a**).

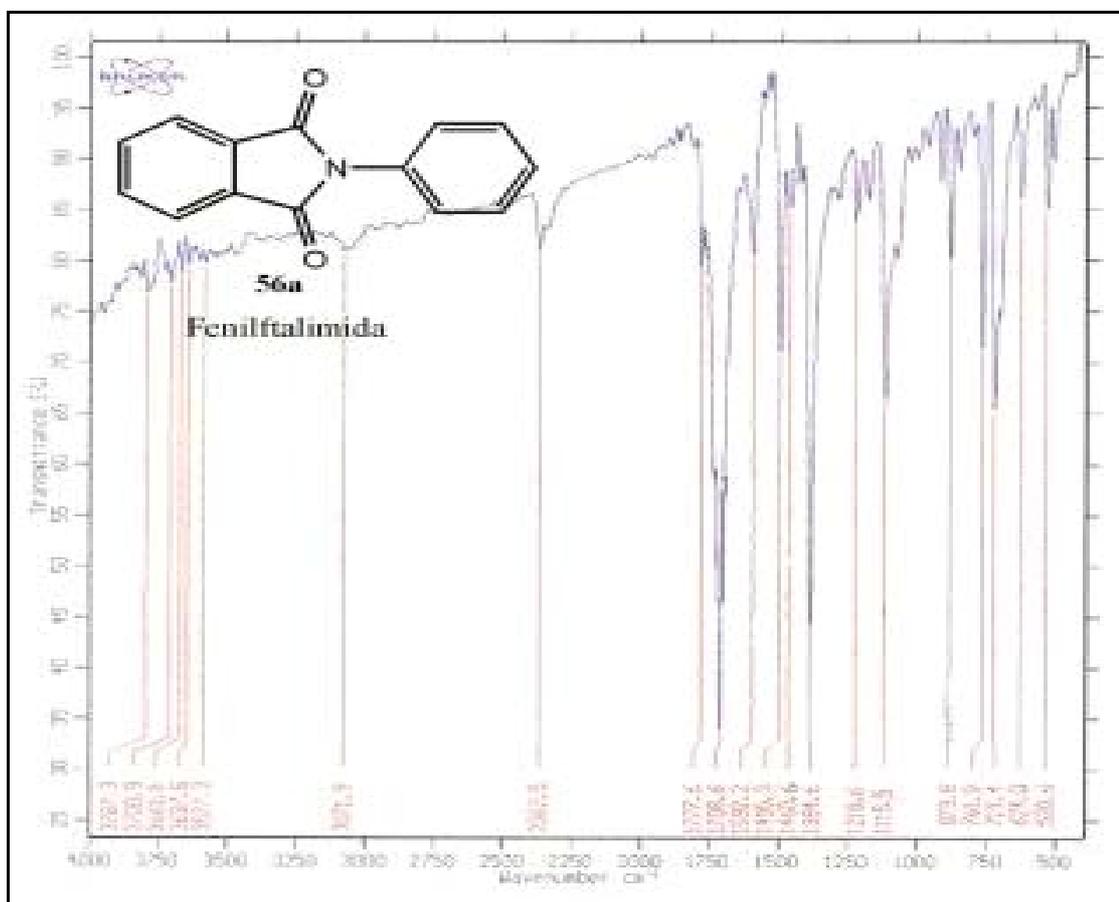


Figura 27 a - Espectro de Infravermelho, em KBr, da fenilftalimida (**56a**)

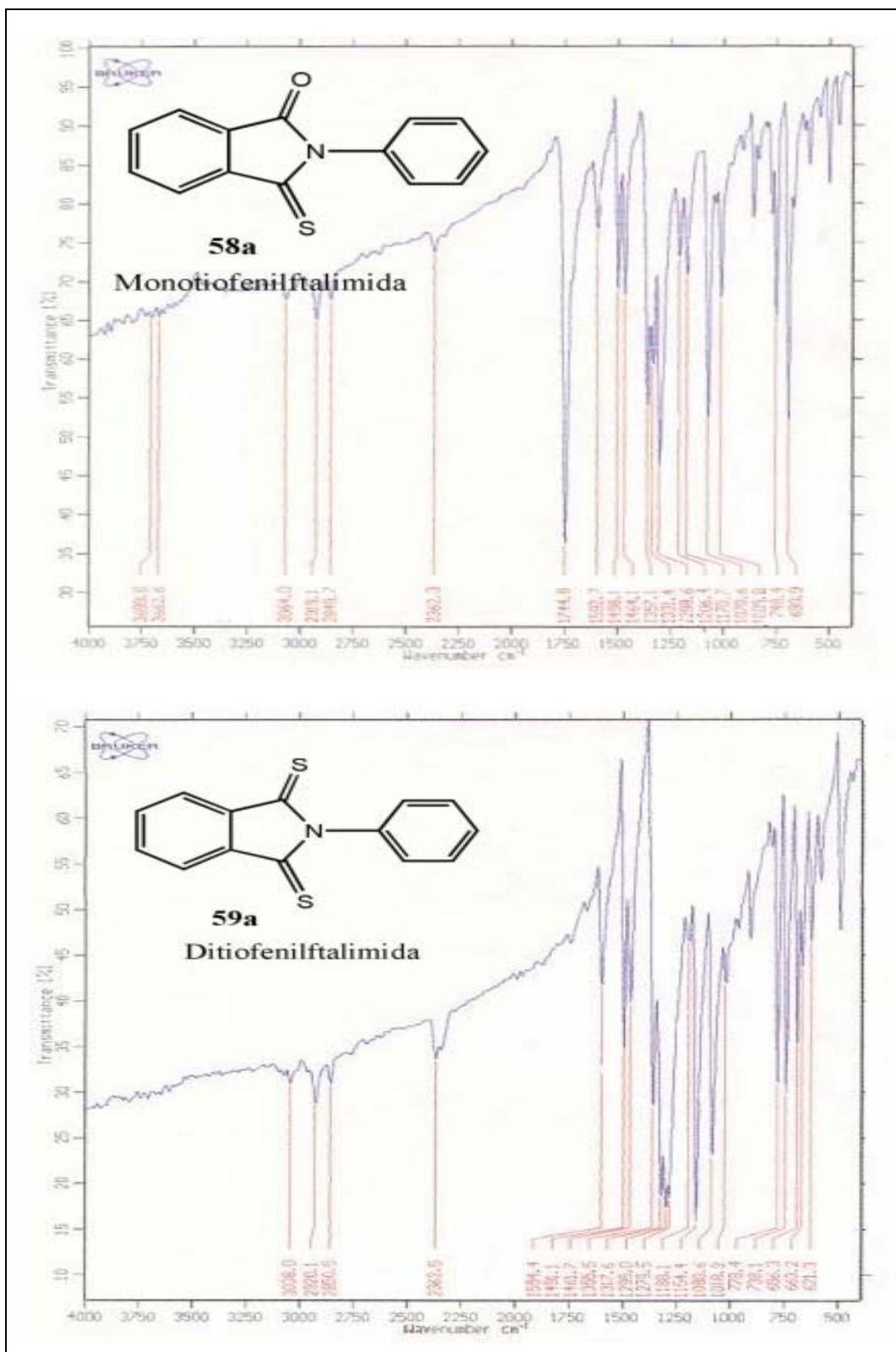


Figura 27b - Espectros de Infravermelho, em KBr, dos compostos monotiofenilftalimida (**58a**) e Ditiofenilftalimida (**59a**).

A tabela 7, mostra os principais sinais observados nos espectros de IV referente às vibrações específicas para cada produto obtido.

Tabela 7 - Dados dos espectros de absorção no IV (cm^{-1}) de algumas N-arilftalimidas, N-aril-monotioftalimidas e N-aril-ditioftalimidas.*

Compostos	C=C	C=O
56a	1594, 1466, 1452	1770, 1711
58a	1593, 1498, 1464	1745
59a	1594, 1491, 1462	–
56b	1588, 1526, 1486	1745, 1711
58b	1480, 1466	1749
59b	1495, 1465	–
56c	1580, 1550, 1530	1721, 1687
58c	1580, 1472, 1430	1760
59c	1584, 1474, 1429	–
56d	1610, 1540, 1495	1787, 1712
58d	1586, 1532, 1490	1698
59d	1491, 1468	–
56e	1550, 1530, 1482	1721, 1887
58e	1496, 1474	1742
59e	1499, 1460	–
56j	1610, 1495, 1482	1787, 1712
58j	1519, 1493, 1464	1755
59j	1488, 1444	–

* Espectros de infravermelho foram realizados em KBr.

Como o grupo funcional C=S tem momento dipolar pequeno, a banda é menos intensa e tem frequências mais baixa do que o grupo carbonila (C=O). Contudo, os estiramentos vibracionais desse grupo (C=S) podem ser encontrados na região de deformação axial entre $1200\text{-}1050\text{ cm}^{-1}$ acopladas com vibrações de outros grupos na molécula.^{23, 24} Alguns dos espectros de IV dos compostos acima descrito encontram-se no apêndice 2a.

3.2.2 – RMN 1H

Os compostos, **58a-e, j**, e **59a-e, j**, mostraram deslocamento químico para os prótons do anel aromático entre $\delta = 8,05-7,131$ ppm para os monotionados e $\delta = 7,88-7,15$ ppm para os produtos ditionados. Quando comparamos os compostos *N*-arilftalimidas (Tabela 3), com *N*-arilmonotioftalimidas e *N*-arilditioftalimidas (Tabela 8), verificamos que a substituição do átomo de oxigênio pelo átomo de enxofre no anel ftalimida provoca uma pequena mudança no deslocamento dos prótons H-4, H-5, H-6 e H-7, deslocando-os para um campo mais alto. Por exemplo: o próton H-7 do composto **56a** (fenilftalimida), aparece em campo mais baixo ($\delta = 7,95$ ppm - Tabela 3) do que para o composto **58a** (monotiofenilftalimida - $\delta = 7,62$ ppm - Tabela 8). Essa mudança nos deslocamentos dos prótons, pode ser observada mais claramente, quando comparamos o próton H-4 do composto **58a** que está sendo desblindado pelo oxigênio da carbonila, sendo portanto, deslocado para um campo muito mais baixo do que o próton H-4 do composto **59a**, que está sob a influência do átomo de enxofre.

Quando comparamos a fenilftalimida (**56a**) com a ditiofenilftalimida (**59a**), observamos o mesmo efeito. Os prótons H-4 e H-7 do composto **56a** estão em campo mais baixo ($\delta = 7,95$ ppm - Tabela 3) do que esses mesmos prótons no composto **59a** ($\delta = 7,88-7,83$ ppm - Tabela 8). Essa influência no deslocamento dos prótons, pode ser explicado pelo efeito eletronegativo do átomo de oxigênio sobre os prótons vizinhos a ele ser maior do que o efeito eletronegativo do átomo de enxofre, fazendo com que esses prótons ressonem em campo mais baixo.

A numeração, que aparece na figura 28, serve apenas para a identificação dos carbonos e dos respectivos prótons ligados aos mesmos. Os dados dos espectros de 1H -RMN, para os compostos **58a,b** e **59a-b**, são mostrados na Tabela 8.

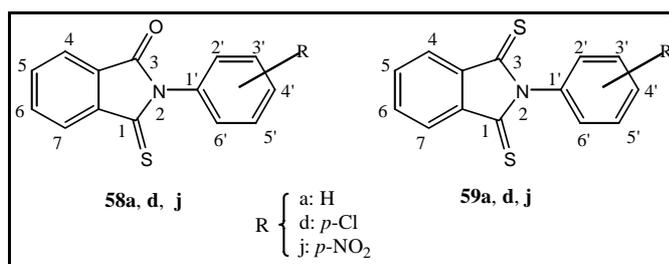


Figura 28

Tabela 8 - Deslocamentos químicos dos prótons dos compostos **58a, d, j** e **59a, d, j**.*

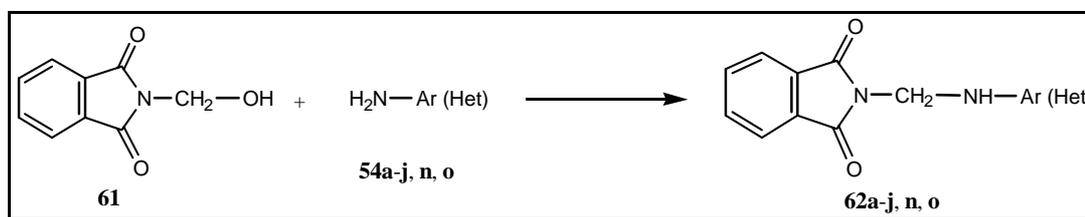
Comp.	¹ H-RMN δ (ppm) e J (Hz)	
	H-4, H-5, H-6 e H-7	Aril
58a	δ= 8,05 (dd, 1H, J= 3,2 e J= 5,2; H-4), δ= 7,86 (dd, 1H, J= 2,88 e J= 6,6; H-6), δ= 7,62 (m, 2H; H-5 e H-7).	δ= 7,53-7,45 (m, 3H, H-2', H-4' e H-6'); 7,38-7,33 (m, 2H, H-3' e H-5').
59a	δ= 7,88-7,83 (m, 2H, H-4 e H-6), δ= 7,69-7,64 (m, 2H, H-5 e H-7).	δ= 7,49-7,41 (m, 3H, H-3', H-4' e H-6'), δ= 7,23-7,15 (m, 3H, H-2', H-6').
58d	δ= 8,07 (dd, 1H, J= 2,7 e J= 7,5; H-4), δ= 7,88 (m, 1H; H-6), 7,79 (m, 2H, H-5 e H-7).	δ= 7,51 (dd, 2H, J=2,1 e J=6,9; H-2' e H-6'), δ= 7,33 (dd, 2H, J= 2,1 e J= 6,9; H-3' e H-5')
59d	δ= 7,85 (dd, 2H, J=2,8 e J= 6,0; H-4 e H-7), δ= 7,66 (dd, 2H, J= 3,0 e J= 5,6; H-5 e H-6).	δ= 7,40 (dd, 2H, J= 2,8 e J= 8,8; H-2' e H-6'), δ= 7,16 (dd, 2H, J= 2,1 e J= 8,6; H-3' e H-5').
58j	δ= 7,79 (dd, 1H, J=3,2 e J= 6,2; H-4), δ= 7,23-7,55 (m, 3H, H-5, H-6 e H-7).	δ= 8,48 (dd, 2H, J= 3,6 e J= 5,0; H-3' e H-5'), δ= 7,46-7,13 (m, 2H, H-2' e H-6').
59j	δ= 7,81 (dd, 2H, J=3,2 e J=5,8; H-4 e H-7), δ= 7,75 (dd, 2H, J=3,2 e J= 5,8; H-5 e H-6).	δ= 7,96 (dd, 2H, J=3,2 e J=5,8; H-3' e H-5'), 7,33-7,23 (m, 2H, H-2' e H-6').

* Os espectros de RMN ¹H foram realizados em 300 MHz, CDCl₃ como solvente e tetrametilsilano como padrão interno de referência. Deslocamentos químicos (δ), em ppm.

Os espectros de RMN dos demais compostos mono e ditionados obtidos são detalhados no capítulo 3 (parte experimental). Alguns dos espectros descritos acima, encontram-se no apêndice 2b.

3.3 – Síntese de N-(aril e 1,2,4-triazol-3 e 4-il-aminometil)ftalimidas

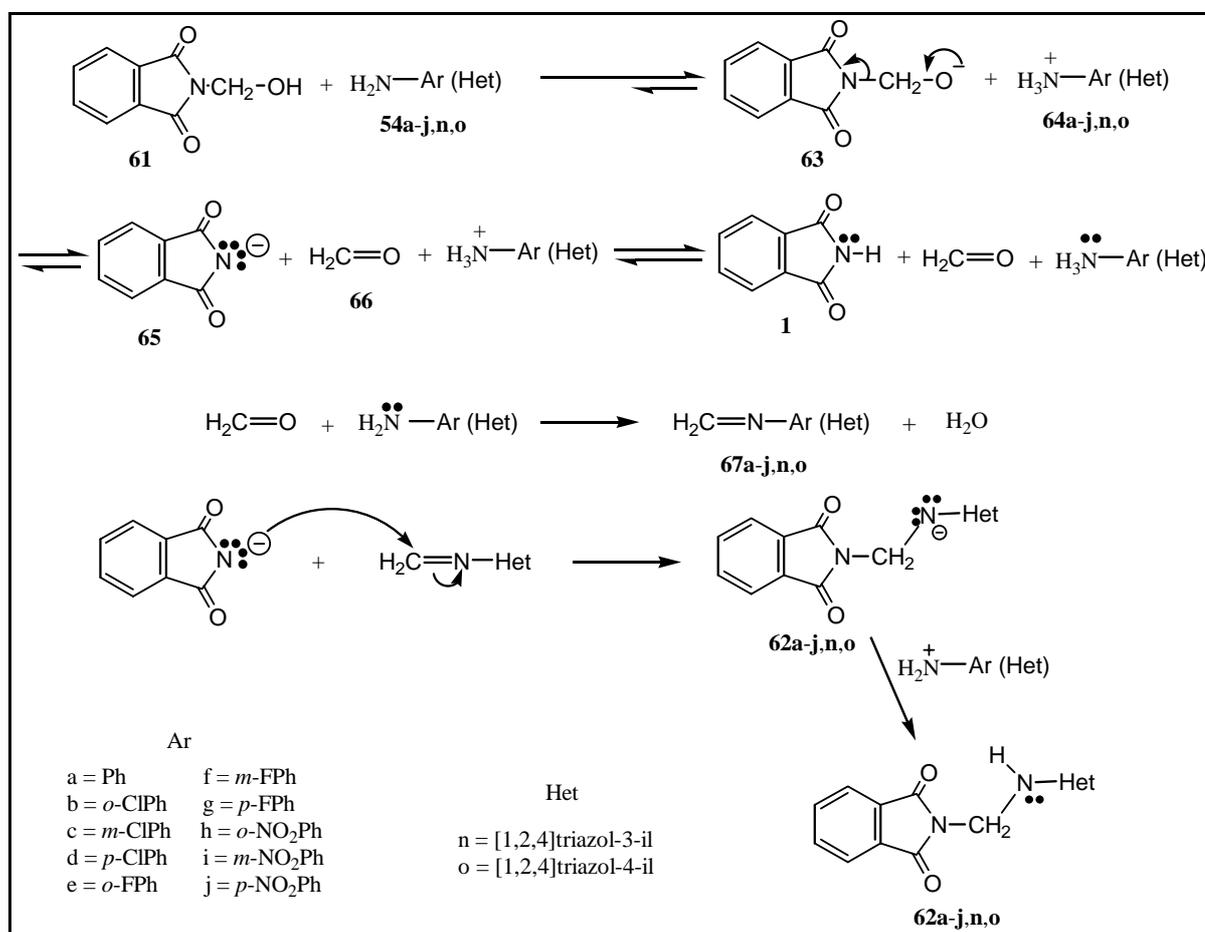
Os compostos **62a-j,n,o** foram preparados pela reação entre a N-(hidoximetil)ftalimida com uma amina aromática (**62a-j**) e 3- e/ou 4-amino-1,2,4-triazol **62n,o** (Esquema 17), seguindo o método proposto por Hoffman *et al.*²⁵



Esquema 17 – Síntese de N-(aril e 1,2,4-triazol-3 e 4-il-aminometil)ftalimidas

A reação foi acompanhada por TLC utilizando-se como sistema de solvente CHCl₃/EtOAc (60:40, v/v), e após 3 horas verificou-se o desaparecimento dos reagentes iniciais e o aparecimento de uma nova mancha com R_f = 0,6. Os novos compostos (**62e-j, n, o**) foram caracterizados pelos espectros de IV, UV, RMN ¹H e análise elementar.

O mecanismo de formação desse tipo de reação não é conhecido, por esta razão estamos sugerindo um mecanismo razoável para formação dos produtos **62a-j,n,o** (Esquema 18).



Esquema 18 – Mecanismo de formação dos produtos *N*-(aril e 1,2,4-triazol-3- e 4-il-aminometil)ftalimida (**62a-j, n, o**) a partir de hidroximetilftalimida (**61**)

Um provável mecanismo para esta reação envolve, inicialmente, a abstração de um próton da hidroximetilftalimida (**61**) pelo grupo amino da arilamina (**54a-j,n,o**), produzindo um ânion (**63**) que ajuda a clivar a ligação C-N resultando na formação de formaldeído (**66**) e um ânion ftalimida estabilizado (**65**). O formaldeído, produzido nesta reação, reage rapidamente com a amina (**54a-j,n,o**) para formar imina (**67 a-j,n,o**). Finalmente, chegamos ao produto desejado (**62 a-j,n,o**) através do ataque do ânion ftalimida (**65**) ao átomo de carbono da imina (**67 a-j,n,o**), produzido durante a reação.

3.3.1 - Infravermelho (IV)

A tabela 9 mostra os principais sinais do espectro de IV para estes produtos. Os sinais apresentados na região de 3392-3453 cm⁻¹ são devidos ao estiramento vibracional da ligação N-

H. Os sinais intensos encontrados na região 1747-1775 cm^{-1} , com duas absorções, corresponde a deformação axial simétrica e assimétrica da ligação C=O do grupo imida. Os sinais que foram mostrados na região correspondente a ligação C=C, apareceram entre 1621-1406 cm^{-1} . A deformação axial correspondente a ligação C=N dos compostos **62n,o** encontra-se entre 1527-1604 cm^{-1} , contudo, mistura-se aos sinais da ligação C=C. O Apêndice 3a mostra alguns dos espectros de IV dos compostos descritos acima.

Tabela 9. Absorções de alguns grupos no IV (em Nujol) dos compostos *N*-(aril e 1,2,4-triazol-3- e 4-il-aminometil)ftalimida (**62a-j, n, o**).

Compostos	N-H	C-H	C=O	C=C	C-X
62a	3384	2956, 2923, 2854	1767, 1709	1603, 1520, 1498	-
62b	3421	2952, 2921, 2852	1767, 1712	1596, 1517, 1458	752, 722 (C-Cl)
62c	3384	2922, 2853	1764, 1707	1594, 1485, 1460	1173, 1090 (C-Cl)
62d	3380	3055, 2960	1768, 1712	1597, 1515, 1489	818, 726 (C-Cl)
62e	3434	3063, 2924, 2854	1767, 1713	1621, 1526, 1460	754, 727 (C-F)
62f	3389	2956, 2925, 2855	1710, 1767	1618, 1591, 1499	853, 774 (C-F)
62g	3394	2923, 2854	1763, 1709	1515, 1460, 1406	1089, 831(C-F)
62h	3445	2955, 2923, 2853	1779, 1770	1608, 1460, 1426	732 (C-NO ₂)
62i	3416	2954, 2923, 2853	1773, 1709	1625, 1536, 1521	729 (C-NO ₂)
62j	3357	2954, 2923, 2853	1768, 1707	1604, 1477, 1465	850 (C-NO ₂)
62n	3392	3040, 2852	1770, 1747	1527, 1492, 1467	-
62o	3453	3069, 2987	1775, 1752	1604, 1468, 1387	-

3.3.2 - Ultravioleta (UV)

Os espectros de UV das ftalimidas em MeOH, são caracterizadas pela presença de três bandas características em 219, 283 e uma entre 290 e 300 nm.²⁶ Em nossos estudos, os compostos **62a-j,n,o** apresentaram de quatro a seis bandas de absorção caracterizando as transições $n \rightarrow \pi^*$ e $\pi \rightarrow \pi^*$. Por exemplo, o composto *N*-(fenilaminometil)ftalimida (**62a**), mostrou 5 bandas. Sendo quatro de alta energia (transições $\pi \rightarrow \pi^*$ - 207, 218, 230 e 238 nm) e

uma de baixa energia (transições $n \rightarrow \pi^*$ - 286 nm). A tabela 10, mostra as principais absorções encontradas para os compostos **62a-j,n,o**.

Tabela 10 – Dados de absorções dos espectros de ultravioleta dos compostos **62a-g**.*

Compostos	Transições $n \rightarrow \pi^*$	Transições $\pi \rightarrow \pi^*$
	λ_{\max} nm (ϵ)	λ_{\max} nm (ϵ)
62a	286 (4843)	207 (43014), 218 (46486), 230 (27315), 238 (24212)
62b	292 (2890)	206 (40810), 218 (34430), 231 (17037), 239 (15454)
62c	282 (1951)	209 (21482), 240 (6473), 248 (5751)
62d	296 (1821)	207 (21918), 218 (26536), 232 (12222), 240 (12491), 250 (10842)
62e	286 (1779)	206 (20425), 218 (26321), 232 (15607), 239 (12805)
62f	287 (1316)	208 (15724), 213 (16481), 218 (17489), 231 (9211), 239 (8778)
62g	297 (2077)	207 (21959), 218 (26232), 230 (14187), 238 (11781)
62h	286 (2905)	217 (48284), 229 (22486), 238 (14878)
62i	282 (4797), 372 (1331)	218 (46067), 231 (34297), 239 (28076), 250 (17042)
62j	304 (3916), 364 (15148)	218 (38944), 239 (13704)
62n	293 (21950)	206 (23750), 225 (12605), 258 (46900)
62o	293 (82100)	205 (23396), 222 (12386), 246 (51350)

*Os espectros de UV foram medidos em espectrofotômetro U3200 Hitachi, empregando metanol como solvente.

Ao analisarmos os espectros de absorção no UV do composto que tem o átomo de H substituído pelo átomo de Cl nas posições *o*- (**62b**) ou *p*- (**62d**), verificamos que houve um deslocamento batocrômico nas transições $n \rightarrow \pi^*$ de 6 e 10 nm respectivamente, contudo o mesmo não foi observado para o composto *meta*- substituído. Essas transições podem ser devido as duplas ligações envolvendo a carbonila (C=O), ou mesmo pela presença do halogênio. Um fato interessante nesses compostos é que nas transições $\pi \rightarrow \pi^*$, um deslocamento batocrômico na absorção máxima é observado na ordem *o*- < *m*- > *p*- de 7, 8 e 9; além da presença de mais uma banda (250 nm) para o composto **62d**. Em 1997, Perisié-Janjié *et al.*,²⁷ relataram um estudo sobre a protonação do composto *N*-(4-X-fenilaminometil)ftalimida e verificaram que o aumento da acidez nesses compostos é acompanhado pela diminuição na intensidade de absorção máxima na forma neutra e que simultaneamente ocorre um deslocamento batocrômico na absorção máxima. Sendo estas mudanças no espectros devido a protonação do grupo amino.

Os compostos contendo um átomo de F (**62e-g**) substituindo o átomo de H no anel fenil-substituído, apresentaram também um deslocamento batocrômico nas transições $n \rightarrow \pi^*$, apenas para o composto *N*-(4-F-fenilaminometil)ftalimida (**62g**) de 11nm, contudo sua intensidade de absorção máxima (ϵ_{\max}) diminuiu de 4843 para 2077 L mol⁻¹ cm⁻¹. Interessantemente, nas transições $\pi \rightarrow \pi^*$, não foi verificado nenhum deslocamento batocrômico, mesmo assim, foi observado uma diminuição na intensidade de absorção máxima (Tabela 10).

Os isômeros contendo o grupo NO₂ (**62h-j**), nas transições de baixa energia, foram observadas a presença de mais uma absorção (372 nm) no composto **62i**, e duas absorções deslocadas para o vermelho (304 e 364 nm) para o **62j**. Não foi observada nenhuma mudança no isômero *orto*-, neste tipo de transição. Nas transições de alta energia ($\pi \rightarrow \pi^*$), foram observadas, deslocamentos batocrômico na ordem *orto* (238) < *meta* (250) > *para* (239) quando comparados ao composto **62a** (232 nm). Nestes isômeros, foram verificados também, uma diminuição na absorção máxima (Tabela 10). A literatura relata²⁸ que o anel benzeno di-substituído com grupos eletronicamente complementares tais como: amino e nitro em posição *para*, desloca a principal banda de absorção para o vermelho e tem comportamento similar aos descritos para os três isômeros acima descritos.

Os compostos da série contendo o anel 1,2,4-triazol 3- e 4-il (**62n,o**), tiveram comportamentos similares aos descritos anteriormente; a tabela 10 mostra as principais absorções para esses compostos. O apêndice 3b mostra alguns dos espectros descrito acima.

3.3.3 - RMN ^1H

Ao analisarmos os espectros de ^1H RMN dos compostos **62a-g**, observamos que os prótons metilênicos ($-\text{CH}_2-$) ligados ao grupamento amínico ($-\text{NH}-$), apresentaram deslocamentos pouco comuns quando comparados entre si. Por exemplo, os prótons metilênicos dos compostos *meta*- (**62c**) e *para*-cloro (**62d**) apresentaram um deslocamento químico a campo mais baixo ($\delta = 5,15$ ppm) do que os prótons metilênicos do composto *orto*-cloro **62b** ($\delta = 5,24$ ppm) apesar de estarem sob a influência do $-\text{NH}$ (Tabela 11).

Os três isômeros fluorados também apresentaram deslocamentos dos prótons metilênicos (CH_2) em campo baixo ($\delta = 5,14-5,21$ ppm) como esperado (Tabela 11). Um comportamento semelhante do grupo metilênico foi observado para os compostos *orto*- NO_2 (**62h**), *meta*- NO_2 (**62i**) e *para*- NO_2 (**62j**) com deslocamentos químicos de $\delta = 5,26$, $5,21$ e $5,22$ ppm respectivamente.

A tabela 11, mostra os principais deslocamentos para os compostos *N*-(X-fenil)ftalimida (**62a-j**), e a numeração da figura 29 serve apenas para a identificação dos carbonos e seus respectivos prótons.

Os prótons arilas dos compostos dessa série, apareceram numa faixa de deslocamento entre $\delta = 8,21$ e $6,40$ ppm, apresentando de quatro a cinco grupos com fortes sinais e várias linhas indicando um alto grau de complexidade (Tabela 9).

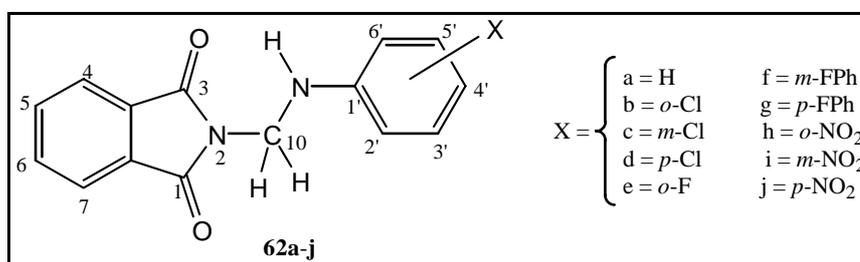


Figura 29 - Numeração para identificação dos carbonos e respectivos prótons das *N*-(X-fenilaminometil)ftalimidas

Tabela 11 - Deslocamentos químicos de prótons dos compostos 62a-j.*

Comp.	NH	CH ₂	Aril-H
62a	δ= 4,84 (t, 1H, J= 7,8 Hz)	δ= 5,18 (d, 2H, J= 8,1 Hz)	δ= 7,81 (dd, 2H, J= 3,0 e 5,4 Hz; H-4 e H-7), 7,68 (dd, 2H, J= 3,0 e 5,4 Hz; H-5 e H-6), 7,18 (ddd, 2H, J= 2,1; 6,2; 7,2 Hz; H-5' e H-3'); 6,86 (dt, 2H, J= 1,2; 7,8 Hz; H-6' e H-2'); 6,76 (m, 1H, H-4').
62b	δ= 5,45 (t, 1H, J=8,1 Hz)	δ= 5,24 (d, 2H, J= 8,1 Hz)	δ= 7,83 (dd, 2H, J= 2,7 e 5,4 Hz; H-4 e H-7), 7,70 (dd, 2H, J= 3,0 e 5,1 Hz; H-5 e H-6), 7,24-7,18 (m, 2H, H-5' e H-3'); 7,14 (dd, 1H, J= 1,5 e 8,1 Hz; H-6'), 6,66 (ddd, 1H, J= 1,8; 7,5 e 7,5 Hz; H-4').
62c	δ= 4,87 (t, 1H, J= 7,8 Hz)	δ= 5,15 (d, 2H, J= 7,8 Hz)	δ= 7,84 (dd, 2H, J= 3,0 e 5,4 Hz; H-4 e H-7), 7,71 (dd, 2H, J=3,0 e 5,4 Hz; H-5 e H-6), 7,09 (t, 1H, J= 8,1 Hz; H-5'), 6,86 (t, 1H, J= 1,8 Hz; H-2'), 6,74 (ddd, 2H, J= 1,8, 8,4 e 7,8 Hz; H-4' e H-6').
62d	δ= 4,82 (t, 1H, J= 7,5 Hz)	δ= 5,15 (d, 2H, J= 8,1 Hz),	δ= 7,83 (dd, 2H, J= 3,0 e 5,4 Hz; H-4 e H-7), 7,16 (dd, 2H, J= 2,8 e 5,7 Hz; H-5 e H-6), 7,12 (dd, 2H, J= 2,1 e 6,6 Hz; H-3' e H-5'), 6,79 (dd, 2H, J= 2,4 e 6,6 Hz; H-2' e H-6').
62e	δ= 5,09 (t, 1H, J= 6,0 Hz)	δ= 5,21 (d, 2H, J= 7,8 Hz)	δ= 7,83 (dd, 2H, J= 3,3 e 5,4 Hz; H-4 e H-7), 7,63 (dd, 2H, J= 3,0 e 5,4 Hz; H-5 e H-6), 7,19 (ddd, 1H, J= 8,7, 8,4, 1,5 Hz; H-5'), 7,03 (m, 1H, H-3'), 6,92 (ddd, 1H, J= 1,2, 1,5 e 8,4 Hz; H-4'), 6,71-6,64 (m, 1H, H-6').
62f	δ= 4,94 (t, 1H, J= 7,5 Hz)	δ= 5,14 (d, 2H, J= 7,8 Hz)	δ= 7,83 (dd, 2H, J= 3,0 e 5,7 Hz; H-4 e H-7) 7,70 (dd, 2H, J= 3,0 e 5,7 Hz; H-5 e H-6), 7,11 (ddd, 1H, J= 8,1, 8,1 e 5,1 Hz; H-5'), 6,62-6,58 (m, 2H, H-2' e H-6'), 6,47-6,40 (m, 1H, H-4').
62g	δ= 4,71 (t, 1H, J= 8,1 Hz)	δ= 5,14 (d, 2H, J= 7,8 Hz)	δ= 7,82 (dd, 2H, J= 3,0 e 5,7 Hz; H-4 e H-7) 7,70 (dd, 2H, J= 3,0 e J= 5,4 Hz; H-5 e H-6), 6,87 (m, 2H, H-2' e H-6'), 7,79 (m, 2H, H-3' e H-5').
62h	δ= 5,02 (t, 1H, J= 5,7 Hz)	δ= 5,26 (d, 2H, J= 8,1 Hz)	δ= 8,21 (dd, 1H, J= 1,8 e 8,7 Hz; H-3'), 7,90 (dd, 2H, J=3,0, 5,4 Hz; H-4 e H-7) 7,76 (dd, 2H, J= 3,0 e 5,4 Hz; H-5 e H-6), 7,52 (ddd, 1H, J= 7,8, 7,2 e 1,2 Hz; H-5'), 7,00 (dd, 1H, J= 1,2 e 8,7 Hz; H-6'), 6,80 (ddd, 1H, J= 1,2, 7,2 e 8,7 Hz; H-4').
62i	δ= 5,16 (b, 1H)	δ= 5,21 (s, 2H)	δ= 7,87 (dd, 2H, J= 3,0 e 5,7 Hz; H-4 e H-7), 7,73 (m, 3H, H-4, H-5 e H-2'), 7,60 (ddd, 1H, J= 8,1, 2,4 e 1,8 Hz; H-4'), 7,32 (t, 1H, J= 8,1 Hz; H-5'); 7,18 (ddd, 1H, J= 8,4, 2,7 e 2,1 Hz; H-6').
62j	δ= 5,45 (t, 1H, J= 8,0 Hz)	δ= 5,22 (d, 2H, J= 7,5 Hz),	δ= 8,10 (dd, 2H, J=2,1 e 7,2 Hz; H-3' e 5'), 7,87 (dd, 2H, J= 3,0 e 5,7 Hz; H-4 e H-7), 7,75 (dd, 2H, J=3,0 e 5,7 Hz; H-4 e 5), 6,88 (dd, 2H, J=2,1 e 7,2 Hz; H-2' e H-6').

* Espectros de RMN ¹H em 300 MHz, CDCl₃ como solvente e tetrametilsilano como padrão interno de referência. Deslocamentos químicos (δ) em ppm e J em Hz.

Os prótons arilas dos compostos contendo um átomo de cloro (**62b-d**) ou flúor (**62e-g**) da ftalimida (Tabela 11), apareceram como dois conjuntos de dubleto de dubleto e deslocamento entre $\delta = 7,83-7,63$ ppm e os do anel fenil-substituídos entre $\delta = 7,24-6,47$ ppm. Os prótons arilas da série contendo o grupo NO_2 , apresentaram deslocamento em campo mais baixo ($\delta = 8,21-8,10$ ppm para os compostos **62h** e **j**, respectivamente) do que os prótons do anel ftalimida ($\delta = 7,87-7,75$ ppm). Apesar da forma de sinais do composto **62i**, que apareceram entre $\delta = 7,75$ e $7,72$ ppm, evidenciando a presença de três prótons (H-5, H-6, e H-2'), serem um pouco confusa, ou seja, apresentou-se como um multipletto bastante apertado; foi possível visualizar a multiplicidade dos sinais referente aos prótons H-5 e H-6 ($J = 3,0$ e $J = 5,4$ Hz), contudo, não foi possível visualizar a multiplicidade do próton H-2' (Tabela 11).

O espectro de ^1H RMN do composto **62n** apresentou um simpleto em $\delta = 11,34$ ppm referente ao próton -NH do anel triazólico. Também, em baixo campo ($\delta = 8,68$ ppm) apareceu um outro simpleto com 1H representando o próton H-5' do anel triazólico. O anel ftalimida mostrou um multipletto (m, 4H, H-4, H-5, H-6 e H-7) com deslocamento entre $\delta = 7,89-7,75$ ppm. O composto **62o** teve os deslocamentos químicos dos prótons como esperado (Tabela 12). Alguns dos espectros descritos acima podem ser observados no apêndice 3c.

Tabela 12 - Deslocamentos químicos referente aos prótons do composto **62o**

Comp.	CH do anel triazólico	Aril-H, NH e CH_2
62o	$\delta = 8,48$ ppm (s, 2H, H-3' e H-5')	$\delta = 7,84-7,48$ ppm (s, 4H, H-4, H-5, H-6 e H-7); $7,52$ (1H, t, $J = 5,1$ Hz, NH), $4,77$ (2H, d, $J = 4,8$ Hz; CH_2).

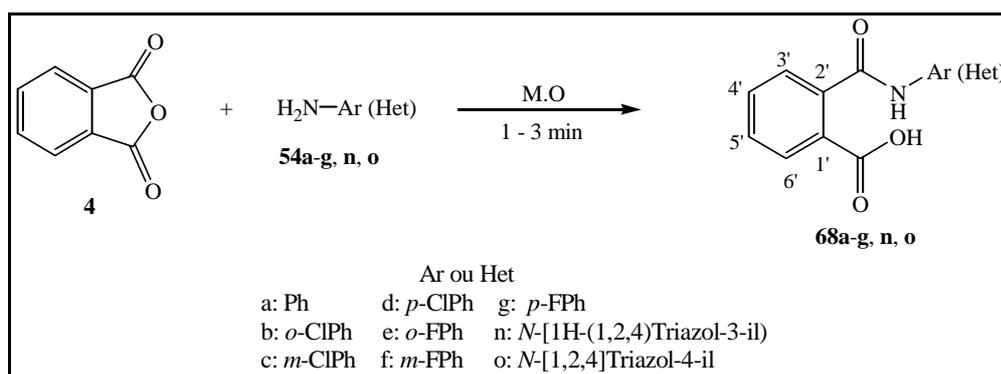
*Espectros de RMN ^1H em 300 MHz, DMSO-d_6 como solvente e tetrametilsilano como padrão interno de referência. Deslocamentos químicos (δ) em ppm e J em Hz.

3.4 – Obtenção dos Ácidos N-arilftalâmicos

Em uma tentativa para se preparar ftalimidas N-substituídas, usando forno de microondas doméstico com a finalidade de se reduzir o tempo de reação, descobrimos uma síntese eficiente para obtenção de ácidos ftalâmicos exclusivamente em 1-3 minutos. Os detalhes são descritos abaixo.

Os ácidos *N*-arilftalâmicos (**68a-g,n,o**) foram obtidos reagindo-se anidrido ftálico (**4**) e uma amina aromática (**54a-g**) e/ou uma amina heterocíclica (**54n, o**), em forno de microondas doméstico. Nesta reação, nenhuma formação das *N*-arilftalimidas foi observada.

A reação baseou-se no princípio de que dois reagentes sólidos com baixo ponto de fusão ou um reagente sólido e um líquido são capazes de fundir-se rapidamente dando um líquido polar, os quais são mais propensos a absorver microondas. Nessas condições, a temperatura pode ser em torno de 135 °C e a reação pode ocorrer quando o anidrido ftálico dissolve nas aminas.²⁹ Esta reação ocorreu através da abertura do anel promovido pelo ataque nucleofílico do átomo do nitrogênio sobre o carbono carbonil do anidrido ftálico, com conseqüente formação dos ácidos (Esquema 19).



Esquema 19 – Síntese de ácidos *N*-arilftalâmicos.

Embora, os ácidos ftalâmicos **68a-g** sejam conhecidos, a literatura não cita o forno de microondas para sintetizá-los, sendo este, um novo método de obtenção. Os compostos **68n-o** (Figura 30) são inéditos, portanto. Todos os compostos foram caracterizados por seus espectros de IV, RMN ¹H e análise elementar.

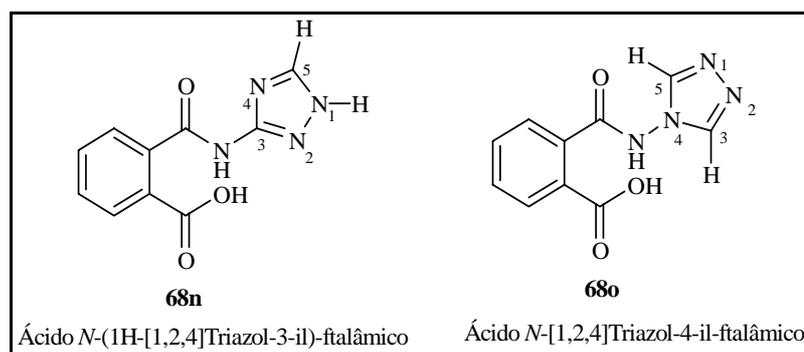


Figura 30 – Ácidos *N*-(1,2,4-triazol-3- e 4-il)ftalâmicos

3.4.1 – Infravermelho (IV)

Os espectros de IV dos compostos **68a-g** e **68m-n** exibiram absorções entre 3326–3265 cm^{-1} , os quais são característicos do grupo –NH. A absorção no IV de –NH do anel heterocíclico mostrou três bandas características do estiramento do anel em, 1527, 1492 e 1465, duas fortes absorções entre 1720 e 1679 que são devidos as frequências de estiramento vibracionais do grupo carbonil. O estiramento vibracional referente ao grupo -OH apareceu na região 3000–2500 cm^{-1} .

3.4.2 – Ressonância Nuclear Protônica (RMN ^1H)

O espectro de RMN ^1H desses compostos mostraram características interessantes, que nos permitiu identificar a natureza dos prótons. O próton –OH de **68a-g** apareceu em torno de δ 10,5 e 9,3 ppm, enquanto que os prótons -OH de **68n** e **68o** absorveu entre δ 10,65 e 11,97 ppm, respectivamente. Um pico largo correspondente ao próton -NH próton apareceu entre δ 2,91 e 3,42 ppm correspondendo aos compostos **68a-g**. Os prótons NH (amida) de **68n** e **68o** absorveram junto com a água presente no DMSO, e o -NH do anel triazol dos compostos **68n, o** apareceu na região aromática em δ 8,05 ppm. Os prótons aromáticos de todos os compostos apareceram na região característica. O próton H-5 de **68n** apareceu como um simpleto em δ 8.74 ppm, e os prótons H-3 e H-5 de **68o** também mostraram um simpleto em 8.66 ppm, respectivamente (Tabela 13).

Tabela 13 – Deslocamentos químicos dos prótons dos ácidos *N*-(1H-[1,2,4]triazol-3-il-ftalâmico (**68n**) e *N*-[1,2,4]triazol-4-il-ftalâmico (**68o**).

Comp.	¹ H-RMN δ (ppm) e J (Hz)		
	-OH	-CH _(triazol)	H-Aril e -NH-CO-
68n	δ= 10,65 (1H, largo)	δ= 8,74 (1H, s, H-5)	δ= 8,05-7,96 (5H, m, H-3' e H-4', H-5', H-6' e NH-CO-).
68o	δ= 11,97 (1H, largo)	δ= 8,65 (2H, s, H-3 e H-5)	δ= 8,00 (1H, dd, J= 1,2 e J= 7,8 ; H-6'); δ= 7,83-7,63 (4H, m, H-3', H-4', H-5', H-6' e -NH-CO-)

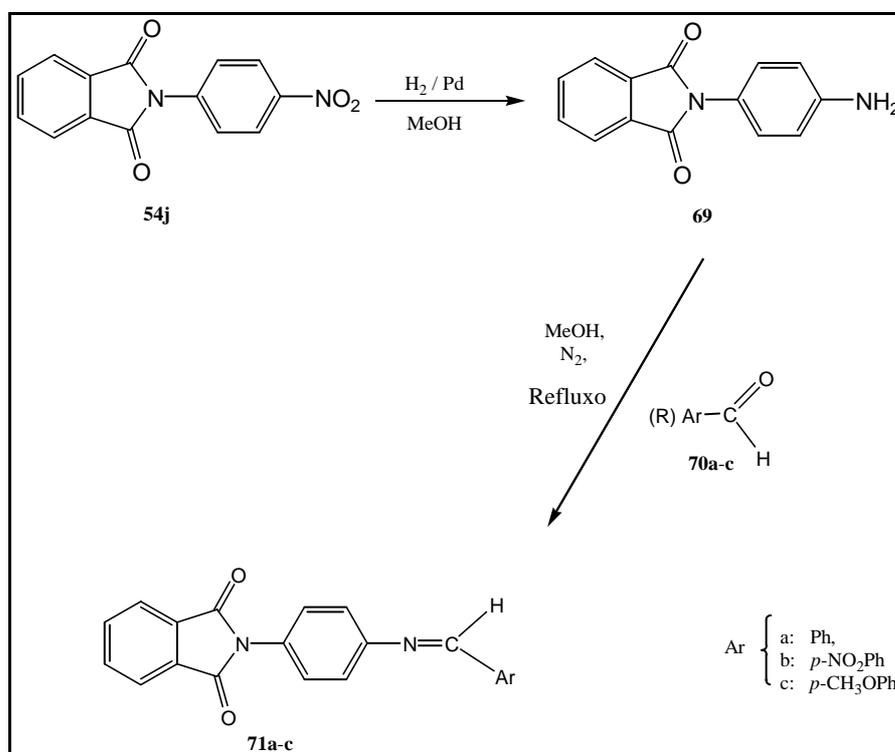
* Espectros de RMN ¹H em 300 MHz, usando DMSO-d₆ como solvente e tetrametilsilano como padrão interno de referência. Deslocamentos químicos (δ), em ppm.

3.5 – Reações para obtenção de Iminas e Ácidos

3.5.1 – Obtenção de Iminas

Após obtenção do 4-nitrofenilftalimida (**56j**), partimos para sínteses de iminas que são intermediários na preparação de uma ampla variedade de compostos orgânicos como: triazolinas,³⁰ diaziridinas e aziridinas,³¹ uma vez que esses compostos também possuem importantes atividades biológicas, por exemplo, anticancerígena,³² e antiinflamatória.³³

As iminas (**71a-c**) foram obtidas através da reação de condensação do *p*-aminofenilftalimida (**69**) com aldeído aromático e/ou alquil-aldeído (**70a-c**) (Esquema 20), segundo o método de Kadaba.³⁴

Esquema 20 – Síntese de iminas a partir de *N*-(4-aminofenil)ftalimida

As estruturas dos compostos (**71a-c**) foram deduzidas através de RMN ¹H, IV e espectrometria de massas.

3.5.1.1 – Infravermelho (IV)

Os espectros de IV das substâncias desta série (**71a-c**), apresentaram sinais intensos na região entre 1775 - 1706 cm⁻¹ como duas absorções correspondentes as deformações axiais assimétrica e simétrica da ligação C=O do grupo imida. Os sinais que apareceram na região de 1625 - 1570 cm⁻¹ foram devido a deformação axial da ligação C=N do grupo imina e na região de 1595 - 1501 cm⁻¹ foram correspondentes a ligação C=C do anel aromático cm⁻¹. Os sinais entre 3065 e 2873 são relativos aos estiramentos da ligação CH. Também nesses compostos, apareceram sinais de deformação axial da ligação C-N entre 885 - 813 cm⁻¹. O espectro da substância **71c**, além dos sinais mencionados acima, apresentou sinais característicos do grupo OCH₃ (2842 cm⁻¹), e da substância **71b**, sinais relativo ao estiramento assimétrico e simétrico grupo NO₂ (1514 e 1339 cm⁻¹, respectivamente). Os principais sinais para essa série são mostrados na parte experimental.

