



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
Universidade Federal de Alfenas. Unifal-MG
Rua Gabriel Monteiro da Silva, 714 – Alfenas/MG – CEP
37130-000.
Fone: (35) 3299-1000. Fax: (35) 3299-1063



TÂNIA MARA FERREIRA ALVES

**SÍNTESE E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTI-INFLAMATÓRIA DE
DERIVADOS BENZOFENÔNICOS**

ALFENAS/MG

2013

TÂNIA MARA FERREIRA ALVES

**SÍNTESE E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTI-INFLAMATÓRIA DE
DERIVADOS BENZOFENÔNICOS**

Dissertação apresentada como parte dos requisitos para integralização do curso de Mestrado em Química da Universidade Federal de Alfenas. Área de concentração :Química Orgânica.
Orientador: Dr. Marcelo Henrique dos Santos.
Co-orientador: Dr. Cláudio Viegas Júnior.
Colaboradores: Profa. Dra. Danielle Ferreira Dias,
Prof. Dr. Alexandre Giust-Paiva.

ALFENAS/MG

2013

Alves, Tânia Mara Ferreira

Síntese e avaliação da atividade anti-inflamatória de derivados benzofenônicos / Tânia Mara Ferreira Alves. - 2013.
80 f. -

Orientador: Marcelo Henrique dos Santos

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

Bibliografia.

1. Benzofenonas. 2. Anti-Inflamatórios. 3. Simulação de Acoplamento Molecular. I. Santos, Marcelo Henrique dos. II. Título.

CDD: 547

TÂNIA MARA FERREIRA ALVES

SÍNTESE E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTI-INFLAMATÓRIA DE
DERIVADOS BENZOFENÔNICOS

A Banca Examinadora abaixo assinada aprova o Exame de Defesa de Mestrado apresentado ao programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal de Alfenas, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Química, área de concentração Química Orgânica.

Aprovada em: 05-07-2013

Prof. Dr. Marcelo Henrique dos Santos (Orientador)

Instituto de Química – UNIFAL-MG

Assinatura: 

Prof. Dr. Carlos Giovanni de Oliveira Nascimento

Instituição: UNIFAL-MG

Assinatura: 

Prof. Dr. Sergio Antonio Fernandes

Instituição: UFV

Assinatura: 

AGRADECIMENTOS

Tenho muito a agradecer por mais um objetivo conquistado em minha vida, agora mais um ciclo se encerra e é com muita alegria que agradeço a tudo e a todos que fizeram parte desta caminhada.

- *Gostaria de agradecer primeiramente a Deus, por nunca ter me abandonado me dando força para superar toda a minha insegurança, medo e dificuldades.*
- *A minha mãe **Maria Aparecida Ferreira Alves**, pela dedicação, amor e por ser essa referência de mulher forte e determinada.*
- *Ao meu pai **Isaltino Alves** por sempre me fazer acreditar que nada na vida é impossível de ser alcançado.*
- *Aos meus irmãos **Douglas, Karina e Vinícius** por fazerem parte da minha vida.*
- *Ao **Luis Augusto** por todo seu apoio, compreensão, amor e principalmente por nunca se cansar de me ouvir falar sobre meu trabalho, seminários e tudo mais que fez parte desta etapa da minha vida.*
- *Aos meus amigos **Lilian, Natalie, Rafa e Ana** que sempre de alguma maneira estão bem pertinho de mim, me dando força para superar qualquer dificuldade.*
- *Ao meu orientador **Prof. Dr. Marcelo Henrique dos Santos** pela confiança depositada em mim e no meu trabalho no decorrer desses vários anos em que trabalhamos juntos. Pela sua grande contribuição para o meu aprendizado e formação.*
- *Ao meu co-orientador **Prof. Dr. Cláudio Viegas Jr** por me ajudar nas correções e discussões deste trabalho e por ter contribuído com o meu aprendizado e formação durante estes anos em que foi meu professor.*

- *A Profa. Dra. Danielle Ferreira dias e a Maria Eliza Moreira pela a enorme contribuição para a realização deste trabalho.*
- *Ao Prof. Dr. I. Camps pela sua atenção e disponibilidade em me ajudar com a parte de docking.*
- *A todos do **LFQM**, pela amizade e convivência durante todos estes anos em que fiz parte deste grupo de pesquisa do qual me orgulho muito.*
- *Ao **Laboratório de Fisiologia da UNIFAL-MG** pela realização dos ensaios farmacológicos.*
- *A **Universidade Federal de Alfenas** e ao **Programa de Pós-Graduação em Química** pela oportunidade oferecida.*
- *À **Capex** pela bolsa concedida.*

RESUMO

Derivados benzofenônicos *O*-substituídos contendo grupos metila, butila, prenila e geranila foram sintetizados a partir das benzofenonas comerciais 4-hidroxibenzofenona (1) e 4,4'-diidroxibenzofenona (2). Todos os derivados tiveram sua atividade anti-inflamatória avaliada através do modelo de indução de hiperalgesia mecânica em camundongos (Von Frey) e edema de pata induzido por carragenina na dose de 100 µmol/Kg. Os resultados mostraram que na terceira hora, os derivados LFQM-119, LFQM-120 e LFQM-121 foram mais ativos que a 4-hidroxibenzofenona (1) no teste Von Frey. Na terceira hora estes compostos promoveram um aumento no limiar da dor de 32,8, 43,4 e 72,7% respectivamente, enquanto a 4-hidroxibenzofenona (1) não exibiu efeito antinociceptivo. O derivado LFQM-119 foi o mais ativo inibindo o edema inflamatório em 81,0%, enquanto a 4-hidroxibenzofenona (1) promoveu uma inibição de 47,0% na terceira hora após a injeção de carragenina. O derivado LFQM-124 apresentou efeito antinociceptivo melhor que do cetoprofeno e igual ao da indometacina. Os derivados LFQM-122 e LFQM-123 foram os mais ativos na inibição do edema inflamatório, sendo o efeito anti-inflamatório igual ao promovido pela indometacina e cetoprofeno. Os estudos de docking mostraram que, os derivados LFQM-119 e LFQM-122 exibiram melhor interação com a COX-2 e os derivados LFQM-123 e LFQM-124 exibiram uma melhor interação com a COX-1.

Palavras-chave: Derivados benzofenônicos. Atividade anti-inflamatória. Docking molecular.

ABSTRACT

Benzophenone derivatives *O*-substituted containing groups methyl, butyl, prenyl, and geranyl were synthesized from commercial 4-hydroxybenzophenone and 4,4'-dihydroxybenzophenone (2). All compounds were evaluated for their anti-inflammatory activity in the mechanical induced hyperalgesy model in mice (Von Frey) and carrageenan-induced mice paw edema at a dose of 100 μ mol/Kg. The results showed that derivatives LFQM-119, LFQM-120 and LFQM-121 were more active than 4-hydroxybenzophenone (1) in the Von Frey test. In the third hour these compounds promoted an increase in the pain threshold of 32,8, 43,4 and 72,7%, respectively, while the 4-hydroxybenzophenone (1) did not show antinociceptive effect. The derivative LFQM-119 was the most active inhibiting the inflammatory edema in 81% in comparison to 4-hydroxybenzophenone that caused a inhibition of 47% in the edema in the third hour after carrageenan injection. The derivative LFQM-124 showed better antinociceptive effect the ketoprofen and effect similar the indomethacin. The derivatives LFQM LFQM-122 and-123 were the most active in inhibiting inflammatory edema, the anti-inflammatory effect was similar to that promoted by indomethacin and ketoprofen. The docking studies show that the derivatives and LFQM LFQM-119-122 exhibited better interaction with the COX-2 and derivatives and LFQM LFQM-123-124 exhibited a better interaction with COX-1.

Keywords: Benzophenone derivatives. Anti-inflammatory activity. Molecular docking.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1- Sistema difenilmetanona	18
Figura 2- Estrutura da 7- <i>Epi-Clusianona</i>	18
Figura 3- Composto 20e	19
Figura 4- Compostos mais ativos da série de análogos da benzofenona-N-etil	19
Figura 5- Estrutura química do fármaco cetoprofeno	20
Figura 6- Processo de migração de leucócitos através do endotélio vascular.....	21
Figura 7- Biossíntese de prostaglandinas.....	22
Figura 8- Exemplos de fármacos inibidores não-seletivos da COX.....	23
Figura 9- Síntese do ácido acetilsalicílico (AAS).....	24
Figura 10- Mecanismo de inibição irreversível da PGHS (cicloxygenase) pelo AAS.....	25
Figura 11- Exemplos de fármacos inibidores seletivos da COX, os coxibes.....	26
Figura 12- Sítios catalíticos das isoformas COX-1 e COX-2.....	27
Figura 13- Sítio catalítico cicloxygenase das enzimas COX-1 e COX-2	27
Figura 14- Similaridade estrutural entre as benzofenonas.....	29
Figura 15- Reação de alquilação.....	32
Figura 16- Reação de obtenção do derivado LFQM-118.....	33
Figura 17- Reação de obtenção do derivado LFQM-119.....	33
Figura 18- Reação de obtenção do derivado LFQM-120.....	34
Figura 19- Reação de obtenção do derivado LFQM-121.....	35
Figura 20- Reação de obtenção do derivado LFQM-122.....	35
Figura 21- Reação de obtenção do derivado LFQM-123.....	36
Figura 22- Reação de obtenção do derivado LFQM-124.....	36
Figura 23- Reação de obtenção do derivado LFQM-125.....	37

Figura 24- Derivado LFQM-118.....	40
Figura 25- Espectro na região do infravermelho do derivado LFQM-118.....	40
Figura 26- Espectro de RMN de ^1H do derivado LFQM-118.....	41
Figura 27- Espectro de RMN de ^{13}C do derivado LFQM-118.....	42
Figura 28- Espectro de massas do derivado LFQM-118.....	42
Figura 29- Derivado LFQM-119.....	43
Figura 30- Espectro na região do infravermelho do derivado LFQM-119.....	43
Figura 31- Espectro de RMN de ^1H do derivado LFQM-119.....	44
Figura 32- Espectro de RMN de ^{13}C do derivado LFQM-119.....	45
Figura 33- Espectro de massas do derivado LFQM-119.....	45
Figura 34- Derivado LFQM-120.....	46
Figura 35- Espectro na região do infravermelho do derivado LFQM-120.....	46
Figura 36- Espectro de RMN de ^1H do derivado LFQM-120.....	47
Figura 37- Espectro de RMN de ^{13}C do derivado LFQM-120.....	48
Figura 38- Espectro de massas do derivado LFQM-120.....	48
Figura 39- Derivado LFQM-121.....	49
Figura 40- Espectro na região do infravermelho do derivado LFQM-121.....	49
Figura 41- Espectro de RMN de ^1H do derivado LFQM-121.....	51
Figura 42- Espectro de RMN de ^{13}C do derivado LFQM-121.....	51
Figura 43- Espectro de massas do derivado LFQM-121.....	52
Figura 44- Derivado LFQM-122.....	52
Figura 45- Espectro na região do infravermelho do derivado LFQM-122.....	53
Figura 46- Espectro de RMN de ^1H do derivado LFQM-122.....	54
Figura 47- Espectro de RMN de ^{13}C do derivado LFQM-122.....	54
Figura 48- Espectro de massas do derivado LFQM-122.....	55
Figura 49- Derivado LFQM-123.....	55

Figura 50- Espectro na região do infravermelho do derivado LFQM-123.....	56
Figura 51- Espectro de RMN de ^1H do derivado LFQM-123.....	57
Figura 52- Espectro de RMN de ^{13}C do derivado LFQM-123.....	57
Figura 53- Espectro de massas do derivado LFQM-123.....	58
Figura 54- Derivado LFQM-124.....	58
Figura 55- Espectro na região do infravermelho do derivado LFQM-124.....	59
Figura 56- Espectro de RMN de ^1H do derivado LFQM-124.....	60
Figura 57- Espectro de RMN de ^{13}C do derivado LFQM-124.....	60
Figura 58- Espectro de massas do derivado LFQM-124.....	61
Figura 59- Derivado LFQM-125.....	61
Figura 60- Espectro na região do infravermelho do derivado LFQM-125.....	62
Figura 61- Espectro de RMN de ^1H do derivado LFQM-125.....	63
Figura 62- Espectro de RMN de ^{13}C do derivado LFQM-125.....	64
Figura 63- Espectro de massas do derivado LFQM-125.....	64
Figura 64- Diagrama de interação 2D do complexo enzima+ligante (LFQM-119).....	73
Figura 65- Diagrama de interação 2D do complexo enzima+ligante (LFQM-122).....	73
Figura 66- Diagrama de interação 2D do complexo enzima+ligante (LFQM-123).....	74
Figura 67- Diagrama de interação 2D do complexo enzima+ligante (LFQM-124).....	75

LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Fragmentos para elucidação estrutural do derivado LFQM-118.....	42
Tabela 2- Fragmentos para elucidação estrutural do derivado LFQM-119.....	45
Tabela 3- Fragmentos para elucidação estrutural do derivado LFQM-120.....	48
Tabela 4- Fragmentos para elucidação estrutural do derivado LFQM-121.....	52
Tabela 5- Fragmentos para elucidação estrutural do derivado LFQM-122.....	55
Tabela 6- Fragmentos para elucidação estrutural do derivado LFQM-123.....	58
Tabela 7- Fragmentos para elucidação estrutural do derivado LFQM-124.....	61
Tabela 8- Fragmentos para elucidação estrutural do derivado LFQM-125.....	64
Tabela 9- Efeito de 1 e seus derivados no ensaio Von Frey.....	65
Tabela 10- Efeito de 2 e seus derivados no ensaio Von Frey.....	66
Tabela 11- Efeito de 1 e seus derivados no edema de pata induzido por carragenina.....	67
Tabela 12- Efeito de 2 e seus derivados no edema de pata induzido por carragenina.....	68
Tabela 13- Resultados da previsão da lipofilicidade de 1 e seus derivados.....	69
Tabela 14- Resultados da previsão da lipofilicidade de 2 e seus derivados.....	70
Tabela 15- Parâmetros teóricos calculados no docking molecular.....	72

LISTA DE QUADROS

Quadro 1- Dados de RMN de ^1H e de RMN de ^{13}C do derivado LFQM-118.....	41
Quadro 2- Dados de RMN de ^1H e de RMN de ^{13}C do derivado LFQM-119.....	44
Quadro 3- Dados de RMN de ^1H e de RMN de ^{13}C do derivado LFQM-120.....	47
Quadro 4- Dados de RMN de ^1H e de RMN de ^{13}C do derivado LFQM-121.....	50
Quadro 5- Dados de RMN de ^1H e de RMN de ^{13}C do derivado LFQM-122.....	53
Quadro 6- Dados de RMN de ^1H e de RMN de ^{13}C do derivado LFQM-123.....	56
Quadro 7- Dados de RMN de ^1H e de RMN de ^{13}C do derivado LFQM-124.....	59
Quadro 8- Dados de RMN de ^1H e de RMN de ^{13}C do derivado LFQM-125.....	62

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

AA	- Ácido araquidônico
AAS	- Ácido acetilsalicílico
AcOEt	- Acetato de etila
AINES	- Anti-inflamatórios não-esteróides
Arg	- Arginina
δ	- Deslocamento químico
δ_C	- Deslocamento químico do carbono
δ_H	- Deslocamento químico do hidrogênio
μg	- Microgramas
μl	- Microlitros
$\mu\text{mol/Kg}$	- Micromol por quilo
CC	- Cromatografia em coluna
CCD	- Cromatografia em camada delgada
CDCl_3	- Clorofórmio deuterado
cm	- centímetros
COX	- Cicloxigenase
COX-1	- Cicloxigenase-1
COX-2	- Cicloxigenase-2
DMF	- Dimetilformamida
EM	- Espectrometria de massa
Hz	- Hertz
ID_{50}	- Dose ideal 50 que causa 50% do efeito
i.pl	- Intraplantar
IV	- Infravermelho
J	- Constantes de acoplamento
K_2CO_3	- Carbonato de potássio
Ki	- Constante de inibição

LAREMAR- Laboratório de Ressonância Magnética Nuclear de Alta Resolução (UFMG)

LFQM - Laboratório de Fitoquímica e Química Medicinal

LFQM-118 - 4-metoxibenzofenona

LFQM-119 - 4-butoxibenzofenona LFQM-120 - 4-preniloxibenzofenona

LFQM-121- 4-geraniloxibenzofenona

LFQM-122 - 4,4'- dimetoxibenzofenona

LFQM-123 - 4,4'- dibutoxibenzofenona

LFQM-124 - 4,4'- dipreniloxibenzofenona

LFQM-125 - 4,4'- digeraniloxibenzofenona

1 - 4-hidroxibenzofenona

2 - 4,4'-diidroxibenzofenona

nm - Nanômetro

p.f. - Ponto de fusão

PGs - Prostaglandinas

ppm - Partes por milhão

RMN de ^{13}C - Ressonância magnética nuclear de carbono

RMN de ^1H - Ressonância magnética nuclear de hidrogênio

Ser - Serina

TMS - Tetrametilsilano

Tyr - Tirosina

Trp - Triptofano

UV - Ultravioleta

v.o - Via oral

λ - Comprimento de onda

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	16
2 REVISÃO DA LITERATURA	18
2.1 AS BENZOFENONAS E ATIVIDADE ANTI-INFLAMATÓRIA	18
2.2 PROCESSO INFLAMATÓRIO E SEUS ASPECTOS PRINCIPAIS.....	20
2.3 ANTI-INFLAMATÓRIOS NÃO-ESTERÓIDES.....	22
2.4 AS ISOFORMAS DA CICLOXIGENASE: COX-1 E COX-2.....	26
3 JUSTIFICATIVA	28
4 OBJETIVOS	30
4.1 OBJETIVOS GERAIS.....	30
4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	30
5 MATERIAIS E MÉTODOS	31
5.1 MÉTODOS GERAIS	31
5.2 OBTENÇÃO DOS DERIVADOS	32
5.3 MECANISMO DE REAÇÃO.....	32
5.4 SÍNTESE DOS DERIVADOS.....	32
5.4.1 Síntese da 4-metoxibenzofenona (LFQM-118)	33
5.4.2 Síntese da 4-butoxibenzofenona (LFQM-119)	33
5.4.3 Síntese da 4-preniloxibenzofenona (LFQM-120)	34
5.4.4 Síntese da 4-geraniloxibenzofenona (LFQM-121)	35
5.4.5 Síntese da 4,4'-dimetoxibenzofenona (LFQM-122)	35
5.4.6 Síntese da 4,4'-dibutoxibenzona (LFQM-123)	36
5.4.7 Síntese da 4,4'- dipreniloxibenzofenona (LFQM-124)	36

5.4.8 Síntese da 4,4'-digeraniloxibenzofenona (LFQM-125)	37
6 ENSAIOS	38
6.1 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTI-INFLAMATÓRIA.....	38
6.1.1 Modelo de indução de hiperalgisia mecânica	38
6.1.2 Edema de pata induzido por carragenina	38
6.2 PREVISÃO DA LIPOFILICIDADE.....	39
6.3 DOCKING MOLECULAR.....	39
7 RESULTADOS E DISCUSSÃO	40
7.1 SÍNTESE.....	40
7.1.1 Derivado LFQM-118	40
7.1.2 Derivado LFQM-119	43
7.1.3 Derivado LFQM-120	46
7.1.4 Derivado LFQM-121	49
7.1.5 Derivado LFQM-122	52
7.1.6 Derivado LFQM-123	55
7.1.7 Derivado LFQM-124	58
7.1.8 Derivado LFQM-125	61
7.2- ENSAIOS.....	65
7.2.1 Modelo de indução de hiperalgisia mecânica	65
7.2.2 Edema de pata induzido por carragenina	67
7.2.3 Previsão da lipofilicidade	69
7.2.4 Docking molecular	71
8 CONCLUSÕES	76
9 PERPECTIVAS	77
REFERÊNCIAS	78

1 INTRODUÇÃO

As benzofenonas são alvo de grande interesse biológico devido estarem vinculadas a importantes atividades biológicas dentre elas destaca-se a atividade anti-inflamatória, a qual trata-se do alvo desse estudo (KHANUM et al., 2004).

Estudos realizados inferem que, a benzofenona natural *7-epi-clusianona* isolada de *Garcinia brasiliensis*, ao ser submetida a ensaios visando avaliar sua atividade anti-inflamatória, exibiu resultados bastante satisfatórios (SANTA-CECÍLIA et al., 2011). Um outro exemplo trata-se do cetoprofeno, o qual é um fármaco utilizado na clínica como agente anti-inflamatório, antipirético e analgésico, sendo o mesmo uma benzofenona sintética (MUSA et al., 2011). Esse fato, evidencia que essa classe de substâncias orgânicas pode ser uma fonte importante de moléculas naturais ou sintéticas que atuem frente ao processo inflamatório.

O processo inflamatório é uma resposta defensiva do organismo, a qual induz a adaptações fisiológicas para minimizar os danos ao tecido e para remover as infecções patogênicas (KHAN et al., 2010). Esse processo é produzido e controlado por uma vasta gama de mediadores inflamatórios como histamina, 5-hidroxitriptamina e vários fatores quimiotáticos como leucotrienos, prostaglandinas e bradicinina (GOODMAN & GILMAN, 2007). O resultado final do processo inflamatório poderá ser a cura ou evolução para uma inflamação crônica. No primeiro caso, a resposta do organismo é suficiente para eliminar o patógeno causador da lesão e assim o processo inflamatório e os sinais e sintomas (rubor, calor, dor e edema) associados a ele desaparecem. Entretanto, quando o resposta do organismo não é suficiente para eliminar o agente causador da lesão, o processo inflamatório persiste e evolui para um outro tipo de inflamação, a qual trata-se da inflamação crônica (COUTINHO et al., 2009).

Os anti-inflamatórios estão entre os fármacos mais empregados na medicina atual (CALIXTO, 2000). Dentre os principais agentes anti-inflamatórios tem-se os anti-inflamatórios não-esteróides (AINES), sendo os mesmos comumente prescritos para o tratamento da dor, febre, inflamação e artrites (HUSAIN et al., 2009).

O mecanismo de ação dos AINES consiste na inibição da biossíntese de prostaglandinas, através da inibição da enzima cicloxigenase (COX), a qual é uma enzima

que catalisa a conversão do ácido araquidônico (AA) em prostaglandina H_2 (PGH_2) e depois a mesma é metabolizada em vários outros tipos de prostanóides (eicosanóides) (HAYASHI et al., 2012). A COX apresenta duas isoformas, as quais são COX-1 e COX-2, as mesmas exibem diferenças funcionais e estruturais. Quanto aos aspectos funcionais a primeira isoforma está vinculada a processos fisiológicos tais como a manutenção da homeostasia do organismo e proteção gastrointestinal (SIMMONS et al., 2004), já a isoforma COX-2 está ausente ou apresenta um baixo nível de expressão nos tecidos, sendo a mesma, altamente regulada positivamente em resposta a endotoxinas, vírus e estímulos inflamatórios (HAYASHI et al., 2012). Em relação aos aspectos estruturais a principal diferença entre essas isoformas está no sítio catalítico dessas enzimas e consiste em um resíduo de aminoácido na posição 523 ocupada por um resíduo de isoleucina na COX-1 e por um resíduo de valina na COX-2. Conhecer essas diferenças estruturais do sítio catalítico das isoformas de COX, torna-se algo bastante interessante em termos de planejamento de novos fármacos mais seletivos para COX-2, a qual consiste na isoforma vinculada ao processo inflamatório. E assim, os efeitos adversos tais como danos e irritações gastrointestinais comumente associados a utilização desses fármacos seriam minimizados significativamente (BARREIRO et al., 2011).

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 AS BENZOFENONAS E ATIVIDADE ANTI-INFLAMATÓRIA

A benzofenona mais simples conhecida, é a difenilmetanona (Figura 1), a mesma é uma substância cristalina branca com odor de rosas, insolúvel em água, apresentando ponto de fusão de 49°C e ponto de ebulição de 305-306°C (COOK et al., 2001).

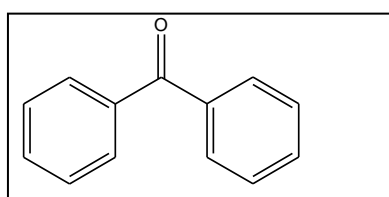


Figura 1- Sistema difenilmetanona.
Fonte : COOK et al., 2001.

As benzofenonas estão vinculadas a diversas atividades biológicas, sendo que, estudos realizados ao longo dos anos permitiram identificar várias aplicações terapêuticas para essa classe de substâncias. A atividade anti-inflamatória consiste em uma das mais citadas pela literatura (BANDGAR et al., 2010). A 7-*epi*-clusianona (Figura 2), uma benzofenona natural poliisoprenilada isolada de *Garcinia brasiliensis*, sendo esta usada na medicina tradicional para o tratamento de doenças inflamatórias, teve sua atividade anti-inflamatória avaliada através do ensaio edema de pata induzido por carragenina e de peritonite. Os resultados desses ensaios revelaram que, para as doses de 5, 10 e 15 mg/Kg a 7-*epi*-clusianona exibiu efeito anti-inflamatório, o qual foi demonstrado pela redução do edema de pata induzido por carragenina e pela inibição do recrutamento de leucócitos para o interior da cavidade peritoneal (SANTA-CECÍLIA et al., 2011).

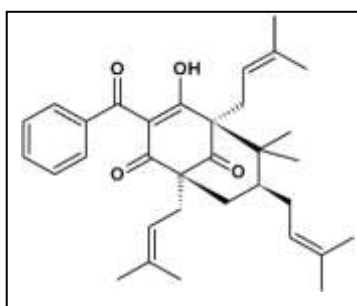


Figura 2- Estrutura da 7-*epi*-clusianona.
Fonte: SANTA-CECÍLIA et al., 2011.

