Elba Vieira Mustafa dos Santos

Estudo da relação quantitativa entre a estrutura química e a atividade antimicrobiana de cloretos de *N,N*[(dimetilamino)etil] benzoatos *para e meta* substituídos avaliada contra *Saccharomyces cerevisiae* (BY4741) e *Escherichia coli* (DH5 α)

Tese apresentada ao Instituto de
Química da Universidade de São
Paulo para obtenção do Título de
Doutor em Química
(Química Orgânica)

Orientadora: Prof^a. Assoc. Antonia Tavares do Amaral

**São Paulo
2009**

Elba Vieira Mustafa dos Santos

Estudo da relação quantitativa entre a estrutura química e a atividade antimicrobiana de cloretos de *N,N*[(dimetilamino)etil] benzoatos *para-* e *meta-* substituídos avaliada contra *Saccharomyces cerevisiae* (BY4741) e *Escherichia coli* (DH5 α).

Tese apresentada ao Instituto de Química da Universidade de São Paulo para obtenção do Título de Doutor em Química (Química Orgânica).

Aprovada em: _____

Banca Examinadora

Prof. Dr. _____

Instituição: _____

Assinatura: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____

Assinatura: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____

Assinatura: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____

Assinatura: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____

Assinatura: _____

Dedico este trabalho a Deus em primeiro lugar e aos meus amigos, Kátia Neves e o Rodrigo Resende. E, a Mariço Funasaki e Hiléia Barroso.

AGRADECIMENTOS

A Profa Dra. Antonia Tavares do Amaral por ter me aceito como aluna de doutorado. Muito obrigada pela oportunidade.

Ao Prof. Dr. Paulo Olivato pelo uso do equipamento de cromatografia (CG). Ao casal Alessandro e a Dra. Elisângela tanto no uso do CG como ajuda na tradução de alguns textos.

Ao Prof Dr. Etelvino Bechara pelo uso de seu laboratório e ao Prof. Dr. Cassius Stevani por ter dado todo apoio para realizar o ensaio biológico numa fase do trabalho. E ao seu aluno Luís Fernando Mendes por ter me ensinado a realizar os primeiros ensaios.

Ao Prof. Dr. Luís Eduardo Soares Netto do Instituto de Botânica da USP pelo apoio e colaboração durante os ensaios biológicos com levedura e sua aluna Gisele que ajudou no planejamento das etapas de otimização do ensaio.

Ao Prof. Dr. Henning Ulrich que apoiou a realização dos ensaios com *patch-clamp* e ao seu aluno Arquimedes Cheffer e Kátia Gomes que me ensinaram a realizar o ensaio. Agradeço também a amizade de Arianne, Cleber Trujillo, Kátia Yuahasi e Dr. Marcelo.

Meu especial agradecimento à Kátia Neves e ao Rodrigo Resende que estiveram presentes nos momentos mais difíceis dando-me apoio e incentivo.

A Dra. Mariko Funasaki e Hiléia que também se fizeram presentes nas horas de maior dificuldade. A Érika Piccirillo pela ajuda com o programa Reference Manager. Ao Leandro de Rezende pela instalação de programas. Ao Dr. Alberto Malvezzi, dentre os ensinamentos, a medida do $\log P$. A Raquel Teixeira pela tradução de textos da área biológica.

A Profa. Dra. Elizabeth Arêas pelo incentivo e pela sua amizade.

Agradeço aos colegas do laboratório: Dr. Alberto Malvezzi, Leandro de Rezende, Dr. Marcos Scotti, Dr. Hamilton, Maurício Vulcano, Fernando Seixas, Dra. Raquel Teixeira, Dr. Giovanni Caramori, Jamille, Érika, pelas discussões científicas, pelo incentivo e o pelo convívio no laboratório.

A funcionária Inocência (Nê) pelo auxílio no laboratório.

Agradeço aos amigos Fernando e Hiléia pela amizade e a ajuda dispensada. A Dra. Patrícia Macari que dispôs moradia no início. As colegas Hiléia, Dra. Mariko Funasaki por toda ajuda nos momentos mais difíceis.

A toda minha família.

Ao Conselho Nacional de Apoio a Pesquisa (CNPq) pela bolsa concedida durante este período para a realização deste projeto de tese.

A Coordenação de Assistência Social da Universidade de São Paulo.

RESUMO

Santos, E.V.M. **Estudo da relação quantitativa entre a estrutura química e a atividade antimicrobiana de cloretos de *N,N*[(dimetilamino)etil] benzoatos *para*- e *meta*- substituídos avaliada contra *Saccharomyces cerevisiae* (BY4741) e *Escherichia coli* (DH5 α). 2009 (256p). Tese de Doutorado - Programa de Pós-Graduação em Química. Instituto de Química, Universidade de São Paulo, São Paulo.**

No presente trabalho, destinado a tese de doutorado, desenvolvemos um estudo da relação entre a estrutura química e atividade antimicrobiana de duas séries, a saber: **Série I** - quatorze cloretos *N,N*[(dimetilamino)etil]-benzoatos *para*-substituídos, onde R_4 = H, CH₃, C₂H₅, nC₄H₉, tC₄H₉, OCH₃, nOC₄H₉, COCH₃, Cl, CN, NO₂, OC₆H₁₃, SO₂Me, CF₃ (compostos I.1 a I.14) e **Série II** - quatorze cloretos *meta*-substituídos onde R_3 = H, -CH₃, -OCH₃, -OC₂H₅, -OC₄H₉, -F, -Cl, -Br, -I, -NO₂, -CN, -CF₃, -N(CH₃)₂, SO₂CH₃ (compostos II.1. a II.14). Os compostos haviam sido sintetizados anteriormente no grupo (Amaral *et al*, 1997; Sousa, 1997).

Para as séries I e II, os valores do coeficiente de partição em *n*-octanol foram obtidos por cálculo (utilizando os programas CLOGP e ACD/LogP) bem como determinados experimentalmente pelo método CLAE e considerados parâmetros lipofílicos nos modelos de QSAR.

Adicionalmente, para as séries I e II, os **valores** da posição da banda de absorção da carbonila na região do **infravermelho** bem como do deslocamento químico da carbonila no **RMN ¹³C** foram determinados sendo o primeiro considerado como **parâmetro eletrônico** nos modelos QSAR. E, **ainda**, para as séries I e II os **valores** de **MR₃** e de **MR₄**, **relacionados à refratividade molar**, foram obtidos da literatura e considerados nas análises QSAR.

Para as séries I e II os valores de **IC₅₀** (concentração inibição 50% do crescimento) foram determinados contra, respectivamente, o fungo *Saccharomyces cerevisiae* (BY4741) e contra a bactéria *Escherichia coli* (DH5 α) e considerados como parâmetros biológico nas análises QSAR.

Para as séries I e II e para as séries I e II reunidas, foram gerados modelos QSAR e estes foram analisados visando avaliar a natureza e a contribuição de cada parâmetro estrutural para cada uma das atividades avaliadas. A aplicação do modelo linear resultou em modelos iestatisticamente significativos para as atividades contra o *Saccharomyces cerevisiae* (BY4741) e contra a *Escherichia coli* (DH5 α) para a série I e para as séries I e II reunidas. A série II não gerou modelos lineares

estatisticamente significativos. A aplicação dos modelos bilinear e parabólico foram verificadas não resultando em modelos estatisticamente significativos.

Para a série I e para as séries I e II reunidas estudadas neste trabalho, as diferenças observadas nos modelos QSAR gerados para a inibição do crescimento de, respectivamente, *S. cerevisiae* (BY4741) e de *E. coli* (DH5 α) podem ser, possivelmente, explicadas considerando-se as diferenças nas membranas externas de cada microorganismo.

Palavras-chave: Relações quantitativas entre estrutura química e atividade biológica (QSAR), análogos da procaína, *Saccharomyces cerevisiae* (BY4741), *Escherichia coli* (DH5 α), atividade antimicrobiana.

ABSTRACT

Santos, E.V.M. **Quantitative structure activity relationships studies for antimicrobial activity of *para* and *meta* substituted *N,N*-[(dimethylaminoethyl) benzoates chlorides evaluated against *Saccharomyces cerevisiae* (BY4741) and *Escherichia coli* (DH5 α). 2009. (256p.). PhD Thesis – Graduate Program in Chemistry. Instituto de Química, Universidade de São Paulo, São Paulo.**

In this PhD thesis work, we developed a quantitative structure relationship study for the antimicrobial activity of two series, namely: **Series I** – fourteen *para*-substituted *N,N*-[(dimethylamino)ethyl]] benzoates chlorides, where $R_4 = -H, -CH_3, -C_2H_5, -nC_4H_9, -tC_4H_9, -OCH_3, -nOC_4H_9, -COCH_3, -Cl, -CN, -NO_2, -OC_6H_{13}, -SO_2Me, -CF_3$ (compounds I.1 - I.14) and **Series II** - fourteen *meta*-substituted chlorides, where $R_3 = -H, -CH_3, -OCH_3, -OC_2H_5, -OC_4H_9, -F, -Cl, -Br, -I, -NO_2, -CN, -CF_3, -N(CH_3)_2, -SO_2CH_3$ (compounds II.1. - II.14). These compounds had been previously synthesized in the group (Amaral *et al*, 1997; Sousa, 1997).

For series I and II, the partition coefficient values in *n*-octanol were obtained by calculation (using the CLOGP and the ACD/LogP programs) and were obtained experimentally by HPLC method. These values were taken as lipophilic parameters in the QSAR analysis.

In addition, for the series I and II, the carbonyl infrared absorption band values and ^{13}C -NMR chemical shifts of carbonyl group were determined, being the former considered as electronic parameters in the QSAR analysis. Further, for the series I and II, the MR_3 and MR_4 values were taken from the literature and considered as molar refractivity related parameter in the QSAR analyses.

For the series I and II, IC_{50} values (concentration inhibiting 50% growth) were determined against, respectively, *Saccharomyces cerevisiae* (BY4741) yeast and *Escherichia coli* (DH5 α) bacteria and taken as biological parameters in the QSAR analysis.

For the series I and II and for series I e II altogether, QSAR models were generated and analysed in order to determine the nature and the contribution of each structural parameter to the determined antimicrobial activities. The application of linear model resulted in statistically significant QSAR models for the activities evaluated against *Saccharomyces cerevisiae* (BY4741) and against *Escherichia coli* (DH5 α) for series I and for series I and II taken altogether. No statistically significant linear models were obtained for series II. The application of bilinear and parabolic models was verified, resulting in no statistically significant models.

For series I and series I e II altogether, the differences observed in the generated QSAR models for the inhibition, respectively, of *Saccharomyces cerevisiae* (BY4741) and of *E. coli* (DH5 α) growth, can be, probably, explained considering the differences in the external membranes of each microorganism.

Keywords: Quantitative Structure–Activity Relationships (QSAR), procaine analogs, *Saccharomyces cerevisiae* (BY4741), *Escherichia coli* (DH5 α), antimicrobial activity.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

QSAR- relações quantitativas entre a estrutura química e atividade biológica

σ - constante eletrônica de Hammett, posição

π - constante de hidrofobicidade de Hansch-Fujita

Σ -constante eletrônica de Swain e Lupton

$\Re$ - constante de ressonância Swain e Lupton

f - constante fragmento de Rekker

logP –coeficiente de partição

logP_{app} – coeficiente de partição aparente

logP_{CLAE} – coeficiente de partição obtido pelo método CLAE

logP_{calc} – coeficiente de partição calculado pelo programa CLOGP

RMN ¹H - ressonância magnética de hidrogênio

RMN ¹³C - ressonância magnética de carbono 13

I. V - infravermelho

CG – cromatografia gasosa

$\nu_{C=O}$ – estiramento da carbonila na região IV.

α - polarizabilidade

β - relação entre as fases orgânica e aquosa no sistema bilinear

μ - força iônica

J - constante de acoplamento

δ - deslocamento químico no espectro de RMN ¹H e RMN ¹³C.

r – coeficiente de correlação

s – desvio padrão

IC₅₀- concentração de inibição de 50% do crescimento do microorganismo

mol/l- molaridade por litro

AAL- atividade anestésica local

LB – Luria – Bertani (Yeast, Triptona)

HEPES – ácido *N*-2-hidroxietilpiperazina-*N'*-2-etanossulfônico

YPD – Yeast, Peptona, Dextrose

Lista de Tabelas

Tabela I.1.1.1 Principais componentes das membranas plasmáticas em vários organismos.	32
Tabela I.1.1.2. Porcentagem de proteínas e de lipídios em membranas de tecidos de rato.	33
Tabela I.1.3.1. Interação fármaco-membrana. (Seydel <i>et al.</i> , 2008).	40
Tabela I.3.3.1- Principais interações e energias envolvidas nas interações entre ligante e o receptor.	53
Tabela I.3.3.2- Propriedades moleculares e os tipos de interações correspondentes.	57
Tabela II.3.3.1- Exemplo ilustrativo de arquivo de saída típico gerado pelo programa CLOGP e uma notação SMILES para o composto I.1 (R=H) .	85
Tabela III.2.1- Valores dos rendimentos observados nas recristalizações, dos PF e dos percentuais verificados nas análises de cromatografia a gás (CG), para a série de 27 cloretos de <i>N,N</i> [(dimetilaminoetil) benzoatos <i>para-</i> e <i>meta-</i> substituídos.	92
Tabela III.2.2- Valores das constantes físicas, dos rendimentos dos produtos obtidos na purificação dos cloretos de <i>N,N</i> [(dimetilaminoetil) benzoatos <i>para-</i> substituídos (série I , compostos I.1 a I.14).	93
Tabela III.2.3- Valores das constantes físicas dos cloretos de <i>N,N</i> [(dimetilaminoetil) benzoatos <i>meta-</i> substituídos (série II , compostos II.1 a II.14)	94
Tabela III.2.4- Análises elementares calculadas e obtidas experimentalmente para os cloretos de <i>N,N</i> [(dimetilaminoetil) benzoatos <i>meta-</i> substituídos (série II compostos II.1 a II.14)	94
Tabela III.2.5- 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 os cloretos de <i>N,N</i> [(dimetilaminoetil) benzoatos <i>para-</i> substituídos (Série I , compostos I.1 e I.14) utilizando-se como solvente CDCl_3 ou $\text{DMSO} - d_6$.	95
Tabela III.2.6- 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 os cloretos de <i>N,N</i> [(dimetilaminoetil) benzoatos <i>meta-</i> substituídos (série II , compostos II.1 e II.14) utilizando como solvente CDCl_3 ou D_2O	95
Tabela III.2.7- 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 os cloretos de <i>N,N</i> [(dimetilamino)etil] benzoatos <i>para-</i> substituídos (Série I , compostos I.1 e I.14) utilizando como solvente CDCl_3 ou $\text{DMSO} - d_6$	96
Tabela III.2.8- Valores dos deslocamentos químicos (δ) em ppm retirados dos espectros de RMN ^{13}C relativos ao sinal do CDCl_3 (ajustado para 77,00 ppm) observados em solução de CDCl_3 ou de $\text{DMSO}-d_6$ na concentração de aproximadamente 0,15 M, para os cloretos de <i>N,N</i> [(dimetilamino)etil] benzoatos <i>para-</i> substituídos (série I , compostos I.1aI.14).	96
Tabela III.2.9- 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 os cloretos de <i>N,N</i> [(dimetilamino)etil] benzoatos <i>meta-</i> substituídos (série II , compostos II.1 e II.14) utilizando como solvente CDCl_3 ou D_2O	97
Tabela III.2.10- Valores dos deslocamentos químicos (δ) em ppm retirados dos espectros de RMN ^{13}C relativos ao sinal do CDCl_3 (ajustado para 77,00 ppm) observados em solução de CDCl_3 ou de D_2O na concentração de aproximadamente 0,15 M, para os cloretos de <i>N,N</i> [(dimetilaminoetil) benzoatos <i>meta-</i> substituídos (série II , compostos II.1 a II.14).	97
Tabela III.3.1.1- Valores de constante hidrofóbica de grupo substituinte (π) de Hansch-Fujita, retirados da literatura (Kubinyi, 1993).	98
Tabela III.3.2.1- Valores do coeficiente de partição no sistema 1-octanol/água obtidos por cálculo ($\log P_{\text{CLOGP}}$), utilizando-se o programa CLOGP (Leo, 1993), versão 1.0.0. para Windows (1995), BioByte, USA, para os compostos das séries I e II.	99
Tabela III.3.2.2- Valores do coeficiente de partição no sistema 1-octanol/água obtidos por cálculo ($\log P_{\text{ACD}}$), utilizando-se o programa ACD/LogP, (Mannhold & Ostermann, 2008) para os	99

compostos das séries I e II.	
Tabela III.3.3.1- Exemplo típico de valores respectivamente, do tempo de retenção $t_R^{(a)}$ do $\log k'$ e do $\log P$ extraído da literatura ^(b) das substâncias padrão utilizadas para caracterizar, calibrar e validar o sistema cromatográfico.	100
Tabelas III.3.3.2- Valores de $t_R^{(a)}$, de $\log k'$ e de $\log P_{CLAE}^{(b)}$ determinados ^(c) para cloretos de <i>N,N</i> [(dimetilaminoetil) benzoatos para-substituídos (série I , compostos I.1 a I.14).	102
Tabelas III.3.3.3- Valores de $t_R^{(a)}$, de $\log k'$ e de $\log P_{CLAE}^{(b)}$ determinados ^(c) para os cloretos de <i>N,N</i> [(dimetilaminoetil) benzoatos meta-substituídos (série II , compostos II.1 a II.14).	102
Tabela III.3.3.4- Valores dos volumes injetados (μ L) da solução aquosa tamponada de cada composto ; de $\log k'$ e de $\log P_{CLAE}$ observados para a série de cloretos de <i>N,N</i> [(dimetilamino)etil] benzoatos meta substituídos (série II , compostos II.1 a II.14).	103
Tabela III.3.3.5- Valores dos volumes injetados (μ L) da solução aquosa tamponada de cada composto; de $\log k'$ e de $\log P_{CLAE}$ observados para a série de cloretos de <i>N,N</i> [(dimetilamino)etil] benzoatos para-substituídos (série I , compostos I.1 a I.14).	104
Tabela III.4.2.1- Valores dos parâmetros eletrônicos retirados da literatura (Amaral, 1997) e obtidos experimentalmente ($\delta_{13C=0}$ e $\nu_{C=O}$) e parâmetro relativo à polarizabilidade (MR_4) retirado da literatura (Kubinyi, 1993) para os cloretos de <i>N,N</i> [(dimetilamino)etil] benzoatos para-substituídos (série I , compostos I.1 a I.14).	106
Tabela III.4.2.2- Valores dos parâmetros eletrônicos retirados da literatura (Hansch <i>et al.</i> , 1995) e obtidos experimentalmente ($\delta_{13C=0}$ e $\nu_{C=O}$) e parâmetro relativo à polarizabilidade (MR_3) retirado da literatura (Kubinyi, 1993) para os cloretos de <i>N,N</i> [(dimetilamino)etil] benzoatos meta-substituídos (série II , compostos II.1 a II.14) .	107
Tabela III.4.3.1- Valores do deslocamento da frequência da carbonila em cm^{-1} , observados nos espectros de Infra-vermelho, para os cloretos <i>N,N</i> [(dimetilamino)etil]-benzoatos para-substituídos utilizando-se $CHCl_3$ como solvente.	108
Tabela III.5.1- Valores de refratividade molar (MR_4 e MR_3) retirados da literatura (Kubinyi, 1993).	109
Tabela III.6.1.4.1- Valores da massa pesada e do volume da mistura de solventes DMSO/ H_2O (1:3, v/v) utilizados na preparação das soluções dos compostos da série de <i>N,N</i> [(dimetilamino)etil] benzoato para-substituídos.	112
Tabela III.6.1.4.2- Preparação das soluções de teste do composto <i>N,N</i> [(dimetilamino)etil] benzoato não substituído em (DMSO/ H_2O - 1:3,v/v).	113
Tabela III. 6. 2.1.1- Valores do volume de DMSO adicionados à 700 μ L de meio de cultura tamponado (YPD em pH 7,4 (HEPES; μ de 0,123M, NaCl) , contendo a levedura (30 μ L a 40 μ L).	113
Tabela III.6.2.1.2- Inibição do crescimento de <i>S. cerevisiae</i> em meio de cultura YPD em pH 7,4 (0,1M HEPES; μ = 0.1M (NaCl)) para o dimetilsulfóxido (DMSO).	114
Tabela III.6.2.2.1- Valores de densidade ótica (DO) observada para o crescimento de <i>S. cerevisiae</i> (BY4741) após 24hs e 48hs, respectivamente utilizando-se dois meios de cultura tamponados.	115
Tabela III.6.3.0.1- Inibição do crescimento de <i>S. cerevisiae</i> em meio de cultura YPD em pH 7,4 (0,25M HEPES; μ = 0,123M (NaCl)) para o cloridrato de Tetracaína.	116
Tabela III. 6.3.1.1- Inibição do crescimento de <i>S. cerevisiae</i> em meio de cultura YPD em pH 7,4 (0,25M HEPES; μ = 0,123M (NaCl)) por diferentes concentrações do cloreto <i>N,N</i> [(dimetilamino)etil] benzoato não substituído (I.1 R= 4-H).	117
Tabela III.6.3.2.1- Inibição do crescimento de <i>S. cerevisiae</i> em meio de cultura YPD em pH 7,4 (0,25M HEPES; μ = 0,123M (NaCl)) por diferentes concentrações do cloreto <i>N,N</i> [(dimetilamino)etil] metil-benzoato (I.2 – R = 4- CH_3).	117
Tabela III.6.3.3.1- Inibição do crescimento de <i>S. cerevisiae</i> em meio de cultura YPD em pH 7,4 (0,25M HEPES; μ = 0,123M (NaCl)) por diferentes concentrações do cloreto <i>N,N</i> [(dimetilamino)etil] etil-benzoato (I.3 – R= C_2H_5).	118
Tabela III.6.3.4.1- Inibição do crescimento de <i>S. cerevisiae</i> em meio de cultura YPD em pH 7,4 (0,25M HEPES; μ =0,123M (NaCl)) por diferentes concentrações do cloreto <i>N,N</i> [(dimetilamino)etil]	119

butil-benzoato (I.1 R= 4-C ₄ H ₉)..	
Tabela III.6.3.5.1- Inibição do crescimento de <i>S. cerevisiae</i> em meio de cultura YPD em pH 7,4 (0,15M HEPES; μ = 0,123M (NaCl)) por diferentes concentrações do cloreto <i>N,N</i> [(dimetilamino)etil] tercio-butil-benzoato (I.5 -4-tC ₄ H ₉)..	120
Tabela III.6.3.6.1- Inibição do crescimento de <i>S. cerevisiae</i> em meio de cultura YPD em pH 7,4 (0,25M HEPES; μ = 0,123M (NaCl)) por diferentes concentrações do cloreto <i>N,N</i> [(dimetilamino)etil] metoxi-benzoato (I.6 -4-OCH ₃).	120
Tabela III.6.3.7.1- Inibição do crescimento de <i>S. cerevisiae</i> em meio de cultura YPD em pH 7,4 (0,25M HEPES; μ = 0,123M (NaCl)) por diferentes concentrações do cloreto <i>N,N</i> [(dimetilamino)etil] butoxi-benzoato (I.7 -4-nOC ₄ H ₉).	121
Tabela III.6.3.8.1- Inibição do crescimento de <i>S. cerevisiae</i> em meio de cultura YPD em pH 7,4 (0,25M HEPES; μ = 0,123M (NaCl)) por diferentes concentrações do cloreto <i>N,N</i> [(dimetilamino)etil] acetil-benzoato (I.8 -4-COCH ₃).	122
Tabela III.6.3.9.1- Inibição do crescimento de <i>S. cerevisiae</i> em meio de cultura YPD em pH 7,4 (0,25M HEPES; μ = 0,123M (NaCl)) por diferentes concentrações do cloreto <i>N,N</i> [(dimetilamino)etil] cloro-benzoato. (I.9 – R = 4-Cl).	122
Tabela III.6.3.10.1- Inibição do crescimento de <i>S. cerevisiae</i> em meio de cultura YPD em pH 7,4 (0,25M HEPES; μ =0,123M (NaCl)) por diferentes concentrações do cloreto <i>N,N</i> [(dimetilamino)etil] nitrato-benzoato (I.10 – R = 4-NO ₂).	123
Tabela III.6.3.11.1- Inibição do crescimento de <i>S. cerevisiae</i> em meio de cultura YPD em pH 7,4 (0,25M HEPES; μ =0,123M (NaCl)) por diferentes concentrações do cloreto <i>N,N</i> [(dimetilamino)etil] ciano-benzoato (I.11 – R = 4-CN).	124
Tabela III.6.3.12.1- Inibição do crescimento de <i>S. cerevisiae</i> em meio de cultura YPD em pH 7,4 (0,25M HEPES; μ =0,123M (NaCl)) por diferentes concentrações do cloreto <i>N,N</i> [(dimetilamino)etil] hexilóxi-benzoato (I.12 – R = 4-nOC ₆ H ₁₃).	124
Tabela III.6.3.13.1- Inibição do crescimento de <i>S. cerevisiae</i> em meio de cultura YPD em pH 7,4 (0,25M HEPES; μ = 0,123M (NaCl)) por diferentes concentrações do cloreto <i>N,N</i> [(dimetilamino)etil] metilsulfonil-benzoato (I.13 – R = 4-SO ₂ CH ₃).	125
Tabela III.6.3.14.1- Inibição do crescimento de <i>S. cerevisiae</i> em meio de cultura YPD em pH 7,4 (0,25M HEPES; μ =0,123M (NaCl)) por diferentes concentrações do cloreto <i>N,N</i> [(dimetilamino)etil] trifluorometil-benzoato (I.14 – R = 4-CF ₃).	126
Tabela III.6.3.14.2- Valores de concentração inibitória de 50% do crescimento (IC ₅₀) determinados para a série de cloretos de <i>N,N</i> [(dimetilamino)etil] benzoatos para-substituídos contra o fungo <i>S. cerevisiae</i> BY4741, utilizando-se meio de cultura tamponado (YPD, HEPES , pH 7,4) medidos por absorbância a 600 nm, após incubação de 7h15min à 30°C	127
Tabela III. 6.4.1.1- Inibição do crescimento de <i>S. cerevisiae</i> em meio de cultura YPD em pH 7,4 (0,25MHEPES; μ = 0,123M (NaCl)) por diferentes concentrações do cloreto <i>N,N</i> [(dimetilamino)etil] 3-metil-benzoato (II.2 – R = 3-CH ₃).	127
Tabela III. 6.4.2.1- Inibição do crescimento de <i>S. cerevisiae</i> em meio de cultura YPD em pH 7,4 (0,25MHEPES; μ = 0,123M (NaCl)) por diferentes concentrações do cloreto <i>N,N</i> [(dimetilamino)etil] 3-metoxi-benzoato (II.3 – R = 3-OCH ₃).	128
Tabela III. 6.4.3.1- Inibição do crescimento de <i>S. cerevisiae</i> em meio de cultura YPD em pH 7,4 (0,25MHEPES; μ = 0,123M (NaCl)) por diferentes concentrações do cloreto <i>N,N</i> [(dimetilamino)etil] 3-etoxi-benzoato (II.4 – R = 3-OC ₂ H ₅).	129
Tabela III. 6.4.4.1- Inibição do crescimento de <i>S. cerevisiae</i> em meio de cultura YPD em pH 7,4 (0,25M HEPES; μ = 0,123M (NaCl)) por diferentes concentrações do cloreto <i>N,N</i> [(dimetilamino)etil] 3-butoxi-benzoato (II.5 – R = 3-nOC ₄ H ₉).	129
Tabela III. 6.4.5.1- Inibição do crescimento de <i>S. cerevisiae</i> em meio de cultura YPD em pH 7,4 (0,25MHEPES; μ = 0,123M (NaCl)) por diferentes concentrações do cloreto <i>N,N</i> [(dimetilamino)etil] 3-fluoro-benzoato (II.6 – R = 3-F).	130
Tabela III. 6.4.6.1- Inibição do crescimento de <i>S. cerevisiae</i> em meio de cultura YPD em pH 7,4 (0,25M HEPES; μ = 0,123M NaCl)) por diferentes concentrações do cloreto <i>N,N</i> [(dimetilamino)etil]	131

3-cloro-benzoato (II.7 – R = 3-Cl).	
Tabela III.6.4.7.1- Inibição do crescimento de <i>S. cerevisiae</i> em meio de cultura YPD em pH 7,4 (0,25M HEPES; μ = 0,123M (NaCl)) por diferentes concentrações do cloreto <i>N,N</i> [(dimetilamino)etil] 3-bromo-benzoato (II.8 – R = 3-Br).	131
Tabela III. 6.4.8.1- Inibição do crescimento de <i>S. cerevisiae</i> em meio de cultura YPD em pH 7,4 (0,25M HEPES; μ = 0,123M (NaCl)) por diferentes concentrações do cloreto <i>N,N</i> [(dimetilamino)etil] 3-iodo-benzoato (II.9 – R = 3-I).	132
Tabela III. 6.4.9.1- Inibição do crescimento de <i>S. cerevisiae</i> em meio de cultura YPD em pH 7,4 (0,25M HEPES; μ = 0,123M (NaCl)) por diferentes concentrações do cloreto <i>N,N</i> [(dimetilamino)etil] 3-nitro-benzoato (II.10 – R = 3-NO ₂).	133
Tabela III. 6.4.10.1- Inibição do crescimento de <i>S. cerevisiae</i> em meio de cultura YPD em pH 7,4 (0,25M HEPES; μ = 0,123M (NaCl)) por diferentes concentrações do cloreto <i>N,N</i> [(dimetilamino)etil] 3-ciano- benzoato (II.11 – R = 3-CN).	133
Tabela III. 6.4.11.1- Inibição do crescimento de <i>S. cerevisiae</i> em meio de cultura YPD em pH 7,4 (0,25MHEPES; μ = 0,123M (NaCl)) por diferentes concentrações do cloreto <i>N,N</i> [(dimetilamino)etil] 3-trifluorometil-benzoato (II.12 – R = 3-CF ₃).	134
Tabela III. 6.4.12.1- Inibição do crescimento de <i>S. cerevisiae</i> em meio de cultura YPD em pH 7,4 (0,25M HEPES; μ = 0,123M (NaCl)) por diferentes concentrações do cloreto <i>N,N</i> [(dimetilamino)etil] 3-dimetil-amino (II.13 – R = 3-N(CH ₃) ₂).	135
Tabela III. 6.4.13.1- Inibição do crescimento de <i>S. cerevisiae</i> em meio de cultura YPD em pH 7,4 (0,25M HEPES; μ = 0,123M (NaCl)) por diferentes concentrações do cloreto <i>N,N</i> [(dimetilamino)etil] 3-metilsulfonil-benzoato (II.14 – R = 3-SO ₂ CH ₃).	135
Tabela III. 6.4.13.2- Valores de concentração inibitória de 50% do crescimento (IC ₅₀) determinados para a série de cloretos de <i>N,N</i> [(dimetilamino)etil] benzoatos meta-substituídos contra o fungo <i>S. cerevisiae</i> (BY4741), utilizando-se meio de cultura tamponado (YPD, HEPES , pH 7,4) medidos por absorbância a 600 nm, após incubação de 7h15min à 30°C.	136
Tabela III. 6.5.3.1- Valores da massa pesada e do volume da mistura de solventes DMSO/H ₂ O(1:7, v/v) utilizados na preparação das soluções dos compostos da série de <i>N,N</i> [(dimetilamino)etil] benzoato para substituídos.	138
Tabela III. 6.5.3.2- Preparação das soluções de teste do composto <i>N,N</i> [(dimetilamino)metil] benzoato não substituído em (DMSO/H ₂ O - 1:7,v/v).	139
Tabela III.6.6.1.1- Valores do volume de DMSO adicionados à 1000 μ L de meio de cultura tamponado (LB em pH 7,4 (0,15M HEPES; μ de 0,123M, NaCl)), contendo a bactéria (125 μ L).	140
Tabela III.6.6.1.2- Inibição do crescimento de <i>E. coli</i> em meio de cultura LB em pH 7,4 (0,15M HEPES; μ = 0.1M (NaCl)) para o dimetilsulfóxido (DMSO).	140
Tabela III.6.6.2.1- Valores de densidade ótica (DO) observada para o crescimento de <i>E. coli</i> após 2hs e 3hs, respectivamente utilizando-se dois meios de cultura tamponados.	142
Tabela III.6.7.0.1- Inibição do crescimento de <i>E. coli</i> em meio de cultura LB em pH 7,4 (0,15M HEPES; μ = 0.123M (NaCl)) para o cloridrato de Tetracaína.	143
Tabela III.6.7.1.1- Inibição do crescimento de <i>E. coli</i> em meio de cultura LB em pH 7,4 (0,15M HEPES; μ = 0.123M (NaCl)) por diferentes concentrações do cloreto <i>N,N</i> [(dimetilamino)etil] benzoato não substituído.	144
Tabela III.6.7.2.1- Inibição do crescimento de <i>E. coli</i> em meio de cultura LB em pH 7,4 (0,15M HEPES; μ = 0.123M (NaCl)) por diferentes concentrações do cloreto <i>N,N</i> [(dimetilamino)etil] 4-metil-benzoato.	144
Tabela III.6.7.3.1- Inibição do crescimento de <i>E. coli</i> em meio de cultura LB em pH 7,4 (0,15M HEPES; μ = 0.123M (NaCl)) por diferentes concentrações do cloreto <i>N,N</i> [(dimetilamino)etil] 4-etil-benzoato.	145
Tabela III.6.7.4.1- Inibição do crescimento de <i>E. coli</i> em meio de cultura LB em pH 7,4 (0,15M HEPES; μ = 0.123M (NaCl)) por diferentes concentrações do cloreto <i>N,N</i> [(dimetilamino)etil] 4-metoxi-benzoato.	146
Tabela III.6.7.5.1- Inibição do crescimento de <i>E. coli</i> em meio de cultura LB em pH 7,4 (0,15M	147

HEPES; μ = 0.123M (NaCl)) por diferentes concentrações do cloreto <i>N,N</i> [(dimetilamino)etil] 4-butiril-benzoato.	
Tabela III.6.7.6.1- Inibição do crescimento de <i>E.coli</i> em meio de cultura YPD em pH 7,4 (0,15M HEPES; μ = 0.123M (NaCl)) por diferentes concentrações do cloreto <i>N,N</i> [(dimetilamino)etil] tercio-butiril-benzoato.	147
Tabela III.6.7.7.1- Inibição do crescimento de <i>E. coli</i> em meio de cultura LB em pH 7,4 (0,15M HEPES; μ =0.123M (NaCl)) por diferentes concentrações do cloreto <i>N,N</i> [(dimetilamino)etil] 4-butoxi-benzoato.	148
Tabela III.6.7.8.1 Inibição do crescimento de <i>E. coli</i> em meio de cultura LB em pH 7,4 (0,15M HEPES; μ = 0.123M (NaCl)) por diferentes concentrações do cloreto <i>N,N</i> [(dimetilamino)etil] 4-acetil-benzoato.	149
Tabela III.6.7.9.1- Inibição do crescimento de <i>E. coli</i> em meio de cultura LB em pH 7,4 (0,15M HEPES; μ = 0.123M NaCl)) por diferentes concentrações do cloreto <i>N,N</i> [(dimetilamino)etil] 4-cloro-benzoato.	149
Tabela III.6.7.10.1- Inibição do crescimento de <i>E. coli</i> em meio de cultura LB em pH 7,4 (0,15M HEPES; μ = 0.123M (NaCl)) por diferentes concentrações do cloreto <i>N,N</i> [(dimetilamino)etil] 4-nitro-benzoato.	150
Tabela III.6.7.11.1 Inibição do crescimento de <i>E. coli</i> em meio de cultura LB em pH 7,4 (0,15M HEPES; μ = 0.123M (NaCl)) por diferentes concentrações do cloreto <i>N,N</i> [(dimetilamino)etil] 4-ciano-benzoato.	151
Tabela III.6.7.12.1- Inibição do crescimento de <i>E. coli</i> em meio de cultura LB em pH 7,4 (0,15M HEPES; μ = 0.123M (NaCl)) por diferentes concentrações do cloreto <i>N,N</i> [(dimetilamino)etil] 4-hexiloxi-benzoato.	151
Tabela III.6.7.13.1- Inibição do crescimento de <i>E. coli</i> em meio de cultura LB em pH 7,4 (0,15M HEPES; μ = 0.123M (NaCl)) por diferentes concentrações do cloreto <i>N,N</i> [(dimetilamino)etil] 4-trifluorometil-benzoato.	152
Tabela III.6.7.14.1- Inibição do crescimento de <i>E. coli</i> em meio de cultura LB em pH 7,4 (0,15M HEPES; μ = 0.123M (NaCl)) por diferentes concentrações do cloreto <i>N,N</i> [(dimetilamino)etil] 4-metilsulfonil-benzoato.	153
Tabela III.6.7.14.2- Valores obtidos de IC ₅₀ dos cloretos de <i>N,N</i> [(dimetilamino)etil] benzoatos para substituídos frente a <i>E. coli</i> (DH5 α).	153
Tabela III.6.8.1.1- Inibição do crescimento de <i>E. coli</i> em meio de cultura LB em pH 7,4 (0,15M HEPES; μ = 0.123M (NaCl)) por diferentes concentrações do cloreto <i>N,N</i> [(dimetilamino)etil] 3-metil-benzoato.	154
Tabela III.6.8.2.1- Inibição do crescimento de <i>E. coli</i> em meio de cultura LB em pH 7,4 (0,15M HEPES; μ = 0.123M (NaCl)) por diferentes concentrações do cloreto <i>N,N</i> [(dimetilamino)etil] 3-metoxi-benzoato.	155
Tabela III.6.8.3.1- Inibição do crescimento de <i>E. coli</i> em meio de cultura LB em pH 7,4 (0,15M HEPES; μ = 0.123M (NaCl)) por diferentes concentrações do cloreto <i>N,N</i> [(dimetilamino)etil] 3-etoxi-benzoato.	155
Tabela III.6.8.4.1- Inibição do crescimento de <i>E. coli</i> em meio de cultura LB em pH 7,4 (0,15M HEPES; μ = 0.123M (NaCl)) por diferentes concentrações do cloreto <i>N,N</i> [(dimetilamino)etil] 3-butoxi-benzoato.	156
Tabela III.6.8.5.1- Inibição do crescimento de <i>E. coli</i> em meio de cultura LB em pH 7,4 (0,15M HEPES; μ = 0.123M (NaCl)) por diferentes concentrações do cloreto <i>N,N</i> [(dimetilamino)etil] 3-fluoro-benzoato.	157
Tabela III.6.8.6.1- Inibição do crescimento de <i>E. coli</i> em meio de cultura LB em pH 7,4 (0,15M HEPES; μ = 0.123M NaCl)) por diferentes concentrações do cloreto <i>N,N</i> [(dimetilamino)etil] 3-cloro-benzoato.	157
Tabela III.6.8.7.1- Inibição do crescimento de <i>E. coli</i> em meio de cultura LB em pH 7,4 (0,15M HEPES; μ = 0.123M (NaCl)) por diferentes concentrações do cloreto <i>N,N</i> [(dimetilamino)etil] 3-bromo-benzoato.	158
Tabela III.6.8.8.1- Inibição do crescimento de <i>E. coli</i> em meio de cultura LB em pH 7,4 (0,15M	159

HEPES; μ = 0.123M (NaCl)) por diferentes concentrações do cloreto <i>N,N</i> [(dimetilamino)etil] 3-iodo-benzoato.	
Tabela III.6.8.9.1- Inibição do crescimento de <i>E. coli</i> em meio de cultura LB em pH 7,4 (0,15M HEPES; μ = 0.123M (NaCl)) por diferentes concentrações do cloreto <i>N,N</i> [(dimetilamino)etil] 3-nitro-benzoato.	159
Tabela III.6.8.10.1- Inibição do crescimento de <i>E. coli</i> em meio de cultura LB em pH 7,4 (0,15M HEPES; μ = 0.123M (NaCl)) por diferentes concentrações do cloreto <i>N,N</i> [(dimetilamino)etil] 3-ciano-benzoato.	160
Tabela III.6.8.11.1- Inibição do crescimento de <i>E. coli</i> em meio de cultura LB em pH 7,4 (0,15M HEPES; μ = 0.123M (NaCl)) por diferentes concentrações do cloreto <i>N,N</i> [(dimetilamino)etil] 3-trifluorometil-benzoato.	161
Tabela III.6.8.12.1- Inibição do crescimento de <i>E. coli</i> em meio de cultura LB em pH 7,4 (0,15M HEPES; μ = 0.123M (NaCl)) por diferentes concentrações do cloreto <i>N,N</i> [(dimetilamino)etil] 3-dimetil-amino.	161
Tabela III.6.8.13.1- Inibição do crescimento de <i>E. coli</i> em meio de cultura LB em pH 7,4 (0,15M HEPES; μ = 0.123M (NaCl)) por diferentes concentrações do cloreto <i>N,N</i> [(dimetilamino)etil] 3-metilsulfonyl-benzoato.	162
Tabela III.6.8.13.2- Valores obtidos de IC ₅₀ dos cloretos de <i>N,N</i> [(dimetilamino)etil] benzoatos meta substituídos frente a <i>E. coli</i> (DH5 α).	163
Tabela IV.1.1- Valores dos parâmetros físico-químicos, lipofílicos, eletrônicos e os relativos à refratividade molar, retirados da literatura (Amaral <i>et al.</i> , 1997; Hansch <i>et al.</i> , 1995; Kubinyi, 1993; Sousa, 1997) para os grupos substituintes selecionados (séries I e II).	167
Tabela IV.1.2- Valores de coeficiente de correlação (r^2) nas intercorrelações entre os parâmetros lipofílico, eletrônico e relativo à polarizabilidade para os substituintes da série I . (n=14)	169
Tabela IV.1.3- Valores de coeficiente de correlação (r^2) nas intercorrelações entre os parâmetros lipofílico, eletrônico e relativo a polarizabilidade para os substituintes da série I , excluindo-se o composto I. 12 (n=13).	169
Tabela IV.1.4- Valores de coeficiente de correlação (r^2) nas intercorrelações entre os parâmetros lipofílico, eletrônico e relativo à polarizabilidade para os substituintes da série II . (n=14).	169
Tabela IV.1.5- Valores do coeficiente de correlação (r^2) nas intercorrelações entre os parâmetros lipofílico, eletrônico e relativo a polarizabilidade para os substituintes da série I e II . (n=27).	170
Tabela IV.2.1- Valores dos rendimentos observados nas recristalizações dos PF e dos percentuais, verificados nas das análises de cromatografia à gás (CG), para a série de 27 cloretos de <i>N,N</i> [(dimetilamino)etil] benzoatos para- substituídos.	171
Tabela IV.2.2- Valores dos percentuais das análises elementares experimentais e teóricos observados para os compostos da série II [I.1, II. 4, II. 7, II.8, II.9, e II.13 (R = OC ₂ H ₅ , Cl, Br, I, e N(CH ₃) ₂)].	172
Tabela IV.3.1.1- Valores de π , retirados da literatura, e de π_{exp} , obtidos a partir dos valores de logP _{app} , determinados por CLAE e por <i>shake-flask</i> , para a série I (compostos de I.1 a I.14) .	174
Tabela IV.3.1.2- Valores de π , retirados da literatura, e de π_{exp} , obtidos a partir dos valores de logP _{app} , determinados por CLAE e por <i>shake-flask</i> para a série II (compostos II.1 a II.14) .	174
Tabela IV.3.1.3: Valores do coeficiente de partição, determinados experimentalmente (logP _{CLAE}) e obtidos por cálculo (logP _{CLOGP} , de logP _{ACD}), para a série I (compostos I.1 a I.14) .	177
Tabela IV.3.1.4- Valores do coeficiente de partição determinados experimentalmente (logP _{CLAE}) e obtidos por cálculo (logP _{CLOGP} , de logP _{ACD}) para a série II (compostos II.2 a II.14) .	177
Tabela IV.3.1.4.A. Valores de logP de alguns análogos da procaína com atividade anestésica local, determinados para o sistema octanol/água (tampão fosfato 0,025M; pH 11,2; 0,1 NaOH) Grouls <i>et al.</i> , 1997	178
Tabela IV.3.2.1- Faixas de variação dos valores das constantes de grupo substituinte tipo Hammett (σ_p e σ_m) e de Swain-Lupton (Σ e $\mathcal{R}$), retiradas da literatura (Hansch, Leo, <i>et al.</i> 1995), e, utilizadas como parâmetros eletrônicos para os compostos da série I (compostos I.1 a I.14) e da série II (compostos II.2 a II.14) .	192
Tabela IV.3.2.2- Valores ^(a) da posição da banda de absorção do grupo carbonila, $\nu_{C=O}$ (cm ⁻¹) obtidos para os compostos das séries I e II .	196

Tabela IV.3.2.3- Valores ^(a) da posição da banda de absorção do grupo carbonila, $\nu_{C=O}$ (cm^{-1}) obtidos para os compostos das série II .	196
Tabela IV.3.2.4. Valores dos parâmetros estatísticos e de ρ , observados na aplicação da equação tipo-Hammett aos valores de $\nu_{C=O}$ em função de das constantes de substituintes σ deHammett e de Σ e $\Re$ de Swain e Lupton, para séries de cloretos de <i>N,N</i> [(dimetilamino)etil] benzoatos meta e para substituídos. (Séries I e II).	200
Tabela IV.3.4.1. Dados de alguns anestésicos locais retirados da literatura	204
Tabela IV.3.4.1A. Valores de pH do meio de cultura tamponado na presença dos compostos das séries I e II após o experimento de 7:15min com <i>S. cerevisiae</i> (BY4741) e 3hs para <i>E. coli</i> (DH5 α). Valor do pH do meio original é 7,4 caso contrário foi mencionado nos parêntesis.	206
Tabela IV.4.1.1 Parâmetros Químicos e Biológicos usados nas Análises de QSAR dos Cloretos de <i>N,N</i> [(dimetilaminoetil) benzoatos para-substituídos (Série I)	209
Tabela IV.4.1.2. Parâmetros Químicos e Biológicos usados nas Análises de QSAR dos Cloretos de <i>N,N</i> [(dimetilaminoetil) benzoatos meta-Substituídos (Série II).	209
Tabelas IV.4.1.3- Matriz de intercorrelação (r^2) entre os parâmetros utilizados nas correlações , relativos aos compostos I.1 aos I.14 (série I) (n=14).	210
Tabelas IV.4.1.4- - Matriz de intercorrelação (r^2) entre os parâmetros utilizados nas correlações, relativos aos compostos I.1 aos I.14 (série I) (n=13), excluindo-se o composto I.12	210
Tabela IV.4.1.5- Matriz de intercorrelação (r^2) entre os parâmetros utilizados nas correlações, relativos aos compostos II.1 aos II.14 (série II) (n=14).	211
Tabela IV.4.1.6- Matriz de intercorrelação (r^2) entre as variáveis independentes, utilizadas nas correlações, relativos aos compostos I.1 aos I.14 e II.2 aos II.14 (séries I e II) (n=27).	211
Tabela IV.4.2.1.A. Exemplos de modelos QSAR de compostos orgânicos frente à <i>S. cerevisiae</i> da literatura	215
Tabela IV.4.2.4.1 - Valores de $\log 1/IC_{50}$, relativos à inibição do crescimento das células de <i>S. cerevisiae</i> (BY4741), observados e previstos pela equação ^(a.) IV.4.2.4.3 para séries I e II reunidas.	221
Tabela IV.4.3.1.1. Modelos de QSAR de compostos orgânicos frente à <i>E. coli</i> da literatura.	226
Tabela IV.4.3.4.1- Valores de $\log 1/IC_{50}$ para a inibição do crescimento das células de <i>E. coli</i> (DH5 α), observados e previstos pelo melhor modelo (eq. IV.4.3.4.3) para as séries I e II reunidas.	231

Lista de Figuras

Figura I.1.1.2.1. Representação esquemática do modelo mosaico-fluido da estrutura da membrana celular, proposto por Singer e Nicholson (Seydel <i>et al.</i> , 2008; Lehninger & Cox, 2006b; Vereb <i>et al.</i> , 2003).	34
Figura I.1.2.1.1- Desenho esquemático da estrutura da parede celular de bactérias Gram-positivas. (Seydel, 2002).	37
Figura I.1.2.1.2. Desenho esquemático da parede celular e membrana de uma bactéria Gram-negativa (Seydel, 2002).	38
Figura I.1.2.2.1. Estrutura da anfotericina B (Dorr, 2007).	39
Figura I.2.1.1. Algumas estruturas químicas de anestésicos locais conhecidos	41
Figura I.2.2.1. Estruturas de alguns anestésicos locais: benzidamina, bupivacaína, lidocaína, levobupivacaína, ropivacaína, prilocaína e tetracaína.	42

Figura I.3.3.1 Interações entre composto-receptor descrita por Andrews ⁽⁴⁵⁾ . Neste modelo, ΔH_{L-A} e ΔH_{L-R} são as entalpias de hidratação do ligante e o receptor, respectivamente. ΔH_{L-R} é a contribuição da entalpia da interação entre o composto e receptor, ΔS_{rot} é a entalpia total rotacional e translacional e ΔS_{conf} a entropia rotacional interna da droga livre. ΔS_A é o aumento em entropia devido à liberação de moléculas de água (pequenos círculos) e ΔS_{vib} é a entropia residual de vibração do complexo ligante-receptor.	57
Figura I.3.4.2.1 Esquema representativo da moderna estrutura do <i>n</i> -octanol hidratado, baseada em um estudo de difração de raio-X. Os quatro círculos no centro de cada conjunto representam as moléculas de água. As quatro moléculas de água interligadas por ligações de hidrogênio estão circundadas por 16 moléculas de octanol (somente 12 são mostradas).	61
Figura I.3.4.2.2(a) Valores do coeficiente de partição medidos em <i>n</i> -octanol/água ($\log P_{oct}$) versus dbel/água ($\log P_{dbe}$). (b) Valores do coeficiente de partição medidos em <i>n</i> -octanol/água ($\log P_{oct}$) versus 1,2-dicloroetano/água ($\log P_{dce}$).	62
Figura I.3.4.2.3 Representação esquemática dos equilíbrios simultâneos que ocorrem durante a partição de uma base fraca (<i>B</i>), 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.	66
Figura II.2.1.1. - Cloretos <i>N,N</i> [(dimetilamino)etil]-benzoatos para-substituídos onde $R_4 = -H, -CH_3, -C_2H_5, -nC_4H_9, -tC_4H_9, -OCH_3, -nOC_4H_9, -COCH_3, -Cl, -CN, -NO_2, -OC_6H_{13}, -SO_2Me, -CF_3$ (Série I : compostos I.1 a I.14) e cloretos <i>N,N</i> [(dimetilamino)etil]-benzoatos meta-substituídos onde $R_3 = -H, -CH_3, -OCH_3, -OC_2H_5, -OC_4H_9, -F, -Cl, -Br, -I, -NO_2, -CN, -CF_3, -N(CH_3)_2, -SO_2CH_3$ (Série II : compostos II.1 a II.14)	78
Figura II.3.3.1. Exemplo ilustrativo de arquivo de saída típico gerado pelo programa ACDLabs para o composto I.1 ($R=H$)	86
Figura II.4.5.1- Procedimentos para a determinação do valor de IC_{50} para <i>S. cerevisiae</i> e para <i>E. coli</i> , respectivamente.	91
Figura III.1.1- Esquema para a preparação dos cloretos de <i>N,N</i> [(dimetilamino)etil] para ou meta – substituídos, onde $R_4 = -H, -CH_3, -C_2H_5, -nC_4H_9, -tC_4H_9, -OCH_3, -nOC_4H_9, -COCH_3, -Cl, -CN, -NO_2, -OC_6H_{13}, -SO_2Me, -CF_3$ (série I, compostos I.1 a I.14), $R_3 = -H, -CH_3, -OCH_3, -OC_2H_5, -OC_4H_9, -F, -Cl, -Br, -I, -NO_2, -CN, -CF_3, -N(CH_3)_2, -SO_2CH_3$ (série II, compostos II.1 a II.14).	92
Figura III.3.3.1- Exemplo típico de curva e equação de calibração entre os valores de $\log k'$ e os valores de $\log P$ da literatura, onde $k' = (t_R - t_0)/t_0$; t_R são os valores do tempo de retenção obtidos por CLAE, 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 $\mu = 0,10$ M (NaCl) e a fase estacionária uma coluna C-18 saturada com <i>n</i> -octanol e a 23 ± 1 °C.	101
Figura III.3.3.2- Efeito da concentração sobre a partição: Valores de $\log k'$ observados em função das concentrações de cada composto da série de cloretos <i>N</i> -[(<i>N,N</i> -dimetilamino)etil] benzoato meta-substituídos.	104
Figura III.3.3.3- Efeito da concentração sobre a partição: Valores de $\log k'$ observados em função das concentrações de cada composto da série de cloretos <i>N</i> -[(<i>N,N</i> -dimetilamino)etil] benzoato para-substituídos.	105
Figura III.6.2.1.1- Efeito do DMSO sobre o crescimento da <i>S. cerevisiae</i> (BY4741) utilizando-se como meio de cultura YPD em pH 7,4 (HEPES; μ de 0,123M, NaCl)). Obtida pela medida da densidade ótica a 600nm após incubação de 7h15min a 30°C.	114
Figura III.6.3.0.1- Curva da inibição do crescimento de <i>S. cerevisiae</i> BY4741 por diferentes concentrações de cloridrato de tetracaína, usando meio de cultura tamponado (YPD em pH 7,4 (HEPES; $\mu = 0,123$ M, NaCl)). Obtida pela medida da densidade ótica a 600 nm após incubação de 7h15min à 30°C.	116
Figura III. 6.3.1.1- Curva da inibição do crescimento de <i>S. cerevisiae</i> BY4741 por diferentes concentrações do cloreto <i>N,N</i> [(dimetilamino)etil] benzoato (I.1- $R=4-H$), usando tampão no crescimento (YPD em pH 7,4 (HEPES; $\mu = 0,123$ M, NaCl)). Obtida pela medida da densidade ótica a 600 nm após incubação de 7h15min à 30°C.	117
Figura III. 6.3.2.1- Curva da inibição do crescimento de <i>S. cerevisiae</i> BY4741 por diferentes concentrações do cloreto cloreto <i>N,N</i> [(dimetilamino)etil] 4-metil-benzoato (I.2 – $R = 4-CH_3$), usando tampão no crescimento (YPD em pH 7,4 (HEPES; μ de 0,123M, NaCl)). Obtida pela medida da densidade ótica à 600nm após	118

incubação de 7h15min à 30°C.	
Figura III. 6.3.3.1- Curva da inibição do crescimento de <i>S. cerevisiae</i> BY4741 por diferentes concentrações do cloreto <i>N,N</i> [(dimetilamino)etil] 4-etil-benzoato (I.3 - R=4-C ₂ H ₅), usando tampão no crescimento (YPD em pH 7,4 (HEPES; μ de 0,123M, NaCl)). Obtida pela medida da densidade ótica a 600 nm após incubação de 7h15min à 30°C.	119
Figura III. 6.3.4.1- Curva da inibição do crescimento de <i>S. cerevisiae</i> BY4741 por diferentes concentrações do cloreto <i>N,N</i> [(dimetilamino)etil] 4-n-butil-benzoato (I.4 R= 4-nC ₄ H ₉), usando tampão no crescimento (YPD em pH 7,4 (HEPES; μ de 0,123M, NaCl)). Obtida pela medida da densidade ótica a 600 nm após incubação de 7h15min à 30°C.	119
Figura III.6.3.5.1- Curva da inibição do crescimento de <i>S. cerevisiae</i> BY4741 por diferentes concentrações do cloreto <i>N,N</i> [(dimetilamino)etil] 4-t-butil-benzoato (I.5 -4-tC ₄ H ₉), usando tampão no crescimento (YPD em pH 7,4 (HEPES; μ de 0,123M, NaCl)). Obtida pela medida da densidade ótica a 600 nm após incubação de 7h15min à 30°C.	120
Figura III.6.3.6.1- Curva da inibição do crescimento de <i>S. cerevisiae</i> BY4741 por diferentes concentrações do cloreto <i>N,N</i> [(dimetilamino)etil] 4-metoxi-benzoato (I.6 -4-OCH ₃), usando tampão no crescimento (YPD em pH 7,4 (HEPES; μ de 0,123M, NaCl)). Obtida pela medida da densidade ótica a 600 nm após incubação de 7h15min à 30°C.	121
Figura III.6.3.7.1- Curva da inibição do crescimento de <i>S. cerevisiae</i> BY4741 por diferentes concentrações do cloreto <i>N,N</i> [(dimetilamino)etil] 4-butoxi-benzoato (I.7 -4-nOC ₄ H ₉), usando tampão no crescimento (YPD em pH 7,4 (HEPES; μ de 0,123M, NaCl)). Obtida pela medida da densidade ótica a 600 nm após incubação de 7h15min à 30°C.	121
Figura III.6.3.8.1- Curva da inibição do crescimento de <i>S. cerevisiae</i> BY4741 por diferentes concentrações do cloreto <i>N,N</i> [(dimetilamino)etil] 4-acetil-benzoato (I.8 -4-COCH ₃), usando tampão no crescimento (YPD em pH 7,4 (HEPES; μ de 0,123M, NaCl)). Obtida pela medida da densidade ótica a 600 nm após incubação de 7h15min à 30°C.	122
Figura III.6.3.9.1- Curva da inibição do crescimento de <i>S. cerevisiae</i> BY4741 por diferentes concentrações do cloreto <i>N,N</i> [(dimetilamino)etil] 4-cloro-benzoato (I.9 – R = 4-Cl), usando tampão no crescimento (YPD em pH 7,4 (HEPES; μ de 0,123M, NaCl)). Obtida pela medida da densidade ótica a 600 nm após incubação de 7h15min à 30°C.	123
Figura III.6.3.10.1- Curva da inibição do crescimento de <i>S. cerevisiae</i> BY4741 por diferentes concentrações do cloreto <i>N,N</i> [(dimetilamino)etil] 4-nitrato-benzoato (I.10 – R = 4-NO ₂), usando tampão no crescimento (YPD em pH 7,4 (HEPES; μ de 0,123M, NaCl)). Obtida pela medida da densidade ótica a 600 nm após incubação de 7h15min à 30°C	123
Figura III.6.3.11.1- Curva da inibição do crescimento de <i>S. cerevisiae</i> BY4741 por diferentes concentrações do cloreto <i>N,N</i> [(dimetilamino)etil] 4 ciano-benzoato (I.11 – R = 4-CN), usando tampão no crescimento (YPD em pH 7,4 (HEPES; μ de 0,123M, NaCl)). Obtida pela medida da densidade ótica a 600 nm após incubação de 7h15min à 30°C.	124
Figura III.6.3.12.1- Curva da inibição do crescimento de <i>S. cerevisiae</i> BY4741 por diferentes concentrações do cloreto <i>N,N</i> [(dimetilamino)etil] 4-hexilóxi-benzoato (I.12 – R = 4-nOC ₆ H ₁₃), usando tampão no crescimento (YPD em pH 7,4 (HEPES; μ de 0,123M, NaCl)). Obtida pela medida da densidade ótica a 600 nm após incubação de 7h15min à 30°C.	125
Figura III.6.3.13.1- Curva da inibição do crescimento de <i>S. cerevisiae</i> BY4741 por diferentes concentrações do cloreto <i>N,N</i> [(dimetilamino)etil] 4-metilsulfonil-benzoato (I.13 – R = 4-SO ₂ CH ₃), usando tampão no crescimento (YPD em pH 7,4 (HEPES; μ de 0,123M, NaCl)). Obtida pela medida da densidade ótica a 600 nm após incubação de 7h15min à 30°C.	125
Figura III.6.3.14.1- Curva da inibição do crescimento de <i>S. cerevisiae</i> BY4741 por diferentes concentrações do cloreto <i>N,N</i> [(dimetilamino)etil] 4-trifluorometil-benzoato (I.14 – R = 4-CF ₃), usando tampão no crescimento (YPD em pH 7,4 (HEPES; μ de 0,123M, NaCl)). Obtida pela medida da densidade ótica a 600 nm após incubação de 7h15min à 30°C.	126
Figura III.6.4.1.1- Curva da inibição do crescimento de <i>S. cerevisiae</i> por diferentes concentrações do cloreto cloreto <i>N,N</i> [(dimetilamino)etil] 3-metil-benzoato, usando tampão no crescimento (YPD em pH 7,4 (0,25M HEPES; μ de 0,123M, NaCl)). Obtida pela medida da densidade ótica a 600 nm após incubação de 7h15min	128

à 30°C.	
Figura III. 6.4.2.1- Curva da inibição do crescimento de <i>S. cerevisiae</i> (BY4741) por diferentes concentrações do cloreto <i>N,N</i> [(dimetilamino)etil] 3-metoxi-benzoato, usando tampão no crescimento (YPD em pH 7,4 (0,25M HEPES; μ de 0,123M, NaCl)). Obtida pela medida da densidade ótica a 600 nm após incubação de 7h15min à 30°C.	128
Figura III. 6.4.3.1- Curva da inibição do crescimento de <i>S. cerevisiae</i> (BY4741) por diferentes concentrações do cloreto <i>N,N</i> [(dimetilamino)etil] 3-etoxi-benzoato, usando tampão no crescimento (YPD em pH 7,4 (0,25M HEPES; μ de 0,123M, NaCl)). Obtida pela medida da densidade ótica a 600 nm após incubação de 7h15min à 30°C.	129
Figura III. 6.4.4.1- Curva da inibição do crescimento de <i>S. cerevisiae</i> (BY4741) por diferentes concentrações do cloreto <i>N,N</i> [(dimetilamino)etil] 3-butoxi-benzoato, usando tampão no crescimento (YPD em pH 7,4 (0,25M HEPES; μ de 0,123M, NaCl)). Obtida pela medida da densidade ótica a 600 nm após incubação de 7h15min à 30°C.	130
Figura III. 6.4.5.1- Curva da inibição do crescimento de <i>S. cerevisiae</i> (BY4741) por diferentes concentrações do cloreto <i>N,N</i> [(dimetilamino)etil] 3-fluoro-benzoato, usando tampão no crescimento (YPD em pH 7,4 (0,25M HEPES; μ de 0,123M, NaCl)). Obtida pela medida da densidade ótica a 600 nm após incubação de 7h15min à 30°C.	130
Figura III. 6.4.6.1- Curva da inibição do crescimento de <i>S. cerevisiae</i> (BY4741) por diferentes concentrações do cloreto <i>N,N</i> [(dimetilamino)etil] 3-cloro-benzoato, usando tampão no crescimento (YPD em pH 7,4 (0,25M HEPES; μ de 0,123M, NaCl)). Obtida pela medida da densidade ótica a 600 nm após incubação de 3hs à 30°C.	131
Figura III. 6.4.7.1- Curva da inibição do crescimento de <i>S. cerevisiae</i> (BY4741) por diferentes concentrações do cloreto <i>N,N</i> [(dimetilamino)etil] 3-bromo-benzoato, usando tampão no crescimento (YPD em pH 7,4 (HEPES; μ de 0,123M, NaCl)). Obtida pela medida da densidade ótica a 600 nm após incubação de 7h15min à 30°C.	132
Figura III. 6.4.8.1- Curva da inibição do crescimento de <i>S. cerevisiae</i> (BY4741) por diferentes concentrações do cloreto <i>N,N</i> [(dimetilamino)etil] 3-iodo-benzoato, usando tampão no crescimento (YPD em pH 7,4 (0,25M HEPES; μ de 0,123M, NaCl)). Obtida pela medida da densidade ótica a 600 nm após incubação de 7h15min à 30°C.	132
Figura III. 6.4.9.1- Curva da inibição do crescimento de <i>S. cerevisiae</i> (BY4741) por diferentes concentrações do cloreto <i>N,N</i> [(dimetilamino)etil] 3-nitro-benzoato, usando tampão no crescimento (YPD em pH 7,4 (HEPES; μ de 0,123M, NaCl)). Obtida pela medida da densidade ótica a 600 nm após incubação de 7h15min à 30°C.	133
Figura III. 6.4.10.1- Curva da inibição do crescimento de <i>S. cerevisiae</i> (BY4741) por diferentes concentrações do cloreto <i>N,N</i> [(dimetilamino)etil] 3-ciano-benzoato, usando tampão no crescimento (YPD em pH 7,4 (0,25M HEPES; μ de 0,123M, NaCl)). Obtida pela medida da densidade ótica a 600 nm após incubação de 7h15min à 30°C.	134
Figura III. 6.4.11.1- Curva da inibição do crescimento de <i>S. cerevisiae</i> (BY4741) por diferentes concentrações do cloreto <i>N,N</i> [(dimetilamino)etil] 3-trifluorometil-benzoato, usando tampão no crescimento (YPD em pH 7,4 (HEPES; μ de 0,123M, NaCl)). Obtida pela medida da densidade ótica a 600 nm após incubação de 7h15min à 30°C.	134
Figura III. 6.4.12.1- Curva da inibição do crescimento de <i>S. cerevisiae</i> (BY4741) por diferentes concentrações do cloreto <i>N,N</i> [(dimetilamino)etil] 3-dimetilamino-benzoato, usando tampão no crescimento (YPD em pH 7,4 (0,25M HEPES; μ de 0,123M, NaCl)). Obtida pela medida da densidade ótica a 600 nm após incubação de 7h15min à 30°C.	135
Figura III. 6.4.13.1- Curva da inibição do crescimento de <i>S. cerevisiae</i> (BY4741) por diferentes concentrações do cloreto <i>N,N</i> [(dimetilamino)etil] 3-metilsulfonil-benzoato, usando tampão no crescimento (YPD em pH 7,4 (0,25M HEPES; μ de 0,123M, NaCl)). Obtida pela medida da densidade ótica a 600 nm após incubação de 7h15min à 30°C.	136
Figura III. 6.6.1.1- Efeito do DMSO sobre o crescimento da <i>E. coli</i> (DH5 α) utilizando-se como meio de cultura LB em pH 7,4 (0,15M HEPES; μ de 0,123M, NaCl)). Obtida pela medida da densidade ótica a 600 nm após incubação de 2h a 37°C.	141