3.5.2 – RMN ¹-H

Todos os compostos dessa série (**71a-c**), apresentaram em comum um sistema do tipo AA'BB', sistema esse, característico dos prótons aromáticos do anel ftalimida, os quais são quimicamente equivalentes, contudo não são magneticamente iguais. Os demais sistemas além de serem AA'BB', também é de ordem superior, pois existem mais sinais em torno desses sistemas. A numeração que aparece na figura 31, serve apenas para identificação dos carbonos e respectivos prótons ligados a ele e a tabela 14 mostra os principais sinais apresentados por esses compostos.

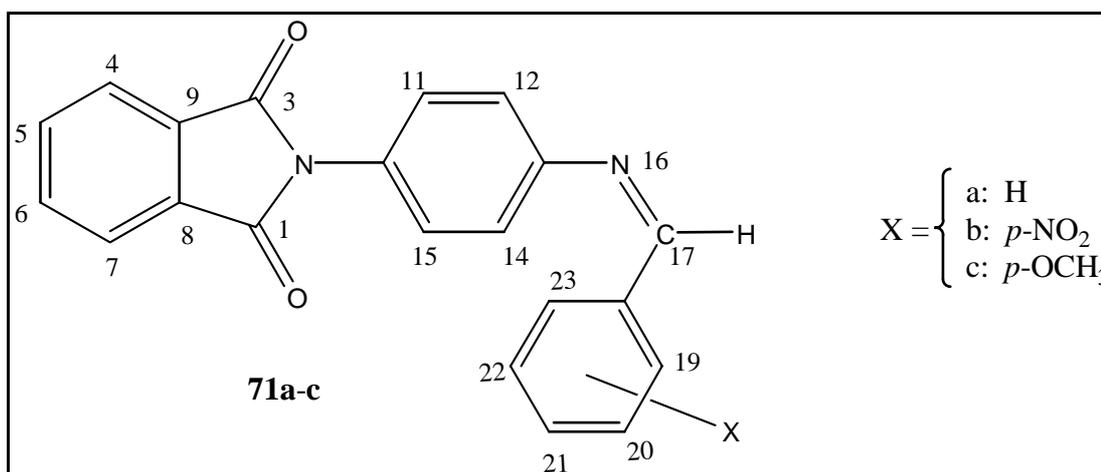


Figura 31 - 2-[4-[(4-X-benzilideno)-amino]fenil]-isoindol-1,3-diona

Tabela 14 – Deslocamentos químicos dos prótons 2-{4-[(4-X-benzilideno)-amino]fenil}-isoindol-1,3-diona (**71a-c**).*

Comp.	¹ H-RMN δ (ppm) e J (Hz)	
	-CH	Ar-H
71a	δ= 8,42 (1H, s, H-17)	δ= 7,91 (dd, 2H, J= 3,0, J= 5,7 Hz; H-4 e H-7), 7,86 (dd, 2H, J= 3,0, 5,7; H-5 e H-6), 7,74 (dd, 2H, J= 3,0 e J= 5,7 Hz; H-11 e H-15), 7,44-7,40 (m, 5H, H-19, H-20, H-21, H-22, H-23), 7,26 (dd, 2H, J=2,4 e J= 6,6; H-12 e H-14).
71b	δ= 8,59 (1H, s, H-17)	δ= 8,34 (d, 2H, J= 9,0 Hz; H-20, H-22), 8,11 (d, 2H, J= 9,0 Hz; H-4, H-7), 7,99 (dd, 2H, J= 3,0 e J= 5,7 Hz; H-19 e H-23), 7,83 (d, 2H, J= 8,7 Hz; H-5, H-6), 7,54 (d, 2H, J= 9,0 Hz; H-11, H-15), 7,39 (d, 2H, J= 9,0 Hz; H-12, H-14).
71c **	δ= 8,42 (1H, s, H-17)	δ= 7,97 (dd, 2H, J= 2,7, J= 5,4 Hz; H-4, H-7), 7,87 (d, 2H, J= 9,0 Hz; H-5, H-6), 7,8 (dd, 2H, J= 3,0, J= 5,4 Hz; H-11, H-15), 7,46 (d, 2H, J= 8,7 Hz; H-19, H-23), 7,28 (d, 2H, J= 8,4 Hz; H-12, H-14), 7,00 (d, 2H, J=8,7; H-20, H-22).

* Espectros de RMN ¹H em 300 MHz, usando CDCl₃ como solvente e tetrametilsilano como padrão interno de referência. Deslocamentos químicos (δ), em ppm. **O composto **71c**, apresentou um simpleto com integração para 3H, e deslocamento em δ = 3,89 ppm, relativo ao grupo metoxi (OCH₃) ligado ao C-21.

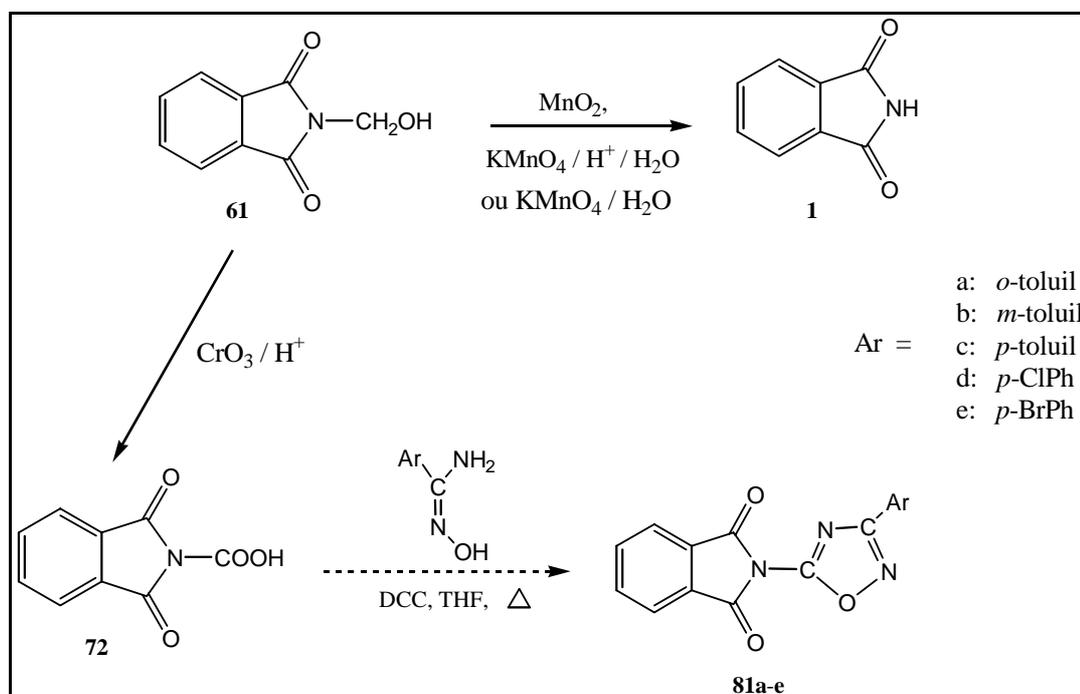
Os espectros de RMN ¹H das substâncias em análises (**71a-c**), mostraram em comum um simpleto em campo baixo (δ = 8,42, 8,59 e 8,42 ppm respectivamente), devido ao próton H-17 do grupo imínico. Valores similares tem sido observado anteriormente para iminas.³⁵

Os prótons da metoxila (-OCH₃) ligada ao C-21 do composto **71c**, apareceu como simpleto, em campo alto δ 3,89 ppm. Os prótons aromáticos da ftalimida, apareceram como esperado. Um dubleto de dubleto em 7,97 ppm (2H, J= 5,4 e 2,7 Hz; H-4 e H-7) e um dubleto em 7,87 ppm (2H, J= 9,0 Hz; H-5 e H-6). Os prótons H-11 e H-15, apareceram como dubleto de dubleto (δ 7,8 ppm e J = 3,0 e 5,4 Hz). Os prótons H-12 e H-14, apresentaram deslocamento em campo um pouco mais alto (δ 7,28) do que os prótons H-19 e H-23 (δ 7,46) do anel fenila ligado ao C-17. Maiores detalhes são encontrados na parte experimental.

O composto **71b**, mostrou um simpleto em 8,60 ppm devido ao próton H-17 do grupo imínico.

3.5.2 – Oxidação da hidroximetilftalimida

Inicialmente, tentou-se obter o ácido ftalimídico usando MnO_2 em meio neutro,³⁶ KMnO_4 em meio neutro e/ou ácido, para oxidação da hidroximetilftalimida (**61**), no entanto o produto obtido através dessas oxidações foram apenas ftalimida **1** (Esquema 21). Quando fizemos essa oxidação com reativo de Jones (CrO_3/H^+) obtivemos o ácido desejado (Esquema 21) com ponto de fusão diferente do ponto de fusão da hidroximetilftalimida e ftalimida. Contudo, por ser instável e por ter sido obtido em pequenas quantidades não tivemos tempo de dar continuidade ao propósito para o qual foi sintetizado.



Esquema 21 - Obtenção do ácido 1,3-dioxo-1,3-dihidro-isoindol-2-carboxílico

A síntese do ácido **72** foi feita com o propósito de reagir-lo com arilamidoximas para se obter *N*-(1,2,4-oxadiazol-5-il)ftalimidas **81a-e** (o mecanismo desta reação encontra-se no capítulo 6 - expectativas, esquema 23). Este ácido foi caracterizado através de RMN ^1H e IV e UV.

O espectro de infravermelho deste ácido (**72**), apresentou um sinal intenso em 3198 cm^{-1} devido ao estiramento O-H do ácido carboxílico. Ainda nesta região, foi possível observar bandas características dos estiramentos C-H do anel benzênico (3061 cm^{-1}). Além destes sinais,

devem ser destacados os sinais intensos que aparecem como duas absorções (1745 e 1749 cm^{-1}) correspondentes a deformação axial assimétrica e simétrica da ligação C=O do grupo imida e os sinais na região entre 1601 a 1464 cm^{-1} correspondentes a ligação C=C do anel aromático da ftalimida.

Através do Espectro de RMN ^1H , foi observado um deslocamento químico em campo baixo à 11.29 ppm como uma banda larga característica do próton carboxílico e ainda em campo baixo foi visualizado um multipeto entre 7,77-7,73 ppm com integração para 4 H, indicando os prótons H-4, H-5, H-6 e H-7 do anel ftalimida. Maiores detalhes na parte experimental.

3.6 - Testes de Atividades Biológicas

Ao se analisar a atividade farmacológica de uma droga, um estudo de interesse primordial é a relação que se pode fazer entre a quantidade administrada e a intensidade da resposta obtida pelo organismo, ou seja, que a quantidade da droga a ser administrada seja a mínima possível e alcance uma resposta mais rápida, isso muitas vezes para minimizar os efeitos tóxicos colaterais.³⁷

3.6.1 - Atividade Hipolipidêmica da Ftalimida e seus Derivados

Há várias décadas que a terapêutica das dislipidemias tem sido através de dietas e quimioterapia.³⁸ No entanto, as drogas comercializadas atualmente para o tratamento de estados hiperlipidêmicos foram reduzidas devido a ocorrência da toxicidade hepática, alterações cardiovasculares e distúrbios gastrointestinais, ou pelo simples fato de que essas drogas não reduzem efetivamente o colesterol e os triglicerídeos do plasma humano.³⁹

Embora existam várias drogas para reduzir o colesterol e triglicerídeos em plasma humano, há uma busca constante para se encontrar uma droga que seja mais efetiva e menos tóxica. O que nos levou a sintetizar e testar algumas ftalimidas visando uma maior efetividade e menor toxicidade.

Neste estudo, iniciamos os testes de atividade biológica partindo do princípio de que a ftalimida tem se mostrado como potente agente antihiperlipidêmico em doses relativamente baixas (20 mg/kg/dia), quando testadas em roedores.⁴⁰ O que nos levou a selecionar essa dosagem para este estudo.

3.6.1.1 - Teste da ação do carboximetilcelulose (CMC) a 1% (p/v), como veículo de solubilização das drogas, sobre o peso e os níveis lipídicos em plasma de camundongos.

Inicialmente, testamos o CMC a 1% (p/v), como veículo de solubilização das drogas sobre o peso e os níveis lipídicos em plasma de camundongos machos brancos Swiss. Os animais, pesando em torno de 35g, apresentaram variações mínimas nos níveis de colesterol ($2,04 \pm 0,31$ mmol/L controles e $2,09 \pm 0,23$ mmol/L tratados) e TG ($1,01 \pm 0,31$ mmol/L controles e $0,98 \pm 0,15$ mmol/L tratados) plasmáticos, quando tratados com CMC durante 16 dias (Figura 32).

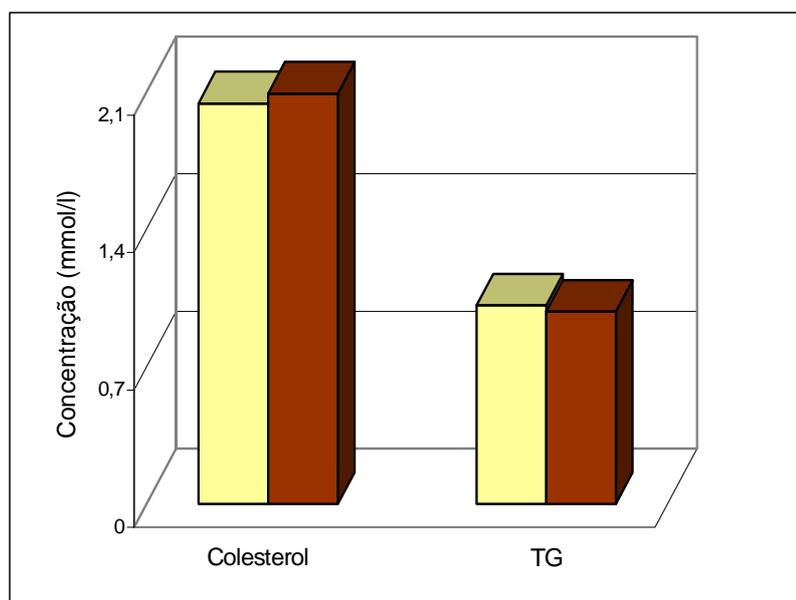


Figura 32 - Efeito do CMC 1% (p/v) sobre os níveis de colesterol e TG em plasma de camundongos albino Swiss. Animais: (□) antes (■) e após 16 dias de tratamento, usando 20 mg/kg/d.

Os níveis lipídicos variaram em menos de 3% em relação aos níveis obtidos antes do tratamento com o CMC, o que mostrou que essa substância não interfere nos níveis lipídicos, e, portanto, poderia ser usada como veículo de solubilização para os compostos **1** (ftalimida) e **56b-g**. Em 1984, Chapman *et al.*, também utilizou essa droga como veículo de solubilização dos compostos e foi administrada aos animais que serviram como grupo controle.

3.6.1.2 - Ação dos compostos **1** (ftalimida) e **56b-g** (N-arilftalimidas) sobre os níveis lipídicos em plasma de camundongos.

Os compostos **1** e **56b-g** quando foram testados em camundongos CF₁, usando doses de 20 mg/kg/dia, durante 16 dias de tratamento, apresentaram variações nos níveis lipídicos reduzindo os níveis de colesterol (Figura 33) e TG (Figura 34) plasmáticos.

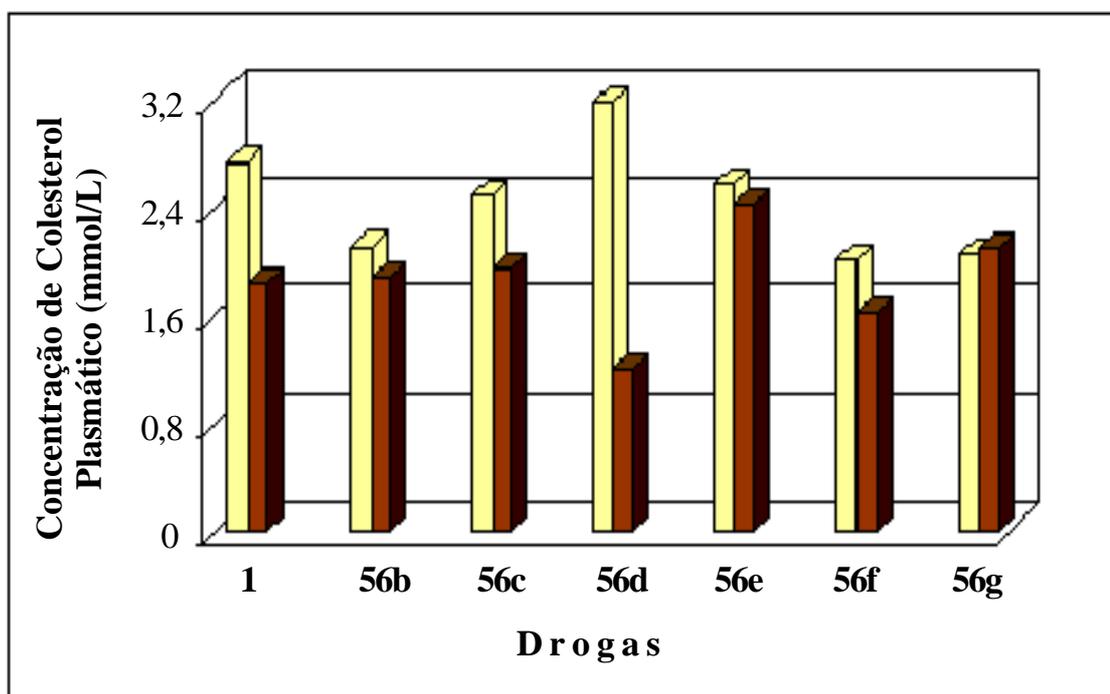


Figura 33 - Efeito dos compostos **1** e **56b-g**, sobre os níveis de colesterol em plasma de camundongos albino Swiss. Animais: (□) antes e (■) após 16 dias de tratamento, usando 20 mg/kg/d.

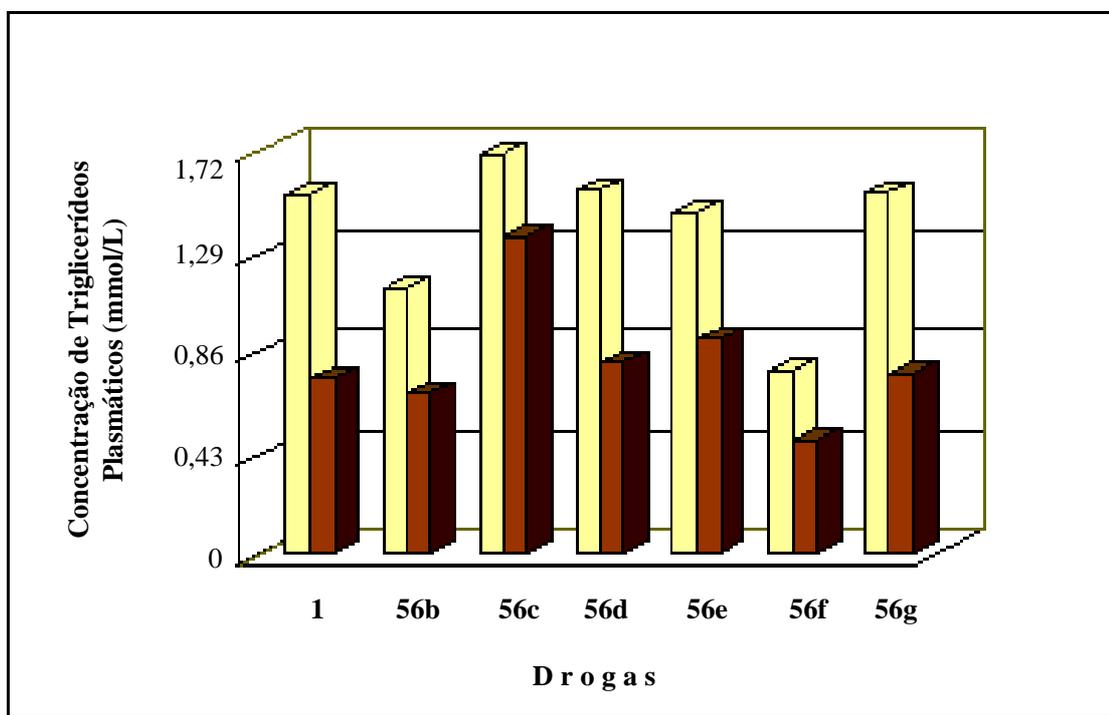


Figura 34 - Efeito dos compostos **1** e **56b-g**, sobre os níveis de TG em plasma de camundongos albino Swiss. Animais: (□) antes e (■) após 16 dias de tratamento, usando 20 mg/kg/d.

Entre os compostos testados, o *p*-clorofenilftalimida (**56d**) apresentou uma atividade hipolipidêmica significativa ($p < 0,05$), caracterizada por uma redução de 63% nos níveis de colesterol ($3,18 \pm 0,53$ mmol/L antes e $1,19 \pm 0,56$ mmol/L após o tratamento) e 47,40% nos níveis de TG ($1,54 \pm 0,46$ mmol/L antes e $0,81 \pm 0,37$ mmol/L após o tratamento), conforme demonstrado nas figuras 33 e 34. Sendo este composto, o mais ativo da série testada.

Apesar dos compostos **56b** ($2,1 \pm 0,55$ mmol/L antes e $1,86 \pm 0,50$ mmol/L após o tratamento) e **56c** ($2,49 \pm 0,53$ mmol/L antes e $1,94 \pm 0,32$ mmol/L após o tratamento) serem agentes menos potente à nível de colesterol com redução de 11% e 22%, respectivamente, eles foram significativos ($p < 0,05$) para os níveis de TG ($1,14 \pm 0,43$ mmol/L antes e $0,69 \pm 0,18$ mmol/L após o tratamento), ($1,7 \pm 0,44$ mmol/L antes e $1,35 \pm 0,57$ mmol/L após o tratamento), caracterizados por uma redução de 39% e 20%, respectivamente, conforme demonstram as figuras 33 e 34.

Interessantemente, na série contendo o átomo de flúor, foi observada uma atividade antihipertrigliceridêmica com reduções de 37; 38,5 e 49,8% para os compostos **56e-g**

respectivamente nos níveis de TG (significativo para um $p < 0,05$) (Figura 27). O composto **56f** (*meta*-fluorfenilftalimida) apresentou redução nos níveis de colesterol similar ao composto **56c** (*meta*-clorofenilftalimida) (Figura 33).

Em um experimento separado, nas mesmas condições que os usados para os nossos compostos, fizemos um teste com a pravastatina (droga utilizada comercialmente) em dois grupos de 6 camundongos cada; a um grupo administramos doses de 10 mg/kg/dia e a outro grupo doses de 20 mg/kg/dia, durante 16 dias. Ao dosar o colesterol no grupo tratado com 10 mg/kg/dia, foi observado redução de apenas 15% ($3,46 \pm 0,74$ mmol/L animais antes do tratamento e $2,94 \pm 0,65$ mmol/L após o tratamento) sendo esta, significativa para um $p < 0,01$ e redução de 40% para os níveis de triglicerídeos também significativa ($p < 0,01$). Quando dosamos o grupo que foi tratado com 20 mg/kg/d, observamos uma redução de 35% nos níveis de colesterol ($3,3 \pm 0,1$ mmol/L animais antes do tratamento e $2,1 \pm 0,05$ mmol/L animais após o tratamento, significativa para $p < 0,001$). Os animais apresentaram redução de 40% ($0,89 \pm 0,2$ antes do tratamento e $0,52 \pm 0,09$ animais após o tratamento) nos níveis de triglicerídeos sendo significativa para um $p < 0,01$.

Ao compararmos, os resultados do composto **56d** (*p*-clorofenilftalimida) com os resultados da pravastatina, verificamos que o composto **56d** apresentou atividade hipocolesterolêmica (redução de 62,58% nos níveis de colesterol) superior a atividade da pravastatina (35% de redução). Esse mesmo composto (**56d**), também, apresentou atividade hipotrigliceridêmica (47% de redução nos níveis de TG) superior a pravastatina (40% de redução).

3.6.1.3 - Ação da ftalimida sobre os níveis lipídicos em plasma de camundongos

Quando os animais foram submetidos ao tratamento com a ftalimida, nas mesmas condições utilizadas para os *N*-halofenilftalimidas, houve uma redução (33%) significativa ($p < 0,05$) nos níveis de colesterol ($2,73 \pm 0,61$ mmol/L antes e $1,83 \pm 0,31$ mmol/L e após o tratamento), semelhantemente os níveis de triglicerídeos também foram reduzidos em 50,66% ($1,52 \pm 0,41$ mmol/L antes e $0,75 \pm 0,12$ mmol/L após o tratamento), mostrados nas figuras 33 e

34. Em estudos realizados por Chapman *et al.*, foram relatados valores um pouco mais alto do que os apresentados por nós (redução de 43% nos níveis de colesterol e 56% nos níveis de TG). É provável que essas variações tenham sido devido a diferença ocorrida na metodologia, haja vista que a administração da ftalimida em camundongos por 16 dias foi realizada por via intraperitoneal e não foi levado em consideração a concentração dos níveis lipídicos no mesmo animal antes e após o tratamento, tomando como grupo controle o grupo ao qual foi administrado o CMC a 1%.

Apesar de não ter sido comprovado experimentalmente neste estudo, é provável que as reduções nos níveis lipídicos (colesterol e TG), tenha sido decorrente da interferência dessas drogas nas enzimas que regulam a síntese desses lipídeos.

Na análise da atividade hipolipidêmica das ftalimidas N-substituídas se faz necessário o uso, no futuro, de dosagens das lipoproteínas plasmáticas de muito baixa densidade, de baixa densidade e de alta densidade (VLDL, LDL e HDL) como indicadores mais precisos do mecanismo de ação hipolipidêmica das ftalimidas sintetizadas em nosso estudo.

3.6.2 - Atividade hiperlipidêmica dos ácidos N-arilftalâmicos

Após obtenção dos resultados da atividade antihiperlipidêmica da ftalimida e derivados N-halofenilftalimidas sobre os níveis lipídicos em plasma de camundongos, resolvemos avaliar a atividade biológica dos ácidos N-arilftalâmicos (**68a-g,n,o**), os quais são intermediários na síntese das N-arilftalimidas.

Embora vários ácidos N-arilftalâmicos tenham efeito hipotensivo⁴¹ e diurético,⁴² não existe relatos na literatura à respeito da ação de ácidos ftalâmicos e derivados sobre os níveis lipídicos. Interessantemente, os ácidos **68a-g,n,o** ao contrário das ftalimidas, induziram hiperlipidemia e aumentaram o peso dos animais. Este tipo de comportamento dos ácidos ftalâmicos estão sendo relatados pela primeira vez.

3.6.2.1 - Ação do carboximetilcelulose (CMC) sobre o peso dos animais

Como relatado no item 2.6.1.1, ao ser administrado CMC (1%, p/v), à camundongos Swiss machos brancos normolipidêmicos durante 14 dias, não houve variações nos níveis lipídicos ou peso dos animais. Podendo o CMC servir como veículo de solubilização para essas drogas (Tabela 15), como citado anteriormente.

3.6.2.2 - Ação dos ácidos N-arilftalâmicos (**68a-g,n,o**) sobre os níveis lipídicos em plasma de camundongos.

Quando os 9 grupos de camundongos, contendo 10 animais cada, foram submetidos ao tratamento com os ácidos **68a-g,n,o** na concentração de 20 mg/kg/dia, durante 14 dias, foi observado um aumento significativo nos níveis lipídicos e no peso dos animais (Tabela 15).

O ácido fenilftalâmico **68a** apresentou um aumento de 13% nos níveis de colesterol e 22% no conteúdo de triglicerídeos. A substituição do átomo de hidrogênio pelo átomo de cloro ou flúor causou pequenas variações sobre os níveis desses lipídeos, quando comparado ao composto **68a** (Tabela 15).

Tabela 15 – Efeito dos ácidos *N*-arilftalâmicos sobre os níveis de colesterol, triglicerídeos e peso dos camundongos após 14 dias de tratamento.

Comp.	Colesterol (mmol/L)		Triglicerídeos (mmol/L)		Peso (g)	
	antes	Depois	Antes	Depois	Antes	Depois
68a	2.71 ± 0.26	3.06 ± 0.23*	1.07 ± 0.16	1.30 ± 0.24*	28 ± 5.7	29 ± 5.7
68b	2.11 ± 0.30	2.43 ± 0.32*	1.06 ± 0.30	1.32 ± 0.31*	26 ± 4.2	29 ± 4.4*
68c	2.17 ± 0.43	2.48 ± 0.54*	1.04 ± 0.29	1.28 ± 0.33*	24 ± 5.1	28 ± 5.7*
68d	2.30 ± 0.25	2.51 ± 0.22*	0.86 ± 0.20	1.06 ± 0.22*	25 ± 4.1	28 ± 3.5
68e	3.06 ± 0.54	3.40 ± 0.53*	0.94 ± 0.26	1.23 ± 0.27*	26 ± 4.1	30 ± 5.0*
68f	3.02 ± 0.57	3.28 ± 0.54*	1.01 ± 0.08	1.35 ± 0.08*	26 ± 2.3	29 ± 2.9*
68g	2.66 ± 0.35	3.17 ± 0.22*	1.26 ± 0.12	1.48 ± 0.10*	20 ± 3.5	25 ± 6.1*
68n	2.45 ± 0.22	2.78 ± 0.25***	1.14 ± 0.23	1.58 ± 0.32**	35 ± 0.0	38 ± 0.83***
68o	2.46 ± 0.33	2.95 ± 0.32***	1.12 ± 0.17	1.49 ± 0.26**	35 ± 2.7	39 ± 2.82***
CMC	2.32 ± 0.41	2.30 ± 0.40	1.09 ± 0.12	1.09 ± 0.12	29 ± 1.7	30 ± 1.0

Os valores representam a média ± o desvio padrão para seis animais de cada grupo. Diferenças significativas: *p < 0.05, **p < 0.005 e ***p < 0.001.

Na série dos ácidos contendo o átomo de cloro no anel fenila, o composto mais ativo foi o ácido *o*-clorofenilftalâmico (**68b**) com aumento de 15 e 25% nos níveis de colesterol e TG respectivamente, seguido pelo composto *m*-cloro **68c** (14 e 23%; colesterol e TG), e *p*-clorofenilftalâmico **68d** (9 e 23%, colesterol e TG respectivamente) (Tabela 15).

A troca do átomo de cloro pelo átomo de flúor na posição *meta* do anel fenila (ácido *meta*-fluorfenilftalâmico - **68f**), tornou a ação deste composto menos potente com relação ao colesterol, no entanto este composto foi mais ativo como agente hipertrigliceridêmico, apresentando um aumento de 34% no conteúdo de TG.

O interessante dos ácidos testados é que apresentaram atividade inversa (hiperlipidêmica) à apresentada pela ftalimida e ftalimidas *N*-substituídas (antihiperlipidêmica), apesar de serem intermediários não ciclizados dos compostos **56a-g,n,o**. Ao compararmos, os resultados apresentados pelas duas séries (ácidos *N*-arilftalâmicos **68a-g,n,o** e *N*-arilftalimidias **56a-g**), verificamos que o composto **56d** (*p*-clorofenilftalimida) o qual mostrou ser o mais potente em reduzir os níveis de colesterol (62%), seu intermediário **68d** (ácido *p*-clorofenilftalâmico) foi o

menos potente em induzir uma hipercolesterolemia (9%). Semelhantemente, o mesmo ocorreu com o composto **68g** (ácido *p*-fluorfenilftalâmico), aumento de 19% para o conteúdo de colesterol e este composto quando ciclizado **56g** (*p*-fluorfenilftalimida) praticamente não exibiu atividade hipocolesterolêmica.

Com relação ao conteúdo dos TG, a troca do átomo de hidrogênio pelo átomo de cloro (**68b-d**) ou fluor (**68e-g**), praticamente não houve grandes variações, pois todos induziram similarmente uma hipertrigliceridemia, sendo o composto **68g** (ácido *p*-fluorfenilftalâmico) o menos potente em induzir a hipertrigliceridemia com quase 18% no aumento nos níveis de TG.

Por outro lado, o composto **68o** (ácido *N*-[1,2,4]triazol-4-il-ftalâmico) inédito, aumentou significativamente ($p < 0,001$) os níveis de colesterol em plasma de camundongos, enquanto que o conteúdo dos triglicerídeos teve um aumento significativo de 33% ($p < 0.005$).

Apesar de não ter sido comprovado experimentalmente, é possível que a hipertrigliceridemia tenha ocorrido como resultado do aumento na síntese de TG, ou mesmo pela redução da remoção ou hidrólise dos TG da circulação periférica pela interferência desses compostos na enzima lipase lipoprotéica (LPL). Abrams e Cooper,⁴³ relataram que alguns compostos não aniônicos induzem hipertrigliceridemia inibindo a LPL pela desnaturação com subsequente perda da atividade. Outros autores,^{44,45} também relatam que logo após administração intravenosa (i.v.) de Triton WR-1339, há um bloqueio na remoção de TG circulante, quando a segregação de TG hepático está sendo quantificado.

A hipercolesterolemia induzida pelos compostos **68a-g,n,o** possivelmente pode ter sido decorrente da estimulação na atividade da enzima HMG-CoA redutase. Goldfarbe em 1978⁴⁶ e mais tarde Kuroda et al.,⁴⁷ relataram que a administração de Triton WR 1339 à ratos também aumenta parcialmente a atividade desta enzima.

O desenvolvimento de hiperlipidemia em modelos animais que desenvolvam CAD, também tem sido de grande interesse nesta área. Até o presente momento, não foi possível se saber como os ácidos ftalâmicos agem para aumentar os níveis de colesterol e triglicerídeos, e o

peso dos animais. Mais estudos se faz necessário para determinar o mecanismo de ação dessas drogas.

3.6.3 - Atividade Antiinflamatória

3.6.3.1 - Atividade antiinflamatória da ftalimida e ftalimidas N-substituídas

Como relatado no capítulo 1, as ftalimidas também possuem atividade antininflamatória,⁴⁸ por isso resolvemos testar um dos compostos (*o*-nitrofenilftalimida - **56h**) para verificar se tal atividade também era encontrada nas *N*-arilftalimidas, já que a literatura não relata a atividade antiinflamatória para os compostos obtidos neste trabalho.

Vários métodos tem sido usados para avaliar a atividade antiinflamatória de uma droga. Uma das técnicas mais empregadas se baseia na habilidade que tais agentes tem de inibir o edema produzido na pata traseira do roedor pela injeção de um agente flogístico (inflamatório).⁴⁹

Nesse estudo, utilizamos o agente flogístico carragenina, um mucopolissacarídeo derivado do *Irish sea moss, Chondrus*,⁵⁰ para provocar a inflamação. As doses dos agentes antiinflamatórios foram empregadas para demonstrar a inibição do edema dentro da faixa tóxica.

3.6.3.2 - Ação antiinflamatória da ftalimida e ftalimida N-substituída em camundongos brancos Swiss.

Os testes antinflatórios foram realizados segundo o método de Levy.⁵¹ Para esse teste, foram usados dois grupos controles, um grupo controle negativo (grupo de animais que receberam solução salina a 0,9%), veículo de solubilização para a carragenina, um grupo controle-positivo (grupo que recebeu 250 mg de aspirina por kg de peso do animal – padrão farmacológico utilizado para testes antiinflamatório comparativo).⁵² Um outro grupo que também foi usado para nosso controle foi o que recebeu 20 mg/kg/dia de CMC à 1%, durante 16 dias de tratamento.

Quando comparamos os resultados do grupo que recebeu CMC com o grupo controle-negativo, verificamos que o grupo-CMC apresentou variações mínimas não significativas ($0,158 \pm 0,005\%$, grupo controle-negativo e $0,159 \pm 0,03\%$, grupo-CMC) na atividade antiinflamatória, podendo o CMC servir como veículo de solubilização para o composto **56h** (Figura 35).

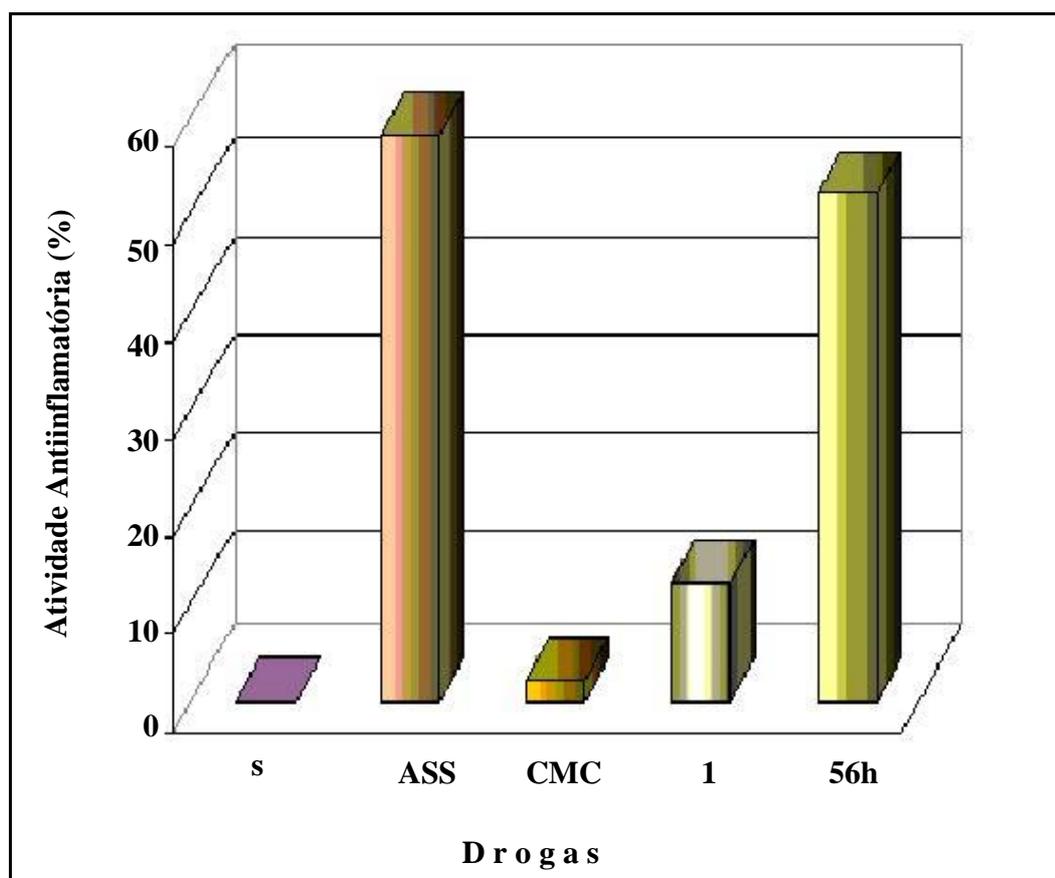


Figura 35 – Efeito antiinflamatório da ftalimida e *o*-nitrofenilftalimida (**56h**) em camundongos branco Swiss após tratamento com 1% de carragenina a 0,9% de NaCl. A representação das letras e N^o representam: s (controle-negativo, salina), AAS (controle-positivo, aspirina), carboximetilcelulose (CMC) e 1 (ftalimida).

Quando o átomo de hidrogênio do anel imida foi substituído pelo grupo *orto*-nitrofenil, a atividade antiinflamatória foi significativamente ($p < 0,05$) aumentada para 52% em comparação ao controle-negativo (Figura 35). Contudo, essa atividade foi um pouco inferior a apresentada pela aspirina (58%).

Os grupos contendo 10 animais cada, que receberam 20 mg/kg/dia, durante 16 dias com ftalimida (**1**) e *orto*-nitrofenilftalimida (**56h**) apresentaram atividade antiinflamatória (Figura 28).

No entanto, a ftalimida reduziu o edema provocado pela carragenina em apenas 12%, quando comparado ao grupo controle-negativo, não sendo essa redução significativa para um $p < 0,001$.

Vale salientar que não estamos fazendo comparações entre doses efetivas, e sim comparando a dose efetiva da aspirina (250 mg/kg de peso do animal – atividade aguda) com a dose resposta da ftalimida (**1**) e do composto **56h** (20 mg/kg/dia - atividade crônica) com relação a inibição provocada pela carragenina.

Embora não tenha sido comprovado nesses experimentos, é possível que esses compostos atuem inibindo indiretamente a atividade da fosfolipase A₂ diminuindo a liberação de ácido araquidônico e portanto inibindo a formação de prostaglandinas, leucotrienos e tromboxanas, desta forma reduzindo a inflamação.

3.6.3.3 - Ação da atividade antiinflamatória crônica dos ácidos N-arilftalâmicos em camundongos brancos Swiss

Em nossos experimentos, utilizamos um grupo de seis animais para cada composto testado, e a cada grupo foi administrado por via intraperitoneal, 20 mg/kg/dia das substâncias em análise (ácidos N-arilftalâmicos - **68a-g, n, o**), controle negativo (salina) e controle positivo (aspirina), durante 14 dias.

Após, os camundongos terem sido tratados com os ácidos N-arilftalâmicos (**68a-g**) e os ácidos N-(1*H*-[1,2,4]triazol-3-il)ftalâmico (**68n**) e N-[1,2,4]triazol-4-il-ftalâmico (**68o**), os animais foram submetidos à administração de 0,1 mL do agente flogístico carragenina a 1% na planta da pata traseira direita para produzir a inflamação e após 4h as duas patas traseiras foram cortadas e pesadas para medir a inflamação. Essa inflamação foi medida pela diferença do peso da pata que recebeu o agente flogístico e a pata que não recebeu.

Ao fazermos comparação do controle-negativo (salina) com o controle-positivo (aspirina), observamos uma redução significativa ($p \leq 0,001$) de 45,86% (Figura 36).

Quando comparamos a atividade antiinflamatória dos compostos **68a-g** e **68n-o** com o controle-negativo, observamos que houve variações na resposta quanto a inflamação. Por exemplo, o composto **68a** (ácido fenilftalâmico) provocou uma redução de 19,3% na inflamação, contudo essa redução não foi significativa (Figura 36).

Quando substituímos o átomo de hidrogênio pelo átomo de Cl na posição *orto* (composto **68b** - ácido *o*-clorofenilftalâmico) verificamos uma redução significativa ($p \leq 0,05$) de 12,4% na atividade antiinflamatória. O composto **68c** (ácido *m*-clorofenilftalâmico) apresentou redução de 9%, e o composto **68d** (ácido *p*-clorofenilftalâmico) redução similar aos compostos **68a** e **68f** (Figura 36).

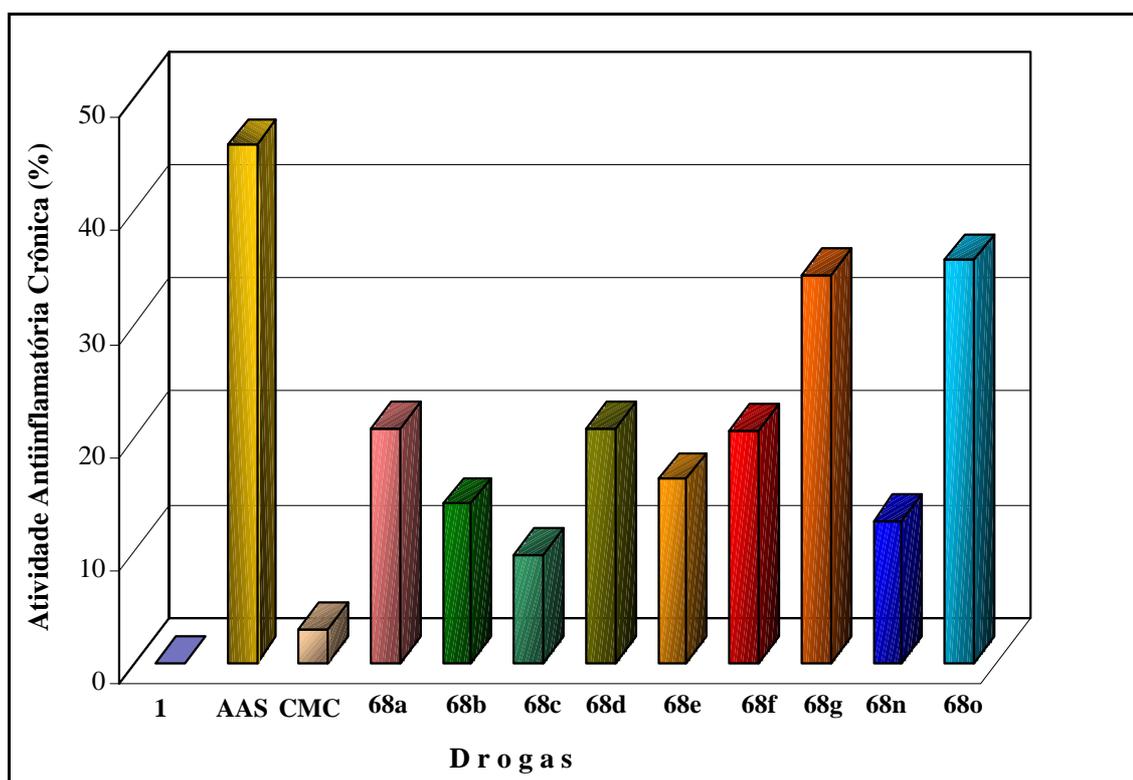


Figura 36 - Inibição do edema induzido pela carragenina em camundongos após tratamento com os ácidos **68a-g,n,o**. O símbolo s representa o controle-negativo (salina), o AAS o controle-positivo (aspirina) e o CMC o carboximetilcelulose (veículo de solubilização das drogas). Todos os compostos testados tiveram $p < 0,0001$, exceto o grupo controle CMC, que não apresentou nenhuma diferença significativa

A série contendo o átomo de flúor substituindo o átomo de H nas posições *orto*, *meta* e *para*, mostrou maiores reduções na inflamação quando comparadas a série contendo o átomo de cloro com 14,65% de redução para o composto **68e** (ácido *o*-fluorfenilftalâmico), 19,1% para o

composto **68f** (ácido *m*-fluorfenilftalâmico) e 33,1% para o composto **68g** (ácido *p*-fluorfenilftalâmico), sendo este último significativo para um $p \leq 0,001$ (Figura 36).

Se observarmos a substituição do átomo de Cl por F na posição *orto* veremos que a variação entre os dois compostos quando comparados entre si foi muito pequena, entretanto quando comparamos o composto **68d** com o **68g**, ou seja, substituição do átomo de Cl por F na posição *para*, observamos maior redução na inflamação para o composto **68g**.

Para a série dos ácidos ftalâmicos *N*-substituídos com o 1,2,4-triazóis, observamos redução de 10,9% para o composto **68n** (ácido 1,2,4-triazol-3-il-ftalâmico). Para o composto **68o** (ácido 1,2,4-triazol-4-il-ftalâmico), o edema foi significativamente reduzido (redução de 34,4%) com um $p \leq 0,005$ (Figura 36), sendo este o mais efetivo das três séries avaliadas. Se compararmos o composto **68g** com o composto **68o** veremos que esses dois compostos obtiveram reduções similares, sendo que o composto **68g** causou uma redução significativa ($p \leq 0,001$) maior que o **68o** ($p \leq 0,005$) no edema provocado pela carragenina.

Apesar dos nossos compostos terem apresentado atividade antiinflamatória inferior a da aspirina em doses de 20 mg/kg/peso do animal, faz-se necessário uma análise mais detalhada para encontrar a melhor dose resposta, visto que, alguns dos nossos compostos apresentaram atividade antiinflamatória próxima a atividade antiinflamatória da aspirina.

3.6.3.4 - Ação da atividade antiinflamatória aguda dos ácidos *N*-arilftalâmicos em camundongos brancos Swiss

Para testar a atividade antiinflamatória aguda, foram utilizados camundongos Swiss brancos com aproximadamente 3 meses de idade e pesando 20 a 25g. Nesses experimentos foram usados 91 animais, divididos em 12 grupos, contendo 7 animais por grupo. Dois controles positivos (AAS e ibuprofeno) e um negativo (salina) foram usados nesse teste.

A atividade antiinflamatória foi determinada pelo método de Levy. 0,1 mL do agente flogístico carragenina a 1% em solução salina, foi injetado na superfície subplantar da pata trazeira esquerda de cada camundongo para produzir a inflamação. Após 30 min foram administrados por via intraperitoneal a cada grupo de animais os ácidos *N*-arilftalâmicos (**68a-g**) e os ácidos *N*-(1*H*-[1,2,4]triazol-3-il)ftalâmico (**68n**) e *N*-[1,2,4]triazol-4-il-ftalâmico (**68o**), dissolvidos em uma solução de CMC a 1% na concentração de 250 mg/kg de peso do animal.

Os testes antiinflamatórios positivos e negativo foram feitos em três grupos, por administração intraperitoneal de 250 mg/kg de AAS, Ibuprofeno (controle positivo) e 0,9% de salina (controle negativo).

