UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
INSTITUTO DE QUÍMICA

Estudo comparativo de parâmetros hidrofóbicos e relacionados à ionização, de série de derivados da procaína com atividade bloqueadora neuromuscular

ALBERTO MALVEZZI

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

Prof[a]. Dr[a] ANTONIA TAVARES DO AMARAL
Orientadora

SÃO PAULO
26/02/2003

Para minha esposa
por todo seu amor e inspiração

i. Agradecimentos

A Profª Drª Antonia Tavares do Amaral pela orientação e dedicação à presente dissertação de mestrado.

Ao Prof. Antônio José Lapa e a Profª Caden Souccar, do Departamento de Farmacologia da Universidade Federal de São Paulo (UniFeSP), pela realização dos testes de atividade biológica.

Aos pesquisadores Robert Scherrer (3M, Estados Unidos), Frank Clarke (CHEMCLARKE INC, Estados Unidos), e John C. Dearden (Liverpool John Moores University, Inglaterra) pelas discussões científicas.

Aos meus queridos pais e irmãs, Sigmar, Marilena, Mariana, Cecília, Júlia e Helena.

Aos colegas Hamilton, Gustavo, Carlos e Annelies pela parceria e cumplicidade no laboratório.

Ao colega Carlos Henrique Ramos pela determinação dos valores de $logP_{app}^{HPLC}$.

Aos funcionários, Ênio e Inocência, pela convivência sempre tão agradável no laboratório.

Aos colegas Weber, Leonardo, Cristiano, Alessandro, Mauro e Marcone, pela amizade, ajudas, opiniões e discussões.

À FAPESP pelo suporte financeiro e bolsa de estudos.

Aos órgãos CNPq, DAAD, Pró-Reitoria de Pesquisa da USP pelo apoio financeiro.

ii. Objetivos

Este trabalho teve como objetivo a preparação, a determinação e a análise comparativa dos parâmetros hidrofóbicos e relacionados à ionização ($logP_{app}^{SF}$; $logP_{n}^{SF}$; $logP_{i}^{SF}$; $(pK_a^{aq})^{SF}$; $(pK_a^{oct})^{SF}$; $logP_{app}^{HPLC}$; $logP_{n}^{Pot}$; $logP_{i}^{Pot}$; $(pK_a^{aq})^{Pot}$; $logP_{calc}$), obtidos por três métodos experimentais (*Shake-flask*; *HPLC* e potenciométrico) e por cálculo (CLOGP), como modelo de partição, visando descrever a(s) interação(ões) hidrofóbica(s) determinante(s) da atividade bloqueadora neuromuscular potencial, para uma série de dez derivados da procaína (série de cloretos de β-alquilaminofenilcetonas; de β e γ-alquilaminobenzamidas e do correspondente derivado benzoiloxílico).

iii. Resumo

O estudo das Relações Quantitativas entre Estrutura química e Atividade biológica (*QSAR/QSAR-3D*) utilizando diferentes estratégias metodológicas complementares, aplicadas iterativamente, se estende a diferentes áreas de aplicação. Dentre elas destaca-se o planejamento racional de novos fármacos e o estudo de seus mecanismos de ação.

Moléculas candidatas a fármacos, geradas em estudos de *QSAR-3D*, freqüentemente, não se tornam fármacos por apresentarem inadequadas propriedades farmacocinéticas, ou seja, ADME (absorção, distribuição, metabolismo e excreção). Nota-se assim que o conhecimento das propriedades farmacocinéticas de ligantes deve ser uma preocupação presente, em qualquer nível de desenvolvimento de um novo fármaco e ressalta-se a importância do *QSAR* como uma ferramenta de grande valor, principalmente na compreensão da contribuição das propriedades físico-químicas, identificadas como sendo responsáveis pela atividade. A aplicação do *QSAR* permite elucidar a natureza e a grandeza das propriedades físico-químicas e estruturais nas interações entre o composto e o seu alvo biológico nos processos farmacocinéticos de ADME (TESTA, 2001; MALVEZZI *et al*., 2001; GAVIRAGHI *et al*., 2001).

Recentemente, em trabalhos realizados em nosso laboratório (SIQUEIRA, 2001), envolvendo a análise de *QSAR* aplicada aos valores do bloqueio da transmissão neuromuscular determinados para uma série de onze brometos de [2-(4-*X*-benzamido)etil]benzildimetilamônio substituídos, demonstrou-se tanto a importância da presença de um grupo catiônico terminal como da lipofilicidade para o bloqueio da transmissão neuromuscular.

No presente trabalho, visando descrever as interações hidrofóbicas determinantes da potencial atividade bloqueadora neuromuscular, para uma série de dez derivados da procaína, sendo eles: cloretos de 3-(dimetilamino)propiofenona (composto **1**); de 3-(dietilamino)propiofenona (composto **2**); de 3-(1-pirrolidino)propiofenona (composto **3**); de 3-(1-piperidino)propiofenona (composto **4**); de 3-(1-morfolino)propiofenona (composto **5**); de 3-[1-(4-metilpiperazino)] propiofenona (composto **6**); de 3-(*c*-hexilamino)propiofenona (composto **7**); de *N*-[(*N*,*N*-dimetilamino)etil]benzamida (composto **8**); de *N*-[(*N*,*N*-dimetilamino)metil]benzamida (composto **9**) e, de *N*-[(*N*,*N*-dimetilamino)etil]benzoato (composto **10**), por nós sintetizados, determinaram-se os respectivos parâmetros hidrofóbicos e relacionados à ionização ($logP_{app}^{SF}$; $logP_n^{SF}$; $logP_i^{SF}$; $(pK_a^{aq})^{SF}$; $(pK_a^{oct})^{SF}$; $logP_{app}^{HPLC}$; $logP_n^{Pot}$; $logP_i^{Pot}$; $(pK_a^{aq})^{Pot}$; $logP_{calc}$) obtidos por três métodos experimentais (por *Shake-flask*; por *HPLC* e potenciométrico) e por cálculo (programa CLOGP), como modelos de partição.

Através da análise comparativa dos valores dos parâmetros hidrofóbicos e relacionados à ionização para a série de dez derivados da procaína (compostos **1** – **10**) sintetizados neste trabalho foi possível constatar que: (i) os valores de $logP_{calc}$ modelam, apenas, parcialmente as interações

hidrofóbicas refletidas nos valores de $logP_{app}^{SF}$ e de $logP_{app}^{HPLC}$ em valores de pH 3,0 e 10,0, enquanto que as interações hidrofóbicas refletidas nos valores de $logP_n^{Pot}$ são idealmente modeladas pelos valores de $logP_{calc}$; (ii) nas mesmas condições experimentais, os métodos *Shake-flask*, *HPLC* e potenciométrico revelam interações hidrofóbicas proporcionais, entretanto, correlações não ideais foram observadas quanto comparados entre si; (iii) os valores de pK_a^{SF} , determinados indiretamente por *Shake-flask*, foram validados pela determinação direta de pK_a^{Pot}, por potenciometria.

Embora o sistema de avaliação da bloqueadora da transmissão neuromuscular tenha sido adequado, a série de compostos estudada não gerou valores válidos para a construção das correspondentes curvas dose-resposta. Os valores obtidos de IC_{50} para os compostos **3**, **4** e **8** da série estudada foram insuficientes, em número, para serem utilizados em uma análise de *QSAR*.

Estudos futuros podem ser realizados com o objetivo de verificar a atividade anestésica local para os compostos da série estudada, avaliando-se a perda da sensibilidade à estimulação sensorial, em cobaias, ou em estudos mais sofisticados de eletrofisiologia (*patch clamp).* Poder-se-á, assim, fornecer subsídios para elucidar as contribuições relativas da forma catiônica e da forma neutra, respectivamente de compostos ionizáveis com atividade anestésica local.

iv. Abstract

The scope of **Q**uantitative **S**tructure and Biological **A**ctivity **R**elationships (*QSAR/QSAR-3D*) studies, using distinct complementary methods, spreads over multiple areas of applicability. Among those, striking are the rational design of new drugs and the enlightenment of their mechanism of action.

Candidate molecules, shaped by *QSAR-3D* analysis, frequently fail to become drugs, and hit the market, due to insufficient pharmacokinetic properties (*i.e.* absorption, distribution, metabolism and excretion; ADME). Hence, the awareness of pharmacokinetic properties of molecules should be a concern at any level of development of new drug candidates. Noteworthy is the use of *QSAR* as a tool of great value, specially, in the comprehension of the contribution of the physical-chemical properties, responsible for the biological activity. (TESTA, 2001; MALVEZZI *et al.*, 2001; GAVIRAGHI *et al.*, 2001).

In this work, aiming to describe the hydrophobic interactions determining the neuromuscular blocking activity of a series of ten procaine derivatives: the hydrochlorides of 3-(dimethylamine)propiophenone (compound **1**); of 3-(diethylamine)propiophenone (compound **2**); of 3-(1-pirrolidine)propiophenone (compound **3**); of 3-(1-piperidine)propiophenone (compound **4**); of 3-(1-morfoline)propiophenone (compound **5**); of 3-[1-(4-methylpiperazine)]propiophenone (compound **6**); de 3-(*c*-hexilamine)propiophenone (compound **7**); de *N*-[(*N*,*N*-dimethylamine)ethyl]benzamide (compound **8**); de *N*-[(*N*,*N*-dimethylamine)methyl]benzamide (compound **9**) and, of *N*-[(*N*,*N*-dimethylamine)ethyl]benzoate (compound **10**), prepared by us, the corresponding hydrophobic parameters ($logP_{app}^{SF}$; $logP_n^{SF}$; $logP_i^{SF}$; $(pK_a^{aq})^{SF}$; $(pK_a^{oct})^{SF}$; $logP_{app}^{HPLC}$; $logP_n^{Pot}$; $logP_i^{Pot}$; $(pK_a^{aq})^{Pot}$; $logP_{calc}$) were obtained by three experimental methods (*Shake-flask*; *HPLC* and potenciometric) and by calculus (CLOGP) as models of partition and distribution.

Following the comparative analysis of the values of the hydrophobic parameters determined for the ten compounds of the series of procaine analogs, it was possible to conclude that: (i) the values of $logP_{calc}$ reflect only partially, the hydrophobic interactions encoded in the values of $logP_{app}^{SF}$ and $logP_{app}^{HPLC}$ determined in pH values of 3,0 and 10,0; (ii) the values of $logP_{calc}$ reflect the hydrophobic interactions encoded in the values of $logP_n^{Pot}$; (iii) in the same experimental conditions, the methods *Shake-flask*, *HPLC* and potenciometric, reflect proportional hydrophobic interactions, although the observed correlations were not ideal when the methods were compared between each other; (iv) the values of pK_a^{SF} , determined indirectly by *Shake-flask*, were validated by the direct measurement of pK_a^{Pot}, by potentiometry.

Even though the system used to measure the neuromuscular blocking actions was adequate, the series of procaine derivatives failed to provide sufficient values to prepare dose-effect curves and proceed with the quantitative structure activity relationships.

I. Introdução **1**

I.1. Relações Quantitativas entre Estrutura Química e Atividade Biológica **1**

I.2. A Abordagem Extratermodinâmica **4**

I.3. O Modelo Linear **6**

I.4. O Modelo Parabólico **8**

I.5. O Modelo Bilinear **9**

I.6. Critérios para a Análise de Hansch **10**

I.7. Interações Ligante e Receptor **11**

I.8. Parâmetros Eletrônicos **14**

I.9. Parâmetros Estéricos **17**

I.10. Parâmetros Relacionados à Polarizabilidade **19**

I.11. Parâmetros Hidrofóbicos **20**

I.11.1. O coeficiente de Partição **21**

I.11.2. O coeficiente de partição de Compostos Ionizáveis **27**

I.11.3. Determinação do Coeficiente de Partição **31**

I.11.3.1. Por *Shake-flask* **31**

I.11.3.2. Por Cromatografia **32**

I.11.3.3. Por Potenciometria **34**

I.11.3.4. Por Cálculo **35**

I.11.4. O Parâmetro π de Hansch **36**

I.12. Anestésicos Locais **37**

II. Materiais e Métodos **41**

II.1. Reagentes e Solventes **41**

II.2. Equipamentos **42**

II.2.1. Espectrômetro de Ressonância Magnética Nuclear **42**

II.2.2. Analisador Elementar **42**

II.2.3. Espectrômetro Infravermelho **42**

II.2.4. pH-âmetro **42**

II.2.5. Titulador automático **43**

II.2.6. Espectrofotômetro Ultravioleta (UV) **43**

II.2.7. Ponto de Fusão **43**

II.2.8. Centrífugas **43**

II.2.9. Cromatógrafo **43**

II.3. Metodologias **43**

II.3.1. Planejamento da série **43**

II.3.2. Série de compostos estudados **44**

II.3.3. Rotas sintéticas utilizadas. 45
II.3.4. Métodos de preparação dos cloretos de 3-(Y) propiofenona, sendo Y = -N(CH_3)$_2$ (**1**); -N(CH_2CH_3)$_2$ (**2**); 1-pirrolidino (**3**); 1- piperidino (**4**); 1-morfolino (**5**); [1-(4-metilpiperazino)] (**6**); ciclo-hexilamino (**7**); rota A. 46
II.3.5. Método de preparação do cloreto de *N*-[(*N,N*-dimetilamino)metil]benzamida (**8**); rota B 46
II.4. Métodos de determinação dos parâmetros físico-químicos e estruturais 47
II.4.1. Parâmetros lipofílicos 47
II.4.1.1. Determinação dos valores do coeficiente de partição aparente por *Shake-flask*, $logP_{app}^{SF}$ 47
II.4.1.2. Determinação dos valores de pK_a^{aq}, de pK_a^{oct}, de $logP_n$ e de $logP_i$ 48
II.4.1.3. Determinação dos valores do coeficiente de partição aparente por *HPLC*, $logP_{app}^{HPLC}$ 49
II.4.1.4. Determinação dos valores do coeficiente de partição por titulação potenciométrica 51
II.4.1.5. Obtenção do valor do coeficiente de partição por cálculo ($logP_{calc}$) 52
II.5. Método de determinação do parâmetro biológico 53

III. Parte Experimental 54
III.1. Preparação dos Compostos 54
III.1.1. Preparação do cloreto de 3-(dimetilamino)propiofenona (**1**). Rota A 54
III.1.2. Preparação do cloreto de 3-(dietilamino)propiofenona (**2**) Rota A 54
III.1.3. Preparação do cloreto de 3-(1-pirrolidino)propiofenona (**3**) Rota A 55
III.1.4. Preparação do cloreto de 3-(1-piperidino)propiofenona (**4**) Rota A. 56
III.1.5. Preparação do cloreto de 3-(1-morfolino)propiofenona (**5**) Rota A. 57
III.1.6. Preparação do cloreto de 3-[1-(4-metilpiperazino)]propiofenona (**6**) Rota A. 57
III.1.7. Preparação do cloreto de 3-(ciclohexilamino)propiofenona (**7**) Rota A. 58
III.1.8. Preparação do cloreto de *N*-[(*N,N*-dimetilamino)etil]benzamida (**8**) Rota B. 59
III.2. Obtenção de parâmetros lipofílicos 63
III.2.1. Preparação das soluções tampão para serem utilizadas nos procedimentos de *Shake-flask* e *HPLC* 63
III.2.2. Pré-saturação das fases 64
III.2.3. Determinação dos valores do coeficiente de partição por *Shake-flask* ($logP_{app}^{SF}$) *64*
III.2.3.1. Determinação dos valores do coeficiente de partição $logP_{app}^{SF}$ do cloreto de 3-(dimetilamino)propiofenona (**1**) 64
III.2.3.2. Determinação dos valores do coeficiente de partição $logP_{app}^{SF}$ do cloreto de 3-(dietilamino)propiofenona (**2**) 65
III.2.3.3. Determinação dos valores do coeficiente de partição $logP_{app}^{SF}$ do cloreto de 3-(1-pirrolidina)propiofenona (**3**) 65
III.2.3.4. Determinação dos valores do coeficiente de partição $logP_{app}^{SF}$ do cloreto de 3-(1-piperidina)propiofenona (**4**) 66

III.2.3.5. Determinação dos valores do coeficiente de partição $logP_{app}^{SF}$ do cloreto de 3-(1-morfolino)propiofenona (**5**) **67**
III.2.3.6. Determinação dos valores do coeficiente de partição $logP_{app}^{SF}$ do cloreto de 3-[1-(4-metipiperazina)]propiofenona (**6**) **67**
III.2.3.7. Determinação dos valores do coeficiente de partição $logP_{app}^{SF}$ do cloreto de 3-(ciclo-hexilamino)propiofenona (**7**) **68**
III.2.3.8. Determinação dos valores do coeficiente de partição $logP_{app}^{SF}$ do cloreto de *N*-[(*N,N*-dimetilamino)etil]benzamida (**8**) **68**
III.2.3.9. Determinação dos valores do coeficiente de partição $logP_{app}^{SF}$ do cloreto de *N*-[(*N,N*-dimetilamino)metil]benzamida (**9**) **69**
III.2.3.10. Determinação dos valores do coeficiente de partição $logP_{app}^{SF}$ do cloreto de *N*-[(*N,N*-dimetilamino)etil]benzoato (**10**) **70**
III.2.4. Caracterização, calibração e validação do sistema cromatográfico *HPLC* **70**
III.2.5. Determinação dos valores do coeficiente de partição por *HPLC* ($logP_{app}^{HPLC}$) **71**
III.2.6. Determinação dos valores de $logP_i$, de $logP_n$ e de pK_a por potenciometria **73**
III.2.6.1. Determinação dos valores de $logP_i$, de $logP_n$ e de pK_a^{aq} do cloreto de 3-(dimetilamino)propiofenona (**1**) **73**
III.2.6.2. Determinação dos valores de $logP_i$, de $logP_n$ e de pK_a^{aq} do cloreto de 3-(dietilamino)propiofenona (**2**) **75**
III.2.6.3. Determinação dos valores de $logP_i$, de $logP_n$ e de pK_a^{aq} do cloreto de 3-(1-pirrolidina)propiofenona (**3**) **76**
III.2.6.4. Determinação dos valores de $logP_i$, de $logP_n$ e de pK_a^{aq} do cloreto de 3-(1-piperidina)propiofenona (**4**) **76**
III.2.6.5. Determinação dos valores de $logP_i$, de $logP_n$ e de pK_a^{aq} do cloreto de 3-(1-morfolino)propiofenona (**5**) **79**
III.2.6.6. Determinação dos valores de $logP_i$, de $logP_n$ e de pK_a^{aq} do cloreto de 3-(ciclohexilamino)propiofenona (**7**) **80**
III.2.6.7. Determinação dos valores de $logP_i$, de $logP_n$ e de pK_a^{aq} do cloreto de *N*-[(*N,N*-dimetilamino)etil]benzamida (**8**) **80**
III.2.6.8. Determinação dos valores de $logP_i$, de $logP_n$ e de pK_a^{aq} do cloreto de *N*-[(*N,N*-dimetilamino)metil]benzamida (**9**) **83**
III.2.6.9. Determinação dos valores de $logP_i$, de $logP_n$ e de pK_a^{aq} do cloreto de *N*-[(*N,N*-dimetilamino)etil]benzoato (**10**) **84**
III.2.7. Obtenção dos valores do coeficiente de partição por cálculo ($logP_{calc}$) **84**
III.3. Determinação do parâmetro biológico **86**

IV. Resultados e Discussão **92**
IV.1. Introdução **92**
IV.2. Compostos estudados **93**

IV.2.1. Critérios de seleção dos compostos **93**
IV.2.2. Preparação, purificação e, identificação dos compostos **95**
IV.3. Parâmetros Hidrofóbicos **96**
IV.3.1. Obtenção dos valores do coeficiente de partição por cálculo ($logP_{calc}$) **97**
IV.3.2. Determinação dos valores do coeficiente de partição por *Shake-flask* ($logP_{app}^{SF}$) **97**
IV.3.3. Determinação dos valores do coeficiente de partição por *HPLC*, ($logP_{app}^{HPLC}$) **113**
IV.3.4. Determinação dos valores de $logP_i$, de $logP_n$ e de pK_a^{aq} por potenciometria **117**
IV.4. Parâmetro Biológico **124**

V. Conclusões **127**

VI. Referências **129**

vi. Índice de Figuras

Figura I.1. Representação esquemática das constantes de velocidade envolvidas na passagem de um soluto entre compartimentos de diferentes composições químicas **9**

Figura I.2. Representação esquemática do modelo bilinear para a atividade biológica proposto por Kubinyi **9**

Figura I.3. Representação esquemática dos fatores entrópicos e entálpicos envolvidos na interação entre o ligante e o receptor **12**

Figura I.4. Representação esquemática tridimensional de um substituinte ($-CH_2CH_2CH_2Cl$) através dos parâmetros estéricos L, B_1, B_2, B_3, B_4, B_5 propostos por Verloop **18**

Figura I.5. Representação esquemática dos equilíbrios simultâneos que ocorrem durante a partição de uma base fraca , onde $logP_i$ representa a partição da espécie ionizada (BH^+), (A^-) representa o contra-íon que se particiona junto com a espécie ionizada; $logP_n$ representa a partição da espécie não-ionizada, B^+), pK_a^{aq} representa a ionização na fase aquosa e pK_a^{oct} representa a ionização na fase orgânica. **28**

Figura I.6. Gráfico do perfil de variação dos valores de $logP_{app}$ (determinados pelo método *Shake-flask*, sistema n-octanol/água; μ=0,15M (NaCl); tampão Universal 0,01M; à 20°C) em função do pH para a efedrina **29**

Figura I.7. Representação esquemática do perfil de variação dos valores de $logP_{app}$ de uma base fraca em função dos valores de pH **29**

Figura I.8. Representação esquemática do modelo de absorção e de transporte através de membranas de compostos ionizáveis. **30**

Figura I.9.. Representação esquemática das curvas de titulação potenciométrica de uma base fraca em fase , respectivamente, aquosa e em um sistema bifásico, indicando a correspondente variação dos valores do pK_a observada nos dois sistemas. **34**

Figura I.10. Estrutura geral dos anestésicos locais **38**

Figura I.11. Estrutura de alguns anestésicos locais comerciais **39**

Figura II.1. Representação da estrutura fundamental e nomenclatura dos compostos derivados da procaína estudados neste trabalho **44**

Figura II.2. Rota sintética utilizada para a preparação dos cloretos de 3-(Y) propiofenona, sendo Y = -$N(CH_3)_2$ (**1**); -$N(CH_2CH_3)_2$ (**2**); 1-pirrolidina (**3**); 1- piperidina (**4**); 1-morfolina (**5**); [1-(4-metilpiperazina)] (**6**) e ciclo-hexilamina (**7**). **45**

Figura II.3. Rota sintética utilizada para a preparação do cloreto de *N*-[(*N,N*-dimetilamino)etil]enzamida (**8**) **45**

Figura III.1. Exemplo típico de curva e equação de calibração entre os valores de log$\underline{k}$' e os valores de *logP* da literatura, onde $\underline{k}=(t_R-t_0)/t_0$; t_R são os valores do tempo de retenção obtidos por *HPLC*, para as substâncias padrão utilizadas para caracterizar, calibrar e validar o sistema cromatográfico sendo a fase móvel uma solução tampão trizma-HCl, pH 7,4 μ = 0,10 M (NaCl) e a fase estacionária uma coluna C-18 saturada com n-octanol, e à temperatura de 23±1 °C. **71**

Figura III.2. Registro do efeito do cloreto de 3-(dimetilamina)propiofenona (composto **1**) nas concentrações, de $3x10^{-4}$ e 10^{-3}M respectivamente, sobre a contração muscular induzida por estimulação elétrica nervosa em preparações nervo Frênico-Músculo diafragma de camundongo, observado no período total de 30 minutos, em intervalos de 5 minutos. **86**

Figura III.3. Registro do efeito do cloreto de 3-(dietilamina)propiofenona (composto **2**) nas concentrações de $3x10^{-5}$ e 10^{-4}M respectivamente, sobre a contração muscular induzida por estimulação elétrica nervosa em preparações nervo Frênico-Músculo diafragma de camundongo, observado no período total de 30 minutos, em intervalos de 5 minutos. **87**

Figura III.4. Registro do efeito do cloreto de 3-(1-pirrolidina)propiofenona (composto **3**) nas concentrações de $3x10^{-5}$, 10^{-4}, $3x10^{-4}$ e 10^{-3}M respectivamente, sobre a contração muscular induzida por estimulação elétrica nervosa em preparações nervo Frênico-Músculo diafragma de camundongo, observado no período total de 30 minutos, em intervalos de 5 minutos. **87**

Figura III.5. Registro do efeito do cloreto de 3-(1-piperidina) propiofenona (composto **4**) nas concentrações de 10^{-5}, $3x10^{-5}$ e 10^{-4}M respectivamente, sobre a contração muscular induzida por estimulação elétrica nervosa em preparações nervo Frênico-Músculo diafragma de camundongo, observado no período total de 30 minutos, em intervalos de 5 minutos. **88**

Figura III.6. Registro do efeito do cloreto de 3-(1-morfolina)propiofenona (composto **5**) nas concentrações de $3x10^{-4}$ e 10^{-3}M respectivamente, sobre a contração muscular induzida por estimulação elétrica nervosa em preparações nervo Frênico-Músculo diafragma de camundongo, observado no período total de 30 minutos, em intervalos de 5 minutos. **88**

Figura III.7. Registro do efeito do cloreto de 3-[1-(4-metilpiperazina)] propiofenona (composto **6**) nas concentrações de $3x10^{-4}$ e 10^{-3}M respectivamente, sobre a contração muscular induzida por estimulação elétrica nervosa em preparações nervo Frênico-Músculo diafragma de camundongo, observado no período total de 30 minutos, em intervalos de 5 minutos. **89**

Figura III.8. Registro do efeito do cloreto de 3-(ciclo-hexilamina)propiofenona (composto **7**) nas concentrações de 10^{-4}, $3x10^{-4}$ e 10^{-3}M respectivamente, sobre a contração muscular induzida por estimulação elétrica nervosa em preparações nervo Frênico-Músculo diafragma de camundongo, observado no período total de 30 minutos, em intervalos de 5 minutos. **89**

Figura III.9. Registro do efeito do cloreto de *N*-[(*N,N*-dimetilamino) etil]benzamida (composto **8**) nas concentrações de 10^{-4}, $6x10^{-4}$, $3x10^{-4}$ e 10^{-3}M respectivamente, sobre a contração muscular induzida por estimulação elétrica nervosa em preparações nervo Frênico-Músculo diafragma de camundongo, observado no período total de 30 minutos, em intervalos de 5 minutos. **90**

Figura III.10. Registro do efeito do cloreto de *N*-[(*N,N*-dimetilamino)metil]benzamida (composto **9**) nas concentrações de 10^{-4}, $3x10^{-4}$ e 10^{-3}M respectivamente, sobre a contração muscular induzida por estimulação elétrica nervosa em preparações nervo Frênico-Músculo diafragma de camundongo, observado no período total de 30 minutos, em intervalos de 5 minutos. **90**

Figura III.11. Registro do efeito do cloreto de *N*-[(*N,N*-dimetilamino)etil]benzoato (composto **10**) nas concentrações de 10^{-4}, $3x10^{-4}$ e 10^{-3}M respectivamente, sobre a contração muscular induzida por estimulação elétrica nervosa em preparações nervo Frênico-Músculo diafragma de camundongo, observado no período total de 30 minutos, em intervalos de 5 minutos. **91**

Figura IV.1. Gráfico e *Equação* de correlação obtida entre os valores de $logP_{app}^{SF}$ (pH = 10,0) e de $logP_{calc}$, para a série de derivados da procaína, compostos **1** - **10**. **101**

Figura IV.2. Gráfico e *Equação* de correlação obtida entre os valores de $logP_{app}^{SF}$ (pH = 3,0) e de $logP_{calc}$, para a série de derivados da procaína, compostos **1** - **10**. **102**

Figura IV.3. Gráfico e *Equação* de correlação obtida entre os valores de $logP_{app}^{SF}$ respectivamente nos valores de pH 3,0 e 10,0, para a série de derivados da procaína, compostos **1** - **10**. **102**

Figura IV.4. Gráfico do perfil $logP_{app}$ vs. pH obtido através dos ajustes dos parâmetros, respectivamente, da *Equação* 38 (Perfil A) e *Equação* 52 (Perfil B) aos valores de $logP_{app}^{SF}$ (•) do cloreto de 3-(1-metil)propiofenona (composto **1**) **106**

Figura IV.5. Gráfico do perfil $logP_{app}$ vs. pH obtido através dos ajustes dos parâmetros, respectivamente, da *Equação* 38 (Perfil A) e *Equação* 52 (Perfil B) aos valores de $logP_{app}^{SF}$ (•) do cloreto de 3-(1-etil)propiofenona (composto **2**) **107**

Figura IV.6. Gráfico do perfil $logP_{app}$ vs. pH obtido através dos ajustes dos parâmetros, respectivamente, da *Equação* 38 (Perfil A) e *Equação* 52 (Perfil B) aos valores de $logP_{app}^{SF}$ (•) do cloreto de 3-(1-pirrolidina)propiofenona (composto **3**) **107**

Figura IV.7. Gráfico do perfil $logP_{app}$ vs. pH obtido através dos ajustes dos parâmetros, respectivamente, da *Equação* 38 (Perfil A) e *Equação* 52 (Perfil B) aos valores de $logP_{app}^{SF}$ (•) do cloreto de 3-(1-piperidina)propiofenona (composto **4**) **108**

Figura IV.8. Gráfico do perfil $logP_{app}$ vs. pH obtido através dos ajustes dos parâmetros, respectivamente, da *Equação* 38 (Perfil A) e *Equação* 52 (Perfil B) aos valores de $logP_{app}^{SF}$ (•) do cloreto de 3-(1-morfolina)propiofenona (composto **5**) **108**

Figura IV.9. Gráfico do perfil $logP_{app}$ vs. pH obtido através dos ajustes dos parâmetros, respectivamente, da *Equação* 38 (Perfil A) e *Equação* 52 (Perfil B) aos valores de $logP_{app}^{SF}$ (•) do cloreto de 3-(1-piperazina)propiofenona (composto **6**) **109**

Figura IV.10. Gráfico do perfil $logP_{app}$ vs. pH obtido através dos ajustes dos parâmetros, respectivamente, da *Equação* 38 (Perfil A) e *Equação* 52 (Perfil B) aos valores de $logP_{app}^{SF}$ (•) do cloreto de 3-(1-cicloexilamina)propiofenona (composto **7**) **109**

Figura IV.11. Gráfico do perfil $logP_{app}$ vs. pH obtido através dos ajustes dos parâmetros, respectivamente, da *Equação* 38 (Perfil A) e *Equação* 52 (Perfil B) aos valores de $logP_{app}^{SF}$ (•) do cloreto de *N*-[(*N,N*-dimetilamino)etil]benzamida (composto **8**) **110**

Figura IV.12. Gráfico do perfil $logP_{app}$ vs. pH obtido através dos ajustes dos parâmetros, respectivamente, da *Equação* 38 (Perfil A) e *Equação* 52 (Perfil B) aos valores de $logP_{app}^{SF}$ (•) do cloreto de *N*-[(*N,N*-dimetilamino)metil]benzamida (composto **9**) **110**

Figura IV.13. Gráfico do perfil $logP_{app}$ vs. pH obtido através dos ajustes dos parâmetros, respectivamente, da *Equação* 38 (Perfil A) e *Equação* 52 (Perfil B) aos valores de $logP_{app}^{SF}$ (•) do cloreto de *N*-[(*N,N*-dimetilamino)etil]benzoato (composto **10**). **111**

Figura IV.14. Gráfico e o coeficiente de intercorrelação (r^2) dos valores de $logP_n^{SF}$ em função de $logP_i^{SF}$, obtidos a partir do ajuste dos parâmetros da *Equação* 52 aos valores de $logP_{app}^{SF}$ para os compostos **1 - 10** da série de derivados da procaína **112**

Figura IV.15. Gráfico dos perfis de $logP_{app}$ vs. pH determinados, respectivamente, através do ajuste dos valores de $logP_{app}^{SF}$ aos parâmetros da *Equação* 52 para a série de derivados da procaína (compostos **1 - 10**). **113**

Figura IV.16. Gráfico e Equação de correlação entre os valores do $logP_{app}^{HPLC}$ em função dos valores de $logP_{app}^{SF}$, determinados em pH = 10,0 para a série de derivados da procaína (Compostos **1 - 10**) **115**

Figura IV.17. Gráfico e Equação de correlação entre os valores do $logP_{app}^{HPLC}$ em função dos valores de $logP_{app}^{SF}$, determinados em pH = 3,0 para a série de derivados da procaína (Compostos **1 - 10**) **116**

Figura IV.18. Gráfico e Equação de correlação entre os valores do $logP_{app}^{HPLC}$ em função dos valores de $logP_{calc}$, para a série de derivados da procaína (Compostos **1 - 10**) **117**

Figura IV.19. Gráfico e Equação de correlação entre os valores do pK_a^{Pot} em função dos valores de pK_a^{SF}, para a série de derivados da procaína, (compostos **1 – 10**, exceto **6**) **119**

Figura IV.20. Gráfico e Equação de correlação entre os valores do $logP_n^{Pot}$ em função dos valores de $logP_n^{SF}$, para a série de derivados da procaína (compostos **1 – 10**, exceto **6**) **120**

Figura IV.21. Gráfico e Equação de correlação entre os valores do $logP_i^{Pot}$ em função dos valores de $logP_i^{SF}$, para a série de derivados da procaína (compostos **1 – 10**, exceto **6**) **120**

Figura IV.22. Gráfico e Equação de correlação entre os valores do $logP_n^{Pot}$ em função dos valores de $logP_{calc}$, para a série de derivados da procaína (compostos **1 – 10**, exceto **6**) **121**

Figura IV.23. Gráfico e Equação de correlação entre os valores do $logP_n^{Pot}$ em função dos valores de $logP_{app}^{HPLC}$, para a série de derivados da procaína (compostos **1 – 10**, exceto **6**) **122**

Tabela I.1. Principais tipos de interações entre um composto e o sistema biológico, um exemplo e as respectivas faixas de energias envolvidas. **12**

Tabela I.2. Interações significativas entre o ligante e o receptor, as correspondentes propriedades moleculares envolvidas e seus parâmetros descritores **14**

Tabela I.3. Valores selecionados de constantes de substituinte tipo-Hammett, σ_m, σ_p, $\Im$ e $\Re$ retirados da literatura, para dez grupos substituintes. **17**

Tabela I.4. Valores da variável indicadora (I_H) de seis grupamentos propostos por Seiler e obtidos a partir da diferença entre os valores de $logP_{cicloexano}$ e $logP_{octanol.}$ de uma série de 230 compostos de diferentes classes. **25**

Tabela I.5. Faixas de valores de *logP* encontradas na literatura de alguns compostos conhecidos **32**

Tabela III.1. Valores das constantes físicas, dos rendimentos e das análises elementar calculada e obtida experimentalmente dos produtos obtidos nas preparações dos compostos **1** – **8**. **60**

Tabela III.2. Valores dos deslocamentos químicos (δ) em ppm, relativos ao TMS, das multiplicidades e das constantes de acoplamento (J) em Hz, observados nos espectros de RMN ^1H , para a série de derivados da procaína (compostos **1** – **8**) utilizando-se o CDCl – d_1 como solvente. **61**

Tabela III.3. Valores dos deslocamentos químicos (δ) em ppm retirados dos espectros de RMN ^{13}C , relativos ao TMS, para a série de derivados da procaína (compostos **1** – **8**), na concentração de aproximadamente 0,1M, utilizando-se o CDCl – d_1 como solvente. **62**

Tabela III.4. Valores observados das posições das bandas de absorção, em cm^{-1}, no espectro I.V., obtidos em pastilhas de KBr, para a série de derivados da procaína (compostos **1** – **10**) **63**

Tabela III.5. Valores das quantidades de cada componente usadas na preparação das soluções tampão em valores de pH iguais a 3,0; 4,0; 5,0; 6,0; 7,0; 8,0; 9,0 e 10,0; sendo μ = 0,10M (NaCl). **64**

Tabela III.6.Valores do volume da fase aquosa (V_{aq}) e da fase orgânica (V_{oct}) utilizados na partição; das absorbâncias registradas no início (A_i) e final (A_f) da partição, da relação P/R_v e do coeficiente de partição ($logP_{app}$) do cloreto de 3-(dimetilamino)propiofenona (**1**) obtidos na faixa de pH de 3-11 , determinados pelo método *Shake-flask*, usando n-octanol/tampão, μ = 0.10 M (NaCl) e à 23±1°C **65**

Tabela III.7.Valores do volume da fase aquosa (V_{aq}) e da fase orgânica (V_{oct}) utilizados na partição; das absorbâncias registradas no início (A_i) e final (A_f) da partição, da relação P/R_v e do coeficiente de partição ($logP_{app}$) do cloreto de 3-(dietilamino)propiofenona (**2**) obtidos na faixa de pH de 3-11 , determinados pelo método *Shake-flask*, usando n-octanol/tampão, μ = 0.10 M (NaCl) e à 23±1°C **65**

Tabela III.8.Valores do volume da fase aquosa (V_{aq}) e da fase orgânica (V_{oct}) utilizados na partição; das absorbâncias registradas no início (A_i) e final (A_f) da partição, da relação P/R_v e do coeficiente de partição ($logP_{app}$) do cloreto de 3-(1-pirrolidina)propiofenona (**3**) obtidos na faixa de pH de 3-11 , determinados pelo

método *Shake-flask*, usando n-octanol/tampão, μ = 0.10 M (NaCl) e à 23±1 °C. **66**

Tabela III.9. Valores do volume da fase aquosa (V_{aq}) e da fase orgânica (V_{oct}) utilizados na partição; das absorbâncias registradas no início (A_i) e final (A_f) da partição, da relação P/R_v e do coeficiente de partição (*logP*$_{app}$) do cloreto de 3-(1-piperidina)propiofenona (**4**) obtidos na faixa de pH de 3-11 , determinados pelo método *Shake-flask*, usando n-octanol/tampão, μ = 0.10 M (NaCl) e à 23±1 °C. **66**

Tabela III.10. Valores do volume da fase aquosa (V_{aq}) e da fase orgânica (V_{oct}) utilizados na partição; das absorbâncias registradas no início (A_i) e final (A_f) da partição, da relação P/R_v e do coeficiente de partição (*logP*$_{app}$) do cloreto de 3-(1-morfolino)propiofenona (**5**) obtidos na faixa de pH de 3-11 , determinados pelo método *Shake-flask*, usando n-octanol/tampão, μ = 0.10 M (NaCl) e à 23±1 °C. **67**

Tabela III.11. Valores do volume da fase aquosa (V_{aq}) e da fase orgânica (V_{oct}) utilizados na partição; das absorbâncias registradas no início (A_i) e final (A_f) da partição, da relação P/R_v e do coeficiente de partição (*logP*$_{app}$) do cloreto de 3-[1-(4-metipiperazina)]propiofenona (**6**) obtidos na faixa de pH de 3-11 , determinados pelo método *Shake-flask*, usando n-octanol/tampão, μ = 0.10 M (NaCl) e à 23±1 °C **68**

Tabela III.12.Valores do volume da fase aquosa (V_{aq}) e da fase orgânica (V_{oct}) utilizados na partição; das absorbâncias registradas no início (A_i) e final (A_f) da partição, da relação P/R_v e do coeficiente de partição (*logP*$_{app}$) do cloreto de 3-(ciclohexilamino)propiofenona (**7**) obtidos na faixa de pH de 3-11 , determinados pelo método *Shake-flask*, usando n-octanol/tampão, μ = 0.10 M (NaCl) e à 23±1 °C **68**

Tabela III.13.Valores do volume da fase aquosa (V_{aq}) e da fase orgânica (V_{oct}) utilizados na partição; das absorbâncias registradas no início (A_i) e final (A_f) da partição, da relação P/R_v e do coeficiente de partição (*logP*$_{app}$) do cloreto de *N*-[(*N,N*-dimetilamino)etil]benzamida (**8**) obtidos na faixa de pH de 3-11 , determinados pelo método *Shake-flask*, usando n-octanol/tampão, μ = 0.10 M (NaCl) e à 23±1 °C **69**

Tabela III.14.Valores do volume da fase aquosa (V_{aq}) e da fase orgânica (V_{oct}) utilizados na partição; das absorbâncias registradas no início (A_i) e final (A_f) da partição, da relação P/R_v e do coeficiente de partição (*logP*$_{app}$) do cloreto de *N*-[(*N,N*-dimetilamino)metil]benzamida (**9**) obtidos na faixa de pH de 3-11 , determinados pelo método *Shake-flask*, usando n-octanol/tampão, μ = 0.10 M (NaCl) e à 23±1 °C **69**

Tabela III.15. Valores do volume da fase aquosa (V_{aq}) e da fase orgânica (V_{oct}) utilizados na partição; das absorbâncias registradas no início (A_i) e final (A_f) da partição, da relação P/R_v e do coeficiente de partição (*logP*$_{app}$) do cloreto de *N*-[(*N,N*-dimetilamino)etil]benzoato (**10**) obtidos na faixa de pH de 3-11 , determinados pelo método *Shake-flask*, usando n-octanol/tampão, μ = 0.10 M (NaCl) e à 23±1 °C **70**

Tabela III.16. Exemplo típico de valores respectivamente, do tempo de retenção t_R do log$\underline{k}$' e do *logP* extraído da literatura das substâncias padrão utilizadas para caracterizar, calibrar e validar o sistema cromatográfico. **70**

Tabela III.17. Valores respectivamente do tempo de retenção extrapolados para a concentração zero ($t_{R\rightarrow 0}$) do log k' e do $logP_{app}$ dos compostos derivados da procaína (compostos **1** – **10**) determinados por *HPLC*, sendo a fase móvel uma solução tampão fosfato (ácido fosfórico-NaOH, pH 3,00); μ = 0,10 M (NaCl) e a fase estacionária uma coluna C-18 saturada com n-octanol, e à 23±1 °C. **72**

Tabela III.18. Valores respectivamente do tempo de retenção extrapolados para a concentração zero ($t_{R\rightarrow 0}$) do log k' e do $logP_{app}$ dos compostos derivados da procaína (compostos **1** – **10**) determinados por *HPLC* sendo a fase móvel uma solução tampão trizma-HCl, pH 7,40 μ = 0,10 M (NaCl) e a fase estacionária uma coluna C-18 saturada com n-octanol, e à 23±1 °C. **72**

Tabela III.19. Valores respectivamente do tempo de retenção extrapolados para a concentração zero ($t_{R\rightarrow 0}$) do log k' e do $logP_{app}$ dos compostos derivados da procaína (compostos **1** – **10**) determinados por *HPLC* sendo a fase móvel uma solução tampão Ácido bórico-NaOH, pH 10,00 μ = 0,10 M (NaCl) e a fase estacionária uma coluna C-18 saturada com n-octanol, e à temperatura de 23±1°C. **73**

Tabela III.20. Valores do volume de titulante adicionado e dos correspondentes valores de pH registrados em cada uma das titulações do cloreto de 3-(dimetilamino)propiofenona (**1**) em meio aquoso e, em meio aquoso na presença de n-octanol, em diferentes proporções de volumes. **74**

Tabela III.21. Valores respectivamente de $logP_n$, de pK_a e de $logP_i$ do cloreto de 3-(dimetilamino)propiofenona (**1**) obtidos através do ajuste da *Equação* 50 aos valores de pH determinados experimentalmente **74**

Tabela III.22. Valores do volume de titulante adicionado e dos correspondentes valores de pH registrados em cada uma das titulações do cloreto de 3-(dietilamino)propiofenona (**2**) em meio aquoso e, em meio aquoso na presença de n-octanol, em diferentes proporções de volumes. **75**

Tabela III.23. Valores respectivamente de $logP_n$, de pK_a e de $logP_i$ do cloreto de 3-(dietilamino)propiofenona (**2**) obtidos através do ajuste da *Equação* 50 aos valores de pH determinados experimentalmente **76**

Tabela III.24. Valores do volume de titulante adicionado e dos correspondentes valores de pH registrados em cada uma das titulações do cloreto de 3-(1-pirrolidina)propiofenona (**3**) em meio aquoso e, em meio aquoso na presença de n-octanol, em diferentes proporções de volumes. **77**

Tabela III.25. Valores respectivamente de $logP_n$, de pK_a e de $logP_i$ do cloreto de 3-(1-pirrolidina)propiofenona (**3**) obtidos através do ajuste da *Equação* 50 aos valores de pH determinados experimentalmente **77**

Tabela III.26. Valores do volume de titulante adicionado e dos correspondentes valores de pH registrados em cada uma das titulações do cloreto de 3-(1-piperidina))propiofenona (**4**) em meio aquoso e, em meio aquoso na presença de n-octanol, em diferentes proporções de volumes. **78**

Tabela III.27. Valores respectivamente de $logP_n$, de pK_a e de $logP_i$ do cloreto de 3-(1-piperidina)propiofenona (**4**) obtidos através do ajuste da *Equação* 50 aos valores de pH determinados experimentalmente **78**

Tabela III.28. Valores do volume de titulante adicionado e dos correspondentes valores de pH registrados em cada uma das titulações do cloreto de 3-(1-morfolino)propiofenona (**5**) em meio aquoso e, em meio aquoso na presença de n-octanol, em diferentes proporções de volumes. **79**

Tabela III.29. Valores respectivamente de $logP_n$, de pK_a e de $logP_i$ do cloreto de 3-(1-morfolino)propiofenona (**5**) obtidos através do ajuste da *Equação* 50 aos valores de pH determinados experimentalmente **80**

Tabela III.30. Valores do volume de titulante adicionado e dos correspondentes valores de pH registrados em cada uma das titulações do cloreto de 3-(ciclohexilamino)propiofenona (**7**) em meio aquoso e, em meio aquoso na presença de n-octanol, em diferentes proporções de volumes. **81**

Tabela III.31. Valores respectivamente de $logP_n$, de pK_a e de $logP_i$ do cloreto de 3-(ciclohexilamino)propiofenona (**7**) obtidos através do ajuste da *Equação* 50 aos valores de pH determinados experimentalmente **81**

Tabela III.32. Valores do volume de titulante adicionado e dos correspondentes valores de pH registrados em cada uma das titulações do cloreto de *N*-[(*N,N*-dimetilamino)etil]benzamida (**8**), em meio aquoso e, em meio aquoso na presença de n-octanol, em diferentes proporções de volumes. **82**

Tabela III.33. Valores respectivamente de $logP_n$, de pK_a e de $logP_i$ do cloreto de *N*-[(*N,N*-dimetilamino)etil]benzamida (**8**) obtidos através do ajuste da *Equação* 50 aos valores de pH determinados experimentalmente **82**

Tabela III.34. Valores do volume de titulante adicionado e dos correspondentes valores de pH registrados em cada uma das titulações do cloreto de *N*-[(*N,N*-dimetilamino)metil]benzamida (**9**), em meio aquoso e, em meio aquoso na presença de n-octanol, em diferentes proporções de volumes. **83**

Tabela III.35. Valores respectivamente de $logP_n$, de pK_a e de $logP_i$ do cloreto de *N*-[(*N,N*-dimetilamino)metil]benzamida (**9**) obtidos através do ajuste da *Equação* 50 aos valores de pH determinados experimentalmente **84**

Tabela III.36. Valores do volume de titulante adicionado e dos correspondentes valores de pH registrados em cada uma das titulações do cloreto de *N*-[(*N,N*-dimetilamino)etil]benzoato (**10**) em meio aquoso e, em meio aquoso na presença de n-octanol, em diferentes proporções de volumes. **85**

Tabela III.37. Valores respectivamente de $logP_n$, de pK_a e de $logP_i$ do cloreto de *N*-[(*N,N*-dimetilamino)etil]benzoato (**10**) obtidos através do ajuste da *Equação* 50 aos valores de pH determinados experimentalmente **85**

Tabela III.38. Valores do coeficiente de partição calculado $logP_{calc}$, obtido através do programa CLOGP para a série de derivados da procaína, (compostos **1** – **10**), estudados neste trabalho **86**

Tabela IV.1. Valores de $logP_{app}^{SF}$ determinados na faixa de valores de pH 3,0 a 10,0 por *Shake-flask,* usando n-octanol/tampão, μ = 0.10 M (NaCl) e à 23±1 ^{o}C, para os compostos da série de derivados da procaína (compostos **1** –**10**). **100**

Tabela IV.2. Valores de $logP_{app}$ nos valores de pH (3,0 e 10,0) determinados por *Shake-flask*); e, de $logP_{calc}$, obtidos por cálculo para os compostos da série de derivados da procaína (compostos **1** – **10**) e os correspondentes incrementos (Δ) para os compostos da série de derivados da procaína (compostos **1** –**10**) **103**

Tabela IV.3. Valores estimados dos termos pK_a^{aq}; pK_a^{oct}; $logP_n$ e $logP_i$; obtidos, respectivamente, através do ajuste dos termos da *Equação* 52 aos valores de $logP_{app}^{SF}$ da série de derivados da procaína (compostos **1** – **10**). **106**

Tabela IV.4. Valores de pK_a^{aq} (determinados por potenciometria e por *Shake-flask*); de pK_a^{oct} (determinados por *Shake-flask*); de $logP_{app}$ nos valores de pH (3,0 7,4 e 10,0) respectivamente (determinados por *HPLC* e por *Shake-flask*); de $logP_i$ (determinados por potenciometria e por *Shake-flask*) e, de $logP_n$ (determinados

por potenciometria , *Shake-flask* e, obtidos por cálculo) para os compostos da série de derivados da procaína (compostos **1** – **10**).....**123**

I. Introdução

Neste trabalho procurou-se desenvolver relações quantitativas entre estrutura química, em especial por suas características lipofílicas, e atividade biológica (*QSAR*) para uma série de análogos da procaína com potencial atividade anestésica local. Será apresentado inicialmente um panorama geral das estratégias utilizadas em química medicinal e, a seguir, serão desenvolvidos os temas relacionados ao propósito do presente trabalho, acompanhados da literatura mais significativa.

I.1. Relações Quantitativas entre Estrutura Química e Atividade Biológica

A pesquisa na área de química medicinal envolvendo estudos de relações quantitativas entre estrutura química e atividade biológica (*QSAR*) é uma ferramenta de reconhecido valor no planejamento racional de novos compostos bioativos (HANSCH & LEO, 1995; KUBINYI, 1993a; MARTIN, 1978; FUJITA, 1990; AMARAL *et al.*, 1997; PIRES *et al.*, 2001; RANDO *et al.*, 2002).

A metodologia *QSAR* teve início em 1964, com as publicações de Hansch e Fujita (1964) "*ρ-σ-π Analysis. A method for the correlation of biological activity and chemical structure-activity studies*" e de Free e Wilson (1964) "*A mathematical contribution to structure-activity studies*". Estas publicações apresentaram duas abordagens metodológicas distintas, que se tornaram conhecidas como análise de Hansch e análise de Free-Wilson, respectivamente.

Através do trabalho de Hansch e Fujita (1964), pela primeira vez, o valor da atividade biológica de compostos orgânicos (usualmente expresso pelo logaritmo do inverso de uma concentração molar capaz de produzir uma determinada resposta biológica) foi correlacionado com parâmetros físico-químicos das moléculas, considerando-se haver uma contribuição relativa linear e aditiva de cada parâmetro *(equação 1)*.

$$\log 1/[C] = a \log P + b\,\sigma + c\,E_s + constante \qquad \textit{(equação 1)}$$

onde:

log 1/[C] é o logaritmo da resposta biológica;
[C] é a concentração do composto em mol/L;
logP, σ, E_s, são parâmetros físico-químicos que expressam as interações envolvidas (hidrofóbicas, eletrônicas e estéricas, respectivamente) na resposta biológica;
a, b, c, são os coeficientes que expressam as contribuições relativas de cada parâmetro (*logP*, σ, E_s, respectivamente).

Outra contribuição de Hansch e Fujita (1964) foi a definição do parâmetro hidrofóbico π *(equação 2),* que descreve a contribuição hidrofóbica de um determinado substituinte para a lipofilicidade total de um composto. π é calculado de forma análoga ao parâmetro σ de Hammett

(HAMMETT, 1937) e, pode ser obtido alternativamente a partir dos valores do parâmetro hidrofóbico molecular *logP* determinado experimentalmente (*logP* é o logaritmo do coeficiente de partição P determinado no sistema *n*-octanol/água).

$$\pi_x = logP_x - logP_H \qquad \textit{(equação 2)}$$

onde:

π_x é o parâmetro que reflete a contribuição hidrofóbica do grupo substituinte X;
$logP_x$ é o coeficiente de partição do composto substituído;
$logP_H$ é o coeficiente de partição do composto não-substituído, para x = Hidrogênio.

Posteriormente foram formulados os modelos, respectivamente parabólico *(equação 3)* (HANSCH & FUJITA, 1964; KUBINYI, 1993a; FUJITA, 1990) e bilinear *(equação 4)* (HANSCH & LEO, 1995; KUBINYI, 1977; KUBINYI, 1993a; FUJITA, 1990) para descrever as relações não lineares entre lipofilicidade e atividade biológica.

$$log\ 1/[C] = a\ \pi^2 + b\ \pi + c\ \sigma + constante \qquad \textit{(equação 3)}$$

$$log\ 1/[C] = a\ logP - b\ log(\beta P + 1) + c\ \sigma + constante \qquad \textit{(equação 4)}$$

onde:

log 1/[C] é o logaritmo da resposta biológica;
[C] é a concentração do composto em mol/L;
π, *logP*, σ, E_s são parâmetros físico-químicos que expressam as interações envolvidas (hidrofóbicas, eletrônicas e estéricas, respectivamente) na resposta biológica medida;
a, b, c, β são os coeficientes que expressam as contribuições relativas de cada parâmetro (π, *log P*, σ, E_s, respectivamente).

A abordagem de Free-Wilson (FREE & WILSON, 1964; KUBINYI, 1990), na versão proposta por Fujita e Ban (1971), é uma aplicação do conceito de aditividade de contribuição de grupos para os valores de atividade biológica (HANSCH & LEO, 1995). Nesta, considera-se o valor da atividade biológica como sendo a somatória das contribuições de cada grupo substituinte a_{ij} em um composto de referência (μ) *(equação 5).*

$$log\ 1/[C] = \Sigma\, a_{ij} + \mu \qquad \textit{(equação 5)}$$

onde:

log 1/[C] é o logaritmo da resposta biológica;
[C] é a concentração do composto em mol/L;
a_i corresponde à contribuição do i-ésimo substituinte na atividade biológica;
μ corresponde à média das atividades biológicas de todos os substituintes presentes na estrutura básica.

As abordagens de Hansch e de Free-Wilson (modificada) constituem estratégias metodológicas complementares e podem ser combinadas em uma abordagem "mista", apresentando

as vantagens de ambas as abordagens e, assim, aumentando a aplicabilidade das relações quantitativas entre estrutura-atividade (KUBINYI, 1990; KUBINYI, 1993a) *(equação 6).*

$$log\ 1/[C] = a\ logP - b\ log(\beta P + 1) + c\ \sigma + \Sigma a_{ij} + cte \qquad \textit{(equação 6)}$$

onde:

log 1/[C] é o logaritmo da resposta biológica e, *[C]* é a concentração do composto em mol/L
a_i corresponde à contribuição do i-ésimo substituinte na atividade biológica;
logP, σ são parâmetros físico-químicos que expressam as interações envolvidas (hidrofóbicas e eletrônicas, respectivamente) na resposta biológica medida;
a, b, c, β são os coeficientes que expressam as contribuições relativas de cada parâmetro (π, *log P*, σ, E_s, respectivamente);
cte é o coeficiente linear da função matemática envolvida na resposta biológica.

Essas abordagens, denominadas *QSAR clássico*, consideram apenas estruturas em duas dimensões, devendo ser aplicadas em séries de compostos congêneres (geralmente variação de substituintes em um anel aromático) ou seja, para séries em que a etapa que determina a resposta biológica seja a mesma para a série considerada (KUBINYI, 1993a; KUBINYI, 1995; HANSCH *et al*., 1991). A aplicação do *QSAR clássico* permite elucidar a natureza e a grandeza das propriedades físico-químicas nas interações entre o composto e o seu alvo biológico nos processos farmacocinéticos de absorção, de distribuição, de metabolização e de excreção (TESTA, 2001; MALVEZZI *et al*., 2001). O *QSAR clássico* permite ainda prever a atividade biológica de novos compostos bioativos, desde que estes sejam congêneres aos compostos usados para gerar o modelo (extrapolações fora do modelo são desaconselhadas) (KUBINYI, 1993a; HANSCH & LEO, 1995).

Para descrever de modo quantitativo os aspectos estereoquímicos e topológicos das interações entre o composto químico, que será aqui denominado "ligante", com seu alvo biológico, que será aqui denominado "receptor", considerando-se as estruturas tridimensionais, foram desenvolvidas as abordagens denominadas *QSAR-3D* (KUBINYI, 1993b; KIM *et al*., 1998; KIM, 1992; KIM & MARTIN, 1991). Essas abordagens complementam a primeira e podem ser aplicadas simultaneamente.

A abordagem metodológica *QSAR-3D,* como por exemplo em *CoMFA* (*Comparative Molecular Field Analysis*) (CRAMER *et al*., 1988; 1993) é aplicada quando a estrutura do receptor não é conhecida. O procedimento correlaciona a atividade biológica (somente "*in vitro*") de uma série de ligantes (um ligante pode ser qualquer molécula que forme um complexo com uma macromolécula endógena) com as correspondentes propriedades estruturais, em três dimensões, representadas pelos respectivos campos estéricos e eletrostáticos. A metodologia permite reconhecer, através de mapas tridimensionais de contorno, as regiões do espaço ao redor dos compostos onde as interações ligante-receptor são favoráveis, ou desfavoráveis, para a atividade biológica. Esses mapas são utilizados para a predição de compostos novos mais potentes.

Uma das limitações em *CoMFA* refere-se aos valores de corte arbitrariamente determinados para os campos utilizados. Recentemente, esta limitação foi contornada em *CoMSIA* (*Comparative Molecular Similarity Indices Analysis*) (KUBINYI, 1993B; KLEBE *et al*., 1994; KLEBE & ABRAHAM, 1999; KUBINYI, HAMPRECHT, MIETZNER, 1998). Aspectos teóricos, metodológicos, vantagens e limitações e aplicações recentes são disponíveis na literatura (KUBINYI, FOLKERS, MARTIN, 1998; MARTIN & WILLETT, 1998; KUBINYI, 1998; ISHIKI *et al*., 2001; KUBINYI, HAMPRECHT, MIETZNER, 1998; KIM *et al*., 1998).

Quando se dispõe da estrutura do receptor (determinadas por cristalografia de Raio-X (DULLWEBER *et al*., 2001) ou por RMN (SHUKER *et al*., 1996) o planejamento de ligantes é orientado por esta, levando-se em conta tanto a complementaridade das propriedades estéricas e eletrostáticas entre o ligante e o receptor como o valor da energia da interação entre ambos (BÖHM, 1992; BÖHM, 1993). Essa abordagem permite a seleção de ligantes com grande afinidade por um determinado receptor. Entretanto, freqüentemente os ligantes gerados, baseando-se apenas na estrutura do receptor, não se tornam fármacos por apresentarem insuficientes propriedades farmacocinéticas (absorção, distribuição, metabolismo e excreção) (GAVIRAGHI *et al*., 2001). Percebe-se, assim, que a otimização das propriedades farmacocinéticas de ligantes se impõe como uma preocupação presente, em qualquer nível de desenvolvimento de um novo fármaco e ressalta-se a importância do *QSAR clássico* como uma ferramenta de grande valor, principalmente na compreensão da contribuição das propriedades físico-químicas, identificadas como responsáveis pela atividade (TAYLOR, 1990).

I.2. A Abordagem Extra-termodinâmica

A análise de Hansch é uma extensão dos conceitos utilizados nos estudos dos mecanismos de reação em Química Orgânica, (Físico-Química-Orgânica) aplicados ao sistema biológico (FUJITA, 1990; HANSCH, LEO, HOCHMAN 1995). A abordagem de Hansch é análoga à proposta por Hammett-Taft. Essas abordagens relacionam quantidades associadas a termos termodinâmicos que, no entanto, não apresentam o formalismo da termodinâmica, por isso são chamadas relações extra-termodinâmicas (FUJITA, 1990; MARTIN, 1978).

A análise de Hansch, embora se baseie em modelos empíricos (BALANT & GEX-FABRY, 2001; HANSCH & LEO, 95; KUBINYI 1993a), é aceita e aplicada com sucesso para explicar inúmeras atividades biológicas apresentadas por moléculas orgânicas, tanto na universidade como na indústria. Assim, nos modelos propostos para descrever a resposta biológica consideram-se apenas as características externas ao sistema biológico (como por exemplo a dose administrada e a resposta biológica observada) não descrevendo cada uma das etapas individuais mecanísticas internas do sistema, *i.e.* não é um modelo mecanístico.

O modelo de Hansch parte do princípio de que o ligante, ao interagir com seu receptor, inicia uma cadeia de eventos que eventualmente resulta em uma resposta biológica específica observável. A grandeza da resposta biológica observada é determinada pela intensidade da interação ligante–receptor. A intensidade desta interação é determinada tanto pelas propriedades químicas, físico-químicas e topológicas do ligante e do receptor bem como pela concentração do ligante no local de ação. Esta, por sua vez, é governada por sua concentração no local de administração e pelo(s) processo(s) de transporte até o local de ação (FUJITA, 1990). Este processo como um todo pode ser expresso e representado pela *equação 7*.

$$\textit{Resposta biológica} = B\,k\,K\,C \qquad \textit{(equação 7)}$$

onde:

C é a concentração molar da dose aplicada no local de administração;
K é a constante de equilíbrio de partição entre o local de administração do ligante e a etapa determinante de ação;
k é a constante de velocidade da etapa determinante do processo;
B é uma constante de proporcionalidade entre a intensidade da interação ligante/receptor e a potência da resposta biológica observada.

A etapa limitante desse processo não é necessariamente a interação entre o ligante e o receptor. Quando um dos compartimentos envolvidos no transporte do ligante retém grandes quantidades de suas moléculas, a passagem por esse compartimento passa a ser a etapa limitante do processo. Quando a primeira etapa do processo é a etapa limitante, o equilíbrio de partição (K) não precisa ser considerado (FUJITA, 1990) (*equação 8*).

$$\textit{Resposta biológica} = B\,k\,C \qquad \textit{(equação 8)}$$

onde:

C é a concentração molar da dose aplicada no local de administração;
k é a constante de velocidade da etapa determinante do processo;
B é uma constante de proporcionalidade entre a intensidade da interação ligante/receptor e a potência da resposta biológica observada.

Em sistemas isolados, como por exemplo, em microorganismos em uma fase aquosa, o equilíbrio entre o local de administração e o sítio de ação é atingido rapidamente. Nesses casos, a reposta biológica se torna constante após um pequeno intervalo de tempo e tal resposta pode ser formulada como a *equação 9* (FUJITA, 1990).

$$\textit{Resposta biológica} = B\,K\,C \qquad \textit{(equação 9)}$$

onde:

C é a concentração molar da dose aplicada no local de administração;
K é a constante de equilíbrio de partição entre o local de administração e o sítio de ação;
B é uma constante de proporcionalidade entre a intensidade da interação ligante/receptor e a potência da resposta biológica observada.

Para uma série de compostos congêneres, considerando-se *B* uma constante para um dado sistema e fixando-se uma resposta padrão (*i.e.* uma dose equipotente), o termo do lado esquerdo da equação se torna constante, e a equação pode ser reescrita na seguinte forma (*equação 10*) (FUJITA, 1990).

$$log\ 1/C = log\ k + log\ K + constante \qquad (equação\ 10)$$

onde:

log 1/C é o logaritmo da resposta biológica;
C é a concentração molar da dose aplicada no local de administração;
log k é o logaritmo da constante de velocidade da etapa determinante do processo;
log K é o logaritmo da constante de partição entre o local de administração e o sítio de ação
constante é o coeficiente linear da função matemática envolvida na resposta biológica.

Na *equação 10*, os dois termos (*log K e log k*) estão associados às grandezas termodinâmicas - podendo ser expressos por variações de energia livre de Gibbs (ΔG). Dessa forma, para sistemas em que a *equação 10* se aplica, é válido considerar que o termo relativo à resposta biológica (expresso por *log 1/C*) pode ser associado à variação da energia livre (FUJITA, 1990).

Equações lineares correlacionando grandezas tanto termodinâmicas ($\Delta G; \Delta H; \Delta S$) como extra-termodinâmicas (como por exemplo *log K* e *log k*) são chamadas relações lineares de energia livre (LFER – *Linear Free Energy Relationships*), respectivamente, termodinâmicas e extra-termodinâmicas (FUJITA, 1990; MARTIN, 1978).

Em análises de QSAR, a abordagem extra-termodinâmica poderá ser aplicada, somente para sistemas nos quais o termo associado à resposta biológica (log 1/C) for expresso por constantes tanto de equilíbrio (como K_i ou por exemplo, IC_{50} e não por porcentagem de inibição, como por exemplo %I) como de velocidade (por exemplo logk e não porcentagem de absorção) (KUBINYI, 1993a).

Existem, ainda, outras duas razões para que sejam usadas apenas escalas logarítmicas para expressar a atividade biológica em estudos de QSAR clássico. Primeiro, para que o erro experimental dos dados de atividade biológica tenha uma distribuição normal. Segundo, por que em uma escala logarítmica não existe a chance de se prever valores negativos para a atividade biológica, enquanto que na escala linear isto seria possível (KUBINYI, 1993a; KUBINYI, 1990).

I.3. O Modelo Linear

Hansch mostrou que os valores de *logP* podiam ser usados para descrever a resposta biológica tanto em sistemas isolados onde o equilíbrio era alcançado rapidamente quanto em sistemas complexos fora do equilíbrio (FUJITA, 1990). Hansch mostrou que os valores de *logP* se correlacionavam linearmente tanto com os valores de *logK* em sistemas no equilíbrio assim como

com valores de *logK* e de *logk* em sistemas fora do equilíbrio. Desse modo Hansch propôs o modelo linear (*equação 11*) (HANSCH & FUJITA, 1964).

$$log\ 1/C = a\ logP + constante \qquad (equação\ 11)$$

onde:

log 1/C é o logaritmo da resposta biológica;
C é a concentração molar da dose aplicada no local de administração;
logP é o parâmetro hidrofóbico;
a é o coeficiente que expressa a contribuição relativa do parâmetro (*logP*);
constante é coeficiente linear da função matemática envolvida na resposta biológica.

