



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ
INSTITUTO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA
MEDICINAL E MODELAGEM MOLECULAR**

**PLANEJAMENTO, SÍNTESE E AVALIAÇÃO DOS DERIVADOS
DA EDARAVONA QUANTO À ATIVIDADE ANTIOXIDANTE**

WANESSA CASTILHO AIRES

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química Medicinal e Modelagem Molecular como parte do requisito para obtenção do Título de Mestre em Química Medicinal e Modelagem Molecular sob a orientação do Prof. Dr. Rosivaldo Santos Borges.

**Belém – PA
2017**

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal do Pará
Gerada automaticamente pelo módulo Ficat, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

C352p Castilho aires, Wanessa
PLANEJAMENTO, SÍNTESE E AVALIAÇÃO DOS DERIVADOS DA EDARAVONA QUANTO À
ATIVIDADE ANTIOXIDANTE / Wanessa Castilho aires. — 2018
54 f. : il. color

Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-graduação em Química Medicinal e Modelagem Molecular
(PPGQM3), Instituto de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Pará, Belém, 2018.
Orientação: Prof. Dr. Rosivaldo Dos Santos Borges
Coorientação: Profa. Dra. Karen Renata Matos Oliveira.

1. Química computacional. 2. Edaravona. 3. Antioxidantes. 4. Imidazona. I. Dos Santos Borges,
Rosivaldo, *orient.* II. Título



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ
INSTITUTO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA MEDICINAL
E MODELAGEM MOLECULAR

PLANEJAMENTO, SÍNTESE E AVALIAÇÃO DOS DERIVADOS DA
EDARAVONA QUANTO À ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

WANESSA CASTILHO AIRES

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química Medicinal e Modelagem Molecular como parte do requisito para obtenção do Título de Mestre em Química Medicinal e Modelagem Molecular sob a orientação do Prof. Dr. Rosivaldo Santos Borges.

Data da apresentação: 28 de março de 2018

BANCA EXAMINADORA

Rosivaldo dos Santos Borges

Prof. Dr. Rosivaldo Dos Santos Borges
Instituto de Ciências da Saúde - ICS/UFPA – Orientador

Karen Renata Matos Oliveira

Prof. Dr(a). Karen Renata Matos Oliveira
Instituto de Ciências Biológicas - ICB/UFPA – Co-Orientadora

Carlos Augusto Lima Barros

Prof. Dr. Carlos Augusto Lima Barros
Instituto de Ciências da Saúde-ICS/UFPA – Membro

Antônio Maia de Jesus Chaves Neto

Prof. Dr. Antônio Maia de Jesus Chaves Neto
Instituto de Ciências Exatas e Naturais - ICEN/UFPA – Membro

BELÉM
2018

AGRADECIMENTOS

A elaboração deste trabalho não teria sido possível sem a colaboração, estímulo e empenho de diversas pessoas. Gostaria de expressar toda a minha gratidão e apreço a todos aqueles que, direta ou indiretamente, contribuíram para que este objetivo se tornasse uma realidade. A todos quero manifestar os meus sinceros agradecimentos.

Primeiramente à Jeová Deus, pelas bênçãos concedidas que tornaram possível que eu continuasse esse trabalho e que ele fosse finalizado.

Ao meu **PAI** e à minha **MÃE**, pela sólida formação de meu caráter e pelo incentivo que me proporcionou à continuidade nos estudos até à chegada a este mestrado, ao meu **IRMÃO** fonte de minha inspiração, os meus eternos agradecimentos.

Agradeço imensamente ao meu orientador Prof. Dr. Rosivaldo Borges por toda a paciência, exemplo de competência, inteligência, sabedoria e integridade. Sem sua orientação e apoio nada disso seria possível. Não existem palavras suficientes para expresser minha eterna gratidão.

Agradeço a todos os colegas do grupo do Núcleo de Estudos e Seleção de Moléculas Bioativas (NESBio) que me receberam e me fizeram sentir em casa desde o primeiro momento.

A banca de defesa dessa dissertação pela sua disponibilidade e avaliação do trabalho.

*“O significado das coisas não está nas coisas em si,
Mas sim em nossa atitude com relação a elas”
Antoine de Saint - Exupéry*

RESUMO

A edaravona é um fármaco liberado no mercado japonês, indicado no tratamento e prevenção de acidente vascular cerebral, relacionados a isquemia. Sua ação decorre de sua capacidade sequestradora dos radicais livres liberados no evento isquêmico. No entanto, seu uso acarreta efeitos toxicológicos renais. Portanto, neste presente trabalho, um novo derivado bioisostérico da edaravona foi proposto, pela mudança do anel pirazolona para indolona. A capacidade antioxidante foi determinada através de métodos computacionais. Os cálculos foram realizados no programa Gaussian, através do método B3LYP, com conjunto de bases 6-31G(d,p), implementado no programa Gaussian. A atividade antioxidante foi prevista a partir do HOMO, LUMO, Gap, potencial de ionização (PI) e energia da dissociação de ligação (EDL). Os cálculos indicaram que os compostos análogos apresentaram maiores valores de ClogP comparados à edaravona, indicando maior facilidade em ultrapassar as barreiras biológicas com maior caráter lipossolúvel. Também foi constatado que derivado, denominado imidazona, apresentou maior potencial como antioxidante que a edaravona. A presença da metila na posição 2 do anel heterocíclico foi determinante para a formação de estruturas de ressonância mais estáveis para a forma semiquinona. Todos os novos derivados propostos se mostraram extremamente promissores com capacidade antioxidante superior a edaravona.

Palavras-chave: Edaravona, antioxidante, química computacional, imidazona.

ABSTRACT

Edaravone is a commercial drug released on the Japanese Market, indicated in the treatment and prevention of ischemic stroke. Its action is due to its scavenger properties of free radical released in the ischemia. However, its use may lead to a kidney toxic effect. Therefore, in this work, a new bioisostere derivative from Edaravone was proposed, by the change of a pyrazolone ring for an indolone. Antioxidant properties was determined through computational methods. Calculations were undertaken in the software Gaussian, through the B3LYP method, with the set of bases 6-31G (d, p). Antioxidant activity was predicted from HOMO, LUMO, Gap, Ionization potential (IP) and Bond dissociation energy (BDE). Results indicate analogous compounds showed higher ClogP values compared to Edaravone, which means higher facility to pass through biological barriers, with higher liposoluble properties. Edaravone derivative, called Imidazone, also showed higher antioxidant potential than Edaravone. Methyl group in second position of heterocyclic ring was essential to more stable resonance structures formation to semiquinone form. All new derivatives proposed were extremely promising with antioxidant capacity superior to Edaravone.

Key Words: Edaravone, Antioxidant, Computational chemistry, Imidazone

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.	Reação de metabolism da edaravona.....	1
Figura 2.	Alguns derivados estudados pelo nosso grupo.....	1
Figura 3.	Antioxidantes naturais e sintéticos.....	3
Figura 4.	Outros derivados antioxidantes naturais e sintéticos.....	4
Figura 5.	Derivados antioxidantes de carotenoids.....	5
Figura 6.	Antioxidantes de alimentos com aplicação clínica.....	5
Figura 7.	Formação do 1,3-dicetona em pirazolona.....	7
Figura 8.	Mecanismo de formação das pirazolonas.....	7
Figura 9.	Estrutura química das pirazolonas (a) Fenilbutazona, (b) Oxifenbutazona e (c) Isoprina.....	8
Figura 10.	Estruturas químicas de derivados de pirazolona.....	9
Figura 11.	Mecanismo de sequestro de radicais livres pelo composto edaravona.....	11
Figura 12.	Reação de preparação da imidazona.....	22
Figura 13a.	Reação de síntese da imidazona.....	25
Figura 13b.	Reação de síntese da imidazona.....	26
Figura 13c.	Reação de síntese da imidazona.....	26
Figura 14.	Estrutura da edaravona e dos seus derivados.....	28
Figura 15.	Estrutura de HOMO da edaravona (S1) e de seus derivados (S2- S9).....	31
Figura 16.	Estruturas de ressonância da semiquinona da edaravona (S1) e imidazona (S2).....	33

LISTA DE TABELAS

Tabela 1.	Propriedades farmacocinéticas (ClogP e EH) dos derivados análogos utilizando os programas computacionais Hyperchem 7.5 (2000) e Chemoffice (2005).....	29
Tabela 2.	Propriedades eletrônicas da edaravona e seus derivados análogos determinados pelo método B3LYP 6-31 G(d).....	32

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

COX	Ciclooxigenase
PMNs	Polimorfonucleares
EROs	Espécies reativas de oxigênio
ERNs	Espécies reativas de nitrogênio
BHA	Butil-hidroxi-anisol
BHT	Butil-hidroxi-tolueno
TBHQ	Terc-butilhidroquinona
PG	Propilgalato
LDL	Lipoproteína de baixa densidade
DNA	Ácido desoxirribonucleico
HO•	Radical hidroxil
HOCl	Ácido hipocloroso
O₂•-	Superóxido
ROO•	Lipoperóxido
H₂O₂	Peróxido de hidrogênio
LO•	Alcóxila
LOO•	Radical peroxila
L•	Radical lipídico
TFD	Teoria do funcional de densidade
HOMO	Orbital molecular de ocupado de maior energia
LUMO	Orbital molecular ocupado de menor energia
NOS	Óxido nítrico sintase
NO	Óxido nítrico
CPNH	Células progenitoras de neurônios humanos
AIT	Acidente isquêmico transitório
AVC	Acidente vascular cerebral
REA	Relação estrutura-atividade
EDL	Energia de dissociação da ligação
PI	Potencial de ligação
ClogP	Logaritmo de Coeficiente de partição
EH	Energia de hidratação
B3LYP	Becke, three-parameter, lee-yang-parr

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	1
2	REVISÃO DA LITERATURA.....	2
2.1	ANTIOXIDANTES.....	2
2.1.1	CLASSIFICAÇÃO.....	3
2.1.2	FONTES	4
2.1.3	APLICAÇÕES.....	5
2.1.4	LIMITAÇÕES.....	6
2.2	PIRAZOLONAS.....	6
2.2.1	MECANISMO DE FORMAÇÃO DAS PIRAZOLONAS.....	7
2.2.2	ESTRUTURA QUÍMICA DAS PIRAZOLONAS.....	8
2.2.3	PIRAZOLONAS COMO ANTI-INFLAMATÓRIOS.....	8
2.2.4	PIRAZOLONAS E AGRANULOCITOSE.....	9
2.2.5	EDARAVONA COMO ANTIOXIDANTE.....	11
2.3	APLICAÇÃO DO EDARAVONA.....	12
2.4	RADICAIS LIVRES.....	15
2.5	PEROXIDAÇÃO LIPÍDICA.....	16
2.6	ISQUEMIA.....	17
2.7	ESTUDO DA ESTRUTURA E ATIVIDADE DOS DERIVADOS ANÁLOGOS.....	17
2.8	PLANEJAMENTO DE NOVOS DERIVADOS DA EDARAVONA.....	19
3	OBJETIVOS.....	21
3.1	OBJETIVO GERAL.....	21
3.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	21
4	MATERIAIS E MÉTODOS.....	22
4.1	SÍNTESE DE ANÁLOGOS DA EDARAVONA	22
4.2	DETERMINAÇÃO DE PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS E ELUCIDAÇÃO ESTRUTURAL.....	22
4.3	MODELAGEM COMPUTACIONAL.....	22
4.4	ENERGIA DOS ORBITAIS DE FORNTEIRA (HOMO e LUMO).....	22
4.5	POTENCIAL DE IONIZAÇÃO.....	23
4.6	LOGARITMO DO COEFICIENTE DE PARTIÇÃO (CLOG P).....	23

4.7	ENERGIA DE HIDRATAÇÃO.....	23
4.8	ENERGIA DE DISSOCIAÇÃO DA LIGAÇÃO (EDL _{XH}).....	24
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	25
5.1	SINTESE DE ANÁLOGOS DA EDARAVONA.....	25
5.2	DETERMINAÇÃO ESTRUTURAL DE PROPRIEDADES FÍSICAS E ELUCIDAÇÃO ESTRUTURAL.....	27
5.3	MODELAGEM COMPUTACIONAL.....	27
5.4	PARÂMETROS FARMACOCINÉTICOS (CLog P e EH).....	29
5.5	PROPRIEDADES ELETRÔNICAS DOS DERIVADOS DA EDARAVONA.....	30
6	CONCLUSÃO.....	34
7	REFERÊNCIAS.....	35

1. INTRODUÇÃO

A edaravona **1** é um fármaco liberado no mercado japonês, indicado no tratamento e prevenção de acidente vascular cerebral, relacionados a isquemia. Sua ação decorre de sua capacidade sequestradora dos radicais livres liberados no evento isquêmico. Entretanto, sua toxicidade pode estar relacionada com seu metabolismo, por meio das reações de hidroxilação alifática **1a** e aromática **1b**, mostrado na Figura 1 (CARVALHO *et al.*, 2017).

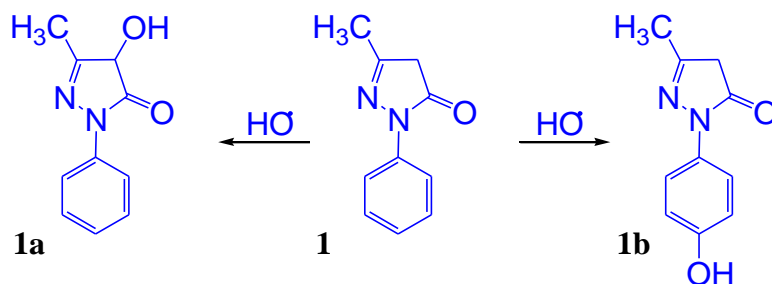


Figura 1. Reação de metabolismo da edaravona.

Nos últimos anos, nosso grupo tem estudado as propriedades moleculares da edaravona **1** (QUEIROZ *et al.*, 2010; BORGES *et al.*, 2012; BORGES *et al.*, 2013), buscando derivados mais potentes e seguros. O trabalho de planejamento molecular e desenvolvimento sintético gerou os análogos isoxazolônico **2**, preparado por Santa-Brigida (2013) e pirazolônicos **3**, sintetizado por Carvalho (2014). Atualmente, um derivado regioisomérico da edaravona, denominado isedaravona **4** (CARVALHO, 2018). Em continuidade, neste projeto, estamos investigando um derivado, pela mudança bioisostérica do anel pirazolônico por imidazolona, denominada imidazona **5** (Figura 2).

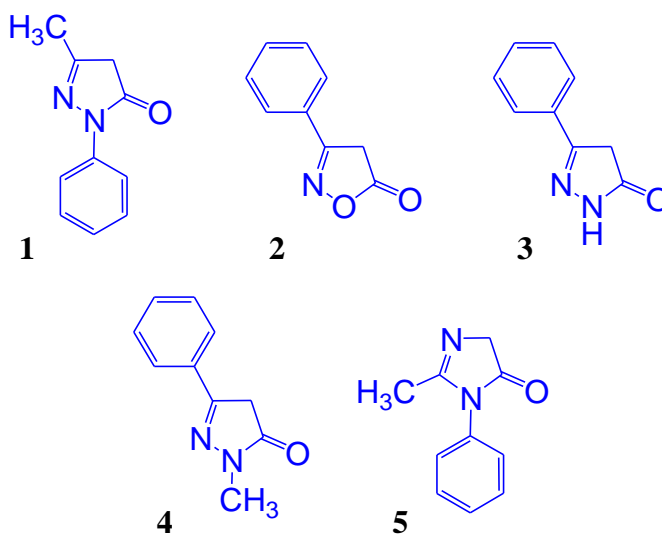


Figura 2. Alguns derivados estudados pelo nosso grupo

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1 ANTIOXIDANTES

Os antioxidantes são moléculas que devido às suas propriedades químicas inibem o processo de oxidação de outras moléculas. Eles atuam por um mecanismo de doação de elétrons ou hidrogênio para os compostos radicalares, que geralmente apresentam um elétron desemparelhado, uma vez que, a oxidação é um tipo de reação na qual ocorre a perda de elétrons de uma determinada molécula. Entretanto, embora essas reações sejam fundamentais para os organismos, elas possuem como lado negativo a potencial produção de radicais livres especialmente na presença de oxigênio. Esses compostos representam um risco para a saúde que podem provocar ao longo das décadas efeitos mutagênicos e degenerativos, acelerando o envelhecimento. Assim, os antioxidantes representam um controle sobre ações danosas que podem ser geradas pelos radicais livres nos organismos (LOBO *et al.*, 2010).