Após 4h, as duas patas traseiras foram cortadas e pesadas para medir a inflamação como descrito no item anterior (3.6.3.3) e os resultados foram analisados de acordo com o percentual de redução na inflamação,⁵³ e expressados como a média \pm desvio padrão. A diferença significativa entre os grupos: controle negativo, os grupos teste e controles positivo, foram avaliados pelo teste "*t*" de *Student* para amostras independentes e $p < 0,05$ foi usado como critério de variação significativa.

A figura 37 mostra os percentuais da atividade antiinflamatória aguda produzida pelas substâncias descritas acima.

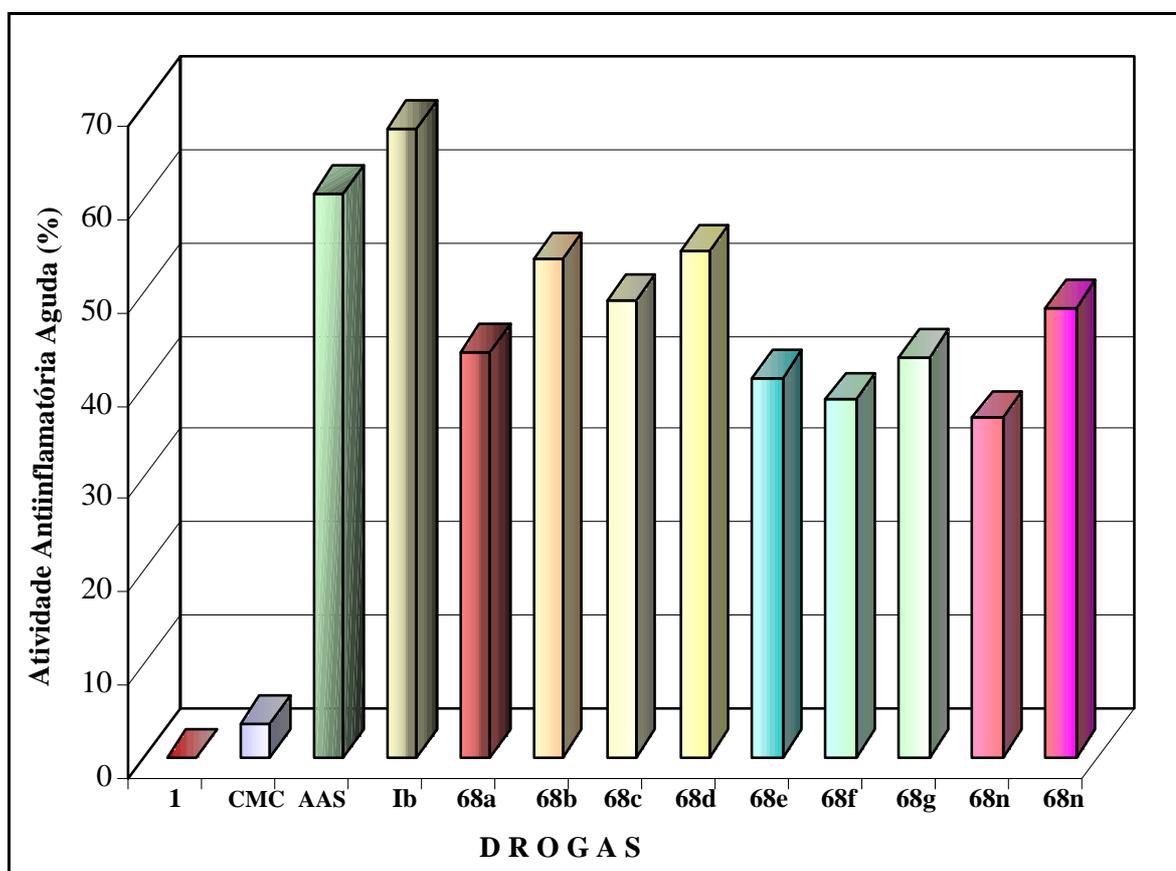


Figura 37 - Inibição do edema induzido pela carragenina em camundongos após tratamento com os ácidos **68a-g, n, o**. O número 1 representa o controle-negativo (salina), os siglas: CMC (carboximetilcelulose); AAS (aspirina) e Ib (ibuprofeno)

Ao analisarmos o ácido fenilftalâmico (**68a**), verificamos que este provocou uma redução em 43,40% o edema induzido pela carragenina em camundongos albinos Swiss, quando comparados ao grupo controle. Essa redução foi significativa para um $p < 0,0001$ (Figura 37). Essa redução foi similar aos ácidos *N*-(2-fulorfenil)ftalâmico e *N*-(4-fulorfenil)ftalâmico com 40,68% e 42,90% de redução, respectivamente. Quando substituímos o átomo de H pelo átomo de Cl nas posições *orto* (**68b**), *meta* (**68c**), e *para* (**68d**), verificamos que a redução da inflamação produzida pela carragenina aumentou para 53,42, 48,92 e 50,22%, respectivamente, sendo todos significativos para um $p < 0,0001$ (Figura 37).

Da série contendo um átomo de flúor, o ácido *N*-(3-fulorfenil)ftalâmico (**68f**), apesar de ter sido significativo para um $p < 0,0001$, obteve uma redução menor (38,36%) na inflamação. Ao analisarmos os ácidos contendo o anel 1,2,4-triazólico, observamos que o ácido [(1,2,4)-triazol-4-il]ftalâmico (**68o**), obteve uma maior atividade antiinflamatória, reduzindo a inflamação provocada pela carragenina em cerca de 48% do que o ácido [(1,2,4)-triazol-3-

ilftalâmico **68n** com 36,41%. Sendo este (**68n**) composto, o que obteve a menor redução em toda série testada.

Apesar dos nossos compostos apresentarem reduções na inflamação produzida pela carragenina inferiores aos controles positivos AAS (60,4% de redução) e ibuprofeno (67,5% de redução), faz-se necessários estudá-los, uma vez que eles apresentaram atividades antiinflamatórias muito próxima aos comercializados.

Um outro ponto muito interessante nesses ácidos, é que eles apesar de serem intermediários na síntese das ftalimidas, apresentam atividade antiinflamatória similar às ftalimidas, mas, por um mecanismo totalmente diferente. Pois as ftalimidas apresentam atividade hipolipidêmica diminuindo os níveis de colesterol e TG e conseqüentemente reduzindo o risco da aterosclerose (inflamação arterial causada pelo depósitos de lipídeos na íntima dos vasos sanguíneos)⁵⁴. E os ácidos *N*-arilftalâmicos apresentam atividade hiperlipidêmica aumentando os níveis de colesterol e TG, e no entanto possuem também atividade antiinflamatória.

É possível que nossos compostos (*N*-arilftalimidas e ácidos *N*-arilftalâmicos), drogas antiinflamatórias não esteroidais, atuem inibindo de forma indireta a ação da ciclooxigenase 1 e/ou 2, desta forma diminuindo a síntese de ácido araquidônico.

No futuro a análise, da inflamação e da ação antiinflamatória das *N*-arilftalimidas e dos ácidos *N*-arilftalâmicos, deverá ser aprofundada com a pesquisa de células inflamatórias através de cortes histológicos pela anatomia patológica.

As citocinas, proteínas pró-inflamatórias secretadas pelas células da imunidade inata (como monócitos e macrófagos) e pelas células da imunidade adquirida (como os linfócitos), podem, também, estar envolvidas no mecanismo de ação dos compostos obtidos em nosso estudo. Embora, a comprovação da possível diminuição de secreção dessas proteínas não tenha sido determinada em nossos experimentos. Portanto, no futuro, é mister, a realização de ensaios que esclareçam o exato mecanismo de ação antiflogística de nossos compostos. De acordo com Almeida et al.,⁵⁵ GIPLs (glicosilfosfatidilinositol) de *Trypanozoma cruzi* são potentes agentes pró-inflamatórios aumentando a síntese de citocinas pelos macrófagos. De acordo com Bala et al.,⁵⁶ produtos solúveis de *T. gondii* induzem a secreção de citocinas, por macrófagos, e potencializa *in vitro* a replicação do HIV-1. Em 1993, Clerici e Shearer,⁵⁷ mostraram que a

mudança do padrão de citocinas Th1 para Th2 (linfócito T Helper) é um passo crítico na etiologia para a infecção pelo HIV-1. Portanto, a literatura, sobre este tema, vem demonstrando que a expressão da doença (sintomas e sinais) em cada patologia varia de acordo com a resposta imunológica do tipo Th1 ou Th2, existindo drogas que ao mudar o padrão de citocinas Th1 para Th2 ou Th2 para Th1 atenua os sinais e sintomas da doença em questão. Assim, Clerici & Shearer demonstraram que a presença do padrão Th2 na AIDS é um passo crítico na atenuação desta patologia. O LPS (lipopolissacarídeo) de bactérias gram positivas e negativas vem sendo utilizado como importante controle, nos ensaios referentes, como potente estimulador da síntese de citocinas pró-inflamatórias. De acordo com Jersmann et al.,⁵⁸ LPS e TNF- α (citocina pró-inflamatória) apresentam ação sinérgica no aumento da adesão endotelial humana e, conseqüente, aumento da ação flogística. A imunologia moderna, também, se ocupa na atualidade com o papel dos receptores de membrana Toll (TLR₂ ou TLR₄). De acordo com Flo et al.,⁵⁹ TLR₂ humano é mediador da síntese de citocinas pró-inflamatórias por monócitos infectados com *Listeria monocytogenes*, e que TLR₄ é mediador para as respostas para LPS.

No Capítulo Perspectiva, desta Tese, sugeriremos ensaios imunológicos para analisar mais profundamente a ação antiflogística dos compostos aqui obtidos, uma vez que nossos compostos apresentaram excelentes atividade antiinflamatória.

3.6.4 - Atividade Antimicrobiana

Como relatado no Capítulo 1, as ftalimidas apresentam atividade antimicrobiana,^{10, 60} por isso resolvemos averiguar em alguns dos compostos sintetizados nesse estudo, se possuíam tal atividade; uma vez que a resistência de bactérias e fungos a antibióticos vem crescendo assustadoramente.⁶¹ É muito comum em países de clima tropical e precárias condições sócio-econômicas, que doenças causadas por microorganismos, especialmente bactérias e fungos tenham um alto grau de incidência. Uma vez que esse tipo de clima favorece a proliferação de microorganismos.

Em nosso estudo utilizamos para o teste de atividade antimicrobiana, os microorganismos fornecidos pelo Banco de Cultura do Departamento de antibióticos da UFPE (Catálogo de Coleção de Mioorganismos).

Para todos os testes de atividade antimicrobiana foram utilizados os seguintes microorganismo (Tabela 16):

Tabela 16 - Microorganismos utilizados nos ensaios de atividade antimicrobiana.

Grupos de Microorganismos	Tipos de Microorganismos*	Meio**	Temp. de incubação (°C)
Bactérias Gram-positivas	<i>Staphylococcus aureus</i> (01W)	MH	35
	<i>Micrococcus luteus</i> (06 UFPEDA)	MH	35
	<i>Bacillus subtilis</i> (16 W)	MH	35
	<i>Enterococcus faecalis</i> (138 ATCC)	GL	35
Bactérias Gram-negativas	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (39IT)	MH	35
	<i>Serratia marcescens</i> (398 ATCC)	MH	35
	<i>Escherichia coli</i> (224 ATCC)	MH	35
Bactéria Álcool-ácidoresistente	<i>Mycrobacterium smegmatis</i> (71W)	GL	35
Fungo Leveduriforme	<i>Candida albicans</i> (1007 ATCC)	Sab	30
Fungo Filamentoso	<i>Monília sitophila</i> (2083 IMUFP)	Sab	30

*ATCC (American type culture collection/Rockville, Maryland, USA), W (Selman A. Waksman, USA), IMUFP (Detº de Micologia-UFPE-DMUFPE, Recife-PE-Brazil), UFPEDA (Catálogo de coleção de Microorganismo-1988, UFPE/Brazil). ** MH (Müeller-Hinton-agar), Sab (Sabourand-agar, GL (Glicose-extrato de levedura).

6.4.1 - Atividade antimicrobiana dos compostos N-[X(fenil-aminometil)]ftalimidas

A atividade antimicrobiana foi verificada pelo método de difusão em discos de papel (tipo 3, com 6mm de diâmetro),⁶² nos meios descritos na tabela 16. Esses discos foram umedecidos em 20 µL das soluções contendo 300 µg das N-[X(fenil-aminometil)]ftalimidas (**62a-j,n,o**), solubilizadas em DMSO. Para cada substância foi feito um teste controle, onde o disco recebeu apenas DMSO. A inibição dos halos foram medidos após um tempo de incubação para cada microorganismo (Tabela 12). O teste foi considerado positivo quando o halo de inibição foi ≥ 10 mm.

A Tabela 17 mostra os valores da zona de inibição (mm) dos controles positivos antimicrobianos, utilizados para comparação com as substâncias teste.

Tabela 17 – Valores da zona de inibição (mm) dos controles antimicrobianos utilizados.

		Microorganismos									
Controle		1	6	16	39	71	138	224	398	1007	2083
(Conc µg)											
Kan											
(30 µg)		23	28	19	20	40	—	15	15		—
Cet											
(300 µg)		—	—	—	—	—	—	—	—	24	—

*KAN = kanamicina, CET = cetoconazol, Concentração em µg

No teste de difusão em disco, apenas os compostos da série contendo o grupo nitro (**62h-j**), mostraram halo inibição para os microorganismos testados (Tabela 18).

Tabela 18 – Atividade antimicrobiana *in vitro* de compostos N-[X(fenil-aminometil)]ftalimidas.

		Microorganismos									
Comp.	1	06	16	39	71	138	224	398	1007	2083	
62a	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
62b	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
62c	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
62d	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
62e	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
62f	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
62g	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
62h	—	—	—	—	—	—	—	9	—	—	
62i	—	—	—	—	—	—	—	9	—	—	
62j	—	—	—	—	—	—	—	8	—	—	
62l	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
62n	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
62o	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	

Os compostos **62a-h**, foram inativos nas condições utilizadas para o teste.

Para um halo de 15mm do antibiótico kanamicina numa concentração de 30 µg contra o microorganismo 352 (*Serratia marcescens*), apenas os compostos **62h,j**, apresentaram halo de 9,

9 e 8 mm, respectivamente, sendo esta atividade pouco sensível contra esse microorganismo. Os demais compostos não foram ativos nas condições testada.

Apesar da literatura^{10, 63} relatar atividade antimicrobiana para algumas ftalimidas, a maioria dos nossos compostos testados não apresentaram atividade antimicrobiana.

3.6.4.2 - Atividade Antimicrobiana das Mono- e ditioftalimidas

Compostos tio-reativo frequentemente apresentam atividade antimicrobiana, por isso, também resolvemos investigar se alguns de nossos compostos apresentavam tal atividade. Os compostos mono-tionados (motio-fenilftalimida - **58a**, e 3-cloro-monotio-fenilftalimida - **58c**) e ditio-ftalimidas (ditio-fenilftalimida - **59a**, 3-cloro-ditio-fenilftalimida - **59c** e 4-nitro-ditio-fenilftalimida - **59j**), foram solubilizados e testados contra os mesmo microorganismo como descrito no item anterior (3.6.4.1).

A Tabela 19 mostra os valores de inibição para os compostos testados.

Tabela 19 – Atividade antimicrobiana *in vitro* das tioftalimidas.

Comp.	<i>Microorganismos</i>									
	<i>1</i>	<i>06</i>	<i>16</i>	<i>39</i>	<i>71</i>	<i>138</i>	<i>224</i>	<i>398</i>	<i>1007</i>	<i>2083</i>
58a	—	15	20	—	—	—	—	—	9	—
59a	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
58c	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
59c	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
59j	9	13	20	—	—	9	—	—	10	—

Da série tionada, o composto **58a**, apresentou uma inibição com halo 15mm, considerada positiva para o microorganismo. *M. luteus*, esse mesmo composto apresentou halo de inibição positiva também para o microorganismo *B. subtilis* de 20 mm, sendo este superior ao halo de inibição do antibiótico kanamicina (19mm). Dos compostos ditionados o composto **59j**, apresentou halo de inibição positivo para os microorganismos *M. luteus* (06), *B. subtilis* (16W) e

C. albicans (1007), sendo o halo de inibição para o *B. subtilis* superior ao antibiótico kanamicina.

4 - Bibliografia

1. M.S. Khajavi, F. Nikpour, M. Hagihadi. *J. Chem. Res.*, *S*, 96 (1996).
2. A.M. Khalil, I.I. ABD El-Grawad, M.H. El-Metwally. *Ind. J. Chem.*, *51*, 1029 (1977).
3. C. Fayat, A. Foucaud. *Bull. Soc. Chim. France*, *5*, 4501 (1979).
4. G. Pagani, A.J. Buruffine, P. Borgana, G. Garcialanza. *Farmaco*, *23*, 448 (1968).
5. J. Gawronski, F. Kazmierczak, U. Rychewska, B. Nórden, A. Holmén. *J. Am. Chem. Soc.*, *120*, 12083 (1998).
6. J. Demnitz, B.A. Monteiro, M.N. Ramos, R.M. Srivastava. *Heterocycl. Commun.*, *3*, 115 (1997).
7. N.S. Habib, K.A. Ismail, A.A. El-Tombary, T. Abdel Aziem. *Pharmazie*, *55*, 495 (2000).
8. J.B. Press, W.B. Wright, P.S. Chan Jr., J.W. Marisco, M.F. Hang, J. Tauber, A. S. Tomcufcik. *J. Med. Chem.*, *29*, 816 (1986).
9. R. Shimazawa, H. Takayama, Y. Fujimoto, M. Komoda, K. Dodo, R. Yamasaki, R. Shirai, Y. Koiso, K. Miyata, F. Kato, M. Kato, H. Miyachi, Y. Hashimoto. *J. Enzyme Inhibition*, *14*, 259.
10. G. Orzeszko, B. Kaminska, A. Orzeszko, B.J. Starosciak. *Farmaco*, *55*, 619 (2000).
11. J.M. Chapaman, Jr., P.J. Voorstad, G.H. Cocolas, I.H. Hal. *J. Med. Chem.*, *26*, 237 (1983).
12. I.H. Hall, P.J. Voorstad, M. Chapman, G.G. Cocolas. *J. Pharm. Sci.*, *72*, 845 (1983).
13. J.M. Chapman, G.G. Cocolas, I.H. Hall. *J. Pharm. Sci.*, *72*, 1344 (1983).
14. J.M. Chapman, D.D. Wyricky, P.J. Voorstad, J.H. Magnire, G.G. Cocolas, I.H. Hall. *J. Pharm. Sci.*, *73*, 1488 (1984).
15. V.L.M. Sena, R.M. Srivastava, R.O. da Silva, V.L.M. Lima. *Fármaco*, *58*, 1283 (2003).
16. R.A.W. Johnstone, B.J. Millard, D.S. Milligton. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, 600 (1966).
17. J.L. Cotter, Dine-Hart. *Chem. Commun.*, 809 (1966).
18. R.M. Srivastava, L. Cottier, G. Descotes. *Rap. Commun. in Mass Spectrom.*, *14*, 657 (2000).
19. F.W. McLafferty, F. Turecek. *Interpretation of Mass Spectra*. 4ed., Copyright, California, 1993, p.297-210.
20. T. Nishio. *Tetrahedron Lett.*, *36*, 6113 (1995).
21. B. Yde, N.M. Yousif, V. Perderson, L. Thomsen, S.O. Lawesson. *Tetrahedron.*, *40*, 2047 (1984).

22. J.A Brian, J.S. Bradshaw. *J. Chem. Res.*, 84, 17 (1984).
23. J.B. Lambert, H.F. Shurvell, D.A. Lightner, R.G. Cooks, *Introduction to Organic Spectroscopy*, MacMillan Publishing Co., New York, 1980, p. 216.
24. D.H. Williams, I. Fleming. *Spectroscopic Methods in Organic Chemistry*, Copyright, 2ed., New York, 1973, p. 64.
25. J.M. Hoffman, J.S. Wai, C.M. Thomas, R.B. Levin, J.A. O'Brien, M.E. Goldman. *J. Med. Chem.*, 35, 3784 (1992).
26. M.K. Hargreaves, J.G. Pritchard, H.R. Dave. *Chem. Rev.*, 70, 439 (1970).
27. N. Perisié-Janjié, L. Arman, M. Lazarivié. *Spectroscopy Lett.*, 30, 1057 (1997).
28. D.H. Williams, I. Fleming. Ultraviolet and Visible Spectra, In: *Spectroscopic Methods in Organic Chemistry*. New York, McGraw-Hill, 1973, p. 1-34,
29. T. Vidal, A. Petit, A. Loupy, R.N. Gedye. *Tetrahedron*, 56, 5473 (2000).
30. P.J. Kadaba, G. Parmeley, P.A. Crooks, B. Agha. *J. Heterocycl. Chem.*, 30, 1191 (1993).
31. P.J. Kadaba, N.F. Farnnin. *J. Heterocycl. Chem.*, 4, 301 (1967).
32. S.H. Chen, C. Fairchild, B.H. Log. *J. Med. Chem*, 38, 2263 (1985).
33. X. Sun, D. Ross. *Chem. Biol. Interact.*, 100, 267 (1996).
34. A.J. Kadaba. *J. Am. Chem. Soc.*, 123, 26031 (1987).
35. R.S. Varma, R. Dahiya. *Synlett.*, 1245 (1997).
36. N.L. Holder, B. Fraser Reider. *Can. J. Chem.*, 51, 3357 (1953).
37. C. Hansch, E.W. Deutsch. *Biochem. Biophys. Acta*, 112, 381 (1966).
38. A.A. Neto, E. Cantarrelli, J. Diament. *Arq. Bras. Cardiol.*, 61, 1 (1993).
39. I. H. Hall, J.M. Chapman, J.P. Voorstad, G. H. Cocolas. *J. Pharm. Science*, 73, 956 (1984).
40. J.M. Chapman, G.G. Cocolas, I.H. Hall. *J. Pharm Sci.*, 73, 1488 (1984).
41. R.R. Wexler, D. J. Carini, J. V. Duncia, A. L. Johnson, G. J. Wells, A. T. Chiu, P. C. Wong, P. B.M.W.M. Timmermans. *Am. J. Hypert.*, 5, 209 (1992).
42. H. Braunlinch, A Jordan, L. Kersten, S. Scheithauer, F. Schiller, J. Stolz, P. Volkert. *Zeitschrift Fur Klinische Medizin-Zkm.*, 40, 201 (1985).
43. M.A. Abrams, C. Cooper. *Biochem. J.*, 156, 33 (1976).
44. H. Hayashi, S. Niinobe, Y. Matsumoto, T. Suga. *J. Biochem.*, 89, 573 (1981).
45. T. Ishikawa, N. Fidge. *J. Lipid Res.*, 20, 254 (1979).
46. S. Goldfarb. *J. Lipid Res.*, 19, 489 (1978).

47. M. Kuroda, K. Tanzawa, Y. Tsujita, A. Endo. *Biochim. Biophys. Acta.*, 489, 119 (1987).
48. G.H. Muller, L.G. Corral, M.G. Shire, H. Wang, A. Moreira, G. Kaplan, D.I. Stirling. *J. Med. Chem.*, 39, 3238 (1996).
49. C. A. Winter, E. A. Risley, G. W. Nuss. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 111, 544 (1962).
50. W. Van, B. Robertson, B. Schwartz. *J. Biol. Chem.*, 201, 689 (1953).
51. L. Levy. *Life Sci.*, 8, 601 (1969).
52. L.J. Roberts II, J.D. Morrow in : Goodman and Gilman's. *The Pharmacological Basis of Therapeutics*, J.G. Hardman, L.E. Limbird and A.G. Gilman. Eds., 10th, McGraw-Hill, New York, NY, 2001, p. 687-731
53. R.M. Srivastava, L.P.F. Morais, M.T.J.A. Catanho, G.M.L. Souza, G.M.A. Seabra, A.M. Simas, M.A.L. Rodrigues. *Heterocycl. Commun.*, 6, 41 (2000).
54. J. Musial, A. Undas, P. Gajewski, M. Jankowski, W. Sydor, A. Szezeklik. *Int. J. Cardiol.*, 77, 247 (2001).
55. I.C. Almeida, M.M. Camargo, D.O. Procópio, L.S. Silva, A. Mehlert, L.R. Travassos, R.T. Grazzinelle, M.A.J. Ferguson. *EMBO J.*, 19, 1476 (2000).
56. S. Bala, G. Englund, J. Kovacs, L. Wahi, M. Martin, A. Sher, R.T. Grazzinelli. *J. Eukaryot. Microbiol.*, 41, 75 (1994).
57. M. Clerici, G.M. Shearer. *Immunol. Today*, 14, 107 (1993).
58. J.P. Jersmann, C.S. Hii, J.V. Ferrante, A. Ferrante. *Infec. Immun.*, 69, 1273 (2001).
59. H. Flo, O. Haloas, E. Lien, L. Ryan, G. Teti, D.T. Galenbock, A. Sundan, T. Spevik. *J. Immunol.*, 164, 2064 (2000).
60. F. Zentz, A. Valla, R. Le Guillou, R. Labia, A.G. Mathot, D. Sirot. *Farmaco*, 57, 421 (2002).
61. V. Klimesová, J. Kočí, K. Waissner, J. Kaustová. *Farmaco*, 57, 259 (2002).
62. P. F. Athayde-Filho, G.T. Miller, C.C. Araújo. *Heterocycl. Commun.*, 573 (1996).
63. F. Zentz, A. Valla, R. Le Guillou, R. Labia, A.G. Mathot, D. Sirot. *Farmaco*, 57, 421 (2002).



Procedimentos

Experimentais

4. PROCEDIMENTOS EXPERIMENTAIS

4.1 – Materiais Empregado

• Os reagentes e solventes empregados foram da E. Merck, Vetec ou Cinética na sua forma comercial, p.a. O ciclohexano antes do uso foi secado com cloreto de cálcio e destilado.

- Sílica gel para cromatografia em coluna (70-230 mesh-Merck),
- Cromatofolhas de sílica gel (60 PF₂₅₄) da Macherey/Nagel (Düren, Alemanha), espessura de camada 0,2mm, e para a revelação dos compostos foi usada luz ultravioleta.

4.2 – Instrumentos Utilizados

As análises elementares foram realizadas no laboratório da Central Analítica deste Departamento. Os pontos de fusão para os compostos obtidos foram realizados utilizando-se um equipamento de Thomas Hoover “Capillary Melting Point Apparatus” (não corrigido), Digital Electrothermal série IA 9100. Os espectros de ultravioleta dos compostos foram registrados no spectrophotometer U-3200 Hitachi. Os espectros de infravermelho com Transformada de Fourier foram obtidos com o equipamento Bruker IFS 55 e os de RMN-¹H através do equipamento Varian Unity Plus (300 MHz), modelo IFS 66, solventes apropriados usando tetrametilsilano como padrão interno. Para a preparação dos ácidos ftalâmicos *N*-substituídos, um forno de microondas doméstico da Sanyo EM-3500B, 220V/1350W/2450MHz foi empregado.

4.3 – Síntese das N-Arilftalimidas

4.3.1 – Ftalimidas N-substituídas

A síntese das ftalimidas N-substituídas **56a-o**, foram realizadas com algumas modificações nos métodos descritos no capítulo 1.

© Método A:

Em um balão de fundo redondo de 25 mL, pesou-se 200 mg (1,35 mmol) de anidrido ftálico e 1,35 mmol da anilina apropriada. Em seguida adicionou-se aproximadamente 10 mL de nitrobenzeno, acoplou-se o balão de fundo redondo ao condensador de bolas e deixou-se em refluxo durante 45 min. O final da reação foi observado pelo desaparecimento dos reagentes iniciais em placa de cromatografia em camada fina (TLC), utilizando-se CHCl₃ / EtOAc (85 : 15, v/v), com o sistema de solventes. Após a reação, a mistura foi resfriada e o produto precipitado com n-hexano e filtrado, e o sólido lavado com hexano. As N-arilftalimidas foram cristalizadas com solvente apropriado.

© Método B:

Em um cadinho de porcelana macerou-se 1,35 mmol de anidrido ftálico e 1,35 mmol da anilina apropriada. A mistura foi transferida para um tubo de ensaio e aquecida em banho de óleo mantida a aproximadamente 150 °C, por 30 min. Após resfriado o material foi transferido para um erlenmayer com uma pequena quantidade de EtOH e cristalizada com solvente apropriado.

Abaixo se encontram descritos rendimentos, ponto de fusão, os dados de RMN ¹H, IV e UV (empregando MeOH como solvente) das ftalimidas N-substituídas (**56a-o**), utilizando-se os métodos A e/ou B.

→ *N*-Fenilftalimida (**56a**) - 200 mg (1,35 mmol) de anidrido ftálico, e 126 mg de anilina foram usados. Solvente de cristalização: EtOH. Rend. 97,8% (Met. A), 99,0% (Met. B); pf 210 °C (Lit. [1] pf 205,5-206,0 °C).

RMN ¹H (CDCl₃) δ = 7,95 ppm (dd, 2H, J = 3,0 e J = 5,4 Hz; H-4 e H-7), 7,79 (dd, 2H, J = 3,0 e J = 5,4 Hz; H-5 e H-6), 7,52 (m, 2H, H-5' e H-3'), 7,47 (m, 2H, H-2' e H-6'), 7,44 (m, 1H, H-4').

IV $\nu_{\text{máx}}/\text{cm}^{-1}$ (KBr) – 3031, 1770, 1711, 1594, 1466, 1452 cm^{-1} .

UV (MeOH) – $\lambda_{\text{máx}}$ 280 nm, $\epsilon_{\text{máx}}$ 1750 L mol⁻¹ cm⁻¹, transição n → π*; $\lambda_{\text{máx}}$ 205 e 228 nm, $\epsilon_{\text{máx}}$ 19020 e 14729 L mol⁻¹ cm⁻¹ respectivamente, transição π → π*.

→ *N*-(2-Clorofenil)ftalimida (**56b**) – 200 mg (1,35 mmol) de anidrido ftálico, e 172 mg de 2-cloroanilina. Solvente de cristalização EtOH. Rend. 77,0% (Met. A), 85,4% (Met. B); pf 145,5–144 °C (Lit. [2] pf 143 °C).

RMN ¹H (CDCl₃) δ = 8,00 ppm (dd, 2H, J= 3,0 e J= 5,4 Hz; H-4 e H-7), 7,83 (dd, 2H, J= 3,0 e J= 5,4 Hz; H-5 e H-6), 7,58 (1H, m, H-3'), 7,42-7,48 (2H, m, H-5', H-6'), 7,38 (1H, m, H-4').

IV $\nu_{\text{máx}}/\text{cm}^{-1}$ (KBr) – 1745, 1711, 1588, 1526, 1486, 1469, 1440, 772, 748.

UV (MeOH), $\lambda_{\text{máx}}$ 288 nm, $\epsilon_{\text{máx}}$ 1613 L mol⁻¹ cm⁻¹, transição n → π*; $\lambda_{\text{máx}}$ 217 nm, $\epsilon_{\text{máx}}$ 22797 L mol⁻¹ cm⁻¹, transição π → π*.

→ *N*-(3-Clorofenil)ftalimida (**56c**) - 200 mg (1,35 mmol) de anidrido ftálico, e 172 mg de 3-cloroanilina. Solv. de cristalização: EtOH. Rend. 93,6% (Met. A), 90,2% (Met. B); pf 168,5–169,0 °C (Lit. [3] pf 166,8 °C).

RMN ¹H (CDCl₃) δ = 7,98 ppm (dd, 2H, J= 3,0 e J= 5,4 Hz; H-4 e H-7), 7,82 (dd, 2H, J= 3,0 e J= 5,4 Hz; H-5 e H-6), δ= 7,35-7,41 (m, 2H, H-4' e H-6'), 7,43 (t, 1H, H-5'), 7,40-7,36 (1H, m, H-2').

IV $\nu_{\text{máx}}/\text{cm}^{-1}$ (KBr) – 1721, 1687, 1580, 1550, 1530, 1482, 1433, 774, 735, 715, 684.

UV (MeOH) – $\lambda_{\text{máx}}$ 287 nm, $\epsilon_{\text{máx}}$ 1865 L mol⁻¹ cm⁻¹, transição n → π*; $\lambda_{\text{máx}}$ 218 nm, $\epsilon_{\text{máx}}$ 18287 L mol⁻¹ cm⁻¹, transição π → π*.

→ *N*-(4-Clorofenil)ftalimida (**56d**) - 200 mg (1,35 mmol) de anidrido ftálico, e 172 mg de 4-cloroanilina. Cristalizado do EtOH. Rend. 99,0% (Met.A), 94% (Met. B); pf 200,6 – 201,2 °C (Lit. [2] pf 201-202 °C).

RMN ¹H (CDCl₃) δ = 7,97 ppm (dd, 2H, J= 3,0 e J= 5,4 Hz; H-4 e H-7), 7,81 (dd, 2H, J= 3,0 e J= 5,4 Hz; H-5 e H-6), 7,49, (d, 2H, J= 9,0 Hz, H-3' e H-5'), 7,42 (d, 2H, J= 9,0, Hz, H-2', H-6').

IV $\nu_{\text{máx}}/\text{cm}^{-1}$ (KBr) – 1787, 1712, 1610, 1540, 1495, 1388, 1280, 885, 851, 825.

UV (MeOH) – $\lambda_{\text{máx}}$ 288 nm , $\epsilon_{\text{máx}}$ 2854 L mol⁻¹ cm⁻¹, transição n → π^* ; $\lambda_{\text{máx}}$ 222 e 241 nm , $\epsilon_{\text{máx}}$ 32197 e 26983 L mol⁻¹ cm⁻¹ respectivamente, transição $\pi \rightarrow \pi^*$.

→ *N*-(2-Fluorfenil)ftalimida (**56e**) - 200 mg (1,35 mmol) de anidrido ftálico, e 150 mg de 2-fluoranilina. Cristalizado do EtOH. Rend. 67,0% (Met. A), 70,1% (Met. B); pf 194 – 195 °C (Lit. [4] pf 192 - 193 °C).

RMN ¹H (CDCl₃) δ = 7,97 (dd, 2H, J= 3,0 e J= 5,4 Hz; H-4 e H-7), 7,80 (dd, 2H, J= 3,0 e J= 5,4 Hz; H-5 e H-6), 7,20 - 7,50 (m, 4H, H-6', H-5', H-4', H-3').

IV $\nu_{\text{máx}}/\text{cm}^{-1}$ (KBr) – 1721, 1687, 1587, 1550, 1530, 1482, 1433, 1378, 774, 735, 715, 684.

UV (MeOH) – $\lambda_{\text{máx}}$ 280 nm , $\epsilon_{\text{máx}}$ 1773 L mol⁻¹ cm⁻¹, transição n → π^* ; $\lambda_{\text{máx}}$ 222 nm , $\epsilon_{\text{máx}}$ 26411 L mol⁻¹ cm⁻¹, transição $\pi \rightarrow \pi^*$.

→ *N*-(3-Fluorfenil)ftalimida (**56f**) - 200 mg (1,35 mmol) de anidrido ftálico, e 150 mg de 3-fluoranilina. Solvente de Cristalização: EtOH. Rend. 89,1% (Met. A), 80,3% (Met. B); pf 201-201,4 °C (Lit. [5] pf 200 -201 °C).

RMN ¹H (CDCl₃) δ = 7,96 ppm (dd, 2H, J= 3,0 e J= 5,7 Hz, H-4 e H-7), 7,80 (dd, 2H, J= 3,0 e J= 5,7 Hz, H-5 e H-6), 7,47 (ddd, 1H, J_{5', 4'} = 8,1, J_{5', 6'} = 8,1 e J_{5', F} = 6,0 Hz, H-5'), 7,30 (ddd, 1H, J_{6', 5'} = 8,1, J_{6', 4'} = 0,9 e J_{6', 2'} = 2,1 Hz, H-6'), 7,24 (dt, 1H, J_{2', F} = 9,0, J_{2', 4'} = 2,4 e J_{2', 6'} = 2,4 Hz, H-2'), 7,11 (dddd, 1H, J_{4', F} = 8,4, J_{4', 5'} = 8,1, J_{4', 2'} = 2,4 e J_{4', 6'} = 0,9 Hz, H-4').

IV $\nu_{\text{máx}}/\text{cm}^{-1}$ (KBr) – 1721, 1686, 1587, 1550, 1530, 1482, 1433, 1378, 774, 735, 715, 684.

UV (MeOH) – $\lambda_{\text{máx}}$ 285 nm , $\epsilon_{\text{máx}}$ 2432 L mol⁻¹ cm⁻¹, transição n → π^* ; $\lambda_{\text{máx}}$ 222 nm , $\epsilon_{\text{máx}}$ 21510 L mol⁻¹ cm⁻¹, transição $\pi \rightarrow \pi^*$.

→ *N*-(4-Fluorfenil)ftalimida (**56g**) - 200 mg (1,35 mmol) de anidrido ftálico, e 150 mg de 4-fluoroanilina. Solv. de crist. ETOH. Rend. 98,3% (Met.A), 98,1 (Met. B); pf 180,6-181,2 °C (Lit.[5] pf 180-181,5 °C).

RMN ¹H (CDCl₃) δ = 7,95 ppm (dd, 2H, J= 3,0 e J= 5,4 Hz, H-4 e H-7), 7,80 (dd, 2H, J= 3,0 e J= 5,4 Hz, H-5 e H-6), 7,43 (m, 2H, H-2' e H-6'), 7,19 (m, 2H, H-3' e H-5').

IV ν_{máx}/cm⁻¹ (KBr) – 1789, 1680, 1603, 1514, 1467, 1393, 886, 864.

UV (MeOH) – λ_{max} 281 nm , ε_{max} 1941 L mol⁻¹ cm⁻¹, transição n → π*; λ_{max} 221 nm , ε_{max} 23727 L mol⁻¹ cm⁻¹, transição π → π*.

→ *N*-(2-Nitrofenil)ftalimida (**56h**) - 200 mg (1,35 mmol) de anidrido ftálico, e 172 mg de 2-nitroanilina. Solv. de crist. ácido acético. Rend. 66,5% (Met. A), 68,5% (Met. B); pf 201,4 – 202,3 °C (Lit. [4] pf 201 -202 °C).

RMN ¹H (CDCl₃) δ = 8,22 (1H, dd, J= 8.1 e J= 1.5 Hz, H-3'), 8,03-7,92 (5H, m, H-7, H-6, H-5, H-4 e H-5'), 7,80-7,74 (2H, m, H-4' e H-6').

IV ν_{máx}/cm⁻¹ (KBr) – 1787, 1712, 1610, 1495, 1388, 1280, 885, 851, 825.

UV (MeOH) – λ_{max} 288 nm , ε_{max} 2854 L mol⁻¹ cm⁻¹, transição n → π*; λ_{max} 222 e 241 nm , ε_{max} 32197 e 26983 L mol⁻¹ cm⁻¹ transição π → π*.

→ *N*-(3-Nitrofenil)ftalimida (**56i**) - 200 mg (1,35 mmol) de anidrido ftálico, e 172 mg de 3-nitroanilina. Solv. de crist. ácido acético. Rend. 68,2% (Met. A), 99% (Met. B); pf 267,4-268,1 °C (Lit. [4] pf 269-271,3 °C).

RMN ¹H (CDCl₃) δ = 7,87 (dd, 2H, J= 3,0 e J= 5,7 Hz; H-4, H-7), 7,75 (m, 3H, H-6, H-5, e H-2'), 7,63, (m, 1H, H-4'), 7,32 (t, 1H, J= 8,1, Hz, H-5'), 7,18 (m, 1H, H-6').

IV ν_{máx}/cm⁻¹ (KBr) – 1774, 1709, 1625, 1587, 1550, 1530, 1384, 1272, 864, 826 .

UV (MeOH) – λ_{max} 282 nm , ε_{max} 4797 L mol⁻¹ cm⁻¹, transição n → π*; λ_{max} 230 e 248 nm , ε_{max} 34294 e 17062 L mol⁻¹ cm⁻¹ transição π → π*.

→ *N*-(4-Nitrofenil)ftalimida (**56j**) - 200 mg (1,35 mmol) de anidrido ftálico, e 172 mg de 4-nitroanilina. Solv. de crist. ácido acético. Rend. 79,8% (Met. A), 70,3% (Met. B); pf 247,3-248 °C (Lit. [6] pf 245-246 °C).

RMN ¹H (CDCl₃) δ = 7,97 (dd, 2H, J= 3,0 e J= 5,4 Hz), 7,81 (dd, 2H, J= 3,0 e J= 5,4 Hz), 7,63, (d, 2H, J= 9,0 Hz, H-2'), 7,42 (d, 2H, J= 9,0, Hz, H-3', H-5').

IV ν_{máx}/cm⁻¹ (KBr) – 1787, 1712, 1610, 1495, 1482, 1388, 1280, 885, 851, 825.

UV (MeOH) – λ_{max} 288 nm , ε_{max} 2854 L mol⁻¹ cm⁻¹, transição n → π*; λ_{max} 222 e 241 nm , ε_{max} 32197 e 26983 L mol⁻¹ cm⁻¹ respectivamente, transição π → π*.

→ *N*-(4-Bromofenil)ftalimida (**56l**) - 200 mg (1,35 mmol) de anidrido ftálico, e 150 mg de 4-bromoanilina. Solv. de crist. EtOH. Rend. 82,50% (Met. B); pf 203,6-204,2 °C (Lit. [6] pf 203-204 °C).

→ *N*-(4-Amidofenil)ftalimida (**56m**) - 200 mg (1,35 mmol) de anidrido ftálico, e 184 mg (1,35 mmol) de 4-aminobenzamida. Solv. de crist. ácido acético. Rend. de 90,4% (Met. A), 94% (Met. B); pf 279,1-279,8 °C (Lit. [6] pf 277-278 °C).

RMN ¹H (DMSO-d₆) - δ= 8.01 ppm (2H, d, H-4 e H-7), δ= 7.82 (2H, m, H-3' e H-5'), δ= 7,53- 7,48 (4H, m, H-5, H-6, H-2', H-6').

IV ν_{máx}/cm⁻¹ (KBr) – 3453, 3197, 1752, 1717, 1692, 1648, 1633, 1577, 1512, 886, 864.

UV (CHCl₃)– λ_{max} 281 nm, transição n → π*; λ_{max} 221 nm, transição π → π*.

→ 2-[1*H*-(1,2,4)Triazol-3-il]-isoindol-1,3-diona (**56n**) - 200 mg (1,35 mmol) de anidrido ftálico, e 113,6 mg de 3-amino-1,2,4-triazol. Solv. de crist. MeOH. Rend. 50,6% (Met. A), 69% (Met. B); pf 305,1–306 °C.

Análise elementar: calculado para C₁₀H₆N₄O₂ - C. 56,08; H. 2,82; N. 26,16. Encontrado: C. 56,06; H. 3,00; N. 26,08%.

RMN ¹H (DMSO-d₆) δ 8,68 ppm (s, 1H, H-5'), 8.01 (m, 4H, H-6, H-5, H-4 e H-3).

IV (KBr) 3392, 3063, 2855, 1792, 1770, 1744, 1526, 1492, 1466, 1374, 1353, 1118, 874, 719 cm⁻¹.

UV (MeOH) λ_{\max} 282 nm, ϵ_{\max} 1391 L mol⁻¹ cm⁻¹ transição n \rightarrow π^* ; λ_{\max} 206 e 223 nm ϵ_{\max} 23750 e 11605 L mol⁻¹ cm⁻¹, transição $\pi \rightarrow \pi^*$.

MS - EI 70 ev, 215 (41%), 214 (27.6%), 213 (100.0%), 186 (14.1), 170 (2.9%), 159 (6%), 143 (9.7%), 76 (17.6%), 50 (25,2%).

\rightarrow 2-([1,2,4]Triazol-4-il)-isoindol-1,3-diona (**560**) - 200 mg (1,35 mmol) de anidrido ftálico, e 13,6 mg de 3-amino-1,2,4-triazol. Solv. de crist. MeOH. Rend 57,3% (Met. A), 75.4% (Met. B), pf 269.7-270.4 °C.

Análise elementar calculado para C₁₀H₆N₄O₂ - C. 56,08; H. 2,82; N. 26,16. encontrado: C. 56,39; H. 2,70; N. 26,25%.

RMN ¹H (DMSO-d₆) δ 8,72 ppm (s, 2H, H-3', H-5'), 7,78-7,71 (m, 4H, H-7, H-6, H-5 e H-4).
IV (KBr) 3107, 1730, 1686, 1560, 1444, 1368, 1346, 1287, 1200, 1173, 1116, 1079, 1052, 879, 704 cm⁻¹.

UV (MeOH) λ_{\max} , 274 nm, ϵ_{\max} 1752 L mol⁻¹ cm⁻¹ transição n \rightarrow π^* ; λ_{\max} 205 e 221 nm ϵ_{\max} 2382 e 12286 L mol⁻¹ cm⁻¹, transição $\pi \rightarrow \pi^*$.

MS - EI 70 ev, 215 (7.2%), 214 (30.9%), 213 (28.8%), 130 (30.8), 105 (10.9%), 104 (100.0%), 94 (4.8%), 92 (8.1%), 81 (9.4), 77 (12.8), 76 (70.2), 66 (23.1), 64 (58.8), 50 (81.7%).

4.4 – Obtenção dos Compostos Mono- e Diftioftalimidas

® Método Geral:

Em um balão de fundo redondo de 25 mL, pesou-se quantidades equimolares do reagente Reativo de Lawesson (RL) e do substrato (ftalimida N-substituída apropriada) e adicionou-se aproximadamente 15 mL de tolueno seco. Levou-se a mistura ao refluxo em banho de óleo por aproximadamente 5h, sob agitação e atmosfera inerte (Ar ou N₂). O final da reação, foi observada em TLC (CHCl₃ : EtOAc, 85:15 v/v) pelo desaparecimento do substrato e aparecimento de dois novos produtos. Um com R_f \approx 0,65 cm, similar ao substrato e outro

um pouco acima do substrato ($R_f \approx 0,66$). Após a evaporação do solvente, o material obtido foi purificado através de cromatografia em coluna utilizando-se sílica gel e eluindo-se inicialmente o composto monotionado com ciclo-hexano (100%) e aumentando-se ligeiramente a polaridade do solvente com o acetato de etila. Com uma mistura de EtOAc e ciclohexano (0,25 % EtOAc: 99,75% de ciclohexano), eluiu-se o composto ditionado. As frações dos dois produtos foram reunidas separadamente, evaporadas a baixa pressão e cristalizadas com solvente apropriado.

Tionação das N-fenilftalimidas

Depois do manuseio, dois novos produtos foram obtidos cujos dados de IV, UV, RMN ^1H e massa são descritos abaixo.

Tionação da N-fenilftalimida

II N-Fenil-monotioftalimida (**58a**) - 100 mg (0,448 mmol) do substrato e 181 mg (0,448 mmol) do RL, 5h de reação. A cristalização com 95% de EtOH forneceu cristais finos vermelho-alaranjado, 42% de rendimento, pf 138,2-139 °C, $R_f = 0,71$.

Análise elementar calculado para $\text{C}_{14}\text{H}_8\text{NOS}$ (239,29) - C. 70,27 ; H. 3,79; N. 5,85; S.13,40. encontrado: C. 70,34; H. 4,04; N. 6,22; S. 13,03 %.

RMN ^1H (CDCl_3) - $\delta = 8,06$ ppm (dd, 1H, $J = 3,2$ e $J = 5,2$ Hz; H-4); 7,86 (dd, 1H, $J = 1,2$, e $J = 4,6$; H-6); 7,76 (dd, 2H, $J = 2,6$ e $J = 5,8$; H-5 e H-7); 7,53-7,45 (m, 3H, H-2', H-4' e H-6'); 7,38-7,40 (m, 2H, H-3', H-5').

IV $\nu_{\text{máx}}/\text{cm}^{-1}$ (KBr) - 3064, 2919, 2850, 1745 (C=O), 1593, 1498, 1464, 1357, 1206, 1171, 1071.

UV (CHCl_3) - $\lambda_{\text{máx}}$ 300 e 331 nm , transição $n \rightarrow \pi^*$; $\lambda_{\text{máx}}$ 236 nm , transição $\pi \rightarrow \pi^*$.

MS - 241 (4,06%), 240 (15,86%), 239 (69,95%), 238 (100%), 219 (7,86%), 179 (41%) e 178 (31%), 153 (8,33%) e 152 (14,05%) e 151 (10,6%), 139 (5,8%) e 92 (8,7%).

III N-Fenil-ditioftalimida (**59a**) - $R_f = 0,67$. A cristalização em EtOH forneceu cristais finos marrons, rend. 54,22%, pf 149,8-150,3 °C.

Análise elementar calculado para $\text{C}_{14}\text{H}_8\text{NS}_2$ (255,36) - C. 65,85; H. 3,55; N. 5,49; S.25,11. encontrado: C. 65,91; H. 3,89; N. 5,31; S. 24,04 %.