Figura III. 6.7.0.1- Curva da inibição do crescimento de <i>E. coli</i> (DH5 α) por diferentes concentrações de cloridrato de tetracaína, usando meio de cultura tamponado (LB em pH 7,4 (0,15M HEPES; μ de 0,123M, NaCl)). Obtida pela medida da densidade ótica a 600 nm após incubação de 3hs à 37°C.	143
Figura III. 6.7.1.1- Curva da inibição do crescimento de <i>E. coli</i> (DH5 α) por diferentes concentrações do cloreto <i>N,N</i> [(dimetilamino)etil] benzoato não substituído, usando tampão no crescimento (LB em pH 7,4 (0,15M HEPES; μ de 0,123M, NaCl)). Obtida pela medida da densidade ótica a 600 nm após incubação de 3hs a 37°C.	144
Figura III.6.7.2.1- Curva da inibição do crescimento de <i>E. coli</i> (DH5 α) por diferentes concentrações do cloreto cloreto <i>N,N</i> [(dimetilamino)etil] 4-metil-benzoato (I.2 – R = 4-CH ₃), usando tampão no crescimento (LB em pH 7,4 (0,15M HEPES; μ de 0,123M, NaCl)). Obtida pela medida da densidade ótica a 600 nm após incubação de 3hs à 37°C.	145
Figura III.6.7.3.1- Curva da inibição do crescimento de <i>E. coli</i> (DH5 α) por diferentes concentrações do cloreto cloreto <i>N,N</i> [(dimetilamino)etil] 4-etil-benzoato, usando tampão no crescimento (LB em pH 7,4 (0,15M HEPES; μ de 0,123M, NaCl)). Obtida pela medida da densidade ótica a 600 nm após incubação de 3hs à 37°C.	145
Figura III. 6.7.4.1- Curva da inibição do crescimento de <i>E. coli</i> (DH5 α) por diferentes concentrações do cloreto <i>N,N</i> [(dimetilamino)etil] 4-butil-benzoato (I.4 – R = 4-Nc ₄ H ₉), usando tampão no crescimento (LB em pH 7,4 (0,15M HEPES; μ de 0,123M, NaCl)). Obtida pela medida da densidade ótica a 600 nm após incubação de 3hs à 37°C.	146
Figura III.6.7.5.1- Curva da inibição do crescimento de <i>E. coli</i> (DH5 α) por diferentes concentrações do cloreto <i>N,N</i> [(dimetilamino)etil] 4-tercio-benzoato (I.5 – R = 4-tC ₄ H ₉), usando tampão no crescimento (LB em pH 7,4 (0,15M HEPES; μ de 0,123M, NaCl)). Obtida pela medida da densidade ótica a 600 nm após incubação de 3hs à 37°C.	147
Figura III. 6.7.6.1- Curva da inibição do crescimento de <i>E. coli</i> (DH5 α) por diferentes concentrações do cloreto <i>N,N</i> [(dimetilamino)etil] 4-metoxi-benzoato (I.6 – R = 4-OCH ₃), usando tampão no crescimento (LB em pH 7,4 (0,15M HEPES; μ de 0,123M, NaCl)). Obtida pela medida da densidade ótica a 600 nm após incubação de 3hs à 37°C.	148
Figura III. 6.7.7.1- Curva da inibição do crescimento de <i>E. coli</i> (DH5 α) por diferentes concentrações do cloreto <i>N,N</i> [(dimetilamino)etil] 4-butoxi-benzoato (I.7 – R = 4-nOC ₄ H ₉), usando tampão no crescimento (LB em pH 7,4 (0,15M HEPES; μ de 0,123M, NaCl)). Obtida pela medida da densidade ótica a 600 nm após incubação de 3hs à 37°C.	148
Figura III. 6.7.8.1- Curva da inibição do crescimento de <i>E. coli</i> (DH5 α) por diferentes concentrações do cloreto <i>N,N</i> [(dimetilamino)etil] 4-acetil-benzoato (I.8 – R = 4-COCH ₃), usando tampão no crescimento (LB em pH 7,4 (0,15M HEPES; μ de 0,123M, NaCl)). Obtida pela medida da densidade ótica a 600 nm após incubação de 3hs à 37°C.	149
Figura III. 6.7. 9.1- Curva da inibição do crescimento de <i>E. coli</i> (DH5 α) por diferentes concentrações do cloreto <i>N,N</i> [(dimetilamino)etil] 4-cloro-benzoato (I.9 – R = 4-Cl), usando tampão no crescimento (LB em pH 7,4 (0,15M HEPES; μ de 0,123M, NaCl)). Obtida pela medida da densidade ótica a 600 nm após incubação de 3hs a 30°C.	150
Figura III. 6.7.10.1- Curva da inibição do crescimento de <i>E. coli</i> (DH5 α) por diferentes concentrações do cloreto <i>N,N</i> [(dimetilamino)etil] 4-nitro-benzoato, usando tampão no crescimento (LB em pH 7,4 (HEPES; μ de 0,123M, NaCl)). Obtida pela medida da densidade ótica a 600 nm após incubação de 3hs a 37°C.	150
Figura III. 6.7.11.1- Curva da inibição do crescimento de <i>E. coli</i> (DH5 α) por diferentes concentrações do cloreto <i>N,N</i> [(dimetilamino)etil] 4-ciano-benzoato, usando tampão no crescimento (LB em pH 7,4 (0,15M HEPES; μ de 0,123M, NaCl)). Obtida pela medida da densidade ótica a 600 nm após incubação de 3hs a 37°C.	151
Figura III. 6.7.12.1- Curva da inibição do crescimento de <i>E. coli</i> (DH5 α) por diferentes concentrações do cloreto <i>N,N</i> [(dimetilamino)etil] 4-hexiloxi-benzoato, usando tampão no crescimento (LB em pH 7,4 (0,15M HEPES; μ de 0,123M, NaCl)). Obtida pela medida da densidade ótica a 600 nm após incubação de 3hs a 37°C.	152
Figura III. 6.7. 13.1- Curva da inibição do crescimento de <i>E. coli</i> (DH5 α) por diferentes concentrações do cloreto <i>N,N</i> [(dimetilamino)etil] 4-trifluorometil-benzoato, usando tampão no crescimento (LB em pH 7,4	152

(HEPES; μ de 0,123M, NaCl)). Obtida pela medida da densidade ótica a 600 nm após incubação de 3hs a 37°C.	
Figura III.6.7.14.1- Curva da inibição do crescimento de <i>E. coli</i> (DH5 α) por diferentes concentrações do cloreto <i>N,N</i> [(dimetilamino)etil] 4-metilsulfonil-benzoato, usando tampão no crescimento (LB em pH 7,4 (0,15M HEPES; μ de 0,123M, NaCl)). Obtida pela medida da densidade ótica a 600 nm após incubação de 3hs a 37°C.	153
Figura III.6.8.1.1- Curva da inibição do crescimento de <i>E. coli</i> por diferentes concentrações do cloreto cloreto <i>N,N</i> [(dimetilamino)etil] 3-metil-benzoato, usando tampão no crescimento (LB em pH 7,4 (0,15M HEPES; μ de 0,123M, NaCl)). Obtida pela medida da densidade ótica a 600 nm após incubação de 3hs a 37°C.	154
Figura III.6.8.2.1- Curva da inibição do crescimento de <i>E. coli</i> (DH5 α) por diferentes concentrações do cloreto <i>N,N</i> [(dimetilamino)etil] 3-metoxi-benzoato, usando tampão no crescimento (LB em pH 7,4 (0,15M HEPES; μ de 0,123M, NaCl)). Obtida pela medida da densidade ótica a 600 nm após incubação de 3hs a 37°C.	155
Figura III.6.8.3.1- Curva da inibição do crescimento de <i>E. coli</i> (DH5 α) por diferentes concentrações do cloreto <i>N,N</i> [(dimetilamino)etil] 3-etoxi-benzoato, usando tampão no crescimento (LB em pH 7,4 (0,15M HEPES; μ de 0,123M, NaCl)). Obtida pela medida da densidade ótica a 600 nm após incubação de 3hs a 37°C.	156
Figura III.6.8.4.1- Curva da inibição do crescimento de <i>E. coli</i> (DH5 α) por diferentes concentrações do cloreto <i>N,N</i> [(dimetilamino)etil] 3-butoxi-benzoato, usando tampão no crescimento (LB em pH 7,4 (0,15M HEPES; μ de 0,123M, NaCl)). Obtida pela medida da densidade ótica a 600 nm após incubação de 3hs a 37°C.	156
Figura III.6.8.5.1- Curva da inibição do crescimento de <i>E. coli</i> (DH5 α) por diferentes concentrações do cloreto <i>N,N</i> [(dimetilamino)etil] 3-fluoro-benzoato, usando tampão no crescimento (LB em pH 7,4 (0,15M HEPES; μ de 0,123M, NaCl)). Obtida pela medida da densidade ótica a 600 nm após incubação de 3hs a 37°C.	157
Figura III.6.8.6.1- Curva da inibição do crescimento de <i>E. coli</i> (DH5 α) por diferentes concentrações do cloreto <i>N,N</i> [(dimetilamino)etil] 3-cloro-benzoato, usando tampão no crescimento (LB em pH 7,4 (0,15M HEPES; μ de 0,123M, NaCl)). Obtida pela medida da densidade ótica a 600 nm após incubação de 3hs a 30°C.	158
Figura III.6.8.7.1- Curva da inibição do crescimento de <i>E. coli</i> (DH5 α) por diferentes concentrações do cloreto <i>N,N</i> [(dimetilamino)etil] 3-bromo-benzoato, usando tampão no crescimento (LB em pH 7,4 (HEPES; μ de 0,123M, NaCl)). Obtida pela medida da densidade ótica a 600 nm após incubação de 3hs a 37°C.	158
Figura III.6.8.8.1- Curva da inibição do crescimento de <i>E. coli</i> (DH5 α) por diferentes concentrações do cloreto <i>N,N</i> [(dimetilamino)etil] 3-iodo-benzoato, usando tampão no crescimento (LB em pH 7,4 (0,15M HEPES; μ de 0,123M, NaCl)). Obtida pela medida da densidade ótica a 600 nm após incubação de 3hs a 37°C.	159
Figura III.6.8.9.1- Curva da inibição do crescimento de <i>E. coli</i> (DH5 α) por diferentes concentrações do cloreto <i>N,N</i> [(dimetilamino)etil] 3-nitro-benzoato, usando tampão no crescimento (LB em pH 7,4 (HEPES; μ de 0,123M, NaCl)). Obtida pela medida da densidade ótica a 600 nm após incubação de 3hs a 37°C.	160
Figura III.6.8.10.1- Curva da inibição do crescimento de <i>E. coli</i> (DH5 α) por diferentes concentrações do cloreto <i>N,N</i> [(dimetilamino)etil] 3-ciano-benzoato, usando tampão no crescimento (LB em pH 7,4 (0,15M HEPES; μ de 0,123M, NaCl)). Obtida pela medida da densidade ótica a 600 nm após incubação de 3hs a 37°C.	160
Figura III.6.8.11.1- Curva da inibição do crescimento de <i>E. coli</i> (DH5 α) por diferentes concentrações do cloreto <i>N,N</i> [(dimetilamino)etil] 3-trifluorometil-benzoato, usando tampão no crescimento (LB em pH 7,4 (HEPES; μ de 0,123M, NaCl)). Obtida pela medida da densidade ótica a 600 nm após incubação de 3hs a 37°C.	161
Figura III.6.8.12.1- Curva da inibição do crescimento de <i>E. coli</i> (DH5 α) por diferentes concentrações do cloreto <i>N,N</i> [(dimetilamino)etil] 3-dimetilamino-benzoato, usando tampão no crescimento (LB em pH 7,4 (0,15M HEPES; μ de 0,123M, NaCl)). Obtida pela medida da densidade ótica a 600 nm após incubação de 3hs a 37°C.	162

Figura III.6.8.13.1- Curva da inibição do crescimento de <i>E. coli</i> (DH5 α) por diferentes concentrações do cloreto <i>N,N</i> [(dimetilamino)etil] 3-metilsulfonil-benzoato, usando tampão no crescimento (LB em pH 7,4 (0,15M HEPES; μ de 0,123M, NaCl)). Obtida pela medida da densidade ótica a 600 nm após incubação de 3hs a 37°C.	162
Figura IV.2.1- Esquema para a preparação dos cloretos de <i>N,N</i> [(dimetilamino)etil] para ou meta - substituídos, séries I e II.	171
Figura IV.3.1.1- Gráfico e equação de correlação para os valores de $\pi_{(CLAE)}$ em função de valores de $\pi(lit)$, retirados da literatura, para os compostos I.1 aos I.14, série I .	175
Figura IV.3.1.2- Gráfico e equação de correlação para os valores de $\pi_{(CLAE)}$, em função de valores de π , retirado da literatura, para os compostos II.1 a II.14, série II .	176
Figura IV.3.1.3 - Gráfico e equação de correlação para os valores de $\pi_{(CLAE)}$, em função de valores de π , retirado da literatura, para os compostos das séries I e II .	176
Figura IV.3.1.4- Correlação entre os valores do coeficiente de partição $\log P_{CLOGP}$ em função dos valores $\log P_{ACD/7.4}$ obtidos pelos programas CLOGP e ACD/LogP, respectivamente, para a série de cloretos <i>N,N</i> [(dimetilamino)etil] benzoatos para-substituídos (Série I).	180
Figura IV.3.1.5- Correlação entre os valores do coeficiente de partição $\log P_{CLOGP}$ em função dos valores $\log P_{ACD}$ obtidos pelos programas CLOGP e ACD/LogP, respectivamente, para a série de cloretos <i>N,N</i> [(dimetilamino)etil] benzoatos meta-substituídos (Série II).	180
Figura IV.3.1.6- Correlação entre os valores do coeficiente de partição $\log P_{CLOGP}$ em função dos valores $\log P_{ACD}$ obtidos pelos programas CLOGP e ACD/LogP, para os cloretos de <i>N,N</i> [(dimetilamino)etil] benzoatos meta e para- substituídos (Séries I e II).	181
Figura IV.3.1.7- Correlação entre os valores do coeficiente de partição $\log P_{CLAE}$ determinados por CLAE, sistema 1-octanol/água (tampão trisma pH = 7,40 e μ = 0,1 M (NaCl) e temperatura (23 $\pm$ 1)°C), em função dos valores de $\log P_{CLOGP}$ obtidos pelo programa CLOGP para a série de cloretos de <i>N,N</i> [(dimetilamino)etil] benzoatos para-substituídos (Série I).	183
Figura IV.3.1.8- Correlação entre os valores do coeficiente de partição $\log P_{CLAE}$, determinados por CLAE, no sistema 1-octanol/água (tampão trisma pH = 7,40 e μ = 0,1 M (NaCl) e temperatura (23 $\pm$ 1)°C), em função dos valores de $\log P_{ACD/7.4}$ obtidos pelo programa ACD/LogP, para a série de cloretos de <i>N,N</i> [(dimetilamino)etil] benzoatos meta-substituídos (Série II).	183
Figura IV.3.1.9- Correlação entre os valores do coeficiente de partição $\log P_{CLAE}$ determinados por CLAE, sistema 1-octanol/água (tampão trisma pH = 7,40 e μ = 0,1 M (NaCl) e temperatura (23 $\pm$ 1)°C), em função dos valores de $\log P_{CLOGP}$ obtidos pelo programa CLOGP, para os cloretos de <i>N,N</i> [(dimetilamino)etil] benzoatos R substituídos (Séries I e II).	184
Figura IV.3.1.9a- Correlação entre os valores do coeficiente de partição $\log P_{CLAE}$ determinados por CLAE, no sistema 1-octanol/água (tampão trisma pH = 7,40 e μ = 0,1 M (NaCl) e temperatura (23 $\pm$ 1)°C), em função dos valores de $\log P_{CLOGP}$ obtidos pelo programa CLOGP, para os cloretos de <i>N,N</i> [(dimetilamino)etil] benzoatos meta e para substituídos (Séries I e II; excluindo-se I.7; I.10 e II.14).	185
Figura IV.3.1.9b- Correlação entre os valores do coeficiente de partição $\log P_{CLAE}$ determinados por CLAE, no sistema 1-octanol/água (tampão trisma pH = 7,40 e μ = 0,1 M (NaCl) e temperatura (23 $\pm$ 1)°C), em função dos valores de $\log P_{CLOGP}$ obtidos pelo programa CLOGP, para os cloretos de <i>N,N</i> [(dimetilamino)etil] benzoatos meta e para substituídos (Séries I e II, excluindo-se I.6; I.7; I.10; I.11; I.12 I.13; II.10 e II.14).	185
Figura IV.3.1.10- Correlação entre os valores do coeficiente de partição $\log P_{CLAE}$, determinados por CLAE, no sistema 1-octanol/água (tampão trisma pH = 7,40 e μ = 0,1 M (NaCl) e temperatura (23 $\pm$ 1)°C), em função dos valores de $\log P_{ACD}$ obtidos pelo programa ACD/LogP, para a série de cloretos de <i>N,N</i> [(dimetilamino)etil] benzoatos para-substituídos (Série I).	186
Figura IV.3.1.11- Correlação entre os valores do coeficiente de partição $\log P_{CLAE}$ determinados por CLAE, no sistema 1-octanol/água (tampão trisma pH = 7,40 e μ = 0,1 M (NaCl) e temperatura (23 $\pm$ 1)°C), em função dos valores de $\log P_{ACD}$ obtidos pelo programa ACD/LogP para a série de cloretos de <i>N,N</i> [(dimetilamino)etil] benzoatos meta-substituídos (Série II).	187

Figura IV.3.1.12- Correlação entre os valores do coeficiente de partição $\log P_{CLAE}$, determinados por CLAE, no sistema 1-octanol/água (tampão trisma pH = 7,40 e $m = 0,1$ M (NaCl) e temperatura $(23 \pm 1)^\circ\text{C}$), em função dos valores de $\log P_{ACD}$ obtidos pelo programa ACD/LogP, para a série de cloretos de <i>N,N</i> [(dimetilamino)etil] benzoatos para-substituídos (séries I e II).	187
Figura IV.3.1.13- Gráfico e equação de correlação para os valores de $\log P_{CLAE}$, determinados por CLAE, no sistema 1-octanol/água (tampão trisma pH = 7,40 e $\mu = 0,1$ M (NaCl) e temperatura $(23 \pm 1)^\circ\text{C}$), em função de π , retirado da literatura, para os compostos I.1 a I.14 (série I).	189
Figura IV.3.1.14- Gráfico e equação de correlação para os valores de $\log P_{app}$, determinados por CLAE, no sistema 1-octanol/água (tampão trisma pH = 7,40 e $\mu = 0,1$ M (NaCl)) e temperatura $(23 \pm 1)^\circ\text{C}$, em função de π , retirado da literatura, para os compostos II.1 a II.14 (série II).	189
Figura IV.3.1.15- Gráfico e equação de correlação para os valores de $\log P_{app}$, determinados por CLAE, no sistema 1-octanol/água (tampão trisma pH = 7,40 e $\mu = 0,1$ M (NaCl)) e temperatura $(23 \pm 1)^\circ\text{C}$, em função de π , retirado da literatura, para os compostos das séries I e II .	190
Figura IV.3.1.16- Gráfico e equação de correlação para os valores de $\log P_{CLAE}$ determinados por CLAE, no sistema 1-octanol/água (tampão trisma pH = 7,40 e $\mu = 0,1$ M (NaCl) e temperatura $(23 \pm 1)^\circ\text{C}$), em função de $\log P_{CLOGP}$, para os compostos da série I .	190
Figura IV.3.1.17- Gráfico e equação de correlação para os valores de $\log P_{CLAE}$ determinados por CLAE, no sistema 1-octanol/água (tampão trisma pH = 7,40 e $\mu = 0,1$ M (NaCl) e temperatura $(23 \pm 1)^\circ\text{C}$, em função de $\log P_{CLOGP}$, para os compostos da série II .	191
Figura IV.3.1.18- Gráfico e equação de correlação para os valores de $\log P_{CLAE}$ determinados por CLAE, no sistema 1-octanol/água (tampão trisma pH = 7,40 e $\mu = 0,1$ M (NaCl) e temperatura $(23 \pm 1)^\circ\text{C}$), em função de $\log P_{CLOGP}$, para os compostos das séries I e II .	191
Figura IV.3.2.1. Valores da posição da banda de absorção do grupo carbonila ($\nu_{C=O}$) (cm^{-1}) na região do I.V., obtidos em solução de CHCl_3 em função dos valores das constantes de substituintes σ de Hammett para os compostos da série I.	198
Figura IV.3.2.2- Valores da posição da banda de absorção do grupo carbonila ($\nu_{C=O}$) (cm^{-1}) na região do I.V., obtidos em solução de CHCl_3 em função dos valores das constantes de substituintes σ de Hammett para os compostos da série II.	198
Figura IV.3.2.3- Valores da posição da banda de absorção do grupo carbonila ($\nu_{C=O}$) (cm^{-1}) na região do I.V., obtidos em solução de CHCl_3 em função dos valores das constantes de substituintes σ de Hammett para os compostos da série I e II.	199
Figura IV.3.4.1. Gráfico e equação de correlação entre os valores de $\log (1/IC_{50})$ avaliados contra <i>S. cerevisiae</i> (BY4741) em função dos valores de $\log (1/IC_{50})$ avaliados contra <i>E. coli</i> (DH5 α) observados para os compostos das séries I e II (n=27)	204
Figura IV.3.4.2. Gráfico e equação de correlação entre os valores de $\log (1/IC_{50})$ avaliados para <i>S. cerevisiae</i> (BY4741) versus valores de $\log (1/IC_{50})$ avaliados para <i>E. coli</i> (DH5 α) observados para os compostos das séries I e II, exceto para os compostos I.10; II.6 ; II.8; II.9 e II.10 , n=22.	205

Índice

Introdução	31
I.1 Membranas Biológicas	32
I.1.1. Estrutura e função das membranas	32
I.1.1.2. Modelo Mosaico fluido	33
I.1.2. Estrutura Básica das Membranas	35
I.1.2.1. Membranas Bacterianas	36
I.1.2.2- Membranas de Fungos	38
I.1.3. Interações fármaco-membrana	39
I.2 Anestésicos locais	40
I.2.1. Estrutura	40
I.2.2. Anestésicos locais com atividade antimicrobiana	41
I.3 Relações quantitativas entre estrutura química e atividade biológica, QSAR	44
I.3.1. Histórico	44
I.3.2. Modelos QSAR	46
I.3.3. Principais Interações entre o ligante e o receptor	52
I.3.4. Parâmetros Físico-Químicos/Estruturais	57
I.3.4.1. Parâmetros eletrônicos	57
I.3.4.2. Parâmetro hidrofóbico	59
I.3.4.3. Parâmetro π de Hansch	67
I.3.4.4. Parâmetros estéricos	68
I.3.4.5. Parâmetros relacionados à refatividade molar ou polarizabilidade	68
I.3.4.6. Parâmetros Biológicos	70
I.4. Objetivos	73
II- Materiais e Métodos	75
II.1- Reagentes e Solventes	75
II.1.1- Reagentes com grau de pureza espectroscópicos e solventes deuterados	75
II.1.2. Equipamentos	76
II.2- Métodos	78
II.2.1- Seleção dos substituintes	78
II.2.2- Obtenção e Purificação dos compostos	78
II.2.3- Análises e Medidas Realizadas	79
II. 3- Parâmetros físico-químicos e estruturais	82
II.3.1- Parâmetros lipofílicos	82
II.3.2- Procedimento geral para obtenção do coeficiente de partição por $\log P_{(CLAE)}$	82
II.3.3- Procedimento geral para obtenção do coeficiente de partição por cálculo: $\log P_{(CLOGP)}$ e $\log P_{(ACD)}$	85
II.3.4- Parâmetro eletrônico	86
II.3.5. Parâmetro relativo à polarizabilidade	87
II.4. Parâmetro biológico	87
II.4.1- Procedimento geral para a determinação dos valores de IC_{50} para <i>S. cerevisiae</i> e para <i>E. coli</i> pela medida da densidade ótica (DO_{600}), para os compostos das séries I e II.	88
II.4.2. Preparação de soluções estoques	88
II.4.3. Preparação das soluções de teste dos compostos das séries I e II:	89
II.4.4- Determinação dos valores de IC_{50}	90
II.4.5. Preparação do poço para controle	90
III. Parte Experimental	92
III.1. Compostos utilizados	92
III.2. Purificação, análise do grau de pureza e caracterização dos compostos	92

III.3. Obtenção de parâmetros lipofílicos	98
III.3.1. Valores de constante hidrofóbica de substituintes	98
III.3.2. Obtenção do coeficiente de partição por cálculo, $\log P_{\text{calc}}$	98
III.3.3- Determinação do coeficiente de partição aparente, $\log P_{\text{app}}$, pelo método CLAE, no sistema 1-octanol/água (tampão Trisma pH = 7,40 e μ = 0,1 M (ajustada com adição de NaCl)), para os cloretos de N,N[(dimetilamino)etil] benzoatos substituídos (séries I e II, compostos I.1 a I.14 e II.1 a II.14)	99
III.4. Obtenção de parâmetros eletrônicos	105
III.4.1. Valores de constantes de grupo substituinte tipo Hammett (σ_p , σ_m) e de Swain-Lupton (ρ e π)	105
III.4.2. Valores do deslocamento químico do carbono carbonílico ($\delta_{13\text{C}=\text{O}}$), considerados como parâmetro eletrônico	105
III.4.3- Valores da posição de absorção do grupo carbonila ($\nu_{\text{C}=\text{O}}$) (em cm^{-1}) na região do I.V., considerados como parâmetro eletrônico	107
III.5- Refratividade molar (M_R) como parâmetro relativo à polarizabilidade	108
III.6- Determinação do parâmetro biológico	110
III.6.1- Procedimento experimental usado para ensaio com <i>Saccharomyces cerevisia</i> (BY4741) para as séries I e II	110
III. 6.1.1- Preparação do meio de cultura tamponado HEPES – pH 7,40.	110
III.6.1.2- Preparação do meio de cultura tamponado Ácido cítrico – pH 5,50.	111
III.6.1.3- Preparo da Cultura de Levedura (Pré- Inóculo)	111
III.6.1.4- Preparo das amostras	112
III.6.2- Resultados obtidos para <i>Saccharomyces cerevisiae</i> (BY4741)	114
III.6.2.1- Efeito do DMSO sobre o crescimento de <i>Saccharomyces cerevisiae</i> (BY4741)	114
III.6.2.2- Efeito do tampão sobre o crescimento de <i>Saccharomyces cerevisiae</i> (BY4741)	115
III.6.2.3- Efeito de cada composto da série de cloretos N,N[(dimetilamino)etil] benzoatos para-substituídos (Série I) sobre o crescimento de <i>Saccharomyces cerevisiae</i> (BY4741).	116
III.6.3- Determinação dos valores da concentração que inibe 50% do crescimento (IC_{50}) para os cloretos de N,N[(dimetilamino)etil] benzoatos para-substituídos (série I)	116
III.6.3.0- IC_{50} do crescimento da <i>S. cerevisiae</i> para cloridrato de tetracaína.	116
III.6.3.1- IC_{50} do crescimento da <i>S. cerevisiae</i> para o cloreto N,N[(dimetilamino)etil] benzoato não substituído (I.1-R= 4-H)	117
III.6.3.2- IC_{50} do crescimento da <i>S. cerevisiae</i> para o cloreto N,N[(dimetilamino)etil] metilbenzoato (I.2 – R = 4- CH_3).	118
III.6.3.3- IC_{50} do crescimento da <i>S. cerevisiae</i> para o cloreto N,N[(dimetilamino)etil] etilbenzoato (I.3 – R= C_2H_5).	118
III.6.3.4- IC_{50} do crescimento da <i>S. cerevisiae</i> para o cloreto N,N[(dimetilamino)etil] 4-butilbenzoato (I.4 R= 4- C_4H_9).	119
III.6.3.5- C_{50} do crescimento da <i>S. cerevisiae</i> para o cloreto N,N[(dimetilamino)etil] 4-terciobutilbenzoato (I.5 -4- tC_4H_9)	120
III.6.3.6- IC_{50} do crescimento da <i>S. cerevisiae</i> para o cloreto N,N[(dimetilamino)etil] metoxibenzoato (I.6 -4- OCH_3).	121
III.6.3.7- IC_{50} do crescimento da <i>S. cerevisiae</i> para o cloreto N,N[(dimetilamino)etil] butoxibenzoato (I.7 -4- nOC_4H_9)	121
III.6.3.8- IC_{50} do crescimento da <i>S. cerevisiae</i> para o cloreto N,N[(dimetilamino)etil] acetilbenzoato (I.8 -4- COCH_3).	122
III.6.3.9- IC_{50} do crescimento da <i>S. cerevisiae</i> para o cloreto N,N[(dimetilamino)etil] clorobenzoato (I.9 – R = 4-Cl)	123
III.6.3.10- IC_{50} do crescimento da <i>S. cerevisiae</i> para o cloreto N,N[(dimetilamino)etil] nitrobenzoato (I.10 – R = 4- NO_2).	123

III.6.3.11- IC ₅₀ do crescimento da <i>S. cerevisiae</i> para o cloreto <i>N,N</i> [(dimetilamino)etil] ciano-benzoato (I.11 – R = 4-CN).....	124
III.6.3.12- IC ₅₀ do crescimento da <i>S. cerevisiae</i> para o cloreto <i>N,N</i> [(dimetilamino)etil] 4-Hexilóxi-benzoato (I.12 – R = 4-nOC ₆ H ₁₃).....	125
III.6.3.13- IC ₅₀ do crescimento da <i>S. cerevisiae</i> para o cloreto <i>N,N</i> [(dimetilamino)etil] metilsulfonil-benzoato (I.13 – R = 4-SO ₂ CH ₃).....	125
III.6.3.14- IC ₅₀ do crescimento da <i>S. cerevisiae</i> para o cloreto <i>N,N</i> [(dimetilamino)etil] trifluorometil-benzoato (I.14 – R = 4-CF ₃).....	126
III.6.4- Determinação dos valores da concentração que inibe 50% do crescimento (IC ₅₀) para os cloretos de <i>N,N</i> [(dimetilamino)etil] benzoatos meta-substituídos (série II).....	128
III.6.4.1- IC ₅₀ do crescimento da <i>S. cerevisiae</i> para do cloreto <i>N,N</i> [(dimetilamino)etil] 3-metil-benzoato (II.2 – R = 3-CH ₃).....	128
III.6.4.2- IC ₅₀ do crescimento da <i>S. cerevisiae</i> para o cloreto <i>N,N</i> [(dimetilamino)etil] 3-metoxi-benzoato (II.3 – R = 3-OCH ₃).....	128
III.6.4.3- IC ₅₀ do crescimento da <i>S. cerevisiae</i> para o cloreto <i>N,N</i> [(dimetilamino)etil] 3-etoxi-benzoato (II.4 – R = 3-OC ₂ H ₅).....	129
III.6.4.4- IC ₅₀ do crescimento da <i>S. cerevisiae</i> para o cloreto <i>N,N</i> [(dimetilamino)etil] 3-butoxi-benzoato (II.5 – R = 3-nOC ₄ H ₉).....	130
III.6.4.6- IC ₅₀ do crescimento da <i>S. cerevisiae</i> para o cloreto <i>N,N</i> [(dimetilamino)etil] 3-cloro-benzoato (II.7 – R = 3-Cl).....	131
III.6.4.7- IC ₅₀ do crescimento da <i>S. cerevisiae</i> para o cloreto <i>N,N</i> [(dimetilamino)etil] 3-bromo-benzoato (II.8 – R = 3-Br).....	132
III.6.4.8- IC ₅₀ do crescimento da <i>S. cerevisiae</i> para o cloreto <i>N,N</i> [(dimetilamino)etil] 3-iodo-benzoato (II.9 – R = 3-I).....	133
III.6.4.9- IC ₅₀ do crescimento da <i>S. cerevisiae</i> para o cloreto <i>N,N</i> [(dimetilamino)etil] 3-nitro-benzoato (II.10 – R = 3-NO ₂).....	133
III.6.4.10- IC ₅₀ do crescimento da <i>S. cerevisiae</i> para o cloreto <i>N,N</i> [(dimetilamino)etil] 3-ciano-benzoato (II.11 – R = 3-CN).....	134
III.6.4.11- IC ₅₀ do crescimento da <i>S. cerevisiae</i> para o cloreto <i>N,N</i> [(dimetilamino)etil] 3-trifluorometil-benzoato (II.12 – R = 3-CF ₃).....	135
III.6.4.12- IC ₅₀ do crescimento da <i>S. cerevisiae</i> para o cloreto <i>N,N</i> [(dimetilamino)etil] 3-dimetilamino-benzoato (II.13 – R = 3-N(CH ₃) ₂).....	135
III.6.4.13- IC ₅₀ do crescimento da <i>S. cerevisiae</i> para o cloreto <i>N,N</i> [(dimetilamino)etil] 3-metilsulfonil-benzoato (II.14 – R = 3-SO ₂ CH ₃).....	136
III.6.5- Procedimento experimental usado no ensaio com <i>Escherichia coli</i> para as séries I e II... 137	
III. 6.5.1- Preparação do meio de cultura tamponado HEPES – pH 7,40	137
III.6.5.2- Preparação do meio de cultura tamponado Fosfato – pH 7,40.....	138
III.6.5.3- Preparo da Cultura de Bactéria (Pré- inóculo).....	138
III.6.6- Resultados obtidos para a bactéria <i>Escherichia coli</i> (DH5α).....	140
III.6.6.1- Efeito do DMSO sobre o crescimento de <i>E. coli</i>	140
III.6.6.2- Efeito do tampão sobre o crescimento de <i>E. coli</i> (DH5α).....	141
III.6.6.3- Efeito de cada composto da série de cloretos <i>N,N</i> [(dimetilamino)etil] benzoatos para-substituídos sobre crescimento de <i>E. coli</i> (DH5α).....	142
III.6.7- Determinação dos valores da concentração que inibe 50% do crescimento (IC ₅₀) para cloretos de <i>N,N</i> [(dimetilamino)etil] benzoatos para-substituídos. (Série I).....	143
III.6.7. 0- IC ₅₀ do crescimento da <i>E. coli</i> para o cloridrato de tetracaína.....	143
III.6.7.1- IC ₅₀ do crescimento da <i>E. coli</i> para o cloreto <i>N,N</i> [(dimetilamino)etil] benzoato não-substituído (I.1 – R = 4-H).....	144
III.6.7.2- IC ₅₀ do crescimento da <i>E. coli</i> para do cloreto <i>N,N</i> [(dimetilamino)etil] 4-metil-benzoato (I.2 – R = 4-CH ₃).....	145

III.6.7.3- IC ₅₀ do crescimento da <i>E. coli</i> para o cloreto <i>N,N</i> [(dimetilamino)etil] 4-etil-benzoato (I.3 – R = 4-C ₂ H ₅).....	145
III.6.7. 4- IC ₅₀ do crescimento da <i>E. coli</i> para o cloreto <i>N,N</i> [(dimetilamino)etil] 4-butil-benzoato (I.4 – R = 4-nC ₄ H ₉).....	146
III.6.7.5- IC ₅₀ do crescimento da <i>E. coli</i> para o cloreto <i>N,N</i> [(dimetilamino)etil] tercio-butil-benzoato (I.5 – R = 4-tC ₄ H ₉).....	147
III.6.7.6- IC ₅₀ do crescimento da <i>E. coli</i> para o cloreto <i>N,N</i> [(dimetilamino)etil] 4-metoxi-benzoato (I.6 – R = 4-OCH ₃).....	148
III.6.7.7- IC ₅₀ do crescimento da <i>E. coli</i> para o cloreto <i>N,N</i> [(dimetilamino)etil] 4-butoxi-benzoato (I.7 – R = 4-nOC ₄ H ₉).....	148
III.6.7. 8- IC ₅₀ do crescimento da <i>E. coli</i> para o cloreto <i>N,N</i> [(dimetilamino)etil] 4-acetil-benzoato (I.8 – R = 4-COCH ₃).....	149
III.6.7.9- C ₅₀ do crescimento da <i>E. coli</i> para o cloreto <i>N,N</i> [(dimetilamino)etil] 4-cloro-benzoato (I.9 – R = 4-Cl).....	150
III.6.7.10- IC ₅₀ do crescimento da <i>E. coli</i> para o cloreto <i>N,N</i> [(dimetilamino)etil] 4-nitro-benzoato (I.10 – R = 4-NO ₂).....	150
III.6.7.11- IC ₅₀ do crescimento da <i>E. coli</i> para o cloreto <i>N,N</i> [(dimetilamino)etil] 4-ciano-benzoato (I.11 – R = 4-CN).....	151
III.6.7.12- IC ₅₀ do crescimento da <i>E. coli</i> para o cloreto <i>N,N</i> [(dimetilamino)etil] 4-hexiloxi-benzoato (I.12 – R = 4-nOC ₆ H ₁₃).....	152
III.6.7.13- IC ₅₀ do crescimento da <i>E. coli</i> para o cloreto <i>N,N</i> [(dimetilamino)etil] 4-trifluorometil-benzoato (I.13 – R = 4-SO ₂ CH ₃).....	152
III.6.7.14- IC ₅₀ do crescimento da <i>E. coli</i> para o cloreto <i>N,N</i> [(dimetilamino)etil] 4-metilsulfonyl-benzoato (I.14 – R = 4-CF ₃).....	153
III.6.8- Determinação dos valores da concentração que inibe 50% do crescimento (IC ₅₀) para os cloretos de <i>N,N</i> [(dimetilamino)etil] benzoatos meta-substituídos (série II).....	154
III.6.8.1- IC ₅₀ do crescimento da <i>E. coli</i> para o cloreto <i>N,N</i> [(dimetilamino)etil] 3-metil-benzoato (II.2 – R = 3-CH ₃).....	154
III.6.8.2- IC ₅₀ do crescimento da <i>E. coli</i> para o cloreto <i>N,N</i> [(dimetilamino)etil] 3-metoxi-benzoato (II.3 – R = 3-OCH ₃).....	155
III.6.8.3- IC ₅₀ do crescimento da <i>E. coli</i> para o cloreto <i>N,N</i> [(dimetilamino)etil] 3-etoxi-benzoato (II.4 – R = 3-OC ₂ H ₅).....	156
III.6.8.4- C ₅₀ do crescimento da <i>E. coli</i> para o cloreto <i>N,N</i> [(dimetilamino)etil] 3-butoxi-benzoato (II.5 – R = 3-nOC ₄ H ₉).....	156
III.6.8.5- IC ₅₀ do crescimento da <i>E. coli</i> para o cloreto <i>N,N</i> [(dimetilamino)etil] 3-fluoro-benzoato (II.6 – R = 3-F).....	157
III.6.8. 6- IC ₅₀ do crescimento da <i>E. coli</i> para o cloreto <i>N,N</i> [(dimetilamino)etil] 3-cloro-benzoato (II.7 – R = 3-Cl).....	158
III.6.8.7- IC ₅₀ do crescimento da <i>E. coli</i> para o cloreto <i>N,N</i> [(dimetilamino)etil] 3-bromo-benzoato (II.8 – R = 3-Br).....	158
III.6.8. 8- IC ₅₀ do crescimento da <i>E. coli</i> para o cloreto <i>N,N</i> [(dimetilamino)etil] 3-iodo-benzoato (II.9 – R = 3-I).....	159
III.6.8. 9- IC ₅₀ do crescimento da <i>E. coli</i> para o cloreto <i>N,N</i> [(dimetilamino)etil] 3-nitro-benzoato (II.10 – R = 3-NO ₂).....	160
III.6.8.10- IC ₅₀ do crescimento da <i>E. coli</i> para o cloreto <i>N,N</i> [(dimetilamino)etil] 3-ciano-benzoato (II.11 – R = 3-CN).....	160
III.6.8.11- IC ₅₀ do crescimento da <i>E. coli</i> para o cloreto <i>N,N</i> [(dimetilamino)etil] 3-trifluorometil-benzoato (II.12 – R = 3-CF ₃).....	161
III.6.8.12- IC ₅₀ do crescimento da <i>E. coli</i> para o cloreto <i>N,N</i> [(dimetilamino)etil] 3-dimetilamino-benzoato (II.13 – R = 3-N(CH ₃) ₂).....	161

III.6.8.13- IC50 do crescimento da <i>E. coli</i> para o cloreto <i>N,N</i> [(dimetilamino)etil] 3-metilsulfonilbenzoato (II.14 – R = 3-SO ₂ CH ₃).	162
IV. Resultados e discussão	164
IV.1. Escolha dos Substituintes	166
IV.2 Purificação e caracterização dos compostos utilizados	170
IV.3 Parâmetros Físico-Químicos e Estruturais	173
IV.3.1 Parâmetros Lipofílicos	173
IV.3.2 Parâmetros Eletrônicos	192
IV.3.3 Parâmetro relativo à polarizabilidade	200
IV.3.4 Parâmetro Biológico	201
IV.4. Análise das regressões obtidas para estudos de QSAR	207
IV.4.1. Abordagem de QSAR	207
IV.4.2. Inibição do crescimento frente à <i>S. cerevisiae</i> (BY4741)	212
IV.4.2.1 Análise do efeito da lipofilicidade sobre inibição do crescimento frente à <i>S. cerevisiae</i> (BY4741)	212
IV.4.2.2 Análise do efeito relacionado à MR sobre a inibição do crescimento frente à <i>S. cerevisiae</i> (BY4741)	216
IV.4.2.3 Análise do efeito eletrônico sobre a inibição do crescimento frente à <i>S. cerevisiae</i> (BY4741)	217
IV.4.2.4 Análise multiparamétrica, dos efeitos respectivamente lipofílico, eletrônico e relacionado à refratividade molar sobre a inibição do crescimento frente à <i>S. cerevisiae</i> (BY4741)	219
IV. 4.3 Inibição do crescimento frente à <i>Escherichia coli</i> (DH5α)	222
IV.4.3.1 Análise do efeito da lipofilicidade sobre inibição do crescimento frente à <i>E. coli</i> (DH5α)	222
IV.4.3.2 Análise do efeito da relacionado com MR sobre a inibição do crescimento <i>E. coli</i> (DH5α)	227
IV.4.3.3 Análise do efeito eletrônico sobre a inibição do crescimento frente à <i>E. coli</i> (DH5α)	227
IV.4.3.4 Análise multiparamétrica, dos efeitos respectivamente lipofílico, eletrônico e relacionado à refratividade molar sobre a inibição do crescimento <i>E. coli</i> (DH5α)	229
V. Conclusões	232
Referências	240

I - Introdução

Introdução

I.1 Membranas Biológicas

I.1.1. Estrutura e função das membranas

As membranas biológicas definem o limite externo das células e regulam o trânsito molecular e iônico por meio deste limite. Nas células eucarióticas, elas dividem o espaço interno em compartimentos discretos, separando componentes e processos distintos entre si. Elas organizam seqüências de reações complexas e são essenciais tanto para a conservação de energia como para a comunicação entre as células. As membranas são estruturas flexíveis, auto-selantes e apresentam permeabilidade seletiva para solutos polares (Seydel, 2002).

As membranas são associações supramoleculares compostas basicamente de proteínas e lipídios em combinações variadas e particulares para cada espécie, tipo celular e organela (**Tabelas I.1.1.1 e I.1.1.2**). As proporções relativas das proteínas e lipídios variam com o tipo de membrana e refletem a diversidade dos papéis biológicos de cada um (Lehninger & Cox, 2006a). Considerando-se que as proteínas e os lipídeos não estão covalentemente ligados, a estrutura inteira da membrana é bastante flexível, permitindo alterações na forma e no tamanho da célula (Lehninger & Cox, 2006b). Assim, a membrana celular, que reveste inteiramente toda célula, é uma estrutura muito delgada e elástica, com espessura entre 7,5 a 10 nanômetros.

A membrana plasmática da *Escherichia coli* contém centenas de proteínas diferentes, incluindo transportadores e muitas enzimas envolvidas no metabolismo da conservação de energia, síntese de lipídios, exportação de proteínas e divisão celular. A membrana externa da *E. coli* possui uma função diferente (proteção) e um conjunto de proteínas diferentes.

Tabela I.1.1.1 Principais componentes das membranas plasmáticas em vários organismos.

Tipo de membrana	Componentes em peso (%)			Tipo de esterol	outros lipídios
	Proteínas	Fosfolipídios	Esterol		
Bainha de mielina humana	30	30	19	colesterol	galactolipídios, plasmalogênios
Folha do milho	7	26	7	sitosterol	Galactolipídios
Fígado de camundongo	45	27	25	colesterol	-
Levedura	52	7	4	ergosterol	triacilgliceróis, ésteres de esteróis
<i>E. coli</i>	75	25	0	-	-

Obs. Os valores não somam 100% em todos os organismos porque existem outros componentes além de proteínas, fosfolipídios e esteróis (Lehninger & Cox, 2006b).

Tabela I.1.1.2. Porcentagem de proteínas e de lipídios em membranas de tecidos de rato.(Seydel, 2002)

Membrana	Proteína/Lipídio
Membrana plasmática	
Bainha de mielina	0,25 ^a
Eritrócitos	1,1
Hepatócito de rato	1,5
Retículo endoplasmático	
Rugoso	2,5
Liso	2,1
Membrana mitocondrial	
Membrana interna	3,6
Membrana externa	1,2

^a Mielina do sistema nervoso central; maiores taxas são encontradas na mielina do nervo periférico.

I.1.1.2. Modelo Mosaico fluido

As evidências combinadas da microscopia eletrônica e de estudos da composição química, bem como de estudos físicos de permeabilidade e da mobilidade individual de moléculas de proteínas e lipídios dentro da membrana levaram ao desenvolvimento do modelo do mosaico fluido (**Figura I.1.1.2.1**). Esse modelo foi sugerido por Singer e Nicholson e considerado por muitos uma das etapas mais importantes no desenvolvimento do atual entendimento de biomembranas (Seydel *et al.*, 2008; Vereb *et al.*, 2003).

O modelo do mosaico fluido (**Figura I.1.1.2.1**) descreve a membrana celular como matriz de bicamada lipídica bidimensional fluida (com espessura de aproximadamente 50 Å) com suas proteínas associadas. Isto permite a difusão lateral tanto de lipídios como de proteínas no plano da membrana. Os fosfolipídios formam uma bicamada onde as regiões não-polares dessas moléculas, em cada uma das suas faces, estão orientadas para o centro da bicamada e os grupos polares para o exterior, interagindo com a fase aquosa em ambos os lados (Dowhan, 1997; Heijne, 1994; Seydel, 2002; Kalipatnapu & Chattopadhyay, 2007; Marguet *et al.*, 2006; Vereb *et al.*, 2003; White *et al.*, 2001).

Figura I.1.1.2.1. Representação esquemática do modelo mosaico-fluido da estrutura da membrana celular, proposto por Singer e Nicholson (Seydel *et al.*, 2008; Lehninger & Cox, 2006b; Vereb *et al.*, 2003).

As proteínas são classificadas em integrais ou periféricas. As primeiras encontram-se imersas integral, ou parcialmente, na matriz lipídica ligando-se aos lipídios por interações predominantemente hidrofóbicas. As proteínas periféricas localizam-se preferencialmente na superfície da bicamada, mantendo interações eletrostáticas e ligações de hidrogênio com cabeças polares dos fosfolípidios. Neste modelo, as membranas biológicas são estruturas dinâmicas, onde seus componentes descrevem movimentos do tipo translacional e rotacional, além de inversão de fase. O modelo do mosaico fluido é o modelo teórico mais aceito para descrever a estrutura da membrana. No entanto, não é definitivo e está em constante melhoramento devido às constantes evoluções nesta área de conhecimento (Boon & Smith, 2002; Vereb *et al.*, 2003).

A bicamada lipídica é formada quase que inteiramente por fosfolípidios e por colesterol. Parte das moléculas de fosfolípidios, que contém um grupo fosfato e do colesterol, que contém um grupo hidroxila, é solúvel em água, isto é uma região hidrofílica. A outra parte dos fosfolípidios, que contém os ácidos graxos e de colesterol, que contém um núcleo esteróide, só é solúvel em gordura, isto é uma região hidrofóbica. Como o meio interno e externo da célula são formados por um sistema aquoso, a bicamada lipídica está disposta de modo a apresentar as porções lipídicas ocupando a região central da membrana e com as regiões hidrofílicas voltadas para a superfície, em contato com o meio aquoso, como mencionado anteriormente (Boon & Smith, 2002; Borst & Elferink, 2002; Vereb *et al.*, 2003). Ademais, a bicamada lipídica possui a característica de ser um fluido, e não um sólido. Isso permite que partes da membrana possam, literalmente, fluir de um ponto a outro, ao longo de sua superfície. A bicamada lipídica também é uma importante barreira à passagem de determinadas substâncias polares

como íons, glicose, uréia e outras, mas apresenta-se permeável à substâncias hidrofóbicas ou lipossolúveis, que podem atravessar livremente a membrana a favor de seus gradientes químicos (transporte passivo/difusão simples) (Boon & Smith, 2002; Borst & Elferink, 2002; Vereb *et al.*, 2003).

Fica claro, portanto, que as membranas não são barreiras passivas. Além da bicamada lipídica, que é seu elemento estrutural básico, elas incluem um conjunto de proteínas especializadas na promoção ou na catálise de uma variedade de processos celulares, o que as torna a principal responsável pelo controle de penetração e saída de substâncias da célula, sendo capaz de selecionar, por mecanismos de transporte ativos ou passivos as substâncias que devem entrar ou sair do meio intracelular.

Muitas das proteínas integrais formam canais (ou poros) estruturais, pelos quais podem difundir as substâncias hidrossolúveis, especialmente os íons, entre os líquidos intra- e extracelular, a favor de seus gradientes eletroquímicos (transporte passivo/difusão facilitada). Contudo, essas proteínas apresentam propriedades seletivas que possibilitam difusão diferencial de algumas substâncias mais do que de outras. Proteínas integrais atuam como carreadoras para o transporte de substâncias na direção oposta à natural de sua difusão, o que é chamado de “transporte ativo”. As proteínas periféricas ocorrem quase que inteiramente na face interna da membrana e normalmente, ficam presas a uma das proteínas integrais, tendo atuação quase exclusiva como enzimas. (Boon & Smith, 2002; Borst & Elferink, 2002; Vereb *et al.*, 2003).

I.1.2. Estrutura Básica das Membranas

O estudo das funções da membrana do ponto de vista biofísico, pode ser considerado bastante complexo quanto ao seu funcionamento, mas simplificada, podemos considerar como tendo quatro estruturas básicas, ou seja: Poros ou canais, Zonas de difusão, Receptores e Operadores.

Poros ou canais, como já descrito em trabalhos anteriores do grupo (Sousa, 1997), são passagens que permitem a comunicação entre o lado externo e o interno da célula. De um modo geral os canais podem ser vistos como uma falha na continuidade da membrana. Os canais podem possuir carga positiva, negativa ou até mesmo não serem carregados. A carga se origina de grupos terminais de proteínas, como COO^- e NH_3^+ . Nos canais com carga, não passam substâncias sem carga, porque esses canais estão sempre ocupados. Os canais sem carga não devem ser considerados como um orifício, ou duto, permanentemente aberto e, sim, como uma flutuação mecânica pelos movimentos de moléculas vicinais. Essas moléculas se afastam pela pressão das substâncias que possuem passe livre através da membrana. Além da carga, o diâmetro dos canais seleciona os passantes conforme o

volume dos íons. Existem canais específicos para os íons Na^+ e Ca^{++} (Borst & Elferink, 2002; Doyle *et al.*, 1998; Fujiyoshi *et al.*, 2002).

Zonas de difusão, a difusão através da célula, ou o transporte de substâncias através da célula são realizados por dois princípios básicos ou seja, a difusão passiva ou difusão ativa. A difusão passiva é um tipo de transporte de substâncias onde não há consumo de energia uma vez que é realizado baseando-se no princípio de diferença de concentração das substâncias nas regiões interna e externa da célula. No transporte ativo, substâncias podem ser transportadas da região menos concentrada para a região mais concentrada, neste caso o princípio de transporte contra um gradiente químico é compensado por um gradiente elétrico ou impulso elétrico. Assim o transporte de íons de sódio e potássio através dos canais é regido pelo transporte ativo, onde a energia necessária para o transporte é fornecida pela hidrólise de ATP em ADP (Abramson *et al.*, 2003; Schmitt & Tampe, 2002).

Receptores são sítios que possuem estrutura adequada à ligação de certas moléculas específicas que ao se ligarem, desencadeiam uma série de processos celulares. As mensagens podem ser dirigidas a poros, canais ou a operadores. Cabe aos receptores parte importante na regulação da atividade celular, a ativação ou inibição de determinadas ações específicas no meio celular, como o transporte de sódio em proteínas, pode ativar ou inibir determinadas reações enzimáticas e processos bioquímicos (Doyle *et al.*, 1998; Jiang *et al.*, 2003).

Operadores são mecanismos capazes de realizar transporte ativo, ou seja, contra gradientes de concentração, elétricos ou ambos. Os operadores utilizam ATP como fonte de energia. O princípio operacional é bastante simples: a molécula a ser transportada se encaixa no operador que muda sua conformação, segurando-a. Em seguida, uma molécula de ATP se encaixa na fenda que resultou da mudança de conformação do operador, é hidrolisada e libera energia para o trabalho que é o transporte para dentro da molécula desejada. A seguir, o operador volta ao estado original. Existe sempre uma molécula de ATPase envolvida no processo. Bastante conhecida é a $(\text{Na}^+, \text{K}^+)\text{-ATPase}$, conhecida como sódio-potássio-ATPase, que participa de um operador muito importante que é a bomba de sódio.(Jiang *et al.*, 2003; Miyazawa *et al.*, 2003; Zhou *et al.*, 2001).

I.1.2.1. Membranas Bacterianas

As membranas bacterianas têm uma estrutura muito mais complexa do que as membranas de mamíferos. Isto faz com que a bactéria sobreviva em vários ambientes nos organismo do hospedeiro. Adicionalmente, o conhecimento da composição e do funcionamento das membranas das bactérias é essencial para o desenvolvimento de fármacos. Para serem efetivos, os agentes antibacterianos não apenas tem que apresentar propriedades farmacocinéticas ótimas como por exemplo absorção e distribuição no paciente, mas também devem ser capazes de atravessar uma

barreira adicional, a parede celular da bactéria de tal modo que eles possam alcançar o alvo de interesse (Seydel, 2002).

Com exceção do *Mycoplasma*, que não apresenta parede celular, todas as bactérias possuem uma camada, mais ou menos pronunciada, de peptidoglicanos que rodeia o protoplasma como uma camada de suporte de alta rigidez e que pode suportar a enorme diferença na pressão osmótica (acima de 2000 kPa) entre o citoplasma e o ambiente externo (Seydel, 2002).

Com respeito à parede celular, bactérias são divididas em dois grupos, Gram-positivas e Gram-negativas, dependendo da natureza da sua parede celular.

Nas bactérias Gram-positivas, a parede celular tem 20-80 nm de espessura enquanto que a bicamada da membrana de uma célula de mamífero tem apenas 10 nm de espessura (Seydel, 2002).

Um desenho esquemático da parede celular de bactérias Gram-positivas é mostrado na **Figura I.1.2.1.1**.

Figura I.1.2.1.1- Desenho esquemático da estrutura da parede celular de bactérias Gram-positivas. Seydel, 2002

Em bactérias Gram-negativas, a parede celular externa à membrana citoplasmática tem múltiplas camadas e uma constituição complexa (**Figura I.1.2.1.2**).

Figura I.1.2.1.2. Desenho esquemático da parede celular e membrana de uma bactéria Gram-negativa (Seydel, 2002).

É uma estrutura trilamelar composta pela membrana citoplasmática, o sáculo de mureína e a membrana externa. O sáculo de mureína e a membrana externa juntos formam a verdadeira parede celular. A membrana externa protege a bactéria do ambiente fisiológico agressivo, por exemplo no intestino do hospedeiro e dos mecanismos de defesa do hospedeiro (Seydel, 2002).

Em bactérias Gram-negativas ao contrário das bactérias Gram-positivas a estrutura de peptidoglicanos consiste apenas de uma camada e contribui apenas com cerca de 10% do peso da parede celular (Seydel, 2002).

Para poder atravessar a parede celular, constituída de núcleo externo hidrofílico, rico em polissacarídeos e uma bicamada de fosfolípidios hidrofóbica, quimioterápicos efetivos contra bactérias Gram-negativas deve apresentar um balanço entre as propriedades hidrofílicas e hidrofóbicas. Apenas moléculas de fármacos muito pequenas e hidrofílicas acima de 600 Da podem difundir através dos poros da membrana (Nikaido, 1985; Selmann, 2004).

I.1.2.2- Membranas de Fungos

A parede celular de fungos, em especial de *Candida albicans*, é uma estrutura multilamelar composta principalmente de carboidratos. Como na bactéria, determina a forma da célula, confere rigidez e força e previne lise de choque osmótico. Devido à limitada porosidade, a parede celular torna-se uma barreira para a permeabilidade de moléculas grandes (Seydel, 2002).

A membrana plasmática do fungo tem a estrutura típica da bicamada lipídica da membrana, com fosfatidilcolina, fosfatidiletanolamina e ergosterol como o maior componente lipídico. Sua função é proteger o citossol e regular o transporte de moléculas para dentro e para fora da célula. É também a matriz das proteínas de membrana, incluindo aquelas envolvidas na síntese da parede celular. É importante notar que – em contraste com as células de mamífero - ergosterol, e não colesterol é o componente mais importante das membranas dos fungos.

Anfotericina B (**Figura I.1.2.2.1**) é um antifúngico que atua na membrana do fungo. Este composto possui em sua estrutura, de um lado, uma cadeia longa poliiodroxilada hidrofílica e, de outro, uma cadeia hidrocarbônica poliênica lipofílica. Propõe-se que a anfotericina bloqueia o ergosterol pela ligação direta a este esterol na membrana celular do fungo. Ao se ligar ao ergosterol a anfotericina afeta as propriedades da membrana, causando a perda de potássio, de magnésio, de açúcares, metabólitos e, então a morte celular (Dorr, 2007).

Figura I.1.2.2.1. Estrutura da anfotericina B (Dorr, 2007).

I.1.3. Interações fármaco-membrana

O interesse na pesquisa e desenvolvimento de fármacos, incluindo-se QSAR é focado, principalmente, na interação entre as moléculas do ligante (fármaco) e as proteínas de um receptor específico. Assume-se que a atividade biológica de varias classes de fármacos (tais como ansiolíticos, anestésicos, β -bloqueadores, antidepressivos, entre outros) resulta da sua interação (ligação) com sítios ativos em proteínas de membrana, enquanto considera-se que a parte lipídica desempenha um papel mais passivo. Na última década, entretanto, surgiram evidências de que podemos ter subestimado a influência da interação fármaco-membrana ao descrever a atividade de determinado fármaco. Estas membranas não são formadas somente de lipídios, mas possuem, por exemplo, grupos fosfatos polarizados bem como grupamentos neutros, (negativa ou positivamente) carregados e são altamente estruturados e quirais. Desta forma, os efeitos da interação fármaco-membrana no transporte, na distribuição, no acúmulo, na eficácia e na resistência podem não ter sido totalmente

sempre explicados somente por um simples processo de partição, como por exemplo, expresso por $\log P_{\text{octanol/água}}$ (Seydel *et al.*, 2008).

No caso dos quimioterápicos, a interação das moléculas de determinado fármaco com as membranas, por exemplo, da bactéria ou do fungo devem, portanto, ser adicionalmente consideradas. Estas membranas têm uma estrutura muito mais complexa que membranas de mamíferos.

Em muitos casos, elas são assimétricas, como por exemplo, na membrana das bactérias Gram-negativas. Esta membrana se caracteriza por ter centro mais externo hidrofílico rico em polissacarídeos e uma bicamada de fosfolípidios hidrofóbica. Portanto, um balanço entre as propriedades hidrofóbica/hidrofílica seria importante de se considerar para se ter um inibidor efetivo.

Trabalhos experimentais com membranas artificiais lipídicas e modelos de membrana mostraram que as propriedades estruturais destas membranas podem ser fortemente afetadas pela presença de moléculas associadas à membrana. Alguns dos possíveis eventos que podem resultar da interação fármaco-membrana estão resumidos na **Tabela I.1.3.1**.

Tabela I.1.3.1. Interação fármaco-membrana (Seydel *et al.*, 2008).