Na saúde humana, os antioxidantes são moléculas também capazes de evitar ou interromper o processo de oxidação de outras moléculas, processo este que ocorre naturalmente em organismos vivos que dependem de metabolismo aeróbico para produção de energia. O processo de oxidação é iniciado por radicais livres que levam a uma reação em cadeia com potencial para comprometer tanto a estrutura quanto a funcionalidade celular. O papel dos antioxidantes é equilibrar o que se conhece por “redox homeostasis” controlando os níveis das espécies reativas de oxigênio (EROs) ou nitrogênio (ERNs). Os radicais formados a partir de antioxidantes na sua maioria possuem baixa reatividade para propagar a reação em cadeia, sendo neutralizados por reação com outro radical, formando produtos estáveis ou podem ser reciclados por outro antioxidante (VALKO, 2007).

Nas células existem muitas potenciais fontes de EROs como a cadeia transportadora de elétrons da mitocôndria, a reação de Fenton do peróxido de hidrogênio com metais de transição (ex: Fe^{2+} , Cu^+ , etc.), a peroxidação lipídica, entre outros. O evento caracterizado pela superprodução de radicais livres que levam a um efeito danoso é chamado de estresse oxidativo ou nitrosativo, quando medicado por espécies reativas de nitrogênio (ERNs). O excesso de EROs ou ERNs pode causar danos aos lipídeos da membrana celular, proteínas, e também ao DNA, inviabilizando suas funções. Esses danos contínuos levaram a adaptação dos organismos por meio do desenvolvimento de um mecanismo de defesa

contra os radicais livres, dos quais podem ser pontuados: mecanismos preventivos, mecanismos de reparo, barreiras físicas e defesas antioxidantes (VALKO, 2007).

2.1.1 CLASSIFICAÇÃO

Os antioxidantes podem ser de origem natural ou sintética e possuem aplicação nas indústrias de alimento e farmacêutica, especialmente, atuando em diferentes fases.

Os antioxidantes primários são compostos que promovem a remoção ou inativação dos radicais livres formados durante a iniciação ou propagação da reação, por meio da doação de átomos de hidrogênio a estas moléculas, interrompendo a reação em cadeia. O átomo de hidrogênio ativo do antioxidante é abstraído pelos radicais livres R^* e ROO^* com maior facilidade que os hidrogênios alílicos das moléculas insaturadas. Assim, formam-se espécies inativas para a reação em cadeia e um radical inerte (A^*) procedente do antioxidante. Este radical, estabilizado por ressonância, não tem a capacidade de iniciar ou propagar as reações oxidativas. Os principais e mais conhecidos deste grupo são, butil-hidroxi-anisol (BHA) **6**, butil-hidroxi-tolueno (BHT) **7**, terc-butilhidroquinona (TBHQ) **8** e propilgalato (PG) **9**, que são sintéticos, e tocoferóis, que são naturais. Estes últimos também podem ser classificados como antioxidantes biológicos (NIMSE & PAL, 2015).

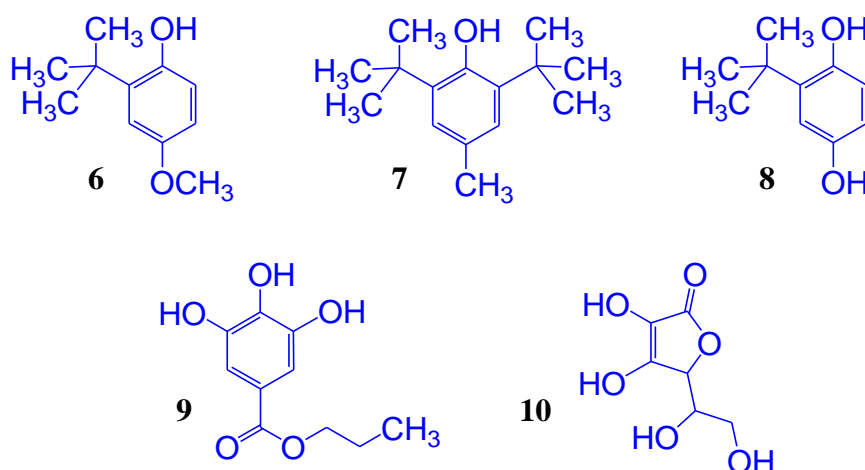


Figura 3. Antioxidantes naturais e sintéticos

Outros podem aumentar a atividade dos antioxidantes primários quando usados em combinação adequada com eles. Estas combinações podem atuar sinergicamente. Os removedores de oxigênio são compostos que atuam capturando o oxigênio presente no meio, por meio de reações químicas estáveis, tornando-os, conseqüentemente, indisponíveis para atuarem como propagadores da autoxidação. Ácido ascórbico **10**, seus

isômeros e seus derivados são os melhores exemplos deste grupo. Ele pode atuar também como sinergista na regeneração de antioxidantes primários (RAMALHO, 2006).

Os antioxidantes biológicos incluem várias enzimas, como glucose oxidase, superóxido dismutase e catalases. Estas proteínas podem remover oxigênio ou compostos altamente reativos de um sistema alimentício. Os agentes quelantes ou sequestrantes complexam íons metálicos, principalmente cobre e ferro, que catalisam a oxidação lipídica. Um par de elétrons não compartilhado na sua estrutura molecular promove a ação de complexação. Os mais comuns são ácido cítrico **11** e seus sais, fosfatos e sais de ácido etileno diamino tetra acético (EDTA) **12** (RAMALHO, 2006).

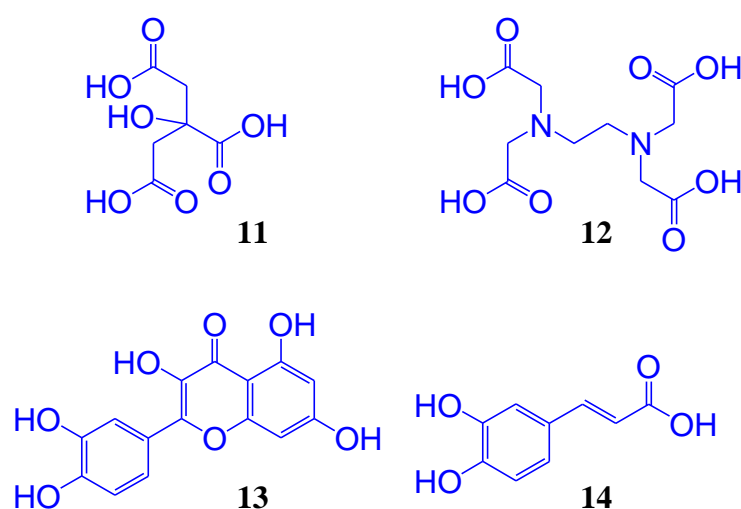


Figura 4. Outros derivados antioxidantes naturais e sintéticos

Os antioxidantes mistos incluem compostos de plantas e animais que têm sido amplamente estudados como antioxidantes em alimentos. Entre eles estão várias proteínas hidrolisadas, flavonoides como a quercetina **13** e derivados de ácido cinâmico tais como o ácido caféico **14** (RAMALHO, 2006).

2.1.2 FONTES

Os antioxidantes podem ser encontrados naturalmente em nosso organismo e em alimentos (HALLIWELL, 2007). Os antioxidantes naturais são moléculas presentes nos alimentos e em pequenas quantidades comparadas ao substrato oxidável. Um dos principais antioxidantes naturais é o tocoferol, é dividido em alfa, beta, gama e delta tocoferol e está presente principalmente nos óleos vegetais (BIANCHI, 1999).

Os compostos fenólicos são substâncias amplamente distribuídas na Natureza, mais de 8000 compostos fenólicos já foram detectados em plantas. Esse grande e complexo grupo faz parte dos metabólitos primários e secundários de uma variedade de vegetais e frutas. Esses compostos atuam como antioxidantes pela sua habilidade em doar hidrogênio ou elétrons, e também pela presença de radicais intermediários estáveis, que impedem a oxidação (SILVA, 2010). Os carotenoides, tais como o b-caroteno **15** e o licopeno **16** são ricas fontes de antioxidantes e estudos apontam que a função antioxidante dos carotenóides desempenha um papel importante na redução do risco de câncer, catarata, aterosclerose e no processo de envelhecimento (DAMODARAN *et al.*,2008).

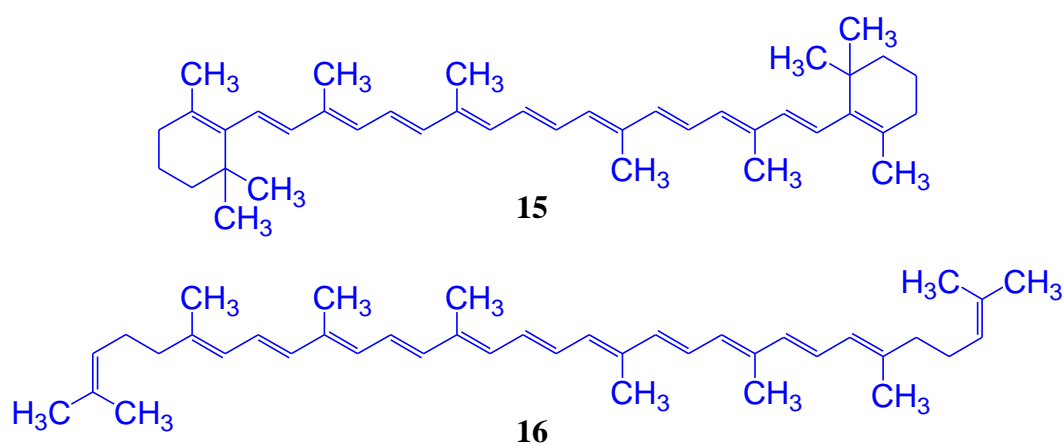


Figura 5. Derivados antioxidantes de carotenóides

2.1.3 APLICAÇÕES

A literatura menciona estudos que demonstram a aplicabilidade de compostos que apresentam atividades antioxidantes no tratamento de diversas doenças. O resveratrol **17** ou 3,5,40-tri-hidroxi-trans-estilbeno é um composto natural que possui atividades biológicas e está presente em uvas. É utilizado no tratamento quimioterápico preventivo do câncer e tem sido relatado como um bom antioxidante contra a peroxidação da lipoproteína de baixa densidade (LDL) e lipossomas, um potente inibidor da lipoxigenase, e é capaz de proteger o coração do rato por lesão de reperfusão isquêmica (QUEIROZ, 2009).

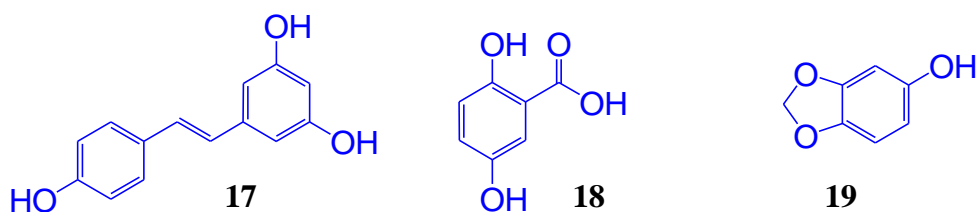


Figura 6. Antioxidantes de alimentos com aplicação clínica

A aspirina ou ácido acetilsalicílico, por meio de seu metabólito hidroxilado ácido gentísico **18** tem comprovada sua atividade antioxidante. Ela é largamente aplicada no tratamento analgésico, antipirético, anti-inflamatório e anti-reumático, além de ser aceito recentemente como um agente eficaz para a prevenção de doenças cardiovasculares e câncer colorretal (BORGES *et al.*, 2015).

Os estudos do Sesamol **19** ou 5-benzodioxolol tem comprovado sua atividade antioxidante, é um derivado fenólico que atua na inibição das reações radicais, inativando espécies reativas de oxigênio. Trata-se do derivado antioxidante mais simples dos fenóis compostos e está envolvido em anticancerígenos, antimutagênicos e atividades hepatoprotectas (KAUR & AMARPREET, 2000). O seu potencial antioxidante se baseia na transição redox, envolvendo uma transferência de um átomo de hidrogênio para um radical livre (PALHETA & BORGES, 2017).

As pesquisas recentes indicam a intensa investigação dedicada à atividade antioxidante das substâncias, uma vez que a peroxidação induzida por radicais livres de lipídios da membrana e o dano oxidativo do DNA foi considerado associado com uma grande variedade de problemas de saúde crônicos, como câncer, aterosclerose e envelhecimento, e a transcrição de genes pode ser regulado por oxidantes, antioxidantes e outros determinantes do estado redox intracelular (QUEIROZ *et al.*, 2009).

2.1.4 LIMITAÇÕES

Os estudos têm demonstrado que apesar de os antioxidantes atuais apresentarem efeitos benéficos no organismo e no tratamento de diversas doenças, exibem frequentemente alguns efeitos tóxicos. O edaravona tem sido amplamente utilizado como anti-isquêmico e citoprotetor. No entanto, mesmo em doses terapêuticas normais ele não é totalmente seguro, pois pode produzir lesão renal em humanos e em animais experimentais (CARVALHO *et al.*, 2017). Em virtude disso, torna-se importante a busca de novos antioxidantes com capacidade farmacologicamente igual ou superior aos já existentes, porém com toxicidade inferior (BRIGIDA, 2013).

2.2 PIRAZOLONAS COMO ANTIOXIDANTES

A pirazolona é uma classe de *N*-heterociclos bastante estudada, onde dentro desses estudos é amplamente pesquisado e discutido a estabilidade, reatividade e o potencial farmacológico dos compostos que fazem parte desta classe, o que ressalta a importância de

suas moléculas (HAMAMA *et al.*, 2012). O mecanismo de ação farmacológica das pirazolonas, ainda não é completamente compreendido. Alguns estudos indicaram uma associação da pirazolona com sínteses de prostanoídes, plaquetas de tromboxano e inibição de isoenzimas de cicloxigenase (BENTUR & COHEN, 2004; GRAHAM & SCOTT, 2003; LEVY, 2000). Segundo a literatura, as pirazolonas possuem atividades antibacterianas, antifúngicas, analgésicas e anti-inflamatórias (BONDOCK *et al.*, 2008; COSTA *et al.*, 2006; SUJATHA *et al.*, 2009). Além disso, seus compostos apresentam uma ampla variedade de propriedades biológicas, por isso, acabam atraindo um forte interesse de indústrias farmacêuticas.

2.2.1 MECANISMO DE FORMAÇÃO DAS PIRAZOLONAS

As pirazolonas são formadas a partir da molécula 1,3-dicetona, que é utilizada para formar uma outra molécula que apresenta um heterocíclico de 5 membros, possuindo em sua estrutura dois nitrogênios, conforme apresentado na Figura 7 (CLAYDEN *et al.*, 2001).

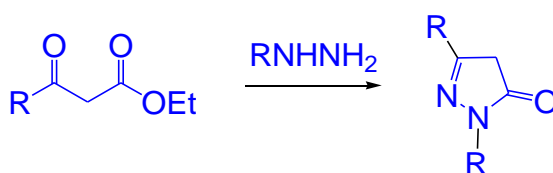


Figura 7. Formação do 1,3-dicetona em pirazolona.

O mecanismo de formação das pirazolonas ocorre em 5 etapas, como descrito na Figura 8. Na etapa I, acontece o equilíbrio ceto-enólico que se encontra deslocado para o tautômero; na etapa II, ocorre o ataque nucleofílico na carbonila da cetona pelo grupo amina, formando um intermediário carbinol-amina; na etapa III, uma molécula de água é eliminada formando a hidrazona; na etapa IV e um ataque da amina sobre a carbonila de éster; na etapa V, a pirazolona é formada após a eliminação de etanol (SINGH *et al.*, 1997).