RMN ^1H (CDCl_3) - δ = 7,88-7,83 ppm (m, 2H; H-4 e H-7); 7,69-7,64 (m, 2H; H-5 e H-6); 7,45- 7,42 (m, 2H; H-2'; H-6'); 7,23-7,15 (m, 3H; H-3', H-4' e H-5').

IV $\nu_{\text{máx}}/\text{cm}^{-1}$ (KBr) – 3038, 2920, 2851, 1594, 1491, 1462, 1356, 1154, 1081.

MS – 257 (10,24%), 256 (55,82%), 255 (97,50%), 254 (100%), 222 (5,26%), 178 (11,44%) e 152 (6,51%), 146 (9,92%) e 51 (4,16%).

Tionação do N-(2-clorofenil)ftalimida

100 mg (0,39 mmol) do substrato e 159 mg (0,39 mmol) do RL, 4h de reação. Pela cromatografia em camada fina as seguintes mono- e ditioftalimidas foram obtidas.

→ N-(2-Clorofenil)monotioftalimida (**58b**) – $R_f = 0,73$. A cristalização em EtOH forneceu cristais finos vermelho-alaranjado. 47,3%, pf 114,2-115 °C.

Análise elementar calculado para $\text{C}_{14}\text{H}_8\text{NOS}$ (273,74) - C. 61,43; H. 2,95; N. 5,12; S.11,71. encontrado: C. 60,92; H. 2,80; N. 5,20; S. 11,75 %.

RMN ^1H (CDCl_3) - δ = 8.00 ppm (dd, 1H, J = 3,2 e J = 5,6 Hz; H-4); 7,84 (dd, 1H, J = 2,8 e J = 5,0 Hz; H-6); 7,79-7,72 (m, 2H, H-5 e H-7); 7,66-7,38 (m, 1H, H-6'); 7,22-7,01 (m, 3H, H-3', H-4', H-5').

IV $\nu_{\text{máx}}/\text{cm}^{-1}$ (KBr) – 3096, 3051, 2922, 2852, 1749 (C=O), 1480, 1466, 1362, 1307, 751.

MS – 274 [M^+ (2,58%)], 240 (6,34%), 239 (19,73%), 238 (100%), 210 (10,81%), 209 (14,70%), 183 (14,58%), 151 (5,11%), 138 (11,44%), 105 (4,66%), 75 (11,19).

∏ N-(2-Clorofenil)ditioftalimida (**59b**) – $R_f = 0,59$. A cristalização em EtOH forneceu cristais finos marrons, rend. 46,4%, pf 126,7-127,3 °C.

Análise elementar calculado para $\text{C}_{14}\text{H}_8\text{NS}_2$ (289,80) - C. 58,02; H. 2,78; N. 4,83; S. 22,13. encontrado: C. 58,13; H. 2,56; N. 4,25; S. 22,01 %.

RMN ^1H (CDCl_3) - δ = 7,69 ppm (dd, 2H, J= 3,0 e J= 5,7 Hz; H-4 e H-7); 7,41 (dd, 2H, J= 3,2 e J= 5,4; H-5 e H-6); 7,13 (m, 1H, H-3'); 6,72-6,38 (m, 3H, H-4', H-5', H-6').

IV $\nu_{\text{máx}}/\text{cm}^{-1}$ (KBr) – 3022, 2852, 2851, 1465, 1356, 1308, 1280, 1160, 1078, 1042, 766, 741.

MS – 289 (<1%), 256 (9,2%), 255 (17%), 254 (100%), 238 (4,2%), 222 (6,4%), 178 (3,2%) e 146 (11,3 %), 127 (6,0%), 102 (3,5%), 75 (7,4).

Tionação do N-(3-clorofenil)ftalimida

100 mg (0,39 mmol) do substrato e 159 mg (0,39 mmol) do RL, 5h de reação. Os seguintes produtos **58c** e **59c** foram identificados.

→ *N*-(3-Clorofenil)monotioftalimida (**58c**) – $R_f = 0,71$; cristais finos vermelho-alaranjados foram obtidos após cristalização em EtOH, rend. 45,3%, pf 146-146,3 °C.

Análise elementar calculado para $C_{14}H_8ClNO_2$ (273,74) - C. 61,43; H. 2,95; N. 5,12; S.11,71. encontrado: C. 61,46; H. 2,91; N. 5,17; S. 11,70 %.

RMN 1H ($CDCl_3$) - $\delta = 7,96$ ppm (dd, 1H, $J = 3,0$ e $J = 5,4$ Hz; H-4), 7,74 (dd, 1H, $J = 2,7$ e $J = 5,1$ Hz; H-6), 7,69-7,62 (m, 2H, H-5 e H-7), 7,52-7,46 (m, 2H, H-4' e H-6'), 7,41-7,31 (m, H-2' e H-5').

IV $\nu_{m\acute{a}x}/cm^{-1}$ (KBr) – 3096, 3051, 2922, 2852, 1749 (C=O), 1480, 1466, 1362, 1307, 751.

UV ($CHCl_3$) – λ_{max} 351 e 399 nm , transição $n \rightarrow \pi^*$; λ_{max} 248 nm , transição $\pi \rightarrow \pi^*$.

MS – 276 (5,43%), 275 (25,914%), 274 (47,22%), 273 (69,29%), 272 (100%), 238 (14,26%), 213 (17,02%), 209 (15,07%), 196 (20,49%), 178 (41,85%), 151 (18,01), 75 (13,24).

⇓ *N*-(3-Clorofenil)dítioftalimida (**59c**) – $R_f = 0,79$; a cristalização em EtOH forneceu cristais finos marrom, rend. 45,6 %, pf 188-189 °C.

Análise elementar calculado para $C_{14}H_8ClNS_2$ (289,80) - C. 58,02 ; H. 2,78; N. 4,83; S. 22,13. encontrado: C. 58,25; H. 2,80; N. 5,02; S. 22,86 %.

RMN 1H ($CDCl_3$) - $\delta = 7,69$ ppm (dd, 2H, $J = 3,0$ e $J = 5,7$ Hz; H-4 e H-7); 7,41 (dd, 2H, $J = 3,0$ e $J = 5,4$ Hz; H-5 e H-6); 7,13 (m, 1H, H-3'); 6,72-6,38 (m, 3H, H-4', H-5', H-6').

IV $\nu_{m\acute{a}x}/cm^{-1}$ (KBr) – 3092, 3049, 2920, 15643, 1482, 1464, 1376, 1312, 735, 658.

UV ($CHCl_3$) – λ_{max} 351 e 399 nm , transição $n \rightarrow \pi^*$; λ_{max} 248, 296 nm , transição $\pi \rightarrow \pi^*$.

MS – 291 (37,4%), 290 (53,8%), 289 (91,6%), 288 (100%), 254 (41,18%), 213 (5,6%), 196 (10,5), 179 (26,0), 178 (25,3%), 151 (14,7 %), 146 (18,4%), 127 (10,5%), 75 (9,1%).

Tionação do N-(4-clorofenil)ftalimida

100 mg (0,39 mmol) do substrato e 157 mg (0,39 mmol) do RL., após 5h de reação, os compostos **58d** e **59d** foram identificados.

→ *N*-(4-Clorofenil)monotioftalimida (**58d**) – $R_f = 0,78$; a cristalização em EtOH forneceu cristais finos vermelho-alaranjado, rend. 39,3%, pf 172,6-173,3 °C.

RMN ^1H (CDCl_3) - δ = 8,07 ppm (dd, 1H, J= 2,7, J= 6,0 Hz; H-4); 7,90 - 7,87 (m, 1H, H-6), 7,80 - 7,78 (m, 2H, H-5, H-7); 7,51 (dd, 2H, J= 2,1, J= 6,9 Hz; H-2', H-6'), 7,33 (dd, 2H, J= 2,1, J= 6,6 Hz; H-3', H-5').

IV $\nu_{\text{máx}}/\text{cm}^{-1}$ (KBr) - 3266, 3004, 2662, 2562, 1697, 1585, 1522 1490, 1403, 1283, 1133, 1076, 910, 830, 798.

MS - 276 (6,9%), 275 (34,8%), 274 (47,6), 273 (91,5%), 272 (100%), 238 (5,7%), 215 (14,5%), 213 (43,6%), 196 (19,1%), 179 (10,2%), 178 (71,0%), 177 (19,0%), 151 (27,1%), 130 (8,03%), 75 (14,23%).

II *N*-(4-Clorofenil)ditioftalimida (**59d**) - R_f = 0,68; após cristalização em EtOH obteve-se cristais finos marrons, rend. 59,3%, pf 198-200 °C.

Análise elementar calculado para $\text{C}_{14}\text{H}_8\text{ClNS}_2$ (289,80) - C. 58,02 ; H. 2,78; N. 4,83; S. 22,13. encontrado: C. 57,99; H. 2,88; N. 4,87; S. 22,74 %.

RMN ^1H (CDCl_3) - δ = 7,85 ppm (dd, 2H, J= 2,6 e J= 6,0 Hz; H-4 e H-7); 7,66 (dd, 2H, J=5,6 e J= 5,3 Hz; H-5 e H-6); 7,40 (dd, 2H, J= 4,4 e J= 7,5 Hz; H-6', H-2'); 7,16 (d, 2H, J= 8,6 Hz, H-3', H-5').

IV $\nu_{\text{máx}}/\text{cm}^{-1}$ (KBr) - 3082, 3052, 2364, 1492, 1468, 1350, 1367, 1292, 1275, 1153, 1077, 1012, 783, 760.

UV (CHCl_3) - λ_{max} 360 e 400 nm , transição $n \rightarrow \pi^*$; λ_{max} 249 nm , transição $\pi \rightarrow \pi^*$.

MS - 293 (3,5%), 292 (10,2%), 291 (40,0), 290 (58,6%), 289 (97,4%), 288 (100%), 254 (12,3%), 178 (25,4%), 177 (11,1%), 151 (16,7%), 146 (21,8%), 127 (8,0%), 102 (5,4%), 75 (9,9%).

Tionação do *N*-(2-fluorfenil)ftalimida

150 mg (0,622 mmol) do substrato e 251 mg (0,622 mmol) do RL, 5h de reação.

→ *N*-(2-Fluorfenil)monotioftalimida (**58e**) - R_f = 0,7; solv. crist. EtOH, cristais finos vermelho-alaranjado, rend. 42,5%, pf. 119,8-120,2 °C.

Análise elementar calculado para $\text{C}_{14}\text{H}_8\text{FNOS}$ (273,74) - C. 61,43; H. 2,95; N. 5,12; S.11,71. encontrado: C. 60,92; H. 2,80; N. 5,20; S. 11,75 %.

RMN ^1H (CDCl_3) - δ = 8,00-7,95 ppm (m, 1H, H-4); 7,81-7,45 (m, 1H, H-6); 7,23-7,66 (m, 2H, H-5 e H-7); 7,46-7,13 (m, 4H, H-3', H-4', H-5' e H-6').

IV $\nu_{\text{máx}}/\text{cm}^{-1}$ (KBr) – 3028, 2952, 1742, 1496, 1474, 1362, 12,48, 1126, 1081, 864.

UV (CHCl_3) – $\lambda_{\text{máx}}$ 328 e 293 nm , transição $n \rightarrow \pi^*$; $\lambda_{\text{máx}}$ 206, 234, nm , transição $\pi \rightarrow \pi^*$.

MS – 259 (4,5%), 258 (14,3%), 257 (68,8%), 256 (35,0%), 240 (6,0%), 239 (16,9%), 238 (100%), 198 (2,7%), 197 (15,1%), 196 (9,9%), 177 (3,7%), 171 (2,5%), 170 (5,4%).

→ *N*-(2-Fluorfenil)dítioftalimida (**59e**) – $R_f = 0,6$; solv. crist. EtOH, rend. 51,2%, pf 162-163,4 °C. Cristais finos marrom.

Análise elementar calculado para $\text{C}_{14}\text{H}_8\text{FNS}_2$ (273,35) - C. 61,51; H. 2,95; N. 5,12; S. 23,46. encontrado: C. 61,52; H. 3,01; N. 5,20; S. 23,78 %.

RMN ^1H (CDCl_3) - $\delta = 7,96$ ppm (dd, 2H, $J = 3,0$ e $J = 5,8$ Hz, H-4 e H-7); 7,75 (dd, 2H, $J = 3,2$ e $J = 5,2$; H-5 e H-6); 7,33-7,22 (m, 4H, H-3', H-4', H-5', H-6').

IV $\nu_{\text{máx}}/\text{cm}^{-1}$ (KBr) – 3041, 2922, 2852, 1499, 1460, 1269, 1223, 1150, 1080, 767.

UV (CHCl_3)– $\lambda_{\text{máx}}$ 361 nm , transição $n \rightarrow \pi^*$; $\lambda_{\text{máx}}$ 220, 247 nm, transição $\pi \rightarrow \pi^*$.

MS – 275 (9,7%), 274 (20%), 273 (100%), 255 (12,46%), 254 (71,08%), 241 (11,22%), 197 (16,48%), 196 (15,06%), 170 (11,32%), 146 (21,58 %), 127 (10,46%), 94 (7,84%), 75 (9,28).

Tionação do *N*-(4-Nitrofenil)ftalimida

300 mg (1,12 mmol) do substrato e 454 mg (1,12 mmol) do RL, 5h de reação.

→ *N*-(4-Nitrofenil)monotioftalimida (**58j**) – $R_f = 0,70$; solv. crist. EtOH, rend. 52,89%, pf 224,2-224,8 °C. Cristais finos vermelho-alaranjado.

RMN ^1H (CDCl_3) - $\delta = 7,96$ ppm (dd, 1H, $J = 3,6$ e $J = 5,0$ Hz, H-4); 7,79 (dd, 1H, $J = 3,2$ e $J = 6,2$ Hz; H-6); 7,23-7,55 (m, 2H, H-5 e H-7), 7,46-7,13 (m, 4H, H-3', H-5', H-2', H-6').

IV $\nu_{\text{máx}}/\text{cm}^{-1}$ (KBr) – 3106, 3069, 1755 (C=O), 1601, 1519, 1493 1464, 1519, 1342, 1312 e 1286, 833.

MS – 286 (6,0%), 285 (18,69%), 284 (83,85%), 283 (81,66%), 267 (14,73%), %, 255 (17,97%) 254 (100%), 253 (44,68%), 237 (29,67%), 224 (20,77%), 210 (14,88%), 194 (11,30%), 178 (54,71%), 166 (14,95%), 151 (9,50%), 130 (17,17%), 91 (28,68%), 75 (16,60).

→ *N*-(4-Nitrofenil)dítioftalimida (**59j**) – $R_f = 0,80$; solv. crist. EtOH, rend. 40,48%, pf 248-250,2 °C. Cristais finos marrons.

Análise elementar calculado para C₁₄H₈N₂O₂S₂ (300,36) - C. 55,98 ; H. 2,68; N. 9,33; S. 21,35. encontrado: C. 57,55; H. 2,87; N. 9,22; S. 21,20 %.

RMN ¹H (CDCl₃) - δ= 7,96 ppm (dd, 2H, J= 3,2 e J= 5,8 Hz; H-4 e H-7); 7,75 (dd, 2H, J= 3,2 e J= 5,8 Hz; H-5 e H-6); 7,53-7,47 (m, 2H, H-2' e H-6'), 7,33-7,23 (m, 4H, H-3' e H-5').

UV (CHCl₃)– λ_{max} 360 transição n → π*; λ_{max} nm , transição π → π*.

MS – 303 (1,93%), 302 (11,32%), 301 (22,25%), 300 (100%), 283 (6,86%), 254 (15,34%), 253 (22,17%), 210 (3,0%), 178 (10,05%), 146 (8,53%), 75 (5,73%).

Resumo do percentual de rendimento da tionação do 4-nitro-fenilftalimida variando a taxa molar (substrato: reativo de Lawesson).

Π Para 150 mg (0,56 mmol) do substrato e 113 mg (0,28 mmol) do RL (1:0,5), 5h de reação. Rend. 77,36% de 4-nitro-monotiofenilftalimida e 17,26% de 4-nitro-ditiofenilftalimida.

Π Para 150 mg (0,56 mmol) do substrato e 226 mg (0,56 mmol) do RL. (1:1), 5h de reação, Rend. 56,84% de 4-nitro-monotiofenilftalimida e 40,48% de 4-nitro-ditiofenilftalimida.

Π Para 150 mg (0,56 mmol) do substrato e 452 mg (1,12 mmol) do RL. (1:2), 5h de reação, Rend. 6,12% de 4-nitro-monotiofenilftalimida e 82,10% de 4-nitro-ditiofenilftalimida.

4.5 - Obtenção dos Compostos N-(aril e 1,2,4- triazol 3- e 4-il-aminometil)ftalimidas

® Método Geral:

Os compostos obtidos desta série foram baseados no procedimento descrito por Hoffman *et al.*⁷ Em balão de fundo redondo de 25 mL, pesou-se quantidades equivalentes de hidroximetilftalimida e uma amina apropriada e em seguida adicionou-se cerca de 10 mL de EtOH ou MeOH seco. A mistura foi deixada em agitação sob refluxo e atmosfera inerte (N₂)

durante 3 h. O final da reação foi observada pelo desaparecimento dos reagentes e aparecimento de um novo produto com R_f diferente do inicial em placa de TLC (CHCl_3 : EtOAc, 1: 1, v/v). Após a reação, o solvente foi evaporado e o produto cristalizado com solvente apropriado exceto os compostos **62n,o** que foram submetido à purificação em coluna utilizando-se sílica gel, onde inicialmente, utilizou-se ciclohexano e EtOAc (98:2, v/v) como solvente para eluição, aumentando-se gradativamente a polaridade do solvente até a saída do produto desejado. As frações contendo os produto **62n,o** foram reunidas e o solvente evaporado. Em seguida cristalizou-se o produto com solvente apropriado.

→ *N*-(Fenilaminometil)ftalimida (**62a**) – 100 mg (0,56 mmol) de hidroximetilftalimida e 50 mg (0,56 mmol) de anilina. $R_f = 0,62$; solvente de cristalização: acetona, rend: 92,1%, pf 148-148,3 °C; [lit. [8] pf 144,5-145 °C, 70%].

RMN - $\delta = 7,81$ (dd, 2H, $J = 3,0$, $J = 5,4$ Hz; H-4 e H-7), 7,68 (dd, 2H, $J = 3,0$, $J = 5,4$ Hz; H-5 e H-6), 7,18 (ddd, 2H, $J = 2,1$, $J = 6,2$, $J = 7,2$ Hz; H-3' e H-5'), 6,86 (dt, 2H, $J = 1,2$, $J = 7,8$ Hz; H-2' e H-6'), 6,76 (ddd, 1H, $J = 1,8$, $J = 7,2$, $J = 7,5$ Hz; H-4'), 5,18 (d, 2H, $J = 8,1$ Hz, $-\text{CH}_2$), 4,84 (t, 1H, $J = 7,8$ Hz, $-\text{NH}$).

IV $\nu_{\text{máx}}/\text{cm}^{-1}$ (Nujol) – 3384, 2956, 2923, 2854, 1767, 1709, 1603, 1520, 1498, 1406, 1468, 1405 cm^{-1} .

UV (MeOH) – $\lambda_{\text{máx}}$ 286 nm, $\epsilon_{\text{máx}}$ 4843 $\text{L mol}^{-1} \text{cm}^{-1}$, transição $n \rightarrow \pi^*$; $\lambda_{\text{máx}}$ 207, 218, 230 e 238 nm, $\epsilon_{\text{máx}}$ 43014, 46582, 27315 e 24212 $\text{L mol}^{-1} \text{cm}^{-1}$ respectivamente, transição $\pi \rightarrow \pi^*$.

→ *N*-(2-Clorofenilaminometil)ftalimida (**62b**) – 150 mg (0,85 mmol) de hidroximetilftalimida e 108 mg (0,85 mmol) de 2-cloroanilina. $R_f = 0,57$; solvente de cristalização: CHCl_3 , rend: 48,5%, pf 144-145 °C; [lit. [8] pf 141-141,5 °C, 32%].

Análise elementar calculado para $\text{C}_{15}\text{H}_{11}\text{ClN}_2\text{O}_2$ (286,72) - C 62,84; H 3,87; N 9,77; encontrado: C 62,38; H 3,92; N 9,48.

RMN - $\delta = 7,83$ (dd, 2H, $J = 2,7$, $J = 5,4$ Hz; H-4 e H-7), 7,70 (dd, 2H, $J = 3,0$, $J = 5,1$ Hz; H-5 e H-6), 7,24-7,18 (m, 2H, H-3' e H-5'), 7,14 (dd, 1H, $J = 1,5$, $J = 8,1$ Hz; H-6'), 6,66 (ddd, 1H, $J = 1,8$, $J = 7,5$, $J = 7,5$ Hz; H-4'), 5,45 (t, 1H, $J = 8,1$ Hz, $-\text{NH}$), 5,24 (d, 2H, $J = 8,1$ Hz, $-\text{CH}_2$).

IV $\nu_{\text{máx}}/\text{cm}^{-1}$ (Nujol) – 3421, 2952, 2921, 2852, 1767, 1712, 1596, 1517, 1458, 752, e 722 cm^{-1} .

UV (MeOH) – λ_{max} 292 nm, ϵ_{max} 2890, $\text{L mol}^{-1} \text{cm}^{-1}$, transição $n \rightarrow \pi^*$; λ_{max} 206, 218, 231 e 239 nm, ϵ_{max} 40810, 34430, 17037 e 15454 $\text{L mol}^{-1} \text{cm}^{-1}$ respectivamente, transição $\pi \rightarrow \pi^*$.

→ *N*-(3-Clorofenilaminometil)ftalimida (**62c**) – 150 mg (0,85 mmol) de hidroximetilftalimida e 108 mg (0,85 mmol) de 3-cloroanilina. $R_f = 0,57$; solvente de cristalização: CHCl_3 , rend: 89,0%, pf 165,7-166,2 °C; [lit. [8] pf 165 °C, 50%].

Análise elementar calculado para $\text{C}_{15}\text{H}_{11}\text{ClN}_2\text{O}_2$ (286,7169) - C. 62,84 ; H. 3,87; N. 9,77; encontrado: C 62,73; H 3,27; N 9,49.

RMN - $\delta = 7,84$ ppm (dd, 2H, $J = 3,0$ $J = 5,4$ Hz; H-4 e H-7), 7,71 (dd, 2H, $J = 3,0$, $J = 5,4$ Hz; H-5 e H-6), 7,09 (t, 1H, $J = 8,1$ Hz; H-5'), 6,86 (t, 1H, $J = 1,8$ Hz; H-4'), 6,74 (ddd, 2H, $J = 1,8$, $J = 8,4$, $J = 7,8$ Hz; H-2' e H-6), 5,15, (d, 2H, $J = 7,8$ Hz, $-\text{CH}_2$), 5,24 (t, 1H, $J = 7,8$ Hz, $-\text{NH}$).

IV $\nu_{\text{máx}}/\text{cm}^{-1}$ (Nujol) – 3384, 2922, 2853, 1764, 1707, 1594, 1485, 1460, 1407, 1173, e 1090 cm^{-1} .

UV (MeOH) – λ_{max} 282 nm, ϵ_{max} 1951 $\text{L mol}^{-1} \text{cm}^{-1}$, transição $n \rightarrow \pi^*$; λ_{max} 209, 240, e 248 nm, ϵ_{max} 21482, 6473, e 5751 $\text{L mol}^{-1} \text{cm}^{-1}$ respectivamente, transição $\pi \rightarrow \pi^*$.

→ *N*-(4-Clorofenilaminometil)ftalimida (**62d**) – 150 mg (0,85 mmol) de hidroximetilftalimida e 108 mg (0,85 mmol) de 4-cloroanilina. $R_f = 0,53$; solvente de cristalização: CHCl_3 , rend: 93,42%, pf 208,5-209,3 °C; [lit. [8] pf 207-208 °C, 73%].

Análise elementar calculado para $\text{C}_{15}\text{H}_{11}\text{ClN}_2\text{O}_2$ (286,7169) - C. 62,84 ; H. 3,87; N. 9,77; encontrado: C 62,92; H 3,12; N 9,94.

RMN - $\delta = 7,83$ ppm (dd, 2H, $J = 3,0$ $J = 5,4$ Hz; H-4 e H-7), 7,16 (dd, 2H, $J = 2,8$, $J = 5,7$ Hz; H-5 e H-6), 7,12 (dd, 2H, $J = 2,1$, $J = 6,6$ Hz; H-3' e H-5'), 6,79 (dd, 2H, $J = 2,4$, $J = 6,6$ Hz; H-2' e H-6'), 5,15 (d, 2H, $J = 8,1$ Hz, $-\text{CH}_2$), 4,82 (t, 1H, $J = 7,5$ Hz, $-\text{NH}$).

IV $\nu_{\text{máx}}/\text{cm}^{-1}$ (Nujol) – 3380, 3055, 2960, 1768, 1712, 1597, 1515, 1489, 1406, 818, 726 cm^{-1} .

UV (MeOH) – λ_{\max} 296 nm, ϵ_{\max} 1821 L mol⁻¹ cm⁻¹, transição n → π^* ; λ_{\max} 207, 218, 232, 240, e 250 nm, ϵ_{\max} 21918, 26563, 12222, 12491 e 10842 L mol⁻¹ cm⁻¹ respectivamente, transição π → π^* .

→ *N*-(2-Fuorfenilaminometil)ftalimida (**62e**) – 391 mg (2,2 mmol) de hidroximetilftalimida e 245 mg (2,2 mmol) de 2-fluoroanilina. R_f = 0,55; solvente de cristalização: CHCl₃, rend: 77,0%, pf 176-176,6 °C.

Análise elementar calculado para C₁₅H₁₁FN₂O₂ (270,2585) - C. 66,66 ; H. 4,10; N. 10,37; encontrado: C 66,42; H 4,36; N 10,75.

RMN - δ = 7,83 ppm (dd, 2H, J= 3,3 J= 5,4 Hz; H-4 e H-7), 7,63 (dd, 2H, J= 3,0, J= 5,4 Hz; H-5 e H-6), 7,19 (ddd, 1H, J= 8,7, J= 8,4, J= 1,5 Hz; H-5'), 7,03 (m, 1H, H-3'), 6,92 (ddd, 1H, J= 1,5, J= 8,4, J= 8,7 Hz; H-4'), 5,21, (d, 2H, J= 7,8 Hz, -CH₂), 5,09 (t, 1H, J= 7,5 Hz, -NH).

IV $\nu_{\max}/\text{cm}^{-1}$ (Nujol) – 3434, 3063, 2924, 2854, 1767, 1713, 1621, 1526, 1460, 1360, 754 e 727 cm⁻¹.

UV (MeOH) – λ_{\max} 286 nm, ϵ_{\max} 1779 L mol⁻¹ cm⁻¹, transição n → π^* ; λ_{\max} 206, 218, 232 e 239 nm, ϵ_{\max} 20425, 26321, 15607 e 12805 L mol⁻¹ cm⁻¹ respectivamente, transição π → π^* .

→ *N*-(3-Fluorfenilaminometil)ftalimida (**62f**) – 391 mg (2,2 mmol) de hidroximetilftalimida e 245 mg (2,2 mmol) de 3-fluoroanilina. R_f = 0,50; solvente de cristalização: CHCl₃, rend: 84,42%, pf 200-201 °C.

Análise elementar calculado para C₁₅H₁₁FN₂O₂ (270,2585) - C. 66,66 ; H. 4,10; N. 10,37; encontrado: C 66,17; H 4,37; N 10,75.

RMN - δ = 7,83 ppm (dd, 2H, J= 3,0 J= 5,7 Hz; H-4 e H-7), 7,7 (dd, 2H, J= 3,0, J= 5,7 Hz; H-5 e H-6), 7,11 (ddd, 1H, J= 8,1, J= 8,1, J= 5,1 Hz; H-5'), 6,62-6,58 (m, 2H, H-2' e H-6'), 6,47-6,40 (m, 1H, H-4'), 5,14 (d, 2H, J= 7,8 Hz, -CH₂), 4,94 (t, 1H, J= 7,5 Hz, -NH).

IV $\nu_{\max}/\text{cm}^{-1}$ (Nujol) – 3389, 2956, 2925, 2855, 1767, 1710, 1618, 1591, 1499, 1461, 853, 774 e 729 cm⁻¹.

UV (MeOH) – λ_{\max} 287 nm, ϵ_{\max} 1316 L mol⁻¹ cm⁻¹, transição n → π^* ; λ_{\max} 208, 213, 218, 231 e 239 nm, ϵ_{\max} 15724, 16481, 17490, 9211 e 8778 L mol⁻¹ cm⁻¹ respectivamente, transição π → π^* .

→ *N*-(4-Fluorfenilaminometil)ftalimida (**62g**) – 391 mg (2,2 mmol) de hidroximetilftalimida e 245 mg (2,2 mmol) de 4-fluoroanilina. $R_f = 0,49$; solvente de cristalização: CHCl₃, rend: 93,62%, pf 177,3-178 °C.

Análise elementar calculado para C₁₅H₁₁FN₂O₂ (270,2585) - C. 66,66 ; H. 4,10; N. 10,37; encontrado: C 66,10; H 4,39; N 10,53.

RMN - $\delta = 7,82$ ppm (dd, 2H, J= 3,0 J= 5,7 Hz; H-4 e H-7), 7,70 (dd, 2H, J= 3,0, J= 5,4 Hz; H-5 e H-6), 6,87 (m, 2H, H-2' e H-6'), 6,79 (m, 2H, H-5' e H-3'), 5,14, (d, 2H, J= 7,8 Hz, -CH₂), 4,71 (t, 1H, J= 8,1 Hz, -NH).

IV $\nu_{\max}/\text{cm}^{-1}$ (Nujol) – 3394, 2923, 1763, 1709, 1515, 1460, 1406, 1082 e 831 cm⁻¹.

UV (MeOH) – λ_{\max} 297 nm, ϵ_{\max} 2077 L mol⁻¹ cm⁻¹, transição n → π^* ; λ_{\max} 207, 218, 230 e 238 nm, ϵ_{\max} 21959, 26232, 14187 e 11781 L mol⁻¹ cm⁻¹ respectivamente, transição π → π^* .

→ *N*-(2-Nitrofenilaminometil)ftalimida (**62h**) – 257 mg (1,45 mmol) de hidroximetilftalimida e 200 mg (1,45 mmol) de 2-nitroanilina (refluxo em tolueno, 5 h de reação). $R_f = 0,55$; solvente de cristalização: acetona, rend: 64,04%, pf 162,3-163,1 °C.

Análise elementar calculado para C₁₅H₁₁N₃O₄ (297,2657) - C. 60,61 ; H. 3,73; N. 14,14; encontrado: C. 60,68 ; H. 3,41 ; N. 14,38.

RMN - $\delta = 8,21$ ppm (dd, 1H, J= 1,8, J= 8,7 Hz; H-3'), 7,90 (dd, 2H, J= 3,0, J= 5,4 Hz; H-4 e H-7), 7,76 (dd, 2H, J= 3,0, J= 5,4 Hz; H-5 e H-6), 7,52 (ddd, 1H, J= 7,8, J= 7,2, J= 1,2 Hz; H-5'), 7,00 (dd, 1H, J= 1,2, J= 8,7 Hz; H-6'), 6,80 (ddd, 1H, J= 1,2, J= 7,2, J= 8,7 Hz; H-4'), 5,26, (d, 2H, J= 8,1 Hz, -CH₂), 5,02 (t, 1H, J= 5,7 Hz, -NH).

IV $\nu_{\max}/\text{cm}^{-1}$ (Nujol) – 3486, 3445, 2955, 2923, 2853, 1779, 1770, 1705, 1608, 1460, 1426, 1406, 1328 e 732 cm⁻¹.

UV (MeOH) – λ_{\max} 286 nm, ϵ_{\max} 2905 L mol⁻¹ cm⁻¹, transição n → π^* ; λ_{\max} 217, 229 e 238 nm, ϵ_{\max} 48284, 24487 e 14878 L mol⁻¹ cm⁻¹ respectivamente, transição π → π^* .

→ *N*-(3-Nitrofenilaminometil)ftalimida (**62i**) – 257 mg (1,45 mmol) de hidroximetilftalimida e 200 mg (1,45 mmol) de 3-nitroanilina. Refluxo em tolueno, 6 h de reação. R_f = 0,7
solvente de cristalização: acetona, rend: 81,67%, pf 194,4-195,2 °C.

Análise elementar calculado para C₁₅H₁₁N₃O₄ (297,2657) - C. 60,61 ; H. 3,73; N. 14,14;
encontrado: C. 60,36 ; H. 3,95 ; N. 14,32 .

RMN - δ = 7,87 ppm (dd, 2H, J= 3,0, J= 5,7 Hz; H-4 e H-7'), 7,75-7,72 (m, 3H, H-5, H-6 e H-2'), 7,60 (ddd, 1H, J= 8,1, J= 2,1, J= 1,8 Hz; H-4'), 7,32 (t, 1H, J= 8,1 Hz; H-5'), 7,18 (ddd, 1H, J= 8,1, J= 2,7, J= 2,1 Hz; H-6'), 5,21, (s, 2H, -CH₂), 5,16 (b, 1H, -NH).

IV $\nu_{\max}/\text{cm}^{-1}$ (Nujol) – 3416, 2954, 2923, 2853, 1773, 1709, 1625, 1536, 1521, 1314 e 729 cm⁻¹.

UV (MeOH) – λ_{\max} 372 e 282 nm, ϵ_{\max} 1331 e 4797 L mol⁻¹ cm⁻¹ respectivamente, transição n → π^* ; λ_{\max} 218, 231, 239 e 250 nm, ϵ_{\max} 46068, 34297, 28076 e 17042 L mol⁻¹ cm⁻¹ respectivamente, transição π → π^* .

→ *N*-(4-Nitrofenilaminometil)ftalimida (**62j**) – 391 mg (2,2 mmol) de hidroximetilftalimida e 245 mg (2,2 mmol) de 4-nitroanilina. Refluxo em tolueno, 6 h de reação. R_f = 0,64; solvente de cristalização: acetona, rend: 81,67%, pf 228,6-229,1 °C.

Análise elementar calculado para C₁₅H₁₁N₃O₄ (297,2657) - C. 60,61 ; H. 3,73; N. 14,14;
encontrado: C. 60,25; H. 3,72; N. 14,21 .

RMN - δ = 8,10 ppm (dd, 2H, J= 2,1, J= 7,2 Hz; H-3' e H-5'), 7,87 (dd, 2H, J= 3,0, J= 5,7 Hz; H-4 e H-7), 7,75 (dd, 2H, J= 3,0, J= 5,7 Hz; H-5 e H-6), 6,88 (dd, 2H, J= 2,1, J= 7,2 Hz; H-2' e H-6'), 5,45 (t, 1H, J= 8,0 Hz, -NH), 5,22 (d, 2H, J= 7,5 Hz, CH₂),

IV $\nu_{\max}/\text{cm}^{-1}$ (Nujol) – 3357, 3096, 2954, 2923, 2853, 1768, 1707, 1604, 1477, 1465, 1308, 850 cm⁻¹.

UV (MeOH) – λ_{\max} 364 e 304 nm, ϵ_{\max} 15148 e 3916 L mol⁻¹ cm⁻¹ respectivamente, transição n → π^* ; λ_{\max} 218 e 239 nm, ϵ_{\max} 38944 e 13704 L mol⁻¹ cm⁻¹ respectivamente, transição π → π^* .

→ N-(1,2,4-Triazol-3-il-aminometil)ftalimida (**62n**) - R_f 0,6; Cristalizado do EtOH, rend. 79,24%, pf 229,9-230,7 °C. Cristais finos e brancos.

Análise elementar calculado para C₁₁H₉N₅O₂ (243,08) - C. 54,32; H. 3,73; N. 28,79; encontrado: C.54,27; H. 3,91; N.28,85.

RMN ¹H (DMSO-d₆) - δ = 11,34 ppm (b, 1H, -NH), 8,68 (s, 1H, C-5' het), 7,89-7,47 (m, 6H, H-4, H-5, H-6, H-7 Ar e CH₂).

IV $\nu_{\max}/\text{cm}^{-1}$ (KBr) – 3392, 3040, 2851, 1792, 1770, 1747, 1712, 1527, 1492, 1467, 1374, 1354, 1232, 1117, 1085, 718.

UV – λ_{\max} 293 nm, transição n → π^* ; λ_{\max} 258 nm, transição π → π^* .

MS – 243 (menor do que 1%), 149 (1,46%), 148 (1473%), 147 (100%), 104 (53,38%), 103 (92,43%), 76 (5,73%), 75 (1034), 74 (22,85%) 50 (40,80%).

→ N-(1,2,4-Triazol-4-il-aminometil)ftalimida (**62o**) - R_f 0,5; cristalizado do EtOH, rend. 82,99%, pf 232,9-233,8 °C. Cristais finos e brilhantes.

Análise elementar calculado C₁₁H₉N₅O₂ (243,08) - C. 54,32; H. 3,73; N. 28,79; encontrado: C.54,44; H. 3,41; N.28,92.

RMN ¹H (CDCl₃) - δ = 8,48 ppm (s, 2H, H-3' e H-5'), 7,87 (s, 4H, H-4, H-5, H-6 e H-7), 7,52 (t, 1H, J= 7,20 Hz, NH), 4,77 (d, 2H, J= 4,80 Hz, CH₂).

IV $\nu_{\max}/\text{cm}^{-1}$ (KBr) – 3459, 3200, 3061, 2718, 1775, 1752, 1604, 1468, 1388, 1308, 1288, 1184, 1140, 1090, 1071, 1053, 716.

UV – λ_{\max} 293 nm, transição n → π^* ; λ_{\max} 246 nm, transição π → π^* .

4.6. – Sínteses dos Ácidos N-Arilftalâmicos

Os ácidos ftalâmicos N-substituídos **68a-g** e **68n-o**, foram obtidos misturando-se quantidades equimolares de anidrido ftálico **4** (1,35 mmol) e uma amina aromática (**54a-g**) ou

amina heterocíclica (**54n-o**), a mistura foi aquecida em um forno de microondas doméstico operando a 1350W/2450 MHz por 1-3 min. Em seguida os ácidos foram cristalizado em solvente apropriado. Todos os ácidos foram caracterizados por IV, RMN ¹H e análise elementar.

→ Ácido *N*-fenilftalâmico (**68a**) - 200 mg (1,35 mmol) de anidrido ftálico e 126 mg (1,35 mmol) de anilina foram usados. Solvente de cristalização: EtOH, rend. 99,0%; pf 206-207 °C (Lit. [4] pf 205-207 °C).

Análise elementar calculado para C₁₄H₁₁O₃ (241,246) - C 69,70; H 4,60; N 5,81; encontrado: C 69,56; H 4,55; N 5,66.

RMN ¹H (DMSO-d₆) δ = 10,36 ppm (s, 1H, -OH), 7,89 (dd, 1H, J= 1,2 e J= 7,5 Hz; H-3'), 7,68 (dd, 1H, J= 1,5 e J= 7,5 Hz; H-6'), 7,63 (dd, 1H, J= 1,5 e J=9,3 Hz; H-5'), 7,58 (dd, 1H, J= 1,5 e J= 7,8 Hz; H-4'), 7,54 (dd, 2H, J= 1,2 e J=7,8 Hz; H-2 e H-6), 7,35-7,09 (m, 3H, H-3, H-4, H-5). O próton NH apareceu junto com a água do DMSO.

IV ν_{máx}/cm⁻¹ (KBr) cm⁻¹ 3322, 3135, 3059, 1722, 1654, 1620, 1599, 1575, 1493, 1393, 1337.

→ Ácido *N*-(2-clorofenil)ftalâmico (**68b**) - 200 mg (1,35 mmol) de anidrido ftálico, e 172 mg (1,35 mmol) de 2-cloroanilina foram usados. Solvente de cristalização: acetona (cristais brancos), rend. 88,0%; pf 135,2-136,1 °C (Lit. [4] pf 140-142 °C).

Análise elementar calculado para C₁₄H₁₀NO₃Cl (275,69) - C 60,99; H 3,66; N 5,08; encontrado: C 60,85; H 3,84; N 5,24.

RMN ¹H (CD₃COCD₃) δ = 9,00 ppm (s, 1H, -OH), 8,27 (d, 1H, J= 7,6 Hz; H-3'), 7,68 (d, 1H, J= 7,5 Hz; H-6'), 7,63 (dd, 2H, J= 1,5 e J=9,3 Hz; H-4' e H-5'), 7,47 (dd, 2H, J= 1,5 e J= 8,4 Hz; H-2 e H-5), 7,37 (t, 1H, J= 7,6 Hz; H-3), 7,18 (m, 1H, H-4), 2,97 (sl, 1H, -NH).

IV ν_{máx}/cm⁻¹ (KBr) cm⁻¹ 3305, 3096, 3034, 2643, 2524, 1708, 1677, 1588, 1525, 1469, 771 e 747.

→ Ácido *N*-(3-clorofenil)ftalâmico (**68c**) - 200 mg (1,35 mmol) de anidrido ftálico, e 172 mg (1,35 mmol) de 3-cloroanilina foram usados. Solvente de cristalização: acetona (cristais brancos brilhantes), rend. 96,0%; pf 157,8-158 °C (Lit. [4] pf 163-164 °C).

Análise elementar calculado para $C_{14}H_{10}NO_3Cl$ (275,69) - C 60,99; H 3,66; N 5,08; encontrado: C 60,96; H 3,93; N 5,00.

RMN 1H (DMSO- d_6) δ = 10,50 ppm (s, 1H, -OH), 7,89 (dd, 2H, J= 1,5 e J= 6,3 Hz; H-3' e H-6'), 7,60 (m, 4H, H-4', H-5', H-2 e H-6), 7,36 (t, 1H, J= 8,1 Hz; H-3), 7,14 (dd, 1H, J= 1,2 e J= 8,1 Hz; H-4). O próton NH deste composto apareceu junto com a água do DMSO.

IV $v_{m\acute{a}x}/cm^{-1}$ (KBr) cm^{-1} 3307, 3096, 3058, 2640, 2526, 1716, 1666, 1597, 1543, 1479, 696 e 676.

→ Ácido N-(4-clorofenil)ftalâmico (**68d**) - 200 mg (1,35 mmol) de anidrido ftálico, e 172 mg (1,35 mmol) de 3-cloroanilina foram usados. Solvente de cristalização: acetona (cristais brancos), rend. 95,26%; pf 157,8-158 °C (Lit. [4] pf 194-196 °C).

Análise elementar calculado para $C_{14}H_{10}NO_3Cl$ (275,690) - C 60,99; H 3,66; N 5,08; encontrado: C 60,85; H 3,85; N 5,24.

RMN 1H (CD_3COCD_3) δ = 9,6 ppm (s, 1H, -OH), 7,97 (dd, 1H, J= 2,2 e J= 6,7 Hz; H-3'), 7,81 (d, 1H, J= 9,0; H-6'), 7,67 (m, 4H, H-4', H-5', H-2 e H-6), 7,36 (dd, 2H, J= 2,1 e J= 6,9 Hz; H-3 e H-5), 2,92 (sl, 1H, -NH).

IV $v_{m\acute{a}x}/cm^{-1}$ (KBr) cm^{-1} 3323, 3131, 3074, 2629, 2474, 1720, 1639, 1607, 1594, 1544, 1493, 1399, 824 e 793.

→ Ácido N-(2-fluorfenil)ftalâmico (**68e**) - 200 mg (1,35 mmol) de anidrido ftálico, e 150 mg (1,35 mmol) de 2-fluoranilina foram usados. Solvente de cristalização: acetona (cristais brancos), rend. 88,0%; pf 140-140,4 °C (Lit. [4] pf 144-146 °C).

Análise elementar calculado para $C_{14}H_{10}NO_3F$ (259,236) - C 64,86; H 3,89; N 5,40; encontrado: C 64,96; H 4,04; N 5,53.

RMN 1H (CD_3COCD_3) δ = 9,30 ppm (s, 1H, -OH), 8,33 (d, 1H, J= 7,5 Hz; H-3'), 7,68 (d, 1H, J= 7,8 Hz; H-6'), 7,63 (m, 3H, H-4', H-5' e H-6), 7,17 (m, 3H; H-3, H-4 e H-5), 3,04 (sl, 1H, -NH).

IV $v_{m\acute{a}x}/cm^{-1}$ (KBr) cm^{-1} 3326, 3083, 3011, 2651, 2517, 1790, 1679, 1618, 1599, 1531, 1486, 1456, 778 e 686.

→ Ácido *N*-(3-fluorfenil)ftalâmico (**68f**) - 200 mg (1,35 mmol) de anidrido ftálico e 150 mg (1,35 mmol) de 3-fluoranilina foram usados. Solvente de cristalização: acetona (cristais brancos), rend. 80,70%; pf 203-203,3 °C (Lit. [4] pf 200-201 °C).

Análise elementar calculado para C₁₄H₁₀NO₃F (259,236) - C 64,86; H 3,89; N 5,40; encontrado: C 64,77; H 3,99; N 5,27.

RMN ¹H (CD₃COCD₃) δ = 9,69 ppm (s, 1H, -OH), 7,97 (dd, 1H, J= 1,8 e J= 6,3 Hz; H-3'), 7,81 (d, 1H, J= 12,0 Hz; H-6'), 7,63 (m, 2H, H-4' e H-5'), 7,39 (m, 3H, H-2, H-5 e H-6), 6,86 (m, 1H, H-4), 3,00 (sl, 1H, -NH).

IV v_{máx}/cm⁻¹ (KBr) cm⁻¹ 3324, 3116, 3078, 2615, 2463, 1721, 1655, 1603, 1550, 1493, 1426, 701 e 682.

→ Ácido *N*-(4-fluorfenil)ftalâmico (**68g**) - 200 mg (1,35 mmol) de anidrido ftálico, e 150 mg (1,35 mmol) de 3-fluoranilina foram usados. Solvente de cristalização: acetona (cristais brancos), rend. 94,0%; pf. 183-184 °C (Lit. [4] pf 180-182 °C).

Análise elementar calculado para C₁₄H₁₀NO₃F (259,236) - C 64,86; H 3,89; N 5,40; encontrado: C 64,98; H 3,84; N 5,28.

RMN ¹H (CD₃COCD₃) δ = 9,53 ppm (s, 1H, -OH), 7,99 (dd, 1H, J= 1,5 e J= 7,8 Hz; H-3'), 7,81 (dd, 2H, J= 2,1 e J= 9,1 Hz; H-5'; H-6'), 7,62 (m, 3H; H-4', H-3 e H-5), 7,11 (m, 2H, H-2 e H-6), 2,99 (sl, 1H, -NH).

IV v_{máx}/cm⁻¹ (KBr) cm⁻¹ 3323, 3076, 2945, 2629, 2474, 1722, 1635, 1615, 1555, 1512, 1404, 800 e 826.

→ Ácido *N*-(1,2,4-triazol-3-il)ftalâmico (**68n**) - 200 mg (1,35 mmol) de anidrido ftálico, e 114 mg (1,35 mmol) de 3-amino-1,2,4-triazol foram usados. Solvente de cristalização: MeOH (cristais brancos), rend. 51,0%; pf 305-306 °C.

Análise elementar calculado para C₁₀H₈O₃N₄ (232,197), C 51,72; H 3,47; N 24,13; encontrado: C 51,60; H 3,06; N 24,08.

RMN ¹H (DMSO-d₆) δ = 14.65 ppm (s, 1H, OH), 8.74 (s, 1H, H-5), 8.05-7.96 (m, 5H, H-3', H-4', H-5', H-6' e H-1).

IV (KBr), 3265, 3136, 3006, 2652, 2526, 1698, 1586 cm⁻¹

→ Ácido *N*-(1,2,4-triazol-4-il)ftalâmico (**68o**) - 200 mg (1,35 mmol) de anidrido ftálico, e 114 mg (1,35 mmol) de 3-amino-1,2,4-triazol foram usados. Solvente de cristalização: MeOH (cristais brancos), rend. 55,0%; pf 269,7-270,4 °C.

Análise elementar calculado para C₁₀H₈O₃N₄ (232,197), C. 51,72; H. 3,47; N. 24,13; encontrado: C. 51,37; H. 3,32; N. 24,17.

RMN ¹H (DMSO-d₆) δ = 12,00 ppm (s, 1H, OH), 8.66 (s, 2H, H-3 e H-5 Het), 8,01 (d, 1H, J= 7,5 Hetz; H-6') 7,71-7,59 (m, 3H; H-3', H-4', H-5').

IV (KBr), 3265, 3136, 3006, 2652, 2526, 1698, 1586 cm⁻¹.

4.7 – Obtenção das Iminas

As iminas (**71a-c**), foram obtidas através da condensação de [*N*-(4-NH₂-fenil)ftalimida - **69**] e aldeídos apropriados **4a-c** segundo o método descrito por Kadaba [9].

Método Geral:

1 - Em um balão de fundo redondo pesou-se 0,50g (18,5 mmol) de *N*-(4-nitrofenil)ftalimida **56j** e cerca de 10% de paládio em carbono. Em seguida adicionou-se MeOH suficiente (≈ 150 mL) para solubilizar parte dos reagentes. A mistura foi deixada em agitação constante à temperatura ambiente e atmosfera de hidrogênio por aproximadamente 2 h. Após a reação, o material obtido [*N*-(4-aminofenil)ftalimida - **69**] foi filtrado e o solvente evaporado a baixa pressão. O resíduo foi cristalizado no mesmo solvente fornecendo finos cristais amarelo claro em forma de agulhas.