I. Ação das membranas sobre as moléculas de fármaco
Difusão através de membranas pode se tornar à etapa determinante (ou limitante)
As membranas podem impedir completamente a difusão para o sítio ativo
A solvatação do fármaco na membrana pode levar a mudanças conformacionais da molécula do fármaco
II. Ação do fármaco sobre as propriedades da membrana
Fármacos podem mudar a conformação dos grupos acila (<i>trans-gauche</i>)
Fármacos podem aumentar a superfície da membrana
Fármacos podem aumentar a fluidez da membrana
Fármacos podem mudar o potencial de membrana e a hidratação dos grupos
Fármacos podem mudar a fusão da membrana

I.2 Anestésicos locais

I.2.1. Estrutura

Do ponto de vista estrutural, compostos com atividade anestésica local (AL) contêm um centro lipofílico (em geral de uma estrutura aromática), uma cadeia carbônica intermediária (podendo ou não conter heteroátomo) e um centro hidrofílico (freqüentemente um grupo amino). Assim, compostos com AL podem ser, entre outros, ésteres, amidas (Figura I.2.1.1). Estas substâncias classificadas como anestésicos locais atuam na membrana celular e impedem a geração e condução dos impulsos nervosos (Catterall & Mackie, 2006; Covino & Vassallo, 1985; Heavner, 2007). Sabe-se que a cocaína

foi o primeiro anestésico local ter seu uso reconhecido. Foi introduzido em 1884, a partir de observações do potencial de ação em causar dormência na língua, comprovada por Albert Niemann. Tendo em vista sua toxicidade e seus efeitos adversos colaterais, a busca por substitutos sintéticos da cocaína começou em 1892 com o trabalho de Einhorn e colaboradores resultando na síntese da procaína, que se tornou o protótipo das substâncias com propriedades de anestésicos locais por quase meio século. Apesar de ser utilizado há muito tempo, há uma necessidade de compreender os efeitos tóxicos, desta classe de compostos, ainda não esclarecidos (Amaral *et al.*, 1997; Butterworth & Strichartz, 1990; Catterall & Mackie, 2006; Heavner, 2007; Ruetsch *et al.*, 2001; Scholz, 2005).

Figura I.2.1.1. Algumas estruturas químicas de anestésicos locais conhecidos

I.2.2. Anestésicos locais com atividade antimicrobiana

Recentemente, na literatura são encontrados vários trabalhos e revisões descrevendo que compostos contendo a estrutura fundamental de anestésico local (AL) apresentam também atividade antimicrobiana, quando testados contra algumas espécies de fungos *Candida* (várias espécies), *Staphylococcus aureus* e contra diversas bactérias *E. coli*, *E. faecalis*, *S. epidermidis* respectivamente. Observou-se que estes compostos inibem (*in vitro*) o crescimento de cepas do fungo *Candida albicans* (Rodrigues *et al.*, 2000; Rodrigues *et al.*, 2006;).

Lidocaína é o anestésico local mais ativo contra bactéria patogênica *in vitro* e este efeito foi confirmado em modelos *in vivo* (Rodrigues *et al.*, 2006). Lidocaína e bupivacaína também mostraram atividade fungicida contra *Candida spp* danificando a membrana citoplasmática. Adicionalmente os dois compostos são potentes inibidores de *C. albicans* (Rodrigues *et al.*, 2006). *Aspergillus spp* são

responsáveis pelo grande aumento de infecções de pacientes imunodeprimidos e transplantados. Alguns anestésicos locais como lidocaína e bupivacaína podem apresentar importante atividade antifúngica contra várias espécies de *Aspergillus* (Rodrigues *et al.*, 2006).

Adicionalmente outras evidências da atividade antimicrobiana foram descritas por Rosenberg e colaboradores (Johnson *et al.*, 2008; Rosenberg & Renkonen, 1985) que mostraram que altas concentrações de bupivacaína ($\geq 0,25\%$) inibem o crescimento de várias bactérias e fungos a saber: *E. coli*, *S. aureus*, *S. epidermidis*, *Streptococcus pneumoniae*, *S. pyogenes*, *E. faecalis*, *Bacillus cereus* e *C. albicans* (Johnson *et al.*, 2008). Pelo método de diluição em agar (nas temperaturas de 18 a 35°C) o cloridrato de bupivacaína mostrou atividade antimicrobiana contra nove dentre as dez espécies testadas. Somente contra *Pseudomonas aeruginosa* bupivacaína não se mostrou ativa até a concentração testada de 0,5% (1,5 mmol); Diferenças nas estruturas da membrana celular da *P. aeruginosa* e das outras bactérias poderiam explicar os resultados observados (Rosenberg & Renkonen, 1985).

Figura I.2.2.1. Estruturas de alguns anestésicos locais: benzidamina, bupivacaína, lidocaína, levobupivacaína, ropivacaína, prilocaína e tetracaína.

Outro grupo de pesquisadores comparou a atividade antibacteriana dos isômeros bupivacaína e levobupivacaína contra *S. epidermidis*, *S. aureus* e *S. faecalis* encontrando os valores de 0,25% e 0,5% respectivamente. Noda e colaboradores (Johnson *et al.*, 2008) realizaram a análise quantitativa da atividade antibacteriana de alguns anestésicos locais calculando a concentração inibitória mínima (CIM) avaliada contra *S. aureus*, *S. epidermidis* e *P. aeruginosa*. Uma comparação dos valores de CIM mostraram que bupivacaína apresenta atividade bacteriana maior do que lidocaína.

Altas concentrações, longa exposição, alta temperatura afetam a inibição de crescimento microbiano por anestésicos locais. Adição de outros agentes, tais como conservantes, ópios, em mistura com outros anestésicos locais modifica a atividade antimicrobiana através de ação sinérgica ou de ação antagonista (Johnson *et al.*, 2008; Gajraj *et al.*, 1998; Guillier *et al.*, 2007; Hodson *et al.*, 1998; Kampe *et al.*, 2003; Morris *et al.*, 2001; Pere *et al.*, 1999; Sakuragi *et al.*, 1998).

Aydin e colaboradores examinaram a atividade antimicrobiana de quatro anestésicos locais (lidocaína, prilocaína, bupivacaína e ropivacaína, Figura 1.2.2.1), avaliada contra uma variedade de espécies de patógenos, respectivamente: *E. coli*, *S. aureus*, *P. aeruginosa* e *C. albicans*. Dos quatro anestésicos testados lidocaína e prilocaína foram os mais potentes inibindo todos na concentração de 2% (100 - 8,7 mmol). Na concentração de 1% prilocaína inibe o crescimento de *E. coli*, de *S. aureus* e de *P. aeruginosa* enquanto que 1% de lidocaína inibe somente *P. aeruginosa*. Bupivacaína inibe *P. aeruginosa* na concentração de $\geq 0,25$ %. Ropivacaína não se mostrou ativa. Neste estudo, foi observado que houve a redução do número de células, lises de células, mudanças de permeabilidade, alterações de características estruturais e inibição de atividade enzimática de membrana (Aydin *et al.*, 2001).

Um estudo comparativo do crescimento de *E. coli* utilizando-se agar como meio de cultura, na presença de lidocaína (1%, 2% ou 4%) ou da mistura lidocaína-propofol (0,25% - 4%) mostrou inibição do crescimento nos dois casos. Estas observações comprovaram a atividade bacteriostática de lidocaína mesmo em pequenas concentrações como impureza na mistura com propofol (Sakuragi *et al.*, 1999).

Quanto ao mecanismo de inibição, estudos realizados para três anestésicos locais (benzidamida ou lidocaína ou bupivacaína) avaliados contra cerca de 20 cepas de *Candida* sugerem que ocorra o bloqueio de canais de iônicos e/ou a promoção de danos na membrana citoplasmática (Rodrigues *et al.*, 2000).

Pere e colaboradores (1999), comparando o efeito de diferentes concentrações de ropivacaína e de bupivacaína (3,73; 1,857 e 0,938 mg/ml) no crescimento de diferentes cepas bacterianas (*E. coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus pyogenes*) em meio líquido constatou que em todas as concentrações avaliadas, a bupivacaína foi o inibidor mais potente do crescimento das cepas em estudo, exceto para a *K. pneumoniae*. Também observou que na concentração de 3,75 mg/ml (13mmol/mL) a bupivacaína inibe completamente o crescimento de *E. coli*, *P. aeruginosa* e *S. epidermidis*, enquanto que nesta mesma concentração a ropivacaína não tem o mesmo efeito. E também, que mesmo na concentração de 0,938 mg/ml a bupivacaína tem um efeito inibitório no crescimento das cepas *P. aeruginosa*, *S.*

epidermidis, *S. pyogenes*. Desta forma, Pere e colaboradores, baseados em seus dados e em descrições prévias da literatura, discutem que os diferentes efeitos da ropivacaína e da bupivacaína podem estar relacionados com uma pequena diferença em suas estruturas moleculares (grupos alquila): para a ropivacaína o grupo alquila é $-C_3H_7$ e para a bupivacaína é $-C_4H_9$, estando portanto relacionados com a hidrofobicidade de cada composto (Pere *et al.*, 1999).

Araki e colaboradores (Araki *et al.*, 2005) em um estudo com uma série de mutantes de *Saccharomyces cerevisiae* hipersensíveis à tetracaína, determinaram que para a cepa selvagem W303, o valor da concentração de tetracaína que reduz o crescimento destas células em 50% (IC_{50}) foi de 1 mM em meio YPD líquido. Este trabalho também descreve que a concentração mínima de tetracaína capaz de inibir o crescimento da cepa W303 é de 2 mM em meio YPD sólido ou de 4 mM em meio YPD líquido.

Alguns poucos estudos atribuem o mecanismo de ação de atividade antimicrobiana de anestésicos locais à ruptura da permeabilidade da membrana da célula microbiana, alterando a fluidez, levando a perda de componentes celulares e morte das células (Johnson *et al.*, 2008; Sakuragi *et al.*, 1998; Schmitt & Tampe, 2002).

1.3 Relações quantitativas entre estrutura química e atividade biológica, QSAR.

1.3.1. Histórico

Os cientistas no decorrer de suas investigações realizaram muitos esforços para compreender a relação entre determinada substância e o efeito biológico apresentado por ela. No século XV, baseando-se em suas observações Paracelsus afirmou que “a dose faz o veneno”, constatando que a dose era tão importante quanto à natureza da substância.

Na metade do século XIX, Crum-Brown e Fraser expressaram a idéia de que a ação fisiológica de uma substância era uma função de sua composição química (Crum Brown & Fraser, 1868). Mais tarde, Richet estabeleceu que a citotoxicidade de alguns compostos orgânicos (éter etílico, álcool etílico, álcool amílico) era inversamente relacionada com a solubilidade dos mesmos em água (Franke & Gruska, 2003; Kubinyi, 1993; Selassie, 2003).

No início do século XX, Meyer e Overton estabeleceram, em trabalhos independentes, a relação entre a atividade narcótica (depressiva) e a partição óleo/água de substâncias como éteres, álcoois e cetonas (Kubinyi, 1993; Pliska *et al.*, 1996; Yamagami *et al.*, 2002).

Em 1937, Hammett descreveu a reatividade de derivados de ácidos benzóicos *meta*- e *para*-substituídos, expressos pelos valores da constante de velocidade (k) ou de equilíbrio (K), onde k_X e k_H

são as constantes de reações dos ácidos benzóicos substituídos e não-substituído, respectivamente, enquanto K_X e K_H representam a constante de ionização para o ácido substituído e o ácido não-substituído, respectivamente, (eq. I.3.1.1).

$$\log(K_X / K_H) \quad \text{ou} \quad \log(k_X / k_H) = \rho\sigma \quad (\text{eq. I.3.1.1})$$

Dois parâmetros que resultam do estudo de Hammett são a constante do substituinte, σ , e a constante da reação, ρ . O valor de σ é positivo quando os substituintes são atraentes de elétrons e negativo quando são doadores de elétrons. A constante da reação, ρ , mede a suscetibilidade da reação ao efeito de substituinte. O valor de ρ é positivo quando a reação é favorecida por grupos que atraem elétrons e negativo quando a reação é favorecida por grupos que doam elétrons (Bastos-Ceneviva, 1984; Hansch & Selassie, 2007).

O início da abordagem de QSAR, sigla em inglês para *Relações Quantitativas entre Estrutura química e Atividade Biológica*, ocorreu em 1964, através da primeira publicação de Hansch e Fujita “*Análise ρ - σ - π . A method for the correlation of biological activity and chemical structure*”, e da segunda por Free e Wilson “*A mathematical contribution to structure activity studies*” (Hansch & Fujita, 1964; Kubinyi, 1993).

Entre os estudos acima citados a Análise de Hansch é o método mais amplamente usado. Este também é conhecido como abordagem extratermodinâmica ou, da relação linear de energia livre. Esta abordagem é aplicada utilizando-se regressão linear simples, ou múltipla, relacionando a atividade biológica com os valores das diferentes propriedades físico-químicas apresentadas por séries congêneres de compostos.

Baseando-se no modelo proposto por Hammett, Hansch (Hansch & Fujita, 1964) introduziu o conceito do coeficiente de partição no estudo da correlação entre a atividade biológica de série de ácidos fenoxiacéticos, descrita inicialmente somente pela constante de substituintes de Hammett. Assim, utilizando o sistema de partição octanol-água, uma série de valores de coeficiente de partição foram obtidos e uma nova escala hidrofóbica π foi introduzida como descritor da atividade biológica. O parâmetro π , que é o valor relativo a hidrofobicidade do substituinte, foi definido de modo análogo ao parâmetro σ de Hammett (eq. I.3.1.2).

$$\pi_X = \log P_X - \log P_H \quad (\text{eq. I.3.1.2})$$

onde $\log P_X$ e $\log P_H$ representam os valores do coeficiente de partição do derivado substituído e do não - substituído, respectivamente (Kubinyi, 1993; Selassie, 2003).

Hansch e colaboradores (Hansch & Fujita, 1964) estabeleceram que a atividade biológica de um determinado composto pode ser descrita pelo mesmo formalismo usado de relações lineares de energia livre na química orgânica. Assim, a atividade biológica expressa na forma logarítmica foi correlacionada com os valores de diferentes parâmetros físico-químicos (**eq. I.3.1.3**).

Além de introduzir o termo hidrofóbico $\log P$, o modelo proposto por Hansch (**eq. I.3.1.3**), considera que dentro de uma série análoga, os valores das constantes dos substituintes, respectivamente, $\log P$, σ e E_s podem ser usadas para explicar a variação da atividade biológica observada nesta série de compostos.

$$\log 1/[C] = a\log P + b\sigma + cE_s + \text{constante} \quad (\text{eq. I.3.1.3})$$

onde:

$\log 1/[C]$ é o logaritmo da atividade biológica ou resposta biológica

$[C]$ é a concentração do composto, mol/L.

$\log P$, σ , E_s , são parâmetros físico-químicos que expressam as interações, respectivamente, hidrofóbicas, eletrônicas e estéricas, responsáveis pela atividade biológica.

a , b , c , são os coeficientes que expressam as contribuições relativas de cada parâmetro ($\log P$, σ , E_s , respectivamente).

A utilidade do modelo de Hansch tem sido demonstrada em vários sistemas biológicos que envolvem desde interações de compostos com sistemas isolados por exemplo, receptores, até interações com animal *in vivo*.

I.3.2. Modelos QSAR

O estabelecimento de relações quantitativas entre a estrutura química e a atividade, assume que a atividade biológica possa ser relacionada com a mudança de energia livre (ΔG) envolvida na interação fármaco-receptor (Fujita, 1990; Kubinyi, 1993). Essa variação de energia livre pode ser decomposta em termos independentes e aditivos relacionados com as variações de energia livre associadas, respectivamente aos termos de naturezas eletrônica, lipofílica, estérica e de dispersão (Fujita, 1990; Kubinyi, 1993).

Abordagem extratermodinâmica

O modelo proposto por Hansch e Fujita (Hansch & Fujita, 1964), também conhecido por abordagem extratermodinâmica (Fujita, 1990; Kubinyi, 1993), correlaciona através de relações lineares, lineares múltiplas e não-lineares, a atividade biológica com os parâmetros físico-químicos de um composto.

Modelo Linear

O modelo proposto por Hansch e Fujita (Hansch & Fujita, 1964), também conhecido por modelo extratermodinâmico (Fujita, 1990; Kubinyi, 1993), correlaciona através de relações lineares, lineares múltiplas e não-lineares, a atividade biológica com os parâmetros físico-químicos. Neste modelo a atividade biológica é expressa pela somatória das contribuições individuais de parâmetros físico-químicos, entre eles: hidrofóbicos, eletrônicos, estéricos e de dispersão relativos ao substituinte ou a molécula toda. Este modelo é representado pela **Equação I.3.2.1**.

$$\log 1/C = a\pi + \rho\sigma + cE_s + r \quad (\text{eq. I.3.2.1})$$

em que: **log 1/C** é a resposta biológica do composto.

π é o parâmetro de hidrofobicidade de Hansch-Fujita.

σ é a constante de Hammett, expressa o efeito eletrônico o grupo substituinte.

E_s é o parâmetro estérico de Taft.

a, ρ , c medem a influência de cada parâmetro sobre a resposta biológica (coeficiente determinado pela análise de regressão).

C é a concentração molar utilizada no ensaio biológico.

r é uma constante.

Sabe-se que a atividade biológica não aumenta infinitamente com o aumento da hidrofobicidade dos compostos (Fujita, 1990; Kubinyi, 1993). Moléculas que apresentam alta lipossolubilidade ou hidrossolubilidade não são capazes de atravessar as barreiras, respectivamente lipídicas ou hidrofílicas da membrana celular. Como consequência há uma baixa probabilidade de se atingir o receptor. No entanto, moléculas, com valores intermediários de $\log P$ tendem a chegar ao receptor com maior facilidade (Kubinyi, 1993).

Em séries homólogas apresentando grande variação de lipofilicidade, a atividade biológica, tendo atingido o seu máximo, sofre um rápido decaimento à medida que número de átomos de carbono

aumenta (Kubinyi, 1993). Por esta razão, o modelo linear de Hansch (Hansch & Fujita, 1964) apresenta limitações em relação à sua aplicabilidade em diferentes sistemas biológicos (Kubinyi, 1979).

Modelo Parabólico

O primeiro modelo matemático descrevendo a dependência não-linear da atividade biológica em função dos parâmetros físico-químicos foi também proposto por Hansch-Fujita (Hansch & Fujita, 1964).

Estes autores se basearam nos conceitos de absorção e distribuição de compostos no sistema biológico. Verificaram que o aumento do número de carbono em uma cadeia carbônica e, como consequência, o aumento da lipossolubilidade, tinha como correspondência um aumento da atividade biológica, até certo limite máximo, onde a partir deste valor observava-se um decréscimo na atividade biológica (Hansch & Fujita, 1964).

Hansch (Hansch & Fujita, 1964) verificou que colocando em um gráfico, a atividade biológica em função da lipossolubilidade obtém-se uma curva. O perfil da curva obtida se aproximava a uma parábola. Propuseram, então, que a atividade biológica podia ser expressa em função do quadrado do termo que representa o efeito hidrofóbico destes compostos (Fujita, 1990).

Apesar da grande influência da lipossolubilidade sobre a atividade biológica, Hansch e Fujita (Hansch & Fujita, 1964) verificaram que outros parâmetros também podiam contribuir para a atividade. Foram, então, introduzidos e considerados os efeitos eletrônico e estérico na sua equação original (Hansch & Fujita, 1964), resultando a **equação I.3.2.2**.

$$(\log 1/C = a \pi^2 + b\pi + \rho\sigma + cES + r) \quad (\text{eq. I.3.2.2})$$

Em que: **log 1/C** é a resposta biológica do composto.

π é parâmetro de hidrofobicidade de Hansch.

σ é a constante de grupo de Hammett, efeito eletrônico.

ES é o parâmetro estérico de Taft.

a, b, ρ , c medem as contribuições de cada parâmetro para a resposta biológica.

C é a concentração utilizada no teste biológico.

r é uma constante.

Posteriormente, foi verificado que a atividade biológica não era determinada somente pelos efeitos lipofílico, eletrônico e estérico. Assim, para expressar o sistema complexo biológico, havia a necessidade de acrescentar ao modelo, outros parâmetros, como a refratividade molar. Adicionalmente, o efeito eletrônico podia ser desmembrado em efeitos indutivo e de ressonância bem como um indicador de variável podia ser introduzido e acrescentado à equação. Desta forma pode-se, de modo mais significativo, descrever a dependência dos parâmetros físico-químicos com relação a atividade biológica (Kubinyi, 1993).

O modelo parabólico é o mais utilizado e o mais simples que o modelo não-linear que descreve a atividade biológica em função de propriedades físico-químicas de compostos biologicamente ativos (Fujita, 1990; Kubinyi, 1993).

Observou-se, no entanto, que as partes ascendentes e descendentes das curvas obtidas, se assemelham ao modelo linear de Hansch. Embora pequeno, o afastamento entre a curva teórica e os pontos experimentais, motivou a proposição de um novo modelo na tentativa de descrever mais adequadamente as relações quantitativas entre a estrutura química e a atividade de compostos biologicamente ativos (Kubinyi, 1993).

Modelo Bilinear

Em busca de um modelo matemático que melhor expressasse a relação atividade biológica em função dos parâmetros físico-químicos, verificou-se que o modelo parabólico não descrevia vários sistemas. Assim, observou-se que o aumento de um átomo carbono na cadeia metilênica provocava uma resposta linear até um limite máximo. A partir deste valor o aumento da lipofilicidade provocava uma queda linear na resposta biológica.

McFarland usou um modelo multicompartimentado definindo a probabilidade de um determinado fármaco alcançar o alvo no meio biológico (McFarland, 1970). Este autor considerou que o transporte do fármaco de uma fase aquosa para outra lipídica ocorre com velocidades constantes, em condições próximas ao equilíbrio. Baseado neste modelo, Kubinyi propôs o modelo bilinear expresso pela equação **(eq. I.3.2.3)** onde β representa a relação dos volumes das fases lipídica e aquosa. A curva tem uma inclinação ascendente, a e uma descendente, $b-a$, sendo b maior do que a . O modelo bilinear proposto por Kubinyi **(eq. I.3.2.3)** descreve a dependência não-linear da atividade biológica em função da lipofilicidade. Este modelo tem sido mais preciso do que o modelo parabólico (Fujita, 1990).

$$\log 1/[C] = a \log P - b \log(\beta.P+1) + c \quad \text{(eq. I.3.2.3)}$$

onde:

$\log 1/[C]$ é o logaritmo da atividade biológica

β representa a razão dos volumes das fases lipídica e aquosa.

a , b são os valores dos coeficientes que expressam as contribuições relativas ao parâmetro $(\log P)$

c é o valor do coeficiente linear da função matemática envolvida na resposta biológica

Nos últimos anos, o modelo bilinear tem sido usado em QSAR não somente com parâmetros hidrofóbicos mas também com outros parâmetros como pK_a e refratividade molar (Hansch & Selassie, 2007).

Entre as desvantagens do modelo bilinear estão: o ajuste de mais variáveis do que o parabólico e a complexidade da análise de regressão (Fujita, 1990).

Modelo de Free-Wilson

A abordagem de Free-Wilson está baseada na contribuição de cada fragmento para a atividade biológica. A atividade biológica neste modelo é a somatória das contribuições de cada grupo substituinte da molécula. Visando diminuir a limitação do modelo, este foi modificado por Fujita–Ban (Fujita, 1990). Assim, o uso de um composto de referência e a expressão da atividade em escala logarítmica, relacionado-a a energia livre, eliminaram algumas restrições desta abordagem.

O modelo de Free-Wilson é expresso pela equação (eq. I.3.2.4), onde $a_i x_j$ é a contribuição de cada grupo do substituinte $a_i x_j$ em um composto de referência (μ).

$$\log 1/[C] = \sum a_i x_j + \mu \quad (\text{eq. I.3.2.4})$$

$\log 1/[C]$ é o logarítmo da atividade biológica ou resposta biológica

$[C]$ é a concentração do composto, mol/L.

a_i corresponde à contribuição do i -ésimo substituinte na atividade biológica.

x_j representa o substituinte na posição j , assume presença de $x_j = 1$ e na ausência $x_j = 0$

μ , corresponde à média das atividades biológicas de todos os substituintes presentes no composto de referência.

Abordagem mista de Hansch e Free-Wilson

A análise de Hansch descreve, por meio de parâmetros físico-químicos, o efeito do substituinte sobre a atividade biológica. O modelo de Free-Wilson, por outro lado, descreve a atividade biológica pela contribuição de cada substituinte, sem considerar as propriedades destes. Os dois modelos

podem ser combinados numa abordagem denominada mista através de uma relação linear ou não-linear (Kubinyi, 1993).

Critérios para aplicar a abordagem de Hansch

Unger e Hansch formularam regras para obtenção de modelos que são sumarizadas aqui devido sua validade geral. A proposição do modelo mais significativo em QSAR é feita aplicando-se critérios descritos na literatura, apresentados a seguir (Hansch & Unger, 1973; Hansch & Verma, 2009).

Seleção de variáveis independentes. Uma ampla faixa de diferentes parâmetros, como $\log P$ ou π , σ , MR e parâmetros estéricos, deverão ser testados. Os parâmetros selecionados para a melhor equação deverão ser independentes (*i.e* o valor do coeficiente de intercorrelação (r^2) entre eles deve ser menor que 0,6-0,7), exceções são as combinações de termos lineares e quadráticos, como $(\log P)^2$ e $\log P$, que são usualmente altamente intercorrelacionados, com $r > 0.9$.

Justificar a escolha de variáveis independentes. Todos os parâmetros devem ser validados por um procedimento estatístico apropriado. A validação do modelo é uma parte essencial no desenvolvimento de modelos com predição estatisticamente válidos. Assim, os seguintes critérios devem ser usados para a validação estatística do modelo QSAR (Hansch & Verma, 2009):

- Fração da variância:** A fração da variância de um modelo de regressão linear múltipla é expressa pelo valor de (r^2). O melhor modelo é aquele que tem r^2 mais próximo de 1.
- Teste de validação cruzada:** Os altos valores de Q^2 validam os modelos de QSAR. O melhor modelo de predição deve ter $Q^2 > 0,5$. Segundo alguns autores (Dearden & Cronin, 2006) o valor de ($r^2 - Q^2$) não deve exceder 0,3.
- **Desvio padrão (s):** O melhor modelo de QSAR deve apresentar o menor desvio.
- Fator de Qualidade (Q):** Correlações ao acaso devido ao excessivo número de parâmetros que aumenta também os valores de r e s .
- Teste de Fischer (F):** O maior valor de F indica uma maior significância no nível de 95% de confiança portanto quanto maior o valor de F maior probabilidade do modelo ser estatisticamente válido (Hansch & Verma, 2009).

Havendo mais de uma equação com mesmo nível de confiança estatística, a mais simples, com menos parâmetros deve ser escolhida.

Número de termos. No modelo, deve-se ter no mínimo 5 ou 6 dados por variável para se evitar correlações ao acaso (esta regra somente se aplica a conjunto de dados de tamanho

intermediário). Para grandes conjuntos de dados por exemplo onde $n > 30$, esta recomendação leva a equações que incluem muitas variáveis.

Modelo Qualitativo. É importante ter um modelo qualitativo que seja consistente com os processos físico-químicos e bioquímicos envolvidos (Kubinyi, 1993)

I.3.3. Principais Interações entre o ligante e o receptor

As interações entre um composto químico (denominado Ligante) e seu alvo biológico (denominado receptor) são determinadas por diferentes fatores. Para o entendimento deste processo deve-se considerar que as duas espécies, o ligante e o receptor, devem se aproximar o suficiente para interagir. Adicionalmente, devem-se considerar tanto as propriedades físico-químicas do ligante que são importantes para que o ligante atravesse os diversos compartimentos celulares e alcance o alvo biológico de interesse, desencadeando a resposta biológica, bem como o mecanismo do transporte para o receptor, podendo este envolver difusão e transporte ativo do fármaco, incluindo a interação deste com proteínas de transporte ou proteínas de membrana (Andrews *et al.*, 1984; Kubinyi, 1993; Motiejunas & Wade, 2007; Selassie, 2003).

Estando o ligante e o receptor próximos, o primeiro pode difundir até se encaixar no sítio de ligação do receptor. Nesta etapa, o reconhecimento ocorre através das interações entre ambos. Na literatura é descrito que este pode ser primeiramente mediado por interações de diversas naturezas, tais como interações eletrostáticas, ligações de hidrogênio e interações de van der Waals. A importância de cada termo varia caso a caso (Motiejunas & Wade, 2007). Ao se aproximarem, o ligante e o receptor promovem o deslocamento das moléculas de água de suas superfícies, embora algumas destas moléculas de água possam ser retidas na interface podendo influenciar a especificidade da interação. A interação entre o ligante e o receptor também é acompanhada de mudanças conformacionais modestas (Andrews *et al.*, 1984; Kubinyi, 1993; Motiejunas & Wade, 2007; Selassie, 2003).

No sistema biológico, a maioria das interações entre ligante e o receptor é constituída por uma combinação de vários tipos de interações, muitas das quais são reversíveis sob condições fisiológicas (Kubinyi, 1993; Motiejunas & Wade, 2007; Selassie, 2003). Exemplos de vários tipos destas interações estão apresentadas na **Tabela I.3.3.1** e discutidas a seguir.

As **interações eletrostáticas** importantes para as interações entre ligante-receptor podem ser, respectivamente, do tipo íon-íon; dipolo-dipolo; ligação de hidrogênio; transferência de carga e, dipolo-dipolo induzido. A intensidade das interações eletrostáticas depende tanto do valor da constante dielétrica do meio quanto da geometria e das distâncias envolvidas entre as moléculas do ligante e do receptor.

As **ligações covalentes** não são tão importantes nas interações entre o fármaco-receptor como as interações não covalentes. Os tipos de ligações de caráter covalente, são muitas das vezes indesejadas para a resposta biológica. Por exemplo agentes alquilantes empregados na quimioterapia tendem a reagir e formar um íon imônio, o qual então alquila proteínas, impedindo sua participação normal no processo de divisão celular (Selassie, 2003).

As **Interações iônicas** ocorrem entre íons de cargas opostas e tendem a diminuir com a distância. A força de uma interação iônica é diretamente dependente da natureza de cada íon e inversamente dependente da constante dielétrica do solvente e da distância entre as cargas.

Tabela I.3.3.1 Principais interações e energias envolvidas nas interações entre ligante e o receptor.

Tipo de interação	Energia de interação kJ/ mol	exemplo	Tipos de interação	Energia de interação kJ/mol	exemplo
Covalente	170-460	Me-OH	Ligação de hidrogênio	4-17	
Iônica	40	$\text{—NH}_3^+ \text{—O}_2\text{C}^-$	Transf. de carga	4-17	
íon-dipolo	4-17	$\text{—NH}_3^+ \text{—O=C}$	hidrofóbica	4	
Dipolo-dipolo	4-17		van der Waals	2-4	CH ₃ -CH ₃

Andrews, 1990

Ligações de hidrogênio são comuns e importantes para a estrutura e interações de proteínas. Entre o ligante e o receptor a ligação de hidrogênio é muito importante e a sua ocorrência somente acontece se esta for uma ligação realmente favorecida (Motiejunas & Wade, 2007; Selassie, 2003).

Ligações de hidrogênio são forças que se baseiam em interações eletrostáticas entre os elétrons não ligados de um heteroátomo (O, S, N) e o átomo de hidrogênio deficientes de elétrons de

um grupo (OH, NH, SH). Ligações de hidrogênio são direcionais e dependem do grau de solvatação, com energia variando na faixa de 4-17 kJ/mol. Ligações de hidrogênio são importantes porque elas são estáveis bastante para fornecer interação significativa mas fraca o suficiente para permitir a rápida dissociação.

A maior eletronegatividade dos átomos tais como oxigênio, nitrogênio, enxofre e halogênio comparada a do carbono faz com que as ligações entre estes átomos tenha uma distribuição assimétrica dos elétrons, que resulta na geração de dipolos na molécula (Selassie, 2003). A energia da interação dipolo-dipolo pode ser descrita pela equação I.3.3.1.

$$E = 2\mu_1\mu_2\cos\theta_1\cos\theta_2/D^3 \quad (\text{eq. I.3.3.1})$$

onde:

- μ é o momento de dipolo;
- θ é ângulo entre os dois pólos do dipolo;
- D é a constante dielétrica do meio e,
- r é a distância entre as cargas envolvidas no dipolo.

As interações indutivas, como já descrito em trabalhos anteriores do grupo (Malvezzi, 2003; Pires, 1998), ocorrem tanto entre grupos carregados ou polares, como não-polares, mas polarizáveis. A aproximação do grupo carregado ou polar causa a formação de um dipolo induzido no grupo polarizável. A natureza desta interação é sempre atrativa (Pires, 1998).

Forças de dispersão de London/van der Waals são forças entre dipolo-induzido entre átomos que mantêm moléculas apolares juntas em fase líquida. Estas são forças atrativas oriundas de dipolos instantâneos, não permanentes, causados pelo movimento eletrônico em grupos polares (Pires, 1998). Estas forças de van der Waals operam a uma distância de 0,4-0,6nm e exercem uma força atrativa de 2-4 kJ/mol. Embora, a contribuição individual das interações de van der Waals seja pequena (de baixa energia), estas interações se tornam significativas e aditivas quando se somam numa grande superfície com contatos curtos entre os átomos (Selassie, 2003).

As interações não polares de natureza estérica são as **forças de London** ou **van der Waals**. Esta forças de repulsão ocorrem quando se tenta aproximar átomos à distâncias menores do que a soma dos seus raios de van der Waals. O equilíbrio entre as forças de dispersão de London (atrativas) e de repulsão estérica é expresso pelo potencial de Lennard-Jones e este controla a aproximação máxima de dois grupos apolares (Pires, 1998).

A interação hidrofóbica entre um composto (ligante) e o receptor é o fator mais importante que fornece a direção para interações não covalentes em solução aquosa, principalmente em grande áreas hidrofóbicas (Kubinyi, 1993). As interações hidrofóbicas são de natureza predominantemente entrópica. Estas advêm do fato de que no estado em que o complexo ligante-receptor está dissociado no meio biológico, as moléculas de água têm de se desorganizar ao redor das superfícies do ligante e do receptor, mesmo que estas sejam de natureza apolar. Embora esta seja a visão geralmente aceita sobre interação hidrofóbica, o exato mecanismo da interação hidrofóbica tem estado em debate por muitas décadas e todos os detalhes ainda não estão entendidos (Caron *et al.*, 2007; Motiejunas & Wade, 2007).

Como discutido anteriormente em teses de doutorado defendidas no grupo (Malvezzi, 2003; Pires, 1998) a intensidade da interação entre o composto e o receptor na formação do complexo (ligante-receptor) depende das complementariedades estérica e eletrostáticas destes (Kubinyi, 1993; Pires, 1998). Cabe à QSAR explicar a afinidade observada por diferentes ligantes expressas, por exemplo, por K_m ; K_i ; IC_{50} ; DL_{50} e ΔG e, a seguir, poder prever a afinidade de outros compostos (ligantes) ainda não estudados.

Para tanto, deve-se considerar que uma reação espontânea ocorre quando ΔG torna-se negativo e que a variação de ΔG está diretamente relacionada a constante de equilíbrio K_{eq} através da equação: ($\Delta G^\circ = -2,3RT \log K$; onde ΔG = representa a variação da energia livre r ; R = é a constante universal dos gases; T = temperatura (em graus Kelvin) e $\log K$ é a constante de equilíbrio da interação (ligante –receptor)

A variação de energia livre (ΔG) resultante da interação entre o ligante e o receptor é a somatória das variações de energia associadas às interações, respectivamente, eletrostáticas e indutivas, não polares e hidrofóbicas, menos o termo de energia associado à variações de entropia, que ocorrem na formação do complexo entre as duas moléculas e as moléculas do solvente (Andrews *et al.*, 1984; Malvezzi, 2003; Pires, 1998).

A **Figura I.3.3.1** apresenta esquematicamente os fatores entrópicos e entálpicos envolvidos na formação do complexo composto(ligante)-receptor (Andrews *et al.*, 1984).

As interações eletrostáticas entre o ligante e o receptor, representada na **Figura I.3.3.1**, pelos termos ΔH_{L-A} e ΔH_{R-A} , são energias entálpicas necessárias para a dessolvatação, quando ambos o ligante e o receptor estão dissociados.

Os termos representados por ΔS_{rt} e ΔS_{int} são as energias de interações entrópicas, representadas pelos termos ΔS na **Figura I.3.3.1**, que precisam ser fornecidas devido às perdas de

graus de liberdade de rotação, translação e às de perdas de flexibilidade relativas a energia pelo termo ΔS_{int} .

Estas energias entálpicas necessárias para dessolvatar e as energias entrópicas para reporem as energias de perda de grau de liberdade rotacionais, translacionais e conformacionais (ΔS_{rt} e ΔS_{int}) são desfavoráveis para a formação do complexo. Essas energias entrópicas desfavoráveis são compensadas pelo aumento de energia de entropia relativa ao termo $\Delta S_{\text{H}_2\text{O}}$. As moléculas que circundam a superfície hidrofóbica tanto das moléculas do ligante quanto a do receptor estão fracamente associadas. Elas tem um certo grau de ordem e estão, portanto, em um estado entrópico desfavorável.

A associação de áreas hidrofóbicas de um ligante e seus sítios de ligação leva a uma liberação das moléculas de água ordenadas de suas superfícies. O deslocamento das moléculas de água de ambos, causa um aumento da energia entrópica pelas moléculas de água, menos ordenadas, resultando em uma energia que é favorável para a formação do complexo que é diretamente proporcional às interações hidrofóbicas entre as duas moléculas do ligante e do receptor (Andrews *et al.*, 1984; Kubinyi, 1993; Malvezzi, 2003; Pires, 1998).

O termo $\Delta H_{\text{L-R}}$ representa as energias relativas às interações eletrostáticas e indutivas do complexo ligante-receptor. Após o complexo ter se formado, uma contribuição de energia entrópica (ΔS_{v}) favorável ocorre pela baixa frequência de vibração da interação entre ligante-receptor (Malvezzi, 2003; Pires, 1998).

Resumidamente, a formação do complexo ligante-receptor resulta do balanço das interações eletrostáticas e hidrofóbicas favoráveis menos as contribuições desfavoráveis de naturezas entrópica rotacional, translacional e conformacional. Entretanto, o aumento da energia entrópica devido a desorganização das moléculas para a interação é favorável (Andrews *et al.*, 1984; Kubinyi, 1993; Motiejunas & Wade, 2007).

Figura I.3.3.1. Interações entre composto-receptor descrita por Andrews (Andrews *et al.*, 1984). Neste modelo, ΔH_{L-A} e ΔH_{R-A} são as entalpias de hidratação do ligante e o receptor, respectivamente. ΔH_{L-R} é a contribuição da entalpia da interação entre o composto e receptor, ΔS_{rot} é a entropia total rotacional e translacional e ΔS_{conf} a entropia rotacional interna da droga livre. ΔS_A é o aumento em entropia devido à liberação de moléculas de água (pequenos círculos) e ΔS_{vib} é a entropia residual de vibração do complexo ligante-receptor.

Na abordagem de Hansch, as interações entre o ligante e o receptor são expressas através das propriedades físico-químicas/estruturais, sendo estas de natureza eletrônica, lipofílica e relativas à refratividade molar. A **Tabela I.3.3.2** apresenta as principais propriedades responsáveis pelo diversos tipos de interações entre o ligante e o receptor. A seguir serão descritos os parâmetros principais frequentemente usados nas análises de Hansch.

Tabela I.3.3.2. Propriedades moleculares e os tipos de interações correspondentes.

Propriedade molecular	Tipo de interação
Hidrofobicidade	Hidrofóbica
Polarizabilidade	Van der Waals
Polaridade	Iônica, dipolo-dipolo, ponte de hidrogênio, transferência de carga
Topologia	Estérica

I.3.4. Parâmetros Físico-Químicos/Estruturais

I.3.4.1. Parâmetros eletrônicos

As interações polares entre o ligante e o receptor são importantes, o efeito polar do grupo substituinte na atividade biológica pode ser estudada por parâmetros eletrônicos. A constante

eletrônica do substituinte mais usada em QSAR é a constante de grupo σ , definida por Hammett (Hammett, 1937). Esta descreve o efeito eletrônico transmitido pelo grupo substituinte tendo sido definida para a ionização de ácidos benzóicos *meta* e *para*-substituídos, em água a 25°C (eq. I.3.4.1.1).

$$\sigma = \log K_X - \log K_H \quad (\text{eq. I.3.4.1.1})$$

onde;

σ é a constante do grupo substituinte, relativa ao efeito eletrônico

K_X é a constante de ionização do ácido benzóico X -substituído

K_H é a constante de ionização para o correspondente ácido benzóico não- substituído

Grupos doadores de elétrons diminuem o valor da constante de dissociação do ácido benzóico substituído quando comparado com o ácido benzóico não-substituído e desta forma para estes substituintes tem-se $\sigma < 0$. De modo contrário grupos que retiram elétrons, quando comparado com o Hidrogênio tem $\sigma > 0$.

Hammett observou uma correlação linear entre os valores da constante de equilíbrio da ionização (K_H) do ácido benzóico não-substituído com os da constante de equilíbrio da ionização de ácidos benzóicos substituídos nas posições *meta* ou *para* (representados como K_X) (eq. I.3.4.1.2). Correlação análoga foi observada para os valores da constante de velocidade (k_X) (eq. I.3.4.1.3).

$$\log K_X = \rho \sigma + \log K_H \quad (\text{eq. I.3.4.1.2})$$

$$\log k_X = \rho \sigma + \log k_H \quad (\text{eq. I.3.4.1.3})$$

onde:

K representa o valor da constante de equilíbrio

k_X representa o valor da constante de velocidade

ρ é o valor da constante de reação

Na equação de Hamett, o termo ρ , a constante da reação, mede a suscetibilidade da reação ao efeito do substituinte. Um valor positivo indica que a reação é favorecida por grupos que são aceptores de elétrons enquanto que se ρ for negativo a reação é favorecida por grupos que doam elétrons. Assim, quanto maior for o valor de ρ maior a suscetibilidade da reação ao efeito do grupo substituinte. O efeito exercido pelo substituinte irá depender do sistema que foi definido. Assim, várias coletâneas de constantes σ surgiram, como por exemplo, σ_I ; σ_R ; σ^+ e σ^- .

Taft e Lewis (Taft Jr & Lewis, 1959) foram os primeiros a fatorar os parâmetros σ_I e σ_R em seus componentes efeitos (indutivos e de ressonância), esta proposta torna possível analisar as contribuições relativas dos efeitos separadamente.

A proliferação de várias escalas de σ levaram Swain e Lupton (Swain *et al.*, 1968) a desenvolver constantes eletrônicas $\mathfrak{S}$ (campo) e $\mathfrak{R}$ (ressonância) combinadas de modo linear, onde f e r são as sensibilidades empíricas de cada reação, expressa pela equação (eq. I.3.4.1.4)

$$\sigma = f\mathfrak{S} + r\mathfrak{R} \quad (\text{eq. I.3.4.1.4})$$

Swain e Lupton assumiram que na dissociação dos ácidos biciclo (2,2,2)-octano-carboxílico 4-substituído ocorre a falta de ressonância ($r = 0$), e o substituinte $N^+(CH_3)_3$ teria $\mathfrak{R} = 0$. Entretanto, eles falharam em normalizar as constantes $\mathfrak{S}$ e $\mathfrak{R}$ de acordo com o sistema de ionização do ácido benzóico a 25°C. Hansch, Leo e Taft redefiniram de forma mais consistente e obtiveram as seguintes relações descritas pelas equações (eq. I.3.4.1.5) e (eq. I.3.4.1.6).

$$\mathfrak{S} = \sigma_I = 1,297 \sigma_m - 0,385 \sigma_p + 0,033 \quad (\text{eq. I.3.4.1.5})$$

$$\mathfrak{R} = \sigma_p - 0,921\mathfrak{S} \quad (\text{eq. I.3.4.1.6})$$

Adicionalmente, parâmetros experimentais obtidos por técnicas espectroscópicas ($\nu_{C=O}$; valores da posição da banda de absorção do grupo carbonila na região do Infra-Vermelho) e ($\delta^{13}C=O$, valores do deslocamento químico do carbono carbonílico) podem ser utilizados em estudos de QSAR como parâmetros eletrônicos na descrição do efeito eletrônico exercido pelo substituinte (Kubinyi, 1993; Amaral *et al.*, 1997). Além destes, também dados obtidos por cálculos de energia do orbital molecular (E_{HOMO}) e (E_{LUMO}), energias de ligações de hidrogênio são frequentemente muito importantes interações no meio biológico.

I.3.4.2. Parâmetro hidrofóbico

Desde muitos anos, a hidrofobicidade é reconhecida como um parâmetro importante no estudo de relação quantitativa entre a estrutura química e a atividade biológica (QSAR) bem como para descrever as propriedades do ADMET (Absorção, Distribuição, Metabolismo, Excreção e Toxicidade) (Caron *et al.*, 2007; Lipinski *et al.*, 1997). É uma propriedade físico-química importante, sendo uma das mais informativas e a mais bem sucedida em química medicinal.

A lipoflicidade é uma propriedade que representa a afinidade de uma molécula por uma fase orgânica (apolar) em relação à fase aquosa (polar).

A hidrofobicidade de determinado composto pode ser expressa pelo seu coeficiente de partição ($\log P$), que é a razão entre as concentrações de uma determinada substância (**eq. I.3.4.2.1**), **C**, em condições de equilíbrio, entre duas fases, uma orgânica e a outra aquosa (Caron *et al.*, 2007).

$$P = \frac{[C]^{\text{org}}}{[C]^{\text{aq}}} \quad (\text{eq. I.3.4.2.1})$$

onde:

P é o valor da razão dentre as concentrações no equilíbrio do composto **C**, entre uma fase orgânica e outra aquosa.

[C]^{org} é a concentração do composto **C** na fase orgânica.

[C]^{aq} é a concentração do composto **C** na fase aquosa.

Diferentes sistemas bifásicos de solvente/água (isobutanol, *n*-dodecano, ciclohexano, etc) foram utilizados em estudos de solubilidade bem como em estudos de relação entre a estrutura e a atividade de compostos orgânicos (Franke & Gruska, 2003; Kubinyi, 1993; Selassie, 2003). Entretanto, *n*-octanol tornou-se o solvente orgânico de escolha no uso de sistema de partição em meio biológico, após o pioneiro trabalho de QSAR de Hansch (Kubinyi, 1993; Maloney *et al.*, 1962; Selassie, 2003).

O *n*-octanol é o solvente que tem se mostrado mais adequado para uso em **QSAR**, uma vez que é o solvente que apresenta a maior semelhança com a estrutura da membrana celular (composto basicamente de proteínas e lipídeos (Caron *et al.*, 2007; Kubinyi, 1993).

Entre as muitas vantagens do uso do sistema 1-octanol/água para a determinação dos valores do coeficiente de partição em QSAR podemos citar: possui ampla capacidade de dissolução para diferentes compostos químicos, uma vez que apresenta uma longa cadeia de carbono além do grupo hidroxila; não ser volátil à temperatura ambiente; baixa absorção na região do U.V; ser quimicamente estável e disponível comercialmente. Além do exposto, o *n*-octanol, embora seja imiscível com água, tem capacidade de dissolver até 2,3 M de água, nas condições de equilíbrio e apresenta um grupo hidroxila, que pode agir como doador e como receptor na formação de ligações de hidrogênio. Como consequência, as ligações de hidrogênio de uma molécula solvatada não precisam serem quebradas durante sua transferência da fase orgânica para a fase aquosa, fazendo com que se expresse apenas as interações hidrofóbicas.

O grau de hidratação de solventes orgânicos pode afetar a obtenção dos valores de $\log P$ nos experimentos de partição. Um estudo mais recente de difração de raio-X mostra que a estrutura do *n*-octanol em solução aquosa apresenta 4 moléculas de água para 16 de octanol, sugerindo considerável

complexidade na descrição da partição. Os resultados observados estão apresentados na **Figura I.3.4.2.1** (Avdeef, 2001; Franks *et al.*, 1993).

Figura I.3.4.2.1. Esquema representativo da moderna estrutura do n-octanol hidratado, baseada em um estudo de difração de raio-X. Os quatro círculos no centro de cada conjunto representam as moléculas de água. As quatro moléculas de água interligadas por ligações de hidrogênio estão circundadas por 16 moléculas de octanol (somente 12 são mostradas).

Na literatura tem sido propostos, alternativamente, outros sistemas como solventes para simular a partição de um composto no sistema biológico (Caron *et al.*, 2007), entre eles (1) solventes anfipróticos tais como n-octanol; (2) solventes acceptor de ligação de hidrogênio tais como o di-n-butiléter (dbe); (3) solventes doadores de ligação de hidrogênio tais como clorofórmio e (4) solvente inerte apolar aprótico tais como alcanos (Caron *et al.*, 2007)

Collander foi o primeiro pesquisador que mostrou como os valores de $\log P$ determinados em sistemas diferentes solventes orgânicos/ água podem estar linearmente correlacionados (Collander, 1950; Collander, 1951). A equação de Collander está expressa pela **eq I.3.4.2.2**.

$$\log P_1 = a \log P_2 + b \quad (\text{eq. I.3.4.2.2})$$

onde:

$\log P_1$ é o valor do coeficiente de partição do soluto em um determinado sistema de solventes 1.

$\log P_2$ é o valor do coeficiente de partição do mesmo soluto em um outro sistema de solventes 2.

a e b são os valores dos coeficientes de regressão

Esta equação é válida somente quando os solventes orgânicos apresentam propriedades físico-químicas semelhantes, em particular, quanto a capacidade de formar ligações de hidrogênio. Por exemplo, para o sistema di-n-butiléter (**dbe**) observa-se uma correlação significativa (**Figura a**, $n = 70$;

$r=0,92$) entre $\log P_{\text{octanol/água}}$ e $\log P_{\text{dbe/água}}$ (**Figura I.3.4.2.2 - a**). Entretanto, quando 1,2-dicloroetano (**dce**) é usado, um esboço similar de $\log P_{\text{oct}}$ vs $\log P_{\text{dce}}$ do conjunto de pontos de testes se divide em duas linhas (**Figura I.3.4.2.2-b**) devido as propriedades doadoras de hidrogênio dos solutos (Steyaert *et al.*, 1997).

Figura I.3.4.2.2.(a). Valores do coeficiente de partição medidos em *n*-octanol/água ($\log P_{\text{oct}}$) versus dbe/água ($\log P_{\text{dbe}}$). **(b).** Valores do coeficiente de partição medidos em *n*-octanol/água ($\log P_{\text{oct}}$) versus 1,2-dicloroetano/água ($\log P_{\text{dce}}$).

Atualmente, busca-se investigar novos tipos de sistemas de solventes para partição mais similares às membranas do que *n*-octanol. Adicionalmente, procura-se propor métodos rápidos para se obter valores de $\log P$, incluindo-se a contribuição de espécies ionizadas (Caron *et al.*, 2007; Kubinyi, 1993). Os valores do coeficiente de partição de compostos contendo grupos ionizáveis devem ser obtidos considerando o equilíbrio ácido-base na partição (Kubinyi, 1993; Malvezzi, 2003).

Determinação do coeficiente de partição

Os valores do coeficiente de partição de um determinado composto podem ser obtidos experimentalmente ou por cálculo. Ambas as medidas e cálculos podem ser feitas por uma variedade de métodos, a maioria dos quais são simples de se fazer. Especialistas recomendam, se possível, o uso de ambos os procedimentos (Caron & Ermondi, 2009).

Coeficiente de partição obtido por cálculo

O grande número de valores de $\log P$ obtidos experimentalmente são insignificantes comparado ao número de compostos para quais estes dados são necessários. Desta forma, a utilização de métodos de cálculo para estimar o valor de $\log P$ de uma estrutura molecular é altamente desejado. Rekker foi o primeiro a publicar o método para calcular o valor do $\log P$ para moléculas pelo métodos dos fragmentos (Mannhold & Ostermann, 2008).

Estas abordagens, baseadas em subestruturas, cortam as moléculas em fragmentos ou em determinados átomos, somando as contribuições de cada espécie ($\log P$). O valor do coeficiente de

partição é estimado, aplicando-se fatores de correção que consideram as interações intramoleculares entre os átomos das estruturas.

A equação geral utilizada para estimar os valores de $\log P$ pelo método dos fragmentos é expressa pela (eq. I.3.4.2.3). O primeiro termo (f_i) corresponde aos valores das constantes da contribuição do fragmento, sendo (a_i) a frequência que este fragmento ocorre na estrutura. O segundo termo (F_j) considera os valores das contribuições do fator de correção sendo (b_j) sua frequência (eq. I.3.4.2.3).

$$\log P = \sum_{i=1}^n a_i f_i + \sum_{j=1}^m b_j F_j \quad (\text{eq. I.3.4.2.3})$$

Existem vários programas descritos na literatura (Mannhold & Ostermann, 2008), entre eles, os programas CLOGP e ACD/LogP. Estes se baseiam no princípio do construcionismo. Os valores de fragmentos são derivados de medidas de valores de $\log P$ de moléculas simples. O programa CLOGP utiliza a linguagem SMILES e o programa ACD/LogP utiliza a fórmula estrutural como a entrada de dados. No CLOGP a contribuição da ionização para a partição não é considerada, entretanto, tem maior poder de predição do que ACD/LogP, quando os valores obtidos são comparados com os valores experimentais (Machatha & Yalkowsky, 2005).

Os valores de $\log P$ obtidos por cálculo são validados comparando-os com os valores experimentais. Várias destas comparações são descritas na literatura (Machatha & Yalkowsky, 2005; Mannhold & Ostermann, 2008)

Para 284 moléculas ($n=284$) os valores de $\log P$ obtidos experimentalmente (Mannhold & Ostermann, 2008) foram comparados com os correspondentes valores de $\log P$ obtidos pelos programas ClogP e ACD, respectivamente. Nesta análise, constatou-se que o programa CLOGP tem maior poder de predição do que o programa ACD para as séries de compostos estudados.

Coefficiente de partição obtido por método cromatográfico (CLAE ou TLC).

Técnicas cromatográficas de fase reversa em particular cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) e (TLC) cromatografia de camada fina, também podem ser usados na obtenção de descritores da hidrofobicidade de determinado composto.

Estes métodos são uma alternativa para se obter o coeficiente de partição octanol/água. As vantagens destes métodos sobre o método de *shake-flask* são: rapidez, reprodutibilidade, insensibilidade às impurezas ou a produtos de degradação, processo dinâmico, possibilidade de manipulação e detecção de amostras pequenas. São, no entanto, um método indireto, necessitando de

validação do sistema de partição (Amaral *et al.*, 1997; Giaginis & Tsantili-Kakoulidou, 2008; Martel *et al.*, 2008).

Parâmetros cromatográficos, tais como R_M (de cromatografia de camada fina) e o fator de capacidade k' (de CLAE) também podem ser usados como descritores hidrofóbicos. Uma vantagem dos métodos cromatográficos é que eles também podem ser usados para compostos cujo coeficiente de partição são muito difíceis de se obter, tais como surfactantes. Estes, no entanto, podem ser usados somente abaixo de uma determinada faixa de $\log P$ (tipicamente < 5) o que constitui uma desvantagem.

Usualmente expresso na forma logaritmo os valores do coeficiente de partição medidos por CLAE são obtidos, indiretamente, pelos tempos de retenção t_r do composto ou pela distância da migração relativa do soluto R_f , ambos convertidos para o logaritmo do fator de retenção $\log k'$ e R_M , de acordo com as equações (eq. I.3.4.2.4) e (eq. I.3.4.2.5).

$$\log k' = \log[(t_r - t_0) / t_0] \quad (\text{eq. I.3.4.2.4})$$

onde:

t_r é o tempo de retenção do composto

t_0 é o tempo de retenção de um composto que não é retido na fase estacionária

$$R_M = \log(1 / \log R_f - 1) \quad (\text{eq. I.3.4.2.5})$$

onde:

R_M fator de retenção

R_f fator de retenção da distância da migração da frente de solvente pelo soluto.

Em um sistema cromatográfico de fase reversa (isto é, onde a fase móvel é polar e a fase estacionária é apolar), o composto mais lipofílico tem maior interação com a fase estacionária e, conseqüentemente, maior será o tempo de retenção do soluto quando comparado com compostos pouco lipofílicos. De modo inverso, um composto que interage mais com a fase móvel terá um tempo de retenção menor do que o tempo de retenção de um composto lipofílico (Malvezzi, 2003).

Os parâmetros de retenção k' ou R_M podem ser correlacionados a valores de $\log P_{\text{oct}}$ expressos pela equação (eq. I.3.4.2.6)

$$\log P_{\text{oct}} = a \log k' + b \quad (\text{eq. I.3.4.2.6})$$

onde:

$\log P$ é o coeficiente de partição do soluto

$\log k'$ é o fator de retenção do soluto

a, b são constantes de regressão linear

Na prática, os valores de $\log P$ são obtidos a partir de valores de $\log k'$, através da construção de uma curva de calibração do sistema cromatográfico. Essa curva é traçada, determinando-se os valores de k' , de compostos padrões, com os valores conhecidos de $\log P_{\text{oct}}$. Então esta equação é usada para determinar $\log P_{\text{oct}}$ de novos compostos (Malvezzi, 2003; Martel *et al.*, 2008).

Uma das desvantagens do método é a necessidade de construir curvas de calibração, sendo um método indireto, para garantir a validade dos dados. Além disso, não se deve fazer extrapolações para outras séries de compostos, que por sua vez, podem apresentar diferentes interações entre os compostos e a fase estacionária.

Em sistemas de fase reversa, geralmente metanol ou acetonitrila, são solventes orgânicos usados como fase móvel. Embora o fator de retenção obtido em uma composição única de fase móvel possa ser usada como parâmetro lipofílico, seu valor depende do percentual da fase orgânica (Martel *et al.*, 2008)

Tem sido observado que certas concentrações de um soluto pode ser mais retido que outros na fase móvel. Assim, tem sido proposto para sistema da fase reversa que $\log k_w$ (termo para o fator de retenção extrapolado para 100% de água) deve ser obtido por extrapolação de uma série de valores isocráticos de $\log k'$ contra o percentual do solvente orgânica usado na fase móvel. Assim, o valor de $\log k'$ deve ser extrapolado para 100% de água como fase móvel (Giaginis & Tsantili-Kakoulidou, 2008; Martel *et al.*, 2008).

Sabe-se que um fator de retenção não é uma descrição exata do processo de partição, entretanto tem sido encontrado um número aceitável de correlações entre $\log k'$ e $\log P_{\text{oct}}$. Fases estacionárias para a qual apresentam uma inclinação igual a unidade são sistemas promissores para estimar o coeficiente de partição. Uma revisão atual descreve detalhadamente sobre métodos cromatográficos para serem usados como medidas de $\log P$ (Martel *et al.*, 2008).

Coeficiente de partição de compostos ionizáveis

Muitos fármacos são ácidos ou bases fracas. Espécies ionizáveis estão também envolvidas durante o processo do ADMET e existe um esforço na literatura para a compreensão da partição de compostos ionizáveis (Hung, 1980; Kah & Brown, 2008; Kubinyi, 1993).

Para se determinar o valor do coeficiente de partição de moléculas com grupos ionizáveis é necessário se considerar a contribuição da ionização para a partição. O termo $\log P_{\text{app}}$, denominado coeficiente de partição aparente (também chamado de coeficiente de distribuição D) inclui a correção para a ionização (Caron *et al.*, 2007; Kubinyi, 1993). É definido como a razão das concentrações das

espécies ionizada e, não-ionizada, em duas fases uma orgânica e outra aquosa. $\log P_{app}$ é expresso pela equação geral (eq. I.3.4.2.7).

$$\log P_{app} = \frac{[HA]_{org} + [A^-]_{org}}{[HA]_{aq} + [A^-]_{aq}} \quad (\text{eq. I.3.4.2.7})$$

onde:

$\log P_{app}$ é o valor da razão das concentrações no equilíbrio das espécies ionizada (A^-) e não ionizada (HA) distribuídas entre uma fase orgânica e uma fase aquosa.

$[HA]_{org}$ é a concentração da espécie não ionizada dissolvida na fase orgânica

$[HA]_{aq}$ é a concentração da espécie não ionizada dissolvida na fase aquosa

$[A^-]_{org}$ é a concentração da espécie ionizada dissolvida na fase orgânica

$[A^-]_{aq}$ é a concentração da espécie ionizada dissolvida na fase aquosa

Em alguns casos é possível o uso de $\log P_{app}$ sem considerar a contribuição da ionização para a partição, isso pode ocorrer em condições em que a partição das espécies ionizadas não é significativa. Segundo Kubinyi, se a diferença entre as concentrações das espécies não-ionizadas ($[HA]$) for menor do que a razão entre as concentrações das espécies $[A^-]/[HA]$, a espécie ionizada irá contribuir significativamente para a partição (Kubinyi, 1993).

Os valores do coeficiente de partição aparente de compostos ionizáveis dependem das contribuições de todas as espécies presentes, da constante de ionização (pK_a) bem como do valor de pH da solução.

Os equilíbrios envolvidos que ocorrem durante a partição de uma base fraca (B) estão representados a seguir.

Figura I.3.4.2.3. 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.

I.3.4.3. Parâmetro π de Hansch

Hansch e Fujita (Hansch e Fujita, 1964) definiram o parâmetro hidrofóbico π , de modo análogo ao proposto por Hammett para o parâmetro eletrônico, σ , expresso pela **eq. I.3.4.3.1**.

O parâmetro π representa a contribuição hidrofóbica relativa à substituição de um átomo de hidrogênio por um determinado substituinte X.

$$\pi_x = \log P_x - \log P_H \quad (\text{eq. I.3.4.3.1})$$

onde:

π_x é o parâmetro que reflete a contribuição hidrofóbica do grupo substituinte X.

P_x é o valor do coeficiente de partição do composto substituído.

P_H é o valor do coeficiente de partição do composto não substituído (quando X= H).

De acordo com a definição π tem valor zero para o composto não substituído. Assim, grupos substituintes que com valor de $\pi > 0$ aumentam a lipofilicidade da molécula, enquanto $\pi < 0$ diminui a lipofilicidade da molécula.

A utilização da constante π é aplicada para sistemas aromáticos. Desvios foram observados em relação a aditividade e, quando o parâmetro π é aplicado aos sistemas alifáticos leva a erros significativos (Kubinyi, 1993). Rekker, ao investigar o problema da extensão de π para os sistemas alifáticos, formulou um novo sistema de constante hidrofóbica do fragmento f , definida pela equação **(eq. I.3.4.3.2)**. O valor da constante do fragmento f é a medida da contribuição absoluta da lipofilicidade do fragmento do grupo correspondente (Kubinyi, 1993).

$$\log P = \sum a_i f_i \quad (\text{eq. I.3.4.3.2})$$

onde:

a_i indica quanto freqüentemente um dado fragmento ocorre na estrutura

f_i são as contribuições absolutas de substituintes e subestruturas para a lipofilicidade total

A diferença fundamental entre os significados de π e de f é que π se refere a contribuições relativas à substituição do átomo de hidrogênio pelo substituinte X, enquanto que f se refere a contribuições absolutas de substituintes e de sub-estruturas para a lipofilicidade da molécula como um todo. Desta forma, para substituintes em sistemas aromáticos os valores de π e de f são igualmente aplicados, enquanto que para sistemas alifáticos apenas o emprego dos valores de f são utilizados.

I.3.4.4. Parâmetros estéricos

O primeiro parâmetro estérico usado em QSAR foi a constante E_s de Taft. E_s foi definido para a reação de hidrólise do éster substituído em relação a seu análogo metiléster em catálise ácida. Este é expresso pela equação (eq. I.3.4.4.1)

$$E_s = \log(k_X - k_H)_{A.} \quad (\text{eq. I.3.4.4.1})$$

onde:

K_X e k_H representam os valores da constante de velocidade da hidrólise ácida dos ésteres $\text{CH}_3\text{CO}_2\text{R}'$ e $\text{RCO}_2\text{R}'$, respectivamente.

O parâmetro E_s reflete o tamanho do grupo substituinte e está altamente correlacionado com o raio de van der Waals (Franke & Gruska, 2003; Kubinyi, 1993; Selassie, 2003).