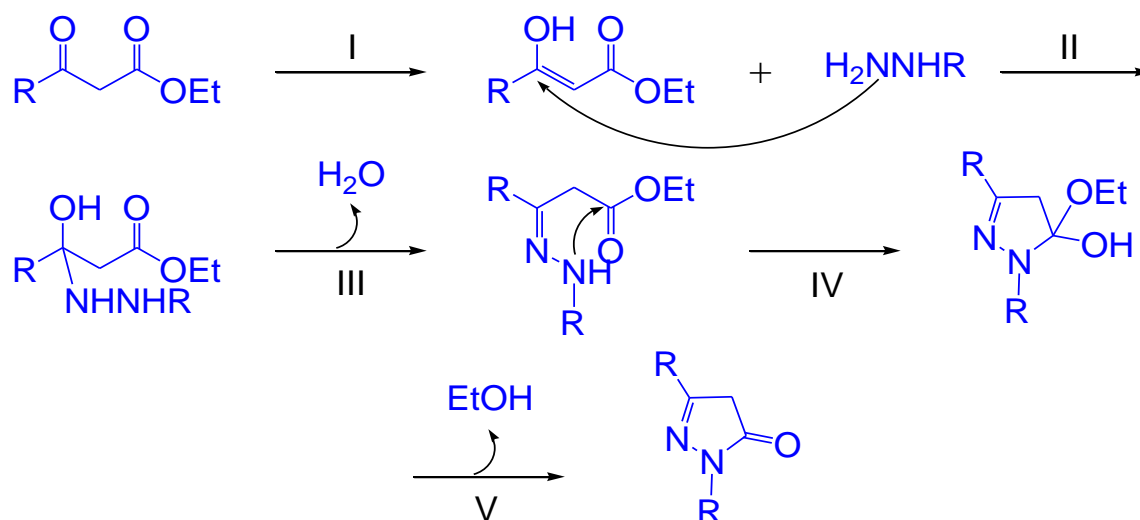


Figura 8. Mecanismo de formação das pirazolonas

2.2.2 ESTRUTURA QUÍMICA DAS PIRAZOLONAS

Conforme apresentado no item 2.1.1 deste trabalho, a estrutura química da pirazolona é composta por um heterocíclico de 5 membros, possuindo em sua estrutura dois nitrogênios. Dentro dessa classe, podemos citar como exemplos de pirazolonas a fenilbutazona **20**, oxifenbutazona **21** e isopirina **22**, que possuem suas estruturas químicas apresentadas na Figura 9.

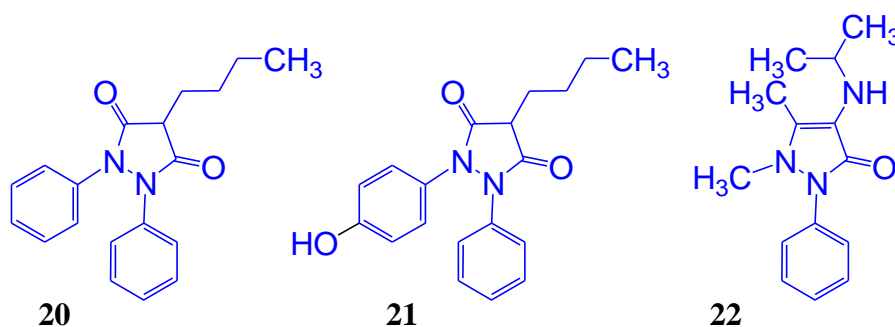


Figura 9. Estrutura química das pirazolonas (a) Fenilbutazona, (b) Oxifenbutazona e (c) Isopirina.

Stenzl foi o responsável por sintetizar a fenilbutazona em meados da década de 40 (SPINOSA *et al.*, 2006). Mesmo sendo um composto com baixa margem de segurança, ele foi utilizado em equinos devido à eficácia e custo baixo do composto. A inibição irreversível da enzima cicloxigenase (COX) e a redução de produção de superóxidos podem ser provocadas pela fenilbutazona. Ao ser ingerida por via oral, ela é absorvida principalmente nos intestinos delgado e grosso. Lesões hepáticas e renal em cães estão associadas a este composto, bem como, o aumento de reabsorção de íons cloretos e sódios, levando a sua contra-indicação para indivíduos cardiopatas, nefro e hepatos.

A oxifenbutazona é alcançada por meio de uma biotransformação da fenilbutazona, produzindo um menor grau de irritação gástrica e sendo eficiente na inibição de taxa de metabolização da fenilbutazona, o que resulta no prolongamento de meia-vida e retirada desse composto no plasma. Ao ser comparada com esses dois compostos, a isoprina apresenta a menor taxa de toxicidade. E se for utilizada em conjunto com a fenilbutazona, pode aumentar a vida útil dela.

2.2.3 PIRAZOLONAS COMO ANTI-INFLAMATÓRIOS

No decorrer do século XIX, os derivados da pirazolona foram objetos de estudos para o desenvolvimento de fármacos anti-inflamatórios e analgésicos devido à facilidade de sintetizá-los, ao alto grau de estabilidade química e à atividade biológica (PARK *et al.*, 2005). Como pirazolonas com propriedades analgésicas podemos citar: antipirina, isopropilantipirina, aminopirina e a dipirona. Suas estruturas químicas são apresentadas na Figura 10.

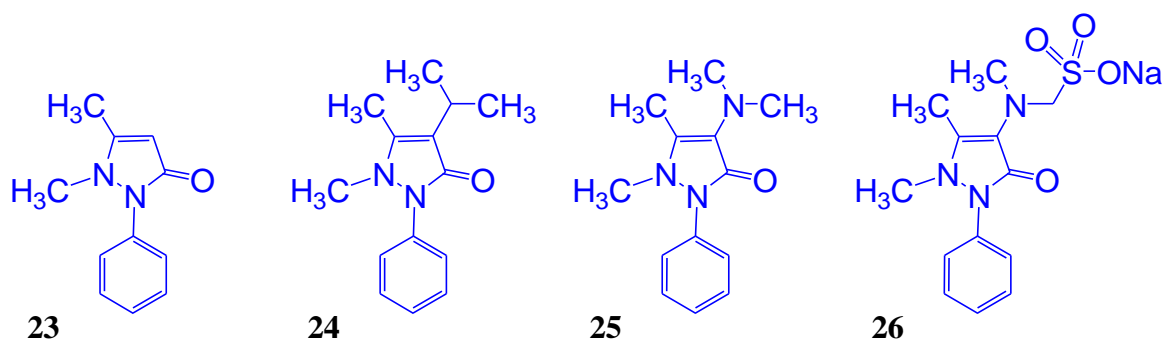


Figura 10. Estruturas químicas de derivados de pirazolona

Em 1884, na Alemanha, ocorreu a síntese da antipirina. Em 1897, os compostos isopropilantipirina e aminopirina foram sintetizados. O primeiro composto injetável dessa família foi a melubrina, que passou a ser chamada de dipirona, desenvolvido na Alemanha no ano de 1913 (HEDENMALM & SPIGSET, 2002).

A primeira pirazolona voltada para o uso clínico foi apresentado ao mercado farmacêutico na Alemanha no ano de 1921. Tratava-se de um composto formado por 50% de aminopirina e os outros 50% formado por dipirona, que era indicado para uso terapêutico na forma de antiespasmódico e analgésico (HEDENMALM & SPIGSET, 2002). A dipirona foi inserida no Brasil no ano de 1922, sendo denominada de Novalgina®. Neste mesmo ano era descrito por Schultz o primeiro caso de agranulocitose medicamentosa regida pelo uso de pirazolonas. Porém, a propriedade analgésica das

pirazolonas é significativa, destacando-se a dipirona como composto que faz parte do analgésico antipirético bastante utilizado no Brasil (PEREIRA *et al.*, 2002).

2.2.4 PIRAZOLONAS E AGRANULOCITOSE

Por meio da utilização terapêutica de aminopirina e dipirona em dosagens por um curto período de tempo, vários casos apresentaram o surgimento de agranulocitose. Que trata-se de uma alta redução do número de neutrófilos circulantes (BENTUR & COHEN, 2004; IBÁÑEZ, 2005; UETRECHT, 1995). O que acabou promovendo a retirada do mercado das pirazolonas em diversos países.

Os neutrófilos são os leucócitos polimorfonucleares (PMNs) mais numerosos presentes na circulação sanguínea e que agem de forma ativa na resposta instintiva de defesa de seu hospedeiro. Em conjunto com outras células fagocíticas, as PMNs são as primeiras células que se deslocam e chegam ao local da infecção ou ferimento e fagocitam e eliminam os microorganismos que invadiram o hospedeiro. Possuindo, assim, uma função importante nos danos de tecidos e doenças não infecciosas (ABBAS *et al.*, 2000).

Costa e colaboradores (2006), investigaram a eficácia dos derivados de pirazolonas, mais especificamente a antipirina, isopropilantipirina, aminopirina e a dipirona, em inibir a metabolização de neutrófilos humanos e a atividade sequestrante de espécies reativas de oxigênio (ERO) contra os possíveis radicais livres em neutrófilos, como por exemplo: radical hidroxil (HO^\bullet), ácido hipocloroso (HOCl), superóxido ($\text{O}_2^{\bullet-}$), lipoperóxido (ROO^\bullet) e peróxido de hidrogênio (H_2O_2).

A pesquisa apresentou: nenhum efeito de inibição e de efeito ERO para o uso de antipirina; pouco efeito de inibição e efeito ERO para o uso da isopropilantipirina; e inibição do metabolismo em neutrófilos estimulados pelo 12-miristato-13-acetato de forbol com alto grau de eficiência para a utilização da aminopirina e dipirona. Ambas substâncias apresentaram-se como sequestrantes extremamente potentes dos radicais HOCl e HO^\bullet (COSTA *et al.*, 2006). Em relação as questões químicas da agranulocitose, existe um forte indício de que os derivados de pirazolonas são oxidados biologicamente em compostos interpostos reativos que lidam com neutrófilos (UETRECHT *et al.*, 1995).

Cálculos teóricos têm sido realizados para estudos de agranulocitose associada a fármacos de pirazolona. Silva e colaboradores (2012), utilizaram o método de Teoria do Funcional de Densidade (TFD) para os compostos antipirina, isopropilantipirina,

aminopirina e dipirona. Cálculos de molecular orbital e potencial de ionização apresentaram que a oxidação no elétron da pirazolona possui ligação com compostos mais ativos. Para esses cálculos, o aminopirina e dipirona obtiveram resultados que os apontaram como os mais eficientes e tóxicos, já para o isopropilantipirina houve pouca eficiência e nenhum efeito (toxicológico ou biológico) para a antipirina. O aminopirina e dipirona apresentaram anel de pirazolona mais ressonante do que os outros dois compostos. As diferenças entre toxicidade foram apresentadas por HOMO e LUMO. Neste sentido, os resultados dos estudos explicaram as diferenças estruturais de derivados da pirazolona na agranulocitose (SILVA *et al.*, 2012).

2.2.5 EDARAVONA COMO ANTIOXIDANTE

O composto 3-metil-1-fenil-2-pirazolin-5-ona ou edaravona é um derivado de pirazolona que foi validado como um composto efetivo para o tratamento (KAWAI *et al.*, 1997) de isquemias miocárdicas (WU *et al.*, 2002) e cerebrais (KAWAI *et al.*, 1997; WATANABE *et al.*, 1997). Ela possui um grande potencial para atuar contra a toxidade induzida por vários radicais (TABRIZCHI, 2000). Ele foi desenvolvido como um sequestrador de radicais livres voltado à utilização clínica com o intuito de ser um novo agente antiisquêmico. Pois, possui a habilidade de inibição de reação radicalar afetando várias ERN's (espécies reativas de nitrogênio) e ERO's (espécies reativas de oxigênio) (TABRIZCHI, 2000).

O seu efeito antiisquêmico está relacionado à propriedade antioxidante que esse composto possui. A edaravona é eficaz para a diminuição da formação de radical hidróxil, em obstruir a peroxidação lipídica, inibir a atividade da lipoxigenase, além da morte de neurônios guiada pelos ácidos hidroperoxioecosatetraenóico (HETEs) e por peróxidos (YAMAMOTO *et al.*, 1997). Bioquimicamente, a edaravona pode reagir com um grande número de radicais livres, onde ele doa elétrons tanto na forma ionizada quanto na forma de hidrogênio. Na Figura 8 é descrito como a forma enolato da edaravona é capaz de interagir, inibir e transformar o radical hidroxil (HO^\bullet), o alcóxido (LO^\bullet) e o lipoperóxido (LOO^\bullet) em um produto estável (KAWAI *et al.*, 1997).

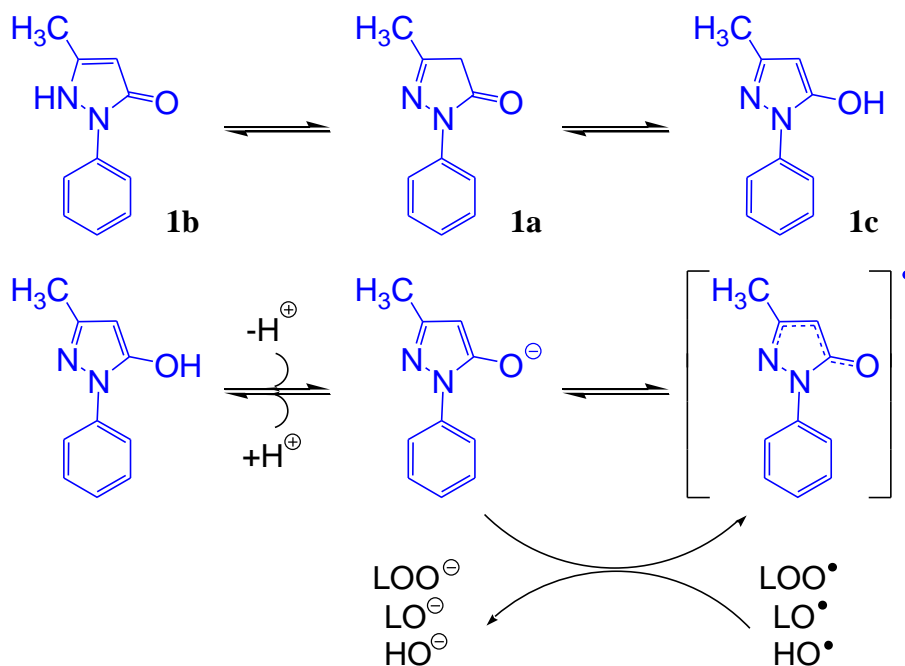


Figura 11. Mecanismo de sequestro de radicais livres pelo composto edaravona

2.3. APLICAÇÕES DO EDARAVONA

Yoshida e seus colaboradores foram os pioneiros em demonstrar que o edaravona intensifica a expressão da enzima NOS (Óxido Nítrico Sintase) (YOSHIDA *et al.*, 2005). Esta enzima tem função significativa na melhoria e manutenção de circulação sanguínea no cérebro relacionada a síntese de óxido nítrico (NO), que além de contribuir para melhorias na manutenção do endotélio e da circulação sanguínea vascular cerebral, previne que o tecido neuronal seja lesionado (ENDRES *et al.*, 1998; IADECOLA, 1997; SAMDANI *et al.*, 1997). No tratamento de tumores cerebrais metastáticos, pré-malignos e câncros da garganta, a radioterapia craninana é largamente indicada. Porém, indivíduos que passam por esse tratamento regularmente atingem uma diminuição cognitiva progressiva (ANDERSON *et al.*, 2000; CROSSEN *et al.*, 1994).

Os trabalhos de Joseph (1992) e Poon e colaboradores (2006), apontaram que apoptose e o déficit cognitivo orgânico instigado pela radioterapia nos neurônios do hipocampo está relacionada ao estresse oxidativo. Por intermédio da peroxidação lipídica, os radicais livres provocam danos a biomoléculas e modificam a integridade da membrana, além de favorecer a redução de transmissão neural, eliminação de neurônios e a redução cognitiva (JOSEPH, 1992; POON *et al.*, 2006). Com isso, Ishii e colaboradores (2007) verificaram o poder do edaravona em operar de forma protetora e anti-apoptótica nas CPNH (Células Progenitoras de Neurônios Humanos) que são afetadas durante a

radioterapia e a possibilidade das CPNH protegidas em manter a capacidade de se diferenciar. Os resultados apontaram, que quando comparadas as células malignas, as CPNH foram mais vulneráveis à radiação. No entanto, o total de CPNH sobreviventes que foram tratadas com o edaravona era semelhante ao total de células malignas que sobreviveram nos grupos estudados. A habilidade de diferenciação e auto-renovação das CPNH foram restauradas pelo composto, mesmo aquelas que sofreram irradiação. Dessa forma, os autores indicaram o edaravona como um composto importante para ser utilizado na forma de pré-medicação na radioterapia craniana (ISHII *et al.*, 2007).