2 - Em um balão de fundo redondo pesou-se quantidades equimolares de [*N*-(4-aminofenil)ftalimida - **69**] (0,21 mmol) obtido da reação anterior e 0,21 mmol do aldeído apropriado **4a-c** recém destilado. Adicionou-se aproximadamente 10 mL de MeOH e acoplou-se a este um condensador de bolas. A mistura foi deixada em refluxo sob nitrogênio e agitação constante por aproximadamente 5 h. O resíduo obtido após evaporação do

solvente, foi cromatografado em coluna de sílica gel e o produto desejado foi cristalizado em solvente apropriado. As estruturas dos compostos obtidos foram identificadas através de RMN ¹H, IV, MS e análise elementar .

→ *N*-[4-Benzilideno-amino)-fenil]ftalimida (**71a**) - 50 mg (0,21 mmol) de [*N*-(4-amino-fenil)ftalimida - **69**], e 0,022 mg (0,21 mmol) de benzaldeído (**71a**). Solvente de cristalização: clorofórmio/n-hexano, rend. 53,6%; pf 242-244,7 °C.

Análise elementar calculado para C₂₁H₁₄N₂O₂ (326,48), C. 77,29; H. 4,32; N. 8,58; encontrado: C. 77,52; H. 4,51; N. 8,29.

RMN ¹H (CDCl₃) δ = 8,42 ppm (s, 1H, H-18), 7,91 (dd, 2H, J= 3,3 e J= 9,7 Hz; H-4 e H-7), 7,86 (dd, 2H; J= 3,0, J= 5,7; H-5 e H-6), 7,74 (dd, 2H, J= 3,0 e J= 5,7 Hz; H-11 e H-15), 7,44-7,40 (m, 5H; H-19, H-20, H-21, H-22, H-23), 7,26 (dd, 2H, J= 2,4 e J= 7,2 Hz; H-12 e H-14).

IV (KBr), 3462, 3057, 2873, 2361, 1706, 1625, 1575, 1501, 1386, 1192, 1167, 1115, 1087 cm⁻¹.

MS - 326 (100%), 325 (44,2%) 307 (3,62%).

→ *N*-[4-(Nitro-benzilidenoamino)-fenil]ftalimida (**71b**) - 200 mg de [*N*-(4-NH₂-fenil)ftalimida - **69**], e 0,127 mg de 4-nitro-benzaldeído (**71b**). Solvente de cristalização: clorofórmio, rend. 63,8%; pf 285,9-287,6 °C.

Análise elementar calculado para C₂₁H₁₃N₃O₄ (371,35), C. 67,92; H. 3,53; N. 11,32; encontrado: C. 67,78; H. 3,49; N. 11,41.

RMN ¹H (CDCl₃) δ = 8,59 ppm (s, 1H, H-18), 8,34 (d, 2H, J= 9,0 Hz; H-20 e H-22), 8,11 (d, 2H, J= 9,0 Hz; H-4 e H-7), 7,99 (dd, 2H, J= 3,0 e J= 5,7 Hz; H-19 e H-23), 7,83 (d, 2H, J= 8,7 Hz; H-5 e H-6), 7,54 (d, 2H, J= 9,0 Hz; H-11 e H-15), 7,39 (d, 2H, J= 9,0 Hz; H-12 e H-14).

IV (KBr) - 3468, 3065, 2262, 1775, 1713, 1625, 1595, 1514, 1464, 1375, 1339, 1218, 1193, 1121, 1074, 882, 856, 724 cm⁻¹.

MS - 371 (menor que 1%), 327 (23,5%), 326 (100%), 325 (58,8%), 222 (3,37), 209 (7,35%), 166 (4,41%), 76(4,9%).

→ *N*-[4-(4-Metoxi-benzilideno-amino)-fenil]ftalimida (**71c**) - 100 mg de [*N*-(4-amino-fenil)ftalimida - **69**], e 0,083 mg de anisaldeído (**71c**). Solvente de cristalização: CHCl₃, rend. 63,8%; pf 223-224,4 °C.

Análise elementar calculado para C₂₂H₁₆N₂O₃ (356,37), C. 74,15; H. 4,53; N. 7,86; encontrado: C. 74,22; H. 4,50; N. 7,57.

RMN ¹H (CDCl₃) δ = 8,42 ppm (s, 1H, H-18), 7,97 (dd, 2H, J= 2,7 e J= 5,4 Hz; H-4 e H-7), 7,87 (d, 2H, J= 9,0 Hz; H-5 e H-6), 7,80 (dd, 2H, J= 3,0 e J= 5,4 Hz; H-11 e H-15), 7,46 (d, 2H, J= 8,7 Hz; H-19, H-23), 7,28 (d, 2H, J= 8,4 Hz; H-12 e H-14), 7,00 (d, 2H, J= 8,7 Hz; H-20 e H-22), 3,89 (s, 3H, H-24, H-25 e H-26).

IV (KBr) - 3465, 1715, 1602, 1570, 1512, 1461, 1421, 1381, 1306, 1251, 1220, 1163, 1114, 1077, 716 cm⁻¹.

4.8 - Obtenção de Ácido Ftalimídico

Em um balão de fundo redondo foi pesado 0,3 g de hidroximetilftalimida, em seguida adicionou-se acetona (3,0 mL) e aproximadamente 2,0 mL de Reativo de Jones (0,51 g de CrO₃ em 8N de H₂SO₄) gota à gota em banho de gelo, deixou-se agitando por aproximadamente 4 horas a temperatura constante. Após reação o conteúdo do balão foi evaporado a baixa pressão. O ácido foi cristalizado em acetona e seu ponto de fusão foi idêntico à ftalimida (pf 239 °C), por ser instável a temperatura acima de 25 °C O ácido obtido foi caracterizado por IV e RMN ¹H.

RMN ¹H (DMSO-d₆) - δ = 11,29 ppm (s, 1H, OH), 7,77-7,73 (m, 4H; H-4, H-5, H-6 e H-7).

IV (KBr) - 3488, 3201, 3062, 2957, 1773, 1729, 1603, 1463, 1424, 1389, 1358, 1330, 1144, 1054, 977.

4.9 - Atividades Biológicas das Ftalimidas N-Substituídas

4.9.1 - Atividade hipolipidêmica

Os compostos **1** e **56a-g,n,o** foram solubilizados em uma solução de carboximetilcelulose a 1% (p/v) e administrados oralmente aos animais durante 16 dias numa concentração de 20 mg/kg de peso do animal por dia, com uma seringa de intubação (Figura 38), a camundongos machos pesando aproximadamente 35 g.



Figura 38 - Administração das drogas por via oral (gavagem)

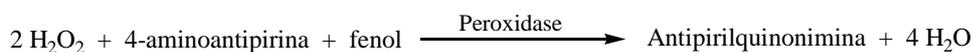
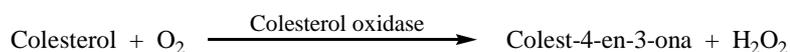
O sangue dos camundongos antes e após o tratamento foi coletado após 12 -13 h de jejum por punção do plexo coróide (Figura 39) com capilares e anticoagulado com EDTA (1mg/mL). O sangue foi separado dos elementos figurados por centrifugação a 2500 x g.



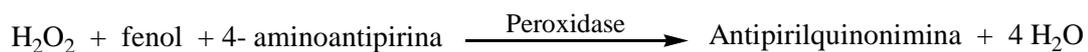
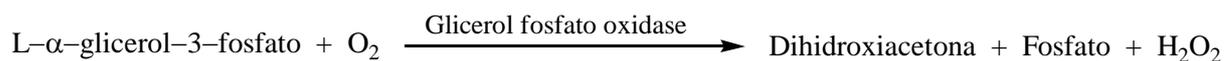
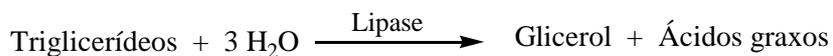
Figura 39 - Coleta do sangue de camundongo por punção do plexo coróide

Os níveis de colesterol e TG foram dosados de acordo com o procedimento recomendado pelos kits do fabricante.

Na dosagem do colesterol foi utilizado 10 μL de plasma de cada camundongo (grupo controle-CMC e grupos tratados com os compostos) e as absorvâncias das amostras e dos padrões foram medidas contra um branco da reação, em espectrofotômetro (Varian UV-634 S) a 500 nm. As reações ocorridas foram:



Na dosagem dos triglicérides foram utilizados 20 μL de plasma de cada camundongo (grupo controle-CMC e grupos tratados com os compostos) e as absorvâncias das amostras e dos padrões foram medidas contra um branco da reação, em espectrofotômetro (Varian UV-634 S) a 546 nm. As reações ocorridas foram:



4.9.2 - Atividade hiperlipidêmica

Os compostos foram solubilizados em uma solução de CMC a 1% e administrados por via intraperitoneal (Figura 40) aos camundongos durante 14 dias, numa concentração de 20mg/kg/dia. O sangue foi coletado após 12 -13 h de jejum e anticoagulado com EDTA (1mg/mL). O sangue foi separado dos elementos figurados por centrifugação. O colesterol e TG foram dosados como descrito anteriormente.



Figura 40 - Administração das drogas por via intraperitoneal

4.9.3 - Atividades antiinflamatórias aguda e crônica

A atividade Antiinflamatória aguda das drogas estudadas foram avaliadas de acordo com o processo de Levy.¹⁰ Os camundongos foram divididos em grupos de sete ou dez animais com aproximadamente três meses de idade, pesando entre 25 e 30 g. 0,1 mL de uma suspensão de carragenina a 1% em solução salina (0,9%), foi injetada na superfície subplantar da pata traseira esquerda de cada camundongo para produzir a inflamação. Após 30 min da administração da carragenina, os compostos em análises, CMC, aspirina (ASS), ibuprofeno ou salina foram administrados por via intraperitoneal (250 mg/100kg) e após quatro horas, todos os animais foram sacrificados e as duas patas traseiras foram cortadas. O edema foi medido através da diferença do peso das patas traseira direita e esquerda.¹¹

A atividade antiinflamatória crônica dos compostos em análises, foi determinada em grupos de seis ou dez animais. A cada grupo foi administrado por via intraperitoneal 20 mg/kg/dia durante 14 ou 16 dias os compostos em análise, CMC, ASS ou salina. No décimo quinto dia, todos os animais foram submetidos à administração de 0,1 mL de carragenina a 1% na superfície subplantar da pata traseira direita para produzir a inflamação. Após 4 h, os animais foram sacrificados e as patas traseira direita e esquerda foram cortadas e pesadas. A inflamação foi medida pela diferença do peso das patas traseira direita e esquerda.

A análise estatística de todos os resultados foram expressos como média \pm o desvio padrão. O teste *t* de Student foi usado para avaliação dos dados entre o controle-negativo, positivo e grupos-teste para amostras independentes e $p < 0,05$ foi aceito como critério de significância estatística.

4.9.4 - Atividade Antimicrobiana

4.9.4.1 - Microorganismos-testes, preparação dos inóculos e compostos.

Os testes foram realizados frente a bactérias Gram-positivas, Gram-negativas, álcool-ácido-resistente, levedura e fungo filamentosos, fornecidas pela coleção de culturas do Departamento de Antibióticos da UFPE. Os microorganismos utilizados nesse estudo foram: *Staphylococcus aureus*, *Micrococcus luteus*, *Bacillus subtilis*, *Enterococcus faecalis* (Gram-positivas), *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Serratia marcescens* (Gram-negativas), *Mycobacterium smegmatis* (álcool-ácido-resistente), *Candida albicans* (levedura) e *Monilia sitophila* (fungo).

Os inóculos foram obtidos a partir de culturas recentes dos microorganismos-teste, preparando-se suspensões padronizadas pela turvação equivalente ao tubo 0,5 da escala de Mac Farland, em solução fisiológica.¹²

4.9.4.2 - Testes de atividade antimicrobiana

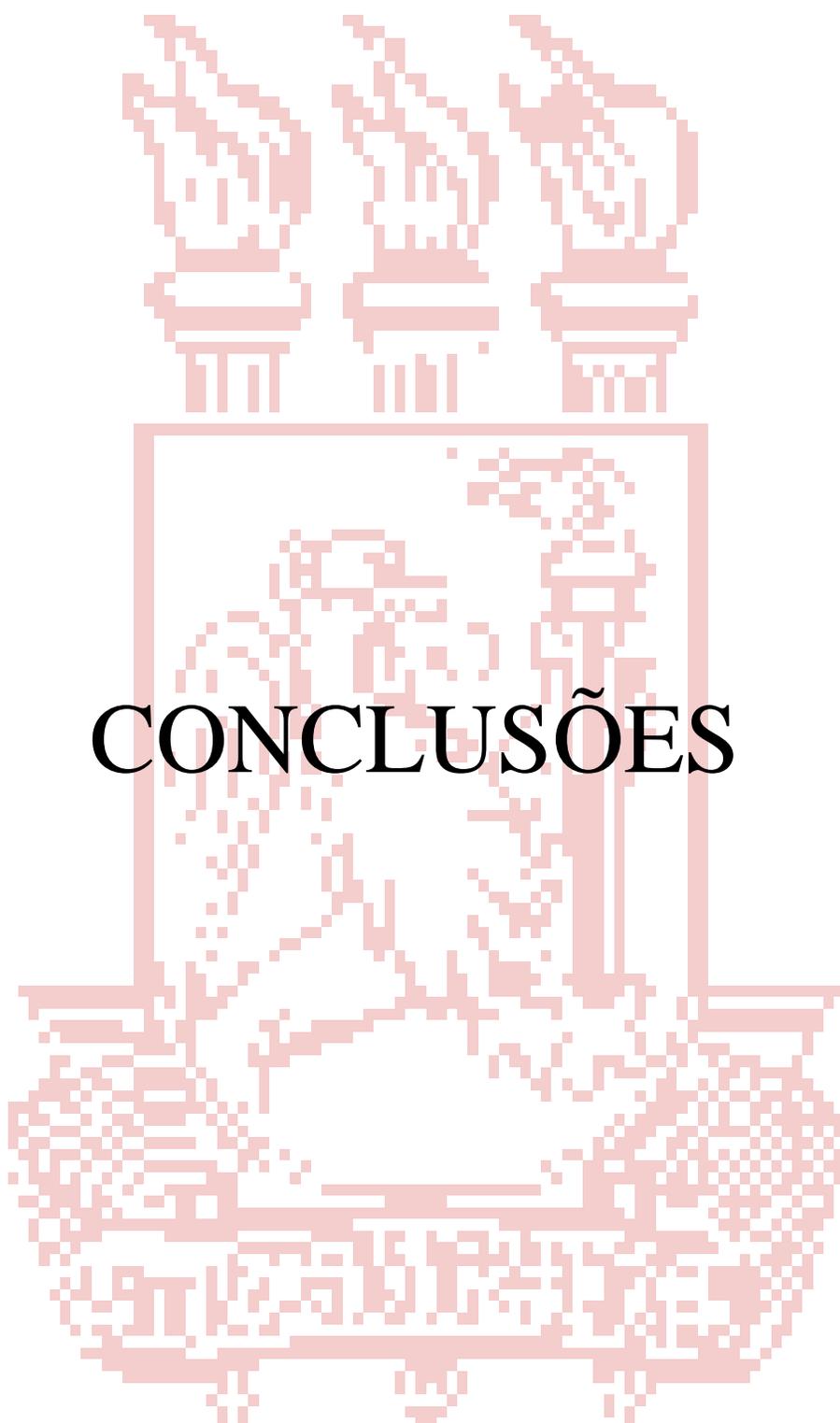
A atividade antimicrobiana foi verificada pelo método de difusão em disco de papel (tipo 3 com 6 mm de diâmetro) em meio gelatinoso Mueller-Hinton-agar (oxid), Sabouraud-agar e GL. Todos os compostos foram solubilizados em DMSO numa concentração de 15 mg/mL.

Os discos de papel foram umedecidos com 20 µL de soluções das substâncias estudadas e cada disco recebeu 300 µg do material. Para cada teste, foi feito um teste controle onde o disco foi umedecido com 20 µL do solvente. Os discos umedecidos foram colocados sobre a superfície da placa de petri no meio adequado e as placas foram incubadas em temperaturas de 30 °C para bactérias e 35 °C para fungos e leveduras entre 24 e 48 h.

Os testes foram realizados em duplicatas, e o halo de inibição ao redor dos discos de papel analisados. O teste foi considerado positivo quando a inibição do halo tinha um diâmetro ≥ 10 mm.

BIBLIOGRAFIA

1. M.S. Khajavi, F. Nikpour, M. Hagihadi. *J. Chem. Res. (S)*, 96 (1996).
2. A.M. Khalil, I.I. ABD El-Grawad, M.H. El-Metwally. *Ind. J. Chem.*, 51, 1029 (1977).
3. C. Fayat, A. Foucaud. *Bull. Soc. Chim. France*, 5, 4501 (1979).
4. G. Pagani, A. Baruffini, P. Borgna, G. Caccialanza. *Farmacol.*, 23, 448 (1968).
5. J. Gawronski, F. Kazmierczak, U. Rychewska, B. Nórden, A. Holmén. *J. Am. Chem. Soc.*, 120, 12083 (1998).
6. J. Demnitz, B.A. Monteiro, M.N. Ramos, R.M. Srivastava. *Heterocycl. Commun.*, 3, 115 (1997).
7. J.M. Hoffman, J.S. Wai, C.M. Thomas, R.B. Levin, J.A. O'Brien, M.E. Goldman. *J. Med. Chem.*, 35, 3784 (1992).
8. M.B. Winstead, H.W. Heine. *J. Am. Soc.*, 77, 1913 (1955).
9. A.J. Kadaba. *J. Am. Chem. Soc.*, 123, 26031 (1987).
10. L. Levy's. *Life Sci.*, 8, 601 (1969).
11. C.A. Winter, G.A. Risley, G.W. Nuss. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 3, 544 (1962).
12. P.R. Murray. *Medical Microbiology in: Oral Microbiology*. 2 ed., S. Louis, Missouri, Mosby, 1984, p. 381-93.



CONCLUSÕES

5. CONCLUSÕES

Nesta pesquisa conseguimos realizar:

- 1 - A síntese e caracterização de quatorze *N*-arilftalimidas (**56a-o**) incluindo duas inéditas (2-[1*H*-(1,2,4)triazol-3-il]-isoindol-1,3-diona - **56n** e 2-([1,2,4]triazol-4-il)-isoindol-1,3-diona - **56o**).
- 2 - Oito ftalimidas (**56b-g,n,o**) foram submetidas ao impacto eletrônico e o modelo de fragmentações foi estudado. Seis destas ftalimidas (**56b-g**), foram submetidas a decomposição induzida pela colisão [*Collision Induced Decomposition* (CID)] dos íons e as medidas exatas de massas dos íons forneceram modos de fragmentações corretas.
- 3 - Doze *N*-(aril- e 1,2,4-triazol-3- e 4-il-aminometil)ftalimidas (**62a-j,n,o**) foram sintetizadas e caracterizadas; destas, oito estão sendo relatadas pela primeira vez (**62e-j,n,o**).
- 4 - A síntese e caracterização de dezesseis tioftalimidas (**58a-g,j** e **59a-g,j**), sendo dez novas (**58b,c,e-g**, e **59b,c-e-g**). Destas, oito são ftalimidas monotionadas (**58a-g, j**), e oito ftalimidas ditionadas (**59a-g, j**).
- 5 - Relatar a síntese de nove ácidos ftalâmicos *N*-substituídos (**68a-g,n,o**), mediada pelo forno de microondas doméstico. Este método é eficiente e mais rápido.
- 6 - Comprovamos através de testes farmacológicos que algumas das ftalimidas *N*-substituídas (**56b,d**) possuem atividade hipocolesterolêmica e hipotrigliceridêmica (**56b,d,f,g**) superior ou similar à pravastatina (droga utilizada comercialmente).

- 7 - Testamos nove ácidos ftalâmicos *N*-substituídos quanto a atividade hipolipidêmica e para nossa surpresa, esses ácidos apresentaram atividade inversa a das ftalimidas (atividade hiperlipidêmica). E também causaram o aumento do peso dos animais
- 8 - Também comprovamos através de testes antiinflamatórios que uma das ftalimidas *N*-substituídas (*orto*-nitrofenilftalimida - **56h**), obteve atividade antiinflamatória similar à aspirina.
- 9 - Testamos também os nove ácidos ftalâmicos *N*-substituídos quanto à atividade antiinflamatória e comprovamos que esses ácidos também possuem tal atividade.
- 10 - Testamos algumas ftalimidas *N*-substituídas quanto a atividade antimicrobiana. No entanto, nenhum dos compostos testados apresentaram atividade nas condições testadas.
- 11 - Também testamos a atividade antimicrobiana de algumas tioftalimidas e verificamos que o composto **58a** (tioftalimida) apresentou um halo de inibição positiva comparada ao antibiótico kanamicina contra o microorganismo (*m.o.*) *Micrococcus luteos* (*M. luteus*) e halo de inibição superior também ao antibiótico kanamicina contra o *Bacillus subtilis* (*B. subtilis*). O composto **59j** (*p*-nitro-ditioftalimida) apresentou atividade antimicrobiana (inibição positiva) contra *M. luteus*, inibição similar ao antibiótico kanamicina para o *B. subtilis* e inibição positiva superior ao cetoconazol para o fungo *Candida albicans*.



6. PERSPECTIVAS

1 - Na análise da atividade lipídêmica das ftalimidas *N*-substituídas se faz necessário o uso, no futuro, de dosagens das lipoproteínas plasmáticas (VLDL, LDL e HDL) como indicadores mais precisos do mecanismo de ação lipídêmica das ftalimidas sintetizadas neste trabalho.

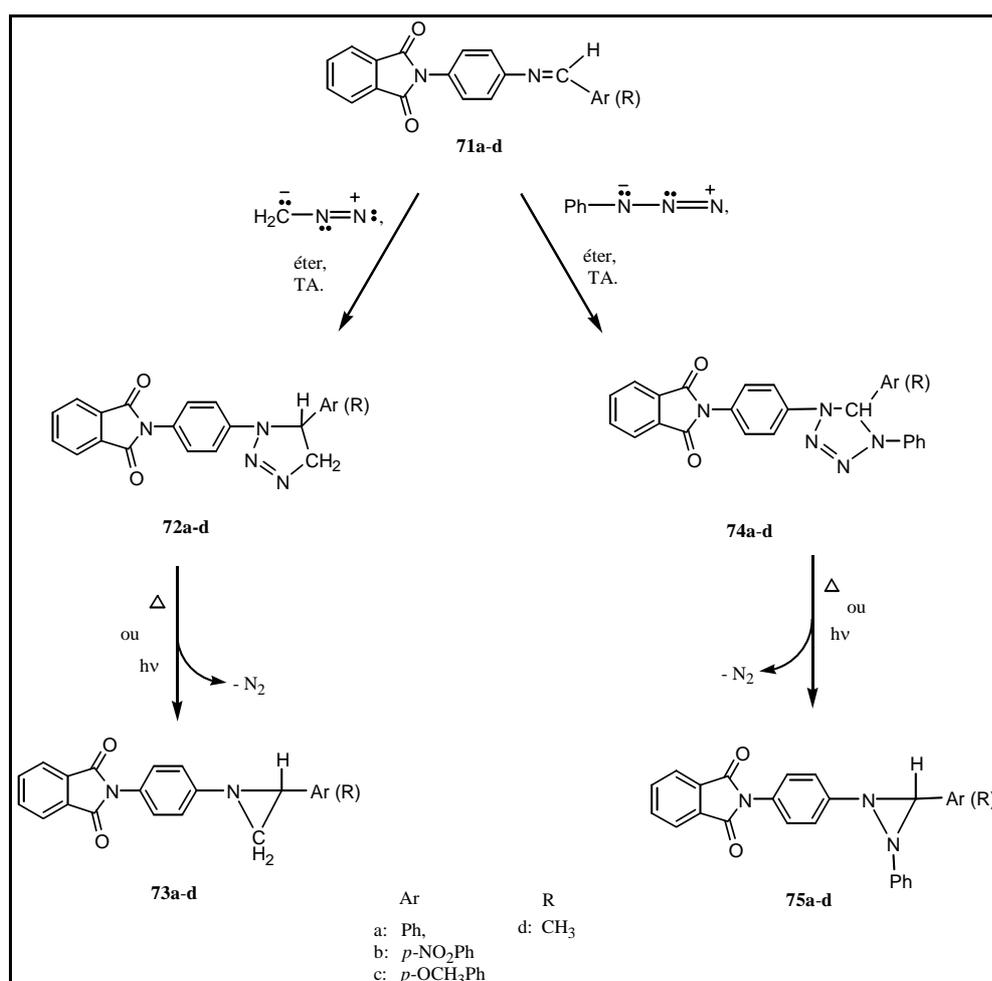
2 - No futuro a análise, da inflamação e da ação antiinflamatória das ftalimidas e ácidos ftalâmicos *N*-substituídos, poderá ser aprofundada com a pesquisa de células inflamatórias através da anatomia patológica.

3 - Em placas de cultura de células, diferenciar os monócitos humanos em macrófagos e analisar a ação de diversos agentes etiológicos (bactérias, vírus ou fungos) no comprovado aumento da secreção de citocinas pró-inflamatórias (IL-1, IL-6, IL-12, IFN-gama, TNF-alfa, etc.) e beta-quimiocinas (MIP-1alfa, MIP-1-beta e Rantes), previamente reconhecido na literatura.. Em seguida, determinar a ação anti-flogística utilizando as ftalimidas e os ácidos ftalâmicos *N*-substituídos. O controle positivo será o LPS, um reconhecidos agente flogístico da imunidade inata e adquirida. Essa pesquisa também poderá ser feita, utilizando PBMCs humano (células mononucleares do sangue periférico = monócitos e linfócitos) mantidos em placas de cultura de células.

4 - Concluir a série das tioftalimidas, ou seja, transformar as ftalimidas obtidas no item 3.1.1 do capítulo 3 em seus correspondentes tionados (mono e ditioftalimidas).

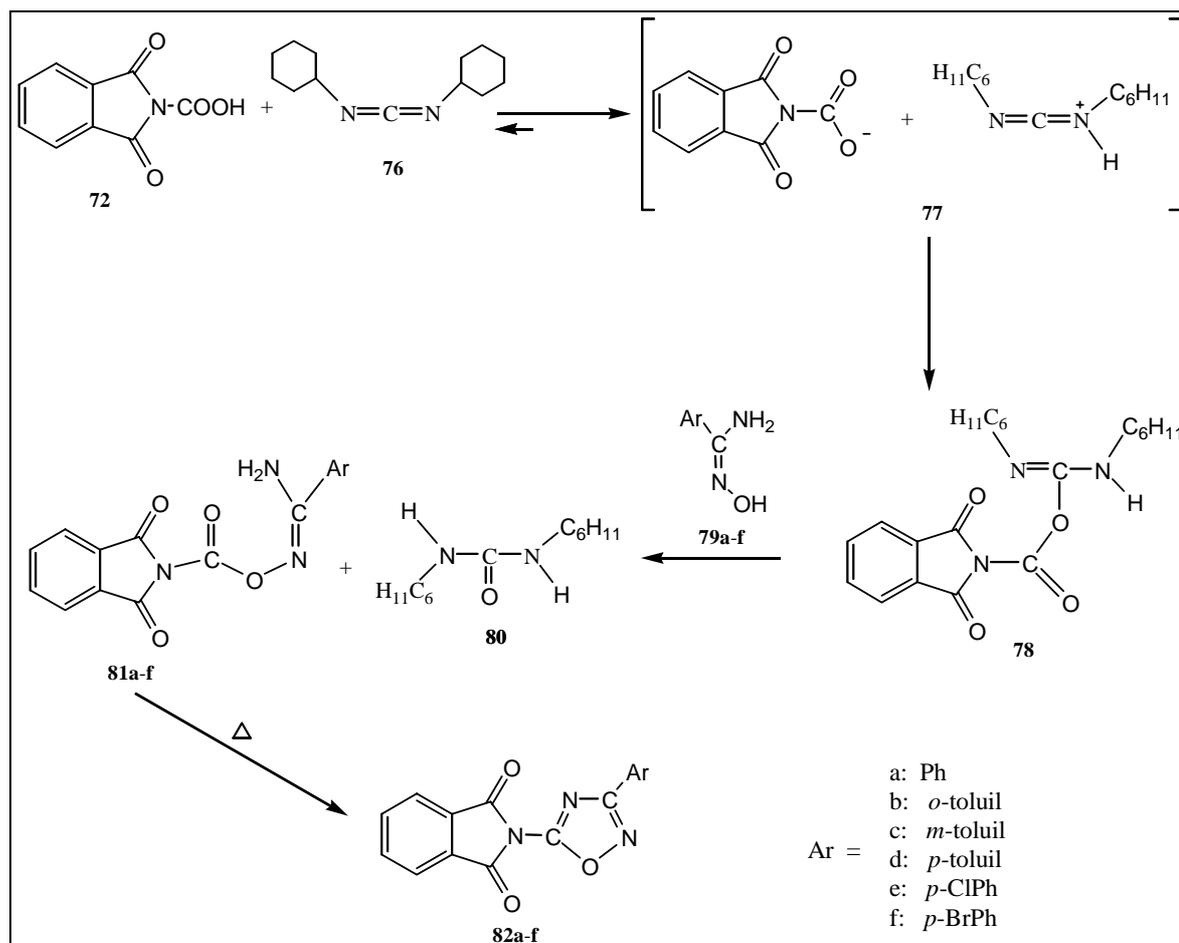
5 - Verificar a atividade biológica das mono e ditioftalimidas obtidas do item anterior quanto à atividade antiinflamatória.

6 - Obter novas N-arilftalimidas tendo o anel fenil, substituído na posição *para* com triazolinás, diaziridinas e aziridinas, a partir do composto N-(4-nitrofenil)ftalimida (**56j**), obtido no item 3.1.1 do capítulo 3; seguindo as rotas mostradas no esquema 22.



Esquema 22

7 - Obter novas ftalimidas ligadas a 1,2,4-oxadiazóis a partir do composto (ácido 1,3-dihidro-isoindol-2-carboxílico -72) obtido no item 3.5.2. do capítulo 3, seguindo as rotas mostradas no esquema 23.



Esquema 23

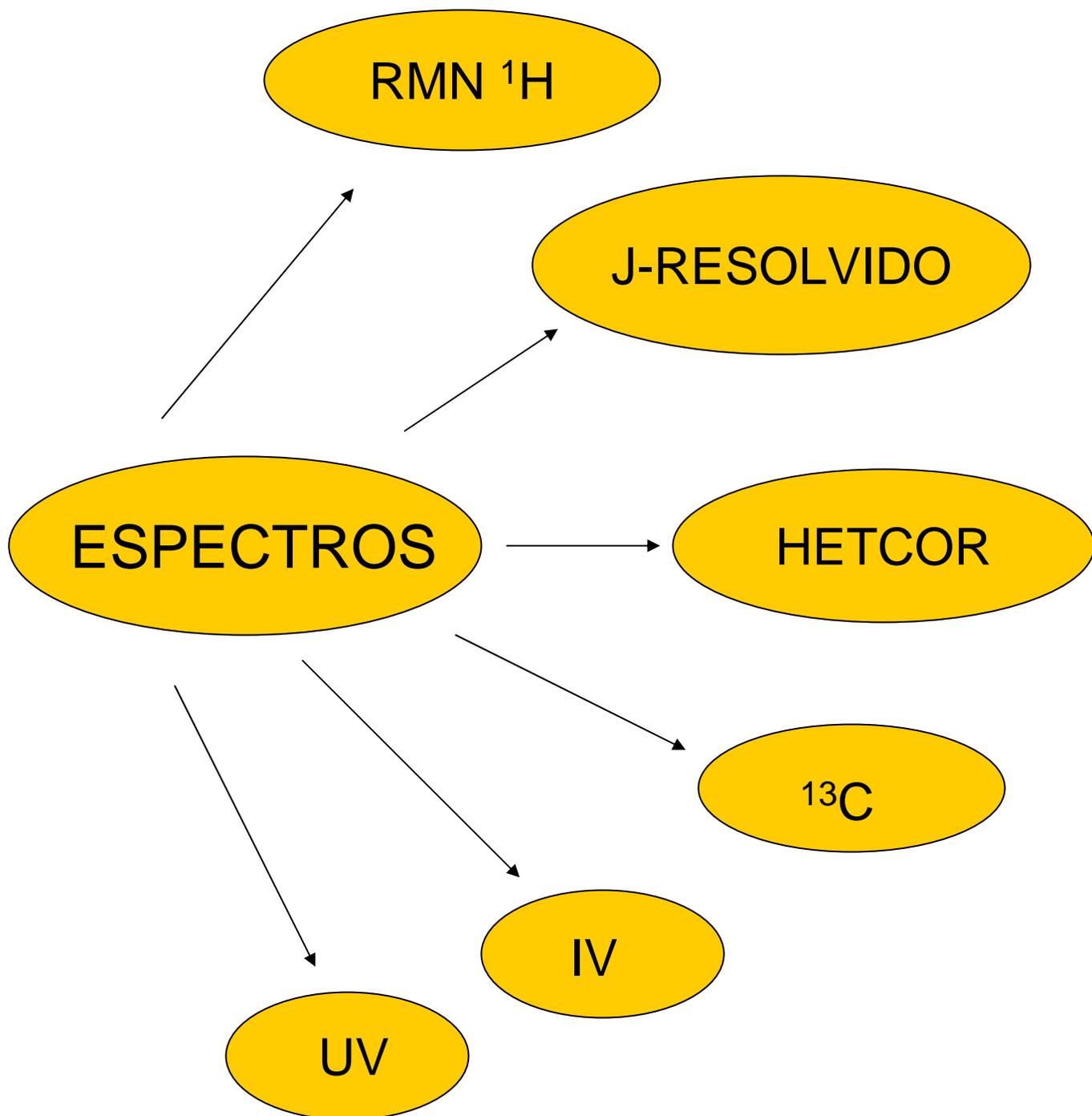
Esses novas compostos serão sintetizadas porque a literatura também relata que os compostos 1,2,4-oxadiazóis possuem atividades analgésica e antiinflamatória,¹ antiviral,² fungicida,³ entre outras.⁴ Os compostos serão **82a-f** serão interessantes para estudos espectroscópicos e também teórico, incluindo os cálculos de orbitais moleculares.

8 - Determinar a atividade hipolipidêmica e/ou antiinflamatória dos compostos obtidos do item anterior.

BIBLIOGRAFIA

-
- 1- P. Afiatpour, R.M Srivastava, M.L. Oliveira, E.J. Barreiro. *Braz. J. Med. Biol. Res.*, 27, 1403 (1994).
 - 2- D. Diana, T.R. Bailey. *Eur. Pat. Appl.* EP 413,289 (Cl. CO7D413/12), 20 feb. 1991, US Appl. 396,419, 18 Aug 1989; 21pp.
 - 3- M. Rai, B. Kaur. *J. Ind. Chem. Soc.*, 59, 1197 (1982).
 - 4- G.A. Showell, R. Baker, J. Davis, R. Hargreaves, S.B. Freedman, K. Hoogsteen, S. Patel, R. J. Snow. *J. Med. Chem.*, 35, 911 (1992).



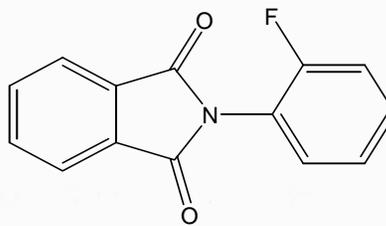
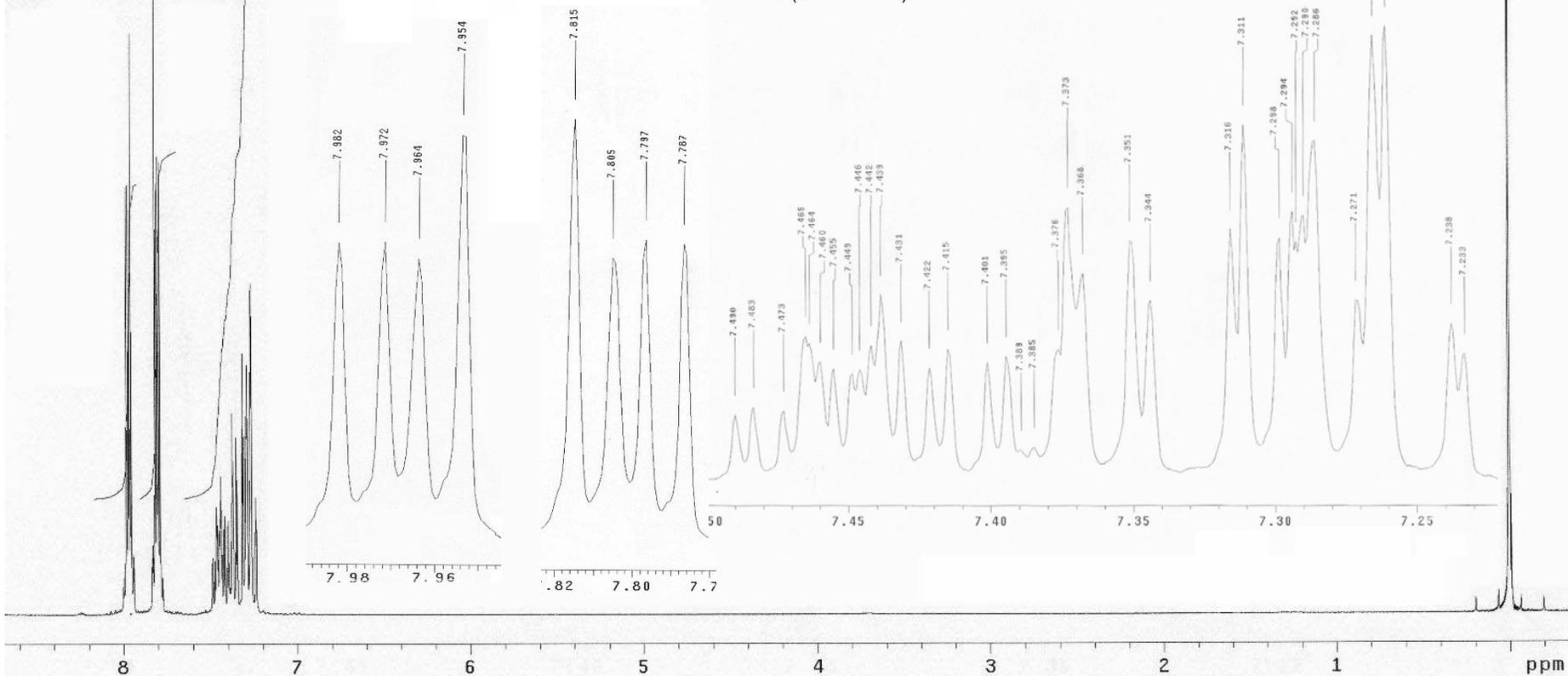


Vera
Amostra 2Fffda
Solicitação N. A0628_6
08.07.02 UFPE

Archive directory: /export/home/ricardo/vnmrsys/data
Sample directory:
File: PROTON

Pulse Sequence: s2pu1
Solvent: CDCl3
Temp. 25.0 C / 298.1 K
UNITYplus-300 "UFPEu300"

Pulse 45.0 degrees
Acq. time 3.744 sec
Width 3235.2 Hz
16 repetitions
OBSERVE H1, 299.9533701 MHz
DATA PROCESSING
FT size 32768
Total time 1 min, 0 sec

**56e***N*-(2-Fluorfenil)ftalimidaEspectro 1 - Espectro de Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio, em CDCl₃ do composto *N*-(2-Fluorfenil)ftalimida **56e**

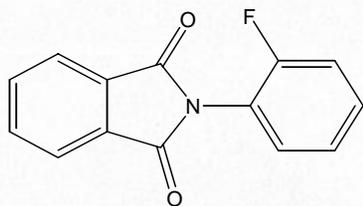
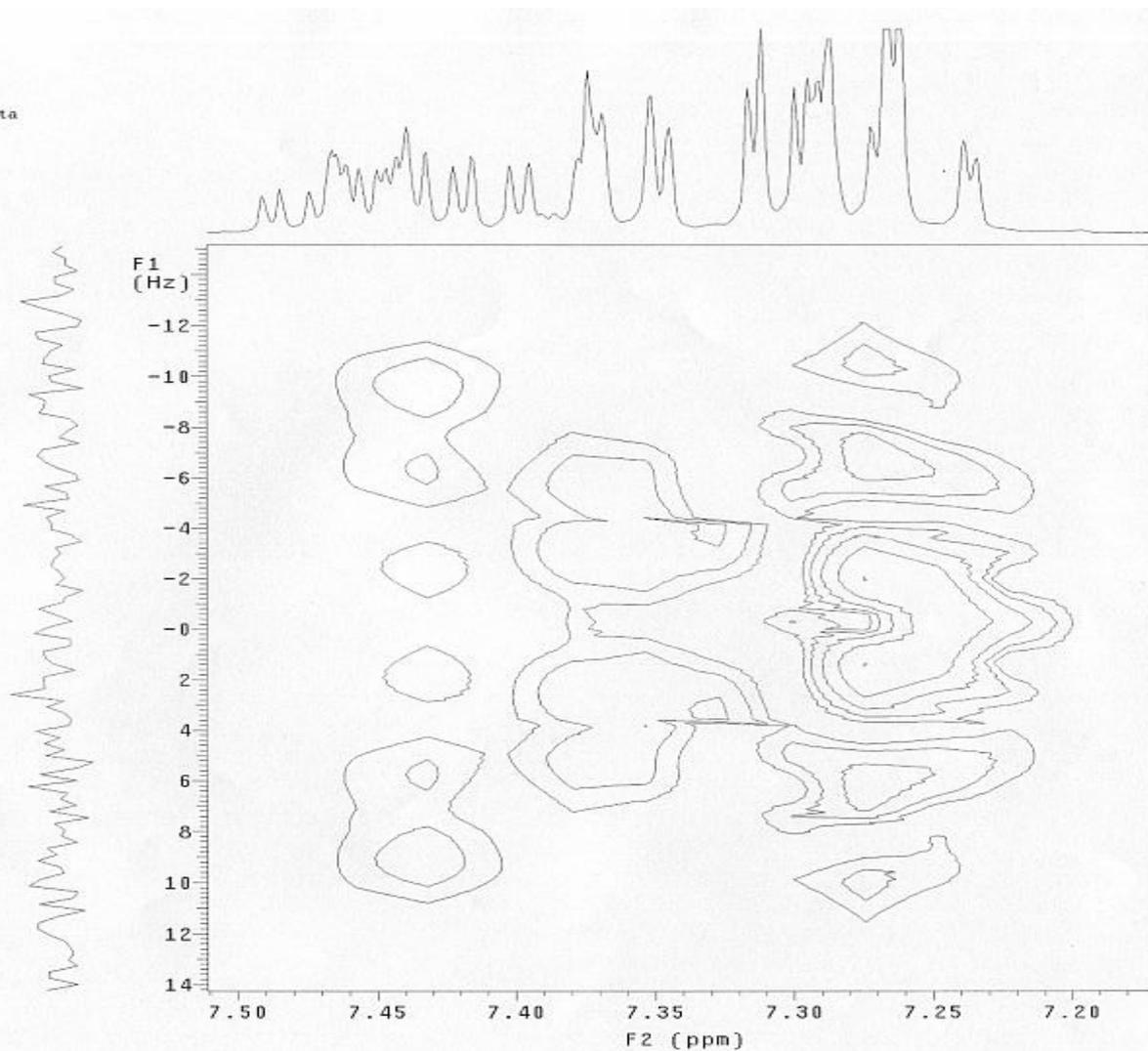
Vera
Amostra 2Fffda
Solicitacao N. A0628_6
08.07.02 UFPE

Archive directory: /export/home/ricardo/vnmr/sys/data
Sample directory:
File: PROT0N

Pulse Sequence: hom2dJ

Solvent: CDCl3
Temp. 25.0 C / 298.1 K
UNITYplus-300 "UFPEu300"

Relax. delay 10.000 sec
Acq. time 0.516 sec
Width 496.3 Hz
2D Width 70.0 Hz
8 repetitions
32 increments
OBSERVE H1, 299.9533703 MHz
DATA PROCESSING
Sine bell 0.064 sec
F1 DATA PROCESSING
Sine bell 0.640 sec
FT size 128 x 512
Total time 48 min, 42 sec

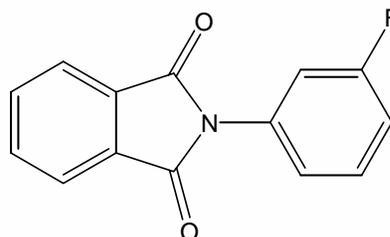
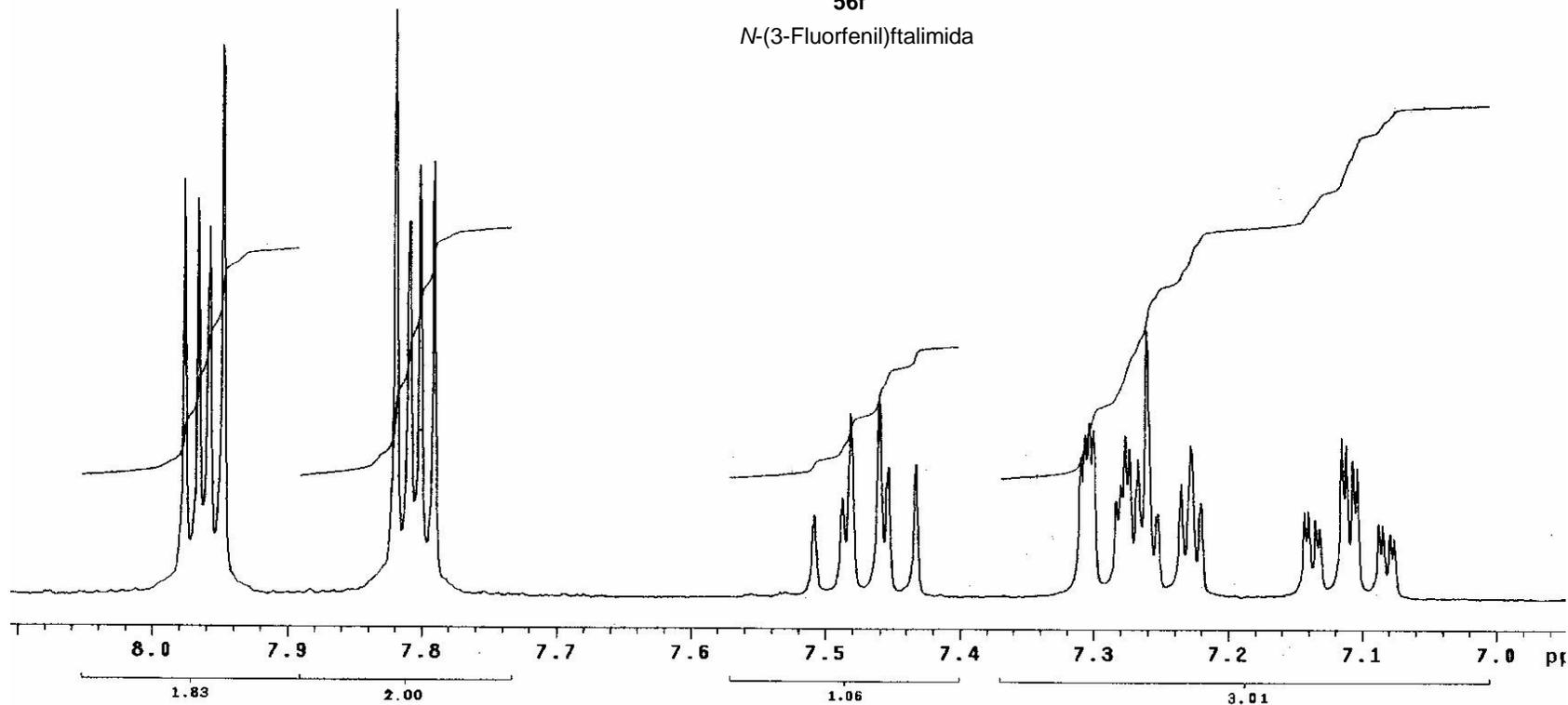
**56e***N*-(2-Fluorfenil)ftalimidaEspectro 2 - Espectro de Ressonância Magnética Nuclear, J-Resolvido, em CDCl₃ do composto *N*-(2-Fluorfenil)ftalimida **56e**

Vera
Amostra 3Fffda
Solicitacao N. A0628_5
28.06.02 UFPE

Archive directory: /export/home/ricardo/vnmrsys/data
Sample directory:

Pulse Sequence: s2pu1
Solvent: CDCl3
Temp: 25.0 C / 298.1 K
File: A0628_5.1h
UNITYplus-300 "UFPEu300"

Pulse 45.0 degrees
Acq. time 3.744 sec
Width 2886.2 Hz
16 repetitions
OBSERVE H1, 299.9533700 MHz
DATA PROCESSING
FT size 32768
Total time 1 min, 0 sec