Uma nova série de análogos de benzofenona contendo nitrogênio foram sintetizados e avaliados para inibição de citocinas pró-inflamatórias TNF- α e IL-6. Todos os compostos sintetizados exibiram uma atividade promissora. O composto 20e (Figura 3) foi observado como um inibidor eficaz de TNF- α e com uma toxicidade mínima frente as células CCK-8 (BANDGAR et al., 2010).

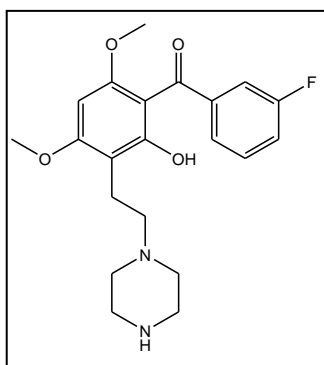


Figura 3- Composto 20e.
Fonte: BANDGAR et al., 2010.

Uma série de análogos da benzofenona-*N*-etil piperidina foram sintetizados e submetidos a avaliação da atividade anti-inflamatória através do ensaio edema de pata induzido por carragenina. Esse ensaio farmacológico revelou que os compostos 5a (a), 5d (b) e 5f (c) (figura 4) foram os que apresentaram maior atividade anti-inflamatória, sendo que o 5f apresentou uma maior inibição do edema inflamatório (KHANUM et al., 2009).

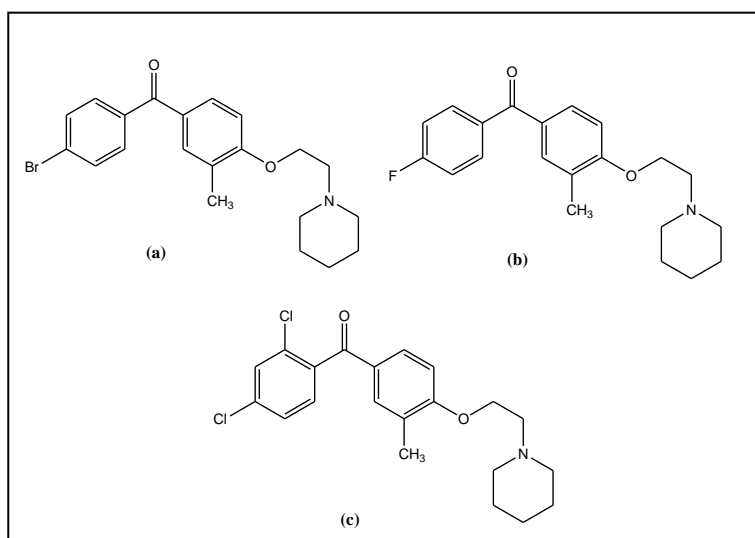


Figura 4- Compostos mais ativos da série de análogos da benzofenona-*N*-etil.
Fonte: KHANUM et al., 2009.

- (a) Composto 5a
- (b) Composto 5c
- (c) Composto 5f

O cetoprofeno (Figura 5) é um fármaco pertencente ao grupo dos anti-inflamatórios não-esteróides (AINES), e exibe ação anti-inflamatória, antipirética e analgésica, sendo o mesmo uma benzofenona sintética (SAKEENA et al., 2010).

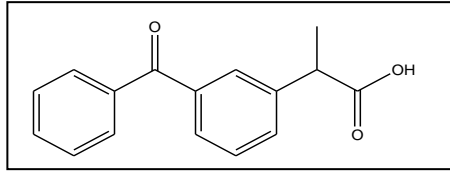


Figura 5- Estrutura química do fármaco cetoprofeno.

Fonte: SAKEENA et al., 2010.

2.2 PROCESSO INFLAMATÓRIO E SEUS ASPECTOS PRINCIPAIS

O processo inflamatório consiste em uma resposta biológica espontânea de tecidos vasculares a estímulos nocivos tais como agentes patogênicos, produtos químicos, térmicos e danos mecânicos. É produzido e controlado pela interação de uma grande variedade de mediadores inflamatórios, como histamina, 5-hidroxitriptamina, agentes quimiotáticos tais como bradicinina, leucotrienos e prostaglandinas (UZGÖREN-BARAN et al., 2012). A liberação sequencial de mediadores vasoativos e quimiotáticos contribuem para os sinais cardinais da inflamação como: calor, vermelhidão, inchaço, dor e perda da função do tecido (LAVRENCE et al., 2002).

Esse processo reparatório consiste em um mecanismo de defesa do próprio organismo e dois mecanismos estão envolvidos nesse processo: (a) uma resposta inespecífica (inata) e (b) uma resposta específica (imunológica) (COUTINHO et al., 2009). Assim tem-se: (a) reação inespecífica ou inata: As reações inatas ocorrem localmente no interior dos tecidos, podendo se dividir em eventos vasculares e eventos celulares (COUTINHO et al., 2009). Os eventos vasculares consistem: dilatação inicial de pequenas arteríolas, resultando em um aumento do fluxo sanguíneo, seguido de redução do fluxo e, a seguir, estase do sangue e aumento da permeabilidade das vênulas pós-capilares, com exsudação de líquido (RANG et al., 2001). Nos eventos celulares, as células envolvidas estão normalmente presentes nos tecidos (como células endoteliais e macrófagos) ou têm acesso ao local a partir da circulação (por exemplo, plaquetas e leucócitos). Os leucócitos circulantes aderem-se ao endotélio vascular e transmigram para

o tecido intersticial em direção ao local da lesão, sob sinalização de agentes quimiotáticos (por exemplo, citocinas e leucotrienos) (COUTINHO et al., 2009). Em seguida, os leucócitos fagocitam o agente agressor e degradam o tecido necrosado conforme a Figura 6 a seguir.

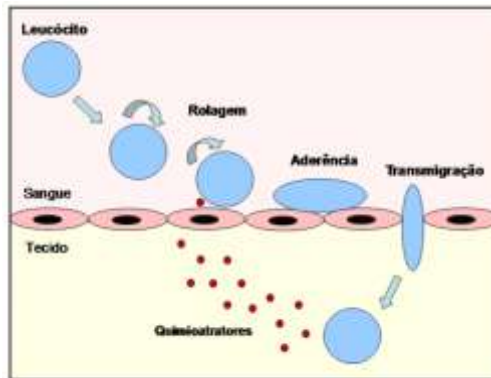


Figura 6- Processo de migração de leucócitos através do endotélio vascular.
Fonte: COUTINHO et al., 2009.

(b) reação específica ou imunológica: A resposta imunológica específica a um microrganismo invasor torna a resposta de defesa do hospedeiro não significativamente mais eficaz, como também mais específica contra o patógeno invasor. As células-chave para esse mecanismo são os linfócitos, sendo que os principais grupos são: Células B que são responsáveis pela produção de anticorpos, isto é, pela resposta imune humoral; Células T que são importantes na fase de inibição da resposta imune e são responsáveis pelas reações imunes mediadas por células; Células Killer naturais (NK) que são células linfóides não-T e não-B especializadas, e são ativas na resposta inata não imunológica (RANG et al., 2001).

Os linfócitos participam nesse tipo de resposta em duas fases as quais são: Fase de indução e Fase efetora. Em resumo os eventos procedem da seguinte forma: Ao primeiro contato com o antígeno os linfócitos que o “reconhecem” através de receptores de superfícies começam a sofrer uma série de divisões celulares, dando origem a uma gama de células clone, esse conjunto de etapas compõem a fase de indução. As últimas células são responsáveis eventualmente pela fase efetora, pois elas diferenciam-se em plasmócitos, e estes passam a produzir anticorpos (se forem células B) ou atuam nas respostas imunes mediadas por células (se forem células T). Algumas células irão formar células de memória sensíveis ao antígeno. Dessa maneira, uma segunda exposição a este antígeno particular irá desencadear uma resposta muito mais intensa (RANG et al., 2001).

2.3 ANTI-INFLAMATÓRIOS NÃO-ESTERÓIDES (AINES)

Os fármacos anti-inflamatórios não-esteróides (AINES) constituem um grupo heterogêneo de substâncias, que em geral não estão relacionados quimicamente, e que apesar disso, tem em comum certas ações terapêuticas, como atividade antipirética, analgésica e anti-inflamatória. Em geral, estas substâncias apresentam propriedades ácidas com valores de pKa entre 4 e 5 (HARVEY et al., 2000). A utilização desses fármacos está vinculada a presença de vários efeitos adversos, sendo a irritação e danos gastrointestinais os de maior ocorrência. Isso se deve ao fato de, que muitos dos fármacos inibem concomitantemente ambas isoformas da enzima cicloxigenase (COX-1 e COX-2), visto que, a COX-1 apresenta função constitutiva no organismo (UZGÖREN-BARAN et al., 2012).

O mecanismo de ação desses fármacos consiste em inibir a biossíntese de prostaglandinas (PGs) (FUNK, 2001). Entender a biossíntese dessa substância é fundamental para uma melhor compreensão do mecanismo de ação desses fármacos. A etapa inicial para a biossíntese de prostaglandinas é a liberação do ácido araquidônico (AA) a partir dos fosfolípidos das membranas celulares catalisada pela enzima fosfolipase A2 (DANHARDT et al., 2000). Esse processo inicial é controlado por hormônios e outros tipos de estímulos (físico, químico, biológico) (KUMMER et al., 2002). A enzima cicloxigenase catalisa a conversão do AA em PGG₂ e sucessivamente esta é convertida em PGH₂ (SIMMONS et al., 2004). Sequencialmente essas PGs sofrem a ação de isomerases tissulares, dando origem aos vários tipos de mediadores químicos envolvidos no processo inflamatório, conforme a Figura 7 a seguir (KUMMER et al., 2002).

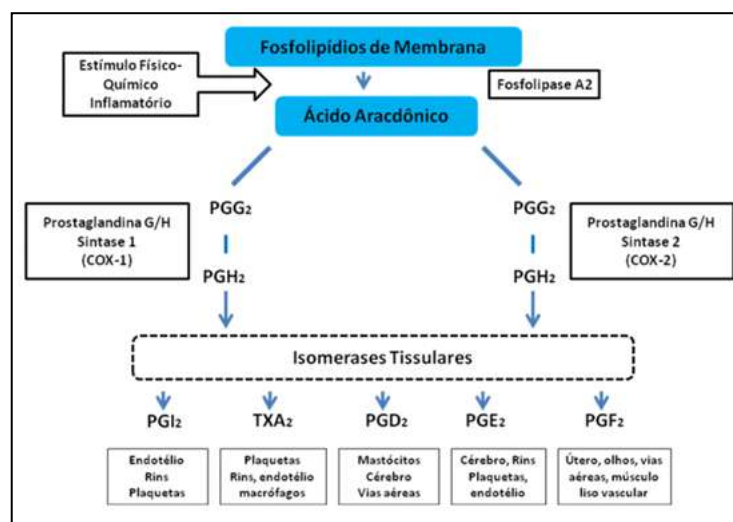


Figura 7- Biossíntese de prostaglandinas.

Fonte: KUMMER et al., 2002.

Os AINES são classificados basicamente em: inibidores não-seletivos da COX e inibidores seletivos da COX-2.

Inibidores não-seletivos da COX: Na Figura 8 se tem representantes das classes de inibidores não-seletivos da COX. Essas classes são: (a) derivados do ácido salicílico (ex: ácido acetilsalicílico); (b) derivados da pirazolona (ex: fenilbutazona); (c) derivados do para-aminofenol (ex: acetanilida, acetofenetidina); (d) derivados do ácidos acéticos (ex: indometacina); (e) derivados do ácido fenilantranílico (ex: ácido mefenâmico); (f) derivados do ácidos enólicos (ex: meloxicam); (g) derivados do ácido propiônico (ex: cetoprofeno, ibuprofeno, naproxeno) (DELUCIA et al., 2004).

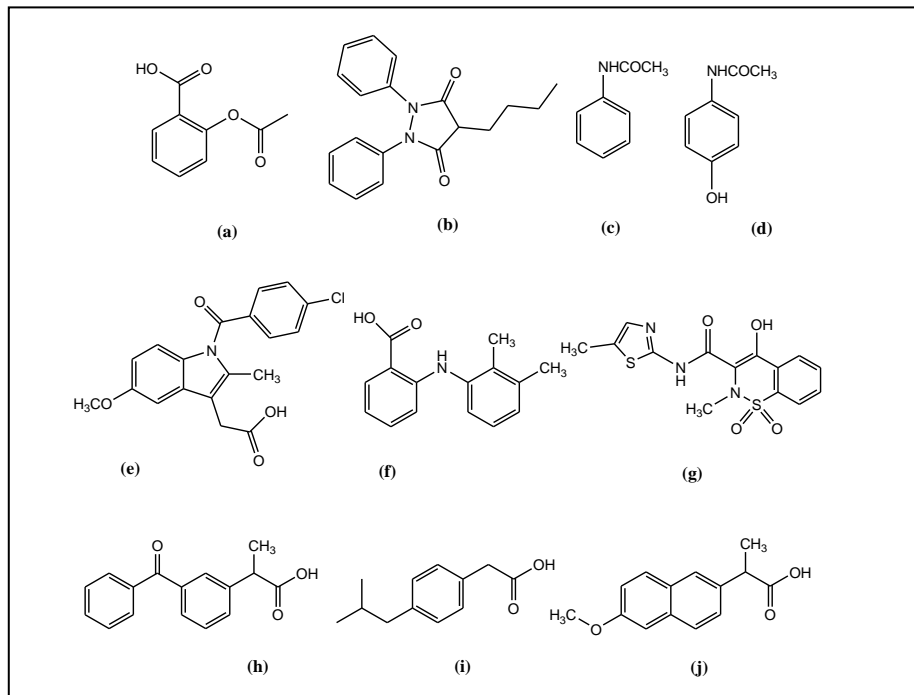


Figura 8- Exemplos de fármacos inibidores não-seletivos da COX.

Fonte: DELUCIA et al., 2004.

- (a) Ácido acetilsalicílico
- (b) Fenilbutazona
- (c) Acetoanilida
- (d) Acetofenetidina
- (e) Indometacina
- (f) Ácido mefenâmico
- (g) Ácido enólico
- (h) Cetoprofeno
- (i) Ibuprofeno

(j) Naproxeno

Desse grupo de fármacos, o ácido acetilsalicílico (AAS) merece destaque, pois o mesmo pode ser considerado um fármaco pioneiro em vários aspectos. Muito embora derive de um produto natural que é a salicina, ele foi o primeiro fármaco sintético empregado na terapêutica, tendo sua síntese concluída em 1897 pelo químico alemão Felix Hoffman, além disso também serviu como protótipo para o surgimento de vários fármacos anti-inflamatórios. A síntese do AAS é relativamente simples, sendo realizada por catalise ácida (presença de +ácido sulfúrico) a partir de anidrido acético, conforme o mecanismo de reação mostrado na Figura 9 (MENEGATTI et al., 2001).

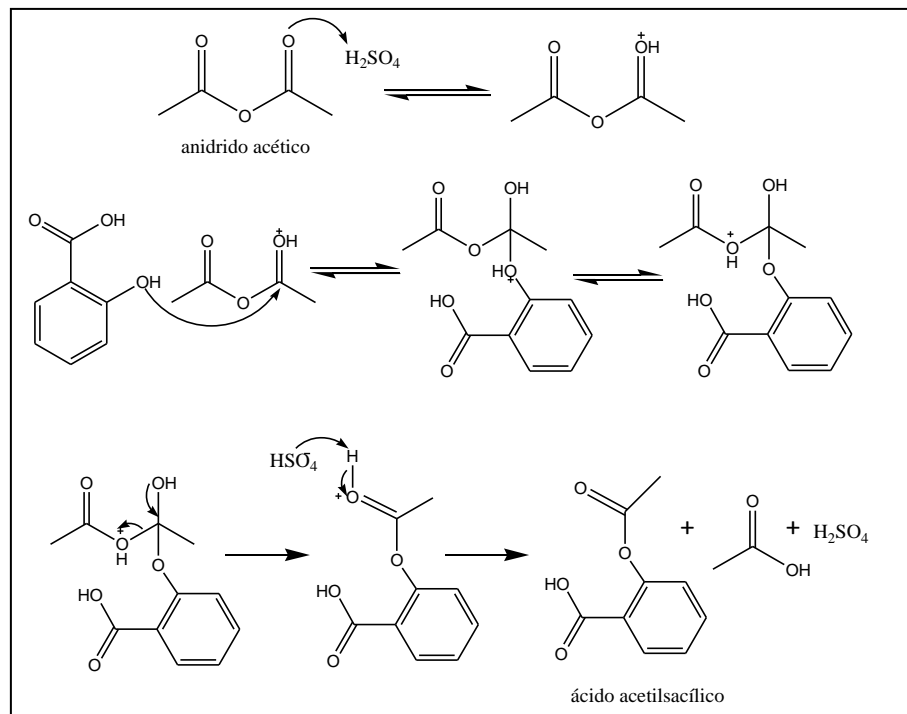


Figura 9- Síntese do ácido acetilsalicílico (AAS).

Fonte: MENEGATTI et al., 2001.

A elucidação do mecanismo de ação do AAS foi realizada pelo farmacologista britânico John Vane, premiado com o Nobel de medicina, em meados de 1970. Vane observou que o AAS inibia a liberação de substâncias como as prostaglandinas e, dessa maneira, interferia no processo inflamatório e na dor. Atualmente sabe-se que, o AAS é um fármaco inibidor enzimático irreversível, cujo reconhecimento molecular envolve a formação de ligação covalente. Esta interação fármaco-receptor é de natureza irreversível em função da formação de uma ligação covalente resultante do ataque nucleofílico da hidroxila do aminoácido serina 530 ao grupamento eletrofílico acetila presente no AAS, conforme a Figura 10 (BARREIRO et al., 2008).

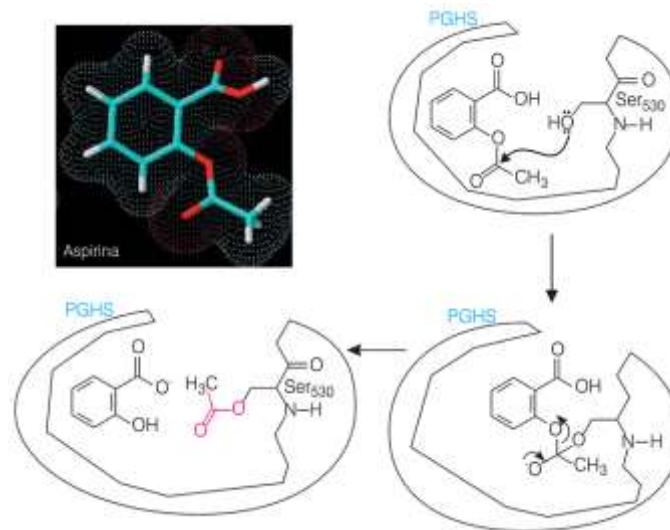


Figura 10- Mecanismo de inibição irreversível da PGHS (cicloxigenase) pelo AAS.
 Fonte: MENEGATTI et al., 2001.

Inibidores seletivos da COX-2: O desenvolvimento desses fármacos, denominados genericamente de coxibes representa uma resposta ao perfil terapêutico insatisfatório dos AINES convencionais. Por serem inibidores seletivos da isoforma COX-2, a qual está diretamente vinculada ao processo inflamatório, esperava-se que os mesmos não exibissem os mesmos efeitos adversos que os AINES não-seletivos apresentavam e que fossem igualmente ou mais eficazes. Atualmente é aceito que o perfil de ação anti-inflamatória deste grupo de fármacos não é superior a dos AINES convencionais e que os efeitos adversos são igualmente marcantes e perigosos quanto aos destes últimos. De fato, foram relatos de dados clínicos que levaram à retirada do rofecoxibe do mercado mundial pela constatação do surgimento de efeitos adversos cardiovasculares que colocavam em risco a vida dos pacientes que o utilizavam a longo prazo. A bula de outros fármacos como o celecoxibe, parecoxibe e o lumiracoxibe tiveram que ser alteradas alertando sobre os riscos para pacientes cardiopatas e a limitação da dose. As recomendações atuais restringem o uso dos coxibes a pacientes para os quais o tratamento com AINES convencionais implicaria em efeitos adversos gastrintestinais sérios, e os mesmos são prescritos somente depois de uma avaliação do risco cardiovascular e ainda por tempo não prolongado.

Atualmente somente quatro coxibes estão em uso clínico, os quais são: (a) celecoxibe, (b) etoricoxibe, (c) parecoxibe e o (d) lumiracoxibe, exemplificados na Figura 11. (COUTINHO et al, 2009).

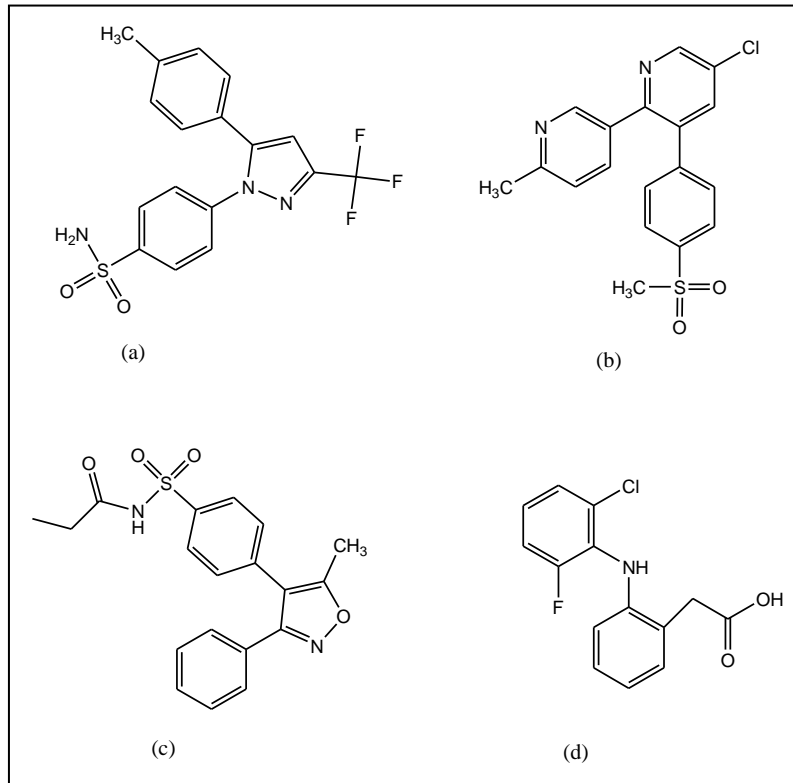


Figura 11- Exemplos de fármacos inibidores seletivos da COX, os coxibes.
 Fonte: COUTINHO et al., 2009.

- (a) Celocoxibe
- (b) Etrecoxibe
- (c) Parecoxibe
- (d) Lumiracoxibe

2.4 AS ISOFORMAS DA ENZIMA CICLOXIGENASE: COX-1 E COX-2

A cicloxigenase (COX) catalisa a primeira etapa da biossíntese de prostaglandinas (PGs) a partir do substrato de ácido araquidônico (AA) (FIORAVANTI et al, 2010). Essa enzima apresenta duas isoformas a COX-1 e a COX-2, sendo que, a COX-1 tem função constitutiva e a COX-2 é a isoforma induzível que em geral está associada a respostas inflamatórias (FUNK et al, 2001). Ambas isoformas, apresentam dois sítios catalíticos que são o sítio cicloxigenase e o sítio peroxidase, sendo o primeiro responsável pela conversão do ácido araquidônico (AA) em PGG₂ e o segundo responsável pela conversão da PGG₂ em PGH₂ (SIMMONS et al, 2004). No sítio catalítico cicloxigenase da COX-2 existe um arcabouço lateral que não está presente no sítio da COX-1. Assim, o sítio cicloxigenase da COX-2 é relativamente maior, conforme é mostrado na Figura 12.

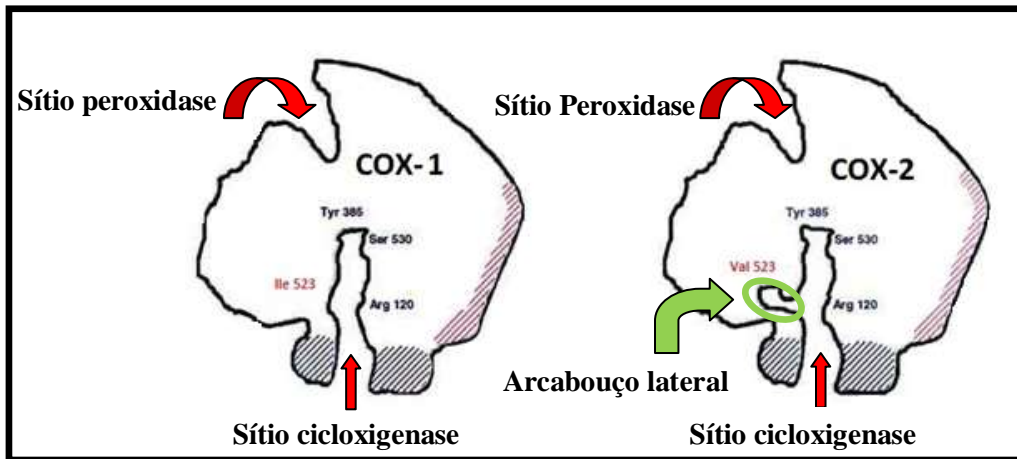


Figura 12- Sítios catalíticos das isoformas COX-1 e COX-2.
Fonte: COUTINHO et al, 2009.

Esta diferença que ambas isoformas apresentam em seus sítios catalíticos cicloxigenase, deve-se ao fato de que, a COX-1 apresenta um resíduo de isoleucina (Ile) na posição 523, e nessa mesma posição a COX-2 apresenta um resíduo de valina (Val). O resíduo de valina apresenta uma cadeia lateral menor, visto que, possui um grupamento metila a menos quando comparado com o resíduo de isoleucina, e assim o resíduo de valina ocupa um volume relativamente menor, como consequência o sítio catalítico da COX-2 apresenta maior tamanho como ficou evidenciado anteriormente. Na Figura 13, é mostrado como a diferença no resíduo de aminoácido localizado na posição 523 promove diferenças estruturais no sítio catalítico da COX-1 e da COX-2. É observado que, na COX-1 o grupamento de isoleucina promove um efeito estérico na cavidade hidrofóbica, algo que não ocorre na COX-2 devido a presença do resíduo de valina. Assim, o tamanho e acessibilidade a cavidade hidrofóbica da COX-2 é maior (BARREIRO et al, 2011).