Muitos outros parâmetros relacionados com o tamanho e a forma, por exemplo, volumes de Van der Waals, volumes molares, áreas de acesso ao solvente, refratividade molar, parâmetros STERIMOL: L , B_1 , B_2 , B_3 e B_4 , tem sido usado para descrever efeitos estéricos (Franke & Gruska, 2003; Kubinyi, 1993).

I.3.4.5. Parâmetros relacionados à refratividade molar ou polarizabilidade

Forças de dispersão são forças de atração entre átomos de moléculas não polares à curta distâncias. Mesmo moléculas com dipolo não permanente apresentam, devido ao movimento de seus elétrons, momentos de dipolos locais (Kubinyi, 1993). Estes induzem dipolos em outras moléculas, levando a flutuação das atrações eletrostáticas. Em distâncias menores aparecem forças repulsivas devido à superposição, não favorável, das esferas de van der Waals de ambas as moléculas. Estas relações são tipicamente descritas pelo potencial de Lennard-Jones. As interações dipolo-dipolo e forças de dispersão são muito mais fracas do que outras interações eletrostáticas. Entretanto, se existe um contato significativo entre ambas moléculas envolvendo superfícies relativamente grandes, esta pode alcançar valores maiores do que os observados para todas outras interações (Kubinyi, 1993; Selassie, 2003).

A polarizabilidade (α) de uma molécula está relacionada com as energias de dispersão expressas pelo valor da refratividade molar (MR), desse modo esta relação é descrita pela equação

I.3.4.5.1

$$MR = 4\pi N\alpha/3 \quad (\text{eq. I.3.4.5.1})$$

onde:

MR é o valor da refatividade molar

N é o número de Avogadro

α é a polarizabilidade

O parâmetro de refatividade molar, MR, é uma propriedade físico-química de caráter constitutiva e aditiva sendo extremamente dependente da estrutura do composto. Com base nesta propriedade, os valores de MR relativos aos grupos e sub-estruturas podem ser obtidos experimentalmente pela medida experimental do índice de refração (n) conforme a relação de Lorentz-Lorenz (**eq. I.3.4.5.2**).

Sabendo-se que o índice de refração (n) para a maioria dos compostos varia de modo não significativo, o volume (V_m) se correlaciona diretamente com MR, pois na equação I.3.4.5.2 a expressão ($PM/d = V_m$). Desta forma as duas propriedades (MR, V_m) tornam-se equivalentes (Kubinyi, 1993 Franke & Gruska, 2003; Selassie, 2003).

$$MR = [(n^2-1)/(n^2+2)] \times [PM/d] \quad (\text{eq. I.3.4.5.2})$$

onde:

n é o índice de refração do composto a 20°C

d é a sua densidade a 20°C

PM é o peso molecular do composto

Através das relações expressas pelas equações I.3.4.5.1 e I.3.4.5.2 observa-se que MR não somente depende do volume, mas também do tamanho e da polaridade de um certo grupo. Portanto, quanto maior a polaridade de um substituinte maior será a MR. Assim, para substituintes hidrofóbicos que também possuem uma fraca interação entálpica devido às forças de dispersão, além da energia de contribuição entrópica devido o deslocamento de moléculas de água de suas superfícies, espera-se uma relação entre volume, superfície, lipofilicidade e MR. A lipofilicidade de um certo substituinte, expressa pela constante π de Hansch pode estar correlacionada com MR, dependendo do grupo substituinte.

A existência de intercorrelação significativa entre MR e π limita ou impede a interpretação correta do significado dos coeficientes nas equações de correlação. As diferentes naturezas de MR, comparadas com propriedades hidrofóbicas e estéricas só poderão ser avaliadas nas séries onde se faz uma seleção adequada de substituintes. Assim, por exemplo, quando somente no conjunto de

dados no qual existe ortogonalidade entre $MR \times \pi$ torna-se possível evidenciar a contribuição de um deles, por exemplo MR, para a atividade biológica (Kubinyi, 1993).

A refratividade molar (MR) é um parâmetro que expressa efeitos de diferentes naturezas, podendo estar correlacionado com a lipofilicidade do grupo substituinte conforme mencionado anteriormente, pode estar também relacionado as interações estéricas bem como proporcionais à polarizabilidade eletrônica. Assim, MR refletindo efeitos de naturezas diversas apresenta natureza dicotômica e, muitas vezes chamado de termo “camaleão” (Dearden, 1991a; Dearden, 1991b; Kubinyi, 1993). Sugere-se que para coeficientes de regressão positivos em MR, este termo pode estar modelando as interações de dispersão ou, semi-polares. Por outro lado, para coeficientes de regressão negativos em MR, este termo pode estar associado ao efeito estérico. Portanto, como mencionado anteriormente nesta tese, atenção especial deve ser tomada na análise deste parâmetro principalmente na escolha dos substituintes, caso contrário pode-se chegar a uma conclusão falsa, devido a inter correlações entre lipossolubilidade, polarizabilidade eletrônica ou mesmo de natureza estérica na série de substituinte (Kubinyi, 1993)

Em equação de QSAR geralmente os valores de MR são multiplicados por 0,1 para que se obtenha valores de coeficiente de regressão linear escalonados (Kubinyi, 1993; Selassie, 2003).

1.3.4.6. Parâmetros Biológicos

A precisão dos modelos QSAR gerados está diretamente relacionada com a natureza e precisão do parâmetro biológico considerado (Kubinyi, 1993; Martin *et al.*, 1990). Pode-se dizer que em análises **QSAR** o significado estatístico das correlações obtidas será tanto melhor quanto mais precisas forem as medidas de atividade biológica, pois os parâmetros físico-químicos podem ser medidos com alto grau de precisão (Kubinyi, 1993; Martin *et al.*, 1990; Selassie, 2003).

Os valores das constantes de equilíbrio e das constantes cinéticas que são extensivamente utilizadas em físico-química orgânica e química medicinal estão correlacionadas aos valores de energia livre ΔG . Portanto, os valores das constantes de equilíbrio K ou velocidade por exemplo, $\log k$, valores de IC_{50} , são adequados para serem usados como parâmetro biológico em estudos de QSAR.

As atividades biológicas expressas em percentagem (por exemplo, % de inibição de crescimento em certas concentrações) não são parâmetros biológicos apropriados por causa do caráter não-linear nas curvas de inibição (Kubinyi, 1993; Martin *et al.*, 1990; Selassie, 2003).

Os parâmetros biológicos são geralmente expressos em escala logarítmica por causa da relação linear entre a resposta e o log da concentração na região do meio da curva log da concentração-resposta. Os parâmetros $\log 1/C$ são geralmente utilizados como parâmetro biológico em modelos QSAR para que valores mais altos estejam relacionados aos análogos mais potentes. Geralmente, a variação

pode ser de uma ou mais unidades log (Kubinyi, 1993) e quanto maior a faixa (>2 unidades de log) em atividade, maior é a chance de se gerar um modelo de QSAR que seja preditivo (Selassie, 2003).

Para se obter uma determinada resposta biológica (por exemplo, IC_{50}), deve-se fazer inicialmente uma curva. Para tanto, geralmente, 6 a 8 concentrações são testadas para fornecer percentagens de atividade ou de inibição entre 20 e 80%. A partir destas curvas de inibição, o valor da dose responsável por um dado efeito pode ser facilmente determinada. Esse procedimento é significativo se, no tempo em que a resposta é medida, o sistema se mantiver em equilíbrio (Selassie, 2003).

Os parâmetros biológicos mais freqüentemente usados em modelos de QSAR são ED_{50} , a dose efetiva 50% (a dose que produz uma resposta de 50% de efeito máximo); EC_{50} , a concentração efetiva 50% (a concentração que produz uma resposta de 50% de efeito máximo); LD_{50} , a dose letal 50% (a concentração necessária para que um composto, biologicamente ativo, cause a morte de 50% da população em estudo) e IC_{50} medidas de inibição a 50% (concentração que inibe 50% da resposta biológica em diferentes sistemas (Martin *et al.*, 1990; Selassie, 2003).

Adicionalmente, a concentração mínima inibitória (**CMI**) é um parâmetro utilizado para avaliar a potência antimicrobiana de fármacos. Este é definido como sendo a mais baixa concentração de determinado fármaco capaz de inibir ou interromper o crescimento de um determinado microorganismo.

I.4. Objetivos

I.4. Objetivos

Realizar estudos de QSAR para as atividades antimicrobianas avaliadas contra o fungo *Saccharomyces cerevisiae* (BY4741) e contra a bactéria *Escherichia coli* (DH5 α) para duas séries de compostos (séries **I e II**), estruturalmente análogos à procaína, sintetizadas anteriormente no grupo.

Medir, calcular ou obter da literatura os parâmetros físico-químicos/estruturais (hidrofóbico, eletrônico e aqueles relacionados à refratividade molar) das séries **I e II** responsáveis pela inibição do crescimento dos microorganismos *Saccharomyces cerevisiae* (BY4741) e *Escherichia coli* (DH5 α)

Obter os valores de **IC**₅₀ dos compostos das séries **I e II** avaliadas contra o fungo *Saccharomyces cerevisiae* (BY4741) e contra a bactéria *Escherichia coli* (DH5 α).

A partir dos valores de **IC**₅₀, gerar modelos QSAR visando avaliar a(s) natureza(s) e a contribuição(ões) de cada parâmetro estrutural para cada uma das atividades avaliadas.

II – Materiais e Métodos

II- Materiais e Métodos

II.1- Reagentes e Solventes

Metanol, 99,9%, CLAE (VETEC);

Acetona P.A. (CAAL);

Dietiléter P.A. (ACS);

n-Octanol ($\geq 99,0\%$, Merck);

Pentóxido de fósforo P.A. (VETEC);

Cloreto de cálcio anidro (CAAL);

Cloreto de magnésio anidro (Merck);

Tiouréia P.A. (Merck);

Acetanilida P.A. (Merck);

Acetofenona P.A. (Merck)

Benzamida P.A. (Merck);

4-Clorofenol P.A. (Merck);

Base Trisma P.A. (Merck);

Tampão pH 7,0 (Fosfato de potássio monobásico; NaOH; H₂O desionizada (SYNTH));

Tampão pH 10,0 (Ácido bórico; NaCl; KCl; NaOH (SYNTH));

Extrato de levedura (OXOID);

Dextrose (AMRESCO);

Triptona (OXOID);

NaCl (ACROS ORGANICS);

HCl P.A. (SYNTH);

HEPES – ácido *N*-2-hidroxietilpiperazina-*N'*-2-etanossulfônico (AMRESCO);

AGAR (ACROS ORGANICS);

Saccharomices cerevisiae, BY4741 (EUROSCARF, cedida gentilmente pelo Prof. Dr. Luís Netto do Instituto de Biologia da USP e,

Escherichia coli, DH5 α (comercial, cedida gentilmente pelo Prof. Dr. Luís Netto do Instituto de Biologia da USP).

II.1.1- Reagentes com grau de pureza espectroscópicos e solventes deuterados

CDCl₃ 99,8%, 1% TMS para RMN (ACROS ORGANICS);

CD₃OD 99,6%, 1% TMS para RMN (ACROS ORGANICS);

DMSO-*d*₆ 99,9%, P.A. (ALDRICH)

D₂O 99,9% P.A. (ALDRICH);
Acetona 99,5% (ALDRICH);
Metanol CLAE (100%, Baker)
CHCl₃ 99,9% P.A. (SYNTH) e
Clorofórmio UVASOL, (SYNTH).

II.1.2. Equipamentos

As análises elementares de C, H e N foram realizadas em um analisador elementar marca Perkin Elmer, modelo 2400 CHN automatizado, sendo realizadas no laboratório de Microanálise e Espectroscopia de Massas da Central Analítica do Instituto de Química da USP, São Paulo.

Os espectros de RMN ¹H e de RMN ¹³C foram obtidos em espectrômetros de Ressonância Magnética Nuclear, marcas Bruker AC-200 ou Varian Gemini 200MHz, operando em transformada de Fourier, As análises foram realizadas no Instituto de Química da USP, São Paulo.

Os espectros obtidos na região do infravermelho (I.V), em solução de clorofórmio UVASOL, foram realizados em espectrofotômetro modelo Bomem, marca MB100, operando com transformada de Fourier, disponível na Central Analítica do Instituto de Química da USP, São Paulo.

As análises do grau de pureza dos compostos foram realizadas utilizando-se Cromatógrafo a gás Hewlett Packard, sistema CG HP 6890 Plus+, integrado HP série 6890, com coluna capilar de sílica fundida HP-1 (Metil Siloxano Cruzado), comprimento de 15 m de diâmetro de 0,53mm. As análises foram realizadas no laboratório do Prof. Paulo Olivato do Instituto de Química da USP, São Paulo.

Os valores dos intervalos dos pontos de fusão foram determinados em um aparelho tipo Kofler, marca Thomas/Scientific. As medidas foram realizadas no Laboratório de QSAR e modelagem molecular no Instituto de Química da USP, São Paulo.

Os espectros de absorção na região do ultravioleta (UV) foram registrados em um espectrofotômetro marca Hitachi, modelo U-2010, pertencente ao Laboratório de QSAR e modelagem molecular, no Instituto de Química da USP, São Paulo.

Os ajustes de pH foram feitos em dois pH-metros, a saber: pH-metro, Marca Digimed, modelo DM-20, utilizando-se eletrodos de vidro Ag/AgCl, $KCl_{(sat.)}$, para as medidas realizadas no laboratório de QSAR e modelagem molecular no Instituto de Química da USP, São Paulo (soluções tampão preparadas com Trisma) e no pH-metro, marca Beckman, modelo $\phi 310$ pH, utilizando-se eletrodos de vidro Ag/AgCl, $KCl_{(sat.)}$, para as medidas realizadas no Laboratório de Oxidações Biológicas em Leveduras, do grupo do Prof. Dr. Luís Netto do Instituto de Biologia da USP (soluções tampão preparadas com HEPES).

As determinações dos valores do coeficiente de partição (logP) por CLAE foram realizadas em Cromatógrafo a Líquido de Alta Eficiência, usando-se cromatógrafo marca Shimadzu LC 10AD, pertencente ao Laboratório de QSAR e modelagem molecular no Instituto de Química da USP, São Paulo.

A centrífuga utilizada foi de marca HITACHI, modelo CR-20B2, pertencente ao Laboratório de Oxidações Biológicas em Leveduras, do grupo do Prof. Dr. Luís Netto do Instituto de Biologia da USP.

Os cromatogramas foram obtidos por injeção em um cromatógrafo a gás Hewlett Packard, sistema CG HP série 6890 Plus+, integrador HP série 6890, com coluna capilar de sílica fundida HP-1 (Metil Siloxano Cruzado), comprimento 15 m e diâmetro de 0,53mm, pertencente ao laboratório do Prof. Dr. Paulo Roberto Olivato do Instituto de Química da USP, São Paulo.

As preparações dos meios de cultura e das soluções tampão (para os testes com *S. cerevisiae* (BY4741) e com *E. coli* (DH5 α)) foram feitas em capela com fluxo laminar horizontal, marca TROX, modelo Labconco, Laboratório de Oxidações Biológicas em Leveduras, do grupo do Prof. Dr. Luís Netto do Instituto de Biologia da USP.

As incubações dos meios de cultura dos microorganismos, respectivamente, *S. cerevisiae* (BY4741) e *E. coli* (DH5 α) foram realizadas em *Shaker* rotatório, marca Empresa Brasileira Nova Ética, no Laboratório de Oxidações Biológicas em Leveduras, do grupo do Prof. Dr. Luís Netto do Instituto de Biologia da USP.

As concentrações dos microorganismos nas soluções de crescimento, respectivamente, de *S. cerevisiae* (BY4741) e de *E. coli* (DH5 α) foram determinadas através das leituras dos valores de densidade ótica obtidas em espectrofotômetro (tipo leitora de placas), marca Anthos Zenyth modelo 200st, no Laboratório de Oxidações Biológicas em Leveduras, do grupo do Prof. Dr. Luís Netto do Instituto de Biologia da USP.

II.2- MÉTODOS

II.2.1- Seleção dos substituintes

A seleção dos substituintes para a série de quatorze cloretos de *N,N*[(dimetilamino)etil]-benzoatos **para**-substituídos (onde **R₄** = -H, -CH₃, -C₂H₅, -nC₄H₉, -tC₄H₉, -OCH₃, -nOC₄H₉, -COCH₃, -Cl, -CN, -NO₂, -OC₆H₁₃, -SO₂Me, -CF₃) (série I, compostos **I.1 a I.14**) bem como para a série de quatorze cloretos de *N,N*[(dimetilamino)etil]-benzoatos **meta**-substituídos (onde **R₃** = -H, -CH₃, -OCH₃, -OC₂H₅, -OC₄H₉, -F, -Cl, -Br, -I, -NO₂, -CN, -CF₃, -N(CH₃)₂, -SO₂CH₃) (série II, compostos **II.1 a II.14**) está de acordo com o critério sugerido por Craig (Craig, 1971). Este sugere que para a série escolhida, as intercorrelações entre os parâmetros analisados sejam não significativas, ou seja, o valor do coeficiente de correlação (*r*) obtido nas intercorrelações deve ser, idealmente $\leq 0,3$. Outro critério a ser observado na seleção de substituintes se refere às faixas de variação tanto de cada parâmetro físico químico analisado, bem como do parâmetro biológico, devendo ser significativas (Kubinyi, 1993). As estruturas dos compostos das **séries I e II** estão apresentadas na **Figura II.2.1. 1**.

Figura II.2.1.1. - Cloretos *N,N*[(dimetilamino)etil]-benzoatos **para**-substituídos onde **R₄** = -H, -CH₃, -C₂H₅, -nC₄H₉, -tC₄H₉, -OCH₃, -nOC₄H₉, -COCH₃, -Cl, -CN, -NO₂, -OC₆H₁₃, -SO₂Me, -CF₃ (**Série I**: compostos I.1 a I.14) e cloretos *N,N*[(dimetilamino)etil]-benzoatos **meta**-substituídos onde **R₃** = -H, -CH₃, -OCH₃, -OC₂H₅, -OC₄H₉, -F, -Cl, -Br, -I, -NO₂, -CN, -CF₃, -N(CH₃)₂, -SO₂CH₃ (**Série II**: compostos II.1. a II.14)

II.2.2- Obtenção e Purificação dos compostos

Nesta tese de doutorado, os 27 compostos (séries I e II) foram sintetizados anteriormente no grupo, a partir da reação do correspondente ácido benzóico *para*- ou *meta*- substituído (comercial ou

preparado) com cloreto de (2-cloroetil)dimentilamônio ou com cloroetil-dimetilamina (Amaral *et al.*, 1997; Sousa, 1997).

Os compostos da série I ($R_4 = -CF_3$ e $-tC_4H_9$) **foram purificados** por recristalização, utilizando-se a mistura (etanol - éter etílico; 90:10, v/v) como solvente, de acordo com indicações da literatura (Amaral *et al.*, 1997). Os demais apresentaram graus de pureza satisfatórios, maiores do que 90%, por CG e foram considerados, nesta tese, puros. **Os compostos da série II** não foram purificados, pois apresentarem graus de pureza satisfatórios, sendo maiores que 95% pelas análises de CG ($R_3 = -CH_3$; $-OCH_3$; $-OC_4H_9$; $-F$, $-NO_2$ $-CN$, $-CF_3$ e, $-SO_2CH_3$) ou por análise elementar ($R_3 = -H$, $-OC_2H_5$, $-Cl$, $-Br$, $-I$ e $-N(CH_3)_2$).

II.2.3- Análises e Medidas Realizadas

As análises elementares dos elementos carbono, hidrogênio e nitrogênio para seis cloretos de *N,N*[(dimetilamino)etil]-benzoatos *meta*-substituídos, série II, onde $R_3 = -H$, $-OC_2H_5$, $-Cl$, $-Br$, $-I$ e $-N(CH_3)_2$ foram efetuadas um analisador elementar marca Perkin-Elmer, modelo 2400 CHN automatizado, no laboratório de Microanálise da Central Analítica do Instituto de Química da USP, São Paulo.

A caracterização das estruturas de cada composto foi realizada através das análises dos espectros de RMN de ^1H e de RMN ^{13}C .

Os espectros de RMN ^1H e de RMN ^{13}C dos vinte e sete cloretos de *N,N*[(dimetilamino)etil]-benzoatos para substituídos (série I, compostos I.1 a I.14 e série II compostos II.1 a II.14) foram realizados utilizando espectrômetro marcas Bruker AC-200 (200MHz) e, ou Varian Gemini (200MHz) operando em transformada de Fourier. A precisão nas medidas foi limitada pelo erro sistemático do equipamento ($\pm 0,01 ppm$), de acordo com as especificações do mesmo.

As amostras para realização dos espectros de RMN ^1H dos compostos da série I foram preparadas em $CDCl_3$ com 1% (v/v) de tetrametilsilano (TMS), exceto para os compostos I.13 e I.14 ($R = -SO_2CH_3$ e $-CF_3$) que foram preparadas em $DMSO-d_6$, com 1% (v/v) de TMS. O TMS foi utilizado como padrão interno.

As amostras para realização dos espectros de RMN ^1H dos compostos da série II, onde $R = -H$, $-CH_3$, $-OCH_3$, $-OC_2H_5$, $-OC_4H_9$, $-Cl$, $-Br$ e $-CF_3$ foram preparadas em $CDCl_3$ com 1% (v/v) de tetrametilsilano (TMS) e em D_2O com 1% (v/v) TMS, para os compostos onde $R = -F$, $-I$, $-NO_2$, $-CN$, $-N(CH_3)_2$, $-SO_2CH_3$.

As amostras para realização dos espectros de RMN ^{13}C dos compostos da série I foram preparadas em CDCl_3 exceto para os compostos I.13 e I.14 ($\text{R}_4 = -\text{SO}_2\text{CH}_3$ e $-\text{CF}_3$) que foram preparadas em $\text{DMSO}-d_6$.

As amostras para realização dos espectros de RMN ^{13}C dos compostos da série II, onde $\text{R}_3 = -\text{H}$, $-\text{CH}_3$, $-\text{OCH}_3$, $-\text{OC}_2\text{H}_5$, $-\text{OC}_4\text{H}_9$, $-\text{Cl}$, $-\text{Br}$ e $-\text{CF}_3$ foram preparadas em CDCl_3 e as amostras $-\text{F}$, $-\text{I}$, $-\text{NO}_2$, $-\text{CN}$, $-\text{N}(\text{CH}_3)_2$, $-\text{SO}_2\text{CH}_3$ foram preparadas em D_2O .

Os espectros de RMN ^{13}C para os compostos SO_2CH_3 e $-\text{CF}_3$ da série I foram determinados na concentração de aproximadamente 0,15 M, em $\text{DMSO}-d_6$, sendo o sinal central obtido para o $\text{DMSO}-d_6$ ajustado para 39,70 ppm, de acordo a literatura (Silverstein & Webster, 2000). E, **os espectros de RMN ^{13}C para os demais compostos da série I** foram determinados na concentração de aproximadamente 0,15 M, em CDCl_3 , sendo o sinal para o CDCl_3 ajustado para 77,00 ppm, de acordo a literatura (Silverstein & Webster, 2000). Destes espectros de RMN ^{13}C obtidos para os **compostos da série I**, foram retirados os valores de deslocamento químico do carbono carbonílico ($\delta^{13}\text{C}=\text{O}$) para cada um dos compostos da série I.

Os espectros de RMN ^{13}C para os compostos da série II, onde $\text{R}_3 = -\text{F}$, $-\text{I}$, $-\text{NO}_2$, $-\text{CN}$, $-\text{N}(\text{CH}_3)_2$, $-\text{SO}_2\text{CH}_3$ foram determinados na concentração de aproximadamente 0,15 M, em D_2O , sendo o sinal para o CDCl_3 ajustado para 77,00 ppm, de acordo com a literatura (Silverstein & Webster, 2000).

Os espectros de RMN ^{13}C para os compostos da série II, onde $\text{R}_3 = -\text{H}$, $-\text{CH}_3$, $-\text{OCH}_3$, $-\text{OC}_2\text{H}_5$, $-\text{OC}_4\text{H}_9$, $-\text{Cl}$, $-\text{Br}$ e $-\text{CF}_3$ foram determinados na concentração de aproximadamente 0,15 M em CDCl_3 , sendo o sinal para o CDCl_3 ajustado para 77,00 ppm, de acordo a literatura (Silverstein & Webster, 2000). Destes espectros de RMN ^{13}C obtidos para os compostos da **série II**, foram retirados os valores de deslocamento químico do carbono carbonílico ($\delta^{13}\text{C}=\text{O}$) para cada um dos compostos da série II.

Para os compostos I.1 ($\text{R} = \text{H}$), I.2 ($\text{R} = \text{CH}_3$), I.6 ($\text{R} = \text{OCH}_3$), I.9 ($\text{R} = \text{Cl}$) e I.11 ($\text{R} = \text{CN}$), da série I, os valores da posição da banda de absorção do grupo carbonila ($\nu_{\text{C}=\text{O}}$) em número de onda (cm^{-1}) foram obtidos na da região do I.V. , de forma sistemática, em um espectrômetro modelo Bomem, marca MB100, em uma cela de KBr, de caminho óptico de 0,01 cm, com resolução igual a 4 cm^{-1} , de acordo com as especificações do aparelho. Estes foram obtidos em solução de CHCl_3 , na concentração de aproximadamente $4,00 \times 10^{-3}$ M. As determinações, na faixa entre 1800 a 1700 cm^{-1} , foram feitas em triplicatas, sendo cada uma resultado de 64 corridas (scans).

Adicionalmente, para o composto II.6 ($R = \text{OCH}_3$), o efeito da concentração sobre os valores de $\nu_{\text{C=O}}$ (cm^{-1}) foi avaliado. A reprodutibilidade das medidas foi avaliada registrando-se os espectros em triplicata, nas mesmas condições de registro. O valor da média dos valores observados de $\nu_{\text{C=O}}$ (cm^{-1}) foi considerado o valor verdadeiro e a precisão expressa pelo correspondente desvio padrão, sendo ($1724,96 \pm 0,04$).

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

As medidas de absorção no UV/V foram realizadas em um espectrofotômetro marca Hitachi, modelo U-2010, utilizando-se cubetas de quartzo com caminho óptico de 1,0 cm.

As medidas de densidade ótica foram realizadas em um espectrofotômetro marca Anthos Zenyth modelo 200st, utilizando-se microplacas de 96 poços.

O ajuste de pH da solução tampão trisma pH = 7,40, $\mu = 0,1$ M (ajustada pela adição de NaCl) foi feito em um pH-metro marca Marca Digimed, modelo DM-20, utilizando-se eletrodos de vidro Ag/AgCl, $\text{KCl}_{(\text{sat.})}$, calibrados com solução tampão-Tritisol, nos valores de pH = 7,00 e de pH = 10,00.

O ajuste do valor de pH das soluções de HEPES pH = 7,40, $\mu = 0,12$ M (ajustada por NaCl) foi realizada em um pH-metro marca Beckman, modelo $\phi 310$ pH, utilizando-se eletrodos de vidro Ag/AgCl, $\text{KCl}(\text{sat})$ ajustadas com solução tampão, nos valores de pH = 7,0 e de pH = 10,0.

O grau de pureza dos compostos analisados foi avaliado pela porcentagem (%) em massa na mistura, obtidas por injeção dos mesmos em cromatógrafo a gás (Hewlett Packard), sistema CG HP série 6890 Plus+, integrador HP série 6890; coluna capilar de sílica fundida HP-1 (Metil Siloxano Cruzado), comprimento 15 m e diâmetro de 0,53 mm.

As condições utilizadas nas análises CG foram as seguintes: Soluções de cada composto foram preparadas dissolvendo-se aproximadamente 0,2 $\mu\text{g/mL}$ de cada composto em CH_3COCH_3 ou em CHCl_3 , das quais, foram injetadas amostras de 2 a 4 μL ; as temperaturas, respectivamente, do cromatógrafo do injetor e do detector foram ajustadas para o intervalo de 80°C à 220°C (10°C/min); para 250°C e para 300°C .

Nos ensaios biológicos, a estabilidade de cada composto foi avaliada pela porcentagem (%) em massa, obtidas pela injeção da solução, em acetona, de cada composto extraído do meio de cultura, no início do experimento e após 7 horas, em cromatógrafo a gás (Hewlett Packard), sistema CG HP série 6890 Plus+, integrador HP série 6890; coluna capilar de sílica fundida HP-1 (Metil

Siloxano Cruzado), comprimento 15 m e diâmetro de 0,53 mm. A estabilidade de cada composto foi avaliada através da análise da porcentagem.

Os valores de IC_{50} (em mol/l) foram estimados por interpolação nas curvas de inibição utilizando-se o programa Origin versão 6,0. Para cada composto, os valores das incertezas no IC_{50} foi avaliado através do desvio padrão para 95% de grau de confiança, utilizando-se o programa Origin versão 6,0.

II. 3- Parâmetros físico-químicos e estruturais

II.3.1- Parâmetros lipofílicos

Os valores dos coeficientes de partição ($\log P$) de cada composto das séries I, II foram obtidos por método de cromatografia líquida de alta eficiência de fase reversa, CLAE, ($\log P_{CLAE}$) como descrito por S. M. Mirrlees e colaboradores (Mirrlees *et al.*, 1976) e seguindo as diretrizes indicadas por W. Klein *et al.*. Como fase estacionária utilizou-se coluna empacotada com ODS-hypersil e impregnada com *n*-octanol. Como eluente foi utilizada a solução tampão, a saber: eluente A: tampão Trisma, pH=7,4, força iônica I=0,10 M, saturado com *n*-octanol.

Adicionalmente, para os compostos das séries I, II foram obtidos os valores de $\log P$ *n*-octanol/água calculados, a saber; $\log P_{CLOGP}$, obtidos através do programa **CLOGP**, versão 1.00 para Windows, 1995, Biobyte, USA, desenvolvido por A. J. Leo, Pomona College (Leo, 1993) e $\log P_{ACD}$ obtidos através do programa *ACD/LogP*, ($\log P_{ACD}$) (ACDLabs, 2005). Os valores de $\log P_{CLOGP}$ se referem a partição do composto no sistema octanol/água e não incluem a contribuição de fragmentos contendo grupamentos ionizáveis. Os valores de $\log P_{ACD}$ consideram a contribuição da ionização para a partição (Mannhold & Ostermann, 2008).

Para os compostos das séries I e II a contribuição hidrofóbica do substituinte foi avaliada tanto através da série de constante hidrofóbica (π) de Hansch-Fujita, retiradas da literatura (Amaral *et al.*, 1997; Kubinyi, 1993) como experimentalmente (π)_{exp} obtido pela diferença entre os valores de $\log P_{CLAE}$ dos respectivos compostos substituídos e não-substituídos.

II.3.2- Procedimento geral para obtenção do coeficiente de partição por $\log P_{(CLAE)}$

Determinação do coeficiente de partição octanol/água por CLAE, $\log P_{(CLAE)}$

Os valores do coeficiente de partição ($\log P_{app}$) dos compostos das séries I e II, análogos da procaína, compostos I.1 a I.14 e II.1 a II.14 foram obtidos por cromatografia líquida de alta eficiência

(CLAE), 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 valor de pH igual a 7,4; sendo $\mu = 0,10$ M (certificada com NaCl) como fase móvel (eluente), procedendo-se de acordo com indicações da literatura (Kaliszan, 1981; Amaral *et al.*, 1997; Klein *et al.*, 2009; Pliska *et al.*, 1996; Yamagami, 2001; Yamagami *et al.*, 2002; Malvezzi, 2003). Todos os procedimentos descritos a seguir foram realizados em sala com temperatura controlada e ajustada para $23,0 \pm 1,0$ °C. 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. Este procedimento envolveu as seguintes etapas:

A - Preparação dos eluentes

Preparação da Solução tampão (Trisma, pH = 7,4, $\mu = 0,10$ M)

6,0 g de Trisma, 3,3 g de NaCl dissolvidos em cerca de 1 litro de água ultra-pura para CLAE (água Milli-Q). Dessa solução, acertou-se o pH para 7,4 adicionando-se ácido clorídrico concentrado e medindo-se o pH através de pH-metro.

Pré-saturação da solução tampão com *n*-octanol

Uma vez acertado o pH, a solução foi transferida para um frasco âmbar e gentilmente agitada com 10 a 20 ml de *n*-octanol, por 10 minutos, a uma temperatura aproximada de 25°C (temperatura da sala). Após este período, a mistura foi deixada em repouso por cerca de 15 horas (uma noite), sempre com controle da temperatura da sala. A solução aquosa foi então separada do *n*-octanol sobrenadante e, a seguir, filtrada em filtro celulose regenerada. A solução filtrada foi armazenada em frasco escuro, colocando-se, escorrendo pelas paredes do vidro, 1 mL de *n*-octanol sobrenadante, para garantir que a saturação se mantenha durante o experimento.

B - Preparo e estabilização da coluna cromatográfica

Procedendo-se como descrito anteriormente pelo grupo (Malvezzi, 2003), **prepara-se inicialmente, 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 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.

C. Padronização do sistema de partição

Depois de estabilizada a linha de base, amostras de compostos padrão, com valores de $\log P$ conhecidos na literatura são injetadas na coluna. 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 k' foram determinados para cada um dos padrões. Este é definido como sendo pela **equação II.3.2.1.**:

$$k'_A = (t_A - t_0)/t_0 \quad (\text{eq. II.3.2.1})$$

onde:

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.

Os valores de $\log P$ das substâncias padrão da literatura (Klein *et al.*, 2009) são: tiouréia ($\log P = -0,90$); benzamida ($\log P = 0,64$); acetofenona ($\log P = 1,00$); fenol ($\log P = 1,50$); acetanilida ($\log P = 1,58$); nitrometano ($\log P = 1,85$) e 4-clorofenol ($\log P = 2,40$).

Os valores de k' obtidos para as substâncias padrão e seus correspondentes valores de $\log P$ obtidos na literatura são usados para caracterizar, calibrar e validar o sistema cromatográfico. Assim, verificou-se graficamente a correlação existente entre os valores de $\log k'$ obtidos para esses padrões e seus valores de $\log P$ (**equação II.3.2.2**), determinando-se o valor das constantes a e b que são características dos sistema cromatográfico.

$$\log P = a \log k' + b \quad (\text{eq. II.3.2.2})$$

onde:

$\log P$ é o logaritmo do coeficiente de partição determinado pelo método *Shake-flask* utilizando-se o sistema de solventes *n*-octanol/água

$\log k'$ é o logaritmo do coeficiente de capacidade determinado pelo método CLAE

a , b são os coeficientes angulares

D. Determinação dos valores de $\log P_{\text{CLAE}}$ dos compostos estudados

Soluções de cada um dos compostos das **séries I e II** foram preparadas dissolvendo-se uma pequena quantidade (aproximadamente 5 mg) de cada substância em DMSO e, em seguida, com aproximadamente 1,0 mL do eluente (tampão p.s.o.). A seguir, alíquotas de 1,0 μL ; de 2,0 μL ; de 3,0 μL ; de 4,0 μL e de 5,0 μL de cada uma das soluções foram injetadas, em duplicata, no sistema cromatográfico e os valores do tempo de retenção (t_R) foram registrados e, graficamente, o tempo de retenção extrapolado para concentração zero ($t_{R \rightarrow 0}$), para os compostos das séries I e II.

A partir dos valores do tempo de retenção extrapolado para concentração zero ($t_{R \rightarrow 0}$), foram determinados os correspondentes valores de k' . A seguir, substituindo-se os valores de k' na equação II.3.2.2 obtiveram-se os correspondentes valores de $\log P_{\text{app}}$.

II.3.3- Procedimento geral para obtenção do coeficiente de partição por cálculo: $\log P_{(\text{CLOGP})}$ e $\log P_{(\text{ACD})}$

Os valores de $\log P$ octanol/água foram obtidos por cálculo utilizando-se o programa **CLOGP**, versão 1.00 para Windows, 1995, Biobyte, USA, desenvolvido por A. J. Leo, Pomona College. Para os compostos das séries I e II os valores de $\log P_{\text{CLOGP}}$ foram obtidos fornecendo-se a estrutura plana de cada composto escrita em linguagem SMILES (Simplified Molecular Input Line Entry System).

Estão apresentados na Tabela II.3.3.1., um arquivo de saída típico gerado pelo programa CLOGP e uma possível notação SMILES para o composto I.1 (R=H).

Tabela II.3.3.1- Exemplo ilustrativo de arquivo de saída típico gerado pelo programa CLOGP e uma notação SMILES para o composto I.1 (R=H).

```
C:  2.02  M:  2.06  BENZOICACIDDIMETHYLAMINOETHYLESTER
      (CCN(CC)CCOC(=O)C1=CC=C(C=C1))
```

Class	Type	Log(P) Contribution	Description	Comment	Value
FRAGMENT	# 1	Tertiary Amine (ZW+)		MEASURED	-2.180
FRAGMENT	# 2	Ester		MEASURED	-.560
ISOLATING	CARBON	4	Aliphatic isolating carbon(s)		.780
ISOLATING	CARBON	6	Aromatic isolating carbon(s)		.780
EXFRAGMENT	HYDROG	15	Hydrogen(s) on isolating carbons		3.405
EXFRAGMENT	BONDS	5	chain and 0 alicyclic (net)		-.600
FRAGBRANCH	FRAG 1	4	net bonds (out of 5) count.		-.320
PROXIMITY	Y-CC-Y	1	pairs over bond 5- 4 (AvWt=-.260)		.712
RESULT	2.11	All fragments measured		CLOGP	2.017

Os valores de $\log P_{ACD}$ foram obtidos pelo programa ACDLabs (ACDLabs, 9.04 2005). Este considera a contribuição da ionização para a partição. Assim, os valores de $\log P_{ACD}$ refletem a contribuição de todas as espécies neutras e ionizadas em equilíbrio, num sistema bifásico.

Um exemplo ilustrativo usando o programa ACDLabs para *N,N*[(dimetilamino)etil]-benzoato não-substituídos (composto **I.1**, **R=H**) está mostrado na Figura II.3.3.1. Neste programa o valor do $\log P_{ACD}$ foi obtido a partir da fórmula estrutural do composto.

considerando-se a média dos valores de $\nu_{C=O}$ (cm^{-1}) em duas concentrações a saber: $3,85 \times 10^{-3}\text{M}$ e $4,23 \times 10^{-3}\text{M}$.

II.3.5. Parâmetro relativo à polarizabilidade

Como parâmetro relativo à polarizabilidade dos grupos substituintes para os compostos das séries I e II, foram utilizados os valores de refratividade molar (MR_4) dos grupos substituintes retirados da literatura (Amaral *et al.*, 1997; Sousa, 1997). Nas equações de correlação obtidas para análise de QSAR os valores de MR_4 foram multiplicados por 0,1.

II.4. Parâmetro biológico

O parâmetro biológico determinado foi a inibição do crescimento frente a *S. cerevisiae* (BY4741) e frente a *E. coli* (DH5 α), respectivamente, para os 14 cloretos *N,N*[(dimetilamino)etil]-benzoatos para-substituídos, onde R_4 = -H, -CH₃, -C₂H₅, -nC₄H₉, -tC₄H₉, -OCH₃, -nOC₄H₉, -COCH₃, -Cl, -CN, -NO₂, -OC₆H₁₃, -SO₂Me, -CF₃ (**Série I**: compostos I.1 a I.14) bem como para os 14 cloretos *N,N*[(dimetilamino)etil]-benzoatos meta-substituídos onde R_3 = -H, -CH₃, -OCH₃, -OC₂H₅, -OC₄H₉, -F, -Cl, -Br, -I, -NO₂, -CN, -CF₃, -N(CH₃)₂, -SO₂CH₃ (**Série II**: compostos II.1. a II.14).

A inibição do crescimento para cada composto foi determinada por método descrito na literatura, no qual foram introduzidas algumas modificações. (Ausubel, 1999). Para fins de correlação, a atividade biológica de cada composto foi expressa pela potência biológica, ou seja, $\log(1/IC_{50})$ em que o valor de IC_{50} , foi expresso em mol/L. Os experimentos de inibição de crescimento frente a *S. cerevisiae* (BY4741) e frente a *E. coli* (DH5 α) foram realizados por mim e foram realizadas no Laboratório de Oxidação Biológica em Leveduras, do Instituto de Biologia da USP sob orientação do Prof. Dr. Luís Eduardo Soares Netto.

Os valores de IC_{50} concentração responsável pela inibição de 50% do crescimento, de cada um dos 27 compostos estudados neste trabalho (séries I e II) foram determinados avaliando-se a concentração dos microorganismos, através da medida do valor da densidade ótica do meio de cultura de *S. cerevisiae* (BY4741) e *E. coli* (DH5 α). Por este método, uma placa de teste com 24 poços contendo meio de cultura é preparada. Essa placa (tipicamente 7 a 12 poços por cada composto) em concentrações decrescentes dos compostos (séries I e II) respectivamente, contendo meio de cultura, é incubada com os microorganismos (YPD para *S. cerevisiae* e LB para *E. coli*). Após um período de incubação, respectivamente, de 7 horas e 15 minutos para *S. cerevisiae* e de 3 horas para *E. coli*, a

concentração (crescimento) em cada poço é quantificada pela medida do valor da densidade ótica a 600 nm em espectrofotômetro. Os valores IC₅₀ são estimados por interpolação nas curvas de inibição e são expressos em mol/L.

O estudo da estabilidade de cada composto, nas condições do teste biológico foi realizado após o tempo de cada ensaio, ou seja, 7 horas para *S. cerevisiae* e 3 horas para *E. coli*. Para esta avaliação extrai-se o composto do meio de cultura com solvente (éter ou clorofórmio), evapora-se o solvente em rota-evaporador, seca-se em bomba de vácuo por 1 hora, dilui-se o recuperado em acetona e injeta-se em cromatógrafo a gás. A seguir, avalia-se o composto pelo percentual (%) em massa da amostra.

Adicionalmente, o valor do pH do meio de cultura é verificado após cada experimento (7 horas para *S. cerevisiae* e 3 horas para *E. coli*), respectivamente. Para tanto, as soluções de crescimento foram centrifugadas por 10 minutos, o sobrenadante é retirado e a leitura dessa solução é feita em pHmetro.

II.4.1- Procedimento geral para a determinação dos valores de IC₅₀ para *S. cerevisiae* e para *E. coli* pela medida da densidade ótica (DO₆₀₀), para os compostos das séries I e II.

Procedeu-se de acordo com as indicações de Ausubel e colaboradores (Ausubel, 1999) no qual foram introduzidas algumas modificações.

II.4.2. Preparação de soluções estoques

Foram preparadas duas soluções estoques, respectivamente, do meio de cultura (soluções 1 e 2) e de cada um dos compostos das séries I e II estudados neste trabalho (soluções 3 e 4).

Solução 1 (*S. cerevisiae*) - Meio de cultura tamponado– YPD – Em 0,2 litros de água milli-Q são dissolvidos 13,0 gramas de HEPES; 0,20 gramas de NaCl; 2 g de extrato de levedura, 1 g de peptona e 1 g de dextrose. Essa solução é, então, esterilizada em autoclave por 20 minutos.

Solução 2 (*E. coli*) - Meio de cultura tamponado – LB – Em 0,2 litros de água milli-Q são dissolvidos 7,8 gramas de HEPES, 1,1 g de NaCl; 1 g de extrato de levedura e 2 g de triptona. Essa solução é esterilizada em autoclave por 20 minutos.

Solução 3 (Composto) - Prepara-se para cada composto das séries I e II uma solução contendo 50 mg do respectivo composto em 250 µL da mistura de DMSO/H₂O (1:3 v/v) ou de DMSO/H₂O (1:7 v/v), resultando em uma solução estoque do composto (C= 200 mg/ml, V= 0,25 mL), que será utilizada para as diluições sucessivas.

Solução 4 – Prepara-se uma solução para a diluição dos compostos das séries I e II. Essa solução é uma mistura de DMSO/H₂O (1:3 v/v) ou de DMSO/H₂O (1:7 v/v) e foram utilizadas para os microorganismos *S. cerevisiae* e *E. coli*, respectivamente. As concentrações de DMSO na diluição final no meio de cultura deve ser de 1 e de 0,5 % de DMSO, respectivamente.

Inóculo - Prepara-se uma suspensão contendo o meio de cultura adequado a cada microorganismo (respectivamente **solução 1**, para *S. cerevisiae* e **solução 2**, para *E. coli*) e uma pequena quantidade do microorganismo (uma alça de inoculação). Essa cultura é incubada por aproximadamente 24 horas (para *S. cerevisiae*) ou por 16 horas (para *E. coli*), de forma que consiga uma densidade ótica igual a 4,0 para o comprimento de onda de 600 nm, que equivale a uma concentração do microorganismo correspondente a, aproximadamente, $4,0 \times 10^7$ células/mL. Essa mistura é, então, diluída aproximadamente 25 vezes utilizando-se o correspondente meio de cultura para cada microorganismo, obtendo-se uma suspensão aparentemente límpida ($2,0 \times 10^6$ células/mL).

II.4.3. Preparação das soluções de teste dos compostos das séries I e II:

Eppendorf 1- 250 µL da solução estoque 3 (C=200 mg/mL ou C= 1,0 mol/mL), V=0,050 mL). Transfere-se 50 µL da solução do eppendorf 1 para 450 µL da solução **estoque 1 ou 2** (poço 1), resultando: C=20 mg/mL ou C=0,1mol/mL sendo V=0,5 mL)

Eppendorf 2- 50 µL da solução do eppendorf 1 e 200 µL da solução 4. (C=40 mg/mL ou C=0,2 mol/mL, V=0,25 mL). Transfere-se 50 µL da solução do eppendorff 2 para 450 µL da solução **estoque 1 ou 2** (poço 2), resultando: C=4 mg/mL ou C=0,02 mol/mL, V=0,5 mL.

Eppendorf 3- 50 µL da solução do eppendorff 2 e 200 µL de solução 4 (C=8 mg/mL ou C=0,04 mol/L, V=0,25 mL). Transfere-se 50 µL da solução do eppendorf 3 para 450 µL da solução **estoque 1 ou 2** (poço 3), resultando: C=0,8 mg/mL ou C=4 mmol/mL, V=0,5 mL.

Eppendorf 4- 50 µL da solução do eppendorf 3 e 200 µL de solução 4 (C=1,6 mg/mL ou C=8 mmo/mL, V=0,25 mL). Transfere-se 50 µL da solução do eppendorf 4 para 450 µL da solução **estoque 1 ou 2** (poço 4), resultando: (C=0,16 mg/mL ou C=0,8 mmol/mL, V=0,5 mL).

Eppendorf 5- 50 µL da solução do eppendorf 4 e 200 µL de solução 4 (C=0,32 mg/mL ou C=1,6 mmol/mL, V=0,25 mL). Transfere-se 50 µL do eppendorf 5 para 450 µl da solução **estoque 1 ou 2** (poço 5), resultando: C=32 µg/mL ou C=0,16 mmol/mL, V=0,5 mL.

Eppendorf 6- 50 µL da solução do eppendorff 5 e 200 µL de solução 4 (C=64 µg/mL ou C=0,32 mmol/mL, V=0,25 mL). Transfere-se 50 µL do eppendorf 6 para 450 µL da solução **estoque 1 ou 2** (poço 6), resultando: C=6,4 µg/mL ou C=32 µmol/mL, V=0,5 mL).

Conforme o esquema representado na **Figura II.4.5.1.**, todos os poços possuem 500 μL de solução com concentrações que diminuem sucessivamente dez vezes cada. A concentração inicial pode ser variada dependendo da potência do composto a ser testado.

II.4.4- Determinação dos valores de IC_{50}

A cada poço (1-6) adiciona-se 50 μL da suspensão de inóculo (**Figura II.4.5.1, etapa 2**), cultura de 24 horas ou de 16 horas de crescimento em meio líquido, diluída 25 vezes, preparada como descrito na primeira parte deste procedimento (item 1). A placa é incubada em um agitador rotatório a 30°C, com agitação, por 7 horas (*S. cerevisiae*) e a 37°C, com agitação, por 3 horas (*E. coli*).

A seguir, verifica-se após o período de incubação quais as concentrações que inibiram o crescimento (**Figura II.4.5.1, etapa 2**). Determina-se a densidade ótica de cada um dos poços de teste e, a seguir, constroem-se curvas de inibição, ou seja o valor da densidade ótica *versus* log (1/concentração do composto no poço).

Os valores de IC_{50} foram obtidos por interpolação gráfica, determinando-se a concentração que dá origem a um valor de uma densidade ótica relativa a um valor da metade da densidade ótica máxima, que é determinada por um poço controle, para cada microorganismo, contendo apenas meio de cultura com a mesma quantidade de inóculo.

II.4.5. Preparação do poço para controle

Paralelamente aos poços de teste, prepara-se um poço para controle, contendo 400 μL de meio de cultura (**soluções 1 ou 2**), cerca de 50 μL da cultura (*S. cerevisiae* e *E. coli*), diluída (inóculo) e 50 μL de DMSO/ H_2O (1:3 v/v) ou DMSO/ H_2O (1:7 v/v), respectivamente. Este é incubado pelo mesmo período e com as mesmas condições dos poços de teste, para se determinar a densidade ótica máxima, ou seja, o crescimento máximo atingido pela cultura na ausência do composto testado.

Etapa 1- Preparo das diluições do composto em ordem decrescente de concentração e adição das soluções no poço da placa de incubação.

Etapa 2- Após a adição das soluções diluídas de cada composto, adiciona-se o inóculo do microorganismo, respectivamente, *S. cerevisiae* e *E. coli* para a incubação. Após a incubação transferem-se as soluções (1 a 6) da placa de incubação para uma placa de 96 poços (370 µL) e realiza a leitura da placa em espectrofotômetro.

Figura II.4.5.1- Procedimentos para a determinação do valor de IC_{50} para *S. cerevisiae* e para *E. coli*, respectivamente.

III – Parte Experimental

III.1. Compostos utilizados

Nesta tese de doutorado, os 27 compostos (séries I e II) foram sintetizados anteriormente no grupo, a partir de reação do correspondente ácido benzóico *para*- ou *meta*- substituído (comercial ou preparado) com cloreto de (2-cloroetil)dimetilamônio ou com cloretoetil-dimetilamina (Amaral *et al.*, 1997; Sousa, 1997) (vide Figura III.1.1).

Figura III.1.1- Esquema para a preparação dos cloretos de *N,N*[(dimetilamino)etil] benzoatos *para*- ou *meta*- substituídos, onde R_4 = -H, -CH₃, -C₂H₅, -nC₄H₉, -tC₄H₉, -OCH₃, -nOC₄H₉, -COCH₃, -Cl, -CN, -NO₂, -OC₆H₁₃, -SO₂Me, -CF₃ (série I, compostos **I.1 a I.14**), R_3 = -H, -CH₃, -OCH₃, -OC₂H₅, -OC₄H₉, -F, -Cl, -Br, -I, -NO₂, -CN, -CF₃, -N(CH₃)₂, -SO₂CH₃ (série II, compostos **II.1 a II.14**).

III.2. Purificação, análise do grau de pureza e caracterização dos compostos

Os compostos da série I (R_4 = -CF₃ e -tC₄H₉) foram purificados por recristalização, utilizando – se a mistura (etanol - éter etílico; 90:10, v/v) como solvente, de acordo com indicações da literatura (Amaral *et al.*, 1997). Os demais apresentaram graus de pureza satisfatórios, maiores do que 90%, por CG e foram considerados, nesta tese, puros. Os rendimentos observados nas recristalizações e os percentuais nos cromatogramas estão apresentados na **Tabela III.2.1**.

Os compostos da série II não foram purificados, pois apresentaram graus de pureza satisfatórios, maiores que ~ 95% pelas análises de CG (R_3 = -CH₃; -OCH₃; -OC₄H₉; -F, -NO₂ -CN, -CF₃ e, -SO₂CH₃) ou por análise elemental (R_3 = -H, -OC₂H₅, -Cl, -Br, -I e -N(CH₃)₂). Os percentuais observados nos cromatogramas estão apresentados na **Tabela III.2.1**.

Adicionalmente, para todos os compostos das **séries I e II** o grau de pureza de cada composto foi avaliado pelo correspondente ponto de fusão (PF), e estes não foram corrigidos. O método utilizado está descrito no item **II.1.2**.

Os valores observados para os pontos de fusão dos compostos das **séries I e II** estão apresentados na **Tabela III.2.1**.

Tabela III.2.1- Valores dos rendimentos observados nas recristalizações, dos PF e dos percentuais verificados nas das análises de cromatografia a gás (CG), para a série de 27 cloretos de *N,N*[(dimetilamino)etil] benzoatos *para*- e *meta*-substituídos.

Composto		Método de Purificação (Recristalização)		Análise do grau de Pureza		Referência
Número	R	Solvente	Rend (%)	CG	PF (°C)	
I.1	4-H	--	--	89,0	148	(Amaral <i>et al.</i> , 1997)
I.2	4-CH ₃	--	--	97,0	164	"
I.3	4-C ₂ H ₅	--	--	93,0	135	"
I.4	4-nC ₄ H ₉	--	--	91,9	102	"
I.5	4-tC ₄ H ₉	Etanol/Éter --	76,0	90,0	175-179	"

Composto		Método de Purificação (Recristalização)		Análise do grau de Pureza		Referência
Número	R	Solvente	Rend (%)	CG	PF (°C)	
I.6	4-OCH ₃	--	--	99,2	157,5- 159,5	"
I.7	4-nOC ₄ H ₉	--	--	92,0	122-124	"
I.8	4-COCH ₃	--	--	100,0	171-172	"
I.9	4-Cl	--	--	96,0	193-194	"
I.10	4-NO ₂	--	--	99,3	145-146	"
I.11	4-CN	--	--	90,0	203-204	"
I.12	4-nOC ₆ H ₁₃	--	--	97,0	123	"
I.13	4-SO ₂ CH ₃	--	--	90,0	235	"
I.14	4-CF ₃	Etanol/Éter	35,0	97,7	199-200	"
II.2	3-CH ₃	--	--	96,8	80-85	(Sousa, 1997)
II.3	3-OCH ₃	--	--	99,0	131-132	"
II.4	3-OC ₂ H ₅	--	--	96,0	141,00	"
II.5	3-nOC ₄ H ₉	--	--	99,5	174-185	"
II.6	3-F	--	--	99,0	155-156	"
II.7	3-Cl	--	--	-	151-153	"
II.8	3-Br	--	--	-	158-160	"
II.9	3-I	--	--	-	173-175	"
II.10	3-NO ₂	--	--	99,0	148-150	"
II.11	3-CN	--	--	99,0	165,0	"
II.12	3-CF ₃	--	--	99,0	128,0	"
II.13	3-N(CH ₃) ₂	--	--	-	174-185	"
II.14	3-SO ₂ CH ₃	--	--	95,0	150-153	"

Para todos os compostos da **série I** e **II** foi realizada a análise de pureza por Cromatografia a gás (CG), exceto para os derivados da **série II** que apresentam baixa solubilidade em acetona ou em clorofórmio, sendo eles: compostos II.4, II.7, II.8, II.9, e II.13 (R₃ = -OC₂H₅, -Cl, -Br, -I, -N(CH₃)₂). Para os demais compostos, os valores observados nas análises variaram na faixa entre 89,0 a 100,0% e, estes foram considerados puros. Os valores percentuais dos compostos das **séries I** e **II** estão apresentados na **Tabela III.2.2**.

O método utilizado nas análises CG foi descrito no item **II.2.3**

Tabela III.2.2- Valores das constantes físicas, dos rendimentos dos produtos obtidos na purificação dos cloretos de *N,N*[(dimetilaminoetil) benzoatos *para*-substituídos (**série I**, compostos I.1 a I.14).

Nº do Composto	-R	Fórmula Molecular	M.M. (g.mol ⁻¹)	P.F. (°C)	P.F. _{lit.} (^a) (°C)	Massa (g)	Rend. (%)
I.1	4-H	C ₁₁ H ₁₆ NO ₂ Cl	229,71	148	147-149	-	-
I.2	4-CH ₃	C ₁₂ H ₁₈ NO ₂ Cl	243,73	164	164-167	-	-
I.3	4-C ₂ H ₅	C ₁₃ H ₂₀ NO ₂ Cl	257,76	135	134-137	-	-
I.4	4-nC ₄ H ₉	C ₁₅ H ₂₄ NO ₂ Cl	285,81	102	100-103	-	-
I.5	4-tC ₄ H ₉	C ₁₅ H ₂₄ NO ₂ Cl	285,81	175-176	175-178	0,382	76,5
I.6	4-OCH ₃	C ₁₂ H ₁₈ NO ₃ Cl	259,73	157,5-159,5	158-160	-	-
I.7	4-nOC ₄ H ₉	C ₁₅ H ₂₄ NO ₃ Cl	301,81	122-124	122-124	-	-
I.8	4-COCH ₃	C ₁₃ H ₁₈ NO ₃ Cl	271,74	171-172	173-174	-	-
I.9	4-Cl	C ₁₁ H ₁₅ NO ₂ Cl ₂	264,15	193-194	194-198	-	-
I.10	4-NO ₂	C ₁₁ H ₁₅ N ₂ O ₄ Cl	274,7	145-146	181-185	-	-
I.11	4-CN	C ₁₁ H ₁₅ N ₂ O ₂ Cl	254,71	203-204	205-206	-	-
I.12	4-nOC ₆ H ₁₃	C ₁₇ H ₂₈ NO ₃ Cl	329,86	123	128-130	-	-
I.13	4-SO ₂ CH ₃	C ₁₂ H ₁₈ NO ₄ SCI	307,79	235	199-203	-	-
I.14	4-CF ₃	C ₁₂ H ₁₅ F ₃ NO ₂ Cl	297,70	199-200	156-162	1,320	35,0

(^a) Valores dos pontos de fusão encontrados na literatura (Amaral et al., 1997).

Tabela III.2.3- Valores das constantes físicas dos cloretos de *N,N*[(dimetilaminoetil) benzoatos *meta*-substituídos (**série II**, compostos **II.1** a **II.14**).

nº do Composto	-R	Fórmula Molecular	M.M. (g.mol ⁻¹)	P.F. (°C)	P.F.lit.(a) (°C)
II.1	3-H	C ₁₁ H ₁₆ NO ₂ Cl	229,08	130	147-149
II.2	3-CH ₃	C ₁₂ H ₁₈ NO ₂ Cl	243,10	80-85	71,5-73,5
II.3	3-OCH ₃	C ₁₂ H ₁₈ NO ₂ Cl	259,09	131-132	108-110
II.4	3-OC ₂ H ₅	C ₁₃ H ₂₀ NO ₃ Cl	273,11	141	145-147
II.5	3-nOC ₄ H ₉	C ₁₅ H ₂₄ NO ₃ Cl	301,81	174-185	103-105
II.6	3-F	C ₁₁ H ₁₅ NO ₃ Cl	247,08	155-156	158-160
II.7	3-Cl	C ₁₁ H ₁₅ NO ₂ Cl	263,05	151-153	158-160
II.8	3-Br	C ₁₁ H ₁₅ NO ₂ Cl	307,00	158-160	160-164
II.9	3-I	C ₁₁ H ₁₅ NO ₂ Cl	354,98	173-175	179-182
II.10	3-NO ₂	C ₁₁ H ₁₅ NO ₂ Cl	274,07	148-150	159-161
II.11	3-CN	C ₁₂ H ₁₅ NO ₂ Cl	254,08	161-162	168-171
II.12	3-CF ₃	C ₁₂ H ₁₅ NO ₂ F ₃ Cl	297,07	128	132-133,5
II.13	3-N(CH ₃) ₂	C ₁₃ H ₂₁ N ₂ O ₂ Cl ₂	307,09	174-185	140-143
II.14	3-SO ₂ CH ₃	C ₁₂ H ₁₈ NSO ₄ Cl	307,73	150-153	167-169

(a) Valores dos pontos de fusão encontrados na literatura (Sousa, 1997).

Tabela III.2.4- Análises elementares calculadas e obtidas experimentalmente para os cloretos de *N,N*[(dimetilaminoetil) benzoatos *meta*-substituídos (**série II** compostos **II.1** a **II.14**).

Comp.	-R	Análise Elementar calculada			Análise Elementar experimental			$\Delta^{(a)}$		
		%C	%H	%N	%C	%H	%N	%C	%H	%N
II.1	3-H	57,67	7,04	6,11	57,57	6,79	6,01	0,1	0,25	0,10
II.4	3-OC ₂ H ₅	57,17	7,38	5,13	57,24	7,28	4,98	0,07	0,10	0,15
II.7	3-Cl	50,23	5,75	5,32	49,99	5,69	5,28	0,24	0,06	0,04
II.8	3-Br	43,04	4,92	4,56	42,80	4,89	4,48	0,24	0,03	0,08
II.9	3-I	37,22	4,26	3,94	37,37	4,11	3,81	0,15	0,15	0,13
II.13	3-N(CH ₃) ₂	50,87	6,89	9,12	49,74	7,29	8,87	1,13	0,40	0,25

(a) Diferenças observadas entre os correspondentes valores calculados e experimentais.