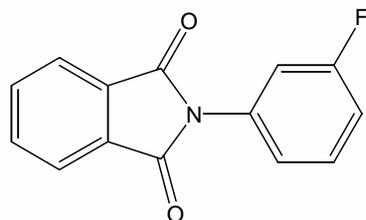
**56f***N*-(3-Fluorfenil)ftalimidaEspectro 3 - Espectro de Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio, em CDCl₃ do composto *N*-(3-Fluorfenil)ftalimida **56f**

Vera
Amostra 3fffd
Solicitacao N. A0628_5
01.07.02 UFPE

Archive directory: /export/home/ricardo/vnmrsys/data
Sample directory:

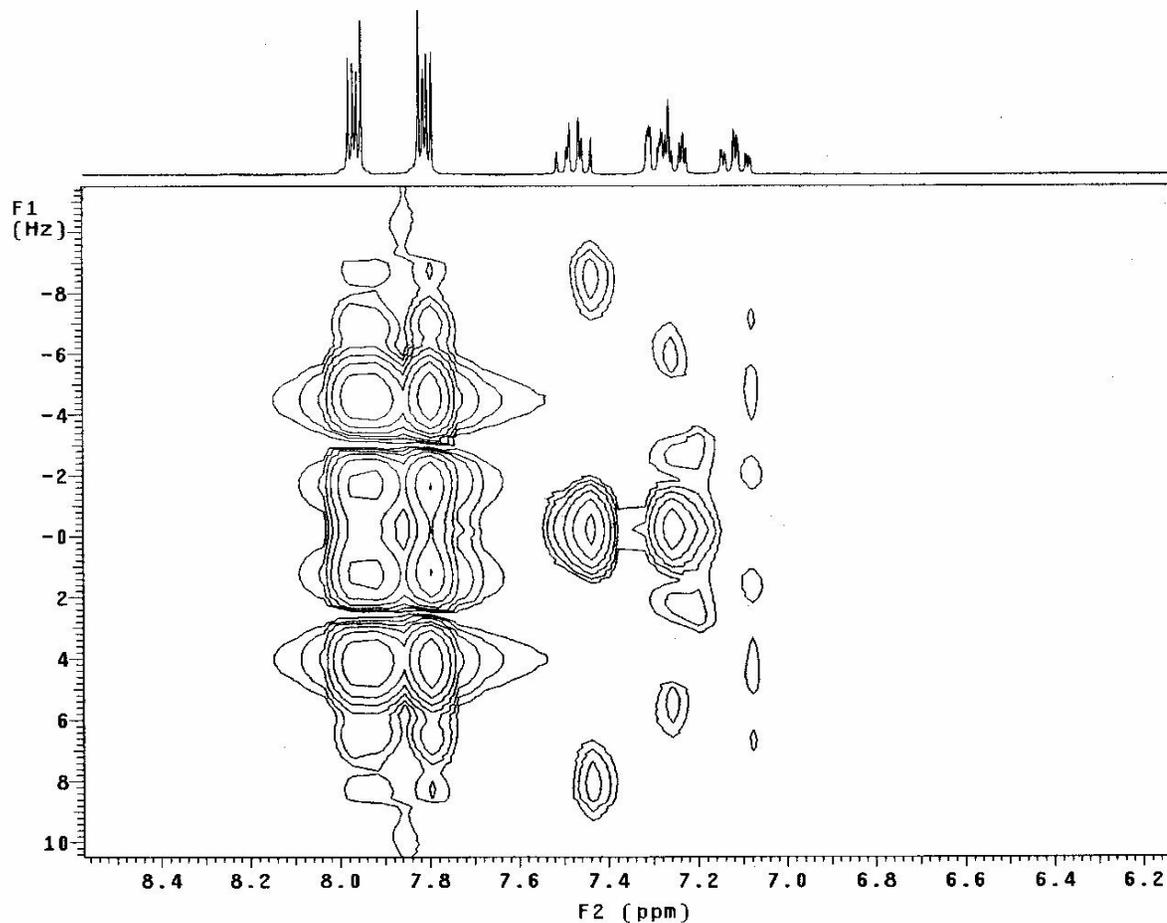
Pulse Sequence: hom2dj
Solvent: CDC13
Temp: 25.0 C / 298.1 K
File: A0628_5.Jres2
UNITYplus-300 "UFPEU300"

Relax. delay 10.000 sec
Acq. time 0.088 sec
Width 1131.9 Hz
2D Width 70.0 Hz
8 repetitions
48 increments
OBSERVE H1, 299.9533700 MHz
DATA PROCESSING
Sine bell 0.088 sec
F1 DATA PROCESSING
Sine bell 0.640 sec
FT size 128 x 512
Total time 1 hr, 9 min, 31 sec



56f

N-(3-Fluorfenil)ftalimida



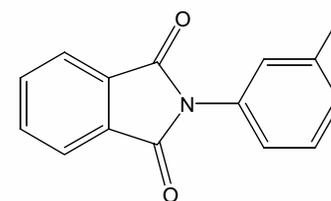
Espectro 4 - Espectro de Ressonância Magnética Nuclear, J-Resolvido, em CDCl_3 do composto N-(3-Fluorfenil)ftalimida 56f

Vera
 Amostra 3Fffda
 Solicitacao N. A0628_5
 11.07.02 UFPE

Archive directory: /export/home/ricardo/vnmrsys/data
 Sample directory:
 File: CARBON

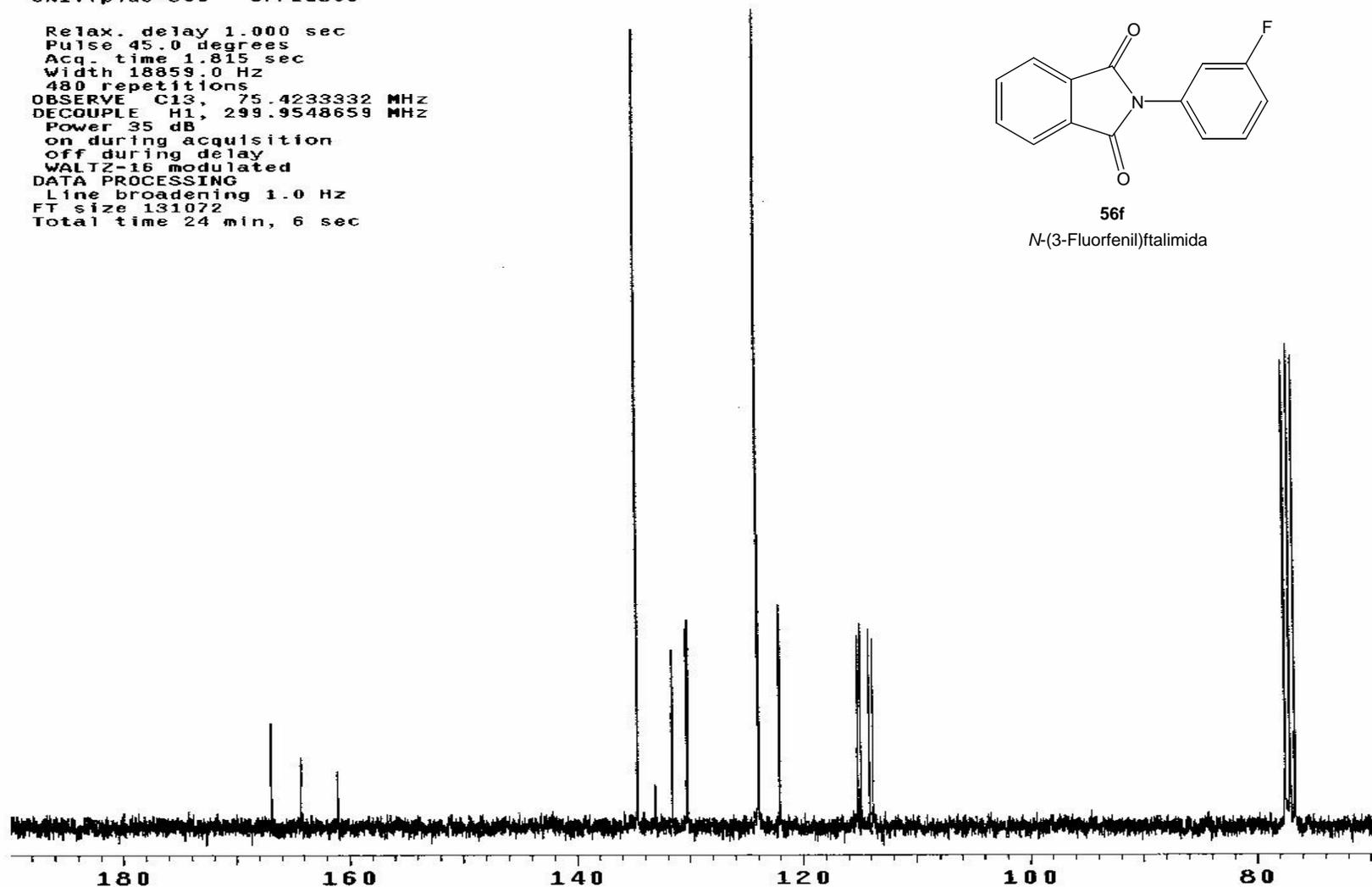
Pulse Sequence: s2pu1
 Solvent: CDCl3
 Temp. 25.0 C / 298.1 K
 UNITYplus-300 "UFPEU300"

Relax. delay 1.000 sec
 Pulse 45.0 degrees
 Acq. time 1.815 sec
 Width 18859.0 Hz
 480 repetitions
 OBSERVE C13, 75.4233332 MHz
 DECOUPLE H1, 299.9548659 MHz
 Power 35 dB
 on during acquisition
 off during delay
 WALTZ-16 modulated
 DATA PROCESSING
 Line broadening 1.0 Hz
 FT size 131072
 Total time 24 min, 6 sec



56f

N-(3-Fluorfenil)ftalimida



Espectro 5 - Espectro de Ressonância Magnética Nuclear de Carbono, em CDCl₃ do composto N-(3-Fluorfenil)ftalimida **56f**

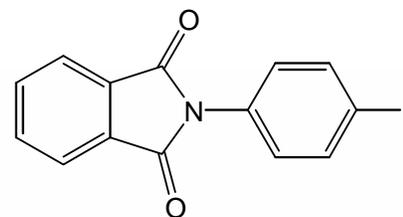
Apêndice 1

Vera
 Amostra 4fffd
 Solicitação N. A0628_7
 03.07.02 UFPE

Archive directory: /export/home/ricardo/vnmrSYS/data
 Sample directory:

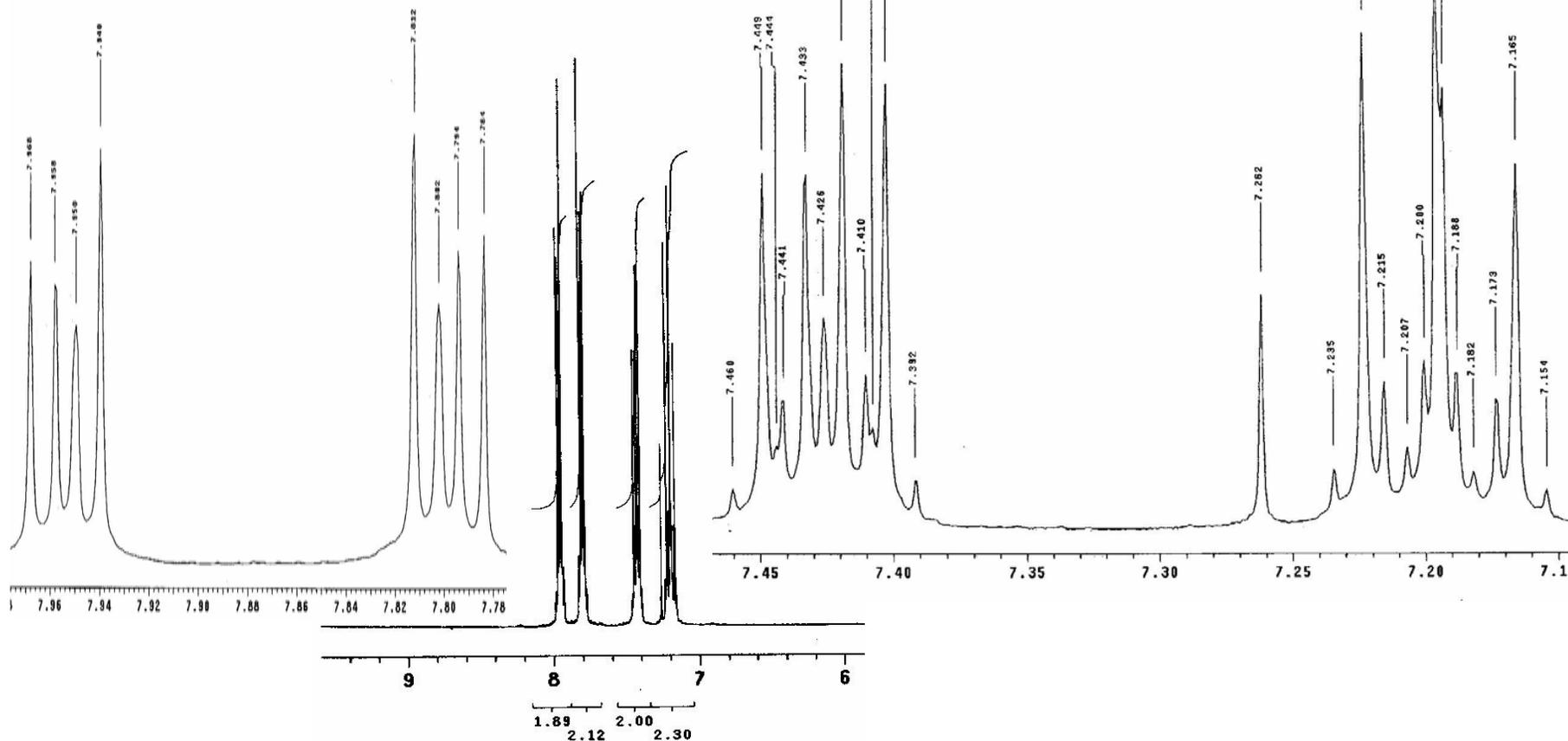
Pulse Sequence: s2pu1
 Solvent: CDCl3
 Temp. 25.0 C / 298.1 K
 File: A0628_7.1h
 UNITYplus-300 "UFPEu300"

Pulse 45.0 degrees
 Acq. time 3.744 sec
 Width 3235.2 Hz
 16 repetitions
 OBSERVE H1, 299.9533688 MHz
 DATA PROCESSING
 FT size 32768
 Total time 1 min, 0 sec



56g

N-(4-Fluorofenil)ftalimida

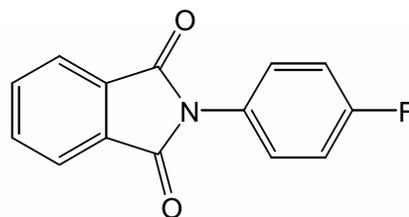
Espectro 6 - Espectro de Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio, em CDCl₃ do composto N-(4-Fluorofenil)ftalimida **56g**

Vera
Amostra 4fffd
Solicitacao N. A0628_7
11.07.02 UFPE

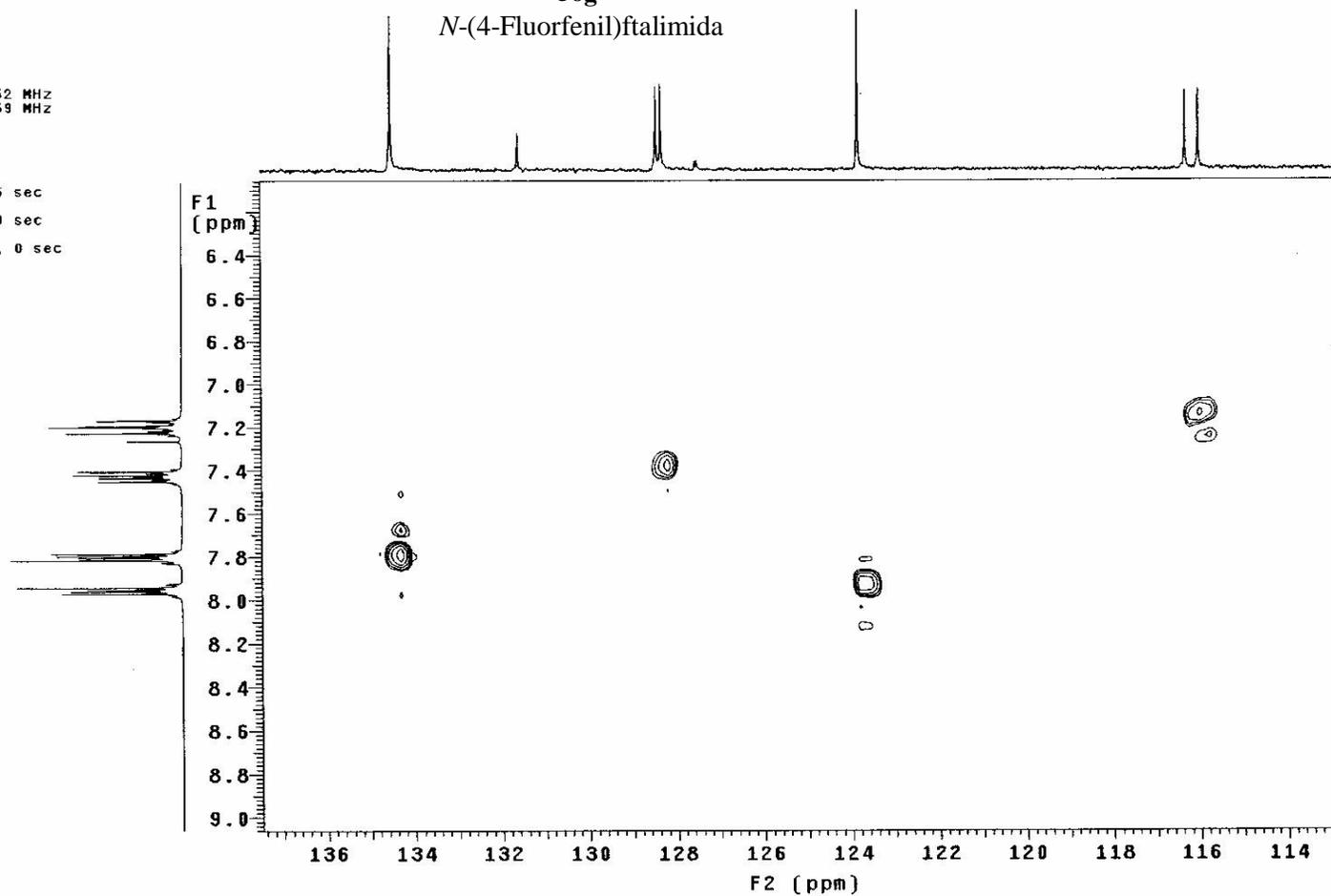
Archive directory: /export/home/ricardo/vnmrsys/data
Sample directory:
File: CARBON

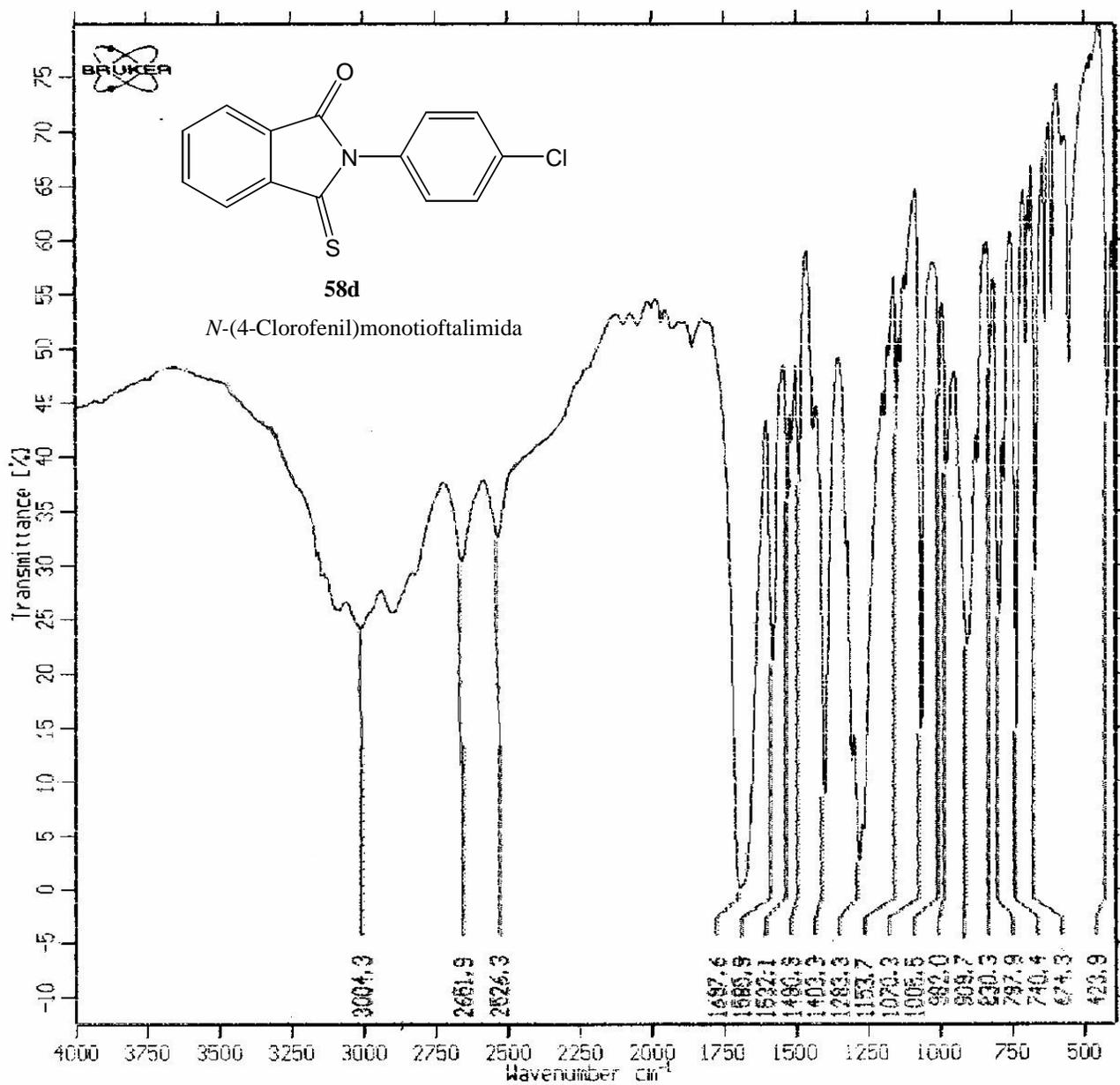
Pulse Sequence: gHETCOR
Solvent: CDCl3
Ambient temperature
UNITYplus-300 "UFPEu300"

Relax. delay 1.000 sec
Acq. time 0.054 sec
Width 18859.0 Hz
2D Width 2999.5 Hz
64 repetitions
2 x 64 increments
OBSERVE C13, 75.4233352 MHz
DECOUPLE H1, 299.9548659 MHz
Power 35 dB
on during acquisition
off during delay
WALTZ-16 modulated
DATA PROCESSING
Gauss apodization 0.025 sec
F1 DATA PROCESSING
Gauss apodization 0.079 sec
FT size 2048 x 2048
Total time 2 hr, 30 min, 0 sec



56g

N-(4-Fluorfenil)ftalimida



SPECTRUM : 291200.12

DATE : 29/12/2000

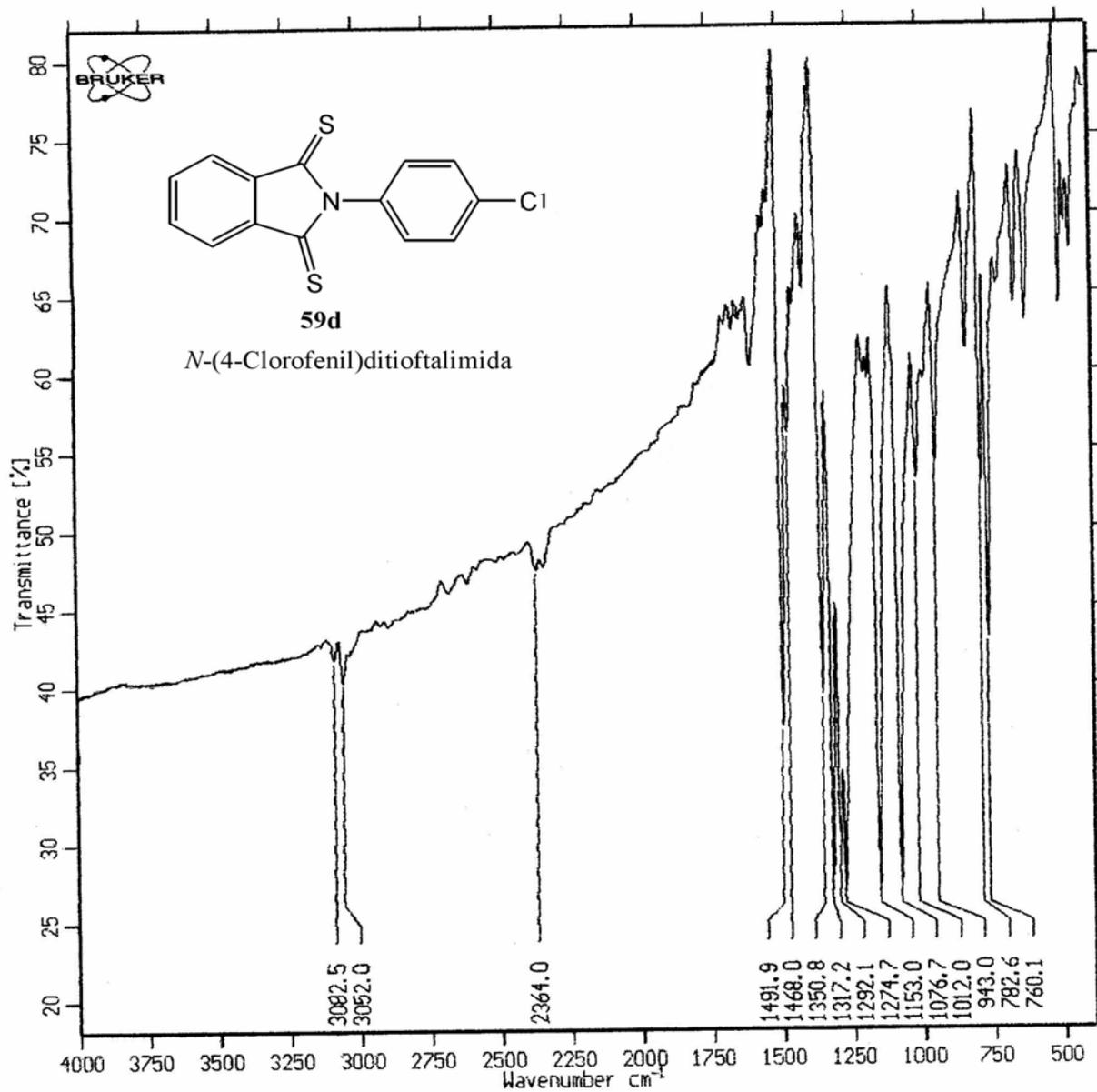
TIME : 10:50:15

SAMPLE : U3 / Vera (Mohan)

TECHNIQUE : Pastilha de KBr

USER : Eliete

Espectro 8 - Espectro de IV em KBr do composto *N*-(4-Clorofenil)monotioftalimida **58d**



SPECTRUM : 220900.5

DATE : 22/ 9/2000

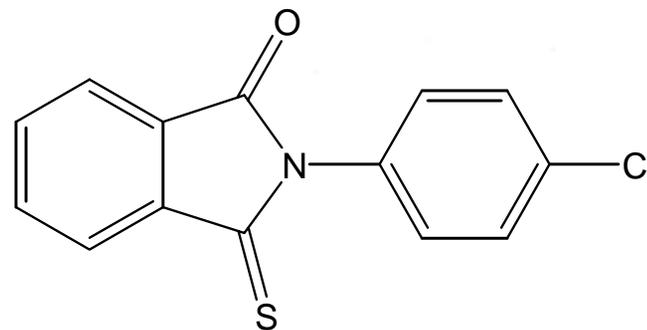
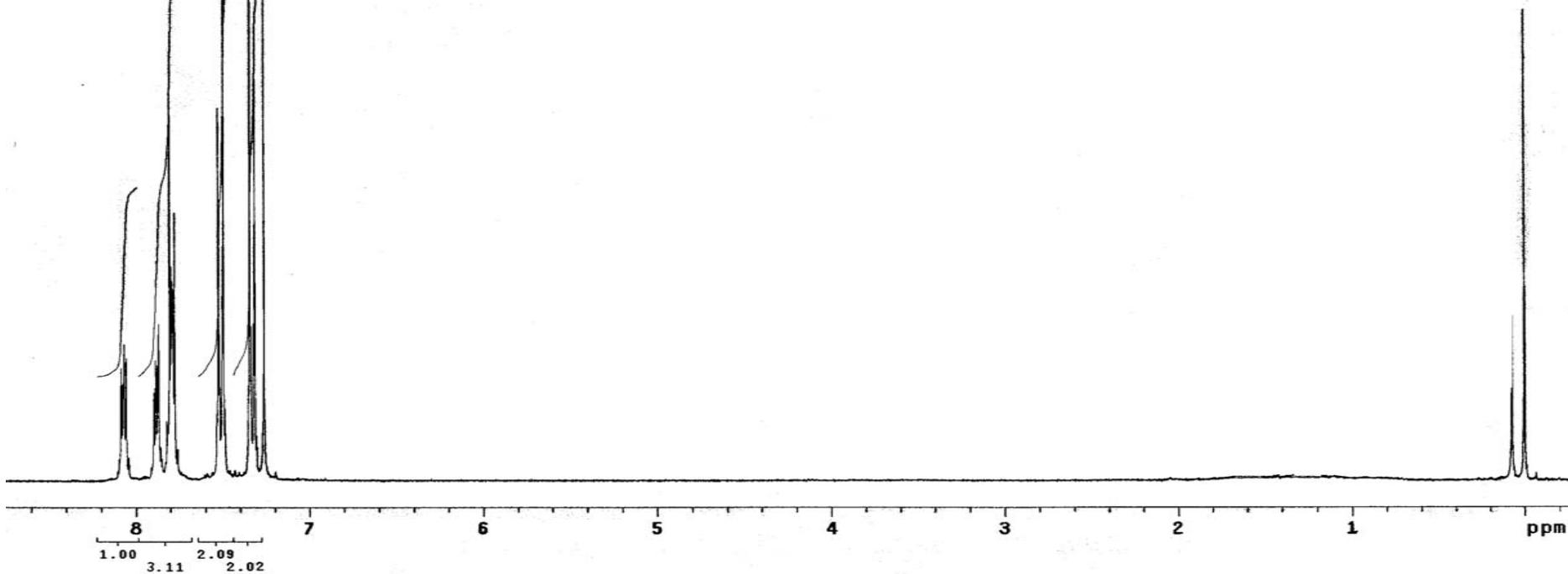
TIME : 10:37: 9

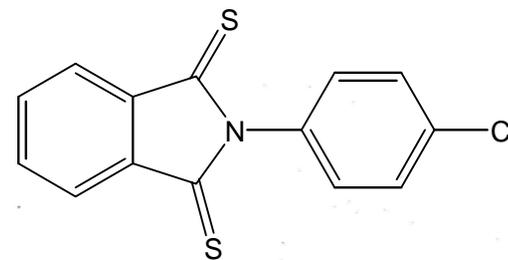
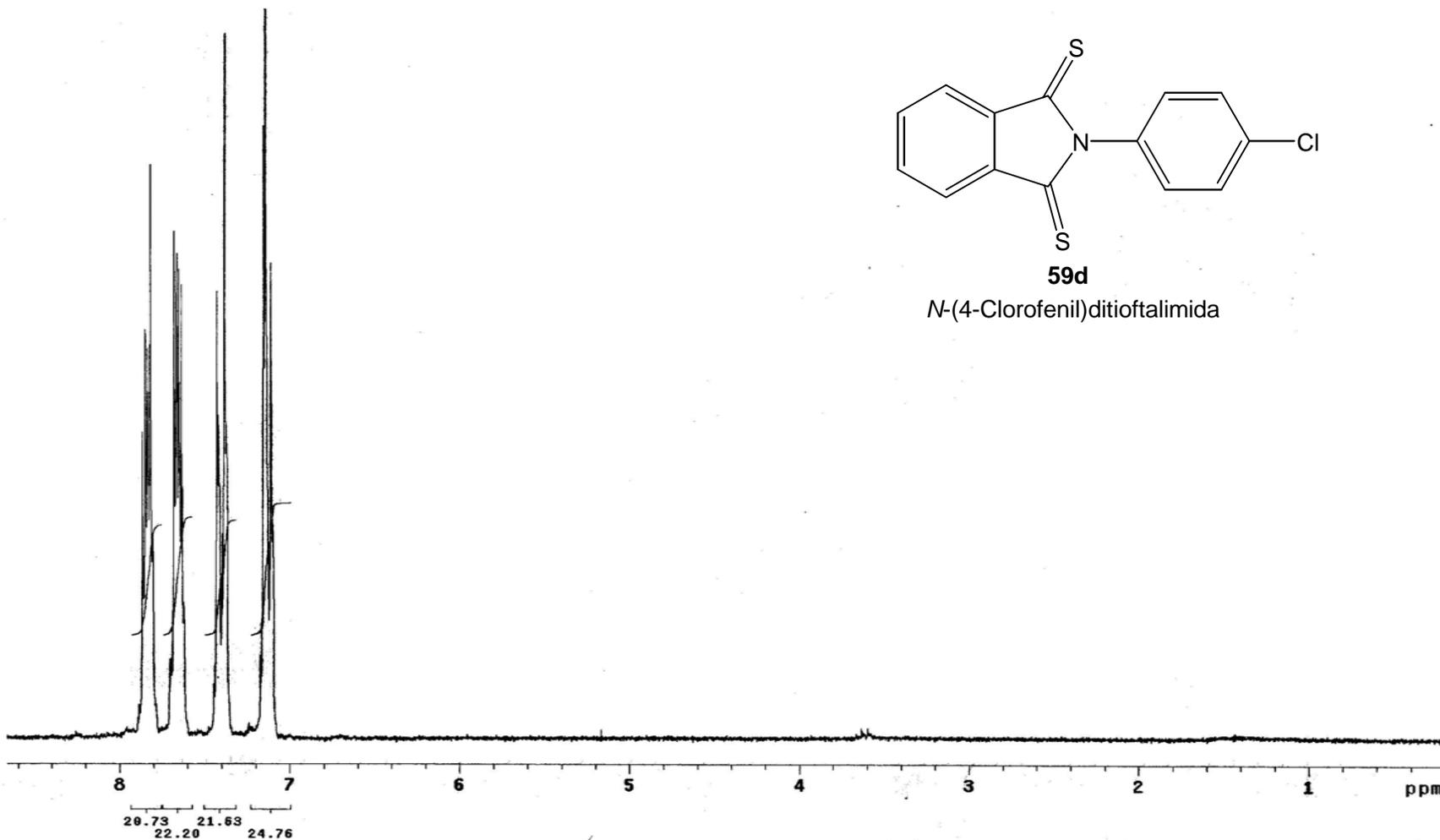
SAMPLE : U3 / Vera (Mohan)

TECHNIQUE : Pastilha de KBr

USER : Eliete

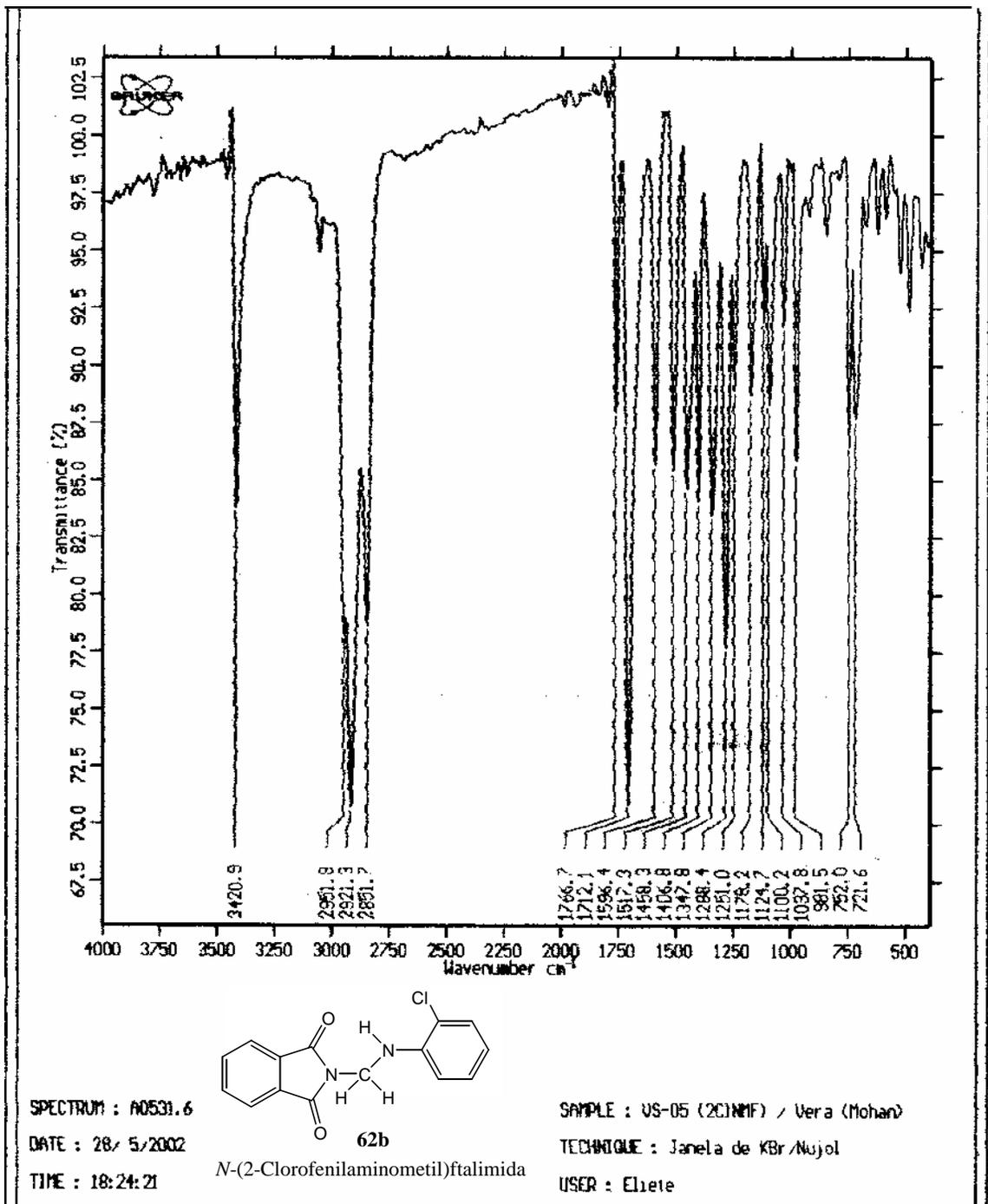
Vera
Amostra R-11VS
Solicitacao N. 5132
03.10.01 UFPE
Pulse Sequence: s2pu1
Solvent: CDCl3
Ambient temperature
UNITYplus-300 "UFPEu300"
Pulse 45.0 degrees
Acq. time 3.744/sec
Width 4000.0 Hz
16 repetitions
OBSERVE H1, 299.9533696 MHz
DATA PROCESSING
FT size 32768
Total time 1 min, 0 sec

**58d***N*-(4-Clorofenil)monotioftalimidaEspectro 10 - Espectro de RMN de Hidrogênio do composto *N*-(4-Clorofenil)monotioftalimida **58d**

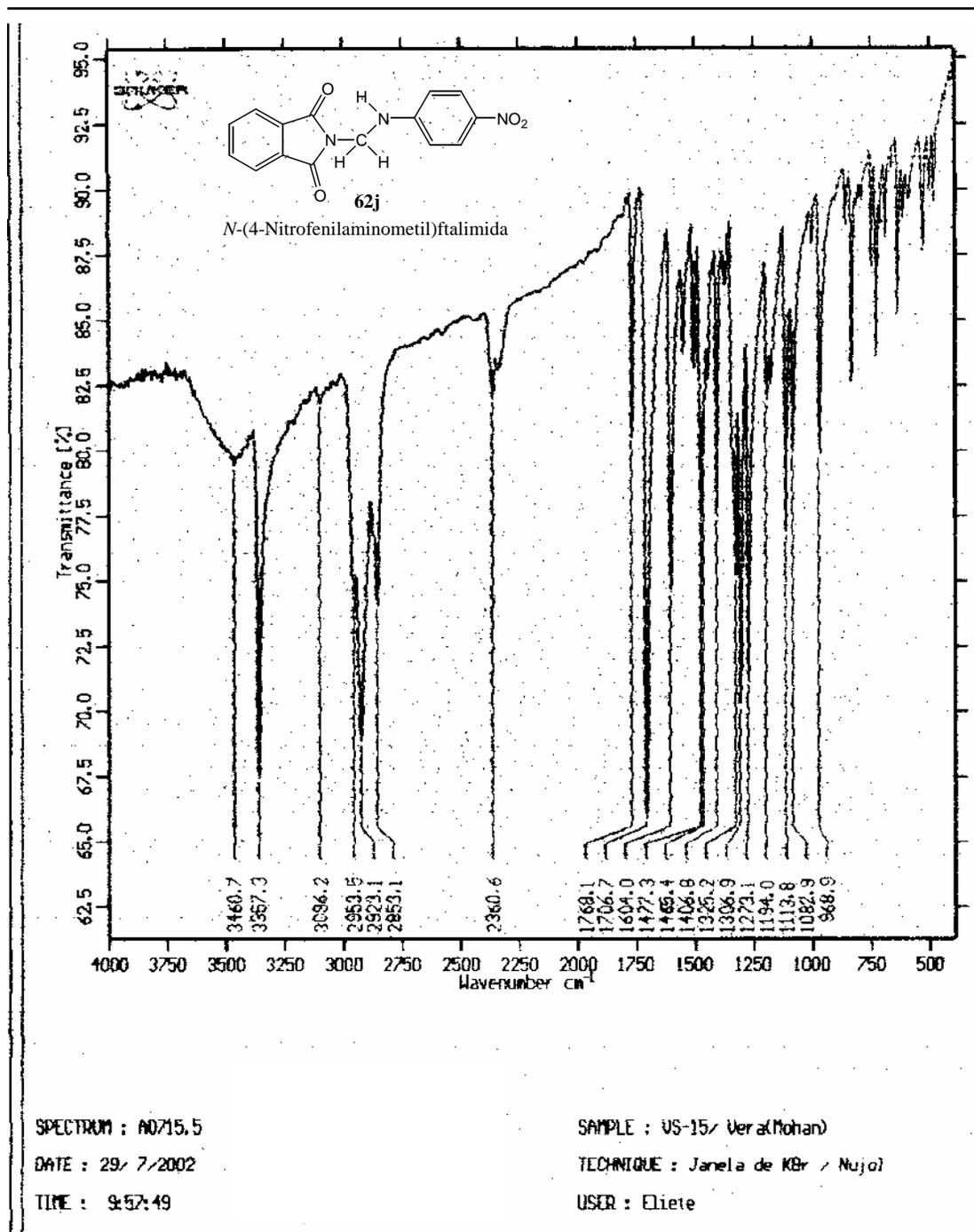
**59d***N*-(4-Clorofenil)ditoftalimida

PULSE SEQUENCE Relax. delay 1.000 sec Pulse 45.0 degrees Acq. time 3.752 sec Width 4000.0 Hz 16 repetitions	OBSERVE H1, 200.0563011	DATA PROCESSING FT size 32768 Total time 1 minute	4Cl-DTF Vera UFPE Date Nov 23 2000 Solvent: CDC13 Ambient temperature Mercury-200 "mercury200"
---	--------------------------------	--	---

Espectro 11 - Espectro de RMN de Hidrogênio do composto *N*-(4-Clorofenil)ditoftalimida **59d**

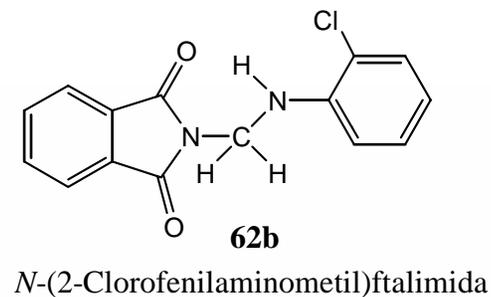
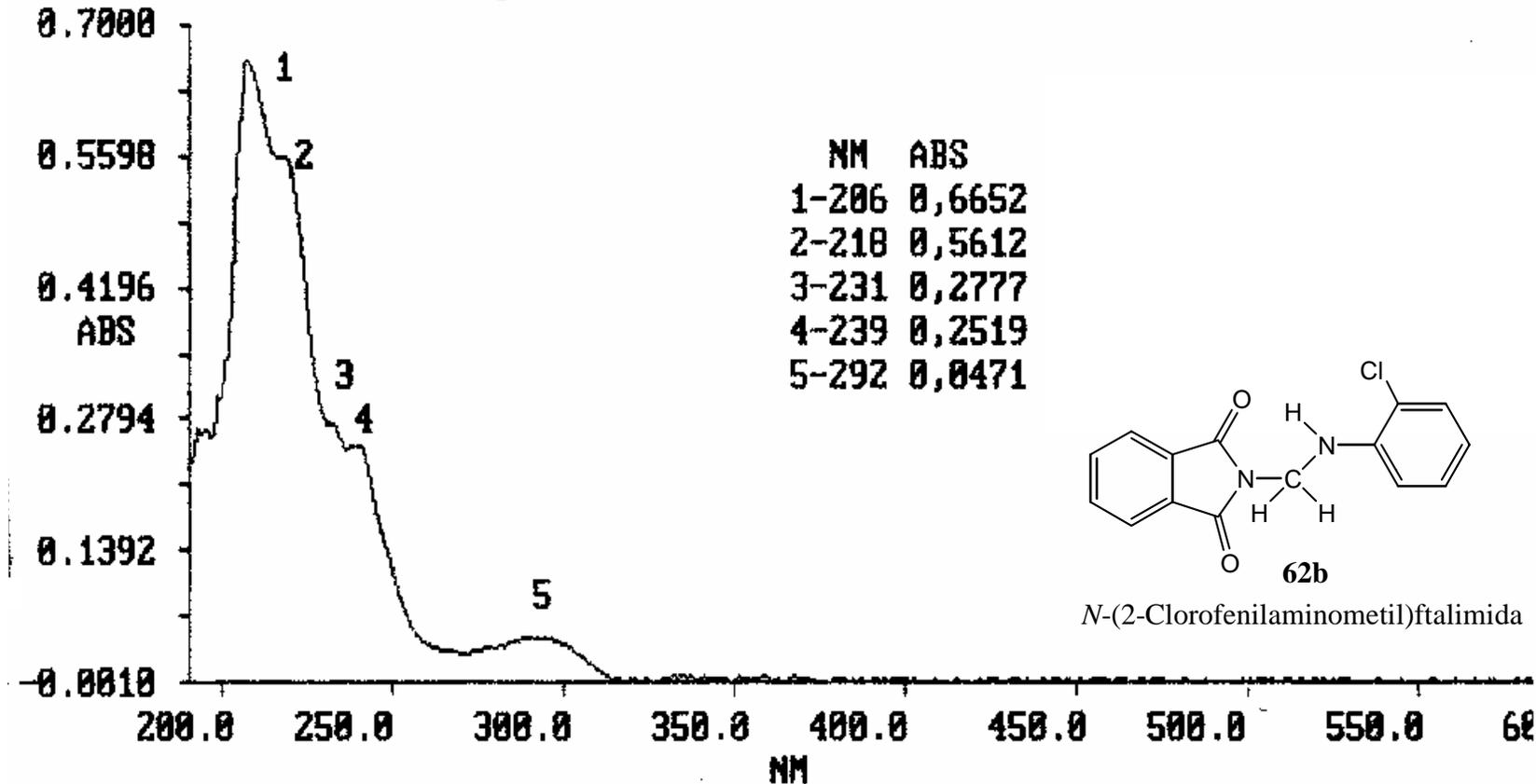


Espectro 12 - Espectro de IV em nujol do composto N-(2-Chlorofenilaminometil)ftalimida 62b