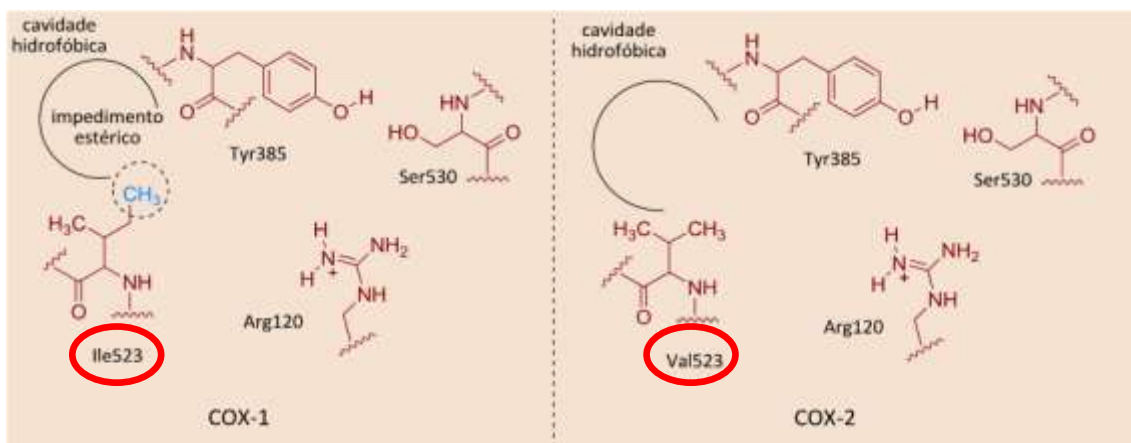


Figura 13- Sítio catalítico cicloxigenase das enzimas COX-1 e COX-2.
Fonte: BARREIRO et al, 2011.

3 JUSTIFICATIVA

Os fármacos anti-inflamatórios atualmente disponíveis exibem dentre os principais efeitos adversos danos e irritações gastrointestinais, fato que se torna um grande problema para pacientes que sofrem de doenças inflamatórias crônicas e assim fazem uso contínuo destes fármacos.

A busca por novos fármacos anti-inflamatórios que conjuguem eficácia terapêutica a menores efeitos adversos tem intensificado estudos frente a este alvo. No Laboratório de Fitoquímica e Química Medicinal (LFQM) da Universidade Federal de Alfenas, são desenvolvidas pesquisas nas áreas de produtos naturais, semi-síntese e síntese, com o objetivo de buscar novas entidades químicas bioativas e de valor terapêutico. Estudos realizados anteriormente no LFQM com a benzofenona natural 7-*epi*-clusianona, isolada da *Garcinia brasiliensis* demonstraram que, a mesma exibe significativa atividade anti-inflamatória (SANTA-CECÍLIA et al., 2011). Um outro exemplo de benzofenona (sintética) com atividade anti-inflamatória é o cetoprofeno, o qual é um fármaco utilizado clinicamente no tratamento da inflamação. Ao analisar-se o perfil estrutural da 7-*epi*-clusianona e do cetoprofeno é observado uma similaridade estrutural entre eles (figura 14). Neste contexto, baseado nesta similaridade estrutural visou-se obter duas novas séries de derivados a partir de moléculas precursoras que também exibissem similaridade estrutural com estas benzofenonas que já apresentam atividade anti-inflamatória comprovada.

Assim, neste trabalho realizou-se a síntese de derivados lipofílicos a partir das benzofenonas comerciais 4-hidroxibenzofenona e 4,4'-diidroxibenzofenona, as quais exibem similaridade estrutural com a 7-*epi*-clusianona e com o cetoprofeno (Figura 14), visando-se obter novos derivados que apresentassem um perfil de atividade anti-inflamatória.

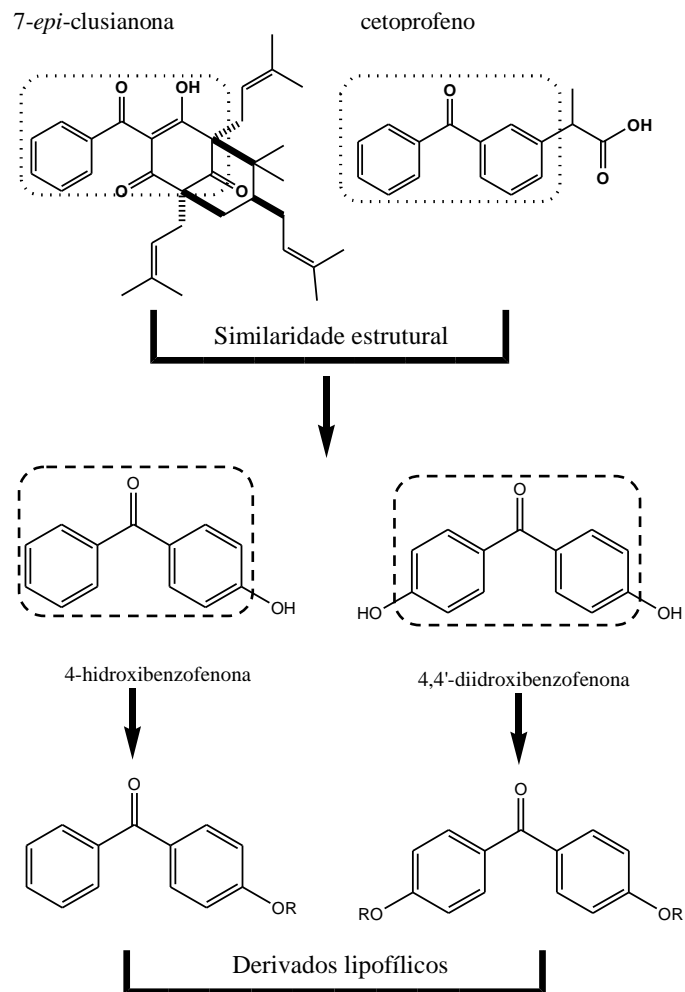


Figura 14- Similaridade estrutural entre as benzofenonas.
 Fonte: Do autor.

4 OBJETIVOS

4.1 OBJETIVOS GERAIS

Sintetizar derivados *O*-substituídos a partir de 4-hidroxibenzo fenona e 4,4'-diidroxibenzo fenona através de reações de alquilação.

4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Caracterizar os compostos sintetizados por meio de técnicas espectroscópicas e espectrométricas usuais (IV, UV, RMN e EM);
- Avaliação da atividade anti-inflamatória dos derivados benzofenônicos através dos ensaios farmacológicos indução de hiperalgesia mecânica (Von Frey), edema de pata induzido por carragenina.
- Prever a lipofilicidade das moléculas precursoras e de seus derivados através do cálculo teórico do $cLogP$.
- Realizar estudos de docking molecular das substâncias mais promissoras com as isoformas da enzima cicloxigenase (COX-1 e COX-2).

5 MATERIAIS E MÉTODOS

5.1 MÉTODOS GERAIS

- No processo de cromatografia em coluna (CC) foi utilizada sílica-gel 60 230-400 Mesh, em coluna de vidro adequada para cada caso.
- No processo de cromatografia em camada delgada (CCD) placas de sílica gel 60 G com 0,25 mm de espessura em base de alumínio, com indicador de fluorescência UV254.
- Como reveladores foram utilizados vapores de iodo; solução etanólica de FeCl_3 a 1%; luz ultravioleta (254 ou 365 nm).
- Os pontos de fusão obtidos em graus Celsius foram determinados em aparelho Metler PFM 2, no Laboratório de Fitoquímica e Química Medicinal (LFQM) da Universidade Federal de Alfenas (UNIFAL-MG).
- Os espectros de massas foram obtidos por cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (CG-EM) cromatógrafo Shimadzu modelo QP5050A no Departamento de Química da Universidade Federal de Viçosa, UFV.
- Os espectros de ressonância magnética nuclear de ^1H , ^{13}C , foram obtidos em espectrômetro BRUKER Avance DPX 200, do Laboratório de Ressonância Magnética Nuclear de Alta Resolução (LAREMAR) do Departamento de Química, UFMG. Os espectros foram obtidos em CDCl_3 e TMS como referencial interno. Os deslocamentos químicos (δ) são expressos em partes por milhão (ppm) e as constantes de acoplamento (J), Hertz (Hz).
- Os ensaios *in vivo* Teste de pressão da pata e edema de pata induzido por carragenina foram realizados no Laboratório de Fisiologia da Universidade Federal de Alfenas, utilizando respectivamente os equipamentos analgesímetro eletrônico e pletismômetro (Modelo7140, UgoBasile, Itália).
- A lipofilicidade dos derivados foram estimadas teoricamente determinando o $\text{Log}P$ usando o programa QikProp versão 3.2.
- Os estudos de docking molecular foram iniciados com as estruturas das enzimas COX-1 e COX-2. Todos os resultados foram preparados e analisados pelo software Maestro 9.3.

5.2 OBTENÇÃO DOS DERIVADOS

As reações para a obtenção dos derivados benzofenônicos foram realizadas no Laboratório de Fitoquímica e Química Medicinal (LFQM) da UNIFAL-MG, a partir de 4-hidroxiacetofenona (1) e 4,4'-diidroxiacetofenona (2), os quais são reagentes comerciais (Sigma Aldrich®). Os derivados benzofenônicos foram obtidos a partir de reações de alquilação sobre as hidroxilas fenólicas das benzofenonas de partida, sendo as mesmas e o agente alquilante dissolvidos em acetona e dimetilformamida (DMF), na presença de carbonato de potássio (K_2CO_3), o qual foi utilizado como base segundo a metodologia de YANG e colaboradores (2009).

5.3 MECANISMO DE REAÇÃO

A Figura 15 a seguir mostra o mecanismo da reação de substituição nucleofílica bimolecular (SN_2) que ocorre para a obtenção dos derivados.

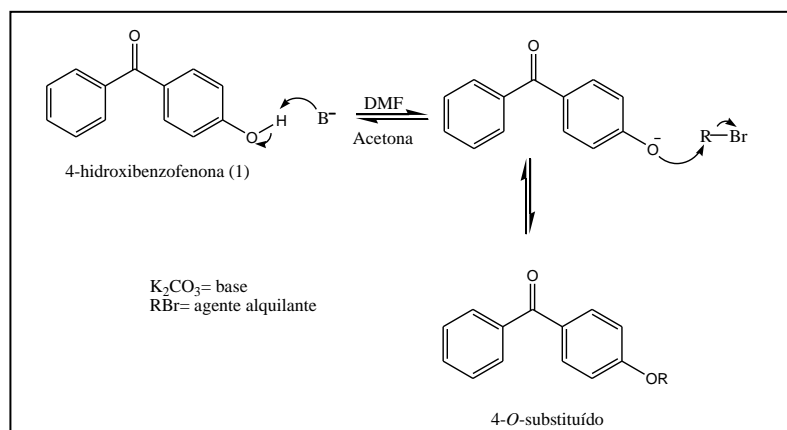


Figura 15- Reação de alquilação.

Fonte: Do autor.

Para a 4,4'-diidroxiacetofenona o mecanismo de reação é o mesmo, porém a substituição ocorre nas duas hidroxilas fenólicas presentes na molécula.

5.4 SÍNTESE DOS DERIVADOS

Em um balão de fundo redondo foram adicionados 200 mg (0,934 mmol) de 4-hidroxiacetofenona (1) ou 4,4'-diidroxiacetofenona (2), dissolvidos em 2,0 mL de acetona (0,02 mmol) e 1,0 mL de DMF (0,01 mmol), a massa de K_2CO_3 e do agente alquilante variou

para cada reação. Após 30 minutos de agitação magnética sobre refluxo a 45°C, foi adicionado o agente alquilante. O sistema foi mantido em agitação magnética sobre refluxo a 45°C, sendo a reação monitorada por CCD, utilizando a mistura de eluente (75:25 hexano/acetato de etila). Posteriormente, a mistura reacional foi vertida em um funil de separação, seguido da adição de 5,0 mL de água destilada (1x5 mL) e extração com AcOEt (3x10 mL). A fase aquosa foi adicionalmente extraída com AcOEt (4x20mL) e a fase orgânica teve sua água residual removida com sulfato de sódio anidro sendo posteriormente filtrada e concentrada sob pressão reduzida (YANG et al., 2009 adaptado).

5.4.1 Síntese da 4-metoxibenzofenona (LFQM-118)

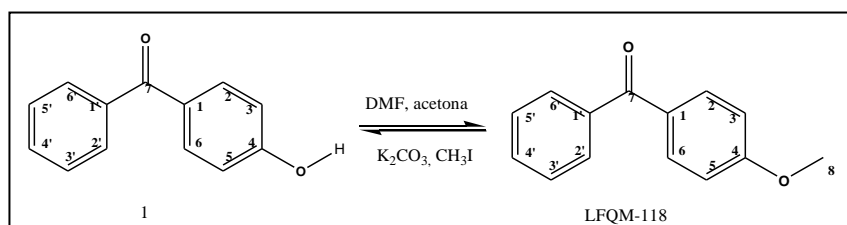


Figura 16- Reação de obtenção do derivado LFQM-118.

Fonte: Do autor.

Para a obtenção do derivado LFQM-118 (Figura 16), foi usado 276 mg (0,002 mmol) de K_2CO_3 e 0,12 mL (1,90 mmol) de CH_3I . Foram obtidos 137,7 mg (0,65 mmol), na forma de um sólido branco, com rendimento de 65% e p.f. 183 °C (YANG et al., 2009 adaptado).

IV (KBr) ν_{max} (cm^{-1}) 2968; 2935; 2845 (ν C-H); 1649 (ν C=O); 1259 (ν C-O-C). CG-EM m/z (%) 69 (50); 31 (90); 41 (100); 212 (100). RMN de 1H ($CDCl_3$; 200 MHz) δ : 3,8 (s; 3H; H-8); 6,9 (d; $J= 8,6$ Hz; 2H; H-3, H-5); 7,4 (d; $J= 8,6$ Hz; 2H; H-2, H-6); 7,5 (t; $J=6,5$ Hz; 2H; H-3', H-5'); 7,8 (t; $J= 8,8$ Hz; 1H; H-4'). RMN de ^{13}C ($CDCl_3$; 50 MHz) δ : 56,9 (C-8); 117,7 (C-3; C-5); 129,2 (C-2; C-6); 129,8 (C-2'; C-6'); 131,4 (C-2; C-6); 138,7 (C-4'); 143,5 (C-1'); 169,4 (C-4); 201,5 (C-7).

5.4.2 Síntese da 4-butoxibenzofenona (LFQM-119)

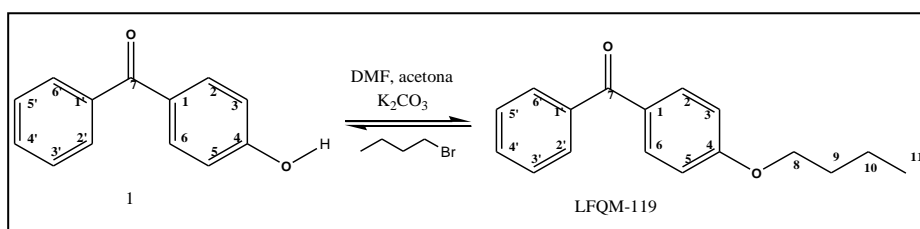


Figura 17- Reação de obtenção do derivado LFQM-119.

Fonte: Do autor.

Para a obtenção do derivado LFQM-119 (Figura 17), foi usado 279 mg (0,002 mmol) de K_2CO_3 e 0,21 mL (1,95 mmol) de C_4H_9Br . Foram obtidos 163,8 mg (0,65 mmol), na forma de um sólido branco, com 64,5% de rendimento e p.f. 65 °C (YANG et al., 2009 adaptado).

IV (KBr) ν_{max} (cm^{-1}) 2962; 2926 (ν C-H); 1635 (ν C=O); 1247 (ν C-O-C). CG-EM m/z (%): 77(30), 105(25), 121(100), 254(1). RMN de 1H ($CDCl_3$; 200 MHz) δ : 1,0 (t; $J=7,3$ Hz; 3H; H-11); 1,5 (sex; $J=7,2$ Hz; 2H; H-10); 1,7 (q, $J=8,0$ Hz; 2H; H-9); 4,0 (t; $J=6,5$ Hz; 2H; H-8); 6,9 (d; $J=8,8$ Hz; 2H; H-3; H-5); 7,7 (d; $J=2,4$ Hz; 2H; H-2; H-6); 7,5 (d; $J=7,4$ Hz; 2H; H-2'; H6'); 7,4 (t; $J=7,1$ Hz; 2H; H-3', H-5'); 7,5 (t; $J=6,5$ Hz; 1H; H-4'). RMN de ^{13}C ($CDCl_3$; 50 MHz) δ : 14,3 (C-11); 20,4 (C-10); 32,4 (C-9); 66,9 (C-8); 115,2 (C-3; C-5); 129,4 (C-2; C-6); 130,9 (C-3'; C-5'); 132,8 (C-4'); 133,6 (C-1'); 166,4 (C-4); 195,5 (C-7).

5.4.3 Síntese da 4-preniloxibenzofenona (LFQM-120)

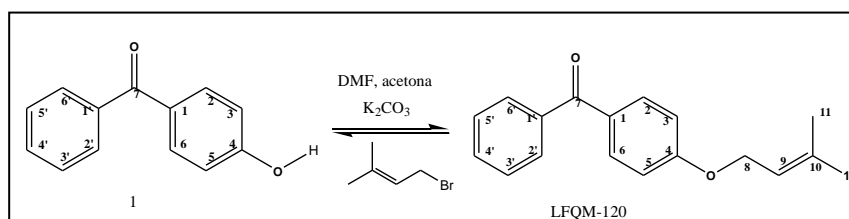


Figura 18- Reação de obtenção do derivado LFQM-120.
Fonte: Do autor.

Para a obtenção do derivado LFQM-120 (Figura 18), foi usado 276 mg (0,002 mmol) de K_2CO_3 e 0,23 mL (2,00 mmol) de C_5H_9Br . Foram obtidos 168,0 mg (0,63 mmol), na forma de um sólido branco, com 63% de rendimento e p.f. 179 °C (YANG et al., 2009 adaptado).

IV (KBr) ν_{max} (cm^{-1}) 2976; 2943(ν C-H); 1598 (ν C=O); 1255 (ν C-O-C). CG-EM m/z (%) 266 (1); 41(15); 105(20); 198(55); 121(65); 69(73). RMN de 1H ($CDCl_3$; 200 MHz) δ : 1,7 (s; 1H; H-11); 1,8 (s; 1H; H-12); 4,5 (d; $J=6,8$ Hz; 1H; H-8); 5,5 (t; $J=6,8$ Hz; 1H; H-9); 6,9 (d; $J=8,8$ Hz; 2H; H-3, H-5); 7,4 (d; $J=7,2$ Hz; 2H; H-2, H-6); 7,5 (d; $J=7,2$ Hz; 2H; H-2'; H-6'); 7,5 (d; $J=7,2$ Hz; 2H; H-3; H-5); 7,7 (t; $J=3,3$ Hz; 1H; H-4'). RMN de ^{13}C ($CDCl_3$; 50 MHz) δ 19,5 (C-11); 27,1 (C-12); 66,3 (C-8); 120,2 (C-9); 139,1 (C-10); 115,5 (C-3; C-5); 129,4 (C-2; C-6); 133,0 (C-1); 131,2 (C-2'; C-6); 133,1 (C-4'); 163,8 (C-4); 195,9 (C-7).

5.4.4 Síntese da 4-geraniloxibenzofenona (LFQM-121)

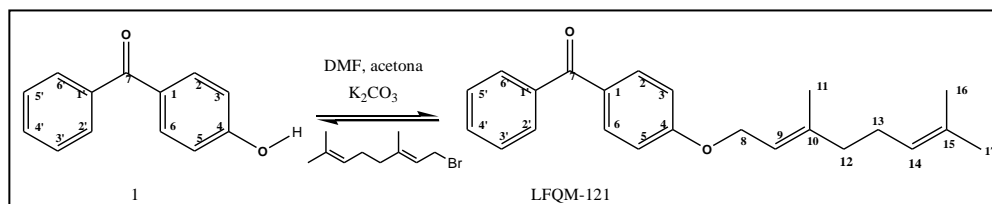


Figura 19- Reação de obtenção do derivado LFQM-121.

Fonte: Do autor.

Para a obtenção do derivado LFQM-121 (Figura 19), foi usado 276 mg (0,002 mmol) de K_2CO_3 e 0,39 mL (1,28 mmol) de $C_{10}H_{17}Br$. Foram obtidos 189,7 mg (0,63 mmol), na forma de um óleo amarelo, com 57% de rendimento (YANG et al., 2009 adaptado).

IV (KBr) ν_{max} (cm^{-1}) 2964; 2920 (ν C-H); 1633 (ν C=O); 1247 (ν C-O-C). CG-EM m/z (%): 69(95);105 (35); 121 (100); 198 (60); 334 (1). RMN de 1H ($CDCl_3$; 200 MHz) δ : 1,6 (s; 3H; H-16); 1,7 (s; 3H; H-17); 1,8 (s; 3H; H-11); 2,1 (s; 2H; H-12); 2,2 (s; 2H; H-13); 4,6 (d; $J=6,0$ Hz; 2H; H-8); 5,1 (s; 1H; H-14); 5,5 (s; 1H; H-9); 7,0 (m; 2H; H-2, H-6); 7,5 (m; 3H; H-3', H-5', H-4'); 7,7 (m; 4H; H-2, H-6, H-2', H-6'). RMN de ^{13}C ($CDCl_3$; 50 MHz) δ : 18,1 (C-16); 19,1 (C-11); 32,3 (C-12); 115,6 (C-3; C-5); 116,6 (C-9); 125,0 (C-14); 129,6 (C-3'e C-5'); 131,1 (C-2; C-6); 133,3 (C-2'e C-6'); 134,0 (C-4'); 134,3 (C-1'); 139,6 (C-10); 161,8 (C-4); 197,2 (C-7).

5.4.5 Síntese da 4,4'-dimetoxibenzofenona (LFQM-122)

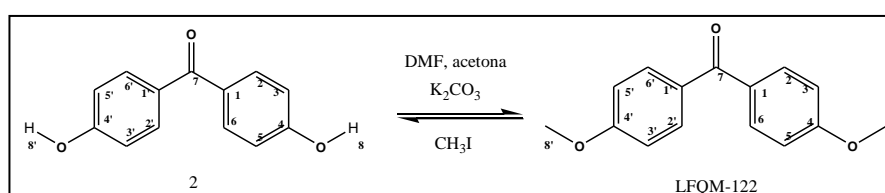


Figura 20- Reação de obtenção do derivado LFQM-122.

Fonte: Do autor.

Para a obtenção do derivado LFQM-122 (Figura 20), foi usado 276 mg (0,002 mmol) de K_2CO_3 e 0,12 mL (1,90 mmol) de CH_3I . Foram obtidos 205,7 mg (0,85 mmol), na forma de um sólido branco, com 91% de rendimento e p.f 68 °C (YANG et al., 2009 adaptado).

IV (KBr) ν_{max} (cm^{-1}) 2924 (ν C-H); 1637 (ν C=O); 1253 (ν C-O-C). CG-EM m/z (%) 31(100); 77 (10);135 (25); 242 (1). RMN de 1H ($CDCl_3$; 200 MHz) δ : 3,8 (s; 2H; H-8, H-8'); 6,9 (d; $J=8,8$ Hz; 4H; H-3, H-3', H-5, H-5'); 7,8 (d; $J=8,8$ Hz; 4H; H-2,H-2', H-6, H-6').

RMN de ^{13}C (CDCl_3 ; 50 MHz) δ : 56,7 (C-8); 114,4 (C-3; C-5; C-3'; C-5'); 131,7 (C-2; C-6; C-2'; C-6'); 164,10 (C-4; C-4'); 195,7 (C-7).

5.4.6 Síntese da 4,4'-dibutoxibenzofenona (LFQM-123)

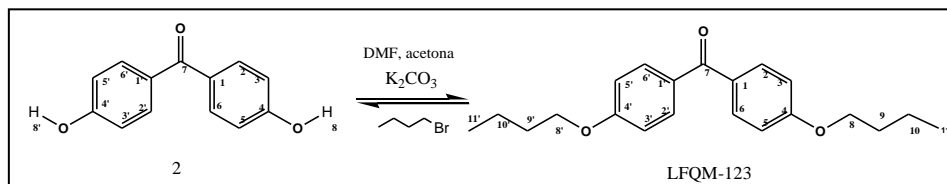


Figura 21- Reação de obtenção do derivado LFQM-123.

Fonte: Do autor.

Para a obtenção do derivado LFQM-123 (Figura 21), foi usado 257 mg (0,002 mmol) de K_2CO_3 e 0,20 mL (1,86 mmol) de $\text{C}_4\text{H}_9\text{Br}$. Foram obtidos 229,8 mg (0,70 mmol), na forma de um sólido branco, com 77% de rendimento e p.f 151 °C (YANG et al., 2009 adaptado).

IV (KBr) ν_{max} (cm^{-1}) 2933 (ν C-H); 1637 (ν C=O); 1249 (ν C-O-C). CG-EM m/z (%): 41(30), 69 (25), 121(100), 214 (25), 326 (75). RMN de ^1H (CDCl_3 ; 200 MHz) δ : 0,9 (t; $J=7,3$ Hz; 6H; H-11, H-11'); 1,4 (sex; $J=7,3$ Hz; 4H; H-10, H-10'); 1,8 (q; $J=7,2$ Hz; 4H, H-9, H-9'); 4,0 (t; $J=6,4$ Hz; 4H; H-8, H-8'); 6,9 (d; $J=8,8$ Hz; 4H; H-3, H-3', H-5, H-5'); 7,0 (d; $J=8,8$ Hz; 4H; H-2, H-2', H-6, H-6'). RMN de ^{13}C (CDCl_3 ; 50 MHz) δ : 14,6 (C-11, C-11'); 19,9 (C-10, C-10'); 68,7 (C-8, C-8'); 114,6 (C-3, C-3', C-5, C-5'); 131,3 (C-2, C-2', C-6, C-6'); 132,9 (C-1, C-1'); 163,2 (C-4, C-4'); 195,2 (C-7).