O termo *logP* reflete a contribuição do termo hidrofóbico, expresso por um parâmetro molecular ligado à variação de energia livre do processo de transferência de um soluto de uma fase orgânica para uma fase aquosa, segundo a *equação 12* (TAYLOR, 1990).

$$\Delta G_{transf.\ org \rightarrow aq} = -2{,}3RT\ logP \qquad (equação\ 12)$$

onde:

$\Delta G_{transf.\ org \rightarrow aq}$ representa a variação da energia livre da transferência de um soluto de uma fase orgânica para uma fase aquosa;
R é a constante universal dos gases;
T é a temperatura (em graus Kelvin);
logP é o logaritmo do coeficiente de partição.

A equação de Hansch (*equação 11*) se aplica apenas às séries de compostos homólogos, em que o único mecanismo de controle da potência considerado é a hidrofobicidade do composto (o termo hidrofobicidade indica a tendência de um soluto de se particionar de uma fase aquosa para uma fase orgânica, sendo a força motriz do processo a expulsão do soluto pelas moléculas de água). Hansch observou que a potência do composto também poderia ser influenciada por efeitos eletrônicos e ou topológicos e, para tanto, formulou a equação completa (*equação 13*) (FUJITA, 1990).

$$log\ 1/C = a\ logP + b\ \sigma + c\ Es + constante \qquad (equação\ 13)$$

onde:

log 1/C é o logaritmo da resposta biológica;
C é a concentração molar da dose aplicada no local de administração;
logP, σ, E_s, são parâmetros físico-químicos que expressam as interações envolvidas (hidrofóbicas, eletrônicas e estéricas, respectivamente) na resposta biológica medida.
a, b, c, são os coeficientes que expressam as contribuições relativas de cada parâmetro (*log P*, σ, E_s, respectivamente);
Constante é o coeficiente linear da função matemática envolvida na resposta biológica.

Na *equação 13* os termos a, b, c são os coeficientes lineares que indicam a importância e a contribuição relativa de cada termo. Dependendo da natureza dos compostos e do sistema biológico

em questão, esses termos podem ser estatisticamente não significantes, indicando que no sistema avaliado os efeitos eletrônicos e ou topológicos não contribuem para a atividade biológica (FUJITA, 1990).

I.4. O Modelo Parabólico

Diferentemente do que o modelo linear prevê, a atividade biológica não cresce indefinidamente com o aumento da lipofilicidade (KUBINYI, 1979; KUBINYI, 1993a ; FUJITA, 1990). O que se observa em séries homólogas em que existe grande variação da hidrofobicidade (por exemplo variação de 3-5 unidades de *logP*) é que após um dado valor de *logP*, a atividade biológica passa a diminuir com o aumento da hidrofobicidade. Hansch atribuiu esse comportamento não-linear ao processo de transporte e distribuição dos compostos através das múltiplas biofases (HANSCH & FUJITA, 1964; HANSCH & CLAYTON, 1973). Compostos muito hidrofóbicos (por exemplo compostos com valores de *logP* maiores do que 3) tenderiam a permanecer nas membranas biológicas, enquanto que compostos pouco hidrofóbicos (por exemplo compostos com valores de *logP* menores do que zero) tenderiam a permanecer no compartimento aquoso, não sendo capazes de cruzar as membranas no processo de transporte. Essa explicação leva ao conceito de hidrofobicidade "ótima", que seria aquela em que o composto teria a maior probabilidade de chegar até seu local de ação. Hansch propôs que essa dependência não-linear poderia ser descrita através de um termo quadrático sobre o termo hidrofóbico, em que o coeficiente de regressão deveria ser menor que zero ($a < 0$) (HANSCH & FUJITA, 1964; HANSCH & CLAYTON, 1973). Assim como no modelo linear, a resposta biológica ainda poderia ser influenciada por efeitos eletrônicos e topológicos e, portanto, os termos relativos a esses efeitos permaneceram na equação quadrática formulada (*equação 14*).

$$\log 1/C = a \log P^2 + b \log P + c\,\sigma + d\,Es + constante \qquad \textit{(equação 14)}$$

onde:

log 1/C é o logaritmo da resposta biológica;
C é a concentração molar da dose aplicada no local de administração;
logP, σ*,* E_s*,* são parâmetros físico-químicos que expressam as interações envolvidas (hidrofóbicas, eletrônicas e estéricas, respectivamente) na resposta biológica medida;
a, b, c, d, são os coeficientes que expressam as contribuições relativas de cada parâmetro (*log P*, σ, E_s, respectivamente);
Constante é o coeficiente linear da função matemática envolvida na resposta biológica.

O modelo parabólico de Hansch é incompatível com seu modelo linear anterior. O modelo linear prevê o crescimento da atividade biológica com a hidrofobicidade em uma reta, enquanto que o modelo parabólico prevê o crescimento em uma curva (KUBINYI, 1976; 1977).

I.5. O Modelo Bilinear

Para eliminar a discrepância entre os modelos linear e parabólico, Kubinyi propôs o modelo bilinear (*equação 15*) (KUBINYI, 1976; KUBINYI, 1977; KUBINYI, 1993a) a partir do modelo "probabilístico" de McFarland (McFARLAND, 1970). O modelo de McFarland considera a probabilidade de um fármaco de chegar até seu local de ação (*Figura I.1.*), baseando-se nas constantes de velocidade de transferência de fases (k_1 e k_2).

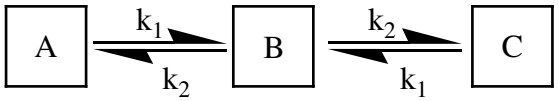


Figura I.1. **Representação esquemática das constantes de velocidade envolvidas na passagem de um soluto entre compartimentos de diferentes composições químicas.**

Kubinyi reconsiderou o modelo de McFarland, levando em conta as diferenças de volume entre as fases aquosa e orgânica.

$$\log 1/C = a \log P - b \log(\beta P + 1) + constante \qquad \textit{(equação 15)}$$

onde:

log 1/C é o logaritmo da resposta biológica;
C é a concentração molar da dose aplicada no local de administração;
logP é o parâmetro hidrofóbico;
a, b, c, β, são os coeficientes que expressam as contribuições relativas de cada parâmetro;
constante é o coeficiente linear da função matemática envolvida na resposta biológica.

Esse modelo apresenta uma função de formato característico (*Figura I.2.*) sendo uma porção linear ascendente de coeficiente angular (*a*) e uma porção linear descendente de coeficiente angular (*a-b*), onde (*b*) é sempre maior que (*a*). Os valores de (*a*), (*b*) e da constante (*c*) são obtidos por regressão linear. A componente não-linear β representa a razão entre os volumes da fase orgânica e da fase aquosa e é obtida através de cálculos iterativos (KUBINYI, 1993a).

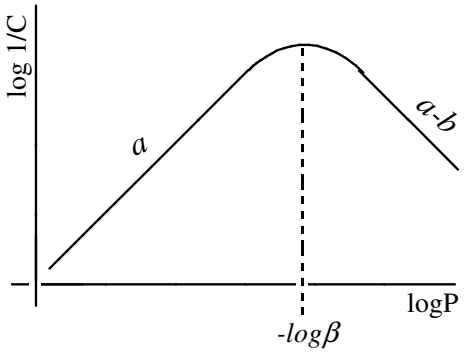


Figura I.2. **Representação esquemática do modelo bilinear para a atividade biológica proposto por Kubinyi** (1993a)

Uma das limitações do modelo bilinear é a necessidade do ajuste de quatro variáveis, uma a mais do que o modelo parabólico e duas a mais do que o modelo linear. A presença destas quatro variáveis diminui os graus de liberdade do modelo bilinear em relação aos outros modelos. A aplicação do modelo bilinear requer dados de atividade biológica de melhor qualidade e em maior número, limitando sua aplicabilidade (FUJITA, 1990; KUBINYI, 1993a).

I.6. Critérios para a Análise de Hansch

Quando se aplica a análise de Hansch (KUBINYI, 1993a; KUBINYI, *in press*) as soluções apresentadas (na forma de modelos matemáticos), não são únicas e a escolha do melhor modelo é feita baseando-se nos seguintes parâmetros estatísticos: intervalo de confiança de 95%; coeficiente de correlação (r); desvio padrão (s); teste de Fischer (F); coeficiente de validação cruzada (Q^2); desvio padrão da validação cruzada (S_{PRESS}). A *equação 16* (UNGER & HANSCH, 1973) apresenta um exemplo dos parâmetros estatísticos usados para validar um modelo e que são usados como critérios de seleção quando duas ou mais soluções são possíveis.

O melhor modelo é aquele que apresenta o maior valor do coeficiente de correlação (r), o menor desvio padrão (s) e no qual todos os termos da equação são significativos (indicados pelo índice de 95% de confiança). Alternativamente, a equação com o maior valor de F (teste Fisher) pode ser selecionada como a melhor. Por vezes, esses critérios não são suficientes para distinguir uma equação da outra e, nesses casos, usa-se o princípio da parcimônia para a escolha do modelo (*i.e.* em sendo todos os termos, aproximadamente, iguais opta-se pelo modelo mais simples) (KUBINYI, 1993a; FUJITA, 1990; KUBINYI, *in press*; UNGER & HANSCH, 1973).

$$\log 1/C = 1{,}151\ (\pm 0{,}19)\pi - 1{,}464\ (\pm 0{,}38)\sigma^{+} + 7{,}817\ (\pm 0{,}19) \qquad \textit{(equação 16)}$$

$$n = 22;\ r = 0{,}945;\ s = 0{,}196;\ F = 78{,}63;\ Q^2 = 0{,}841;\ s_{PRESS} = 0{,}238$$

onde:

$\log 1/C$ é o logaritmo da resposta biológica;
C é a concentração molar da dose aplicada no local de administração;
π, σ^{+} são os parâmetros hidrofóbico e eletrônico, respectivamente;
n é o número de compostos usados para gerar o modelo;
r é o coeficiente de correlação, que fornece uma medida relativa da qualidade do ajuste do modelo aos dados experimentais;
s é o desvio padrão, que fornece uma medida absoluta da qualidade do ajuste do modelo;
F é o teste de Fisher, que fornece uma medida do nível de significância estatística do modelo de regressão;
Q^2 é o coeficiente de validação cruzada;
S_{PRESS} é o desvio padrão da validação cruzada, ambos termos são medidas da preditividade interna do modelo.
Sendo que os números entre parênteses representam os limites do intervalo de confiança de 95% dos coeficientes de regressão da equação.

As equações resultantes da análise de Hansch são compostas de diversos parâmetros físico-químicos. A seleção das variáveis independentes deve ser feita considerando o amplo espectro de parâmetros físico-químicos existentes (*e.g. logP*, π, σ, σ^+, σ^*, σ^p, MR, E_s, entre outros). Todas as combinações de variáveis devem ser testadas e para isso recomenda-se o uso de algoritmos genéticos ou evolutivos. Várias estratégias para a seleção das "melhores" equações de regressão são descritas na literatura (KUBINYI, 1993a) e, mais recentemente revisado no grupo (PIRES, 1998).

Os parâmetros selecionados devem ser independentes entre si (*i.e.* o valor da intercorrelação entre eles deve ser menor que 0,6 – 0,7) (CRAIG, 1971). O número de variáveis deve ser limitado (KUBINYI, 1993a; FUJITA, 1990; KUBINYI, *in press*; UNGER & HANSCH, 1973). De acordo com a sugestão de Topliss e Costelo (TOPLISS & COSTELO, 1972), para que sejam diminuídas as chances de se obter uma correlação ao acaso, deve haver pelo menos cinco a seis dados de atividade biológica para cada variável presente no modelo. Finalmente, todo modelo empírico gerado deve ser acompanhado de um modelo qualitativo, que seja consistente com o conhecimento mecanístico fisiológico e físico-químico orgânico do processo em questão (KUBINYI, 1993a; FUJITA, 1990; KUBINYI, *in press*; UNGER & HANSCH, 1973). A proposição deste modelo qualitativo é o tema do próximo item.

I.7. Interações Ligante e Receptor

A interação entre o composto bioativo, denominado "ligante" e seu alvo biológico, denominado "receptor", é o evento responsável pela resposta biológica (ANDREWS, TINTELNOT, 1990; ANDREWS *et al.*, 1984). Essas interações são em geral de caráter não-covalente, pois interações covalentes são irreversíveis e, portanto, indesejáveis na maioria dos casos (exceto para agentes alquilantes, quimioterápicos e alguns inibidores irreversíveis).

A variação da energia livre ($\Delta G_{L\text{-}R}$) resultante da interação entre o ligante e seu receptor é a somatória das variações de energia associadas às interações, respectivamente, eletrostáticas, indutivas, não polares e hidrofóbicas, menos o termo de energia associado às variações de entropia, que ocorrem na formação do complexo entre as duas moléculas (*equação 17*) (ANDREWS, TINTELNOT, 1990; ANDREWS *et al.*, 1984).

$$\Delta G_{L\text{-}R} = \Delta H - T\Delta S \qquad \textit{(equação 17)}$$

onde:

$\Delta G_{L\text{-}R}$ representa a variação da energia livre da interação entre o ligante e o receptor;
ΔH representa a variação da energia entalpica;
T é a temperatura (em graus Kelvin);
ΔS representa a variação da entrópica.

Na *tabela I.1.* estão apresentados os vários tipos de interações envolvidas entre um ligante e o receptor, assim como as respectivas faixas de energia.

Tabela I.1. **Principais tipos de interações entre um composto e o sistema biológico, um exemplo e as respectivas faixas de energias envolvidas (ANDREWS, TINTELNOT, 1990).**

Tipo	Energia(KJ/mol)	Exemplo
covalente	170-600	CH_3-CH_3
iônica	~ 40	R_4N^{+}------$^{-}O_2C$-R
íon-dipolo	4-17	R_4N^{+}------OH_2
dipolo-dipolo	4-17	$R_2C{=}O$----$C{=}O$ (H, H)
ligação de hidrogênio	4-17	$R_2C{=}O$----H—OH
hidrofóbica	~ 4	
van der Waals	2-4	

A *figura I.3.* apresenta esquematicamente os fatores entrópicos e entálpicos envolvidos na formação do complexo ligante/receptor.

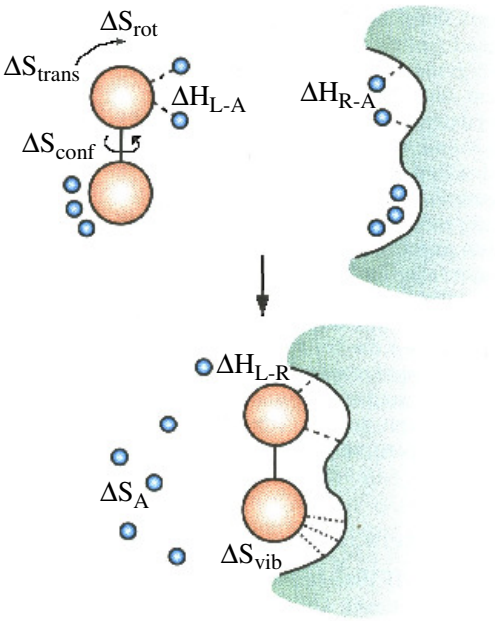


Figura I.3. **Representação esquemática dos fatores entrópicos e entálpicos envolvidos na interação entre o ligante e o receptor** (ANDREWS, TINTELNOT, 1990; ANDREWS *et al.*, 1984).

As interações eletrostáticas entre o ligante e o receptor, representadas na *figura I.3.* pelo termo $\Delta H_{L\text{-}R}$, são forças atrativas que promovem o primeiro contato entre as moléculas e são responsáveis pela orientação espacial do complexo. As interações eletrostáticas podem ser,

respectivamente, do tipo: íon-íon; íon-dipolo; dipolo-dipolo; ligação de hidrogênio; transferência de carga; dipolo-dipolo induzido. A intensidade das interações eletrostáticas depende tanto do valor da constante dielétrica no local da interação quanto da geometria e da distância envolvidas entre as moléculas do ligante e do receptor. Associada à interação eletrostática, que é favorável à formação do complexo, deve-se considerar a energia de dessolvatação dos grupos polares envolvidos nessas interações. Essa energia, que está representada na *figura I.3.* pelos termos $\mathbf{\Delta H_{L\text{-}A}}$ e $\mathbf{\Delta H_{R\text{-}A}}$, é, no entanto, desfavorável para a formação do complexo, pois é a energia que deve ser fornecida ao sistema para separar as moléculas de água do ligante e do receptor, respectivamente(ANDREWS, TINTELNOT, 1990; ANDREWS *et al*., 1984).

As interações hidrofóbicas, representadas pelo termo ΔS_A são forças de natureza essencialmente entrópicas que promovem a associação das regiões hidrofóbicas do ligante e do receptor. A força motriz dessa atração é o ganho de entropia proporcionado pela diminuição das superfícies hidrofóbicas tanto do ligante como do receptor expostas ao solvente, aumentando a liberdade das moléculas de água organizadas ao redor destas regiões. A intensidade das interações hidrofóbicas é diretamente proporcional à superfície hidrofóbica de contato entre as duas moléculas (ANDREWS, TINTELNOT, 1990; ANDREWS *et al*., 1984).

Contribuições energeticamente desfavoráveis para a associação entre o ligante e o receptor se devem à perda das liberdades, respectivamente, rotacionais (ΔS_{rot}), translacionais (ΔS_{tra}) e conformacionais (ΔS_{conf}) das moléculas ao se formar o complexo. Contribuições energeticamente favoráveis à associação podem surgir do aumento da entropia resultante da vibração (ΔS_{vib}) das ligações não-covalentes entre o ligante e o receptor.

O balanço final da energia livre ($\Delta G_{L\text{-}R}$) resultante das interações eletrostáticas, e hidrofóbicas menos os custos energéticos associados às perdas de entropias rotacionais, translacionais e conformacionais deve ser diretamente proporcional ao valor do logaritmo da constante de dissociação do complexo ligante/receptor ($\log K_{L\text{-}R}$) (*equação 18*) (ANDREWS, TINTELNOT, 1990; ANDREWS *et al*., 1984).

$$\Delta G_{L\text{-}R} = -2{,}3RT \log K_{L\text{-}R} \qquad \textit{(equação 18)}$$

onde:

$\Delta G_{L\text{-}R}$ representa a variação da energia livre da interação entre o ligante e o receptor;
R é a constante universal dos gases;
T é a temperatura (em graus Kelvin);
logK é o logaritmo da constante de equilíbrio da interação entre o ligante e o receptor.

A obtenção do valor de energia livre ($\mathbf{\Delta G_{L\text{-}R}}$) a partir das estruturas químicas do ligante e do receptor (situação ideal que permitiria a determinação do valor da constante de dissociação do complexo ligante/receptor - $\log K_{L\text{-}R}$) é ainda uma das etapas que objeto de estudos exaustivos por vários grupos de pesquisa (ANDREWS, TINTELNOT, 1990; ANDREWS *et al*., 1984,

DULLWEBER *et al,* 2001). Entretanto, muito mais simples de serem obtidas, as variações de energia livre (**$\Delta\Delta G_{L-R}$**), causadas por mudanças estruturais no ligante, podem ser correlacionadas com afinidades relativas desses ligantes por um mesmo receptor. Essa abordagem, usada em análises de Hansch, é chamada de "princípio da ancora" (*Anchor Principle* (ANDREWS, TINTELNOT, 1990)) e está baseada na premissa de que a diferença na energia de interação de um ligante com, ou sem, determinado grupo funcional reflete apenas os fatores associados a esse grupo. Sendo assim, parâmetros que descrevem características estruturais e propriedades moleculares são usados para correlacionar, de modo quantitativo, variações na resposta biológica com mudanças na estrutura química, em séries de compostos homólogos. Em especial, são usadas propriedades físico-químicas que são diretamente relacionadas com as forças intermoleculares envolvidas na interação entre o ligante e o receptor, e que igualmente descrevem as propriedades relacionadas ao transporte e à distribuição do ligante no sistema biológico (ANDREWS, TINTELNOT, 1990; ANDREWS *et al*., 1984).

Tabela I.2. **Interações significativas entre o ligante e o receptor, as correspondentes propriedades moleculares envolvidas e seus parâmetros descritores**

Interação	**Propriedade molecular**	**Parâmetro descritor**
Eletrostática	Densidade eletrônica	$\nu_{C=O}$; $\delta^{13}{}_{C=O}$; σ_m ; σ_p; $\mathfrak{I}$; R
Dispersão	Polarizabilidade	MR V
Estérica	Topologia	E_S r_V (L $B_1B_2B_3B_4$)
Hidrofóbica	Lipofilicidade	*logP* π *f*

[(a)] $\nu_{C=O}$ e $\delta^{13}{}_{C=O}$ são parâmetros espectroscópicos; σ_m ; σ_p são constantes de grupo substituinte de Hammett; $\mathfrak{I}$ $\mathfrak{R}$ são as constantes de Swain e Lupton; *MR* é a refratividade molar; *V* é o volume; E_s é a constante de Taft; r_V é o raio de Van der Waals; L, B_1, B_2, B_3, B_4 são os parâmetros estéricos propostos por Verloop; *logP* é o coeficiente de partição; π é a constante de substituinte de Hansch; *f* é a constante de fragmento de Rekker

Nas seções seguintes, serão apresentados os principais parâmetros usados em análises de relações quantitativas entre estrutura química e atividade biológica (*QSAR*).

I.8. Parâmetros Eletrônicos

As interações polares entre o ligante e o receptor podem ser descritas através de parâmetros eletrônicos. Esses parâmetros podem refletir, de modo quantitativo, a influência relativa de um certo grupo ou substituinte na distribuição eletrônica de um composto. A compreensão da grandeza e natureza do(s) efeito(s) eletrônico(s) de cada substituinte depende do entendimento de conceitos de físico-química orgânica desenvolvidos por Hammett (HAMMETT, 1937).

Hammett estudou a ionização de ácidos benzóicos *meta* e *para* substituídos, em água a 25ºC. Nesse estudo, foram analisados os valores das constantes de ionização, K_a, para uma série de ácidos benzóicos *meta* ou *para* substituídos. A seguir, foi verificada a relação logarítmica entre os valores de $log\ K_X$ (logaritmo da constante de ionização para o correspondente ácido benzóico *X*-substituído) e de $log\ K_H$ (logaritmo da constante de ionização do ácido benzóico não-substituído, $X = H$). Dessa forma, foi definido o parâmetro eletrônico do substituinte, σ de Hammett, expresso pela *equação 19* (HAMMETT, 1937).

$$\sigma = log\ (K_X / K_H) \qquad \textit{(equação 19)}$$

onde:

σ é a constante do grupo substituinte, relativa ao efeito eletrônico;
K_H é a constante de ionização do ácido benzóico não-substituído, $X = H$;
K_X é a constante de ionização para o correspondente ácido benzóico ***X***-substituído.

As constantes **σ** são denominadas constantes de grupo, uma vez que caracterizam o comportamento eletrônico de um dado substituinte, não importando a reação química que as definiu – originalmente o sistema ácido benzóico/benzoato. Os valores absolutos de **σ** refletem a grandeza do efeito eletrônico, sejam eles indutivos ou de ressonância, exercidos pelo substituinte sobre o centro da reação ou sobre a propriedade físico-química medida. Valores positivos de **σ** são observados para substituintes aceptores de elétrons, enquanto que valores negativos são observados em substituintes doadores de elétrons (BASTOS, 1984; HASCH *et al.*, 2001; TAFT, 1952; HANSCH & LEO, 1995).

A partir dos valores de **σ** obtidos para diversos substituintes Hammett propôs uma relação linear de energia livre, que correlaciona os valores de **σ** obtidos para substituintes nas posições *meta* ou *para* de anel benzênico sobre a posição de equilíbrio (**K**) (*equação 20*), ou sobre a velocidade para o estabelecimento do equilíbrio (**k**) (*equação 21*) de reações de mesma espécie.

$$log\ K_X = \rho\sigma + log\ K_H \qquad \textit{(equação 20)}$$

$$log\ k_X = \rho\sigma + log\ k_H \qquad \textit{(equação 21)}$$

onde:

K representa a constante de equilíbrio;
k_x representa a constante de velocidade;
σ é a constante do grupo substituinte, relativa ao efeito eletrônico;
ρ é a constante de reação.

O módulo de ρ mede a suscetibilidade da reação ao efeito polar exercido pelo substituinte. O valor de ρ é positivo quando a reação é favorecida por grupos que atraem elétrons e, negativo quando a reação á favorecida por grupos que repelem elétrons. O valor absoluto de ρ expressa a

sensibilidade da reação ao efeito de grupos substituintes. Quanto maior for seu valor absoluto, maior será a suscetibilidade da reação ao efeito desses grupos (BASTOS, 1984; HASCH *et al.*, 2001; TAFT, 1952; HANSCH & LEO, 1995; CAREY, SUNDBERG, 1990).

A equação de Hammett (*equação 19*) é essencialmente uma relação empírica, ou seja, os valores de σ dependem do sistema e condições em que são determinados. Em função disto, novas constantes foram propostas com objetivo de diferenciar os efeitos eletrônicos transmitidos por indução daqueles transmitidos por ressonância. Por exemplo, o valor de σ_m (constante de Hammett para substituintes na posição *meta*) descreve principalmente os efeitos indutivos enquanto que o valor de σ_p (constante de Hammett para substituintes na posição para) é uma combinação dos dois efeitos, com predominância do efeito de ressonância. Diversas coletâneas (KUBINYI, 1993a; HANSCH, LEO, HOCKMAN, 1995) de constantes foram desenvolvidas, como por exemplo σ^+ e σ^- que descrevem respectivamente o efeito eletrônico de substituintes que doam e recebem pares de elétrons do anel benzênico por ressonância direta e σ_I e σ_R que separam o efeito eletrônico de substituintes em suas componentes indutiva e de ressonância, respectivamente.

O aparecimento de grande número de escalas de $\boldsymbol{\sigma}$ foi criticado por Swain e Lupton (1968) e com intuito de interromper sua proliferação os autores propuseram a definição de constantes eletrônicas, a partir dos efeitos indutivo ($\mathcal{I}$) e de ressonância ($\mathcal{R}$) dos grupos substituintes. Em seu trabalho, Swain e Lupton assumiram que qualquer escala de σ poderia ser descrita por uma combinação linear dos termos ($\mathcal{I}, \mathcal{R}$) conforme a *equação 22*.

$$\sigma = a\mathcal{I} + b\mathcal{R} \qquad \textit{(equação 22)}$$

onde:

σ é a constante do grupo substituinte, relativa ao efeito eletrônico;
$\mathcal{I}$ corresponde aos efeitos indutivos e de campos;
$\mathcal{R}$ corresponde ao efeito de ressonância;
a e *b* são coeficientes empíricos obtidos através de análise de regressão.

Os valores de $\mathcal{I}$ e de $\mathcal{R}$ foram definidos partindo do princípio de que na dissociação dos ácidos biciclo(2,2,2)-octano-carboxílico 4-substituídos não haveria contribuição de efeitos de ressonância (b = 0) e que o substituinte $N^+(CH_3)_3$ teria $\mathcal{R} = 0$. Mais tarde Hansch e Clayton (1973) redefiniu a escala dos valores de $\mathcal{I}$ e $\mathcal{R}$ de forma mais consistente. Compilações recentes contêm, entre outros, os valores de $\boldsymbol{\sigma_m}$ e de σ_p de Hammett e de $\mathcal{I}$ e de $\mathcal{R}$ de Swain e Lupton redefinidos por Hansch. A *tabela I.3.* apresenta valores selecionados das constantes de substituintes σ_m e σ_p de Hammett e de $\mathcal{I}$ e de $\mathcal{R}$ de Swain e Lupton de dez substituintes retirados da literatura (HANSCH, LEO, HOCKMAN, 1995).

Tabela I.3. **Valores selecionados de constantes de substituinte tipo-Hammett, σ_m, σ_p, $\mathcal{I}$ e $\mathcal{R}$ retirados da literatura, para dez grupos substituintes (HANSCH, LEO, HOCKMAN, 1995)**

Substituinte	σ_m	σ_p	$\mathcal{I}$	$\mathcal{R}$
$-CF_3$	0,43	0,54	0,38	0,19
-CN	0,56	0,66	0,51	0,19
$-CH_3$	-0,07	-0,17	-0,04	-0,13
-F	0,34	0,06	0,43	0,34
-H	0,0	0,0	0,0	0,0
-I	0,35	0,18	0,40	-0,19
$-NO_2$	0,71	0,78	0,67	0,16
-OH	0,12	-0,37	0,29	-0,64
$-OCH_3$	0,12	-0,27	0,26	-0,51
$-SOCH_3$	0,52	0,49	0,52	0,01

Parâmetros experimentais obtidos por técnicas espectroscópicas ($\nu_{C=O}$) ou medidas de RMN ($\delta^{13}{}_{C=O}$) podem ser utilizados em estudos de *QSAR* como parâmetros eletrônicos para descrição do efeito eletrônico transmitido por substituintes (KUBINYI, 1993a; AMARAL & AMARAL, 1976; AMARAL *et al.*,1997; TAVARES & AMARAL, 1997). Adicionalmente, dados obtidos de cálculos de orbitais moleculares (energia de *HOMO* e *LUMO* e cargas atômicas parciais), bem como dados de potencial de oxi-redução (PIRES *et al.*, 2001) são, também, utilizados como parâmetros eletrônicos em análise de *QSAR*. A principal vantagem da utilização de valores obtidos experimentalmente, em alguns casos por cálculo (BRUNS *et al.*, 2002) é que estes podem ser usados como parâmetros eletrônicos em sistemas nos quais valores de constantes eletrônicas de substituintes, como por exemplo, σ, ou não são tabelados ou, não adequados para o sistema em estudo (TAVARES & AMARAL, 1997).

I.9. Parâmetros Estéricos

Os parâmetros estéricos usados em análises de Hansch buscam descrever de modo quantitativo os efeitos da variação da forma e do tamanho de um substituinte na atividade biológica de um composto. A análise desses efeitos estéricos permite o mapeamento do receptor dentro do espaço químico explorado. Por outro lado, a falta de informações a respeito da estrutura do receptor impossibilita qualquer previsão de efeitos estéricos fora do modelo proposto (HANSCH & LEO, 1995; SILIPO & VITTORIA, 1990).

Taft (TAFT, 1952) reconheceu a importância de separar os efeitos estéricos de um substituinte de seus efeitos eletrônicos e hidrofóbicos. Para tanto, Taft partiu do princípio de que na hidrólise ácida de ésteres alifáticos do tipo (XCH_2COOR) o efeito eletrônico do substituinte (**X**) era desprezível. Dessa forma, Taft definiu a constante estérica $\mathbf{E_s}$ de acordo com a *equação 23*.

$$Es = log\ (k_X/k_H) \qquad \textit{(equação 23)}$$

onde:

E_s é a constante de Taft;
k_x é a constante de velocidade da hidrólise ácida do éster alifático XCH_2COOR;
k_H é a constante de velocidade da hidrólise ácida do éster alifático CH_3COOR.

Por definição o valor de E_s é zero quanto o substituinte (X) for igual a (H). A aplicação do parâmetro E_s de Taft é limitada em função da impossibilidade de se obter os valores de E_s para substituintes que formam compostos instáveis (*e.g.* –CN, $-NO_2$, halogênios, alcóxidos, etc) (HANSCH & LEO, 1995).

Outra limitação do parâmetro E_s é que este foi definido para caracterizar o efeito estérico *intra*molecular de reações orgânicas, em ésteres alifáticos, e, portanto nem sempre é capaz de descrever as interações estéricas *inter*moleculares que ocorrem entre o ligante e o receptor. Charton (CHARTON, 1969) percebeu que os valores de E_s eram correlacionados com os valores do raio de Van der Waals dos substituintes e formulou a *equação 24*.

O problema apresentado pela abordagem de Charton é a parametrização do efeito eletrônico de substituintes grandes e complexos. Para substituintes monoatômicos como o (-F), o (-Cl), e o (-Br) o valor do raio de van der Waals reflete claramente o efeito estérico desses substituintes, entretanto para substituintes mais complexos o raio de van der Waals não é um bom descritor de sua estrutura tridimensional. Essas considerações levaram Verloop (VERLOOP *et al.*, 1976) a desenvolver os parâmetros STERIMOL, que fornecem uma medida das dimensões de substituintes não-esféricos em cinco direções (L, B_1, B_2, B_3, B_4, B_5), de modo que se torna possível descrever sua forma de modo mais detalhado. A *figura I.4.* apresenta uma representação esquemática do arranjo tridimensional de um substituinte, expressa pelos parâmetros estéricos propostos por Verloop, respectivamente L, B_1, B_2, B_3, B_4, B_5.

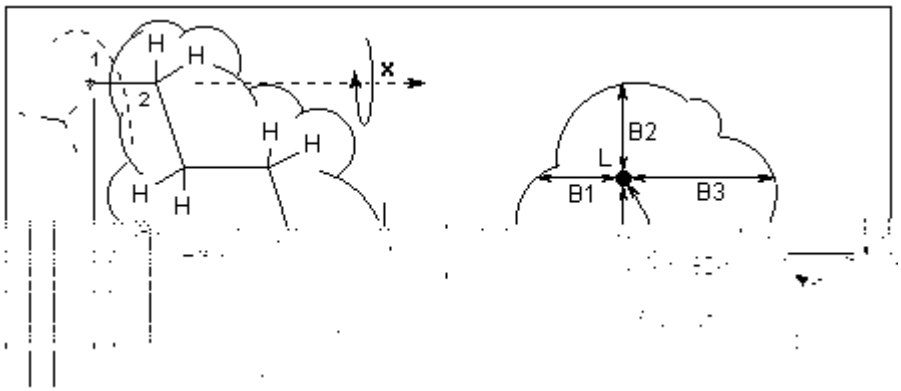


Figura I.4. **Representação esquemática tridimensional de um substituinte (-$CH_2CH_2CH_2Cl$) através dos parâmetros estéricos L, B_1, B_2, B_3, B_4, B_5.propostos por Verloop (VERLOOP *et al.*, 1976)**

$E_s = -1{,}839\ r_{av} + 3{,}484$ *(equação 24)*

(n = 6, r = 0,996, s = 0.132)

onde:

E_s é a constante de Taft;
r_{av} é o valor do raio de Van der Waals;
n é o número de compostos;
r é o coeficiente de correlação;
s é o desvio padrão.

Alem desses, outros parâmetros relativos ao composto e relacionados, respectivamente, com tamanho, forma e geometria, como por exemplo, volume de van der Waals, volumes molares, área de acesso ao solvente, refratividade molar, índices topológicos e índices de conectividade, entre outros, têm sido usados para descrever efeitos estéricos em análises de Hansch (SILIPO & VITTORIA, 1990).

I.10. Parâmetros Relacionados à Polarizabilidade

As forças de dispersão, ou forças de London, são forças de atração entre moléculas não-polares a curtas distâncias (ATKINS, 1990). Essas forças são resultantes de dipolos temporários que se formam em moléculas não-polares devido ao movimento de seus elétrons. Esses dipolos instantâneos induzem dipolos em moléculas apolares adjacentes, levando a uma atração eletrostática mútua. Apesar de serem forças de baixa intensidade, sua contribuição para a energia de interação entre um ligante e o receptor pode ser importante, principalmente quando existe uma significativa área de contato íntimo entre as duas moléculas (DEARDEN *et al.*, 1991; KUBINYI, 1993a).

Uma medida quantitativa da energia das forças de dispersão é expressa pela *equação 25* (SILIPO & VITTORIA, 1990).

$$E_L = -1{,}5\ \frac{\alpha_1\ \alpha_2}{2r^6} * \frac{I_1\ I_2}{I_1\ +\ I_2} \qquad \textit{(equação 25)}$$

onde:

E_L é a energia relativa às forças de London;
I é o potencial de ionização;
α é a polarizabilidade;
r é a distância entre as moléculas.

Como a polarizabilidade (α) de uma molécula está relacionada com o valor da refratividade molar (*MR*) através da *equação 26* é possível estabelecer uma relação direta entre os valores de *MR* e a energia das forças de dispersão (mantidos constantes os valores da energia de ionização (*I*) e a distância (*r*) entre as moléculas) (SILIPO & VITTORIA, 1990).

Os valores de *MR* podem ser facilmente obtidos a partir de valores experimentais do índice de refração (n) segundo a relação de Lorenz-Lorentz (*equação 27*) (SILIPO & VITTORIA, 1990;

KUBINYI, 1993a).

$$MR = \frac{4\pi N\alpha}{3} \qquad \text{(equação 26)}$$

onde:

MR é a refratividade molar;
N é número de Avogadro;
α é a polarizabilidade.

$$MR = \frac{n^2 - 1}{n^2 + 2} * \frac{PM}{d} \qquad \text{(equação 27)}$$

onde:

MR é a refratividade molar;
n é o índice de refratividade;
PM é o peso molecular;
d é a densidade do composto.

A *equação 27* revela que os valores de *MR* são diretamente correlacionados com o os valores do volume molar (V_m) pois ($PM/d = V_m$). Adicionalmente, os valores de *MR* também se correlacionam com os termos hidrofóbicos devido à já mencionada relação entre *MR* e o volume molar (KUBINYI, 1993a; TAYLOR, 1990; DEARDEN *et al*., 1991).

Com base nessas considerações existem pelo menos duas interpretações para o uso do termo *MR* em análises de Hansch. Primeiramente os valores de *MR* podem representar as forças de dispersão que contribuem para a interação entre o ligante e o receptor, e nesse caso, esperam-se valores positivos para o coeficiente do termo relativo à polarizabilidade *MR*. Alternativamente os valores de *MR* podem representar uma medida do volume do ligante e refletir o impedimento estérico da interação deste com o receptor, e nesse caso, esperam-se valores negativos para o coeficiente do termo *MR*. Naturalmente pode haver uma combinação dos dois efeitos, o que torna a interpretação da relação ainda mais complexa (DEARDEN *et al*., 1991). Usualmente os valores de *MR* são multiplicados por 0,1 para que se obtenha valores do coeficiente de regressão linear escalonados (KUBINYI, 1993a; TAYLOR, 1990).

Finalmente, o uso adequado do termo relativo à polarizabilidade *MR* para descrever a contribuição das forças de dispersão para a interação entre o ligante e o receptor depende da escolha correta dos substituintes, de modo que seja possível a separação dos efeitos caracterizados pelo termo *MR* (KUBINYI, 1993a; DEARDEN *et al*., 1991).

I.11. Parâmetros Hidrofóbicos

Os parâmetros hidrofóbicos podem ser usados em análises de *QSAR* tanto para descrever a interação entre o ligante e o receptor, quanto para explicar as propriedades de ADME de um

composto (*i.e.* absorção, distribuição, metabolismo e excreção) (PLISKA, *et al*. 1996; TESTA *et al*. 2000). Os parâmetros hidrofóbicos devem refletir a lipofilicidade de uma molécula.

A lipofilicidade é uma propriedade molecular que expressa a afinidade de um composto por uma fase orgânica (apolar) em relação a sua afinidade por uma fase aquosa (polar). Quanto mais intensas forem as interações hidrofóbicas entre o composto e a fase aquosa, maior será sua lipofilicidade. Por outro lado, quanto mais intensas forem as interações polares entre o composto e a fase aquosa, maior será sua afinidade pela fase aquosa (*i.e.* maior hidrofilicidade) e, conseqüentemente menor será a sua lipofilicidade. Essas relações de afinidades relativas entre as duas fases podem ser expressas pela *equação 28*, onde a lipofilicidade é considerada como o resultado da somatória das interações hidrofóbicas menos a somatória das interações polares entre composto e o sistema bifásico (TESTA *et al.*, 1996).

Lipofilicidade = Interações hidrofóbicas – Interações Polares *(equação 28)*

A fatoração da lipofilicidade em seus termos hidrofóbicos e polares é um dos modelos que contribui para a compreensão da natureza das forças que compõem a lipofilicidade e conseqüentemente que atuam sobre compostos bioativos, determinando suas propriedades farmacocinéticas e farmacológicas (TESTA *et al.*, 1996; PLISKA, *et al.* 1996).

A seguir, serão apresentados os diversos parâmetros hidrofóbicos descritos na literatura e as correspondentes interações hidrofóbicas e polares reveladas por aqueles. Adicionalmente, serão apresentadas e discutidas algumas metodologias para a determinação dos parâmetros hidrofóbicos.

I.11.1. **O coeficiente de Partição**

Uma medida quantitativa da lipofilicidade de uma molécula inteira pode ser obtida através da determinação da razão de suas concentrações, no equilíbrio, considerando a partição do mesmo entre uma fase orgânica e uma fase aquosa. Esta razão de concentrações é denominada (*P*) (*equação 29*). Por definição, usa-se a concentração do composto na fase orgânica no numerador e a concentração da fase aquosa no denominador (TAYLOR, 1990; KUBINYI, 1979; 1993; HANSCH & FUJITA 1964; HANSCH & LEO, 1995).

$$P = \frac{[A]^{fase\ orgânica}}{[A]^{fase\ aquosa}} \qquad (equação\ 29)$$

onde:

P é o valor do coeficiente de partição, sendo expresso pela razão das concentrações no equilíbrio do soluto (*A*) particionado entre uma fase orgânica e uma fase aquosa;
$[A]^{fase\ orgânica}$ é a concentração do soluto "*A*" dissolvido na fase orgânica;
$[A]^{fase\ aquosa}$ é a concentração do soluto "*A*" dissolvido na fase aquosa.

Considerando-se que (*P*) é a constante de equilíbrio, relativa à partição de um soluto entre as fases orgânica e aquosa, o correspondente parâmetro hidrofóbico usado nas análises de *QSAR* deve ser expresso na sua forma logarítmica, ou seja *logP*, também denominado *coeficiente de partição* (TAYLOR, 1990), com valores variando de -5 à 5, para os compostos bioativos comercialmente conhecidos (LIPINSKI *et al*., 1997).

Valores positivos do *logP* refletem uma maior afinidade do soluto pela fase orgânica em relação à fase aquosa, e valores negativos do *logP* refletem uma maior afinidade pela fase aquosa em relação à fase orgânica.

A grandeza de *logP* depende principalmente da intensidade e da natureza das interações que ocorrem entre o soluto e as moléculas de água, ou seja, durante a partição, o soluto pode tanto ser expulso da água (interações hidrofóbicas) como solvatado pela água (interações polares). A natureza da fase orgânica determina quais das interações serão relativamente mais significativas na partição (TESTA, *et al.*, 1996).

O *n*-octanol é o solvente de escolha para a fase orgânica. Sua capacidade de dissolver grande quantidade de água (2,3 mol/L ou aproximadamente 4/1 *n*-octanol/água) garante que parte da esfera de solvatação ao redor do soluto seja preservada, mesmo estando este dissolvido na fase orgânica. No sistema *n*-octanol/água, as interações polares - principalmente ligações de hidrogênio - entre o soluto e os dois solventes são equivalentes. O valor do *logP* medido no sistema *n*-octanol/água reflete, principalmente, as interações hidrofóbicas entre o soluto e a água (este fato justifica o termo *logP* ter sido denominado como parâmetro hidrofóbico e não parâmetro lipofílico). Existem outras características que justificam o uso do *n*-octanol, como o solvente de escolha para a determinação do valor do *logP*, (LEO & HANSCH, 1971; LEO, HANSCH, ELKINS, 1971; TAYLOR, 1990; KUBINYI, 1993a) sendo elas:

- assim como as membranas biológicas o *n*-octanol é formado por uma cadeia alifática hidrofóbica ligada, em sua porção terminal, a um grupamento polar;
- o grupamento hidroxila do *n*-octanol tem características anfifílicas, ou seja, pode ser tanto um doador de ligações de hidrogênio como um aceptor;
- o *n*-octanol é capaz de solubilizar uma grande variedade de compostos orgânicos, aumentando sua aplicabilidade;
- o *n*-octanol é praticamente insolúvel na água (*i.e.* isto é não perturba, significativamente a estrutura da água);
- o *n*-octanol tem uma baixa pressão de vapor à temperatura ambiente;
- o *n*-octanol é transparente à luz UV, o que permite a medida direta da concentração por técnicas espectrofotométricas;
- existe um extenso banco de dados de valores de *logP* medidos no sistema *n*-octanol/água;

- as constantes de substituinte π de Hansch e as constantes de fragmento f de Rekker foram definidas para o sistema *n*-octanol/água;

Na literatura (LEAHY *et al.*, 1989; LEAHY *et al.*, 1992; REKKER, 1977) são encontradas publicações em que outros solventes (como por exemplo: alcanos, clorofórmio, dinonanoato de propilenoglicol (PGPD; *propylene glycol dipelargonate*)) são usados como modelos para a partição no sistema biológico. Taylor (TAYLOR, 1990; LEAHY *et al.*, 1989) propôs o uso do PGDP como um solvente para ser usado complementarmente ao *n*-octanol para descrever o transporte através de membranas e, Rekker (REKKER, 1977) sugeriu o uso de n-heptano como modelo para a barreira hemato-encefálica. Mais recentemente, Testa (BOUCHARD *et al.*, 2001) estudou a partição de compostos ionizáveis usando o solvente 1,2-dicloroetano como modelo de membranas. Alternativamente, podem ser usados sistemas de partição envolvendo modelos biológicos, como por exemplo, células da mucosa intestinal (ARTURSSON *et al.*, 2001; CAMENISCH *et al.*, 1997) ou lipossomas (KRAMER, 2001; AVDEEF *et al.* 1998). Assim, a escolha de um sistema modelo de partição para o sistema biológico é, ainda hoje, um tema polêmico (BOUCHARDT *et al.*, 2001; TAYLOR, 1990; KUBINYI, 1993a).

O uso de sistemas de solventes de partição como um modelo para o sistema biológico é justificado pela equação de Collander (COLLANDER, 1950), que correlaciona os valores de *logP* medidos no sistema *n*-octanol/água com valores de *logP* medidos em outros sistemas de solventes como, por exemplo, heptano/água ou clorofórmio/água. A forma geral da equação de Collander é representada através da *equação 30*.

$$logP_2 = a\ logP_1 + b \qquad \textit{(equação 30)}$$

onde:

$logP_1$ representa os valores de *logP* determinados no sistema de solventes *1*;
$logP_2$ representa os valores de *logP* determinados no sistema de solventes *2*;
a, *b* são os valores dos coeficientes da regressão.

Leo e Hansch (LEO & HANSCH, 1971; LEO, HANSCH, ELKINS, 1971), aplicaram a equação de Collander (*equação 30*) para um grande número de sistemas de partição. Os autores analisaram os valores do coeficiente de partição, extraídos da literatura, de mais de 6000 compostos de estruturas diversas, determinados em aproximadamente 60 diferentes sistemas de solventes, e verificaram a validade da aplicação da equação de Collander, observando relações como a apresentada no exemplo da *equação 31,* que expressa a relação entre os valores de *logP* obtidos para uma série compostos doadores de ligações de hidrogênio, nos sistemas de solventes *n*-octanol/água ($logP_{octanol}$) e n-butanol/água ($logP_{butanol}$) respectivamente (LEO & HANSCH, 1971; LEO, HANSCH, ELKINS, 1971).

$$logP_{butanol} = 0,70\ (\pm 0,02)\ logP_{octanol} - 0,38\ (\pm 0,03) \qquad \textit{(equação 31)}$$

$$(n = 57;\ r^2 = 0,986;\ s = 0,123)$$

onde:

$logP_{butanol}$ representa os valores de *logP* determinados no sistema de solventes n-butanol/água;

$logP_{octanol}$ representa os valores de *logP* determinados no sistema de solventes *n*-octanol/água.

Adicionalmente, a equação de Collander foi aplicada em outros sistemas de partição como, por exemplo, à partição de uma série de álcoois em membranas de eritrócitos ($logP_{\text{eritrócitos}}$) (SEEMAN *et al.*, 1971) (*equação 32*) ou à ligação de compostos neutros à albumina (log $1/C_{1:1}$) (HELMER *et al.*, 1968) (*equação 33*).

$$logP_{eritrócitos} = 1,003\ (\pm 0,13)\ logP_{octanol} - 0,883\ (\pm 0,39) \qquad \textit{(equação 32)}$$

$$(n = 5;\ r = 0,998;\ s = 0,082)$$

$$log\ (1/C_{1:1}) = 0,751\ (\pm 0,07)\ logP_{octanol} + 2,0301\ (\pm 0,15) \qquad \textit{(equação 33)}$$

$$(n = 42;\ r = 0,960;\ s = 0,159)$$

onde:

$logP_{eritrócitos}$ representa os valores de *logP* determinados no sistema eritrócitos/água;

$logP_{octanol}$ representa os valores de *logP* determinados no sistema de solventes *n*-octanol/água;

$log\ (1/C_{1:1})$ representa a concentração para a ligação (1:1) entre os solutos e a albumina.

A aplicação da equação de Collander na comparação de valores de *logP* medidos em diferentes sistemas de solventes revela características sobre as distintas naturezas das interações hidrofóbicas do soluto, nos diferentes sistemas de partição. Por exemplo, na *equação 32* observa-se que valores do coeficiente angular são próximos da unidade, indicando que ambos os sistemas de partição (a saber, eritrócitos/água e *n*-octanol/água) apresentam interações hidrofóbicas similares. Analogamente, em equações de *QSAR clássico,* como exemplificado na *equação 34* (HANSCH *et al.*, 1989), valores do coeficiente de regressão próximos da unidade indicam que na etapa determinante da atividade (inibição de 50% do consumo de oxigênio em mitocôndrias) os compostos da série analisada (série de barbitúricos) se particionam para um ambiente com hidrofobicidade similar a do *n*-octanol (HANSCH & LEO, 1995; TAYLOR, 1990).

$$log\ (1/C) = 0,91\ (\pm 0,24)\ logP_{octanol} + 1,58\ (\pm 0,41) \qquad \textit{(equação 34)}$$

$$(n = 14;\ r^2 = 0,848;\ s = 0,187)$$

onde:

$log\ (1/C)$ representa o logaritmo do recíproco da concentração (em mol/L) que causa a inibição de 50% do consumo de oxigênio em mitocôndrias por barbitúricos;

$logP_{octanol}$ representa o coeficiente de partição determinado no sistema *n*-octanol/água.

Na equação de Collander, valores do coeficiente de regressão menores que a unidade, como verificado na *equação 31*, indicam que os sistemas de partição apresentam diferentes polaridades (valores da constante dielétrica, ε, iguais a 10,3 e a 17,8 respectivamente para *n*-octanol e para n-butanol (HANDBOOK 1971-72), e, portanto, diferentes interações hidrofóbicas com cada soluto. Analogamente, em equações de *QSAR Clássico*, valores do coeficiente de regressão menores do que a unidade podem ocorrer por dois fatos. Primeiro porque a hidrofobicidade da biofase em que o composto bioativo se particiona é menor do a hidrofobicidade do sistema escolhido como modelo, ou segundo, porque o composto bioativo não entra totalmente na biofase e exerce sua atividade apenas na superfície de uma biomacromolécula e, assim, somente parte de sua região hidrofóbica estaria sendo dessolvatada (HANSCH & LEO, 1995; TAYLOR, 1990).

Ao aplicar a equação de Collander em uma série de compostos com diferentes capacidades doadora e aceptora de ligação de hidrogênio, utilizando os sistemas de solventes *n*-octanol/água e cicloexano/água, respectivamente, Seiler (1974) observou que tanto os valores do coeficiente angular quanto os valores do coeficiente de regressão da equação de Collander (*equação 30*) resultante se aproximavam da unidade, ao se incluir uma <u>*variável indicadora*</u>, I_H para descrever a capacidade de cada composto de estabelecer ligações de hidrogênio. Os valores da constante I_H foram definidos considerando-se a diferença entre os valores de *logP* obtidos nos sistemas cicloexano/água e *n*-octanol/água, respectivamente, e expresso pela *equação 34*. A *tabela I.4.* apresenta os valores de I_H para alguns grupamentos mais significativos.

$$logP_{cicloexano} - logP_{octanol} = \Delta logP = \Sigma I_H - 0{,}16 \qquad \textit{(equação 34)}$$

$$(n = 195;\ r = 0{,}967;\ s = 0{,}333;\ F = 107)$$

onde:

$logP_{cicloexano}$ representa os valores de *logP* determinados no sistema de solventes cicloexano/água;

$logP_{octanol}$ representa os valores de *logP* determinados no sistema de solventes *n*-octanol/água;

$\Delta logP$ representa a variação dos valores de *logP* determinados nos sistemas de solventes cicloexano/água e *n*-octanol/água;

ΣI_H é a variável indicadora da capacidade composto de estabelecer ligações de hidrogênio.

Tabela I.4. **Valores da variável indicadora (I_H) de seis grupamentos propostos por Seiler (1974) e obtidos a partir da diferença entre os valores de $logP_{cicloexano}$ e $logP_{octanol.}$ de uma série de 230 compostos de diferentes classes**

Grupamento	I_H
Aromático-COOH	2,87
Aromático-OH	2,60
Alifático-OH	1,82
Alifático-NH_2	1,33
$R_2C{=}O$	0,31
-O-	0,11

Com o objetivo de definir a importância relativa dos fatores intra- e inter-moleculares envolvidos na partição de solutos, Abraham (KAMLET *et al.*, 1984), estudando uma série de 47 compostos de estruturas diversas, utilizou a equação *solvatocrômica,* proposta inicialmente por Kamlet e Taft (1979), para descrever os valores de *logP* determinados no sistema *n*-octanol/água. A equação *solvatocrômica,* descrita pela *equação 35,* inclui uma série de parâmetros moleculares baseados nas interações moleculares que ocorrem entre o soluto e os solventes durante o processo de solvatação em cada uma das fases.

$$logP_{octanol} = nMR^* + p\Pi + a\Sigma\alpha + b\Sigma\beta + vV + c \qquad \textit{(equação 35)}$$

onde:

$logP_{octanol}$ representa o coeficiente de partição determinado no sistema de solventes *n*-octanol/água;

MR^* é a refratividade molar em excesso - definida como a refratividade do composto menos a refratividade de um alcano, de mesmo volume;

Π é a polaridade/polarizabilidade do soluto;

$\Sigma\alpha$ é a somatória da capacidade do soluto de doar ligações de hidrogênio;

$\Sigma\beta$ é a somatória da capacidade do soluto de receber ligações de hidrogênio;

V é o volume do soluto;

n, p, a, b, v, c são os coeficientes que expressam as contribuições relativas de cada descritor para a partição no sistema de solventes *n*-octanol/água.

A equação *solvatocrômica* considera que o equilíbrio de partição de um soluto, no sistema *n*-octanol água é uma decorrência do balanço energético resultante do processo de solvatação do soluto em cada um dos solventes, respectivamente. O processo de solvatação envolve a formação de uma cavidade dentro do solvente bem como as interações entre soluto e o solvente. A formação da cavidade é um processo endergônico, em que a quantidade de energia usada para formar a cavidade é proporcional ao volume do soluto (representada pelo termo V). As interações entre o soluto e solvente podem envolver (i) forças de dispersão, descritas pela refratividade molar em excesso (representada pelo termo MR^*), (ii) interações entre dipolos e dipolos induzidos, descritas pela polaridade do soluto (representada pelo termo Π) e (iii) ligações de hidrogênio de naturezas tanto doadoras como aceptoras (representada pelos termos $\Sigma\alpha$ e $\Sigma\beta$) (ABRAHAM & CHADHA, 1996).

Na equação resultante, da combinação dos descritores moleculares MR^*, Π, $\Sigma\alpha$, $\Sigma\beta$ e V , os valores dos coeficientes de regressão ($n, p, a, b, v,$) representam, respectivamente, a sensibilidade do sistema de partição para cada uma das interações consideradas. O valor do coeficiente (n) é uma medida da diferença na polarizabilidade entre os solventes que compõem o sistema de partição; o valor do coeficiente (p) é uma medida da diferença de polaridade entre os solventes; o valor do coeficiente (a) é uma medida da diferença na capacidade aceptora para ligações de hidrogênio e o valor do coeficiente (b) é uma medida da diferença na capacidade de doar ligações de hidrogênio; o coeficiente (v) é uma medida diferença na hidrofobicidade entre os dois solventes (ABRAHAM & CHADHA, 1996).

A *equação 36* apresenta um exemplo (ABRAHAM & CHADHA, 1996) de aplicação da equação *solvatocrômica* para a partição de uma série de compostos de diferentes classes químicas no sistema *n*-octanol/água.

$$logP_{octanol} = (0{,}56\pm0{,}01)MR^* - (1{,}05\pm0{,}02)\Pi + (0{,}03\pm0{,}02)\Sigma\alpha - (3{,}46\pm0{,}03)\Sigma\beta + (3{,}81\pm0{,}01)V + (0{,}09\pm0{,}02) \qquad \textit{(equação 36)}$$

$$(n = 613;\ r^2 = 0{,}995;\ s = 0{,}116;\ F = 23162)$$

onde:

$logP_{octanol}$ representa o coeficiente de partição determinado no sistema de solventes *n*-octanol/água;
MR^* é a refratividade molar em excesso;
Π é a polaridade/polarizabilidade do soluto;
$\Sigma\alpha$ é a somatória da capacidade do soluto de doar ligações de hidrogênio;
$\Sigma\beta$ é a somatória da capacidade do soluto de receber ligações de hidrogênio;
V é o volume do soluto.

Verifica-se tanto pela grandeza como pelo sinal dos coeficientes da *equação 36*, que os termos associados ao volume dos compostos (V) e às forças de dispersão entre os compostos e os solventes (MR^*) contribuem para o aumento do valor do $logP_{octanol}$, enquanto que sua polaridade/polarizabilidade (Π) e sua capacidade aceptora de prótons ($\Sigma\beta$) contribuem para diminuir o valor do $logP_{\mathrm{octanol}}$. Como esperado, a capacidade dos compostos de receber ligações de hidrogênio ($\Sigma\alpha$) é um fator que não contribui significativamente para a partição no sistema *n*-octanol/água, revelando que ambos os solventes apresentam, dentro do erro experimental, a mesma capacidade aceptora de prótons (ABRAHAM & CHADHA, 1996). Outros exemplos de aplicação de aplicação da equação *solvatocrômica* podem ser encontrados na literatura (QUINA *et al.*, 1995).

A grande limitação para a aplicação da equação solvatocrômica é a determinação dos valores dos descritores, uma vez que os valores de Π, $\Sigma\alpha$ e $\Sigma\beta$ são obtidos apenas através de métodos experimentais. Os valores de Π são obtidos a partir do momento de dipolo da molécula e os valores de $\Sigma\alpha$ e de $\Sigma\beta$ são obtidos a partir de valores do *logP* do composto, determinados em diferentes sistemas de solventes (ABRAHAM & CHADHA, 1996).

I.11.2. **O coeficiente de partição de Compostos Ionizáveis**

Muitos fármacos apresentam em sua estrutura química um ou mais grupamentos ionizáveis. Em um estudo recente, baseando-se nos 51.596 compostos listados no *World Drug Index*, Comer e Tam (2000) sugeriram que aproximadamente 63% do total, isto é, 32.437 moléculas apresentavam pelo menos um grupamento ionizável. Ao se determinar o coeficiente de partição de compostos ionizáveis, a influência da ionização deve ser considerada (TAYLOR, 1990; KUBINYI, 1993a; TESTA *et al.*, 1996). O termo $logP_{app}$, denominado <u>*coeficiente de partição aparente*</u>, inclui uma

correção para ionização e é definido como a razão das concentrações das espécies ionizada (BH^+) e não-ionizada (B) nas fases orgânica e aquosa respectivamente. O termo $logP_{app}$ é expresso pela *equação 37*.

O valor de $logP_{app}$ de compostos ionizáveis depende tanto do valor da constante de ionização (pK_a) do composto como do pH na fase aquosa em que está dissolvido (COMER & TAM, 2001). As concentrações das espécies ionizada (BH^+) e não-ionizada (B) dependem, respectivamente dos equilíbrios de partição de cada uma das espécies separadamente (*i.e.* partição da espécie não-ionizada, expressos pelo valor do coeficiente $logP_n$; e a partição da espécie ionizada representada pelo valor do coeficiente de partição $logP_i$), bem como dos equilíbrios de ionização em cada uma das fases (*i.e.* o equilíbrio de ionização na fase aquosa, expresso pelo valor da constante pK_a^{aq}; e o equilíbrio de ionização na fase orgânica, expresso pelo valor da constante pK_a^{oct}). A *figura I.5.* apresenta um esquema com os quatro equilíbrios simultâneos envolvidos na partição de um composto contendo grupo ionizável (COMER & TAM, 2001; SCHERRER, 2001).

$$logP_{app} = \frac{[B]^{orgânica} + [BH^+]^{orgânica}}{[B]^{aquosa} + [BH^+]^{aquosa}} \qquad (equação\ 37)$$

onde:

$logP_{app}$ é o valor da razão das concentrações no equilíbrio das espécies ionizada (BH^+) e não-ionizada (B) particionadas entre uma fase orgânica e uma fase aquosa;
$[B]^{orgânica}$ é a concentração da espécie não-ionizada dissolvida na fase orgânica;
$[B]^{aquosa}$ é a concentração da espécie não-ionizada dissolvida na fase aquosa;
$[BH^+]^{orgânica}$ é a concentração da espécie ionizada dissolvida na fase orgânica;
$[BH^+]^{aquosa}$ é a concentração da espécie ionizada dissolvida na fase aquosa.

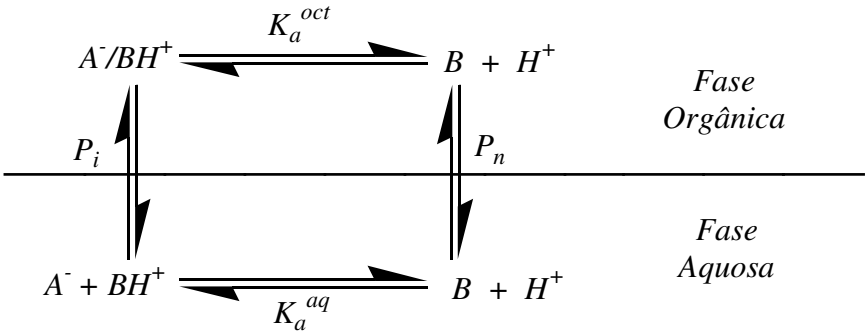


Figura I.5. **Representação esquemática dos equilíbrios simultâneos que ocorrem durante a partição de uma base fraca (B), onde P_i representa a partição da espécie ionizada (BH^+), P_n representa a partição da espécie não-ionizada, (B^+), K_a^{aq} representa a constante de ionização na fase aquosa e K_a^{oct} representa a constante de ionização na fase orgânica; (A^-) representa o contra-íon que se particiona junto com a espécie ionizada.**

A *equação 38* descreve o valor do $logP_{app}$ de uma base em função, respectivamente, dos valores de pH, do $logP_n$ do $logP_i$ e do $pK_a^{água}$ (COMER & TAM, 2001; KUBINYI, 1993a).

$$logP_{app} = log\ (P_n \cdot 10^{pH} + P_i \cdot 10^{pKa}) - log\ (10^{pKa} + 10^{pH}) \qquad \textit{(equação 38)}$$

onde:

$logP_{app}$ é o valor do coeficiente de partição aparente;
$logP_n$ é o valor do coeficiente de partição da espécie não-ionizada;
$logP_i$ é o valor do coeficiente de partição da espécie ionizada;
pK_a é o valor da constante de ionização do composto.

O gráfico apresentado na *figura I.6.* ilustra a variação dos valores de $logP_{app}$ da efedrina em função do pH determinados pelo método *Shake-flask* utilizando o sistema *n*-octanol/água (GULYAEVA, *et al.*, 2002).

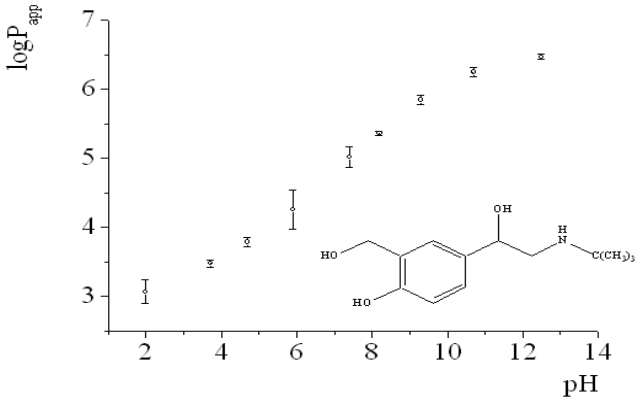


Figura I.6. **Gráfico do perfil de variação dos valores de $logP_{app}$ (determinados pelo método *Shake-flask*, sistema *n*-octanol/água; μ=0,15M (NaCl); tampão Universal 0,01M; à 20°C) em função do pH para a efedrina (GULYAEVA, *et al.*, 2002).**

Observando o perfil de variação dos valores de $logP_{app}$ da efedrina em função do pH apresentado na *figura I.6.* nota-se o formato sigmoidal característico de gráficos de pH *vs.* $logP_{app}$.

A *figura I.7.* apresenta esquematicamente um perfil de $logP_{app}$ em função do pH de uma base fraca hipotética onde estão identificados no gráfico os termos $logP_n$, $logP_i$; $pK_a^{água}$; e $pK_a^{octanol}$ respectivamente (COMER & TAM, 2001).

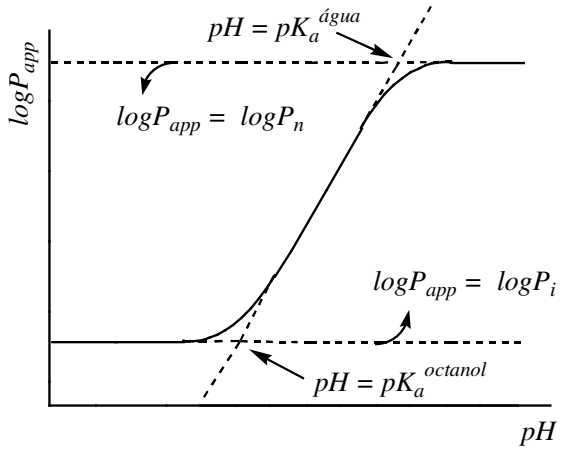


Figura I.7. **Representação esquemática do perfil de variação dos valores de $logP_{app}$ de uma base fraca em função dos valores de pH (COMER & TAM, 2001)**

Os valores de $logP_{app}$ são usados em análises de *QSAR* para descrever processos de absorção e de transporte de compostos ionizáveis através de membranas (WATERBEEMD & SMITHS, 2001; SCHERRER & HOWARD, 1977; DEARDEN, 1990; KANSY *et al.* 2001; WATERBEEMD, 2001). Em condições de equilíbrio, observa-se (SHORE *et al.* 1957) que o perfil de partição de um composto ionizável em função do pH na fase aquosa ($logP_{app}$ x pH) são idênticos, dentro do erro experimental, aos respectivos perfis de absorção e de transporte em função do pH ($logK_{abs}$ x pH). Em uma publicação mais recente Hadgraft e Valenta (HADGRAFT & VALENTA, 2000) compararam os valores experimentais do $logP_{app}$, medidos no sistema *n*-octanol/água (μ=0,15M (NaCl); Tampão Acetato/Fosfato/Trisma/Borato 0,01M; a 25°C) (AVEDEEF *et al.*, 1998), com as do fluxo de permeação através da pele, de um ácido representativo (ácido ibuprofeno), em diversos valores de pH. Os resultados apresentados no trabalho confirmam a correlação significativa entre os valores de $logP_{app}$ e das constantes de velocidade no transporte do ácido ibuprofeno através de barreiras lipídicas.