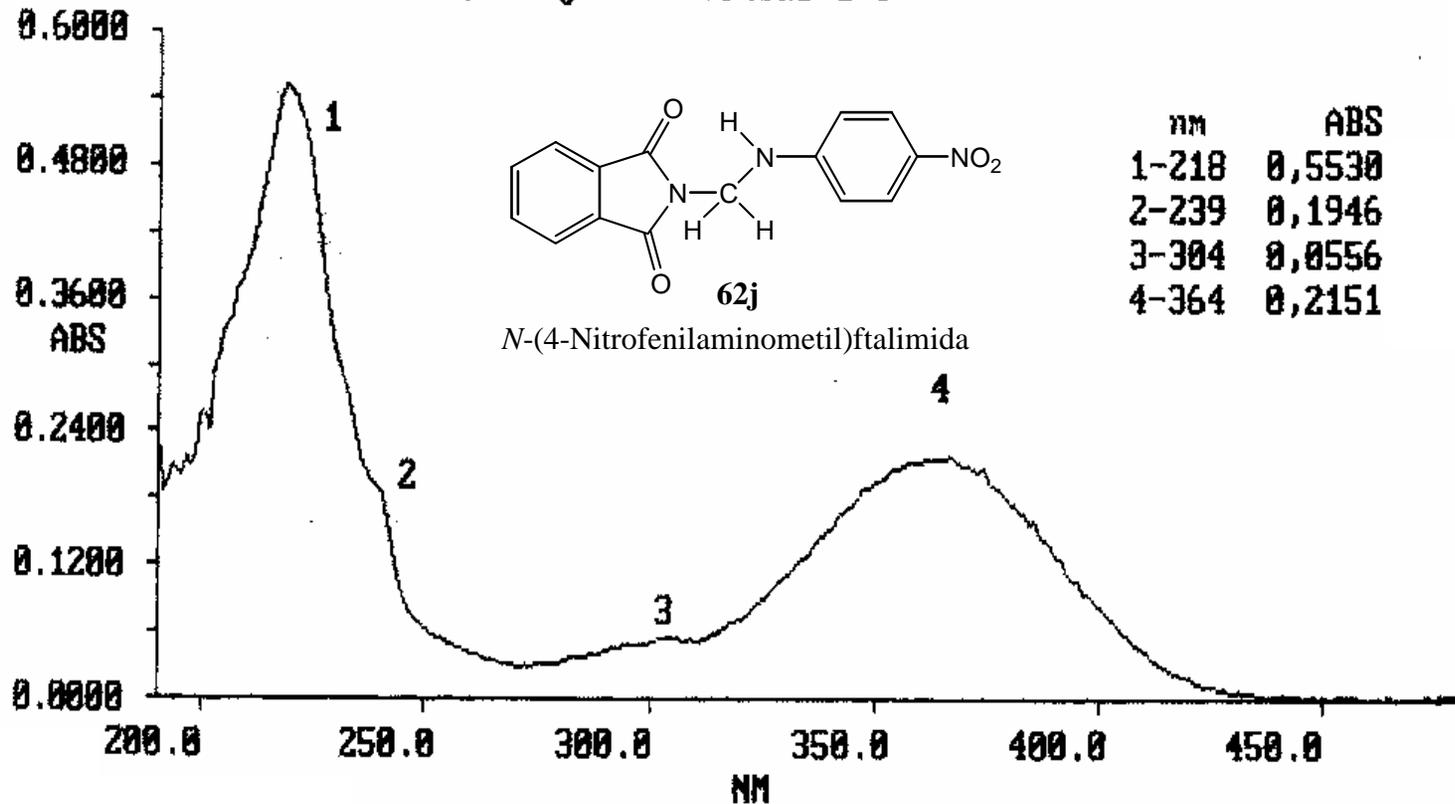
Espectro 13 - Espectro de IV em nujol do composto N-(4-Nitrofenilaminometil)ftalimida 62j

X: a0531_6; absc 600.0- 190.0; pts 411; int 1.00; ord -0.001-0.6652; A
 inf: US-05 (2CLNMF) 0,7mg/5ml dil. 1:10 , dil. 0,5:3



Espectro 14 - Espectro de UV em metanol do composto N-(2-Clorofenilaminometil)ftalimida 62b

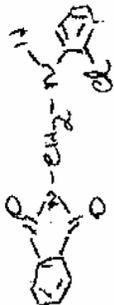
X: A0715_5; absc 500.0- 190.0; pts 311; int 1.00; ord 0.0006-0.5530;
 inf: VS-15 4NO2fNMfda 0,106mg/5ml diluido 1:5



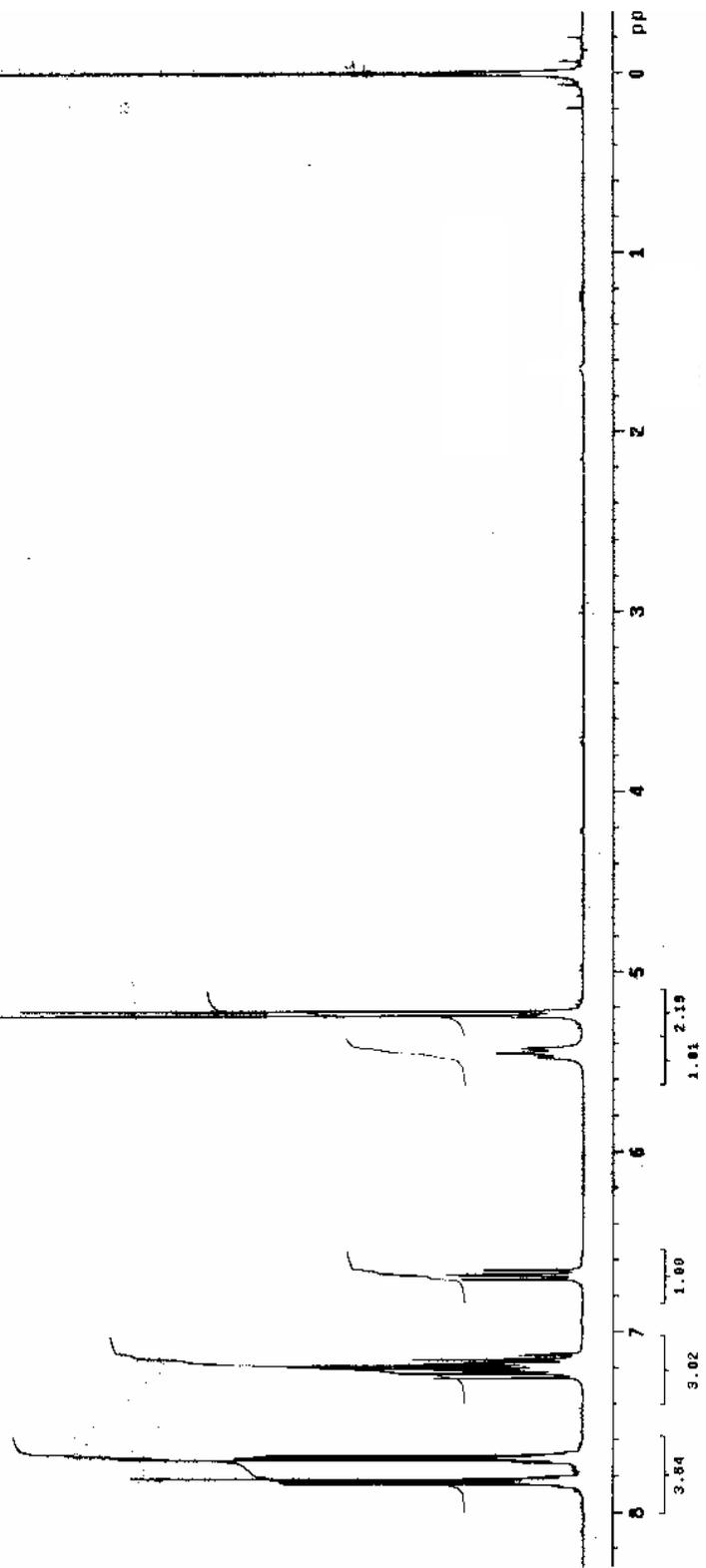
Espectro 15 - Espectro de UV em metanol do composto N-(4-Nitrofenilaminometil)ftalimida 62j

Sena, V.L.M. Síntese e Atividade Biológica de Ftalimidas N-Substituídas

Versão: 45-05 (2011MF)
 Solicitação: N. A0531_6
 06.08.02 UFPE
 Pulse Sequence: e2put
 Solvent: Cdc13
 Temp: 25.0 C / 298.1 K
 UNITYplus-300 "UFPEU300"
 Pulse: 45.0 degrees
 Acq. time: 3.744 sec
 Width: 4000.0 Hz
 16 repetitions
 OBSERVE: H1, 299.9533706 MHz
 DATA PROCESSING
 F1: 429.32786
 Total time: 1 min, 0 sec

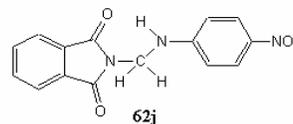


62b
N-(2-Clorofenilaminometil)ftalimida

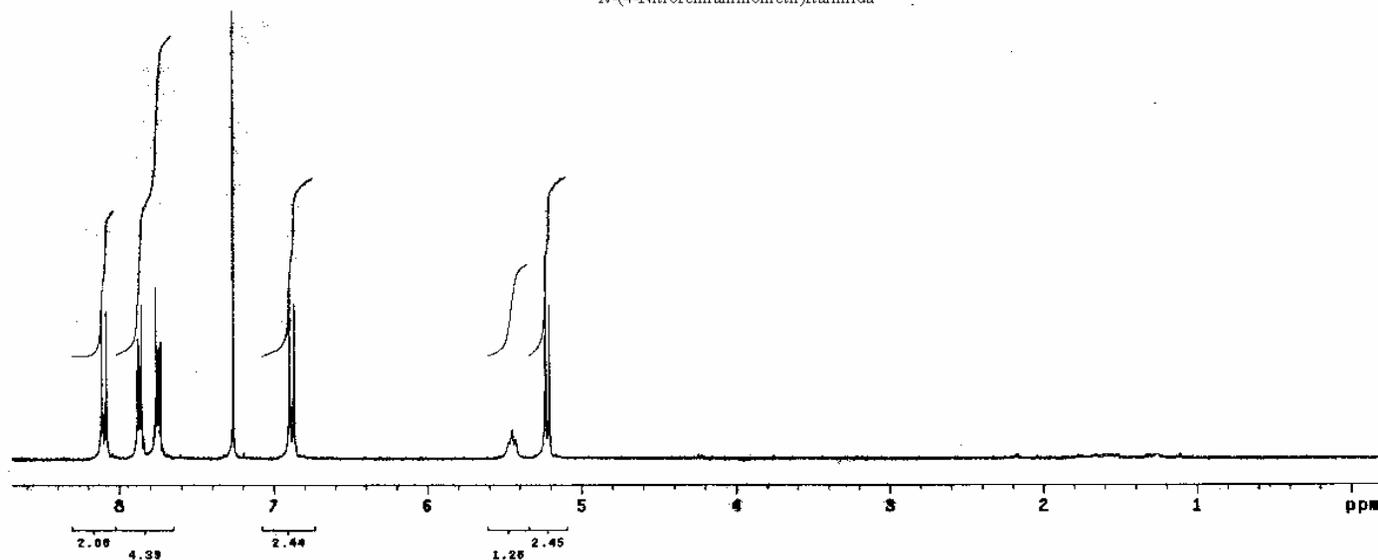


Espectro 16 - Espectro de RMN de hidrogênio do composto N-(2-Clorofenilaminometil)ftalimida 62b

Vers
Amostra VS-15 4N02FMFda
Solicitacao M. AD715_5
02.06.02 UFPE
Pulse Sequence: 62pu1
Solvent: CDCl3
Temp: 25.0 C / 288.1 K
UNITYplus-300 "UFPEu300"
Pulse 45.0 degrees
Acq. time 3.744 sec
Width 4000.0 Hz
16 repetitions
OBSERVE H1, 289.9533696 MHz
DATA PROCESSING
FT size 32768
Total time 1 min, 0 sec



N-(4-Nitrofenil aminometil)ftalimida



Espectro 17 - Espectro de RMN de hidrogênio do composto N-(4-Nitrofenilaminometil)ftalimida 62j



TRABALHOS PUBLICADOS
EM
PERIÓDICOS INTERNACIONAIS

Synthesis and hypolipidemic activity of *N*-substituted phthalimides. Part V[☆]

Vera L.M. Sena^a, Rajendra M. Srivastava^{a,*}, Ricardo O. Silva^a, Vera L.M. Lima^b

^a Departamento de Química Fundamental, Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), Av. Luis Freire, S/N, Cidade Universitária, CEP 50.740-540 Recife, PE, Brazil

^b Departamento de Bioquímica, Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), Av. Prof. Moraes Rego, S/N, Cidade Universitária, CEP 50.670-420 Recife, PE, Brazil

Received 27 February 2003; accepted 9 June 2003

Abstract

A series of *N*-aryl- or *N*-(1,2,4-triazol-yl)-phthalimides (**4a–4i**) have been synthesized starting from phthalic anhydride (**1**) and an appropriate amine (**2a–2i**). All compounds presented hypolipidemic activity, but compound **4d** proved to be the most active and reduced plasma cholesterol and triglyceride levels in Swiss white mice significantly.

© 2003 Published by Éditions scientifiques et médicales Elsevier SAS.

Keywords: *N*-Arylphthalimides; Hypolipidemic activity; Triglycerides; Cholesterol

1. Introduction

Phthalimide and *N*-substituted phthalimides are an interesting class of compounds because they possess important biological activities [1,2]. For the last two decades, these compounds have also attracted more attention due to their antihyperlipidemic activity, and the research in this area continues. Although there are several drugs, which reduce cholesterol and triglycerides in blood, it is imperative to find still more effective and nontoxic ones. With this idea in view, the present work was undertaken. *N*-substituted phthalimide derivatives were first examined by Chapman Jr et al. [3] in 1979 for their hypolipidemic activity and it was found that *N*-butyl- and *N*-pentylphthalimides were effective in reducing serum cholesterol levels by 46 and 42%, respectively. Two years later, Hall et al. [4] investigated 12 imide analogs and suggested that their ability to lower serum cholesterol should be related to phthalimides' effectiveness to suppress acetyl-CoA synthase activity. In other words, phthalimides are able to inhibit acetyl-

CoA carboxylase activity. In 1983, another publication appeared, where 10 *N*-arylphthalimides have been examined and the most potent product, *o*-(*N*-phthalimido)acetophenone, was shown to lower both serum cholesterol and triglyceride levels by 57 and 44% after 16 and 14 days of treatment, respectively [5]. It has also been shown that replacement of one of the oxygen atoms of the carbonyl groups by NH in phthalimide was effective in reducing serum cholesterol (44%); however, the hypotriglyceridemic activity of 3-iminophthalimidine was 15% lower than that of phthalimide itself [6].

Quantitative structure–activity relationships (QSAR) studies have also been carried out for phthalimide and *N*-arylphthalimides, and enhanced hypolipidemic activity has been predicted for certain phthalimides [7,8]. In 1996, Antunes and Srivastava [9] reported the synthesis and semi-empirical molecular orbital calculations of three new phthalimide derivatives, and predicted that these compounds might show antihyperlipidemic activity. Recently, the synthesis and hypolipidemic activity of five *N*-phthalimidomethyl glycosides have been reported from our laboratory [10].

Considering the growing importance of *N*-substituted derivatives of phthalimides, we decided to synthesize seven known *N*-arylphthalimides (**4a–4g**) and two new phthalimides (**4h** and **4i**). The structures of latter two

[☆] For analgesic effect of *N*-phthalimide derivatives, see Ref. [25].

* Corresponding author.

E-mail address: rms@ufpe.br (R.M. Srivastava).

compounds are given in Fig. 1. All of them were tested for their hypolipidemic properties because the literature does not record such evaluation of these compounds. Interestingly, the intermediates (**3a–3i**) cause hyperlipidemia and increase in animals' body weight [11], whereas phthalimides (**4a–4i**) possess hypolipidemic property. This paper, therefore, reports the synthesis and pharmacological tests of these *N*-substituted phthalimides. In fact, one of the compounds, **4d**, presented an excellent and quite promising hypolipidemic activity.

2. Experimental procedures

2.1. General

All compounds were checked for their structures by infrared (IR), UV, and ¹H NMR spectroscopy. Melting points were determined on a Tomas-Hoover capillary melting point apparatus and are uncorrected. UV spectra were registered with U-3200 Hitachi spectrophotometer. IR spectra were measured with a Bruker model IF S66 FTIR spectrophotometer using potassium bromide discs. NMR spectra were recorded in CDCl₃ (for compounds **4a–4g**) or DMSO-*d*₆ (for compounds **4h** and **4i**) using tetramethylsilane (TMS) as an internal standard, on a Varian Unity Plus 300 MHz spectrophotometer.

2.2. General procedure for the preparation of *N*-aryl- or *N*-heterocyclic phthalimides

Compounds **4a–4i** have been synthesized by mixing equimolar quantities of phthalic anhydride (**1**; 3.4 mmol) and a suitable substituted amine (**2b–2g**; 3.4 mmol), followed by refluxing in nitrobenzene for 45 min. After cooling, the compounds **4b–4g** were precipitated by the addition of excess *n*-hexane. Filtration and washing the solid with a small quantity of hexane provided the crude solid, which was crystallized from ethanol to provide pure compound in excellent yield. The compounds **4a**, **4h**, and **4i** in glacial acetic acid were stirred under reflux for 1 h and the solvent in each case was evaporated under reduced pressure to yield the crude product, which was recrystallized from acetone or acetic acid.

2.2.1. 2-Phenylisoindole-1,3-dione (**4a**)

99%, 210 °C (lit. [12]: 205.5–206 °C)—IR (KBr): 3031, 1770, 1711, 1594, 1466, 1452 cm⁻¹. UV (MeOH): λ_{max} 294 and 244 nm. ¹H NMR (CDCl₃): δ 7.95 (dd, 2H, *J* = 3.0 and *J* = 5.4 Hz, H-4 and H-7), 7.79 (dd, 2H, *J* = 3.0 and *J* = 5.4 Hz, H-5 and H-6), 7.52 (m, 2H, H-5' and H-3'), 7.47 (m, 2H, H-2' and H-6'), 7.40 (m, 1H, H-4') ppm.

2.2.2. 2-(2-Chlorophenyl)-isoindole-1,3-dione (**4b**)

73%, 143–143.6 °C (lit. [13]: 140 °C)—IR (KBr): 1745, 1711, 1588, 1526, 1486, 1469, 1440, 772, 748. UV (MeOH): λ_{max} 288 and 217 nm. ¹H NMR (CDCl₃): δ 8.00 (dd, 2H, *J* = 3.0 and *J* = 5.4 Hz, H-4 and H-7), 7.83 (dd, 2H, *J* = 3.0 and *J* = 5.4 Hz, H-5 and H-6), 7.58 (m, 1H, H-3'), 7.42–7.48 (m, 2H, H-5' and H-6'), 7.38 (m, 1H, H-4') ppm.

2.2.3. 2-(3-Chlorophenyl)-isoindole-1,3-dione (**4c**)

94%, 168.5–169 °C (lit. [14]: 166.8 °C)—IR (KBr): 1721, 1680, 1587, 1550, 1530, 1482, 1433, 774, 735, 684. UV (MeOH): λ_{max} 287 and 218 nm. ¹H NMR (CDCl₃): δ 7.98 (dd, 2H, *J* = 3.0 and *J* = 5.4 Hz, H-4 and H-7), 7.82 (dd, 2H, *J* = 3.0 and *J* = 5.4 Hz, H-5 and H-6), 7.35–7.41 (m, 3H, H-2', H-4' and H-6'), 7.43 (t, 1H, H-5') ppm.

2.2.4. 2-(4-Chlorophenyl)-isoindole-1,3-dione (**3d**)

99%, 200.6–201.2 °C (lit. [15]: 201–202 °C)—IR (KBr): 1787, 1712, 1610, 1554, 1495, 1388, 1280, 885, 851, 825. UV (MeOH): λ_{max} 288, 222, and 241 nm. ¹H NMR (CDCl₃): δ 7.97 (dd, 2H, *J* = 3.0 and *J* = 5.4 Hz, H-4 and H-7), 7.81 (dd, 2H, *J* = 3.0 and *J* = 5.4 Hz, H-5 and H-6), 7.49 (d, 2H, *J* = 9 Hz, H-3' and H-5', AA', and BB' system), 7.42 (d, 2H, *J* = 9.0 Hz, H-2' and H-6', AA'BB' system) ppm.

2.2.5. 2-(2-Fluorophenyl)-isoindole-1,3-dione (**4e**)

67%, 194–195 °C (lit. [16]: 192–193 °C)—IR (KBr): 1760, 1712, 1680, 1526, 1460, 1423, 1350, 1296, 1260, 988, 754, 727. UV (MeOH): λ_{max} 280 and 222 nm. ¹H NMR (CDCl₃): δ 7.97 (dd, 2H, *J* = 3.0 and *J* = 5.4 Hz, H-4 and H-7), 7.80 (dd, 2H, *J* = 3.0 and *J* = 5.4 Hz, H-5 and H-6), 7.20–7.50 (m, 4H, H-3', H-4', H-5', and H-6') ppm.

2.2.6. 2-(3-Fluorophenyl)-isoindole-1,3-dione (**4f**)

89%, 206–207 °C (lit. [16]: 200–201 °C)—IR (KBr): 1768, 1710, 1612, 1590, 1500, 1460, 1409, 1335, 1296, 1172, 981, 774, 728. UV (MeOH): λ_{max} 285 and 222 nm. ¹H NMR (CDCl₃): δ 7.96 (dd, 2H, *J* = 3.0 and *J* = 5.7 Hz, H-4 and H-7), 7.80 (dd, 2H, *J* = 3.0 and *J* = 5.7 Hz, H-5 and H-6), 7.47 (ddd, 1H, *J*_{5', 4'} = 8.1, *J*_{5', 6'} = 8.1, and *J*_{5', F} = 6.0 Hz, H-5'), 7.30 (ddd, 1H, *J*_{6', 5'} = 8.1, *J*_{6', 4'} = 0.9, and *J*_{6', 2'} = 2.1 Hz, H-6'), 7.24 (dt, 1H, *J*_{2', F} = 9.0, *J*_{2', 4'} = 2.4, and *J*_{2', 6'} = 2.4 Hz, H-2'), 7.11 (dddd, 1H, *J*_{4', F} = 8.4, *J*_{4', 5'} = 8.1, *J*_{4', 2'} = 2.4, and *J*_{4', 6'} = 0.9 Hz, H-4') ppm.

2.2.7. 2-(4-Fluorophenyl)-isoindole-1,3-dione (**4g**)

98%, 180.6–181.2 °C (lit. [17]: 180–181.5 °C)—IR (KBr): 1770, 1680, 1603, 1514, 1467, 1409, 1393, 886, 864, 725. UV (MeOH): λ_{max} 281 and 221 nm. ¹H NMR (CDCl₃): δ 7.95 (dd, 2H, *J* = 3.0 and *J* = 5.4 Hz, H-4 and H-7), 7.80 (dd, 2H, *J* = 3.0 and *J* = 5.4 Hz, H-5 and

H-6), 7.43 (m, 2H, H-2' and H-6'), 7.19 (m, 2H, H-3' and H-5') ppm.

2.2.8. 2-[1H-(1,2,4)Triazole-3-yl]-isoindole-1,3-dione (**4h**)

69%, 305–306 °C—IR (KBr): 3392 (>NH), 3063, 2855, 1792, 1770, 1744, 1526, 1492, 1466, 1374, 1353, 1118, 874, 719 cm⁻¹. UV (MeOH): λ_{\max} 273, 223, and 205 nm. ¹H NMR (DMSO-*d*₆): δ 8.68 (s, 1H, H-5'), 8.01 (m, 4H, H-6, H-5, H-4, and H-3) ppm, the NH proton was not visible in the spectrum. It is assumed that the same was present at δ 3.6 ppm along with the protons of the water molecule present in the solvent. Anal. Calc. for C₁₀H₆N₄O₂: C, 56.08; H, 2.82; N, 26.16. Found: C, 56.60; H, 3.00; N, 26.08%.

2.2.9. 2-([1,2,4]Triazole-4-yl)-isoindole-1,3-dione (**4i**)

75.4%, 269.7–270.4 °C—IR (KBr): 3107, 1730, 1686, 1560, 1444, 1368, 1346, 1287, 1200, 1173, 1116, 1079, 1052, 879, 704 cm⁻¹. UV (MeOH): λ_{\max} 275, 257, and 206 nm. ¹H NMR (DMSO-*d*₆): δ 8.72 (s, 2H, H-3', H-5'), 7.78–7.71 (m, 4H, H-7, H-6, H-5, and H-4) ppm. Anal. Calc. for C₁₀H₆N₄O₂: C, 56.08; H, 2.82; N, 26.16. Found: C, 56.39; H, 2.70; N, 26.25%.

2.3. Hypolipidemic activity

A suspension of **4a–4i** in 1% carboxymethylcellulose (CMC) was administered orally by an intubation needle to Swiss white mice for 16 days at a 20 mg/kg per day dose. This dose was chosen based on the previous experiments with the animals. Blood samples were collected after fasting the animals for 13 h and puncturing their retro-orbital plexus and withdrawing the blood directly into tubes containing a solution (1 mg/ml) of ethylenediaminetetraacetic acid disodium salt (EDTA) before and after 16 days of treatment, and the plasma was separated by centrifugation at 2500 × *g* for 10 min. The animals were weighed everyday during the treatment. Samples of plasma were used in duplicate to determine the plasma cholesterol and triglyceride levels by using enzymatic assay CHOD-PAP [18], using cholesterol esterase, cholesterol oxidase, and peroxidase contained in Merck test 1.14830.0001 Ecoline 25 reagents (diagnostica-Merck KGaA, Darmstadt, Germany), and GPO-PAP [19], using the enzymes lipase, glycerokinase, glycerol phosphate oxidase, and peroxidase as described in Merck test 1.19706.0001 System Multi-Test, respectively.

3. Results and discussion

3.1. Chemistry

N-Aryl- or *N*-(1,2,4-triazol-yl)-phthalimides (**4a–4i**; Scheme 1) were obtained by the reaction of phthalic anhydride (**1**) and an appropriate amine (**2a–2i**) following the procedure described earlier [20,21].

The ring opening took place by nucleophilic attack of the amine nitrogen atom on carbonyl carbon of phthalic anhydride with the formation of *N*-substituted phthalamic acids (**3a–3i**) as an intermediate which lose water under heating conditions to give products **4a–4i** (Scheme 1). The yields were between 69 and 99%.

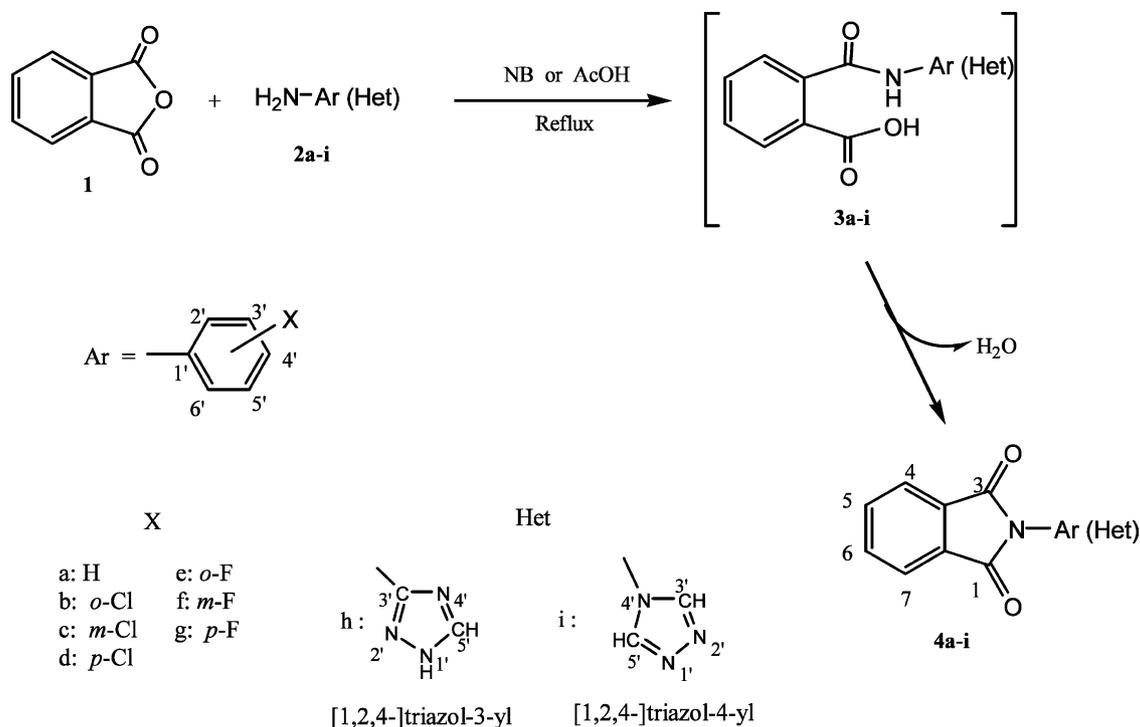
IR spectra of compounds **4a–4g** and **4i** did not absorb in the region 3100–3600 cm⁻¹ indicating the absence of –OH or –NH groups. The spectra of all compounds showed two strong absorptions around 1777 and 1711 cm⁻¹, the former and the latter absorptions are due to the asymmetric and symmetric stretching vibrations of the carbonyl groups present in the phthalimide ring. Similar absorptions have been reported for *N*-substituted phthalimides [22]. Compound **4h** (Fig. 1) exhibited an absorption characteristic to –NH group at 3392 cm⁻¹, and the absorptions between 1606 and 1527 cm⁻¹ which are due C=N and C=C groups.

UV spectra of these compounds exhibited absorptions in two main regions: the low-energy band between 274 and 288 nm (*n* → π^*) and the high-energy band between 205 and 241 nm corresponding to π → π^* transitions. Such absorptions have been observed for *N*-substituted alkylphthalimides [23].

The chemical shifts of *N*-(*o*-, *m*-, and *p*-chlorophenyl)phthalimides (**4b–4d**) have been assigned without any problem. However, it was initially difficult to locate the chemical shifts of the phenyl protons of **4e–4g** containing a fluorine atom. We had to carry out several NMR experiments to determine the chemical shifts of the protons in order to make the correct assignments except for the compound **4e** which is still being analyzed. Section 2 provides only the chemical shifts. The detailed NMR studies including J-resolved, irradiation, and C-13 experiments of **4e–4g** will be reported elsewhere in the future.

4. Pharmacological evaluations

Although several *N*-arylphthalimides have been evaluated for pharmacological activity [3], none of the present compounds **4a–4i** were evaluated for biological activity tests before. The literature [3] reports that *N*-*p*-carboxyphenylphthalimide is quite effective as a hypolipidemic agent causing the reduction of cholesterol and TG by 47 and 42%, respectively.



Scheme 1.

Compounds **4a–4i**, when tested for activity in Swiss white mice using 20 mg/kg per day, presented the reduction of plasma cholesterol and TG levels (Table 1). According to the literature [5], compound **4a** decreased cholesterol level by 43% after 16 days, whereas the triglycerides presented a reduction of 39% after 14 days. Our experiments show a lower diminution of cholesterol, but higher decrease in triglyceride levels (see Table 1). Among compounds tested, only *N*-(4-chlorophenyl)phthalimide (**4d**) presented significant hypolipidemic activity ($P < 0.05$), characterized by 63 and 47% decrease in cholesterol and TG levels, respectively (Table 1).

Although compounds **4b** and **4c** are less effective in diminishing plasma cholesterol levels (11 and 22%, respectively), they are much better in reducing TG (39 and 21%, respectively). Compounds containing fluorine atom in the phenyl ring, **4e–4g**, have also been found to reduce TG levels in plasma by 37, 38, and 50%, respectively. Phthalimides *N*-[3-chlorophenyl]phthalimide (**4c**) and *N*-[3-fluorophenyl]phthalimide (**4f**) are

similar in decreasing cholesterol concentration (22 and 20%, respectively). When a comparison of the biological activity of *p*-chloro and *p*-fluoro substituents in phenyl ring of compounds **4d** and **4g** was made, the *p*-chloro substituent proved to be approximately twice as effective as *p*-fluoro substituent. In fact, *N*-*o*-chloro- and *N*-*o*-fluorophenylphthalimides presented only little effects in terms of diminishing the cholesterol levels. When *N*-aryl groups of phthalimide was replaced by triazoles, the activity of compound **4g** was found to lower the serum cholesterol content by 40%, whereas **4i** was 50% less effective as hypocholesterolemic agent.

Under similar conditions as used for our compounds, we tested pravastatin (drug used commercially) and observed a 36% reduction in the cholesterol levels (3.3 ± 0.1 mmol/l before the treatment and 2.1 ± 0.05 mmol/l after the treatment, significant for $P < 0.001$). The animals also presented a reduction of 42% (0.89 ± 0.2 mmol/l before the treatment and 0.52 ± 0.09 mmol/l after the treatment) in TG levels being significant for $P < 0.001$. This is interesting because two of our compounds,

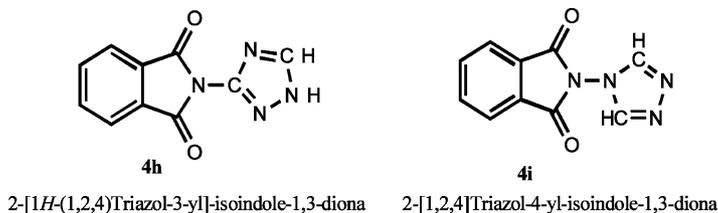
Fig. 1. Structures of compounds **4h** and **4i**.

Table 1
Effects of *N*-substituted phthalimides on mice plasma cholesterol and triglycerides levels

Comp.	Cholesterol (mmol/l)			Triglycerides (mmol/l)		
	Before	After	Reduction (%)	Before	After	Reduction (%)
4a	2.73±0.61	1.83±0.23 ^a	33	1.52±0.41	0.75±0.12 ^a	51
4b	2.10±0.55	1.86±0.50	11	1.14±0.43	0.69±0.18 ^a	40
4c	2.49±0.53	1.94±0.52	22	1.70±0.44	1.35±0.57 ^a	21
4d	3.18±1.32	1.19±0.65	63	1.54±0.46	0.81±0.37 ^b	47
4e	2.56±0.63	2.41±0.34	6	1.45±0.51	0.91±0.21	37
4f	2.01±0.63	1.60±0.30 ^a	24	0.78±0.33	0.48±0.14 ^a	39
4g	2.85±0.31	2.13±0.23	25	1.53±0.42	0.77±0.23 ^a	50
4h	3.13±0.56	1.87±0.37	40	1.88±0.10	1.60±0.03 ^a	15
4i	2.77±0.28	2.24±0.21 ^a	19	1.80±0.14	1.59±0.12	12
CMC ^c	2.04±0.31	2.09±0.23	3 ^d	1.01±0.31	0.98±0.15	2

Values represent the mean ± S.D. for six animals in each group.

^a Significant difference $P < 0.05$.

^b Significant difference $P < 0.005$.

^c Neither cholesterol nor triglycerides showed any significant reduction in their blood plasma.

^d In fact, the cholesterol level increased slightly.

viz. **4a** and **4h**, produced similar results as that of pravastatin. The literature also reports that *N*-phthalimidobutan-3-one reduces serum cholesterol level by 37% in 16 days [3]. There are other phthalimides which decrease this level still higher [5]. When we compare the results of compound **4d** with the results of pravastatin, we verified that compound **4d** presented antihypercholesterolemic activity (reduction of 63% in the cholesterol level) superior to pravastatin (36% reduction). However, this same compound presented hypotriglyceridemic activity (47% of reduction) similar to pravastatin (42%). Thus, it is clear that *para*-substituted *N*-phenyl- and *N*-(1,2,4)-triazole-3-yl-phthalimides are better in lowering the plasma cholesterol and TG levels. Our results clearly indicate the superiority of **4d** over the commercially available drug. Although it has not been proven experimentally, it is possible that the alterations found in the plasmatic TG levels can be due to the interference of those drugs in the enzymes that regulate the synthesis de novo of TG. Lamb et al. [24] demonstrated that a positive correlation exists among the inhibition in the activity of the enzyme regulators (glycerol-3-phosphate acyltransferase and phosphatidase phosphohydrolase) and the decrease in the levels of TG in the serum. Similar observation was found by Chapman and coworkers [4] for saccharin and phthalimide. It is interesting to note that changes in phenyl substitution of *N*-phenylphthalimide affect hypolipidemic activity.

4.1. Statistic

The results are expressed as the mean ± standard error and they were evaluated statistically using the paired Student's *t*-test and $P < 0.05$ as the criterion of statistical significance.

Acknowledgements

We thank Brazilian National Research Council (CNPq) and Pernambuco State Foundation for Science and Technology (FACEPE) for financial support.

References

- [1] L.M. Lima, P. Castro, A.L. Machado, C.A.M. Fraga, C. Lugnier, V.L.G. Moraes, E.J. Barreiro, *Bioorg. Med. Chem.* 10 (2002) 3067–3073.
- [2] A. Orzeszko, B. Kaminska, G. Orzesko, J. Starosciak, Synthesis and antimicrobial activity of new adamantane derivatives. II, *Farmaco* 55 (2000) 619–623.
- [3] J.M. Chapman, Jr., G.H. Cocolas, I.H. Hall, Hypolipidemic activity of phthalimide derivatives. 1. *N*-substituted phthalimide derivatives, *J. Med. Chem.* 22 (1979) 1399–1402.
- [4] I.H. Hall, J.M. Chapman, Jr., G.H. Cocolas, Effects of imide analogs on enzymes required for cholesterol and fatty acid synthesis, *J. Pharm. Sci.* 70 (1981) 321–328.
- [5] J.M. Chapman, Jr., P.J. Voorstad, G.H. Cocolas, I.H. Hall, Hypolipidemic activity of phthalimide derivatives. 2. *N*-Phenylphthalimide and derivatives, *J. Med. Chem.* 26 (1983) 237–243.
- [6] A.R. Murthy, O.T. Wong, D.J. Reynolds, I.H. Hall, Synthesis and hypolipidemic activity of 3-imino-1-oxoisindolines in rodents, *Pharm. Res.* 4 (1987) 21–27.
- [7] M.N. Ramos, B.d.B. Neto, Electronic structure and hypolipidemic activity of phthalimide and related compounds: a QSAR study, *J. Comput. Chem.* 11 (1990) 572–596.
- [8] M.D.C. Neto, W.C.P. Filho, B.B. Neto, The hypolipidemic activity of *N*-phenylphthalimide derivatives: a QSAR study, *J. Braz. Chem. Soc.* 4 (1993) 139–142.
- [9] R. Antunes, R.M. Srivastava, A new series of *N*-(3-phenyl-1,2,4-oxadiazol-5-yl)alkylphthalimides. I, *Heterocycl. Commun.* 2 (1996) 247–250.
- [10] R.M. Srivastava, F.J.S. Oliveira, L.P. Silva, J.R. de Freitas Filho, S.P. Oliveira, V.L.M. Lima, Synthesis and hypolipidemic activity of *N*-phthalimidomethyl tetra-*O*-acyl- α -D-mannopyranosides, *Carbohydr. Res.* 332 (2001) 335–340.

- [11] V.L.M. Sena, R.M. Srivastava, S.P. Oliveira, V.L.M. Lima, Microwave-assisted synthesis of *N*-arylphthalamic acids with hyperlipidemic activity, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 11 (2001) 2671–2674.
- [12] M.S. Khajavi, F. Nikpour, M. Hajihadi, Microwave irradiation promoted reactions of anhydrides with isocyanates. Preparation of *N*-substituted phthalimides, *J. Chem. Res. (S)* (1996) 96–97.
- [13] A.M. Khalil, I.I. Abdelgawad, M.H. El-Metwally, Synthesis of 2-aryl and 2-alkylthio-4-phthalyl-2-thiazolin-5-ones and their reactions with aromatic amines, *Indian J. Chem.* 51 (1977) 1029–1031.
- [14] A.F.M. Fahmy, N.F. Aly, M.H. Arief, Phthalimides: part II—synthesis and reactions of *N*-(arylcarbamoyloxy)phthalimides, *Indian J. Chem.* 16B (1978) 697–701.
- [15] A.F.M. Fahmy, N.F. Aly, M.O. Orabi, Phthalimides. III. Ammonolysis, hydrazinolysis, pyrolysis and action of Grignard reagents on phthalimide derivatives, *Bull. Chem. Soc. Jpn.* 51 (1978) 2148–2152.
- [16] G. Pagani, A.J. Buruffine, P. Borgana, G. Carcialanza, Acidi ftalamici variamente *N*-sostituiti, *Farmaco* 23 (1968) 448–457.
- [17] K. Suzuki, E.K. Weisburger, J.H. Weisburger, Derivatives of 3-fluorofluorene by the Pschorr synthesis, *J. Org. Chem.* 26 (1961) 2239–2273.
- [18] C.C. Allain, L.S. Poon, C.S. Chan, W. Richmond, P.C. Fu, Enzymatic determination of serum cholesterol, *Clin. Chem.* 20 (1974) 470–475.
- [19] M.W. McGrowan, J.D. Artiss, D.R. Strandberg, B. Zak, A peroxidase-coupled method for the colorimetric determination of serum triglycerides, *Clin. Chem.* 29 (1983) 538–542.
- [20] J. Demnitz, B.D.A. Monteiro, N.R. Mozart, R.M. Srivastava, Synthesis and mass spectral studies of *N*-arylphthalimides, *Heterocycl. Commun.* 3 (1997) 115–122.
- [21] M.R. Kanyonyo, J.H. Poupaert, P. Levêque, A. Gozzo, K. Van derpoorten, D.M. Lambert, O. Diouf, J. Vamecq, Reaction of aryl isothiocyanates with phthalic acid derivatives, *Bull. Soc. Chim. Belg.* 105 (1996) 55–56.
- [22] C. Fayat, A. Foucaud, Fréquences et intensités des bands d'absorption infrarouge des vibrations de valence des carbonyles. II. *N*-phénylphthalimides. Problème de la résonance de Fermi, *Bull. Soc. Chim. France* 5 (1970) 4501–4505.
- [23] J. Gawronski, F. Kazmierczak, K. Gawronska, U. Rychlewska, B. Nordén, A. Holmén, Excited states of the phthalimide chromophore and their exciton couplings: a tool for stereochemical assignments, *J. Am. Chem. Soc.* 120 (1998) 2083–2091.
- [24] R.G. Lamb, S.D. Wyrick, C. Piantadosi, Hypolipidemic activity of in vitro inhibitors of hepatic and intestinal *sn*-glycerol-3-phosphate acyltransferase and phosphatidate phosphohydrolase, *Atherosclerosis* 27 (1977) 147–154.
- [25] R. Antunes, H. Batista, R.M. Srivastava, G. Thomas, C.C. Araújo, R.L. Longo, H. Magalhães, M.B.C. Leão, A.C. Pavão, Synthesis, characterization and interaction mechanism of new oxadiazolo-phthalimides as peripheral analgesics. IV, *J. Mol. Struct.*, in press.



Pergamon

Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters 11 (2001) 2671–2674

BIOORGANIC &
MEDICINAL
CHEMISTRY
LETTERS

Microwave Assisted Synthesis of *N*-Arylphthalamic Acids with Hyperlipidemic Activity

Vera L. M. Sena,^a Rajendra M. Srivastava,^{a,*} Shalom P. Oliveira^b
and Vera L. M. Lima^b

^aDepartamento de Química Fundamental, Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), Av. Luis Freire, S/N, CEP 50.740-540, Recife, PE, Brazil

^bDepartamento de Bioquímica, Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), Av. Prof. Moraes Rego, S/N, Cidade Universitária, CEP 50.670-420, Recife, PE, Brazil

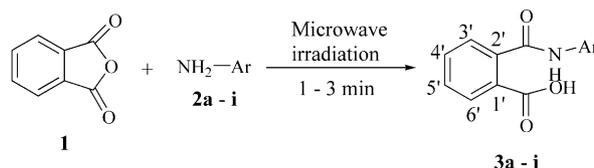
Received 12 March 2001; accepted 19 July 2001

Abstract—A series of substituted *N*-arylphthalamic acids **3a–i** has been synthesized by the reaction of phthalic anhydride **1** and aryl- or heterocyclic amines **2a–i**, in the absence of solvents, in a domestic microwave oven. The formation of nine *N*-arylphthalamic acids was accomplished in 1–3 min giving excellent yields for compounds **3a–g**, but moderate yield of compounds **3h** and **3i**, respectively. Compounds **3h** and **3i** are new. Interestingly, *N*-arylphthalamic acids **3a–i** induced hyperlipidemia in Swiss white mice and also increased animals' body weight. © 2001 Elsevier Science Ltd. All rights reserved.

Phthalamic acids are an interesting class of compounds due to their application and biological activities. For example, some phthalamic acids have negative geotropic effect in germinating roots.¹ The phyto tropin, *N*-(1-naphthyl)phthalamic acid, inhibits rooting if applied during the first three days after the cutting is made, but does not affect auxin concentration or metabolism at the rooting site.² It has also been shown that intravenous administration of *N*-benzylimidazole phthalamic acid decreases the blood pressure,³ and other phthalamic acids possess diuretic properties in rats.⁴ Phthalamic acids may be obtained by the ring-opening reaction of phthalic anhydride with amines by using conventional heating,^{1,5,6} which takes longer time and requires more laboratory work than by using the method described in this study. The use of microwaves has been reported for organic synthesis, in oxidation reactions,⁷ aromatic substitutions,⁸ *N*-alkylations,^{9,10} pericyclic reactions,^{11,12} and others,^{13–15} but very little work appeared about microwave-mediated synthesis of phthalamic acids. The literature cites two works where the anhydride rings were opened by such radiation. First, a review¹⁶ describes the application of microwave dielectric heating effects to synthetic problems in chemistry. In this report, a small section deals with the reac-

tion of benzophenone tetracarboxylic acid dianhydride (BTDA) with 3,3'-diaminodiphenylsulfone (DDS). Second, the synthesis of phthalimides by microwave irradiation of alkylamines with phthalic anhydride gave excellent yields, but in some cases, the yields were low because of the formation of phthalamic acids,¹⁷ although the major products were phthalimides. In this communication, we report a clean and practical synthesis of amic acids **3a–i** (Scheme 1), without any contamination of phthalimides. Besides this, we found an interesting pharmacological property of these acids **3a–i**, because they cause hyperlipidemia and an increase in animals' body weight.

The reaction for obtaining *N*-arylphthalamic acids is based on the principle that two solid reagents with low



Ar
a: Ph d: *p*-ClPh g: *p*-FPh
b: *o*-ClPh e: *o*-FPh h: *N*-[1H-(1,2,4)Triazol-3-yl]
c: *m*-ClPh f: *m*-FPh i: *N*-[1,2,4]Triazol-4-yl

Scheme 1.

*Corresponding author. Tel.: +55-81-3271-8440; fax: +55-81-3271-8442; e-mail: rms@npd.ufpe.br

Table 1. Reaction time, melting point and yield of compounds **3a–i**^a

Compd	MW reaction time (min)	Observed mp (°C)	Yield (%)	Conventional reaction time (min)	Phthalimide, correspondent mp (°C)	Lit.
3a ^a	1	206–206.6	99	240	205–207	1
3b ^b	2	135.2–136.1	88	180	140–142	1
3c ^b	2	158–157.8	96	180	163–164	1
3d ^b	2	194–195.6	95	180	194–196	1
3e ^b	2	140–140.4	88	180	184–186	1
3f ^b	2	203–203.3	91	180	200–201	1
3g ^b	2	183–184	94	180	180–182	1
3h ^c	3	305–307	51	—	—	This work
3i ^c	3	269.7–270.4	55	—	—	This work

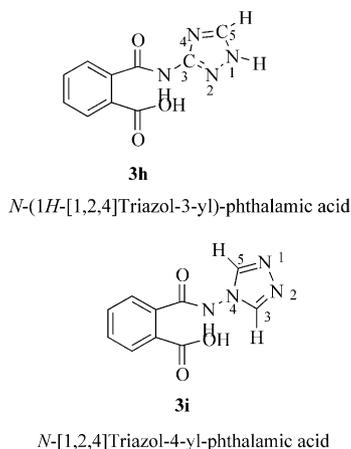
Solvent of crystallization: a = EtOH; b = CH₃COCH₃; c = MeOH.

^aThe melting points of phthalamic acids cannot be determined correctly because they cyclize on heating. Therefore, all melting points reported are close to their corresponding phthalimides.

melting points or a solid and a liquid reagent are able to melt rapidly, giving a polar liquid that is more prone to microwave absorption. In these conditions, the temperature can be around 135 °C and the reaction can occur when phthalic anhydride dissolves in amines.¹⁷ The acids (**3a–i**) were obtained by mixing an equimolar quantity of phthalic anhydride (1.35 mmol) and an appropriate aromatic amine (**2a–g**) or heterocyclic amine **2h** or **2i** (1.35 mmol). The mixture was heated for 1–3 min in a domestic microwave oven operating at 1350 W and 2450 MHz. Each amic acid was crystallized from an appropriate solvent. The beauty of the reaction is that it does not require any catalyst.