5.4.7 Síntese da 4,4'-dipreniloxibenzofenona (LFQM-124)

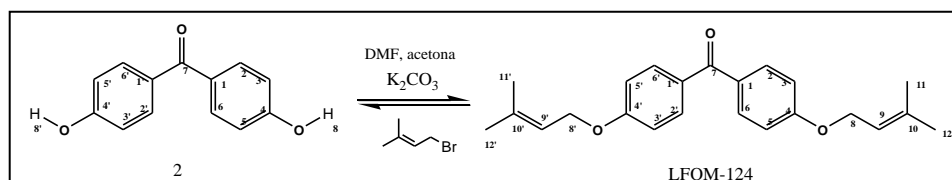


Figura 22- Reação de obtenção do derivado LFQM-124.

Fonte: Do autor.

Para a obtenção do derivado LFQM-125 (Figura 22), foi usado 256 mg (0,002 mmol) de K_2CO_3 e 0,21 mL (1,81 mmol) de $\text{C}_5\text{H}_9\text{Br}$. Foram obtidos 266,9 mg (0,76 mmol), na forma de um sólido branco, com 82% de rendimento p.f 99 °C (YANG et al., 2009 adaptado).

IV (KBr) ν_{\max} (cm^{-1}) 2933 (ν C-H); 1637 (ν C=O); 1249 (ν C-O-C). CG-EM m/z (%): 41 (75); 69(100); 121(30); 214 (80); 350 (1). RMN de ^1H (CDCl_3 ; 200 MHz) δ : 1,7 (s; 6H; H-11, H-11'); 1,8 (s; 6H; H-12, H-12'); 4,5 (d; $J=6,8$ Hz; 4H; H-8, H-8'); 5,5 (t; $J=6,5$ Hz; 2H; H-9, H-9'); 6,9 (d; $J=8,8$ Hz; 4H; H-3, H-3', H-5, H-5'); 7,7 (d; $J=8,8$ Hz; 4H; H-2, H-2', H-6, H-6'). RMN de ^{13}C (CDCl_3 ; 50 MHz) δ 18,8 (C-11, C-11'); 26,4 (C-12, C-12'); 65,5 (C-8, C-8'); 114,6 (C-3, C-3', C-5, C-5'); 119,6 (C-9, C-9'); 131,2 (C-2, C-2', C-6, C-6'); 132,7 (C-1, C-1'); 139,3 (C-10, C-10'); 162,7 (C-4, C-4'); 195,0 (C-7).

5.4.8 Síntese da 4,4'-digeraniloxibenzofenona (LFQM-125)

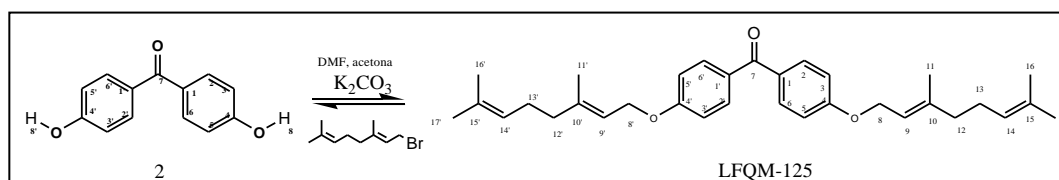


Figura 22- Reação de obtenção do derivado LFQM-125.

Fonte: Do autor.

Para a obtenção do derivado LFQM-125 (Figura 23), foi usado 257 mg (0,002 mmol) de K_2CO_3 e 0,37 mL (1,86 mmol) de $\text{C}_{10}\text{H}_{17}\text{Br}$. Foram obtidos 263,9 mg (0,54 mmol), na forma de um sólido branco, com 58% de rendimento e com p.f 87°C (YANG et al., 2009 adaptado).

IV (KBr) ν_{\max} (cm^{-1}) 2972; 2928 (ν C-H); 1651 (ν C=O); 1280 (ν C-O-C). CG-EM m/z (%): 41(50); 69(100); 81 (50); 486 (1). RMN de ^1H (CDCl_3 ; 200 MHz) δ : 1,6 (s; 6H; H-16, H-16'); 1,7 (s; 6H; H-17, H-17'); 1,8 (s; 6H; H-11, H-11'); 2,1 (s; 4H; H-12, H-12'); 2,2 (s; 4H; H-13, H-13'); 4,6 (d; $J=6,0$ Hz; 4H; H-8, H-8'); 5,1 (s; 2H; H-14, H-14'); 5,5 (s; 2H; H-9, H-9'); 7,0 (d; $J=8,0$ Hz; 4H; H-3, H-3', H-5, H-5'); 7,8 (d; $J=8,0$ Hz; 4H; H-2, H-2', H-6, H-6'). RMN de ^{13}C (CDCl_3 ; 50 MHz) δ : 16,8 (C-11, C-11'); 17,8 (C-16, C-16'); 25,8 (C-17, C-17'); 26,3 (C-13, C-13'); 65,1 (C-8, C-8'); 114,2 (C-3, C-3', C-5, C-5'); 118,9 (C-9, C-9'); 123,8 (C-14, C-14'); 130,7 (C-2, C-2', C-6, C-6'); 132,0 (C-1, C-1'); 132,3 (C-15, C-15'); 141,9 (C-10, C-10'); 162,2 (C-4, C-4'); 194,6 (C-7).

6 ENSAIOS

6.1 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTI-INFLAMATÓRIA

Foram utilizados camundongos Swiss (25-35g) machos provenientes do Biotério da UNIFAL-MG. Os animais foram mantidos em câmaras com temperatura controlada (20 ± 2 °C) em ciclos claro-escuro 12 horas, com água e ração ad libitum. Oito horas antes da realização das experiências, os animais foram privados de ração. O protocolo utilizado foi encaminhado ao Comitê de Ética na Experimentação Animal (CEEA) desta instituição e aprovados sob o número 436/2012.

6.1.1 Modelo de indução de hiperalgesia mecânica em camundongos (Von Frey)

O teste foi realizado de acordo com a metodologia de CUNHA et al (2004). Nesse experimento, foram utilizados 6 camundongos swiss machos (25-35g) por grupo, sendo que, o teste foi composto pelos seguintes grupos: veículo (controle negativo), indometacina (controle positivo), cetoprofeno (controle positivo) e o grupo ao qual foram administrados os derivados sintetizados. Ao grupo veículo foi administrado carboximetilcelulose 0,5%, 10 mL/Kg (v.o); aos grupos cetoprofeno, indometacina e dos derivados administrou-se 100 μ mol/Kg (v.o). A hipernocicepção foi induzida por carragenina 0,5%, 20 μ L/pata sendo a mesma aplicada uma hora após o tratamento através de uma injeção intraplantar (i.pl). A sensibilidade nociceptiva de cada animal foi registrada em 30, 60 e 180 minutos após a aplicação da carragenina.

6.1.2 Teste de edema de pata induzido por carragenina

O teste foi realizado de acordo com a metodologia de HENRIQUEZ (1987). Nesse experimento, foram utilizados 6 camundongos swiss machos (25-35g) por grupo, sendo que, o ensaio foi composto pelos seguintes grupos: veículo (controle negativo), indometacina (controle positivo), cetoprofeno (controle positivo) e o grupo ao qual foram administrados os derivados sintetizados. Ao grupo veículo foi administrado carboximetilcelulose 0,5%, 10 mL/Kg (v.o); aos grupos cetoprofeno, indometacina e dos derivados administrou-se 100

$\mu\text{mol/Kg}$ (v.o). Após 60 minutos os animais foram submetidos a uma injeção subplantar de 40 μL de carragenina 2% em solução fisiológica na pata traseira esquerda. O volume da pata do animal foi medido imediatamente antes e após a injeção do agente edematogênico e em intervalos pré-estabelecidos, utilizando um hidropletismômetro (modelo 7150, Ugo Basile, Itália) submergindo as patas esquerdas posteriores dos animais, até o maléolo lateral, em um recipiente contendo uma solução de extran neutro 2,5% em salina 0,9%, conectado por um sistema de vasos comunicantes a um outro menor, contendo um transdutor de volume ligado a um multímetro digital. As variações de volume, mediante a imersão das patas no recipiente maior, foram numericamente registrados no multímetro digital nos tempos zero (imediatamente após as injeções de carragenina) 60, 120, 180 e 240 minutos após a injeção do agente flogístico.

6.2 PREVISÃO DA LIPOFILICIDADE

Os valores de lipofilicidade das moléculas precursoras e de seus derivados foram calculados teoricamente através da determinação dos valores de $c\text{Log}P$ (octanol/água) utilizando-se o programa QikProp versão 3.2.

6.3 DOCKING MOLECULAR

Os estudos de docking foram realizados com estruturas das isoformas da enzima cicloxigenase COX-1 e COX-2. Ambas estruturas foram retiradas do Brookhaven Protein Data Bank (PDB) (BERMAN et al., 2000). O código das mesmas são COX-1 é 1EQG (SELINSKY et al, 2001) e COX-2 é 3NT1 (DUGGAN et al., 2010). Essas estruturas foram preparadas usando Protein Preparation Wizard protocol implementado no Schrödinger Suite. Após a etapa de preparação da proteína, o docking prosseguiu usando Induced Fit Protocol (IFD) (SHERMAN et al., 2006). Neste protocolo, a alteração conformacional da estrutura da proteína é predefinida e refinada usando o software Prime e os ligantes são docados flexíveis na região ativa usando o software GLIDE. A metodologia IFD tem sido validada em um amplo espectro de fármacos e tem alcançado bons resultados. A afinidade de ligação de cada complexo, foi estabelecida através GlideScore, uma aproximação da energia livre de Gibbs, quanto mais negativo for o valor da GlideScore, mais favorável é a ligação. Todos os dados foram analisados e preparados utilizando o software Maestro 9.3.

7 RESULTADOS E DISCUSSÃO

7.1 SÍNTESE

7.1.1 Derivado LFQM-118

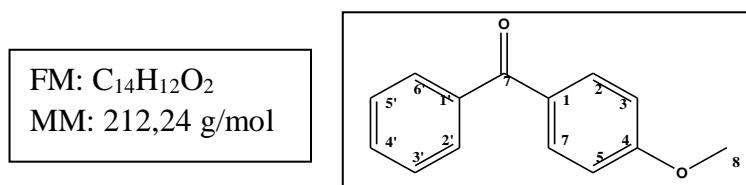


Figura 23- Derivado LFQM-118.

Fonte: Do autor.

O derivado LFQM-118 (Figura 23) foi obtido por reação de alquilação entre a 4-hidroxibenzofenona (1) e iodeto de metila (CH₃I), na qual foi utilizado o carbonato de potássio (K₂CO₃) e os solventes dimetilformamida (DMF) e acetona (YANG et al., 2009). O derivado apresentou-se como um sólido branco, com p.f. 183 °C e rendimento de 65%.

No espectro de infravermelho (Figura 24) pode-se observar uma banda em 3059 cm⁻¹ e outra em 3014 cm⁻¹ referente a estiramento C-H de aromático, uma banda em 2968 cm⁻¹, 2935 cm⁻¹, 2845 cm⁻¹ referente a estiramento C-H de metila, uma banda de absorção em 1649 cm⁻¹ referente ao estiramento C=O de carbonila e uma banda de absorção em 1259 cm⁻¹ característico de C-O-C de éter aromático.

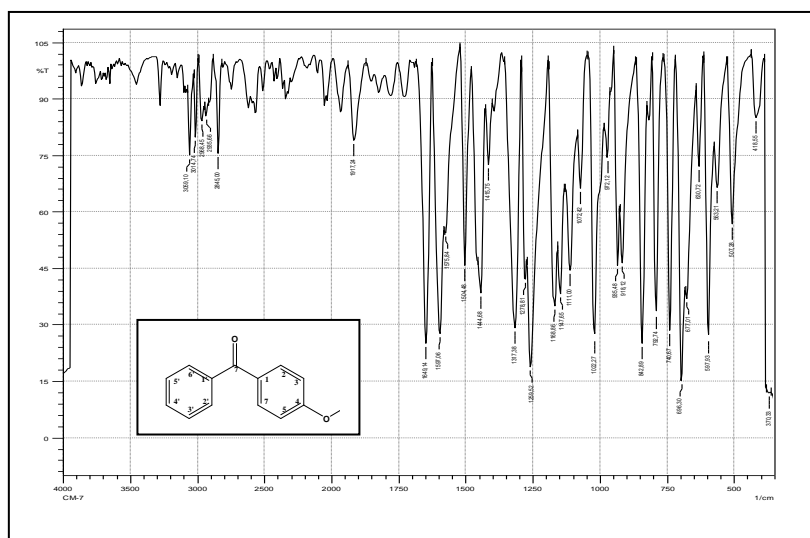


Figura 24- Espectro de absorção na região do infravermelho do derivado LFQM-118, (KBr).

Fonte: Do autor.

O quadro 1 mostra os deslocamentos químicos, multiplicidade e as constantes de acoplamento (J) observados no espectro de RMN de ^1H (Figura 25), e os deslocamentos químicos observados no espectro de RMN de ^{13}C (Figura 26).

Quadro 1- Dados de RMN de ^1H e de RMN de ^{13}C do derivado LFQM-118.

δ_H	Hidrogênio	Multiplicidade e J (Hz)	δ_C	Carbono
3,8	H-8	Singleto	56,9	C-8
6,9	H-3, H-5	dupleto,; 8,6	117,7	C-3, C-5
7,4	H-2, H-6	dupleto; 8,6	129,2	C-2, C-6
7,5	H-3', H-5'	tripleto; 6,5	129,8	C-3', C-6'
7,8	H-4'	tripleto, 8,8	131,4	C-2, C-6
			138,7	C-4'
			143,5	C-1'
			169,4	C-4
			201,5	C-7

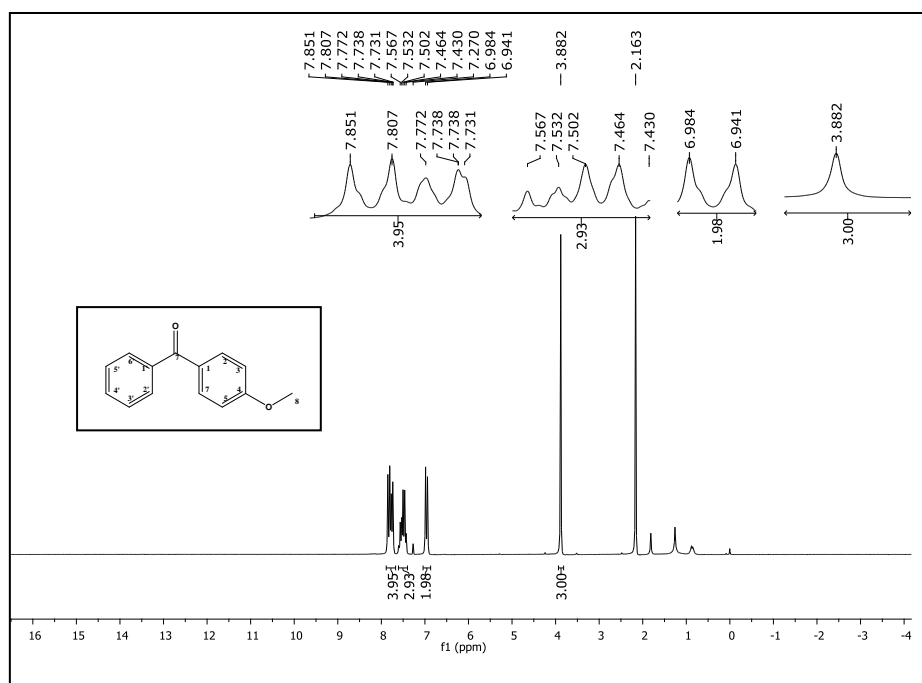


Figura 25- Espectro de RMN de ^1H do derivado LFQM-118, (CDCl_3 ; 200 MHz).
Fonte: Do autor.

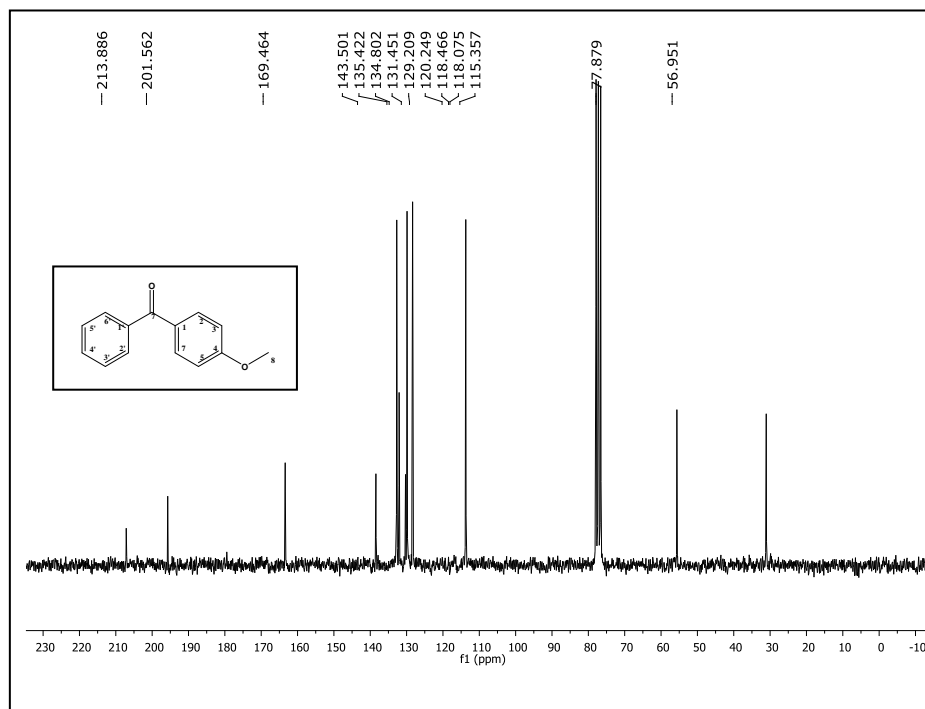


Figura 26- Espectro de RMN de ^{13}C do derivado LFQM-118, (CDCl_3 ; 50 MHz).
Fonte: Do autor.

No espectro de massa (Figura 27) foram identificados os fragmentos mais importantes para elucidação estrutural deste composto, sendo que, na tabela 1 estão inseridas as massas e intensidades relativas. O pico do íon molecular do composto apresenta-se em m/z 212 e o pico base em m/z 41 conforme indicado na Figura 27, (a técnica de ionização foi feita por impacto eletrônico).

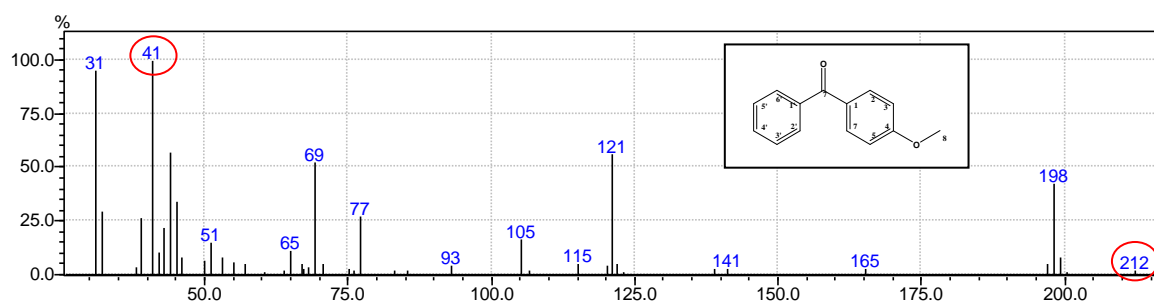


Figura 27- Espectro de massas do derivado LFQM-118.
Fonte: Do autor.

Tabela 1- Fragmentos importantes para elucidação estrutural do derivado LFQM-118.

m/z	Fragmento	Intensidade relativa
121	$[\text{C}_7\text{H}_5\text{O}_2]^+$	55
31	$[\text{CH}_3\text{O}]^+$	90

41	$[\text{C}_3\text{H}_5]^+$	100
212	$[\text{C}_{14}\text{H}_{12}\text{O}_2]^+$	1

7.1.2 Derivado LFQM-119

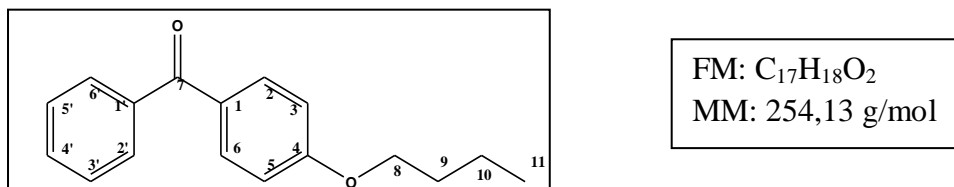


Figura 28- Derivado LFQM-119. Fonte: Do autor.

O derivado LFQM-119 (Figura 28) foi obtido por reação de alquilação entre a 4-hidroxibenzofenona (1) e $\text{C}_4\text{H}_9\text{Br}$, na qual foi utilizado o carbonato de potássio (K_2CO_3) e os solventes dimetilformamida (DMF) e acetona (YANG et al., 2009). O derivado apresentou-se como um sólido branco, com P.f. 65°C e com um rendimento de 64,5%.

No espectro de infravermelho do derivado LFQM-119 (Figura 29) foram observadas as seguintes bandas de absorção: uma banda fraca em 3057cm^{-1} característico de estiramento de C-H de aromático; banda fraca em 2970cm^{-1} característico de estiramento C-H de metila; banda forte em 1649cm^{-1} referente ao estiramento C=O de carbonila; banda forte em 1259cm^{-1} característico de C-O-C de éter aromático.

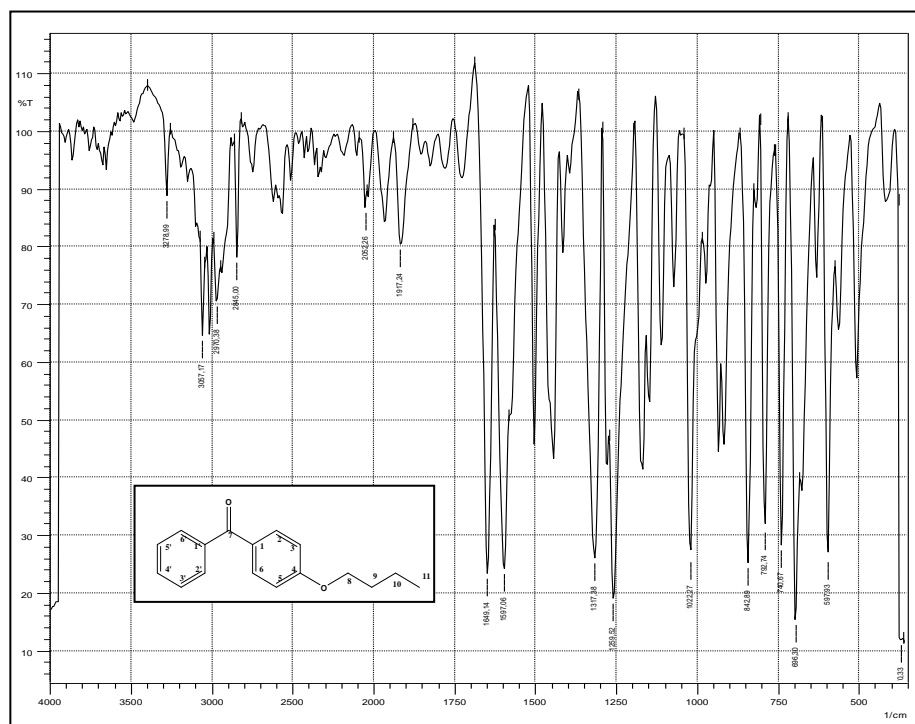


Figura 29- Espectro de absorção na região do infravermelho do derivado LFQM-119, (KBr). Fonte: Do autor.

O quadro 2 mostra os deslocamentos químicos, multiplicidade e as constantes de acoplamento (J) observados no espectro de RMN de ^1H (Figura 30), e os deslocamentos químicos observados no espectro de RMN de ^{13}C (Figura 31).

Quadro 2- Dados de RMN de ^1H e de RMN de ^{13}C do derivado LFQM-119.