A *figura I.8.* ilustra o modelo (HARDMAN *et al.*, 1996) de absorção de compostos ionizáveis em função do pH. A espécie neutra (*B*), gerada no *compartimento* ***1***, pode atravessar por difusão passiva a membrana lipídica, para logo em seguida, regenerar a espécie ionizada (BH^+) no *compartimento* ***2***. Quanto mais deslocado para a direita estiver o equilíbrio de dissociação no *compartimento* ***1***, mais rápida será a passagem do composto de um compartimento para o seguinte.

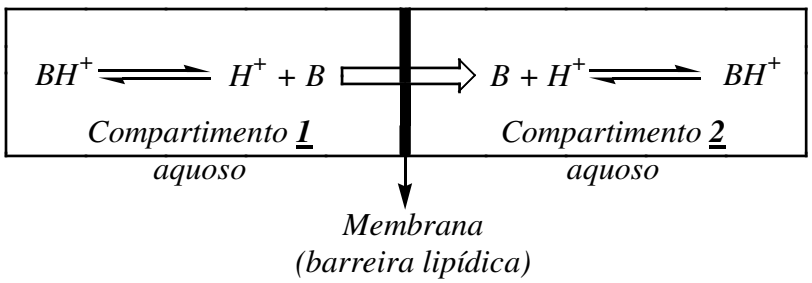


Figura I.8. **Representação esquemática do modelo de absorção e de transporte através de membranas de compostos ionizáveis**.

Os valores de $logP_{app}$ não devem ser usados para descrever os equilíbrios envolvidos na interação de equilíbrio da interação entre o ligante e o receptor (KUBINYI, 1993a). Nesses casos, devem ser usados os valores dos coeficientes de partição correspondentes somente à espécie responsável pela atividade, seja ela a espécie ionizada ($logP_i$) ou a espécie não-ionizada ($logP_n$) (SCHERRER, 2001).

No entanto, para que se possam usar os valores de $logP_i$ ou de $logP_n$ como parâmetros hidrofóbicos, em análises de Hansch, é preciso que estes não sejam intercorrelacionados. Scherrer, (SCHERRER, 2001) propôs algumas modificações na estrutura química de uma série de compostos que permitiriam distinguir os valores de $logP_i$ dos valores de $logP_n$ e, ainda, identificar qual das duas espécies (ionizada ou não-ionizada) seria a espécie responsável pela atividade.

Scherrer partiu do princípio de que na fase orgânica a espécie ionizada ($[BH^+]$) só existe na forma de um par iônico ($[BH^+][A^-]$) (DEARDEN & GEORGE, 1978; COMER & TAM, 2001). O par iônico é uma espécie eletricamente neutra, formada pelo contato íntimo entre o soluto, em sua forma ionizada, e um determinado contra-íon (QUINTANAR-GUERRERO, *et al.*, 1997). As modificações sugeridas por Scherrer (SCHERRER, 2001), visavam a um aumento seletivo da estabilidade do par iônico na fase orgânica (*n*-octanol). As mudanças a serem introduzidas eram: (1) a adição ou a remoção de heteroátomos; (2) a mudança do grupamento ionizável; (3) a variação do pK_a aquoso e (4) a mudança no impedimento estérico.

Scherrer sugere (SCHERRER, 2001) que os valores respectivamente de $logP_i$ e de $logP_n$ podem ser obtidos diretamente a partir dos valores de $logP_{app}$, como indicado na *figura I.7.* Na literatura são descritos outros métodos para se obter os valores de $logP_{app}$ e, conseqüentemente os valores de $logP_n$ e de $logP_i$.

I.11.3. **Determinação do Coeficiente de Partição**

I.11.3.1. **Por *Shake-flask***

Dentre os vários métodos de determinação do coeficiente de partição, o método do frasco agitado (em inglês; *Shake-flask*) é recomendado, em *QSAR,* por se tratar de um método de determinação direta. Este método se baseia na dissolução de um composto em um sistema bifásico, formado por um solvente polar (água, solução tampão) e outro apolar (*n*-octanol, $CHCl_3$, n-heptano, cicloexano, etc.). Depois de atingida a condição de equilíbrio a concentração do composto é determinada, de preferência em ambas as fases, por métodos analíticos adequados. A determinação experimental dos valores de (*P*), pelo método *Shake-flask* é a princípio uma metodologia simples. Entretanto, por se tratar da determinação da razão de concentrações em um equilíbrio, fatores como temperatura, força-iônica, pH, concentração do soluto, natureza do contra-íon, tempo de agitação, pré-saturação das fases, separação das fases, volume das fases e pureza dos solutos podem influenciar o valor do *logP* obtido e devem ser controlados. Dearden e Bresnem publicaram (DEARDEN & BRESNEM, 1988) uma revisão dos procedimentos experimentais e os cuidados que devem ser tomados com a metodologia *Shake-flask.* Dearden e Bresnem chamaram a atenção para o fato de que, na literatura, o mesmo composto pode apresentar diferentes valores de *logP*, e classificaram como aceitáveis variações de até 0,3 unidades de log para um mesmo composto. A *tabela I.5.* apresenta as faixas de valores de *logP* publicados (DEARDEN & BRESNEM, 1988) de alguns compostos conhecidos.

As desvantagens do método *Shake-flask* são: (i) somente pode ser aplicado para compostos com valores de *logP* na faixa de –3 a 3; (ii) é uma metodologia trabalhosa e demorada; (iii) é

sensível à pureza dos compostos e dos solventes usados na partição; (iv) requer relativamente grande quantidade de material (ao redor de 0,5 mg) para a análise.

Tabela I.5. **Faixas de valores de *logP* encontradas na literatura[(a)] de alguns compostos conhecidos**

Composto	Faixa de valores de *logP*
Fenol	0,62 a 2,20
Metanol	-0,82 a –0,52
Tolueno	2,11 a 2,94
Clorobenzeno	2,18 a 2,84
Sulfanilamida	-1,05 a –0,60
Salicilato de metila	1,73 a 2,60
Pentaclorofenol	4,16 a 5,86

[(a)] DEARDEN & BRESNEM, 1988

I.11.3.2. Por Cromatografia

O parâmetro hidrofóbico *logP* pode ser obtido, indiretamente, a partir do tempo de retenção de um soluto em um sistema cromatográfico (KALISZAN, 1981; VAN de WATERBEEMD *et al.*, 1996; AMARAL *et al.*, 1997; KLEIN, *et al.*, 1988; YAMAGAMI, 2001; YAMAGAMI, 2002). Para tanto, as fases estacionária e a móvel do sistema cromatográfico devem reproduzir as grandezas e as naturezas das interações de um soluto, quando este se particiona em um sistema bifásico (líquido-líquido; *n*-octanol/água). Em um sistema cromatográfico de fase reversa (*i.e.* onde a fase móvel é polar e a fase estacionária é apolar), quanto mais lipofílico for o soluto, maiores serão as interações entre o soluto e a fase estacionária e, conseqüentemente, maior será o tempo de retenção do soluto quando comparado com compostos pouco lipofílicos. De modo contrário, um soluto hidrofílico terá maior afinidade pela fase móvel e portanto, terá um tempo de retenção menor do que o tempo de retenção de um composto lipofílico.

Os valores do tempo de retenção podem ser determinados através dos sistemas cromatográficos *HPLC* (do inglês *High Performance Liquid Chromatography*) (VAN de WATERBEEMD *et al.*, 1996; AMARAL *et al.*, 1997; KLEIN *et al.*, 1988; YAMAGAMI, 2001); TLC (do inglês *Thin Layer Chromatography*) (MANNHOLD *et al.*, 1996) ou CPC (do inglês *Centrifugal Partition Chromatography*) (TSAI *et al.*, 1996). O valor de *logP* é obtido a partir do <u>*fator de capacidade*</u> *k'*, aplicando-se a *equação 39*.

$$k' = (t_r - t_0) / t_0 \qquad \textit{(equação 39)}$$

onde:

k' é o fator de capacidade;
t_r é o tempo de retenção do soluto;
t_0 é o tempo de retenção de um composto que não é retido pela fase estacionária (usualmente tiouréia ou um sal inorgânico).

O logaritmo do fator de capacidade *k'* se correlaciona linearmente com os valores de *logP*. A determinação dos valores de *logP* a partir de valores de log*k'* é feita através da construção de uma curva de padronização do sistema cromatográfico. Essa curva é traçada, determinando-se os valores de *k'*, de compostos padrões, com valores já conhecidos de *logP* (KALISZAN, 1981; VAN de WATERBEEMD *et al.*, 1996; AMARAL *et al.*, 1997; KLEIN *et al.*, 1988, PIRES *et al.*, 2001; RANDO *et al.*, 2002).

Em seguida, determina-se para cada composto a ser analisado, o correspondente valor de *k'*, e, a partir da curva de padronização do sistema cromatográfico, calcula-se o correspondente valor de *logP* do composto analisado (*equação 40*) (KALISZAN, 1981; VAN de WATERBEEMD *et al.*, 1996; AMARAL *et al.*, 1997; KLEIN, *et al.*, 1988; PIRES *et al.*, 2001; RANDO *et al.*, 2002).

$$logP = a\ logk' + b \qquad \textit{(equação 40)}$$

onde:

logP é o coeficiente de partição;
logk' e coeficiente de capacidade determinado pelo método *HPLC*;
a, *b* são os coeficientes da angulares.

A determinação do parâmetro hidrofóbico por cromatografia, em especial usando o sistema *HPLC*, apresenta uma série de vantagens sobre o método tradicional *Shake-flask*. A determinação dos valores de *logP* por *HPLC* é, particularmente indicada para compostos muito lipofílicos, uma vez que esse método pode ser aplicado com sucesso para compostos que possuam o coeficiente de partição na faixa compreendida entre 0 e 6 (KLEIN, *et al.*, 1988) unidades de *logP*. O método de determinação do valor de *logP* por *HPLC* é considerado mais rápido, mais eficiente, e mais reprodutível do que o método *Shake-flask*, sendo possível ainda a utilização de compostos não puros ou a determinação simultânea do valor de *logP* de dois ou mais compostos em um único ensaio analítico (KUBINYI, 1993a). Por ser um processo dinâmico, acredita-se que o método cromatográfico seja um modelo melhor da passagem de compostos através de membranas biológicas (KARAJIANNIS & WATERBEEMD, 1995). Uma das desvantagens desse método, por ser indireto, é a necessidade de constante padronização do sistema cromatográfico para garantir a validade e reprodutibilidade dos dados. Outra desvantagem é a impossibilidade de se determinar com precisão os valores de *logP* de compostos hidrofílicos (*i.e.* com valores de *logP* menores do que zero) (KLEIN, *et al.*, 1988). Também é reconhecido (KARAJIANNIS & WATERBEEMD, 1995; VAN de WATERBEEMD *et al.*, 1996) que os valores de *logP* determinados por *HPLC* de uma classe de compostos não pode ser extrapolada para outros compostos de classes de compostos diferentes, uma vez que diferentes interações podem ocorrer entre os compostos e a fase estacionária. Finalmente, ao contrário do que no método *Shake-flask* os equipamentos usados são complexos e caros, porem apresentam a vantagem de permitir a automação do processo de obtenção do parâmetro hidrofóbico.

I.11.3.3. Por Potenciometria

Outro método para a determinação dos valores de *logP* de compostos ionizáveis é através do emprego da titulação potenciométrica (AVDEEF, 1996; CLARKE & CAHOON, 1987; CLARKE & CAHOON, 1996; TAKÁCS-NOVÁK & AVDEEF, 1996; AVDEEF, 1992; AVDEEF, 1993).

Esse método se baseia na variação do valor da constante de ionização (pK_a) de ácidos ou de bases fracas, registrada em uma titulação potenciométrica, em um sistema bifásico, em relação ao respectivo valor da constante de ionização observado, em um sistema aquoso. Para bases fracas que se particionam em um sistema bifásico, como por exemplo no sistema *n*-octanol/água, quanto mais lipofílica for a espécie neutra, menor a sua concentração na fase aquosa e maior será o valor correspondente de pH, no qual a concentração das duas espécies, na fase aquosa é igual (*i.e.* onde o $pH = pK_a$), quando comparados com compostos hidrofílicos; conseqüentemente, mais alto é o valor do pK_a observado em uma titulação potenciométrica em sistemas bifásicos. De modo contrário, quanto mais hidrofílica for a espécie neutra, menor será afinidade pela fase orgânica e maior sua concentração na fase aquosa, resultando em menor variação do valor do pK_a observado após titulação potenciométrica em sistema bifásico em relação à titulação em solução aquosa, quando comparados com compostos lipofílicos. A *figura I.9.* apresenta, esquematicamente, as curvas de titulação potenciométrica de uma base fraca, em fases, respectivamente, aquosa e em um sistema bifásico, indicando a correspondente variação dos valores do pK_a observada nos dois sistemas (AVDEEF, 1996; CLARKE & CAHOON, 1987; AVDEEF, 1992).

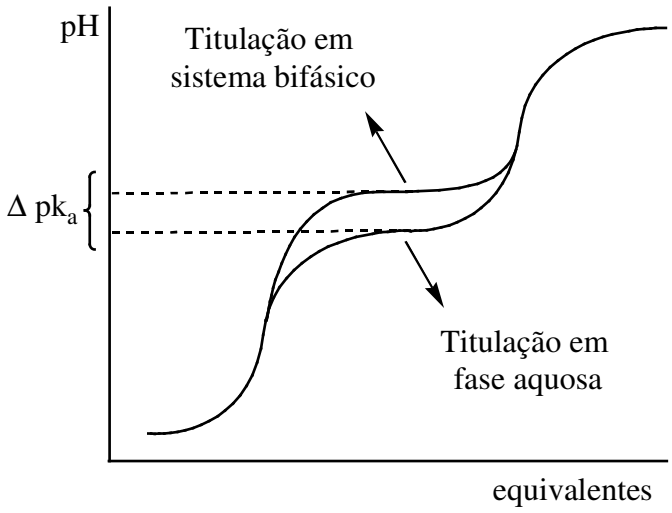


***Figura I.9*. Representação esquemática das curvas de titulação potenciométrica de uma base fraca em fases, respectivamente, aquosa e em um sistema bifásico, indicando a correspondente variação dos valores do pK_a observada nos dois sistemas.**

Os valores de $logP_i$ e de $logP_n$ são obtidos a partir do ajuste, dos dados de uma titulação potenciométrica determinados em um sistema bifásico, aos parâmetros da *equação 41* (CLARKE & CAHOON, 1987).

$$Volume\ titulado = \frac{f_n V_e K_a}{f_i [H^+] + f_n} + C_w \qquad (equação\ 41)$$

onde:

f_n = fator de partição da espécie não ionizada = 1 + (P_n $Vol^{octanol}$ / $Vol^{água}$);
f_i = fator de partição da espécie ionizada = 1 + (P_i $Vol^{octanol}$ / $Vol^{água}$);
V_e = volume equivalente;
K_a = constante de ionização;
$[H^+]$ = concentração de íons H^+;
C_w = é a contribuição da ionização da água = $Vol^{água}$ (K_w/[H^+] – [H^+])/N.

Através do método potenciométrico é possível determinar simultaneamente os valores de pK_a, de $logP_i$ e de $logP_n$, diretamente a partir de duas titulações, quais sejam uma em fase aquosa e outra em um sistema bifásico. Por outro lado, no método *Shake-flask*, esta determinação é feita a partir dos valores de $logP_{app}$ obtidos em diversos valores de pH (TAKÁCS-NOVÁK & AVDEEF, 1996).

Outra vantagem do método potenciométrico é a possibilidade de automação do processo, sendo que já são disponíveis aparelhos comerciais com esse propósito. A principal limitação do método potenciométrico é a sua restrição de aplicabilidade apenas a compostos ionizáveis (TAKÁCS-NOVÁK & AVDEEF, 1996).

I.11.3.4. Por Cálculo

O parâmetro hidrofóbico *logP* pode ser obtido (ou estimado) por cálculo (HANSCH & LEO, 1995; KUBINYI, 1993a; LEO, 1990). Diferentes programas se baseiam estrutura na estrutura de moléculas para se obter uma estimativa do valor do coeficiente de partição (LEO, 1990; WANG *et al.*, 2000; MEYLAN & HOWARD, 2000; VISWANADHAN *et al.*, 2000; PETRUSKAS &KOLOVANOV, 2000).

Em geral, esses programas se referem a valores experimentais de *logP* obtidos no sistema *n*-octanol/água, e ,de um modo geral, os valores teóricos obtidos apresentam boa concordância com os valores determinados pelos métodos experimentais (*Shake-flask* ou *HPLC*) (HANSCH & LEO, 1995; KUBINYI, 1993a; LEO, 1990; LEO 1996). Comparações (DUBAN *et al.* 2001) entre os diversos programas comerciais disponíveis para se calcular o valor do coeficiente de partição indicam que os programas que se baseiam no conceito de aditividade dos fragmentos apresentam o maior poder de predição, *i.e.* são os mais precisos. O conceito de aditividade de fragmentos foi

definido por Rekker (REKKER, 1977) e parte do princípio de que o valor do *logP* pode ser determinado a partir da soma das contribuições individuais dos fragmentos que compõem a estrutura de uma molécula, mais os fatores de correção que surgem das interações entre os fragmentos. Esse conceito pode ser formulado na forma da *equação 42*.

$$logP = \Sigma a_n \cdot f_n + b_m \cdot F_m \qquad \textit{(equação 42)}$$

onde:

a é a freqüência que determinado fragmento **f** do tipo **n** aparece na molécula;
b é a freqüência que determinado fator de correção **F** do tipo m aparece na molécula.

Um dos programas mais empregados no calculo de valores de *logP* é o CLOGP (Biobyte Corp., 1995), desenvolvido no Pomona College. Esse programa tem a vantagem de ser simples e, de fácil aplicação, pois as estruturas das moléculas são introduzidas usando-se a linguagem SMILES. A principal limitação do programa CLOGP é não considerar nos cálculos do coeficiente de partição a contribuição de fragmentos iônicos ou de fragmentos não conhecidos (LEO, 1993).

A obtenção dos valores do coeficiente de partição por cálculo não elimina a necessidade da determinação experimental, ao contrário, os métodos teóricos e experimentais devem ser usados concomitantemente pois as informações obtidas em cada método são complementares (LEO, 1987).

I.11.4. **O Parâmetro π de Hansch**

As interações hidrofóbicas de um substituinte em um anel aromático podem ser descritas pelo parâmetro hidrofóbico π. Esse parâmetro foi definido por Hansch e Fujita (HANSCH & FUJITA, 1964), procedendo analogamente ao proposto para o parâmetro eletrônico σ de Hammett. O parâmetro π representa a contribuição hidrofóbica relativa à substituição de um átomo de hidrogênio por um determinado substituinte. O valor de π é obtido a partir da diferença entre o valor do logaritmo do coeficiente de partição do composto substituído e o logaritmo do coeficiente de partição de seu análogo não-substituído, sendo representado pela *equação 43*.

$$\pi_X = logP_{R\text{-}X} - logP_{R\text{-}H} \qquad \textit{(equação 43)}$$

onde:

π_X representa a contribuição hidrofóbica do substituinte do tipo X;
$logP_{R\text{-}X}$ representa o logaritmo do coeficiente de partição do composto substituído e $logP_{R\text{-}H}$ representa o logaritmo do coeficiente de partição do análogo não-substituído.

A aplicação do parâmetro π é limitada a sistemas aromáticos, e sua utilização em sistemas alifáticos pode levar a erros significativos. A posição do grupo substituinte (meta ou para) pode

influir no valor de π, sendo possível observar valores diferentes para o mesmo grupo substituinte em função de sua posição relativa na molécula (KUBINYI, 1993a).

Por definição, o valor de π para o hidrogênio é zero ($\pi_H = 0$). Valores positivos (>0) de π de Hansch indicam substituintes mais lipofílicos que o hidrogênio, enquanto que valores negativos (<0) de π indicam substituintes mais hidrofílicos que o hidrogênio. É importante ressaltar que os valores de *logP* não são a soma de valores de π, entretanto os valores de π de Hansch podem ser usados para o calculo do *logP* contanto que o valor de π seja adicionado ao valor de *logP* de composto aromático, conforme formulado na *equação 44* (KUBINYI, 1993a).

$$logP_{YRX} = logP_{HRH} + \pi_Y + \pi_X \qquad \textit{(equação 44)}$$

onde:

$logP_{YRX}$ é o coeficiente de partição do composto substituído;
$logP_{HRH}$ é o coeficiente de partição do seu análogo não-substituído;
π_Y é o valor da contribuição do substituinte Y;
π_X é o valor da contribuição do substituinte X.

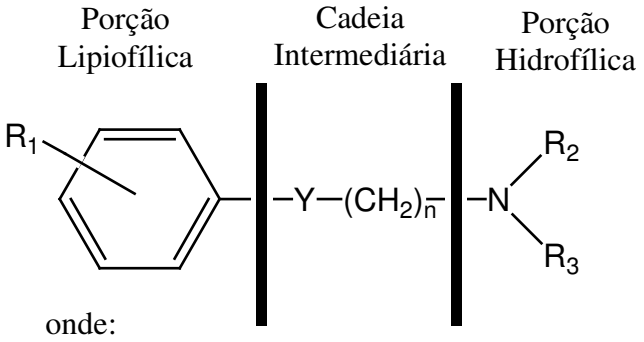
I.12. Anestésicos Locais

Neste trabalho, com o objetivo de desenvolver relações quantitativas entre estrutura química, em especial por suas características lipofílicas, e atividade biológica para uma série de análogos da procaína com potencial atividade anestésica local. Assim torna-se importante apresentar alguns aspectos relevantes a respeito das relações estrutura-atividade e sobre o mecanismo de ação, do ponto de vista molecular, de compostos com atividade anestésica local.

Os anestésicos locais causam a perda da sensibilidade no local de aplicação pela interrupção do impulso nervoso. Sua ação é temporária pois o bloqueio da transmissão do potencial de ação que conduz o impulso nervoso é um processo reversível. Os anestésicos locais podem agir sobre todo o sistema nervoso e em qualquer tipo de fibra nervosa, causando paralisia sensorial e motora quando aplicados sobre feixes de nervos (COVINO & VASSALLO, 1976; COVINO, 1986; ARTHUR, 1987; CATTERALL & MACKIE, 1996; VIANNA, 1992, NARAHASHI, 2000; BISCOPING & BACHMANN-MENNENGA, 2000).

A estrutura geral dos anestésicos locais, apresentada na *Figura I.10.* é composta por uma porção hidrofílica e uma porção lipofílica, separadas por uma cadeia intermediária, geralmente com a presença, por exemplo, de uma ligação dos tipos éster ou amida. Usualmente, a porção hidrofílica é composta por um amino-grupo, ionizável, com valores de pK_a situados entre 8 e 9. Devido à presença desse grupamento amino, no pH fisiológico (por volta de 7,4) os anestésicos locais apresentam-se como um equilíbrio entre as formas neutra e protonada, variando suas proporções relativas de acordo com o pK_a do composto. A porção lipofílica é composta, em geral, de um anel aromático, na maioria das vezes substituídos na posição *orto* ou *para* (CATTERALL & MACKIE,

1996). A natureza da cadeia intermediária determina algumas propriedades farmacológicas dos anestésicos locais. Por exemplo, os anestésicos locais com ligações do tipo éster na cadeia intermediária podem ser rapidamente hidrolisados e, conseqüentemente, apresentam menores tempos de ação quando comparados com compostos com outras funções (como por exemplo compostos com ligações do tipo amida ou cetona) na cadeia intermediária (RECANATINI & VALENTINI, 1988; BISCOPING & BACHMANN-MENNENGA, 2000; AMARAL *et al*., 1997).



onde:

R_1 = grupo alquila, amino, alquilamino, alcoxi
Y = grupo éster, amida, cetona
n = 2, 3
R_2 e R_3= H, grupo alquila

Figura I.10. **Estrutura geral esquemática dos anestésicos locais.**

As relações entre a potência dos anestésicos locais e suas propriedades físico-químicas, foram revisadas (STRICHARTZ, RITCHIE, 1987; GUPTA, 1998). Sua potência depende, dentre outras variáveis, do balanço lipofílico-hidrofílico decorrente da interação entre as duas porções da molécula (RECANATINI & VALENTINI, 1988; GUPTA, 1998). O aumento da lipofilicidade de um anestésico local está associado, em geral, ao aumento de sua potência e do tempo de duração de sua ação. Isto ocorre pois o aumento da afinidade por ambientes apolares aumenta a partição dos anestésicos locais para seu local de ação (as membranas celulares) e diminui a probabilidade de metabolização por enzimas plasmáticas, por exemplo esterases, ou enzimas do fígado. A toxicidade de anestésicos locais também aumenta com o aumento da lipofilicidade, levando alguns autores a sugerir que a atividade anestésica local e a toxicidade ocorram através de mecanismos semelhantes. (STRICHARTZ, RITCHIE, 1987).

O mecanismo de ação dos anestésicos locais ao nível molecular ainda não foi totalmente esclarecido. (GUPTA, 1991; CATTERALL & MACKIE, 1996; RECANATINI & VALENTINI, 1988; STRICHARTZ, RITCHIE, 1987, NARAHASHI, 2000; YUN *et al*., 2002; AMARAL *et al*., 1997). Dentre as várias teorias propostas duas delas são amplamente citadas na literatura. Uma delas propõe que os anestésicos locais atuam de modo não específico a nível de membrana, interagindo com os componentes protéicos ou lipídeos (CATTERALL & MACKIE, 1996; YUN *et al*., 2002). Concordante é o fato de que os anestésicos locais alteram algumas funções da membrana quando nela dissolvidos. Esta teoria está de acordo com a observação da existência de correlação

entre tanto a potência como a toxicidade dos anestésicos locais com suas lipofilicidades. A outra teoria considera que existe um alvo específico para os anestésicos locais situado na porção intracelular dos canais de sódio voltagem dependentes de células excitáveis (BUTTERWORTH E STRICHARTZ, 1990, NARAHASHI, 2000; LI *et al*., 1999; PAPKE, *et al*., 2001) Segundo esta teoria, os anestésicos locais ionizáveis, na sua forma neutra penetram na célula através da membrana lipídica, e na sua forma protonada se ligam ao sítio de ação. Acredita-se que esse sitio de ligação seja hidrofóbico por natureza e por isso a afinidade dos compostos por seu receptor é maior quanto maior for sua hidrofobicidade. (CATTERALL & MACKIE, 1996; STRICHARTZ, RITCHIE, 1987; RECANATINI & VALENTINI, 1988; COVINO, 1986; ARTHUR, 1987; PAPKE, *et al*., 2001; NARAHASHI, 2000; LI *et al*., 1999).

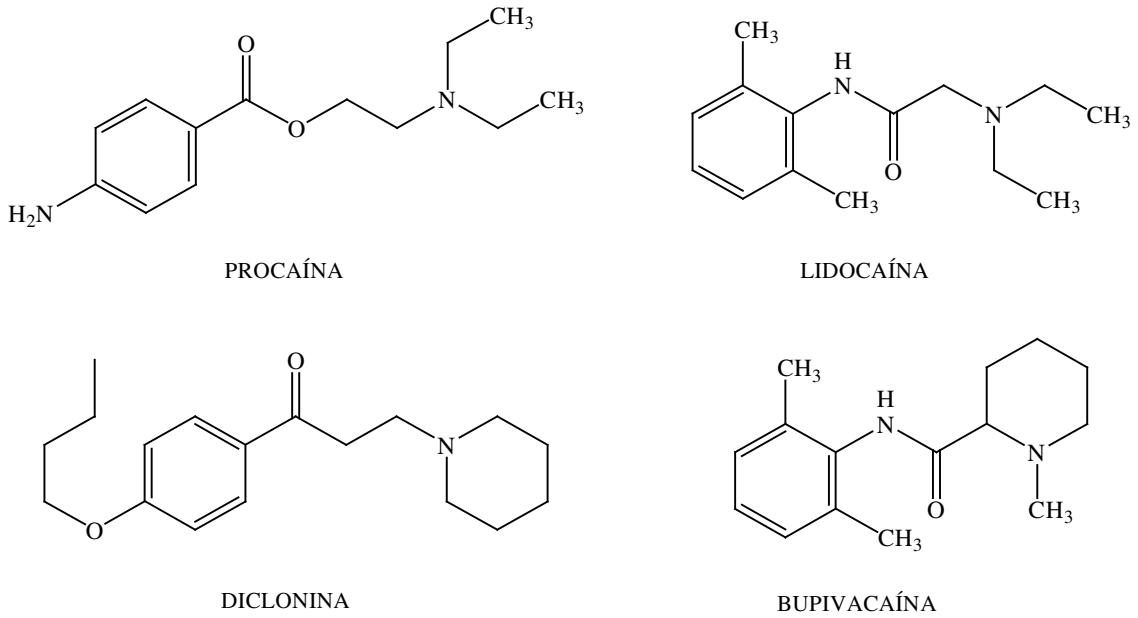


Figura I.11. **Estrutura de alguns anestésicos locais comerciais** (HARDMAN *et al*., 1996)

Os anestésicos locais também podem agir sobre o sistema colinérgico interrompendo a transmissão do impulso nervoso na junção neuromuscular esquelética e provocando o relaxamento muscular. Essa ação ocorre devido ao bloqueio dos receptores/canais iônicos nicotínicos (NEHER & STEINBACH, 1978; CATTERALL & MACKIE, 1996; STEINBACH, 1977; FLAMMIA *et al*., 1999; RYAN & BAENZIGER, 1999; PAPKE, *et al*., 2001; ARIAS, 1998).

Estudos relatam que a ação bloqueadora da transmissão neuromuscular exercida por compostos com atividade anestésica local ocorre através de um mecanismo não-competitivo e alostérico (i.e. sem alteração na ligação agonista) (IKEDA *et al*., 1984; TIEDT *et al*., 1979; FLAMMIA *et al*., 1999; RYAN & BAENZIGER, 1999; ARIAS, 1998). Acredita-se que esses compostos se ligam reversivelmente a um sítio específico do canal iônico induzindo uma mudança de conformação no receptor nicotínico, fechando o canal, ou impedindo a sua ativação e, conseqüentemente, inibindo o fluxo de íons pelo canal. Observou-se, (IKEDA *et al*., 1984; SIQUEIRA, 2001) que a introdução de um grupo metila na cadeia lateral da bupivacaína (*Figura*

I.11.), levando à formação do grupamento contendo um átomo de nitrogênio quaternário catiônico, proporcionou o aumento na potência inibitória. Outros estudos (STENLAKE *et al.*, 1992; STENLAKE *et al.*, 1993) inferem que a potência de agentes bloqueadores neuromusculares é aumentada quando substituintes lipofílicos estão próximos ou diretamente ligados ao grupo amônio, embora os valores de lipofilicidade não tenham sido medidos. Esses fatos sugerem que a forma ionizada dos anestésicos locais é a espécie ativa e que seu sitio de ligação no canal iônico dos receptores nicotínicos seja de natureza hidrofóbica (SIQUEIRA, 2001).

II. Materiais e Métodos

II.1. Reagentes e Solventes

Acetanilida (P.A. Merck);

Acetofenona (99%, P.A. - Aldrich);

Acetona (99,5%, P.A. - ACS - CAAL);

Ácido acético (P.A. – J.T.Baker);

Ácido bórico (P.A. – Carlo Erba);

Ácido cítrico (P.A. Merck);

Ácido clorídrico (38,0% Cinética química);

Ácido orto-fosfórico (P.A. Merck);

Base trizma (P.A. - Sigma);

Benzamida (P.A. Merck);

Ciclo-hexilamina (99%, P.A. - Acros);

4-Clorofenol (P.A. Merck);

Cloreto de benzoíla (P.A. Merck);

Cloreto de cálcio anidro (CAAL);

Cloreto de dietilamina (99%, P.A. - Acros);

Cloreto de dimetilamina (P.A. - Aldrich);

Cloreto de sódio (P.A. - Becto);

Clorofórmio (P.A. CAAL);

Etanol (99,5%, P.A. - ACS - CAAL);

Éter etílico (P.A. - CAAL);

Fosfato de sódio (P.A. – Sigma);

Hidróxido de sódio (P.A. - Codex);

1-Metilpiperazina (99%, P.A. - Acros);

Morfolina (99%, P.A. - Acros);

N,*N*-dimetiletilenodiamina (98%, Merck)

Paraformaldeido (Vetec - Química Fina);

Piperidina (99%, P.A. - Acros);

Pirrolidina (99%, P.A. - Acros);

Sulfato de magnésio anidro (Merck);

Tampão-titrisol pH = 3,0 (Merck);

Tampão-titrisol pH = 7,0 (Merck);

Tampão-titrisol pH = 9,0 (Merck);

Tiouréia (P.A. Merck);

Solventes espectroscópicos e/ou deuterados

1-octanol extra puro (≥99,0%, Merck);

Clorofórmio-d_1 (99,9%d, Aldrich)

Tetrametilsilano (TMS) (99,9%, Aldrich)

II.2.Equipamentos

II.2.1. Espectrômetro de Ressonância Magnética Nuclear

Os espectros de RMN ^{1}H e de RMN-^{13}C foram registrados no espectrômetro Bruker AC-200 (200 MHz), operando em transformada de Fourier. A precisão nas medidas foi limitada pelo erro sistemático de 0,001% do equipamento de acordo com as especificações do mesmo.

As amostras foram preparadas na concentração de 0,1 M, utilizando-se clorofórmio-d_1 como solvente e tetrametilsilano (TMS) como referência interna, para caracterização da estrutura. Estes foram realizados utilizando-se o equipamento pertencente à Central Analítica do Instituto de Química da USP.

II.2.2. Analisador Elementar

As análises quantitativas dos elementos: carbono, hidrogênio e nitrogênio dos compostos preparados foram determinadas em um analisador elementar marca Perkin-Elmer 2400 CHN automatizado, no laboratório de microanálise da Central Analítica do Instituto de Química da Universidade de São Paulo.

II.2.3. Espectrômetro Infravermelho

Todos os espectros de absorção na região do infravermelho foram realizados em pastilhas de KBr e registrados em um espectrômetro FTIR, BOMEM modelo MB-100. Estes foram realizados na Central Analítica do Instituto de Química da USP.

II.2.4. pH-âmetro

Todos os valores de pH das soluções tampão utilizados na determinação do coeficiente de partição obtidos pelos métodos *Shake-flask* e *HPLC,* foram determinados em um pH-âmetro marca Digicrom, modelo DM-20, utilizando-se eletrodos de vidro Ag/AgCl, $KCl_{(sat.)}$, calibrados com solução tampão-titrisol, nos valores de pH = 3,0; de 7,0 e de 9,0, respectivamente.

Os valores de pH determinados nas titulações potenciométricas foram registrados em um computador interfaceado com o pH-âmetro, marca Digicrom, modelo DM-20.

II.2.5. Titulador automático

As titulações potenciométricas para a determinação dos valores do coeficiente de partição por potenciometria foram conduzidas utilizando-se o injetor automático marca Shimadzu, modelo SIL–10Ai.

II.2.6. Espectrofotômetro Ultravioleta (UV)

Todos as análises espectrofotométricas utilizadas para a determinação dos valores do coeficiente de partição ($logP_{app}$) obtidos pelo método *Shake-flask,* dos compostos da série de análogos da procaína, foram realizados em um espectrofotômetro marca Hitashi, modelo U-2000, pertencente ao nosso grupo de estudos, laboratório de *QSAR*, IQ-USP, SP utilizando-se cubetas de quartzo com caminho óptico de 1,0 cm.

II.2.7. Ponto de Fusão

Os valores dos pontos de fusão dos reagentes e dos produtos obtidos foram determinados em um aparelho tipo Köfler, marca Thomas/Scientific Aparatus (Micro Hot Stage, modelo 40). Estes não foram corrigidos.

II.2.8. Centrífugas

Para a separação das fases na determinação do valor do coeficiente de partição pelo método *Shake-flask* foram utilizadas as centrífugas Hitachi, modelo Himac CF 15D2 e Incibráz, modelo spin IV.

II.2.9. Cromatógrafo

A determinação dos valores do coeficiente de partição aparente ($logP_{app}$) obtidos pelo método cromatográfico (**CLAE**, Cromatografia Líquida de Alta Eficiência - "***HPLC***, *Higth Performance Líquid Cromatography"*), dos compostos da série de análogos da procaína, foi realizada em um cromatógrafo marca Shimadzu, pertencente ao nosso grupo de estudos, laboratório de *QSAR*, IQ-USP, SP, equipado com injetor automático modelo SIL–10Ai, bomba de fluxo da fase móvel, modelo LC-10Ai, detector *Diode Array,* modelo SPD-M10Avp, desgaseficador DGU-14A e unidade controladora modelo CBM 10A. Utilizou-se uma pré-coluna de fase reversa preenchida com octadecilsilano marca Supelco modelo Supelcosil LC 18DB, de 20,0 mm x 4,0 mm (5 μm).

II.3. Metodologias

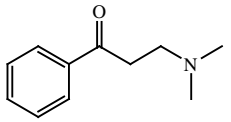
II.3.1. Planejamento da série

Os compostos da série de análogos de procaína, estudados neste trabalho, foram selecionados de acordo com critérios sugeridos por Scherrer (2001), visando ao aumento seletivo da estabilidade das espécies ionizadas na fase orgânica (*n*-octanol). As modificações moleculares a serem introduzidas envolvem: (1) a adição ou a remoção de heteroátomos; (2) a variação do grupamento ionizável; (3) a variação do pK_a aquoso e (4) a mudança no impedimento estérico.

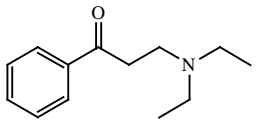
Outro critério a ser observado na seleção de substituintes se referem às faixas de variação tanto de cada parâmetro físico-químico analisado bem como do parâmetro biológico, devendo estas ser significativas.

II.3.2. Série de compostos estudados

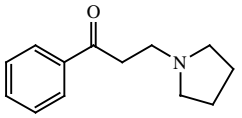
Neste trabalho foram estudados série de análogos da procaína, a saber: o cloreto de 3-(dimetilamina)propiofenona (composto **1**); o cloreto de 3-(dietilamina)propiofenona (composto **2**); cloreto de 3-(1-pirrolidina)propiofenona (composto **3**); cloreto de 3-(1-piperidina)propiofenona (composto **4**); cloreto de 3-(1-morfolina)propiofenona (composto **5**); cloreto de 3-[1-(4-metilpiperazina)] propiofenona (composto **6**); cloreto de 3-(ciclo-hexilamina)propiofenona (composto **7**); cloreto de *N*-[(*N,N*-dimetilamino)etil]benzamida (composto **8**); cloreto de *N*-[(*N,N*-dimetilamino)metil]benzamida (composto **9**); cloreto de *N*-[(*N,N*-dimetilamino)etil]benzoato (composto **10**).



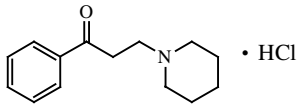
cloreto de 3-(dimetilamina)propiofenona (composto 1)



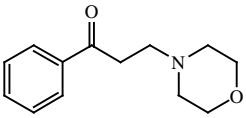
cloreto de 3-(dietilamina)propiofenona (composto 2)



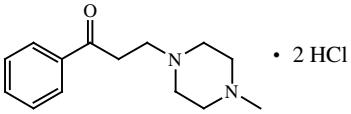
cloreto de 3-(1-pirrolidina)propiofenona (composto 3)



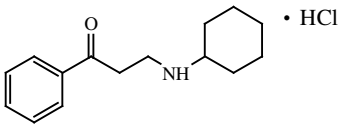
cloreto de 3-(1-piperidina) propiofenona (composto 4)



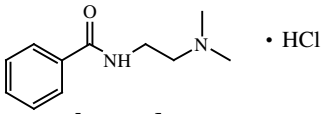
cloreto de 3-(1-morfolina)propiofenona (composto 5)



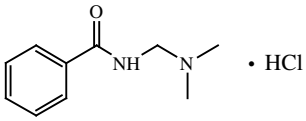
cloreto de 3-[1-(4-metilpiperazina)]propiofenona (composto 6)



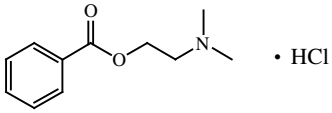
cloreto de 3-(ciclo-hexilamina)propiofenona (composto 7)



cloreto de *N*-[(*N,N*-dimetilamino)etil]benzamida (composto 8)



cloreto de *N*-[(*N,N*-dimetilamino)metil]benzamida (composto 9)



cloreto de *N*-[(*N,N*-dimetilamino)etil]benzoato (composto 10)

Figura II.1. **Representação da estrutura fundamental e nomenclatura dos compostos derivados da procaína estudados neste trabalho.**

II.3.3. Rotas sintéticas utilizadas.

Os compostos **1** a **7** foram preparados pela reação de Mannich, (**Rota A**), a partir da acetofenona e das correspondentes aminas livres (compostos **3** a **7**) ou da amina na forma de seus cloridrato (compostos **1** e **2**); procedendo-se de acordo com métodos triviais descritos na literatura (BECKER *et al.*, 1997; TRAMONTINI & ANGIOLINI, 1990; TRAMONTINI, 1973) conforme esquema de reação de preparação apresentado na *figura II.2.*

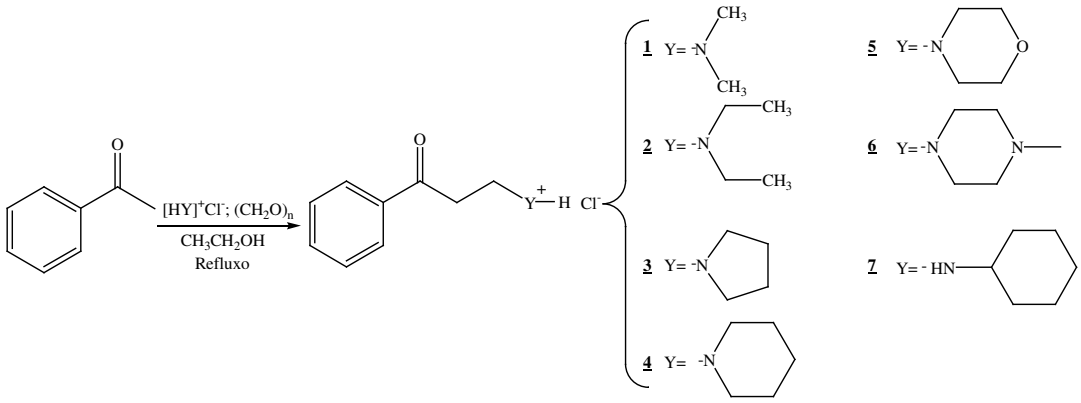


Figura II.2. **Rota sintética (Rota A) utilizada para a preparação dos cloretos de 3-(Y) propiofenona, sendo Y = -N(CH_3)$_2$ (1); -N(CH_2CH_3)$_2$ (2); 1-pirrolidina (3); 1- piperidina (4); 1-morfolina (5); [1-(4-metilpiperazina)] (6) e ciclo-hexilamina (7).**

O cloreto de *N*-[(*N,N*-dimetilamino)etil]benzamida (composto **8**) foi preparado a partir do cloreto de benzoíla, de acordo com rota sintética **B,** apresentada na ***figura II.3***.

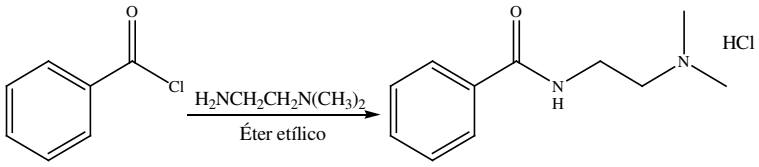


Figura II.3. **Rota sintética (Rota B) utilizada para a preparação do cloreto de *N*-[(*N,N*-dimetilamino)etil]benzamida (8)**

Da série de compostos de análogos da procaína selecionados, alguns já haviam sido anteriormente sintetizados em nosso grupo e, foram imediatamente utilizados. São eles o cloreto de *N*-[(*N,N*-dimetilamino)metil]benzamida, (composto **9**) preparado por Y. Miyazaki (AMARAL, *et al.*, 1995) de acordo com os procedimentos indicados por Hellmann (HELLMANN, 1957; ZANATTA & RITTNER, 1983); e o cloreto de *N*-[(*N,N*-dimetilamino)etil]benzoato (composto **10**) preparado por Wander A. de Souza (SOUSA, 1997), de acordo com os procedimentos indicados por Rabjohn (RABJOHN, 1955). O grau de pureza para cada composto foi avaliado pelos correspondentes pontos de fusão (P.F.) não corrigidos e análise elementar.

II.3.4. Métodos de preparação dos cloretos de 3-(Y) propiofenona, sendo Y = -N(CH_3)$_2$ (1); -N(CH_2CH_3)$_2$ (2); 1-pirrolidino (3); 1- piperidino (4); 1-morfolino (5); [1-(4-metilpiperazino)] (6); ciclo-hexilamino (7); rota A, Figura 1.

Procedeu-se de acordo com as indicações da literatura (BECKER *et al.*, 1997; TRAMONTINI & ANGIOLINI, 1990; TRAMONTINI, 1973). A aparelhagem utilizada consiste de um balão de fundo redondo de 100 mL equipado com condensador para refluxo protegido com tubo de cloreto de cálcio, banho de óleo de silicone munido com termômetro e chapa de aquecimento com agitação magnética.

Após a montagem da aparelhagem, foram adicionados 20,0 mL de etanol tratado e seco, conforme indicações da literatura (PERRIN & ARMAREGO, 1988), e 0,10 mol da amina correspondente. À esta solução foi acrescentado ácido clorídrico concentrado até pH ligeiramente ácido, indicado por papel indicador universal. Em seguida, foram adicionados 12,01 g (0,10 mol) de acetofenona (previamente destilada na faixa de temperatura de 54-56 ºC, em sistema apropriado equipado com coluna Vigreux, sob pressão reduzida de aproximadamente 3 mmHg, apresentando após a destilação grau de pureza maior que 99% analisado por cromatografia gasosa (C.G.)), e 5,10 g (0,17 mol) de paraformaldeído (previamente seco em dessecador). Esta mistura foi aquecida sob agitação na temperatura de refluxo do etanol pelo período de aproximadamente 1 hora. O aquecimento e a agitação foram cessados. A mistura reacional foi transferida para um erlenmeyer de 125mL e o balão que continha o meio reacional foi lavado com 5 mL de etanol. O erlenmeyer foi vedado e a mistura cristalizou à temperatura ambiente formando um material sólido branco que foi filtrado em funil com placa de vidro sinterizado. Este foi, a seguir, lavado com acetona tratada, seca (PERRIN & ARMAREGO, 1988) e gelada. O material foi recristalizado de etanol/acetona, ambos tratados e secos (PERRIN & ARMAREGO, 1988). O produto da reação, sólido branco cristalino, foi seco em bomba de vácuo.

II.3.5. Método de preparação do cloreto de *N*-[(*N,N*-dimetilamino)metil]benzamida (8); rota B Figura 2.

Procedendo-se de acordo com indicações de Testa (1983), em um balão de 3 bocas de 250 mL, equipado com funil de adição, tubo de $CaCl_2$ anidro, agitador magnético, cuba de gelo/água, foram adicionados 40 mmol de N,N-dimetiletilenodiamina, 50 mL de éter etílico (tratado e seco) (PERRIN & ARMAREGO, 1988) e lentamente, 40 mmol de cloreto de benzoíla, preparado ou comercial, observando-se a formação de um precipitado. Após a adição do cloreto de ácido, o banho de gelo foi retirado e a mistura reacional foi mantida sob agitação por ~1 hora à temperatura ambiente. O produto da reação, sólido, foi filtrado através de funil de placa de vidro sinterizado. O

resíduo sólido branco cristalino separado foi seco em dessecador e, a seguir, recristalizado de éter etílico/etanol.

II.4. Métodos de determinação dos parâmetros físico-químicos e estruturais

II.4.1. Parâmetros lipofílicos

II.4.1.1. Determinação dos valores do coeficiente de partição aparente por *Shake-flask*, $logP_{app}^{SF}$

Os valores do coeficiente de partição aparente ($logP_{app}$) para cada um dos compostos da série de análogos da procaína (compostos **1** - **10**) foram determinados pelo método *Shake-flask*, utilizando-se como fase orgânica *n*-octanol e, como fase aquosa soluções tampão com valores de pHs, respectivamente iguais a: 3,0; 4,0; 5,0; 6,0; 7,0; 8,0; 9,0; 10,0; 11,0 sendo μ = 0,10 M (acertada com NaCl) e procedendo-se de acordo com indicações de Dearden (DEARDEN & BRESNEM, 1988) e de Amaral (AMARAL *et al.*, 1997). Todos os procedimentos descritos a seguir foram realizados em sala com temperatura controlada e ajustada para 23,0 ± 1,0 ºC. A partição foi avaliada na fase aquosa espectrofotometricamente, através das determinações das absorções inicial e final, ou seja, antes e depois da partição de cada composto. Todas as medidas foram realizadas em duplicata.

Primeiramente são preparadas soluções concentradas (0,01 M) de cada composto, respectivamente, em água bidestilada recentemente fervida. A partir destas soluções são preparadas, por diluição com solução tampão pré-saturada de *n*-octanol (tampão p.s.o.), as soluções para a partição de cada composto. A solução utilizada na partição deve, idealmente, apresentar concentração inicial menor que 1,0 x 10^{-4} M e absorbância inicial na faixa de 0,8 a 1,2 unidades de absorbância, bem como estar na faixa de linearidade da lei de Lambert-Beer. Uma alíquota de 2,0 mL da solução de partição é transferida para uma cubeta de quartzo de caminho óptico 10,0 mm, para que seja lida e registrada a absorbância inicial (A_i) da solução para a partição. A estabilidade de cada composto na fase aquosa é verificada lendo-se e registrando-se novamente a absorbância da solução inicial (A_i') após o período de partição. Todas a leituras são feitas em três comprimentos de onda, sendo que um deles é necessariamente o comprimento de onda de máxima absorção de cada composto. As leituras são feitas automaticamente pelo espectrofotômetro em triplicata sendo que o valor registrado é a média aritmética.

Em seguida, um volume (V_{aq}) da solução de partição (fase aquosa) é transferido para um tubo de vidro de fundo chato e um volume (V_{oct}) de *n*-octanol pré-saturado com tampão (fase orgânica) é adicionado a este. Os valores da relação de volumes entre as fases (R_v) dada pelo razão (V_{aq}/ V_{oct}) são escolhidos de modo que a relação entre o valor da partição (P) e o valor de R_v esteja na faixa de 0,1 a 10 (*equação 45*), ou seja:

$0,1 > P/R_v > 10$ (*equação 45*)

onde:

$P = [C]_{oct}/[C]_{aq}$
$R_v = V_{aq}/V_{oct}$
$[C]_{oct}$ = concentração do composto na fase orgânica (*n*-octanol);
$[C]_{aq}$ = concentração do composto na fase aquosa (tampão);
V_{aq} = volume da solução aquosa (tampão) utilizada para a partição;
V_{oct} = volume de *n*-octanol utilizado para a partição;

O tubo contendo as duas fases é submetido a agitação magnética por um período de 60 minutos, em um banho termostatizado mantendo-se a temperatura do banho controlada e ajustada para 23±1 ^{o}C. Após este período, a agitação magnética é interrompida e o tubo é mantido em repouso para permitir a separação parcial das fases. Então, com o auxílio de uma pipeta a fase aquosa é transferida para um tubo *eppendorff* e este é submetido a centrifugação (15.000 rpm por 5 minutos) para garantir a total separação das fases. Depois da centrifugação, uma alíquota de aproximadamente 1,5 mL é transferida para uma cubeta de quartzo, caminho óptico de 1 cm, para que seja lida e registrada a absorbância final (A_f) na fase aquosa após a partição.

A partir dos valores de absorbância (A_i e A_f) obtidos, são calculados (*equação 46*) os valores do coeficiente de partição aparente ($logP_{app}$) de cada composto e em cada valor de pH respectivamente:

$logP_{app} = log[(A_i - A_f)/(A_f)]/[(V_{aq})/(V_{oct})]$ (*equação 46*)

onde:

$logP_{app}$ é a partição aparente
A_i é a absorbância inicial da solução de partição (antes da partição)
A_f é a absorbância final da solução de partição (depois da partição)
V_{aq} é o volume da solução de partição utilizado para a partição
V_{oct} é o volume de *n*-octanol utilizado para a partição

II.4.1.2. Determinação dos valores de pK_a^{aq}, de pK_a^{oct}, de $logP_n$ e de $logP_i$

Através do ajuste dos valores dos coeficientes da *equação 47* a partir dos valores de $logP_{app}$ determinados experimentalmente na faixa de pH de 3-11 como descritos no item II.3.1.1 foram obtidos, respectivamente, os valores de pK_a^{aq}, de pK_a^{oct}, de $logP_n$ e de $logP_i$ para cada um dos compostos da série de análogos da procaína (compostos **1** - **10**). O ajuste foi feito usando a opção "non linear curve fitting" do programa Origin 6.0 (OriginLab® Corporation © 1991-2002). A *equação 47* é fornecida ao programa, que ajusta os parâmetros da equação aos dados experimentais até atingir o valor mínimo de *x*-quadrado. Uma vez determinados os valores de pK_a^{aq}, de pK_a^{oct}, de $logP_n$ e de $logP_i$ estes são usados para criar a curva do perfil de $logP_{app}$ em função do pH. Esta

curva é criada adicionando-se os valores ajustados de pK_a^{aq}, de pK_a^{oct}, de $logP_n$ e de $logP_i$ na *equação 47* e determinando os valores de $logP_{app}$ para qualquer valor de pH.

$$logP_{app} = log(P_i+P_u10^{pH-pK_a^{aq}})-log(1+(P_i\,10^{(pH-pK_a^{oct}/P_u)}) \qquad (equação\ 47)$$

onde:

P_{app} = partição aparente
P_i = partição da espécie ionizada
P_u = partição da espécie não-ionizada
K_a^{aq} = constante de ionização na água
K_a^{oct} = constante de ionização no *n*-octanol

II.4.1.3. Determinação dos valores do coeficiente de partição aparente por *HPLC*, $logP_{app}^{HPLC}$

Os valores do coeficiente de partição ($logP_{app}$) dos compostos da série de análogos da procaína, compostos **1** - **10**, foram obtidos por cromatografia líquida de alta eficiência (*HPLC*), utilizando-se uma coluna de fase reversa preenchida com octadecilsilano (C-18) e encapada com uma película de *n*-octanol como fase estacionária e soluções tampão em valores de pH: 3,0; 7,4 e 10,0; sendo μ = 0,10 M (acertada com NaCl) como fase móvel (eluente), procedendo-se de acordo com indicações da literatura (KALISZAN, 1981; VAN de WATERBEEMD *et al.*, 1996; AMARAL *et al.*, 1997; KLEIN *et al.*, 1988; YAMAGAMI, 2001; YAMAGAMI, 2002). Todos os procedimentos descritos a seguir foram realizados em sala com temperatura controlada e ajustada para 23,0 ± 1,0 ºC. Todas as injeções foram feitas em duplicata, e os valores dos tempos de retenção registrados correspondem às médias aritméticas das duas injeções. O tempo de retenção é o tempo que o pico do analito leva para alcançar o detector após a introdução da amostra na porta de injeção.

Inicialmente prepara-se o sistema cromatográfico que deve estar composto de um recipiente para o eluente (que é reciclado durante as determinações), uma bomba de fluxo contínuo, uma porta injetora de amostra, uma coluna cromatográfica, um detector e um recipiente para o descarte da amostra e do eluente. Alíquotas de aproximadamente 50 µL de *n*-octanol são injetadas na coluna pela porta injetora até que sejam observadas gotículas de *n*-octanol na saída para o descarte. O sistema é deixado em fluxo contínuo (0,250 mL/min) de eluente pelo período necessário para a estabilização da linha de base do detector. Depois de estabilizada a linha de base, amostras de compostos padrão, com valores de *logP* conhecidos na literatura são injetadas na coluna pela porta de injeção. O valor do tempo de retenção de cada padrão é registrado. A tiouréia é usada para a determinação do tempo morto do sistema cromatográfico. Todos os padrões são injetados na forma de solução preparada com o próprio eluente empregado. O volume de injeção dos padrões é de 1,0

μL. Os valores da constante de capacidade $\underline{k}'$ foram determinados para cada um dos padrões. Este é definido como sendo:

$$\underline{k}'_A = (t_A - t_0)/t_0 \qquad \textit{(equação 48)}$$

onde:

$\underline{k}'_A$ é a constante de capacidade
t_0 é o tempo de retenção para um composto que não é retido pela coluna
t_A é o tempo da retenção da espécie *A*.

As substâncias padrão, cujos valores de *logP* foram extraídos da literatura (KLEIN *et al.*, 1988) são, tiouréia (*logP*=-0,90); benzamida (*logP*=0,64); acetofenona (*logP*=1,00); fenol (*logP*=1,50); acetanilida (*logP*=1,58); nitrometano (*logP*=1,85) e 4-clorofenol(*logP*=2,40). Os valores de $\underline{k}'$ obtidos para as substâncias padrão e seus correspondentes valores de *logP* obtidos na literatura são usados para caracterizar, calibrar e validar o sistema cromatográfico(*equação 49*).

$$logP = a \log \underline{k}' + b \qquad \textit{(equação 49)}$$

onde:

logP é o logaritmo do coeficiente de partição determinado pelo método *Shake-flask* utilizando-se o sistema de solventes *n*-octanol/água
logk' é o logaritmo do coeficiente de capacidade determinado pelo método *HPLC*
a, *b* são os coeficientes da angulares

Soluções iniciais de cada um dos compostos da série de análogos da procaína (compostos **1** - **10**) foram preparadas dissolvendo-se uma pequena quantidade (aproximadamente 10 mg) de cada substância em 4,0 mL do eluente (tampão p.s.o.). Cinco diluições seqüenciais de cada uma das soluções iniciais foram preparadas adicionando-se em 500 μL da solução inicial volumes de, respectivamente, 100 μL, 200 μL, 300 μL, 400 μL e 500 μL do eluente (tampão p.s.o.). A seguir, alíquotas de 1,0 μL de cada uma das soluções correspondentes às diluições foram injetadas, em duplicata, no sistema cromatográfico pela porta de injeção e os valores do tempo de retenção (t_R) foram registrados. A partir da média dos valores do tempo de retenção (t_R) de cada diluição obteve-se, graficamente, o tempo de retenção extrapolado para concentração zero ($t_{R\rightarrow 0}$), para os compostos **1** –**10**. A partir dos valores do tempo de retenção extrapolado para concentração zero ($t_{R\rightarrow 0}$), foram determinados os correspondentes valores de $\underline{k}'$. A seguir, substituindo-se os valores de $\underline{k}'$ na *Equação 49* obtiveram-se os valores de $logP_{app}$ correspondentes.

II.4.1.4. Determinação dos valores do coeficiente de partição por titulação potenciométrica

Procedendo-se de acordo com indicações de Clarke (CLARKE & CAHOON, 1987; CLARKE & CAHOON, 1996) os valores do coeficiente de partição (*logP*) dos compostos da série de análogos da procaína, (compostos **1** - **10**) foram determinados, pelo método potenciométrico, empregando-se um pH-âmetro equipado com um injetor automático para as titulações e utilizando um eletrodo de vidro Ag/AgCl, $KCl_{(sat.)}$,. Os valores de pH determinados nas titulações potenciométricas foram registrados em um computador interfaceado com o pH-âmetro. Todos os procedimentos descritos a seguir foram realizados em sala com temperatura controlada e ajustada para 23,0 ± 1,0 ºC.

As titulações potenciométricas foram realizadas titulando-se sucessivamente uma solução aquosa de cada composto, mantendo-se μ=0,10 M (NaCl) e, em seguida misturas heterogêneas da solução aquosa do composto em *n*-octanol, em diferentes proporções de volumes, mantendo-se μ=0,10 M pela adição de NaCl.

Para cada um dos compostos da série de análogos da procaína, o valor do coeficiente de partição da espécie ionizada $logP_i$ e o valor do coeficiente de partição da espécie não ionizada $logP_n$ foram obtidos a partir da variação observada entre os valores do pK_a obtidos nas titulações de cada composto respectivamente em meio aquoso e, em meio aquoso na presença de *n*-octanol, em diferentes proporções de volumes.

Primeiramente são preparadas soluções (0,01 mol/L) de cada composto, em água bidestilada recém fervida e livre de CO_2. O valor da força-iônica de cada solução é ajustado para μ=0,10 M com a adição de NaCl. Em seguida, de cada uma das soluções preparadas, cinco alíquotas de 9,0mL são transferidas, respectivamente, para cinco tubos de vidro de fundo chato. A seguir, volumes de 1,0; de 2,0; de 4,0 e de 8,0 mL de *n*-octanol são adicionados a quatro dos cinco tubos. Cada um dos tubos é titulado com uma solução de NaOH; 1,00 N; Solução-Titrisol Merck. A titulação é realizada sobre vigorosa agitação magnética, em um banho termostatizado com temperatura controlada e ajustada para 23,0 ± 1,0 ºC, com borbulhamento contínuo de N_2 (livre de CO_2) para manter a atmosfera livre de CO_2. O titulador automático é ajustado para adicionar, sucessivamente e a cada minuto, alíquotas de 3,0 μL do titulante. Um computador interfaceado com o pH-âmetro registra, a cada minuto, os valores de pH lidos para cada tubo de titulação.

Através do ajuste dos valores dos coeficientes da *equação 50* (CLARKE & CAHOON, 1987) aos valores determinados experimentalmente em cada titulação, são obtidos, respectivamente, os valores de pK_a^{aq}, de $logP_n$ e de $logP_i$ para cada um dos compostos da série de análogos da procaína. O ajuste foi feito usando-se a opção "non linear curve fitting" do programa Origin 6.0 (OriginLab® Corporation © 1991-2002).

A *equação 50* é fornecida ao programa, que ajusta, de modo interativo os parâmetros da equação aos dados experimentais até que um valor mínimo de χ^2 (chi-quadrado) seja observado:

$$\chi^2=\Sigma(Y_i - y_i)^2/\nu_{n-2}$$

onde:
χ^2 = chi-quadrado
Y_i = valores previstos
y_i = valores observados
ν_n = número de graus de liberdade dos resíduos

Inicialmente o valor do pK_a é determinado usando-se os dados da titulação em meio aquoso. Para este caso, a *equação 50* é simplificada, pois o termo correspondente a relação de volumes é nulo reduzindo a equação para o caso de uma titulação simples em fase homogênea.

Posteriormente, o valor de pK_a determinado a partir da titulação em meio aquoso é usado como parâmetro na *equação 50*, permitindo seu ajuste aos dados das titulações nas misturas heterogêneas água/*n*-octanol.

Para cada titulação em solução aquosa salina acrescida de diferentes volumes de *n*-octanol são obtidos os correspondentes valores de $logP_i$ e de $logP_n$. Os valores de $logP_i$ e de $logP_n$ independem da relação de volumes utilizada, portanto os valores finais, respectivamente de $logP_i$ e de $logP_n$ registrados são as correspondentes médias aritméticas dos valores obtidos em cada uma das relações de volume.

$$Volume\ Titulado = \frac{f_n V_e K_a}{f_i [H^+] + f_n K_a} + \frac{V_{aq}}{N}\left(\frac{K_w}{[H^+]} - [H^+]\right) \quad (equação\ 50)$$

onde:
$fn = [(P_u / R_v) + 1]$
$f_i = [(P_i / R_v) + 1]$
R_v = relação de volumes = (V_{oct}/V_{aq})
V_e = volume equivalente
$[H^+]$ = concentração de íons H^+. Obtido experimentalmente a partir dos valores de pH
K_a = constante de ionização do ácido $[(R)_3N^+\text{-}H \leftrightarrows (R)_3N + H^+]$
K_w = constante de ionização da água $[HO\text{-}H \leftrightarrows HO^- + H^+]$
V_w = volume da fase aquosa
V_{oct} = volume de *n*-octanol
N = normalidade do titulante

II.4.1.5. Obtenção do valor do coeficiente de partição por cálculo ($logP_{calc}$)

Para cada um dos compostos da série de análogos da procaína, (compostos **1** - **10**) foram determinados os valores do coeficiente de partição $logP_{calc}$ através do programa CLOGP, versão 1.0 para Windows (1995), Byobyte, USA (HANSCH & LEO, 1995; KUBINYI, 1993; LEO, 1990; Biobyte Corp., 1995).

As estruturas das moléculas são inicialmente construídas em linguagem SMILES. Em seguida os valores do coeficiente de partição são obtidos pela equação 7 em função da estrutura molecular:

$$logP = \sum a_n f_n + \sum b_m F_m \qquad \textit{(equação 51)}$$

onde:

a é o número do ocorrências do fragmento *f* do tipo *n*, e *b* é o número de ocorrências do fator de correção *F* do tipo *m*.

II.5.Método de determinação do parâmetro biológico

O parâmetro biológico avaliado foi o bloqueio da transmissão neuromuscular no sistema músculo diafragma-nervo frênico de camundongos (albino Swiss 25-30g). Os camundongos foram sacrificados por anestesia, por inalação de éter-etílico. Os músculos e seus respectivos nervos foram isolados imediatamente e mantidos em solução fisiológica contendo solução Tyrode: (em mM) NaCl 135, $NaHCO_3$ 15, KCl 5, $CaCl_2$ 2, $mgCl_2$ 1, NaH_2PO_4 1 e glicose 11; pH 7.3 – 7.4 depois de gaseificação com 95% O_2 e 5% CO_2. Os músculos diafragma-nervo frênico foram montados em uma cuba contendo 2 mL de uma solução fisiológica continuamente gaseificada com 95% O_2 e 5% de CO_2 em um banho termostatizado com temperatura controlada e ajustada para 25,0 ^oC. As contrações musculares foram promovidas por um eletrodo pulsador regulado para originar estimulação nervosa supramáxima (pulsos de aproximadamente 0,1 Hz em intervalos de 0,5 ms) e as contrações dos músculos foram isometricamente registradas usando um transdutor de força ("force-displacement transducer" FT03, Grass Instruments) em um polígrafo (Beckman R116). O transdutor de força é calibrado com um peso padrão de 1,00 g e uma tensão de 0,5 g é aplicada no sistema músculo-nervo frênico. Depois de 30 minutos de estabilização, a tensão de repouso foi reajustada e os efeitos dos compostos da série de análogos da procaína foram registrados por 30 minutos (SOUCCAR *et al*., 1999; SOUCCAR *et al*., 1998).