O edaravona também foi avaliado para o Diabetes Tipo-1, que se trata de uma doença auto-imune que possui como característica a infiltração mononuclear de células pancreáticas das ilhotas de Langerhans que procedem a eliminação das células- β . Fukudome e colaboradores (2008), investigaram o impacto do edaravona no diabetes tipo-1 por meio de um modelo de baixa dosagem de estreptozotocina. O estudo demonstrou que a hiperglicemia e a insulina pancreática no modelo estudado foram reduzidas devido à utilização do edaravona. O seu impacto pode estar relacionado ao fato de inibir o estresse oxidativo das células- β de ratos que foram tratados com o estreptozotocina, o que auxiliou na proteção das células pancreáticas contra a inflamação e a imunização conduzida pelo estreptozotocina. Neste sentido, os autores sugeriram que o edaravona pode ser útil na eliminação ou redução do progresso da diabetes tipo-1 (FUKUDOME *et al.*, 2008).

Com o intuito de descrever o mecanismo de sequestro e a importância do tautomerismo do edaravona em meio ácido para que o sequestro de radicais livres sejam elucidados no processo esquêmico, Queiroz e colaboradores (2010), realizaram um estudo teórico detalhado utilizando o método TFD. Nesse estudo, a estabilidade e a reatividade do edaravona foram determinadas por meio de parâmetros energéticos e geométricos calculados em meio gasoso e solvatado (água e metanol). Cálculos de energias de dissociação de ligação, potencial de ionização e orbital molecular (HOMO) foram realizados para a obtenção de propriedades antioxidantes.

De acordo com os resultados, os valores do potencial de ionização e HOMO apontaram que o melhor antioxidante é o tautômero de N-H, ao mesmo tempo em que os cálculos de energias de dissociação de ligação apontaram o tautômero de O-H como o melhor antioxidante. Dessa forma, pode-se considerar que o tautômero de N-H é o melhor antioxidante em relação a abstração de elétrons e que o tautômero O-H é o melhor antioxidante em relação à abstração de hidrogênio. Além disso, o tautômero O-H se

apresentou como o tautômero mais importante para as propriedades de sequestro de radicais do edaravona devido a possuir os menores valores de energias de dissociação de ligações. E em relação ao meio solvatado, foi observado que a protonação, em relação a desprotonação, é a mais favorecida em termos da termodinâmica, pois, ele reduziu as barreiras de energia à isomerização em tautômeros tanto O-H quanto N-H (QUEIROZ *et al.*, 2010).

O método TFD também foi utilizado no estudo de Borges e colaboradores (2012), onde o mesmo foi utilizado para verificar a relação estrutura-atividade e prever a atividade antioxidante do edaravona e seus derivados relacionados estruturalmente por meio de energia, energia de dissociação de ligação, energias de estabilização e potencial de ionização. E nesse trabalho foi proposto um mecanismo de atividade antioxidante que passou pelos mesmos cálculos citados.

Os resultados desse trabalho, mostraram que os grupos doadores de elétrons nas posições 1, 3 ou 4 são os mais importantes em termos de estabilização de ressonância. A abstração de elétrons tem ligação com o grupo na posição 3, que ao comparar as substituições na posição 4, apresenta redução no seu potencial de ionização. Quanto a abstração de hidrogênio, ela está relacionada ao grupo na posição 4, que em relação as outras substituições apresenta redução na energia de dissociação de ligação C-H e resulta na melhor atividade antioxidante. Neste sentido, o trabalho apresentou que a abstração de hidrogênio possui uma relação maior com a atividade de retirada do edaravona e de seus derivados (BORGES *et al.*, 2012).

Brígida e colaboradores (2013), utilizaram um derivado do edaravona chamado de oxideravona para a predição de antioxidantes. Pois, segundo os autores, descrever o seu mecanismo de sequestro e a sua influência como o derivado hidrossolúvel do edaravona irá auxiliar na descrição da relação estrutura-atividade dentro do processo de oxidação. Neste sentido, a predição do oxideravona como antioxidante foi realizado com o método TFD para o estudo de tautomerismo em meio gasoso e solvatado (água e metanol), capacidade antioxidante por meio de HOMO, energia de ionização e energias de dissociação de ligação.

Segundo os resultados, tanto em meio gasoso quanto em solvatado, os tautômeros de ceto-enol são mais favorecidos em termos da termodinâmica do que os tautômeros de imina-enamina. Para os cálculos de energia de ionização e o HOMO, os resultados

apresentaram que os melhores antioxidantes são os tautômeros de carbonil ou de hidroxil. Já para as energias de dissociação de ligação, o tautômero O-H é, em relação aos tautômeros N-H ou C-H, o melhor antioxidante. E, devido apresentar os menores valores de energias de dissociação de ligação, o tautômero O-H foi considerado o mais importante quando levado em consideração a propriedade antioxidante da oxideravona (BRÍGIDA *et al.*, 2013).

As abordagens teórica e experimental do sequestro de radicais do edaravona e seus derivados relacionados (pirazolonas) foram combinados no trabalho de Borges e colaboradores (2013). Onde, os derivados do edaravona estudados foram antipirina, dipirona e fenilbutazona, e os radicais foram o DPPH e ABTS. O método teórico utilizado para o estudo da relação estrutura-atividade foi o DFT.

Contra os radicais DPPH e ABTS, o edaravona e a fenilbutazona se apresentaram como os mais eficazes para o sequestro destes radicais. Já os derivados antipirina e dipirona apresentaram pequenos efeitos em diversas concentrações contra esses radicais. Dessa forma, o edaravona e o fenilbutazona foram considerados os compostos mais ativos. Foi confirmado que a transferência de hidrogênio é mais significativa do que a transferência de elétrons, segundo os cálculos de HOMO, potencial de ionização e energia de dissociação de ligação. A atividade de sequestro do radical DPPH possui uma forte ligação com o mecanismo de doação de hidrogênio, enquanto que a atividade de sequestro do radical ABTS possui forte ligação com a nucleofilicidade e a doação de elétrons. Neste sentido, os resultados experimentais e teóricos afirmaram que, como composto sequestrador de radicais, o edaravona é mais ativo do que fenilbutazona (BORGES *et al.*, 2013).

Carvalho e colaboradores (2017), propõem um mecanismo para realizar estudos sobre toxicidade do edaravona por propriedade redox de metabólitos por meio do método DFT realizando cálculos teóricos de energia, potencial de ionização, energia de dissociação de redox ou ligação e de densidade de rotação. Os mesmos cálculos foram realizados para a hidroxilação regioseletiva nas posições 4 em anéis benzeno ou pirazolona.

De acordo com os resultados, a transferência de elétrons possui ligação com a transferência de hidrogênio e fenil relacionada a posição 4 na pirazolona ou 4' para a hidroxilação. Em relação aos derivados fenólicos, esses são o que possuem maior

capacidade redox. Neste sentido, o mecanismo de toxicidade está ligado a propriedades redox dos derivados hidroxilados (CARVALHO *et al.*, 2017).

2.4 RADICAIS LIVRES

Radicais livres são elétrons não pareados que se encontram sozinhos em orbitais. Portanto, são moléculas instáveis e independentes. Eles podem ser produzidos no citoplasma, nas mitocôndrias e na membrana das células, e são produzidos principalmente por meio do metabolismo de oxigênio de um organismo. Quando um átomo de oxigênio perde um elétron da sua última camada ou ganha um elétron de uma substância não radical, resulta em uma alta reatividade desses átomos. Essas moléculas também podem ser formadas a partir da ingestão de bebidas alcólicas, contaminação por cigarro, utilização de medicamentos e pelos efeitos das radiações gama e ultravioleta (CHORILLI *et al.*, 2007; FERREIRA & MATSUBARA, 1997; VANNUCCHI *et al.*, 1998).

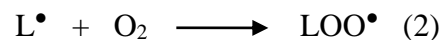
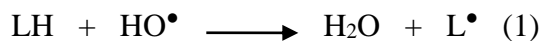
Os radicais livres em excesso podem causar danos nas membranas celulares da parte superficial da epiderme, afetando a permeabilidade celular e as substâncias que compõem a matriz extracelular (proteoglicanos, colágeno e elastina), e alterações na cadeia de DNA, proteínas, carboidratos e, principalmente, lipídeos. Podendo causar o envelhecimento, câncer, lesão pós-isquemia e reperfusão de cérebro, coração, intestino, pele e músculos, artrite, diabetes, doenças inflamatórias, autoimunes e neurodegenerativas (ALVES *et al.*, 2010; BIANCHI & ANTUNES, 1999; CHORILLI LEONARDI *et al.*, 2007; FERREIRA & MATSUBARA, 1997).

2.5 PEROXIDAÇÃO LIPÍDICA

A peroxidação lipídica trata-se do processo pelo qual os radicais livres capturam os lipídios insaturados das membranas celulares, produzindo radical lipídico (L^{\bullet}), alcóxila (LO^{\bullet}) e peróxila (LOO^{\bullet}), ocasionando o rompimento de sua estrutura, falência dos mecanismos de metabolismo celular e possivelmente a morte celular. Esse processo pode ser dividido em três etapas: iniciação, propagação e terminação (FERREIRA & MATSUBARA, 1997; VANNUCCHI *et al.*, 1998).

A etapa de iniciação corresponde a interação do ácido graxo com o radical hidroxila ou com o oxigênio singlete, resultando na perda de um hidrogênio do ácido graxo e formação de um radical lipídico (L^{\bullet}). Na segunda etapa, a de propagação, o radical lipídico (L^{\bullet}) reage com o oxigênio, tornando-se radical peróxila (LOO^{\bullet}), que em seguida interage

com outra molécula de ácido graxo, resultando em mais uma perda de hidrogênio e formando outro radical lipídico (L^\bullet) e um hidroperóxido lipídico (LOOH), conforme o esquema abaixo (FERREIRA & MATSUBARA, 1997; VANNUCCHI *et al.*, 1998).



A peroxidação lipídica também pode ser catalisada por íons de metais de transição, transformando o hidroperóxido lipídico (LOOH) em radicais lipídicos altamente reativos, como a alcóxila (LO^\bullet), peróxila (LOO^\bullet) e hidroxila (HO^\bullet). As células possuem um sistema de defesa antioxidante, pode atuar na detoxificação do agente antes que o mesmo cause alguma lesão, composta por glutathiona reduzida (GSH), superóxido-dismutase (SOD), catalase, glutathiona-peroxidase (GSH-Px) e vitamina E. Outra forma de defesa é a reparação da lesão, composta pelo ácido ascórbico, pela glutathiona-redutase (GSH-Rd) e pela GSHPx (FERREIRA & MATSUBARA, 1997).

2.6 ISQUEMIA

A isquemia é a insuficiência do fluxo sanguíneo para os tecidos, ocasionando principalmente a diminuição de oxigênio e o atraso na retirada dos metabólitos. A classificação do tipo de isquemia depende das áreas afetadas, a obstrução do fluxo sanguíneo ou redução da pressão de perfusão cerebral em determinada parte do cérebro pode causar uma paralisia cerebral, denominado de Acidente Vascular Cerebral Isquêmico. Se a interrupção do fluxo sanguíneo durar menos de 24 horas, as sequelas no cérebro poderão ser reversíveis. Mas quando essa interrupção excede 24 horas, as sequelas poderão ser irreversíveis (CANCELA, 2008).

A presença de Acidentes Isquêmicos Transitórios (AIT), conhecido como mini (acidente vascular cerebral) AVC, ocorre quando o fluxo sanguíneo é bloqueado durante um curto intervalo de tempo e pode durar alguns minutos ou horas, em seguida desaparecem. AIT é um fator de risco e um indicador de que há probabilidade do indivíduo sofrer um AVC futuramente (CANCELA, 2008).

No mundo, 17 milhões de pessoas tem um AVC, 6,5 milhões morrem e 26 milhões vivem com alguma incapacidade permanente. O Acidente Vascular Isquêmico é

responsável por 85% dos casos de AVC. No Brasil, o AVC é a segunda causa de mortes e são registradas cerca de 100 mil mortes anualmente. Os fatores de riscos são: idade, história de doença vascular prévia, doenças do coração, tabagismo, hipertensão arterial, sedentarismo, álcool, drogas e entre outros (BRASIL, 2012; CEREBROVASCULARES, 2016).

O cérebro possui uma alta demanda de energia por meio do metabolismo da glicose e do oxigênio, apresenta altas concentrações de ferro e lipídios com ácidos graxos insaturados. Devido a esses fatores o cérebro é susceptível a modificações do fluxo sanguíneo e ao estresse oxidativo. Portanto, estudos que investigam tratamento para o AVC se focam em agentes antioxidantes (MERGENTHALER *et al.*, 2013; RABIEI & RAFIEIAN-KOPAEI, 2014).

2.7 ESTUDO DA ESTRUTURA E ATIVIDADE DOS DERIVADOS ANÁLOGOS

O estudo da relação estrutura-atividade (REA) de um composto protótipo e seus derivados permite determinar a parte da molécula responsável pela atividade, o grupo farmacofórico. A REA é geralmente elaborada alterando-se parte da estrutura química do protótipo e observando-se a atividade sob o ponto de vista qualitativo e quantitativo. As alterações são no tamanho, conformação e grupos funcionais relacionados com as propriedades estereoquímica, eletrônicas e de solubilidade (THOMAS, 2003).

A literatura menciona dois mecanismos para o sequestro de radicais. O primeiro processo se dá por meio da abstração direta de um átomo de hidrogênio, e o segundo processo é a formação de um cátion radical pela transferência de um elétron (LITWINIENKO *et al.*, 2003). A atividade antioxidante está relacionada à capacidade de doação de elétrons, seguido ou não pela transferência de hidrogênio. Este mecanismo depende tanto da força de energia da ligação entre o heteroátomo e o hidrogênio quanto da estabilização das espécies cátion-radicalar e semiquinonas formadas (GAO *et al.*, 2005).

O método DFT permitiu demonstrar que o mecanismo de sequestro do radical DPPH pela edaravona é devido à abstração do átomo de hidrogênio presente na posição C4 e não da posição C7-H ser muito mais alta que a ligação C4-H sendo esta última mais favorável (WANG & ZHANG, 2003). Portanto, a reação que está envolvida no processo de sequestro de radical pela edaravona, segundo estes autores é pela abstração do átomo de hidrogênio e não pela transferência de elétrons. Ressalta-se também que a energia de dissociação da ligação (EDL) do C-H correspondente para a posição 4 é muito mais baixa

do que para a posição 7. De fato, os estudos mostraram que a posição 4 era o local de doação que formava o intermediário radicalar mais estável do que a doação na posição 7.

Diversos derivados da edaravona foram analisados e determinou-se que a substituição na posição 1 do anel pirazolona não afetou a redução do potencial de oxidação, ao contrário das substituições na posição 3 que pareceu ser mais eficaz formando compostos mais estáveis (NAKAGAWA *et al.*, 2003). Estes resultados foram confirmados por Borges *et al.*, (2012).

A forma ionizada da edaravona é descrita como a forma ativa no combate aos radicais livres, por meio do mecanismo de transferência de elétrons. Porém, estudos sobre os derivados da edaravona com os substituintes lipofílicos como grupo fenil, na posição 1 do anel pirazolona, demonstraram elevação na atividade inibitória da peroxidação lipídica, provavelmente devido às concentrações crescentes dos derivados na fase apolar (WATANABE *et al.*, 1997). Estudos posteriores, sugeriram que em meio aquoso a atividade antioxidante é mais expressiva, devido as formas aniônicas dos derivados serem mais fortemente presentes neste meio, caracterizando uma condição para a eficiência no sequestro de radicais. Adicionalmente, a densidade de elétrons no anel pirazolona é igualmente importante para a reatividade química frente à saída de um elétron. Portanto, os substituintes relativamente ricos em elétrons no anel da pirazolona podem diminuir o potencial de oxidação, porém, diminui proporcionalmente a concentração de sua forma aniônica pela protonação devido às cargas negativas parciais crescentes. Ao contrário, os substituintes deficientes em elétrons podem aumentar a quantidade da forma aniônica, mas aumentam o potencial de oxidação (NAKAGAWA *et al.*, 2006).

Os estudos de Queiroz *et al.*, (2009) confirmaram por meio dos métodos teóricos DFT na base de cálculo B3LYP/6-31G o mecanismo de sequestro do radical, tornando possível afirmar que 2-pirazolin-5-ona é o centro ativo da edaravona (farmacóforo) e que seria possível o aumento da sua atividade oxidante por meio de modificações estruturais no anel benzeno ou na posição 3.