δ_H	Hidrogênio	Multiplicidade e J (Hz)	δ_C	Carbono
1,0	H-11	triplete; 7,3	14,3	C-11
1,5	H-10	sexteto; 7,2	20,4	C-10
1,7	H-9	quarteto; 8,0	32,4	C-9
4,0	H-8	triplete; 6,5	66,9	C-8
6,9	H-3, H-5	duplete; 6,8	115,2	C-3, C-5
7,4	H-3', H-5'	triplete; 7,1	129,4	C-2, C-6
7,5	H-2, H-6'	duplete; 7,4	130,9	C-3', C-5'
7,5	H-4'	triplete; 6,5	132,8	C-4'
7,7	H-2, H-6	triplete; 6,5	133,6	C-1'
			166,4	C-4
			195,5	C-7

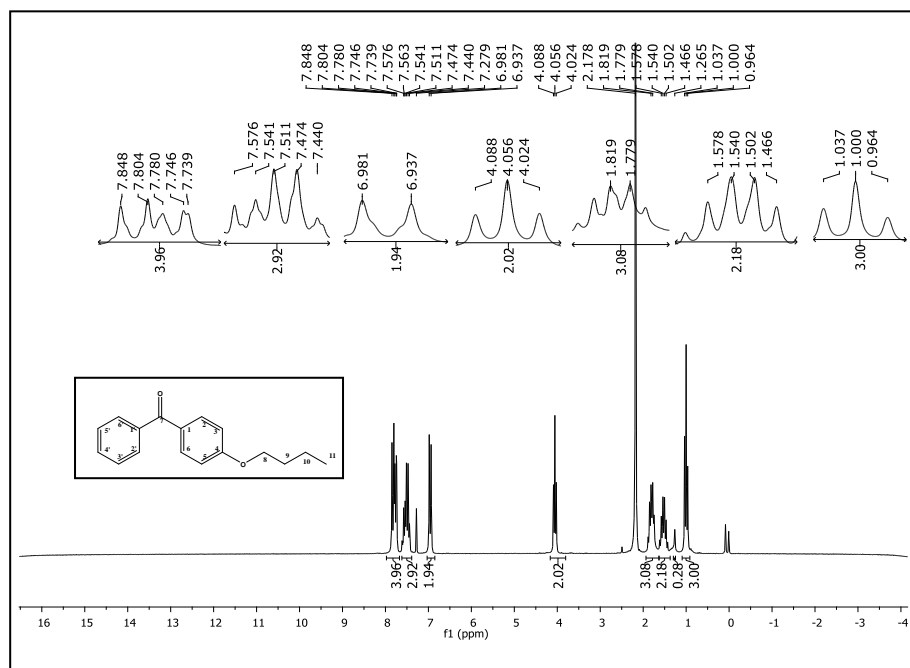


Figura 30- Espectro de RMN de ^1H do derivado LFQM-119, (CDCl_3 ; 200 MHz).
Fonte: Do autor.

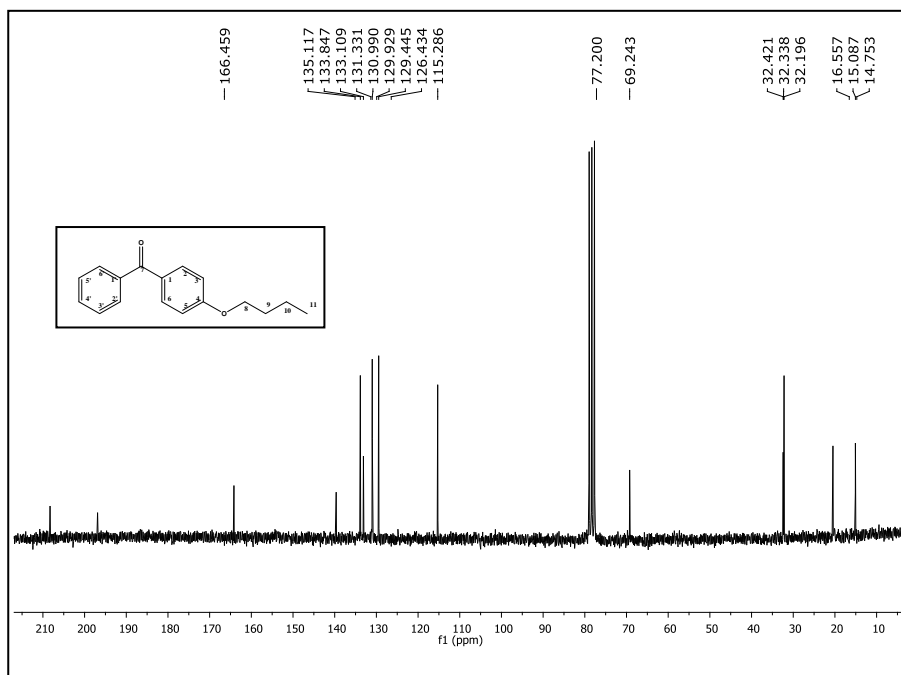


Figura 31- Espectro de RMN de ^{13}C do derivado LFQM-119, (CDCl_3 ; 50 MHz).
Fonte: Do autor.

No espectro de massa (Figura 32) foram identificados os fragmentos mais importantes para elucidação estrutural deste composto, sendo que, na tabela 2 estão inseridas as massas e intensidades relativas. O pico do íon molecular do composto apresenta-se em m/z 254 e o pico base em m/z 121, conforme indicado na Figura 32, (a técnica de ionização foi feita por impacto eletrônico).

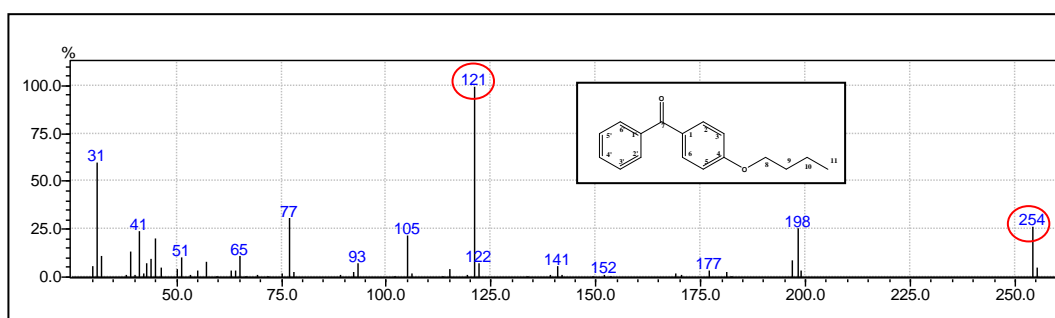
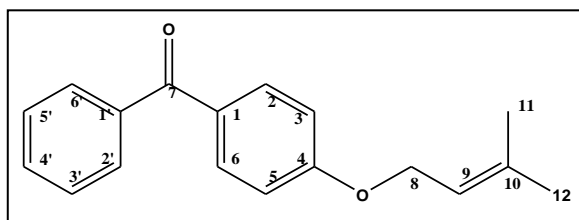


Figura 32- Espectro de massas do derivado LFQM-119.
Fonte: Do autor.

Tabela 2- Fragmentos importantes para elucidação estrutural do derivado LFQM-119.

m/z	Fragmento	Intensidade relativa
77	$[\text{C}_6\text{H}_5]^+$	30
105	$[\text{C}_7\text{H}_5\text{O}]^+$	25
121	$[\text{C}_7\text{H}_5\text{O}_2]^+$	100
254	$[\text{C}_{15}\text{H}_{14}\text{O}_3]^+$	25

7.1.3 Derivado LFQM-120



FM: C₁₈H₁₈O₂
MM: 266,33 g/mol

Figura 33- Derivado LFQM-120.

Fonte: Do autor.

O derivado LFQM-120 (Figura 33) foi obtido por reação de alquilação entre a 4-hidroxiacetofenona (1) e C₅H₉Br, na qual foi utilizado o carbonato de potássio (K₂CO₃) e os solventes dimetilformamida (DMF) e acetona (YANG et al., 2009). O derivado apresentou-se como um sólido amarelo, com p.f. 179°C e um rendimento de 63%.

No espectro de infravermelho do derivado LFQM-120 (Figura 34) foram observadas as seguintes bandas de absorção: uma banda fraca em 3061 cm⁻¹ característico de estiramento C-H de aromático, bandas em 2976 cm⁻¹, 2943 cm⁻¹ característico de estiramento C-H de metila, uma banda forte em 1598 cm⁻¹ referente a estiramento C=O de carbonila, uma banda forte em 1255 cm⁻¹ característico de C-O-C de éter aromático.

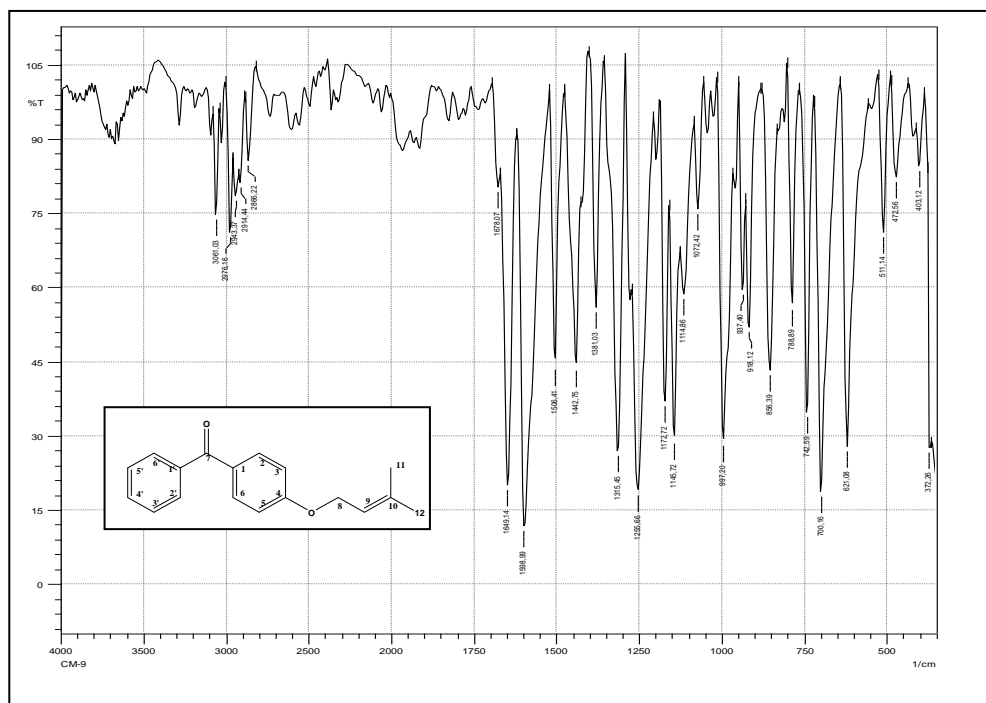


Figura 34- Espectro de absorção na região do infravermelho do derivado LFQM-120, (KBr).

Fonte: Do autor.

O quadro 3 mostra os deslocamentos químicos, multiplicidade e as constantes de acoplamento (J) observados no espectro de RMN de ^1H (Figura 35), e os deslocamentos químicos observados no espectro de RMN de ^{13}C (Figura 36).

Quadro 3- Dados de RMN de ^1H e de RMN de ^{13}C do derivado LFQM-120.

δ_H	Hidrogênio	Multiplicidade e J (Hz)	δ_C	Carbono
1,7	H-11	Singlete	19,5	C-11
1,8	H-12	Singlete	27,1	C-12
4,5	H-8	duplete; 6,8	66,3	C-8
5,5	H-9	triplete; 6,8	66,9	C-8
6,9	H-3, H-5	duplete; 8,8	115,5	C-3, C-5
7,4	H-2, H-6	triplete; 7,2	120,9	C-9
7,5	H-2', H-6'	duplete; 7,2	129,4	C-2, C-6
7,5	H-3, H-5	duplete; 7,2	131,2	C-2', C-6'
7,7	H-4'	triplete; 3,3	133,0	C-1
			133,1	C-4'
			139,1	C-10
			163,8	C-4
			195,9	C-7

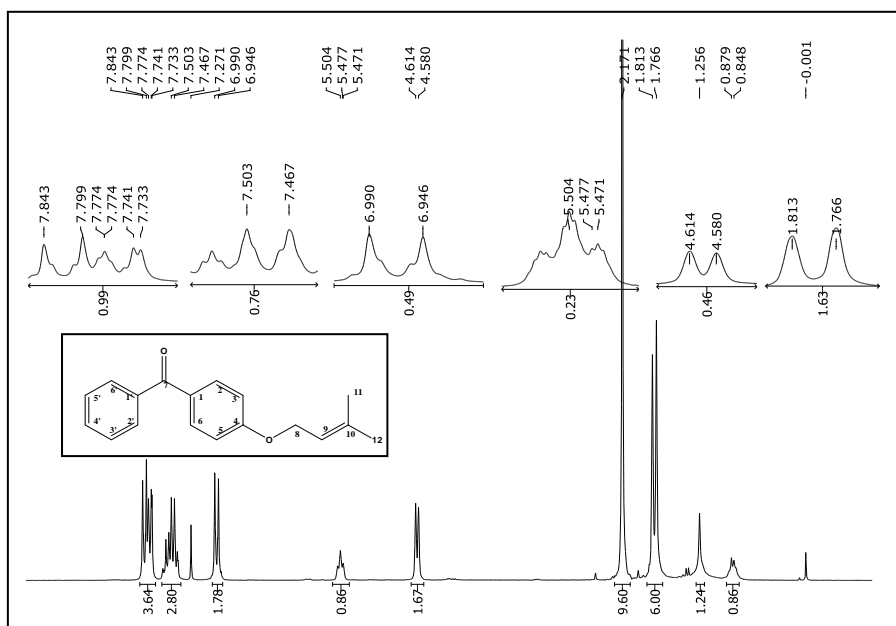


Figura 35- Espectro de RMN de ^1H do derivado LFQM-120, (CDCl_3 ; 200 MHz).
Fonte: Do autor.

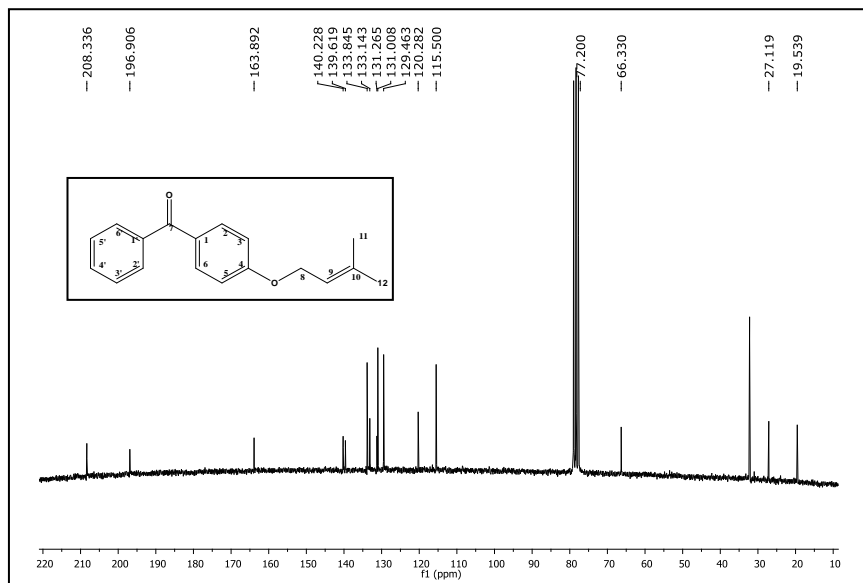


Figura 36- Espectro de RMN de ^{13}C do derivado LFQM-120, (CDCl_3 ; 50 MHz).

Fonte: Do autor.

No espectro de massa (Figura 37) foram identificados os fragmentos mais importantes para elucidação estrutural deste composto, sendo que, na tabela 3 estão inseridas as massas e intensidades relativas. O pico do íon molecular do composto apresenta-se em m/z 266 e o pico base em m/z 41, conforme indicado na Figura 37, (a técnica de ionização foi feita por impacto eletrônico).

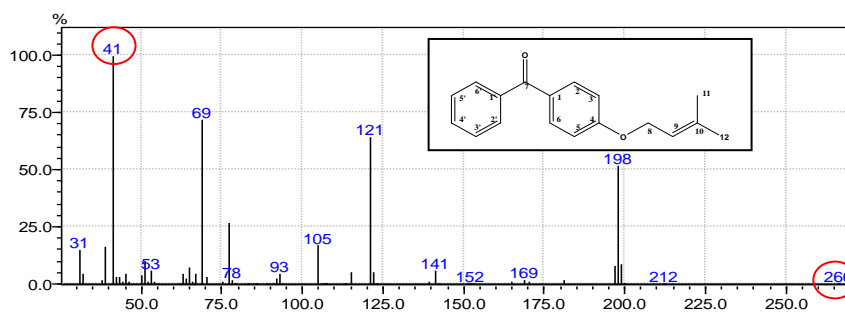


Figura 37- Espectro de massas do derivado LFQM-120.

Fonte: Do autor.

Tabela 3- Fragmentos importantes para elucidação estrutural do derivado LFQM-120

m/z	Fragmento	Intensidade relativa
41	$[\text{C}_3\text{H}_5]^+$	15
69	$[\text{C}_5\text{H}_9]^+$	73
105	$[\text{C}_7\text{H}_5\text{O}]^+$	20
121	$[\text{C}_7\text{H}_5\text{O}_2]^+$	65
266	$[\text{C}_{18}\text{H}_{18}\text{O}_2]^+$	1

7.1.4- Derivado LFQM-121

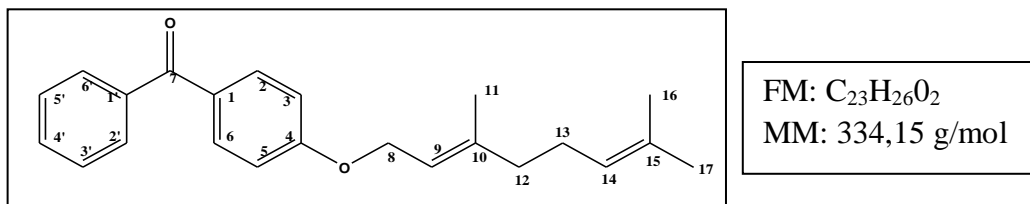


Figura 38- Derivado LFQM-121.

Fonte: Do autor.

O derivado LFQM-121 (Figura 38) foi obtido por reação de alquilação entre a 4-hidroxibenzofenona (1) e C₁₀H₁₇Br, na qual foi utilizado o carbonato de potássio (K₂CO₃) que atuou como base e foram utilizados os solventes dimetilformamida (DMF) e acetona (YANG et al., 2009). O derivado apresentou-se como um óleo amarelo, com um rendimento de 57%.

No espectro de infravermelho do derivado LFQM-121 (Figura 39) foram observadas as seguintes bandas de absorção: bandas em 2964 cm⁻¹, 2920 cm⁻¹ característico de estiramento C-H de metila, uma banda de absorção em 1633 cm⁻¹ referente a estiramento C=O de carbonila, uma banda de absorção em 1247 cm⁻¹ característico de C-O-C de éter aromático.

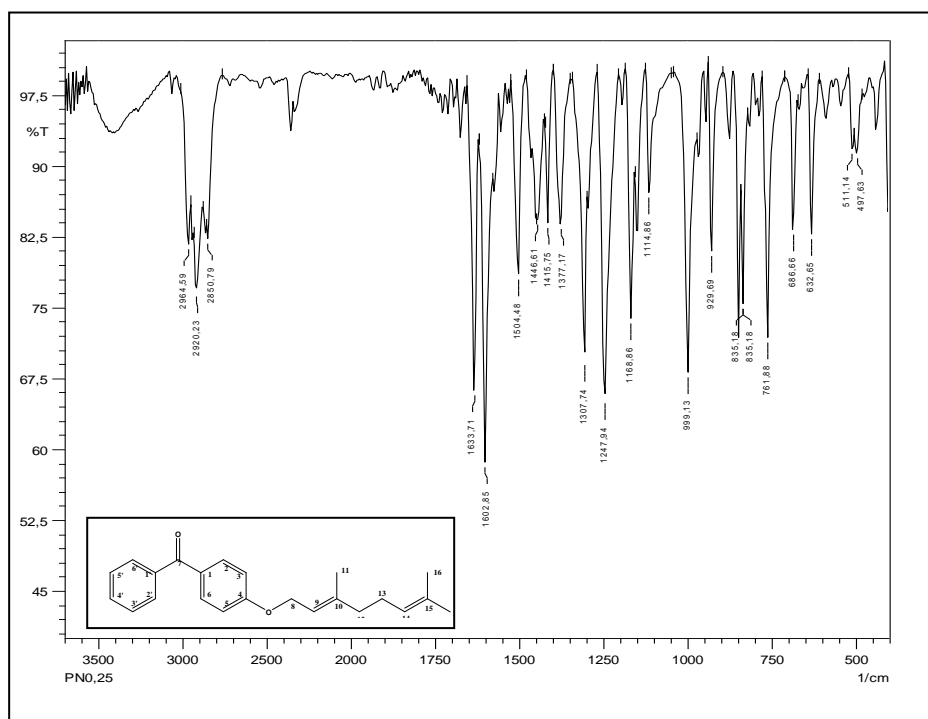


Figura 39- Espectro de infravermelho do derivado LFQM-121, (KBr).

Fonte: Do autor.

O quadro 4 mostra os deslocamentos químicos, multiplicidade e as constantes de acoplamento (J) observados no espectro de RMN de ^1H (Figura 40), e os deslocamentos químicos observados no espectro de RMN de ^{13}C (Figura 41).

Quadro 4- Dados de RMN de ^1H e de RMN de ^{13}C do derivado LFQM-121.

δ_H	Hidrogênio	Multiplicidade e J (Hz)	δ_C	Carbono
1,6	H-16	Singleto	18,1	C-16
1,7	H-17	Singleto	19,1	C-11
1,8	H-11	Singleto	32,3	C-12
2,1	H-12	Singleto	115,6	C-3, C-5
2,2	H-13	Singleto	116,6	C-9
4,6	H-8	dupleto; 6,0	125,0	C-14
5,1	H-14	Singleto	129,6	C-3', C-5'
5,5	H-9	Singleto	131,1	C-2, C-6
7,0	H-2, H-6	Multiplero	133,3	C-2', C-6'
7,5	H-3', H-5', H-4'	Multiplero	134,0	C-4'
7,7	H-2, H-6, H- 2', H-6'	Multiplero	134,3	C-1'
			139,6	C-10
			161,8	C-4
			197,2	C-7

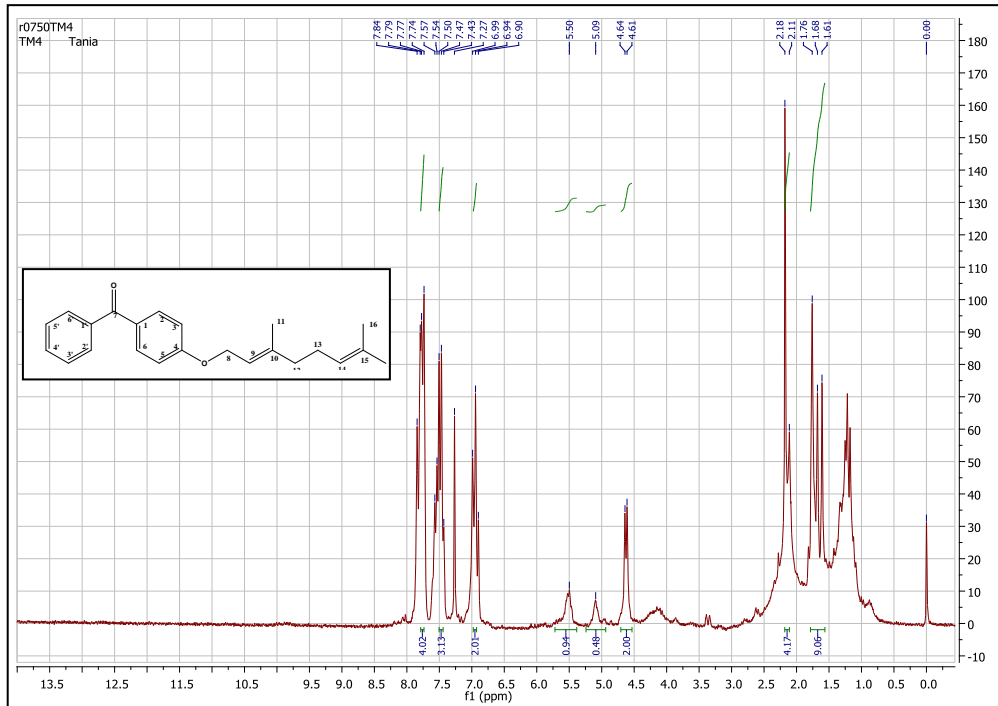


Figura 40- Espectro de RMN de ^1H do derivado LFQM-121, (CDCl_3 ; 200 MHz).

Fonte: Do autor.

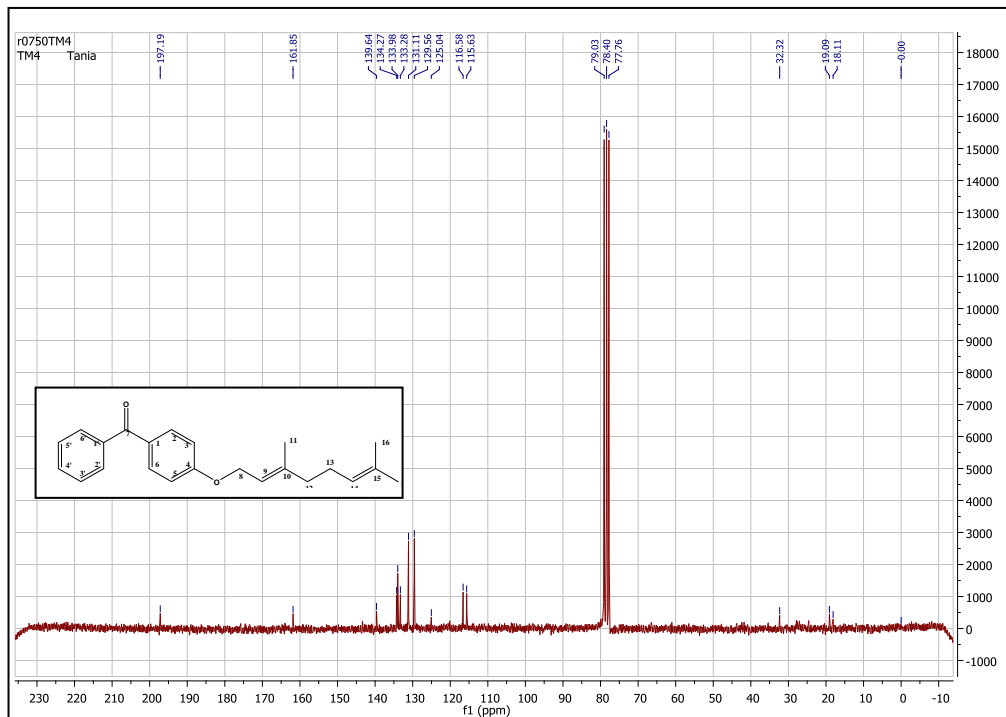


Figura 41- Espectro de RMN de ^{13}C do derivado LFQM-121, (CDCl_3 ; 50MHz).