Todas as determinações do bloqueio da transmissão neuromuscular para a série de compostos estudados neste trabalho foram realizadas no Departamento de Farmacologia da Universidade Federal de São Paulo (UniFeSP), sob a orientação do Prof. Dr. Antônio José Lapa.

III. Parte Experimental

III.1. Preparação dos Compostos

III.1.1. Preparação do cloreto de 3-(dimetilamina)propiofenona (1). Rota A

Procedendo-se de acordo com o método descrito no item II.3.4., partiu-se de 12,01 g (0,10 mol) de acetofenona, de 17,5 mL de etanol tratado e seco, de 8,05 g (0,10 mol) de cloreto de dimetilamônio e de 5,10 g (0,17 mol) de paraformaldeído. O produto da reação foi recristalizado de etanol-acetona. Foram obtidos 9,07 g de um material sólido branco e cristalino.

η = 42%

p.f.$_{exp}$ = 137-139 ºC (não corrigido)

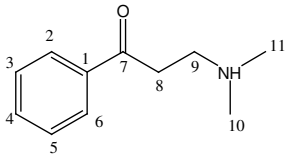
p.f.$_{lit.}$ = 155-156 ºC (HUANG & HALL, 1996)

Análise elementar:

calc.	C(%)61,82	H(%)7,55	N(%)6,55
exp.	C(%)61,46	H(%)7,11	N(%)6,50

RMN ^{1}H (Clorofórmio $CDCl_3$; ref. TMS):

δ (ppm): 10,83 (s, 1H, ($^+$N***H***)); 8,04-8,01 (m, 2H, (Ar-***H***)); 7,72-7,55 (m, 3H, (Ar-***H***)); 3,65 (t, 2H, (C***H***2N+), J=7,50); 3,40 (t, 2H, (C***H***2CO), J=7,50); 2,80 (s, 6H, (+N(C***H***3)2))



RMN ^{13}C(Clorofórmio $CDCl_3$; ref. TMS):

δ (ppm): 135,58 (C1); 128,91 (C2, C6); 128,32 (C3, C5); 134,14 (C4); 195,82 (C7); 33,87 (C8); 52,81 (C9); 43,39 (C10, C11).

IV (cm^{-1}): 1678($\nu_{c=o}$); 2648-2439 ($\nu_{R_3N-H,}$); 754 ($\delta_{C-H\ (Arom)}$).

III.1.2. Preparação do cloreto de 3-(dietilamino)propiofenona (2) Rota A

Procedendo-se de acordo com o método descrito no item II.3.4., partiu-se de 12,01 g (0,10 mol) de acetofenona, de 17,5 mL de etanol tratado e seco, de 10,9 g (0,10 mol) de cloreto de dietilamônio e de 5,10 g (0,17 mol) de paraformaldeído. O produto da reação foi recristalizado de etanol-acetona. Foram obtidos 10,29 g de um material sólido branco e cristalino.

η = 47%

p.f.$_{exp}$ = 110-111 ºC (não corrigido)

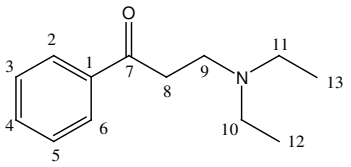
p.f.$_{lit}$ = 108-110 ºC (HUANG & HALL, 1996)

Análise elementar:

calc.	C(%)64,59	H(%)8,34	N(%)5,79
exp.	C(%)64,25	H(%)8,17	N(%)5,86

RMN ^{1}H (Clorofórmio $CDCl_3$; ref. TMS):

δ (ppm): 11,94 (s, 1H, (+N***H***)); 8,04-8,00 (m, 2H, (Ar-***H***)); 7,76-7,44 (m, 3H, (Ar-***H***)); 3,81 (t, 2H, (C***H***2N+), J=7,46); 3,52 (t, 2H, (C***H***2CO), J=6,58); 3,22 (q, 4H, (+N(C***H***2CH3)2), J=7,02); 1,44 (t, 6H, ((CH2C***H***3)2), J=7,02)



RMN ^{13}C(Clorofórmio $CDCl_3$; ref. TMS):

δ (ppm):135,67 (C1); 128,90 (C2, C6); 128,36 (C3, C5); 134,07 (C4); 196,18 (C7); 33,55 (C8); 47,26 (C9); 46,82 (C10, C11);8,42(C12,C13)

IV (cm^{-1}): 1686 ($\nu_{c=o}$); 2499-2749 ($\nu_{R3N-H,}$); 797 ($\delta_{fdp\ C-Harom}$).

III.1.3. Preparação do cloreto de 3-(1-pirrolidina)propiofenona (3) Rota A

Procedendo-se de acordo com o método descrito no item II.3.4., partiu-se de 12,01 g (0,10 mol) de acetofenona, de 20,0 mL de etanol tratado e seco, de 7,10 g (0,10 mol) de pirrolidina e de 5,10 g (0,17 mol) de paraformaldeído. O produto da reação foi recristalizado de etanol-acetona. Foram obtidos 8,9 g de um material sólido branco e cristalino.

η = 30%

$p.f._{exp}$ = 148-150 ºC (não corrigido)

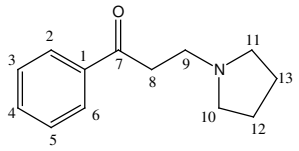
$p.f._{lit}$ = 165-167 ºC (HUANG & HALL, 1996)

Análise elementar:

calc.	C(%)65,13	H(%)7,57	N(%)5,84
exp.	C(%)65,19	H(%)7,72	N(%)5,92

RMN ^{1}H (Clorofórmio $CDCl_3$; ref. TMS):

δ (ppm):12,41 (s, 1H, (+N***H***)); 8,01-7,98 (m, 2H, (Ar-***H***)); 7,64-7,44 (m, 3H, (Ar-***H***)); 3,77 (t, 4H, (+N(C***H***2CH2)2), J=6,58); 3,58 (t, 2H, (C***H***2N+), J=5,26); 2,93 (m, 2H, (C***H***2CO)); 2,19-2,11 (m, 4H, (+N(CH2C***H***2)2).



RMN ^{13}C(Clorofórmio $CDCl_3$; ref. TMS):

δ (ppm): 135,67 (C1); 128,89 (C2, C6); 128,33 (C3, C5); 134,07 (C4); 196,20 (C7); 34,73 (C8); 53,93 (C9); 49,9 (C10,C11); 23,3(C12,C13).

IV (cm^{-1}): 1683 ($\nu_{c=o}$); 2481-2677 ($\nu_{R3N-H,}$); 752 ($\delta_{fdp\ C-Harom}$).

III.1.4. Preparação do cloreto de 3-(1-piperidina)propiofenona (4) Rota A

Procedendo-se de acordo com o método descrito no item II.3.4., partiu-se de 12,01 g (0,10 mol) de acetofenona, de 20,0 mL de etanol tratado e seco, de 8,50 g (0,10 mol) de piperidina e de 5,10 g (0,17 mol) de paraformaldeído. O produto da reação foi recristalizado de etanol-acetona. Foram obtidos 16,72 g de um material sólido branco e cristalino.

η = 70%

p.f.$_{exp}$ = 185-186 ºC (não corrigido)

p.f.$_{lit}$ = 193-195 ºC (HUANG & HALL, 1996)

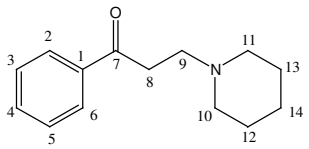
180-184 ºC (GUL *et al.*, 2000)

Análise elementar:

calc.	C(%)66,26	H(%)7,94	N(%)5,52
exp.	C(%)66,10	H(%)7,63	N(%)5,53

RMN ^{1}H (Clorofórmio $CDCl_3$; ref. TMS):

δ (ppm):12,24 (s, 1H, (+N***H***)); 8,03-7,98 (m, 2H, (Ar-***H***)); 7,65-7,44 (m, 3H, (Ar-***H***)); 3,84 (t, 2H, (C***H***2N+), J=7,46); 3,55 (m, 4H, (+N(C***H***2CH2)2); 2,07-2,68 (m, 2H, (C***H***2CO)); 2,38-2,18 (m, 2H, (CH2)2C***H***2)); 1,9-1,7 (m, 4H, ((CH2C***H***2)2)



RMN ^{13}C(Clorofórmio $CDCl_3$; ref. TMS):

δ (ppm): 135,53 (C1); 128,36 (C2, C6); 128,32 (C3, C5); 134,14 (C4); 195,82 (C7); 43,39 (C8); 53,83 (C9); 5281 (C10, C11); 33,87 (C12, C13); 22,64 (C14).

IV (cm^{-1}): 1682 ($\nu_{c=o}$); ($\nu_{R3N-H,}$); 760 ($\delta_{fdp\ C-Harom}$).

III.1.5. Preparação do cloreto de 3-(1-morfolino)propiofenona (5) Rota A

Procedendo-se de acordo com o método descrito no item II.3.4., partiu-se de 12,01 g (0,10 mol) de acetofenona, de 20,0 mL de etanol tratado e seco, de 8,71 g (0,10 mol) de morfolina e de 5,10 g (0,17 mol) de paraformaldeído. O produto da reação foi recristalizado de etanol-acetona. Foram obtidos 6,42 g de um material sólido branco e cristalino.

η = 25%

p.f.$_{exp}$ = 168-170 ºC (não corrigido)

p.f.$_{lit}$ = 182 ºC (HUANG & HALL, 1996)

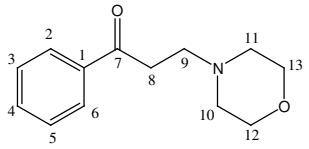
175-179 ºC (GUL *et al.*, 2000)

Análise elementar:

calc.	C(%)61,05	H(%)7,09	N(%)5,48
exp.	C(%)61,18	H(%)6,84	N(%)5,54

RMN ^{1}H (Clorofórmio $CDCl_3$; ref. TMS):

δ (ppm):13,19 (s, 1H, (+N***H***)); 8,04-8,00 (m, 2H, (Ar-***H***)); 7,67-7,46 (m, 3H, (Ar-***H***)); 4,3-3,9 (m, 4H, (+N(C***H***2-)2, J=7,46); 3,83 (t, 2H, (C***H***2N+), J=7,2); 3,53 (t, 2H, (C***H***2CO)); 3,5-3,0 (m, 4H, (CH2C***H***2)2O)



RMN ^{13}C(Clorofórmio $CDCl_3$; ref. TMS):

δ (ppm): 135,53 (C1); 128,36 (C2, C6); 128,32 (C3, C5); 134,14 (C4); 195,8 (C7); 43,39 (C8); 53,83 (C9); 52,8 (C10, C11); 33,8 (C12,C13).

IV (cm^{-1}): 1686 ($\nu_{c=o}$); 2465-2677 ($\nu_{R3N-H,}$); 757 ($\delta_{fdp\ C-Harom}$).

III.1.6. Preparação do cloreto de 3-[1-(4-metilpiperazina)]propiofenona (6) Rota A

Procedendo-se de acordo com o método descrito no item II.3.4., partiu-se de 12,01 g (0,10 mol) de acetofenona, de 20,0 mL de etanol tratado e seco, de 10,0 g (0,10 mol) de 4-metilpiperazina e de 5,10 g (0,17 mol) de paraformaldeído. O produto da reação foi recristalizado de etanol-acetona. Foram obtidos 15,39 g de um material sólido branco e cristalino.

η = 50%

p.f.$_{exp}$ = 158-160 ºC (não corrigido)

p.f.$_{lit}$ = 197 ºC (HUANG & HALL, 1996)

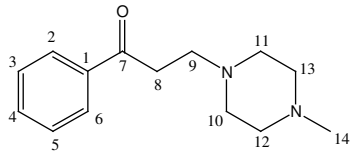
Análise elementar:

calc. C(%)55,03 H(%)7,34 N(%)9,00 (calculados considerando-se a presença de 0,3 moléculas de água)

exp. C(%)54,04 H(%)7,46 N(%)8,97

RMN ^{1}H (Clorofórmio $CDCl_3$; ref. TMS):

δ (ppm):7,98-7,95 (m, 2H, (Ar-***H***)); 7,56-7,40 (m, 3H, (Ar-***H***)); 3,9-3,5 (m, 12H, (COC***H***2 C***H***2N+(C***H***2C***H***2)2-)2; 2,9 (s, 3H, (NC***H***3))



RMN ^{13}C(Clorofórmio $CDCl_3$; ref. TMS):

δ (ppm): 137,22 (C1); 129,62 (C2, C6); 129,32 (C3, C5); 135,04 (C4); 197,69 (C7); 32,57 (C8); 53,26 (C9); 51,24 (C10, C11); 43,36 (C12, C13); 34,15 (C14).

IV (cm^{-1}): 1679 ($\nu_{c=o}$); 2405-2633 ($\nu_{R3N-H,}$); 754 ($\delta_{fdp\ C-Harom}$).

III.1.7. Preparação do cloreto de 3-(ciclo-hexilamino)propiofenona (7) Rota A

Procedendo-se de acordo com o método descrito no item II.3.4., partiu-se de 12,01 g (0,10 mol) de acetofenona, de 20,0 mL de etanol tratado e seco, de 6,9 g (0,07 mol) de ciclo-hexilamina e de 5,10 g (0,17 mol) de paraformaldeído. O produto da reação foi recristalizado de etanol-acetona. Foram obtidos 5,3 g de um material sólido branco e cristalino.

η = 30%

$p.f._{exp}$ = 179 ºC (não corrigido)

$p.f._{lit}$ = 177-179 ºC (HUANG & HALL, 1996)

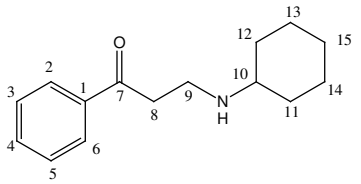
Análise elementar:

calc. C(%)67,28 H(%)8,28 N(%)5,23

exp. C(%)61,46 H(%)7,66 N(%)5,24

RMN ^{1}H (Clorofórmio $CDCl_3$; ref. TMS):

δ (ppm): 9,51 (s, 2H, (+N***H***2)); 7,96-7,91 (m, 2H, (Ar-***H***)); 7,55-7,36 (m, 3H, (Ar-***H***)); 3,81 (t, 2H, (C***H***2N+), J=7,02); 3,42 (m, 2H, (C***H***2CO)); 3,20 (m, 1H, (+N(C***H***(CH2)2)); 2,34-2,28 (m, 2H, (CHC***H***2CH2); 1,86-1,64 (m, 6H, (C***H***2C***H***2C***H***2)); 1,32-1,22 (m, 2H, (CH2C***H***2CH2).



RMN ^{13}C(Clorofórmio $CDCl_3$; ref. TMS):

δ (ppm): 136,01 (C1); 128,73 (C2, C6); 128,14 (C3, C5); 133,73 (C4); 196,90 (C7); 35,10 (C8); 58,02 (C9); 40,16 (C10); 29,38 (C12, C11); 24,85 (C13, C14); 24,49 (C15).

IV (cm^{-1}): 1681 ($\nu_{c=o}$); 2616-2932 ($\nu_{R3N-H,}$); 747 ($\delta_{fdp\ C-Harom}$).

III.1.8. Preparação do cloreto de *N*-[(*N,N*-dimetilamino)etil]benzamida (8) Rota B.

Procedendo-se de acordo com o método descrito no item II.3.5., partiu-se de 8,81 g (0,10 mol) de *N,N*-dimetiletilenodiamina, de 14,06 g (0,10 mol) de cloreto de benzoíla em 125 mL de éter etílico (tratado e seco). Foram obtidos 17,45 g de um sólido amorfo branco, que foi lavado com éter etílico.

η = 80%

p.f.$_{exp.}$ = 123-125 ^{o}C (não corrigido)

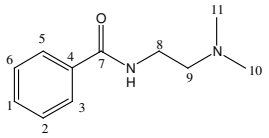
p.f.$_{lit}$ = 149 ^{o}C (TESTA, 1983)

Análise elementar:

calc.	C(%)57,76	H(%)7,49	N(%)12,25
exp.	C(%)57,33	H(%)7,58	N(%)12,04

RMN ^{1}H (Clorofórmio $CDCl_3$; ref. TMS):

δ (ppm): 7,92-7,45(m, 5H, Ar-H); 3,78 (t, 2H, (NHC***H***$_2$), J=6,00); 3,41 (t, 2H, (C***H***$_2$N (CH_3)$_2$), J=5,70); 2,99(s, 6H, N(C***H***$_3$)$_2$).



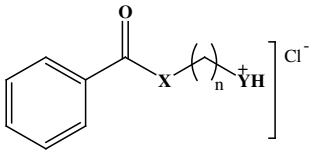
RMN ^{13}C(Clorofórmio $CDCl_3$; ref. TMS):

δ (ppm): 134,69(C1), 129,69(C2-6), 128,57(C3-5), 133,22(C4); 171,09(C7), 36,44(C8), 58,82(C9), 43,99(C10-11).

IV (cm^{-1}): 1642 ($\nu_{c=o}$); 2704 ($\nu_{R3N-H,}$); 716 ($\delta_{fdp\ C-Harom}$).

Estão apresentados nas *tabelas III.1-4.* as constantes físicas; os rendimentos e as massas dos produtos obtidos nas preparações bem como os resultados das análises elementares, dos valores dos deslocamentos químicos observados nos espectros de RMN-^{1}H, de RMN-^{13}C e das freqüências de absorção características na região do infravermelho para a série de análogos da procaína.

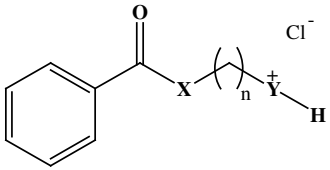
Tabela III.1. **Valores das constantes físicas, dos rendimentos e das análises elementar calculada e obtida experimentalmente dos produtos obtidos nas preparações dos compostos 1 – 8.**



Nº	X	n	Y	Fórmula Molecular	P.M. ($g.mol^{-1}$)	P.F. (ºC)	P.F.$_{lit.}$ (ºC)	Rend (%)	%C		%H		%N	
									calc	exp	calc	exp	calc	exp
1	$-CH_2-$	1	$-N(CH_3)_2$	$C_{11}H_{16}NOCl$	213.7	137-139	155-156 [b]	42	61,82	61,46	7,55	7,11	6,55	6,50
2	$-CH_2-$	1	$-N(C_2H_5)_2$	$C_{13}H_{20}NOCl$	241.8	110-111	108-110 [b]	47	64,59	64,25	8,34	8,17	5,79	5,86
3	$-CH_2-$	1	-Pirrolidina	$C_{13}H_{18}NOCl$	239,7	148-150	165-167 [b]	30	65,13	65,19	7,57	7,72	5,84	5,92
4	$-CH_2-$	1	-Piperidina	$C_{14}H_{20}NOCl$	253.8	185-186	193-195 [b]	70	66,26	66,10	7,94	7,63	5,52	5,53
5	$-CH_2-$	1	-Morfolina	$C_{13}H_{18}NO_2Cl$	255.8	168-170	182 [b]	25	61,05	61,18	7,09	6,84	5,48	5,54
6	$-CH_2-$	1	-Piperazina	$C_{14}H_{21}N_2OCl_2$	268.8	158-160	197 [b]	55	54,03 [a]	54,04	7,34 [b]	7,46	9,00 [b]	8,97
7	$-CH_2-$	1	-c-hexilamina	$C_{15}H_{24}NOCl$	267,8	179	177-179 [b]	30	67,28	67,29	8,28	7,66	5,23	5,24
8	-NH-	2	$-N(CH_3)_2$	$C_{11}H_{17}N_2OCl$	228,7	123-125	149 [c]	80	57,76	57,33	7,49	7,58	12,25	12,04

(a) Valores calculados considerando-se a presença de 0,3 moléculas de água para cada molécula do composto
(b) (HUANG & HALL, 1996)
(c) (TESTA, 1983)

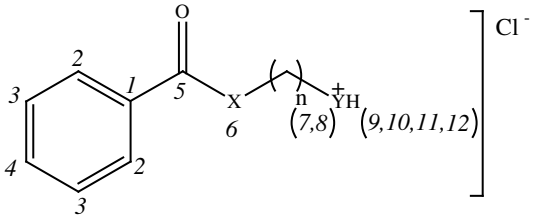
Tabela III.2. **Valores dos deslocamentos químicos (δ) em ppm, relativos ao TMS, das multiplicidades e das constantes de acoplamento (J) em Hz, observados nos espectros de RMN ^{1}H [(a)], para a série de derivados da procaína (compostos 1 – 8) utilizando-se o CDCl – d_1 como solvente.**



Nº	X	n	Y	δ (ppm), multiplicidade e J (Hz)
1	$-CH_2-$	1	$-N(CH_3)_2$	10,83 (s, 1H, ($^{+}$N***H***)); 8,04-8,01 (m, 2H, (Ar-***H***)); 7,72-7,55 (m, 3H, (Ar-***H***)); 3,65 (t, 2H, (C***H***2N+), J=7,50); 3,40 (t, 2H, (C***H***2CO), J=7,50); 2,80 (s, 6H, (+N(C***H***3)2))
2	$-CH_2-$	1	$-N(C_2H_5)_2$	11,94 (s, 1H, (+N***H***)); 8,04-8,00 (m, 2H, (Ar-***H***)); 7,76-7,44 (m, 3H, (Ar-***H***)); 3,81 (t, 2H, (C***H***2N+), J=7,46); 3,52 (t, 2H, (C***H***2CO), J=6,58); 3,22 (q, 4H, (+N(C***H***2CH3)2), J=7,02); 1,44 (t, 6H, ((CH2C***H***3)2), J=7,02)
3	$-CH_2-$	1	Pirrolidina	12,41 (s, 1H, (+N***H***)); 8,01-7,98 (m, 2H, (Ar-***H***)); 7,64-7,44 (m, 3H, (Ar-***H***)); 3,77 (t, 4H, (+N(C***H***2CH2)2), J=6,58); 3,58 (t, 2H, (C***H***2N+), J=5,26); 2,93 (m, 2H, (C***H***2CO)); 2,19-2,11 (m, 4H, (+N(CH2C***H***2)2)
4	$-CH_2-$	1	-Piperidina	12,24 (s, 1H, (+N***H***)); 8,03-7,98 (m, 2H, (Ar-***H***)); 7,65-7,44 (m, 3H, (Ar-***H***)); 3,84 (t, 2H, (C***H***2N+), J=7,46); 3,55 (m, 4H, (+N(C***H***2CH2)2); 2,07-2,68 (m, 2H, (C***H***2CO)); 2,38-2,18 (m, 2H, (CH2)2C***H***2)); 1,9-1,7 (m, 4H, ((CH2C***H***2)2)
5	$-CH_2-$	1	-Morfolina	13,19 (s, 1H, (+N***H***)); 8,04-8,00 (m, 2H, (Ar-***H***)); 7,67-7,46 (m, 3H, (Ar-***H***)); 4,3-3,9 (m, 4H, (+N(C***H***2-)2, J=7,46); 3,83 (t, 2H, (C***H***2N+), J=7,2); 3,53 (t, 2H, (C***H***2CO)); 3,5-3,0 (m, 4H, (CH2C***H***2)2O)
6	$-CH_2-$	1	-Piperazina	7,98-7,95 (m, 2H, (Ar-***H***)); 7,56-7,40 (m, 3H, (Ar-***H***)); 3,9-3,5 (m, 12H, (COC***H***2 C***H***2N+(C***H***2C***H***2)2-)2; 2,9 (s, 3H, (NC***H***3))
7	$-CH_2-$	1	-c-hexilamina	9,51 (s, 2H, (+N***H***2)); 7,96-7,91 (m, 2H, (Ar-***H***)); 7,55-7,36 (m, 3H, (Ar-***H***)); 3,81 (t, 2H, (C***H***2N+), J=7,02); 3,42 (m, 2H, (C***H***2CO)); 3,203 (m, 1H, (+N(C***H***(CH2)2)); 2,34-2,28 (m, 2H, (CHC***H***2CH2); 1,86-1,64 (m, 6H, (C***H***2C***H***2C***H***2)); 1,32-1,22 (m, 2H, (CH2C***H***2CH2)
8	-NH-	2	$-N(CH_3)_2$	7,92-7,45(m, 5H, Ar-***H***); 3,78 (t, J=6,00Hz, 2H, NHC***H***$_2$); 3,41 (t, J=5,70Hz, 2H, C***H***$_2$N $(CH_3)_2$); 2,99(s, 6H, N(C***H***$_3$)$_2$)

(a) Os espectros foram registrados em um espectrômetro marca Bruker, modelo AC-200, ambos operando em transformada de Fourier., em que a precisão nas medidas foi considerada como sendo igual ao erro sistemático de 0,001%.

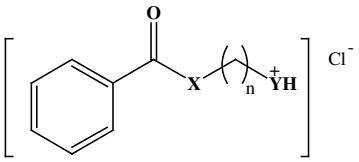
Tabela III.3. **Valores dos deslocamentos químicos (δ) em *ppm* retirados dos espectros de RMN ^{13}C [(a)], relativos ao TMS, para a série de derivados da procaína (compostos 1 – 8), na concentração de aproximadamente 0,1M, utilizando-se o CDCl – d_1 como solvente.**



Nº	X	n	Y	*C1*	*C2*	*C3*	*C4*	*C5*	*C6*	*C7*	*C8*	*C9*	*C10*	*C11*	*C12*
1	$-CH_2-$	1	$-N(CH_3)_2$	135,58	128,91	128,32	134,14	195,82	33,87	52,81	-	43,39			
2	$-CH_2-$	1	$-N(C_2H_5)_2$	135,67	128,90	128,36	134,07	196,18	33,55	47,26	-	46,82	8,42		
3	$-CH_2-$	1	-Pirrolidina	135,67	128,89	128,33	134,07	196,20	34,73	53,93	-	49,98	23,38		
4	$-CH_2-$	1	-Piperidina	135,53	128,36	128,32	134,14	195,82	33,87	53,83	-	52,81	43,39	22,64	
5	$-CH_2-$	1	-Morfolina	135,69	128,92	128,39	134,08	196,28	33,66	52,59	-	52,81	43,39	22,64	
6	$-CH_2-$	1	-Piperazina	137,22	129,62	129,32	135,04	197,69	32,57	53,26	-	51,24	43,36	34,15	
7	$-CH_2-$	1	-c-hexilamina	136,01	128,73	128,14	133,73	196,90	35,10	58,02	-	40,16	29,38	24,85	24,49
8	-NH-	2	$-N(CH_3)_2$	134,69	129,69	128,57	133,22	171,09	-	36,44	58,82	43,99			

(a) Os espectros foram registrados em um espectrômetro marca Bruker, modelo AC-200, ambos operando em transformada de Fourier., em que a precisão nas medidas foi considerada como sendo igual ao erro sistemático de 0,001%.

Tabela III.4. **Valores observados das posições das bandas de absorção, em cm^{-1}, no espectro I.V., obtidos em pastilhas de KBr, para a série de derivados da procaína (compostos 1 – 10)**



N	X	n	Y	$\nu_{c=o}$ (a)	ν R–N⁺–H Cl⁻	δ_{fdp} (b) C-Harom
1	-CH2-	1	-N(CH3)2	1678	2648-2439	754
2	-CH2-	1	-N(C2H5)2	1686	2499-2749	797
3	-CH2-	1	-Pirrolidino	1683	2481-2677	752
4	-CH2-	1	-Piperidino	1682	2399-2681	760
5	-CH2-	1	-Morfolino	1686	2465-2677	757
6	-CH2-	1	-Piperazino	1679	2405-2633	754
7	-CH2-	1	-c-hexilamino	1681	2616-2932	747
8	- NH-	2	-N(CH3)2	1642	2704	716
9	- NH-	1	-N(CH3)2	1673	2394-2652	694
10	-O-	2	-N(CH3)2	1722	2471-2660	713

(a) ν - Deformação axial.
(b) δ - Deformação angular.

III.2. Obtenção de parâmetros lipofílicos

III.2.1. Preparação das soluções tampão para serem utilizadas nos procedimentos de *Shake-flask* e *HPLC*

Procedendo-se de acordo com as indicações de Perrin e Dempsey (1994), foram preparadas soluções tampão em valores de pH iguais a 3,0; 4,0; 5,0; 6,0; 7,0; 8,0; 9,0; 10,0 e 11,0. Todas as soluções tampão foram preparadas na concentração de 0,05 M da espécie tamponante e ajustadas para uma força iônica de μ = 0,10 M com a adição de NaCl. Cada uma das soluções tampão foi preparada de acordo com o procedimento geral descrito a seguir e cujos valores individuais encontram se na *tabela III.5.*

Dissolveram-se os componentes de cada uma das soluções tampão, em aproximadamente 0,9 L de água bidestilada, recém-fervida, de acordo com as quantidades especificadas na *tabela III.5.* O valor de pH desejado para cada solução tampão é ajustado com o auxílio de um pH-âmetro, adicionando-se HCl ou NaOH (1 N) conforme necessário. Por fim, completa-se o volume de cada uma das soluções tampão para um volume final de 1,0 L com água bidestilada e recém-fervida.

Tabela III.5. **Valores das quantidades de cada componente usadas na preparação das soluções tampão em valores de pH iguais a 3,0; 4,0; 5,0; 6,0; 7,0; 8,0; 9,0 e 10,0; sendo a concentração do tampão 0,05M e a força iônica μ=0,10M(NaCl), e um volume final de 1,0L.**

pH	**Espécie Tamponante**	**Conc. do Tampão** (M)	**Massa da espécie tamponante** (g)	**Massa de NaCl** (g)
2,0	Ác. Fosfórico	0,05	4,9	4,5
3,0	Ác. Fosfórico	0,05	4,9	3,2
4,0	Ác. Acético	0,05	3,0	5,3
5,0	Ác. Acético	0,05	3,0	3,8
6,0	Citrato de Sódio Dibásico	0,05	1,2	0,0
7,0	Fosfato de sódio monobásico	0,05	1,2	0,0
8,0	Trisma	0,05	6,1	3,4
9,0	Trisma	0,05	6,1	5,5
10,0	Ác. Bórico	0,05	3,1	3,3
11,0	Bifosfato de sódio	0,05	4,9	0,1

III.2.2. Pré-saturação das fases

Em um erlenmeyer de 500 mL, equipado com agitador e magnético banho termostatizado com temperatura controlada e ajustada para 23±1 ^{o}C, são adicionados volumes iguais de *n*-octanol (fase orgânica) e solução tampão (fase aquosa)**.** Este sistema é mantido sob agitação magnética por, pelo menos, 8 horas (*overnight*). Em seguida, as fases são separadas e centrifugadas com rotação de 15.000 rpm por 5 minutos em centrífuga termostatizada com temperatura controlada e ajustada para 23±1 ^{o}C. As fases são usadas imediatamente.

III.2.3. Determinação dos valores do coeficiente de partição por *Shake-flask* ($logP_{app}^{SF}$)

III.2.3.1. Determinação dos valores do coeficiente de partição $logP_{app}^{SF}$ do cloreto de 3-(dimetilamino)propiofenona (1)

Procedendo-se como descrito no item **II.4.1.1.** foram determinados os valores do coeficiente de partição, $logP_{app}^{SF}$, do cloreto de 3-(dimetilamino)propiofenona (1), nos valores de pH de 3,0; 4,0; 5,0; 6,0; 7,0; 8,0; 9,0; 10,0; μ = 0,10 M (NaCl). Os valores dos volumes de solução tampão (V_{aq}) e de *n*-octanol (V_{oct}) utilizados na partição, os valores das absorbâncias registradas na fase aquosa no início (A_i) e no final (A_f) da partição, o valor da relação P/R_v e o valor do coeficiente de partição ($logP_{app}^{SF}$) obtido em cada valor de pH estão indicados na *tabela III.6.*

Tabela III.6. **Valores do volume da fase aquosa (V_{aq}) e da fase orgânica (V_{oct}) utilizados na partição; das absorbâncias registradas no início (A_i) e final (A_f) da partição, da relação P/R_v e do coeficiente de partição ($logP_{app}^{SF}$) do cloreto de 3-(dimetilamino)propiofenona (1) obtidos na faixa de pH de 3-10[(a)], determinados pelo método *Shake-flask*, usando *n*-octanol/tampão, μ = 0,10 M (NaCl) e a 23±1 °C**

pH [(a)]	V_{aq}(mL)	V_{oct} (mL)	A_i	A_f	P/R_v	$logP_{app}^{SF}$
3,0	1,00	20,0	1,65	1,22	~0,5	-1,77 ± 0,02
4,0	2,00	15,0	0,63	0,55	~0,1	-1,60 ± 0,02
5,0	1,00	30,0	0,64	0,23	~2	-1,43 ± 0,01
6,0	2,00	20,0	1,64	0,95	~1	-1,14 ± 0,01
7,0	4,00	10,0	0,45	0,21	~1	-0,33 ± 0,01
8,0	4,00	10,0	0,60	0,06	~8	0,54 ± 0,03
9,0	3,00	1,00	1,60	0,25	~5	1,21 ± 0,01
10,0	5,00	1,00	0,75	0,57	~11	1,74 ± 0,01

[(a)]Soluções tampão: pH=3,0/Fosfato; pH=4,0/Acetato; pH=5,0/Acetato; pH=6,0/Citrato; pH=7,0/Fosfato; pH=8/Tris; pH=9/Tris; pH=10/Borato.

III.2.3.2. Determinação dos valores do coeficiente de partição $logP_{app}^{SF}$ do cloreto de 3-(dietilamino)propiofenona (2)

Procedendo-se como descrito no item **II.4.1.1.** foram determinados os valores do coeficiente de partição, $logP_{app}^{SF}$, do cloreto de 3-(dietilamino)propiofenona (2), nos valores de pH, respectivamente iguais a: 3,0; 4,0; 5,0; 6,0; 7,0; 8,0; 9,0; 10,0; μ = 0,10 M (NaCl). Os valores do volume de solução tampão (V_{aq}) e volume de *n*-octanol (V_{oct}) utilizados na partição, os valores das absorbâncias registradas na fase aquosa no início (A_i) e no final (A_f) da partição, o valor da relação P/R_v e o valor do coeficiente de partição ($logP_{app}^{SF}$) obtido em cada valor de pH estão indicados na *tabela III.7.*

Tabela III.7. **Valores do volume da fase aquosa (V_{aq}) e da fase orgânica (V_{oct}) utilizados na partição; das absorbâncias registradas no início (A_i) e final (A_f) da partição, da relação P/R_v e do coeficiente de partição ($logP_{app}^{SF}$) do cloreto de 3-(dietilamino)propiofenona (2) obtidos na faixa de pH de 3-11[(a)], determinados pelo método *Shake-flask*, usando *n*-octanol/tampão, μ = 0,10 M (NaCl) e a 23±1 °C**

pH [(a)]	V_{aq}(mL)	V_{oct} (mL)	A_i	A_f	P/R_v	$logP_{app}^{SF}$
3,0	2,00	30,00	1,60	0,97	~0,5	-1,36 ± 0,01
4,0	2,00	10,00	0,87	0,64	~0,5	-1,16 ± 0,02
5,0	2,00	10,00	0,84	0,56	~0,5	-0,99 ± 0,01
6,0	2,00	10,00	0,96	0,67	~0,5	-0,77 ± 0,01
7,0	2,00	10,00	1,07	0,18	~5	-0,02 ± 0,01
8,0	8,00	4,00	0,96	0,19	~4	0,89 ± 0,01
9,0	20,00	2,00	1,48	0,45	~2	1,39 ± 0,03
10,0	20,00	2,00	1,65	0,46	~2	1,57 ± 0,02
11,0	20,00	2,00	1,53	0,30	~4	1,64 ± 0,03

Soluções tampão: pH=3,0/Fosfato; pH=4,0/Acetato; pH=5,0/Acetato; pH=6,0/Citrato; pH=7,0/Fosfato; pH=8/Tris; pH=9/Tris; pH=10/Borato; pH=11/Fosfato.

III.2.3.3. Determinação dos valores do coeficiente de partição $logP_{app}^{SF}$ do cloreto de 3-(1-pirrolidina)propiofenona (3)

Procedendo-se como descrito no item **II.4.1.1.** foram determinados os valores do coeficiente de partição, $logP_{app}^{SF}$, do cloreto de 3-(1-pirrolidina)propiofenona (3), nos valores de

pH de 3,0; 4,0; 5,0; 6,0; 7,0; 8,0; 9,0; 10,0; μ = 0,10 M (NaCl). Os valores do volume de solução tampão (V_{aq}) e volume de *n*-octanol (V_{oct}) utilizados na partição, os valores das absorbâncias registradas na fase aquosa no início (A_i) e no final (A_f) da partição, o valor da relação P/R_v e o valor do coeficiente de partição ($logP_{app}^{SF}$) obtido em cada valor de pH estão indicados na *tabela III.8.*

Tabela III.8. **Valores do volume da fase aquosa (V_{aq}) e da fase orgânica (V_{oct}) utilizados na partição; das absorbâncias registradas no início (A_i) e final (A_f) da partição, da relação P/R_v e do coeficiente de partição ($logP_{app}^{SF}$) do cloreto de 3-(1-pirrolidina)propiofenona (3) obtidos na faixa de pH de 3-11[(a)], determinados pelo método *Shake-flask*, usando *n*-octanol/tampão, μ = *0,10 M* (NaCl) e a 23±1 °C**

pH [(a)]	V_{aq}(mL)	V_{oct} (mL)	A_i	A_f	P/R_v	$logP_{app}^{SF}$
3,0	2,00	25,0	0,78	0,54	~0,5	-1,31 ± 0,01
4,0	2,00	25,0	0,82	0,48	~1	-1,33 ± 0,06
5,0	2,00	25,0	0,81	0,45	~1	-1,17 ± 0,01
6,0	2,00	20,0	0,80	0,09	~7	-0,98 ± 0,02
7,0	2,00	5,00	0,97	0,38	~2	-0,23 ± 0,01
8,0	8,00	2,00	1,04	0,45	~2	0,71 ± 0,01
9,0	18,0	2,00	1,20	0,30	~3	1,43 ± 0,01
10,0	18,0	2,00	1,21	0,14	~8	1,89 ± 0,02
11,0	20,0	2,00	1,48	0,19	~7	1,93 ± 0,05

(a) Soluções tampão: pH=3,0/Fosfato; pH=4,0/Acetato; pH=5,0/Acetato; pH=6,0/Citrato; pH=7,0/Fosfato; pH=8/Tris; pH=9/Tris; pH=10/Borato; pH=11/Fosfato.

III.2.3.4. Determinação dos valores do coeficiente de partição $logP_{app}^{SF}$ do cloreto de 3-(1-piperidina)propiofenona (4)

Procedendo-se como descrito no item **II.4.1.1.** foram determinados os valores do coeficiente de partição, $logP_{app}^{SF}$, do cloreto de 3-(1-piperidina)propiofenona (4), nos valores de pH de 3,0; 4,0; 5,0; 6,0; 7,0; 8,0; 9,0; 10,0; μ = 0,10 M (NaCl). Os valores do volume de solução tampão (V_{aq}) e volume de *n*-octanol (V_{oct}) utilizados na partição, os valores das absorbâncias registradas na fase aquosa no início (A_i) e no final (A_f) da partição, o valor da relação P/R_v e o valor do coeficiente de partição ($logP_{app}^{SF}$) obtido em cada valor de pH estão indicados na *tabela III.9.*

Tabela III.9. **Valores do volume da fase aquosa (V_{aq}) e da fase orgânica (V_{oct}) utilizados na partição; das absorbâncias registradas no início (A_i) e final (A_f) da partição, da relação P/R_v e do coeficiente de partição ($logP_{app}^{SF}$) do cloreto de 3-(1-piperidina)propiofenona (4) obtidos na faixa de pH de 3-10[(a)], determinados pelo método *Shake-flask*, usando *n*-octanol/tampão, μ = *0,10 M* (NaCl) e a 23±1 °C**

pH [(a)]	V_{aq}(mL)	V_{oct} (mL)	A_i	A_f	P/R_v	$logP_{app}^{SF}$
3,0	1,00	20,00	0,92	0,28	~2	-0,89 ± 0,03
4,0	2,00	20,00	0,53	0,22	~1	-0,86 ± 0,01
5,0	1,00	5,00	0,37	0,20	~1	-0,77 ± 0,02
6,0	2,00	20,00	0,67	0,18	~3	-0,55 ± 0,02
7,0	3,00	3,00	0,56	0,14	~3	0,46 ± 0,02
8,0	5,00	1,00	0,51	0,12	~3	1,22 ± 0,02
9,0	25,00	1,00	0,52	0,14	~3	1,84 ± 0,01
10,0	20,00	1,00	0,54	0,03	~10	2,38 ± 0,08

(a) Soluções tampão: pH=3,0/Fosfato; pH=4,0/Acetato; pH=5,0/Acetato; pH=6,0/Citrato; pH=7,0/Fosfato; pH=8/Tris; pH=9/Tris; pH=10/Borato.

III.2.3.5. Determinação dos valores do coeficiente de partição $logP_{app}^{SF}$ do cloreto de 3-(1-morfolino)propiofenona (5)

Procedendo-se como descrito no item **II.4.1.1.** foram determinados os valores do coeficiente de partição, $logP_{app}^{SF}$, do cloreto de 3-(1-morfolino)propiofenona (**5**), nos valores de pH de 3,0; 4,0; 5,0; 6,0; 7,0; 8,0; 9,0; 10,0; μ = 0,10 M (NaCl). Os valores do volume de solução tampão (V_{aq}) e volume de *n*-octanol (V_{oct}) utilizados na partição, os valores das absorbâncias registradas na fase aquosa no início (A_i) e no final (A_f) da partição, o valor da relação P/R_v e o valor do coeficiente de partição ($logP_{app}^{SF}$) obtido em cada valor de pH estão indicados na *tabela III.10.*

Tabela III.10. **Valores do volume da fase aquosa (V_{aq}) e da fase orgânica (V_{oct}) utilizados na partição; das absorbâncias registradas no início (A_i) e final (A_f) da partição, da relação P/R_v e do coeficiente de partição ($logP_{app}^{SF}$) do cloreto de 3-(1-morfolino)propiofenona (5) obtidos na faixa de pH de 3-10[(a)], determinados pelo método *Shake-flask*, usando *n*-octanol/tampão, μ = *0,10 M* (NaCl) e a 23±1 °C**

pH [(a)]	V_{aq}(mL)	V_{oct} (mL)	A_i	A_f	P/R_v	$logP_{app}^{SF}$
2,0	1,00	40,00	1,18	0,19	~6	-1,72 ± 0,12
3,0	0,50	40,00	1,20	0,21	~5	-1,58 ± 0,02
4,0	0,50	40,00	1,30	0,27	~4	-1,17 ± 0,05
5,0	1,00	30,00	1,02	0,12	~7	-0,57 ± 0,06
6,0	2,00	5,00	1,23	0,12	~9	-0,38 ± 0,01
7,0	6,00	2,00	1,12	0,16	~5	1,05 ± 0,01
8,0	6,00	2,00	1,10	0,42	~2	1,21 ± 0,01
9,0	6,00	2,00	1,95	1,00	~1	1,24 ± 0,01
10,0	20,00	1,00	0,54	0,03	~9	1,25 ± 0,01

(a) Soluções tampão: pH=3,0/Fosfato; pH=4,0/Acetato; pH=5,0/Acetato; pH=6,0/Citrato; pH=7,0/Fosfato; pH=8/Tris; pH=9/Tris; pH=10/Borato.

III.2.3.6. Determinação dos valores do coeficiente de partição $logP_{app}^{SF}$ do cloreto de 3-[1-(4-metipiperazina)]propiofenona (6)

Procedendo-se como descrito no item **II.4.1.1.** foram determinados os valores do coeficiente de partição, $logP_{app}^{SF}$, do cloreto de 3-[1-(4-metipiperazina)]propiofenona (**6**), nos valores de pH de 3,0; 4,0; 5,0; 6,0; 7,0; 8,0; 9,0; 10,0; μ = 0,10 M (NaCl). Os valores do volume de solução tampão (V_{aq}) e volume de *n*-octanol (V_{oct}) utilizados na partição, os valores das absorbâncias registradas na fase aquosa no início (A_i) e no final (A_f) da partição, o valor da relação P/R_v e o valor do coeficiente de partição ($logP_{app}^{SF}$) obtido em cada valor de pH estão indicados na *tabela III.11.*

Tabela III.11. **Valores do volume da fase aquosa (V_{aq}) e da fase orgânica (V_{oct}) utilizados na partição; das absorbâncias registradas no início (A_i) e final (A_f) da partição, da relação P/R_v e do coeficiente de partição ($logP_{app}^{SF}$) do cloreto de 3-[1-(4-metipiperazina)]propiofenona (6) obtidos na faixa de pH de 3-10[(a)], determinados pelo método *Shake-flask*, usando *n*-octanol/tampão, μ = *0,10 M* (NaCl) e a 23±1 °C**

pH [(a)]	V_{aq}(mL)	V_{oct} (mL)	A_i	A_f	P/R_v	$logP_{app}^{SF}$
3,0	0,50	40,00	0,80	0,58	~0,5	-2,50 ± 0,06
4,0	0,50	40,00	0,81	0,21	~3	-1,52 ± 0,06
5,0	0,50	27,00	0,98	0,23	~3	-1,24 ± 0,02
6,0	0,50	20,00	1,04	0,29	~2	-0,56 ± 0,01
7,0	2,00	6,00	1,60	0,31	~4	0,12 ± 0,01
8,0	2,00	6,00	1,67	0,08	~15	0,82 ± 0,01
9,0	2,00	6,00	1,68	0,05	~15	1,07 ± 0,08
	2,00	6,00	1,66	0,03	~15	1,18 ± 0,01

(a) Soluções tampão: pH=3,0/Fosfato; pH=4,0/Acetato; pH=5,0/Acetato; pH=6,0/Citrato; pH=7,0/Fosfato; pH=8/Tris; pH=9/Tris; pH=10/Borato.

III.2.3.7. Determinação dos valores do coeficiente de partição $logP_{app}^{SF}$ do cloreto de 3-(ciclo-hexilamino)propiofenona (7)

Procedendo-se como descrito no item **II.4.1.1.** foram determinados os valores do coeficiente de partição, $logP_{app}^{SF}$, do cloreto de 3-(ciclo-hexilamino)propiofenona (7), nos valores de pH de 3,0; 4,0; 5,0; 6,0; 7,0; 8,0; 9,0; 10,0; μ = 0,10 M (NaCl). Os valores do volume de solução tampão (V_{aq}) e volume de *n*-octanol (V_{oct}) utilizados na partição, os valores das absorbâncias registradas na fase aquosa no início (A_i) e no final (A_f) da partição, o valor da relação P/R_v e o valor do coeficiente de partição ($logP_{app}^{SF}$) obtido em cada valor de pH estão indicados na *tabela III.12.*

Tabela III.12. **Valores do volume da fase aquosa (V_{aq}) e da fase orgânica (V_{oct}) utilizados na partição; das absorbâncias registradas no início (A_i) e final (A_f) da partição, da relação P/R_v e do coeficiente de partição ($logP_{app}^{SF}$) do cloreto de 3-(ciclo-hexilamino)propiofenona (7) obtidos na faixa de pH de 3-10[(a)], determinados pelo método *Shake-flask*, usando *n*-octanol/tampão, μ = *0,10 M* (NaCl) e a 23±1 °C**

pH [(a)]	V_{aq}(mL)	V_{oct} (mL)	A_i	A_f	P/R_v	$logP_{app}^{SF}$
3,0	2,00	8,00	0,99	0,26	~3	-0,04 ± 0,01
4,0	2,00	8,00	1,02	0,20	~4	0,02 ± 0,02
5,0	2,00	8,00	0,99	0,19	~4	0,05 ± 0,02
6,0	2,00	2,00	0,76	0,51	~1	0,15 ± 0,01
7,0	2,00	2,00	1,26	0,30	~3	0,50 ± 0,01
8,0	2,00	2,00	1,29	0,26	~4	1,30 ± 0,03
9,0	11,00	2,00	1,28	0,26	~4	1,98 ± 0,01
10,0	25,00	1,00	1,27	0,32	~3	2,44 ± 0,04

(a) Soluções tampão: pH=3,0/Fosfato; pH=4,0/Acetato; pH=5,0/Acetato; pH=6,0/Citrato; pH=7,0/Fosfato; pH=8/Tris; pH=9/Tris; pH=10/Borato.

III.2.3.8. Determinação dos valores do coeficiente de partição $logP_{app}^{SF}$ do cloreto de *N*-[(*N,N*-dimetilamino)etil]benzamida (8)

Procedendo-se como descrito no item **II.4.1.1.** foram determinados os valores do coeficiente de partição, $logP_{app}^{SF}$, do cloreto de *N*-[(*N,N*-dimetilamino)etil]benzamida (8), nos valores de pH de 3,0; 4,0; 5,0; 6,0; 7,0; 8,0; 9,0; 10,0; μ = 0,10 M (NaCl). Os valores do volume

de solução tampão (V_{aq}) e volume de *n*-octanol (V_{oct}) utilizados na partição, os valores das absorbâncias registradas na fase aquosa no início (A_i) e no final (A_f) da partição, o valor da relação P/R_v e o valor do coeficiente de partição ($logP_{app}^{SF}$) obtido em cada valor de pH estão indicados na *tabela III.13.*

Tabela III.13. **Valores do volume da fase aquosa (V_{aq}) e da fase orgânica (V_{oct}) utilizados na partição; das absorbâncias registradas no início (A_i) e final (A_f) da partição, da relação P/R_v e do coeficiente de partição ($logP_{app}^{SF}$) do cloreto de *N*-[(*N,N*-dimetilamino)etil]benzamida (8) obtidos na faixa de pH de 3-10[(a)], determinados pelo método *Shake-flask*, usando *n*-octanol/tampão, μ = *0,10 M* (NaCl) e a 23±1 °C**

pH [(a)]	V_{aq}(mL)	V_{oct} (mL)	A_i	A_f	P/R_v	$logP_{app}^{SF}$
3,0	0,50	30,00	0,60	0,36	~1	-1,72 ± 0,01
4,0	0,50	40,00	0,52	0,29	~1	-1,84 ± 0,15
5,0	0,50	25,00	0,94	0,46	~1	-1,72 ± 0,05
6,0	1,00	15,00	0,80	0,32	~1	-1,43 ± 0,01
7,0	2,00	6,00	0,56	0,27	~2	-0,53 ± 0,01
8,0	3,00	2,00	0,62	0,08	~6	0,30 ± 0,01
9,0	3,00	2,00	0,73	0,27	~2	0,78 ± 0,02
10,0	8,00	2,00	0,62	0,14	~3	1,07 ± 0,01

(a) Soluções tampão: pH=3,0/Fosfato; pH=4,0/Acetato; pH=5,0/Acetato; pH=6,0/Citrato; pH=7,0/Fosfato; pH=8/Tris; pH=9/Tris; pH=10/Borato.

III.2.3.9. Determinação dos valores do coeficiente de partição $logP_{app}^{SF}$ do cloreto de *N*-[(*N,N*-dimetilamino)metil]benzamida (9)

Procedendo-se como descrito no item **II.4.1.1.** foram determinados os valores do coeficiente de partição, $logP_{app}^{SF}$, do cloreto de *N*-[(*N,N*-dimetilamino)metil]benzamida (9), nos valores de pH de 3,0; 4,0; 5,0; 6,0; 7,0; 8,0; 9,0; 10,0; μ = 0,10 M (NaCl). Os valores do volume de solução tampão (V_{aq}) e volume de *n*-octanol (V_{oct}) utilizados na partição, os valores das absorbâncias registradas na fase aquosa no início (A_i) e no final (A_f) da partição, o valor da relação P/R_v e o valor do coeficiente de partição ($logP_{app}^{SF}$) obtido em cada valor de pH estão indicados na *tabela III.14.*

Tabela III.14. **Valores do volume da fase aquosa (V_{aq}) e da fase orgânica (V_{oct}) utilizados na partição; das absorbâncias registradas no início (A_i) e final (A_f) da partição, da relação P/R_v e do coeficiente de partição ($logP_{app}^{SF}$) do cloreto de *N*-[(*N,N*-dimetilamino)metil]benzamida (9) obtidos na faixa de pH de 3-10[(a)], determinados pelo método *Shake-flask*, usando *n*-octanol/tampão, μ = *0,10 M* (NaCl) e a 23±1 °C**

pH [(a)]	V_{aq}(mL)	V_{oct} (mL)	A_i	A_f	P/R_v	$logP_{app}^{SF}$
3,0	0,50	20,00	0,77	0,49	~0,5	-1,67 ± 0,04
4,0	0,50	20,00	0,49	0,25	~1	-1,62 ± 0,07
5,0	1,00	10,00	1,06	0,67	~0,5	-1,26 ± 0,02
6,0	2,00	15,00	0,92	0,26	~2	-0,56 ± 0,08
7,0	3,00	4,00	0,65	0,22	~2	0,22 ± 0,04
8,0	3,00	2,00	0,65	0,14	~4	0,72 ± 0,04
9,0	5,00	2,00	0,66	0,25	~2	0,71 ± 0,05
10,0	4,00	2,00	0,69	0,16	~3	0,80 ± 0,01

(a) Soluções tampão: pH=3,0/Fosfato; pH=4,0/Acetato; pH=5,0/Acetato; pH=6,0/Citrato; pH=7,0/Fosfato; pH=8/Tris; pH=9/Tris; pH=10/Borato.

III.2.3.10. Determinação dos valores do coeficiente de partição $logP_{app}^{SF}$ do cloreto de *N*-[(*N,N*-dimetilamino)etil]benzoato (10)

Procedendo-se como descrito no item **II.4.1.1.** foram determinados os valores do coeficiente de partição, $logP_{app}^{SF}$, do cloreto de *N*-[(*N,N*-dimetilamino)etil]benzoato (**10**), nos valores de pH de 3,0; 4,0; 5,0; 6,0; 7,0; 8,0; 9,0; 10,0; μ = 0,10 M (NaCl). Os valores do volume de solução tampão (V_{aq}) e volume de *n*-octanol (V_{oct}) utilizados na partição, os valores das absorbâncias registradas na fase aquosa no início (A_i) e no final (A_f) da partição, o valor da relação P/R_v e o valor do coeficiente de partição ($logP_{app}^{SF}$) obtido em cada valor de pH estão indicados na *tabela III.15.*

Tabela III.15. **Valores do volume da fase aquosa (V_{aq}) e da fase orgânica (V_{oct}) utilizados na partição; das absorbâncias registradas no início (A_i) e final (A_f) da partição, da relação P/R_v e do coeficiente de partição ($logP_{app}^{SF}$) do cloreto de *N*-[(*N,N*-dimetilamino)etil]benzoato (10) obtidos na faixa de pH de 3-10[(a)], determinados pelo método *Shake-flask*, usando *n*-octanol/tampão, μ = 0,10 M (NaCl) e a 23±1 °C**

pH [(a)]	V_{aq}(mL)	V_{oct} (mL)	A_i	A_f	P/R_v	$logP_{app}^{SF}$
3,0	0,80	25,00	0,75	0,35	~1	-1,43 ± 0,04
4,0	1,00	20,00	0,45	0,28	~0,5	-1,44 ± 0,08
5,0	0,50	10,00	0,61	0,24	~2	-1,12 ± 0,01
6,0	2,00	2,00	0,65	0,17	~3	-0,35 ± 0,11
7,0	3,00	1,00	0,48	0,16	~2	0,54 ± 0,03
8,0	10,00	1,00	0,48	0,14	~2	1,36 ± 0,02
9,0	20,00	1,00	0,56	0,19	~2	1,69 ± 0,02
10,0	20,00	1,00	0,46	0,11	~3	1,74 ± 0,10

[(a)] Soluções tampão: pH=3,0/Fosfato; pH=4,0/Acetato; pH=5,0/Acetato; pH=6,0/Citrato; pH=7,0/Fosfato; pH=8/Tris; pH=9/Tris; pH=10/Borato.

III.2.4. Caracterização, calibração e validação do sistema cromatográfico *HPLC*

Procedendo-se como descrito no item **II.4.1.3.** foram determinados os valores do tempo de retenção das substâncias padrão em valores de pH 3,0; 7,4 e 10,0 (Soluções Tampão: Fosfato; Tris-HCl e Borato, respectivamente, com μ = 0,10 M (NaCl)). A *tabela III.16.* apresenta um exemplo típico para a construção de uma curva de calibração do sistema cromatográfico, através da obtenção dos valores de t_R log***k***'e $logP^{lit}$. As curvas de calibração do sistema cromatográfico foram obtidas de modo sistemático (no mínimo uma vez ao dia) e, intercaladas às determinações dos valores de $logP_{app}^{HPLC}$, para a série de derivados da procaína (compostos 1 –10)

Tabela III.16. **Exemplo típico de valores respectivamente, do tempo de retenção t_R[(a)] do log***k***' e do *logP* extraído da literatura[(b)] das substâncias padrão utilizadas para caracterizar, calibrar e validar o sistema cromatográfico**

SubstânciasPadrão	t_R[(a)] (min)	log ***k***'	*logP*[(b)]
Tiouréia	0,82	0,00	-
Benzamida	2,02	0,17	0,64
Acetanilida	4,89	0,70	1,00
Acetofenona	13,5	1,19	1,73
Nitrobenzeno	21,2	1,40	1,85
4-Clorofenol	90,8	2,04	2,40

[(a)] Determinados em pH 7,40 (Tampão Tris-HCl, μ = 0,10 M (NaCl)) usando uma coluna C-18 encapada com *n*-octanol e a 23,0 ± 1,0 ºC
[(b)] KLEIN *et al.*, 1988

A partir dos valores do log k' determinados experimentalmente e dos valores do *logP* extraídos da literatura de cada uma das substâncias padrão o sistema cromatográfico foi calibrado. O gráfico da correlação entre os valores de log k' e os valores de *logP* da literatura bem como a correspondente equação de calibração estão indicados na *Figura III.1.*

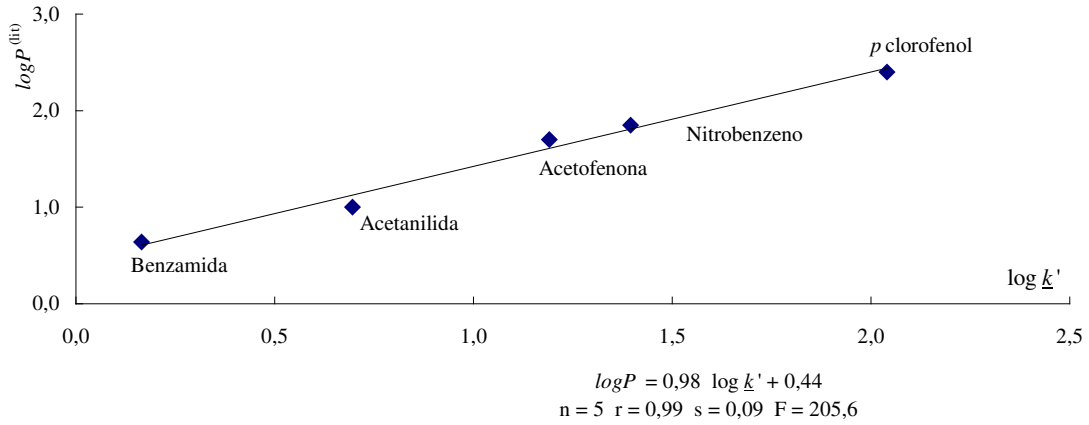
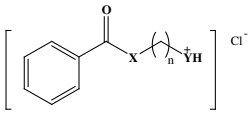


Figura III.1. **Exemplo típico de curva e equação de calibração entre os valores de log k' e os valores de *logP* da literatura, onde k'=(t_R-t_0)/t_0 ; t_R são os valores do tempo de retenção obtidos por *HPLC*, para as substâncias padrão utilizadas para caracterizar, calibrar e validar o sistema cromatográfico sendo a fase móvel uma solução tampão tris-HCl, pH 7,40 μ = 0,10 M (NaCl) e a fase estacionária uma coluna C-18 saturada com *n*-octanol e a 23±1 °C.**

III.2.5. Determinação dos valores do coeficiente de partição por *HPLC* ($logP_{app}^{HPLC}$)

Procedendo-se como descrito no item **II.4.1.3.** foram determinados os valores do tempo de retenção dos compostos derivados da procaína (compostos **1**-**10**) nos valores de pH 3,00 (ácido fosfórico-NaOH), 7,40 (Trisma-HCl) e 10,00 (ácido bórico-NaOH); força-iônica μ=0,10M (NaCl) e à temperatura de 23±1°C. A partir dos valores do tempo de retenção extrapolado para a concentração zero ($t_{R\rightarrow 0}$) foram determinados os valores do log k' de cada um dos compostos. Finalmente substituindo-se os valores de k' na correspondente equação de calibração, obteve-se os valores de $logP_{app}^{HPLC}$ correspondentes. Os valores do tempo de retenção, os valores de log k' e os valores de $logP_{app}^{HPLC}$ dos compostos **1**-**10**, determinados nos valores de pH 3,00; 7,40 e 10,00 estão indicados nas *tabelas III.17-19.* respectivamente.

Tabela III.17. **Valores respectivamente do tempo de retenção extrapolados para a concentração zero ($t_{R\rightarrow 0}$) do log $\underline{k}$'[(a)] e do $logP_{app}^{HPLC}$[(b)] dos compostos derivados da procaína (compostos 1-10) determinados por *HPLC*, sendo a fase móvel uma solução tampão fosfato (ácido fosfórico-NaOH, pH 3,00);μ = 0,10 M (NaCl) e a fase estacionária uma coluna C-18 saturada com *n*-octanol, e à temperatura de 23±1 °C**

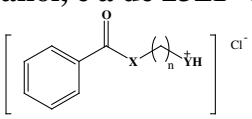


Composto				$t_{R\rightarrow 0}$ (min)	log $\underline{k}$'[(a)]	$logP_{app}^{HPLC}$
Nº	X	n	Y			
1	-CH2-	1	-N(CH3)2	1,49	-0,10	0,27 ± 0,01[(b)]
2	-CH2-	1	-N(C2H5)2	2,73	0,36	0,73 ± 0,01[(b)]
3	-CH2-	1	-Pirrolidino	2,41	0,28	0,65 ± 0,01[(b)]
4	-CH2-	1	-Piperidino	3,01	0,42	0,79 ± 0,01[(b)]
5	-CH2-	1	-Morfolino	1,19	-0,36	0,02 ± 0,01[(b)]
6	-CH2-	1	-Piperazino	1,08	-0,51	-0,13 ± 0,01[(b)]
7	-CH2-	1	-ciclo-hexilamino	11,79	1,12	1,49 ± 0,01[(b)]
8	- NH-	2	-N(CH3)2	1,18	-0,37	0,01 ± 0,01[(b)]
9	- NH-	1	-N(CH3)2	1,22	-0,32	0,06 ± 0,01[(b)]
10	-O-	2	-N(CH3)2	1,95	0,13	0,50 ± 0,01[(b)]

(a) $\underline{k}=(t_R-t_0)/t_0$ onde t_0 é o tempo de retenção da tiouréia e t_R é o tempo de retenção do composto

(b) Valores obtidos a partir da curva de calibração: $logP_{app}^{HPLC} = 1{,}007 \log \underline{k}' + 0{,}382$ ($r^2 = 0{,}97$)

Tabela III.18. **Valores respectivamente do tempo de retenção t_R do log $\underline{k}$'[(a)] e do $logP_{app}^{HPLC}$[(b)] dos compostos derivados da procaína (compostos 1-10) determinados por *HPLC* sendo a fase móvel uma solução tampão tris-HCl, pH 7,40 μ = 0,10 M (NaCl) e a fase estacionária uma coluna C-18 saturada com *n*-octanol, e à de 23±1 °C**



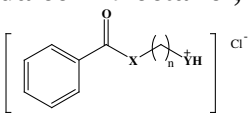
Composto				$t_{R(min)}$	log $\underline{k}$'[(a)]	$logP_{app}^{HPLC}$
Nº	X	n	Y			
1	-CH2-	1	-N(CH3)2	5,19	0,72	1,09 ± 0,01[(b)]
2	-CH2-	1	-N(C2H5)2	11,29	1,10	1,47 ± 0,01[(b)]
3	-CH2-	1	-Pirrolidino	6,99	0,87	1,24 ± 0,01[(b)]
4	-CH2-	1	-Piperidino	6,71	0,85	1,72 ± 0,01[(c)]
5	-CH2-	1	-Morfolino	5,39	0,74	1,11 ± 0,01[(c)]
6	-CH2-	1	-Piperazino	6,32	0,82	1,19 ± 0,01[(c)]
7	-CH2-	1	-ciclo-hexilamino	21,23	1,39	1,76 ± 0,01[(c)]
8	- NH-	2	-N(CH3)2	1,41	-0,15	0,22 ± 0,01[(c)]
9	- NH-	1	-N(CH3)2	1,95	0,13	0,50 ± 0,01[(c)]
10	-O-	2	-N(CH3)2	8,58	0,97	1,34 ± 0,01[(c)]

(a) $\underline{k}=(t_R-t_0)/t_0$ onde t_0 é o tempo de retenção da tiouréia e t_R é o tempo de retenção do composto

(b) Valores obtidos a partir da curva de calibração: $logP_{app}^{HPLC} = 1{,}051 \log \underline{k}' + 0{,}348$ ($r^2 = 0{,}978$)

(c) Valores obtidos a partir da curva de calibração: $logP_{app}^{HPLC} = 1{,}021 \log \underline{k}' + 0{,}433$ ($r^2 = 0{,}975$)

Tabela III.19. **Valores respectivamente do tempo de retenção t_R do log $\underline{k}'^{(a)}$ e do $logP_{app}^{HPLC}$ [(b)] dos compostos derivados da procaína (compostos 1-11) determinados por *HPLC* sendo a fase móvel uma solução tampão Ácido bórico-NaOH, pH 10,00 μ = 0,10 M (NaCl) e a fase estacionária uma coluna C-18 saturada com *n*-octanol, e à temperatura de 23±1 °C.**



Composto				$t_{R(min)}$	log $\underline{k}'^{(a)}$	$logP_{app}^{HPLC(b)}$
Nº	X	n	Y			
1	-CH2-	1	-N(CH3)2	12,84	1,16	1,53 ± 0,01[(b)]
2	-CH2-	1	-N(C2H5)2	37,96	1,65	2,02 ± 0,01[(b)]
3	-CH2-	1	-Pirrolidino	132,58	2,20	2,56 ± 0,01[(d)]
4	-CH2-	1	-Piperidino	138,79	2,22	2,58 ± 0,01[(c)]
5	-CH2-	1	-Morfolino	6,19	0,81	1,18 ± 0,01[(b)]
6	-CH2-	1	-Piperazino	12,30	1,14	1,51 ± 0,01[(c)]
7	-CH2-	1	-ciclo-hexilamino	155,08	2,25	2,75 ± 0,01[(d)]
8	- NH-	2	-N(CH3)2	8,24	0,95	1,32 ± 0,01[(c)]
9	- NH-	1	-N(CH3)2	3,40	0,49	0,86 ± 0,01[(c)]
10	-O-	2	-N(CH3)2	15,61	1,25	1,62 ± 0,01[(c)]

[(a)] $\underline{k}=(t_R-t_0)/t_0$ onde t_0 é o tempo de retenção da tiouréia e t_R é o tempo de retenção do composto
[(b)] Valores obtidos a partir da curva de calibração: $logP_{app}^{HPLC} = 1{,}097 \log \underline{k}' + 0{,}370$ ($r^2 = 0{,}945$)
[(c)] Valores obtidos a partir da curva de calibração: $logP_{app}^{HPLC} = 1{,}077 \log \underline{k}' + 0{,}328$ ($r^2 = 0{,}958$)
[(d)] Valores obtidos a partir da curva de calibração: $logP_{app}^{HPLC} = 1{,}081 \log \underline{k}' + 0{,}376$ ($r^2 = 0{,}963$)

III.2.6. Determinação dos valores de $logP_i$, de $logP_n$ e de pK_a por potenciometria

III.2.6.1. Determinação dos valores de $logP_i$, de $logP_n$ e de pK_a do cloreto de 3-(dimetilamino)propiofenona (1) por potenciometria

Procedendo-se como descrito no item **II.4.1.4.** foram determinados pelo método potenciométrico, o valor do coeficiente de partição da espécie ionizada ($logP_i$), o valor do coeficiente de partição da espécie não-ionizada ($logP_n$) e o valor da constante de ionização pK_a, do cloreto de 3-(dimetilamino)propiofenona (1).