Tabela III.2.5- 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 os cloretos de *N,N*[(dimetilaminoetil) benzoatos *para*-substituídos (**Série I**, compostos **I.1** e **I.14**) utilizando-se como solvente CDCl₃ ou DMSO - d₆.

nº do Composto	-R	δ (ppm), multiplicidade e J (Hz)
I.1	4-H	8,04- 7,43 (m, 5H, Ar-H); 4,81 (t, 2H, OCH ₂ , J=4,83 Hz); 3,48 (t, 2H, CH ₂ N, J=5,04 Hz); 2,92 (s, 6H, N(CH ₃) ₂)
I.2	4-CH ₃	7,95-7,28 (dd, 4H, Ar-H); 4,85 (t, 2H, OCH ₂ , J=4,82 Hz); 3,51 (t, 2H, CH ₂ N, J=5,04 Hz); 2,95 (s, 6H, NCH ₃) ₂ ; 2,43 (s, 3H, CH ₃)
I.3	4-C ₂ H ₅	12,90(s, 1H, +NH); 7,97-7,29 (dd, 4H, Ar-H); 4,84 (t, 2H, OCH ₂ , J=4,82 Hz); 3,52 (t, 2H, CH ₂ N); 2,96 (s, 6H, N(CH ₃) ₂); 2,72 (qa, 2H, CH ₂ CH ₃); 1,25 (t, 3H, CH ₃ , J=7,46 Hz)
I.4	4-nC ₄ H ₉	7,96-7,26 (dd, 4H, Ar-H); 4,83 (t, 2H, OCH ₂ , J=4,90 Hz); 3,53 (t, 2H, CH ₂ N, J=4,80 Hz); 2,96 (s, 6H, N(CH ₃) ₂); 2,66 (t, 2H, CH ₂ , J=7,60 Hz); 1,61 (m, 2H, CH ₂); 1,31 (m, 2H, CH ₂); 0,93 (t, 3H, CH ₃ , J=7,30 Hz)
I.5	4-tC ₄ H ₉	12,87 (s, 1H, +NH); 7,98-7,48 (dd, 4H, Ar-H); 4,82 (t, 2H, OCH ₂); 3,50 (t, 2H, CH ₂ N); 2,95 (s, 6H, N(CH ₃) ₂); 1,33 (s, 9H, C(CH ₃) ₃)
I.6	4-OCH ₃	13,03 (s, 1H, +NH); 8,03-6,94 (dd, 4H, Ar-H); 4,82 (t, 2H, OCH ₂ , J=5,05 Hz); 3,87 (s, 3H, OCH ₃); 3,49 (t, 2H, CH ₂ N, J=5,04 Hz); 2,95 (s, 6H, N(CH ₃) ₂)
I.7	4-nOC ₄ H ₉	12,90 (s, 1H, +NH); 8,00-6,92 (dd, 4H, Ar-H); 4,81 (t, 2H, OCH ₂ , J=4,83 Hz); 4,02 (t, 2H, OCH ₂ , J=6,36 Hz); 3,48 (t, 2H, CH ₂ N, J=4,61 Hz); 2,92 (s, 6H, N(CH ₃) ₂); 1,79 (m, 2H, CH ₂); 1,50 (m, 2H, CH ₂); 0,98 (t, 3H, CH ₃ , J=7,24 Hz)
I.8	4-COCH ₃	12,98 (s, 1H, +NH); 8,19-8,02 (dd, 4H, Ar-H); 4,86 (t, 2H, OCH ₂ , J=4,62 Hz); 3,50 (t, CH ₂ N,

nº do Composto	-R	δ (ppm), multiplicidade e J (Hz)
		J=4,61 Hz); 2,95 (s, 6H, N(CH ₃) ₂); 2,64 (s, 3H, COCH ₃)
I.9	4-Cl	7,83-7,37 (dd, 4H, Ar-H); 4,57 (t, 2H, OCH ₂ , J=5,00 Hz); 3,51 (t, 2H, CH ₂ N, J=5,00 Hz); 2,87 (s, 6H, N(CH ₃) ₂)
I.10	4-NO ₂	8,34-8,23 (dd, 4H, Ar-H); 4,74 (t, 2H, OCH ₂ , J=5,4 Hz); 3,66 (t, 2H, CH ₂ N, J=4,80 Hz); 3,00 (s, 6H, N(CH ₃) ₂)
I.11	4-CN	12,43 (s, 1H, +NH); 8,30-7,78 (dd, 4H, Ar-H); 4,79 (t, 2H, OCH ₂ , J=5,04 Hz); 3,54 (t, 2H, CH ₂ N); 2,93 (s, 6H, N(CH ₃) ₂)
I.12	4-nOC ₆ H ₁₃	8,00-6,92 (dd, 4H, Ar-H); 4,81 (t, 2H, OCH ₂ , J=5,00 Hz); 4,01 (t, 2H, OCH ₂ , J=6,50 Hz); 3,46 (t, 2H, CH ₂ N, J=5,00 Hz); 2,92 (s, 6H, N(CH ₃) ₂); 1,81 (m, 2H, CH ₂); 1,40 (m, 2H, CH ₂); 0,91 (t, 3H, CH ₃)
I.13 (**)	4-SO ₂ CH ₃	10,75 (s, 1H, +NH); 8,48-8,24 (dd, 4H, Ar-H); 4,80 (t, 2H, OCH ₂ , J=4,83 Hz); 3,69 (t, 2H, CH ₂ N, J=4,60 Hz); 3,00 (s, 6H, N(CH ₃) ₂); 2,94 (s, 3H, CH ₃)
I.14 (**)	4-CF ₃	8,44-8,09 (dd, 4H, Ar-H); 4,80 (t, 2H, OCH ₂ , J=4,83 Hz); 3,69 (t, 2H, CH ₂ N, J=4,61 Hz); 3,02 (s, 6H, N(CH ₃) ₂)

(**) Espectros registrados em DMSO - d₆.

Tabela III.2.6- 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 os cloretos de N,N'-(dimetilaminoetil) benzoatos *meta*- substituídos (**série II**, compostos **II.1** e **II.14**) utilizando como solvente CDCl₃ ou D₂O.

Nº do Composto	-R	δ (ppm), multiplicidade e J (Hz)
II.1	-H	8,04-7,34 (m, 5H, Ar-H); 4,81 (t, 2H, OCH ₂ , J=4,83 Hz); 3,48 (t, 2H, NCH ₂ , J=5,04 Hz); 2,92 (s, 6H, N(CH ₃) ₂)
II.2	3-CH ₃	12,85 (s, 1H, +NH); 8,32-7,27 (m, 4H, Ar-H); 4,82 (t, 2H, OCH ₂ , J=4,83 Hz); 3,50 (t, 2H, NCH ₂); 2,94 (s, 6H, N(CH ₃) ₂); 2,40 (s, 3H, CH ₃)
II.3	3-OCH ₃	12,00 (s, 1H, +NH); 8,04-6,92 (m, 4H, Ar-H); 4,80 (t, 2H, OCH ₂ , J=5,04 Hz); 3,87 (s, 3H, OCH ₃); 3,49 (t, 2H, NCH ₂); 2,94 (s, 6H, N(CH ₃) ₂)
II.4 (**)	3-OC ₂ H ₅	7,45-7,02 (m, 4H, Ar-H); 4,46 (t, 2H, OCH ₂ , J=5,05 Hz); 3,92 (q, 2H, Ar-O-CH ₂ , J=7,02 Hz); 3,45 (t, 2H, NCH ₂ , J=5,05 Hz); 2,78 (s, 6H, N(CH ₃) ₂); 1,16 (t, 3H, CH ₃ , J=7,02 Hz)
II.5 (**)	3-nOC ₄ H ₉	7,63-7,17 (m, 4H, Ar-H); 4,65 (t, 2H, OCH ₂); 4,02 (q, 2H, OCH ₂ , J=6,7 Hz); 3,63 (t, 2H, NCH ₂); 3,0 (s, 6H, N(CH ₃) ₂); 1,41 (m, 2H, CH ₂); 1,16 (m, 2H, CH ₂ , J=7,2 Hz); 0,91 (3H, CH ₃ , J=7,2 Hz)
II.6	3-F	7,65-7,17 (m, 4H, Ar-H); 4,49 (t, 2H, OCH ₂); 3,45 (t, 2H, NCH ₂); 2,79 (s, 6H, N(CH ₃) ₂)
II.7	3-Cl	12,70 (s, 1H, +NH); 7,96-7,25 (m, 4H, Ar-H); 4,79 (t, 2H, OCH ₂ , J=5,05 Hz); 3,50 (t, 2H, NCH ₂ , J=4,83 Hz); 2,92 (s, 6H, N(CH ₃) ₂)
II.8 (**)	3-Br	12,87 (s, 1H, +NH); 8,17-7,29 (m, 4H, Ar-H); 4,85 (t, 2H, OCH ₂ , J=5,05 Hz); 3,69 (t, 2H, NCH ₂ , J=6,8 Hz); 2,97 (s, 6H, N(CH ₃) ₂)
II.9 (**)	3-I	8,57-7,01 (m, 4H, Ar-H); 4,45 (t, 2H, OCH ₂ , J=4,82 Hz); 3,41 (t, 2H, NCH ₂ , J=4,82 Hz); 2,77 (s, 6H, N(CH ₃) ₂)
II.10 (**)	3-NO ₂	8,55-7,47 (m, 4H, Ar-H); 4,55 (t, 2H, OCH ₂ , J=5,05 Hz); 3,49 (t, 2H, NCH ₂ , J=5,05 Hz); 2,83 (s, 6H, N(CH ₃) ₂)
II.11	3-CN	8,16-7,43 (m, 4H, Ar-H); 4,56 (t, 2H, OCH ₂ , J=4,83 Hz); 3,50 (t, 2H, NCH ₂ , J=5,04 Hz); 2,83 (s, 6H, N(CH ₃) ₂)
II.12	3-CF ₃	8,34-7,29 (m, 4H, Ar-H); 4,87 (t, 2H, OCH ₂ , J=5,04 Hz); 3,58 (t, 2H, NCH ₂ , J=5,04 Hz); 2,99 (s, 6H, N(CH ₃) ₂)
II.13 (**)	3-N(CH ₃) ₂	8,07-7,45 (m, 4H, Ar-H); 4,53 (t, 2H, OCH ₂ , J=5,05 Hz); 3,47 (t, 2H, NCH ₂ , J=5,05 Hz); 3,13 (s, 6H, Ar-N(CH ₃) ₂); 2,81 (s, 6H, N(CH ₃) ₂)
II.14 (**)	3-SO ₂ CH ₃	8,30-7,56 (m, 4H, Ar-H); 4,56 (t, 2H, OCH ₂ , J=4,83 Hz); 3,47 (t, 2H, NCH ₂ , J=4,83 Hz); 3,20 (s, 3H, SO ₂ CH ₃); 2,80 (s, 6H, N(CH ₃) ₂); 1,00 (s, 3H, CH ₃ , J=7,46 Hz)

(**) Espectros registrados em DMSO - d₆

Tabela III.2.7- 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 os cloretos de *N,N*[(dimetilaminoetil) benzoatos *para*- substituídos (**Série I**, compostos **I.1** e **I.14**) utilizando como solvente CDCl_3 ou $\text{DMSO} - d_6$.

Composto	-R	a	b	c	f/j	g/i	h	Substituintes (-R)
I.1	4-H	2,92	3,48	4,81	8,04	7,43	7,57	-
I.2	4-CH ₃	2,95	3,51	4,85	7,95	7,28	-	2,43
I.3	4-C ₂ H ₅	2,96	3,52	4,84	7,97	7,29	-	2,72/1,25
I.4)	4-nC ₄ H ₉	2,96	3,53	4,83	7,96	7,26	-	2,66/1,61/1,31/0,93
I.5	4-tC ₄ H ₉	2,95	3,50	4,82	7,98	7,48	-	1,33
I.6	4-OCH ₃	2,95	3,49	4,82	8,03	6,94	-	3,87
I.7	4-nOC ₄ H ₉	2,92	3,48	4,81	8,00	6,92	-	4,02/1,79/1,50/0,98
I.8	4-COCH ₃	2,95	3,50	4,86	8,19	8,02	-	2,64
I.9	4-Cl	2,87	3,51	4,57	7,83	7,37	-	-
I.10	4-NO ₂	3,00	3,66	4,74	8,34	8,23	-	-
I.11	4-CN	2,93	3,54	4,79	8,30	7,78	-	-
I.12	4-nOC ₆ H ₁₃	2,92	3,46	4,81	8,00	6,92	-	4,01/1,81/1,40/0,91
I.13(**)	4-SO ₂ CH ₃	3,00	3,69	4,80	8,48	8,24	-	2,94
I.14(**)	4-CF ₃	3,02	3,69	4,80	8,44	8,09	-	-

(**) Espectros registrados em $\text{DMSO} - d_6$

Tabela III.2.8- Valores dos deslocamentos químicos (δ) em ppm retirados dos espectros de RMN ^{13}C relativos ao sinal do CDCl_3 (ajustado para 77,00 ppm) observados em solução de CDCl_3 ou de $\text{DMSO} - d_6$ na concentração de aproximadamente 0,15 M, para os cloretos de *N,N*[(dimetilaminoetil) benzoatos *para*- substituídas (**série I**, compostos **I.1** a **I.14**).

Composto	R	a	b	c	d	e	f/j	g/i	h	Substituintes (-R)
I.1	4-H	43,1	55,8	58,6	165,4	129,4	128,3	128,3	133,4	
I.2	4-CH ₃	43,5	56,1	58,8	165,8	126,0	129,4	129,8	144,8	21,7
I.3	4-C ₂ H ₅	44,0	56,7	59,3	166,4	126,7	128,7	130,5	151,4	30,0/16,0
I.4	4-nC ₄ H ₉	43,4	56,0	58,7	165,7	126,1	128,6	129,7	149,0	35,6/33,0/21,6/13,7
I.5	4-tC ₄ H ₉	43,5	56,1	59,0	165,0	129,6	125,8	125,6	157,6	35,1/30,9
I.6	4-OCH ₃	43,4	55,4	58,5	163,9	120,9	131,9	113,9	165,4	56,1
I.7	4-nOC ₄ H ₉	42,3	58,6	58,8	164,9	121,1	131,0	114,0	162,8	67,5/30,5/18,6/13,5
I.8	4-COCH ₃	43,5	56,0	59,1	165	132,3	130,1	128,4	140,8	197,0/27,0
I.9	4-Cl	45,8	58,5	62,0	169,4	129,7	133,7	131,5	142,4	
I.10	4-NO ₂	46,1	58,6	62,9	168,8	126,7	137,3	133,8	153,6	
I.11	4-CN	42,9	55,2	59,2	164,1	132,5	130,3	132,0	116,4	116,4
I.12	4-OC ₆ H ₁₃	43,5	56,3	58,6	165,6	120,8	131,9	114,4	163,7	6/14,0
I.13(**)	4- SO ₂ CH ₃	42,6	54,4	59,2	163,8	133,1	130,1	126,8	144,3	42,0
I.14(**)	4-CF ₃	43,0	55,4	60,2	164,8	131,0	126,2	126,2	133,5	

(**) Espectros registrados em $\text{DMSO} - d_6$

Tabela III.2.9- 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 os cloretos de *N,N*[(dimetilaminoetil) benzoatos *meta*- substituídos (**série II**, compostos **II.1** e **II.14**) utilizando como solvente CDCl_3 ou D_2O .

Composto	-R	a	b	c	f	g	h	i	j	Substituintes (-R)
II.1	-H	2,92	3,48	4,81	8,04	7,43	7,57	7,43	8,04	
II.2	3-CH ₃	2,40	3,30	4,82	7,85	-	7,29	7,36	7,81	2,02
II.3	3-OCH ₃	2,94	3,48	4,80	8,04	-	6,92	6,96	8,04	3,87
II.4	3-OC ₂ H ₅ (**)	2,78	3,45	4,46	7,20	-	7,07	7,02	7,45	3,92-1,16
II.5	3-nOC ₄ H ₉ (**)	2,90	3,53	4,55	7,53	-	7,10	7,30	7,49	0,81/1,06/1,30/1,55
II.6	3-F	2,79	3,45	4,49	7,65	-	7,17	7,37	7,51	
II.7	3-Cl	2,92	3,50	4,79	7,96	-	7,50	7,31	7,90	
II.8	3-Br(**)	2,97	3,69	4,85	8,17	-	7,72	7,35	8,03	
II.9	3-I(**)	2,77	3,41	4,45	8,14	-	7,81	7,05	7,81	
II.10	3-NO ₂ (**)	2,83	3,52	4,55	8,45	-	8,15	7,50	8,15	
II.11	3-CN	2,83	3,50	4,55	8,16	-	7,78	7,47	8,07	
II.12	3-CF ₃	2,99	3,58	4,87	8,31	-	7,62	7,29	7,84	
II.13	3-N(CH ₃) ₂ (**)	2,81	3,47	4,53	8,07	-	-	-	-	
II.14	3-SO ₂ CH ₃ (**)	2,80	3,47	4,56	8,30	-	7,95	7,60	8,16	1,00

(**) Espectros registrados em D_2O

Tabela III.2.10- Valores dos deslocamentos químicos (δ) em ppm retirados dos espectros de RMN ^{13}C relativos ao sinal do CDCl_3 (ajustado para 77,00 ppm) observados em solução de CDCl_3 ou de D_2O na concentração de aproximadamente 0,15 M, para os cloretos de *N,N*[(dimetilaminoetil) benzoatos *meta*- substituídos (**série II**, compostos **II.1** a **II.14**).

composto	R	a	b	c	d	e	f	g	h	i	j	Substituintes (-R)
II.1	3-H	43,4	58,9	56	165,4	129,7	128,6	128,6	133,7	128,6	129,7	
II.2	3-CH ₃	43,3	58,5	55,9	165,8	130,1	128,4	138,4	134,4	128,8	126,7	21,1
II.3	3-OCH ₃	43,5	59,2	55,6	165,7	130,1	114,4	159,7	120,0	129,7	122,1	55,0
II.4(**)	3-OC ₂ H ₅	42,9	59,2	55,8	167,2	129,9	115,2	158,0	120,4	129,8	122,2	64,5/13,7
II.5(**)	3-nOC ₄ H ₉	42,8	59,2	55,5	166,0	159,4	116,0	164,2	120,8	130,3	125,2	
II.6	3-F	43,4	59,2	55,8	164,6	130,4	129,9	134,6	133,6	129,5	127,8	
II.7	3-Cl	43,4	59,0	55,5	164,1	129,8	130,3	132,2	136,2	128,1	122,1	
II.8(**)	3-Br	42,9	59,3	55,6	165,0	130,1	137,6	94,0	142,0	129,9	128,6	
II.9(**)	3-I	42,8	59,6	55,5	165,2	129,9	129,9	147,5	124,1	128,0	135,4	
II.10(**)	3-NO ₂	42,8	59,4	55,4	165,3	129,5	133,1	111,5	136,8	129,4	133,8	118,1
II.11	3-CN	43,4	59,4	55,9	164,6	130,7	126,5	120,7	129,3	129,6	133,1	
II.12(**)	3-CF ₃	42,7	59,4	55,4	165,4	130,9	121,3	142,0	125,4	130,9	130,7	46,0
II.13(**)	3-N(CH ₃) ₂	42,8	59,5	55,4	164,9	129,7	129,9	137,0	132,2	128,4	134,8	
II.14	3-SO ₂ CH ₃	42,8	59,5	55,4	165,4	129,5	129,9	137,0	131,8	128,0	134,9	49,5/6,0

(**) Espectros registrados em D_2O

III.3. Obtenção de parâmetros lipofílicos

III.3.1. Valores de constante hidrofóbica de substituintes

Para os compostos das **séries I e II** foram utilizados como parâmetro lipofílico os valores da constante hidrofóbica de grupo substituinte (π) de Hansch-Fujita, retirados da literatura (Kubinyi, 1993) e, apresentados na Tabela III.3.1.1.

Tabela III.3.1.1- Valores de constante hidrofóbica de grupo substituinte (π) de Hansch-Fujita, retirados da literatura (Kubinyi, 1993).

-R	Série I	π
	Composto	
4-H	I.1	0
4-CH ₃	I.2	0,6
4-C ₂ H ₅	I.3	1,1
4-nC ₄ H ₉	I.4	2,1
4-tC ₄ H ₉	I.5	1,88
4-OCH ₃	I.6	-0,03
4-nOC ₄ H ₉	I.7	1,47
4-COCH ₃	I.8	-0,39
4-Cl	I.9	0,73
4-NO ₂	I.10	0,22
4-CN	I.11	-0,33
4-nOC ₆ H ₁₃	I.12	2,47
4-SO ₂ CH ₃	I.13	-1,2
4-CF ₃	I.14	1,04
-R	Série II	π
	Composto	
H	II.1	0,00
3-CH ₃	II.2	0,56
3-OCH ₃	II.3	-0,02
3-OC ₂ H ₅	II.4	0,38
3-nOC ₄ H ₉	II.5	1,55
3-F	II.6	0,14
3-Cl	II.7	0,71
3-Br	II.8	0,86
3-I	II.9	1,12
3-NO ₂	II.10	-0,28
3-CN	II.11	-0,57
3-CF ₃	II.12	0,88
3-N(CH ₃) ₂	II.13	0,18
3-SO ₂ CH ₃	II.14	-1,63

III.3.2. Obtenção do coeficiente de partição por cálculo, $\log P_{\text{calc}}$.

Para cada composto das **séries I e II** a lipofilicidade da molécula foi avaliada por meio dos valores de coeficiente de partição, $\log P_{\text{CLOGP}}$, obtidos através do programa **CLOGP**, versão 1.0.0 para Windows, 1995, Biobyte, USA, desenvolvido por A. J. Leo, Pomona College (Biobyte Corp., 1995) e $\log P_{\text{ACD}}$ obtidos através do programa ACD/LogP, ($\log P_{\text{ACD}}$) (ACD/LogP, 2005). Os valores de $\log P_{\text{CLOGP}}$ se referem a partição do composto no sistema octanol/água e não incluem a contribuição de

fragmentos contendo grupamentos ionizáveis. Os valores de $\log P_{\text{ACD}}$ consideram a contribuição da ionização para a partição (Mannhold & Ostermann, 2008). Os valores obtidos de $\log P_{\text{CLOGP}}$ e $\log P_{\text{ACD}}$ estão apresentados na **Tabela III.3.2.1**, para as **séries I e II**.

Tabela III.3.2.1- Valores do coeficiente de partição no sistema n-octanol/água obtidos por cálculo ($\log P_{\text{CLOGP}}$), utilizando-se o programa CLOGP (Leo, 1993), versão 1.0.0 para Windows (1995), BioByte, USA, para os compostos das séries I e II.

<i>Série I</i> Composto	-R	$\log P_{\text{CLOGP}}$	<i>Série II</i> Composto	-R	$\log P_{\text{CLOGP}}$
I.1	4-H	2,02	II.1	H	2,02
I.2	4-CH ₃	2,51	II.2	3-CH ₃	2,52
I.3	4-C ₂ H ₅	3,04	II.3	3-OCH ₃	2,20
I.4	4-nC ₄ H ₉	4,10	II.4	3-OC ₂ H ₅	2,72
I.5	4-tC ₄ H ₉	3,84	II.5	3-nOC ₄ H ₉	3,78
I.6	4-OCH ₃	2,24	II.6	3-F	2,16
I.7	4-nOC ₄ H ₉	3,82	II.7	3-Cl	2,73
I.8	4-COCH ₃	1,73	II.8	3-Br	2,88
I.9	4-Cl	2,81	II.9	3-I	3,14
I.10	4-NO ₂	1,92	II.10	3-NO ₂	1,76
I.11	4-CN	1,63	II.11	3-CN	1,45
I.12	4-nOC ₆ H ₁₃	4,88	II.12	3-CF ₃	2,90
I.13	4-SO ₂ CH ₃	0,55	II.13	3-N(CH ₃) ₂	2,52
I.14	4-CF ₃	3,03	II.14	3-SO ₂ CH ₃	0,61

Tabela III.3.2.2- Valores do coeficiente de partição no sistema 1-octanol/água obtidos por cálculo ($\log P_{\text{ACD}}$), utilizando-se o programa ACD/LogP, (Mannhold & Ostermann, 2008) para os compostos das **séries I e II**.

<i>Série I</i> Composto	-R	$\log P_{\text{ACD/LogP}}$	<i>Série II</i> Composto	-R	$\log P_{\text{ACD/LogP}}$
I.1	4-H	1,02	II.1	H	1,02
I.2	4-CH ₃	1,68	II.2	3-CH ₃	1,68
I.3	4-C ₂ H ₅	2,21	II.3	3-OCH ₃	1,12
I.4	4-nC ₄ H ₉	3,27	II.4	3-OC ₂ H ₅	1,65
I.5	4-tC ₄ H ₉	2,91	II.5	3-nOC ₄ H ₉	2,71
I.6	4-OCH ₃	1,28	II.6	3-F	1,51
I.7	4-nOC ₄ H ₉	2,88	II.7	3-Cl	1,91
I.8	4-COCH ₃	1,16	II.8	3-Br	1,93
I.9	4-Cl	1,83	II.9	3-I	2,36
I.10	4-NO ₂	0,91	II.10	3-NO ₂	0,91
I.11	4-CN	0,95	II.11	3-CN	0,9
I.12	4-nOC ₆ H ₁₃	3,94	II.12	3-CF ₃	2,32
I.13	4-SO ₂ CH ₃	0,04	II.13	3-N(CH ₃) ₂	1,30
I.14	4-CF ₃	2,26	II.14	3-SO ₂ CH ₃	-0,047

III.3.3- Determinação do coeficiente de partição aparente, $\log P_{\text{app}}$, pelo método CLAE), no sistema 1-octanol/água (tampão Trisma pH = 7,40 e μ = 0,1 M (ajustada com adição de NaCl)), para os cloretos de *N,N*[(dimetilamino)etil] benzoatos substituídos (séries I e II, compostos I.1 a I.14 e II.1 a II.14).

Para os cloretos de *N,N*[(dimetilamino)etil] benzoatos *para*- e *meta*-substituídos (**séries I e II**, compostos **I.1 a I.14 e II.1 a II.14**), a lipofilicidade de cada composto foi avaliada por meio do seu valor de coeficiente de partição aparente, $\log P_{app}$, determinado em sistema 1-octanol/tampão trisma (pH = 7,40 e força iônica (μ) = 0,1 M, ajustada pela adição de NaCl) (Amaral, 1997), conforme descrito a seguir.

A. Caracterização, calibração e validação do sistema cromatográfico CLAE

Procedendo-se como descrito no item **II.3.2**, foram determinados os valores do tempo de retenção das substâncias padrão em valor de pH 7,4 (Solução Tampão Trisma, μ = 0,10 M (NaCl)).

Um exemplo típico para a construção de uma curva de calibração do sistema cromatográfico, através da obtenção dos valores de t_R do $\log k'$ e $\log P^{lit}$ está apresentado na **Tabela III. 3.3.1**.

As curvas de calibração do sistema cromatográfico foram obtidas de modo sistemático, uma vez ao dia e, intercaladas às determinações dos valores de $\log P_{app}^{CLAE}$, para os compostos das **séries I e II**.

Tabela III.3.3.1- Exemplo típico de valores respectivamente, do tempo de retenção $t_R^{(a)}$ do $\log k'$ e do $\log P$ extraído da literatura^(b) das substâncias padrão utilizadas para caracterizar, calibrar e validar o sistema cromatográfico.

Substâncias Padrão	$t_R^{(a)}$ (min)	$\log k'$	$\log P^{(b)}$
Tiouréia	0,84	0,00	-1,02
Benzamida	2,20	0,20	0,64
Acetanilida	5,39	0,74	1,00
Fenol	10,43	1,06	1,50
Acetofenona	14,67	1,22	1,58
Nitrobenzeno	23,14	1,43	1,85
4-Clorofenol	93,75	2,05	2,40

^(a) Determinados em pH 7,40 (Tampão Trisma, μ = 0,10 M (NaCl)) usando uma coluna C-18 encapada com *n*-octanol e a $23,0 \pm 1,0$ °C

^(b)(Klein *et al.*, 1988).

A partir dos valores do $\log k'$ determinados experimentalmente e dos valores do $\log P$ retirados da literatura de cada uma das substâncias padrão o sistema cromatográfico foi calibrado.

Está apresentado na **Figura III.3.3.1**, o gráfico da correlação entre os valores de $\log k'$ e os valores de $\log P$ da literatura bem como a correspondente equação de calibração.

$$\log P = +0,988 (\pm 0,15) \log k' + 0,394 (\pm 0,19) \quad (\text{eq. III.3.2.1})$$

(n = 6; r = 0,994; s = 0,076; F = 331,548; Q² = 0,975; s-PRESS = 0,110)

Figura III.3.3.1- Exemplo típico de curva e equação de calibração entre os valores de $\log k'$ e os valores de $\log P$ da literatura, onde $k' = (t_R - t_0)/t_0$; t_R são os valores do tempo de retenção obtidos por CLAE, 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 $\mu = 0,10$ M (NaCl) e a fase estacionária uma coluna C-18 saturada com *n*-octanol e a $23 \pm 1^\circ\text{C}$.

B - Determinação dos valores do coeficiente de partição por CLAE ($\log P_{\text{app}}^{\text{CLAE}}$)

Procedendo-se como descrito no item II.3.2 foram determinados os valores do tempo de retenção (t_R) das séries de cloretos de *N,N*[(dimetilamino)etil] benzoatos *para-* e *meta-*substituídos (séries I e II, compostos I.1 a I.14 e II.1 a II.14) em pH 7,40 (Trisma-HCl); força-iônica $\mu = 0,10$ M (NaCl) e à temperatura de $23 \pm 1^\circ\text{C}$. 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 $\log P_{\text{app}}^{\text{CLAE}}$ correspondentes. Os valores do tempo de retenção, os valores de $\log k'$ e os valores de $\log P_{\text{app}}^{\text{CLAE}}$ dos compostos I.1 a I.14 e II.2 a II.14, determinados e estão apresentados nas Tabelas III.3.3.2 e Tabelas III.3.3.3.

Tabelas III.3.3.2- Valores de $t_r^{(a)}$, de $\log k'$ e de $\log P_{CLAE}^{(b)}$ determinados^(c) para cloretos de $N,N[(\text{dimetilaminoetil}) \text{ benzoatos } \textit{para}$ -substituídos (**série I**, compostos I.1 a I.14).

Composto	R	$t_r^{(a)}$ (min)	Desvio Padrão (s)	Desvio $\log k'$ Padrão (s)	Desvio $\log P_{CLAE}^{(b)}$ Padrão (s)	Equação de Calibração
I.1	4-H	5,07 (4)	0,01	0,70	0,01	$\log P = 0,988 \log k' + 0,394$ ($r^2 = 0,99$)
I.2	4-CH ₃	13,35 (2)	0,01	1,18	0,02	$\log P = 0,988 \log k' + 0,394$ ($r^2 = 0,99$)
I.3	4-C ₂ H ₅	33,20 (2)	0,08	1,58	0,01	$\log P = 0,983 \log k' + 0,444$ ($r^2 = 0,99$)
I.4	4-nC ₄ H ₉	366,44 (4)	0,01	2,64	0,01	$\log P = 0,988 \log k' + 0,394$ ($r^2 = 0,99$)
I.5	4-tC ₄ H ₉	254,58 (4)	0,01	2,48	0,01	$\log P = 0,988 \log k' + 0,394$ ($r^2 = 0,99$)
I.6	4-OCH ₃	6,85 (2)	0,45	0,84	0,03	$\log P = 0,983 \log k' + 0,444$ ($r^2 = 0,99$)
I.7	4-nOC ₄ H ₉	178,35 (4)	0,01	2,33	0,01	$\log P = 0,988 \log k' + 0,394$ ($r^2 = 0,99$)
I.8	4-COCH ₃	3,487 (2)	0,05	0,497	0,01	$\log P = 0,983 \log k' + 0,444$ ($r^2 = 0,99$)
I.9	4-Cl	22,82 (2)	0,43	1,41	0,01	$\log P = 0,983 \log k' + 0,444$ ($r^2 = 0,99$)
I.10	4-NO ₂	6,56 (2)	0,09	0,74	0,01	$\log P = 1,014 \log k' + 0,562$ ($r^2 = 0,99$)
I.11	4-CN	2,60 (2)	0,01	0,32	0,01	$\log P = 0,983 \log k' + 0,444$ ($r^2 = 0,99$)
I.12	4-nOC ₆ H ₁₃	*	*	*	3,4 ^(e)	n.d. ^(d)
I.13	4-SO ₂ CH ₃	1,14 (2)	0,01	-0,44	0,01	$\log P = 1,012 \log k' + 0,385$ ($r^2 = 0,99$)
I.14	4-CF ₃	43,70 (2)	2,2	1,71	0,2	$\log P = 0,988 \log k' + 0,394$ ($r^2 = 0,99$)

^(a) Média dos valores de t_r para n injeções, expressos entre parêntesis.

^(b) Valores determinados pela correspondente equação de regressão.

^(c) Utilizando-se o procedimento descrito no item II.3.2, empregando-se tampão Trisma, pH=7,40 p.s.o., fluxo de 1 a 2 ml/minuto, pressão até no máximo de 100 kgf/cm², coluna ODS-Hypersil (22 μ m, 15,8 mm x 6,3 mm), pré-saturada com octanol.

^(d) não determinada.

Tabelas III.3.3.3- Valores de $t_r^{(a)}$, de $\log k'$ e de $\log P_{CLAE}^{(b)}$ determinados^(c) para os cloretos de $N,N[(\text{dimetilaminoetil}) \text{ benzoatos } \textit{meta}$ -substituídos (**série II**, compostos II.1 a II.14).

Composto	R	$t_r^{(a)}$ (min)	Desvio Padrão (s)	Desvio $\log k'$ padrão (s)	Desvio $\log P_{CLAE}^{(b)}$ Padrão (s)	Equação de Calibração
II.1	-H	5,07 (4)	0,01	0,70	0,01	$\log P = 0,988 \log k' + 0,394$ ($r^2 = 0,99$)
II.2	3-CH ₃	19,50 (2)	0,01	1,35	0,01	$\log P = 0,992 \log k' + 0,434$ ($r^2 = 0,99$)
II.3	3-OCH ₃	6,33 (2)	0,01	0,81	0,01	$\log P = 0,992 \log k' + 0,434$ ($r^2 = 0,99$)
II.4	3-OC ₂ H ₅	22,28 (2)	0,01	1,40	0,01	$\log P = 0,992 \log k' + 0,434$ ($r^2 = 0,99$)
II.5	3-nOC ₄ H ₉	187,10 (2)	0,01	2,34	0,01	$\log P = 0,992 \log k' + 0,434$ ($r^2 = 0,99$)
II.6	3-F	7,20 (2)	0,01	0,88	0,01	$\log P = 0,992 \log k' + 0,434$ ($r^2 = 0,99$)
II.7	3-Cl	22,10 (2)	0,01	1,41	0,01	$\log P = 0,988 \log k' + 0,394$ ($r^2 = 0,99$)
II.8	3-Br	34,66 (2)	0,01	1,60	0,01	$\log P = 0,992 \log k' + 0,434$ ($r^2 = 0,99$)
II.9	3-I	62,50 (2)	0,02	1,87	0,01	$\log P = 0,992 \log k' + 0,434$ ($r^2 = 0,99$)
II.10	3-NO ₂	4,43 (2)	0,01	0,63	0,01	$\log P = 0,988 \log k' + 0,394$ ($r^2 = 0,99$)
II.11	3-CN	2,52 (2)	0,01	0,30	0,01	$\log P = 0,988 \log k' + 0,394$ ($r^2 = 0,99$)
II.12	3-CF ₃	31,05 (2)	0,01	1,55	0,01	$\log P = 0,988 \log k' + 0,394$ ($r^2 = 0,99$)
II.13	3-N(CH ₃) ₂	16,15 (2)	0,01	1,26	0,01	$\log P = 0,988 \log k' + 0,394$ ($r^2 = 0,99$)
II.14	3-SO ₂ CH ₃	1,51 (2)	0,01	-0,09	0,02	$\log P = 0,988 \log k' + 0,394$ ($r^2 = 0,99$)

^(a) Média dos valores de t_r para n injeções, expressos entre parêntesis.

^(b) Valores determinados pela correspondente equação de calibração.

^(c) Utilizando-se o procedimento descrito no item II.3.2, empregando-se tampão Trisma, pH=7,40 p.s.o., fluxo de 1 a 2 ml/minuto, pressão até no máximo de 100 kgf/cm², coluna ODS-Hypersil (22 μ m, 15,8 mm x 6,3 mm), pré-saturada com octanol.

O efeito da concentração do composto sobre a partição foi avaliado para as séries I e II,

analisando-se os valores de $\log k'$ observados em diferentes concentrações na faixa de aproximadamente $4 \cdot 10^{-5}$ a $8 \cdot 10^{-5} \text{ M}$. Os resultados observados estão apresentados nas **Tabelas III.3.3.4, 3.3.5 e Figuras III.3.3.1 e III.3.3.2**.

Tabela III.3.3.4- Valores dos volumes injetados (μl) da solução aquosa tamponada de cada composto ; de $\log k'$ e de $\log P_{\text{CLAE}}$ observados para a série de cloretos de *N,N*[(dimetilaminoetil) benzoatos *para*-substituídos (**série I**, compostos **I.1 a I.14**).

composto	R	Vol (μl)	$\log k'$	$\log P$	Desvio	composto	R	Vol (μl)	$\log k'$	$\log P$	Desvio
I.1	4-H	1,0	0,689	1,075	0,017	I.8	4-COCH ₃	1,0	0,462	0,770	0,019
		2,0	0,639	1,025	0,014			2,0	0,431	0,732	0,009
		3,0	0,603	0,989	0,014			3,0	0,366	0,652	0,007
		4,0	0,575	0,962	0,021			4,0	0,343	0,623	0,004
		5,0	0,560	0,947	0,009			5,0	0,287	0,555	0,016
I.2	4-CH ₃	1,0	1,160	1,540	0,001	I.9	4-Cl	1,0	1,397	1,914	0,129
		2,0	1,098	1,478	0,001			2,0	1,344	1,849	0,101
		3,0	1,051	1,432	0,003			3,0	1,298	1,793	0,148
		4,0	1,023	1,404	0,002			4,0	1,274	1,764	0,042
		5,0	1,008	1,389	0,001			5,0	1,242	1,725	0,100
I.3	4-C ₂ H ₅	1,0	1,584	2,002	0,007	I.10	4-NO ₂	1,0	0,730	1,302	0,015
		2,0	1,534	1,953	0,006			2,0	0,621	1,192	0,007
		3,0	1,503	1,922	0,006			3,0	0,558	1,128	0,004
		4,0	1,497	1,916	0,003			4,0	0,515	1,084	0,006
		5,0	1,499	1,918	0,002			5,0	0,493	1,062	0,001
I.4	4-nC ₄ H ₉	1,0	2,630	2,992	0,017	I.11	4-CN	1,0	0,309	0,581	0,005
		2,0	2,594	2,956	0,014			2,0	0,261	0,523	0,006
		3,0	2,584	2,946	0,014			3,0	0,232	0,487	0,004
		4,0	2,565	2,927	0,021			4,0	0,214	0,466	0,002
		5,0	2,546	2,909	0,009			5,0	0,201	0,450	0,000
I.5	4-tC ₄ H ₉	1,0	2,455	2,819	0,017	I.12	4-OC ₆ H ₁₃	Valor não medido. logP previsto pela equação $\log P_{\text{CLAE}} = 0,867(\pm 0,062)_{\text{CLOGP}} - 0,572(\pm 0,17)$			
		2,0	2,416	2,780	0,014						
		3,0	2,384	2,748	0,014						
		4,0	2,336	2,702	0,021						
		5,0	2,309	2,674	0,009						
I.6	4-OCH ₃	1,0	0,821	1,209	0,017	I.13	4-SO ₂ CH ₃	1,0	-0,428	-0,045	0,004
		2,0	0,737	1,106	0,002			2,0	-0,497	-0,115	0,004
		3,0	0,689	1,047	0,007			3,0	-0,546	-0,164	0,004
		4,0	0,656	1,007	0,011			4,0	-0,573	-0,192	0,000
		5,0	0,635	0,981	0,035			5,0	-0,586	-0,205	0,004
I.7	4-OC ₄ H ₉	1	0,43	2,689	0,015	I.14	4-CF _{3(a)}	1,0	1,692	2,065	0,014
		2	0,422	2,644	0,016			2,0	1,651	2,024	0,022
		3	0,417	2,613	0,015			3,0	1,617	1,991	0,019
		4	0,414	2,594	0,011			4,0	1,593	1,967	0,013
		5	0,408	2,561	0,001			5,0	1,569	1,943	0,001

Figura III.3.3.2- Efeito da concentração sobre a partição: Valores de $\log k'$ observados em função das concentrações de cada composto da série de cloretos *N,N*-[(dimetilamino)etil] benzoato para-substituídos.

Tabela III.3.3.5- Valores dos volumes injetados (μl) da solução aquosa tamponada de cada composto; de $\log k'$ e de $\log P_{\text{CLAE}}$ observados para a série de cloretos de *N,N*-[(dimetilamino)etil] benzoatos *meta*-substituídos (série II, compostos II.1 a II.14).

composto	R	vol (μl)	$\log k'$	$\log P$	Desvio	composto	R	vol (μl)	$\log k'$	$\log P$	Desvio
II.1	3-H	1,0	0,772	1,138	0,005	II.8	3-Br	1,0	1,588	2,009	0,011
		2,0	0,705	1,070	0,023			2,0	1,553	1,974	0,010
		3,0	0,659	1,024	0,049			3,0	1,543	1,964	0,017
		4,0	0,632	0,996	0,059			4,0	1,516	1,937	0,001
		5,0	0,615	0,979	0,068			5,0	1,490	1,912	0,012
II.2	3-CH ₃	1,0	1,330	1,753	0,022	II.9	3-I	1,0	1,219	1,643	0,062
		2,0	1,259	1,683	0,011			2,0	1,177	1,601	0,059
		3,0	1,210	1,634	0,005			3,0	1,143	1,567	0,034
		4,0	1,180	1,604	0,020			4,0	1,114	1,538	0,003
		5,0	1,157	1,581	0,012			5,0	1,067	1,492	0,015
II.3	3-OCH ₃	1,0	0,843	1,270	0,003	II.10	3-NO ₂	1,0	0,615	1,001	0,001
		2,0	0,768	1,195	0,001			2,0	0,557	0,944	0,003
		3,0	0,755	1,182	0,036			3,0	0,517	0,905	0,002
		4,0	0,814	1,241	0,019			4,0	0,492	0,880	0,001
		5,0	0,792	1,219	0,022			5,0	0,458	0,846	0,004
II.4	3-OC ₂ H ₅	1,0	1,390	1,813	0,004	II.11	3-CN	1,0	0,306	0,696	0,002
		2,0	1,323	1,745	0,004			2,0	0,245	0,636	0,017
		3,0	1,279	1,702	0,002			3,0	0,219	0,610	0,008
		4,0	1,246	1,669	0,003			4,0	0,225	0,616	0,007
		5,0	1,226	1,649	0,002			5,0	0,211	0,602	0,002
II.5	3-nOC ₄ H ₉	1,0	2,343	2,757	0,009	II.12	3-CF ₃	1,0	1,547	1,922	0,007
		2,0	2,273	2,687	0,019			2,0	1,510	1,885	0,012
		3,0	2,244	2,659	0,006			3,0	1,485	1,861	0,016
		4,0	2,228	2,643	0,002			4,0	1,468	1,844	0,012
		5,0	2,223	2,638	0,001			5,0	1,455	1,830	0,002
II.6	3-F	1,0	0,883	1,249	0,007	II.13	3-N(CH ₃) ₂	1,0	1,243	1,622	0,004
		2,0	0,849	1,215	0,049			2,0	1,158	1,538	0,000
		3,0	0,803	1,169	0,038			3,0	1,080	1,461	0,004
		4,0	0,785	1,151	0,039			4,0	1,043	1,424	0,003

composto	R	vol (μ l)	logk'	logP	Desvio	composto	R	vol (μ l)	logk'	logP	Desvio
		5,0	0,778	1,144	0,035			5,0	1,020	1,401	0,005
II.7	3-Cl	1,0	1,397	1,774	0,015	II.14	3-SO ₂ CH ₃	1,0	-0,104	0,291	0,012
		2,0	1,338	1,715	0,027			2,0	-0,190	0,206	0,004
		3,0	1,313	1,691	0,008			3,0	-0,234	0,162	0,001
		4,0	1,286	1,664	0,005			4,0	-0,272	0,125	0,000
		5,0	1,277	1,656	0,003			5,0	-0,287	0,110	0,001

Figura III.3.3.3 - Efeito da concentração sobre a partição: Valores de $\log k'$ observados em função das concentrações de cada composto da série de cloretos *N,N*[(dimetilamino)etil] benzoato meta-substituídos.

III.4. Obtenção de parâmetros eletrônicos

III.4.1. Valores de constantes de grupo substituinte tipo Hammett (σ_p , σ_m) e de Swain-Lupton ($\mathcal{S}$ e $\mathcal{R}$)

Como parâmetros eletrônicos para os compostos das **séries I e II** foram utilizados os seus respectivos valores de constantes de grupo substituinte tipo Hammett (σ_p , σ_m , e de Swain-Lupton ($\mathcal{S}$ e $\mathcal{R}$), retirados da literatura (Hansch *et al.*, 1995) e apresentados nas **Tabelas III.4.2.1 e Tabela III.4.2.2**

III.4.2. Valores do deslocamento químico do carbono carbonílico ($\delta_{13C=O}$), considerados como parâmetro eletrônico

Foram retirados dos espectros de RMN ¹³C obtidos para os cloretos de *N,N*[(dimetilamino)etil] benzoatos *para*- e *meta*-substituídos (**séries I e II**, compostos **I.1 a I.14 e II.1. a II.14**) os valores do deslocamento químico do carbono carbonílico ($\delta_{13C=O}$) para cada composto das séries, sendo utilizados como parâmetro eletrônico.

Os espectros de RMN ¹³C para os compostos -SO₂CH₃ e -CF₃ da série I foram determinados na concentração de aproximadamente 0,15 M, em DMSO-d₆, sendo o sinal central obtido para o DMSO-d₆ ajustado para 39,70 ppm, de acordo a literatura (Silverstein & Webster, 2000). E, **os espectros de RMN ¹³C para os demais compostos da série I** foram determinados na concentração

de aproximadamente 0,15 M, em CDCl_3 , sendo o sinal para o CDCl_3 ajustado para 77,00 ppm, de acordo a literatura (Silverstein & Webster, 2000). Destes espectros de RMN ^{13}C obtidos para os **compostos da série I**, foram retirados os valores de deslocamento químico do carbono carbonílico ($\delta_{13\text{C}=\text{O}}$) para cada um dos compostos da **série I**. Os valores de deslocamentos químicos do carbono carbonílico ($\delta_{13\text{C}=\text{O}}$), dos compostos da série I estão apresentados na **Tabela III.2.8**.

Os espectros de RMN ^{13}C para os compostos da série II, onde $\text{R}_3 = -\text{F}$, $-\text{I}$, $-\text{NO}_2$, $-\text{CN}$, $-\text{N}(\text{CH}_3)_2$, $-\text{SO}_2\text{CH}_3$ foram determinados na concentração de aproximadamente 0,15 M, em D_2O , sendo o sinal para o CDCl_3 ajustado para 77,00 ppm, de acordo a literatura (Silverstein & Webster, 2000).

Os espectros de RMN ^{13}C para os compostos da série II, onde $\text{R}_3 = -\text{H}$, $-\text{CH}_3$, $-\text{OCH}_3$, $-\text{OC}_2\text{H}_5$, $-\text{OC}_4\text{H}_9$, $-\text{Cl}$, $-\text{Br}$ e $-\text{CF}_3$ foram determinados na concentração de aproximadamente 0,15 M em CDCl_3 , sendo o sinal para o CDCl_3 ajustado para 77,00 ppm, de acordo a literatura (Silverstein & Webster, 2000). Destes espectros de RMN ^{13}C obtidos para os **compostos da série II**, foram retirados os valores de deslocamento químico do carbono carbonílico ($\delta_{13\text{C}=\text{O}}$) para cada um dos compostos da **série II**.

A precisão, de cada medida feita no espectrômetro marcas Bruker AC-200 (200MHz) e, ou Varian Gemini (200MHz), operando em transformada de Fourier, é expressa pelo erro sistemático de $\pm 0,01$ ppm, de acordo com as especificações do aparelho.

Os valores de deslocamentos químicos do carbono carbonílico ($\delta_{13\text{C}=\text{O}}$), dos compostos da série II estão apresentados na Tabela III.4.2.1.

Tabela III.4.2.1- Valores dos parâmetros eletrônicos retirados da literatura (Amaral *et al.*, 1997)e obtidos experimentalmente ($\delta_{13\text{C}=\text{O}}$ e $\nu_{\text{C}=\text{O}}$) e parâmetro relativo à polarizabilidade (MR_4) retirado da literatura (Kubinyi, 1993) para os cloretos de *N,N*[(dimetilamino)etil] benzoatos *para*-substituídos (**série I, compostos I.1 a I.14**) .

composto	-R	$\delta_{13\text{C}=\text{O}}^{(a)(b)}$	$\nu_{\text{C}=\text{O}}^{(c)}$	$\nu_{\text{C}=\text{O}}^{(d)}$	σ_p	$\mathcal{S}$	$\mathcal{R}$	MR_4
I.1	4-H	165,4	1725,2 $\pm$ 0,01	1726,5	0,00	0,00	0,00	0,103
I.2	4-CH ₃	165,8	1724,3 $\pm$ 0,4	1725,2	-0,17	0,01	-0,18	0,565
I.3	4-C ₂ H ₅	166,4	n.d.	1724,1	-0,15	0,00	-0,15	1,030
I.4	4-nC ₄ H ₉	165,7	n.d.	1723,6	-0,16	-0,01	-0,15	1,959
I.5	4-tC ₄ H ₉	165,0	n.d.	1724,8	-0,20	-0,02	-0,18	1,962
I.6	4-OCH ₃	163,9	1724,9 $\pm$ 0,04	1717,1	-0,27	0,29	-0,56	0,787
I.7	4-nOC ₄ H ₉	164,9	n.d.	1717,4	-0,32	0,29	-0,61	2,166
I.8	4-COCH ₃	165,0	n.d.	1729,9	0,50	0,33	0,17	1,118
I.9	4-Cl	169,4	1725,7 $\pm$ 0,02	1729,5	0,23	0,42	-0,19	0,603
I.10	4-NO ₂	168,8	n.d.	1734,5	0,78	0,65	0,13	0,736
I.11	4-CN	164,1	1728,1 $\pm$ 0,17	1732,8	0,66	0,51	0,15	0,633
I.12	4-nOC ₆ H ₁₃	165,6	n.d.	1717,0	-0,32	0,25	-0,55	3,090
I.13	4-SO ₂ CH ₃	165,6 (**)	n.d.	1734,4	0,72	0,53	0,19	1,349

composto	-R	$\delta_{13C=O}^{(a)(b)}$	$\nu_{C=O}^{(c)}$	$\nu_{C=O}^{(d)}$	σ_p	S	$\mathcal{R}$	MR ₄
I.14	4-CF ₃	164,8 (**)	n.d.	1732,0	0,54	0,38	0,16	0,502

(a) Valores do deslocamento químico do carbono carbonílico expressos em *ppm*, retirados dos RMN ¹³C, obtidos em CDCl₃ exceto os compostos assinalados (**) que foram obtidos em DMSO-*d*₆, na concentração de aprox 0,15 M.

(b) A precisão na medida é expressa por um erro sistemático de $\pm 0,01$ *ppm*, de acordo com as especificações do aparelho.

(c) Valores da posição de absorção do grupo carbonila em cm⁻¹, retirados dos espectros de I.V. obtidos em solução de CHCl₃.

(d) Valores da posição de absorção do grupo carbonila em cm⁻¹, retirados da literatura (Amaral *et al.*, 1997), obtidos em solução de CHCl₃.

Tabela III.4.2.2- Valores dos parâmetros eletrônicos retirados da literatura (Hansch *et al.*, 1995) e obtidos experimentalmente ($\delta_{13C=O}$ e $\nu_{C=O}$) e parâmetro relativo à polarizabilidade (MR₃) retirado da literatura (Kubinyi, 1993) para os cloretos de *N,N*[(dimetilamino)etil] benzoatos *meta*-substituídos (série II, compostos II.1 a II.14).

composto	-R	$\delta_{13C=O}^{(a)(b)}$	$\nu_{C=O}^{(c)}$	σ_m	S	$\mathcal{R}$	MR ₃
II.1	H	165,4	1725,0	0,00	0,03	0,00	0,206
II.2	3-CH ₃	165,8	1724,0	-0,07	0,01	-0,18	0,668
II.3	3-OCH ₃	165,7	1726,6	0,12	0,29	-0,56	0,890
II.4	3-OC ₂ H ₅	167,5 (**)	1726,4	0,10	0,26	-0,50	1,35
II.5	3-nOC ₄ H ₉	165,0 (**)	1726,4	0,10	0,29	-0,61	2,269
II.6	3-F	166,0	1729,7	0,34	0,45	-0,39	0,195
II.7	3-Cl	164,6	1730,1	0,37	0,42	-0,19	0,706
II.8	3-Br	164,1 (**)	1730,3	0,39	0,45	-0,22	0,991
II.9	3-I	165,2 (**)	1729,8	0,35	0,42	-0,24	1,497
II.10	3-NO ₂	165,2 (**)	1734,7	0,71	0,65	0,13	0,839
II.11	3-CN	165,3	1732,7	0,56	0,51	0,15	0,736
II.12	3-CF ₃	165,6	1730,9	0,43	0,38	0,16	0,605
II.13	3-N(CH ₃) ₂	165,4 (**)	1722,8	-0,16	0,15	-0,98	1,658
II.14	3-SO ₂ CH ₃	165,4 (**)	1733,2	0,60	0,53	0,19	1,452

(a) Valores do deslocamento químico do carbono carbonílico expressos em *ppm*, retirados dos RMN ¹³C, obtidos em CDCl₃ exceto os compostos assinalados (**) que foram obtidos em D₂O, na concentração aprox. 0,15 M.

(b) A precisão na medida é expressa por um erro sistemático de $\pm 0,01$ *ppm*, de acordo com as especificações do aparelho.

(c) Valores previstos para a posição de absorção do grupo carbonila, previstos pela equação (eq.IV. 4.2.1). $\nu_{(C=O)exp} = + 13,69 (\pm 3,31) \sigma + 1725,0 (\pm 1,41)$; (*n* = 14; *r* = 0,933; *s* = 2,312; *F* = 80,939; *Q*² = 0,829; *s*-PRESS = 2,664) (eq.IV. 4.2.1).

III.4.3- Valores da posição de absorção do grupo carbonila ($\nu_{C=O}$) (em cm⁻¹) na região do I.V., considerados como parâmetro eletrônico

Para os compostos I.1 (R = H), I.2 (R = CH₃), I.6 (R = OCH₃), I.9 (R = Cl) e I.11 (R = CN), da série I, os valores da posição da banda de absorção do grupo carbonila ($\nu_{C=O}$) em número de onda (cm⁻¹) foram obtidos na da região do I.V, de forma sistemática, em um espectrômetro modelo Bomem, marca MB100, em uma cela de KBr, de caminho óptico de 0,01 cm, com resolução igual a 4cm⁻¹, de acordo com as especificações do aparelho. Estes foram obtidos em solução de CHCl₃, na concentração de aproximadamente 4,00 x 10⁻³ M, ou seja, pesou-se 1,0 mg de cada composto e diluiu-se a 1mL de CHCl₃ resultando em soluções de 3,78 M x 10⁻³ a 4,35 x 10⁻³ M. As determinações, na

faixa entre 1800 a 1700 cm^{-1} , foram feitas em triplicatas, sendo cada uma resultado de 64 corridas (scans)

Adicionalmente, para o composto **II. 6** ($R = \text{OCH}_3$), **o efeito da concentração sobre os valores de $\nu_{\text{C=O}}$ (cm^{-1})** foi avaliado. A reprodutibilidade das medidas foi avaliada registrando-se os espectros em triplicata, nas mesmas condições de registro. O valor da média dos valores observados de $\nu_{\text{C=O}}$ (cm^{-1}) foi considerado o valor verdadeiro e a precisão expressa pelo correspondente desvio padrão, sendo ($1724,96 \pm 0,04$).

Os valores das posições de absorção do grupo carbonila ($\nu_{\text{C=O}}$) (em cm^{-1}) na região do I.V. estão apresentados na **Tabela III.4.3.1**, relativas aos compostos das **séries I**.

Tabela III.4.3.1- Valores do deslocamento da frequência da carbonila em cm^{-1} , observados nos espectros de Infravermelho, para os cloretos *N,N*[(dimetilamino)etil]-benzoatos para-substituídos utilizando-se CHCl_3 como solvente.

Composto	R	Valor da frequência (cm^{-1})	
		exp.	lit. ^(a)
I.1	4-H	1725,2 $\pm$ 0,01	1726,5
I.2	4-CH ₃	1724,3 $\pm$ 0,4	1725,2
I.6	4-OCH ₃	1713,8 $\pm$ 0,02	1724,1
I.9	4-Cl	1725,7 $\pm$ 0,02	1729,5
I.11	4-CN	1728,1 $\pm$ 0,17	1732,8

^(a) Valores retirados da literatura (Amaral *et al.*, 1997)

Os valores da frequência de estiramento da carbonila medidas na região do IV, para a **série II** foram obtidos através da equação de regressão gerada para série.

$$\nu_{(\text{C=O})} = + 13,69 (\pm 3,31) \sigma_p + 1725,0 (\pm 1,41) \quad (\text{equação III.4.3.1})$$

$$(n = 14; r = 0,933; s = 2,312; F = 80,939; Q^2 = 0,829; s\text{-PRESS} = 2,664)$$

Para **série II**, os valores previstos para as posições de absorção do grupo carbonila ($\nu_{\text{C=O}}$) (em cm^{-1}) na região do I.V. estão apresentados na **Tabela IV.3.2.3**. (item IV.3.2 -Resultados)

III.5-. Refratividade molar (MR_4) como parâmetro relativo à polarizabilidade

Para os compostos das **séries I e II**, foram utilizados como parâmetro relativo à polarizabilidade dos grupos substituintes, os valores de refratividade molar (MR_4 e MR_3) retirados da literatura (Kubinyi, 1993).

Os valores utilizados de MR_3 e MR_4 estão apresentados na **Tabela III.5.1**.

Tabela III.5.1-Valores de refratividade molar (MR_4 e MR_3) retirados da literatura (Kubinyi, 1993).

Composto	RM_4	RM_3
4-H	0,103	0,206
4-CH ₃	0,565	0,206
4-C ₂ H ₅	1,030	0,206
4-nC ₄ H ₉	1,959	0,206
4-tC ₄ H ₉	1,962	0,206
4-OCH ₃	0,787	0,206
4-nOC ₄ H ₉	2,166	0,206
4-COCH ₃	1,118	0,206
4-Cl	0,603	0,206
4-NO ₂	0,736	0,206
4-CN	0,633	0,206
4-OC ₆ H ₁₃	3,090	0,206
4-SO ₂ Me	1,349	0,206
4-CF ₃	0,502	0,206
3-CH ₃	0,103	0,668
3-OCH ₃	0,103	0,890
3-OC ₂ H ₅	0,103	1,350
3-nOC ₄ H ₉	0,103	2,269
3-F	0,103	0,195
3-Cl	0,103	0,706
3-Br	0,103	0,991
3-I	0,103	1,497
3-NO ₂	0,103	0,839
3-CN	0,103	0,737
3-CF ₃	0,103	0,605
3-N(CH ₃) ₂	0,103	1,658
3-SO ₂ CH ₃	0,103	1,452

IV. Resultados e Discussão

As análises em QSAR, sigla em inglês para *Relações Quantitativas entre Estrutura Química e Atividade biológica*, empregam diferentes estratégias metodológicas *complementares*. Estas são, utilizadas em diferentes áreas de aplicação como no planejamento e estudo do mecanismo de ação de compostos bioativos como fármacos e, menos frequentemente, os efeitos tóxicos de compostos em diferentes tecidos e sistemas. Na literatura são encontrados trabalhos utilizando esta abordagem aplicados a diferentes sistemas biológicos, apontando suas potencialidades, bem como as limitações de cada metodologia (Barreiro & Fraga, 2005; Bordas *et al.*, 2000; Dearden, 1991b; Giaginis & Tsantili-Kakoulidou, 2008; Hansch & Selassie, 2007).

Considera-se, fundamentalmente, que a atividade biológica de um composto, resultado da(s) interação(ões) deste com a(s) diferente(s) biofase(s), pode ser expressa pela contribuição de propriedades físico-químicas do composto (Análise de Hansch) ou de variáveis indicadoras (Análise de Free- Wilson). Procura-se, desta forma, estender os conceitos utilizados nos estudos dos mecanismos de reação em Química Orgânica, Físico-Química-Orgânica para sistemas mais complexos, ou seja, no entendimento e previsão de mecanismos que ocorrem em sistemas mais complexos, como bioquímicos, ou em animais.

Pela análise de Hansch, ou abordagem extratermodinâmica, a atividade biológica pode, então, ser expressa como uma função de parâmetros estruturais, respectivamente, lipofílicos, eletrônicos/polares, hidrofóbicos, estéricos e de dispersão. O emprego desta abordagem envolve tanto a proposição de um modelo matemático bem como a medida, ou cálculo, dos parâmetros responsáveis pela atividade e de suas contribuições relativas para a mesma. A análise subsequente dos resultados permite verificar tanto a validade, limitações bem como o poder de previsão do modelo proposto. O grau de complexidade do modelo utilizado dependerá de quão exatamente essas interações podem ser expressas, além da interação *per se*.

O Laboratório de QSAR e Modelagem Molecular de Compostos Bioativos do Instituto de Química da Universidade de São Paulo, liderado pela Prof^a. Associada Antonia Tavares do Amaral, vem se dedicando, nos últimos 20 anos, ao estudo de diferentes aspectos relacionados a compostos bioativos. Entre eles, destacam-se estudos de Relações Quantitativas entre Estrutura química e Atividade biológica, incluindo-se aqueles envolvendo modelagem molecular (QSAR/QSAR-3D), e estudos para 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; (Amaral *et al.*, 1997; Malvezzi, 2003; Siqueira, 2001;

Sousa, 1997; Tavares & Amaral, 1997; Tavares, 1987); antitumorais; (Raminelli, 2001) antibacterianos; (Baroni, 1987; Pires, 1998; Pires *et al.*, 2001; Tavares, 1993) anti-HIV; (Ishiki, 1999; Ishiki *et al.*, 2001); tuberculostáticos; (Ishiki, 2005) e antichagásicos; (Malvezzi *et al.*, 2008; Scotti, 2005). Mais recentemente, incluem-se projetos de pesquisa envolvendo o planejamento baseado no conhecimento da estrutura do receptor – denominado em inglês como *Structure Based Drug Design*; (Malvezzi, 2008) . Estes estudos foram planejados com o objetivo de contribuir para elucidar o mecanismo de ação destes compostos e, quando possível, para prever derivados mais potentes e/ou menos tóxicos.

No presente trabalho, destinado a tese de doutorado, desenvolvemos um estudo da relação entre a estrutura química e atividade antimicrobiana de séries de quatorze cloretos *N,N*[(dimetilamino)etil]-benzoatos para-substituídos, onde **R₄** = H, CH₃, C₂H₅, nC₄H₉, tC₄H₉, OCH₃, nOC₄H₉, COCH₃, Cl, CN, NO₂, OC₆H₁₃, SO₂Me, CF₃ (**Série I**: compostos I.1 a I.14) bem como para os quatorze cloretos meta-substituídos onde **R₃** = H, -CH₃, -OCH₃, -OC₂H₅, -OC₄H₉, -F, -Cl, -Br, -I, -NO₂, -CN, -CF₃, -N(CH₃)₂, SO₂CH₃ (**Série II**: compostos II.1. a II.14) . Os compostos haviam sido sintetizados anteriormente no grupo (Amaral *et al.*, 1997; Sousa, 1997).

Para as séries I e II, os valores do coeficiente de partição foram obtidos por cálculo (utilizando os programas CLOGP e ACD/LogP) bem como determinados experimentalmente pelo método CLAE e considerados parâmetros lipofílicos nos modelos de QSAR.

Adicionalmente, para as séries I e II, os valores da posição da banda de absorção da carbonila na região do infravermelho bem como do deslocamento químico da carbonila no RMN ¹³C foram determinados sendo o primeiro considerado como parâmetro eletrônico nos modelos QSAR. E, ainda, para as séries I e II os valores de MR₃ e de MR₄ , relacionados à refratividade molar, foram obtidos da literatura e considerados nas análises QSAR .

Para as séries I e II os valores de IC₅₀ (concentração inibição 50% do crescimento) foram determinados contra o fungo *Saccharomyces cerevisiae* (BY4741) e contra a bactéria *Escherichia coli* (DH5α) e considerados como parâmetros biológico nas análises QSAR.

Para as séries I e II e para as séries I e II reunidas modelos QSAR foram gerados e analisados visando avaliar a natureza e a contribuição de cada parâmetro estrutural para cada uma das atividades avaliadas. A aplicação dos modelos bilinear e parabólico foi verificada resultando modelos estatisticamente não-significativos.

IV.1. Escolha dos Substituintes

Neste trabalho, para duas séries de cloretos de *N,N*[(dimetilamino)etil] benzoatos *para*-substituídos (série I) e *meta*- substituídos (série II), os grupos substituintes foram selecionados de

acordo com o critério de Craig (Craig, 1971). Este tem o objetivo de selecionar substituintes, que apresentem inter-correlações não significativas entre os correspondentes parâmetros físico-químicos, respectivamente eletrônico, lipofílico e relacionados à refratividade molar, responsáveis pela atividade antimicrobiana apresentada por esta série de compostos avaliada, respectivamente, contra *S. cerevisiae* e contra *E. coli*, para posterior análise de QSAR. Em outras palavras, conforme já mencionado na metodologia (item II.2.1), por este critério, os substituintes selecionados devem apresentar **intercorrelações não significativas** entre os valores dos parâmetros físico-químicos responsáveis para a atividade antimicrobiana, ou seja, idealmente valores do coeficiente de correlação (r) entre os parâmetros analisados devem ser $\leq 0,3$.