Fonte: Do autor.

No espectro de massas (Figura 42) foram identificados os fragmentos mais importantes para elucidação estrutural deste composto, sendo que, na tabela 5 estão inseridas as massas e intensidades relativas. O pico do íon molecular do composto apresenta-se em m/z

334 e o pico base em m/z 121, conforme indicado na Figura 42, (a técnica de ionização foi feita por impacto eletrônico).

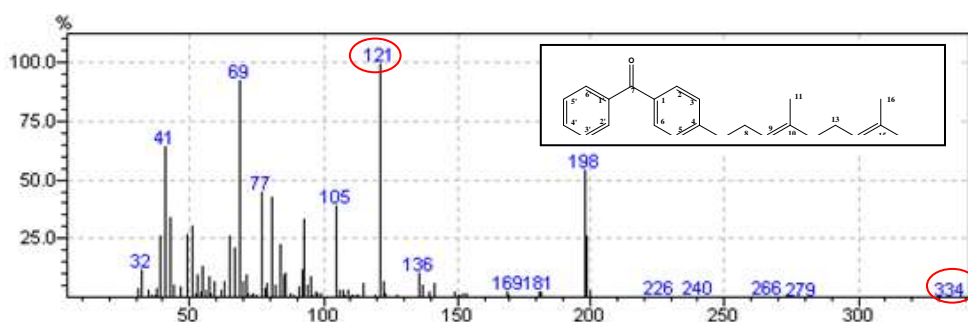


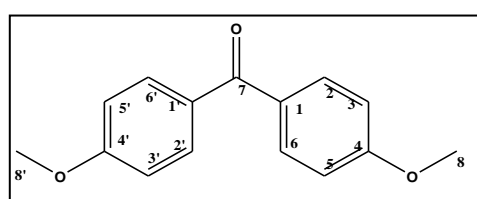
Figura 42- Espectro de massas do derivado LFQM-121.

Fonte: Do autor.

Tabela 4- Fragmentos importantes para elucidação estrutural do derivado LFQM-121

m/z	Fragmento	Intensidade relativa
69	$[C_5H_9]^+$	95
105	$[C_7H_5O]^+$	35
121	$[C_7H_5O_2]^+$	100
198	$[C_{13}H_{10}O_2]^+$	60
334	$[C_{23}H_{26}O_2]^+$	1

7.1.5 Derivado LFQM-122



FM: $C_{15}H_{14}O_3$
MM: 242 g/mol

Figura 43- Derivado LFQM-122.

Fonte: Do autor.

O derivado LFQM-122 (Figura 43) foi obtido por reação de alquilação entre a 4,4'-diidroxibenzofenona (2) e CH_3I , na qual foi utilizado o carbonato de potássio (K_2CO_3) que atuou como base e foram utilizados os solventes dimetilformamida (DMF) e acetona (YANG et al., 2009). O derivado apresentou-se como um sólido branco com p.f $183^\circ C$ e um rendimento de 91,4%.

No espectro de infravermelho (Figura 44) foram observadas as seguintes bandas de absorção: uma banda fraca em 3057 cm^{-1} característico de estiramento C-H de aromático; uma

banda fraca em 2970 cm^{-1} característico de estiramento C-H de metila; uma banda forte em 1649 cm^{-1} referente ao estiramento C=O de carbonila; banda forte em 1259 cm^{-1} característico de C-O-C de éter aromático.

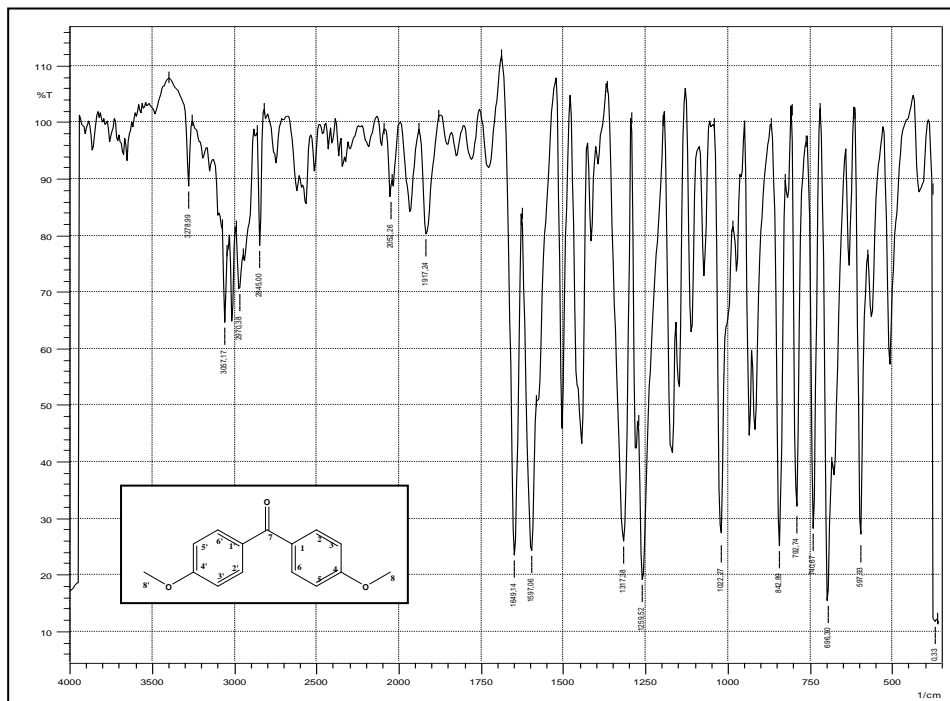


Figura 44- Espectro de absorção na região do infravermelho do derivado LFQM-122, (KBr).
Fonte: Do autor.

O quadro 5 mostra os deslocamentos químicos, multiplicidade e as constantes de acoplamento (J) observados no espectro de RMN de ^1H (Figura 45), e os deslocamentos químicos observados no espectro de RMN de ^{13}C (Figura 46).

Quadro 5- Dados de RMN de ^1H e de RMN de ^{13}C do derivado LFQM-122.

δ_H	Hidrogênio	Multiplicidade e J (Hz)	δ_C	Carbono
3,8	H-8, H-8'	singleto	56,7	C-8
6,9	H-3, H-5, H-3', H-5'	dupleto; 8,8	114,4	C-3; C-5; C-3'; C-5'
7,8	H-2, H-6, H-2', H-6'	dupleto; 8,8	131,7	C-2; C-6; C-2'; C-6'
			164,1	C-4; C-4'
			195,7	C-7

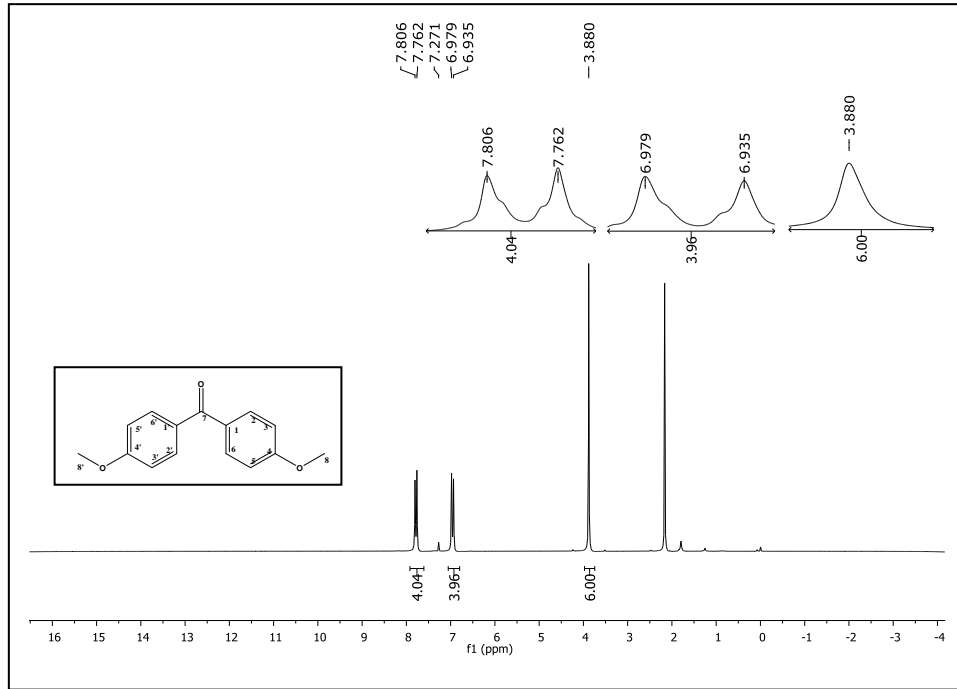


Figura 45- Espectro de RMN de ¹H do derivado LFQM-122, (CDCl₃; 200 MHz).
Fonte: Do autor.

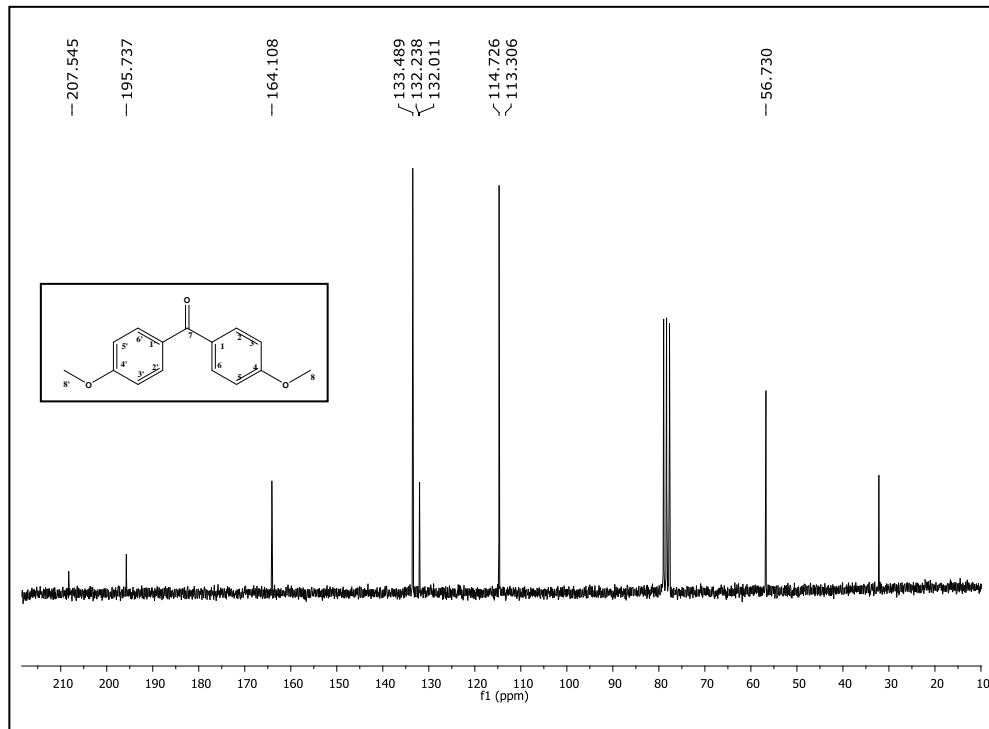


Figura 46- Espectro de RMN de ¹³C do derivado LFQM-122, (CDCl₃; 50 MHz).
Fonte: Do autor.

No espectro de massas (Figura 47) foram identificados os fragmentos mais importantes para elucidação estrutural deste composto, sendo que, na tabela 6 estão inseridas as massas e intensidades relativas. O pico do íon molecular do composto apresenta-se em m/z

242 e o pico base em m/z 31, conforme indicado na Figura 47, (a técnica de ionização foi feita por impacto eletrônico).

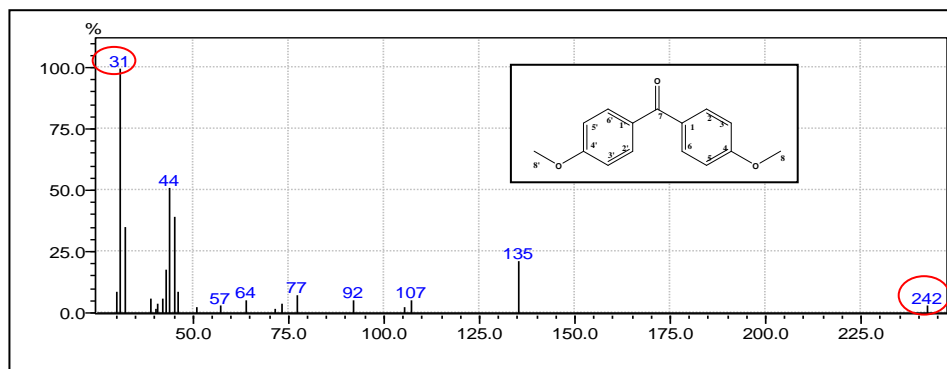


Figura 47- Espectro de massas do derivado LFQM-122.
Fonte: Do autor.

Tabela 5- Fragmentos importantes para elucidação estrutural do derivado LFQM-122

m/z	Fragmento	Intensidade relativa
31	$[\text{CH}_3\text{O}]^+$	100
77	$[\text{C}_6\text{H}_5]^+$	10
135	$[\text{C}_8\text{H}_7\text{O}_2]^+$	25
242	$[\text{C}_{15}\text{H}_{14}\text{O}_3]^+$	1

7.1.6 Derivado LFQM-123

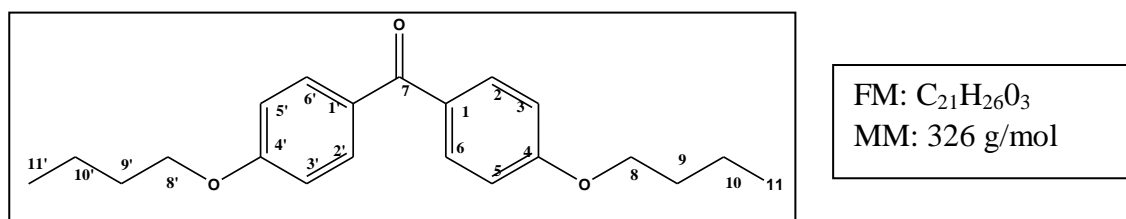


Figura 48- Derivado LFQM-123.
Fonte: Do autor.

O derivado LFQM-123 (Figura 48) foi obtido por reação de alquilação entre a 4,4'-diidroxibenzofenona (2) e $\text{C}_4\text{H}_9\text{Br}$, na qual foi utilizado o carbonato de potássio (K_2CO_3) que atuou como base e foram utilizados os solventes dimetilformamida (DMF) e acetona (YANG et al., 2009). O derivado apresentou-se como um sólido branco com p.f 151°C e um rendimento de 76%.

No espectro de infravermelho (Figura 49) foram observadas as seguintes bandas de absorção: banda fraca em 2965 cm^{-1} característico de estiramento C-H de aromático; banda

fraca em 2954 cm^{-1} característico de estiramento C-H de metila; banda forte em 1637 cm^{-1} referente ao estiramento C=O de carbonila; banda forte em 1250 cm^{-1} referente a C-O-C de éter aromático.

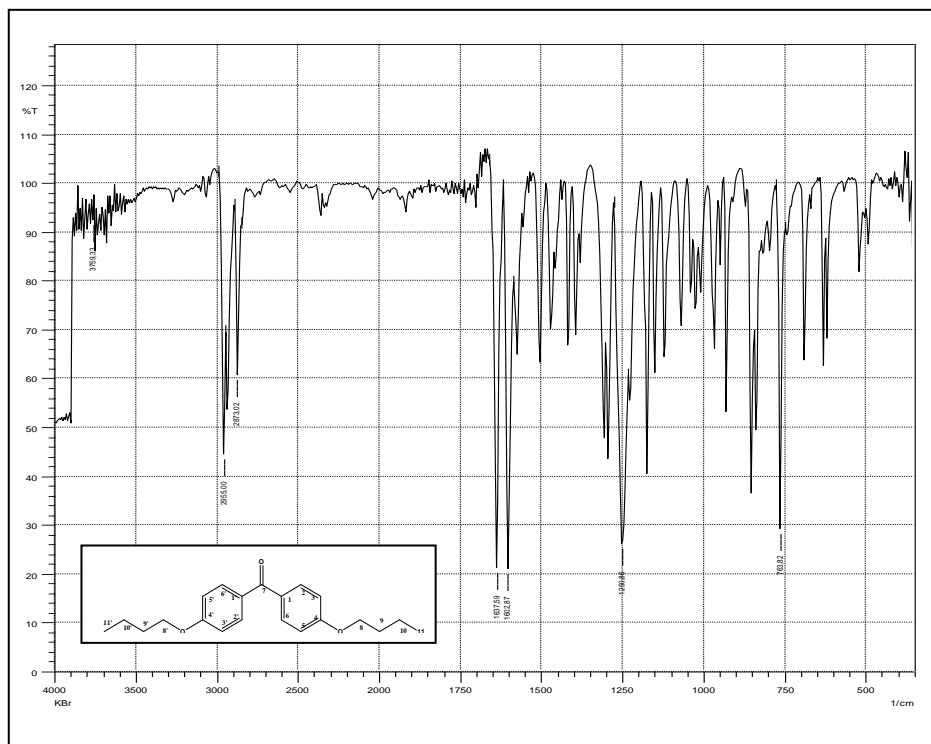


Figura 49-. Espectro de absorção na região do infravermelho do derivado LFQM-123, (KBr).
Fonte: Do autor.

O quadro 6 mostra os deslocamentos químicos, multiplicidade e as constantes de acoplamento (J) observados no espectro de RMN de ^1H (Figura 50), e os deslocamentos químicos observados no espectro de RMN de ^{13}C (Figura 51).

Quadro 6- Dados de RMN de ^1H e de RMN de ^{13}C do derivado LFQM-123.

δ_H	Hidrogênio	Multiplicidade e J (Hz)	δ_C	Carbono
0,9	H-11, H-11'	triplete; 7,3	14,6	C-11, C-11'
1,4	H-10, H-10'	sexteto; 7,3	19,9	C-10, C-10'
1,8	H-9, H-9'	quinteto; 7,2	68,7	C-8, C-8'
4,0	H-8, H-8'	triplete; 7,4	114,6	C-3, C-5, C-3', C-5'
6,9	H-3, H-5, H-3', H-5'	duplete; 8,8	131,3	C-2, C-6, C-2', C-6'
7,0	H-2, H-6, H-2', H-6'	duplete; 8,8	132,9	C-1, C-1'

			163,2	C-4, C-4'
			195,2	C-7

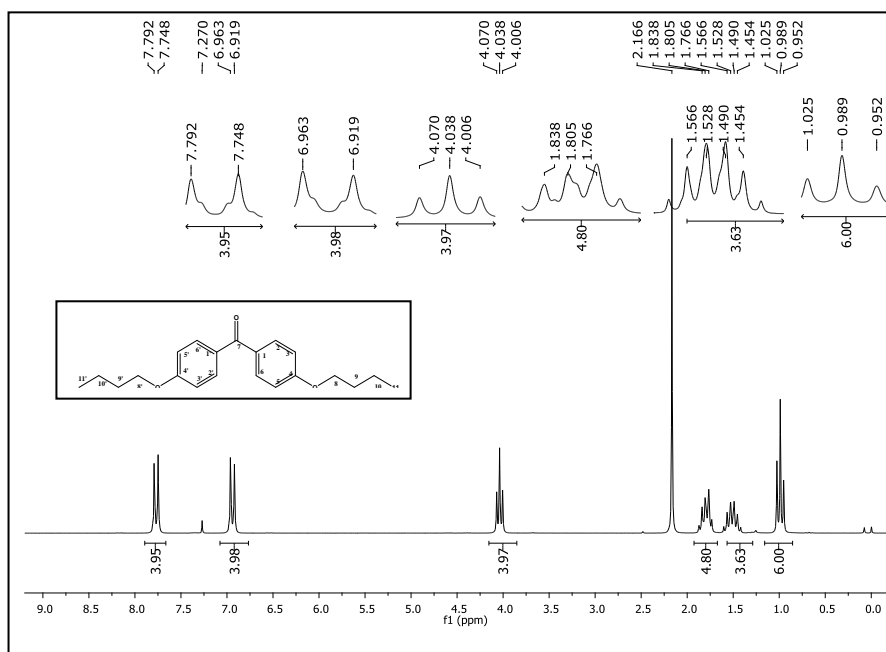


Figura 50- Espectro de RMN de ^1H do derivado LFQM-123, (CDCl_3 ; 200 MHz).
Fonte: Do autor.

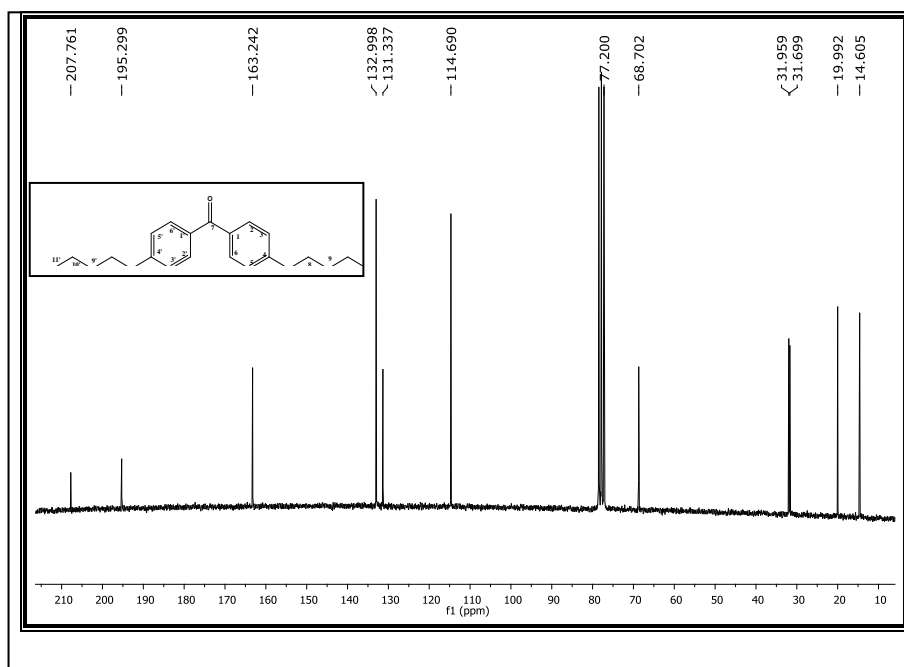


Figura 51- Espectro de RMN de ^{13}C do derivado LFQM-123, (CDCl_3 ; 50 MHz).
Fonte: Do autor.

No espectro de massas (Figura 52) foram identificados os fragmentos mais importantes para elucidação estrutural deste composto, sendo que, na tabela 7 estão inseridas as massas e intensidades relativas. O pico do íon molecular do composto apresenta-se em m/z

326 e o pico base em m/z 121, conforme indicado na Figura 52, (a técnica de ionização foi feita por impacto eletrônico).

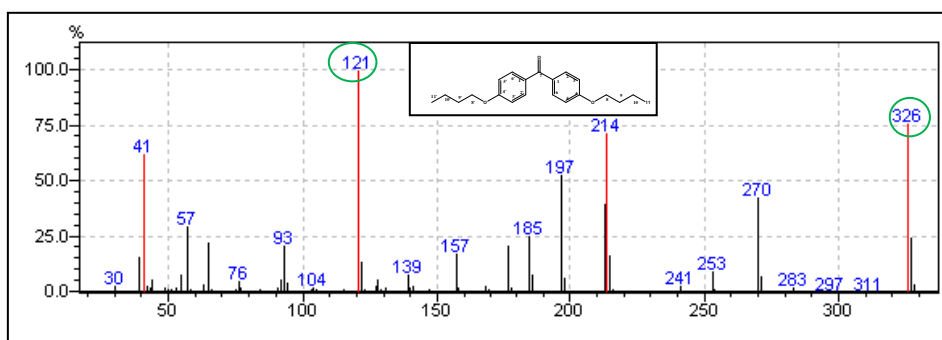
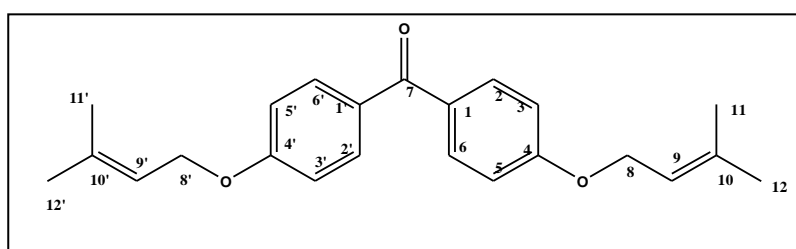


Figura 52- Espectro de massas do derivado LFQM-123.
Fonte: Do autor.

Tabela 6- Fragmentos importantes para elucidação estrutural do derivado LFQM-123.

m/z	Fragmento	Intensidade relativa
41	$[C_3H_5]^+$	30
69	$[C_5H_9O]^+$	25
121	$[C_7H_5O_2]^+$	100
214	$[C_{13}H_{10}O_3]^+$	25
326	$[C_{21}H_{26}O_3]^+$	75

7.1.7 Derivado LFQM-124



FM: $C_{23}H_{26}O_3$
MM: 350,19 g/mol

Figura 52- Derivado LFQM-124.
Fonte: Do autor.

O derivado LFQM-124 (figura 52) foi obtido por reação de alquilação entre a 4,4'-diidroxibenzofenona (2) e C_5H_9Br , na qual foi utilizado o carbonato de potássio (K_2CO_3) que atuou como base e foram utilizados os solventes dimetilformamida (DMF) e acetona (YANG et al., 2009). O derivado apresentou-se como um sólido branco com p.f $99^\circ C$ e um rendimento de 82%.

No espectro de infravermelho (Figura 53) foram observadas as seguintes bandas de absorção: banda fraca em 2966 cm^{-1} característico de estiramento C-H de aromático; em 2925 cm^{-1} característico de estiramento C-H de metila; banda forte em 1600 cm^{-1} referente ao estiramento C=O de carbonila; banda forte em 1247 cm^{-1} referente ao C-O-C de éter aromático.