Os volumes de titulante (NaOH; 1,00 N; Solução-Titrisol Merck) adicionados nas titulações em meio aquoso e em meio aquoso na presença de *n*-octanol, em diferentes proporções de volumes e os correspondentes valores de pH lidos para cada tubo de titulação estão indicados na *tabela III.20.*

Os valores de $logP_i$, de $logP_n$ e de pK_a do cloreto de 3-(dimetilamino)propiofenona (1) obtidos através do ajuste dos coeficientes da *equação 50* aos valores de pH determinados experimentalmente em cada titulação estão indicados na *tabela III.21.*

Tabela III.20. **Valores do volume de titulante[(a)] adicionado e dos correspondentes valores de pH registrados em cada uma das titulações[(b)] do cloreto de 3-(dimetilamino)propiofenona (1) em meio aquoso[(c)] e em meio aquoso[(c)] na presença de *n*-octanol, em diferentes proporções de volumes**

Volume de titulante (μL)[(a)]	Valor de pH registrado[(b)]				
	Solução aquosa[(c)]	Sol.aquosa[(c)]/ *n*-octanol 9:1	Sol.aquosa[(c)]/ *n*-octanol 9:2	Sol.aquosa[(c)]/ *n*-octanol 9:4	Sol.aquosa[(c)]/ *n*-octanol 9:8
3,00	7,77	6,68	5,33	5,18	5,05
6,00	8,19	7,04	6,49	6,15	5,76
9,00	8,41	7,16	6,87	6,54	6,10
12,00	8,55	7,25	7,05	6,73	6,37
15,00	8,68	7,34	7,18	6,87	6,51
18,00	8,78	7,42	7,28	7,00	6,58
21,00	8,90	7,50	7,38	7,09	6,72
24,00	8,98	7,57	7,46	7,22	6,81
27,00	9,06	7,70	7,54	7,28	6,86
30,00	9,19	7,76	7,61	7,32	6,92
33,00	9,27	7,81	7,69	7,40	7,08
36,00	9,35	7,86	7,79	7,48	7,16
39,00	9,51	7,91	7,81	7,59	7,23
42,00	9,59	7,96	7,91	7,69	7,25
45,00	9,68	8,02	7,93	7,76	7,31
48,00	9,82	8,06	8,03	7,82	7,35
51,00	9,90	8,10	8,09	7,89	7,42
54,00	9,98	8,10	8,14	7,95	7,47
57,00	10,14	8,22	8,28	8,03	7,54
60,00	10,23	8,26	8,34	8,11	7,60
63,00	10,32	8,38	8,41	8,20	7,60
66,00	10,43	8,42	8,50	8,28	7,73
69,00	10,54	8,42	8,59	8,37	7,80
72,00	10,68	8,55	8,70	8,48	7,89
75,00	10,79	8,61	8,82	8,61	7,98
78,00	10,94	8,68	8,96	8,80	8,08
81,00	11,03	8,76	9,16	9,24	8,20
84,00	11,12	8,85	9,44	9,93	8,34
87,00	11,20	8,94	9,80	10,31	8,56
90,00	11,20	9,05	10,14	10,58	8,90

(a) NaOH; 1,00 N; Solução-Titrisol Merck

(b) Realizada sobre vigorosa agitação magnética, em um banho termostatizado com temperatura controlada e ajustada para 23,0 ± 1,0 ºC, e borbulhamento contínuo de N_2 (livre de CO_2)

(c) μ =0,10 M (NaCl)

Tabela III.21. **Valores[(a)] respectivamente de $logP_n$, de pK_a e de $logP_i$ do cloreto de 3-(dimetilamino)propiofenona (1) obtidos através do ajuste da *Equação 50* aos valores de pH determinados experimentalmente[(b)]**

pK_a	9,27 (0,02)
$logP_n$	2,07 (0,04)
$logP_i$	-1,32 (0,01)

(a) Números entre parentes correspondem ao desvio padrão da média dos valores obtidos em cada uma das titulações

(b) Titulação potenciométrica com NaOH; 1,00 N; sobre agitação magnética, a 23,0 ± 1,0 ºC, e borbulhamento de N2 (livre de CO_2)

III.2.6.2. Determinação dos valores de $logP_i$, de $logP_n$ e de pK_a do cloreto de 3-(dietilamino)propiofenona (2) por potenciometria

Procedendo-se como descrito no item **II.4.1.4.** foram determinados pelo método potenciométrico, o valor do coeficiente de partição da espécie ionizada ($logP_i$), o valor do coeficiente de partição da espécie não-ionizada ($logP_n$) e o valor da constante de ionização pK_a, do cloreto de 3-(dietilamino)propiofenona (2).

Os volumes de titulante (NaOH; 1,00 N; Solução-Titrisol Merck) adicionados nas titulações em meio aquoso e em meio aquoso na presença de *n*-octanol, em diferentes proporções de volumes; e os correspondentes valores de pH lidos para cada tubo de titulação estão indicados na *tabela III.22.*

Tabela III.22. **Valores do volume de titulante[a] adicionado e dos correspondentes valores de pH registrados em cada uma das titulações[b] do cloreto de 3-(dietilamino)propiofenona (2) em meio aquoso[c] e em meio aquoso[c] na presença de *n*-octanol, em diferentes proporções de volumes**

Volume de titulante (µL)[(a)]	Valor de pH registrado[(b)]				
	Solução aquosa[(c)]	Sol.aquosa[(c)]/ *n*-octanol 9:1	Sol.aquosa[(c)]/ *n*-octanol 9:2	Sol.aquosa[(c)]/ *n*-octanol 9:4	Sol.aquosa[(c)]/ *n*-octanol 9:8
3,00	6,56	5,70	5,40	6,18	5,35
6,00	8,54	6,71	6,56	6,74	6,17
9,00	8,85	6,97	7,04	6,96	6,98
12,00	9,17	7,13	7,17	7,07	6,87
15,00	9,35	7,25	7,26	7,17	7,06
18,00	9,53	7,35	7,34	7,20	7,13
21,00	9,71	7,45	7,43	7,28	7,15
24,00	9,88	7,53	7,51	7,35	7,11
27,00	10,03	7,62	7,59	7,40	7,18
30,00	10,14	7,71	7,67	7,50	7,23
33,00	10,23	7,80	7,75	7,55	7,30
36,00	10,27	7,89	7,82	7,59	7,35
39,00	10,36	7,98	7,89	7,67	7,43
42,00	10,44	8,06	7,97	7,77	7,50
45,00	10,52	8,13	8,30	7,85	7,56
48,00	10,62	8,18	8,32	7,92	7,61
51,00	10,72	8,24	8,40	8,01	7,69
54,00	10,81	8,30	8,51	8,12	7,81
57,00	10,90	8,38	8,58	8,29	7,92
60,00	10,98	8,45	8,71	8,55	8,12
63,00	11,06	8,54	8,96	8,85	8,23
66,00	11,14	8,69	9,23	9,37	8,53
69,00	11,14	8,80	9,86	10,11	9,15
72,00	11,25	8,92	10,36	10,49	10,12
75,00	11,32	9,06	10,59	10,70	10,44
78,00	11,32	9,27	10,76	10,87	10,71
81,00	11,42	9,69	10,91	10,98	10,88
84,00	11,42	10,11	11,01	11,08	11,00
87,00	11,51	10,42	11,10	11,16	11,09
90,00	11,51	10,64	11,18	11,16	11,09

(a) NaOH; 1,00 N; Solução-Titrisol Merck

(b) Realizada sobre vigorosa agitação magnética, em um banho termostatizado com temperatura controlada e ajustada para 23,0 ± 1,0 ºC, e borbulhamento contínuo de N_2 (livre de CO_2)

(c) µ =0,10 M (NaCl)

Os valores de $logP_i$, de $logP_n$ e de pK_a do cloreto de 3-(dietilamino)propiofenona (2) obtidos através do ajuste dos coeficientes da *equação 50* aos valores de pH determinados experimentalmente em cada titulação, estão indicados na tabela III.23.

Tabela III.23. **Valores[(a)] respectivamente de $logP_n$, de pK_a e de $logP_i$ do cloreto de 3-(dietilamino)propiofenona (2) obtidos através do ajuste da *Equação 50* aos valores de pH determinados experimentalmente[(b)]**

pK_a	9,78 (0,05)
$logP_n$	2,59 (0,14)
$logP_i$	-0,88 (0,13)

(a) Números entre parentes correspondem ao desvio padrão da média dos valores obtidos em cada uma das titulações

(b) Titulação potenciométrica com NaOH; 1,00 N; sobre agitação magnética, a 23,0 ± 1,0 ºC, e borbulhamento de N2 (livre de CO_2)

III.2.6.3. Determinação dos valores de $logP_i$, de $logP_n$ e de pK_a do cloreto de 3-(1-pirrolidina)propiofenona (3) por potenciometria

Procedendo-se como descrito no item **II.4.1.4.** foram determinados pelo método potenciométrico, o valor do coeficiente de partição da espécie ionizada ($logP_i$), o valor do coeficiente de partição da espécie não-ionizada ($logP_n$) e o valor da constante de ionização pK_a, do cloreto de 3-(1-pirrolidina)propiofenona (3).

Os volumes de titulante (NaOH; 1,00 N; Solução-Titrisol Merck) adicionados nas titulações em meio aquoso e em meio aquoso na presença de *n*-octanol, em diferentes proporções de volumes; e os correspondentes valores de pH lidos para cada tubo de titulação estão indicados na *tabela III.24.*

Os valores de $logP_i$, de $logP_n$ e de pK_a do cloreto de 3-(1-pirrolidina)propiofenona (3) obtidos através do ajuste dos coeficientes da *equação 50* aos valores de pH determinados experimentalmente em cada titulação, estão indicados na *tabela III.25.*

III.2.6.4. Determinação dos valores de $logP_i$, de $logP_n$ e de pK_a do cloreto de 3-(1-piperidina)propiofenona (4) por potenciometria

Procedendo-se como descrito no item **II.4.1.4.** foram determinados pelo método potenciométrico, o valor do coeficiente de partição da espécie ionizada ($logP_i$), o valor do coeficiente de partição da espécie não-ionizada ($logP_n$) e o valor da constante de ionização pK_a, do cloreto de 3-(1-piperidina)propiofenona (4).

Os volumes de titulante (NaOH; 1,00 N; Solução-Titrisol Merck) adicionados nas titulações em meio aquoso e em meio aquoso na presença de *n*-octanol, em diferentes proporções de volumes; e os correspondentes valores de pH lidos para cada tubo de titulação estão indicados na *tabela III.26.*

Tabela III.24. **Valores do volume de titulante[a] adicionado e dos correspondentes valores de pH registrados em cada uma das titulações[b] do cloreto de 3-(1-pirrolidina)propiofenona (3) em meio aquoso[c] e em meio aquoso[c] na presença de *n*-octanol, em diferentes proporções de volumes**

Volume de titulante (μL)[(a)]	Valor de pH registrado[(b)]				
	Solução aquosa[(c)]	Sol.aquosa[(c)]/ *n*-octanol 9:1	Sol.aquosa[(c)]/ *n*-octanol 9:2	Sol.aquosa[(c)]/ *n*-octanol 9:4	Sol.aquosa[(c)]/ *n*-octanol 9:8
3,00	6,56	6,86	5,43	5,20	5,11
6,00	8,54	7,18	6,52	6,12	5,84
9,00	8,85	7,32	6,92	6,50	6,25
12,00	9,17	7,37	7,11	6,81	6,41
15,00	9,35	7,46	7,23	6,93	6,59
18,00	9,53	7,53	7,34	7,06	6,71
21,00	9,71	7,59	7,44	7,13	6,82
24,00	9,88	7,68	7,55	7,22	6,94
27,00	10,03	7,75	7,66	7,29	7,05
30,00	10,14	7,82	7,72	7,34	7,18
33,00	10,23	7,88	7,83	7,40	7,28
36,00	10,27	7,93	7,88	7,53	7,31
39,00	10,36	7,99	7,93	7,60	7,34
42,00	10,44	8,04	7,98	7,67	7,39
45,00	10,52	8,10	8,03	7,72	7,46
48,00	10,62	8.16	8,07	7,78	7,52
51,00	10,72	8.22	8,17	7,85	7,58
54,00	10,81	8,28	8,23	7,92	7,67
57,00	10,90	8,34	8,32	8,00	7,76
60,00	10,98	8,40	8,41	8,09	7,78
63,00	11,06	8,46	8,49	8,19	7,86
66,00	11,14	8,49	8,60	8,29	7,99
69,00	11,14	8,55	8,73	8,41	8,13
72,00	11,25	8,62	8,89	8,59	8,27
75,00	11,32	8,68	9,12	8,82	8,45
78,00	11,32	8,78	9,52	9,30	8,88
81,00	11,42	8,79	10,07	10,04	9,71
84,00	11,42	8,95	10,42	10,43	10,28
87,00	11,51	9,06	10,62	10,64	10,55
90,00	11,51	9,20	10,80	10,81	10,74

(a) NaOH; 1,00 N; Solução-Titrisol Merck

(b) Realizada sobre vigorosa agitação magnética, em um banho termostatizado com temperatura controlada e ajustada para 23,0 ± 1,0 ºC, e borbulhamento contínuo de N_2 (livre de CO_2)

(c) μ =0,10 M (NaCl)

Tabela III.25. **Valores[(a)] respectivamente de $logP_n$, de pK_a e de $logP_i$ do cloreto de 3-(1-pirrolidina)propiofenona (3) obtidos através do ajuste da *Equação 50* aos valores de pH determinados experimentalmente[(b)]**

pK_a	9,78 (0,05)
$logP_n$	2,52 (0,02)
$logP_i$	-1,51 (0,03)

(a) Números entre parentes correspondem ao desvio padrão da média dos valores obtidos em cada uma das titulações

(b) Titulação potenciométrica com NaOH; 1,00 N; sobre agitação magnética, a 23,0 ± 1,0 ºC, e borbulhamento de N2 (livre de CO_2)

Tabela III.26. **Valores do volume de titulante[a] adicionado e dos correspondentes valores de pH registrados em cada uma das titulações[b] do cloreto de 3-(1-piperidina))propiofenona (4) em meio aquoso[c] e em meio aquoso[c] na presença de *n*-octanol, em diferentes proporções de volumes**

Volume de titulante (μL)[(a)]	Valor de pH registrado[(b)]				
	Solução aquosa[(c)]	Sol.aquosa[(c)]/ *n*-octanol 9:1	Sol.aquosa[(c)]/ *n*-octanol 9:2	Sol.aquosa[(c)]/ *n*-octanol 9:4	Sol.aquosa[(c)]/ *n*-octanol 9:8
3,00	8,13	5,66	5,96	5,58	4,75
6,00	8,64	6,47	6,47	6,19	5,50
9,00	8,90	6,76	6,62	6,45	5,81
12,00	9,05	6,91	6,74	6,55	6,07
15,00	9,14	6,99	6,83	6,63	6,16
18,00	9,27	7,09	6,93	6,69	6,29
21,00	9,35	7,16	6,99	6,75	6,38
24,00	9,44	7,21	7,06	6,86	6,46
27,00	9,52	7,23	7,11	6,91	6,51
30,00	9,60	7,27	7,19	6,95	6,60
33,00	9,65	7,31	7,26	7,00	6,65
36,00	9,81	7,36	7,33	7,06	6,74
39,00	9,89	7,41	7,38	7,12	6,83
42,00	9,97	7,46	7,44	7,18	7,16
45,00	10,06	7,49	7,50	7,22	7,12
48,00	10,22	7,55	7,74	7,32	7,19
51,00	10,31	7,59	7,82	7,38	7,24
54,00	10,47	7,65	7,90	7,44	7,33
57,00	10,65	7,71	7,95	7,52	7,50
60,00	10,73	7,76	8,05	7,62	7,44
63,00	10,91	7,82	8,17	7,74	7,52
66,00	11,02	7,87	8,31	8,04	7,64
69,00	11,09	7,95	8,51	8,31	7,79
72,00	11,18	8,16	8,89	8,66	8,01
75,00	11,28	8,64	9,82	9,74	8,33
78,00		8,90	10,39	10,37	9,50
81,00		9,05		10,67	10,24
84,00					10,56

(a) NaOH; 1,00 N; Solução-Titrisol Merck
(b) Realizada sobre vigorosa agitação magnética, em um banho termostatizado com temperatura controlada e ajustada para 23,0 ± 1,0 ºC, e borbulhamento contínuo de N_2 (livre de CO_2)
(c) μ =0,10 M (NaCl)

Os valores de $logP_i$, de $logP_n$ e de pK_a do cloreto de 3-(1-piperidina)propiofenona (4) obtidos através do ajuste dos coeficientes da *equação 50* aos valores de pH determinados experimentalmente em cada titulação, estão indicados na *tabela III.27.*

Tabela III.27. **Valores[(a)] respectivamente de $logP_n$, de pK_a e de $logP_i$ do cloreto de 3-(1-piperidina)propiofenona (4) obtidos através do ajuste da *Equação 50* aos valores de pH determinados experimentalmente[(b)]**

pK_a	9,49 (0,03)
$logP_n$	3,06 (0,13)
$logP_i$	0,48 (0,07)

(a) Números entre parentes correspondem ao desvio padrão da média dos valores obtidos em cada uma das titulações
(b) Titulação potenciométrica com NaOH; 1,00 N; sobre agitação magnética, a 23,0 ± 1,0 ºC, e borbulhamento de N2 (livre de CO_2)

III.2.6.5. Determinação dos valores de $logP_i$, de $logP_n$ e de pK_a do cloreto de 3-(1-morfolino)propiofenona (5) por potenciometria

Procedendo-se como descrito no item **II.4.1.4.** foram determinados pelo método potenciométrico, o valor do coeficiente de partição da espécie ionizada ($logP_i$), o valor do coeficiente de partição da espécie não-ionizada ($logP_n$) e o valor da constante de ionização pK_a, do cloreto de 3-(1-morfolino)propiofenona (5).

Os volumes de titulante (NaOH; 1,00 N; Solução-Titrisol Merck) adicionados nas titulações em meio aquoso e em meio aquoso na presença de *n*-octanol, em diferentes proporções de volumes; e os correspondentes valores de pH lidos para cada tubo de titulação estão indicados na *tabela III.28.*

Tabela III.28. **Valores do volume de titulante[a] adicionado e dos correspondentes valores de pH registrados em cada uma das titulações[b] do cloreto de 3-(1-morfolino)propiofenona (5) em meio aquoso[c] e em meio aquoso[c] na presença de *n*-octanol, em diferentes proporções de volumes**

Volume de titulante (µL)[(a)]	Valor de pH registrado[(b)]				
	Solução aquosa[(c)]	Sol.aquosa[(c)]/ *n*-octanol 9:1	Sol.aquosa[(c)]/ *n*-octanol 9:2	Sol.aquosa[(c)]/ *n*-octanol 9:4	Sol.aquosa[(c)]/ *n*-octanol 9:8
3,00	5,42	4,28	4,14	4,30	3,84
6,00	5,85	4,68	4,61	4,58	4,08
9,00	6,09	4,94	4,89	4,73	4,29
12,00	6,24	5,11	5,08	4,86	4,44
15,00	6,36	5,24	5,31	4,97	4,57
18,00	6,46	5,33	5,43	5,06	4,68
21,00	6,53	5,42	5,50	5,14	4,77
24,00	6,63	5,49	5,57	5,21	4,85
27,00	6,69	5,57	5,64	5,29	4,92
30,00	6,76	5,64	5,70	5,35	4,99
33,00	6,83	5,69	5,76	5,41	5,05
36,00	6,92	5,75	5,82	5,47	5,11
39,00	6,98	5,80	5,88	5,52	5,17
42,00	7,04	5,85	5,93	5,58	5,23
45,00	7,10	5,95	5,99	5,63	5,25
48,00	7,21	6,02	6,04	5,69	5,28
51,00	7,33	6,04	6,09	5,74	5,39
54,00	7,43	6,10	6,15	5,81	5,44
57,00	7,56	6,14	6,20	5,86	5,49
60,00	7,70	6,18	6,26	5,92	5,54
63,00	7,89	6,23	6,32	6,02	5,59
66,00	8,16	6,28	6,38	6,09	5,65
69,00	8,64	6,32	6,45	6,15	5,71
72,00	9,65	6,37	6,51	6,21	5,76
75,00	10,46	6,42	6,59	6,28	5,82
78,00	10,76	6,47	6,75	6,36	5,89
81,00	10,93	6,53	6,86	6,46	5,96
84,00	11,04	6,59	7,00	6,57	6,03
87,00	11,19	6,65	7,19	6,70	6,11
90,00	11,19	6,72	7,22		6,20

(a) NaOH; 1,00 N; Solução-Titrisol Merck

(b) Realizada sobre vigorosa agitação magnética, em um banho termostatizado com temperatura controlada e ajustada para 23,0 ± 1,0 ºC, e borbulhamento contínuo de N_2 (livre de CO_2)

(c) µ =0,10 M (NaCl)

Os valores de $logP_i$, de $logP_n$ e de pK_a do cloreto de 3-(1-morfolino)propiofenona (5) obtidos através do ajuste dos coeficientes da *equação 50* aos valores de pH determinados experimentalmente em cada titulação, estão indicados na *tabela III.29.*

Tabela III.29. **Valores[(a)] respectivamente de $logP_n$, de pK_a e de $logP_i$ do cloreto de 3-(1-morfolino)propiofenona (5) obtidos através do ajuste da *Equação 50* aos valores de pH determinados experimentalmente[(b)]**

pK_a	6,87 (0,01)
$logP_n$	1,54 (0,11)
$logP_i$	-1,16 (0,07)

(a) Números entre parentes correspondem ao desvio padrão da média dos valores obtidos em cada uma das titulações

(b) Titulação potenciométrica com NaOH; 1,00 N; sobre agitação magnética, a 23,0 ± 1,0 ºC, e borbulhamento de N2 (livre de CO_2)

III.2.6.6. Determinação dos valores de $logP_i$, de $logP_n$ e de pK_a do cloreto de 3-(ciclo-hexilamino)propiofenona (7) por potenciometria

Procedendo-se como descrito no item **II.4.1.4.** foram determinados pelo método potenciométrico, o valor do coeficiente de partição da espécie ionizada ($logP_i$), o valor do coeficiente de partição da espécie não-ionizada ($logP_n$) e o valor da constante de ionização pK_a, do cloreto de 3-(ciclo-hexilamino)propiofenona (7).

Os volumes de titulante (NaOH; 1,00 N; Solução-Titrisol Merck) adicionados nas titulações em meio aquoso e em meio aquoso na presença de *n*-octanol, em diferentes proporções de volumes; e os correspondentes valores de pH lidos para cada tubo de titulação estão indicados na *tabela III.30.*

Os valores de $logP_i$, de $logP_n$ e de pK_a do cloreto de 3-(ciclo-hexilamino)propiofenona (7) obtidos através do ajuste dos coeficientes da *equação 50* aos valores de pH determinados experimentalmente em cada titulação, estão indicados na *tabela III.31.*

III.2.6.7. Determinação dos valores de $logP_i$, de $logP_n$ e de pK_a do cloreto de *N*-[(*N,N*-dimetilamino)etil]benzamida (8), por potenciometria

Procedendo-se como descrito no item **II.4.1.4.** foram determinados pelo método potenciométrico, o valor do coeficiente de partição da espécie ionizada ($logP_i$), o valor do coeficiente de partição da espécie não-ionizada ($logP_n$) e o valor da constante de ionização pK_a, do cloreto de *N*-[(*N,N*-dimetilamino)etil]benzamida (8).

Os volumes de titulante (NaOH; 1,00 N; Solução-Titrisol Merck)adicionados nas titulações em meio aquoso e em meio aquoso na presença de *n*-octanol, em diferentes proporções de volumes; e os correspondentes valores de pH lidos para cada tubo de titulação estão indicados na *tabela III.32.*

Tabela III.30. **Valores do volume de titulante[a] adicionado e dos correspondentes valores de pH registrados em cada uma das titulações[b] do cloreto de 3-(ciclo-hexilamino)propiofenona (7) em meio aquoso[c] e em meio aquoso[c] na presença de *n*-octanol, em diferentes proporções de volumes**

Volume de titulante (μL)[(a)]	Valor de pH registrado[(b)]				
	Solução aquosa[(c)]	Sol.aquosa[(c)]/ *n*-octanol 9:1	Sol.aquosa[(c)]/ *n*-octanol 9:2	Sol.aquosa[(c)]/ *n*-octanol 9:4	Sol.aquosa[(c)]/ *n*-octanol 9:8
3,00	8,61	6,95	5,01	6,00	4,92
6,00	9,03	7,21	5,94	6,59	5,67
9,00	9,25	7,30	6,37	6,74	6,09
12,00	9,48	7,33	6,63	6,89	6,32
15,00	9,62	7,37	6,79	7,12	6,54
18,00	9,70	7,40	6,91	7,22	6,68
21,00	9,75	7,44	7,01	7,25	6,79
24,00	9,79	7,48	7,06	7,29	6,90
27,00	9,83	7,54	7,13	7,32	7,00
30,00	9,86	7,59	7,21	7,33	7,03
33,00	9,94	7,61	7,25	7,34	7,11
36,00	9,99	7,64	7,64	7,38	7,15
39,00	10,04	7,73	7,69	7,42	7,21
42,00	10,11	7,75	7,71	7,47	7,32
45,00	10,18	7,79	7,75	7,53	7,44
48,00	10,27	8,09	7,77	7,58	7,55
51,00	10,30	8,16	7,86	7,63	7,67
54,00	10,46	8,22	7,90	7,68	7,82
57,00	10,52	8,27	7,92	7,73	7,95
60,00	10,70	8,31	7,93	7,78	8,00
63,00	10,81	8,40	7,94	7,81	8,06
66,00	10,91	8,48	8,00	8,27	8,11
69,00	10,97	8,61	8,10	8,35	8,24
72,00	11,05	8,81	8,18	8,49	8,48
75,00	11,14	9,09	8,33	8,73	9,03
78,00	11,25	9,58	8,56	9,36	9,87
81,00	11,32	10,11	8,81	10,05	10,45
84,00	11,32	10,48	9,41	10,51	10,73
87,00	11,42	10,68	10,08	10,77	10,92
90,00	11,42	10,86	10,49	10,94	11,03

(a) NaOH; 1,00 N; Solução-Titrisol Merck

(b) Realizada sobre vigorosa agitação magnética, em um banho termostatizado com temperatura controlada e ajustada para 23,0 ± 1,0 ºC, e borbulhamento contínuo de N_2 (livre de CO_2)

(c) μ =0,10 M (NaCl)

Tabela III.31. **Valores[(a)] respectivamente de $logP_n$, de pK_a e de $logP_i$ do cloreto de 3-(ciclo-hexilamino)propiofenona (7) obtidos através do ajuste da *Equação 50* aos valores de pH determinados experimentalmente[(b)]**

pK_a	9,83 (0,05)
$logP_n$	3,33 (0,06)
$logP_i$	0,67 (0,05)

(a) Números entre parentes correspondem ao desvio padrão da média dos valores obtidos em cada uma das titulações

(b) Titulação potenciométrica com NaOH; 1,00 N; sobre agitação magnética, a 23,0 ± 1,0 ºC, e borbulhamento de N2 (livre de CO_2)

Tabela III.32. **Valores do volume de titulante[a] adicionado e dos correspondentes valores de pH registrados em cada uma das titulações[b] do cloreto de *N*-[(*N,N*-dimetilamino)etil]benzamida (8), em meio aquoso[c] e em meio aquoso[c] na presença de *n*-octanol, em diferentes proporções de volumes**

Volume de titulante (μL)[(a)]	Valor de pH registrado[(b)]				
	Solução aquosa[(c)]	Sol.aquosa[(c)]/ *n*-octanol 9:1	Sol.aquosa[(c)]/ *n*-octanol 9:2	Sol.aquosa[(c)]/ *n*-octanol 9:4	Sol.aquosa[(c)]/ *n*-octanol 9:8
3,00	5,13	5,44	5,72	4,84	5,13
6,00	5,13	6,20	6,05	5,56	5,13
9,00	5,96	6,45	6,26	5,87	5,96
12,00	6,62	6,60	6,41	6,07	6,62
15,00	6,87	6,73	6,53	6,21	6,87
18,00	7,00	6,83	6,64	6,33	7,00
21,00	7,13	6,92	6,73	6,43	7,13
24,00	7,24	7,00	6,81	6,57	7,24
27,00	7,34	7,07	6,88	6,67	7,34
30,00	7,42	7,14	6,96	6,75	7,42
33,00	7,52	7,21	7,03	6,82	7,52
36,00	7,59	7,28	7,10	6,89	7,59
39,00	7,67	7,35	7,17	6,95	7,67
42,00	7,78	7,42	7,24	7,02	7,78
45,00	7,84	7,49	7,31	7,09	7,84
48,00	7,97	7,57	7,42	7,16	7,97
51,00	8,04	7,65	7,53	7,24	8,04
54,00	8,22	7,74	7,64	7,32	8,22
57,00	8,35	7,83	7,74	7,41	8,35
60,00	8,54	7,94	7,86	7,51	8,54
63,00	8,83	8,07	8,01	7,63	8,83
66,00	9,39	8,22	8,22	7,77	9,39
69,00	10,22	8,66	8,55	7,97	10,22
72,00	10,64	9,60	9,55	8,26	10,64
75,00	10,83	10,32	10,42	9,11	10,83
78,00		10,73		9,16	

(a) NaOH; 1,00 N; Solução-Titrisol Merck

(b) Realizada sobre vigorosa agitação magnética, em um banho termostatizado com temperatura controlada e ajustada para 23,0 ± 1,0 ºC, e borbulhamento contínuo de N_2 (livre de CO_2)

(c) μ =0,10 M (NaCl)

Os valores de $logP_i$, de $logP_n$ e de pK_a do cloreto de *N*-[(*N,N*-dimetilamino)etil]benzamida (8) obtidos através do ajuste dos coeficientes da *equação 50* aos valores de pH determinados experimentalmente em cada titulação, estão indicados na *tabela III.33.*

Tabela III.33. **Valores[(a)] respectivamente de $logP_n$, de pK_a e de $logP_i$ do cloreto de *N*-[(*N,N*-dimetilamino)etil]benzamida (8) obtidos através do ajuste da *Equação 50* aos valores de pH determinados experimentalmente[(b)]**

pK_a	9,16 (0,02)
$logP_n$	1,64 (0,04)
$logP_i$	-1,8 (0,01)

(a) Números entre parentes correspondem ao desvio padrão da média dos valores obtidos em cada uma das titulações

(b) Titulação potenciométrica com NaOH; 1,00 N; sobre agitação magnética, a 23,0 ± 1,0 ºC, e borbulhamento de N2 (livre de CO_2)

III.2.6.8. Determinação dos valores de $logP_i$, de $logP_n$ e de pK_a do cloreto de *N*-[(*N,N*-dimetilamino)metil]benzamida (9), por potenciometria

Procedendo-se como descrito no item **II.4.1.4.** foram determinados pelo método potenciométrico, o valor do coeficiente de partição da espécie ionizada ($logP_i$), o valor do coeficiente de partição da espécie não-ionizada ($logP_n$) e o valor da constante de ionização pK_a, do cloreto de *N*-[(*N,N*-dimetilamino)metil]benzamida (9).

Os volumes de titulante (NaOH; 1,00 N; Solução-Titrisol Merck)adicionados nas titulações em meio aquoso e em meio aquoso na presença de *n*-octanol, em diferentes proporções de volumes; e os correspondentes valores de pH lidos para cada tubo de titulação estão indicados na *tabela III.34.*

Tabela III.34. **Valores do volume de titulante[a] adicionado e dos correspondentes valores de pH registrados em cada uma das titulações[b] do cloreto de *N*-[(*N,N*-dimetilamino)metil]benzamida (9), em meio aquoso[c] e em meio aquoso[c] na presença de *n*-octanol, em diferentes proporções de volumes**

Volume de titulante (µL)[(a)]	Valor de pH registrado[(b)]				
	Solução aquosa[(c)]	Sol.aquosa[(c)]/ *n*-octanol 9:1	Sol.aquosa[(c)]/ *n*-octanol 9:2	Sol.aquosa[(c)]/ *n*-octanol 9:4	Sol.aquosa[(c)]/ *n*-octanol 9:8
3,00	6,56	5,70	5,40	6,18	5,35
6,00	8,54	6,71	6,56	6,74	6,17
9,00	8,85	6,97	7,04	6,96	6,98
12,00	9,17	7,13	7,17	7,07	6,87
15,00	9,35	7,25	7,26	7,17	7,06
18,00	9,53	7,35	7,34	7,20	7,13
21,00	9,71	7,45	7,43	7,28	7,15
24,00	9,88	7,53	7,51	7,35	7,11
27,00	10,03	7,62	7,59	7,40	7,18
30,00	10,14	7,71	7,67	7,50	7,23
33,00	10,23	7,80	7,75	7,55	7,30
36,00	10,27	7,89	7,82	7,59	7,35
39,00	10,36	7,98	7,89	7,67	7,43
42,00	10,44	8,06	7,97	7,77	7,50
45,00	10,52	8,13	8,30	7,85	7,56
48,00	10,62	8,18	8,32	7,92	7,61
51,00	10,72	8,24	8,40	8,01	7,69
54,00	10,81	8,30	8,51	8,12	7,81
57,00	10,90	8,38	8,58	8,29	7,92
60,00	10,98	8,45	8,71	8,55	8,12
63,00	11,06	8,54	8,96	8,85	8,23
66,00	11,14	8,69	9,23	9,37	8,53
69,00	11,14	8,80	9,86	10,11	9,15
72,00	11,25	8,92	10,36	10,49	10,12
75,00	11,32	9,06	10,59	10,70	10,44
78,00	11,32	9,27	10,76	10,87	10,71

(a) NaOH; 1,00 N; Solução-Titrisol Merck

(b) Realizada sobre vigorosa agitação magnética, em um banho termostatizado com temperatura controlada e ajustada para 23,0 ± 1,0 ºC, e borbulhamento contínuo de N_2 (livre de CO_2)

(c) µ =0,10 M (NaCl)

Os valores de $logP_i$, de $logP_n$ e de pK_a do cloreto de *N*-[(*N,N*-dimetilamino)metil]benzamida (9) obtidos através do ajuste dos coeficientes da *equação 50* aos valores de pH determinados experimentalmente em cada titulação, estão indicados na *tabela III.35.*

Tabela III.35. **Valores[(a)] respectivamente de $logP_n$, de pK_a e de $logP_i$ do cloreto de *N*-[(*N,N*-dimetilamino)metil]benzamida (9) obtidos através do ajuste da *Equação 50* aos valores de pH determinados experimentalmente[(b)]**

pK_a	7,48 (0,03)
$logP_n$	0,80 (0,06)
$logP_i$	-1,21 (0,01)

(a) Números entre parentes correspondem ao desvio padrão da média dos valores obtidos em cada uma das titulações

(b) Titulação potenciométrica com NaOH; 1,00 N; sobre agitação magnética, a 23,0 ± 1,0 ºC, e borbulhamento de N2 (livre de CO_2)

III.2.6.9. Determinação dos valores de $logP_i$, de $logP_n$ e de pK_a do cloreto de *N*-[(*N,N*-dimetilamino)etil]benzoato (10) por potenciometria

Procedendo-se como descrito no item **II.4.1.4.** foram determinados pelo método potenciométrico, o valor do coeficiente de partição da espécie ionizada ($logP_i$), o valor do coeficiente de partição da espécie não-ionizada ($logP_n$) e o valor da constante de ionização pK_a, do cloreto de *N*-[(*N,N*-dimetilamino)etil]benzoato (10).

Os volumes de titulante (NaOH; 1,00 N; Solução-Titrisol Merck)adicionados nas titulações em meio aquoso e em meio aquoso na presença de *n*-octanol, em diferentes proporções de volumes; e os correspondentes valores de pH lidos para cada tubo de titulação estão indicados na *tabela III.36.*

Os valores de $logP_i$, de $logP_n$ e de pK_a do cloreto de *N*-[(*N,N*-dimetilamino)etil]benzoato (10) obtidos através do ajuste dos coeficientes da *equação 50* aos valores de pH determinados experimentalmente em cada titulação, estão indicados na *Tabela III.37.*

III.2.7. Obtenção dos valores do coeficiente de partição cálculo ($logP_{calc}$)

Os valores do coeficiente de partição calculado ($logP_{calc}$) foram obtidos através do programa CLOG P (Biobyte Corp., 1995), versão 1.0.0. para Windows (1995), Byobyte, USA. Os valores de $logP_{calc}$ para os compostos da série de derivados da procaína (compostos **1** –**10**), estão indicados na *Tabela III.38.*

Tabela III.36. **Valores do volume de titulante[a] adicionado e dos correspondentes valores de pH registrados em cada uma das titulações[b] do cloreto de *N*-[(*N,N*-dimetilamino)etil]benzoato (10) em meio aquoso[c] e em meio aquoso[c] na presença de *n*-octanol, em diferentes proporções de volumes**

Volume de titulante (μL)[(a)]	Valor de pH registrado[(b)]				
	Solução aquosa[(c)]	Sol.aquosa[(c)]/ *n*-octanol 9:1	Sol.aquosa[(c)]/ *n*-octanol 9:2	Sol.aquosa[(c)]/ *n*-octanol 9:4	Sol.aquosa[(c)]/ *n*-octanol 9:8
3,00	6,56	5,70	5,40	6,18	5,35
6,00	8,54	6,71	6,56	6,74	6,17
9,00	8,85	6,97	7,04	6,96	6,98
12,00	9,17	7,13	7,17	7,07	6,87
15,00	9,35	7,25	7,26	7,17	7,06
18,00	9,53	7,35	7,34	7,20	7,13
21,00	9,71	7,45	7,43	7,28	7,15
24,00	9,88	7,53	7,51	7,35	7,11
27,00	10,03	7,62	7,59	7,40	7,18
30,00	10,14	7,71	7,67	7,50	7,23
33,00	10,23	7,80	7,75	7,55	7,30
36,00	10,27	7,89	7,82	7,59	7,35
39,00	10,36	7,98	7,89	7,67	7,43
42,00	10,44	8,06	7,97	7,77	7,50
45,00	10,52	8,13	8,30	7,85	7,56
48,00	10,62	8,18	8,32	7,92	7,61
51,00	10,72	8,24	8,40	8,01	7,69
54,00	10,81	8,30	8,51	8,12	7,81
57,00	10,90	8,38	8,58	8,29	7,92
60,00	10,98	8,45	8,71	8,55	8,12
63,00	11,06	8,54	8,96	8,85	8,23
66,00	11,14	8,69	9,23	9,37	8,53
69,00	11,14	8,80	9,86	10,11	9,15
72,00	11,25	8,92	10,36	10,49	10,12
75,00	11,32	9,06	10,59	10,70	10,44
78,00	11,32	9,27	10,76	10,87	10,71
81,00	11,42	9,69	10,91	10,98	10,88
84,00	11,42	10,11	11,01	11,08	11,00
87,00	11,51	10,42	11,10	11,16	11,09
90,00	11,51	10,64	11,18	11,16	11,09

(a) NaOH; 1,00 N; Solução-Titrisol Merck

(b) Realizada sobre vigorosa agitação magnética, em um banho termostatizado com temperatura controlada e ajustada para 23,0 ± 1,0 ºC, e borbulhamento contínuo de N_2 (livre de CO_2)

(c) μ =0,10 M (NaCl)

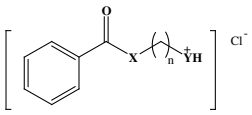
Tabela III.37. **Valores[(a)] respectivamente de $logP_n$, de pK_a e de $logP_i$ do cloreto de *N*-[(*N,N*-dimetilamino)etil]benzoato (10) obtidos através do ajuste da *Equação 50* aos valores de pH determinados experimentalmente[(b)]**

pK_a	8,60 (0,02)
$logP_n$	2,22 (0,05)
$logP_i$	-1,19 (0,01)

(a) Números entre parentes correspondem ao desvio padrão da média dos valores obtidos em cada uma das titulações

(b) Titulação potenciométrica com NaOH; 1,00 N; sobre agitação magnética, a 23,0 ± 1,0 ºC, e borbulhamento de N2 (livre de CO_2)

Tabela III.38. **Valores do coeficiente de partição calculado *$logP_{calc}$*, obtidos através do programa CLOGP[(a)] para a série de derivados da procaína, (compostos 1 - 10), estudados neste trabalho**



Composto				$logP_{calc}$
Nº	X	n	Y	
1	-CH2-	1	$-N(CH_3)_2$	1,625
2	-CH2-	1	$-N(C_2H_5)_2$	2,683
3	-CH2-	1	-Pirrolidino	2,481
4	-CH2-	1	-Piperidino	3,04
5	-CH2-	1	-Morfolino	1,771
6	-CH2-	1	-Piperazino	2,395
7	-CH2-	1	-ciclo-hexilamino	3,242
8	- NH-	2	$-N(CH_3)_2$	1,092
9	- NH-	1	$-N(CH_3)_2$	0,883
10	-O-	2	$-N(CH_3)_2$	2,017

(a) (Biobyte Corp., 1995)

III.3. Determinação do parâmetro biológico

Procedendo-se como descrito no item **II.5.** foram determinados os efeitos dos compostos da série de derivados da procaína (compostos 1 –10) sobre o bloqueio da transmissão neuromuscular, avaliado no sistema músculo diafragma-nervo frênico de camundongos (SOUCCAR *et al*., 1999; SOUCCAR *et al*., 1998).

Os gráficos correspondentes aos os registros dos valores das porcentagem de contração induzida por estimulação elétrica nervosa em função do tempo em preparações nervo frênico-músculo diafragma de camundongo observados para os compostos da série de derivados da procaína estão apresentados nas *Figuras III.2-11*, respectivamente

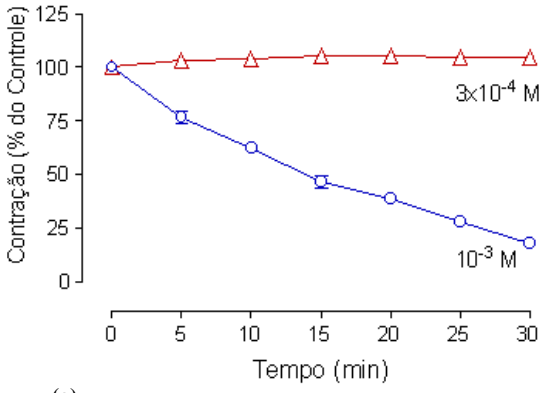


Figura III.2. **Registro[(a)] do efeito do cloreto de 3-(dimetilamino)propiofenona (composto 1) nas concentrações, de $3x10^{-4}$ e 10^{-3} M respectivamente, sobre a contração muscular induzida por estimulação elétrica nervosa em preparações[(b)] nervo Frênico-Músculo diafragma de camundongo, observado no período total de 30 minutos, em intervalos de 5 minutos.**

(a) Usando um transdutor de força em um polígrafo.

(b) As preparações foram montadas em uma cuba de 2 mL com solução fisiológica, pH 7,3 – 7,4; continuamente gaseificada com 95% O_2 e 5% de CO_2 em um banho termostatizado com temperatura controlada e ajustada para 25,0 °C.

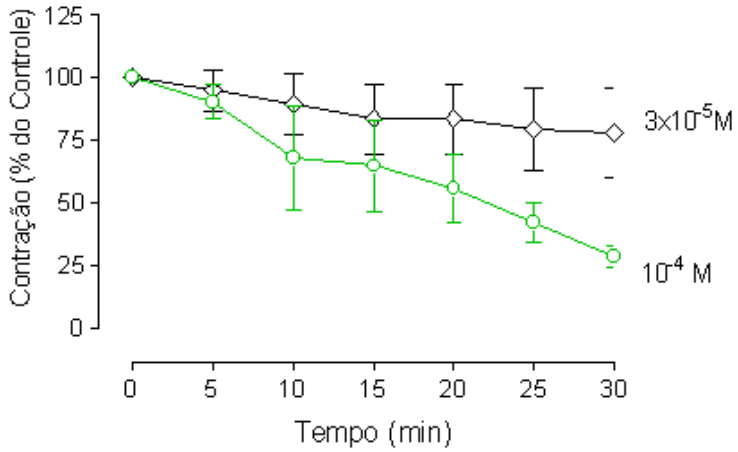


Figura III.3. **Registro[(a)] do efeito do cloreto de 3-(dietilamino)propiofenona (composto 2) nas concentrações de $3x10^{-5}$ e 10^{-4} M respectivamente, sobre a contração muscular induzida por estimulação elétrica nervosa em preparações[(b)] nervo Frênico-Músculo diafragma de camundongo, observado no período total de 30 minutos, em intervalos de 5 minutos.**

(a) Usando um transdutor de força em um polígrafo.

(b) As preparações foram montadas em uma cuba de 2 mL com solução fisiológica, pH 7,3 – 7,4; continuamente gaseificada com 95% O_2 e 5% de CO_2 em um banho termostatizado com temperatura controlada e ajustada para 25,0 °C.

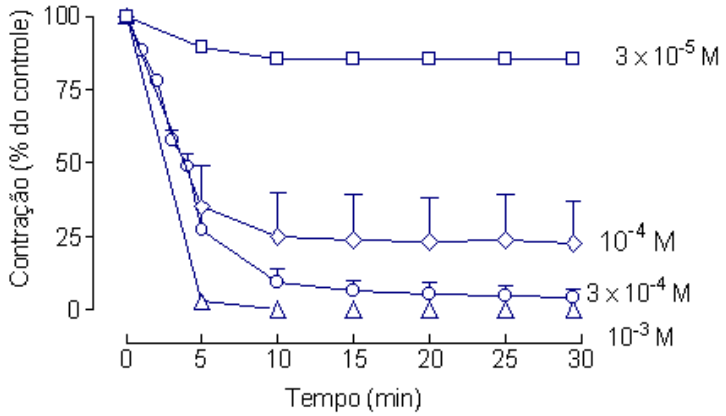


Figura III.4. **Registro[(a)] do efeito do cloreto de 3-(1-pirrolidina)propiofenona (composto 3) nas concentrações de $3x10^{-5}$, 10^{-4}, $3x10^{-4}$ e 10^{-3} M respectivamente, sobre a contração muscular induzida por estimulação elétrica nervosa em preparações[(b)] nervo Frênico-Músculo diafragma de camundongo, observado no período total de 30 minutos, em intervalos de 5 minutos.**

(c) Usando um transdutor de força em um polígrafo.

(d) As preparações foram montadas em uma cuba de 2 mL com solução fisiológica, pH 7,3 – 7,4; continuamente gaseificada com 95% O_2 e 5% de CO_2 em um banho termostatizado com temperatura controlada e ajustada para 25,0 °C.

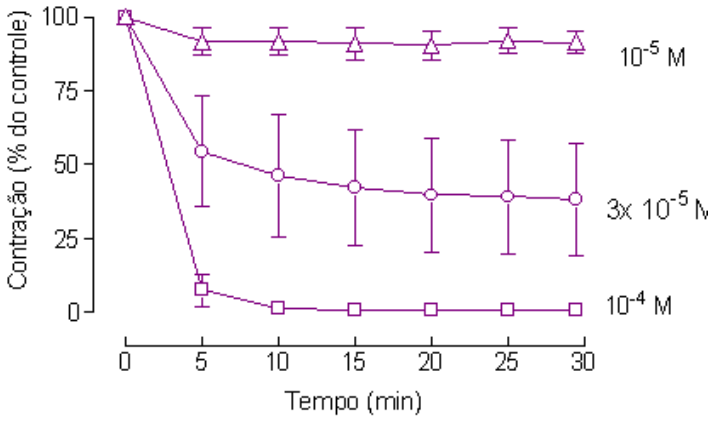


Figura III.5. **Registro[(a)] do efeito do cloreto de 3-(1-piperidina) propiofenona (composto 4) nas concentrações de 10^{-5}, $3x10^{-5}$ e 10^{-4} M respectivamente, sobre a contração muscular induzida por estimulação elétrica nervosa em preparações[(b)] nervo Frênico-Músculo diafragma de camundongo, observado no período total de 30 minutos, em intervalos de 5 minutos.**

(a) Usando um transdutor de força em um polígrafo.

(b) As preparações foram montadas em uma cuba de 2 mL com solução fisiológica, pH 7,3 – 7,4; continuamente gaseificada com 95% O_2 e 5% de CO_2 em um banho termostatizado com temperatura controlada e ajustada para 25,0 °C.

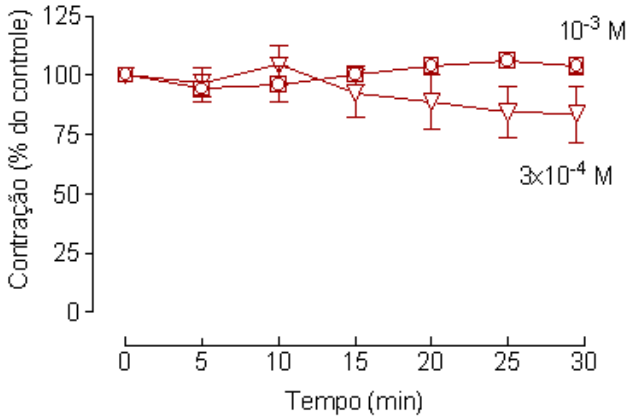


Figura III.6. **Registro[(a)] do efeito do cloreto de 3-(1-morfolina)propiofenona (composto 5) nas concentrações de $3x10^{-4}$ e 10^{-3} M respectivamente, sobre a contração muscular induzida por estimulação elétrica nervosa em preparações[(b)] nervo Frênico-Músculo diafragma de camundongo, observado no período total de 30 minutos, em intervalos de 5 minutos.**

(a) Usando um transdutor de força em um polígrafo.

(b) As preparações foram montadas em uma cuba de 2 mL com solução fisiológica, pH 7,3 – 7,4; continuamente gaseificada com 95% O_2 e 5% de CO_2 em um banho termostatizado com temperatura controlada e ajustada para 25,0 °C.

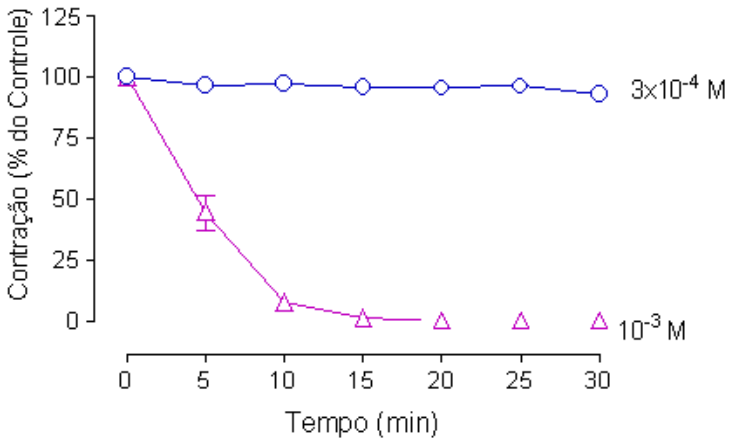


Figura III.7. **Registro[(a)] do efeito do cloreto de 3-[1-(4-metilpiperazina)] propiofenona (composto 6) nas concentrações de $3x10^{-4}$ e 10^{-3} M respectivamente, sobre a contração muscular induzida por estimulação elétrica nervosa em preparações[(b)] nervo Frênico-Músculo diafragma de camundongo, observado no período total de 30 minutos, em intervalos de 5 minutos.**

(a) Usando um transdutor de força em um polígrafo.

(b) As preparações foram montadas em uma cuba de 2 mL com solução fisiológica, pH 7,3 – 7,4; continuamente gaseificada com 95% O_2 e 5% de CO_2 em um banho termostatizado com temperatura controlada e ajustada para 25,0 °C.

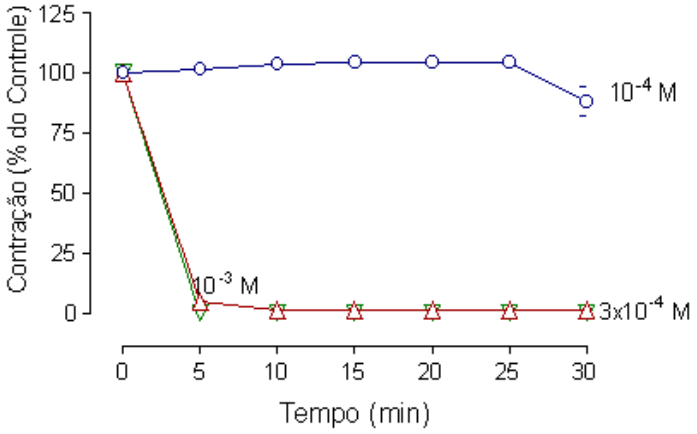


Figura III.8. **Registro[(a)] do efeito do cloreto de 3-(ciclo-hexilamina)propiofenona (composto 7) nas concentrações de 10^{-4}, $3x10^{-4}$ e 10^{-3} M respectivamente, sobre a contração muscular induzida por estimulação elétrica nervosa em preparações[(b)] nervo Frênico-Músculo diafragma de camundongo, observado no período total de 30 minutos, em intervalos de 5 minutos.**

(a) Usando um transdutor de força em um polígrafo.

(b) As preparações foram montadas em uma cuba de 2 mL com solução fisiológica, pH 7,3 – 7,4; continuamente gaseificada com 95% O_2 e 5% de CO_2 em um banho termostatizado com temperatura controlada e ajustada para 25,0 °C.

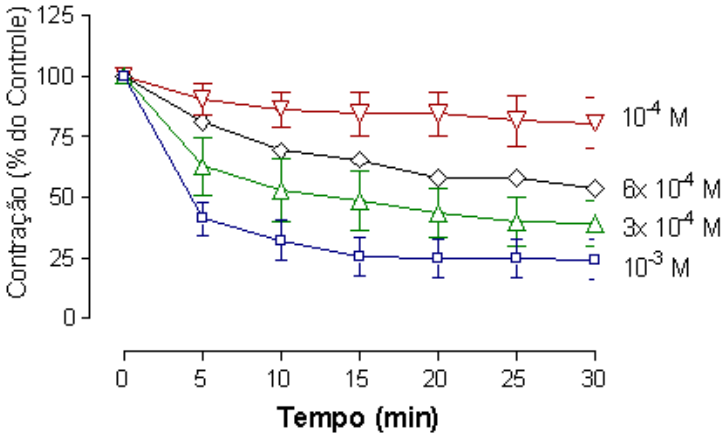


Figura III.9. **Registro[(a)] do efeito do cloreto de *N*-[(*N*,*N*-dimetilamino) etil]benzamida (composto 8) nas concentrações de 10^{-4}, $6x10^{-4}$, $3x10^{-4}$ e 10^{-3} M respectivamente, sobre a contração muscular induzida por estimulação elétrica nervosa em preparações[(b)] nervo Frênico-Músculo diafragma de camundongo, observado no período total de 30 minutos, em intervalos de 5 minutos.**

(a) Usando um transdutor de força em um polígrafo.

(b) As preparações foram montadas em uma cuba de 2 mL com solução fisiológica, pH 7,3 – 7,4; continuamente gaseificada com 95% O_2 e 5% de CO_2 em um banho termostatizado com temperatura controlada e ajustada para 25,0 °C.

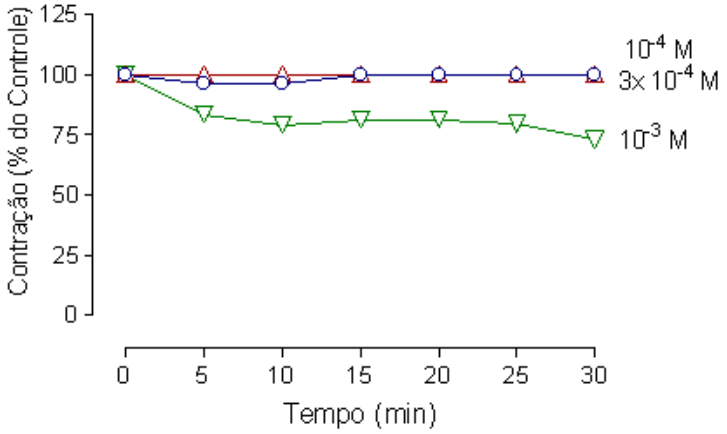


Figura III.10. **Registro[(a)] do efeito do cloreto de *N*-[(*N*,*N*-dimetilamino)metil]benzamida (composto 9) nas concentrações de 10^{-4}, $3x10^{-4}$ e 10^{-3} M respectivamente, sobre a contração muscular induzida por estimulação elétrica nervosa em preparações[(b)] nervo Frênico-Músculo diafragma de camundongo, observado no período total de 30 minutos, em intervalos de 5 minutos.**

(a) Usando um transdutor de força em um polígrafo.

(b) As preparações foram montadas em uma cuba de 2 mL com solução fisiológica, pH 7,3 – 7,4; continuamente gaseificada com 95% O_2 e 5% de CO_2 em um banho termostatizado com temperatura controlada e ajustada para 25,0 °C.

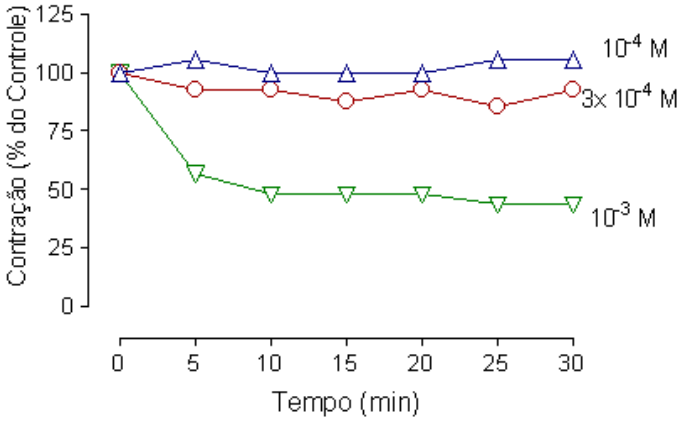


Figura III.11. **Registro[(a)] do efeito do cloreto de *N*-[(*N*,*N*-dimetilamino)etil]benzoato (composto <u>10</u>) nas concentrações de 10^{-4}, $3x10^{-4}$ e 10^{-3} M respectivamente, sobre a contração muscular induzida por estimulação elétrica nervosa em preparações[(b)] nervo Frênico-Músculo diafragma de camundongo, observado no período total de 30 minutos, em intervalos de 5 minutos.**

(a) Usando um transdutor de força em um polígrafo.

(b) As preparações foram montadas em uma cuba de 2 mL com solução fisiológica, pH 7,3 – 7,4; continuamente gaseificada com 95% O_2 e 5% de CO_2 em um banho termostatizado com temperatura controlada e ajustada para 25,0 ^oC.

IV. Resultados e Discussão

IV.1. Introdução

O estudo das Relações Quantitativas entre Estrutura química e Atividade biológica, incluindo-se estudos em três dimensões (*QSAR/QSAR-3D*) utilizando diferentes estratégias metodológicas complementares, aplicadas iterativamente, se estende a diferentes áreas de aplicação, seja no planejamento racional de novos fármacos, defensivos agrícolas, nos estudos de seus mecanismos de ação, na previsão da toxicidade de compostos e no controle ambiental (HANSCH & LEO, 1995; KUBINYI, 1993a; KUBINYI, 1993b). Diversos aspectos do estudo de *QSAR/QSAR-3D* estão sendo desenvolvidos no laboratório de *QSAR* do Instituto de Química da Universidade de São Paulo. Entre eles, destacam-se o estudo e a determinação de propriedades físico-químicas e estruturais, como lipofilicidade e variação da densidade eletrônica do grupo carbonila, de compostos com atividade biológica, em especial antiarrítmicos e anestésicos locais (TAVARES, 1987; SOUSA, 1997; AMARAL *et al.*, 1997; MALVEZZI, *et al.*, 2000; TAVARES & AMARAL, 1997; SIQUEIRA, 2001; MIGUEL, 1992); antitumorais (RAMINELI, 2001), antibacterianos (BARONI, 1987; TAVARES, 1993; PIRES, 1998; PIRES *et al.*, 2000; 2001); derivados não-nucleosídeos anti-HIV (ISHIKI, 1999; ISHIKI *et al.*, 2001) e, mais recentemente tuberculostáticos e antichagásicos, visando elucidar o(s) mecanismo(s) das interações expressas por cada um dos parâmetros, contribuir para elucidar mecanismo e poder prever derivados mais potentes.

Em um trabalho recente, realizado em nosso laboratório (SIQUEIRA, 2001), envolvendo a análise de QSAR aplicada aos valores do bloqueio da transmissão neuromuscular determinados para uma série de onze brometos de [2-(4-X-benzamido)etil]benzildimetilamônio substituídos, demonstraram haver correlação significativa entre a atividade biológica, expressa pelo parâmetro pIC_{50} e os respectivos parâmetros lipofílicos, expressos, por π, $logP_{app}^{SF\ (pH7,4)}$ e por $logP_{calc}$. A análise dos resultados obtidos confirmou tanto a importância da presença do grupo catiônico terminal como da lipofilicidade do compostos para o bloqueio da transmissão neuromuscular.

No presente trabalho, considerando a importância do estudo das propriedades de ADME no planejamento racional de novos fármacos ou moléculas candidatas a fármacos (TESTA, 2001; MALVEZZI *et al.*, 2001; GAVIRAGHI *et al.*, 2001), procurou-se descrever as interações hidrofóbicas determinantes da atividade bloqueadora neuromuscular potencial, para uma série de derivados da procaína (cloreto de 4-amino-N-[2-(dietilamino)etil]benzamida, *Figura I.11.*), a saber: cloretos de 3-(dimetilamina)propiofenona (composto **1**); de 3-(dietilamina)propiofenona (composto **2**); de 3-(1-pirrolidina)propiofenona (composto **3**); de 3-(1-piperidina)propiofenona (composto **4**); de 3-(1-morfolina)propiofenona (composto **5**); de 3-[1-(4-metilpiperazina)]propiofenona (composto **6**); de 3-(ciclo-hexilamina)propiofenona (composto **7**); de *N*-[(*N,N*-dimetilamino)etil]benzamida

(composto **8**); de *N*-[(*N,N*-dimetilamino) metil]benzamida (composto **9**) e, de *N*-[(*N,N*-dimetilamino)etil]benzoato (composto **10**), por nós sintetizados (*Figura II.1.* Materiais e Métodos). A seguir, foram desenvolvidos estudos comparativos dos correspondentes parâmetros hidrofóbicos e relacionados à ionização ($logP_{app}^{SF}$; $logP_n^{SF}$; $logP_i^{SF}$; $(pK_a^{aq})^{SF}$; $(pK_a^{oct})^{SF}$; $logP_{app}^{HPLC}$ $logP_n^{Pot}$; $logP_i^{Pot}$; $(pK_a^{aq})^{Pot}$; $logP_{calc}$) obtidos por três métodos experimentais (*Shake-flask*; por *HPLC* e potenciométrico) e, por cálculo (CLOGP), como modelo de partição para descrever a atividade biológica estudada. Os testes de atividade bloqueadora neuromuscular, avaliada em preparações neuromusculares de camundongos, foram realizados para todos os compostos, em colaboração e, sob a responsabilidade do Prof. Dr. Antônio José Lapa, no Departamento de Farmacologia da Universidade Federal de São Paulo (UniFeSP).

Na literatura são encontradas inúmeras análises de QSAR de compostos ionizáveis (SCHERRER, 2001; FRUTTERO *et al.*, 1998), nas quais as correlações entre a resposta biológica e os valores do coeficiente de partição das espécies ionizada ($logP_i$) e não ionizada ($logP_n$) são estatisticamente idênticas. Isto ocorre porque, na maior parte dos casos, os valores de $logP_i$ e de $logP_n$ são altamente intercorrelacionados. Deste modo, neste trabalho procurou-se distinguir os parâmetros hidrofóbicos $logP_i$ de $logP_n$, visando modelar a contribuição relativa das formas catiônica e neutra, e assim determinar qual a espécie responsável pela atividade bloqueadora neuromuscular dos derivados da procaína estudados neste trabalho (compostos **1** –**10**).