Outro critério a ser observado na seleção dos substituintes considera as **faixas de variações** dos parâmetros físico-químicos analisados e do parâmetro biológico observado. Estas devem ser significativas.

Deste modo, neste trabalho, 27 cloretos de *N,N*[(dimetilaminoetil) benzoatos *para*- e *meta*-substituídos, análogos à procaína, foram estudados, sendo: $R_4 = -H, -CH_3, -C_2H_5, -nC_4H_9, -tC_4H_9, -OCH_3, -nOC_4H_9, -COCH_3, -NO_2, -Cl, -CN, -nOC_6H_{13}, -SO_2Me, -CF_3$, e $R_3 = -CH_3, -OCH_3, -OC_2H_5, -OC_4H_9, -F, -Cl, -Br, -I, -NO_2, -CN, -CF_3, -N(CH_3)_2, SO_2CH_3$, respectivamente agrupados em séries I e II. Vale ressaltar que esses compostos foram sintetizados anteriormente no grupo (Amaral *et al.*, 1997; Sousa, 1997).

Inicialmente, foram analisados os parâmetros físico-químicos/estruturais, potencialmente responsáveis pela atividade antimicrobiana, sendo eles: parâmetros lipofílicos, eletrônicos e os relativos a refratividade molar expressos pelos valores das constantes do grupo substituinte, respectivamente, hidrofóbica (π de Hansch, eletrônica σ de Hammett e relacionado à polarizabilidade (MR). Estes estão apresentados na tabela IV.1.1

Tabela IV.1.1- Valores dos parâmetros físico-químicos, lipofílicos, eletrônicos e os relativos à refratividade molar, retirados da literatura (Amaral *et al.*, 1997; Hansch *et al.*, 1995; Kubinyi, 1993; Sousa, 1997) para os grupos substituintes selecionados (**séries I e II**).

Composto	R_4 e/ou R_3	$\pi^{(a)}$	$\sigma^{(b)}$	$RM_4^{(c)}$	$RM_3^{(c)}$
I.1	4-H	0,00	0,00	0,103	0,206
I.2	4-CH ₃	0,60	-0,17	0,565	0,206
I.3	4-C ₂ H ₅	1,10	-0,15	1,030	0,206
I.4	4-nC ₄ H ₉	2,10	-0,16	1,959	0,206
I.5	4-tC ₄ H ₉	1,88	-0,20	1,962	0,206
I.6	4-OCH ₃	-0,03	-0,27	0,787	0,206
I.7	4-nOC ₄ H ₉	1,47	-0,32	2,166	0,206
I.8	4-COCH ₃	-0,39	0,50	1,118	0,206
I.9	4-Cl	0,73	0,23	0,603	0,206
I.10	4-NO ₂	0,22	0,78	0,736	0,206
I.11	4-CN	-0,33	0,66	0,633	0,206

Composto	R ₄ e/ou R ₃	$\pi^{(a)}$	$\sigma^{(b)}$	RM ₄ ^(c)	RM ₃ ^(c)
I.12	4-OC ₆ H ₁₃	2,47	-0,32	3,090	0,206
I.13	4-SO ₂ Me	-1,20	0,72	1,349	0,206
I.14	4-CF ₃	1,04	0,54	0,502	0,206
II.2	3-CH ₃	0,52	-0,07	0,103	0,668
II.3	3-OCH ₃	0,12	0,12	0,103	0,890
II.4	3-OC ₂ H ₅	0,62	0,10	0,103	1,350
II.5	3-nOC ₄ H ₉	1,62	0,10	0,103	2,269
II.6	3-F	0,22	0,34	0,103	0,195
II.7	3-Cl	0,77	0,37	0,103	0,706
II.8	3-Br	0,96	0,39	0,103	0,991
II.9	3-I	1,18	0,35	0,103	1,497
II.10	3-NO ₂	0,11	0,71	0,103	0,839
II.11	3-CN	-0,31	0,56	0,103	0,737
II.12	3-CF ₃	1,10	0,43	0,103	0,605
II.13	3-N(CH ₃) ₂	0,11	-0,16	0,103	1,658
II.14	3-SO ₂ CH ₃	-1,25	0,60	0,103	1,452

^(a) π = constante hidrofóbica de Hansch;

^(b) σ = constante de Hammett;

^(c) RM = refratividade molar.

Para a **série I** variações significativas foram observadas com relação ao parâmetro eletrônico ($\Delta\sigma \sim 1,1$) apresentando os seguintes valores extremos: $\sigma_p(R_4=NO_2)=0,78$ e $\sigma_p(R_4=nOC_4H_9)=-0,32$. Para os parâmetros hidrofóbicos e aquele relacionado à polarizabilidade, foram observadas variações respectivamente de $\Delta\pi \sim 3,67$ (sendo $\pi(R_4=OC_6H_{13})=2,47$ e $\pi(R_4=SO_2CH_3)=-1,20$) e de $\Delta MR \sim 3,0$ (sendo $MR_4(R_4=OC_6H_{13})=3,090$ e $MR_4(R_4=H)=0,103$).

Analogamente, para a **série II**, variações significativas foram observadas com relação ao parâmetro eletrônico ($\Delta\sigma = 0,86$), apresentando os seguintes valores extremos: $\sigma_m(R_3=NO_2)=0,71$ e $\sigma_m(N(CH_3)_2)=-0,16$. Para os parâmetros hidrofóbicos e aquele relacionado à polarizabilidade foram observadas variações, respectivamente, de $\Delta\pi = 2,87$, sendo $\pi_m(R_3=OC_4H_9)=1,62$ e $\pi_m(R_3=SO_2CH_3)=-1,25$ e de $\Delta MR=1,45$, sendo $MR_3(R_3=N(CH_3)_2)=3,09$ e $MR_3(R_3=H)=0,103$.

Procedendo-se de modo análogo para as **séries I e II** reunidas, foram observadas variações significativas com relação ao parâmetro eletrônico ($\Delta\sigma=1,1$) que apresentou os seguintes valores extremos: $\sigma_p(R_4=NO_2)=0,78$ e $\sigma_p(R_4=OC_4H_9)=-0,32$. Para os parâmetros hidrofóbicos e aquele relacionado à polarizabilidade foram observadas variações de $\Delta\pi=3,72$ (sendo $\pi_p(R_4=OC_6H_{13})=2,47$) $\pi_m(R_3=SO_2CH_3)=-1,25$ e de $MR \sim 3,0$ (sendo $MR_4(R_4=OC_6H_{13})=3,090$ e $MR_{3,4}(R_{3,4}=H)=0,103$), respectivamente.

Conforme descrito na metodologia (item II.2.1) consideram-se **intercorrelações não significativas** aquelas que apresentam valores de coeficiente de correlação $r \leq 0,3$ nas intercorrelações entre os parâmetros lipofílico, eletrônico e relativo à polarizabilidade na série estudada.

Estão apresentados nas tabelas IV.1.2 a IV.1.5 os valores do coeficiente de correlação (r^2) observados para as séries I, II e para as séries I e II reunidas.

Tabela IV.1.2- Valores de coeficiente de correlação (r^2) nas intercorrelações entre os parâmetros lipofílico, eletrônico e relativo à polarizabilidade para os substituintes da **série I**. (n=14)

	$\pi^{(a)}$	$\sigma^{(b)}$	$RM_4^{(c)}$
π	1,00	0,450	0,435
σ	σ	1,00	0,215
RM_4			1,00

(a) π = constante hidrofóbica de Hansch;

(b) σ = constante de Hammett;

(c) RM = refratividade molar.

Na Tabela IV.1.2 observa-se que para a série I existe uma intercorrelação significativa ($r^2 = 0,435$) entre π e RM_4 bem como entre π e σ ($r^2=0,450$).

No entanto, a aplicação do modelo de Hansch só será permitida se a série estudada apresentar intercorrelações não significativas entre os parâmetros analisados. Desta forma, o composto (**I.12**, $R_4=OC_6H_{13}$) deve ser excluído da **série I**, na tentativa de se obter valores de coeficiente de correlação menores do que os observados na série original.

Tabela IV.1.3- Valores de coeficiente de correlação (r^2) nas intercorrelações entre os parâmetros lipofílico, eletrônico e relativo a polarizabilidade para os substituintes da **série I**, excluindo-se o composto **I.12**, $R=4-OC_6H_{13}$ (n=13).

	$\pi^{(a)}$	$\sigma^{(b)}$	$RM_4^{(c)}$
π	1,00	0,392	0,266
σ		1,00	0,133
RM_4			1,00

(a) π = constante hidrofóbica de Hansch;

(b) σ = constante de Hammett;

(c) RM_4 = refratividade molar.

Como pode ser observado na Tabela IV.1.3, para a série I, excluindo-se o derivado hexiloxi ($R_4= -OC_6H_{13}$; n=13), observa-se que os valores de coeficiente correlação para a intercorrelação entre π e RM_4 foram reduzidos de $r^2 = 0,435$ ($r=0,659$, n=14) para 0,266 ($r=0,515$, n=13) e para a intercorrelação entre π e σ de $r^2=0,450$ ($r=0,670$, n=14) para **0,392** ($r=0,626$, n=13). Ao mesmo tempo observa-se que os valores das intercorrelações r^2 entre σ e RM_4 são iguais a 0,215 ($r=0,463$, n=14) e 0,133 ($r=0,364$, n=13). Desta forma, a exclusão do derivado hexiloxi tornou nesta série (série I, n=13) as intercorrelações entre os parâmetros analisados não significativos.

Tabela IV.1.4- Valores de coeficiente de correlação (r^2) nas intercorrelações entre os parâmetros lipofílico, eletrônico e relativo à polarizabilidade para os substituintes da **série II**. (n=14).

	$\pi^{(a)}$	$\sigma^{(b)}$	$MR_3^{(c)}$
π (lit)	1,00	0,064	0,064
σ		1,00	0,027
RM_3 (lit)			1,00

^{a)} π = constante hidrofóbica de Hansch;

^{b)} σ = constante de Hammett;

^{c)} RM = refratividade molar.

Na Tabela IV.1.4 constata-se pela análise dos valores do coeficiente de correlação (r^2) obtidos que para a série II **intercorrelações não significativas** entre os parâmetros lipofílicos (π), eletrônicos (σ) e, relativos à refratividade molar (MR) foram observadas, de acordo com o descrito anteriormente (item II.2.1). Esses valores não significativos nas intercorrelações entre os parâmetros para a **série II** indicam, portanto, que estes parâmetros descrevem de maneira independente as propriedades lipofílica, eletrônica bem como as relativas à refratividade molar, podendo estes parâmetros ser usados no modelo de Hansch, para descrever a contribuição para as atividades antimicrobianas, avaliadas respectivamente contra *S. cerevisiae* (BY4741) e *E. coli* (DH5 α), para a série II.

Estão apresentados na tabela IV.1.5 os valores do coeficiente de correlação (r^2) observados para as séries I e II reunidas ($n=27$).

Tabela IV.1.5- Valores do coeficiente de correlação (r^2) nas intercorrelações entre os parâmetros lipofílico, eletrônico e relativo a polarizabilidade para os substituintes da **série I e II**. ($n=27$).

	$\pi^{(a)}$	$\sigma^{(b)}$	$RM_4^{(c)}$	$RM_3^{(c)}$
π	1,00	0,313	0,259	0,001
σ		1,00	0,181	0,010
RM_4			1,00	0,244
RM_3				1

^{a)} π = constante hidrofóbica de Hansch;

^{b)} σ = constante de Hammett;

^{c)} RM = refratividade molar.

Na Tabela IV.1.5 constata-se, pela análise dos valores do coeficiente de correlação (r^2) obtidos, que para as séries I e II reunidas **intercorrelações não significativas** entre os parâmetros lipofílicos (π), eletrônicos (σ) e relativos à refratividade molar (MR) foram observadas, de acordo com o descrito anteriormente (item II.2.1). Deste modo, com a reunião das duas séries ($n=27$) observa-se que os valores do coeficiente de correlação nas intercorrelações são menos significativos quando comparados com o observado na série I, isoladamente.

IV.2 Purificação e caracterização dos compostos utilizados

Nesta tese de doutorado, os 27 compostos (séries I e II) foram sintetizados anteriormente no grupo, a partir de reação do correspondente ácido benzóico *para-* ou *meta-* substituído (comercial ou preparado) com cloreto de (2-cloroetil)dimetilamônio ou com cloretoetil-dimetilamina (Amaral *et al.*, 1997). Um esquema da reação de obtenção está apresentada na Figura IV.2.1.

Figura IV.2.1- Esquema para a preparação dos cloretos de *N,N*[(dimetilamino)etil] *para* ou *meta* - substituídos, séries I e II.

Os compostos da série I ($R_4 = \text{CF}_3$ e tC_4H_9) foram purificados por recristalização, utilizando-se a mistura (etanol-éter etílico; 90:10, v/v) como solvente, de acordo com indicações da literatura (Amaral *et al.*, 1997). Os demais apresentaram graus de pureza satisfatórios, maiores do que 90%, por CG e foram considerados, nesta tese, puros. Os rendimentos observados nas recristalizações e os percentuais nos cromatogramas estão apresentados na tabela IV.2.1

Os compostos da série II não foram purificados, pois apresentarem graus de pureza satisfatórios, maiores que ~ 90% pelas análises de CG ($R_3 = -\text{CH}_3$; $-\text{OCH}_3$; $-\text{OC}_4\text{H}_9$; $-\text{F}$, $-\text{NO}_2$ $-\text{CN}$, $-\text{CF}_3$ e, SO_2CH_3) ou por análise elementar ($R_3 = -\text{H}$, $-\text{OC}_2\text{H}_5$, $-\text{Cl}$, $-\text{Br}$, $-\text{I}$ e $-\text{N}(\text{CH}_3)_2$). Os percentuais observados nos cromatogramas estão apresentados na tabela IV.2.1

Adicionalmente, para todos os compostos das **séries I e II** o grau de pureza de cada composto foi avaliado pelo correspondente ponto de fusão (PF), e estes não foram corrigidos. O método utilizado está descrito no item III.2. Os valores observados para os pontos de fusão dos compostos das **séries I e II** estão apresentados na tabela IV.2.1.

Tabela IV.2.1- Valores dos rendimentos observados nas recristalizações; dos PF e, das porcentagens, verificados nas das análises de cromatografia à gás (CG), para a série de 27 cloretos de *N,N*[(dimetilaminoetil) benzoatos *para*- substituídos.

Composto		Método de Purificação (Recristalização)		Análise do grau de Pureza		Referência.
Número	R	Solvente	Rend (%)	CG	PF (°C)	
I.1	4-H	--	--	89,0	148	Amaral <i>et al.</i> , 1997
I.2	4-CH ₃	--	--	97,0	164	"
I.3	4-C ₂ H ₅	--	--	93,0	135	"
I.4	4-nC ₄ H ₉	--	--	91,9	102	"
I.5	4-tC ₄ H ₉	Etanol/Éter --	76,5	90,0	175-176	"
I.6	4-OCH ₃	--	--	99,2	157,5-159,5	"
I.7	4-nOC ₄ H ₉	--	--	92,0	122-124	"
I.8	4-COCH ₃	--	--	100,0	171-172	"
I.9	4-Cl	--	--	96,0	193-194	"
I.10	4-NO ₂	--	--	99,3	145-146	"
I.11	4-CN	--	--	90,0	203-204	"
I.12	4-nOC ₆ H ₁₃	--	--	97,0	123	"
I.13	4-SO ₂ CH ₃	--	--	90,0	235	"
I.14	4-CF ₃	Etanol/Éter	35,0	97,7	199-200	"
II.2	3-CH ₃	--	--	96,8	80-85	Sousa, 1997
II.3	3-OCH ₃	--	--	99,0	131-132	"
II.4	3-OC ₂ H ₅	--	--	96,0	141,00	"
II.5	3-nOC ₄ H ₉	--	--	99,5	174-185	"

Composto		Metodo de Purificação (Recristalização)		Análise do grau de Pureza		Referência.
Número	R	Solvente	Rend (%)	CG	PF (°C)	
II.6	3-F	--	--	99,0	155-156	"
II.7	3-Cl	--	--	-	151-153	"
II.8	3-Br	--	--	-	158-160	"
II.9	3-I	--	--	-	173-175	"
II.10	3-NO ₂	--	--	99,0	148-150	"
II.11	3-CN	--	--	99,0	165,0	"
II.12	3-CF ₃	--	--	99,0	128,0	"
II.13	3-N(CH ₃) ₂	--	--	-	174-185	"
II.14	3-SO ₂ CH ₃	--	--	95,0	150-153	"

Para todos os compostos da **série I e II** foi realizada a análise de pureza por cromatografia a gás (CG), exceto para os derivados da **série II** que apresentam baixa solubilidade em acetona ou em clorofórmio, sendo eles: compostos II. 4, II. 7, II.8, II.9, e II.13 ($R_3 = \text{OC}_2\text{H}_5, \text{Cl}, \text{Br}, \text{I}, \text{N}(\text{CH}_3)_2$). Para os demais compostos, os valores observados nas análises variaram na faixa entre 89,0 a 100,0% e estes foram considerados puros. Os valores de percentuais dos compostos das séries I e II estão apresentados na tabela IV.2.1. O método utilizado nas análises CG está descrito no item II.2.3.

A baixa solubilidade em acetona de alguns compostos limita a avaliação do grau de pureza pela análise de CG. Assim, o grau de pureza dos compostos da **série II**, a saber, II. 4, II. 7, II.8, II.9, e II.13 ($R = \text{OC}_2\text{H}_5, \text{Cl}, \text{Br}, \text{I}, \text{e N}(\text{CH}_3)_2$), foi avaliado através das análises elementares (CNH) e, os valores obtidos foram comparados com os correspondentes valores teóricos. Para estes compostos, apresentados na tabela IV.2.2 verifica-se que as variações observadas estão dentro do limite de 0,4%, exceto para o composto **I.13** ($R_3 = \text{N}(\text{CH}_3)_2$), isso se deve ao fato do composto ser muito higroscópico.

Tabela IV.2.2 - Valores das porcentagens observadas nas análises elementares experimentais e teóricos observados para alguns compostos da **série II** [I.1, II. 4, II. 7, II.8, II.9, e II.13 ($R_3 = \text{OC}_2\text{H}_5, \text{Cl}, \text{Br}, \text{I}, \text{e N}(\text{CH}_3)_2$)].

composto	R ₃	Calculado			Experimental			Δ	Δ	Δ
		%C	%H	%N	%C	%H	%N	%C	%H	%N
II.1	H	57,67	7,04	6,11	57,57	6,79	6,01	0,1	0,25	0,1
II.4	3-OC ₂ H ₅	57,17	7,38	5,13	57,24	7,28	4,98	0,07	0,1	0,15
II.7	3-Cl	50,23	5,75	5,32	49,99	5,69	5,28	0,24	0,06	0,04
II.8	3-Br	43,04	4,92	4,56	42,80	4,89	4,48	0,24	0,03	0,08
II.9	3-I	37,22	4,26	3,94	37,37	4,11	3,81	0,15	0,15	0,13
II.13	3-N(CH ₃) ₂	50,87	6,89	9,12	49,74	7,29	8,87	1,13	0,4	0,25

Todos os compostos das **séries I e II** foram caracterizados pelas análises dos respectivos espectros de RMN ¹H e de RMN ¹³C. A identificação de cada composto foi feita por comparação e foi coerente com os valores registrados na literatura (Amaral *et al.*, 1997; Sousa, 1997). Os valores dos deslocamentos de RMN ¹H e de RMN ¹³C estão apresentados nas tabelas (III.2.5 a III.2.10, item III -

Parte Experimental). As condições de registro e a metodologia utilizada estão descritas no item II.2.3 (Metodologia).

IV.3 Parâmetros Físico-Químicos e Estruturais

Nesta tese, serão apresentados e discutidos, a seguir, os parâmetros hidrofóbico, eletrônico e aqueles relacionados com a refratividade molar. Os correspondentes parâmetros biológicos foram apresentados e discutidos no item IV.3.4. Serão apresentados os valores de π de Hansch-Fujita tabelados e de $\log P_{\text{CLOGP}}$; $\log P_{\text{ACD}}$; $\log P_{\text{CLAE}}$; $\log P_{\text{SF}}$ considerados como parâmetro hidrofóbico e valores de σ_p e de σ_m de Hammett, de $\mathcal{S}$ e $\mathcal{R}$ de Swain e Lupton; de $\delta(\text{C=O})$ e de $\nu(\text{C=O})$ considerados como parâmetro eletrônico e valores de MR_4 , MR_3 , como parâmetros relacionados à refratividade molar.

IV.3.1 Parâmetros Lipofílicos

Relativo ao Substituinte

Em uma primeira etapa, a análise do efeito hidrofóbico foi feita considerando-se como parâmetro lipofílico relativo ao substituinte os valores de π_p e π_m de Hansch-Fujita, retirados da literatura (Hansch *et al.*, 1995). A seguir, os valores das constantes hidrofóbicas dos substituintes (π_{exp}) foram obtidos a partir dos valores do coeficiente de partição determinados experimentalmente ($\log P_{\text{app}}$).

Os valores das constantes hidrofóbicas dos substituintes π_p , π_m e π_{exp} para as duas séries de substituintes estudados neste trabalho estão apresentados nas tabelas IV.3.1.1, respectivamente para as séries I, II.

Tabela IV.3.1.1- Valores de π , retirados da literatura, e de π_{exp} , obtidos a partir dos valores de $\log P_{\text{app}}$, determinados por CLAE e por *shake-flask*, para a **série I (compostos de I.1 a I.14)**.

Composto		$\pi_{\text{(lit)}}$	$\pi_{\text{(exp)}}$		Diferenças		
	-R	π	π_{expSF}	$\pi_{\text{exp-CLAE}^*}$	$\Delta\pi_{\text{SF-}\pi_{\text{(lit)}}$	$\Delta\pi_{\text{expCLAE-}\pi_{\text{(lit)}}$	$\Delta\pi_{\text{expCLAE-}\pi_{\text{SF}}}$
I.1	4-H	0,0	0,0	0,0	0	0,00	0
I.2	4-CH ₃	0,6	0,46	0,46	-0,14	-0,14	0
I.3	4-C ₂ H ₅	1,1	1,09	0,91	-0,01	-0,19	-0,18
I.4	4-nC ₄ H ₉	2,1	2,00	1,91	-0,1	-0,19	-0,09
I.5	4-tC ₄ H ₉	1,88	1,88	1,75	0,0	-0,13	-0,13
I.6	4-OCH ₃	-0,03	0,15	0,17	0,18	0,20	0,02
I.7	4-nOC ₄ H ₉	1,47	1,85	1,6	0,38	0,13	-0,25
I.8	4-COCH ₃	-0,39	-0,29	-0,16	0,1	0,23	0,13
I.9	4-Cl	0,73	0,77	0,74	0,04	0,01	-0,03
I.10	4-NO ₂	0,22	-0,16	0,22	-0,38	0,00	0,38
I.11	4-CN	-0,33	-0,43	-0,33	-0,1	0,00	0,1
I.12	4-nOC ₆ H ₁₃	2,47	2,84	2,31	0,37	-0,16	-0,53
I.13	4-SO ₂ CH ₃	-1,2	-1,41	-1,15	-0,21	0,05	0,26
I.14	4-CF ₃	1,04	1,02	0,99	-0,02	-0,05	-0,03

(a) Valores retirados da literatura (Amaral *et al.*, 1997; Kubinyi, 1993);

(b e c) Valores obtidos da equação $\pi = (\log P_{\text{CLAE}})_{\text{R}} - (\log P_{\text{CLAE}})_{\text{H}}$ (item, III.3.1);

(d, e) Valores obtidos da expressão: $\Delta\pi = \pi_{\text{exp}} - \pi_{\text{(lit)}}$.

(f) Valores obtidos da expressão: $\Delta\pi = \pi_{\text{exp (CLAE)}} - \pi_{\text{exp (SF)}}$

Tabela IV.3.1.2- Valores de π , retirados da literatura, e de π_{exp} , obtidos a partir dos valores de $\log P_{\text{app}}$, determinados por CLAE e por *shake-flask* para a **série II (compostos II.1 a II.14)**.

Composto		$\pi_{\text{(lit)}}$	$\pi_{\text{(exp)}}$		Diferenças		
	R	π	$\pi_{\text{exp SF}}$	$\pi_{\text{exp CLAE}^*}$	$\Delta\pi_{\text{SF-}\pi}$	$\Delta\pi_{\text{CLAE-}\pi}$	$\Delta\pi_{\text{CLAE-}\pi_{\text{SF}}}$
II.1	H	0,00	0,00	0,0	0,00	0,00	0,00
II.2	3-CH ₃	0,52	0,53	0,67	0,01	0,15	0,14
II.3	3-OCH ₃	0,12	0,14	0,15	0,02	0,03	0,01
II.4	3-OC ₂ H ₅	0,62	0,69	0,73	0,07	0,11	0,04
II.5	3-nOC ₄ H ₉	1,62	1,88	1,66	0,26	0,04	-0,22
II.6	3-F	0,22	0,17	0,21	-0,05	-0,01	0,04
II.7	3-Cl	0,77	0,66	0,69	-0,11	-0,08	0,03
II.8	3-Br	0,96	0,92	0,93	-0,04	-0,03	0,01
II.9	3-I	1,18	1,27	1,19	0,09	0,01	-0,08
II.10	3-NO ₂	0,11	-0,21	-0,08	-0,32	-0,19	0,13
II.11	3-CN	-0,31	-0,58	-0,40	-0,27	-0,09	0,18
II.12	3-CF ₃	1,1	0,91	0,84	-0,19	-0,26	-0,07
II.13	3-N(CH ₃) ₂	0,11	0,49	0,55	0,38	0,44	0,06
II.14	3-SO ₂ CH ₃	-1,25	-1,33	-0,79	-0,08	0,46	0,54

(a) Valores retirados da literatura (Hansch *et al.*, 1995)

(b e c) Valores obtidos da equação $\pi = (\log P_{\text{app}})_{\text{R}} - (\log P_{\text{app}})_{\text{H}}$ (item, III.3.1.);

(d, e) Valores obtidos da expressão: $\Delta\pi = \pi_{\text{exp}} - \pi_{\text{(lit)}}$.

(f) Valores obtidos da expressão: $\Delta\pi = \pi_{\text{exp (CLAE)}} - \pi_{\text{exp (SF)}}$

Como pode ser observado na tabela IV.3.1.1, para os compostos da série I os valores de π retirados da literatura (Hansch *et al.*, 1995), apresentaram uma faixa de variação de 3,67 unidades. O substituinte com maior caráter lipofílico foi o 4-OC₆H₁₃ (composto I.12), apresentando $\pi = 2,47$. E, o substituinte com maior caráter hidrofílico foi o 4-SO₂CH₃ (composto I.13), apresentando $\pi = -1,20$.

Para os compostos da série II os valores de π , retirados da literatura (Hansch *et al.*, 1995), apresentaram uma faixa de variação de 3,18 unidades. O substituinte com maior caráter lipofílico foi o 3-OC₄H₉ (composto II.5), apresentando $\pi=1,55$. Por outro lado, o substituinte com maior caráter hidrofílico foi o 3-SO₂CH₃ (composto II.14), apresentando $\pi=-1,63$.

Considerando-se que é importante descrever o sistema por parâmetros obtidos experimentalmente, torna-se necessário obter também parâmetros experimentais que descrevam as interações hidrofóbicas tanto da molécula toda bem como do substituinte.

Desta forma, foram calculados os valores da constante hidrofóbica de substituinte experimental, $\pi_{(exp)}$. Estes foram obtidos dos valores de $\log P_{app}$ determinados experimentalmente para cada um dos compostos das séries I e II (compostos de I.1 a I.14 e II.1 a II.14), apresentados nas Tabelas IV.3.1.1 e Tabelas IV.3.1.2.

Como pode ser observado nos valores de $\Delta\pi$ apresentados na **Tabela IV.3.1.1** e **Tabela IV.3.1.2**, estes são constantes dentro do erro experimental. Assim, **esta observação pode ser interpretada pela ausência de interações hidrofóbicas específicas para estes substituintes**, nas duas séries estudadas.

$$\text{Série I: } \pi_{(exp)} = +0,919 (\pm 0,064) \pi_{(lit)} + 0,0389 (\pm 0,079) \quad (\text{eq. IV.3.1.1})$$

$$(n = 14; r = 0,994; s = 0,112; F = 979,848; Q^2 = 0,984; s\text{-PRESS} = 0,128)$$

Figura IV.3.1.1- Gráfico e equação de correlação para os valores de $\pi_{(CLAE)}$ em função de valores de $\pi_{(lit)}$, retirados da literatura, para os compostos I.1 aos I.14, **série I**.

$$\text{Série II: } \pi(\text{exp}) = + 0,865 (\pm 0,16)\pi(\text{lit}) + 0,0969 (\pm 0,13) \quad (\text{eq. IV.3.1.2})$$

$$(n = 14; r = 0,961; s = 0,186; F = 146,478; Q^2 = 0,885; s\text{-PRESS} = 0,229)$$

Figura IV.3.1.2- Gráfico e equação de correlação para os valores de $\pi_{(\text{CLAE})}$, em função de valores de π , retirado da literatura, para os compostos II.1 a II.14, **série II**.

$$\text{Séries I e II: } \pi(\text{exp}) = + 0,897 (\pm 0,068)\pi(\text{lit}) + 0,0714 (\pm 0,068) \quad (\text{eq. IV.3.1.3})$$

$$(n = 27; r = 0,984; s = 0,152; F = 746,248; Q^2 = 0,962; s\text{-PRESS} = 0,166)$$

Figura IV.3.1.3 - Gráfico e equação de correlação para os valores de $\pi_{(\text{CLAE})}$, em função de valores de π , retirado da literatura, para os compostos das **séries I e II**.

Relativo à molécula toda

A lipofilicidade da molécula toda foi avaliada através dos valores do coeficiente de partição obtidos por cálculo ($\log P_{\text{CLOGP}}$ e $\log P_{\text{ACD}}$) bem como pelos valores de coeficiente de partição aparente obtidos experimentalmente por CLAE, ou retirados da literatura, por *shake-flask*, ($\log P_{\text{CLAE}}$, $\log P_{\text{SF}}$).

Os valores observados para $\log P_{\text{CLAE}}$, $\log P_{\text{CLOGP}}$, $\log P_{\text{ACD}}$ e para $\log P_{\text{SF}}$ estão apresentados nas tabelas IV.3.1.3 e tabela IV.3.1.4, respectivamente para as séries I e II.

Tabela IV.3.1.3: Valores do coeficiente de partição, determinados experimentalmente ($\log P_{\text{CLAE}}$) e obtidos por cálculo ($\log P_{\text{CLOGP}}$, de $\log P_{\text{ACD}}$), para a série I (compostos I.1 a I.14).

Composto	R	Exp.	Por cálculo		Da literatura		Diferenças			
		$\log P_{\text{CLAE}}^{(a)}$	$\text{CLOGP}^{(b)}$	$\log P_{\text{ACD}}^{7,4(c)}$	$\log P_{\text{SF}}^{(d)}$	$\log P_{\text{CLAE}}^{(e)}$	$\Delta_{\text{CLAE-CLOGP}}$	$\Delta_{\text{CLAE-ACD}}$	$\Delta_{\text{CLAE-SF}}$	$\Delta_{\text{CLOGP-ACD}}$
I.1	4-H	1,09±0,01	2,02	1,02	0,86	0,83	-0,93	0,07	0,23	1,00
I.2	4-CH ₃	1,55 ±0,01	2,51	1,68	1,32	1,54	-0,96	-0,13	0,23	0,83
I.3	4-C ₂ H ₅	2,00±0,01	3,04	2,21	1,95	1,95	-1,04	-0,21	0,05	0,83
I.4	4-nC ₄ H ₉	3,00±0,01	4,1	3,27	2,86	2,89	-1,10	-0,27	0,14	0,83
I.5	4-tC ₄ H ₉	2,84±0,01	3,84	2,91	2,74	2,63	-1,00	-0,07	0,10	0,93
I.6	4-OCH ₃	1,26±0,02	2,24	1,28	1,01	1,01	-0,98	-0,02	0,25	0,96
I.7	4-nOC ₄ H ₉	2,69±0,01	3,82	2,88	2,71	2,63	-1,13	-0,19	-0,02	0,94
I.8	4-COCH ₃	0,93±0,01	1,73	1,16	0,57	0,48	-0,8	-0,23	0,36	0,57
I.9	4-Cl	1,83±0,01	2,81	1,83	1,63	1,63	-0,98	0,00	0,20	0,98
I.10	4-NO ₂	1,31±0,01	1,92	0,91	0,7	0,73	-0,61	0,40	0,61	1,01
I.11	4-CN	0,76±0,02	1,63	0,95	0,43	0,36	-0,87	-0,19	0,33	0,68
I.12	4-nOC ₆ H ₁₃	3,4 ^(e)	4,88	3,94	3,7	3,8	-1,48	-0,54	-0,3	0,94
I.13	4-SO ₂ CH ₃	-0,06±0,01	0,55	0,04	-0,55	-0,7	-0,61	-0,10	0,49	0,51
I.14	4-CF ₃	2,08±0,01	3,03	2,26	1,88	1,87	-0,95	-0,18	0,2	0,77

^(a) Os valores de $\log P_{\text{app}}$ foram obtidos por CLAE, em duplicata, para o sistema 1-octanol/água (tampão trisma pH = 7,40 e μ = 0,1 M (ajustada com adição de NaCl) em sala com temperatura ajustada e mantida constante a (23±1) °C), como descrito no item II.3.2. ^(b) ^(c) Valores do coeficiente de partição obtidos pelos programas CLOGP, versão 1,0 para Windows, 1995, Biobyte, USA (Biobyte Corp., 1995) e ACD/LogP, versão 9.04, 2005 (Mannhold & Ostermann, 2008). ^(d) Valores retirados da literatura (Amaral *et al.*, 1997); ^(e) Valor estimado pela equação $\log P_{\text{CLAE}} = 0,867(\pm 0,062)_{\text{CLOGP}} - 0,572(\pm 0,17)$.

Tabela IV.3.1.4- Valores do coeficiente de partição determinados experimentalmente ($\log P_{\text{CLAE}}$) e obtidos por cálculo ($\log P_{\text{CLOGP}}$, de $\log P_{\text{ACD}}$) para a série II (compostos II.2 a II.14).

composto	R	Exp.	Por cálculo		Literatura	Diferenças			
	R	$\log P_{\text{CLAE}}^{(a)}$	$\text{CLOGP}^{(b)}$	$\log P_{\text{ACD}}^{7,4(c)}$	$\log P_{\text{SF}}^{(d)}$	$\Delta_{\text{(CLAE-CLOGP)}}$	$\Delta_{\text{(CLAE-ACD)}}$	$\Delta_{\text{(CLAE-SF)}}$	$\Delta_{\text{(CLOGP-ACD)}}$
II.1	H	1,09±0,01	2,02	1,02	0,86	-0,93	0,07	0,23	1,00
II.2	3-CH ₃	1,76±0,01	2,52	1,68	1,37	-0,76	0,08	0,39	0,84
II.3	3-OCH ₃	1,24±0,01	2,20	1,12	0,97	-0,96	0,12	0,27	1,08
II.4	3-OC ₂ H ₅	1,82±0,01	2,72	1,65	1,52	-0,9	0,17	0,30	1,07
II.5	3-nOC ₄ H ₉	2,75±0,01	3,78	2,71	2,71	-1,03	0,04	0,04	1,07
II.6	3-F	1,30±0,01	2,16	1,51	1,00	-0,86	-0,21	0,30	0,65
II.7	3-Cl	1,78±0,01	2,73	1,91	1,49	-0,95	-0,13	0,29	0,82
II.8	3-Br	2,02±0,01	2,88	1,93	1,75	-0,86	0,09	0,27	0,95
II.9	3-I	2,28±0,06	3,14	2,36	2,10	-0,86	-0,08	0,18	0,78
II.10	3-NO ₂	1,01±0,01	1,76	0,91	0,61	-0,75	0,10	0,40	0,85
II.11	3-CN	0,69±0,01	1,45	0,9	0,25	-0,76	-0,21	0,44	0,55
II.12	3-CF ₃	1,93±0,01	2,90	2,32	1,74	-0,97	-0,39	0,19	0,58
II.13	3-N(CH ₃) ₂	1,64±0,01	2,52	1,30	1,33	-0,88	0,34	0,31	1,22
II.14	3-SO ₂ CH ₃	0,30±0,01	0,61	-0,037	-0,51	-0,31	0,34	0,81	0,65

^(a) Valores do coeficiente de partição obtidos, em duplicata, por CLAE no sistema octanol-água em Tampão Trisma 0,05M; pH = 7,4; (=0,1 mol/L (NaCl), (23±1°C).

^(b,c) Valores do coeficiente de partição obtidos pelos programas CLOGP®, versão 1,0 para Windows, 1995, Biobyte, USA (Leo, 1993) e ACD/logP®, versão 9.04, 2005, (Advanced Chemistry Development Inc., Toronto Ont., Canada, 2005)

^(d) Valores retirados da literatura (Sousa, 1997).

Na tabela IV.3.1.4.A. estão apresentados os valores do coeficiente de partição de alguns compostos análogos à procaína. Como pode ser observado a etidocaína é o composto mais lipofílico com o valor igual a 4,19 e a benzocaína o mais hidrofílico com o valor de $\log P$ igual a 1,44.

Tabela IV.3.1.4.A. Valores de $\log P$ de alguns análogos da procaína com atividade anestésica local, determinados para o sistema octanol/água (tampão fosfato 0,025M; pH 11,2; 0,1 NaOH) Grouls *et al.*, 1997

Composto	Nome	$\log P_{app}$ (Grouls <i>et al.</i> , 1997)	pK_a (Craig, 1990)
	Lidocaína	3,40 *	7,90
	Tetracaína	4,32*	8,39
	Procaína	2,51*	8,11
	Mepivacaína	2,69*	7,7
	Etidocaína	4,19*	7,9
	Bupivacaína	4,05*	8,10
	Prilocaina	2,73*	1,65
	Benzocaína	1,44*	2,51

*desvio menor que 3%.

Para as séries I e II, a lipofilicidade de cada composto foi avaliada por meio dos valores de coeficiente de partição calculado ($\log P_{CLOGP}$ e $\log P_{ACD}$), obtidos, respectivamente, pelo programa CLOGP, versão 1.0.0. para Windows (1995), Biobyte, USA e pelo programa ACD/LogP, vs. 9.04, 2005 (Advanced Chemistry Development Inc., Toronto Ont., Canada, 2005). No programa CLOGP, os valores de $\log P_{CLOGP}$ obtidos referem-se a partição dos compostos no sistema 1-octanol/água e não incluem a contribuição dos fragmentos iônicos/ionizáveis presentes nos compostos das séries (Leo, 1993).

O programa ACD/LogP se baseia no princípio da contribuição aditiva dos fragmentos. Os valores do logP utilizados são de estruturas únicas descritas experimentalmente e considera a contribuição da ionização das espécies na partição. O programa exhibe o perfil do gráfico das espécies na faixa de pH de 0 a 14, o que inclui a forma não-ionizada da espécie neste intervalo. Assim os valores de $\log P_{\text{ACD}}^{7,4}$ refletem as contribuições de todas as espécies neutras e ionizadas em equilíbrio, em um sistema bifásico. Neste trabalho, se considerou o valor de $\log P_{\text{ACD}}^{7,4}$ correspondente ao das espécies no pH igual ao valor de 7,4 (Manual de Referência. ACD/LogD Suite, 2005).

Os valores obtidos de $\log P_{\text{CLOGP}}$ e $\log P_{\text{ACD}}$ estão apresentados na Tabela III.3.2.1, parte experimental e nas Tabelas IV.3.1.3 e Tabela IV.3.1.4 (IV. Resultados)

Para a série I (compostos I.1 a I.14) os valores de $\log P_{\text{CLOGP}}$, apresentaram uma faixa de variação de 4,33, sendo o composto I.12 ($R = 4\text{-OC}_6\text{H}_{13}$; $\log P_{\text{CLOGP}} = 4,88$) o que apresenta maior caráter lipofílico e, o composto I.13 ($R = 4\text{-SO}_2\text{CH}_3$; $\log P_{\text{CLOGP}} = 0,55$) o que apresenta menor caráter lipofílico. Enquanto que os valores de $\log P_{\text{ACD}}$, apresentaram uma faixa de variação de 3,90, sendo o composto I.12 ($R = 4\text{-OC}_6\text{H}_{13}$; $\log P_{\text{ACD}} = 3,94$) o que apresenta maior caráter lipofílico e o composto I.13 ($R = 4\text{-SO}_2\text{CH}_3$; $\log P_{\text{ACD}} = 0,04$) o que apresenta menor caráter lipofílico.

Para a série II (compostos II.1 a II.14) os valores de $\log P_{\text{CLOGP}}$, apresentaram uma faixa de variação de 3,17 unidades, sendo o composto II.5 ($R = 3\text{-OC}_4\text{H}_9$; $\log P_{\text{CLOGP}} = 3,78$), o que apresenta maior caráter lipofílico e, o composto II.14 ($R = 3\text{-SO}_2\text{CH}_3$; $\log P_{\text{CLOGP}} = 0,61$), o que apresenta menor caráter lipofílico. Enquanto que os valores de $\log P_{\text{ACD}}$, apresentaram uma faixa de variação de 2,67, sendo o composto II.5 ($R = 3\text{-OC}_4\text{H}_9$; $\log P_{\text{ACD}} = 2,71$), o que apresenta maior caráter lipofílico e, o composto II.14 ($R = 3\text{-SO}_2\text{CH}_3$; $\log P_{\text{ACD}} = -0,04$), o que apresenta menor caráter lipofílico.

Como pode ser observado na Tabela IV.3.1.3. e Tabela IV.3.1.4, em ambas as séries os valores obtidos pelo programa ACD/LogP (no pH=7,4) são menores do que os correspondentes $\log P_{\text{CLOGP}}$, sugerindo, como esperado, que a contribuição da ionização para a partição foi considerada pelo programa, devido à presença do grupamento dimetilamino ionizável ($\sim pK_a = 8,5$) nas séries I e II. Desta forma, numa primeira aproximação, as contribuições das formas ionizada e não-ionizada foram consideradas no programa ACD/LogP. Por outro lado, os valores de $\log P_{\text{CLOGP}}$ obtidos pelo programa CLOGP não incluem a contribuição dos fragmentos ionizáveis para a partição.

Observa-se, para as séries I e II, que os valores das diferenças entre $\log P_{\text{CLOGP}}$ e $\log P_{\text{ACD}}$ são constantes, dentro do erro experimental, e próximos a unidade exceto para os compostos I. 11 ($R=4\text{-CN}$; $\Delta=0,68$); I. 8 ($R=4\text{-COCH}_3$; $\Delta=0,57$); I. 13 ($R= 4\text{-SO}_2\text{CH}_3$; $\Delta=0,51$) e II. 6 ($R=\text{F}$; $\Delta =0,65$); II.11 ($R=3\text{-CN}$; $\Delta=0,55$); II.12 ($R=3\text{-CF}_3$; $\Delta=0,58$) e II.14 ($R=3\text{-SO}_2\text{CH}_3$; $\Delta=0,65$) devido provavelmente à

interações hidrofóbicas específicas que não puderam ser corretamente descritas e previstas pelo programa ACD/LogP.

$$\text{Série I } \log P_{\text{CLOGP}} = +1,060 (\pm 0,084) \log P_{\text{ACD}7.4} + 0,728 (\pm 0,18) \quad (\text{eq. IV.3.1.4})$$

(n = 14; r = 0,992; s = 0,151; F = 757,35; Q² = 0,978; s-PRESS = 0,179)

Figura IV.3.1.4- Correlação entre os valores do coeficiente de partição $\log P_{\text{CLOGP}}$ em função dos valores de $\log P_{\text{ACD}7.4}$ obtidos pelos programas CLOGP e ACD/LogP, respectivamente, para a série de cloretos de *N,N*[(dimetilamino)etil] benzoatos *para*-substituídos. (**Série I**).

$$\text{Série II } \log P_{\text{CLOGP}} = 1,044 (\pm 0,18) \log P_{\text{ACD}7.4} + 0,798 (\pm 0,30) \quad (\text{eq. IV.3.1.5})$$

(n = 14; r = 0,965; s = 0,215; F = 160,77) Q² = 0,905; s-PRESS = 0,251)

Figura IV.3.1.5- Correlação entre os valores do coeficiente de partição $\log P_{\text{CLOGP}}$ em função dos valores de $\log P_{\text{ACD}}$ obtidos pelos programas CLOGP e ACD/LogP, respectivamente, para a série de cloretos de *N,N*[(dimetilamino)etil] benzoatos *meta*-substituídos. (**Série II**).

Série II $\log P_{\text{CLOGP}} = 1,056 (\pm 0,078) \log P_{\text{ACD}}^{7.4} + 0,750 (\pm 0,15)$ (eq. IV.3.1.6)
 (n = 27; r = 0,984; s = 0,179; F = 780,84; Q² = 0,964; s-PRESS = 0,192)

Figura IV.3.1.6- Correlação entre os valores do coeficiente de partição $\log P_{\text{CLOGP}}$ em função dos valores de $\log P_{\text{ACD}}$ obtidos pelos programas CLOGP e ACD/LogP, para os cloretos de *N,N*[(dimetilamino)etil] benzoatos *para*- e *meta*-substituídos (**Séries I e II**).

Considerando-se que as séries estudadas contém grupamento ionizável e que os valores obtidos por cálculo (utilizando os programas CLOGP e ACD/LogP) ou não incluem a contribuição hidrofóbica da porção ionizável para partição ($\log P_{\text{CLOGP}}$) ou não consideram a natureza e carga do contra-íon ($\log P_{\text{ACD/LogP}}$), torna-se necessário obter o valor do coeficiente de partição experimental ($\log P_{\text{app}}$) para avaliar as interações hidrofóbicas não previstas pelos programas CLOGP e ACD/LogP.

Para os compostos das séries I e II, os valores do coeficiente de partição aparente ($\log P_{\text{app}}$) foram determinados experimentalmente, pelo método CLAE, procedendo-se como descrito nos itens A e B, parte experimental e na metodologia.

Todas as determinações foram feitas em duplicata. A média foi considerada como valor verdadeiro e a dispersão dos valores foi analisada através do desvio padrão, sendo este de no máximo 0,06.

Para todos os compostos das séries I e II, o efeito da variação da concentração para a partição foi avaliado. Os valores observados estão apresentados nas tabelas III.3.3.4 e tabela III.3.3.5 (Parte Experimental). Os gráficos correspondentes estão apresentados nas Figuras III. III.3.3.1 e III. III.3.3.2 (Parte Experimental). Para todos os compostos, exceto para o composto II.11 (R=3-CN) observou-se uma diminuição do tempo de retenção, quando ocorre o aumento da concentração do composto, na faixa de concentração analisada que foi de 4×10^{-5} a 8×10^{-5} M. Desta forma, os valores de $\log P_{\text{CLAE}}$ foram extrapolados para a concentração zero de cada composto. Os valores de $\log P_{\text{CLAE}}$ obtidos para as séries I e II são apresentados nas tabela III.3.3.2 e tabela III.3.3.3, parte experimental

Como pode ser observado na Tabela IV.3.1.3, os compostos da série I apresentaram valores de $\log P_{\text{CLAE}}$, numa faixa de variação de 3,46 unidades, sendo o composto **I.12** ($R = 4\text{-OC}_6\text{H}_{13}$) o mais lipofílico com valor de $\log P_{\text{CLAE}} = 3,4$ e o composto **I.13** ($R = 3\text{-SO}_2\text{CH}_3$) o mais hidrofílico com valor de $\log P_{\text{CLAE}} = -0,06$.

Deve-se ressaltar que o $\log P_{\text{app}}$ para o composto **I.12** ($R = 4\text{-OC}_6\text{H}_{13}$) foi estimado por equação de regressão gerada a partir de valores de $\log P$ determinados por CLAE para os 13 compostos da série I, utilizando-se a seguinte equação $\log P_{\text{CLAE}} = 0,867(\pm 0,062)\log P_{\text{CLOGP}} - 0,572(\pm 0,17)$ ($n=13$; $s=0,099$; $r=0,994$; $F=960,478$; $Q^2=0,984$; $s_{\text{press}}=0,116$).

Assim, utilizando-se a equação expressa acima foi possível estimar o valor, considerando-se que a medida do $\log P$ deste composto lipofílico ($\log P = 3,4$) não pode ter sido obtida experimentalmente, por limitações inerentes da própria metodologia CLAE (Klein *et al.*, 1988; Martel *et al.*, 2008), ao se utilizar octanol como eluente (Amaral *et al.*, 1997).

Os valores de $\log P_{\text{CLAE}}$ para os compostos da série II apresentaram uma faixa de variação de 2,45 unidades, sendo o composto **II.5** ($R = 4\text{-OC}_4\text{H}_9$) o mais lipofílico com valor de $\log P_{\text{CLAE}} = 2,75$ e o composto **II.14** ($R = \text{SO}_2\text{CH}_3$) o mais hidrofílico com valor de $\log P_{\text{CLAE}} = 0,30$.

$\log P_{\text{CLAE}}$ versus $\log P_{\text{CLOGP}}$

Como pode ser observado nas Tabelas IV.3.1.3 e IV.3.1.4, para os compostos das séries I e II, os valores observados para $\log P_{\text{CLAE}}$ são menores do que os correspondentes $\log P_{\text{CLOGP}}$. Considerando-se que os compostos das séries I e II contêm grupo dimetilamino ionizável ($\sim pK_a = 8,5$), estes resultados podem ser explicados levando-se em conta que os valores de $\log P_{\text{CLAE}}$, medidos em solução tampão (Trisma, $\text{pH}=7,40$; $\mu=0,10$ (NaCl)) ou incluem o equilíbrio ácido-base na partição. Assim, pode-se afirmar que os valores de $\log P_{\text{CLAE}}$ determinados incluem uma correção da ionização para a partição. E, no valor de pH no qual os experimentos foram realizados ($\text{pH} = 7,40$), as contribuições hidrofóbicas tanto das formas ionizada como não-ionizada, foram consideradas. Por outro lado, os valores de $\log P_{\text{CLOGP}}$ obtidos pelo programa CLOGP não incluem a contribuição dos fragmentos ionizáveis para a partição.

Uma comparação entre os valores de $\log P_{\text{CLAE}}$ e $\log P_{\text{CLOGP}}$, torna-se interessante. Assim, nas Tabelas IV.3.1.3 e IV.3.1.4, a contribuição da ionização para a partição, analisada através dos valores das diferenças Δ , é praticamente constante dentro do erro experimental e, aproximadamente igual a 1 exceto para os compostos **I.12** ($\Delta = 1,48$; $R = 4\text{-OC}_6\text{H}_{13}$); **I.13** ($\Delta = 0,61$; $R = 4\text{-SO}_2\text{CH}_3$), **I.10** ($\Delta = 0,61$, $R = 4\text{-NO}_2$); e **II.14** ($\Delta = 0,31$; $R = 3\text{-SO}_2\text{CH}_3$). Devendo-se salientar, no entanto, que o valor de $\log P_{\text{CLAE}}$

para composto **I.12** foi estimado e não medido experimentalmente, por este apresentar um grupo lipofílico ($R=4\text{-OC}_6\text{H}_{13}$) como substituinte.

Assumindo-se que todos os compostos das séries I e II apresentam a mesma estrutura fundamental e que o efeito eletrônico transmitido pelo substituinte não proporciona variação significativa nos valores de pK_a para os compostos da série, esta constatação revela que para estes quatro substituintes (4- OC_6H_{13} ; 4- SO_2CH_3 ; 4- NO_2 e 3- SO_2CH_3 , interações hidrofóbicas específicas são observadas.

$$\text{Série I } \log P_{\text{CLAE}} = +0,836 (\pm 0,055) \log P_{\text{CLOGP}} - 0,512 (\pm 0,16) \quad (\text{eq. IV.3.1.7})$$

$$(n = 14; r = 0,995; s = 0,106; F = 1.095,15.452; Q^2 = 0,982; s\text{-PRESS} = 0,137)$$

Figura IV.3.1.7- Correlação entre os valores do coeficiente de partição $\log P_{\text{CLAE}}$ determinados por CLAE, no sistema 1-octanol/água (tampão trisma pH = 7,40 e $\mu = 0,1$ M (NaCl) e temperatura $(23 \pm 1)^\circ\text{C}$), em função dos valores de $\log P_{\text{CLOGP}}$ obtidos pelo programa CLOGP para a série de cloretos de *N,N*[(dimetilamino)etil] benzoatos *para*-substituídos (**Série I**).

$$\text{Série II } \log P_{\text{CLAE}} = +0,821 (\pm 0,084) \log P_{\text{CLOGP}} - 1,504 (\pm 0,21) \quad (\text{eq. IV.3.1.8})$$

$$(n = 14; r = 0,987; s = 0,108; F = 456,214; Q^2 = 0,948; s\text{-PRESS} = 0,153)$$

Figura IV.3.1.8- Correlação entre os valores do coeficiente de partição $\log P_{\text{CLAE}}$, determinados por CLAE, no sistema 1-octanol/água (tampão trisma pH = 7,40 e $\mu = 0,1$ M (NaCl) e temperatura $(23 \pm 1)^\circ\text{C}$), em função dos valores de $\log P_{\text{ACD/7.4}}$ obtidos pelo programa ACD/LogP, para a série de cloretos de *N,N*[(dimetilamino)etil] benzoatos *meta*-substituídos (**Série II**).

Série I e II: $\log P_{\text{CLAE}} = 0,823 (\pm 0,043) \log P_{\text{CLOGP}} - 0,444 (\pm 0,12)$ (eq. IV.3.1.9)
 (n = 27; r = 0,992; s = 0,107; F = 1536,256; Q² = 0,980; s-PRESS = 0,121)

Figura IV.3.1.9- Correlação entre os valores do coeficiente de partição $\log P_{\text{CLAE}}$ determinados por CLAE, no sistema 1-octanol/água (tampão trisma pH = 7,40 e $\mu = 0,1$ M (NaCl) e temperatura (23±1)°C), em função dos valores de $\log P_{\text{CLOGP}}$ obtidos pelo programa CLOGP, para os cloretos de *N,N*[(dimetilamino)etil] benzoatos *para-* e *meta-*substituídos (**Séries I e II**).

Adicionalmente, considerando-se que os compostos das séries I e II são flexíveis e que apresentam grupos polares (grupo carbonila, $\text{RR}'\text{C}=\text{O}$ e dimetilamônio, $\text{R}'\text{-N}(\text{CH}_3)_2\text{H}^+$) separados por dois grupos metilênicos, interações intramoleculares poderiam estar presentes podendo causar alteração no valor do coeficiente de partição desses compostos. Este efeito poderia ser observado, principalmente, para compostos contendo substituintes com grande caráter aceptor/doador de elétrons, o que poderia estar sendo observado nos compostos **I.10** (R = 4-NO₂; $\sigma_p = 0,78$) ; **I.11** (R=CN; $\sigma_p = 0,66$); **I.13** (R=SO₂CH₃; $\sigma_p = 0,72$); **II.10** (R = 3-NO₂; $\sigma_p = 0,71$); **II.14** (R = 3-SO₂CH₃; $\sigma_m = 0,60$) contendo substituintes aceptores de elétrons e nos compostos **I.7** (R=OC₄H₉; $\sigma_p = -0,32$); **I.6** (R=OCH₃; $\sigma_p = -0,27$); **I.12** (R=OC₆H₁₃ $\sigma_p = -0,32$) contendo substituinte com moderado efeito doador de elétrons.

Embora a análise visual dos gráficos de $\log P_{\text{CLAE}}$ em função de $\log P_{\text{CLOGP}}$ aponte que somente três destes compostos (**I.10** (R = 4-NO₂; $\sigma_p = 0,78$); **I.7** (R=OC₄H₉; $\sigma_p = -0,32$) e **II.14** (R = 3-SO₂CH₃; $\sigma_m = 0,60$) poderiam ser considerados “outliers” (indicando alguma interação específica) o valor do coeficiente angular da reta de regressão não mostrou diferença significativa, ficando igual a 0,854 (r=0,994), como apresentado na **Figura IV.3.1.9a** .

Séries I e II: $\log P_{\text{CLAЕ}} = +0.854 (\pm 0.041) \log P_{\text{CLOGP}} - 1.632 (\pm 0.11)$ (eq.IV.3.1.9a).

$n = 24$; $r = 0.994$; $s = 0.088$; $F = 1880.235$; $Q^2 = 0.984$; $s\text{-PRESS} = 0.104$

Figura IV.3.1.9a- Correlação entre os valores do coeficiente de partição $\log P_{\text{CLAЕ}}$ determinados por CLAЕ, no sistema 1-octanol/água (tampão trisma pH = 7,40 e $\mu = 0,1$ M (NaCl) e temperatura $(23 \pm 1)^\circ\text{C}$), em função dos valores de $\log P_{\text{CLOGP}}$ obtidos pelo programa CLOGP, para os cloretos de *N,N*[(dimetilamino)etil] benzoatos *meta*- e *para*-substituídos (**Séries I e II**; excluindo-se I.7; I.10 e II.14).

Por outro lado, eliminando-se todos os compostos contendo grupos substituintes com acentuado caráter aceitor/doador de elétrons sugeridos anteriormente observa-se que o valor do coeficiente angular da reta de regressão passou de 0,823 ($r=0,992$; $n=27$) para 0,901 ($r=0,995$; $n=19$), como apresentado na **Figura IV.3.1.9b**.

Séries I e II: $\log P_{\text{CLAЕ}} = +0.901 (\pm 0.047) \log P_{\text{CLOGP}} - 1.743 (\pm 0.13)$ (eq.IV.3.1.9b)

$n = 19$; $r = 0.995$; $s = 0.065$; $F = 1638.878$; $Q^2 = 0.988$; $s\text{-PRESS} = 0.071$

Figura IV.3.1.9b- Correlação entre os valores do coeficiente de partição $\log P_{\text{CLAЕ}}$ determinados por CLAЕ, no sistema 1-octanol/água (tampão trisma pH = 7,40 e $\mu = 0,1$ M (NaCl) e temperatura $(23 \pm 1)^\circ\text{C}$), em função dos valores de $\log P_{\text{CLOGP}}$ obtidos pelo programa CLOGP, para os cloretos de *N,N*[(dimetilamino)etil] benzoatos *meta*- e *para*-substituídos (**Séries I e II**, excluindo-se I.6; I.7; I.10; I.11; I.12 I.13; II.10 e II.14).

Nesta análise deve-se considerar ainda que o menor efeito eletrônico exercido pelo substituinte na posição meta (serie II) quando comparada com a correspondente posição para (série I) parece não ter sido determinante para o valor do coeficiente de partição

Outros efeitos que poderiam afetar o valor de $\log P_{app}$ como por exemplo a natureza do contra-íon e do tampão, força iônica e temperatura, foram mantidos constantes nas séries.

$\log P_{app}$ vs $ACD/\log P$

Como pode ser observado nas Tabelas IV.3.1.3 e IV.3.1.4, para os compostos das séries I e II, os valores observados para $\log P_{CLAE}$, são idênticos, dentro do erro experimental, aos correspondentes $\log P_{ACD}$.

$$\text{Série I: } \log P_{CLAE} = +0,885 (\pm 0,097) \log P_{ACD}^{7.4} - 0.992 (\pm 0.21) \quad (\text{eq. IV.3.1.10})$$

(n = 14; r = 0,985; s = 0,174; F = 397,62; Q² = 0.955; s-PRESS = 0.215)

Figura IV.3.1.10 - Correlação entre os valores do coeficiente de partição $\log P_{CLAE}$, determinados por CLAE, no sistema 1-octanol/água (tampão trisma pH = 7,40 e μ = 0,1 M (NaCl) e temperatura (23±1)°C), em função dos valores de $\log P_{ACD}$ obtidos pelo programa ACD/LogP, para a série de cloretos de N,N[(dimetilamino)etil] benzoatos para-substituídos (Série I).

Observa-se pelos gráficos e equações apresentadas que as correlações entre os valores de $\log P_{CLAE}$ e os obtidos por cálculos (CLOGP e ACD/LogP) são significativas ($r > 0,9$). O coeficiente angular, no entanto, difere da unidade ao se considerar todos os compostos nas séries I e II e nas duas reunidas. A utilização dos valores de $\log P_{CLAE}$ como parâmetro lipofílico, para análise QSAR, deve então ser validada.

$$\text{Série II: } \log P_{\text{CLAE}} = +0.864 (\pm 0.16) \log P_{\text{ACD}} - 0.859 (\pm 0.27) \quad (\text{eq.IV.3.1.11})$$

(n = 14; r = 0,960; s = 0,190; F = 139,575; Q² = 0,892; s-PRESS = 0,222)

Figura IV.3.1.11- Correlação entre os valores do coeficiente de partição $\log P_{\text{CLAE}}$ determinados por CLAE, no sistema 1-octanol/água (tampão trisma pH = 7,40 e $\mu = 0,1$ M (NaCl) e temperatura (23±1)°C), em função dos valores de $\log P_{\text{ACD}}$ obtidos pelo programa ACD/LogP para a série de cloretos de N,N[(dimetilamino)etil] benzoatos *meta*-substituídos (**Série II**).

$$\text{Séries I e II: } [\log P_{\text{CLAE}} = +0.868 (\pm 0.081) \log P_{\text{ACD},7.4} + 0.175 (\pm 0.16)] \quad (\text{eq.IV.3.1.12})$$

(n = 27; r = 0,976; s = 0,186; F = 492,918; Q² = 0,943; s-PRESS = 0,203)

Figura IV.3.1.12- Correlação entre os valores do coeficiente de partição $\log P_{\text{CLAE}}$, determinados por CLAE, no sistema 1-octanol/água (tampão trisma pH = 7,40 e $\mu = 0,1$ M (NaCl) e temperatura (23±1)°C), em função dos valores de $\log P_{\text{ACD}}$ obtidos pelo programa ACD/LogP, para a série de cloretos de N,N[(dimetilamino)etil] benzoatos *para*- e *meta*-substituídos (**Séries I e II**).

A validação dos valores π_{exp} para utilização em estudos de QSAR envolvendo os compostos das séries I e II foi realizada pelas correlações: π_{exp} .vs π e π_{exp} .vs $\log P_{\text{CLOGP}}$ expressas pelas equações IV. 3.1.13 a IV.3.1.18.

Série I:

$$\pi_{(\text{exp})} = +0.919 (\pm 0.064) \pi_{(\text{lit})} + 0.0389 (\pm 0.079) \quad (\text{eq.IV.3.1.13})$$

(n = 14; r = 0,994; s = 0,112; F = 979,848; Q² = 0,984; s-PRESS = 0,128)

$$\pi_{(exp)} = + 0,836 (\pm 0,055) \log P_{CLOGP} - 1,602 (\pm 0,16) \quad (\text{eq.IV.3.1.14})$$

(n = 14; r = 0,995; s = 0,106; F = 1095,146; Q² = 0,984; s-PRESS = 0,129)

Série II:

$$\pi_{(exp)} = + 0,865 (\pm 0,16) \pi_{(lit)} + 0,0969 (\pm 0,13) \quad (\text{eq.IV.3.1.15})$$

(n = 14; r = 0,961; s = 0,186; F = 146,478; Q² = 0,885; s-PRESS = 0,229)

$$\pi_{(exp)} = 0,821 (\pm 0,084) \log P_{CLOGP} - 0,414 (\pm 0,21) \quad (\text{eq.IV.3.1.16})$$

(n = 14; r = 0,987; s = 0,108; F = 455,214; Q² = 0,948; s-PRESS = 0,153)

Séries I e II:

$$\pi_{(exp)} = + 0,897 (\pm 0,068) \pi_{(lit)} + 0,0711 (\pm 0,072) \quad (\text{eq.IV.3.1.17})$$

(n = 27; r = 0,984; s = 0,152; F = 746,199; Q² = 0,962; s-PRESS = 0,165)

$$\pi_{(exp)} = 0,823 (\pm 0,043) \log P_{CLOGP} - 0,444 (\pm 0,12) \quad (\text{eq.IV.3.1.18})$$

(n = 27; r = 0,992; s = 0,107; F = 1536,256; Q² = 0,980; s-PRESS = 0,121)

Assim, embora correlações significativas tenham sido observadas para a utilização dos valores de π_{exp} como descritores das interações hidrofóbicas de grupos substituintes necessita-se que os valores do coeficiente angular nas equações de regressão sejam próximos da unidade.