2.8 PLANEJAMENTO DE NOVOS DERIVADOS DA EDARAVONA

A modelagem molecular é uma das técnicas empregadas para descoberta de novos fármacos, consiste em modificações moleculares que se mostram promissoras, transformação química de moléculas conhecidas, visando aumentar a potência e a segurança, garantindo assim um melhor perfil tanto farmacocinético quanto

farmacodinâmico (WERMUTH, 2004). Destaca-se como um dos principais métodos de validação preliminar das modificações moleculares, trata-se de uma variedade de ferramentas e métodos computacionais e teóricos que visam entender e prever o comportamento de sistemas reais, sendo usada para descrever e prever estruturas moleculares, propriedades termodinâmicas, entre outras. Os métodos computacionais de modelagem molecular possuem uma ampla abrangência, avaliam estudos de minimização de energia de moléculas, análises conformacionais, simulações de dinâmica molecular, entre outros, sendo aplicáveis desde átomos isolados a biomacromoléculas (KITCHEN *et al.*, 2004; VERLI & BARREIRO, 2005).

O método computacional da modelagem molecular auxilia no estudo e planejamento de promissores modelos de fármacos. Por meio dessa técnica é possível analisar e construir modelos da relação estrutura-reatividade (REA) capazes de elucidar os mecanismos de ação farmacológicos ou toxicológicos, onde os valores de atividade são correlacionados com os parâmetros tridimensionais e eletrônicos (CARVALHO *et al.*, 2003).

Foi observado por Langmuir que moléculas ou íons que têm número e arranjo idênticos de elétrons apresentam propriedade físico-químicas semelhantes, por exemplo, N_2 e CO. A compostos com tal semelhança denominou-se isósteros, e o estudo desses arranjos eletrônicos de moléculas recebeu o nome de isosterismo. Posteriormente, Erlenmeyer formulou uma nova definição, e isósteros passaram a ser todos os átomos, íons ou moléculas que contêm idênticas camadas periféricas de elétrons. Isto ocorre mais frequentemente entre átomos que estão na mesma família da tabela periódica, onde as camadas externas de elétrons são idênticas ou quase idênticas e entre átomos que não sejam muito diferentes em tamanho e massa.

Mais tarde, em 1925, foram formuladas por Grimm regras para substituições entre grupos isósteros, que são conhecidas como regra do hidreto. Tais grupos isósteros ficariam organizados nas colunas, formadas pelo elemento anterior da linha horizontal e adicionando um átomo de hidrogênio (ou hidreto), continuando este processo até não ser mais possível. Posteriormente (Friedman, 1951), foi observado que compostos quimicamente isósteros apresentam constantemente atividade farmacológica semelhante. A estes classificou-se bioisósteros, e ao seu estudo deu-se o nome de bioisosterismo.

Os bioisósteros foram classificados em duas grandes categorias: Os clássicos e os não – clássicos. O isosterismo de anéis seria uma técnica não clássica, que quando confrontados com sua molécula de origem mostram um composto cuja configuração eletrônica apresenta pequenas ou grandes variações no arranjo estérico e em suas propriedades de solubilidade, mas que preservam uma similaridade ao composto protótipo, no entanto, não seguem exatamente a regra do hidreto de Grimm e a definição de Erlenmeyer. No geral, não apresentam o mesmo número de átomos e as mesmas características estéricas e eletrônicas dos isósteros clássicos, mas produzem atividades biológicas similares (THOMAS, 2003).

O método de modificação molecular utiliza o conceito de bioisoterismo como estratégia para a descoberta de novos agentes bioativos, permite uma comparação de afinidade entre duas substâncias bioisostéricas por um dado sítio receptor e, conseqüentemente, um potencial de atividade biológica similar (BARREIRO, 1997). A necessidade de novas substâncias terapêuticas mais eficazes, com baixa toxicidade e maior especificidade, tem levado pesquisadores a intensificar os estudos para a descoberta de novos fármacos.

3. OBJETIVOS

3.1 GERAL

Planejar, desenvolver e sintetizar novos análogos da edaravona com maior capacidade antioxidante.

3.2 ESPECÍFICOS

- Calcular descritores eletrônicos, moleculares e parâmetros físico-químicos que descrevam os compostos derivados da edaravona;
- Comparar as propriedades eletrônicas entre edaravona e análogos;
- Planejar novos derivados usando o método do bioisosterismo;
- Propor a síntese de novos derivados da edaravona;
- Avaliar os mecanismos antioxidantes dos análogos da edaravona;
- Realizar um estudo da relação entre estrutura química e atividade antioxidante dos análogos.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 SÍNTESE DE ANÁLOGOS DA EDARAVONA

O novo derivado da edaravona será preparado a partir da reação de acetilação da glicina (A) com a respectiva ciclização para a formação de metil-azalactona (B). Em seguida, o composto B reagirá com anilina, inicialmente produzindo a formação de um intermediário e em seguida uma ciclização formará a Imidazona (S2) (Figura 12).

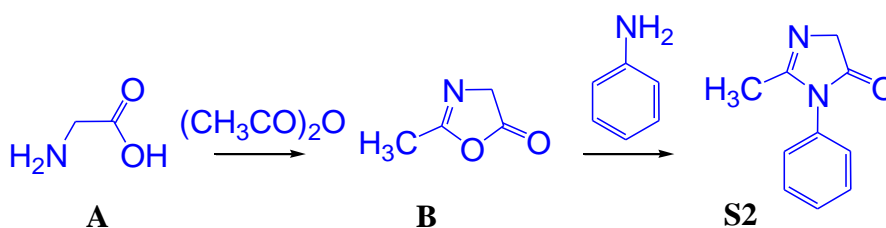


Figura 12. Reação de preparação da imidazona.

4.2 DETERMINAÇÃO DE PROPRIEDADES FÍSICAS E ELUCIDAÇÃO ESTRUTURAL

A identificação e a caracterização físico-química do derivado da edaravona (imidazona) será realizada por meio da técnica de ponto de fusão. O procedimento visa comparar o ponto de fusão da edaravona com os derivados, fim de avaliar o grau de pureza de tais.

4.3 MODELAGEM COMPUTACIONAL

A modelagem molecular é um método computacional utilizado para o planejamento racional de novos fármacos por meio da mecânica molecular como aproximação de modelo real, permitindo análises da atividade biológica e físico-químicas de um conjunto de moléculas. Os cálculos são realizados no programa Gaussian, por meio do método B3LYP com conjunto de bases 6-31G, implementado no programa.

4.4 ENERGIA DOS ORBITAIS DE FORNTEIRA (HOMO e LUMO)

Os orbitais de fronteira são um importante parâmetro, pois contribuem para uma maior compreensão da reatividade química. O HOMO é um parâmetro relacionado com a capacidade doadora de elétrons que caracteriza o composto como nucleofílico, é o orbital molecular ocupado de maior energia. A maior ou menor nucleofilidade está relacionada

com o maior ou menor valor, respectivamente. Enquanto que o LUMO está relacionado com a capacidade aceptora de elétrons que caracteriza um eletrófilo, é o orbital molecular desocupado de mais baixa energia, logo, baixos valores de LUMO indicam maior eletrofilicidade. A energia dos orbitais de fronteira é expressa em elétron-Volts (eV), e avaliam a estrutura química de uma substância, que por possuir regiões ricas em elétrons podem reagir como radicais livres (ARROIO, 2010).

4.5 POTENCIAL DE IONIZAÇÃO

O potencial de ionização de um átomo é uma medida da força com que um elétron está ligado a um átomo. O primeiro potencial de ionização (PI) de um átomo é a energia necessária para remover um elétron desse átomo a uma distância infinita ($A \rightarrow A^+ + e^-$). Baixos valores de potencial de ionização para compostos ativos podem indicar possíveis mecanismos de transferência de cargas na interação ligante-receptor, assim como também pode indicar que a forma iônica da substância é a que apresenta atividade biológica (BUNGE, 1977).

4.6 LOGARITMO DO COEFICIENTE DE PARTIÇÃO (CLOG P)

O coeficiente de partição de uma determinada espécie química é definido como sendo a razão entre as concentrações que se estabelecem nas condições de equilíbrio de uma substância química, quando dissolvida em sistema constituído por uma fase orgânica e uma fase aquosa, e está associado à mudança de energia livre provocada pela substância sobre o equilíbrio termodinâmico do sistema. Esta relação pode ser expressa pela Equação $P = [orgânica]/[aquosa]$ em que P é o coeficiente de partição do composto analisado; [orgânica] a concentração do composto na fase orgânica nas condições de equilíbrio; [aquosa] a concentração da substância na fase aquosa nas condições de equilíbrio (TAVARES, 2004).

Esta propriedade desempenha papel significativo na bioatividade dos compostos, pois em conjunto com outras propriedades físico-químicas determinam a expressão da atividade biológica dos compostos, vantajoso na absorção de fármacos pelo organismo (SANTA BRIGIDA, 2013)

4.7 ENERGIA DE HIDRATAÇÃO

A energia de hidratação está associada com o comportamento dos fármacos ao entrarem em contato com solvente aquoso, podem absorver ou liberar energia. É um

parâmetro fundamental, pois informa a respeito do transporte e distribuição pelas diferentes biofases plasmáticas, bem como pela atração e interação do fármaco com seu receptor. Os valores de EH são expressos em quilocalorias por mol (Kcal/mol). Valores negativos indicam uma reação exotérmica, enquanto que valores positivos indicam uma reação endotérmica. Fornece informação complementar na compreensão dos comportamentos ligante com um receptor e de um componente que precisa vencer as barreiras biológicas em comparação com outras moléculas com propriedades farmacocinéticas conhecidas (MIYAMOTO & KOLLMAN, 1993).

4.8 ENERGIA DE DISSOCIAÇÃO DA LIGAÇÃO (EDL_{XH})

Energia de dissociação da ligação é a quantidade de energia consumida ou liberada na ruptura ou na formação, de uma ligação química. As energias de dissociação homolítica das ligações C-H podem ser usadas para estimar a estabilidade relativa entre radicais. Assim, quanto maior a energia da ligação C-H menor será sua estabilidade. A geometria do radicais também pode ser usada para avaliar a sua estabilidade, de acordo com a sua geometria planar e a sua maior ou menor proximidade com relação ao anel. É calculada pela diferença entre a molécula neutra e sua respectiva semiquinona mais o radical hidrogênio (MIYAMOTO & KOLLMAN, 1993).

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 SÍNTESE DE ANÁLOGOS DA EDARAVONA

Novos derivados da edaravona foram preparados a partir da reação *one-spot* de condensação de Erlenmeyer. Primeiramente, a glicina (A) foi acetilada para a geração da acetilglicina (B), segundo a Figura 13a.

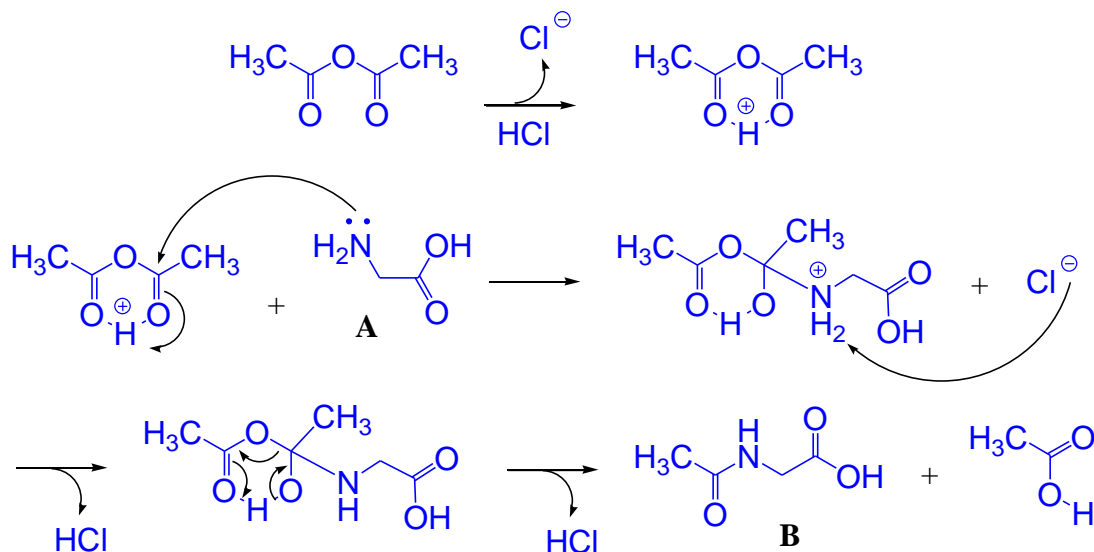


Figura 13a. Reação de síntese da imidazona.

O mecanismo de reação começa pela ionização do ácido clorídrico com a protonação dos grupos carbonílico do anidrido acético, formando um intermediário reativo. De fato, o anidrido protonado torna-se muito mais reativo com a glicina, onde a parte amina deste amino-ácido reage com uma das carbonilas, formando um intermediário, que perde um próton, recuperando o catalizador. O novo intermediário formado, elimina ácido acético mais a acetilglicina (B) por meio de um rearranjo pericíclico.

Em seguida, a acetilglicina (B) é ciclizada para a formação da respectiva metilazalactona (C), segundo o mecanismo descrito na Figura 13b.

O mecanismo desta etapa da reação começa novamente pela ionização do ácido clorídrico com a protonação do grupamento ácido carboxílico, assim como pela formação do tautômero da amida, formando um grupamento hidroximiina. Em seguida, o grupamento hidroxila ataca a carbonila protonada, formando um intermediário cíclico. De fato, esta reação é altamente favorável pela regra de Baldwin (5-exo-trig). O próton é

recuperado, regenerando o catalizador. Finalmente, o intermediário diólico elimina uma molécula de água, formando a 2-metil-3-oxazolin-5-ona (C).

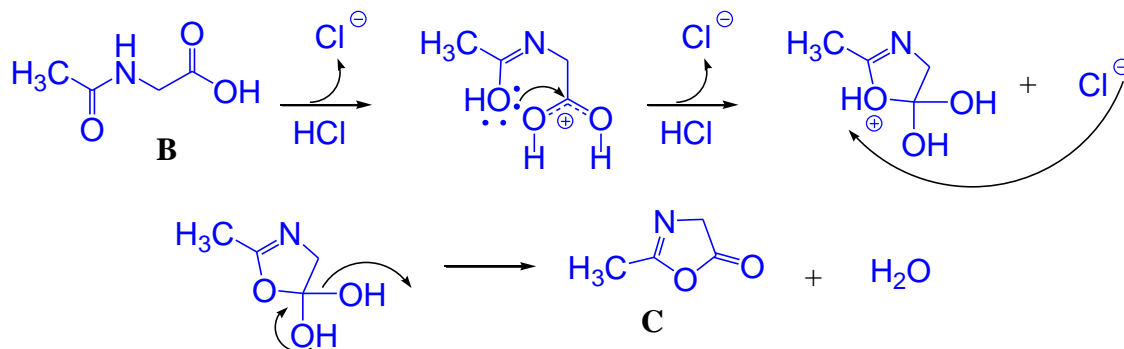


Figura 13b. Reação de síntese da imidazona.

Na sequência, a anilina é adicionada ao intermediário metil-azalactona (C), que por uma termociclização formará o produto final, como mostrado na Figura 13c.