IV.2. Compostos estudados

IV.2.1. Critérios de seleção dos compostos

A seleção dos compostos da série de análogos da procaína foi feita de acordo com os critérios sugeridos por Scherrer (2001).

Os critérios propostos por Scherrer estão de acordo com o critério sugerido por Craig (1971), para escolha de parâmetros em análises de *QSAR*. Em análises do tipo Hansch, para que se possa distinguir as contribuições dos diferentes parâmetros para a resposta biológica, seus valores devem apresentar um grande intervalo de variação, suficiente para que se possa observar, se for o caso, efeitos significativos sobre a resposta biológica e, ainda mais, na série estudada, os parâmetros não devem apresentar intercorrelação significativa, ou seja, os valores do coeficiente de correlação (r) nas intercorrelações entre os parâmetros analisados devem, idealmente, ser menores que 0,3

Baseando-se no modelo de partição de compostos ionizáveis em um sistema bifásico, apresentado e descrito na *Figura I.5.* da Introdução, Scherrer (2001) propõe que um aumento seletivo da estabilidade da espécie ionizada (BH^+) na fase orgânica, tipicamente *n*-octanol, levaria à

uma diminuição do valor de $logP_i$ independentemente do valor de $logP_n$. Ou seja, quanto mais estável for a espécie ionizada (BH^+) em *n*-octanol, em relação a sua estabilidade na fase aquosa, menor a concentração relativa de (BH^+) na fase aquosa e, portanto menor a diferença entre os valores de $logP_i$ e de $logP_n$. Assim, Scherrer supõe que, considerando os equilíbrios envolvidos na partição, é possível tornar não significativa a intercorrelação entre os valores de $logP_i$ e de $logP_n$.

É preciso considerar que, a estabilidade da espécie ionizada se refere a variação da energia livre envolvida no processo de transferência de (BH^+) da fase aquosa para a fase orgânica. Quanto menor for o gasto de energia envolvido na transferência de (BH^+) da fase aquosa para a fase orgânica, mais estável é esta espécie (BH^+) na fase orgânica e, mais deslocado estará o equilíbrio de partição em direção à fase orgânica.

Partindo-se do princípio de que na fase orgânica a espécie ionizada (BH^+) se encontra na forma de um par iônico (BH^+A^-), para que seja possível variar a estabilidade da espécie ionizada (BH^+) na fase orgânica, deve-se alterar as características estruturais dos compostos de modo que a estabilidade do par iônico (BH^+A^-) na fase orgânica seja modificada em relação a sua estabilidade na fase aquosa.

Pares iônicos são espécies neutras, formadas em solução pela atração eletrostática de espécies ionizadas com cargas opostas e são suficientemente lipofílicas para se dissolverem em uma fase orgânica apolar (QUITANAR-GUERRERO, 1997). Os pares iônicos são formados quando existe o contato íntimo entre estas espécies. Este processo é favorecido quando os íons que formam o par iônico apresentam as seguintes características: (1) contêm heteroátomos capazes de se coordenarem com um, ou com ambos os íons do par iônico; (2) apresentam um mínimo de impedimento estérico para a hidratação/solvatação dos íons; (3) são bases, ou ácidos fortes, ou são compostos com cargas permanentes; (4) são lipofílicos; (5) estão dissolvidos em solventes apolares.

Considerando os fatores que afetam a formação do par iônico, Scherrer (2001) propõe algumas mudanças estruturais para uma série de compostos, que levariam à variação da estabilidade relativa do par iônico, nesta série. As mudanças sugeridas por Scherrer são:

i. Adicionar, ou remover, heteroátomos que possam estabilizar o par iônico;

ii. Mudar a função química do grupamento ionizável;

iii. Variação do pK_a aquoso e

iv. Variação do impedimento estérico ao redor do grupamento ionizável.

Outro critério a ser observado na seleção dos compostos da série se refere às faixas de variação tanto do parâmetro hidrofóbico analisado bem como do parâmetro biológico, devendo estas ser significativas.

Neste trabalho, foram levados em conta ainda, para a escolha da série de compostos os critérios que consideram: simplicidade na síntese dos compostos, com rotas sintéticas descritas na

literatura, da disponibilidade de reagentes e da manutenção das características estruturais mínimas necessárias para a conservação da atividade bloqueadora neuromuscular dos compostos.

A partir dos critérios enumerados e discutidos anteriormente, foi proposta inicialmente uma série de compostos, na qual todos os requisitos estariam completamente satisfeitos. Assim, estariam incluídos, além dos compostos já mencionados, também os seguintes compostos: cloretos de (i) 3-(di-*iso*-propil)-propiofenona; (ii) de 3-(*terc*-butil)-propiofenona; (iii) de 3-metil-propiofenona; (iv) de 3-dietanol-propiofenona (v) de 3-(di-*n*-butilamina)propiofenona. Suas preparações foram tentadas exaustivamente, entretanto, por dificuldades encontradas nos procedimentos de preparação e de purificação, estes compostos não foram incluídos, até o momento, no trabalho.

IV.2.2. Preparação, purificação e, identificação dos compostos

Da série de análogos da procaína selecionados, compostos **1** a **10**, dois deles já haviam sido anteriormente sintetizados em nosso grupo e, foram imediatamente utilizados. São eles: o cloreto de *N*-[(*N,N*-dimetilamino)metil]benzamida, (composto **9**) preparado por Y. Miyazaki (AMARAL, *et al.*, 1995) de acordo com os procedimentos indicados por Hellmann (HELLMANN, 1957; ZANATTA & RITTNER, 1983) e, o cloreto de *N*-[(*N,N*-dimetilamino)etil]benzoato (composto **10**) preparado por Wander A. de Souza (SOUSA, 1997) de acordo com os procedimentos indicados por Rabjohn (RABJOHN, 1955). O grau de pureza para cada composto foi avaliado pelo correspondente ponto de fusão (P.F.) - não corrigido – e, pela correspondente análise elementar.

Os compostos de **1** a **7** da série de análogos da procaína, a saber: cloretos de 3-(Y) propiofenona, sendo Y = $-N(CH_3)_2$ (**1**); $-N(CH_2CH_3)_2$ (**2**); 1-pirrolidina (**3**); 1-piperidina (**4**); 1-morfolina (**5**); [1-(4-metilpiperazina)] (**6**) e ciclo-hexilamina (**7**) foram preparados, procedendo-se de acordo com método trivial, descrito na literatura (BECKER *et al.*, 1997; TRAMONTINI & ANGIOLINI, 1990; TRAMONTINI, 1973), pela reação de Mannich, a partir da condensação da acetofenona com formaldeído e a amina correspondente.

As aminas de partida foram utilizadas em suas formas de base livre ou do correspondente cloreto, de acordo com a disponibilidade dos reagentes. Com exceção do composto **2**, o cloreto de 3-(dietilamina)propiofenona, as preparações de todos os compostos da série (compostos **1** e, **3** a **7**) partiram das correspondentes aminas como bases livres. A preparação do composto **2** partiu da amina correspondente, na forma de seu cloridrato.

O cloreto de *N*-[(*N,N*-dimetilamino) etil]benzamida (composto **8**) foi preparado a partir do cloreto de benzoíla, procedendo-se de acordo com métodos triviais descritos na literatura (TESTA, 1983).

Na *Tabela III.1.* (parte experimental) estão apresentados os valores correspondentes das constantes físicas, dos rendimentos, das massas obtidas nas preparações e dos resultados relativos às análises elementares para os compostos preparados (compostos **1** a **8**).

Os rendimentos observados para a preparação de cada composto da série (compostos **1** a **8**) variaram de 25 a 80%. Estes foram calculados para o composto puro, adotando-se os resultados das análises elementares observadas (CHN) como critério de pureza.

Os baixos rendimentos observados nas preparações dos compostos **4** (30%) e **6** (25%), podem ser atribuídos à grande solubilidade dos compostos na mistura de solventes (água/etanol) utilizada na recristalização, causando perdas de material na etapa de recristalização.

Como pode ser observado na *Tabela III.1.*, para o composto **5** (o cloreto de 3-[1-(4-metilpiperazina)]propiofenona), as análises elementares de C, H e N foram calculadas incluindo-se 0,3 moléculas de água para cada molécula do composto.

Todos os compostos preparados (compostos **1** a **8**) foram identificados e caracterizados através dos correspondentes espectros na região do I.V., de RMN ^{1}H e de RMN^{13}C. Estão apresentados nas *Tabelas III.2.*; *III.3.* e *III.4.* (parte experimental) os valores, respectivamente, das freqüências de absorção características na região do infravermelho, dos deslocamentos químicos observados nos espectros de RMN de ^{1}H, de RMN de ^{13}C para os compostos **1** a **8**. Estes se mostraram concordantes com as estruturas propostas.

IV.3. Parâmetros Hidrofóbicos

Os parâmetros hidrofóbicos descrevem a lipofilicidade de compostos, que é uma das propriedades responsáveis tanto pelos processos de solubilização, de penetração, de distribuição e de metabolismo de compostos bioativos nos sistemas biológicos bem como pelas interações não-específicas que ocorrem na aproximação do composto ao(s) seu(s) alvo(s) biológico(s). O estudo das interações hidrofóbicas, visando à otimização da lipofilicidade de um composto bioativo e, portanto, das propriedades farmacocinéticas de moléculas candidatas a fármacos, deve ser uma preocupação presente já nas etapas iniciais de desenvolvimento de um novo fármaco. É reconhecido na literatura (GAVIRAGHI *et al.*, 2001) que, freqüentemente, moléculas candidatas a fármacos, geradas em estudos de QSAR-3D, como por exemplo, baseados apenas na estrutura do receptor, não se tornam fármacos por estes apresentarem propriedades farmacocinéticas inadequadas, ou seja, ADME (absorção, distribuição, metabolismo e excreção). Desta forma, ressalta-se a importância do *QSAR clássico* como uma ferramenta de grande valor, principalmente na compreensão da contribuição das propriedades físico-químicas, identificadas como sendo responsáveis pela atividade (KUBINYI, 1993).

Neste trabalho, estudando-se série de derivados da procaína, reconhecido anestésico local de uso na clínica médica, a determinação de parâmetros estruturais, que descrevam a(s) interação(ões)

hidrofóbicos (de naturezas inter- e intra-moleculares) se faz necessária pela significativa contribuição da lipofilicidade para descrever tanto a potencial atividade anestésica local bem como o potencial bloqueio da transmissão neuromuscular esperados para a série estudada (compostos **1** – **10**). Adicionalmente, o parâmetro hidrofóbico, determinado tanto por diferentes metodologias experimentais como por cálculo, permite além da análise comparativa *per se*, a avaliação de cada uma das metodologias com respeito ao procedimento experimental adotado e ao sistema, como modelo para a partição, desta série de compostos, no sistema biológico.

IV.3.1. Obtenção dos valores do coeficiente de partição por cálculo ($logP_{calc}$)

Os valores de $logP_{calc}$ foram obtidos pelo programa CLOGP (Biobyte Corp., 1995) para os compostos da série de derivados da procaína (compostos **1** – **10**) estão apresentados na *Tabela III.28.* da parte experimental. Os valores de $logP_{calc}$ estão na faixa de 0,8 a 3,2.

Conforme apresentado e discutido na Introdução, o programa CLOGP considera a aditividade da contribuição hidrofóbica de cada fragmento dos compostos, baseando-se em dados experimentais, acrescidos de fatores de correção relativos à conformação, à ramificação, a efeitos de proximidade entre grupamentos polares, entre outros. A comparação dos valores de $logP_{calc}$ e do coeficiente de partição determinado experimentalmente ($logP_{exp}$) permite verificar a(s) natureza(s) das interações hidrofóbicas expressas nos valores de $logP_{exp}$. A observação de correlação não significativa entre os valores de $logP_{calc}$ e de $logP_{exp}$ pode sugerir a presença de interações, expressas pelos dados experimentais, no entanto, não previstas no programa CLOGP (LEO, 1993; KARAJIANNIS & WATERBEEMD, 1995). Neste trabalho, os valores obtidos de $logP_{calc}$ foram utilizados como uma das ferramentas para a interpretação das interações expressas nos valores experimentais de $logP_{app}^{SF}$; de $logP_{app}^{HPLC}$ de $logP_n^{Pot}$ e, de $logP_i^{Pot}$.

IV.3.2. Determinação dos valores do coeficiente de partição por *Shake-flask* ($logP_{app}^{SF}$)

Como parâmetro lipofílico, foram determinados os valores do coeficiente de partição dos compostos da série de derivados da procaína, (compostos **1** a **10**) obtidos pelo método *Shake-flask* ($logP_{app}^{SF}$), utilizando-se *n*-octanol como fase orgânica e diferentes soluções tampão, respectivamente nos valores de pH iguais a: 3,0; 4,0; 5,0; 6,0; 7,0; 8,0; 9,0; 10,0; 11,0 sendo μ = 0,10 M (acertada com NaCl)) como fase aquosa, procedendo-se de acordo com indicações de Dearden e Bresnen (1988) e de Amaral (AMARAL *et al.*, 1997).

Como apresentado e discutido na Introdução, o coeficiente de partição de compostos ionizáveis é muito sensível a variações no pH da fase aquosa e a natureza da solução tampão utilizada. Muitos trabalhos deste grupo (MALVEZZI, 2000) e de outros pesquisadores (DEARDEN & BRESNEM, 1988; COMER & TAM, 2001; MEYER MANNING, 1998) ressaltam a importância

da escolha da natureza do tampão e do controle do pH nos procedimentos de determinação do coeficiente de partição por *Shake-flask*. A natureza de cada solução tampão utilizada foi selecionada de modo que estas mantivessem o poder tamponante nos intervalos de pH definidos acima. Para tanto, foram escolhidas espécies tamponantes com valores de pK_a até uma unidade logarítmica distantes (± 1,0) do valor de pH desejado. A concentração da espécie tamponante no valor de 0,05 M, foi considerada suficiente para tamponar a fase aquosa, considerando-se que a faixa de concentração dos compostos utilizada na partição foi de $1x10^{-4}$ a $1x10^{-5}$M. As espécies tamponantes selecionadas eram transparentes à radiação ultravioleta (UV), condição necessária para o uso do método espectrofométrico. E, finalmente, as espécies tamponantes eram derivadas de ácidos ou bases inorgânicos muito pouco lipofílicos, de modo que as mesmas não seriam, significativamente, extraídas pelo *n*-octanol durante a partição.

O valor da força iônica das soluções tampão foi ajustado para 0,10 M com a adição de NaCl. A influência da força iônica na determinação dos valores de $logP_{app}$ foi por nós, anteriormente, observada (MALVEZZI, 1999) e é um tema muito discutido na literatura (DEARDEN & BRESNEM, 1988; TAKÁCS-NOVÁK, 1999; QUITANAR-GUERRERO, 1997). Neste trabalho o valor da força iônica foi fixado e mantido constante, dentro das condições experimentais, em todos os procedimentos experimentais. O valor limite de 0,10 M foi escolhido pois está de acordo com as recomendações de Dearden (DEARDEN & BRESNEM, 1988) e, ainda, se aproxima do valor da força iônica nos compartimentos biológicos, (tipicamente ao redor de 0,15 M (HARDMAN *et al.*, 1996). O NaCl foi scolhido para o ajuste de força iônica pois é um sal formado por espécies presentes no sistema biológico; é praticamente transparente para a radiação ultravioleta e não se particiona significativamente em *n*-octanol.

A faixa de concentração inicial de cada um dos compostos utilizada na partição foi de $1x10^{-4}$ a $1x10^{-5}$ M. Estes valores se encontravam dentro da faixa de detecção do espectrofotômetro empregado para a avaliação da partição, e na faixa de concentração em que a lei de Lambert-Beer é observada. Segundo Dearden (DEARDEN & BRESNEM, 1988), a concentração dos solutos em determinações experimentais de *Shake-flask* deve ser sempre baixa para evitar a auto-associação dos mesmos, na fase aquosa, e/ou a formação de micelas e, para que os valores de concentrações se mantenham próximos dos valores de atividade (***a***), que correspondem as concentrações tendendo a zero.

Os valores dos volumes da fase aquosa e da fase orgânica utilizados em cada procedimento experimental para a determinação dos valores de $logP_{app}^{SF}$ dos compostos **1** –**10** da série estudada estão indicados nas *tabelas III. 5–15* (Parte Experimental). Os volumes da fase aquosa e da fase orgânica foram pré-estabelecidos baseando-se em valores de $logP_{app}^{SF}$ estimados. Para compostos lipofílicos, ou seja, cujos valores de $logP_{app}^{SF.}$estimados eram maiores que zero, foram utilizados volumes da fase aquosa maiores que os volumes da fase orgânica (*n*-octanol). De modo contrário,

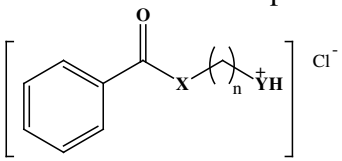
para compostos hidrofílicos, ou seja, cujos valores de $logP_{app}^{SF}$ estimados eram menores que zero, foram utilizados volumes da fase aquosa menores que os volumes da fase orgânica (*n*-octanol). Este procedimento, recomendado na literatura (HANSCH, 1995), visa garantir que as concentrações do soluto ao final da partição sejam iguais, ou próximas, nas duas fases e assim, não se introduza um erro analítico adicional devido ao limite de detecção do espectrofotômetro. Dearden (DEARDEN & BRESNEN, 1988) definiu que para garantir que as concentrações dos compostos fossem próximas nas duas fases, a razão entre o valor da constante de partição (P) e a relação de volumes (R_v), ou seja a razão P/R_v deveria estar na faixa de valores de 1 a 10. Os valores de P/R_v estão apresentados na *tabelas III 6 – 15*.

Devido a grande solubilidade de água no *n*-octanol (2,3 mol/L ou aproximadamente 4/1 *n*-octanol/água), tanto a fase aquosa quanto a fase orgânica são pré-saturadas mutuamente para evitar que a extração de água pelo *n*-octanol altere a relação de volumes durante a partição. Segundo Dearden (DEARDEN & BRESNEM, 1988), a pré-saturação das fases deve ser feita sob constante agitação por um período de pelo menos 3 horas, em um banho termostatizado com temperatura controlada. A temperatura do banho (25 ± 1 ^{o}C) deve ser a mesma a ser utilizada no procedimento da partição.

O sistema de partição foi mantido sob agitação magnética, em um banho termostatizado com temperatura controlada e ajustada para 25 ± 1 ^{o}C, por um período de aproximadamente 1 hora para garantir condições de equilíbrio entre as concentrações dos compostos nas duas fases. A falta de controle e de manutenção da temperatura durante a partição, segundo Dearden (DEARDEN & BRESNEM, 1988), é um dos fatores responsáveis pela não reprodutibilidade dos valores de *logP*, obtidos experimentalmente. Após o período de agitação, o sistema de partição foi centrifugado para acelerar a separação fases. A estabilidade de cada um dos compostos, durante a partição, foi avaliada observando-se as absorbâncias dos mesmos antes e, depois da partição. A faixa de decomposição observada foi menor do que 1% para todos os compostos da a série estudada.

A determinação das concentrações do soluto antes e, depois da partição, foi feita somente na fase aquosa. Segundo Dearden, a determinação da concentração deve ser, preferencialmente, nas duas fases. No entanto, a determinação da concentração do soluto nas duas fases é essencial apenas quando os solutos em estudo são voláteis ou podem sofrer adsorção, o que não ocorre na série estudada. Os valores de $logP_{app}^{SF}$ dos compostos **1** – **10** da série de derivados da procaína estão apresentados na *Tabela IV.1.* Como exemplo, os valores obtidos no pH 3,0 estão na faixa de –2,50 a -0,04, enquanto que os valores obtidos no pH 10,0 estão na faixa de 0,80 a 2,44. Estes valores se encontram dentro da faixa de valores adequada à metodologia *Shake-flask* que é de –3,0 a 3,0 (DEARDEN & BRESNDEN, 1988).

Tabela IV.1. Valores[(a)] de $logP_{app}^{SF}$ determinados na faixa de valores de pH 3,0 a 10,0 por *Shake-flask,* usando *n*-octanol/tampão[(b)], μ = 0,10 M (NaCl) e à 23±1 °C, para os compostos da série de derivados da procaína (compostos **1** –**10**).



N	X	n	Y	3,0	4,0	5,0	6,0	7,0	8,0	9,0	10,0
1	$-CH_2-$	1	$-N(CH_3)_2$	-1,77 ± 0,02	-1,60 ± 0,02	-1,43 ± 0,01	-1,14 ± 0,01	-0,33 ± 0,01	0,54 ± 0,03	1,21 ± 0,01	1,74 ± 0,01
2	$-CH_2-$	1	$-N(C_2H_5)_2$	-1,36 ± 0,01	-1,16 ± 0,02	-0,99 ± 0,01	-0,77 ± 0,01	-0,02 ± 0,01	0,89 ± 0,01	1,39 ± 0,03	1,57 ± 0,02
3	$-CH_2-$	1	-Pirrolidino	-1,31 ± 0,01	-1,33 ± 0,06	-1,17 ± 0,01	-0,98 ± 0,02	-0,23 ± 0,01	0,71 ± 0,01	1,43 ± 0,01	1,89 ± 0,02
4	$-CH_2-$	1	-Piperidino	-0,89 ± 0,03	-0,86 ± 0,01	-0,77 ± 0,02	-0,55 ± 0,02	0,46 ± 0,02	1,22 ± 0,02	1,84 ± 0,01	2,38 ± 0,08
5	$-CH_2-$	1	-Morfolino	-1,58 ± 0,02	-1,17 ± 0,05	-0,57 ± 0,06	-0,38 ± 0,01	1,05 ± 0,01	1,21 ± 0,01	1,24 ± 0,01	1,25 ± 0,01
6	$-CH_2-$	1	-Piperazino	-2,50 ± 0,06	-1,52 ± 0,06	-1,24 ± 0,02	-0,56 ± 0,01	0,12 ± 0,01	0,82 ± 0,01	1,07 ± 0,08	1,18 ± 0,01
7	$-CH_2-$	1	-c-hexilamino	-0,04 ± 0,01	0,02 ± 0,02	0,05 ± 0,02	0,15 ± 0,01	0,50 ± 0,01	1,30 ± 0,03	1,98 ± 0,01	2,44 ± 0,04
8	- NH-	2	$-N(CH_3)_2$	-1,72 ± 0,01	-1,84 ± 0,10	-1,72 ± 0,05	-1,43 ± 0,01	-0,53 ± 0,01	0,30 ± 0,01	0,78 ± 0,02	1,07 ± 0,01
9	- NH-	1	$-N(CH_3)_2$	-1,67 ± 0,04	-1,62 ± 0,07	-1,26 ± 0,02	-0,56 ± 0,08	0,22 ± 0,04	0,72 ± 0,04	0,71 ± 0,05	0,80 ± 0,01
10	-O-	2	$-N(CH_3)_2$	-1,43 ± 0,04	-1,44 ± 0,08	-1,12 ± 0,01	-0,35 ± 0,11	0,54 ± 0,03	1,36 ± 0,02	1,69 ± 0,02	1,74 ± 0,10

(a) Os números representam as médias mais os intervalos do desvio padrão das medidas experimentais realizadas em duplicata.

(b) Soluções tampão: pH=3,0/Fosfato; pH=4,0/Acetato; pH=5,0/ Acetato; pH=6,0/Citrato; pH=7,0/Fosfato; pH=8,0/Tris; pH=9,0/Tris; pH=10,0/Borato.

Os valores de $logP_{app}$ obtidos nos valores de pH 3,0 e de 10,0 foram comparados com os valores de $logP_{calc}$, (ver *Tabela IV.4.*), pois estes representam os limites experimentais de pH onde o grau de ionização dos compostos é máximo e mínimo, respectivamente (valores pK_a na faixa de 6,8 a 9,3). Supõe-se, desta forma, que nestes valores de pH haja contribuição significativa para a partição de apenas uma das espécies.

O programa computacional CLOGP se baseia em dados experimentais e não considera a contribuição da ionização para a partição, enquanto que o método *Shake-flask* é uma medida experimental e direta da partição. Considerando-se tanto o baixo grau de ionização da série de compostos em pH 10,0 (valores de pK_a na faixa de 6,8 a 9,3) bem como a constatação de um grau de decomposição não significativo, (de no máximo 1% para o composto **8**), a análise das diferenças entre os valores de $logP_{app}^{SF}$ pH 10,0 com os valores observados de CLOGP podem indicar o quanto os valores $logP_{calc}$ modelam as interações expressas pelos valores de $logP_{app}^{SF}$.

Como pode ser observado na *figura IV.1* não se observa uma correlação linear ideal (a = 0,57) entre os valores de $logP_{calc}$ e de $logP_{app}^{SF}$ (pH = 10,0), incluindo-se, ou não, uma variável indicadora da presença das funções éster ou, amida (compostos **10** e **8**; **9**). Entretanto, na *Tabela IV.2* a análise dos valores observados para os incrementos (Δ) permite separar, dentro do erro experimental, a série de compostos em dois grupos: (i) compostos que contêm a função éster ou amida (compostos **10** e **8**; **9**) apresentando valor da média dos incrementos $\Delta = -0{,}1$ e, (ii) compostos contendo a função cetona, com exceção do composto **1**, apresentando valor da média dos incrementos Δ = -0,8. Constatação análoga é observada comparando-se os valores de $logP_{app}^{SF}$ respectivamente em valores de pH 3,0 e de 10,0. (*Figura IV.3.*).

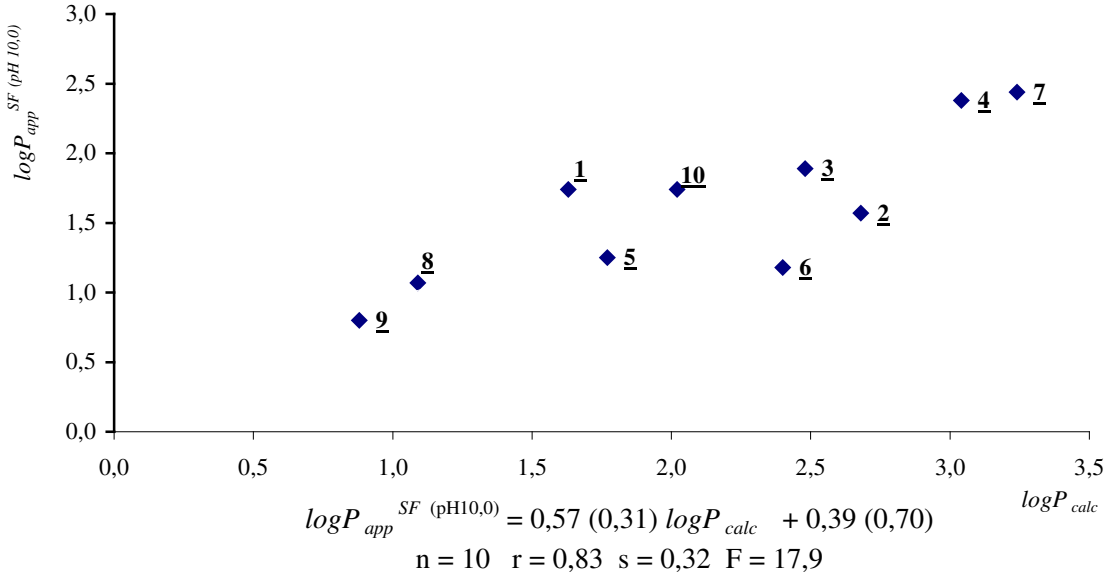


Figura IV.1. **Gráfico e equação de correlação obtidos entre os valores de $logP_{app}^{SF(a)}$ (pH = 10,0) e de $logP_{calc}^{(b)}$, para a série de derivados da procaína, compostos 1 - 10.**

(a) Determinados em duplicata, usando *n*-octanol/tampão (ácido bórico/borato de sódio), μ= 0,10 M (NaCl) e a 23±1 °C.

(b) Obtidos pelo programa CLOGP (Biobyte Corp., 1995)

Na *figura IV.2.* não se observa uma correlação linear ideal entre os valores de $logP_{calc}$ e de $logP_{app}^{SF}$ (pH = 3,0). No entanto, como mostrado na *tabela IV.2.,* avaliando-se as diferenças entre os valores de $logP_{calc}$ e de $logP_{app}^{SF}$ (pH = 3,0), no qual os compostos se apresentam com alto grau de ionização, pode-se avaliar as correspondentes contribuições da ionização, ou da espécie ionizada, para a partição. Assim, constata-se que a contribuição para a ionização permaneceu constante, dentro do erro experimental, apresentando valor da média dos incrementos Δ = -3,4 para a série de compostos, exceto para o composto **6** (Δ = -4,9). Este fato pode ser explicado considerando a segunda ionização do composto **6**.

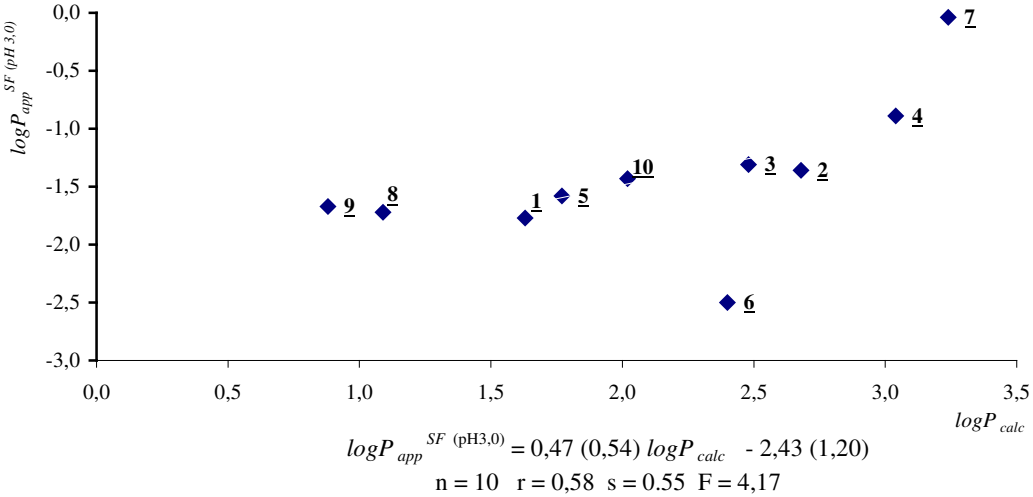


Figura IV.2. **Gráfico e equação de correlação obtidos entre os valores de $logP_{app}^{SF}$[(a)] (pH = 3,0) e de $logP_{calc}$[(b)], para a série de derivados da procaína, compostos 1 - 10.**

(a) Determinados em duplicata, usando *n*-octanol/tampão (fosfato), μ= 0,10 M (NaCl) e a 23±1 ºC.

(b) Obtidos pelo programa CLOGP (Biobyte Corp., 1995)

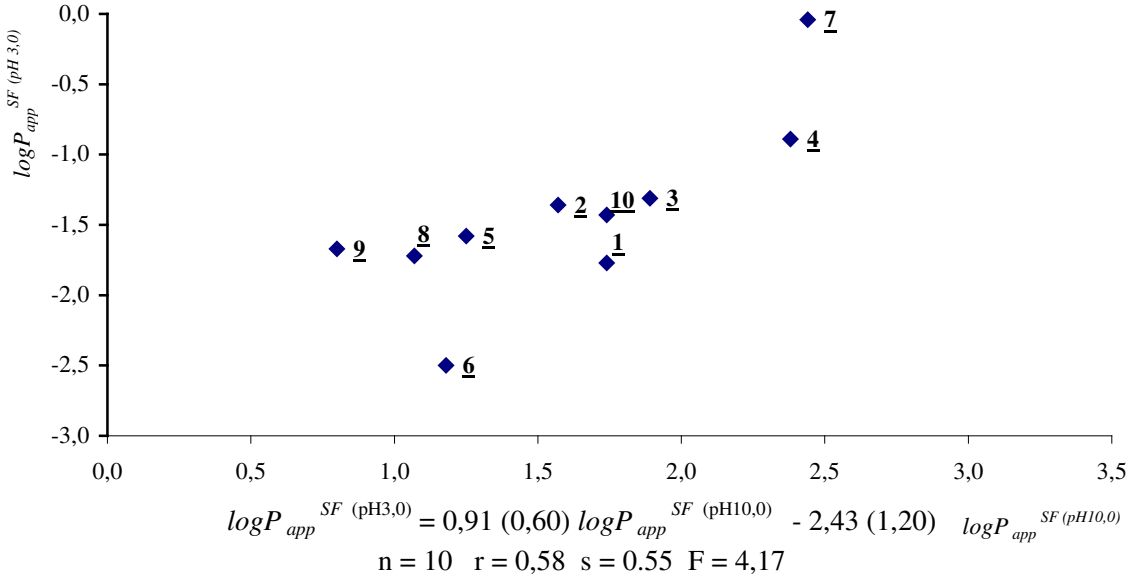
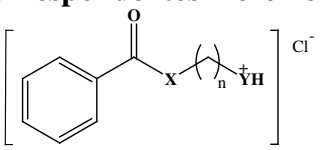


Figura IV.3. **Gráfico e equação de correlação obtidos entre os valores de $logP_{app}^{SF}$ respectivamente nos valores de pH 3,0[(a)] e 10,0[(b)], para a série de derivados da procaína, compostos 1 - 10.**

(a) Determinados em duplicata, usando *n*-octanol/tampão (ácido fosfórico/fosfato de sódio), μ= 0,10 M (NaCl) e a 23±1 ºC.

(b) Determinados em duplicata, usando *n*-octanol/tampão (ácido bórico/borato de sódio), μ= 0,10 M (NaCl) e a 23±1 ºC.

Tabela IV.2. **Valores[(a)] de $logP_{app}$ nos valores de pH (3,0[(b)] e 10,0[(c)]) determinados por *Shake-flask*[(d)]) e, de $logP_{calc}$[(e)], obtidos por cálculo, para os compostos da série de derivados da procaína (compostos 1 –10) e, dos correspondentes incrementos (Δ[(f,g)])**



Composto				$logP_{app}^{SF}$[(d)]		$logP_{calc}$[(e)]	Incremento	
N	X	n	Y	pH 3,0[(b)]	pH 10,0[(c)]	CLOGP	Δ[(f)]	Δ[(g)]
1	-CH2-	1	-N(CH3)2	-1,77 (0,02)	1,74 (0,01)	1,63	-3,4	0,11
2	-CH2-	1	-N(C2H5)2	-1,36 (0,01)	1,57 (0,02)	2,68	-4,04	-1,11
3	-CH2-	1	-Pirrolidino	-1,31 (0,01)	1,89 (0,02)	2,48	-3,79	-0,59
4	-CH2-	1	-Piperidino	-0,89 (0,03)	2,38 (0,08)	3,04	-3,93	-0,66
5	-CH2-	1	-Morfolino	-1,58 (0,02)	1,25 (0,01)	1,77	-3,35	-0,52
6	-CH2-	1	-Piperazino	-2,50 (0,06)	1,18 (0,01)	2,4	-4,9	-1,22
7	-CH2-	1	-c-hexilamino	-0,04 (0,01)	2,44 (0,04)	3,24	-3,28	-0,8
8	- NH-	2	-N(CH3)2	-1,72 (0,01)	1,07 (0,01)	1,09	-2,81	-0,02
9	- NH-	1	-N(CH3)2	-1,67 (0,04)	0,80 (0,01)	0,88	-2,55	-0,08
10	-O-	2	-N(CH3)2	-1,43 (0,04)	1,74 (0,10)	2,02	-3,45	-0,28

(a) Os números entre parênteses representam os valores dos intervalos do desvio padrão das médias das medidas experimentais realizadas em duplicata
(b) Solução tampão ácido fosfórico/NaOH, μ = 0,10 M (NaCl).
(c) Solução tampão ácido bórico/NaOH; μ = 0,10 M (NaCl).
(d) Obtidos, em duplicata, usando *n*-octanol/tampão, μ= 0,10 M (NaCl) e a 23±1 ºC.
(e) Valores estimados. Obtidos pelo programa CLOGP (Biobyte Corp., 1995)
(f) Diferença entre os correspondentes valores de $logP_{calc}$ e de $logP_{app}^{SF}$ (pH = 3,0)
(g) Diferença entre os correspondentes valores de $logP_{calc}$ e de $logP_{app}^{SF}$ (pH = 10,0)

A lipofilicidade de compostos ionizáveis no sistema biológico pode variar de acordo com o pH do compartimento em que se encontram, determinando muitas vezes, a resposta biológica (TESTA *et al*., 2000)

Neste trabalho, considerando que os compostos da série de derivados da procaína contêm um grupamento amino terminal ionizável, determinaram-se em condições experimentais equivalentes, os correspondentes valores de $logP_{app}^{SF}$ em diferentes valores de pH, apresentados na *tabela IV.1.* As variações dos valores de $logP_{app}^{SF}$ em função do pH podem ser convenientemente analisadas através dos correspondentes perfis de $logP_{app}$ *versus* pH, bem como através das lipofilicidades relativas dos compostos da série, em função do pH.

Para cada composto da série (compostos **1** a **10**), a partir dos valores de $logP_{app}^{SF}$ obtidos em diversos valores de pH, tipicamente de 3,0 a 10,0, constrói-se o perfil $logP_{app}$ *versus* pH. O perfil $logP_{app}$ *versus* pH é um gráfico que mostra como o valor do coeficiente de partição de um dado composto varia em relação ao pH. Os gráficos com os perfis $logP_{app}^{SF}$ *versus* pH, determinados para cada composto da série de derivados da procaína (compostos **1** a **10**) estão apresentados nas *figuras IV.4 – 13* , respectivamente.

Para cada composto da série (compostos **1** a **10**), do correspondente gráfico do perfil $logP_{app}^{SF}$ *versus* pH podem ser obtidos graficamente os respectivos valores das constantes de

ionização na fase aquosa (pK_a^{aq}) e em *n*-octanol (pK_a^{oct}) e os valores do coeficiente de partição das espécies ionizada ($logP_i$) e, não ionizada ($logP_n$), como apresentado e discutido na *Figura I.7.* da Introdução. Estes quatro termos, quais sejam: pK_a^{aq}, pK_a^{oct}, $logP_n$ e, $logP_i$ descrevem os quatro equilíbrios presentes no modelo de partição de moléculas ionizadas (COMER & TAM, 2001), ilustrado na *Figura I.5.* da Introdução.

Alternativamente, pode-se obter os valores, respectivamente, do pK_a^{aq}, do pK_a^{oct}, do $logP_n$ e do $logP_i$ através do ajuste dos termos da *equação 52,* proposta neste trabalho, aos valores de $logP_{app}^{SF}$, obtidos pelo método *Shake-flask*, usando *n*-octanol/tampão, μ= 0,10 M (NaCl) e a 23±1 °C. Este ajuste foi feito utilizando a opção "*Non-Linear Curve Fit"* disponível no programa Origin 6.0 (OriginLab® Corporation © 1991-2002).

$$logP_{app} = log(P_i+P_u10^{pH - pK_a^{aq}})-log(1+(P_i\ 10^{pH - pK_a^{oct}}/P_u)) \qquad \textit{(equação 52)}$$

onde:

$logP_{app}$ é o valor do coeficiente de partição aparente
$logP_n$ é o valor do coeficiente de partição da espécie não-ionizada
$logP_i$ é o valor do coeficiente de partição da espécie ionizada
pK_a^{aq} é o valor da constante de ionização do composto na fase aquosa
pK_a^{oct} é o valor da constante de ionização do composto na fase orgânica

A *equação 52* foi proposta neste trabalho, a partir da substituição de cada uma das equações, relativas aos quatro equilíbrios presentes na partição de compostos ionizáveis (*equações 53 –56*), na equação que relaciona os valores das concentrações de cada espécie com o valor de $logP_{app}$ (*equação 37*). A seguir, estão apresentadas, respectivamente, as equações que representam cada um dos equilíbrios presentes na partição de compostos ionizáveis, em um sistema bifásico.

a) <u>Equilíbrio de ionização de uma base fraca em solução aquosa</u> (*equação 53*):

$$pK_a^{aq} = log([BH^+]^{aq}/[H^+][B]^{aq}) \qquad (\textit{equação 53})$$

onde:

pK_a^{aq} é o logaritmo negativo da constante de ionização em solução aquosa
$[H^+]$ é a concentração molar do íon H^+ na fase aquosa
$[BH^+]^{aq}$ é a concentração molar da espécie ionizada na fase aquosa
$[B]^{aq}$ é a concentração molar da espécie não-ionizada na fase aquosa

b) <u>Equilíbrio de partição da espécie não ionizada entre a fase aquosa e o *n*-octanol</u> (*equação 54*):

$$logP_n = log([B]^{oct}/[B]^{aq}) \qquad (\textit{equação 54})$$

onde:

$logP_n$ é o logaritmo do coeficiente de partição da espécie não-ionizada
$[B]^{oct}$ é a concentração molar da espécie não-ionizada na fase orgânica
$[B]^{aq}$ é a concentração molar da espécie não-ionizada na fase aquosa

c) Equilíbrio de ionização de uma base fraca na fase orgânica (*n*-octanol) (*equação 55*):

$$pK_a^{oct} = log([BH^+]^{oct}/[H^+][B]^{oct}) \qquad (equação\ 55)$$

onde:

pK_a^{oct} é o logaritmo negativo da constante de ionização na fase orgânica (definida como o pH da solução aquosa, em que a concentração das espécies ionizada e, não-ionizada, são iguais, na fase orgânica

$[H^+]$ é a concentração molar do íon H^+ na fase aquosa

$[BH^+]^{oct}$ é a concentração molar da espécie ionizada na fase orgânica

$[B]^{oct}$ é a concentração molar da espécie não-ionizada na fase orgânica

d) Equilíbrio de partição da espécie ionizada entre a fase aquosa e a fase orgânica(*equação 56*):

$$logP_i = log([BH^+]^{oct}/[BH^+]^{aq}) \qquad (equação\ 56)$$

onde:

$logP_i$ é o logaritmo do coeficiente de partição da espécie ionizada

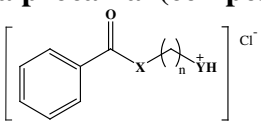
$[BH^+]^{oct}$ é a concentração molar da espécie ionizada na fase orgânica

$[BH^+]^{aq}$ é a concentração molar da espécie ionizada na fase aquosa

A *equação 52* descreve a variação dos valores de $logP_{app}$ de modo análogo à *equação 38,* que está descrita na literatura (KUBINYI, 1993; COMER & TAM, 2001) e está apresentada e discutida na Introdução. Entretanto, diferentemente da abordagem anterior que descreve os valores de $logP_{app}$ em função dos termos, respectivamente, pK_a^{aq}, $logP_n$ e $logP_i$, a *equação 52* permite que se obtenha através de um único ajuste, simultaneamente os termos relativos aos quatro equilíbrios presentes na partição, ou seja, os valores, respectivamente, de pK_a^{aq}, de pK_a^{oct}, de $logP_n$ e de $logP_i$. Nas *figuras IV.4 – 13* estão apresentados, respectivamente, os resultados dos ajustes da *equação 38* e da *equação 52* aos valores de $logP_{app}^{SF}$ obtidos para cada um dos compostos da série de derivados da procaína, determinados por *Shake-flask,* em diversos valores de pH, usando-se o sistema de solventes *n*-octanol/tampão, com força iônica μ= 0,10 M (NaCl) a 23±1 ºC.

Na *tabela IV.3.* estão apresentados, respectivamente, os valores estimados de pK_a^{aq}; de pK_a^{oct}; de $logP_n$ e de $logP_i$ obtidos através do ajuste, utilizando programa Origin 6.0 (OriginLab® Corporation © 1991-2002), dos termos da *equação 52* aos valores de $logP_{app}^{SF}$ obtidos pelo método *Shake-flask*, usando *n*-octanol/tampão, μ= 0,10 M (NaCl) e a 23±1 ºC. Este ajuste foi feito utilizando a opção "*Non-Linear Curve Fit"* disponível no programa Origin 6.0 (OriginLab® Corporation © 1991-2002).

Tabela IV.3. **Valores estimados[(a)] dos termos pK_a^{aq}; pK_a^{oct}; $logP_n$ e $logP_i$; obtidos, respectivamente, através do ajuste[(b)] dos termos da *equação 52* aos valores[(c)] de $logP_{app}^{SF}$ da série de derivados da procaína (compostos 1 –10).**



Nº	X	n	Y	pK_a^{aq}	pK_a^{aq}	pK_a^{oct}	$logP_n$	$logP_i$
1	$-CH_2-$	1	$-N(CH_3)_2$	9,1	8,50[(d)]	5,9	1,8	-1,6
2	$-CH_2-$	1	$-N(C_2H_5)_2$	8,6	9,05[(d)]	5,7	1,6	-1,3
3	$-CH_2-$	1	-Pirrolidino	9,1	[(e)]	6,0	1,9	-1,3
4	$-CH_2-$	1	-Piperidino	9,1	[(e)]	5,9	2,4	-0,8
5	$-CH_2-$	1	-Morfolino	6,8	[(e)]	3,8	1,3	-1,7
6	$-CH_2-$	1	-Piperazino	8,0	[(e)]	5,4	1,2	-1,4
7	$-CH_2-$	1	-ciclohexilamino	9,3	[(e)]	6,7	2,6	0,0
8	- NH-	2	$-N(CH_3)_2$	8,7	8,50[(f)]	5,8	1,1	-1,8
9	- NH-	1	$-N(CH_3)_2$	7,4	7,34[(f)]	4,9	0,8	-1,6
10	-O-	2	$-N(CH_3)_2$	8,2	8,30[(g)]	5,0	1,8	-1,5

(a) Estima-se um erro de (± 0,1) para os valores obtidos.
(b) O ajuste dos parâmetros foi feito usando-se a opção "non linear curve fitting" do programa Origin6.0 (OriginLab® Corporation © 1991-2002).
(c) Obtidos pelo método *Shake-flask*, usando *n*-octanol/tampão, μ= 0,10 M (NaCl) e a 23±1 ºC.
(d) Valores de literatura (SCHÖNENBERGER & BASTUNG, 1970)
(e) Valores não encontrados na literatura pesquisada
(f) Valores de literatura (TESTA *et al.*, 1983)
(g) Valores de literatura (AMARAL, comunicação pessoal)

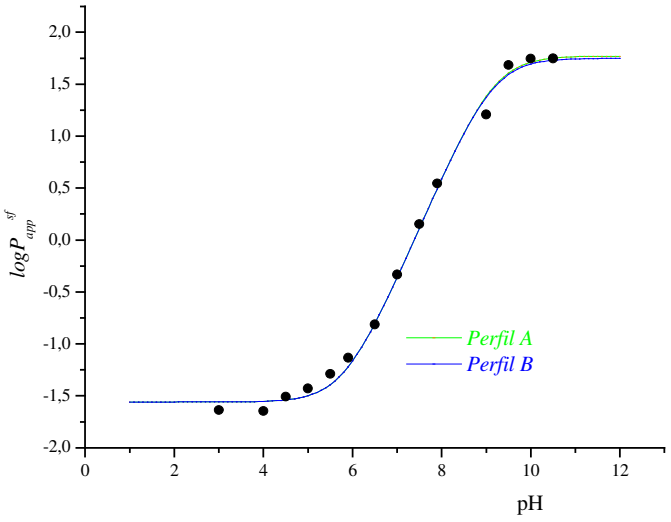


Figura IV.4. **Gráfico do perfil $logP_{app}$ *vs*. pH obtido através dos ajustes[(a)] dos parâmetros, respectivamente, da *equação 38* (Perfil A) e da *equação 52* (Perfil B) aos valores[(b)] de $logP_{app}^{SF}$ (•) do cloreto de 3-(1-metil)propiofenona (composto 1)**

(a) O ajuste dos parâmetros foi feito usando-se a opção "non linear curve fitting" do programa Origin6.0 (OriginLab® Corporation © 1991-2002).
(b) Obtidos pelo método *Shake-flask*, usando *n*-octanol/tampão, μ= 0,10 M (NaCl) e a 23±1 ºC.

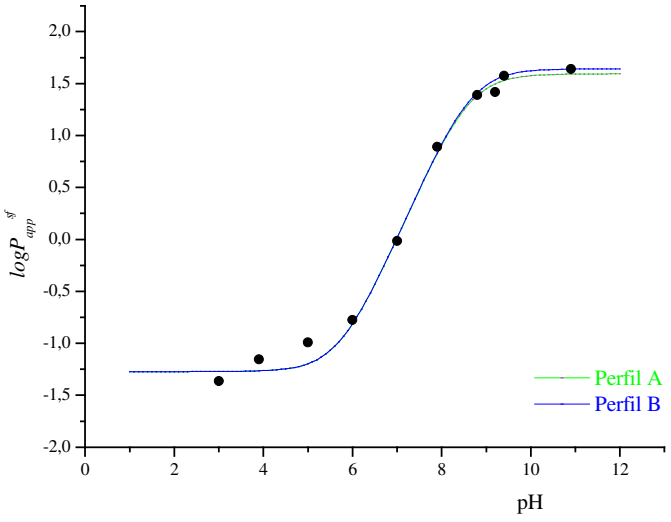


Figura IV.5. **Gráfico do perfil *$logP_{app}$ vs*. pH obtido através dos ajustes[(a)] dos parâmetros, respectivamente, da *equação 38* (Perfil A) e da *equação 52* (Perfil B) aos valores[(b)] de *$logP_{app}^{SF}$* (•) do cloreto de 3-(1-etil)propiofenona (composto 2)**

(a) O ajuste dos parâmetros foi feito usando-se a opção "non linear curve fitting" do programa Origin6.0 (OriginLab® Corporation © 1991-2002).

(b) Obtidos pelo método *Shake-flask*, usando *n*-octanol/tampão, μ= 0,10 M (NaCl) e a 23±1 ºC.

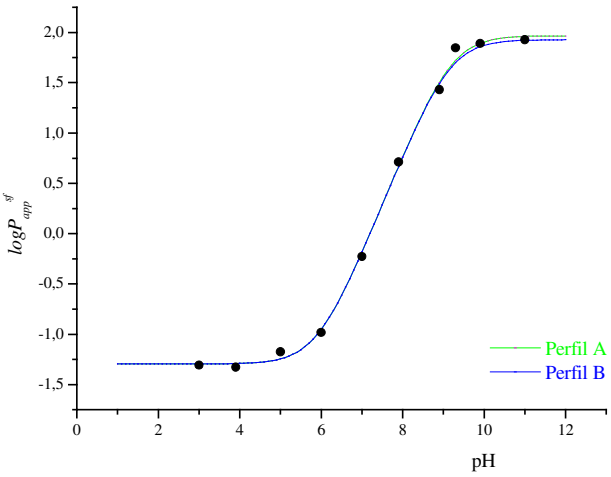


Figura IV.6. **Gráfico do perfil *$logP_{app}$ vs*. pH obtido através dos ajustes[(a)] dos parâmetros, respectivamente, da *equação 38* (Perfil A) e da *equação 52* (Perfil B) aos valores[(b)] de *$logP_{app}^{SF}$* (•) do cloreto de 3-(1-pirrolidina)propiofenona (composto 3)**

(a) O ajuste dos parâmetros foi feito usando-se a opção "non linear curve fitting" do programa Origin6.0 (OriginLab® Corporation © 1991-2002).

(b) Obtidos pelo método *Shake-flask*, usando *n*-octanol/tampão, μ= 0,10 M (NaCl) e a 23±1 ºC.

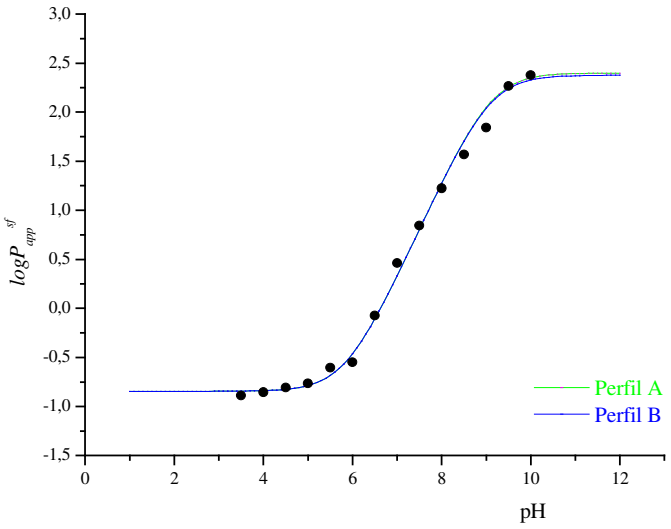


Figura IV.7. **Gráfico do perfil *logP$_{app}$* *vs*. pH obtido através dos ajustes[(a)] dos parâmetros, respectivamente, da *equação 38* (Perfil A) e da *equação 52* (Perfil B) aos valores[(b)] de *logP$_{app}^{SF}$* (•) do cloreto de 3-(1-piperidina)propiofenona (composto 4)**

(a) O ajuste dos parâmetros foi feito usando-se a opção "non linear curve fitting" do programa Origin6.0 (OriginLab® Corporation © 1991-2002).

(b) Obtidos pelo método *Shake-flask*, usando *n*-octanol/tampão, μ= 0,10 M (NaCl) e a 23±1 ºC.

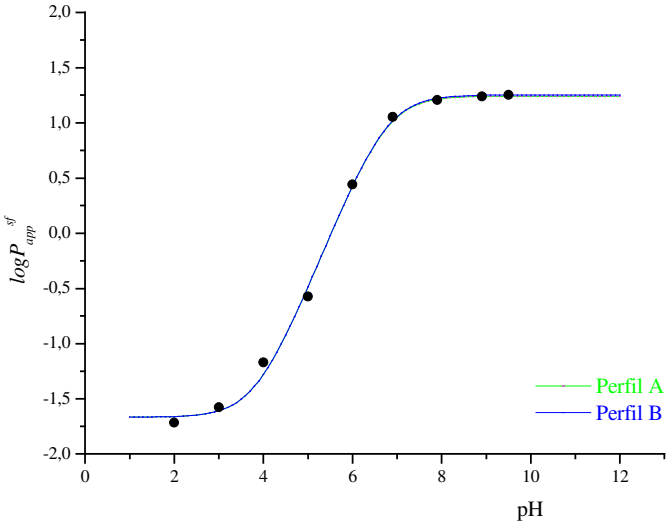


Figura IV.8. **Gráfico do perfil *logP$_{app}$* *vs*. pH obtido através dos ajustes[(a)] dos parâmetros, respectivamente, da *equação 38* (Perfil A) e da *equação 52* (Perfil B) aos valores[(b)] de *logP$_{app}^{SF}$* (•) do cloreto de 3-(1-morfolina)propiofenona (composto 5)**

(a) O ajuste dos parâmetros foi feito usando-se a opção "non linear curve fitting" do programa Origin6.0 (OriginLab® Corporation © 1991-2002).

(b) Obtidos pelo método *Shake-flask*, usando *n*-octanol/tampão, μ= 0,10 M (NaCl) e a 23±1 ºC.

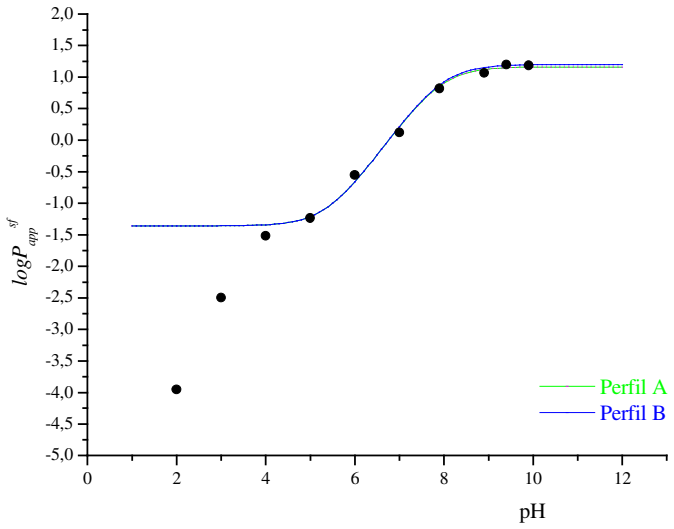


Figura IV.9. **Gráfico do perfil *logP$_{app}$* *vs*. pH obtido através dos ajustes[(a)] dos parâmetros, respectivamente, da *equação 38* (Perfil A) e da *equação 52* (Perfil B) aos valores[(b)] de *logP$_{app}^{SF}$* (•) do cloreto de 3-(1-piperazina)propiofenona (composto 6)**

(a) O ajuste dos parâmetros foi feito usando-se a opção "non linear curve fitting" do programa Origin6.0 (OriginLab® Corporation © 1991-2002).

(b) Obtidos pelo método *Shake-flask*, usando *n*-octanol/tampão, μ= 0,10 M (NaCl) e a 23±1 ºC.

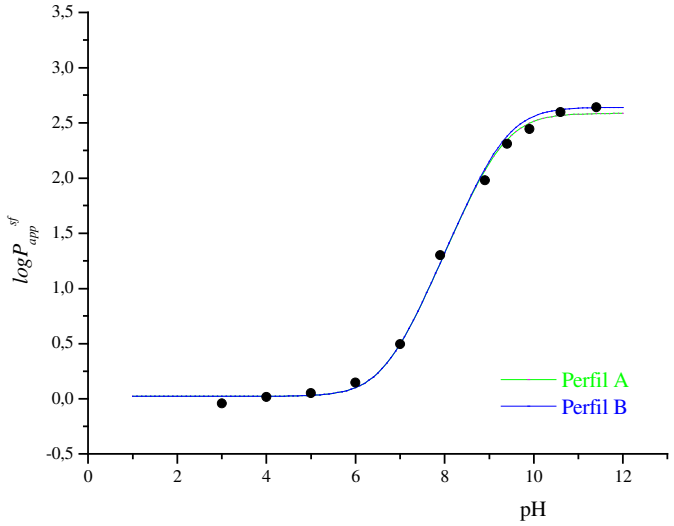


Figura IV.10. **Gráfico do perfil *logP$_{app}$* *vs*. pH obtido através dos ajustes[(a)] dos parâmetros, respectivamente, da *equação 38* (Perfil A) e da *equação 52* (Perfil B) aos valores[(b)] de *logP$_{app}^{SF}$* (•) do cloreto de 3-(1-cicloexilamina)propiofenona (composto 7)**

(a) O ajuste dos parâmetros foi feito usando-se a opção "non linear curve fitting" do programa Origin6.0 (OriginLab® Corporation © 1991-2002).

(b) Obtidos pelo método *Shake-flask*, usando *n*-octanol/tampão, μ= 0,10 M (NaCl) e a 23±1 ºC.

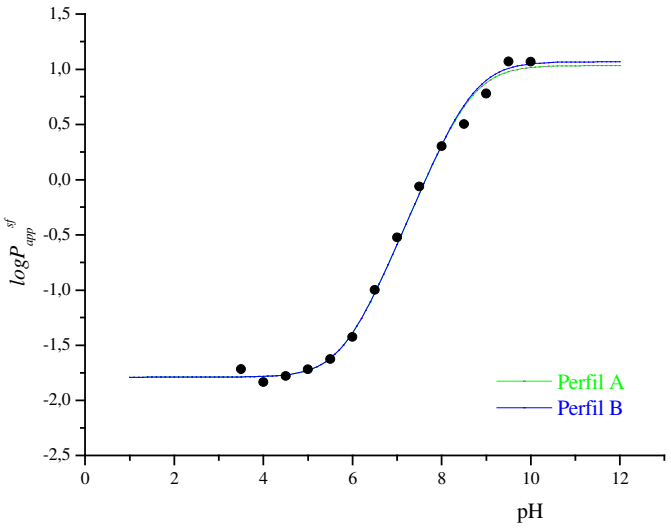


Figura IV.11. **Gráfico do perfil *logP$_{app}$* *vs*. pH obtido através dos ajustes[(a)] dos parâmetros, respectivamente, da *equação 38* (Perfil A) e da *equação 52* (Perfil B) aos valores[(b)] de *logP$_{app}^{SF}$* (•) do cloreto de *N*-[(*N*,*N*-dimetilamino)etil]benzamida (composto 8)**

(a) O ajuste dos parâmetros foi feito usando-se a opção "non linear curve fitting" do programa Origin6.0 (OriginLab® Corporation © 1991-2002).

(b) Obtidos pelo método *Shake-flask*, usando *n*-octanol/tampão, μ= 0,10 M (NaCl) e a 23±1 ºC.

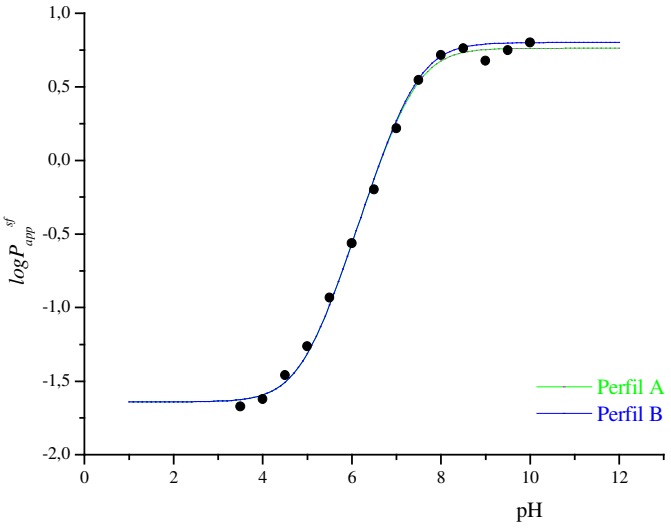


Figura IV.12. **Gráfico do perfil *logP$_{app}$* *vs*. pH obtido através dos ajustes[(a)] dos parâmetros, respectivamente, da *equação 38* (Perfil A) e da *equação 52* (Perfil B) aos valores[(b)] de *logP$_{app}^{SF}$* (•) do cloreto de *N*-[(*N*,*N*-dimetilamino)metil]benzamida (composto 9)**

(a) O ajuste dos parâmetros foi feito usando-se a opção "non linear curve fitting" do programa Origin6.0 (OriginLab® Corporation © 1991-2002).

(b) Obtidos pelo método *Shake-flask*, usando *n*-octanol/tampão, μ= 0,10 M (NaCl) e a 23±1 ºC.

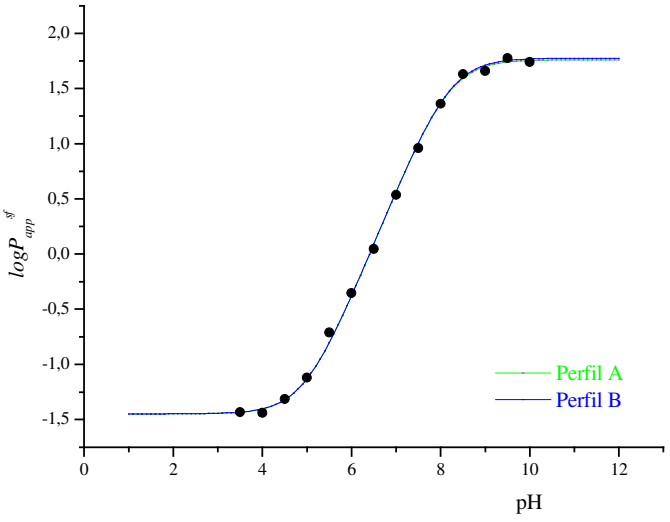


Figura IV.13. **Gráfico do perfil *$logP_{app}$ vs.* pH obtido através dos ajustes[(a)] dos parâmetros, respectivamente, da *equação 38* (Perfil A) e da *equação 52* (Perfil B) aos valores[(b)] de *$logP_{app}^{SF}$* (•) do cloreto de *N*-[(*N,N*-dimetilamino)etil]benzoato (composto <u>10</u>).**

(a) O ajuste dos parâmetros foi feito usando-se a opção "non linear curve fitting" do programa Origin6.0 (OriginLab® Corporation © 1991-2002).

(b) Obtidos pelo método *Shake-flask*, usando *n*-octanol/tampão, μ= 0,10 M (NaCl) e a 23±1 ºC.

A análise das *figuras IV.4 – 13* revela os ajustes (coeficientes de correlação r^2 maiores que 0,99) tanto da *equação 38* como da *equação 52* aos valores de $logP_{app}^{SF}$ Entretanto, na *figura IV.9.* observa-se que as *equações 38* e *52* não descrevem a distribuição dos valores de $logP_{app}^{SF}$ do cloreto de 3-(1-piperazina)propiofenona (composto <u>6</u>) determinados em valores de pH menores do que 5,0. Esta falta de ajuste está de acordo com o esperado, uma vez que o composto <u>6</u> apresenta em sua estrutura dois átomos de nitrogênio ionizáveis, enquanto que, as *equações 38* e *52* descrevem o efeito de apenas uma ionização no valor de $logP_{app}$. Ou seja, as *equações 38* e *52* não consideram a segunda ionização do composto <u>6</u> que ocorre em valores de pH menores do que 5,0.

Como apresentado e discutido na Introdução, os valores dos parâmetros $logP_n$ e $logP_i$ podem ser utilizados para distinguir a partição da espécie ionizada (BH^+) da espécie não-ionizada (*B*) (SCHERRER, 2001) e, assim, sugerir qual a forma ativa dos derivados da procaína. Para tanto, os valores de $logP_i$ ou de $logP_n$ não devem ser intercorrelacionados (SCHERRER, 2001; CRAIG, 1971; KUBINYI, 1993).

A *figura IV.14.* apresenta o gráfico e o valor correspondente do coeficiente de intercorrelação dos valores de $logP_n$, em função dos valores de $logP_i$, sendo estes obtidos a partir do ajuste dos parâmetros da *equação 52* aos valores de $logP_{app}^{SF}$, para a série de derivados da procaína estudados neste trabalho (compostos **<u>1</u> –<u>10</u>).**

Segundo Kubinyi (1993), para a seleção de parâmetros é recomendado que o coeficiente de correlação (r) dos parâmetros não seja maior que 0,6 – 0,7. No entanto, a análise do coeficiente de intercorrelação revela que existe uma intercorrelação significativa entre os valores de $logP_n$ e os

valores de $logP_i$, tornando, até certo ponto, a análise da contribuição dos parâmetros comprometida. Assim, considerando a intercorrelação observada (r = 0,84), para a série de derivados da procaína, estudados neste trabalho (compostos **1** a **10**), a atividade bloqueadora neuromuscular poderia ser descrita tanto pela contribuição hidrofóbica da espécie não-ionizada (*B*) como da espécie ionizada (BH^+), expressas, respectivamente, pelos valores dos coeficientes de partição $logP_n$ e $logP$. Alternativamente, pode-se ampliar a série, incluindo-se outros compostos, com os quais uma menor intercorrelação seria alcançada. Assim, por exemplo, incluir compostos apresentando nas suas estruturas um maior impedimento estérico ao redor do grupamento ionizável.