Deste modo, foram excluídos alguns compostos de acordo com critérios discutidos anteriormente nesta tese, a saber:

Séries I e II

Sem os compostos I.6; I.8; II.13 e II.14 (n=23)

$$\pi_{(exp)} = 0,842 (\pm 0,044) \log P_{CLOGP} - 0,498 (\pm 0,13) \quad (\text{eq.IV.3.1.19})$$

(n = 23; r = 0,993; s = 0,097; F = 1566,843; Q² = 0,983; s-PRESS = 0,111)

Sem os compostos I.10; I.12 ;I.13 e II.14 (n=23)

$$\pi_{(exp)} = 0,912 (\pm 0,095) \log P_{CLOGP} + 0,0576 (\pm 0,091) \quad (\text{eq.IV.3.1.20})$$

(n = 23; r = 0,975; s = 0,152; F = 399,538; Q² = 0,941; s-PRESS = 0,166)

De modo análogo, a validade da utilização de $\log P_{app}$ como parâmetro estrutural, descritor da lipossolubilidade de cada composto das séries I e II em análises QSAR foi verificada pela análise das correlações entre os valores de $\log P_{app}$ determinados experimentalmente por CLAE e os correspondentes valores de π de Hansch-Fujita e $\log P_{CLOGP}$, respectivamente retirados da literatura (Hansch *et al.*, 1995) e obtidos pelo programa CLOGP. As correlações obtidas entre os valores de $\log P_{CLAE}$ e π , bem como entre $\log P_{CLAE}$ e $\log P_{CLOGP}$ são expressas pelas equações de correlação e pelos gráficos apresentados nas Figuras IV.3.1.13 a Figura IV.3.1.18., respectivamente

Série I: $\log P_{CLAE} = +0,919 (\pm 0,064) \pi_{(lit)} + 1,129 (\pm 0,079)$ (eq.IV.3.1.21)

($n = 14$; $r = 0,994$; $s = 0,112$; $F = 979,85$; $Q^2 = 0,984$; $s\text{-PRESS} = 0,129$)

Figura IV.3.1.13- Gráfico e equação de correlação para os valores de $\log P_{CLAE}$, determinados por CLAE, no sistema 1-octanol/água (tampão trisma pH = 7,40 e $\mu = 0,1$ M (NaCl) e temperatura $(23 \pm 1)^\circ\text{C}$), em função de π , retirado da literatura, para os compostos I.1 a I.14 (**série I**).

Série II: $\log P_{CLAE} = +0,865 (\pm 0,16) \pi_{(lit)} + 1,187 (\pm 0,13)$ (eq.IV.3.1.22)

($n = 14$; $r = 0,961$; $s = 0,186$; $F = 146,478$; $Q^2 = 0,885$; $s\text{-PRESS} = 0,229$)

Figura IV.3.1.14- Gráfico e equação de correlação para os valores de $\log P_{app}$, determinados por CLAE, no sistema 1-octanol/água (tampão trisma pH = 7,40 e $\mu = 0,1$ M (NaCl)) e temperatura $(23 \pm 1)^\circ\text{C}$) em função de π , retirado da literatura, para os compostos II.1 a II.14 (**série II**).

Séries I e II: $\log P_{\text{CLAE}} = +0,898 (\pm 0,067) \pi_{(\text{lit})} + 1,161 (\pm 0,072)$ (eq.IV.3.1.23)
(n = 27; r = 0,984; s = 0,151; F = 745,248; Q² = 0,962; s-PRESS = 0,166)

Figura IV.3.1.15- Gráfico e equação de correlação para os valores de $\log P_{app}$, determinados por CLAE, no sistema 1-octanol/água (tampão trisma pH = 7,40 e $\mu = 0,1$ M (NaCl)) e temperatura (23 ± 1 °C), em função de π , retirado da literatura, para os compostos das **séries I e II**.

Série I: $\log P_{CLAE} = 0,836(\pm 0,055)_{CLOGP} - 0,512 (\pm 0,16)$ (eq.IV.3.1.24)
(n = 14; r = 0,995; s = 0,106; F = 1095,15; Q² = 0,980; s-PRESS = 0,121)

Figura IV.3.1.16- Gráfico e equação de correlação para os valores de $\log P_{\text{CLAE}}$ determinados por CLAE, no sistema 1-octanol/água (tampão trisma pH = 7,40 e $\mu = 0,1$ M (NaCl) e temperatura (23 ± 1) °C), em função de $\log P_{\text{CLOGP}}$, para os compostos da **série I**.

Série II: $\log P_{\text{CLAE}} = +0,821 (\pm 0,084) \log P_{\text{CLOGP}} - 0,414 (\pm 0,21)$ (eq.IV.3.1.25)
 ($n = 14$; $r = 0,987$; $s = 0,108$; $F = 455,214$; $Q^2 = 0,948$; $s\text{-PRESS} = 0,153$)

Figura IV.3.1.17- Gráfico e equação de correlação para os valores de $\log P_{\text{CLAE}}$ determinados por CLAE, no sistema 1-octanol/água (tampão trisma pH = 7,40 e $\mu = 0,1$ M (NaCl) e temperatura $(23 \pm 1)^\circ\text{C}$), em função de $\log P_{\text{CLOGP}}$, para os compostos da **série II**.

Séries I e II: $\log P_{\text{CLAE}} = 0,823 (\pm 0,043) \log P_{\text{CLOGP}} - 1,534 (\pm 0,12)$ (eq.IV.3.1.26)
 ($n = 27$; $r = 0,992$; $s = 0,107$; $F = 1536,26$; $Q^2 = 0,980$; $s\text{-PRESS} = 0,121$)

Figura IV.3.1.18- Gráfico e equação de correlação para os valores de $\log P_{\text{CLAE}}$ determinados por CLAE, no sistema 1-octanol/água (tampão trisma pH = 7,40 e $\mu = 0,1$ M (NaCl) e temperatura $(23 \pm 1)^\circ\text{C}$), em função de $\log P_{\text{CLOGP}}$, para os compostos das **séries I e II**.

De modo análogo, as correlações significativas observadas entre os valores de $\log P_{\text{app}}$, obtidos para compostos das séries I e II e, os seus correspondentes valores da constante π da literatura (Hansch *et al.*, 1995) bem como as correlações significativas observadas com os seus respectivos valores de $\log P_{\text{CLOGP}}$, validam a utilização de $\log P_{\text{app}}$ como parâmetro descritor da lipofilicidade para os compostos das séries I e II, incluindo uma correção devida à contribuição da ionização dos compostos

para a partição. Assim, para as séries I e II os valores de $\log P_{app}$ podem ser utilizados como parâmetro estrutural descritor da lipofilicidade em análises de QSAR (Amaral *et al.*, 1997; Pires, 1998).

IV.3.2 Parâmetros Eletrônicos

Em uma primeira etapa, para os compostos das séries I e II, a análise do efeito eletrônico transmitido pelo substituinte foi feita considerando-se como parâmetro eletrônico relativo ao substituinte os valores das constantes dos grupos substituintes tipo Hammett, retiradas da literatura, a saber: σ_p , σ_m e ρ e ρ de Swain-Lupton (Hansch & Leo, 1995). Para as duas séries de substituintes estudados neste trabalho, os valores das constantes eletrônicas σ_p ; σ_m e ρ e ρ de Swain-Lupton estão apresentados nas **tabelas III.4.2.1 e tabelas III.4.2.2** (parte experimental) respectivamente para as séries I, II.

Estão apresentadas na **tabela IV.3.2.1** as variações observadas para cada uma das constantes do tipo Hammett estudadas neste trabalho, conforme discutido anteriormente.

Tabela IV.3.2.1- Faixas de variação dos valores das constantes de grupo substituinte tipo Hammett (σ_p e σ_m) e de Swain-Lupton (ρ e ρ), retiradas da literatura (Hansch *et al.*, 1995), e, utilizadas como parâmetros eletrônicos para os compostos da **série I (compostos I.1 a I.14)** e da **série II (compostos II.2 a II.14)**.

Constante Eletrônica do Substituinte	Maior valor (substituinte)	Menor valor (substituinte)	$[\Delta]$ ^(a)
σ_p (Série I)	0,78 (4-NO ₂)	-0,32 (4-OC ₆ H ₁₃)	1,10
ρ (série I)	0,65 (4-NO ₂)	-0,02 (4-C(CH ₃) ₃)	0,67
ρ (Série I)	0,19 (4-SO ₂ CH ₃)	-0,61 (4-OC ₄ H ₉)	0,80
σ_m	0,71 (3-NO ₂)	-0,16 (3-N(CH ₃) ₂)	0,80
ρ (série II)	0,65 (3-NO ₂)	-0,01 (3-CH ₃) ₃	0,63
ρ (Série II)	0,16 (3-CF ₃)	-0,98 (3-N(CH ₃) ₂)	1,14

^(a) **Valores das diferenças** entre o maior e o menor valor de constante de grupo substituinte para os compostos das séries I e II.

Como já descrito em trabalhos anteriores do grupo (Raminelli, 2001), em geral, no sistema biológico, as contribuições das interações polares se descritas por parâmetros eletrônicos, definidos a partir de sistemas mais simples considerados como padrão, podem não ser, necessariamente, as mesmas. Esta observação é particularmente válida quando se compara a posição do substituinte em relação ao centro de reação (no sistema no qual foi definido) com a posição do substituinte em relação ao receptor. Assim, em análise de **QSAR** é recomendada a utilização, na medida do possível, das constantes ρ e ρ de Swain e Lupton (Swain *et al.*, 1968; Hansch *et al.*, 1991), retirados da literatura. Outra alternativa é o emprego de um parâmetro eletrônico experimental.

Considerando-se a importância de se descrever a interação composto-sistema biológico por parâmetros experimentais, torna-se importante incluir parâmetros que descrevam as interações de natureza polar na molécula. Assim, nos compostos estudados, possuindo a mesma estrutura fundamental e sendo flexíveis, o(s) efeito(s) eletrônico(s) transmitido(s) pelo grupo substituinte pode(m) estar afetando, entre outros, a polaridade do grupo carbonila, podendo afetar as interações inter- e/ou intramoleculares, que influenciam os parâmetros físico-químicos descritores da atividade biológica, como por exemplo os valores de $\log P_{app}$ e dos parâmetros espectroscópicos, $\nu_{C=O}$ e $\delta^{13C=O}$.

Deslocamento químico do carbono carbonílico ($\delta^{13C=O}$)

Como parâmetro eletrônico experimental para os compostos **das séries I e II** foi inicialmente avaliada a possibilidade de se utilizar os valores do **deslocamento químico do carbono carbonílico ($\delta^{13C=O}$)**, retirados dos espectros de RMN ^{13}C obtidos em DMSO- d_6 ou $CDCl_3-d_1$ ou em D_2O-d_2 na concentração de aproximadamente 0,15 M. e procedendo-se como descrito no item III.2, parte experimental. A precisão de cada medida foi considerada e expressa pelo erro sistemático de $\pm 0,01$ ppm, de acordo com as especificações do aparelho. Os valores observados de $\delta^{13C=O}$ para as séries I e II estão apresentados respectivamente nas Tabelas III.4.2.1 e III.4.2.2, parte experimental.

Considerando-se os valores de $\delta^{13C=O}$, passando-se da série I para a série II, observa-se um aumento de aproximadamente 5 ppm. Como pode ser observado na Tabela III.4.2.1, para os compostos da série I os valores de $\delta^{13C=O}$ apresentaram uma faixa de variação de 5,5 ppm. O maior valor foi encontrado para o composto **I.9** ($R = 4-Cl$; 169,4 ppm), enquanto o menor valor foi observado para o composto **I.6** ($R = 4-OCH_3$; 163,9 ppm).

Assim, o composto **I.6** ($R = 4-OCH_3$) apresenta o átomo de carbono carbonílico mais desblindado da série, ou seja, se mostra em campo mais baixo, 163,9 ppm. E, o composto **I.9** ($R = 4-Cl$) apresenta o átomo de carbono carbonílico menos desblindado da série, ou seja, absorve em campo mais alto, 169,4 ppm.

Assim, tanto os valores observados de $\delta^{13C=O}$, bem como a faixa de variação de 5,5 ppm estão de acordo com dados da literatura observados para compostos carbonílicos apresentando deslocamento químico da carbonila entre 185 a 150 ppm (Rothchild, 2003; Silverstein & Webster, 2000).

Como se observa na Tabela III.4.2.1, para os compostos da série II os valores de $\delta^{13C=O}$ apresentaram uma faixa de variação de 3,4 ppm. O maior valor foi encontrado para o composto **II.4** (R

= 3-OC₂H₅; 167,5 ppm), enquanto o menor valor foi observado para o composto **II.8** (R = 3-Br; 164,1 ppm).

Assim, o composto **II.8** (R = 3-Br) apresenta o átomo de carbono carbonílico mais desblindado da série, ou seja, absorve em campo mais baixo, 164,1 ppm. E, o composto **II.4** (R = 3-OC₂H₅) apresenta o átomo de carbono carbonílico menos desblindado da série, ou seja, absorve em campo mais alto, 167,5 ppm.

A partir dos resultados de $\delta^{13}\text{C}=\text{O}$ apresentados nas tabelas III.4.2.1 e III.4.2.2 (parte experimental) foram feitas correlações entre os valores de $\delta^{13}\text{C}=\text{O}$ e das diferentes constantes eletrônicas de substituintes. Para as séries I; II e série I e II reunidas, correlações não significativas ($r < 0,4$) foram observadas entre os valores de $\delta^{13}\text{C}=\text{O}$ e os valores das constantes eletrônicas de substituintes analisadas: $\mathcal{S}$ e $\mathcal{R}$ de Swain e Lupton e σ_p e σ_m de Hammett. Desta forma, no presente trabalho, os valores do deslocamento químico do carbono carbonílico ($\delta^{13}\text{C}=\text{O}$) não puderam ser utilizados como parâmetro eletrônico experimental em modelos de QSAR. Sendo assim, para descrever o efeito eletrônico transmitido pelo substituinte, torna-se necessário utilizar as constantes dos substituintes retirados da literatura (σ_p ; σ_m ; $\mathcal{S}$ e $\mathcal{R}$) ou procurar outros parâmetros eletrônicos experimentais que, como por exemplo, o deslocamento da posição da banda de absorção do grupo carbonila na região do infravermelho.

Posição da banda de absorção do grupo carbonila ($\nu_{\text{C}=\text{O}}$)

Assim, para os compostos das séries I e II, os valores da posição da banda de absorção do grupo carbonila ($\nu_{\text{C}=\text{O}}$) na região do I.V. foram determinados em solução e utilizados como parâmetro eletrônico experimental.

Para os compostos **I.1** (R = H), **I.2** (R = CH₃), **I.6** (R = OCH₃), **I.9** (R = Cl) e **I.11** (R = CN), da série I, **os valores da posição da banda de absorção** do grupo carbonila ($\nu_{\text{C}=\text{O}}$; cm⁻¹) foram determinados na região do I.V., em solução, em cela de KBr, de caminho óptico de 0,01 cm. Estes foram obtidos em solução de CHCl₃, na concentração de aproximadamente 4,00 x 10⁻³ M. As determinações, na faixa entre 1800 a 1700 cm⁻¹, foram feitas em triplicata, em equipamento apresentando resolução de 4 cm⁻¹.

Os valores obtidos para $\nu_{\text{C}=\text{O}}$ para a série I estão apresentados na Tabela III.4.2.1 parte experimental. Estes estão de acordo com valores descritos na literatura considerando-se benzoatos para-substituídos (Amaral *et al.*, 1997).

Adicionalmente, para o composto II. 6 ($R = OCH_3$), o efeito da concentração sobre os valores de $\nu_{C=O}$ (cm^{-1}) foi avaliado. Não tendo sido observado efeito para as concentrações utilizadas a saber: $3,85 \times 10^{-3}M$ e $4,23 \times 10^{-3}M$. Para este composto, o valor da média foi considerado como valor verdadeiro e a precisão expressa pelo correspondente desvio padrão sendo igual a $1724,96 \pm 0,04$.

No entanto, para os cinco compostos analisados da série I, a aplicação da equação de Hammett aos valores de $\nu_{C=O}$ (cm^{-1}) mostrou correlação não-significativa com σ , embora as determinações tenham sido feitas em solução de $CHCl_3$ e em triplicata. Este resultado pode ser explicado pelas incertezas nos valores de $\nu_{C=O}$, provenientes da baixa resolução do equipamento utilizado que é de 4 cm^{-1} .

$$\text{Série I } \nu_{(C=O)} = +11,00 (\pm 18,6)\sigma + 1.722 (\pm 6,39) \quad (\text{eq.IV.3.2.1})$$

$$n = 5; r = 0,736; s = 4,332; F = 3,548; Q^2 = 0,643; s\text{-PRESS} = 8,203$$

Pelo exposto nesta tese, para a série I, optou-se por utilizar como parâmetro eletrônico experimental os valores de $\nu_{C=O}$ obtidos anteriormente no grupo (Amaral *et al.*, 1997), que haviam sido estudados de modo sistemático e em solução de $CHCl_3$. E, ainda, para a série II utilizar os valores $\nu_{C=O}$ estimados pela equação de Hammett aplicada para os valores de $\nu_{C=O}$ obtidos para série I.

Desta forma, os valores de $\nu_{C=O}$ (cm^{-1}), para todos os compostos da série II - exceto o composto II.1 - foram obtidos através da equação de regressão gerada para série I (eq. IV.3.2.2.).

$$\text{Série I: } \nu_{(C=O)} = + 13,69 (\pm 3,31)\sigma_p + 1725,0 (\pm 1,41) \quad (\text{eq.IV.3.2.2})$$

$$(n = 14; r = 0,933; s = 2,312; F = 80,939; Q^2 = 0,829; s\text{-PRESS} = 2,664)$$

Os valores previstos para $\nu_{C=O}$ para a série II estão apresentados na Tabela III. 4.2.2, parte experimental. Estes estão de acordo com valores descritos na literatura considerando-se benzoatos *meta*-substituídos (Sousa, 1997).

Tabela IV.3.2.2- Valores^(a) da posição da banda de absorção do grupo carbonila, $\nu_{C=O}$ (cm^{-1}) obtidos para os compostos da **série I**.

Composto	-R	$\nu_{C=O}^{(c)}$	$\nu_{C=O}^{(d)}$	$\Delta\nu^{(b)}$	σ_p	$\mathcal{S}$	$\mathcal{R}$
I.1	4-H	1725,2 $\pm$ 0,01	1726,5 $\pm$ 0,3	-	0,00	0,00	0,00
I.2	4-CH ₃	1724,3 $\pm$ 0,4	1725,2 $\pm$ 0,1	-1,3	-0,17	0,01	-0,18
I.3	4-C ₂ H ₅	n.d.	1724,1 $\pm$ 0,2	-2,4	-0,15	0,00	-0,15
I.4	4-nC ₄ H ₉	n.d.	1723,6 $\pm$ 0,2	-2,9	-0,16	-0,01	-0,15
I.5	4-tC ₄ H ₉	n.d.	1724,8 $\pm$ 0,2	-1,7	-0,20	-0,02	-0,18
I.6	4-OCH ₃	1724,9 $\pm$ 0,02	1717,1 $\pm$ 0,1	-9,4	-0,27	0,29	-0,56
I.7	4-nOC ₄ H ₉	n.d.	1717,4 $\pm$ 0,1	-9,1	-0,32	0,29	-0,61
I.8	4-COCH ₃	n.d.	1729,9 $\pm$ 0,3	3,4	0,50	0,33	0,17
I.9	4-Cl	1725,7 $\pm$ 0,02	1729,5 $\pm$ 0,2	3,0	0,23	0,42	-0,19
I.10	4-NO ₂	n.d.	1734,5 $\pm$ 0,1	8,0	0,78	0,65	0,13
I.11	4-CN	1728,1 $\pm$ 0,17	1732,8 $\pm$ 0,1	6,3	0,66	0,51	0,15
I.12	4-nOC ₆ H ₁₃	n.d.	1717,0 $\pm$ 0,2	-9,5	-0,32	0,25	-0,55
I.13	4-SO ₂ CH ₃	n.d.	1734,4(**)	7,9	0,72	0,53	0,19
I.14	4-CF ₃	n.d.	1732,0(**)	5,5	0,54	0,38	0,16

^(c) Valores da posição de absorção do grupo carbonila em cm^{-1} , retirados dos espectros de I.V. obtidos em solução de CHCl_3 . ^(d) Valores da posição de absorção do grupo carbonila em cm^{-1} , retirados da literatura (Amaral *et al.*, 1997), obtidos em solução de CHCl_3 . (**) Valores estimados pela equação: $\nu_{C=O} = 1725,0 (\pm 1,4) + 13,5 (\pm 3,8)\sigma$ onde $n=14$; $r = 0,912$; $s = 0,023$; $F = 58,955$ $r^2 = 0,780$; $s\text{-Press} = 0,027$ (Amaral *et al.*, 1997).

Tabela IV.3.2.3 - Valores^(a) da posição da banda de absorção do grupo carbonila, $\nu_{C=O}$ (cm^{-1}) obtidos para os compostos da **série II**.

composto	-R	$\nu_{C=O}^{(a)}$	$\Delta\nu^{(b)}$	σ_m	$\mathcal{S}$	$\mathcal{R}$
II.1	3-H	1726,5 $\pm$ 0,3 ^{b)}	-	0,00	0,03	0,00
II.2	3-CH ₃	1724,0	-2,5	-0,07	0,01	-0,18
II.3	3-OCH ₃	1726,6	0,1	0,12	0,29	-0,56
II.4	3-OC ₂ H ₅	1726,4	-0,1	0,10	0,26	-0,50
II.5	3-nOC ₄ H ₉	1726,4	-0,1	0,10	0,29	-0,61
II.6	3-F	1729,7	3,2	0,34	0,45	-0,39
II.7	3-Cl	1730,1	3,6	0,37	0,42	-0,19
II.8	3-Br	1730,3	3,8	0,39	0,45	-0,22
II.9	3-I	1729,8	3,3	0,35	0,42	-0,24
II.10	3-NO ₂	1734,7	8,2	0,71	0,65	0,13
II.11	3-CN	1732,7	6,2	0,56	0,51	0,15
II.12	3-CF ₃	1730,9	4,4	0,43	0,38	0,16
II.13	3-N(CH ₃) ₂	1722,8	-3,7	-0,16	0,15	-0,98
II.14	3-SO ₂ CH ₃	1733,2	6,7	0,60	0,53	0,19

^(a) Valores previstos para a posição de absorção do grupo carbonila, previstos pela equação, exceto para o composto I.1. $\nu_{(C=O)\text{exp}} = + 13,69 (\pm 3,31)\sigma + 1725,0 (\pm 1,41)$; ($n = 14$; $r = 0,933$; $s = 2,312$; $F = 80,939$; $Q^2 = 0,829$; $s\text{-PRESS} = 2,664$)

^(b) Valores da posição de absorção do grupo carbonila em cm^{-1} , retirados da literatura (Amaral *et al.*, 1997), obtidos em solução de CHCl_3 .

Para os compostos da **série I**, os valores de $\nu_{C=O}$ apresentaram uma faixa de variação de 17,5 cm^{-1} . O maior valor foi encontrado para o composto **I.10** ($R = 4\text{-NO}_2$; 1734,5 cm^{-1}), enquanto o menor valor foi atribuído ao composto **I.12** ($R = 4\text{-OC}_6\text{H}_{13}$; 1717,0 cm^{-1}).

Para os compostos da **série II** os valores de $\nu_{C=O}$, apresentaram uma faixa de variação de 11,9 cm^{-1} . O maior valor foi encontrado para o composto **II.10** ($R = 3\text{-NO}_2$; 1734,7 cm^{-1}), enquanto o menor valor foi atribuído ao composto **II.13** ($R = 3\text{-N(CH}_3)_2$; 1722,8 cm^{-1}).

Como pode ser observado nas tabelas IV.3.2.2 e IV.3.2.3 para as duas séries, grupos substituintes aceptores de elétrons ($\sigma_p > 0$) deslocam a posição de absorção do grupo carbonila para valores mais altos de frequência em cm^{-1} , em relação ao composto não-substituído para as séries I e II. Deslocamento oposto é observado para grupos substituintes doadores de elétrons ($\sigma_p < 0$).

Para o mesmo grupo substituinte, observa-se que os valores de $\nu_{C=O}$ (cm^{-1}), determinados para os compostos I.1 a I.14, série I, são menores do que os correspondentes da série II, considerando o erro experimental, com exceção dos compostos I.2 ($R = \text{CH}_3$), I.13 ($R = \text{SO}_2\text{CH}_3$) e I. 14 ($R = \text{CF}_3$).

Para os compostos das séries I e II, a validade de se utilizar como descritores do(s) efeito(s) eletrônico(s) transmitido(s) pelo substituinte e seus parâmetros espectroscópicos foi verificada através da aplicação e análise da equação tipo-Hammett aos valores de $\nu_{C=O}$, e os correspondentes valores das constantes de grupo substituinte tipo Hammett (σ_p , σ_m^- e Σ e $\mathfrak{R}$) retirados da literatura (Hansch *et al.*, 1995), com o objetivo de avaliar a contribuição do(s) efeito(s) eletrônico(s) transmitido(s) pelo substituinte sobre a polaridade da carbonila.

Para a série I, II e I e II reunidas as correlações mais significativas são expressas pelas equações de correlação e pelos gráficos (equações IV.3.2.4 a IV.3.2.9) e (figuras IV.3.2.1 a IV.3.2.3) apresentados a seguir. Os valores de $\nu_{C=O}$, respectivamente não foram normalizados para a obtenção das correlações.

Para as correlações obtidas entre $\nu_{C=O}$ vs Σ e $\mathfrak{R}$, para os compostos da série I, apresentadas na equação (eq.IV.3.2.4), a sensibilidade de $\nu_{C=O}$ ao efeito de campo/indutivo (Σ) e ao efeito de ressonância ($\mathfrak{R}$) é respectivamente de +6,74 e +18,80.

$$\text{Série I } (\nu_{C=O}) = +6,747 (\pm 4,35) \Sigma + 18,80 (\pm 3,53) \mathfrak{R} + 1727 (\pm 1,62) \quad (\text{eq.IV.3.2.4})$$

$$(n = 14; r = 0,973; s = 1,538; F = 99,437; Q^2 = 0,923; s\text{-PRESS} = 1,860)$$

$$\text{Série II } (\nu_{C=O}) = +12,82 (\pm 1,42) \Sigma + 4,802 (\pm 0,78) \mathfrak{R} + 1726 (\pm 0,63) \quad (\text{eq.IV.3.2.5})$$

$$(n = 14; r = 0,994; s = 0,402; F = 489,649; Q^2 = -0,964; s\text{-PRESS} = 0,723)$$

Para as correlações obtidas entre $\nu_{C=O}$ vs Σ e $\Re$, para os compostos da série II, apresentadas na eq.IV.3.2.5, a sensibilidade de $\nu_{C=O}$ ao efeito de campo/indutivo (Σ) e ao efeito de ressonância ($\Re$) é respectivamente de +12,82 e +4,80.

Série I e II ($\nu_{C=O}$) = + 11,68 ($\pm 5,84$) Σ + 9,234 ($\pm 3,78$) $\Re$ + 1726 ($\pm 2,45$) (eq.IV.3.2.6)

(n = 27; r = 0,859; s = 2,769; F = 33,667; Q^2 = 0,659; s-PRESS = 3,153)

Série I ($\nu_{C=O}$) = + 13,69 ($\pm 3,31$) σ + 1725 ($\pm 1,41$) (eq.IV.3.2.7)

(n = 14; r = 0,933; s = 2,312; F = 80,939; Q^2 = 0,829; s-PRESS = 2,664)

Figura IV.3.2.1. Valores da posição da banda de absorção do grupo carbonila ($\nu_{C=O}$) (cm^{-1}) na região do I.V., obtidos em solução de CHCl_3 em função dos valores das constantes de substituintes σ de Hammett para os compostos da série I.

Série II ($\nu_{C=O}$) = + 13,25 ($\pm 0,92$) σ + 1725 ($\pm 0,34$) (eq.IV.3.2.8)

(n = 14; r = 0,994; s = 0,400; F = 988,626; Q^2 = 0,983; s-PRESS = 0,478)

Figura IV.3.2.2- Valores da posição da banda de absorção do grupo carbonila ($\nu_{C=O}$) (cm^{-1}) na região do I.V., obtidos em solução de CHCl_3 em função dos valores das constantes de substituintes σ de Hammett para os compostos da série II.

Para as correlações obtidas entre $\nu_{C=O}$ vs Σ e $\mathcal{R}$, para os compostos das séries I e II, expressos pela eq.IV.3.2.6, a sensibilidade de $\nu_{C=O}$ ao efeito de campo/indutivo (Σ) e ao efeito de ressonância ($\mathcal{R}$) é respectivamente de +11,68 e +9,23.

Pelas equações (eq.IV.3.2.7) e (eq.IV.3.2.8) observa-se que a diferença esperada entre o efeito eletrônico transmitido pelos substituintes ao grupo carbonila para as séries I e II não é significativa considerando-se os valores do coeficiente angular iguais a 13,69 e a 13,25 respectivamente para as série I (*para*-substituídos) e II (*meta*-substituídos).

Série I e II ($\nu_{C=O}$) = + 13,84 ($\pm 1,83$) σ + 1725 ($\pm 0,75$) (eq.IV.3.2.9)

(n = 27; r = 0,952; s = 1,619; F = 242,277; Q² = 0,885; s-PRESS = 1,794)

Figura IV.3.2.3- Valores da posição da banda de absorção do grupo carbonila ($\nu_{C=O}$) (cm^{-1}) na região do I.V., obtidos em solução de CHCl_3 em função dos valores das constantes de substituintes σ de Hammett para os compostos da série I e II.

Para os compostos da série I e II para as séries I e II reunidas, as correlações significativas observadas nas Figuras IV.3.2.2 e IV.3.2.3, respectivamente entre $\nu_{C=O}$ e $\Sigma/\mathcal{R}$; e, $\nu_{C=O}$ e σ_p , validam a utilização de $\nu_{C=O}$ como descritores do(s) efeito(s) eletrônico(s) transmitido(s) pelo substituinte. Assim, para as séries I, II e as duas reunidas, os valores de $\nu_{C=O}$ poderão ser utilizados como descritores estruturais do(s) efeito(s) eletrônico(s) transmitido(s) pelo substituinte em análises de QSAR.

Estão resumidos na tabela IV.3.2.4 os valores dos parâmetros estatísticos e observados na aplicação da equação tipo-Hammett aos valores de $\nu_{C=O}$ em função das constantes de substituintes σ_p de Hammett e $\Sigma/\mathcal{R}$ de Swain e Lupton para séries de cloretos de *N,N*[(dimetilamino)etil] benzoatos *para*- e *meta*- substituídos (Séries I e II).

Tabela IV.3.2.4- Valores dos parâmetros estatísticos e de ρ , observados na aplicação da equação tipo-Hammett aos valores de $\nu_{C=O}$ em função de das constantes de substituintes σ de Hammett e de Σ e $\mathfrak{X}$ de Swain e Lupton, para séries de cloretos de *N,N*[(dimetilamino)etil] benzoatos *para*- e *meta*-substituídos. (Séries I e II).

Série	Equação tipo Hammett	n	r	ρ (Sigma)	ρ (Σ)	ρ ($\mathfrak{X}$)	Eq.
I	$(\nu_{C=O}) = + 6,747 (\pm 4,35) \Sigma + 18,80 (\pm 3,53) \mathfrak{X} + 1727 (\pm 1,62)$	14	0,973	---	+ 6,747	+18,80	(eq.IV.3.2.4)
II	$(\nu_{C=O}) = + 12,82 (\pm 1,42) \Sigma + 4,802 (\pm 0,78) \mathfrak{X} + 1726 (\pm 0,63)$	14	0,994	---	+12,82	+4,802	(eq.IV.3.2.5)
I e II	$(\nu_{C=O}) = + 11,68 (\pm 5,84) \Sigma + 9,234 (\pm 3,78) \mathfrak{X} + 1726 (\pm 2,45)$	27	0,859	---	+ 11,68	+ 9,234	(eq.IV.3.2.6)
I	$(\nu_{C=O}) = + 13,69 (\pm 3,31) \sigma + 1725 (\pm 1,41)$	14	0,933	+ 13,69	---	---	(eq.IV.3.2.7)
II	$(\nu_{C=O}) = + 13,25 (\pm 0,92) \sigma + 1725 (\pm 0,34)$	14	0,994	+ 13,25	---	---	(eq.IV.3.2.8)
I e II	$(\nu_{C=O}) = + 13,84 (\pm 1,83) \sigma + 1725 (\pm 0,75)$	27	0,952	+ 13,84	---	---	(eq.IV.3.2.9)

IV.3.3 Parâmetro relativo à polarizabilidade

A refratividade molar (MR) é um parâmetro que expressa efeitos de diferentes naturezas, relacionados às interações estéricas bem como proporcionais à polarizabilidade eletrônica. Assim, MR refletindo efeitos de naturezas diversas apresenta natureza dicotômica e, muitas vezes chamado pelo termo “camaleão”. Na literatura, em QSAR, esta discussão ainda está em aberto (Dearden, 1991a; Dearden & Cronin, 2006; Kubinyi, 1993; Selassie, 2003). Sugere-se que para coeficientes de regressão positivas em MR, este termo possa estar modelando interações de dispersão ou semi-polares. Por outro lado, para coeficientes de regressão negativos em MR, este termo pode estar associado ao efeito estérico.

Não menos importante é a análise da intercorrelação entre MR e o parâmetro lipofílico. Somente para séries onde estas intercorrelações são não significativas é que se pode avaliar e atribuir corretamente a contribuição do termo MR como sendo de natureza hidrofóbica, estérica ou relacionado à polarizabilidade.

Como parâmetro relativo à polarizabilidade dos grupos substituintes para os compostos das séries I e II, foram utilizados os valores de refratividade molar de grupo substituinte na posição 4 e 3 do anel aromático (MR_4), retirados da literatura (Kubinyi, 1993).

Para os compostos da série I os valores de MR_4 apresentaram uma faixa de variação de 2,987 unidades. O maior valor foi encontrado para $R = 4-OC_6H_{13}$ (compostos **I.12**), enquanto o menor valor foi observado para $R = 4-H$ (composto **I.1**).

Para os compostos da série II os valores de MR_3 apresentaram uma faixa de variação de 2,063 unidades. O maior valor MR_3 foi encontrado para $R = 3-OC_4H_9$ (composto **II.5**), enquanto o menor valor foi observado para $R = 3-H$ (composto **II.1**).

Nas equações de correlação para análise de QSAR os valores de MR_4 foram multiplicados por 0,1.

IV.3.4 Parâmetro Biológico

O parâmetro biológico determinado foi a inibição do crescimento frente à *S. cerevisiae* (BY4741) e frente à *E. coli* (DH5 α) determinado, respectivamente, para os 14 cloretos *N,N*[(dimetilamino)etil]-benzoatos *para*-substituídos, onde $R_4 = H, CH_3, C_2H_5, nC_4H_9, tC_4H_9, OCH_3, nOC_4H_9, COCH_3, Cl, CN, NO_2, OC_6H_{13}, SO_2Me, CF_3$ (**Série I**: compostos I.1 a I.14) bem como para os 14 cloretos *N,N*[(dimetilamino)etil]-benzoatos *meta*-substituídos onde $R_3 = H, -CH_3, -OCH_3, -OC_2H_5, -OC_4H_9, -F, -Cl, -Br, -I, -NO_2, -CN, -CF_3, -N(CH_3)_2, SO_2CH_3$ (**Série II**: compostos II.1. a II.14).

Procedendo-se como descrito no item II. 4 (metodologia), os valores de IC_{50} (concentração da inibição de 50% do crescimento) de cada um dos 27 compostos estudados neste trabalho (séries I e II) foram determinados avaliando-se a concentração dos microorganismos, através da medida do valor da densidade ótica do meio de cultura de *S. cerevisiae* (BY4741) e *E. coli* (DH5 α). Os valores IC_{50} são estimados por interpolação nas curvas de inibição e são expressos em mol/L.

A dispersão, em torno dos valores médios do IC_{50} (mol/l) obtidos para cada um dos compostos das séries I e II, foi analisada pelos respectivos valores de desvio padrão. Para as séries estudadas, estes foram de no **máximo 0,84 mol/L**.

Para fins de correlação, a atividade biológica de cada composto foi expressa pela potência biológica, ou seja, $\log(1/IC_{50})$ em que o valor de IC_{50} , foi expresso em mol/L.

Os experimentos de inibição de crescimento frente à *S. cerevisiae* (BY4741) e frente à *E. coli* (DH5 α) foram realizados por mim e foram realizadas no Laboratório de Oxidação Biológicas em Leveduras, do Instituto de Biologia da USP sob orientação do Prof. Luís Eduardo Soares Netto.

Os valores de IC₅₀ expressos em mol/L, e os correspondentes valores de desvio padrão e de $\log(1/IC_{50})$, sendo IC₅₀ expresso em mol/L obtidos para os compostos das séries I e II, estão apresentados nas Tabelas III.6.3.12.2, III.6.4.13.2 para *S. cerevisiae* (BY4741) e nas Tabelas III.6.7.14.2 e III.6.8.13.2 para *E. coli* (DH5 α), parte experimental.

Todos os compostos testados foram ativos, respectivamente, contra *S. cerevisiae* (BY4741) e contra *E. coli* (DH α).

Para os compostos da série I foi observada uma variação no valor da potência biológica ($\log(1/IC_{50})$) avaliada frente à *S. cerevisiae* (BY4741) igual a 3,043. O composto **I.12** (R = 4-OC₆H₁₃) apresenta o maior valor de $\log(1/IC_{50}) = 5,043$ enquanto que o composto **I.11** (R = 4-CN) apresenta o menor valor de $\log(1/IC_{50}) = 2,000$ **Para os compostos da série II** foi observada uma variação no valor da potência biológica ($\log(1/IC_{50})$) avaliada frente à *S. cerevisiae* igual a 1,501. O composto **II.13** (R = 3-N(CH₃)₂) apresenta o maior valor de $\log(1/IC_{50}) = 3,386$ enquanto que o composto **II.11** (R = 3-CN) apresenta o menor valor de $\log(1/IC_{50}) = 1,885$. **Para os compostos da série I** foi observada uma variação no valor da potência biológica ($\log(1/IC_{50})$) avaliada frente à *E. coli* (DH5 α) igual a 2,478. O composto **I.12** (R = 4-OC₆H₁₃) apresenta o maior valor de $\log(1/IC_{50}) = 3,821$. enquanto que o composto **I.11** (R = 4-CN) apresenta o menor valor de $\log(1/IC_{50}) = 1,343$.

Para os compostos da série II foi observada uma variação no valor da potência biológica ($\log(1/IC_{50})$) avaliada frente à *E. coli* (DH5 α). igual a 2,402. O composto **II.9** (R = 3-I) apresenta o maior valor de $\log(1/IC_{50}) = 3,9624$ enquanto que o composto **II.14** (R = 3-SO₂CH₃) apresenta o menor valor de $\log(1/IC_{50}) = 1,560$.

Alguns dados de anestésicos locais foram retirados da literatura e estes dados estão apresentados na **tabela IV.3.4.1**.

Tabela IV.3.4.1. Dados de alguns anestésicos locais retirados da literatura

Composto	Características estruturais			Parâmetros Biológicos				Referência
	PM	logP Craig, 1990	pK _a Craig, 1990	Espécie	IC ₅₀	MIC Tubo	MIC Placa	
 Bupivacaína	288,44	1,60 (M,pH6,0)	8,10	<i>E. coli</i> (ATCC25922)	-	13mmol/mL	-	Pere <i>et al.</i> , 1999
 Ropivacaína	274,41	2,86 (C)	-	<i>E. coli</i> (ATCC25922)	-	> 13mmol/mL	-	Pere <i>et al.</i> , 1999
 Tetracaína	264,37	3,73	8,39	<i>S. cerevisiae</i> (W303)	1mmol	4mM	2mM	Araki <i>et al.</i> , 2005

Conforme descrito na introdução, em um estudo (Araki *et al.*, 2005) realizado com uma série de mutantes de *Saccharomyces cerevisiae* hipersensíveis à tetracaína, foi determinado que para a cepa selvagem W303, o valor da concentração de tetracaína que reduz o crescimento destas células em 50% (IC₅₀) foi de 1 mM em meio YPD líquido. Este trabalho também descreve que a concentração mínima de tetracaína capaz de inibir o crescimento da cepa W303 é de 2 mM em meio YPD sólido ou de 4 mM em meio YPD líquido.

Neste trabalho, após a otimização dos ensaios, determinou-se para a tetracaína o valor de inibição de crescimento para *S. cerevisiae* (BY4741) e para *E. coli* (DH5α). Estes foram, respectivamente, iguais a 4,65 x 10⁻⁵ M (Figura III.6.3.0.1- parte experimental) e, 8,65 x 10⁻⁴ M (Figura III. 6.7.0.1- parte experimental). Os valores observados de inibição de crescimento para *S. cerevisiae* (BY4741) são diferentes dos valores descritos na literatura (Araki *et al.*, 2005). Este fato pode ser explicado considerando-se que a cepa utilizada nos ensaios foi diferente (cepa selvagem W303) e não

houve controle do pH no ensaio. Este último aspecto torna-se bastante importante pois a tetracaína possui um grupo ionizável com pK_a igual a 8,39 9 (Craig, 1990).

Neste trabalho, observa-se que para um mesmo composto, os valores de concentração necessários para se observar inibição da bactéria *E. coli* (DH5 α) foram maiores do que para o fungo *S. cerevisiae* (BY4741), exceto os compostos **I.10** (4-NO₂); **II.6** (3-F) e **II.8** (3-Br) ; **II.9** (3-I); **II.10** (3-4-NO₂)

A Figura IV.3.4.1 mostra as correlações obtidas entre as atividades antimicrobianas avaliadas respectivamente contra o fungo *S. cerevisiae* (BY4741) e contra a bactéria *E. coli* (DH5 α), expressas pelos valores de $\log (1/IC_{50})$, sendo IC_{50} em mol/L, determinados para os compostos das séries I, II.

$$\text{Série II } \log (1/IC_{50}) (S. c) = +0,71 (\pm 0,34) \log (1/IC_{50}) (E. c) + 1,07 (\pm 0,85) \quad (\text{eq.IV.3.4.1})$$

$$(n = 27; r = 0,651; s = 0,578; F = 18,400; Q^2 = 0,250; s\text{-PRESS} = 0,660)$$

Figura IV.3.4.1. Gráfico e equação de correlação entre os valores de $\log (1/IC_{50})$ avaliados contra *S. cerevisiae* (BY4741) em função dos valores de $\log (1/IC_{50})$ avaliados contra *E. coli* (DH5 α) observados para os compostos das séries I e II (n-27)

Para os compostos das series I e II, excluindo-se os compostos **I.10** (R=4-NO₂); **II.6** (3-F); **II.8** (R=3-Br); **II.9** (R=3-I) e **II.10** (R=3-NO₂) observa-se um correlação linear apresentada na figura IV.3.4.2 e expressa pela equação eq.IV.3.4.2. Esta indica uma correlação significativa entre as potências antimicrobianas avaliadas contra os dois microorganismos, sugerindo um mesmo mecanismo de ação.

Série I e II $\log(1/IC_{50})(S. cerevisiae) = + 1,24 (\pm 0,19) \log(1/IC_{50})(E. coli) + 0,083 (\pm 0,44)$ (eq.IV.3.4.2)

(n = 22; r = 0,951; s = 0,248; F = 188,879; Q² = 0,882; s-PRESS = 0,274)

Figura IV.3.4.2. Gráfico e equação de correlação entre os valores de $\log(1/IC_{50})$ avaliados para *S. cerevisiae* (BY4741) versus valores de $\log(1/IC_{50})$ avaliados para *E. coli* (DH5 α) observados para os compostos das séries I e II, exceto para os compostos I.10; II.6; II.8; II.9 e II.10, n=22.

Um estudo de QSAR de hidrazidas *para*-substituídas mostrou uma correlação significativa entre os valores das atividades antimicrobianas avaliadas contra *S. cerevisiae* (BY4741) e *E. coli* (DH5 α) expresso pela equação (eq. IV.3.4.2a). Neste trabalho sugere-se que o processo de transporte das hidrazidas através dos diferentes sistemas celulares devem ser semelhantes (Montanari & Montanari, 2002).

$$\log 1/IC_{50}(S.c) = 0,49 (\pm 0,16) \log 1/IC_{50}(E.c) + 2,07 (\pm 0,49) \quad (\text{eq.IV.3.4.2a})$$

$$n = 8; r^2 = 0,904; s = 0,093; F = 56,44; r^2 Q^2_{cv} = 0,788$$

Neste trabalho, para as séries I e II, verifica-se que compostos mais ativos contra o fungo *S. cerevisiae* também o são contra a bactéria *E. coli* (DH5 α) (Tabelas IV.4.1.1 e IV.4.1.2).

Deste modo, pode-se afirmar, que de maneira geral e para todos os compostos testados nas séries I e II, exceto para os compostos I.6. (R=4-OCH₃); I.10 (R=4-NO₂); II.6 (3-F); II.8 (R=3-Br) e II.9 (R=3-I) e II.10 (R=3-NO₂), as propriedades físico-químicas que tornam um composto mais potente contra o fungo *S. cerevisiae* também o fazem contra a bactéria *E. coli* (DH5 α).

O comportamento diferente dos compostos I.10 (R=4-NO₂); II.6 (3-F); II.8 (R=3-Br); II.9 (R=3-I) e II.10 (R=3-NO₂) pode estar relacionado com a ionização dos compostos. Nos ensaios, apesar do meio estar tamponado (7,4; HEPES, 0,25M), observou-se uma variação nos valores do pH do meio de cultura até 7,0, como apresentado na **tabela IV.3.4.1**. Vale ressaltar que o aumento da concentração do tampão para valores acima de 0,25M causaram um decréscimo no crescimento das cepas, como discutidos no item III.6.2.2, parte experimental. Considerando que o pK_a desta classe de compostos é de ~8,5 (Amaral *et al.*, 1997) os resultados observados para os 5 compostos podem ser explicados através da

diminuição do coeficiente de partição neste valor de pH. Deve-se para tanto considerar que a atividade antimicrobiana desta classe de compostos apresenta uma dependência positiva no termo lipofílico (aspecto discutido a frente nesta tese)

Tabela IV.3.4.1A. Valores de pH do meio de cultura tamponado na presença dos compostos das séries I e II após o experimento de 7:15min com *S. cerevisiae* (BY4741) e 3hs para *E. coli* (DH5α). Valor do pH do meio original é 7,4 caso contrário foi mencionado nos parentesis.

Composto	R	pH		Composto	R	pH	
		(<i>S.c.</i> BY4741)	(<i>E.c.</i> DH5α)			(<i>S.c.</i> BY4741)	(<i>E.c.</i> DH5α)
I.1	-H	(*7,35) 7,30	7,04	I.1	-H	7,30	7,04
I.2	4-CH ₃	7,20	7,05	II.2	3-CH ₃	7,23	(*7,36) 7,34
I.3	4-C ₂ H ₅	(*7,35) 7,30	7,34	II.3	3-OCH ₃	(*7,30) 7,31	7,00
I.4	4-nC ₄ H ₉	(*7,28) 7,40	7,40	II.4	3-OC ₂ H ₅	7,01	7,35
I.5	4-tC ₄ H ₉	7,40	7,44	II.5	3-nOC ₄ H ₉	7,15	7,05
I.6	4-OCH ₃	7,23	(*7,30) 7,25	II.6	3-F	7,14	7,15
I.7	4-nOC ₄ H ₉	7,37	7,40	II.7	3-Cl	(*7,26) 7,17	7,21
I.8	4-COCH ₃	(*7,28) 7,40	7,04	II.8	3-Br	(*7,30) 7,33	7,33
I.9	4-Cl	(*7,28) 7,36	(*7,26) 7,21	II.9	3-I	7,23	7,28
I.10	4-NO ₂	(*7,26) 7,10	7,08	II.10	3-NO ₂	(*7,26) 7,10	7,11
I.11	4-CN	(*7,35) 7,33	7,35	II.11	3-CN	(*7,30) 7,61	7,05
I.12	4-nOC ₆ H ₁₃	(*7,26) 7,44	(*7,26) 7,42	II.12	3-CF ₃	(*7,26) 7,22	7,26
I.13	4-SO ₂ CH ₃	7,27	7,08	II.13	3-N(CH ₃) ₂	(*7,30) 7,14	7,15
I.14	4-CF ₃	(*7,35) 7,37	7,22	II.14	3-SO ₂ CH ₃	(*7,30) 6,98	7,07

(*) Valor observado após autoclave da solução original tamponado com HEPES com o pH inicial de 7,4.

Esta classe de composto é suscetível à hidrólise. Assim, para verificar o efeito da hidrólise do composto no ensaio, após a exposição ao meio de cultura foi realizado análise de CG de alguns compostos. Os compostos foram extraídos do meio como descrito anteriormente (item II.2.3 - Metodologia). Os compostos extraídos do meio de cultura foram a tetracaína e os compostos I.6 e I.9, sendo observados os valores de 90%, 94% e 100% respectivamente em massa na análise de CG.

A partir dos resultados obtidos pode-se sugerir que para estes compostos não se observa hidrólise significativa, nas condições utilizadas nos ensaios biológicos. Porém a análise de todos os demais compostos não foi possível ser realizada até o momento.

IV.4. Análise das regressões obtidas para estudos de QSAR

IV. 4.1. Abordagem de QSAR

A *abordagem tradicional* de QSAR desenvolvida por Hansch e Fujita em 1964 (Hansch & Fujita, 1964; Kubinyi, 1993), foi utilizada para avaliar a(s) natureza(s) e a(s) contribuição(ões) relativa(s) dos parâmetros físico-químicos/estruturais responsáveis pela inibição do crescimento dos microorganismos *Saccharomyces cerevisiae* (BY4741) e *Escherichia coli* (DH5 α), respectivamente, determinada para cada um dos compostos das séries I e II.

Assim, as equações de correlação foram obtidas utilizando-se o programa BILIN, versão 1998. Em todas as equações de correlação apresentadas a seguir, **n** representa o número de compostos e os valores entre parênteses representam o intervalo de confiança dos coeficientes (95%); **F** é o teste de significância de Fisher, **r** expressa o coeficiente de correlação e **s** expressa o desvio padrão, **Q²** e **s-PRESS** expressam o quadrado do coeficiente de correlação e o desvio padrão, associados ao teste de validação cruzada.

Para os resultados obtidos para cada uma das séries, os modelos linear, parabólico e bilinear com uma ou duas variáveis foram aplicados (Hansch & Fujita, 1964; Kubinyi, 1993). As melhores regressões, ou seja, as estatisticamente mais significativas, foram selecionadas.

Estão apresentados nas **Tabela IV.4.1.1 e Tabela IV.4.1.2** os valores obtidos de inibição do crescimento frente à *S. cerevisiae* (BY4741) e frente à *E. coli* (DH5 α), expressos por $\log(1/IC_{50})$ em que o valor de IC_{50} , foi expresso em mol/L, e dos parâmetros utilizados na análise de regressão, respectivamente: lipofílicos (π_m , π_p , $\log P_{CLOGP}$, $\log P_{ACD}$ e, $\log P_{app}$); relativos à refratividade molar (MR_4 , MR_3) e, os eletrônicos (σ_p , σ_m ; $\mathfrak{S}$ e $\mathfrak{R}$ e $v_{C=O}$), respectivamente para as séries I e II.

As intercorrelações entre os parâmetros utilizados na análise estão apresentados nas **Tabelas IV.4.1.3 a Tabela IV.4.1.6**

Tabela IV.4.1.3 - Matriz de intercorrelação (r^2) entre os parâmetros utilizados nas correlações, relativos aos compostos I.1 a I.14 (série I) (n=14).

[illegible]

Tabelas IV.4.1.4 - Matriz de intercorrelação (r^2) entre os parâmetros utilizados nas correlações, relativos aos compostos I.1 aos I.14 (**série I**) (n=13), excluindo-se o composto I.12 (R- 4-OC₆H₁₃).

[illegible]

Tabela IV.4.1.5 - Matriz de intercorrelação (r^2) entre os parâmetros utilizados nas correlações, relativos aos compostos II.1 aos II.14 (série II) (n=14).

	$\pi_{m(lit)}$	π_{CLAE}	CLOGP	ACD/logP _{7,4}	logP _{CLAE}	σ_m	$\mathfrak{S}$	$\mathfrak{R}$	$v_{(C=O)}$	MR _{3(lit)}
$\pi_{m(lit)}$	1	0,924	0,945	0,967	0,924	0,064	0,024	0,104	0,076	0,064
π_{CLAE}		1	0,974	0,921	1,000	0,167	0,072	0,241	0,194	0,184
CLOGP			1	0,931	0,975	0,195	0,092	0,264	0,219	0,120
logP _{ACD7,4}				1	0,921	0,073	0,034	0,110	0,089	0,062
logP _{CLAE}					1	0,167	0,080	0,241	0,194	0,184
σ_m						1	0,862	0,529	0,988	0,027
$\mathfrak{S}$							1	0,177	0,802	0,002
$\mathfrak{R}$								1	0,591	0,225
$v_{(C=O)}$									1	0,045
MR _{3(lit)}										1

Tabela IV.4.1.6 - Matriz de intercorrelação (r^2) entre as variáveis independentes, utilizadas nas correlações, relativos aos compostos I.1 aos I.14 e II.2 aos II.14 (séries I e II) (n=27).

	π	π_{CLAE}	CLOGP	logP _{ACD7,4}	logP _{CLAE}	σ	$\mathfrak{S}$	$\mathfrak{R}$	$v_{(C=O)}$	RM ₄	RM ₃
π	1	0,968	0,967	0,962	0,968	0,313	0,160	0,162	0,276	0,259	0,001
π_{CLAE}		1	0,983	0,953	1,000	0,375	0,176	0,250	0,353	0,261	0,002
CLOGP			1	0,968	0,983	0,424	0,199	0,272	0,410	0,289	0,000
logP _{ACD7,4}				1	0,953	0,344	0,163	0,175	0,341	0,335	0,004
logP _{CLAE}					1	0,375	0,176	0,250	0,353	0,261	0,001
σ						1	0,680	0,486	0,902	0,181	0,010
$\mathfrak{S}$							1	0,105	0,437	0,052	0,022
$\mathfrak{R}$								1	0,536	0,021	0,134
$v_{(C=O)}$									1	0,271	0,015
RM ₄										1	0,244
RM ₃											1

Serão apresentadas a seguir, as melhores equações obtidas (estatisticamente mais significativas) envolvendo as correlações entre os parâmetros físico-químicos e a de inibição do crescimento frente à *S. cerevisiae* (BY4741) e frente à *E. coli* (DH5 α), com uma e/ou duas variáveis.

A análise do parâmetro lipofílico, será feita através das equações de correlação de, **log(1/IC₅₀) vs π** , **log(1/IC₅₀) vs logP_{calc}** e, **log(1/IC₅₀) vs logP_{app}**.

A análise do parâmetro relacionado a refratividade molar, será feita através das equações de correlação de, **log(1/IC₅₀) vs MR₃** ou **MR₄**.

A análise do parâmetro eletrônico, será feita através das equações de correlação, $\log(1/IC_{50})$ vs σ , $\log(1/IC_{50})$ vs $\mathfrak{S}$ e $\mathfrak{R}$ e, $\log(1/IC_{50})$ vs $v_{C=0}$.

A análise multiparamétrica com **duas variáveis**, será feita através das equações de correlação $\log 1/IC_{50}$ vs $\log P_{app}$ e σ_m , $\log 1/IC_{50}$ vs $\log P_{app}$ e $\mathfrak{S}$, $\mathfrak{R}$ e $\log 1/IC_{50}$ vs $\log P_{app}$ e MR_3 .

A partir dos valores apresentados nas Tabelas IV.4.1.3 a Tabela IV.4.1.6 foram obtidas as seguintes equações de regressão:

IV.4.2. Inibição do crescimento frente à *S. cerevisiae* (BY4741)

IV.4.2.1 Análise do efeito da lipofilicidade sobre inibição do crescimento frente à *S. cerevisiae* (BY4741).

$\log(1/IC_{50})$ vs π

Série I

$$\log 1/IC_{50} (S. c) = + 0,690 (\pm 0,25)\pi + 2,564 (\pm 0,31) \quad (\text{eq. IV.4.2.1.1}) \text{ (s)}$$

$$(n = 14; r = 0,867; s = 0,435; F = 36,325; Q^2 = 0,604; s\text{-PRESS} = 0,550)$$

Série II

$$\log 1/IC_{50} (S. c) = + 0,391 (\pm 0,38)\pi + 2,321 (\pm 0,30) \quad (\text{eq. IV.4.2.1.2}) \text{ (n.s.)}$$

$$(n = 14; r = 0,548; s = 0,449; F = 5,140; Q^2 = 0,075; s\text{-PRESS} = 0,516)$$

Séries I e II

$$\log 1/IC_{50} (S. c) = + 0,625 (\pm 0,22)\pi + 2,423 (\pm 0,23) \quad (\text{eq. IV.4.2.1.3}) \text{ (s)}$$

$$(n = 27; r = 0,760; s = 0,495; F = 34,241; Q^2 = 0,473; s\text{-PRESS} = 0,553)$$

Como descrito no item IV.3.1 (resultados e discussão) o **parâmetro π** descreve a contribuição hidrofóbica do substituinte.

Pela análise dos parâmetros estatísticos relativos, respectivamente, às equações eq. IV.4.2.1.1 a eq. IV.4.2.1.3, pode-se considerar que a equação IV.4.2.1.1 é estatisticamente significativa explicando **86,7%** da variância na atividade antimicrobiana avaliada contra *S. cerevisiae* ($r = 0,867$) **série I**. E a eq. IV.4.2.1.3 é ligeiramente significativa, explicando **76,0%** da variância na atividade antimicrobiana avaliada contra *S. cerevisiae* (**séries I e II reunidas**).

Os modelos **QSAR gerados para *S. cerevisiae*** utilizando π como parâmetro hidrofóbico apresentam uma **contribuição** positiva e menor do que 1 (um) do termo hidrofóbico iguais a **0,690 (série I)** e **0,625 (séries I e II reunidas)**, respectivamente. Utilizando-se π como parâmetro hidrofóbico constata-se que o modelo gerado para ***S. cerevisiae* para a série II é não significativo** (eq. IV.4.2.1.3).

Na literatura modelos de QSAR gerados para a atividade antimicrobiana avaliada contra *S. cerevisiae* para uma variedade de compostos mostraram contribuição positiva do parâmetro π (tabela IV.4.1.1.A).

log(1/IC₅₀) vs logP_{ACD}

Série I:

$$\log 1/IC_{50} (S. c) = + 0,694 (\pm 0,21) \log P_{ACD}^{7.4} + 1,734 (\pm 0,46) \quad (\text{eq. IV.4.2.1.4}) \quad (\underline{s})$$

$$(n = 14; r = 0,898; s = 0,384; F = 50,170; Q^2 = 0,696; s\text{-PRESS} = 0,481)$$

Série II

$$\log 1/IC_{50} (S. c) = + 0,415 (\pm 0,37) \log P_{ACD}^{7.4} + 1,851 (\pm 0,61) \quad (\text{eq. IV.4.2.1.5}) \quad (\underline{ns})$$

$$(n = 14; r = 0,581; s = 0,436; F = 6,123; Q^2 = 0,145; s\text{-PRESS} = 0,496)$$

Séries I e II

$$\log 1/IC_{50} (S. c) = + 0,643 (\pm 0,20) \log P_{ACD}^{7.4} + 1,670 (\pm 0,39) \quad (\text{eq. IV.4.2.1.6}) \quad (\underline{s})$$

$$(n = 27; r = 0,802; s = 0,455; F = 45,022; Q^2 = 0,556; s\text{-PRESS} = 0,508)$$

Como discutido em item IV.3.1 (resultados e discussão) o **logP_{ACD}** descreve a contribuição hidrofóbica da molécula toda (parâmetro obtido por cálculo que considera a contribuição da ionização para a partição).

Pela análise dos parâmetros estatísticos relativos, respectivamente, às equações eq. IV.4.2.1.4 a eq. IV.4.2.1.6, pode-se considerar que as equações IV.4.2.1.4 e IV.4.2.1.6 são estatisticamente significativas. A equação eq. IV.4.2.1.4 (**série I**) explica **89,8%** da variância na atividade antimicrobiana avaliada contra *S. cerevisiae* (**r = 0,898**) enquanto que a equação IV.4.2.1.6 (**séries I e II reunidas**) explica **80,2%** da variância na atividade antimicrobiana avaliada contra ***S. cerevisiae* (r=0,802)**.

Os modelos **QSAR gerados para *S. cerevisiae*** utilizando **logP_{ACD}** como parâmetro hidrofóbico apresentam uma **contribuição** positiva e menor do que 1 (um) do termo hidrofóbico iguais a **0,694 (série I)** e **0,643 (séries I e II reunidas)**, respectivamente. Utilizando-se **logP_{ACD}** como parâmetro hidrofóbico constata-se que o modelo gerado para ***S. cerevisiae* para a série II é não significativo** (eq. IV.4.2.1.5).

log(1/IC₅₀) vs logP_{CLAE}

Série I. $\log 1/IC_{50} (S.c) = + 0,755 (\pm 0,26) \log P_{CLAE} + 1,709 (\pm 0,52)$ (eq.IV.4.2.1.7) (**s**)

(n = 14; r = 0,877; s = 0,419; F = 40,149; Q² = 0,621; s-PRESS = 0,538)

Série II. $\log 1/IC_{50} (S.c) = + 0,537 (\pm 0,37) \log P_{CLAE} + 1,653 (\pm 0,61)$ (eq.IV.4.2.1.8) (**ns**)

(n = 14; r = 0,677; s = 0,395; F = 10,132; Q² = 0,315; s-PRESS = 0,444)

Séries I e II. $\log 1/IC_{50} (S.c) = + 0,719 (\pm 0,22) \log P_{CLAE} + 1,578 (\pm 0,42)$ (eq.IV.4.2.1.9) (**s**)

(n = 27; r = 0,797; s = 0,460; F = 43,636; Q² = 0,540; s-PRESS = 0,517)

Como discutido em item IV.3.1 (resultados e discussão) o **logP_{CLAE}** descreve a contribuição hidrofóbica da molécula toda (parâmetro experimental considera a contribuição da ionização para a partição).

Pela análise dos parâmetros estatísticos relativos, respectivamente, às equações eq. IV.4.2.1.7 a eq. IV.4.2.1.8, pode-se considerar que a equação IV.4.2.1.7 é estatisticamente significativa explicando **87,7%** da variância na atividade antimicrobiana avaliada contra *S. cerevisiae* (**r = 0,877**) **série I**. E a eq. IV.4.2.1.9 é ligeiramente significativa, explicando **79,7%** da variância na atividade antimicrobiana avaliada contra *S. cerevisiae* (**séries I e II reunidas**).