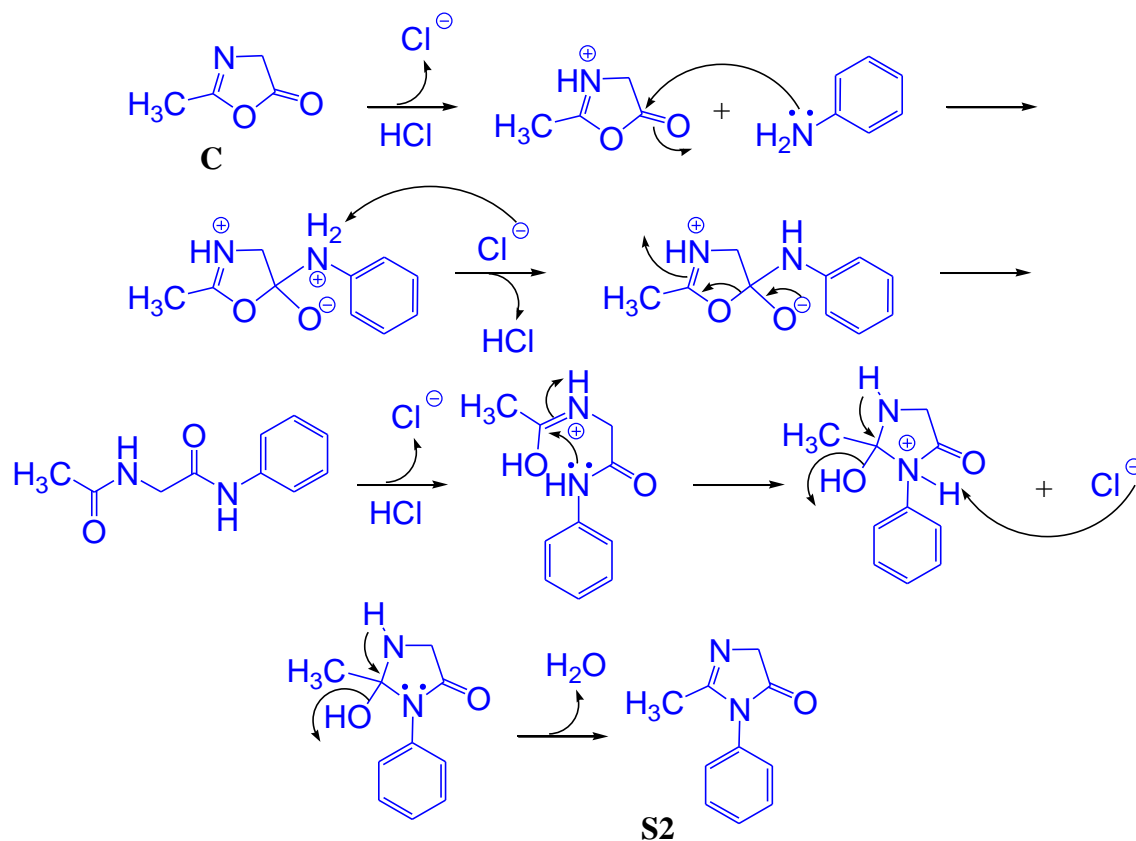


Figura 13c. Reação de síntese da imidazona.

O mecanismo da reação inicia outra vez pela ionização do ácido clorídrico com a protonação do átomo de nitrogênio da metil-azalactona (C). O intermediário agora protonado se torna mais reativo com a anilina, que ataca o carbono carbonílico.

Após a desprotonação e recuperação do catalizador, o composto cíclico é aberto, formando um intermediário acetil-glicinil-anilida. Novamente, a reação recomeça pelo aquecimento para a formação do tautômero e pela ionização do ácido clorídrico com a protonação do átomo de nitrogênio.

Em seguida, diferente da primeira ciclização, o grupamento amina aromático ataca o grupo imina protonada formando um intermediário cíclico, por meio de um mecanismo de ciclização do tipo 5-endo-trig pela regra de Baldwin (Baldwin, 1975). Posteriormente, recuperando o catalizador, uma molécula de água é eliminada formando o novo composto 1-fenil-2-metil-1,3-imidazol-5-ona (S2).

5.2 DETERMINAÇÃO DE PROPRIEDADES FÍSICAS E ELUCIDAÇÃO ESTRUTURAL

O composto 1-fenil-2-metil-1,3-imidazol-5-ona ou imidazona (S2) foi identificado por meio do ponto de fusão, obtendo-se um valor com intervalo entre 100 a 110° C.

Este composto apresenta alta solubilidade em metanol, etanol, acetona, acetato de etila e clorofórmio, apresentando baixa solubilidade em água e n-hexano.

A caracterização físico-química do derivado imidazona depende da realização das análises por meio de infra-vermelho (IV) e ressonância magnética nuclear de hidrogênio (RMN H^1) e carbono (RMN C^{13}).

Outros derivados foram propostos, mas devido a limitação de reagentes, eles foram considerados apenas nos estudos de modelagem computacional.

5.3 MODELAGEM COMPUTACIONAL

A modelagem molecular foi baseada no método de modificação bioisotérica. De fato, este é um método aplicado no planejamento racional de novos derivados ativos e mais seguros. Trata-se de uma estratégia empregada com sucesso no desenvolvimento de novos fármacos amplamente utilizados (THOMAS, 2003). Os cálculos de mecânica molecular, semi-empírico PM3, Hartree-Fock e Teoria do Funcional da Densidade (DFT) foram empregados para obtenção da geometria final da edaravona (S1), seu derivado bioisotérico imidazona (S2), mais sete derivados da imidazona, onde o grupo metila foi alterado para um benzeno p-substituído com grupos elétron-doadores e elétron-aceptores.

De acordo com as estruturas descritas na Figura 13, os novos derivados (S2-S9) quando comparados com a edaravona (S1) apresentam uma forte repulsão estérica entre o grupo fenila e metil (S2), sendo muito maior entre as duas fenilas (S3-S9).

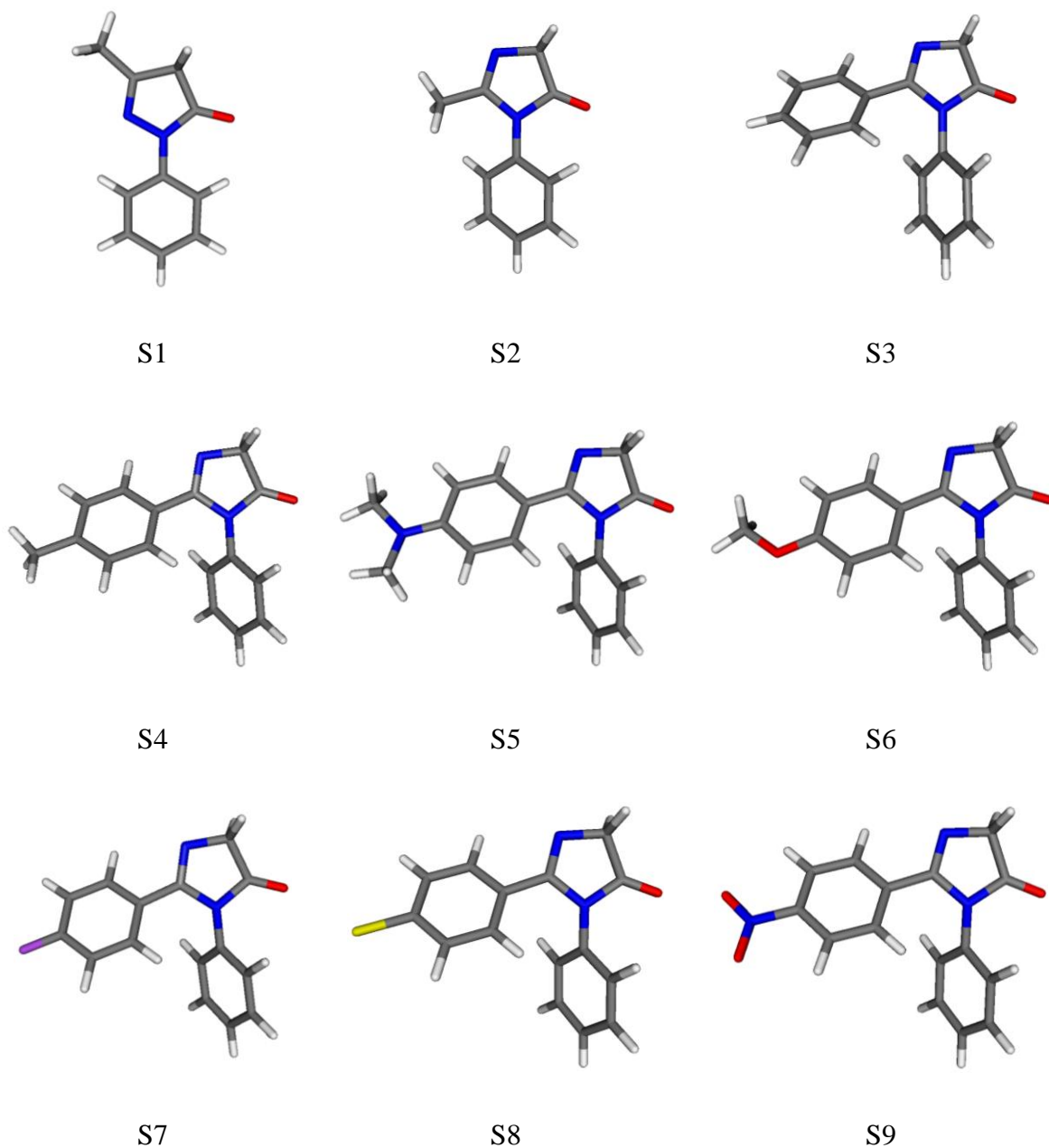


Figura 14: Estrutura da edaravona e dos seus derivados

De fato, os cálculos para os oito derivados (S2-S9) análogos da edaravona (S1) obtidos pelo método DFT/B3LYP com conjunto de bases 6-31G(d,p), implementados no programa Gaussian mostrou que não é possível obter qualquer conformero com uma estrutura planar. Este fato pode ser impactante para a propriedade antioxidante, que depende de uma conformação planar para a deslocalização de elétrons desemparelhados.

5.4 PARÂMETROS FARMACOCINÉTICOS (CLog P e EH)

No estudo teórico o ClogP e a Energia de Hidratação foram selecionados para avaliação dos parâmetros farmacocinéticos relacionados à solubilidade aquosa e lipídica dos compostos. Os valores das propriedades calculadas são apresentados na Tabela 1.

O CLogP é o parâmetro que define o caráter lipossolúvel de uma substância entre a fase aquosa e a fase orgânica ($P = C_{org}/C_{aq}$). Dessa forma, as substâncias que apresentam maior CLogP, exibem maior capacidade em ultrapassar a membrana lipofílica celular, resultando em maior disponibilidade no organismo, elevando seu efeito farmacológico. No entanto, é necessário haver equilíbrio na lipofilicidade da substância, pois, o meio intracelular apresenta caráter hidrofílico e para que o fármaco atue farmacologicamente é preciso haver solubilidade neste meio. Assim, a energia de hidratação também foi levada em consideração (TAVARES, 2004).

Os valores de ClogP para os derivados análogos variaram de 1,09 para a S9 a 3,56 para a S8, a edaravona apresentou-se com o valor de 1,66 (S1). Devido o principal local de ação ser no sistema nervoso, o qual é um ambiente altamente lipossolúvel, os derivados com maiores valores de ClogP do que a edaravona seriam compostos mais ativos de acordo com dados da literatura (QUEIROZ, 2009).

Tabela 1: Propriedades farmacocinéticas (ClogP e EH) dos derivados análogos utilizando os programas computacionais Hyperchem 7.5(2000) e Chemoffice (2005).

Compostos	CLogP	EH (kcal/mol)
S1	1,66	-2,12
S2	1,81	-2,12
S3	2,77	-3,36
S4	3,29	-2,19
S5	3,02	-1,84
S6	2,77	-5,04
S7	2,99	-3,09
S8	3,56	-3,04
S9	1,09	-8,38

Os resultados dos cálculos do coeficiente de partição óleo/água (ClogP) indicaram que sete dos compostos propostos apresentarão uma lipofilicidade superior a edaravona.

As substâncias mais lipossolúveis, ou seja, com maior ClogP S4 (3,29), S5 (3,02) e S8(3,56), exibem valores maiores de EH S4 (-2,19 kcal/mol), S5 (-1,84 kcal/mol) e S8 (-3,08 kcal/mol), apresentando baixa energia liberada em meio aquoso. Em contrapartida, os derivados com valores menores de ClogP, ou seja, mais hidrossolúveis, como a S9 (ClogP= 1,09) apresentou maior EH (-8,38 kcal/mol), liberando maior energia devido a capacidade de solvatação. Evidenciando coerência entre esses parâmetros. Assim, o derivado S9 apresentou menor capacidade de atravessar a membrana celular.

Semelhantemente, os resultados dos cálculos para a energia de hidratação (EH) indicaram que seis dos compostos propostos apresentarão uma baixa capacidade de interação com sistemas polares, reforçando a característica lipofílica destes compostos.

5.5 PROPRIEDADES ELETRÔNICAS DOS DERIVADOS DA EDARAVONA

As energias dos orbitais moleculares de fronteira HOMO e LUMO correspondem à energia necessária para remover e adicionar elétrons respectivamente. As moléculas que possuem baixos valores de energia de HOMO têm fraca tendência em doar elétrons, do contrário, altos valores de energia de HOMO implicam que a molécula apresenta forte caráter doador de elétrons (ANTONCZAK, 2008)

A imidazona (S2) apresenta maior contribuição do efeito indutivo doador da metila na posição 2, quando comparada com a edaravona, cuja metila está localizada na posição 3. Além disso, para o composto S5, o forte efeito doador por ressonância do grupamento dimetil-amina pode ser responsável por este valor diferenciado dessa molécula.

No entanto, como observado na análise estrutural dos novos compostos, a capacidade elétron-doadora destes compostos está comprometida devido as suas repulsões estéreo-conformacionais.

Esse efeito comprometeu outras propriedades dependentes da coplanaridade de orbitais moleculares, como o LUMO e o GAP^{L-H} .

Uma vez que os valores de GAP são obtidos pela diferença entre o LUMO e o HOMO, trata-se de um parâmetro referente à estabilidade da molécula, assim, altos valores de GAP significam alta estabilidade molecular (KARELSON & LOBANOV, 1996). Como

mostra a Tabela 2, todos os novos derivados não apresentaram valores melhores que a edaravona, exceto para os compostos S5 e S9.

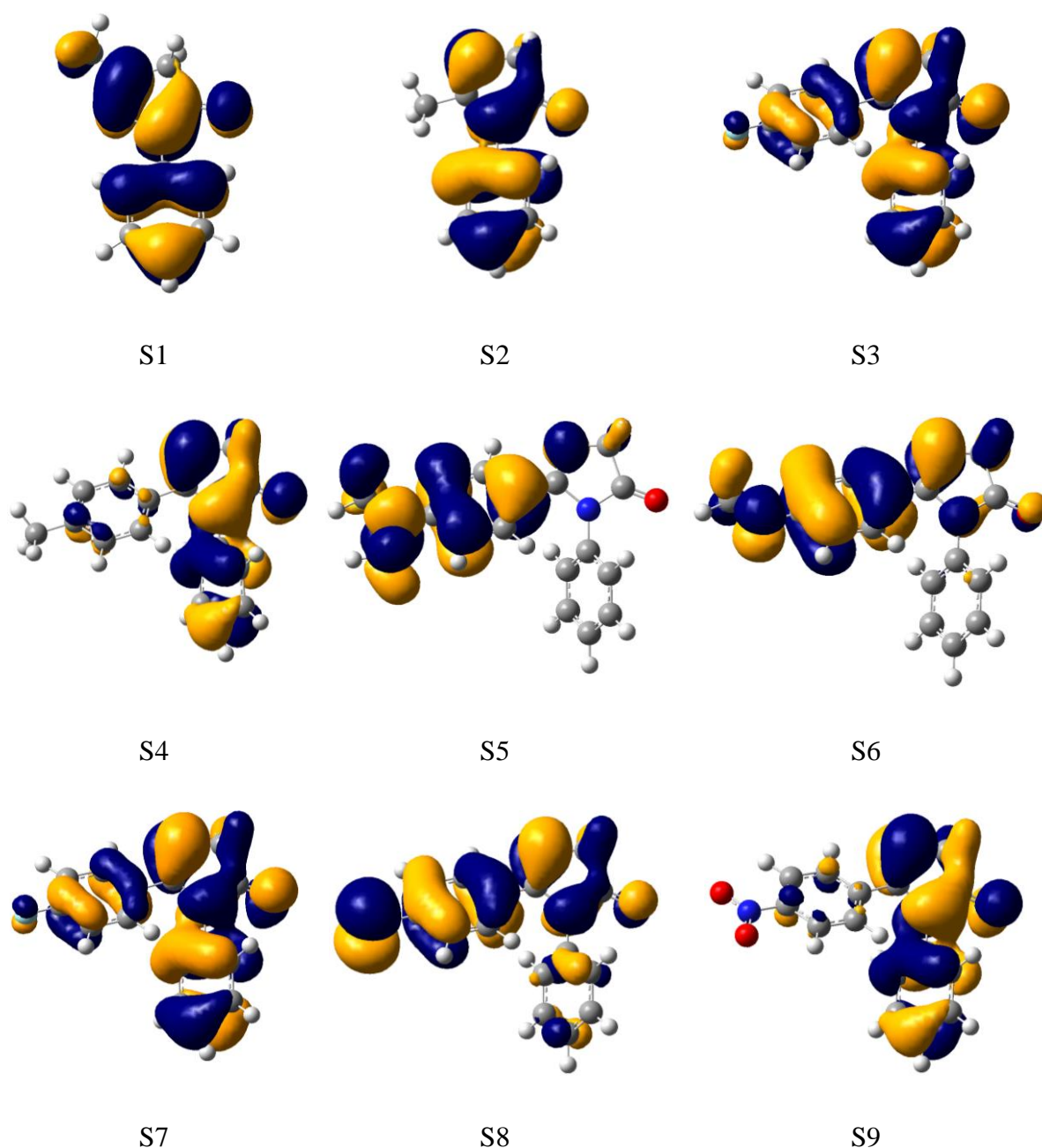


Figura 15: Estrutura de HOMO da edaravona (S1) e de seus derivados (S2-S9).