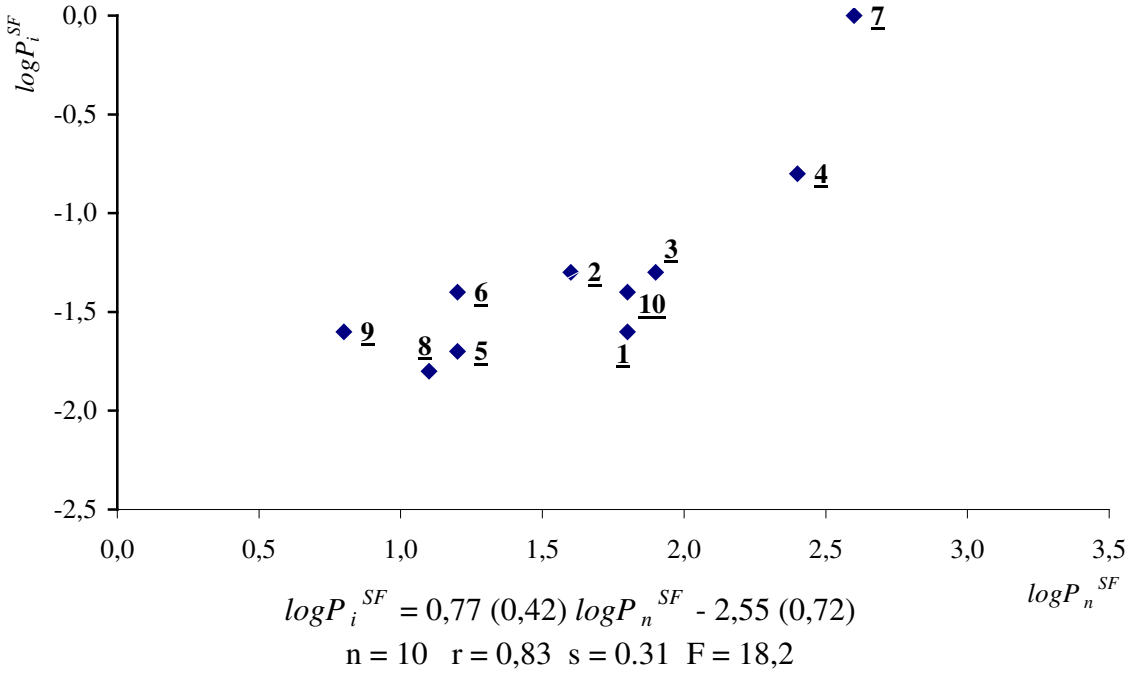


Figura IV.14. **Gráfico e o coeficiente de intercorrelação (r^2) dos valores de $logP_n$ em função de $logP_i$, obtidos a partir do ajuste[(a)] dos parâmetros da *equação 52* aos valores[(b)] de $logP_{app}^{SF}$ para a série de derivados da procaína (compostos 1 –10)**

(a) O ajuste dos parâmetros foi feito usando-se a opção "non linear curve fitting" do programa Origin6.0 (OriginLab® Corporation © 1991-2002).

(b) Obtidos pelo método *Shake-flask*, usando *n*-octanol/tampão, μ= 0,10 M (NaCl) e a 23±1 ºC.

Na *figura IV.15* estão apresentados os perfis de $logP_{app}$ *vs.* pH determinados através do ajuste dos valores de $logP_{app}^{SF}$ aos parâmetros da *equação 52*, da série de derivados da procaína (compostos **1** – **10**).

Observa-se que em valores de pH menores do que 4,0 o cloreto de 3-(1-morfolino)propiofenona (composto **5**) é o segundo composto mais hidrofílico da série estudada. Entretanto, em valores de pH na faixa de 5,5 a 7,5, o composto **5** passa a ser o composto mais lipofílico da série e, em valores de pH maiores que 8,0 o composto **5**, volta a ser um dos compostos mais hidrofílicos dentro da série de derivados da procaína. Estas variações relativas de lipofilicidade dentro da série são observadas para todos os outros compostos e podem ser atribuídas principalmente às diferenças nos correspondentes valores de pK_a, provenientes do grupamento amino, ou seja, considerando-se novamente o exemplo do cloreto de 3-(1-morfolino)propiofenona

(composto **5**), este apresenta, na série estudada, o menor valor de pK_a (pK_a^{aq} = 6,8). Assim, para o composto **5** a concentração relativa da espécie não ionizada (*B*) é significativamente maior do que da espécie ionizada (BH^+), para valores de pH, nos quais todos os outros compostos da série, já se encontram parcialmente ionizados. Como conseqüência, na faixa de valores de pH entre 5,5 a 7,5, observa-se maior lipofilicidade aparente ($logP_{app}$) para o composto **5**, descrita por $logP_{app}$, quando comparada com as lipofilicidades aparentes correspondentes aos outros compostos da série.

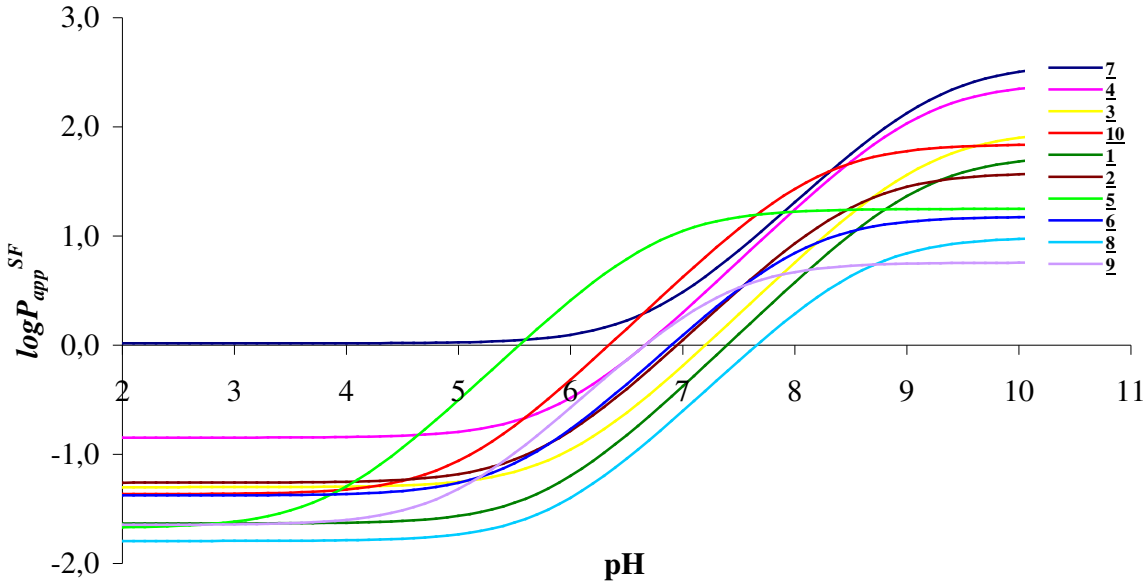


Figura IV.15. **Gráfico dos perfis de $logP_{app}$ *vs.* pH determinados, respectivamente, através do ajuste[(a)] dos valores[(b)] de $logP_{app}^{SF}$ aos parâmetros da *equação 52* para a série de derivados da procaína (compostos 1 a 10).**

[(a)]O ajuste dos parâmetros foi feito usando-se a opção "non linear curve fitting" do programa Origin6.0 (OriginLab® Corporation © 1991-2002).

[(b)]Obtidos pelo método *Shake-flask*, usando *n*-octanol/tampão, μ= 0,10 M (NaCl) e a 23±1 ºC.

IV.3.3. Determinação dos valores do coeficiente de partição por *HPLC*, $logP_{app}^{HPLC}$

A determinação dos valores do coeficiente de partição dos compostos da série de derivados da procaína (compostos **1** – **10**) obtidos por *HPLC*, $logP_{app}^{HPLC}$, foi feita utilizando-se uma coluna de fase reversa preenchida com octadecilsilano (C-18) e encapada com uma película de *n*-octanol, como fase estacionária, e soluções tampão em valores de pH, respectivamente iguais a: 3,0; 7,4 e 10,0; sendo μ = 0,10 M (acertada com NaCl) como fase móvel (eluente), procedendo-se de acordo com indicações da literatura (KALISZAN, 1981; VAN de WATERBEEMD *et al.*, 1996; AMARAL *et al.*, 1997; KLEIN, *et al.*, 1988; YAMAGAMI, 2001; 2002).

As fases estacionária e móvel utilizadas devem idealmente refletir e modelar as interações que ocorrem na partição dos compostos da série estudada no sistema biológico.

A coluna utilizada, a saber, uma coluna de fase reversa preenchida com octadecilsilano (C-18) é usada como suporte para uma película de *n*-octanol, que deve ser mantida e avaliada periodicamente, durante os experimentos. Como fase móvel (eluentes) para o sistema

cromatográfico foram empregadas as mesmas soluções tampão, utilizadas como fase aquosa, no procedimento de *Shake-flask*.

Por ser um método de determinação indireta, o sistema cromatográfico deve ser calibrado para que os valores do tempo de retenção correspondentes aos compostos, sejam validados, ou seja, apresentem correlação significativa com valores de $logP_{app}$ obtidos pelo método *Shake-flask,* utilizando o sistema *n*-octanol/água. A calibração do sistema cromatográfico é feita pela injeção, de pelo menos cinco padrões, com valores de *logP* conhecidos na literatura. A escolha dos padrões é uma etapa crítica no procedimento de determinação de valores de $logP_{app}^{HPLC}$ (KLEIN *et al*., 1988). Os padrões escolhidos devem ser estruturalmente relacionados com os compostos a serem testados e devem apresentar uma faixa abrangente de valores de *logP*, determinados no sistema *n*-octanol/água, de modo a incluir os valores de *logP* dos compostos testados. Como apresentado anteriormente, a calibração do sistema cromatográfico deve ser feita em intervalos regulares, pelo menos uma vez ao dia, para avaliar e garantir integridade e a manutenção das características da coluna.

Os padrões utilizados para calibrar o sistema cromatogáfico foram, respectivamente: benzamida (*logP*=0,64); acetofenona (*logP*=1,00); fenol (*logP*=1,50); acetanilida (*logP*=1,58); nitrometano (*logP*=1,85) e 4-clorofenol(*logP*=2,40). A *Tabela III.16* (Parte Experimental) apresenta um exemplo típico de valores, respectivamente do tempo de retenção, do logaritmo do fator de capacidade (*logk'*) e dos correspondentes *logP* retirados da literatura (KLEIN *et al*. 1998) das substâncias padrão, utilizadas para calibrar o sistema cromatográfico. A equação de calibração do sistema cromatográfico é considerada válida se apresentar o valor do coeficiente de regressão e do coeficiente de correlação próximos da unidade.

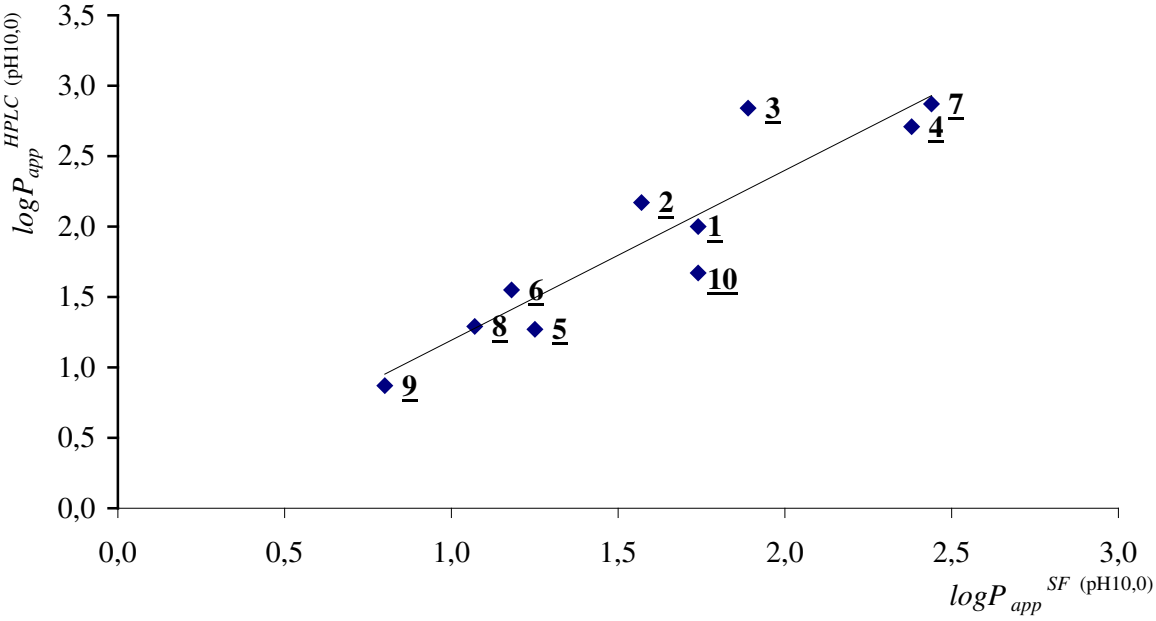
A tiouréia foi usada para a determinação do tempo morto do sistema cromatográfico (KLEIN *et al*. 1998). O tempo morto, $\mathbf{t_0}$, é o tempo de retenção de um composto que se move através da coluna na mesma velocidade que a fase móvel, isto é, sua migração não é retardada por interações física, ou química, com a fase estacionária.

Os valores do tempo de retenção extrapolados para a concentração zero, os valores de log*k*', e os correspondentes valores de $logP_{app}^{HPLC}$ relativos aos compostos **1**-**10**, determinados nos valores de pH 3,00; 7,40 e, 10,00 estão indicados, respectivamente, nas *tabelas III.17 -19.*, da parte experimental.

Os valores obtidos no pH 3,0 estão na faixa de –0,04 a 1,52, enquanto que os valores obtidos no pH 10,0 estão na faixa de 0,87 a 2,87. Estes valores se encontram dentro da faixa de valores recomendados para a metodologia *HPLC*, que é de 0 a 6 (KARAJIANNIS & WATERBEEMD, 1995).

Com o objetivo de se avaliar a(s) natureza(s) da(s) interação(ões) hidrofóbicas expressas pelos valores de $logP_{app}^{HPLC}$, estes foram comparados (ver *tabela IV.4.*) com os correspondentes

valores de $logP_{app}^{SF}$ obtidos nas mesmas condições experimentais, e com os valores de $logP_{calc}$, para a série de derivados da procaína (compostos **1** –**10**). Os gráficos de correlação bem como as correspondentes equações de correlação estão apresentados nas *figuras IV. 16 – 18*, respectivamente.



$$logP_{app}^{HPLC\ (pH10,0)} = 1{,}21\ (0{,}42)\ logP_{app}^{SF\ (pH10,0)} + 0{,}01\ (0{,}70)$$

$$n = 10 \quad r = 0{,}92 \quad s = 0{,}29 \quad F = 44{,}5$$

Figura IV.16. **Gráfico e equação de correlação entre os valores do $logP_{app}^{HPLC}$ [(a)] em função dos valores de $logP_{app}^{SF}$ [(b)], determinados em pH = 10,0[(c)] para a série de derivados da procaína (compostos 1 –10)**

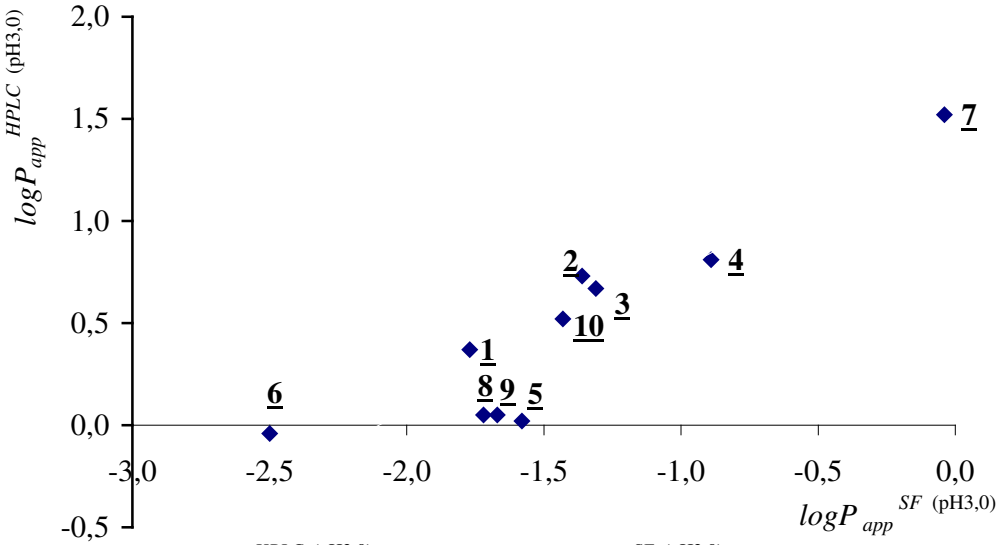
[(a)] Obtidos a partir do tempo de retenção de cada composto determinado em um sistema *HPLC*, utilizando-se uma coluna C-18 encapada com *n*-octanol como fase estacionária e uma solução tampão pH = 10,0 μ = 0,10 M (NaCl) como fase móvel a 23±1 ºC

[(b)]Obtidos pelo método *Shake-flask*, usando *n*-octanol/tampão (ácido bórico/borato de sódio), μ= 0,10 M (NaCl) e a 23±1 ºC.

[(c)]Solução tampão ácido bórico/borato de sódio 0,05M

Para série derivados da procaína (compostos **1** –**10**) em valores de pH=10,0, no qual somente a espécie não-ionizada contribui significativamente para a partição (pK_a na faixa de 6,8 a 9,3), observa-se correlação significativa entre os valores obtidos de $logP_{app}^{HPLC}$ e de $logP_{app}^{SF}$, apresentando um coeficiente de regressão com valor próximo da unidade (a = 1,21) e um coeficiente de correlação (r = 0,92), como mostra a *figura IV.16.*

Sabendo-se que valores do coeficiente angular próximos da unidade indicam que os dois sistemas estão proporcionando interações hidrofóbicas similares, sugere-se, que o sistema cromatográfico, formado pela coluna de C-18 encapada com um filme de *n*-octanol e a solução tampão pH = 10,0, reflete interações similares às que ocorrem no sistema de partição do método *Shake-flask*, para a série de derivados da procaína (compostos **1** –**10**).



$logP_{app}^{HPLC\ (pH3,0)} = 0{,}70\ (0{,}26)\ logP_{app}^{SF\ (pH3,0)} + 1{,}46\ (0{,}40)$

n = 10 r = 0,91 s = 0,22 F = 38,1

Figura IV.17. **Gráfico e equação de correlação entre os valores do $logP_{app}^{HPLC\ (a)}$ em função dos valores de $logP_{app}^{SF\ (b)}$, determinados em pH = 3,0[(c);] para a série de derivados da procaína (compostos 1 –10)**

(a) Obtidos a partir do tempo de retenção de cada composto determinado em um sistema *HPLC*, utilizando-se uma coluna C-18 encapada com *n*-octanol como fase estacionária e uma solução tampão (ácido acético/ acetato de sódio) pH = 3,0 μ = 0,10 M (NaCl) como fase móvel a 23±1 ºC

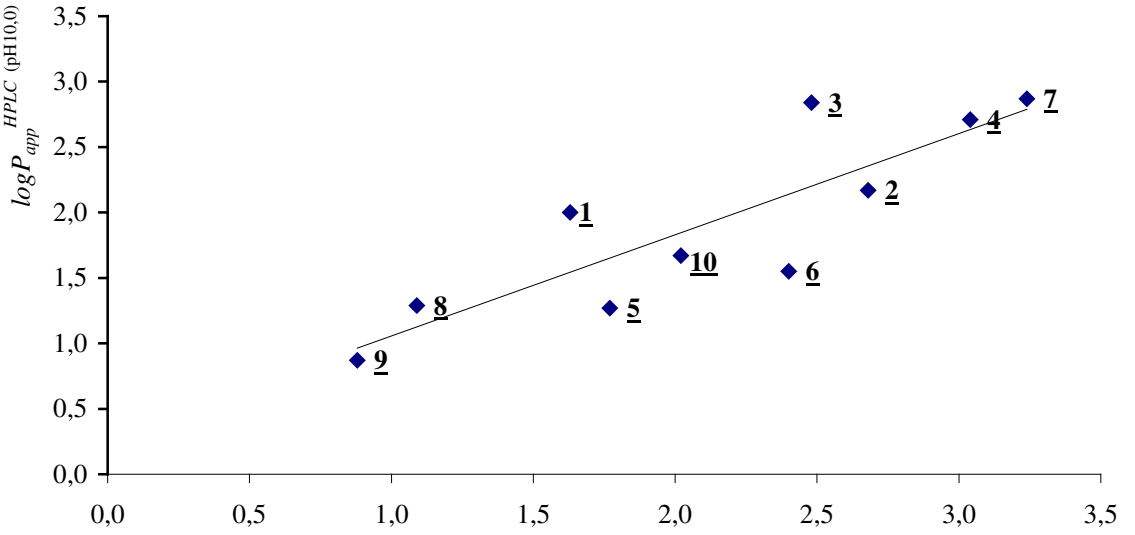
(b) Obtidos pelo método *Shake-flask*, usando *n*-octanol/tampão, μ= 0,10 M (NaCl) e a 23±1 ºC.

(c) Solução tampão ácido acético/ acetato de sódio 0,05M

Em valor de pH=3,0, no qual somente a espécie ionizada contribui significativamente para a partição (pK_a na faixa de 6,8 a 9,3), observa-se uma correlação significativa (r = 0,91) apresentando, no entanto, um coeficiente de regressão não ideal (a = 0,70), ou seja, diferente da unidade, como mostra a *figura IV.17.* Adicionalmente, observa-se um valor elevado e positivo para o coeficiente linear da equação de correlação (b = 1,46), indicando que os compostos estão sendo mais retidos na coluna do sistema cromatográfico, do que seria previsto pelo modelo de partição (*Shake-flask*), descrito por $logP_{app}^{SF}$.

Estes resultados podem ser explicados considerando-se o alto grau de ionização dos derivados da procaína, em pH, 3,0, e admitindo-se que as correspondentes espécies ionizadas (BH^+) promovem interações mais fortes com a fase estacionária (película de *n*-octanol) do que as observadas no modelo de partição (*Shake-flask*), descrito por $logP_{app}^{SF}$, nas mesmas condições experimentais.

Para a série de derivados da procaína, constata-se, como esperado, que o sistema cromatográfico, formado pela coluna de C-18 encapada com um filme de *n*-octanol e, solução tampão pré-saurada de *n*-octanol (pH = 3,0) modela as hidrofobicidades relativas para os compostos da série. Neste pH, no entanto, observam-se interações específicas relativas às espécies ionizadas, sendo estas mais intensas do que as interações observadas no sistema de partição *Shake-flask*, nas mesmas condições experimentais.



$$logP_{app}^{HPLC\ (pH10,0)} = 0{,}77\ (0{,}38)\ logP_{calc} + 0{,}28\ (0{,}86)$$

n = 10 r = 0,86 s = 0,39 F = 21,8

$$logP_{app}^{HPLC\ (pH10,0)} = 0{,}82\ (0{,}38)\ logP_{calc} + 0{,}11\ (1{,}20)\ I_{CON} + 0{,}17\ (1{,}58)$$

n = 10 r = 0,86 s = 0,42 F = 9,64

Figura IV.18. **Gráfico e equação de correlação entre os valores do $logP_{app}^{HPLC}$[(a)] em função dos valores de $logP_{calc}$[(b)], para a série de derivados da procaína (compostos 1 –10)**

[(a)] Obtidos a partir do tempo de retenção de cada composto determinado em um sistema *HPLC*, utilizando-se uma coluna C-18 encapada com *n*-octanol como fase estacionária e uma solução tampão (ácido bórico/borato de sódio) pH = 10,0 μ = 0,10 M (NaCl) como fase móvel a 23±1 ºC

[(b)] Valores estimados. Obtidos pelo programa CLOGP (Biobyte Corp., 1995)

Para a série de compostos estudada e em pH = 10,0, observou-se uma correlação linear significativa (r = 0,85) e, não ideal (a = 0,77) entre os valores de $logP_{app}^{HPLC}$ e de $logP_{calc}$, como pode ser observado na *figura IV.18.*

Considerando-se que podem ocorrer interações específicas entre cada grupo funcional e o sistema cromatográfico, para a série de compostos estudada e em pH = 10,0, incluiu-se no modelo cromatográfico, a variável indicadora (I_{CON}) relativa à presença da função amida (compostos **8** e **9**). Esta assume o valor 1 para a presença da função amida e 0 quando ausente. A inclusão da variável indicadora (I_{CON}) relativa à presença da função amida, resultou em um melhor coeficiente de regressão (a = 0,82).

IV.3.4. Determinação dos valores de $logP^{Pot}$ por potenciometria

A determinação dos valores do coeficiente de partição dos compostos da série de derivados da procaína (compostos **1** – **10**) obtidos pelo método potenciométrico $logP^{Pot}$, foi feita utilizando-se um pH-âmetro equipado com um eletrodo de vidro Ag/AgCl, $KCl_{(sat.)}$, procedendo-se de acordo com indicações de Clarke (CLARKE & CAHOON, 1987; 1996). Os valores de $logP^{Pot}$ foram determinados a partir da variação do valor da constante de ionização (pK_a) dos compostos, medida

tanto na fase aquosa como no sistema de solventes *n*-octanol/água. Foram usadas diferentes proporções de volumes no sistema *n*-octanol/água. Assume-se que o eletrodo mede a concentração hidrogênionica apenas na fase aquosa. A força iônica da fase aquosa foi mantida constante em valor de $\mu = 0{,}10$M pela adição de NaCl. As titulações potenciométricas foram realizadas sob fluxo contínuo de N_2 (livre de CO_2) e com temperatura controlada e ajustada para 23,0 ± 1,0 ºC.

O valor da força iônica da solução aquosa utilizada nas titulações potenciométricas foi mantida constante, pois além de sua influência no valor de *logP*, discutida na Introdução, a força iônica também influencia o valor do pK_a dos compostos (PERRIN & DEMPSEY, 1994). O valor de $\mu = 0{,}10$ M (NaCl) foi escolhido para efeito de comparação. A espécie cloreto de sódio foi utilizada, por ser um eletrólito forte.

Uma solução de NaOH (1,00 N) foi utilizada como titulante, por ser base forte e apresentar o mesmo eletrólito presente no sal utilizado para o ajuste da força iônica. Os volumes de titulante adicionados nas titulações em meio aquoso e no sistema *n*-octanol/água e os correspondentes valores de pH lidos para cada tubo de titulação estão indicados nas *tabelas III.20;22;24;26;28;30;32;34;36* da parte experimental.

Através do ajuste dos valores dos coeficientes da *equação 50* (CLARKE & CAHOON, 1987) aos valores do volume do titulante e de pH determinados experimentalmente em cada titulação, são obtidos, respectivamente, os valores de pK_a^{aq}, de $logP_n$ e de $logP_i$ para cada um dos compostos da série de análogos da procaína, respectivamente. O ajuste foi feito usando-se a opção "non linear curve fitting" do programa Origin 6.0 (OriginLab® Corporation © 1991-2002). Os valores de pK_a^{aq}, de $logP_n$ e de $logP_i$ obtidos, respectivamente, para cada um dos compostos da série de análogos da procaína (compostos **1** – **10**) estão apresentados nas *tabelas III.21;23;25;27;29;31;33;35;37.* da parte experimental.

Os valores obtidos estão nas faixas, de 6,87 a 9,78 para pK_a^{aq}; de –1,64 a 0,48 para $logP_i$ e, de 0,80 a 3,33 para $logP_n$.

Os valores de pK_a^{aq}, de $logP_n$ e de $logP_i$ do cloreto de 3-[1-(4-metil piperazina)]propiofenona (composto **6**) não foram determinados pois a equação de titulação (*equação 50*) (CLARKE & CAHOON, 1987), utilizada para realizar o ajuste dos valores do volume do titulante e do pH determinados durante a titulação potenciométrica, só descreve a titulação de um único grupamento ionizável, enquanto que o composto **6** apresenta dois grupamentos ionizáveis na faixa de pH titulada (de 2 a 12).

Os valores, respectivamente, de pK_a^{aq}, de $logP_n$ e de $logP_i$ obtidos pelo método potenciométrico dos compostos **1 – 5** e **6 –10**, da série de derivados da procaína, foram comparados (ver *tabela IV.4.*) com os respectivos valores de CLOGP de pK_a^{aq}, de $logP_n$ e de $logP_i$ obtidos pelo método *Shake-flask* usando *n*-octanol/tampão, μ= 0,10 M (NaCl) e a 23±1 ºC. Os gráficos de correlação e as correspondentes equações de correlação estão apresentados nas *figuras IV. 19 - 23*.

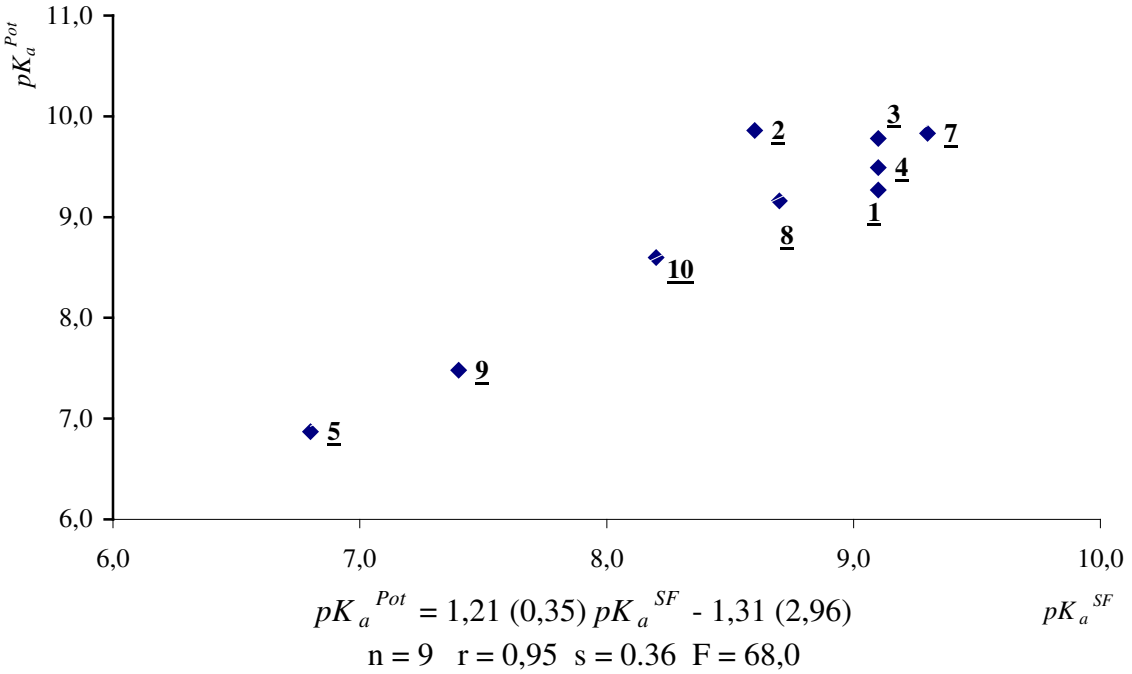


Figura IV.19. **Gráfico e equação de correlação entre os valores do pK_a^{Pot}(a) em função dos valores de pK_a^{SF} (b), para a série de derivados da procaína, (compostos 1 – 10, exceto 6)**

(a) Obtidos a partir do ajuste dos valores dos coeficientes da *equação 50* (CLARKE & CAHOON, 1987) aos valores do volume do titulante e de pH para cada um dos compostos da série de análogos da procaína, sendo μ = 0,10 M (NaCl) e a 23±1 ºC. O ajuste foi feito usando-se a opção "non linear curve fitting" do programa Origin 6.0 (OriginLab® Corporation © 1991-2002)

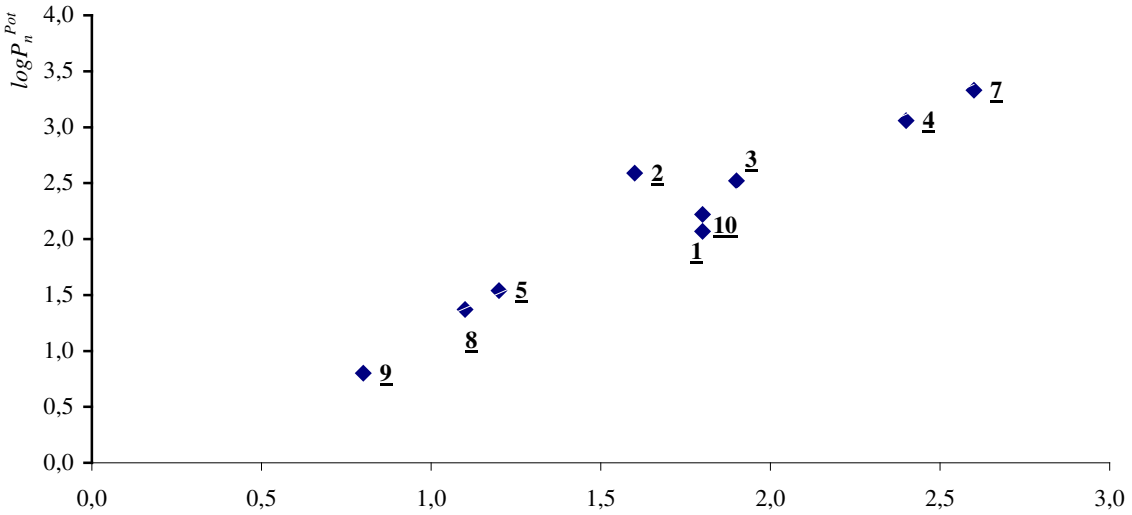
(b) Obtidos a partir do ajuste dos parâmetros da *equação 52* aos valores(c) de $logP_{app}^{SF}$ O ajuste dos parâmetros foi feito usando-se a opção "non linear curve fitting" do programa Origin6.0 (OriginLab® Corporation © 1991-2002).

(c) Obtidos pelo método *Shake-flask*, usando *n*-octanol/tampão, μ= 0,10 M (NaCl) e a 23±1 ºC.

Para a série de derivados da procaína (compostos **1 – 10,** exceto **6**), observou-se uma correlação linear significativa (r = 0,94 e a = 1,22) entre os valores de pK_a^{Pot} e de pK_a^{SF}, como mostra a *figura IV.19.*

Considerando-se que os valores de pK_a^{SF} determinados por *Shake-flask* são obtidos a partir dos valores de $logP_{app}^{SF}$ em diferentes valores de pH, ou seja, de modo indireto, enquanto que os valores de pK_a^{Pot} por potenciometria são obtidos de modo direto, a correlação significativa observada (*figura IV.19.*) valida os valores de pK_a^{SF}.

Para a série estudada (compostos **1 – 10**, exceto **6**), observaram-se correlações lineares e significativas tanto entre os valores de $logP_n^{Pot}$ e de $logP_n^{SF}$, (r = 0,96; a = 1,34) como entre os valores de $logP_i^{Pot}$ e de $logP_i^{SF}$ (r = 0,93; a = 1,28), como mostram as *figuras IV.20* e *IV.21*, respectivamente.



$logP_n^{Pot}$ = 1,33 (0,40) $logP_n^{SF}$ - 0,06 (0,71)

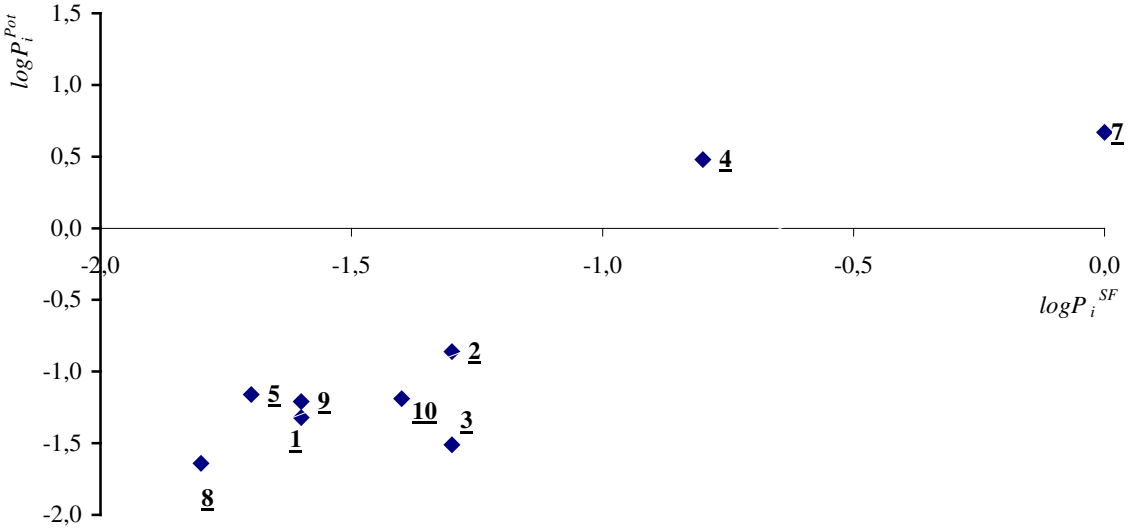
n = 9 r = 0,95 s = 0.28 F = 61,2

Figura IV.20. **Gráfico e equação de correlação entre os valores do $logP_n^{Pot}$(a) em função dos valores de $logP_n^{SF}$ (b), para a série de derivados da procaína (compostos 1 – 10, exceto 6)**

(a) Obtidos a partir do ajuste dos valores dos coeficientes da *equação 50* (CLARKE & CAHOON, 1987) aos valores do volume do titulante e de pH para cada um dos compostos da série de análogos da procaína, sendo μ = 0,10 M (NaCl) e a 23±1 ºC. O ajuste foi feito usando-se a opção "non linear curve fitting" do programa Origin 6.0 (OriginLab® Corporation © 1991-2002)

(b) Obtidos a partir do ajuste dos parâmetros da *equação 52* aos valores(c) de $logP_{app}^{SF}$ O ajuste dos parâmetros foi feito usando-se a opção "non linear curve fitting" do programa Origin6.0

(c) Obtidos pelo método *Shake-flask*, usando *n*-octanol/tampão, μ= 0,10 M (NaCl) e a 23±1 ºC.



$logP_i^{Pot}$ = 1,36 (0,57) $logP_i^{SF}$ - 0,88 (0,78)

n = 9 r = 0,91 s = 0.38 F = 32,1

Figura IV.21. **Gráfico e equação de correlação entre os valores do $logP_i^{Pot}$(a) em função dos valores de $logP_i^{SF}$ (b), para a série de derivados da procaína (compostos 1 – 10, exceto 6)**

(a) Obtidos a partir do ajuste dos valores dos coeficientes da *equação 50* (CLARKE & CAHOON, 1987) aos valores do volume do titulante e de pH para cada um dos compostos da série de análogos da procaína, sendo μ = 0,10 M (NaCl) e a 23±1 ºC. O ajuste foi feito usando-se a opção "non linear curve fitting" do programa Origin 6.0 (OriginLab® Corporation © 1991-2002)

(b) Obtidos a partir do ajuste dos parâmetros da *equação 52* aos valores(c) de $logP_{app}^{SF}$ O ajuste dos parâmetros foi feito usando-se a opção "non linear curve fitting" do programa Origin6.0

(c) Obtidos pelo método *Shake-flask*, usando *n*-octanol/tampão, μ= 0,10 M (NaCl) e a 23±1 ºC.

Considerando-se que nos dois métodos (potenciométrico e *Shake-flask*) as condições experimentais foram mantidas, os valores do coeficiente angular maiores do que a unidade, observados nas *figuras IV.20.* e *IV.21.*, indicam que a(s) interação(ões) hidrofóbica(s) observadas através do método potenciométrico são maiores do que as observadas através do método *Shake-flask*. Estas diferenças observadas nos dois procedimentos experimentais, podem ser causadas pela diferente composição da fase aquosa, em cada um dos métodos. No procedimento *Shake-flask*, a fase aquosa é composta pelo sistema tampão (cuja natureza varia em função do valor do pH) e pelo sal (NaCl) utilizado para o ajuste da força iônica. No procedimento potenciométrico, a fase aquosa é composta apenas pelo sal (NaCl) utilizado para o ajuste da força iônica. Sendo assim, para a série de derivados da procaína (compostos **1 – 10**, exceto **6**), no procedimento *Shake-flask,* devido à presença dos íons de diferentes naturezas que compõem as soluções tampão, podemos supor que as interações na fase aquosa são mais intensas do que as interações na fase aquosa do procedimento potenciométrico, resultando em uma menor partição no procedimento *Shake-flask* do que no procedimento potenciométrico. No entanto, apesar da diferença de composição da fase aquosa nos dois métodos, as lipofilicidade relativas dos compostos da série de derivados da procaína (compostos **1 – 10**, exceto **6**) se mantiveram constantes dentro do erro experimental.

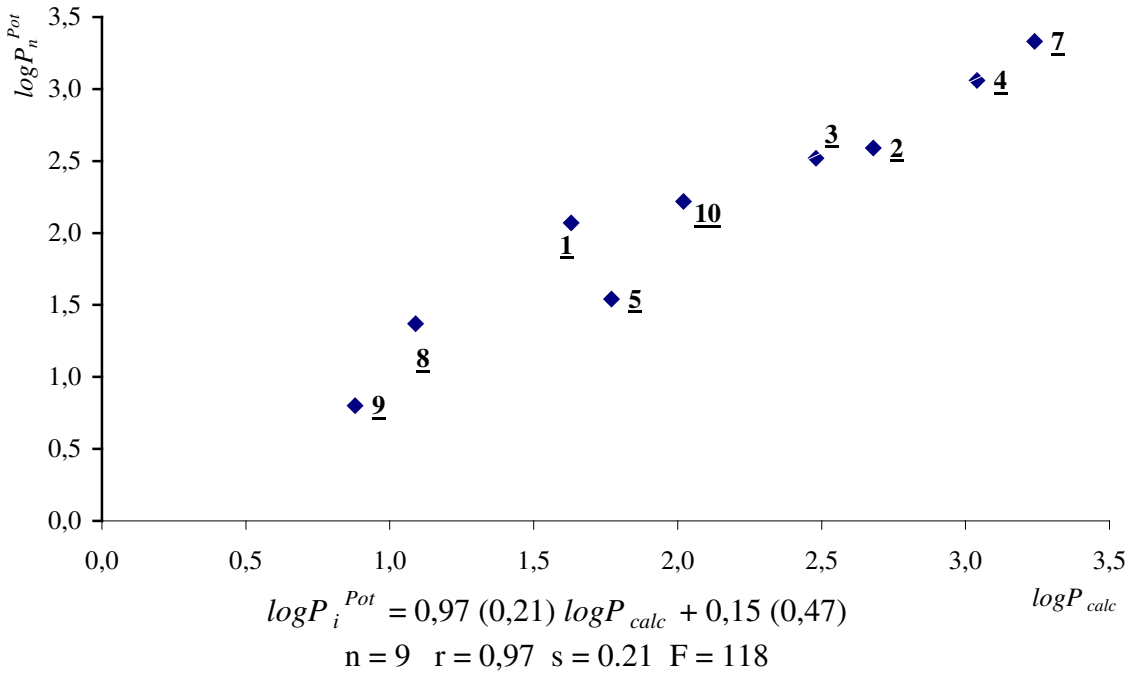


***Figura IV.22.*. Gráfico e equação de correlação entre os valores do $logP_n^{Pot}$[(a)] em função dos valores de $logP_{calc}$ [(b)], para a série de derivados da procaína (compostos 1 – 10, exceto 6)**

[(a)] Obtidos a partir do ajuste dos valores dos coeficientes da *equação 50* (CLARKE & CAHOON, 1987) aos valores do volume do titulante e de pH para cada um dos compostos da série de análogos da procaína, sendo μ = 0,10 M (NaCl) e a 23±1 ºC. O ajuste foi feito usando-se a opção "non linear curve fitting" do programa Origin 6.0 (OriginLab® Corporation © 1991-2002)

[(b)] Obtidos pelo programa CLOGP (Biobyte Corp., 1995)

Para a série estudada (compostos **1** – **10**, exceto **6**), observou-se correlações lineares e significativas tanto entre os valores de $logP_n^{Pot}$ e de $logP_{calc}$, (r = 0,97; a = 0,97) como entre os valores de $logP_n^{Pot}$ e de $logP_{app}^{HPLC}$ (pH = 10,0) (r = 0,93; a = 1,04), como mostram as *figuras IV.22.* e *IV.23.*, respectivamente.

Sabendo-se que valores do coeficiente angular próximos da unidade indicam que os dois sistemas estão refletindo interações hidrofóbicas similares, sugere-se que o procedimento potenciométrico adotado reflete interações similares às descritas pelo programa CLOGP e às observadas no sistema de partição do procedimento *HPLC*, constituído por coluna de C-18 encapada com um filme de *n*-octanol e, solução tampão pré-saturada de *n*-octanol (pH = 10,0).

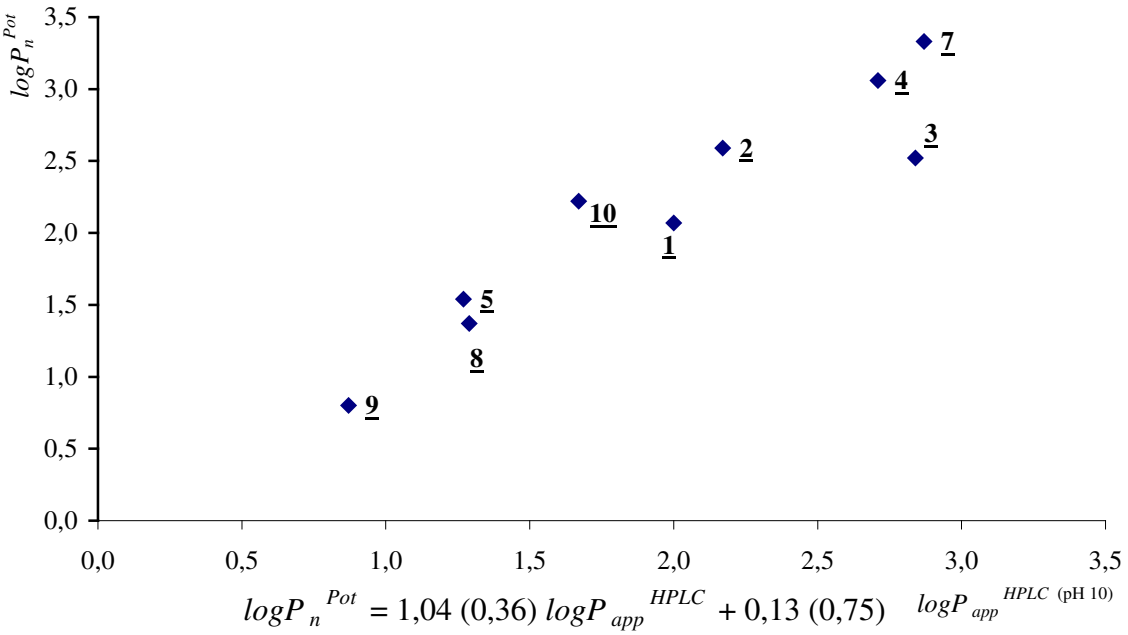
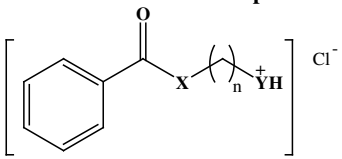


Figura IV.23. **Gráfico e equação de correlação entre os valores do $logP_n^{Pot}$[(a)] em função dos valores de $logP_{app}^{HPLC}$ [(b)], para a série de derivados da procaína (compostos 1 – 10, exceto 6)**

[(a)] Obtidos a partir do ajuste dos valores dos coeficientes da *equação 50* (CLARKE & CAHOON, 1987) aos valores do volume do titulante e de pH para cada um dos compostos da série de análogos da procaína, sendo μ = 0,10 M (NaCl) e a 23±1 ºC. O ajuste foi feito usando-se a opção "non linear curve fitting" do programa Origin 6.0 (OriginLab® Corporation © 1991-2002)

[(b)] Obtidos a partir do tempo de retenção de cada composto determinado em um sistema *HPLC*, utilizando-se uma coluna C-18 encapada com *n*-octanol como fase estacionária e uma solução tampão pH = 10,0; μ = 0,10 M (NaCl) como fase móvel a 23±1 ºC.

***Tabela* IV.4 Valores[(a)] de pK_a^{aq} (determinados por potenciometria[(b)] e por *Shake-flask*[(c)]); de pK_a^{oct} (determinados por *Shake-flask*[(c)]); de $logP_{app}$ nos valores de pH (3,0[(d)] 7,4[(e)] e 10,0[(f)]) respectivamente (determinados por HPLC[(g)] e por *Shake-flask*[(h)]); de $logP_i$ (determinados por potenciometria[(b)] e por *Shake-Flask*[(c)]) e, de $logP_u$ (determinados por potenciometria[(b)], *Shake-Flask*[(c)] e obtidos por cálculo[(i)]) para os compostos da série de derivados da procaína (compostos 1 –10)**



Composto				pK_a^{aq}		pK_a^{oct}	$logP_{app}$						$logP_i$		$logP_u$		
							pH = 3,0[(d)]		pH = 7,4[(e)]		pH = 10,0[(f)]						
N	X	n	Y	Pot.[(b)]	SF[(c)]		HPLC[(g)]	SF[(h)]	HPLC[(g)]	SF[(j)]	HPLC[(g)]	SF[(h)]	SF[(c)]	Pot.[(b)]	SF[(c)]	Pot.[(b)]	CLOGP[(i)]
1	-CH2-	1	-N(CH3)2	9,27 (0,02)	*9,1*	*5,8*	0,37 (0,01)	-1,77 (0,02)	1,11 (0,01)	*0,02*	2,00* (0,01)	1,74 (0,01)	*-1,6*	-1,32 (0,01)	*1,8*	2,07 (0,04)	*1,63*
2	-CH2-	1	-N(C2H5)2	9,86 (0,05) 9.78 (0.05)	*8,6*	*5,7*	0,73 (0,01)	-1,36 (0,01)	1,51 (0,01)	*0,38*	2,17 (0,01)	1,57 (0,02)	*-1,3*	-0,86(0,13) -0.88(0.30)	*1,6*	2,72 (0,14) 2.59 (0.07)	*2,68*
3	-CH2-	1	-Pirrolidino	9,78 (0,05)	*9,1*	*6,0*	0,67 (0,01)	-1,31 (0,01)	1,20 (0,01)	*0,19*	2,84 (0,01)	1,89 (0,02)	*-1,3*	-1,51 (0,03)	*1,9*	2,52 (0,02)	*2,48*
4	-CH2-	1	-Piperidino	9,49 (0,03)	*9,1*	*5,9*	0,81 (0,01)	-0,89 (0,03)	1,31 (0,01)	*0,71*	2,71 (0,01)	2,38 (0,08)	*-0,8*	0,48 (0,07)	*2,4*	3,06 (0,13)	*3,04*
5	-CH2-	1	-Morfolino	6,87 (0,01)	*6,8*	*3,8*	0,02 0,01)	-1,58 (0,02)	1,18 (0,01)	*1,15*	1,27 (0,01)	1,25 (0,01)	*-1,7*	-1,16 (0,07)	*1,2*	1,54 (0,11)	*1,77*
6	-CH2-	1	-Piperazino	*n.d.*[(k)]	*7.9*	*5,4*	-0,04 (0,01)	-2,50 (0,06)	1,28 (0,01)	*0,54*	1,55 (0,01)	1,18 (0,01)	*-1,4*	*n.d.*[(k)]	*1,2*	*n.d.*[(k)]	*2,40*
7	-CH2-	1	-c-hexilamino	9,83 (0,05)	*9,3*	*6,6*	1,52 (0,01)	-0,04 (0,01)	1,87 (0,01)	*0,79*	2,87 (0,01)	2,44 (0,04)	*0,0*	0,67 (0,05)	*2,6*	3,33 (0,06)	*3,24*
8	- NH-	2	-N(CH3)2	9.16 (0,02)	*8,7*	*5,8*	0,05 (0,01)	-1,72 (0,01)	0,28 (0,01)	*-0,22*	1,29 (0,01)	1,07 (0,01)	*-1,8*	-1,64 (0,05)	*1,1*	1,37 (0,06)	*1,09*
9	- NH-	1	-N(CH3)2	7,48 (0,03)	*7,4*	*4,9*	0,05 (0,01)	-1,67 (0,04)	0,57 (0,01)	*0,49*	0,87 (0,01)	0,80 (0,01)	*-1,6*	-1,21 (0,01)	*0,8*	0,80 (0,06)	*0,88*
10	-O-	2	-N(CH3)2	8,60 (0,02)	*8,2*	*5,0*	0,52 (0,01)	-1,43 (0,04)	1,52 (0,01)	*0,92*	1,67 (0,01)	1,74 (0,10)	*-1,4*	-1,19 (0,01)	*1,8*	2,22 (0,05)	*2,02*

(a) Os números entre parênteses representam os valores dos intervalos do desvio padrão das médias das medidas experimentais realizadas em duplicata. Os números em itálico se referem a valores estimados

(b) Valores estimados. Previstos através do ajuste dos valores dos coeficientes da *equação 50* aos valores de pH determinados através de titulação potenciométrica de uma solução aquosa dos correspondentes cloridratos, titulando-se com NaOH (1,00 N; solução-Titrisol Merck) sob agitação magnética a 23,0 ± 1,0 ºC e, borbulhamento contínuo de N_2 (livre de CO_2).

(c) Valores estimados. Previstos a partir do ajuste dos termos da *equação 52* aos valores de $logP_{app}^{SF}$ [(h)]. O ajuste dos parâmetros foi feito usando-se a opção "*non linear curve fitting*" do programa Origin 6.0 (OriginLab® Corporation © 1991-2002). Considerou-se o valor máximo do erro estimado como sendo igual a (± 0,1).

(d) Solução tampão ácido fosfórico/NaOH, μ = 0,10 M (NaCl).

(e) Solução tampão Tris-HCl, μ = 0,10 M (NaCl).

(f) Solução tampão ácido bórico/NaOH; μ = 0,10 M (NaCl).

(g) Obtidos por HPLC, utilizando como fase móvel a respectiva solução tampão pré-saturada com *n*-octanol e como fase estacionária coluna C-18 e a 23±1 °C.

(h) Obtidos pelo método *Shake-flask*, em duplicata, usando *n*-octanol/tampão, μ= 0,10 M (NaCl) e a 23±1 °C.

(i) Valores estimados. Obtidos pelo programa CLOGP (Biobyte Corp., 1995)

(j) Valores estimados. Previstos pelo modelo gerado pela *equação 52* ajustada aos valores de $logP_{app}^{SF}$. Considerou-se o valor máximo do erro estimado como sendo ± 0,1

(k) Valores não determinados. A justificativa encontra-se nos resultados e discussão.

IV.4. Parâmetro Biológico

É conhecido que anestésicos locais podem atuar bloqueando a condução do impulso nervoso em fibras motoras, ou sensoriais, do sistema nervoso periférico, causando paralisia ou perda da sensibilidade (HARDMAN *et al*., 1996). Esta ação se dá pela modificação da cinética de abertura e de fechamento dos canais de sódio, voltagem dependentes, presentes nas fibras nervosas. Os anestésicos locais podem agir ainda na junção neuromuscular esquelética, interrompendo a transmissão do impulso nervoso, provocando o relaxamento muscular. Esta ação ocorre devido ao bloqueio dos receptores nicotínicos do sistema colinérgico (NEHER & STEINBACH, 1978; CHARNET *et al*, 1990; CATTERALL & MACKIE, 1996; STEINBACH, 1977; FLAMMIA *et al*., 1999; RYAN & BAENZIGER, 1999; ROGER, *et al*., 2001; ARIAS, 1998, SOUCCAR *et al*., 1999; SOUCCAR *et al*., 1998).

A procaína (*Figura I.11*, Introdução) é reconhecido como anestésico local de uso freqüente na clínica médica (HARDMAN *et al*. 1996). Em diversos trabalhos anteriores, a ação da procaína, tanto sobre canais de sódio do sistema nervoso periférico quanto sobre receptores nicotínicos do sistema colinérgico foi correlacionada com parâmetros hidrofóbicos (SIQUEIRA, 2001).

Neste trabalho, para série de compostos derivados da procaína (compostos **1** – **10**) a atividade biológica avaliada foi o bloqueio da transmissão do impulso nervoso na junção neuromuscular esquelética no sistema músculo diafragma-nervo frênico de camundongos (albino Swiss) (SOUCCAR *et al*., 1998; 1999). Avaliações de outras atividades, como por exemplo a perda da sensibilidade à estimulação sensorial, em cobaias, ou a determinação da corrente de íons no canal de sódio isolado em preparações eletrofisiológicas (*Patch-Clamp e voltage-clamp)* foram alternativamente consideradas. Entretanto pela complexidade e gasto de tempo estas serão realizadas, somente após uma pré-seleção dos compostos mais ativos.

Assim, neste trabalho, para a série de derivados da procaína (compostos **1** a **10**) a atividade bloqueadora da transmissão neuromuscular foi escolhida como parâmetro biológico.

A determinação dos valores do parâmetro biológico foi efetuada e orientada pelo Prof. Dr. Antônio José Lapa e sua equipe do Departamento de Farmacologia do Instituto de Farmacologia da Universidade Federal de São Paulo (EPM), São Paulo.

Para cada composto da série de derivados da procaína, com o objetivo de se gerar as correpondentes curvas dose-resposta, a partir das quais se obtêm os respectivos valores de IC_{50} (concentração inibitória 50%, ou seja, a concentração molar do composto que inibe 50% do efeito máximo observado) foram feitos os registros do efeito de diferentes concentrações de cada composto sobre a contração muscular induzida por estimulação elétrica nervosa, em preparações nervo frênico-músculo diafragma de camundongo.

Os gráficos, com os registros das porcentagens de contração induzida por estimulação elétrica nervosa em função do tempo, em preparações nervo frênico-músculo diafragma de camundongo, observados para os compostos da série de derivados da procaína, estão apresentados nas *Figuras III.2 - 11*, respectivamente

Para o cloreto de 3-(dimetilamina)propiofenona (composto **1**) (*Figura III.2.*), pode-se observar que na faixa de concentração de $3x10^{-4}$ a 10^{-3}M e no período de observação de 30 minutos o efeito observado, ou seja, as porcentagens de contração em função do tempo foram máxima e mínima, sem que fosse possível a observação e a determinação de efeito em concentrações intermediárias.

Para o cloreto de 3-(dietilamina)propiofenona (composto **2**) (*Figura III.3.*), pode-se observar que na faixa de concentração de $3x10^{-5}$ a 10^{-4}M e no período de observação de 30 minutos o efeito observado, ou seja, as porcentagens de contração em função do tempo não variaram, dentro do erro experimental. O emprego de concentrações mais elevadas do composto nas preparações não são recomendadas, tendo em vista que em concentrações maiores do que 10^{-3}M a atividade bloqueadora se torna inespecífica.

Tanto para o cloreto de 3-(1-pirrolidina)propiofenona (composto **3**) (*Figura III.4.*), como para o cloreto de 3-(1-piperidina)propiofenona (composto **4**) (*Figura III.5.*), pode-se observar que na faixa de concentrações de $3x10^{-5}$ a 10^{-3}M e no período de observação de 30 minutos o efeito observado, ou seja, as porcentagens de contração ocorreram abruptamente, em um estreito intervalo de tempo (5 minutos), insuficiente para a avaliação de um efeito significativo, dentro do erro experimental.

Para o cloreto de 3-(1-morfolina)propiofenona (composto **5**) (*Figura III.6.*), pode-se observar que na faixa de concentrações de $3x10^{-4}$ a 10^{-3}M e no período de observação de 30 minutos o efeito observado, ou seja, a porcentagem de contração em função do tempo não variou significativamente, dentro do erro experimental.

Para o cloreto de 3-[1-(4-metilpiperazina)] propiofenona (composto **6**) e o cloreto de 3-(ciclo-hexilamina)propiofenona (composto **7**) (*Figura III.7 – 8,* respectivamente), pode-se observar que na faixa de concentrações de 10^{-4} a 10^{-3}M e no período de observação de 30 minutos o efeito observado, ou seja, as porcentagens de contração em função do tempo foi máxima e mínima, sem que fosse possível a observação e a determinação de efeito em concentrações intermediárias do composto.

Para o cloreto de *N*-[(*N,N*-dimetilamino) etil]benzamida (composto **8**) (*Figura III.9.*), pode-se observar que na faixa de concentração de 10^{-4} a 10^{-3}M e no período de observação de 30 minutos o efeito observado, ou seja, a porcentagem de contração em função do tempo foi adequada sendo possível a construção de uma curva dose-resposta para a obtenção do valor de IC_{50}.

Para o cloreto de *N*-[(*N,N*-dimetilamino)metil]benzamida (composto **9**) (*Figura III.10.*) e para o cloreto de *N*-[(*N,N*-dimetilamino)etil]benzoato (composto **10**) (*Figura III.11.*), pode-se observar que na faixa de concentrações de 10^{-4} a 10^{-3}M e no período de observação de 30 minutos o efeito observado, ou seja, as porcentagens de contração em função do tempo não variaram, dentro do erro experimental.

Para os compostos **3**, **4** e **8** da série de derivados da procaína, estudados neste trabalho, foram obtidos os correspondentes valores de IC_{50}, a saber, $0{,}1x10^{-3}$M; $0{,}3x10^{-4}$M e, $0{,}7x10^{-3}$M, respectivamente. Os valores de IC_{50} foram determinados a partir da curva dose-resposta, no tempo de 5 minutos. Para os demais compostos da série de derivados da procaína, os efeitos observados ultrapassaram os limites de concentração do composto, para o qual se garante a especificidade da atividade bloqueadora da transmissão do impulso nervoso na junção neuromuscular. Assim, para estes compostos (**1**, **2**; **5**-**7**; **9** e **10**) os valores de IC_{50} não puderam ser determinados. Para efeito de comparação, o valor de IC_{50} para a procainamida, um composto com atividade anestésica local (*Figura I.11*), é $4{,}3x10^{-3}$M (SIQUEIRA, 2001), utilizando-se as mesmas condições experimentais.

Como conclusão pode-se afirmar que, embora o sistema de avaliação da atividade biológica seja adequado para a determinação da atividade bloqueadora da transmissão do impulso nervoso da junção neuromuscular, a série de derivados da procaína não gerou valores adequados para a construção das correspondentes curvas dose-resposta. Sendo assim, para a série de compostos estudada neste trabalho, foi possível a determinação de valores de IC_{50} somente para os compostos **3**,**4** e **8** ($0{,}1x10^{-3}$M; $0{,}3x10^{-4}$M e, $0{,}7x10^{-3}$M, respectivamente), número insuficiente (KUBINYI, 1993A) para serem utilizados em uma análise de *QSAR*.

V – Conclusões

Através da análise comparativa dos valores dos parâmetros hidrofóbicos e relacionados à ionização ($logP_{app}^{SF}$; $logP_n^{SF}$; $logP_i^{SF}$; $(pK_a^{aq})^{SF}$; $(pK_a^{oct})^{SF}$; $logP_{app}^{HPLC}$ $logP_n^{Pot}$; $logP_i^{Pot}$; $(pK_a^{aq})^{Pot}$; $logP_{calc}$) obtidos respectivamente, por três métodos experimentais (*Shake-flask*; *HPLC* e potenciometria) e por cálculo (CLOGP), no sistema *n*-octanol/água como modelo de partição para descrever as contribuições relativas da(s) interação(ões) hidrofóbica(s) determinantes da atividade bloqueadora neuromuscular, para a série de dez derivados da procaína (compostos **1** – **10**) sintetizados, neste trabalho foi possível constatar:

1. Não há correlação linear ideal (a ≠ 1) entre os valores de $logP_{calc}$ e de $logP_{app}^{SF}$ (pH = 10,0).
2. A diferença entre os valores de $logP_{calc}$ e de $logP_{app}^{SF}$ (pH = 10,0) permite separar a série de compostos em dois grupos: compostos que contêm as funções amida ou éster (compostos **8**; **9** e **10**) e compostos contendo a função cetona (compostos **1** a **7**; exceto **1**).
3. Não há correlação linear ideal entre os valores de $logP_{calc}$ e de $logP_{app}^{SF}$ (pH = 3,0).
4. A diferença entre os valores de $logP_{calc}$ e de $logP_{app}^{SF}$ (pH = 3,0) revela que a contribuição da ionização para a partição foi constante, dentro do erro experimental, para os compostos **1** – **10** (pK_a 8,6 - 9,3), exceto para o composto **6**, devido à presença de um segundo grupo ionizável (pK_a ~ 3). Constatação análoga é observada comparando-se os valores de $logP_{app}^{SF}$ obtidos em valores de pH 10,0 e 3,0, respectivamente.
5. A *equação 52*, desenvolvida neste trabalho, descreve a variação dos valores de $logP_{app}^{SF}$ em função do pH, para todos compostos, exceto para o composto **6**, devido à presença de dois grupamentos ionizáveis.
6. Há correlação significativa entre os valores de $logP_n$ e de $logP_i$, determinados por *Shake-flask*, portanto não seria possível distinguir as contribuições relativas das espécies ionizada da não-ionizada para atividade bloqueadora neuromuscular, para a série de derivados da procaína.
7. Estudos futuros podem ser realizados com o objetivo de ampliar a série, incluindo-se compostos com maior impedimento estérico ao redor do grupamento ionizável, visando minimizar a correlação entre os valores de $logP_n$ e $logP_i$.
8. Há correlação significativa ideal (a ≅ 1) entre os valores obtidos de $logP_{app}^{HPLC}$ e de $logP_{app}^{SF}$, (pH=10,0), refletindo interações similares para a partição da espécie neutra, tanto no sistema cromatográfico utilizado (coluna encapada com um filme de *n*-octanol) como no sistema de partição do método *Shake-flask*, nas mesmas condições experimentais.

9. Há correlação linear significativa, não ideal, entre os valores obtidos de $logP_{app}^{HPLC}$ e de $logP_{app}^{SF}$, (pH=3,0), revelando que as correspondentes espécies ionizadas apresentam interações específicas mais intensas no sistema cromatográfico utilizado (coluna encapada com um filme de *n*-octanol) do que no sistema de partição *Shake-flask*, nas mesmas condições experimentais.

10. Há correlação linear significativa, não ideal (a = 0,77), entre os valores de $logP_{app}^{HPLC}$ (pH=10,0) e de $logP_{calc}$. A inclusão da variável indicadora (I_{CON}) relativa à presença da função amida resultou em um melhor coeficiente de regressão, sendo igual a 0,82.