The ring opening occurs simply through the nucleophilic attack of the amine nitrogen atom on carbonyl carbon and the formation of arylphthalamic acids (Scheme 1). This way, nine *N*-arylphthalamic acids (**3a–i**) have been synthesized (Table 1),^{1,6} seven of them (**3a–g**) gave excellent yields (88–99%) and two of them (**3h** and **3i**) gave moderate yields (51 and 55%, respectively).¹⁸

To our knowledge, the last two compounds, namely, **3h** and **3i** (Fig. 1), have not been reported in the literature. All compounds were characterized by their infrared, ¹H NMR spectra, and elemental analysis. The infrared spectra of compounds **3a–i** exhibit absorptions between 3326 and 3265 cm⁻¹, which are characteristic of the NH group; two strong absorptions between 1720 and 1679

**Figure 1.**

are due to the stretching frequencies of carbonyl groups. The O–H stretching vibration appeared in the region 3000–2500 cm⁻¹. The ¹H NMR spectra of these compounds show interesting features, which allow the identification of the nature of the protons. The –OH protons of **3a–g** appeared between δ 10.5 and 9.3 ppm, but the OH protons of **3h** and **3i** absorbed between δ 14.65 and 12.00 ppm, respectively. A broad peak corresponding to NH proton showed up between δ 2.91 and 3.42 ppm for compounds **3a–g**. The amide proton of **3h** and **3i** presumably absorbed around δ 4.00 ppm, and NH of triazole ring appears to be in the aromatic region (δ 8.05 ppm) (Table 1). The aromatic protons of all compounds had correct integration. The H-5 of **3h** displayed a singlet at δ 8.74 ppm, whereas H-3 and H-5 of **3i** produced only one singlet at 8.66 ppm, respectively.

N-Arylphthalamic acids, as discussed above, possess hypotensive³ and diuretic⁴ effects, but there are no reports about their effects on lipid levels. However, phthalimide itself and *N*-arylphthalimides, cyclic products resulting from dehydration of *N*-arylphthalamic acids, have been reported to influence lipid metabolism reducing the plasma cholesterol and triglyceride levels in rodents,¹⁹ among other activities.^{20,21} We thought to examine these acids to find whether they also possess such activity, but to our surprise amic acids produced the opposite effect. When we evaluated the pharmacological activity of *N*-arylphthalamic acids (**3a–i**) in normolipidemic Swiss white male mice, treated with 20 mg/kg/day for 14 days, interestingly these amic acids significantly increased cholesterol, triglycerides, and animals' body weight (Table 2).

Intraperitoneal administration of a 1% solution of carboxymethylcellulose (CMC) to the animals during 14 days produced no significant changes in mice plasma cholesterol and triglyceride levels or body weight (Table 2). *N*-Phenylphthalamic acid (**3a**) caused a significant increase in plasma cholesterol and triglyceride levels by 13 and 22%, respectively, after 14 days of treatment. Substitution of the phenyl ring showed mixed results. The substitution of chlorine ring at *ortho*, *meta*, and *para* positions exhibited a significant increase in plasma cholesterol and triglyceride levels, where the *ortho* compound (**3b**) showed better activity, increasing cholesterol and triglyceride levels by 15 and 25%, respectively. In

Table 2. Effect of *N*-arylphthalamic acid treatment on mice plasma cholesterol and triglyceride levels

Compd	Cholesterol (mmol/L)		Triglycerides (mmol/L)		Weight (g)	
	Before	After	Before	After	Before	After
a	2.71±0.26	3.06±0.23*	1.07±0.16	1.30±0.24*	28±5.7	29±5.7
b	2.11±0.30	2.43±0.32*	1.06±0.30	1.32±0.31*	26±4.2	29±4.4*
c	2.17±0.43	2.48±0.54*	1.04±0.29	1.28±0.33*	24±5.1	28±5.7*
d	2.30±0.25	2.51±0.22*	0.86±0.20	1.06±0.22*	25±4.1	28±3.5
e	3.06±0.54	3.40±0.53*	0.94±0.26	1.23±0.27*	26±4.1	30±5.0*
f	3.02±0.57	3.28±0.54*	1.01±0.08	1.35±0.08*	26±2.3	29±2.9*
g	2.66±0.35	3.17±0.22*	1.26±0.12	1.48±0.10*	20±3.5	25±6.1*
h	2.45±0.22	2.78±0.25***	1.14±0.23	1.58±0.32**	35±0.0	38±0.83***
i	2.46±0.33	2.95±0.32***	1.12±0.17	1.49±0.26**	35±2.7	39±2.82***
CMC	2.32±0.41	2.30±0.40	1.09±0.12	1.09±0.12	29±1.7	30±1.0

Values represent the mean±SD for six animals in each group. Significant differences: * $p < 0.05$, ** $p < 0.005$ and *** $p < 0.001$.

the fluorophenyl series, *p*-fluorophenylphthalamic acid (**3g**) was found to be more active in increasing the cholesterol level; although *meta*-fluorophenylphthalamic acid (**3f**) has been less effective in terms of increasing cholesterol (9% elevation), it proved to be the most active in developing hypertriglyceridemia (34% increase). On the other hand, the new compound *N*-[1,2,4]triazol-4-yl-phthalamic acid (**3i**) afforded the best hypercholesterolemic activity (20% increase), whilst the best hypertriglyceridemic activity was found with compound *N*-(1*H*-[1,2,4]triazol-3-yl)phthalamic acid (**3h**) (39% increase). Except for the control group and compounds **3a** and **3d**, the mice body weight was significantly increased after 14 days of drugs' treatment (Table 2).

The preliminary results suggest that these drugs are able to develop hyperlipidemia in mice, which may be of interest for experimental purposes, like inducing hypercholesterolemia and hypertriglyceridemia in animals followed by testing of new hypolipidemic drugs. This is based on the fact that hyperlipidemic animal models have been largely used to study coronary artery disease, and it would be advantageous to test the biological effect of antihyperlipidemic drugs. It is important to mention that in recent years attempts to induce hyperlipidemia in various animals species have been partially successful using a variety of exogenous compounds, for example: administration of polychlorinated biphenyls,²² nicotine,²³ triton WR 1339 (a polyethylene ether of alkyl phenol),²⁴ among others,^{25,26} amic acids may also be worth investigating.

The compounds tested (**3a–i**) were suspended in 1% CMC and administered intraperitoneally to Swiss white mice; the groups contained six animals weighing about 26 g each for 14 days, at a dose of 20 mg/kg/day. The dose was chosen based on the previous experiments with the animals treated with phthalimides resulting from dehydration of phthalamic acids.²⁷ The animals were kept on fasting about 16 h before puncturing the retro-orbital plexus for blood collection. Blood samples were withdrawn into tubes containing ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA) disodium salt (1 mg/mL) before and after 14 days of treatment, and the plasma was separated by centrifugation at 2500g/min. The animals were weighed every day during the treatment.

Samples of plasma were used in duplicate to determine the plasma cholesterol and triglyceride levels by using enzymatic assay CHOD-PAP²⁸ (by the action of cholesterol esterase, cholesterol oxidase and peroxidase contained in Merck test 1.14830.0001), Ecoline 25 reagents (diagnostica-Merck KGaA, Darmstadt, Germany) and GPO-PAP²⁹ (by the enzymes lipase, glycerokinase, glycerol phosphate oxidase and peroxidase present in Merck test 1.19706.0001 System Multi-Test) according to the manufacturer's instructions, respectively.

The results are expressed as the mean±standard error and they were evaluated statistically using the paired Student *t*-test and $p < 0.05$ as the criterion of statistical significance.

Acknowledgements

We thank Brazilian National Research Council (CNPq) and Pernambuco State Foundation for Science and Technology (FACEPE) for financial support.

References and Notes

- Pagani, G.; Baruffini, A.; Borgna, P.; Caccialanza, G. *Il Farmaco* **1968**, *23*, 448.
- DiazSala, C.; Hutchison, K. W.; Goldfarb, B.; Greenwood, M. S. *Physiol. Plant.* **1996**, *97*, 481.
- Wexler, R. R.; Carini, D. J.; Duncia, J. V.; Johnson, A. L.; Wells, G. J.; Chiu, A. T.; Wong, P. C.; Timmermans, P. B. M. W. M. *Am. J. Hypert.* **1992**, *5*, 209.
- Braunlich, H.; Jordan, A.; Kersten, L.; Scheithauer, S.; Schiller, F.; Stolz, J.; Volkert, P. *Z. Klin. Med.* **1985**, *40*, 201.
- Khajavi, M. S.; Nikpour, F.; Hajihadi, M. *J. Chem. Res. (S)* **1996**, 96.
- Mochizuki, A.; Teranishi, T.; Ueda, M. *Polymer J.* **1994**, *26*, 315.
- Gedye, R.; Smith, F.; Westaway, K.; Humera, A.; Baldissera, L.; Laberge, L.; Roussel, J. *Tetrahedron Lett.* **1986**, *27*, 279.
- Yuan, Y. C.; Gao, D. B.; Jiang, Y. L. *Synth. Commun.* **1992**, *22*, 2117.
- Bogdall, D.; Pielichowski, J.; Borón, A. *Synlett* **1996**, 873.
- Borah, H. N.; Boruah, R. C.; Sandhu, J. S. *J. Chem. Res. (S)* **1998**, 272.

11. Srikrishna, A.; Nagaraju, S. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. I* **1992**, 311.
12. Diaz-Ortiz, A.; Diez-Barra, E.; de la Hoz, A.; Moreno, A.; Gómez-Escalonilla, M. J.; Loupy, A. *Heterocycles* **1996**, *45*, 1021.
13. Caddick, S. *Tetrahedron* **1995**, *51*, 10403.
14. Danks, T. N. *Tetrahedron Lett.* **1999**, *40*, 3957.
15. Laurent, R.; Laporteri, A.; Dubac, J.; Berlan, J. *Organometallics* **1994**, *13*, 2493.
16. Mingos, M. P.; Baghurst, D. R. *Chem. Soc. Rev.* **1991**, *20*, 1.
17. Vidal, T.; Petit, A.; Loupy, A.; Gedye, R. N. *Tetrahedron* **2000**, *56*, 5473.
18. Compound **3h** *N*-[1,2,4]triazol-3-yl]phthalamic acid: ^1H NMR (DMSO- d_6) δ 14.65 (1H, b, OH), 8.74 (1H, s, H-5), 8.05–7.96 (5H, m, H-6', H-5', H-4', H-3' and H-1); IR (KBr), 3265, 3136, 3006, 2652, 2526, 1698, 1586 cm^{-1} . Elemental analysis: calcd for $\text{C}_{10}\text{H}_8\text{O}_3\text{N}_4$ (232.197): C, 51.72; H, 3.47; N, 24.13; found: C, 51.60; H, 3.06; N, 25.08. Compound **3i** *N*-[1,2,4-triazol-4-yl]phthalamic acid: ^1H NMR (DMSO- d_6) δ 12.00 (1H, b, OH), 8.66 (2H, s, H-3 and H-5 Het), 8.01 (1H, d, H-6', $J=7.5$ Hz), 7.71–7.59 (3H, m, H-5', H-4', H-3'); IR (KBr), 3326, 3105, 3079, 2668, 2512, 1720, 1679, 1598, 1268, 1243, 1127, 1111, 1081 cm^{-1} ; calcd for $\text{C}_{10}\text{H}_8\text{O}_3\text{N}_4$ (232.197): C, 51.72; H, 3.47; N, 24.13; found: C, 51.37; H, 3.32; N, 24.17.
19. Chapman, J. M.; Voorstad, P. J.; Cocolas, G. H.; Hall, I. H. *J. Med. Chem.* **1983**, *26*, 243.
20. Antunes, R.; Batista, H.; Srivastava, R. M.; Thomas, G.; Araújo, C. C. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1998**, *8*, 3071.
21. Illey, J.; Calheiros, T.; Moreira, R. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1998**, *8*, 955.
22. Matsushita, O. H. N.; Hirabayashil, A.; Yoshida, A. *J. Nutr. Sci. Vitaminol.* **1990**, *36*, 117.
23. Frase, R.; Clark, S.; Day, W.; Murry, F. *Br. J. Exper. Pathol.* **1988**, *69*, 345.
24. Palmer, W. K.; Emerson, E. E.; Johnston, T. P. *Med. Sci. Sports Exercise* **1997**, *29*, 1416.
25. Gustafson, S.; Vahlquist, C.; Sjörloni, L.; Ekund, A.; Vahlquist, A. *J. Lip. Res.* **1990**, *31*, 183.
26. Cho, B.; Smith, T.; Park, J.; Kummerow, F. *Lipids* **1998**, *23*, 853.
27. Srivastava, R. M.; Oliveira, F. J. S.; Silva, L. P.; Freitas Filho, J. R.; Oliveira, S. P.; Lima, V. L. M. *Carbohydr. Res.* **2001**, *332*, 335.
28. Allain, C. C.; Poon, S. L.; Chan, C. S.; Richmond, W.; Fu, C. P. *Clin. Chem.* **1974**, *20*, 470.
29. McGrowan, M. W.; Artiss, J. D.; Strandberg, D. R.; Zac, B. *Clin. Chem.* **1983**, *29*, 538.

**VI PHARMATEC
(2001)**

BI-16 EVIDENCE FOR AN ANTI-INFLAMMATORY RESPONSE TO TREATMENT WITH A NEW PHTHALIMIDE DERIVATIVE *N*-(2-NITROPHENYL)-PHTHALIMIDE

S. P. Oliveira¹, V. L. M. Sena², M. T. J. A. Catanho³, R. M. Srivastava², M. N. Ramos² and V. L. M. Lima¹.

¹ Departamento de Bioquímica, Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), Av. Prof. Moraes Rego, S/N, Cidade Universitária, CEP 50.670-420. Recife, PE, Brazil.

² Departamento de Química Fundamental, Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), Av. Luis Freire, S/N, Cidade Universitária, CEP 50.740-540. Recife, PE, Brazil.

³ Departamento de Biofísica e Radiobiologia, Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), Av. Prof. Moraes Rego, S/N, Cidade Universitária, CEP 50.670-901. Recife, PE, Brazil.

Introduction

Phthalimide derivatives are an interesting class of compounds due to their biological activities, for example: anti-convulsant [1], antiviral [2], anti-inflammatory [3]. They also have been shown to be potent hypolipidemic agents in rodents [4, 5].

Phthalimide derivatives may be obtained by the reaction of phthalic anhydride with amines. Among the several methods used for screening and evaluation of anti-inflammatory drugs, one of the most commonly employed techniques is based upon the ability of such agents to inhibit the edema produced in the hind paw of the rodent by injecting an inflammatory agent [6]. The doses of anti-inflammatory drugs, which have been used to demonstrate inhibition of edema, are mostly within the toxic range [7].

The objective of this work was to evaluate whether *N*-(2-nitrophenyl)phthalimide, a new phthalimide derivative, has *in vivo* anti-inflammatory activity.

Experimental methods

• Animals

Young (three months old) male Swiss white mice, having 25 to 30 g body weight, were maintained with water and food (Labina - Agribands of the Brazil Ltda.) *ad libitum*. In the experiment 50 mice were split up into 5 groups of 10 animals.

• Drugs administration

The drugs used were phthalimide and *N*-(2-nitrophenyl)phthalimide. The compounds were suspended in 1% carboxymethylcellulose and administered intraperitoneally, in the morning [7], at a drug concentration of 20 mg/kg/day, for 16 days. Other group received 1% carboxymethylcellulose.

• Anti-inflammatory activity

A positive and negative anti-inflammatory tests were done in two groups by intraperitoneal administration

of 250 mg of aspirin (standard for pharmacological comparative tests [8]) and 0.9% of aqueous saline solution, respectively. The anti-inflammatory activity was determined by Levy's method [9]. 0.1 mL of 1% Carrageenin (Sigma, St. Louis, USA) in 0.9% NaCl was injected through the plantar tissue of the right hind paw of each mouse to produce inflammation. After four hours their paws were cut and weighted. The results were analysed according to percentage of the reduction of inflammation, as described earlier [10].

• Statistics

The results are expressed as mean \pm S.D., and the significance of the difference between the control and test groups was evaluated by the Student 't' test for independent samples. In all cases, $p \leq 0.05$ was used as the criterion of statistic significance.

Results and discussion

Phthalimide reduced by 12% the carrageenin-induced edema in Swiss white mice when compared to the control group, but this effect was not significant (Figure 1). However, when the hydrogen atom was substituted by a nitro group in the *ortho* position of the phenyl ring and resulted in the compound *N*-(2-nitrophenyl)phthalimide, the anti-inflammatory activity increased by 52%, and it was significantly ($p \leq 0.05$) different from the groups with saline and carboxymethylcellulose (Figure 1). Furthermore, the anti-inflammatory effect of *N*-(2-nitrophenyl)phthalimide was similar to that obtained with aspirin (Figure 1). Our results were similar to previous reports in which other compounds, such as oxadiazole, acid-3-[3-(phenyl)-1, 2, 4, oxadiazole-5-yl] propionic, demonstrated anti-inflammatory activity, the edema in rodents was reduced by 43% at dose of 75 mg/kg [11].

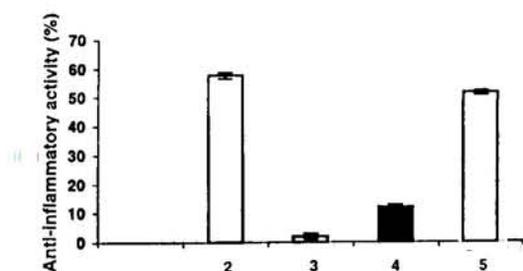


Figure 1. Anti-inflammatory effect of the phthalimide and *N*-(2-nitrophenyl)phthalimide in Swiss white mice after treatment with 1% carrageenin in 0.9% NaCl. 1, 0.9% NaCl; 2, aspirin; 3, 1% carboxymethylcellulose; 4, phthalimide; 5, *N*-(2-nitrophenyl)phthalimide.

Conclusion

This study showed that the new phthalimide derivative, *N*-(2-nitrophenyl)phthalimide was able to reduce the carrageenin-induced edema in mice. Therefore, it may offer a good future promise as a new anti-inflammatory agent.

Acknowledgements

We thank Brazilian National Research Council (CNPq), Pernambuco State Foundation for Science and Tecnology (FACEPE) and CTPETRO for financial support.

References

- [1] V. Bailleux, L. Vallée, J. P. Nuyts and J. Vamecq
Anti-convulsant activity of some 4-amino-*N*-phenylphthalimides and *N*-(3-amino-2-methylphenyl)phthalimides.
Biomed. & Pharmacother. **48**: 95-101 (1994).
- [2] J. M. Hoffman, J. S. Wai, C. M. Thomas, R. B. Levin, J. A. O'Brien and M. E. Goldman.
Synthesis and Evaluation of 2-Pyridinone Derivatives as HIV-1 Specific Reverse Transcriptase Inhibitors. 1. Phthalimidoalkyl and -alkylamino Analogues.
J. Med. Chem. **35**: 3784-3791 (1992).
- [3] G. W. Muller, G. L. Corral, M. G. Shire, H. Wang, A. Moreira, G. Caplan and D. I. Stirling.
J. Med. Chem. **29**: 3238 (1996).
- [4] I. H. Hall, J. M. Chapman, P. José Voorstad and G. G. H. Cocolas.
Hypolipidemic Activity of 3-*N*-(1'8'-Naphthalimido propionic Acid in Rodents.
Journal of Pharmaceutical Sciences **73**: 956-961 (1984).
- [5] R. M. Srivastava, F. J. S. Oliveira, L. P. Silva, J. R. Freitas Filho, S. P. Oliveira and V. L. M. Lima.
Synthesis and hypolipidemic activity of phthalimidomethyl tetra-*o*-acyl- α -D-mannopyranosides. IV.
Carbohydr. Res. **332** 335-340 (2001)
- [6] R. M. Srivastava, L. P. F. Morais, M. T. J. A. Catanho, G. M. L. Souza, G. M. Scabra, A. M. Simas and M. A. L. Rodrigues.
Synthesis and Anti-inflammatory Activity of 3-Aryl-5-isopropyl-1,2,4-Oxadiazoles.
Heterocyclic. Communciations **6**: 41-48 (2000).
- [7] C. A. Winter, E. A. Risley and G. W. Nuss.
Carrageenin – Induced Edema in Hind Paw of the Rat as an Assay of Anti-inflammatory Drugs.
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. **111**: 544-547 (1962).
- [8] P. A. Insel, in: Goodman and Gilman's. *The Pharmacological Basis of Therapeutics*, J. G. Hardman, P. B. Molinoff. R. W. Ruddon and A. G. Gilman. Eds., 9th International Edition, McGraw-Hill, New York, NY, 625-631 (1996).
- [9] L. Levy, *Life Sci.*, **8**, 601 (1969).
- [10] R. M. Srivastava, Lécia P. F. de Morais, Maria T. J. A. Catanho, Grace M. L. de Souza, G. M. Scabra, Alfredo M. Simas, Marcos A. L. Rodrigues.
Synthesis and Antiinflammatory Activity of 3-Aryl-5-Isopropyl-1,2,4-Oxadiazoles.
Heterocyclic Communciations **6**: 41-48 (2000).
- [11] R. M. Srivastava, M. B. A. B. Viana and L. Bieber.
Synthesis of 3-[(Aryl)-1,2,4-oxadiazolyl] propionic Acids.
J. Heterocyclic Chem. **21**: 1193-1195 (1984)

BIOTEC
(2001)

ATIVIDADE ANTINFLAMATÓRIA *IN VIVO* DE NOVOS DERIVADOS DA FTALIMIDA

Shalom P. Oliveira¹, Vera L. M. Sena², Maria T. J. A. Catanho³, Rajendra M. Srivastava² and Vera L. M. Lima¹.

¹ Departamento de Bioquímica, Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), Av. Prof. Moraes Rego, S/N, Cidade Universitária, CEP 50.670-420. Recife, PE, Brasil.

² Departamento de Química Fundamental, (UFPE), Av. Luis Freire, S/N, Cidade Universitária, CEP 50.740-540. Recife, PE, Brasil.

³ Departamento de Biofísica e Radiobiologia, (UFPE), Av. Prof. Moraes Rego, S/N, Cidade Universitária, CEP 50.670-901. Recife, PE, Brasil.

Resumo

Alguns análogos da ftalimida têm mostrado várias atividades biológicas em roedores. Estudos prévios, do nosso laboratório mostraram que um derivado da ftalimida, *N*-(2-nitrofenil)ftalimida, quando administrado numa concentração de 20 mg/Kg/dia, durante 16 dias reduziu o edema produzido pela Carragenina. No presente trabalho, nós avaliamos, *in vivo*, a atividade antinflamatória aguda de novos derivados da ftalimida, fenilftalimida, *N*-(2-nitrofenil)ftalimida, *N*-(4-nitrofenil)ftalimida, *N*-(4-bromofenil)ftalimida e *N*-(4-clorofenil)ftalimida. Foi injetada a Carragenina 1% em todos os animais no tecido plantar da pata traseira esquerda e após 30 minutos foram administrados os compostos, ftalimida, fenilftalimida, *N*-(2-nitrofenil)ftalimida, *N*-(4-nitrofenil)ftalimida, *N*-(4-bromofenil)ftalimida e *N*-(4-clorofenil)ftalimida. Todos os compostos foram suspensos em carboximetilcelulose 1% e administrados intraperitonealmente na concentração de 250 mg/Kg. Após quatro horas da administração dos compostos as patas traseiras esquerdas dos animais foram cortadas e pesadas para realização da análise estatística. As drogas *N*-(4-nitrofenil)ftalimida e *N*-(4-bromofenil)ftalimida reduziram significativamente ($p < 0,05$), em 18%, o edema promovido pela Carragenina. Por outro lado, as drogas ftalimida *N*-(4-clorofenil)ftalimida e *N*-(2-nitrofenil) mostraram uma atividade antinflamatória altamente significativa ($p < 0,001$), reduzindo o edema produzido pela Carragenina em 32% e 64%, respectivamente. *N*-(2-nitrofenil)ftalimida mostrou uma atividade antinflamatória melhor que a aspirina (58%) na mesma concentração. Os resultados mostraram que os novos derivados da ftalimida possuem atividade antinflamatória, dos quais o *N*-(2-nitrofenil)ftalimida apresentou o melhor efeito antinflamatório.

Palavras-chave: derivados da ftalimida, Carragenina, carboximetilcelulose, atividade antinflamatória, aspirina.

INTRODUÇÃO

Derivados da ftalimida são interessantes compostos por possuírem importantes atividades biológicas, por exemplo: anticonvulsivante [1], antiviral [2], antinflamatória [3]. Alguns deles têm mostrado ser potentes agentes hipolipidêmicos em roedores [4, 5].

Derivados da ftalimida podem ser obtidos por síntese orgânica através de reação do anidrido ftálico com aminas.

A maioria dos métodos usados para avaliar a atividade de drogas anti-inflamatórias são baseados na habilidade desses compostos em inibir o edema produzido em patas de roedores por injeção de um agente inflamatório [6]. As doses de drogas anti-inflamatórias, as quais têm sido usadas para determinar inibição de edema são geralmente dentro de uma faixa tóxica [7]. Este trabalho teve por objetivo avaliar se *N*-(4-bromofenil)ftalimida, *N*-(4-clorofenil)ftalimida, *N*-(2-nitrofenil)ftalimida e *N*-(4-nitrofenil)ftalimida têm, *in vivo*, atividade anti-inflamatória.

MATERIAIS E MÉTODOS

Animais

Camundongos albinos suíços machos, com três meses de idade, com peso corpóreo na faixa de 25 a 30 g, foram mantidos com água e comida (Labina – Brasil Ltda.) *ad libitum*. Para o experimento foram usados 45 camundongos divididos em 9 grupos de 5 animais.

Determinação da atividade anti-inflamatória aguda

A atividade anti-inflamatória foi determinada pelo método de Levy's [8]. 0,1 mL de Carragenina 1% (Sigma, St. Louis, USA) em 0,9% NaCl foi injetado através do tecido plantar da pata traseira esquerda de cada camundongo para produção da inflamação. Após 30 minutos foram administrados via intraperitoneal a cada grupo de animais os compostos ftalimida, fenilftalimida, *N*-(4-bromofenil)ftalimida, *N*-(4-clorofenil)ftalimida, *N*-(2-nitrofenil)ftalimida e *N*-(4-nitrofenil)ftalimida, preparadas em carboximetilcelulose 1% na concentração de 250 mg/Kg de peso do animal. Outro grupo recebeu carboximetilcelulose 1%. Os testes anti-inflamatórios positivo e negativo foram feitos, com dois grupos, por administração intraperitoneal de 250 mg/Kg de aspirina [9] e 0,9% de solução salina, respectivamente. Depois de quatro horas as patas foram cortadas e pesadas. Os resultados foram analisados de acordo com o percentual de redução da inflamação [10].

Análise estatística

Os resultados foram expressados em média \pm S.D. A significância da diferença entre grupo controle negativo e o grupo teste foi avaliada pelo test 't' de *Student* para amostras independentes e $p < 0,05$ foi usado como critério de significância.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Ftalimida e fenilftalimida reduziram em 18% o edema induzido pela Carragenina em camundongos albinos suíços, quando comparado com o grupo controle. Essa redução do edema foi significativa ($p < 0,05$) (Figura 1). Redução similar do edema (18%) foi observada com administração de dois derivados da fenilftalimida, *N*-(4-nitrofenil)ftalimida (Figura 1) e *N*-(4-bromofenil)ftalimida (Figura 1). O composto que teve o átomo de hidrogênio, sendo substituído pelo átomo de cloro na posição *para* do anel fenil, ou seja, o *N*-(4-clorofenil)ftalimida apresentou atividade antiinflamatória maior do que aqueles com substituição por átomo de bromo ou grupo nitro, com significativa redução do edema em 32% (Figura 1), quando comparado com o grupo controle e com o grupo que recebeu carboximetilcelulose. Contudo, quando o átomo de hidrogênio foi substituído pelo grupo nitro na posição *ortho* do anel fenil e resultou no composto *N*-(2-nitrofenil)ftalimida, a atividade antiinflamatória aumentou para 64% (Figura 1), e foi altamente significativa ($p < 0,001$) diferente dos grupos com salina ou com carboximetilcelulose (Figure 1). Considerando a redução do edema apresentada pela aspirina (58%), o efeito antiinflamatório observado quando da administração de *N*-(2-nitrofenil)ftalimida foi 64% superior daquele obtido com a aspirina. Este estudo indica que os novos derivados da ftalimida, *N*-(4-bromofenil)ftalimida, *N*-(4-clorofenil)ftalimida, *N*-(2-nitrofenil)ftalimida e *N*-(4-nitrofenil)ftalimida foram capazes de reduzir o edema induzido pela Carragenina em camundongos.

Por muitos anos pesquisadores têm procurado por compostos com propriedades antiinflamatórias. Drogas antiinflamatórias não esteroidais têm sido objetivo de intensa pesquisa na procura de drogas com menos efeitos tóxicos. Muitas dessas drogas têm propriedades [9], por exemplo, derivados do ácido salicílico, derivados do *para*-aminofenol, indol e ácidos arilpropiónicos (Ibuprofen). Um ácido propiónico, 3-[3-(fenil)-1, 2, 4-oxadiazol-5-il]ácido propiónico (POPA) mostrou esta propriedade [11]. Derivado da ftalimida em uma pesquisa da literatura revelou que talidomida foi efetivo para o

tratamento de eritema leproso nodoso, uma manifestação inflamatória [12, 13]. Recentemente, talidomida foi encontrada, exercendo efeitos imunomodulatório e antiinflamatório [14]. As drogas antiinflamatórias não esteroidais inibem a enzima cicloxigenase que é responsável pela metabolização ácido araquidônico para prostaglandinas, as quais causam inflamação e dor.

Aparentemente, a *N*-(2-nitrofenil)ftalimida parece ter melhor atividade antiinflamatória do que a aspirina. Esses compostos, obtidos por síntese orgânica, poderão vir a ter um futuro promissor como novos agentes antiinflamatórios.

REFERÊNCIAS

- [1] BAILLEUX, V., VALLÉE, L., NUYTS J. P. AND VAMEEQ J.; Anti-convulsant activity of some 4-amino-*N*-phenylphthalimides and *N*-(3-amino-2-methylphenyl)phthalimides. *Biomed & Pharmacother*; v. 48, p. 95-101, 1994.
- [2] HOFFMAN J. M., WAI J. S., THOMAS C. M., LEVIN R. B., O'BRIEN J. A. AND GOLDMAN M. E.; Synthesis and Evaluation of 2-Pyridinone Derivatives as HIV-1 Specific Reverse Transcriptase Inhibitors. I. Phthalimidoalkyl and -alkylamino Analogues. *J. Med Chem.* v. 35, p. 3784-3791, 1992.
- [3] MULLER G. W., CORRAL G. L., SHIRE M. G., WANG H., MOREIRA A., CAPLAN G. AND STIRLING D. I.; *J. Med. Chem.* v. 29, p. 3238, 1996.
- [4] HALL I. H., CHAPMAN J. M., JOSEÉ VOORSTAD P. AND COCOLAS G. G. H.; Hypolipidemic Activity of 3-*N*-(1'8'- Naphthalimido propionic Acid in Rodents. *Journal of Pharmaceutical Sciences.* v. 73, p. 956-961, 1984.
- [5] SRIVASTAVA R. M., OLIVEIRA F. J. S., SILVA L. P., FREITAS FILHO J. R., OLIVEIRA S. P. AND LIMA V. L. M.; Synthesis and hypolipidemic activity of phthalimidomethyl tetra-*o*-acyl- α -D-mannopyranosides. IV. *Carbohydr. Res.* v. 332, p. 335-340, 2001.
- [6] SRIVASTAVA R. M., MORAIS L. P. F., CATANHO M. T. J. A., SOUZA G. M. L., SEABRA G. M., SIMAS A. M. AND RODRIGUES M. A. L.; Synthesis and Anti-inflammatory Activity of 3- Aryl-5-isopropyl-1,2,4-Oxadiazoles. *Heterocyclic Communciations.* v. 6, p. 41-48, 2000.
- [7] WINTER C. A., RISLEY E. A. AND NUSS G. W.. Carrageenin - Induced Edema in Hind Paw of the Rat as an Assay of Anti-inflammatory Drugs. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* v. 111, p. 544-547, 1962.
- [8] LEVY L.; *Life Sci.* v. 8, p. 601, 1969.
- [9] P. A. Insel, in: Goodman and Gilman's. The Pharmacological Basis of Therapeutics, J. G. Hardman, P. B. Molinoff, R. W. Ruddon and A. G. Gilman. Eds., 9th International Edition, McGraw-Hill, New York, NY, p. 625-631, 1996.
- [10] SRIVASTAVA R. M., LÉCIA P. F. DE MORAIS, MARIA T. J. A. CATANHO, GRACE M. L. DE SOUZA, G. M. SEABRA, ALFREDO M. SIMAS, MARCOS A. L. RODRIGUES.; Synthesis and Antiinflammatory Activity of 3-Aryl-5-Isopropyl-1,2,4-Oxadiazoles. *Heterocyclic Communciations.* v. 6, p. 41-48, 2000.

- [11] AFIATPOUR, P., SRIVASTAVA, R. M., DE OLIVEIRA, M. L., BARREIRO, E. J. *Braz. J. Méd. Biol. Res.* v. 27, p. 1403, 1994.
- [12] SHESKIN, J. *Clin. Pharmacol. Ther.* v. 6, p. 303, 1965.
- [13] (a) HENDLER, S. S., MCCARTHY, M. F. *Med. Hypotheses.* v. 10, p. 437, 1983. (b) CRAWFORD, C. L. *Adverse Drug React. Toxicol. Rev.* v. 13, p. 177, 1994.
- [14] (a) GUTIERREZ-RODRIGUEZ, O. *Arthritis Rheum.* v. 27, p. 1118, 1984. (b) PETERSON, D. L., GEORGHION, P. R., ALLWORTH, A. M., KEMP, R. J. *Infection Clin. Infect. Dis.* v. 20, p. 250, 1995. (c) KLAUSNER, J., MAKONKAWKEYOON, S., AKARASEWI, P., NAKATA, K., KARINRERK, W., CORRAL, L., DEWAR, R., LANE, C., FREEDMAM, V., KAPLAN, G. *J. Acquired Immune Defic. Syndr.* v. 11, p. 247, 1996.

AGRADECIMENTOS

Nós agradecemos ao Conselho Nacional de Pesquisa (CNPq), Fundação de Amparo a Ciência e a Tecnologia (FACEPE), FINEP/CTPETRO por seus suportes financeiros.

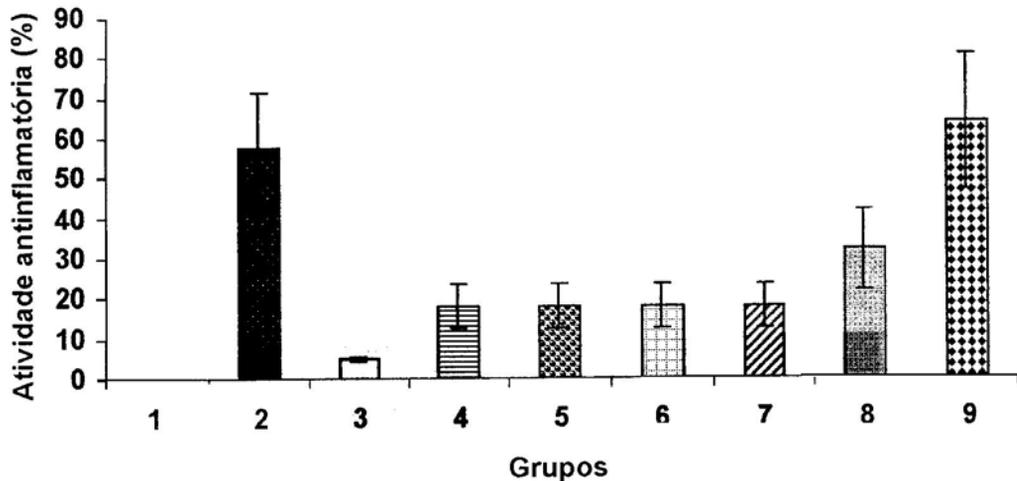


Figura Efeito antiinflamatório da ftalimida e derivados, fenilftalimida, *N*-(4-nitrofenil)ftalimida, *N*-(4-bromofenil)ftalimida, *N*-(4-clorofenil)ftalimida e *N*-(2-nitrofenil)ftalimida em camundongos albinos suíços após tratamento com Carragenina 1% em 0,9% NaCl. 1, 0,9% NaCl; 2, Aspirina; 3, carboximetilcelulose 1%; 4, ftalimida; 5, fenilftalimida; 6, *N*-(4-nitrofenil)ftalimida; 7, *N*-(4-bromofenil)ftalimida; 8, *N*-(4-clorofenil)ftalimida; 9, *N*-(2-nitrofenil)ftalimida.

**RESUMOS PUBLICADOS EM ANAIS
DE
CONGRESSOS**

Sociedade Brasileira de Bioquímica e Biologia Molecular – SBBq

Programa e Resumos da XXXI Reunião Anual

Hotel Glória
Caxambu, MG
18 a 21 de maio de 2002

Sociedade Brasileira de Bioquímica e Biologia Molecular – SBBq

Programa e Resumos da XXX Reunião Anual

Hotel Glória
Caxambu, MG
19 a 22 de maio de 2001

Mecanismo de Ação de Drogas

P - 01

ANTITHROMBOTIC ACTIVITY OF GLYCYRRHIZIN

Mendes-Silva, W., Assafim, M.I.D.A., Monteiro, R.Q. and Zingali, R. B. Lab. Hemostase e Venenos, Dept. Bioquímica Médica, ICB/CES. Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brasil

Background Glycyrrhizin (GL), a glycoside of glycyrrhetic acid extracted from the root of *Glycyrriza glabra*, is one of the most commonly used herbal drugs in traditional Chinese prescriptions. GL has been used in the treatment of chronic hepatitis, allergic disorders, inflammation and gastric ulcers. Recently it has been reported the inhibitory effects of GL upon thrombin *in vitro* (Franciscetti, I.M.B. et al, 1997). Here we report the *in vivo* effects of GL in thrombus formation, activated partial thromboplastin time (APTT) and bleeding time.

Methods and results In the first model used, deep vein thrombosis, thrombus is induced by ligating the inferior vena cava (VCI) after administration of GL. Our results showed that GL is able to inhibit thrombus formation at all doses tested (30, 90, 120, 180 and 360 mg/kg), reaching the complete inhibition at 180 mg/kg. In the second model, GL was injected and APTT was measured thereafter. This assay did not detect any significant alterations in APTT, except at 360 mg/kg when it was observed a four time increase. In the bleeding time, after cutting the distal part of the tail, it was placed into a cylinder with PBS at room temperature for 1 h. Then blood sample is measured by optic density at 540 nm. Preliminary results showed that GL was able to increase the bleeding time in rat models.

Conclusions GL has a dose-dependent antithrombotic effect *in vivo*. In spite of GL not altering APTT in most of the doses used, it interfered in the bleeding time. Since GL was reported as a thrombin inhibitor, these *in vivo* effects could be due to its binding to thrombin and therefore affects inhibition of platelet aggregation.

Financial support: CNPq, CEE, Finep and FAPERJ

P - 03

EFFECT OF N-ARYLPHTHALAMIC ACIDS IN PLASMA CHOLESTEROL AND TRIGLYCERIDE CONCENTRATIONS.

Sena, Vera L. M.¹, Oliveira, Shalom P.², Coelho, Leiliane C. S.¹, Srivastava, Rajendra M.¹ and Lima, Vera L. M.²
¹Departamento de Química Fundamental, CCEN - UFPE, Cidade Universitária, CEP 50.670-420, Recife - PE - Brazil. ²Departamento de Bioquímica, CCB - UFPE, Cidade Universitária, Recife - PE - Brazil.

Development of hyperlipidemia in animal model is of high priority in the study of coronary arterial disease. In recent years, several exogenous compounds, for example, polychlorinated biphenyls, nicotine, copper and triton WR-1339, have been shown as partially successful hyperlipidemic agents. In this work, we have evaluated the effect of N-arylpthalamic acids in plasma cholesterol and triglyceride levels in mice. Groups of 10 Swiss white mice were treated with chemically synthesized halogenated N-arylpthalamic acids (ortho-chlorophenylphthalamic, meta-chlorophenylphthalamic, para-chlorophenylphthalamic, ortho-fluorophenylphthalamic, meta-fluorophenylphthalamic and para-fluorophenylphthalamic acids, as well as phenylphthalamic acid) for 14 days at a concentration of 20 mg/kg/day. Blood samples were collected before and after the treatment and centrifuged at 2500 x g for cholesterol and triglyceride measurements. Substitution of the hydrogen atom by chlorine at ortho, meta and para positions of the phenyl ring showed a significant increase in plasma cholesterol and triglyceride levels; the more active of this series was the ortho compound, which increased the concentration of cholesterol and triglycerides by 15 % and 25 %, respectively. In the fluorine series, the para-fluorophenylphthalamic acid showed to be the most active, increasing cholesterol level by 20 %. Although the meta-fluorophenylphthalamic acid was not able to induce hypercholesterolemia, it was the most active in developing hypertriglyceridemia, the mice plasma triglycerides level was significantly increased by about 34 %. The current results demonstrate that arylphthalamic acids are able to induce hyperlipidemia, therefore these may be employed initially as agents for increasing lipid levels followed by testing with other new hyperlipidemic agents.

Work supported by CNPq, FACEPE and FINEP.

P - 05

CYTOTOXIC ACTIVITY STUDY OF THE COMPOUNDS OF RUTHENIUM ON THE NEOPLASICS CELLS.

Silveira, E.P., Junior, S.V.; Pavanini, L.A.; Goulart, G.L.R.; Homs-Brandeburgo, M.I.; Szulim, Z.; Hamaguchi, A.
Instituto de Genética e Bioquímica e Instituto de Química - Universidade Federal de Uberlândia, MG

Several studies have indicated that cytotoxic chemotherapeutic drugs induce cell death by apoptosis. In the present study, we first characterized the activity of ruthenium complex $[Cis - [Ru(NH_3)_4Cl_2]Cl]$ on Jurkat cells (lymphocytic T cell line). The new compound was synthesized by the Institut de Chemistry. All these cells were maintained in RPMI medium supplemented with 10% fetal calf serum. The cells were distributed in culture plates with 5.0×10^5 cells/mL in each well. Except the control group, 20 mg/mL, 10 mg/mL, 5 mg/mL, 2.5 mg/mL, 1.25 mg/mL and 0.625 mg/mL of the compound were respectively added in 6 wells. After 24 hours of incubation at 37°C and 5% CO₂ cells were harvested, centrifugated, resuspended in PBS (phosphate saline buffer) and stained with trypan blue for light microscopic reading. Apoptosis was confirmed by DNA gel electrophoresis. Electrophoresis was carried out in 2% agarose gel and ethidium bromide staining and UV light visualized the DNA. Apoptosis and cell cycle perturbations were measured by flow cytometry. The DNA content was measured by a Reticon Diaplan FACScalibur flow-cytometer. The Compounds of Ruthenium was cytotoxic for the Jurkat cells. The concentration of 20 mg/mL and 10 mg/mL were lethal (100% death) and DL50 was about 2.5 mg/mL. Our results demonstrated that the effects of the compound of ruthenium induce cell death by apoptosis. The Kruskal-Wallis test with multiple comparisons showed that the drug induced cell death by apoptosis and diminished cell cycle phases on cell line tested. The action of mechanism of the ruthenium drug is still largely unknown, but the presence of relevant cytotoxicity suggests that DNA might be one of its primary targets.

P - 02

EFFECT OF PENTOXIFYLLINE ON LIPID METABOLISM OF LIVER CONNECTIVE TISSUE CELL (GRX CELL LINE) Cruz, L. A.; Paviane, E. R.; Cardoso, C. A.; Guma, F. C. R.; Guarana, R. M. Depto Bioquímica, ICB-UFERS

During liver fibrosis, different fibroblastic cells, i.e., hepatic stellate cells (HSCs) are involved in the development of lesions, and acquire myfibroblastic differentiation. They are involved in retinol metabolism and they store the major part of retinol reserves in the body. The GRX cell line (BIO-RIO Cell Bank) represents liver connective tissue cells involved in normal homeostasis and pathologic formation of fibrotic tissue in hepatic parenchyma. This established murine myfibroblastic cell line (GRX) can be converted to display the fat-storing phenotype by treatment with retinol, insulin and indomethacin. Pentoxifylline (PTX), a methylxanthine derivative, retarded the transdifferentiation of fat storing cells into myfibroblasts, and PTX also has been found to exert antifibrogenic actions. PTX might be a potentially useful during the treatment of fibrosis. In our study, we focused the effect of PTX on lipid metabolism in myfibroblast and lipocyte phenotype obtained from different treatments with lipogenic drugs. The GRX cells were treated during 9 days in DMEM (5% FBS) added: a)PTX (1mg/mL); b)Retinol (5µM); c)Indomethacin (0.13nM) and Insulin (0.17µM); d)PTX (1mg/mL) and Retinol (5µM); e)PTX (1mg/mL) and Indomethacin (0.13nM); f)PTX (1mg/mL) and Insulin (0.17µM); g)PTX (1mg/mL), Indomethacin (0.13nM) and Insulin (0.17µM). The GRX cells were also treated during 6 days with: a)Indomethacin (0.13nM) and Insulin (0.17µM); b)PTX (0.5mg/mL) and c)PTX (0.5mg/mL), Indomethacin (0.13nM) and Insulin (0.17µM). Lipid inclusions were identified after staining with Oil Red O and quantified by [¹⁴C]acetate incorporation (51,0 mCi/mM). The lipids were analyzed by thin-layer chromatography (TLC) and their radioactivity was quantified by liquid scintillation. The results showed that PTX (0.5mg/mL, 6 days) reduce the fatty acid synthesis in GRX cells. PTX (1mg/mL, 9 days), when associated with insulin and indomethacin, inhibits the triacylglycerols synthesis (p<0.001), against the treatment with the lipoenic drugs (insulin + indomethacin). (FAPERGS, CNPq).

P - 04

HYPOLIPAEMIC ACTIVITY OF XANTHOXILINE AND DERIVATIVES

Souza L.F.O.¹, Pedrosa R.C.¹, Christmann L.L.¹, Wilhelm Filho D.², Cachinel Filho V.³, Yunes R. A.⁴ Departamento de Bioquímica, Química e Ecologia - Zoologia da Universidade Federal de Santa Catarina/UFSC, ²NIQFAR/CES - Universidade do Vale do Itajaí/UNIVALI, roza@ccb.ufsc.br

Objective: Xanthoxiline (XA) and its derivatives (2-hydroxy-6-methoxy-acetophenone-AF; 2,4,6-trihydroxyacetophenone-FA; C11-1), are natural or semi-synthetic compounds that have antifungal activities. A possible mechanism of action of these compounds consists of the inhibition of cholesterol synthesis (CE) or the stimulation of its catabolism. The objective of the present work was the *in vivo* study of the effect of xanthoxiline and its derivatives on the sterolic metabolism. **Methodology:** to evaluate the hypolipaeimant activity of the xanthoxiline compounds, the model of Triton Phase I (metabolic phase) and Phase II (catabolic phase), where different rat groups were treated with Triton WR-1339 (100mg/Kg weight), and the xanthoxiline derivatives (6 mg/kg weight) and a control group were treated with Triton WR-1339 only. In Phase I Triton was administered intraperitoneally together with the experimental compounds (oral), and after 8 h blood samples were taken for CE, HDL-CE and triglyceride (TGL). In Phase II the animals were pre-treated with Triton, and after 24 h the experimental compounds were orally administered. After 8 h blood samples were taken for lipid profile. Lovastatine was used as a positive control (0.027 mg/kg weight). **Results:** XA, AF, FA and C11-1 were able to decrease in 25, 38, 59 and 62% the plasmatic levels of cholesterol in Phase I, without any significant differences in the TGL and HDL-CE levels. No modification in the lipid profile was observed in Phase II. **Conclusion:** The results obtained suggest that XA, AF, FA and C11-1 are inhibitors of cholesterol synthesis without any apparent effect on cholesterol catabolism. This result is in agreement with the hypothesis of an antifungal effect associated with an inhibition of steroid synthesis.

P - 06

MORPHOLOGICAL CHANGES ON MACROPHAGE SPREADING INDUCED BY CYTOCHALASIN D.

Moreira M. R., Santos I. C., Oliveira C. A.
Instituto de Química / Universidade Federal de Uberlândia - UFU

The macrophage represents a pivotal cell in the phagocytic defense system. Macrophage spreading is one of the earliest reported indications of macrophage activation. Further, one of the first morphologic characteristics of the activated macrophage is its apparent larger size (increased cellular volume). The utilization of fungal metabolites, such as cytochalasin D (CD) had been extensively used to elucidate the participation of microfilaments on several cellular functions: phagocytosis, chemotaxis and cell adhesion. The spreading process of macrophages could be induced by several procedures such as the peritoneal injection of inflammatory agents or "in vitro" by incubation of the cells with divalent cations. We demonstrated in this work that the peritoneal injection of thio glycolate or lipopolysaccharide in mouse, induced the macrophage activation that is morphologically characterized by a cellular spreading very resistant to the presence of CD. The other side, the incubation of cells "in vitro" with 1µM of manganese chloride induced a significant cellular spreading this process very sensitive to the action of CD. These results demonstrate that the macrophage spreading induced by different procedures could be in part related to the mechanisms organized or stabilized the microfilaments inside the cells. The understanding of these differences could be important for elucidation of some physiological and pathological processes.