A contribuição de cada grupo para a propriedade elétron-doadora nos derivados análogos da edaravona foi observada usando as contribuições destes grupos no orbital de HOMO, como mostrado na Figura 15. Os resultados mostraram que embora essas moléculas possuam grupos doadores de elétrons e halogênios, formando as posições ricas em elétrons, a ausência de coplanaridade não permite a extensão de um sistema π de elétrons, capaz de contribuir com uma maior capacidade doadora de elétrons.

Finalmente, a capacidade doadora de elétrons ou hidrogênio foi avaliada buscando identificar os fatores responsáveis pela maior ou menor capacidade.

De acordo com a literatura a abstração de elétrons ou hidrogênio são os principais mecanismos estudados de predição da capacidade antioxidante (DINIZ *et al.*, 2004; ALVES *et al.*, 2010). Dessa forma, os valores do potencial de ionização (PI) e da energia de dissociação de ligação (EDL) calculados se referem à facilidade de doação de elétron ou hidrogênio, onde os menores valores exibem maior atividade antioxidante.

Tabela 2: Propriedades eletrônicas dos derivados da edaravona determinadas pelo programa Gaussian, por meio do método B3LYP com conjunto de bases 6-31G.

Compostos	HOMO (eV)	LUMO (eV)	GAP	PI (kcal/mol)	EDL _{CH} (kcal/mol)
S1	-6,03	-1,23	4,79	174,32	81,33
S2	-5,08	0,36	5,44	172,71	76,86
S3	-6,68	-1,56	5,11	184,61	79,42
S4	-6,59	-1,46	5,12	181,47	79,23
S5	-5,58	-1,10	4,47	160,48	78,11
S6	-6,32	-1,32	5,00	175,29	78,93
S7	-6,77	-1,63	5,14	186,35	79,44
S8	-6,79	-1,79	5,00	185,91	79,40
S9	-7,07	-3,21	3,86	192,86	79,29

De acordo com os valores do PI, os compostos S2 (172,71 kcal/mol) e S5 (160,48 kcal/mol) apresentaram menores valores comparados com a edaravona (174,32 kcal/mol).

Entretanto, todos os novos derivados apresentaram menores valores de EDL, novamente com destaque para os compostos S2 (76,86 kcal/mol) e S5 (78,11 kcal/mol) apresentaram menores valores comparados com a edaravona (81,33 kcal/mol).

Estes resultados mostram a diferença entre a edaravona (S1) e a imidazona (S2), por meio do efeito de ressonância, onde cada molécula apresenta pelo menos três estruturas de ressonância após a abstração de um hidrogênio, diferenciando pela presença de um carbono secundário na imidazona (S2), com uma maior participação da metila por efeito

indutivo sobre a semiquinona, explicando a maior capacidade antioxidante do derivado proposto neste trabalho.

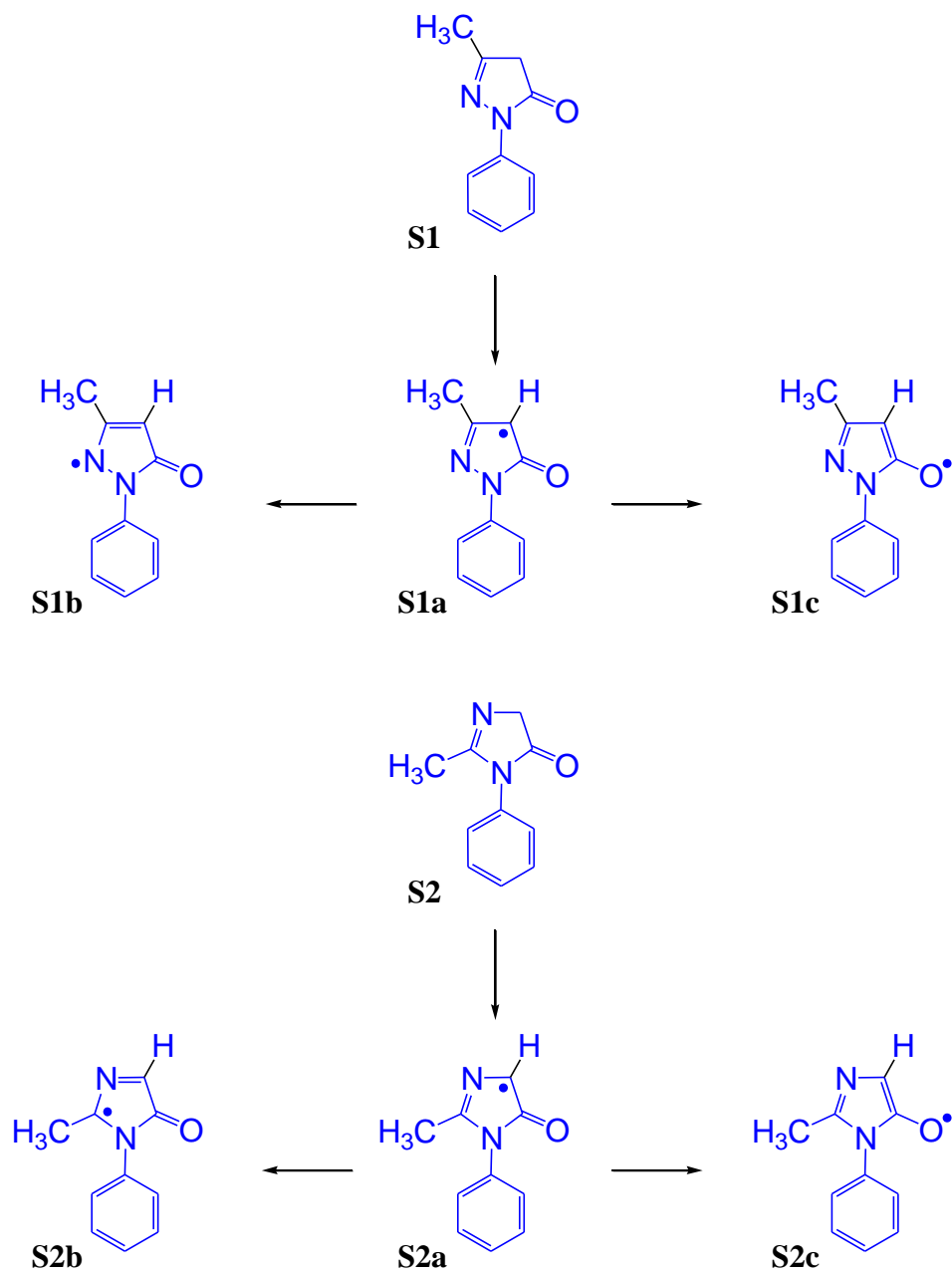


Figura 16: Estruturas de ressonância da semiquinona da edaravona (S1) e imidazona (S2)

6. CONCLUSÃO

Os resultados obtidos por meio dos métodos computacionais mostraram que 7 (S2-S8) dos compostos apresentam lipofilicidade superior a edaravona, evidenciando baixa capacidade de interação com sistemas polares, reforçando a característica lipofílica destes derivados, indicando maior facilidade em ultrapassar a barreira lipofílica da membrana celular.

A análise dos valores de PI e HOMO revela que o derivado imidazona poderá apresentar maior atividade antioxidante comparado à edaravona, devido ao efeito da ressonância que permite ao grupo metila agir sobre a semiquinona.

Embora não seja possível obter qualquer confôrmero com uma estrutura planar e isso afete a propriedade antioxidante dos derivados, os resultados são promissores pois por meio dos cálculos concluímos que o método de planejamento usando o bioisoterismo forneceu um novo padrão de compostos com atividade semelhante à edaravona.

7. REFERÊNCIAS

ABBAS, A. K.; LICHTMAN, A. H.; POBER, J. S. **Cellular and molecular immunology**. 4. ed. Philadelphia: W. B. Saunders Company, 2000.

ALVES, C. Q. *et al.* Métodos para determinação de atividade antioxidante in vitro em substratos orgânicos. **Química Nova**, [s. l.], v. 33, n. 10, p. 2202–2210, 2010.

ANDERSON, V. A. *et al.* Cognitive and academic outcome following cranial irradiation and chemotherapy in children : a longitudinal study. **British Journal of Cancer**, [s. l.], v. 82, n. 2, p. 255–262, 2000.

ARROIO, A.; HONÓRIO, K.M.; SILVA, A. B. F. Propriedades químico-quânticas empregadas em estudos das relações estrutura-atividade. **Química Nova**, v. 33, p. 694-699, 2010.

ATES, O.; CAYLI, S.; ALTINOZ, E.; GURSES, I.; YUCEL, N.; SENER, M.; KOCAK, A.; YOLOGLU, S. Neuroprotection by resveratrol against traumatic brain injury in rats. **Molecular and Cellular Biochemistry**, v. 294, n. 1-2, Jan, p.137-144. 2007.

BANNO, M.; MIZUNO, T.; KATO, H.; ZHANG, G.; KAWANOKUCHI, J.; WANG, J.; KUNO, R.; JIN, S.; TAKEUCHI, H.; SUZUMIRA, A. The radical scavenger Edaravone prevents oxidative neurotoxicity induced by peroxynitrite and activated microglia. **Neuropharmacology**, v.48, n.2, Feb, p.283-290. 2005.

BARREIRO, E. J.; RODRIGUES, C. R.; ALBUQUERQUE, M. G.; SANTANNA, C.M.R.; ALENCASTRO, R.B. **Modelagem molecular: Uma ferramenta para o planejamento racional de fármacos em química medicinal**. Quim. Nova (1997).

BALDWIN, J. E., Rules for Ring Closure, **J. Chem. Soc., Chem. Commun.** 1976, 734

BENTUR, Y.; COHEN, O. Dipyron Overdose. **Journal of Toxicology**, [s. l.], v. 42, n. 3, p. 261–265, 2004.

BIANCHI, M. L. P.; ANTUNES, L. M. G. Radicais livres e os principais antioxidantes da dieta. **Revista de Nutrição**, [s. l.], v. 12, n. 2, p. 123–130, 1999.

BONDOCK, S. Synthesis and antimicrobial activity of some new heterocycles incorporating antipyrine moiety. **European Journal of Medicinal Chemistry**, [s. l.], v. 43, n. 10, p. 2122–2129, 2008.

BORGES R. S; QUEIROZ, A. N.; MENDES, A. P. S.; ARAÚJO, S. C.; FRANÇA, L. C. S.; FRANCO, E. C. S.; GOMES-LEAL, W.; SILVA, A. B. F. Density Functional Theory (DFT) Study of Edaravone Derivatives as Antioxidants. **International Journal of Molecular Sciences**., 13, 7594-7606, 2012.

BORGES, R. S.; QUEIROZ, A. N.; SILVA, J. R.; MENDES, A. P. S.; HERCULANO, A. M.; CHAVES NETO, A. M. J.; DA SILVA, A. B. F. A combined experimental and theoretical approach for radical-scavenging activity of edaravone and its related derivatives. **Structure. Chemistry**., 24, 349-355, 2013.

BRASIL, Portal. **Acidente vascular cerebral (AVC)**. 2012. Disponível em: <<http://brasil.gov.br/saude/2012/04/acidente-vascular-cerebral-avc>>. Acesso em: 1 jan. 2018.

BUNGE, A. V.; **Introdução à Química Quântica**, Ed. Edgard Blucher Ltda: São Paulo, 1977.

CANCELA, D. M. G. **O acidente vascular cerebral - classificação, principais consequências e reabilitação**. 2008. Disponível em: <<http://www.psicologia.pt/artigos/textos/TL0095.pdf>>. Acesso em: 1 jan. 2018.

CARVALHO, I.; PUPO, M.T.; BORGES, A. D. L.; BERNARDES, L. S. C. Introdução à modelagem molecular de fármacos no curso experimental de química farmacêutica. **Química Nova** v.26, (2003) 38.

CARVALHO, E. S.; SANTA-BRÍGIDA, S. A.; QUEIROZ, A. N.; SILVA, J. R.; SILVA, O. P. P.; BARROS, C. A. L.; BORGES, R. S. Edaravone toxicity can be related to redox properties of their oxidized derivatives. **Chemical Data Collections**, v. 7-8, p. 51-57, 2017.

CARVALHO, E. S. Síntese, avaliação antioxidante e relação estrutura-atividade de C-fenil-pirazolonas análogas da edaravona. **Dissertação de Mestrado** (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Federal do Pará, 2014.

CARVALHO, E. S. Planejamento e Desenvolvimento de Derivados da Edaravona. **Tese de Doutorado** (Doutorado em Biotecnologia e Biodiversidade -BIONORTE) - Universidade Federal do Pará, 2017.

CEREBROVASCULARES, Sociedade Brasileira de Doenças. **Campanha Nacional de Combate ao AVC 2016 - 22 a 30 de outubro Dia Mundial do AVC, 29 de outubro**. 2016. Disponível em: <http://sbdcv.org.br/publica_campanhas.asp>. Acesso em: 1 jan. 2018.

CHORILLI, M.; LEONARDI, G. R.; SALGADO, H. R. N. Radicais livres e antioxidantes: conceitos fundamentais para aplicação em formulações farmacêuticas e cosméticas. **Revista Brasileira de Farmácia**, [s. l.], v. 88, n. 3, p. 113–118, 2007.

CLAYDEN, J. **Organic Chemistry**. [s.l.] : Oxford University Press, 2001.

COSTA, David *et al.* Inhibition of human neutrophil oxidative burst by pyrazolone derivatives. **Free Radical Biology & Medicine**, [s. l.], v. 40, p. 632–640, 2006.

CROSSEN, J. R. Neurobehavioral sequelae of cranial irradiation in adults: a review of radiation-induced encephalopathy. **Journal of Clinical Oncology**, [s. l.], v. 12, p. 627–642, 1994.

DAMODARAN, S.; PARKIN, K. L.; FENNEMA, Owen R. **Fennema's food chemistry**. Boca Raton: CRC Press, 4. ed., 2008.

DEVARAJ, S; TANG, R.; WILSON, M.J.; ENNO, T. Chronic hydrocephalus in rats and humans: white matter loss and behavior change. **Ann Neurol**, v.53, n.3, Mar, p.337-346. 2003.

DINIZ, J.E.M.; BORGES, R.S.; NAHUM, C.N. A DFT study for paracetamol and 3,5-disubstituted analogues. **Journal of Molecular Structure: THEOCHEM**. v 673, p. 93-97, 2004.

DOHARE, P.; HYZINSKI-GARCIA, M.C.; VIPANI, A.; BOWENS, N. H.; NALWALK, J. W.; FEUSTEL, P. J.; KELLER, R. W., JR.; JOURD'HEUIL, D.; MONGIN, A. A. The neuroprotective properties of the superoxide dismutase mimetic tempol correlate with its ability to reduce pathological glutamate release in a rodent model of stroke. **Free Radical Biology & Medicine**, v., n., Sep 12. 2014.

DRINGER, R. GUTTERER, J. M.; HIRRLINGER, J. Glutathione metabolism in brain metabolic interaction between astrocytes and neurons in the defense against reactive oxygen species. **European Journal of Biochemistry**, v. 267, n.16, Aug, p.4912-4916.2000.

ENDRES, Mathias et al. Stroke protection by 3-hydroxy-3-methylglutaryl (HMG) -CoA reductase inhibitors mediated by endothelial nitric oxide synthase. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, [s. l.], v. 95, p. 8880–8885, 1998.

FERREIRA, A. L. A.; MATSUBARA, L. S. Radicais livres: conceitos, doenças relacionadas, sistema de defesa e estresse oxidativo. **Revista da Associação Médica Brasileira**, [s. l.], v. 43, n. 1, p. 61–68, 1997.

FERREIRA, I. C. F. R; ABREU, R. M. V. Stress Oxidativo, antioxidantes e fitoquímicos. **Bioanálise**, v. IV, n.2, Jul/Dez -2007.

FUKUDOME, D. *et al.* The radical scavenger edaravone counteracts diabetes in multiple low-dose streptozotocin-treated mice. **European Journal of Pharmacology**, [s. l.], v. 583, n. 1, p. 164–169, 2008.