11. Há correlação linear significativa entre os valores de $(pK_a^{aq})^{Pot}$ e de $(pK_a^{aq})^{SF}$ para a série estudada (compostos **1** – **10**, exceto **6**), validando os valores de $(pK_a^{aq})^{SF}$.

12. Há correlações lineares significativas, não ideais, tanto entre os valores de $logP_n^{Pot}$ e de $logP_n^{SF}$, como entre os valores de $logP_i^{Pot}$ e de $logP_i^{SF}$, para a série estudada (compostos **1** – **10**, exceto **6**), revelando que as interações hidrofóbicas observadas através do método potenciométrico são maiores do que as observadas através do método *Shake-flask*, nas mesmas condições experimentais.

13. Há correlação significativa ideal entre os valores de $logP_n^{Pot}$ e de $logP_{calc}$, refletindo interações similares entre a partição da espécie neutra (determinada no procedimento potenciométrico) e as descritas no programa CLOGP.

14. Há correlação significativa ideal entre os valores de $logP_n^{Pot}$ e de $logP_{app}^{HPLC}$ (pH = 10,0), para a série estudada (compostos **1** – **10**, exceto **6**). refletindo interações similares para a partição da espécie neutra, tanto no sistema cromatográfico utilizado (coluna encapada com um filme de *n*-octanol) como no procedimento potenciométrico, nas mesmas condições experimentais.

15. Embora o sistema de avaliação da bloqueadora da transmissão neuromuscular tenha sido adequado, a série de compostos estudada não gerou valores válidos para a construção das correspondentes curvas dose-resposta. Os valores obtidos de IC_{50} para os compostos **3**, **4** e **8** da série estudada foram insuficientes, em número, para serem utilizados em uma análise de *QSAR*.

16. Estudos futuros podem ser realizados com o objetivo de verificar a atividade anestésica local para os compostos da série estudada, avaliando-se a perda da sensibilidade à estimulação sensorial, em cobaias, ou em estudos mais sofisticados de eletrofisiologia (*patch clamp).* E assim, poder-se-á fornecer subsídios para elucidar as contribuições relativas da forma catiônica e da forma neutra, respectivamente de compostos ionizáveis com atividade anestésica local.

VI. Referências

ABRAHAM, M.H.; CHADHA, H.S. Applications Of A Solvation Equation To Drug Transport Properties. In: *Lipophilicity in Drug Action and Toxicology* (V. Pliska, B. Testa and H. van de Waterbeemd, eds.), VCH Publishers, Weinheim, Germany, pp. 311-337, **1996**.

ABRAHAM, M.H.; LIEB. W.R.; FRANKS, N.P. Role Of Hydrogen-Bonding In General-Anesthesia. *J. Pharm. Sci.* 80 (8): 719-724 AUG, **1991**.

AMARAL, A.T.; AMARAL, L. Carbonyl stretching frequencies in phenyl carboxylates, *J. Org. Chem.* 41, 1623-1627, **1976**.

AMARAL, A.T.; OLIVEIRA, A.C.; NEIDLEIN, R.; GALLACCI, M.; CAPRARA, L.; MIYAZAKI, Y. Physicochemical parameters involved in the lethal toxicity of N,N-[(dimethylamino)ethyl]-4-substituted benzoate hydrochlorides: a QSAR study. *Eur. J. Med. Chem.*, Paris, v. 32, p. 433-443, **1997**.

AMARAL, A.T.; MIYAZAKI, Y.; TAVARES, L.C.; OLIVEIRA, A.C.; GALLACCI, M. In: *QSAR and Molecular Modelling: Concepts, Computational Tools and Biological Applications*, p. 134-136, (SANZ, F., GIRALDO, J., MANAUT, F., eds.), Prous Science Publishers, Barcelona, **1995**.

AMARAL, A.T.; MONTANARI, CA. Química Medicinal: 25 anos de Planejamento Racional de Fármacos. *Química Nova* 25, 39-44, **2002**

ANDREWS P.R.; CRAIK, D.J.; MARTIN, J.L. Functional-Group Contributions To Drug Receptor Interactions. *J.Med. Chem.*, 27, 1648, **1984**.

ANDREWS, P.R.; TINTELNOT, M. Intermolecular Forces and Molecular Binding. In: *Comprehensive Medicianl Chemistry*, vol 4, p.321-347, (Hansch, C., Sammes, P.G., Taylor, J.B. eds.), Pergamon Press, Oxford, **1990**.

ARIAS, H. R. Binding sites for exogenous and endogenous non-competitive inhibitors of the nicotinic acetylcholine receptor. *Bioch. Bioph. Acta*, 173, 1376, **1998**.

ARTHUR, G.R. In: *Local anesthetics*, p.165-186, Strichartz, G.R., ed., Springer Verlag, Berlin, **1987**.

ARTURSSON, P.; PALM, K.; LUTHMAN, K. Caco-2 monolayers in experimental and theoretical predictions of drug transport *Adv. Drug Deliver. Rev.* 46 (1-3): 27-43 MAR 1 **2001**.

ATKINS, P.W. *Physical Chemistry*, 4th ed. p.6 Oxford University Press, Oxford, **1990**.

AVDEEF, A.; BOX, K.J.; COMER, J.E.A.; HIBBERT, C.; TAM, K.Y. pH-metric logP 10. Determination of liposomal membrane-water partition coefficients of ionizable drugs *Pharmaceut Res* 15 (2): 209-215 FEB, **1998**.

AVDEEF, A. Assessment of distribution profilies. In "*Lipophilicity in Drug Action and Toxicology*" (V. Pliska, B. Testa and H. van de Waterbeemd, eds.), VCH Publishers, Weinheim, Germany, pp. 109-137, **1996**.

AVDEEF, A. pH-Metric Log-P .1. Difference Plots For Determining Ion-Pair Octanol-Water Partition-Coefficients Of Multiprotic Substances. *Quant Struct-Act Rel* 11 (4): 510-517 Dec, **1992**.

AVDEEF, A. pH-Metric Log-p .2. Refinement of partition-coefficients and ionization-constants of multiprotic substances *J Pharm Sci* 82 (2): 183-190 FEB, **1993**.

BALANT, L.P.; GEX-FABRY, M. Modelling in Preclinical and clinical Drug Development. In: *Pharmacokinetic Optimization in Drug Research. Biological, Physicochemical, and Computational Strategies*, B. Testa, H. van de Waterbeemd, G. Folkers and R. Guy, Eds., Helvetica Chimica Acta and Wiley-VCH, Zürich, pp. 15-32, **2001**.

BARONI, R. Aspectos estruturais, mecanismo de formaçào e atividade antimicrobiana de benzilidenotiossemocarbazonas 2- ou 4-, potencialmente quimioterápicas [*Dissertação de Mestrado*] **-** FCF- USP, **1987**

BASTOS-CENEVIVA, M.P. Relações Lineares de Energia Livre e Atividade Biológica. *Quimica Nova*, julho, 141, **1984**.

BECKER, H.G.O.; BERGER W.; DOMSCHKE, G.; FANGHÄNEL, E.; FAUST, J.; FISCHER, M.; GENTZ, F.; GEWALD, K.; GLUCH, R.; MAYER, R.; MULLER, K.; PAVEL, D.; SCHMIDT, H.; SCHOLLBERG, K.; SCHWETLICK, K.; SEILER E.; ZEPPENFELD, G. In: *Organikum - Química Orgânica Experimental*, tradução da 19ª edição, Fundação Caloustre Gulbenkian, 638 - 641 **1993**.

BIOBYTE CORP.,201 West 4th St., Suíte 204, Claremont, CA91711, USA, Programa CLOGP versão 1.0.0 para Windows; **1995**.

BISCOPING, J.; BACHMANN-MENNENGA, M.B. Local anesthetics from ester to isomer *Anasth Intensiv Notf* 35 (5): 285-292 MAY, **2000**.

BÖHM, H.-J. Ligand design. In: *3D QSAR in Drug Design. Theory, Methods and Applications*, H. Kubinyi, Ed., ESCOM, Leiden, pp. 386-405, **1993**.

BÖHM, H.-J. LUDI - Rule-based automatic design of new substituents for enzyme-inhibitor leads. *J. Comput. Aided Mol. Design* , Dordrecht , v.6, p. 593-606, **1992**.

BOUCHARD, G.; GOBRY, V.; CARON. G.; ERMONDI, G.; FRUTTERO, R.; GIRAULT, H.H.; CARRUPT, P.-A.; TESTA, B. Lipophilicity behavior of the zwitterionic antihistamine cetirizine in 1,2-dichloroethane/water system *Proceedings of the second log P symposium Lipophilicity in Drug Disposition*, Lausanne, Suíça, **2001**.

BRUNS, R.E.; HAIDUKE R.L.A.; AMARAL, A.T.; The Linear Relationship between Koopmans' and Hydrogen Bond Energies for some Simple Carbonyl Molecules, *J. Braz. Chem. Soc.,*13 (6), 800-805, **2002**.

BUTTERWORTH, J.F.; STRICHARTZ, G.R. Molecular Mechanisms Of Local-Anesthesia - A Review *Anesthesiology*, 72, 711, **1990**.

CAMENISCH, G.; ALSENZ, J.; VAN DE WATERBEEMD, H.; FOLKERS, G. Estimation of permeability by passive diffusion through Caco-2 cell monolayers using the drugs' lipophilicity and molecular weight. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 6 313–319, **1998**.

CAREY, F.A.; SUNDBERG, R.J. In: *Advanced Organic Chemistry*, 3rd edition, Plenum press, New York, **1990**.

CATTERALL, W., MACKIE, K., In: *GOODMAN & GILMAN - As Bases Farmacológica da Terapêutica*, p. 243-255, 9a Ed, Hardman, J.G., Limbird, L.E., Molinoff, P.B., Ruddon, R.W., Eds., McGrawHill, Rio de Janeiro, **1996**.

CHARTON, M. Nature Of Ortho Effect .2. Composition Of Taft Steric Parameters *Journal of the American Chemical Society*, v.91, 615, **1969**.

CLARKE, F.H.; CAHOON, N.M. Ionization-Constants By Curve Fitting - Determination Of Partition And Distribution Coefficients Of Acids And Bases And Their Ions. *J Pharm Sci* 76 (8): 611-620 AUG, **1987.**

CLARKE, F.H.; CAHOON, N.M. Partition coefficients by curve fitting: The use of two different octanol volumes in a dual-phase potentiometric titration. *J Pharm Sci* 85 (2): 178-183 FEB, **1996**.

COLLANDER, R. The Distribution Of Organic Compounds Between Iso-Butanol And Water *Acta Chem. Scand.*, 4, 1085, **1950**.

COMER, J.; TAM, K. Lipophilicity Profiles: Theory And Measurement. In: *Pharmacokinetic Optimization in Drug Research. Biological, Physicochemical, and Computational Strategies*, B. Testa, H. van de Waterbeemd, G. Folkers and R. Guy, Eds., Helvetica Chimica Acta and Wiley-VCH, Zürich, pp. 275-304, **2001**.

COVINO, B.G. Pharmacology Of Local-Anesthetic Agents *Br. J. Anaesth.*, 58, 701, **1986**.

COVINO, B.G.; VASSALLO, H.G. In: *Local anesthetics,* Kitz, R.J. & Laver, M.B., eds., Grune & Stratton, New York, **1976**.

CRAIG, P. N. Interdependence between physical parameters and selection of substitutent groups for correlation studies. *J. Med. Chem.*, Washington, v.14, p. 680-684, **1971**.

CRAIG, P.N.; HANSCH, C.; McFARLAND, J.W.; MARTIN, Y.C.; PURCELL, W.P.; ZAHRADNIK, R. Minimal statistical data for structure-function correlations, *J. Med. Chem.*, Washington , v. 14, 447, **1971**.

CRAMER III, R.D.; DePRIEST S.A.; PATTERSON D.E.; HECHT, P. The developing practice of comparative molecular field analysis. In: *3D QSAR in Drug Design. Theory, Methods and Applications*; KUBINYI, H., Ed. Leiden: ESCOM, p 443-485, **1993**.

CRAMER, R. D.; PATTERSON, D. E., BUNCE, J. D. Comparative Molecular Field Analysis (COMFA). 1. Effect of shape on binding of steroids to carrier proteins. *J. Am. Chem. Soc.*, Washington, v. 110, p. 5959-5967, **1988**.

DEARDEN, J.C. Molecular Structure And Drug Transport. C. A. Ramsden, Ed., Vol. 4 of *Comprehensive Medicinal Chemistry*, C. Hansch, Ed., Pergamon Press, Oxford, pp. 375-412, **1990**.

DEARDEN, J.C.; BRADBURNE, S.J.A.; ABRAHAM, M.H.; The Nature of Molar Refractivity. In: *QSAR:Rational Approuches to the Design of Bioactive Compounds* SILIPO, C. VICTORIA, A. Eds. Elsevirs Sci. Publishers, Amsterdam, 143-151, **1991**.

DEARDEN, J.C.; BRESNEN, G.M. The Measurement Of Partition-Coefficients *Quant. Struct. Act. Relat.*, 7, 133, **1988**.

DEARDEN, J.C.; GEORGE, E. Effect Of Lipophilicity Of Ionizable Drugs On Deviations From Expected pH-Partition Behavior. *J Pharm Pharmacol* 30: P49-P49 Suppl. S, **1978**.

DUBAN, M.E.; BURES, M.G.; DELAZZER, J.; MARTIN, J.C. Virtual Screening of, Molecular Properties: A Comparison of LogP Calculators. In: *Pharmacokinetic Optimization In Drug Research. Biological, Physicochemical, And Computational Strategies*, B. Testa, H. van de Waterbeemd, G. Folkers and R. Guy, Eds., Helvetica Chimica Acta and Wiley-VCH, Zürich, pp. 485-498, **2001**.

DULLWEBER, F.; STUBBS, M.T.; MUSIL, D.; STURZEBECHER, J.; KLEBE, G. Factorising ligand affinity: A combined thermodynamic and crystallographic study of trypsin and thrombin inhibition *Journal Of Molecular Biology* 313 (3): 593-614 OCT 26 **2001**.

FLAMMIA, D.; DUKAT, M.; DAMAJ, M.I.; MARTIN, B.; GLENNON R.A. Lobeline: Structure-Affinity Investigation of Nicotinic Acetylcholinergic Receptor Binding *J. Med. Chem. 42,* 3726-3731, **1999**.

FREE, S.M.; WILSON, J.W. Mathematical Contribution To Structure-Activity Studies *J. Med. Chem.*, 7, 395, **1964**.

FRUTTERO, R.; CARON, G.; FORNATTO, E.; BOSCHI, D.; ERMONDI, G.; GASCO, A.; CARRUPT, P.A.; TESTA, B. Mechanisms of liposomes/water partitioning of (p-methylbenzyl)alkylamines *Pharmaceut Res* 15 (9): 1407-1413 SEP, **1998**.

FUJITA, T. The extrathermodynamic Approach to drug desig, In: HANSCH, C., SAMMES,P. G., TAYLOR, J. B., Eds. *Comprehensive Medicinal Chemistry*. The Rational Design, Mechanistic Study & Therapeutic Application of Chemical Compounds, v.4. Oxford: Pergamon Press, p.497 -560, **1990**.

FUJITA, T.; BAN, T. Studies On Structure-Activity Relationship .3. Structure-Activity Study Of Phenethylamines As Substrates Of Biosynthetic Enzymes Of Sympathetic Transmitters *J. Med. Chem.*, 14, 148, **1971**.

GAVIRAGHI, G.; BARNABY, R.J.; PELLEGATTI, M. Pharmacokinetic Challenges in lead optimization. In: *Pharmacokinetic Optimization in Drug Research. Biological, Physicochemical, and Computational Strategies*, B. Testa, H. van de Waterbeemd, G. Folkers and R. Guy, Eds., Helvetica Chimica Acta and Wiley-VCH, Zürich, pp. 3-14, **2001**.

GUL H.I.; VEPSALAINEN, J.; GUL, M.; ERCIYAS E.; HANNINEN O. Cytotoxic activities of mono and bis Mannich bases derived fromacetophenone against Renca and Jurkat cells *Pharmaceutica Acta Helvetiae* 74 393–398, **2000**.

GULYAEVA, N.; ZASLAVSKY. A.; LECHNER. P.; CHLENOV. M.; CHAIT, A.; ZASLAVSKY, B.; Relative Hydrophobicity And Lipophilicity Of Beta-Blockers And Related Compounds As Measured By Aqueous Two-Phase Partitioning, Octanol-Buffer Partitioning, And HPLC. *European Journal Of Pharmaceutical Sciences* 17 (1-2): 81-93 OCT **2002**.

GUPTA, S.P. Quantitative structure-activity relationships of antiarrhythmic drugs *Curr Pharm Design* 4 (6): 455-468 DEC, **1998**.

GUPTA, S.P. Quantitative Structure - Activity Relationship Studies On Local-Anesthetics *Chem.Rev.*, 91, 1109, **1991**.

HADGRAFT, J.; VALENTA, C. pH, pk(A) And Dermal Delivery *Int J Pharm* 200 (2): 243-247 MAY 10 **2000**.

HAMMETT, L.P. The Effect of Structure upon the Reactions of Organic Compounds. Benzene Derivatives *J. Am. Chem. Soc.*, 59, 96, **193**7.

HANDBOOK OF CHEMISTRY AND PHYSICS, 52 a Ed. **1971-1972**

HANSCH, C.; CLAYTON, J.M. Lipophilic Character And Biological-Activity Of Drugs .2. Parabolic Case *J Pharm Sci* 62 (1): 1-21 **1973**

HANSCH, C.; FUJITA, T. Analysis. A Method for the Correlation of Biological Activity and Chemical Structure. *J. Am. Chem. Soc*., Washington, v.86, p.1616-1626, **1964**.

HANSCH, C.; KURUP, A.; GARG, R.; GAO, H. Chem-bioinformatics and QSAR: A review of QSAR lacking positive hydrophobic terms *Chem. Rev*., 101, 619, **2001**.

HANSCH, C.; LEO, A. In: *Exploring QSAR. Fundamental and Applications in Chemistry and Biology*, Washington: ACS, **1995**.

HANSCH, C., LEO, A., HOEKMAN, D., In: *Exploring QSAR. Hydrophobic, Electronic and Steric Constants*, Washington: ACS, **1995**.

HANSCH, C., LEO, A., TAFT, R. W. A survey of Hammett substituent constants and resonance and field, *Chem. Rev*., Washington, v.91, p.165, **1991**.

HANSCH, C.; FUJITA, T. Analysis. A Method for the Correlation of Biological Activity and Chemical Structure. *J. Am. Chem. Soc.*, Washington, v.86, p.1616-1626, **1964**.

HANSCH, C.; KIM, D.; LEO, A.J.; NOVELLINO, E.; SILIPO, C.; VITTORIA, A. Toward A Quantitative Comparative Toxicology Of Organic-Compounds. Crc *Critical Reviews In Toxicology* 19 (3): 185-226, **1989**.

HARDMAN, J.G.; GILMAN, A.G.; LIMBIRD, L.E. *Goodman & Gilman's – The pharmacological Basis of Therapeutics*, Ed. P.B. Mollinoff e R.W. Ruddon, The McGraw-Hill, **1996**.

HELLMANN, H. Newer Methods Of Preparative Inorganic Chemistry Ii .8. Amidomethylations *Angew. Chem.,* 69, 463 **1957**.

HELMER, F.; KIEHS, K.; HANSCH, C. Linear Free-Energy Relationship Between Partition Coefficients And Binding And Conformational Perturbation Of Macromolecules By Small Organic Compounds. *Biochemistry-Us* 7 (8): 2858 **1968**.

HUANG, Y.; HALL, I.H. Hypolipidemic effects of alpha, beta, and gamma-alkylaminophenone analogs in rodents *Eur J Med Chem* 31 (4): 281-290, **1996**.

IKEDA, S.R., ARONSTAM, R.S., DALY, J.W., ARACAVA, Y., ALBUQUERQUE, E.X. *Mol. Pharmacol.* 26, 293, **1984**.

ISHIKI, H.M.; GALEMBECK, S.E.; AMARAL, A.T. Application of two alignments procedures in CoMFA analysis of nevirapine derivative. *Proceedings of 13th European Symposium on Quantitative Structure-Activity Relationships: Rational Approaches to Drug Design*, Amsterdam, **2001**.

ISHIKI, H.M. Relações Quantitativas estrutura-atividade QSAR/QSAR-3D de dipiridodiazepinonas, inibidoras da transcriptase reversa do virus da imunodeficiência humana do tipo I (HIV-1). [*Dissertação de Mestrado*] Depto. Química, FFCLRP, USP, Ribeirão Preto , S P, **1999.**

KALISZAN, R. Chromatography In Studies Of Quantitative Structure-Activity-Relationships. *J Chromatogr* 220 (1): 71-83, **1981**.

KAMLET MJ, TAFT RW. Linear Solvation Energy Relationships .1. Solvent Polarity - Polarizability Effects on Infrared-Spectra *J Chem Soc Perk* T 2 (3): 337-341, **1979**.

KAMLET, M.J.; ABRAHAM, M.H.; DOHERTY, R.M.; TAFT, R.W. Solubility Properties In Polymers And Biological Media .4. Correlation Of Octanol Water Partition-Coefficients With Solvatochromic Parameters *Journal Of The American Chemical Society* 106 (2): 464-466, **1984**.

KANSY, M.; FISCHER, H.; KRATZAT, K.; SENNER, F.; WAGNER, B. PARRILLA, I. High-Throughput Artifitial Membrane Permeability Studies In Early Lead Discovery And Development. In: *Pharmacokinetic Optimization in Drug Research. Biological, Physicochemical, and Computational Strategies*, B. Testa, H. van de Waterbeemd, G. Folkers and R. Guy, Eds., Helvetica Chimica Acta and Wiley-VCH, Zürich, pp. 447-464, **2001**.

KARAJIANNIS H.; VAN DE WATERBEEMD**,** H. The prediction of the lipophilicity of peptidomimetics. A comparison between experimental and theoretical lipophilicity values of renin inhibitors and their building blocks, *Pharmaceutica Acta Helvetiae.* 70, 67-77, **1995**.

KIM, K.H. 3D-Quantitative structure-activity-relationships - investigation of steric effects with descriptors directly from 3d-structures using a comparative molecular-field analysis (CoMFA) approach. *Quant. Struct.-Act. Relat* , v. 11, p. 453-460, **1992**.

KIM, K.H.; GRECO, G.; NOVELLINO, E. A critical review of recent CoMFA applications. Perspect. *Drug Discovery Des.*, 12, 257-315, **1998**.

KIM, K.H.; MARTIN, Y. C. .Direct predictions of linear free-energy substituent effects from 3D structures using Comparative Molecular Field Analysis. .1. Electronic effects of substituted benzoic acids. *J. Org. Chem.*, Washington, v. 56, p.2723-2729, **1991**.

KLEBE, G.; ABRAHAM, U. Comparative Molecular Similarity Index Analysis (CoMSIA) to study hydrogen-bonding properties and to score combinatorial libraries. *J Comput Aided Mol. Des.*, v.13, p.1-10, **1999**.

KLEBE, G.; ABRAHAM, U.; MIETZNER, T. Molecular similarity indices in a comparative-analysis (CoMSIA) of drug molecules to correlate and predict their biological activity. *J. Med. Chem*, Washington, v.37, p.4130-4146, **1994**.

KLEIN, W.; KORDEL, W.; WEISS, M.; POREMSKI, H.J. Updating Of The OECD Test Guideline 107 Partition-Coefficient *N*-octanol Water - OECD Laboratory Intercomparison Test On The HPLC Method. *Chemosphere* 17 (2): 361-386, **1988**.

KRÄMER, S.D. Liposome/Water Partitioning:Theory, Techniques, and Applications In: *Pharmacokinetic Optimization in Drug Research. Biological, Physicochemical, and Computational Strategies*, B. Testa, H. van de Waterbeemd, G. Folkers and R. Guy, Eds., Helvetica Chimica Acta and Wiley-VCH, Zürich, pp. 351-381, **2001**.

KUBINYI, H. 2D QSAR Models. Hansch and Free Wilson Analyses, in: *Computational Medicinal Chemistry and Drug Discovery*, J. P. Tollenaere, P. Bultinck, H. De Winter and W. Langenaeker, Eds., Marcel Dekker, Inc, New York, **accepted for publication**.

KUBINYI, H.; HAMPRECHT, F.A.; MIETZNER, T. Three-Dimensional Quantitive Similarity-Activity Relationships (3D-QSAR) from SEAL Similarity Matrices, *J.Med Chem*., Washington, v.41, p. 2553-2564, **1998**.

KUBINYI, H. Lipophilicity and drug activity. *Prog Drug Res* ,v.23, p.97-199, **1979**.

KUBINYI, H. QSAR: Hansch Analysis and Related Approaches. In: MANNHOLD, R., KROSGAARD-LARSEN, P., TIMMERMAN, H., Eds. *Methods and Principles in Medicinal Chemistry*, v.1, Weinheim: VCH, **1993a**.

KUBINYI, H., Ed. *3D QSAR in Drug Design. Theory, Methods and Applications*. ESCOM: Leiden, **1993b**.

KUBINYI, H. Quantitative Structure-Activity Relationships, 4. Nonlinear dependence of biological activity on hydrophobic character: a new model, *Arzneim.-Forsch*. (Drug Res.) 26, 1991-1997, **1976**

KUBINYI, H. Quantitative Structure-Activity Relationships, 7. The Bilinear Model, a New Model for Nonlinear Dependence of Biological Activity on Hydrophobic Character, *J. Med. Chem.* 20, 625-629, **1977**.

KUBINYI, H. Structure-based design of enzyme inhibitors and receptor ligands. *Curr.Opin.Drug Des.Discov.*, v.1, p.4-15, **1998**.

KUBINYI, H. The Free Wilson Method and its Relationship to the Extrathermodynamic Approach, in Quantitative Drug Design, C. A. Ramsden, Ed., Vol. 4 of *Comprehensive Medicinal Chemistry*, C. Hansch, Ed., Pergamon Press, Oxford, pp. 589-643, **1990**.

KUBINYI, H.; FOLKERS, G.; MARTIN, Y. C. 3D QSAR in drug design: ligand-protein interactions and molecular similarity-preface. *Perspect. Drug Discov. Des.,* Dordrecht, v.9-11, V-VIIIB, **1998**.

KUBINYI, H., The Quantitative Analysis of Structure-Activity Relationships, In: WOLFF, M.E., Ed. *Burger's Medicinal Chemistry*, 5. ed, v. 1, New York: Wiley, p 497-571, **1995**.

LAMBERT, W.J. Modeling Oil-Water Partitioning And Membrane Permeation Using Reversed-Phase Chromatography. *J Chromatogr A* 656 (1-2): 469-484 DEC 17, **1993**.

LEAHY, D.E.; MORRIS, J.J.; TAYLOR, P.J. Model Solvent Systems For QSAR .3. An LSER Analysis Of The Critical Quartet - New Light On Hydrogen-Bond Strength And Directionality. *J Chem Soc Perk T* 2 (4): 705-722 APR, **1992**.

LEAHY, D.E.; TAYLOR, P.J.; WAIT A.R. Model Solvent Systems For QSAR .1. Propylene-Glycol Dipelargonate (PGDP) - A New Standard Solvent For Use In Partition-Coefficient Determination. *Quant Struct-Act Rel* 8 (1): 17-31 MAR, **1989**.

LEO, A.; HANSCH, C. Linear Free-Energy Relationships Between Partitioning Solvent Systems. *J Org Chem* 36 (11): 1539, **1971**.

LEO, A.; HANSCH, C.; ELKINS, D. Partition Coefficients And Their Uses. *Chem Rev* 71 (6): 525, **1971**.

LEO, A.J. Calculating Log P(Oct) From Structures. *Chem Rev* 93 (4): 1281-1306 Jun, **1993**.

LEO, A.J. Methods Of Calculating Partition Coefficients. A. Ramsden, Ed., Vol. 4 of *Comprehensive Medicinal Chemistry*, C. Hansch, Ed., Pergamon Press, Oxford, pp. 295-319, **1990**.

LEO, A.J. Some Advantages Of Calculating Octanol Water Partition-Coefficients. *J Pharm Sci* 76 (2): 166-168 Feb **1987**.

LEO, A.J. The Future Of Log P Calculation. In "*Lipophilicity in Drug Action and Toxicology*" (V. Pliska, B. Testa and H. van de Waterbeemd, eds.), VCH Publishers, Weinheim, Germany, pp. 157-171, **1996**.

LI, H.L.; GALUE, A.; MEADOWS, L.A. molecular basis for the different local anesthetic affinities of resting versus open and inactivated states of the sodium channel. *Mol Pharmacol* 55 (1): 134-141 JAN, **1999**.

LI, H.L.; GALUE, A.; MEADOWS, L.; RAGSDALE D.S. A Molecular Basis for the Different Local Anesthetic Affinities of Resting Versus Open and Inactivated States of the Sodium Channel *Molecular Pharmacology*, **55:**134–141 **1999**.

MALVEZZI, A.; POLICASTRO, D.S.; SILVA, W.C.F.N.; AMARAL A.T. Study of ion-pair formation in a set of [(N,N-dimethylamino)-methyl]-4-substituted benzamide hydrochlorides. *Proceedings of the second log P symposium Lipophilicity in Drug Disposition*, Lausanne, Suíça, **2001**.

MANNHOLD, R.; DROSS, K.; SONNTAG, C. Estimation Of Lipophilicity By Reversed-Phase Thin-Layer Chromatography. In "*Lipophilicity in Drug Action and Toxicology*" (V. Pliska, B. Testa and H. van de Waterbeemd, eds.), VCH Publishers, Weinheim, Germany, pp. 141-154, **1996**.

MARTIN, Y., In: *Quantitative Drug Design. A Critical Introduction*, New York: Marcel Dekker, **1978**.

MARTIN, YC, WILLETT, P. In: *Designing bioactive molecules, three-dimensional techniques and applications*, Washington: ACS, **1998**.

MCFARLAND, J.W. On the parabolic relationship between drug potency and hydrofobicity. *J Med Chem*. 13:1192-1196, **1970**.

MEYER, J.D.; MANNING, M.C., Hydrophobic ion pairing: Altering the solubility properties of biomolecules *Pharm. Res.* 15(2): 188-93, **1998**.

MEYLAN, W.M.; HOWARD, P.H. Estimating log P with atom/fragments and water solubility with log P *Perspect Drug Discov* 19 (1): 67-84 **2000**

MIGUEL, S.R.M. Efeitos de substituintes sobre a polaridade da carbonila, em ésteres de ácidos benzóicos orto-substituídos, com atividade anestésica local [*Dissertação de Mestrado*] IQ-USP, **1992**.

NARAHASHI, T. Neuroreceptors and Ion Channels as the Basis for Drug Action: Past, present, and future. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, vol. 294, no. 1, **2000**.

NEHER, E.; STEINBACH, J.H. Local-Anesthetics Transiently Block Currents Through Single Acetylcholine-Receptor Channels *J Physiol*-277 (APR): 153-176, **1978**.

ORIGINLAB® Corporation ©, *Microcal Software*, Inc. One Roundhouse Plasa. Northampton MA, USA **1991-2002**.

PAPKE, R.L.; HORENSTEIN, B.A.; PLACZEK, A.N. Inhibition of Wild-Type and Mutant Neuronal Nicotinic Acetylcholine Receptors by Local Anesthetics *Mol Pharmacol* 60:1365–1374, **2001**.

PERRIN, D. D.; ARMAREGO, W. L. F. In: *Textbook Purification of Laboratories Chemicals*, 3 ª Ed. **1988**.

PERRIN, D.D.; DEMPSEY, B. In: *Buffers for pH and Metal Ion Control*, Chapman and Hall, London, **1994**.

PETRAUSKAS, A.A.; KOLOVANOV, E.A. ACD/Log P method description *Perspect Drug Discov* 19(1) 99-116 **2000**

PIRES J.R.; SAITO C.; GOMES S.L.; GIESBRECHT, A.M.; AMARAL. A.T. Investigation of 5-Nitrofuran Derivatives: Synthesis, Antibacterial Activity and Traditional Quantitative Structure-Activity Relationships, *J. Med. Chem*., 44, 3673-3681, **2001**.

PIRES, J.R.M. Relações Quantitativas entre a Estrutura Química de Derivados Nitrofurânicos e a Atividade Antimicrobiana contra Caulobacter crescentus e Staphylococcus aureus. [*Tese de Doutorado*] IQUSP, São Paulo, **1998**.

PLISKA. V.; TESTA, B.; VAN de WATERBEEMD, H. Lipophilicity: The empirical tool and the fundamentel objective. an introduction. In "*Lipophilicity in Drug Action and Toxicology*" (V. Pliska, B. Testa and H. van de Waterbeemd, eds.), VCH Publishers, Weinheim, Germany, pp. 1-6, **1996**.

QUINA, F.H.; ALONSO, E.O.; FARAH, J.P.S. Incorporation of Nonionic Solutes Into Aqueous Micelles - A Linear Solvation Free-Energy Relationship Analysis. *J. Phys. Chem.*-(30): 11708-11714, **1995**.

QUINTANAR-GUERRERO, D.; ALLEMANN, E.; FESSI, H.; DOELKER, E. Applications of the ion-pair concept to hydrophilic substances with special emphasis on peptides. *Pharm.Res.* 14, 119-127, **1997**.

RABJOHN, N.; FRONABARGER, J.W.; LINSTROMBERG, W.W. Beta-Diethylaminoethyl Esters Of Sterically Hindered Alkyl Substituted Benzoic Acids *J.Org.Chem.*, 20, 271, **1955**.

RAMINELLI, C. Estudo da relaçãos quantitativa entre a estrutura química e atividade citotóxica de séries de derivads de bases de Mannich [*Dissertação de Mestrado*] IQUSP, USP, S P, **2001**.

RANDO, D.G.; SATO, D.N.; SIQUEIRA, L.; Malvezzi, A.; Leite, C.Q.F.; Amaral A.T.; Ferreira, E.I.; Tavares, L.C. Potential tuberculostatic agents. Topliss application on benzoic acid [(5-nitro-thiophen-2-yl)-methylene]-hydrazide series *Bioorgan Med Chem* 10 (3): 557-560 MAR, **2002**.

RECANATINI, M.; VALENTINI, P.; DARE, P. Quantitative Structure-Activity-Relationships In A Set Of Local-Anesthetic Agents *Quant.Struct.Act.Relat.*, 7, 12, **1988**

REKKER, R.F. *The hydrophobic fragmental constant*. Elsevier, Amsterdan, **1977**.

RYAN, S.E.; BAENZIGER, J.E. A structure-based approach to nicotinic receptor pharmacology *Mol Pharmacol* 55 (2): 348-355 FEB, **1999**.

SCHERRER, R.A. Biolipid pKa Values And Lipophilicity Of Ampholytes And Ion Pairs. In: *Pharmacokinetic Optimization in Drug Research. Biological, Physicochemical, and Computational Strategies*, B. Testa, H. van de Waterbeemd, G. Folkers and R. Guy, Eds., Helvetica Chimica Acta and Wiley-VCH, Zürich, pp. 351-381, **2001**.

SCHERRER, R.A.; HOWARD, S.M. Use Of Distribution Coefficients In Quantitative Structure-Activity-Relationships. *J Med Chem* 20 (1): 53-58 **1977**.

SEEMAN, P.; ROTH, S.; SCHNEIDE, H. Membrane Concentrations Of Alcohol Anesthetics. *Biochim Biophys Acta* 225 (2): 171, **1971**.

SEILER, P. Interconversion Of Lipophilicities From Hydrocarbon-Water Systems Into Octanol-Water System. Eur *J Med Chem* 9 (5): 473-479, **1974**.

SHORE, P.A.; BRODIE B.B.; HOGBEN, C.A.M. The Gastric Secretion Of Drugs - A pH Partition Hypothesis *Journal Of Pharmacology And Experimental Therapeutics* 119 (3): 361-369, **1957**.

SHUKER, S.B.; HAJDUK, P.J.; MEADOWS, R.P.; FESIK, S.W. Discovering high-affinity ligands for proteins: SAR by NMR. *Science*, Washington, v.274, p.1531-1534, **1996**.

SIQUEIRA, L.J.A. Relação quantitativa entre a estrutura química e o bloqueio da transmissào neuromuscular para série de brometos de [2-(4-benzamido)etil)]benzildimetilamônio para-substituídos. [*Dissertação de Mestrado*] IQ-USP, USP, SP. Defesa: 07/12/**2001**

SLIPO C.; VITTORIA, A. Tree-dimention structure of drugs., in Quantitative Drug Design, C. A. Ramsden, Ed., Vol. 4 of *Comprehensive Medicinal Chemistry*, C. Hansch, Ed., Pergamon Press, Oxford, pp. 153-204, **1990**.

SOUCCAR, C.; LIMA-LANDMAN, M.T.R.; BALLEJO, G.; LAPA, A.J. Mechanism of neuromuscular blockade induced by phenthonium, a quaternary derivative of (-)-hyoscyamine, in skeletal muscles *Brit. J. Pharmacol*., 124, 1270, **1998**.

SOUCCAR, C.; BORRÁS, M. R.L.; CORRADO, A.P.; LIMA-LANDMAN, M.T.R.; LAPA, A.J. Natural probes for cholinergic sites: L-bebeerine actions on the neuromuscular transmission, the nicotinic receptor/ionic channel complex, and contraction of skeletal muscles. *J., APPTLA,* 49, 268, **1999**.

SOUSA, W.A. Estudo da relação entre a estrutura química e a toxicidade aguda de série de cloretos de [2-(benzoiloxi) etil]-dimetilamônio meta-substituídas, com atividade anestésica local [*Dissertação de Mestrado*] IQ-USP, **1997**.

STEINBACH, J.H. Local-Anesthetic Molecules Transiently Block Currents Through Individual Open Acetylcholine-Receptor Channels *Biophys J* 18 (3): 357-358, **1977**.

STENLAKE, J.B.; DHAR, N.C.; HADDOW, J.; MCDONALD, I.M.; MAEHR, R.B.; WASTILA, W.B. Neuromuscular Blocking-Agents - Some Approaches To Short-Acting Compounds *Eur. J. Med. Chem.*, 27, 463, **1992**.

STENLAKE, J.B.; DHAR, N.C.; HENDERSON, C.F.; MAEHR, R.B.; SCHARVER, J.; WASTILA, W.B.; MIDGLEY, J.M. Neuromuscular Blocking-Agents - Approaches To Short-Acting Compounds .2. Bis-Thiazolium Salts *Eur. J. Med. Chem*., 28, 415, **1993**.

STRICHARTZ, G.R.; RITCHIE, J.M., In: *Local Anesthetics*, p.21-52, Strichartz GR, ed. Springer, Berlin, **1987**.

SWAIN, R.W.; LUPTON, E.C. Field And Resonance Components Of Substituent Effects *J. Am. Chem. Soc.*, 90, 4328, **1968**.

TAFT, R.W., Polar And Steric Substituent Constants For Aliphatic And O-Benzoate Groups From Rates Of Esterification And Hydrolysis Of Esters *J .Am. Chem.Soc,*. 74, 3120, **1952**.

TAKACS-NOVAK, K.; AVDEEF, A. Interlaboratory study of log P determination by shake-flask and potentiometric methods. *J Pharmaceut Biomed* 14 (11): 1405-1413 AUG, **1996**.

TAKÁCS-NOVÁK, K.; SZÁSZ, G. Ion-pair partition of quaternary ammonium drugs: The influence of counter ions of different lipophilicity, size, and flexibility *Pharm. Res*. 16, 1633, **1999**.

TAVARES, L.C.; AMARAL, A.T. Efeito eletrônico de substituintes sobre a polaridade do grupo carbonila e atividade anestésica local de N-[(dimetilamino) metil] benzamidas 4-substituídas, *Rev. Farm. Bioq. USP*, 33 (2), 123-129, **1997**.

TAVARES, L.C. Efeitos de substituintes sobre a polaridade da carbonila, em ésteres de ácidos benzóicos orto-substituídos, com atividade anestésica local [*Dissertação de Mestrado*], FCF-USP, **1987**

TAVARES, L.C.Relações quantitativas entre a estrutura química e a atividade antimicrobiana de análogos à nifuroxazida [*Tese de Doutorado*], FCF-USP,**1993**

TAYLOR, P.J. Hydrophobic properties of Drugs, in Quantitative Drug Design, C. A. Ramsden, Ed., Vol. 4 of *Comprehensive Medicinal Chemistry*, C. Hansch, Ed., Pergamon Press, Oxford, pp. 241-294, **1990**.

TENLAKE, J.B., DHAR, N.C., HENDERSON, C.F., MAEHR, R.B., SCHARVER, J., WASTILA, W.B., MIDGLEY, J.M., *Eur. J. Med. Chem*., 28, 415, **1993**.

TESTA, B. Pharmacokinetic Lead Optimization: Fine Art Vs. Blind Technology. In: *Pharmacokinetic Optimization in Drug Research. Biological, Physicochemical, and Computational Strategies*, B. Testa, H. van de Waterbeemd, G. Folkers and R. Guy, Eds., Helvetica Chimica Acta and Wiley-VCH, Zürich, pp. 615-626, **2001**.

TESTA, B.; ANKER, L.; VAN DER WATERBEEMD, H.; BORNARD-CRAUSAZ, A.; THEODOROU, A.; JENNER, P.; MARSDEN, C.D. Basicity, Lipophilicity, And Lack Of Receptor Interaction Of N-

Aminoalkylbenzamides And N-Aminoalkyl-Ortho-Anisamides As Model Compounds Of Dopamine Antagonists *Helv. Chim. Acta*, 66 (2), 542, **1983**.

TESTA, B.; CARRUPT, P.A.; GAILLARD, P.; TSAI, R.S. Intramolecular interactions encoded in lipophilicity: Their nature and significance, In "*Lipophilicity in Drug Action and Toxicology*" (V. Pliska, B. Testa and H. van de Waterbeemd, eds.), VCH Publishers, Weinheim, Germany, pp. 49-71, **1996**.

TESTA, B.; CRIVORI, P.; REIST, M.; CARRUPT, P.A. The influence of lipophilicity on the pharmacokinetic behavior of drugs: Concepts and examples. *Perspect Drug Discov* 19 (1): 179-211, **2000**.

TIEDT, T.N.; ALBUQUERQUE, E.X.; BARRY, N.M.; ELDEFRAWI, M.E.; ELDEFRAWI, A.T. Voltage-Dependent And Time-Dependent Actions Of Piperocaine On The Ion Channel Of The Acetylcholine-Receptor *Mol. Pharmacol.*, 16, 909, **1979**.

TOPLISS, J. G.; COSTELLO, R. J. Chance correlations in structure-activity studeis using multiple regression analysis. *J.Med. Chem.*, Washington, v.15, p.1066-1068, **1972**.

TRAMONTINI, M.; ANGIOLINI, L., Further Advances In The Chemistry Of Mannich-Bases *Tetrahedron*, 46, 6, 1791 **1990**.

TRAMONTINI, M., Advances In Chemistry Of Mannich Bases *Synthesis*, 703 **1973**.

TSAI, R.-S.; LISA, G.; CARRUPT, P.-A.; TESTA, B. Centrifugal Partition Chromatography For Lipophilicity Measurements. In "*Lipophilicity in Drug Action and Toxicology*" (V. Pliska, B. Testa and H. van de Waterbeemd, eds.), VCH Publishers, Weinheim, Germany, pp. 89-106, **1996**.

UNGER SH, HANSCH C Model-Building In Structure-Activity Relationships - Re-Examination Of Adrenergic Blocking Activity Of Beta-Halo-Beta-Arylalkylamines *J Med Chem* 16 (7): 745-749, **1973**.

VAN de WATERBEEMD, H.; KANSY, M.; WAGNER, B.; FISCHER, H. Lipophilicity Measurement By Reversed-Phase High Performance Liquid Chromatography. In "*Lipophilicity in Drug Action and Toxicology*" (V. Pliska, B. Testa and H. van de Waterbeemd, eds.), VCH Publishers, Weinheim, Germanyx, pp. 73-85, **1996**.

VAN de WEATERBEEMD, H. Quantitative Structure Absorption Relationships. In: *Pharmacokinetic Optimization in Drug Research. Biological, Physicochemical, and Computational Strategies*, B. Testa, H. van de Waterbeemd, G. Folkers and R. Guy, Eds., Helvetica Chimica Acta and Wiley-VCH, Zürich, pp. 499-512, **2001**.

VAN de WEATERBEEMD, H.; SMITH, D.A. Relations Of Molecular Properties With Drug Disposition: The Case Of Gastrointestinal Absorption And Brain Penetration. In: *Pharmacokinetic Optimization in Drug Research. Biological, Physicochemical, and Computational Strategies*, B. Testa, H. van de Waterbeemd, G. Folkers and R. Guy, Eds., Helvetica Chimica Acta and Wiley-VCH, Zürich, pp. 51-64, **2001**.

VERLOOP, A., HOOGENSTRAATEN, W., TIPKER, J., In: *Drug Design*, vol. 7, p.165-207, (Ariens, E.J., Ed.), Academic Press, New York, **1976**.

VIANNA, P.T.G., In: *Temas de Anestesiologia*, p. 71-83, Braz, J.R.C., Castiglia, Y.M.M., organizadores, editora UNESP, **1992.**

VISWANADHAN VN, GHOSE AK, WENDOLOSKI JJ Estimating aqueous solvation and lipophilicity of small organic molecules: A comparative overview of atom/group contribution methods *Perspect Drug Discov* 19 (1): 85-98 **2000**

WANG RX, GAO Y, LAI LH Calculating partition coefficient by atom-additive method *Perspect Drug Discov* 19 (1): 47-66 **2000**

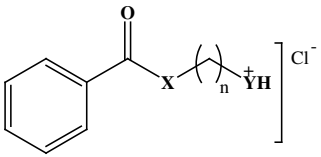
YAMAGAMI C, KAWASE K, IWAKI K Hydrophobicity parameters determined by reversed-phase liquid chromatograph. XV: Optimal conditions for prediction of log P-oct by using RP-HPLC procedures *Chem Pharm Bull* 50 (12): 1578-1583 DEC, **2002**.

YAMAGAMI C. AND KAWASE K. Comparison between log P and log k' for pyrazines: Attempted simulation of an HPLC system by octane/methanol-water partitioning system In: *Pharmacokinetic Optimization in Drug Research. Biological, Physicochemical, and Computational Strategies*, B. Testa, H. van de Waterbeemd, G. Folkers and R. Guy, Eds., Helvetica Chimica Acta and Wiley-VCH, Zürich, pp. 351-381, **2001**.

YUN I, CHO ES, JANG HO, Amphiphilic effects of local anesthetics on rotational mobility in neuronal and model membranes *BBA-Biomembranes* 1564 (1): 123-132 AUG 19, **2002**.

ZANATTA, N. ; RITTNER, R.J. Synthesis Of 4-Substituted "N-[(Dimethylamino)Methyl]Benzamides - New Compounds *J. Pharm. Sci*. V.72, nº 7, p. 831-832 **1983**.

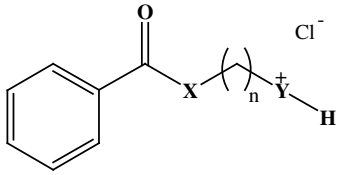
Tabela III.1. **Valores das constantes físicas, dos rendimentos e das análises elementar calculada e obtida experimentalmente dos produtos obtidos nas preparações dos compostos 1 – 8.**



Nº	X	n	Y	Fórmula Molecular	P.M. ($g.mol^{-1}$)	P.F. (ºC)	P.F.$_{lit.}$ (ºC)	Rend (%)	%C		%H		%N	
									calc	exp	calc	exp	calc	exp
1	$-CH_2-$	1	$-N(CH_3)_2$	$C_{11}H_{16}NOCl$	213.7	137-139	155-156 [b]	42	61,82	61,46	7,55	7,11	6,55	6,50
2	$-CH_2-$	1	$-N(C_2H_5)_2$	$C_{13}H_{20}NOCl$	241.8	110-111	108-110 [b]	47	64,59	64,25	8,34	8,17	5,79	5,86
3	$-CH_2-$	1	-Pirrolidina	$C_{13}H_{18}NOCl$	239,7	148-150	165-167 [b]	30	65,13	65,19	7,57	7,72	5,84	5,92
4	$-CH_2-$	1	-Piperidina	$C_{14}H_{20}NOCl$	253.8	185-186	193-195 [b]	70	66,26	66,10	7,94	7,63	5,52	5,53
5	$-CH_2-$	1	-Morfolina	$C_{13}H_{18}NO_2Cl$	255.8	168-170	182 [b]	25	61,05	61,18	7,09	6,84	5,48	5,54
6	$-CH_2-$	1	-Piperazina	$C_{14}H_{21}N_2OCl_2$	268.8	158-160	197 [b]	55	54,03 [a]	54,04	7,34 [b]	7,46	9,00 [b]	8,97
7	$-CH_2-$	1	-c-hexilamina	$C_{15}H_{24}NOCl$	267,8	179	177-179 [b]	30	67,28	67,29	8,28	7,66	5,23	5,24
8	-NH-	2	$-N(CH_3)_2$	$C_{11}H_{17}N_2OCl$	228,7	123-125	149 [c]	80	57,76	57,33	7,49	7,58	12,25	12,04

(a) Valores calculados considerando-se a presença de 0,3 moléculas de água para cada molécula do composto
(b) (HUANG & HALL, 1996)
(c) (TESTA, 1983)

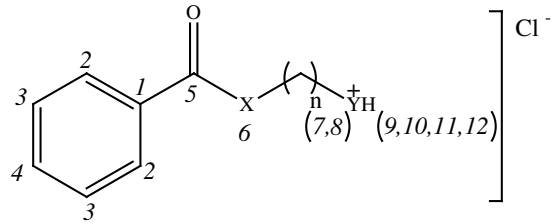
Tabela III.2. **Valores dos deslocamentos químicos (δ) em ppm, relativos ao TMS, das multiplicidades e das constantes de acoplamento (J) em Hz, observados nos espectros de RMN ^{1}H [(a)], para a série de derivados da procaína (compostos 1 – 8) utilizando-se o CDCl – d_1 como solvente.**



Nº	X	n	Y	δ (ppm), multiplicidade e J (Hz)
1	$-CH_2-$	1	$-N(CH_3)_2$	10,83 (s, 1H, ($^{+}$N***H***)); 8,04-8,01 (m, 2H, (Ar-***H***)); 7,72-7,55 (m, 3H, (Ar-***H***)); 3,65 (t, 2H, (C***H***2N+), J=7,50); 3,40 (t, 2H, (C***H***2CO), J=7,50); 2,80 (s, 6H, (+N(C***H***3)2))
2	$-CH_2-$	1	$-N(C_2H_5)_2$	11,94 (s, 1H, (+N***H***)); 8,04-8,00 (m, 2H, (Ar-***H***)); 7,76-7,44 (m, 3H, (Ar-***H***)); 3,81 (t, 2H, (C***H***2N+), J=7,46); 3,52 (t, 2H, (C***H***2CO), J=6,58); 3,22 (q, 4H, (+N(C***H***2CH3)2), J=7,02); 1,44 (t, 6H, ((CH2C***H***3)2), J=7,02)
3	$-CH_2-$	1	Pirrolidina	12,41 (s, 1H, (+N***H***)); 8,01-7,98 (m, 2H, (Ar-***H***)); 7,64-7,44 (m, 3H, (Ar-***H***)); 3,77 (t, 4H, (+N(C***H***2CH2)2), J=6,58); 3,58 (t, 2H, (C***H***2N+), J=5,26); 2,93 (m, 2H, (C***H***2CO)); 2,19-2,11 (m, 4H, (+N(CH2C***H***2)2)
4	$-CH_2-$	1	-Piperidina	12,24 (s, 1H, (+N***H***)); 8,03-7,98 (m, 2H, (Ar-***H***)); 7,65-7,44 (m, 3H, (Ar-***H***)); 3,84 (t, 2H, (C***H***2N+), J=7,46); 3,55 (m, 4H, (+N(C***H***2CH2)2); 2,07-2,68 (m, 2H, (C***H***2CO)); 2,38-2,18 (m, 2H, (CH2)2C***H***2)); 1,9-1,7 (m, 4H, ((CH2C***H***2)2)
5	$-CH_2-$	1	-Morfolina	13,19 (s, 1H, (+N***H***)); 8,04-8,00 (m, 2H, (Ar-***H***)); 7,67-7,46 (m, 3H, (Ar-***H***)); 4,3-3,9 (m, 4H, (+N(C***H***2-)2, J=7,46); 3,83 (t, 2H, (C***H***2N+), J=7,2); 3,53 (t, 2H, (C***H***2CO)); 3,5-3,0 (m, 4H, (CH2C***H***2)2O)
6	$-CH_2-$	1	-Piperazina	7,98-7,95 (m, 2H, (Ar-***H***)); 7,56-7,40 (m, 3H, (Ar-***H***)); 3,9-3,5 (m, 12H, (COC***H***2 C***H***2N+(C***H***2C***H***2)2-)2; 2,9 (s, 3H, (NC***H***3))
7	$-CH_2-$	1	-c-hexilamina	9,51 (s, 2H, (+N***H***2)); 7,96-7,91 (m, 2H, (Ar-***H***)); 7,55-7,36 (m, 3H, (Ar-***H***)); 3,81 (t, 2H, (C***H***2N+), J=7,02); 3,42 (m, 2H, (C***H***2CO)); 3,203 (m, 1H, (+N(C***H***(CH2)2)); 2,34-2,28 (m, 2H, (CHC***H***2CH2); 1,86-1,64 (m, 6H, (C***H***2C***H***2C***H***2)); 1,32-1,22 (m, 2H, (CH2C***H***2CH2)
8	-NH-	2	$-N(CH_3)_2$	7,92-7,45(m, 5H, Ar-***H***); 3,78 (t, J=6,00Hz, 2H, NHC***H***$_2$); 3,41 (t, J=5,70Hz, 2H, C***H***$_2$N $(CH_3)_2$); 2,99(s, 6H, N(C***H***$_3$)$_2$)

(a) Os espectros foram registrados em um espectrômetro marca Bruker, modelo AC-200, ambos operando em transformada de Fourier., em que a precisão nas medidas foi considerada como sendo igual ao erro sistemático de 0,001%.

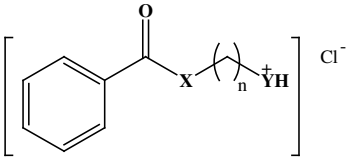
Tabela III.3. **Valores dos deslocamentos químicos (δ) em *ppm* retirados dos espectros de RMN ^{13}C [(a)], relativos ao TMS, para a série de derivados da procaína (compostos 1 – 8), na concentração de aproximadamente 0,1M, utilizando-se o CDCl – d_1 como solvente.**



Nº	X	n	Y	*C1*	*C2*	*C3*	*C4*	*C5*	*C6*	*C7*	*C8*	*C9*	*C10*	*C11*	*C12*
1	$-CH_2-$	1	$-N(CH_3)_2$	135,58	128,91	128,32	134,14	195,82	33,87	52,81	-	43,39			
2	$-CH_2-$	1	$-N(C_2H_5)_2$	135,67	128,90	128,36	134,07	196,18	33,55	47,26	-	46,82	8,42		
3	$-CH_2-$	1	-Pirrolidina	135,67	128,89	128,33	134,07	196,20	34,73	53,93	-	49,98	23,38		
4	$-CH_2-$	1	-Piperidina	135,53	128,36	128,32	134,14	195,82	33,87	53,83	-	52,81	43,39	22,64	
5	$-CH_2-$	1	-Morfolina	135,69	128,92	128,39	134,08	196,28	33,66	52,59	-	52,81	43,39	22,64	
6	$-CH_2-$	1	-Piperazina	137,22	129,62	129,32	135,04	197,69	32,57	53,26	-	51,24	43,36	34,15	
7	$-CH_2-$	1	-c-hexilamina	136,01	128,73	128,14	133,73	196,90	35,10	58,02	-	40,16	29,38	24,85	24,49
8	-NH-	2	$-N(CH_3)_2$	134,69	129,69	128,57	133,22	171,09	-	36,44	58,82	43,99			

(a) Os espectros foram registrados em um espectrômetro marca Bruker, modelo AC-200, ambos operando em transformada de Fourier., em que a precisão nas medidas foi considerada como sendo igual ao erro sistemático de 0,001%.

Tabela IV.1. Valores[(a)] de $logP_{app}^{SF}$ determinados na faixa de valores de pH 3,0 a 10,0 por *Shake-flask,* usando *n*-octanol/tampão[(b)], μ = 0,10 M (NaCl) e à 23±1 °C, para os compostos da série de derivados da procaína (compostos **1** –**10**).

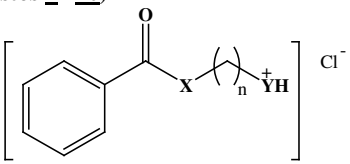


N	X	n	Y	3,0	4,0	5,0	6,0	7,0	8,0	9,0	10,0
1	$-CH_2-$	1	$-N(CH_3)_2$	-1,77 ± 0,02	-1,60 ± 0,02	-1,43 ± 0,01	-1,14 ± 0,01	-0,33 ± 0,01	0,54 ± 0,03	1,21 ± 0,01	1,74 ± 0,01
2	$-CH_2-$	1	$-N(C_2H_5)_2$	-1,36 ± 0,01	-1,16 ± 0,02	-0,99 ± 0,01	-0,77 ± 0,01	-0,02 ± 0,01	0,89 ± 0,01	1,39 ± 0,03	1,57 ± 0,02
3	$-CH_2-$	1	-Pirrolidino	-1,31 ± 0,01	-1,33 ± 0,06	-1,17 ± 0,01	-0,98 ± 0,02	-0,23 ± 0,01	0,71 ± 0,01	1,43 ± 0,01	1,89 ± 0,02
4	$-CH_2-$	1	-Piperidino	-0,89 ± 0,03	-0,86 ± 0,01	-0,77 ± 0,02	-0,55 ± 0,02	0,46 ± 0,02	1,22 ± 0,02	1,84 ± 0,01	2,38 ± 0,08
5	$-CH_2-$	1	-Morfolino	-1,58 ± 0,02	-1,17 ± 0,05	-0,57 ± 0,06	-0,38 ± 0,01	1,05 ± 0,01	1,21 ± 0,01	1,24 ± 0,01	1,25 ± 0,01
6	$-CH_2-$	1	-Piperazino	-2,50 ± 0,06	-1,52 ± 0,06	-1,24 ± 0,02	-0,56 ± 0,01	0,12 ± 0,01	0,82 ± 0,01	1,07 ± 0,08	1,18 ± 0,01
7	$-CH_2-$	1	-c-hexilamino	-0,04 ± 0,01	0,02 ± 0,02	0,05 ± 0,02	0,15 ± 0,01	0,50 ± 0,01	1,30 ± 0,03	1,98 ± 0,01	2,44 ± 0,04
8	- NH-	2	$-N(CH_3)_2$	-1,72 ± 0,01	-1,84 ± 0,10	-1,72 ± 0,05	-1,43 ± 0,01	-0,53 ± 0,01	0,30 ± 0,01	0,78 ± 0,02	1,07 ± 0,01
9	- NH-	1	$-N(CH_3)_2$	-1,67 ± 0,04	-1,62 ± 0,07	-1,26 ± 0,02	-0,56 ± 0,08	0,22 ± 0,04	0,72 ± 0,04	0,71 ± 0,05	0,80 ± 0,01
10	-O-	2	$-N(CH_3)_2$	-1,43 ± 0,04	-1,44 ± 0,08	-1,12 ± 0,01	-0,35 ± 0,11	0,54 ± 0,03	1,36 ± 0,02	1,69 ± 0,02	1,74 ± 0,10

(a) Os números representam as médias mais os intervalos do desvio padrão das medidas experimentais realizadas em duplicata.

(b) Soluções tampão: pH=3,0/Fosfato; pH=4,0/Acetato; pH=5,0/ Acetato; pH=6,0/Citrato; pH=7,0/Fosfato; pH=8,0/Tris; pH=9,0/Tris; pH=10,0/Borato.

***Tabela* IV.4 Valores[(a)] de pK_a^{aq} (determinados por potenciometria[(b)] e por *Shake-flask*[(c)]); de pK_a^{oct} (determinados por *Shake-flask*[(c)]); de $logP_{app}$ nos valores de pH (3,0[(d)] 7,4[(e)] e 10,0[(f)]) respectivamente (determinados por HPLC[(g)] e por *Shake-flask*[(h)]); de $logP_i$ (determinados por potenciometria[(b)] e por *Shake-Flask*[(c)]) e, de $logP_u$ (determinados por potenciometria[(b)], *Shake-Flask*[(c)] e obtidos por cálculo[(i)]) para os compostos da série de derivados da procaína (compostos 1 –10)**



Composto				pK_a^{aq}		pK_a^{oct}	$logP_{app}$						$logP_i$		$logP_n$		
							pH = 3,0[(d)]		pH = 7,4[(e)]		pH = 10,0[(f)]						
N	X	n	Y	Pot.[(b)]	SF[(c)]		HPLC[(g)]	SF[(h)]	HPLC[(g)]	SF[(j)]	HPLC[(g)]	SF[(h)]	SF[(c)]	Pot.[(b)]	SF[(c)]	Pot.[(b)]	CLOGP[(i)]
1	-CH2-	1	-N(CH3)2	9,27 (0,02)	*9,1*	*5,8*	0,37 (0,01)	-1,77 (0,02)	1,11 (0,01)	*0,02*	2,00* (0,01)	1,74 (0,01)	*-1,6*	-1,32 (0,01)	*1,8*	2,07 (0,04)	*1,63*
2	-CH2-	1	-N(C2H5)2	9,86 (0,05) 9.78 (0.05)	*8,6*	*5,7*	0,73 (0,01)	-1,36 (0,01)	1,51 (0,01)	*0,38*	2,17 (0,01)	1,57 (0,02)	*-1,3*	-0,86(0,13) -0.88(0.30)	*1,6*	2,72 (0,14) 2.59 (0.07)	*2,68*
3	-CH2-	1	-Pirrolidino	9,78 (0,05)	*9,1*	*6,0*	0,67 (0,01)	-1,31 (0,01)	1,20 (0,01)	*0,19*	2,84 (0,01)	1,89 (0,02)	*-1,3*	-1,51 (0,03)	*1,9*	2,52 (0,02)	*2,48*
4	-CH2-	1	-Piperidino	9,49 (0,03)	*9,1*	*5,9*	0,81 (0,01)	-0,89 (0,03)	1,31 (0,01)	*0,71*	2,71 (0,01)	2,38 (0,08)	*-0,8*	0,48 (0,07)	*2,4*	3,06 (0,13)	*3,04*
5	-CH2-	1	-Morfolino	6,87 (0,01)	*6,8*	*3,8*	0,02 0,01)	-1,58 (0,02)	1,18 (0,01)	*1,15*	1,27 (0,01)	1,25 (0,01)	*-1,7*	-1,16 (0,07)	*1,2*	1,54 (0,11)	*1,77*
6	-CH2-	1	-Piperazino	*n.d.*[(k)]	*7.9*	*5,4*	-0,04 (0,01)	-2,50 (0,06)	1,28 (0,01)	*0,54*	1,55 (0,01)	1,18 (0,01)	*-1,4*	*n.d.*[(k)]	*1,2*	*n.d.*[(k)]	*2,40*
7	-CH2-	1	-c-hexilamino	9,83 (0,05)	*9,3*	*6,6*	1,52 (0,01)	-0,04 (0,01)	1,87 (0,01)	*0,79*	2,87 (0,01)	2,44 (0,04)	*0,0*	0,67 (0,05)	*2,6*	3,33 (0,06)	*3,24*
8	- NH-	2	-N(CH3)2	9.16 (0,02)	*8,7*	*5,8*	0,05 (0,01)	-1,72 (0,01)	0,28 (0,01)	*-0,22*	1,29 (0,01)	1,07 (0,01)	*-1,8*	-1,64 (0,05)	*1,1*	1,37 (0,06)	*1,09*
9	- NH-	1	-N(CH3)2	7,48 (0,03)	*7,4*	*4,9*	0,05 (0,01)	-1,67 (0,04)	0,57 (0,01)	*0,49*	0,87 (0,01)	0,80 (0,01)	*-1,6*	-1,21 (0,01)	*0,8*	0,80 (0,06)	*0,88*
10	-O-	2	-N(CH3)2	8,60 (0,02)	*8,2*	*5,0*	0,52 (0,01)	-1,43 (0,04)	1,52 (0,01)	*0,92*	1,67 (0,01)	1,74 (0,10)	*-1,4*	-1,19 (0,01)	*1,8*	2,22 (0,05)	*2,02*

(a) Os números entre parênteses representam os valores dos intervalos do desvio padrão das médias das medidas experimentais realizadas em duplicata. Os números em itálico se referem a valores estimados

(b) Valores estimados. Previstos através do ajuste dos valores dos coeficientes da *equação 50* aos valores de pH determinados através de titulação potenciométrica de uma solução aquosa dos correspondentes cloridratos, titulando-se com NaOH (1,00 N; solução-Titrisol Merck) sob agitação magnética a 23,0 ± 1,0 ºC e, borbulhamento contínuo de N_2 (livre de CO_2).

(c) Valores estimados. Previstos a partir do ajuste dos termos da *equação 52* aos valores de $logP_{app}^{SF}$ [(h)]. O ajuste dos parâmetros foi feito usando-se a opção "*non linear curve fitting*" do programa Origin 6.0 (OriginLab® Corporation © 1991-2002). Considerou-se o valor máximo do erro estimado como sendo igual a (± 0,1).

(d) Solução tampão ácido fosfórico/NaOH, μ = 0,10 M (NaCl).

(e) Solução tampão Tris-HCl, μ = 0,10 M (NaCl).

(f) Solução tampão ácido bórico/NaOH; μ = 0,10 M (NaCl).

(g) Obtidos por HPLC, utilizando como fase móvel a respectiva solução tampão pré-saturada com *n*-octanol e como fase estacionária coluna C-18 e a 23±1 °C.

(h) Obtidos pelo método *Shake-flask*, em duplicata, usando *n*-octanol/tampão, μ= 0,10 M (NaCl) e a 23±1 °C.

(i) Valores estimados. Obtidos pelo programa CLOGP (Biobyte Corp., 1995)

(j) Valores estimados. Previstos pelo modelo gerado pela *equação 52* ajustada aos valores de $logP_{app}^{SF}$. Considerou-se o valor máximo do erro estimado como sendo ± 0,1

(k) Valores não determinados. A justificativa encontra-se nos resultados e discussão.