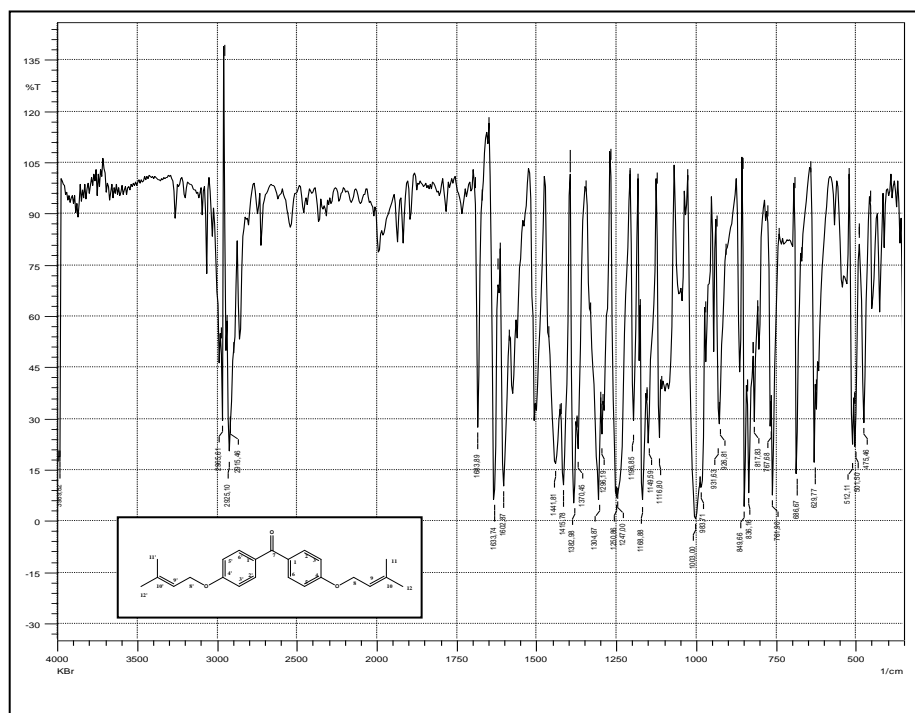


Figura 53- Espectro de infravermelho do derivado LFQM-124, (KBr).
Fonte: Do autor.

O quadro 7 mostra os deslocamentos químicos, multiplicidade e as constantes de acoplamento (J) observados no espectro de RMN de ^1H (Figura 54), e os deslocamentos químicos observados no espectro de RMN de ^{13}C (Figura 55).

Quadro 7- Dados de RMN de ^1H e de RMN de ^{13}C do derivado LFQM-124.

δ_H	Hidrogênio	Multiplicidade e J (Hz)	δ_C	Carbono
1,7	H-11, H-11'	singleto	18,8	C-11, C-11'
1,8	H-12, H-12'	singleto	26,4	C-12, C-12'
4,5	H-8, H-8'	dupleto; 6,8	65,5	C-8, C-8'
5,5	H-9, H-9'	tripleto; 6,5	114,6	C-3, C-5, C-3', C-5'
6,9	H-3, H-5, H-3', H-5'	dupleto; 8,8	119,6	C-9, C-9'

7,7	H-2, H-6, H-2', H-6'	dupleto; 8,8	131,2	C-2, C-6, C-2', C-6'
			132,7	C-1, C-1'
			139,3	C-10, C-10'
			162,7	C-4, C-4'
			195,0	C-7

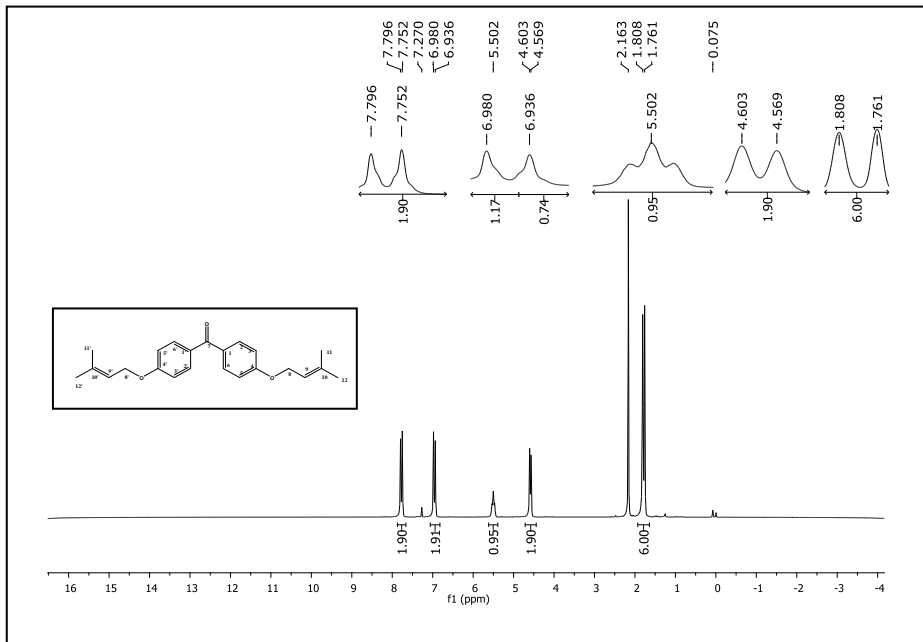


Figura 54- Espectro de RMN de ^1H do derivado LFQM-124, (CDCl_3 ; 200 MHz).
Fonte: Do autor.

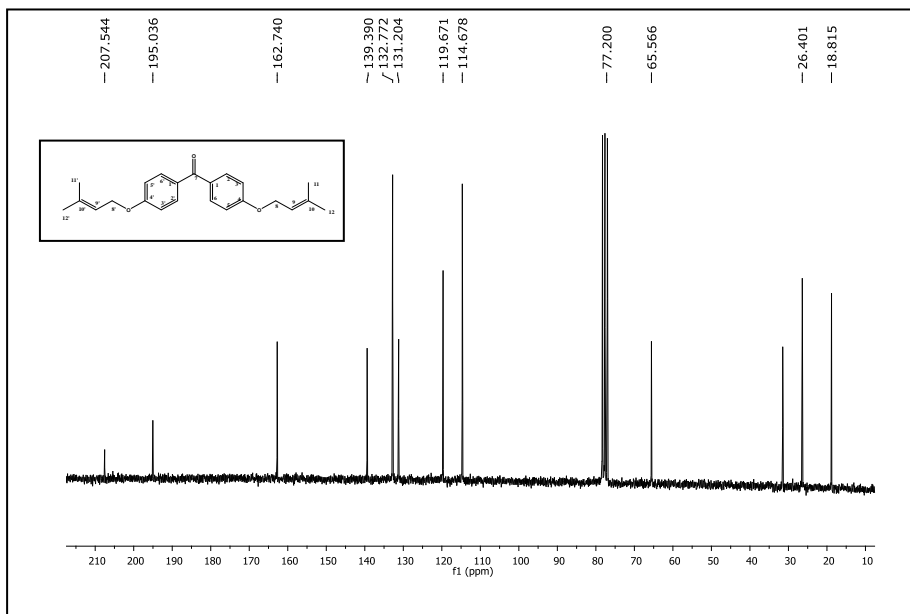


Figura 55- Espectro de RMN de ^{13}C do derivado LFQM-124, (CDCl_3 ; 50 MHz).
Fonte: Do autor.

No espectro de massas (Figura 56) foram identificados os fragmentos mais importantes para elucidação estrutural deste composto, sendo que, na tabela 8 estão inseridas as massas e intensidades relativas. O pico do íon molecular do composto apresenta-se em m/z 350 e o pico base em m/z 69, conforme indicado na Figura 56, (a técnica de ionização foi feita por impacto eletrônico).

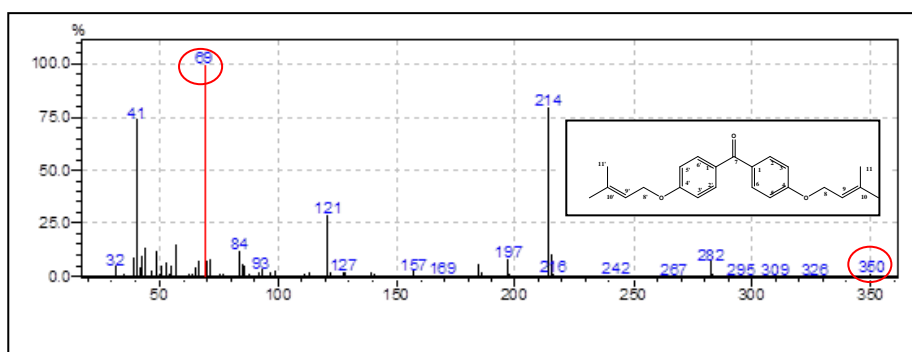
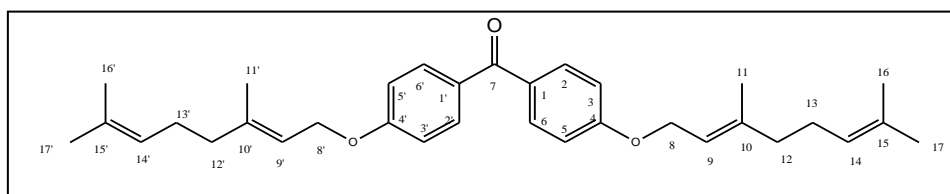


Figura 56- Espectro de massas do derivado LFQM-124.
Fonte: Do autor

Tabela 7- Fragmentos importantes para elucidação estrutural do derivado LFQM-124.

m/z	Fragmento	Intensidade relativa
41	$[C_3H_5]^+$	75
69	$[C_5H_9O]^+$	100
121	$[C_7H_5O_2]^+$	30
214	$[C_{13}H_{10}O_3]^+$	80
350	$[C_{23}H_{26}O_3]^+$	1

7.1.8 Derivado LFQM-125



FM: $C_{33}H_{42}O_3$
MM: 486,52 g/mol

Figura 57- Derivado LFQM-125.
Fonte: Do autor.

O derivado LFQM-125 (Figura 57) foi obtido por reação de alquilação entre a 4,4'-diidroxibenzofenona (2) e $C_{10}H_{17}Br$, na qual foi utilizado o carbonato de potássio (K_2CO_3) e os solventes dimetilformamida (DMF) e acetona (YANG et al., 2009). O derivado apresentou-se como um sólido branco, com p.f $87^\circ C$ e um rendimento de 58,4%.

No espectro de infravermelho do derivado LFQM-125 (Figura 58) foram observadas as seguintes bandas de absorção: bandas em 2972 cm^{-1} , 2928 cm^{-1} característico de estiramento C-H de metila, uma banda de absorção em 1651 cm^{-1} referente a estiramento C=O de carbonila, uma banda de absorção em 1280 cm^{-1} característico de C-O-C de éter aromático.

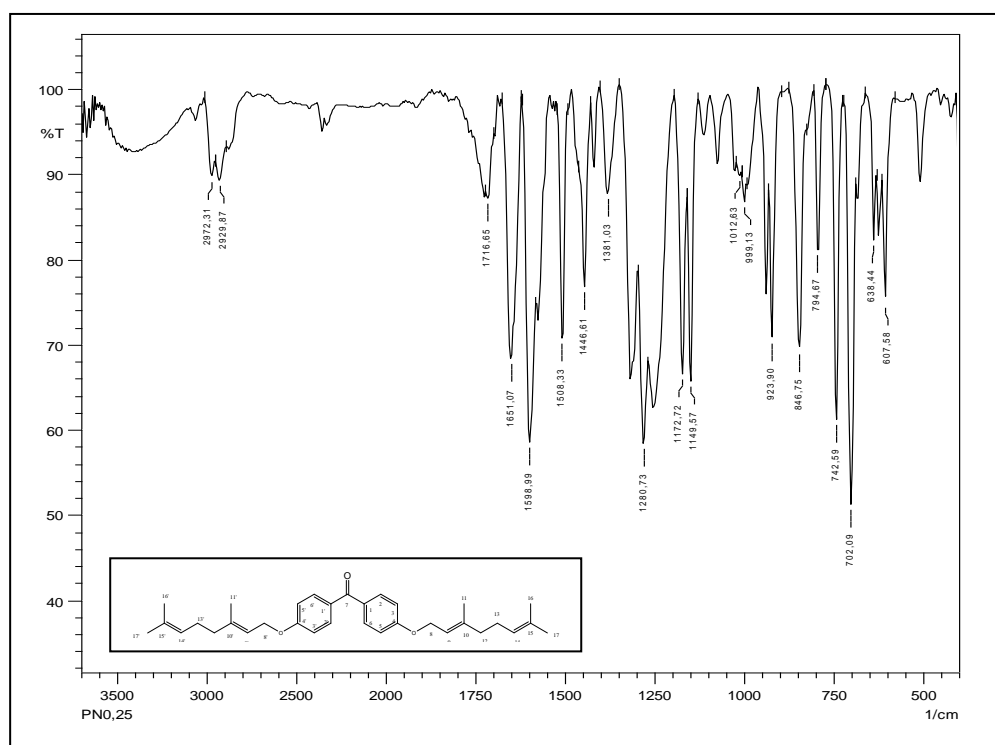


Figura 58- Espectro na região do infravermelho do derivado LFQM-125, (KBr).

Fonte: Do autor.

O quadro 8 mostra os deslocamentos químicos, multiplicidade e as constantes de acoplamento (J) observados no espectro de RMN de ^1H (Figura 59), e os deslocamentos químicos observados no espectro de RMN de ^{13}C (Figura 60).

Quadro 8- Dados de ^1H e de RMN de ^{13}C do derivado LFQM-125.

δ_H	Hidrogênio	Multiplicidade e J (Hz)	δ_C	Carbono
1,6	H-16, H-16'	Singleto	16,8	C-11, C-11'
1,7	H-17, H-17'	Singleto	17,8	C-16, C-16'
1,8	H-11, H-11'	Singleto	25,8	C-17, C-17'
2,1	H-12, H-12'	Singleto	26,3	C-13, C-13'
2,2	H-13	Singleto	65,1	C-8, C-8'
4,6	H-8, H-8'	dupleto; 6,0	114,2	C-3, C-5, C-3', C-5'

5,1	H-14, H-14'	Singleto	118,9	C-9, C-9'
5,5	H-9, H-9'	Singleto	123,8	C-14, C-14'
7,0	H-3, H-5, H-3', H-5'	dupleto; 8,0	130,7	C-2, C-6, C-2', C-6'
7,8	H-2, H-6, H-2', H-6'	dupleto; 8,0	132,0	C-1, C-1'
			132,3	C-15, C-15'
			141,9	C-10, C-10'
			162,2	C-4, C-4'
			194,6	C-7

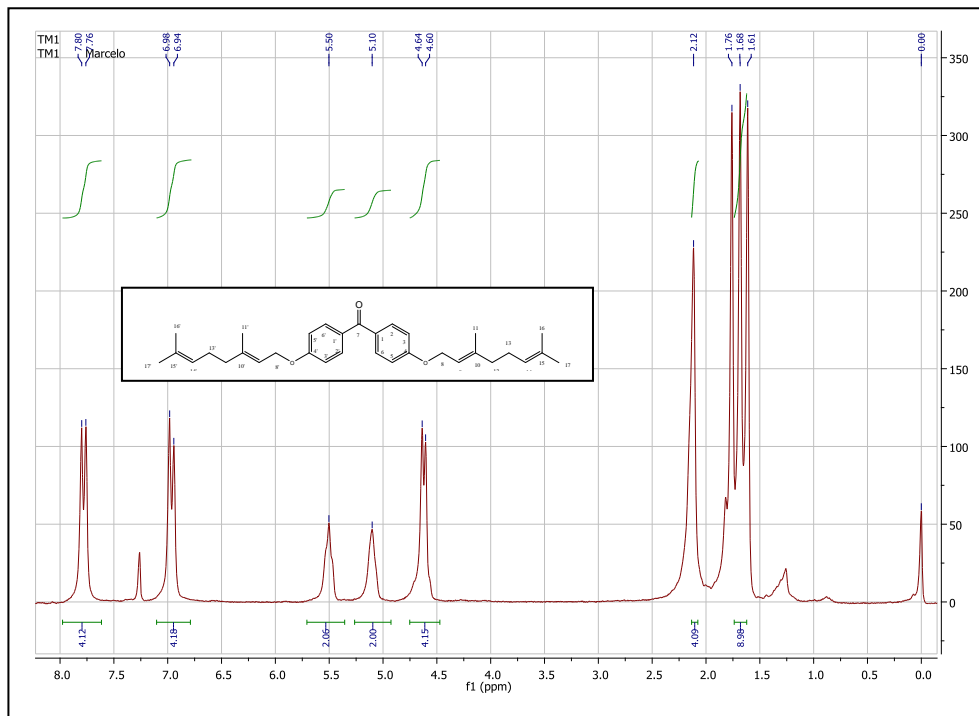


Figura 59- Espectro de RMN de ^1H do derivado LFQM-125, (CDCl_3 ; 200 MHz).
Fonte: Do autor.

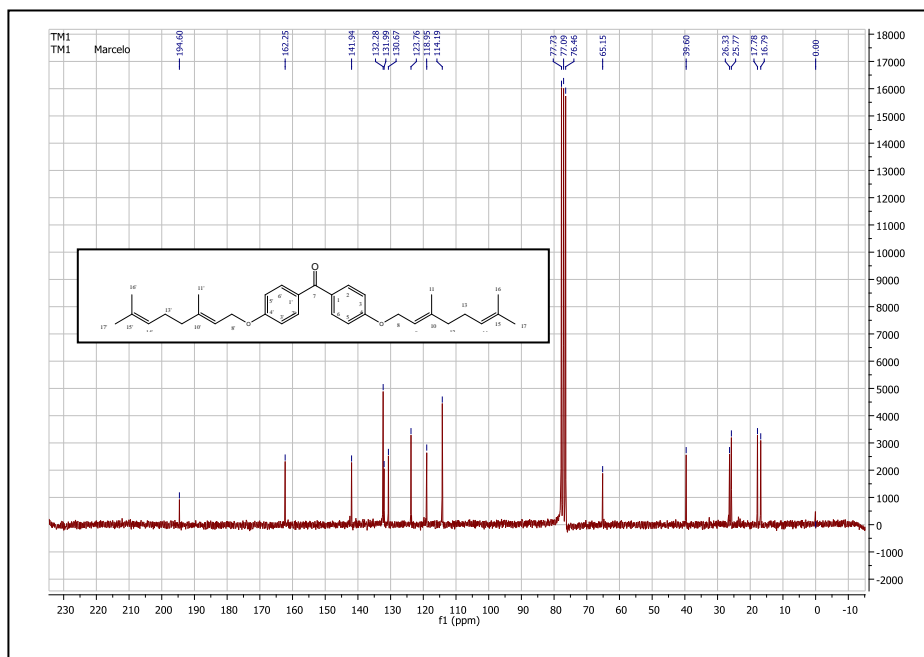


Figura 60- Espectro de RMN de ^{13}C do derivado LFQM-125, (CDCl_3 ; 50 MHz).
Fonte: Do autor.

No espectro de massas (Figura 61) foram identificados os fragmentos mais importantes para elucidação estrutural deste composto, sendo que, na tabela 10 estão inseridas as massas e intensidades relativas. O pico do íon molecular do composto apresenta-se em m/z 486 e o pico base em m/z 69, conforme indicado na Figura 61, (a técnica de ionização foi feita por impacto eletrônico).

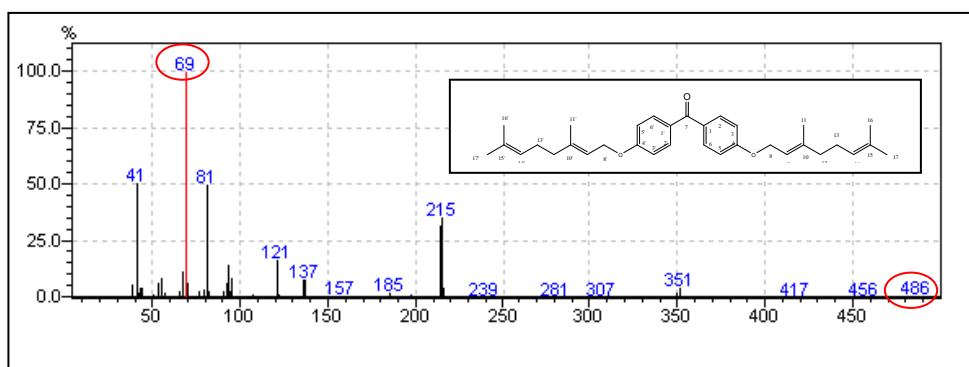


Figura 61- Espectros de massas do derivado LFQM-125.
Fonte: Do autor.

Tabela 8- Fragmentos importantes para elucidação estrutural do derivado LFQM-125.

m/z	Fragmento	Intensidade relativa
41	$[\text{C}_3\text{H}_5]^+$	50
69	$[\text{C}_5\text{H}_9]^+$	100
81	$[\text{C}_6\text{H}_{11}]^+$	50

486

[C₃₃H₄₂O₃]⁺

1

7.2 ENSAIOS

7.2.1 Modelo de indução de hiperalgesia mecânica em camundongos (Von Frey)

Neste teste foi avaliado o efeito antinociceptivo das benzofenonas de origem codificadas como substâncias 1 e 2 e de seus respectivos derivados na dose de 100 µmol/Kg, usando como controles positivos indometacina (100 µmol/Kg), cetoprofeno (100 µmol/Kg), e a carragenina (0,5%, 20 µl/pata) para induzir a hipernocicepção. A carragenina é uma substância que causa edema e uma sensibilidade exacerbada a estímulos térmicos e mecânicos, sendo conhecido como hipernocicepção (NANTEL et al., 1999).

Os resultados mostrados na tabela 9 revelam que em 180 minutos, os derivados LFQM-119, LFQM-120 e LFQM-121 promovem um aumento significativo do limiar da dor de 32,8, 43,4 e 72,7% respectivamente na dose de 100 µmol/kg, enquanto a substância precursora nessa mesma dose não exibiu efeito antinociceptivo. Estes derivados exibiram efeito antinociceptivo igual ao dos fármacos de referência indometacina e cetoprofeno, sendo este resultado bastante satisfatório.

Tabela 9- Efeito de 1 e seus derivados no ensaio Von Frey.

Tratamento	Aumento do limiar da dor (%)		
	30 min	60 min	180 min
Veículo (controle negativo)	- ^b	- ^c	- ^b
1	17,6 ^b	34,4 ^b	3,29 ^b
LFQM-118	13,2 ^b	30,2 ^b	-7,63 ^b
LFQM-119	26,8 ^b	41,7 ^b	32,8 ^a
LFQM-120	61,8 ^a	60,3 ^a	43,4 ^a
LFQM-121	50,1 ^a	54,2 ^a	72,7 ^a

Indometacina	56,8 ^a	66,0 ^a	49,5 ^a
Cetoprofeno	57,7 ^a	47,0 ^b	35,0 ^a

Médias seguidas de mesmas letras nas colunas não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de nível de significância.

Na tabela 10 estão os resultados obtidos para a molécula precursora 2 e seus derivados. Os resultados mostram que, a molécula 2 e o derivado LFQM-124 apresentaram o melhor perfil de atividade antinociceptiva promovendo um aumento do limiar da dor de 63,8% e 63,1% respectivamente. Este efeito foi estatisticamente igual ao do fármaco de referência indometacina (71,2%). Os derivados LFQM-122, LFQM-123 e LFQM-125 apresentaram menor atividade comparada as moléculas citadas anteriormente, entretanto os mesmos, promoveram um efeito igual ao do outro fármaco de referência cetoprofeno. O aumento do limiar da dor promovido foi de 45,5%, 32,8%, 42,7% e 46,7% respectivamente.

Tabela 10- Efeito de 2 e seus derivados no ensaio Von Frey.

Tratamento	Aumento do limiar da dor (%)		
	30 min	60 min	180 min
Veículo (controle negativo)	- ^b	- ^c	- ^c
2	50,6 ^a	59,1 ^a	63,8 ^a
LFQM-122	75,1 ^a	56,8 ^a	45,5 ^b
LFQM-123	14,4 ^b	23,0 ^b	32,8 ^b
LFQM-124	65,1 ^a	49,6 ^a	63,1 ^a
LFQM-125	45,1 ^a	28,2 ^b	42,7 ^b
Indometacina	54,0 ^a	55,8 ^a	71,2 ^a
Cetoprofeno	52,9 ^a	46,8 ^a	46,7 ^b

Médias seguidas de mesmas letras nas colunas não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de nível de significância.

7.2.2 Teste de edema de pata induzido por carragenina

Todos os derivados da 4-hidroxibenzofenona (1) e da 4,4'-diidroxibenzofenona (2) foram submetidos a este ensaio. Após injeção intraplantar de carragenina, dentro da primeira hora o aumento da permeabilidade vascular é mediado pela histamina e a liberação de serotonina, na segunda hora a permeabilidade aumenta em resultado da liberação de cininas e, finalmente, na terceira hora devido a ação das prostaglandinas. (MOREIRA et al., 2013). Os dados apresentados na tabela 11 revelam que na terceira hora o derivado LFQM-119 na dose de 100 $\mu\text{mol/Kg}$ inibiu o edema inflamatório em 81,0% promovendo um efeito igual ao da indometacina, enquanto a molécula precursora 4-hidroxibenzofenona (1), inibiu 45% do edema inflamatório.

Tabela 11- Efeito de 1 e seus derivados no edema de pata induzido por carragenina.