GAO, G.; VANDENBERGHE, L.H.; WILSON, J.M. New recombinant serotypes of AAV vectors. **Current Gene Therapy**, v.5, 285-97, 2005.

GRAHAM, G. G.; SCOTT, K. F. Mechanisms of action of paracetamol and related. **Inflammopharmacology**, [s. l.], v. 11, n. 4, p. 401–413, 2003.

HAMAMA, W. S. *et al.* Chemistry of Pyrazolinones and their Applications. **Current Organic Chemistry**, [s. l.], v. 16, p. 373–399, 2012.

HALLIWELL, B.G. **Free Radicals in Biology and Medicine**. New York: Oxford. 2007.

HALLIWELL, B.; WHITEMAN, M. Measuring reactive species and oxidative damage in vivo and in cell culture: how should you do it and what do the results mean? **British Journal of Pharmacology**, v.142, n.2004.

HEDENMALM, K.; SPIGSET, O. Agranulocytosis and other blood dyscrasias associated with dipyrone (metamizole). **European Journal of Clinical Pharmacology**, [s. l.], v. 58, p. 265–274, 2002.

HIGASHI, Y.; JITSUIKI, D.; CHAYAMA, K.; YOSHIZUMI, M. Edaravone (3-methyl-1-phenyl-2-pyrazolin-5-one), a novel free radical scavenger, for treatment of cardiovascular diseases. **Recent Pat Cardiovasc Drug Discov**, v.1, n.1, Jan, p.85-93. 2006.

IADECOLA, C. Bright and dark sides of nitric oxide in ischemic brain injury. **Trends in Neurosciences**, [s. l.], v. 20, n. 3, p. 132–139, 1997.

IBÁÑEZ, L. *et al.* Agranulocytosis associated with dipyrone (metamizol). **European Journal of Clinical Pharmacology**, [s. l.], v. 60, p. 821–829, 2005.

INQUE, Y.; YABE, T.; OKADA, K.; NAKAMURA, Y. Effect of Edaravone on acute brainstem-cerebellar infarction with vertigo and sudden hearing loss. **Auris Nasus Larynx**, v. 41, n.3, Jun, p.303-306. 2014.

ISHII, J. *et al.* The free-radical scavenger edaravone restores the differentiation of human neural precursor cells after radiation-induced oxidative stress. **Neuroscience Letters**, [s. l.], v. 423, p. 225–230, 2007.

ISHIBASH, A.; YOSHITAKE, Y.; ADACHI, H. Investigation of effect of Edaravone on ischemic stroke. **The Kurume Medical Journal**, v.60, n.2, p.53-57. 2013.

ISHIKAWA, A.; YOSHIDA, H.; METOKI, N.; TOKI, T.; IMAIZUMI, T.; MATSUMIYA; YAMASHITA, K.; TAIMA, K.; Edaravone inhibits the expression of vascular endothelial growth factor in human astrocytes exposed to hypoxia. **Journal of Neuroscience Research** v.59, n.4, Dec, p.406-412. 2007.

ITO, H.; WATE, R.; ZHANG, J.; OHNISHI, S.; KANEKO, S.; NAKAMO, S. KUSAKA, H. Treatment with Edaravone, initiated at symptom onset, slows motor decline and decreases SOD1 deposition in ALS mice. **Experimental Neurology** v.213, n.2, Oct, p.448-455. 2008.

ITOH, T.; SATOU, T.; NISHIDA, S.; TSUBAKI, M.; HASHIMOTO, S.; ITO, H. The novel free radical scavenger, Edaravone, increases neural stem cell number around the area of damage following rat traumatic brain injury. **Neurotoxicity Research** v.16, n.4, Nov, p.378-389. 2009.

JOSEPH, J. A. The Putative Role of Free Radicals in the Loss of Neuronal Functioning in Senescence. **Integrative Physiological and Behavioral Science**, [s. l.], v. 27, n. 3, p. 216–227, 1992.

KAMIDA, T.; FUJIKI, M.; Ooba, H.; ANAN, M.; ABE, T.; KOBAYASHI, H. Neuroprotective effects of Edaravone, a free radical scavenger, on the rat hippocampus after pilocarpine-induced status epilepticus. **Seizure**, v.18, n. 1, Jan, p.71-75. 2009.

KAUR, I.P.; AMARPREET, S. Sesamol exhibits antimutagenic activity against oxygen species mediated mutagenicity, **Mutation Research**, v. 470, p.71–76, 2000.

KAWAI, H. *et al.* Effects of a Novel Free Radical Scavenger, MCI-186, on Ischemic Brain Damage in the Rat Distal Middle Cerebral Artery Occlusion Model. **The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, [s. l.], v. 281, n. 2, p. 921–927, 1997.

KIKUCHI, K.; MIURA, N.; KAWAHARA, K.I.; MURAI, Y.; MORIOKA, M.; LAPCHAK, P. A.; TANAKA, E. Edaravone (Radicut), a free radical scavenger, is a potentially useful addition to thrombolytic therapy in patients with acute ischemic stroke. **Biomedical Reports**, v.1, n.1, Jan, p.7-12. 2013.

KITCHEN, D.B.; DECORNEZ, H. Docking and scoring in virtual screening for drug discovery: methods and applications. **Nature Reviews Drug Discovery** v.3 (2004) 49.

LEVY, M. Hypersensitivity to pyrazolones. **Thorax**, [s. 1.], v. 55, n. Suppl 2, p. S72–S74, 2000.

LITWINIENKO, G.; INGOLD, K.U. Abnormal solvent effects on hydrogen atom abstraction. Novel kinetics in sequential proton loss electron transfer chemistry. **The Journal of Organic Chemistry** v. 68, p.3433, 2003.

LOBO, V.; PATIL, A.; PHATAK, A.; CHANDRA, N. Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health. **Pharmacogn**, v.4, n.8, p.118–126, 2010.

MERGENTHALER, P. *et al.* Sugar for the brain : the role of glucose in physiological and pathological brain function. **Trends in Neurosciences**, [s. 1.], v. 36, n. 10, p. 587–597, 2013.

MIYAMOTO, S.; KOLLMAN, P. A. What determines the strength of noncovalent association of ligands to proteins in aqueous solution? **Proceedings of the National Academy of Sciences USA**. v. 90, p. 8402-8406, 1993.

MUNAKATA, A.; OHKUMA, H.; NAKAMO, T.; SHIMAMURA, N.; ASANO, K.; NARAOKA, M. Effect of a free radical scavenger, Edaravone, in the treatment of patients with aneurysmal subarachnoid hemorrhage. **Neurosurgery**, v.64, n.3, Mar, p.423-428, discussion 428-429. 2009.

NAKAGAWA, Hidehiko *et al.* Hydroxyl radical scavenging by edaravone derivatives : Efficient scavenging by 3-methyl-1- (pyridin-2-yl) -5-pyrazolone with an intramolecular base. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, [s. 1.], v. 16, p. 5939–5942, 2006.

NAKAGAWA, H.; OHYAMA, R.; KIMATA, A.; SUZUKI, T.; MIYATA, N. Hydroxyl radical scavenging by edaravone derivatives: Efficient scavenging by 3- methyl-1- (pyridine-2-yl)-5-pyrazolone with an intramolecular base. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 16, p. 5939-5942, 2006.

NAKAMURA, T.; KURODA, Y.; YAMASHITA, S. ZHANG, X.; MIYAMOTO, O.; TAMIYA, T.; NAGAO, S.; XI, G.; KEEP, R. F.; ITANO, T. Edaravone attenuates brain edema and neurologic deficits in a rat model of acute intracerebral hemorrhage. **Stroke**, v.39, n.2, Feb, p. 463-469, 2008.

NOOR, J.I.; IKEDA, T.; MISHIMA, K.; AOO, N.; OHTA, S.; EGASHIRA, N.; IWASAKI, K.; FUJIWARA, M.; IKENOUE, T. Short-term administration of a new free radical scavenger, Edaravone, is more effective than its long-term administration for the treatment of neonatal hypoxic-ischemic encephalopathy. **Stroke**, v.36, n.11, Nov, p.2468-2474. 2005.

- NIMSE, Satish Balasaheb; PAL, Dilipkumar. Free radicals, natural antioxidants, and their reaction mechanisms . **RSC Advances**. v.5, p. 27986–28006, 2015.
- PALHETA, I. C. BORGES, R. S. Sesamol is a related antioxidant to the vitamin E. **Chemical Data Collections**, v. 11-12, p. 77-83, 2017.
- PARK, Hyun-já. Identification of antitumor activity of pyrazole oxime ethers. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, [s. l.], v. 15, p. 3307–3312, 2005.
- PEREIRA, A. V.. Determinação espectrofotométrica de dipirona em produtos farmacêuticos por injeção em fluxo pela geração de íons triiodeto. **Química Nova**, [s. l.], v. 25, n. 4, p. 553–557, 2002.
- PLIEGO, J. R. Modelos contínuos do solvente: fundamentos. **Química Nova**, v. 29, p. 535-542, 2006.
- POON, H. F. *et al.* Quantitative proteomics analysis of differential protein expression and oxidative modification of specific proteins in the brains of old mice. **Neurobiology of Aging**, [s. l.], v. 27, p. 1010–1019, 2006.
- QUEIROZ, A. N.; MENDES, A. P. S.; LEAL, M. S.; CHAVES NETO, A. M. J.; BORGES, R.S. Tautomerism and Radical-Scavenging Activity of Edaravone by DFT Methods. **J. Journal of Computational and Theoretical Nanoscience**. v.7, p.153-156, 2010.
- QUEIROZ, A. N.; GOMES, B.A.Q.; MORAES JR, W. M.; BORGES, R. S. A theoretical antioxidant pharmacophore for resveratrol. **European Journal of Medicinal Chemistry** v.44, p.1644-1649, 2009.
- RABIEI, Z.; RAFIEIAN-KOPAEI, M. Neuroprotective effect of pretreatment with *L. avandula officinalis* ethanolic extract on blood-brain barrier permeability in a rat stroke model. **Asian Pacific Journal of Tropical Medicine**, [s. l.], v. 7, n. 1, p. S421–S426, 2014.
- RAMALHO, Valéria Cristina; JORGE, Neuza. Antioxidantes utilizados em óleos, gorduras e alimentos gordurosos. **Química Nova**, v. 29, n. 4, p.755-760, 2006.
- SANTA-BRIGIDA, S. A. Planejamento bioisostérico, síntese e avaliação antioxidante de análogos promissores da edaravona. **Dissertação de Mestrado** (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Federal do Pará, 2013.
- SAMDANI, A. F.; DAWSON, T. M.; DAWSON, V. L. Nitric Oxide Synthase in Models of Focal Ischemia. **Stroke**, [s. l.], v. 28, p. 1283–1288, 1997.
- SIES, H. Oxidative stress: oxidants and antioxidants. **Experimental Physiology**, v. 82, n.2, Mar, p.291-295, 1997.
- SILVA, J. R. *et al.* An electronic study of pyrazolones drugs on agranulocytosis. **Medicinal Chemistry Research**, [s. l.], v. 21, n. 7, p. 1389-1394, 2012.
- SILVA, M. L. C. *et al.* Compostos fenólicos, carotenóides e atividade antioxidante em produtos vegetais. **Ciências Agrárias, Londrina**, v. 31, n. 3, p. 669-682, 2010.

SINGH, S. P. *et al.* Reaction of hydrazinoquinoles with trifluoromethyl-b-diketones structural and mechanistic studies. **Journal of Fluorine Chemistry**, v. 83, p. 73–79, 1997.

SPINOSA, H. S.; GÓRNIK, S. L.; BERNADI, M. M. **Farmacologia aplicada à medicina veterinária**. 4. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006.

SUJATHA, K. *et al.* Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters Synthesis and antiviral activity of 4,4'-arylmethylene bis(1H-pyrazol-5-ols) against peste des petits ruminant virus (PPRV). **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, [s. l.], v. 19, n. 15, p. 4501–4503, 2009.

TABRIZCHI, R. Edaravone Mitsubishi-Tokyo. **Current Opinion in Investigational Drugs**, [s. l.], v. 1, p. 347–354, 2000.

TAVARES, L. C. QSAR: A abordagem de Hansch. **Química Nova** v.27, (2004) 631-639.

THOMAS, G. **Química medicinal – uma introdução**. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, 2003.

UETRECHT, J. P. *et al.* Oxidation of Aminopyrine by Hypochlorite to a Reactive Dication: Possible Implications for Aminopyrine-Induced Agranulocytosis. **Chemical Research in Toxicology**, [s. l.], v. 8, p. 226–233, 1995.

VALKO, M.; LEIBFRITZ, D.; MONCOL, J.; CRONIN, M.T.D.; MAZUR, M.; TELSER, J. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. **The International Journal of Biochemistry & Cell Biology**. v. 39, p.44–84, 2007.

VANNUCCHI, H. *et al.* PAPEL DOS NUTRIENTES NA PEROXIDAÇÃO LIPÍDICA E NO. In: SIMPÓSIO NUTRIÇÃO CLÍNICA 1998, **Anais...** [s.l: s.n.] VERLI, H.; BARREIRO, E.J.; A medicinal chemistry paradigm: ligands and receptor flexibility. **Química Nova**, v.28, p. 95-102, 2005.

WATANABE, K.; WATANABE, K.; HAYASE, T. Radical scavenging mechanism of MCI-186. **Japan Pharmacology & Therapeutics**, [s. l.], v. 25, p. 1699, 1997.

WANG, F.; ZHANG, H.Y. A theoretical Investigation on DPPH Radical-Scavenging Mechanism of Edaravone. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**. v.13, p. 3789-3792, 2003.

WANG, G. H.; JIANG, Z. L.; LI, Y. C.; LI, X.; SHI, H.; GAO, Y. Q.; VOSLER, P. S.; CHIEN, J. Free-radical scavenger Edaravone treatment confers neuroprotection against traumatic brain injury in rats. **Journal of Neurotrauma**, v.28, n. 10, Oct, p.2123-2134, 2011.

WATANABE, T.; TAHARA, M.; TODO, S. The novel antioxidant Edaravone: from bench to bedside. **Cardiovascular Therapeutics**, v.26, n.2, Summer, p.101-114, 2008.

WERMUTE, C. Selective optimization of side activities: another way for drug discovery. **Journal of Medicinal Chemistry**. v.47, p. (6):1303-14, 2004.

WU, T. W.; ZENG, L. H.; WU, J.; FUNG, K. P. MCI-186: further histochemical and biochemical evidence of neuroprotection. **Life Sci**, v. 67, n.19, Sep 29, p.2387-2392. 2000.

WU, Tai-wing *et al.* Myocardial protection of MCI-186 in rabbit ischemia – reperfusion. **Life Sciences**, [s. l.], v. 71, p. 2249–2255, 2002.

YAGI, K.; KITAZATO, K. T.; UNO, M.; TADA, Y.; KINOUCI, T.; SHIMADA, K.; NAGAHIRO, S. Edaravone, a free radical scavenger, inhibits MMP-9-related brain hemorrhage in rats treated with tissue plasminogen activator. **Stroke**, v.40, n.2, Feb, p.626-631. 2009.

YAMAMOTO, T. *et al.* Delayed neuronal death prevented by inhibition of increased hydroxyl radical formation in a transient cerebral ischemia. **Brain Research**, [s. l.], v. 762, p. 240–242, 1997.

YOSHIDA, H. *et al.* Edaravone, a novel radical scavenger, inhibits oxidative modification of low-density lipoprotein (LDL) and reverses oxidized LDL-mediated reduction in the expression of endothelial nitric oxide synthase. **Atherosclerosis**, [s. l.], v. 179, p. 97–102, 2005.

YOSHIDA, H.; YANAI, H.; NAMIKI, Y.; FUKATSU-SASAKI, K.; FURUTANI, N.; TADA, N. Neuroprotective effects of Edaravone: a novel free radical scavenger in cerebrovascular injury. **CNS Drug Reviews**, v.12, n.1, Spring, p.9-20. 2006.

ZHANG, N.; KOMINE-KOBAYASHI, M.; TANAKA, R.; LIU, M.; MIZUNO, Y.; URABE, T. Edaravone reduces early accumulation of oxidative products and sequential inflammatory responses after transiente focal ischemia in mice brain. **Stroke**, v.36, n.10, Oct, p.2220-2225.

ZAGER, E. L.; AMES, A., 3RD. Reduction of cellular energy requirements. Screening for agents that may protect against CNS ischemia. **Journal of Neurosurgery**, v.69, n.4, Oct, p.568-579, 1988.