Tratamento	Inibição do edema inflamatório (%)			
	1 h	2 h	3 h	4 h
Veículo (controle negativo)	- ^b	- ^c	- ^d	- ^b
1	21,0 ^b	38,0 ^b	45,0 ^b	63,0 ^a
LFQM-118	13,0 ^b	57,0 ^b	20,0 ^c	15,0 ^b
LFQM-119	73,0 ^a	75,0 ^a	81,0 ^a	76,0 ^a
LFQM-120	29,0 ^b	75,0 ^a	32,0 ^c	60,0 ^a
LFQM-121	-30,0 ^c	42,0 ^b	47,0 ^b	35,0 ^b
Indometacina	2,0 ^b	49,0 ^b	66,0 ^a	45,0 ^a

Cetoprofeno	63,0 ^a	48,0 ^b	60,0 ^a	66,0 ^a
-------------	-------------------	-------------------	-------------------	-------------------

Médias seguidas de mesmas letras nas colunas não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de nível de significância.

Na tabela 12 estão expressos os resultados para a substância 2 e seus derivados para o ensaio edema de pata induzido por carragenina. A análise dos resultados mostraram que, os derivados LFQM-122 e LFQM-123 apresentaram melhor perfil da atividade anti-inflamatória na dose de 100µmol/Kg, promovendo uma inibição do edema inflamatório igual a 58,5% e 73,6% respectivamente. O efeito promovido por estes derivados foi estatisticamente igual ao promovido pelos fármacos de referência indometacina (66,0%) e cetoprofeno (60,4%) e melhor que o efeito promovido pela molécula precursora 2 que inibiu 24,5% do edema inflamatório.

Tabela 12- Efeito de 2 e seus derivados no edema de pata induzido por carragenina.

Tratamento	Inibição do edema inflamatório (%)			
	1 h	2 h	3 h	4 h
Veículo (controle negativo)	- ^b	- ^b	- ^c	- ^b
2	47,4 ^a	34,5 ^a	24,5 ^b	49,0 ^a
LFQM-122	23,7 ^b	20,0 ^b	58,5 ^a	38,8 ^a
LFQM-123	42,1 ^a	60,0 ^a	73,6 ^a	53,0 ^a
LFQM-124	44,7 ^a	58,2 ^a	20,7 ^b	57,1 ^a
LFQM-125	18,4 ^b	1,8 ^b	24,5 ^b	36,7 ^a

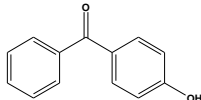
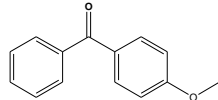
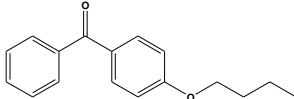
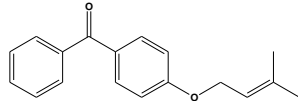
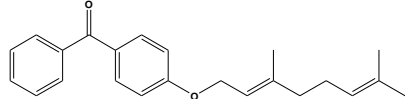
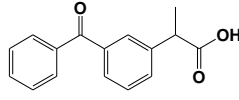
Indometacina	2,63 ^b	49,1 ^a	66,0 ^a	44,9 ^a
Cetoprofeno	63,1 ^a	47,3 ^a	60,4 ^a	65,3 ^a

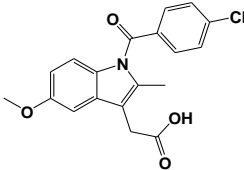
Médias seguidas de mesmas letras nas colunas não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de nível de significância.

7.2.3 Previsão da lipofilicidade

Os valores da lipofilicidade da substância 1 e seus derivados (tabela 13) e da substância 2 e de seus derivados (tabela 14) foram calculados teoricamente através da determinação do *cLogP* (octanol/água) usando o programa QikProp version 3.2.

Tabela 13- Resultados da previsão da lipofilicidade de 1 e seus derivados.

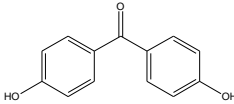
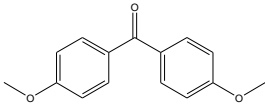
Substância	Estrutura química	<i>cLogP</i>
1		2,23
LFQM-118		2,94
LFQM-119		4,17
LFQM-120		3,98
LFQM-121		6,06
Cetoprofeno		3,12

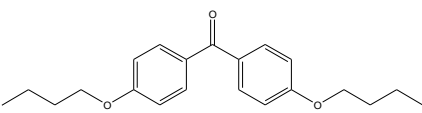
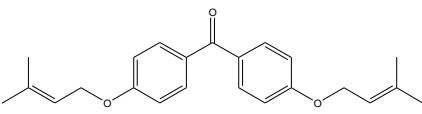
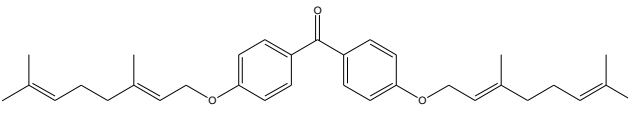
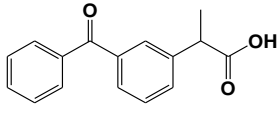
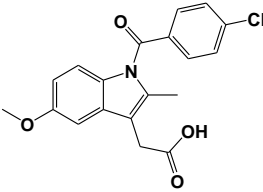
Indometacina		4,26
--------------	--	------

Ao tentar-se estabelecer uma relação entre os valores de $cLogP$ mostrados na tabela 13 e a atividade farmacológica exibida na terceira hora (dose de $100\mu\text{mol/Kg}$), observou-se que, em relação ao perfil de atividade antinociceptiva os derivados que foram mais ativos (LFQM-119, LFQM-120, LFQM-121) da série da 4-hidroxibenzofenona (1) apresentaram valores teóricos de $cLogP$ entre 4-6. Outro fato importante, é que existe uma tendência inicial de que, quando aumenta-se a lipofilicidade, a qual é refletida no aumento do valor de $cLogP$, ocorre um aumento da atividade farmacológica. Isso pode ser observado para as moléculas 1 e LFQM-118 que com valores de $cLogP$ de 2,23 e 2,94 respectivamente não apresentaram nenhum efeito antinociceptivo significativo, entretanto quando este valor é aumentado para próximo de 4 (LFQM-119 $cLogP= 4,17$), observa-se uma atividade farmacológica significativa. Uma outra tendência observada é que, a partir do derivado LFQM-119 até o derivado LFQM-121, ao aumentar-se a lipofilicidade estima-se que não há uma melhoria na atividade, visto que, os derivados LFQM-119, LFQM-120 e LFQM-121, exibiram o mesmo efeito antinociceptivo. Para a atividade anti-inflamatória, o derivado LFQM-119 com $cLogP=4,17$, um valor intermediário de $cLogP$ dentre os valores calculados (2,23-6,06), exibiu melhor perfil de atividade anti-inflamatória. Este fato, pode evidenciar que para este caso provavelmente há uma tendência em se ter uma lipofilicidade ideal para uma melhor atividade farmacológica.

Na tabela 14 é mostrado os valores de $cLogP$ calculados teoricamente para a molécula precursora 2 e seus derivados.

Tabela 14- Resultados da previsão da lipofilicidade de 2 seus derivados.

Substância	Estrutura química	$cLogP$
2		1,65
LFQM-122		2,99

LFQM-123		5,37
LFQM-124		5,82
LFQM-125		9,03
Cetoprofeno		3,12
Indometacina		4,26

Ao tentar-se estabelecer novamente uma relação entre os valores teóricos da lipofilicidade das moléculas e seu perfil de atividade farmacológica observou-se que, as moléculas com melhor efeito antinociceptivo (2 e LFQM-124) apresentam valores de $c\text{Log}P$ relativamente bastante distintos (2, $c\text{Log}P=1,65$ e LFQM-124, $c\text{Log}P=5,82$) e para o perfil de atividade anti-inflamatória o mesmo foi observado para os derivados com melhor atividade, os quais foram LFQM-122, LFQM-123 e LFQM-125 com valores de $c\text{Log}P$ de 2,99, 5,37 e 9,03 respectivamente. Logo, pode-se estimar que, neste dois casos a lipofilicidade do grupo substituinte provavelmente não consiste no parâmetro determinante para a atividade farmacológica.

7.2.4 Docking molecular

O estudo de docking foi realizado para as moléculas mais ativas de cada série, na série da 4-hidroxibenzofenona (1) o derivado LFQM-119 foi o mais ativo e na série da 4,4'-diidroxibenzofenona os derivados mais ativos foram o LFQM-122, LFQM-123 e LFQM-124. O objetivo inicial era elucidar os tipos de interações dessas substâncias com o sítio catalítico das isoformas COX-1 e COX-2. As estruturas cristalinas utilizadas para isoforma COX-1 foi a codificada como 1EQG e para a COX-2 codificada como 3NT1. A fim de caracterizar a

afinidade da ligação de cada complexo (enzima+ligante), foi utilizado o parâmetro GlideScore (uma aproximação da energia livre de Gibbs). Quanto mais negativo o valor de GlideScore, mais favorável é a ligação. Na tabela 15, são mostrados os dois parâmetros calculados teoricamente o GlideScore e a Ki (constante de inibição).

Tabela 15- Parâmetros teóricos calculados no docking molecular.

Enzimas	Ligantes	GlideScore (kcal mol ⁻¹)	Ki ^a (nM)
COX-1	LFQM-119	-10,053	42,73
	LFQM-122	-9,323	146,41
	LFQM-123	-11,219	5,97
	LFQM-124	-11,449	4,04
COX-2	LFQM-119	-10,139	36,98
	LFQM-122	-10,119	38,21
	LFQM-123	-11,160	6,59
	LFQM-124	-11,174	6,44

^aA constante Ki foi calculada baseada na fórmula: $\Delta G = -RT \ln(Ki)$ onde ΔG é considerado como GlideScore, R é constante universal de gas e T é a temperatura (298.15K).

Através da análise dos resultados da tabela 15, observa-se que, para os derivados LFQM-118 e LFQM-122 o valor de GlideScore é mais negativo para COX-2 do que para COX-1, o que é evidenciado por uma menor Ki para COX-2 do que para a COX-1. Assim, pode-se estimar que, os derivados LFQM-119 e LFQM-122 exibem uma melhor interação com a COX-2. Podemos observar na Figura 62, na qual é mostrada o diagrama de interações 2D da COX-1+LFQM-119 (a), COX-2+LFQM-119 (b), que o derivado LFQM-119 apresenta uma única interação com a COX-1, sendo a mesma uma interação de hidrogênio com o resíduo de Tyr 355. Este mesmo derivado com a COX-2 já exibe um número maior de interações, apresentando uma interação de hidrogênio com o resíduo de Ser 530 e duas interações π - π stacking sendo uma com o resíduo de Tyr 385 e outra com o resíduo Trp 387. Logo, provavelmente o número e os tipos de interações devem influenciar na estabilidade do complexo enzima+ligante, promovendo assim de acordo com os parâmetros teóricos calculados uma maior afinidade do derivado LFQM-119 pela COX-2.

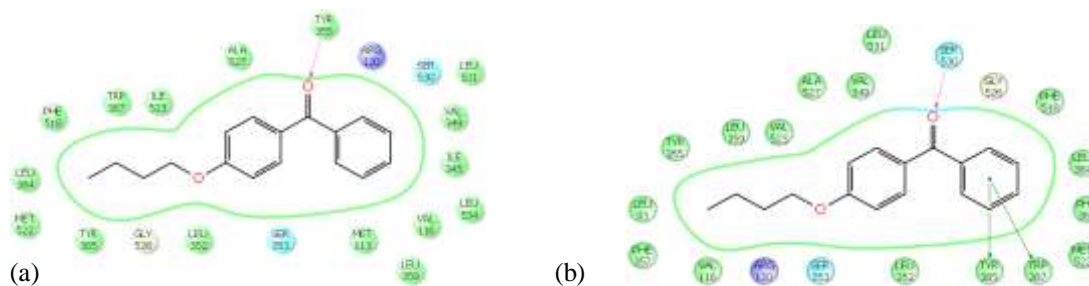


Figura 62- Diagrama de interação 2D do complexo enzima+ligante.
Fonte: Do autor

- (a) COX-1+LFQM-119
(b) COX-2+LFQM-119

Na Figura 63 é mostrado no diagrama de interação 2D, as interações entre as isoformas da COX e o derivado LFQM-122. Nesta figura é observado que, há dois pontos de interações com a COX-1 estabelecendo uma interação de hidrogênio com o resíduo de Ser 530 e uma interação π - π stacking com o resíduo Tyr 385. Com a COX-2 este derivado possui um número maior de pontos de interações, exibindo duas interações de hidrogênio uma com o resíduo de Ser 530 e a outra com o resíduo de Tyr 355. Apresenta ainda uma interação π - π stacking com o resíduo Tyr 385. Novamente, provavelmente o maior número de pontos de interações existente entre o derivado LFQM-122 e a COX-2 seja responsável por uma melhor estabilidade do complexo enzima+ligante, o que reflete em uma maior afinidade entre eles. É interessante observar que, este derivado possui um valor de $K_i=146,41$ nM para COX-1 e $K_i=38,21$ nM para COX-2, estes dados revelam que, o valor de K_i para COX-1 é quase quatro vezes maior do que para COX-2, o que indica que teoricamente está molécula teria uma afinidade muito maior pela COX-2, sendo assim, mais seletiva para esta isoforma.

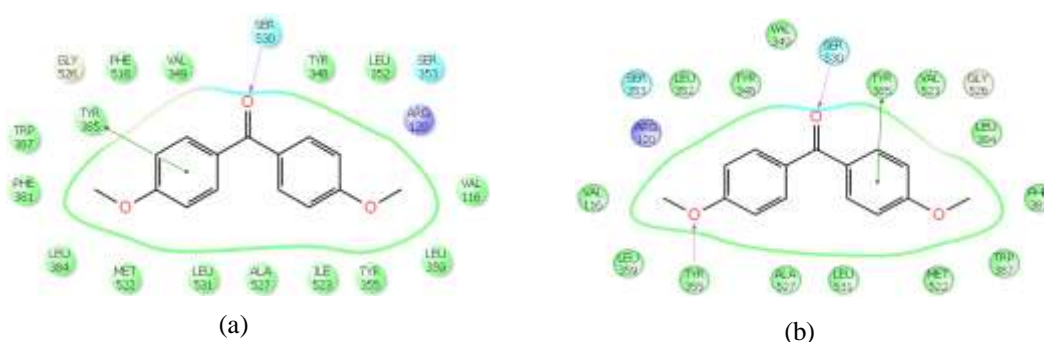


Figura 63- Diagrama de interação 2D do complexo enzima+ligante.
Fonte: Do autor.

- (a) COX-1+LFQM-122
(b) COX-2+LFQM-122

Para os derivados LFQM-123 e LFQM-124, o valor de GlideScore é mais negativo para COX-1, o que é evidenciado por uma menor K_i para COX-1 do que para COX-2, conforme pode ser observado na tabela 15. As diferenças em termos de número e tipos de interações também provavelmente influenciaram na estabilidade complexo+ligante para estes derivados, promovendo assim uma maior afinidade destes derivados com a COX-1. O LFQM-123 apresenta um número maior de pontos de interações com a COX-1, sendo uma interação de hidrogênio com o resíduo de Ser 530 e duas π - π stacking com os resíduos de Tyr 355 e Arg 120. Com a COX-2 há duas interações de hidrogênio uma com o resíduo de Tyr 355 e outra com o resíduo de Arg 120 (Figura 64). O derivado LFQM-124 exibe o mesmo número de interações com a COX-1 e com a COX-2, entretanto estas interações são diferentes. Com a COX-1 o derivado LFQM-124 estabelece uma interação do tipo π - π stacking, com o resíduo de Tyr 355 e com a COX-2 estabelece uma interação de hidrogênio com o resíduo de Arg 120 (Figura 65). Entretanto, como a interação do derivado LFQM-124 baseado nos parâmetros analisados é melhor com a COX-1 do que com a COX-2, provavelmente a interação do tipo π - π stacking deve conferir maior estabilidade para o complexo enzima+ligante.

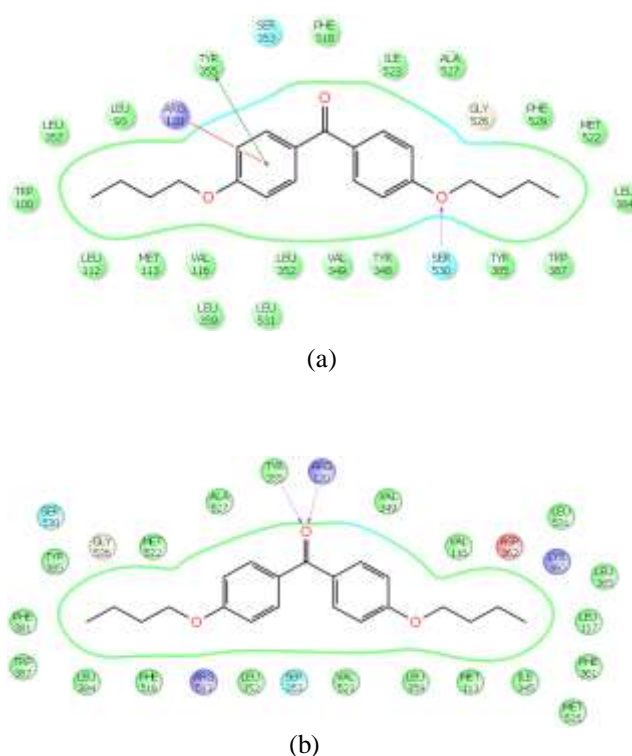
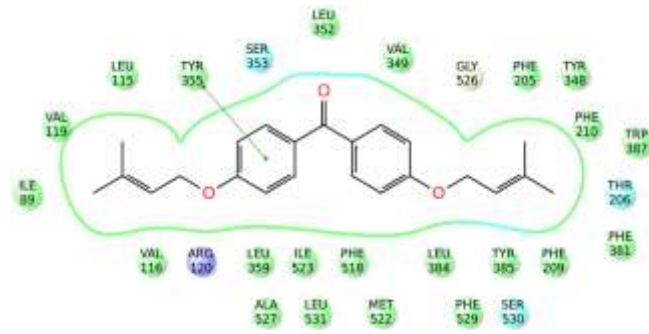
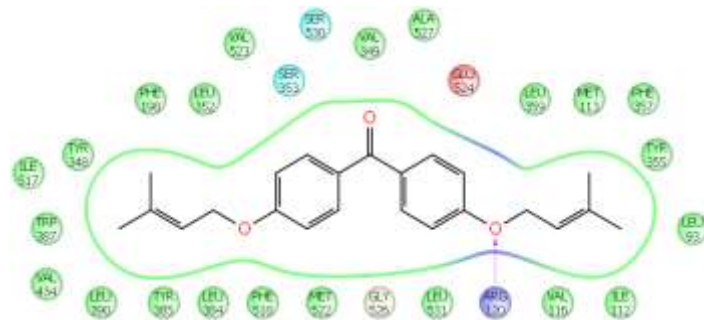


Figura 64- Diagrama de interação 2D do complexo enzima+ligante.
Fonte: Do autor.

- (a) COX-1+ LFQM-123
- (b) COX-2+LFQM-123



(a)



(b)

Figura 65-. Diagrama de interação 2D do complexo enzima+ligante.
 Fonte: Do autor.

- (a) COX-1+LFQM-124
- (b) COX-2+LFQM-124

8 CONCLUSÕES

Derivados alquilados da benzofenona 4- hidroxibenzofenona (1) e da 4,4'-diidroxibenzofenona foram sintetizados baseado na similaridade estrutural destas moléculas precursoras com a benzofenona natural 7-epi-clusianona e com o fármaco cetoprofeno. A avaliação farmacológica dos compostos sintetizados mostrou que, os derivados LFQM-119, LFQM-120 e LFQM-121 apresentaram um efeito antinociceptivo superior ao da molécula precursora 1. O derivado LFQM-119 apresentou melhores propriedades anti-inflamatórias nos ensaios realizados, sendo considerado a molécula mais promissora da série da 4-hidroxibenzofenona (1). O derivado LFQM-124 destacou-se por exibir um perfil de atividade antinociceptiva igual ao da indometacina e perfil superior ao do cetoprofeno. O LFQM-122 e LFQM-123 apresentaram efeito antinociceptivo igual ao do cetoprofeno e exibiram melhores propriedades anti-inflamatórias promovendo o mesmo efeito que a indometacina e um efeito superior ao da molécula precursora 4,4'-diidroxibenzofenona (2). O estudo de docking molecular estimou que, as moléculas LFQM-119 e LFQM-122 exibem melhor interação com a COX-2 e as moléculas LFQM-123 e LFQM-124 exibem melhor interação com a COX-1.

9 PERSPECTIVAS

- Realizar um estudo mais detalhado a respeito do mecanismo de ação dos derivados que apresentaram melhor perfil antinociceptivo e anti-inflamatório.
- Realizar o planejamento de novos derivados benzofenônicos baseado no perfil estrutural dos derivados mais promissores de cada série.

REFERÊNCIAS

BANDGAR, B.P et al. Synthesis and biological evaluation of nitrogen-containing benzophenone analogues as TNF- α and IL-6 inhibitors with antioxidant activity. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, v. 20, 2292-2296, 2010.

BARREIRO, E.J et al. The methylation effect in medicinal chemistry. *Chemical Reviews*, v.111, p. 5215-5246, 2011.

BARREIRO, E.B. Química medicinal: as bases moleculares da ação dos fármacos. 2. ed. Porto Alegre: Artimed, 2008. p 72-77.

CALIXTO, J.B. Efficacy, safety, quality control, marketing and regulatory guidelines for herbal medicines. Braz. *Journal of Medicinal Biological Research*, v.33, p. 179-189, 2000.

COUTINHO, M.A.S et al. Flavonóides: potenciais agentes terapêuticos para o processo inflamatório. *Revista Virtual Química*, v.3, p. 241-256, 2009.

CUNHA, T.M. et al. An electronic pressure-meter nociception paw test for mice. *Brazilian Journal of Medical Biological Research*, v.37, p. 401-407, 2004.

DANNHARDT, G. et al. Cyclooxygenase inhibitors – current status and future prospects. *European Journal Medicinal Chemistry*, v. 36, p. 109 – 126, 2001.

DELUCIA, R. Farmacologia Integrada. 2. ed. Rio de Janeiro: Revinter, 2004. p. 334-340.

FUNK, C.D. Prostaglandins and leukotrienes: advances in eicosanoid biology. *Science*, v. 294, p. 1871-1875, 2001.

GOODMAN, H.G. As bases farmacológicas da terapêutica. 11. ed. Rio de Janeiro: McGraw-Hill, 2007. p 424-431.

HARVEY, A. Strategies for discovering drugs from previously unexplored natural products. *Drug Disc Today*, v.5, p. 294-300, 2000.

HAYASHI, S. et al. Novel acid-type cyclooxygenase -2 inhibitors: Design , synthesis , and structureactivity relationship for anti-inflammatory drug. *European Journal of Medicinal Chemistry*, v. 50, p. 179-195, 2012.

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

HUSAIN, A. et al. Fenbufen based 3-[5-(substituted aryl)-1,3,4-oxadiazol-2-yl]-1-(biphenyl-4-yl)propan-1-ones as safer antiinflammatory and analgesic agents. *European Journal of Medicinal Chemistry*, v.44, p. 3798–3804, 2009.

KHAN, K.M. et al. 3-Formylchromones: potential antinflammatory agents. *European Journal of Medicinal Chemistry*, v. 45, p 4058-4064, 2010.

KHANUM, S.A. et al. Synthesis and anti-inflammatory activity of benzophenone analogues. *Bioorganic Chemistry*, v. 32, p. 211, 2004.

KHANUM, S.A. et al. Benzophenone-N-ethyl piperidine ether analogues—Synthesis and efficacy as anti-inflammatory agent. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, v.19, p. 1887–1891, 2009.

KUMMER, C. L. et al. Antinflamatórios não-Esteróidais inibidores da cicloxigenase-2 (COX-2): aspectos atuais. *Revista Brasileira Anestesiologia*. v.52, p. 498-512, 2002.

LAWRENCE, T. et al. Anti-inflammatory lipid mediators and insights into the resolution of inflammation. *Nature Reviews Immunology*, v. 2, p.787-795, 2002.

MENEGATTI, R. et al. Importância da síntese de fármacos. *Química Nova na Escola*, v.3, p. 16-22, 2001.

MOREIRA, M.E.C. et al. Anti-inflammatory effect of aqueous extracts of roasted and green coffea arabica L. *Journal of Functional Foods*, v. 5, p.466-474, 2013.

MUSA, K.A.K. et al. New nonsteroidal anti-inflammatory molecules with reduced photodegradation side effects and enhanced COX-2 selectivity. *International Journal of Quantum Chemistry*, v.111, p.1184–1195, 2011.

NANTEL, F. et al. Distribution and regulation of cyclooxygenase-2 in carrageenan-induced inflammation. *British Journal of Pharmacology*, v.128, p. 853-859, 1999.

SAKEENA, M.H.F. et al. Anti-inflammatory and analgesic effects of ketoprofen in palm oil esters nanoemulsion. *Journal of Oleo Science*, v. 59, p. 667-671, 2010.

SANTA-CECÍLIA, F.V. et al. Antinociceptive and anti-inflammatory properties of 7-epiclusianone, a prenylated benzophenone from *Garcinia brasiliensis*. *European Journal of Pharmacology*, v.670, p. 280-285, 2011.

SHERMAN, W. et al. Novel procedure for modeling ligand/receptor Induced fit effects. *Journal of Medicinal Chemistry*, v. 49, p.534-553, 2006.

SIMMONS, D. et al. Cyclooxygenase isozymes: the biology of prostaglandin synthesis and inhibition. *Pharmacological Reviews*, v. 56, p. 387-437, 2004.

UZGÖREN-BARAN, A. et al. Thiazolo [3,2-b]-1,2,4-triazole-5(6 H)-one substituted with ibuprofen: novel non-steroidal anti-inflammatory agents with favorable gastrointestinal tolerance. *European Journal of Medicinal Chemistry*, v. 57, p.1-9, 2012.

YANG, Z. et al. Design, synthesis, antitumor activity and mode of action of novel oxiranyl and thiranyl phenol derivatives. *Bull Korean Chemistry Societat*, v. 30, p.1463-1469, 2009.