Os modelos **QSAR gerados para *S. cerevisiae*** utilizando **logP_{CLAE}** como parâmetro hidrofóbico apresentam uma **contribuição** positiva e menor do que 1 (um) do termo hidrofóbico iguais a **0,755 (série I)** e **0,719 (séries I e II reunidas)**, respectivamente. Utilizando-se **logP_{CLAE}** como parâmetro hidrofóbico constata-se que o modelo gerado para ***S. cerevisiae* para a série II é não significativo** (eq. IV.4.2.1.8).

As **contribuições do parâmetro hidrofóbico** descritos por **π** ou **logP_{ACD}** ou **logP_{CLAE}** para a atividade antimicrobiana avaliadas contra *S. cerevisiae* **são menores que 1 (um)** e **considerados pequenos** segundo uma análise crítica de Hansch (Hansch *et al.*, 1995).

Considerando-se inicialmente somente o parâmetro hidrofóbico, o melhor modelo que descreve a atividade antimicrobiana avaliada contra *S. cerevisiae* é obtido utilizando-se $\log P_{\text{CLAE}}$ como descritor (eq. IV.4.2.1.7 (série I), eq. IV.4.2.1.9 (séries I e II reunidas). Para a série II os modelos que descrevem a atividade antimicrobiana avaliada contra *S. cerevisiae* não foram significativos utilizando-se somente o parâmetro hidrofóbico como descritor.

Desta forma, neste trabalho, pode-se afirmar que para a série I e para as séries I e II reunidas os compostos mais lipofílicos foram mais potentes para inibir *S. cerevisiae*.

Fazendo-se uma comparação com relatos da literatura para estudos de QSAR para compostos apresentando atividade antimicrobiana avaliada contra *S. cerevisiae*, constata-se que a inibição do crescimento de *S. cerevisiae* por vários compostos orgânicos pode ser descrita pela hidrofobicidade (Tabela IV.4.1.1.A)

Observa-se pela tabela IV.4.1.1.A que modelos QSAR retirados da literatura apresentam também uma contribuição positiva do termo hidrofóbico para a inibição de *S. cerevisiae* por diferentes compostos como: **fenóis, ácidos benzóicos, anilinas, camptotecinas, apresentando** valores do coeficiente de correlação (*r*) estatisticamente válidos variando na faixa de 0,8 a 0,9.

Tabela IV.4.2.1.A. Exemplos de modelos QSAR de compostos orgânicos frente à *S. cerevisiae* da literatura

Composto	Faixa de concentração	Modelos QSAR para <i>S. cerevisiae</i>	Referência:
 Benzamidazóis	6,25 a 50 µg/ml	$\log 1/C_{mic} = 0,722\log P + 1,539$ $n = 12; r = 0,930; s = 0,157; F = 64,549; Q^2 = 0,799$	Podunavac-Kuzmanovic <i>et al.</i> , 2007
 Benzamidazóis	6,25 a 50 µg/ml	$\log 1/C_{mic} = -0,418\log P^2 + 3,827\log P - 4,111$ $n = 12; r = 0,968; s = 0,114; F = 66,068; Q^2 = 0,898$	Podunavac-Kuzmanovic <i>et al.</i> , 2007
 Furano 3-Carboxamidas	0,25 µg/mL a 320 µg/mL	$pMIC_{S.c} = 0,014(\pm 0,008)MR + 2,15123(\pm 0,532)$ $n = 8; r^2 = 0,862; s = 0,162; F = 17,3; Q^2 = 0,575$	Zanatta <i>et al.</i> , 2007
Ácido benzóicos	$1,17 \times 10^{-5}$ a 0,123 mol/L	$\log 1/C_{miz} = 0,82\log K_{oct} - 1,03$ $n = 10; r^2 = 0,98; s = 0,07; F = 534,81$	Liao <i>et al.</i> , 1996
Fenóis	$1,17 \times 10^{-5}$ a 0,123 mol/L	$\log 1/C_{miz} = 0,74\log K_{oct} - 0,17$ $n = 8; r^2 = 0,99; s = 0,06; F = 988,89$	Liao <i>et al.</i> , 1996
Anilinas	$1,17 \times 10^{-5}$ a 0,123 mol/L		Liao <i>et al.</i> , 1996

Composto	Faixa de concentração	Modelos QSAR para <i>S. cerevisiae</i>	Referência:
		$\log 1/C_{miz} = 0,72\log K_{oct} - 0,25\sigma + 0,56$ $n=9; r^2= 0,98; s= 0,06; F = 775,10$	
 Camptotecinas	≈4,24 a 6,05 mol/L	$\log 1/C_{50} = 1,77(\pm 0,86)\pi_X + 5,97(\pm 0,64)$ $n = 4, r^2 = 0,975; s = 0,156, q^2 = 0,718,$ $Q = 6,327; F_{1,2} = 78,000$	Verma & Hansch, 2009 (a) (Rahier et al., 2004)
 Hidrazidas	2,14 μmol/L a 2,90 μmol/L	$\log 1/C_{50S.c} = -0,273 (\pm 0,11)MR + 3,883 (\pm 0,17)$ $n = 8, r^2 = 0,857; s = 0,111, F = 36,66; r^2_{cv} = 0,712$	Montanari & Montanari, 2002
 Hidrazidas	2,14 μmol/L a 2,90 μmol/L	$\log 1/C_{50S.c} = -0,210 (\pm 0,11)\pi + 3,745 (\pm 0,18)$ $n = 8, r^2 = 0,728; s = 0,153, F = 16,073; r^2_{cv} = 0,382$	Montanari & Montanari, 2002

Outros dados da literatura, entretanto, mostram exemplos (**hidrazidas**), em que se observa uma contribuição **hidrofóbica negativa** para a inibição de *S. cerevisiae* ($r = 0,728$) (Montanari & Montanari, 2002). Desta forma observa-se que onde há falta ou há exceções de contribuição positiva da hidrofobicidade outro processo possa estar ocorrendo e deve ser considerado (Hansch, 1993).

IV.4.2.2 Análise do efeito relacionado à MR sobre a inibição do crescimento frente à *S. cerevisiae* (BY4741)

log(1/IC₅₀) vs MR

Série I: $\log 1/IC_{50(S.c)} = + 0,846 (\pm 0,35)RM_4 + 2,037 (\pm 0,51)$ (eq.IV.4.2.2.1) (s)

($n = 14; r = 0,833; s = 0,484; F = 27,097; Q^2 = 0,575; s\text{-PRESS} = 0,569$)

Série II: $\log 1/IC_{50(S.c)} = + 0,526 (\pm 0,45)RM_3 + 1,954 (\pm 0,52)$ (eq.IV.4.2.2.2) (ns)

($n = 14; r = 0,591; s = 0,433; F = 6,435; Q^2 = 0,171; s\text{-PRESS} = 0,488$)

Séries I e II: $\log 1/IC_{50} = + 0,780 (\pm 0,28)RM_{4,3} + 1,906 (\pm 0,37)$ (eq.IV.4.2.2.3) (s)

($n = 28; r = 0,745; s = 0,504; F = 32,341; Q^2 = 0,460; s\text{-PRESS} = 0,554$)

Como discutido em item IV.3.3 (resultados e discussão) **MR** descreve a contribuição relativa a refratividade molar, podendo expressar características estéricas e de polarizabilidade do substituinte.

Pela análise dos parâmetros estatísticos relativos, respectivamente, às equações eq. IV.4.2.2.1 a eq. IV.4.2.2.3, pode-se considerar que a equação IV.4.2.2.1 é estatisticamente significativa explicando **83,3%** da variância na atividade antimicrobiana avaliada contra *S. cerevisiae* (**$r = 0,833$**) **série I**. E a eq. IV.4.2.2.3 é ligeiramente significativa, explicando **74,5%** da variância na atividade antimicrobiana avaliada contra *S. cerevisiae* (**séries I e II reunidas**).

Os modelos **QSAR gerados** para *S. cerevisiae* utilizando **MR** como descritor apresentam uma **contribuição** positiva e menor do que 1 (um) do termo associado a **MR** iguais a **0,846** (**série I**) e **0,780** (**séries I e II reunidas**), respectivamente. Utilizando-se **MR como parâmetro** constata-se que o modelo gerado para *S. cerevisiae* para a **série II** é **não significativo** (eq. IV.4.2.2.2).

Nos modelos gerados, os valores das **contribuições do parâmetro associado a MR** para a atividade antimicrobiana avaliada contra *S. cerevisiae* são **positivos** sugerindo, como discutido anteriormente e ressaltado na literatura por Dearden (Dearden, 1991a) que MR esteja expressando interações dispersivas ou semi-polares. Para a **série I** e **séries I e II reunidas** esta afirmação é reforçada, considerando-se as intercorrelações não significativas ($r^2 = 0,184$ (séries II) e $r^2 = 0,247$; $r^2=0,05$ (séries I e II reunidas) entre o parâmetro lipofílico ($\log P_{CLAE}$) e os valores de MR_3 e MR_4 .

Fazendo-se uma **comparação com relatos da literatura** para estudos de QSAR para compostos apresentando atividade antimicrobiana avaliada contra *S. cerevisiae*, constata-se que há poucos dados de literatura utilizando o parâmetro MR para descrever a inibição frente à *S. cerevisiae* (Tabela IV.4.1.1A). No trabalho de Zanatta para uma série de carboxamidas observa-se uma contribuição pequena (0,014) e positiva de MR para a inibição de *S. cerevisiae*, sugerindo-se a contribuição de forças de dispersão ou semi-polares (Zanatta *et al.*, 2007). Enquanto em outro trabalho o valor de contribuição negativa de MR sugere que a inibição seja via impedimento estérico para a série de hidrazidas (Montanari & Montanari, 2002).

Considerando-se inicialmente somente o parâmetro associado a refratividade molar, o melhor modelo que descreve a atividade antimicrobiana avaliada contra *S. cerevisiae* é expresso pela equação eq. IV.4.2.2.1 (**série I**), eq. IV.4.2.2.3 (**séries I e II reunidas**). Para a **série II** o modelo que descreve a atividade antimicrobiana avaliada contra *S. cerevisiae* **não foi significativo** utilizando-se somente o **MR** como descritor.

IV.4.2.3 Análise do efeito eletrônico sobre a inibição do crescimento frente à *S. cerevisiae* (BY4741)

$\log(1/IC_{50})$ vs σ

Série I. $\log 1/IC_{50} (S.c) = -1,024 (\pm 1,07) \sigma_{(n\tilde{a}o\ signif.)} + 3,175 (\pm 0,46)$ (eq.IV.4.2.3.1) (ns)

(n = 14; r = 0,514; s = 0,749; F = 4,317; Q² = 0,004; s-PRESS = 0,872)

Série II. $\log 1/IC_{50} (S.c) = -0,885 (\pm 1,10) \sigma_{(n\tilde{a}o\ signif.)} + 2,725 (\pm 0,41)$ (eq.IV.4.2.3.2) (ns)

(n = 14; r = 0,452; s = 0,478; F = 3,090; Q² = -0,0577; s-PRESS = 0,552)

Séries I e II $\log 1/IC_{50} (S.c) = -1,157 (\pm 0,72) \sigma + 3,024 (\pm 0,29)$ (eq.IV.4.2.3.3) (ns)

(n = 27; r = 0,553; s = 0,635; F = 11,007; Q² = 0,167; s-PRESS = 0,695)

Como discutido em item IV.3.2 (resultados e discussão) o **parâmetro σ** descreve a contribuição eletrônica do substituinte.

Pela análise dos parâmetros estatísticos relativos, respectivamente, às equações eq. IV.4.2.3.1 a eq. IV.4.2.3.3, pode-se considerar que todas as equações **são estatisticamente não significativas**.

log(1/IC₅₀) vs $\Im$ e $\Re$

Série I. $\log 1/IC_{50} (S.c) = -0,360 (\pm 2,17) \Im_{(n\tilde{a}o\ signif.)} - 1,493 (\pm 1,75) \Re_{(n\tilde{a}o\ signif.)} + 2,945 (\pm 0,81)$ (eq.IV.4.2.3.4) (ns)

(n = 14; r = 0,544; s = 0,766; F = 2,315; Q² = -0,217; s-PRESS = 1,007)

Série II $\log 1/IC_{50} (S.c) = -0,153 (\pm 1,62) \Im_{(n\tilde{a}o\ signif.)} - 0,811 (\pm 0,89) \Re_{(n\tilde{a}o\ signif.)} + 2,347 (\pm 0,72)$

(n = 14; r = 0,574; s = 0,459; F = 2,700; Q² = 0,066; s-PRESS = 0,541) (eq.IV.4.2.3.5) (ns)

Séries I e II. $\log 1/IC_{50} (S.c) = -0,974 (\pm 1,45) \Im_{(n\tilde{a}o\ signif.)} - 0,698 (\pm 0,94) \Re_{(n\tilde{a}o\ signif.)} + 2,956 (\pm 0,61)$

(n = 27; r = 0,471; s = 0,686; F = 3,426; Q² = 0,023; s-PRESS = 0,769) (eq.IV.4.2.3.6) (ns)

Como discutido em item IV.3.2 (resultados e discussão) os **parâmetros $\Im$ e $\Re$** descrevem as contribuições eletrônicas dos substituintes.

Pela análise dos parâmetros estatísticos relativos, respectivamente, às equações eq. IV.4.2.3.4 a eq. IV.4.2.3.6, pode-se considerar que todas as equações são estatisticamente não-significativas.

log(1/IC₅₀) vs v_{C=O}

Série I. $\log 1/IC_{50} (S. c) = -0,0766 (\pm 0,071) v_{C=O} + 135,3 (\pm 122)$ (eq.IV.4.2.3.7) (ns)

(n = 14; r = 0,564; s = 0,721; F = 5,607; Q² = -0,0351; s-PRESS = 0,889)

Série II. $\log 1/IC_{50} (S. c) = -0,0702 (\pm 0,081) v_{C=O} (n\grave{a}o\ signif.) + 123,8 (\pm 140)$ (eq.IV.4.2.3.8) (ns)

(n = 14; r = 0,478; s = 0,471; F = 3,552; Q² = -0,0260; s-PRESS = 0,543)

Séries I e II $\log 1/IC_{50} (S. c) = -0,0853 (\pm 0,048) v_{C=O} + 150,2 (\pm 82,5)$ (eq.IV.4.2.3.9) (ns)

(n = 27; r = 0,593; s = 0,613; F = 13,549; Q² = 0,173; s-PRESS = 0,693)

Como discutido em item IV.3.2 (resultados e discussão) v_{C=O} descreve a contribuição eletrônica (parâmetro experimental).

Pela análise dos parâmetros estatísticos relativos, respectivamente, às equações eq. IV.4.2.3.7 a eq. IV.4.2.3.9, pode-se considerar que todas as equações são estatisticamente **não-significativas**.

Os modelos **QSAR gerados para *S. cerevisiae*** utilizando-se σ , $\mathfrak{Z}$ e $\mathfrak{R}$ e v_{C=O} como descritores eletrônicos **não são significativos** para a série I, II e séries I e II reunidas.

Apresentamos, a seguir, as correlações resultantes da análise considerando-se as contribuições simultâneas de dois parâmetros. Estes, como discutido anteriormente, devem apresentar intercorrelações não significativas (r < 0.6) para serem incluídos na correlação.

IV.4.2.4 Análise multiparamétrica, dos efeitos respectivamente lipofílico, eletrônico e relacionado à refratividade molar sobre a inibição do crescimento frente à *S. cerevisiae* (BY4741).

Para a série I, considerando-se a intercorrelação significativa observada entre MR₄ e logP (r = 0,678; **série I**) torna-se necessário excluir o composto I. 12 (R=4-OC₆H₁₂). Desta forma, a intercorrelação torna-se não-significativa com valor de r = 0,545 e o modelo será expresso pela equação (eq. IV.4.2.4.1).

Série I, excluindo-se I.12 (R=4-OC₆H₁₂).

$\log 1/IC_{50} (S.c) = +0,488 (\pm 0,26) \log P_{CLAE} + 0,316 (\pm 0,36) MR_{4(n\grave{a}o\ signif.)} + 1,759 (\pm 0,43)$

(n = 13; r = 0,898; s = 0,305; F = 20,940; Q² = 0,662; s-PRESS = 0,404) (eq.IV.4.2.4.1)

Para a série II e I e II reunidas os melhores modelos gerados são os seguintes:

Série II: $\log 1/IC_{50} (S.c) = + 0,412 (\pm 0,38) \log P_{CLAE} + 0,328 (\pm 0,43) MR_3 (\text{não signif.}) + 1,518 (\pm 0,60)$

$(n = 14; r = 0,754; s = 0,368; F = 7,244; Q^2 = 0,397; s\text{-PRESS} = 0,435)$ (eq.IV.4.2.4.2)

Séries I e II: $\log 1/IC_{50} (S.c) = + 0,499 (\pm 0,23) \log P_{CLAE} + 0,429 (\pm 0,27) MR_{3/4} + 1,467 (\pm 0,35)$

$(n = 28; r = 0,865; s = 0,386; F = 37,085; Q^2 = 0,674; s\text{-PRESS} = 0,439)$ (eq.IV.4.2.4.3)

Considerando a intercorrelação significativa observada entre **MR₄** e **logP** ($r = 0,678$; **série I**) torna-se necessário excluir o composto R=4-OC₆H₁₂. Desta forma, a intercorrelação torna-se não significativa com valor de $r = 0,545$ e o modelo será expresso pela equação (eq. IV.4.2.4.1).

Série I: $\log 1/IC_{50} (S.c) = + 0,488 (\pm 0,26) \log P_{CLAE} + 0,316 (\pm 0,36) MR_4 (\text{não signif.}) + 1,759 (\pm 0,43)$

$(n = 13; r = 0,898; s = 0,305; F = 20,940; Q^2 = 0,662; s\text{-PRESS} = 0,404)$ (eq.IV.4.2.4.1)

Para série I, a equação eq.IV.4.2.4.1 é a que melhor descreve os resultados por nós apresentados neste trabalho. No entanto, a **contribuição** do termo associado à **MR** torna-se não significativa.

Para série II, a equação eq.IV.4.2.4.2 é a que melhor descreve os resultados por nós apresentados neste trabalho. No entanto, a **contribuição** do termo associado à **MR** torna-se não significativa.

Para as séries I e II reunidas, a equação eq.IV.4.2.4.3 é a que melhor descreve os resultados de inibição do crescimento frente à *S. cerevisiae* (BY4741), apresentados neste trabalho.

A validade estatística do modelo ou da equação, pode ser analisada pelos valores significativos dos parâmetros estatísticos de cada equação de correlação. Os valores de $\log 1/IC_{50}$ calculados pela equação de regressão permitem verificar o grau de previsão do modelo QSAR gerado.

Estão apresentados na **tabela IV.4.2.4.1**, as diferenças em módulo, entre os valores de $\log 1/IC_{50}$ calculados pelo modelo e os valores obtidos experimentalmente. Estas diferenças (Δ) são praticamente constantes dentro do erro experimental (valor máximo igual a 0,84).

É sugerido na literatura (Dearden & Cronin, 2006) que em um modelo QSAR deve-se observar a diferença entre os parâmetros estatísticos ($r^2 - Q^2$). Esta não deve exceder o valor de 0,3, uma vez que o modelo atende a confiabilidade de 95% (estatisticamente exigido).

Tabela IV.4.2.4.1 - Valores de $\log 1/IC_{50}$, relativos à inibição do crescimento das células de *S. cerevisiae* (BY4741), observados e previstos pela equação ^(a) **IV.4.2.4.3** para **séries I e II** reunidas.

Composto	R	$\log 1/IC_{50}$		Δ
		Observada	Predita	
I.1	4-H	2,238	2,054	0,184
I.2	4-CH ₃	2,464	2,482	-0,018
I.3	4-C ₂ H ₅	3,222	2,906	0,316
I.4	4-nC ₄ H ₉	4,282	3,804	0,478
I.5	4-tC ₄ H ₉	3,209	3,725	-0,516
I.6	4-OCH ₃	2,453	2,433	0,020
I.7	4-nOC ₄ H ₉	3,663	3,738	-0,075
I.8	4-COCH ₃	2,893	2,410	0,483
I.9	4-Cl	3,018	2,638	0,380
I.10	4-NO ₂	2,856	2,436	0,420
I.11	4-CN	2,000	2,117	-0,117
I.12	4-nOC ₆ H ₁₃	5,043	4,489	0,554
I.13	4-SO ₂ CH ₃	2,204	2,016	0,188
I.14	4-CF ₃	3,019	2,720	0,299
II.1	3-H	2,238	2,099	0,139
II.2	3-CH ₃	2,348	2,631	-0,283
II.3	3-OCH ₃	2,079	2,467	-0,388
II.4	3-OC ₂ H ₅	2,540	2,954	-0,414
II.5	3-nOC ₄ H ₉	3,275	3,812	-0,537
II.6	3-F	2,003	2,199	-0,196
II.7	3-Cl	3,236	2,657	0,579
II.8	3-Br	2,147	2,899	-0,752
II.9	3-I	2,889	3,246	-0,357
II.10	3-NO ₂	2,064	2,331	-0,267
II.11	3-CN	1,885	2,127	-0,242
II.12	3-CF ₃	2,565	2,689	-0,124
II.13	3-N(CH ₃) ₂	3,386	2,996	0,390
II.14	3-SO ₂ CH ₃	2,097	2,240	-0,143

^(a) **Equação IV.4.2.4.3:** $\log 1/IC_{50(S.c)} = +0,499(\pm 0,23)\log P_{CLAE} + 0,429(\pm 0,27)MR_{3/4} + 1,467(\pm 0,35)$

(n = 28; r = 0,865; s = 0,386; F = 37,085; Q² = 0,674; s-PRESS = 0,439 (**Séries I e II**))

A análise dos valores dos coeficientes da equação indicam uma **contribuição positiva** tanto de $\log P_{CLAE}$ (0,499) como de MR (0,429), para a **inibição do crescimento frente à *S. cerevisiae* (BY4741)**.

Este valor, sendo positivo sugere, como discutido anteriormente e ressaltado na literatura (Dearden & Cronin, 2006; Selassie, 2003; Tute, 1990) que $MR_{3/4}$ esteja expressando interações dispersivas ou semi-polares. Esta afirmação é reforçada, considerando-se a intercorrelação não significativa ($r = 0,510$ e $r = 0,032$) entre o parâmetro lipofílico ($\log P_{CLAE}$) e $MR_{3/4}$.

A validade da aplicação dos **modelos parabólico e bilinear** aos resultados **relativos a inibição do crescimento frente à *S. cerevisiae* (BY4741)** apresentados nas tabelas **IV.4.1.1 a IV.4.1.2** pode ser avaliada pela análise das equações **eq.IV.4.2.4.4 e eq.IV.4.2.4.5**.

Modelo Parabólico

Séries I e II: $\log 1/IC_{50(S.c)} = + 0,280 (\pm 0,18)(\log P_{CLAE})^2 - 0,234 (\pm 0,64)\log P_{CLAE}$ (não signif.) $+ 2,201(\pm 0,53)$
 $(\log P_{CLAE}) - \text{OPTIMUM} = 0,42(-1,99/0,99)$
 $(n = 28; r = 0,863; s = 0,388; F = 36,619; Q^2 = 0,680; s\text{-PRESS} = 0,435)$ **(eq.IV.4.2.4.4)**

Modelo Bilinear

Séries I e II: $\log 1/IC_{50(S.c)} = +0,374(\pm 0,27)(\log P_{CLAE}) + 8,040(\pm 4,62)\log(\beta.P + 1) + 1,954(\pm 0,40)$
 $\log \beta = -3,557$ NO OPTIMUM
 $(n = 28; r = 0,876; s = 0,379; F = 26,333)$ **(eq.IV.4.2.4.5)**

Para as séries de **cloretos de *N,N*[(dimetilamino)etil] benzoatos**, respectivamente, **para- e meta-substituídos (Séries I e II)** estudados e para o intervalo de variação dos parâmetros estudados até o presente, **os modelos parabólico e bilinear não se aplicam** para descrever a **inibição do crescimento frente à *S. cerevisiae* (BY4741)**.

Ao se correlacionar a **atividade antimicrobiana** avaliada contra ***S. cerevisiae*** com **3 parâmetros**, não foi encontrada nenhuma equação que pudesse ser considerada aceitável estatisticamente, não sendo incluídas neste trabalho.

IV. 4.3 Inibição do crescimento frente à *Escherichia coli* (DH5 α)

IV.4.3.1 Análise do efeito da lipofilicidade sobre inibição do crescimento frente à *E. coli* (DH5 α)

log(1/IC₅₀) vs π

Séries I: $\log 1/IC_{50} (E.c) = + 0,509 (\pm 0,30)\pi + 2,037 (\pm 0,37)$ (eq.IV.4.3.1.1) (**s**)

(n = 14; r = 0,732; s = 0,520; F = 13,863; Q² = 0,395; s-PRESS = 0,594)

Série II: $\log 1/IC_{50} (E.coli) = + 0,509 (\pm 0,46)\pi + 2,165 (\pm 0,37)$ (eq.IV.4.3.1.2) (**ns**)

(n = 14; r = 0,572; s = 0,547; F = 5,850; Q² = 0,125; s-PRESS = 0,624)

Séries I e II: $\log 1/IC_{50} (E.c) = + 0,492 (\pm 0,23)\pi + 2,117 (\pm 0,25)$ (eq.IV.4.3.1.3) (**ns**)

(n = 27; r = 0,655; s = 0,526; F = 18,825; Q² = 0,356; s-PRESS = 0,559)

Como descrito no item IV.3.1 (resultados e discussão) o **parâmetro π** descreve a contribuição hidrofóbica do substituinte.

Pela análise dos parâmetros estatísticos relativos, respectivamente, às equações eq. IV.4.3.1.1 a eq. IV.4.3.1.3, pode-se considerar que a equação IV.4.3.1.1 é **ligeiramente significativa** explicando **73,2%** da variância na atividade antimicrobiana avaliada contra *E.coli* (r = 0,732) **série I**. E, constata-se ainda que para **a série II** e para as **séries I e II reunidas** as equações de regressão não são significativas (eq. IV.4.3.1.2 e IV.4.3.1.3).

Para **a série I**, o modelo **QSAR gerado** para *E.coli* utilizando **π** como parâmetro hidrofóbico apresenta uma **contribuição** positiva e menor do que 1 (um) do termo hidrofóbico sendo igual a **0,509**.

log(1/IC₅₀) vs logP_{ACD}/logP

Série I: $\log 1/IC_{50} (E.c) = + 0,465 (\pm 0,31) \log P_{ACD}^{7.4} + 1,513 (\pm 0,66)$ (eq.IV.4.3.1.4) (**ns**)

(n = 14; r = 0,688; s = 0,554; F = 10,792; Q² = 0,277; s-PRESS = 0,649)

Série II: $\log 1/IC_{50} (E.c) = + 0,528 (\pm 0,45) \log P_{ACD}^{7.4} + 1,572 (\pm 0,75)$ (eq.IV.4.3.1.5) (**ns**)

(n = 14; r = 0,594; s = 0,536; F = 6,558; Q² = 0,135; s-PRESS = 0,620)

Séries I e II: $\log 1/IC_{50} (E.c) = + 0,462 (\pm 0,23) \log P_{ACD}^{7.4} + 1,602 (\pm 0,46)$ (eq.IV.4.3.1.6) (**ns**)

(n = 27; r = 0,630; s = 0,541; F = 16,435; Q² = 0,310; s-PRESS = 0,578)

Como discutido no item IV.3.1 (resultados e discussão) $\log P_{ACD}$ descreve a contribuição hidrofóbica da molécula toda (parâmetro obtido por cálculo que considera a contribuição da ionização para a partição).

Pela análise dos parâmetros estatísticos relativos, respectivamente, às equações eq. IV. 4.3.1.4 a eq. IV.4.3.1.6, pode-se considerar que todas as equações são estatisticamente não significativas.

Desta forma, utilizando-se $\log P_{ACD}$ como **parâmetro hidrofóbico** constata-se que o modelo gerado para *E. coli* para as **séries I, II e séries I e II reunidas não são significativos**.

$\log(1/IC_{50})$ vs $\log P_{CLAE}$

Série I: $\log 1/C_{50} (E.c) = + 0,555 (\pm 0,32) \log P_{CLAE} + 1,410 (\pm 0,64)$ (eq.IV.4.3.1.7) (**s**)

(n = 14; r = 0,738; s = 0,516; F = 14,320; Q² = 0,403; s-PRESS = 0,590)

Série II: $\log 1/C_{50} (E.c) = + 0,579 (\pm 0,50) \log P_{CLAE} + 1,482 (\pm 0,84)$ (eq.IV.4.3.1.8) (**ns**)

(n = 14; r = 0,586; s = 0,540; F = 6,283; Q² = 0,126; s-PRESS = 0,623)

Séries I e II: $\log 1/C_{50} (E.c) = + 0,548 (\pm 0,25) \log P_{CLAE} + 1,482 (\pm 0,47)$ (eq.IV.4.3.1.9) (**ns**)

(n = 27; r = 0,665; s = 0,520; F = 19,830; Q² = 0,367; s-PRESS = 0,554)

Como discutido no item IV.3.1 (resultados e discussão) $\log P_{CLAE}$ descreve a contribuição hidrofóbica da molécula toda (parâmetro obtido por cálculo que considera a contribuição da ionização para a partição).

Pela análise dos parâmetros estatísticos relativos, respectivamente, às equações eq. IV.4.3.1.7 a eq. IV.4.3.1.9, pode-se considerar que a equação IV.4.3.1.7 é **ligeiramente significativa** explicando **73,8%** da variância na atividade antimicrobiana avaliada contra *E.coli* (r = 0,738) **série I**. E, constata-se que para **série II** e para as **séries I e II reunidas** as equações de regressão **não são significativas** (eq. IV.4.3.1.8 e eq. IV.4.3.1.9).

No entanto, uma análise feita para os compostos das **séries I e II reunidas**, excluindo-se os compostos **I.6 (R = OCH₃)**, **I.8 (R = 4-COCH₃)**, **I.10 (R = 4-NO₂)**, **II.6 (R = 3-F)**, **II.9 (R = 3-I)** e **II.10 (R = NO₂)** observa-se uma correlação significativa (r = 0,894). (eq.IV.4.3.1.10)

Séries I e II. $\log 1/IC_{50(E. coli)} = + 0,610 (\pm 0,14) \log P_{CLAE} + 1,177 (\pm 0,28)$ (eq.IV.4.3.1.10)

(n = 22; r = 0,894; s = 0,275; F = 79,342; Q² = 0,736; s-PRESS = 0,315)

Analisando-se a equação IV.4.3.1.7, verifica-se **que para a série I** o modelo **QSAR** gerado para **E.coli** utilizando **logP_{CLAE}** como parâmetro hidrofóbico apresenta uma **contribuição positiva e menor do que 1 (um) do termo hidrofóbico** iguais a **0,555**.

Assim, para todos os modelos estatisticamente válidos gerados (eq.IV.4.3.1.1 e eq.IV.4.3.1.7), as **contribuições do parâmetro hidrofóbico** descritos por π ou por **logP_{CLAE}** para a atividade antimicrobiana avaliada contra *E. coli* (DH5 α) **são menores que 1 (um)**. Estes são **considerados pequenos** segundo uma análise crítica de Hansch (Hansch *et al.*, 1995).

Concluindo, considerando-se inicialmente somente o parâmetro hidrofóbico, verifica-se que **para a série I** o melhor modelo que descreve a atividade antimicrobiana avaliada contra **E. coli** é obtido utilizando-se **logP_{CLAE}** como descritor (eq. IV.4.3.1.7). Para a **série II** e para as **séries I e II reunidas**, os modelos que descrevem a atividade antimicrobiana avaliada contra *E. coli* através do parâmetro lipofílico **não foram significativos, exceto quando se excluem seis compostos (I.6 (R = OCH₃), I.8 (R = 4-COCH₃), I.10 (R = 4-NO₂), II.6 (R = 3-F), II.9 (R = 3-I) e II.10 (R = NO₂)).** (eq.IV.4.3.1.10)

Desta forma, para os compostos estudados nesta tese de doutorado, pode-se afirmar que de modo geral derivados mais potentes para inibir *E. coli* foram observados para os compostos mais lipofílicos em cada série.

Como pode ser observado na Tabela IV.4.3.1.1, comparando-se **com modelos QSAR retirados da literatura**, constata-se que a inibição do crescimento de **E. coli** por vários compostos orgânicos (fenóis, amidas, ácidos benzóicos, anilinas e derivados de imidazóis) puderam ser descritos por suas hidrofobicidades, embora as contribuições tenham sido menores que 1 (um). E, os valores do coeficiente de correlação destes modelos (estatisticamente válidos) foram elevados (r = 0,8 a r = 0,9). Por outro lado, nesta tese de doutorado foi **observada para a série I** uma contribuição também positiva (+0,509) do termo hidrofóbico (π e **logP_{CLAE}**) **mas nas equações de regressão (eq.IV.4.3.1.4 e eq.IV.4.3.1.7)** os valores do coeficiente de correlação são menores (r = 0,732 e r = 0,738) do que os observados na literatura. Foram ainda observadas na literatura valores de contribuição negativa da hidrofobicidade para explicar a atividade contra *E. coli*, por exemplo, para uma série de **benzamidazóis** (Podunavac-Kuzmanovic, 2008).

Tabela IV.4.3.1.1. Modelos de QSAR de compostos orgânicos frente à *E. coli* da literatura.

Composto	Faixa de concentração (<i>E. coli</i>)	Modelos QSAR para <i>E. coli</i>	Referência:
 Hidrazida	2,28 μmol/L a 3,23 μmol/L	$\log 1/C_{50E.c} = -0,298 (\pm 0,14)\pi + 3,529 (\pm 0,20)$ $n = 8, r^2 = 0,815, s = 0,169, F = 26,635; r^2_{cv} = 0,597$	Montanari & Montanari, 2002
 Furano 3-Carboxamidas	0,25 μg/mL a 320 μg/mL	$pMIC_{E.c} = 0,010(\pm 0,004)MR + 0,156(\pm 0,119)E_{HOMO} + 3,763(\pm 1,223)$ $n = 12, r^2 = 0,925, s = 0,082; F = 26,5; Q^2 = 0,754$	Zanatta et al., 2007
 Furano 3-Carboxamidas	0,25 μg/mL a 320 μg/mL	$pMIC_{E.c} = 0,003(\pm 0,001)MV + 0,168(\pm 0,111)E_{HOMO} + 3,871(\pm 1,124)$ $n = 12, r^2 = 0,934, s = 0,077; F = 30,6; Q^2 = 0,780$	Zanatta et al., 2007
Hidrocarbonetos e álcoois alifáticos	$9,1 \times 10^{-2}$ mmol/L a $8,51 \times 10^{-4}$ mmol/L	$\log 1/EC_{50} = 0,88 (\log K_{oct}) - 2,35$ $n = 13, r^2 = 0,743, s = 0,35, F = 31,80$	Jaworska & Schultz, 1994
Fenóis e anilinas	0,139 mmol/L a 0,026 mmol/L	$\log 1/EC_{50} = 0,70 (\log K_{oct}) - 1,61$ $n = 39, r^2 = 0,859, s = 0,26; F = 224,92$	Jaworska & Schultz, 1994
R-NH ₃ ⁺	-	$\log 1/C = 1,29 (\pm 0,36)\log P - 1,64 (\pm 0,44) \log(\beta \cdot P + 1) + 0,65 (\pm 0,98)$ $n = 10, r^2 = 0,935, s = 0,128, \log P = 3,8$	{HANSCH, Leo, et al. 1995 206 /id},
RN=C=S	100 mmol a 1,56 mmol	$\log 1/C = 0,42\pi + 3,52$ $n = 11, r = 0,937, s = 0,227$	Hansch, 1993
 Benzamidazóis	6,25 a 50 μg/mL	$\log 1/Cmic = 0,518\log P + 2,391$ $n = 12; r = 0,932; s = 0,111; F = 66,43$	Podunavac-Kuzmanovic, 2008
 Benzamidazóis	6,25 a 50 μg/mL	$\log 1/Cmic = -0,256\log P_2 + 2,419\log P - 1,069$ $n = 12; r = 0,959; s = 0,091; F = 52,15$	Podunavac-Kuzmanovic, 2008
 Benzodiazepinas	4,05 a 5,05 μg/ mL	$-\log AB = 3,91423 (\pm 0,217073) + 0,756708(\pm 0,280636) MR$ $n = 16; r = 0,841; s = 0,163; F = 33,921$	Kumar et al., 2006

IV.4.3.2 Análise do efeito da relacionado com MR sobre a inibição do crescimento *E. coli* (DH5 α)

Série I: $\log 1/IC_{50} (E.c) = + 0,558 (\pm 0,43)MR_{3/4} + 1,726 (\pm 0,62)$ (eq.IV.4.3.2.1) (ns)

(n = 14; r = 0,628; s = 0,594; F = 7,821; Q² = 0,202; s-PRESS = 0,682)

Série II: $\log 1/IC_{50} (E.c) = + 0,276 (\pm 0,67)MR_{3/4} \text{ (não signif.)} + 2,098 (\pm 0,77)$ (eq.IV.4.3.2.2) (ns)

(n = 14; r = 0,250; s = 0,646; F = 0,797; Q² = -0,274; s-PRESS = 0,753)

Série I e II: $\log 1/IC_{50} (E.c) = + 0,458 (\pm 0,34)MR_{3/4} + 1,879 (\pm 0,44)$ (eq.IV.4.3.2.3) (ns)

(n = 28; r = 0,479; s = 0,605; F = 7,734; Q² = 0,109; s-PRESS = 0,650)

Como discutido no item IV.3.3 (resultados e discussão) **MR** descreve a contribuição relativa à refratividade molar, podendo expressar características estéricas e de polarizabilidade do substituinte.

Pela análise dos parâmetros estatísticos relativos, respectivamente, às equações eq. IV.4.3.2.1 a eq. IV.4.3.2.3, pode-se considerar que **todas as** equações são **estatisticamente não significativas**.

Como pode ser verificado na **Tabela IV.4.3.1.1**, na literatura para uma série de carboxamidas observa-se uma contribuição positiva e baixa de **MR** (+0,010) para a atividade antimicrobiana contra *E. coli* (Zanatta *et al.*, 2007) . Em outro trabalho, para uma série de benzodiazepinas, o valor da contribuição de MR é positivo e alto (+0,756) (Kumar *et al.*, 2006). Entretanto, neste trabalho, para as **séries I, II** e para as **séries I e II reunidas** os modelos que descrevem a atividade antimicrobiana avaliada contra *E. coli* através de MR mostraram-se **não significativos**.

IV.4.3.3 Análise do efeito eletrônico sobre a inibição do crescimento frente à *E. coli* (DH5 α)

log(1/IC₅₀) vs σ

Série I: $\log 1/IC_{50} (E.c) = - 0,503 (\pm 1,05) \sigma_{\text{(não signif)}} + 2,454 (\pm 0,45)$ (eq.IV.4.3.3.1) (ns)

(n = 14; r = 0,289; s = 0,731; F = 1,093; Q² = -0,377; s-PRESS = 0,896)

Série II: $\log 1/IC_{50} (E.c) = - 0,0629 (\pm 1,53) \sigma_{\text{(não signif)}} + 2,392 (\pm 0,57)$ (eq.IV.4.3.3.2) (ns)

(n = 14; r = 0,026; s = 0,667; F = 0,008; Q² = -0,284; s-PRESS = 0,756)

Série I e II: $\log 1/IC_{50} (E.c) = - 0,367 (\pm 0,76) \sigma_{\text{(não signif)}} + 2,456 (\pm 0,30)$ (eq.IV.4.3.3.3) (ns)

$$n = 28; r = 0,191; s = 0,676; F = 0,989; Q^2 = -0,146; s\text{-PRESS} = 0,737$$

Como discutido no item IV.3.2 (resultados e discussão) o **parâmetro σ** descreve a contribuição eletrônica do substituinte.

Pela análise dos parâmetros estatísticos relativos, respectivamente, às equações eq. IV.4.3.3.1 a eq. IV.4.3.3.3, pode-se considerar que **todas** as equações são **estatisticamente não significativas**.

log(1/IC₅₀) vs $\mathfrak{S}$ e $\mathfrak{R}$

Série I: $\log 1/IC_{50(E.c)} = + 0,00677(\pm 2,13)\mathfrak{S}_{(n\text{ão signif.})} - 0,861(\pm 1,73)\mathfrak{R}_{(n\text{ão signif.})} + 2,277(\pm 0,79)$

$$(n = 14; r = 0,331; s = 0,753; F = 0,677; Q^2 = -0,591; s\text{-PRESS} = 1,006) \quad (\text{eq.IV.4.3.3.4}) \text{ (ns)}$$

Série II: $\log 1/IC_{50(E.c)} = + 1,174 (\pm 2,18)\mathfrak{S}_{(n\text{ão signif.})} - 0,888(\pm 1,20)\mathfrak{R}_{(n\text{ão signif.})} + 1,766(\pm 0,97)$

$$(n = 14; r = 0,461; s = 0,618; F = 1,486; Q^2 = -0,0556; s\text{-PRESS} = 0,716) \quad (\text{eq.IV.4.3.3.5}) \text{ (ns)}$$

Séries I e II: $\log 1/IC_{50(E.c)} = + 0,277(\pm 1,42)\mathfrak{S}_{(n\text{ão signif.})} - 0,733(\pm 0,92)\mathfrak{R}_{(n\text{ão signif.})} + 2,176(\pm 0,59)$

$$(n = 27; r = 0,321; s = 0,673; F = 1,383; Q^2 = -0,120; s\text{-PRESS} = 0,752) \quad (\text{eq.IV.4.3.3.6}) \text{ (ns)}$$

Como discutido no item IV.3.2 (resultados e discussão) os **parâmetros $\mathfrak{S}$ e $\mathfrak{R}$** descrevem as contribuições eletrônicas dos substituintes.

Pela análise dos parâmetros estatísticos relativos, respectivamente, às equações eq. IV.4.3.3.4. a eq. IV.4.3.3.6, pode-se considerar que **todas** as equações são **estatisticamente não significativas**.

log(1/IC₅₀) vs $v_{(C=O)}$

Série I: $\log 1/IC_{50(E.c)} = - 0,0393 (\pm 0,070)v_{(C=O)}_{(n\text{ão signif.})} + 70,25 (\pm 122) \quad (\text{eq.IV.4.3.3.7}) \text{ (ns)}$

$$(n = 14; r = 0,331; s = 0,721; F = 1,478; Q^2 = -0,352; s\text{-PRESS} = 0,888)$$

Série II: $\log 1/IC_{50(E.c)} = - 0,00870 (\pm 0,11)v_{(C=O)}_{(n\text{ão signif.})} + 17,41 (\pm 198) \quad (\text{eq.IV.4.3.3.8}) \text{ (ns)}$

$$(n = 14; r = 0,048; s = 0,666; F = 0,027; Q^2 = -0,278; s\text{-PRESS} = 0,754)$$

Séries I e II: $\log 1/IC_{50} (E. c) = -0,0310 (\pm 0,053) v_{C=O} \text{ (não signif.)} + 55,90 (\pm 91,0)$ (eq. IV.4.3.3.9) (ns)

$$(n = 27; r = 0,235; s = 0,677; F = 1,467; Q^2 = -0,145; s\text{-PRESS} = 0,745)$$

Como discutido no item IV.3.2 (resultados e discussão) $v_{C=O}$ descreve a contribuição eletrônica (parâmetro experimental).

Pela análise dos parâmetros estatísticos relativos, respectivamente, às equações eq. IV.4.3.3.7 a eq. IV.4.3.3.9, pode-se considerar que **todas** as equações são estatisticamente **não significativas**.

Para a série I, II e séries I e II reunidas, os modelos **QSAR gerados para *E.coli*** utilizando-se σ , Σ e $\mathfrak{X}$ e $v_{C=O}$ como descritores eletrônicos são **estatisticamente não significativos**.

Apresentamos, a seguir, as correlações resultantes da análise considerando-se a contribuição de dois ou de três parâmetros.

IV.4.3.4 Análise multiparamétrica , dos efeitos respectivamente lipofílico, eletrônico e relacionado à refratividade molar sobre a inibição do crescimento *E. coli* (DH5 α)

Serão apresentadas, a seguir, somente as melhores equações de regressão obtidas.

$\log P_{CLAE}$ e Σ

Série I: $\log 1/IC_{50} (E. c) = +0,671 (\pm 0,35) \log P_{CLAE} + 1,026 (\pm 1,49) \Sigma \text{ (não signif.)} + 0,939 (\pm 0,92)$

$$(n = 14; r = 0,789; s = 0,490; F = 9,083; Q^2 = 0,352; s\text{-PRESS} = 0,642) \quad (\text{eq. IV.4.3.4.1}) \text{ (ns)}$$

Séries II: $\log 1/IC_{50} (E. c) = +0,665 (\pm 0,51) \log P_{CLAE} + 1,098 (\pm 1,73) \Sigma \text{ (não signif.)} + 0,971 (\pm 1,14)$

$$(n = 14; r = 0,665; s = 0,520; F = 4,366; Q^2 = 0,161; s\text{-PRESS} = 0,638) \quad (\text{eq. IV.4.3.4.2}) \text{ (ns)}$$

Séries I e II: $\log 1/IC_{50} (E. c) = +0,669 (\pm 0,25) \log P_{CLAE} + 1,076 (\pm 0,98) \Sigma + 0,951 (\pm 0,63)$

$$(n = 28; r = 0,737; s = 0,475; F = 14,890; Q^2 = 0,439; s\text{-PRESS} = 0,526) \quad (\text{eq. IV.4.3.4.3}) \text{ (s)}$$

Para as séries I e II reunidas pela análise dos parâmetros estatísticos relativos, respectivamente, às equações eq. IV.4.3.4.1 a eq. IV.4.3.4.3 observa-se que a eq. IV.4.3.4.3 é **ligeiramente significativa** explicando **73,7%** da variância na atividade antimicrobiana avaliada contra *E.coli* ($r = 0,737$) **série I e II**.

Neste trabalho, na análise multiparamétrica aplicada para as **séries I e II reunidas**, a equação utilizando $\log P_{\text{CLAE}}$ e $\mathfrak{S}$ como descritores (**eq. IV.4.3.4.3**) é a que melhor descreve os resultados de inibição do crescimento frente à ***E. coli* (DH5 α)**. Por outro lado, para as **séries I e II**, os modelos QSAR gerados utilizando $\log P_{\text{CLAE}}$ e $\mathfrak{S}$ como descritores (**eqs. eq. IV.4.3.4.1 e eq. IV.4.3.4.2**) foram **estatisticamente não significativos**.

A validade estatística do modelo QSAR gerado pode ser analisada através dos parâmetros estatísticos da equação de regressão. Os valores de $\log 1/IC_{50}$ calculados por esta equação permitem verificar o grau de previsão do modelo proposto.

Estão apresentados na **tabela IV.4.3.1.1**, as diferenças em módulo, entre os valores de $\log 1/IC_{50}$ previstos pelo melhor modelo e os valores observados experimentalmente. Exceto para o composto II.9 (R-3-I), as diferenças (Δ) são constantes dentro do erro experimental (valor máximo observado igual a 0,84).

É sugerido na literatura (Dearden & Cronin, 2006) que em um modelo QSAR deve-se observar a diferença entre os parâmetros estatísticos ($r^2 - Q^2$). Esta não deve exceder o valor de 0,3, uma vez que o modelo atende a confiabilidade de 95% (estatisticamente exigido).

Tabela IV.4.3.4.1- Valores de $\log 1/IC_{50}$ para a inibição do crescimento das células de *E. coli* (DH5 α), observados e previstos pelo melhor modelo (eq. IV.4.3.4.3) para as **séries I e II reunidas**.

composto	R	$\log 1/IC_{50}$		Δ
		Observada	Predita	
I.1	4-H	1,916	1,680	0,236
I.2	4-CH ₃	1,684	1,999	-0,315
I.3	4-C ₂ H ₅	2,533	2,289	0,244
I.4	4-nC ₄ H ₉	3,309	2,947	0,362
I.5	4-tC ₄ H ₉	2,684	2,830	-0,146
I.6	4-OCH ₃	1,928	2,106	-0,178
I.7	4-nOC ₄ H ₉	2,450	3,063	-0,613
I.8	4-COCH ₃	2,330	1,928	0,402
I.9	4-Cl	2,371	2,627	-0,256
I.10	4-NO ₂	3,414	2,527	0,887
I.11	4-CN	1,343	2,008	-0,665
I.12	4-nOC ₆ H ₁₃	3,821	3,495	0,326
I.13	4-SO ₂ CH ₃	1,455	1,481	0,026
I.14	4-CF ₃	2,193	2,752	-0,559
I.1	H	1,916	1,680	0,236
II.2	3-CH ₃	2,062	2,139	-0,221
II.3	3-OCH ₃	1,872	2,093	-0,197
II.4	3-OC ₂ H ₅	2,058	2,448	-0,390
II.5	3-nOC ₄ H ₉	2,850	3,103	-0,253
II.6	3-F	3,126	2,305	0,821
II.7	3-Cl	2,435	2,594	-0,159
II.8	3-Br	2,243	2,787	-0,544
II.9	3-I	3,962	2,928	1,034*
II.10	3-NO ₂	2,636	2,326	0,310
II.11	3-CN	1,657	1,962	-0,305
II.12	3-CF ₃	2,223	2,651	-0,428
II.13	3-N(CH ₃) ₂	2,651	2,210	0,441
II.14	3-SO ₂ CH ₃	1,560	1,722	-0,162

^(a)Equação. IV.4.3.4.3: $\log 1/IC_{50} (E. c) = + 0,669 (\pm 0,25) \log P_{CLAE} + 1,076 (\pm 0,98) S + 0,951 (\pm 0,63)$

(n = 28; r = 0,737; s = 0,475; F = 14,890; Q² = 0,439; s-PRESS = 0,526) (**Séries I e II reunidas**)

Para a série de cloretos de *N,N*[(dimetilaminoetil) benzoatos *para*- e *meta*-substituídos (**Séries I e II**) estudados, e para o intervalo de variação dos parâmetros estudados até o presente, os modelos parabólico e bilinear não se aplicam para descrever a **inibição do crescimento** frente à *E. coli* (DH5 α).

Ao se correlacionar a **atividade antimicrobiana** avaliada contra *E.coli* com **3 parâmetros**, não foi encontrada nenhuma equação que pudesse ser considerada aceitável estatisticamente, não sendo incluídas neste trabalho.

V. Conclusões

- No presente trabalho, destinado a tese de doutorado, desenvolvemos um estudo da relação entre a estrutura química e atividade antimicrobiana de duas séries, a saber: **Série I** - quatorze cloretos de *N,N*[(dimetilamino)etil]-benzoatos para-substituídos, onde $R_4 = \text{H, CH}_3, \text{C}_2\text{H}_5, \text{nC}_4\text{H}_9, \text{tC}_4\text{H}_9, \text{OCH}_3, \text{nOC}_4\text{H}_9, \text{COCH}_3, \text{Cl, CN, NO}_2, \text{OC}_6\text{H}_{13}, \text{SO}_2\text{Me, CF}_3$ (compostos I.1 a I.14) e **Série II** - quatorze cloretos meta-substituídos onde $R_3 = \text{H, -CH}_3, \text{-OCH}_3, \text{-OC}_2\text{H}_5, \text{-OC}_4\text{H}_9, \text{-F, -Cl, -Br, -I, -NO}_2, \text{-CN, -CF}_3, \text{-N(CH}_3)_2, \text{SO}_2\text{CH}_3$ (compostos II.1. a II.14). Os compostos haviam sido sintetizados anteriormente no grupo (Amaral *et al.*, 1997; Sousa, 1997).
- Para as séries I e II, os valores do **coeficiente de partição** foram obtidos por cálculo (utilizando os programas CLOGP e ACD/LogP) bem como determinados experimentalmente pelo método CLAE e foram considerados **parâmetros lipofílicos** nos modelos de QSAR.
- Para as séries I e II, os valores da **posição da banda de absorção da carbonila** na região do infravermelho bem como do deslocamento químico da carbonila no RMN ^{13}C foram **determinados** sendo o primeiro considerado como parâmetro eletrônico nos modelos QSAR.
- Para as séries I e II os valores de **MR₃** e de **MR₄**, relacionados à refratividade molar, foram **obtidos** da literatura e considerados nas análises QSAR.
- Para as séries I e II os valores de **IC₅₀** (concentração inibição 50% do crescimento) foram **determinados** contra o fungo *Saccharomyces cerevisiae* (BY4741) e contra a bactéria *Escherichia coli* (DH5 α) e considerados como parâmetros biológico nas análises QSAR.
- Para as séries I e II, **excluindo-se os compostos** I.10 ($R=4\text{-NO}_2$); II.6 (3-F); II.8 ($R=3\text{-Br}$); II.9 ($R=3\text{-I}$) e II.10 ($R=3\text{-NO}_2$) uma correlação significativa (eq.IV.3.4.2) foi observada entre as potências antimicrobianas avaliadas contra os dois microorganismos (*Saccharomyces cerevisiae* (BY4741) e *Escherichia coli* (DH5 α)) sugerindo um mesmo mecanismo de ação.

Série I e II (excluindo-se I.10 ($R=4\text{-NO}_2$); II.6 (3-F); II.8 ($R=3\text{-Br}$); II.9 ($R=3\text{-I}$) e II.10 ($R=3\text{-NO}_2$):

$$\log(1/\text{IC}_{50})(S. cerevisiae) = +1,24 (\pm 0,19) \log(1/\text{IC}_{50})(E. coli) + 0,083 (\pm 0,44)$$

$$(n = 22; r = 0,951; s = 0,248; F = 188,879; Q^2 = 0,882; s\text{-PRESS} = 0,274) \quad (\text{eq.IV.3.4.2})$$

- A **abordagem tradicional de QSAR** foi utilizada para avaliar a(s) natureza(s) e a(s) contribuição(ões) relativa(s) dos parâmetros físico-químicos/estruturais responsáveis pela inibição do crescimento ($\log 1/IC_{50}$), respectivamente, de *Saccharomyces cerevisiae* (BY4741) e de *Escherichia coli* (DH5 α) determinada para cada um dos compostos das séries I e II.
- A análise do **efeito da lipofilicidade** sobre inibição do crescimento frente à *S. cerevisiae* (BY4741) e frente à *Escherichia coli* (DH5 α) foi realizada utilizando-se os seguintes parâmetros: π que descreve a contribuição do substituinte e $\log P_{\text{calc}}$ ($\log P_{\text{ACD}}$ e $\log P_{\text{CLAE}}$) que descrevem a contribuição da molécula toda.
- A análise do efeito relacionado à refratividade molar sobre a inibição do crescimento frente à *S. cerevisiae* (BY4741) e frente à *Escherichia coli* (DH5 α) foi realizada utilizando valores de MR_4 e de MR_3 obtidos da literatura, respectivamente para as séries I e II.
- A análise do **efeito eletrônico** sobre a inibição do crescimento frente à *S. cerevisiae* (BY4741) e frente à *Escherichia coli* (DH5 α) foi feita utilizando-se σ , $\mathfrak{S}$ e $\mathfrak{R}$ e $\nu_{C=O}$, como parâmetros que descrevem a contribuição eletrônica.
- **Para a série I**, a análise do **efeito da lipofilicidade** sobre inibição do crescimento frente à *S. cerevisiae* (BY4741), utilizando-se π , $\log P_{\text{ACD}}$ e $\log P_{\text{CLAE}}$ como parâmetros, resultou nos modelos expressos, respectivamente, pelas equações IV.4.2.1.1; IV.4.2.1.4 e IV.4.2.1.7.

$$\log 1/IC_{50} (S. c) = + 0,69 (\pm 0,25)\pi + 2,56 (\pm 0,31) \quad (\text{eq.IV.4.2.1.1})$$

$$(n = 14; r = 0,867; s = 0,435; F = 36,325; Q^2 = 0,604; s\text{-PRESS} = 0,550)$$

$$\log 1/IC_{50} (S. c) = + 0,69 (\pm 0,21)\log P_{\text{ACD}}^{7.4} + 1,73 (\pm 0,46) \quad (\text{eq.IV.4.2.1.4})$$

$$(n = 14; r = 0,898; s = 0,384; F = 50,170; Q^2 = 0,696; s\text{-PRESS} = 0,481)$$

$$\log 1/IC_{50} (S.c) = + 0,76 (\pm 0,26) \log P_{CLAE} + 1,71 (\pm 0,52) \quad (\text{eq.IV.4.2.1.7})$$

$$(n = 14; r = 0,877; s = 0,419; F = 40,149; Q^2 = 0,621; s\text{-PRESS} = 0,538)$$

- **Para a série II**, a análise do **efeito da lipofilicidade** sobre inibição do crescimento frente à *S. cerevisiae* (BY4741), utilizando-se π , $\log P_{ACD}$ e $\log P_{CLAE}$ como parâmetros, resultou em modelos estatisticamente **não significativos**.
- **Para as séries I e II reunidas**, a análise do **efeito da lipofilicidade** sobre inibição do crescimento frente à *S. cerevisiae* (BY4741), utilizando-se π , $\log P_{ACD}$ e $\log P_{CLAE}$ como parâmetros, resultou nos modelos expressos, respectivamente, pelas equações IV.4.1.3; IV.4.2.1.3 e IV.4.2.1.9.

$$\log 1/IC_{50} (S.c) = + 0,63 (\pm 0,22) \pi + 2,42 (\pm 0,23) \quad (\text{eq.IV.4.2.1.3})$$

$$(n = 27; r = 0,760; s = 0,495; F = 34,241; Q^2 = 0,473; s\text{-PRESS} = 0,553)$$

$$\log 1/IC_{50} (S.c) = + 0,64 (\pm 0,20) \log P_{ACD}^{7.4} + 1,67 (\pm 0,39) \quad (\text{eq.IV.4.2.1.6})$$

$$(n = 27; r = 0,802; s = 0,455; F = 45,022; Q^2 = 0,556; s\text{-PRESS} = 0,508)$$

$$\log 1/IC_{50} (S.c) = + 0,72 (\pm 0,22) \log P_{CLAE} + 1,58 (\pm 0,42) \quad (\text{eq.IV.4.2.1.9})$$

$$(n = 27; r = 0,797; s = 0,460; F = 43,636; Q^2 = 0,540; s\text{-PRESS} = 0,517)$$

- **Para a série I e para as séries I e II reunidas** os compostos mais lipofílicos foram mais potentes para inibir *S. cerevisiae*.
- As **contribuições do parâmetro hidrofóbico** descritos por π ou $\log P_{ACD}$ ou $\log P_{CLAE}$ para a atividade antimicrobiana avaliadas contra *S. cerevisiae* **são menores que 1 (um)** e **considerados pequenos** segundo uma análise crítica de Hansch.
- **Para a série I**, a análise do efeito **relacionado à refratividade molar** sobre a inibição do crescimento frente à *S. cerevisiae* (BY4741), utilizando-se **MR** como parâmetro, resultou no modelo expresso pela equação IV.4.2.2.1.

$$\log 1/IC_{50} (S. c.) = + 0,85 (\pm 0,35)RM_4 + 2,04 (\pm 0,51) \quad (\text{eq.IV.4.2.2.1})$$

(n = 14; r = 0,833; s = 0,484; F = 27,097; Q² = 0,575; s-PRESS = 0,569)

- Utilizando-se **MR como parâmetro** constata-se que o modelo gerado para ***S. cerevisiae* para a série II é não significativo.**
- **Para as séries I e II reunidas**, a análise do efeito **relacionado à refratividade molar** sobre a inibição do crescimento frente à *S. cerevisiae* (BY4741), utilizando-se **MR₄ e MR₃** como parâmetros, resultou no modelo expresso pela equação IV.4.2.2.3.

$$\log 1/IC_{50} = + 0,78 (\pm 0,28)RM_{4,3} + 1,91 (\pm 0,37) \quad (\text{eq.IV.4.2.2.3})$$

(n = 28; r = 0,745; s = 0,504; F = 32,341; Q² = 0,460; s-PRESS = 0,554)

- Nos modelos gerados, os valores das **contribuições do parâmetro associado à MR** para a atividade antimicrobiana avaliada contra ***S. cerevisiae* (BY4741) são positivos** sugerindo que MR esteja expressando interações dispersivas ou polarizáveis. Para a **série I e séries I e II reunidas** esta afirmação é reforçada, considerando-se as intercorrelações não significativas (r² = 0,184 (séries II) e r² = 0,247; r²=0,05 (séries I e II reunidas) entre o parâmetro lipofílico (logP_{CLAE}) e os valores de MR₃ e MR₄.
- **Para a série I, II e para as séries I e II reunidas** os modelos **QSAR gerados para *S. cerevisiae* (BY4741)**, utilizando-se **σ, S e X** e **v_{C=O}** como parâmetros eletrônicos, são estatisticamente não significativos.
- **Para as séries I e II e para as séries I e II reunidas** e no intervalo de variação dos parâmetros estudados até o presente, **os modelos parabólico e bilinear não se aplicam** para descrever a **inibição do crescimento frente à *S. cerevisiae* (BY4741).**
- **Para as séries I** (excluindo-se **I. 12; R=4-OC₆H₁₂**), **série II e I e II reunidas** os melhores modelos QSAR para a inibição do crescimento frente à *S. cerevisiae* (BY4741) gerados pela análise multiparamétrica foram expressos pelas equações IV.4.2.4.1; IV.4.2.4.2 e IV. 4.2.4.3..

Série I (excluindo-se I.12 (R=4-OC₆H₁₂))

$$\log 1/IC_{50} (S.c) = + 0,49 (\pm 0,26) \log P_{CLAE} + 0,32 (\pm 0,36) MR_4 (\text{n\~ao signif.}) + 1,76 (\pm 0,43)$$

(n = 13; r = 0,898; s = 0,305; F = 20,940; Q² = 0,662; s-PRESS = 0,404) (eq.IV.4.2.4.1)

Série II:

$$\log 1/IC_{50} (S.c) = + 0,41 (\pm 0,38) \log P_{CLAE} + 0,33 (\pm 0,43) MR_3 (\text{n\~ao signif.}) + 1,52 (\pm 0,60)$$

(n = 14; r = 0,754; s = 0,368; F = 7,244; Q² = 0,397; s-PRESS = 0,435) (eq.IV.4.2.4.2)

Séries I e II reunidas:

$$\log 1/IC_{50} (S.c) = + 0,50 (\pm 0,23) \log P_{CLAE} + 0,43 (\pm 0,27) MR_{3/4} + 1,47 (\pm 0,35)$$

(n = 28; r = 0,865; s = 0,386; F = 37,085; Q² = 0,674; s-PRESS = 0,439) (eq.IV.4.2.4.3)

- Ao se correlacionar a atividade antimicrobiana avaliada contra *S. cerevisiae*(BY4741) com 3 **parâmetros**, não foi encontrada nenhuma equação que pudesse ser considerada aceitável estatisticamente.
- **Para a série I**, a análise do **efeito da lipofilicidade** sobre inibição do crescimento frente à *E. coli* (DH5α), utilizando-se π e $\log P_{CLAE}$ como parâmetros, resultou nos modelos expressos, respectivamente, pelas equações IV.4.3.1.1 e IV.4.3.1.7.

Séries I: $\log 1/IC_{50} (E.c) = + 0,51 (\pm 0,30) \pi + 2,04 (\pm 0,37)$ (eq.IV.4.3.1.1)

(n = 14; r = 0,732; s = 0,520; F = 13,863; Q² = 0,395; s-PRESS = 0,594)

Série I: $\log 1/C_{50} (E.c) = + 0,56 (\pm 0,32) \log P_{CLAE} + 1,41 (\pm 0,64)$ (eq.IV.4.3.1.7)

(n = 14; r = 0,738; s = 0,516; F = 14,320; Q² = 0,403; s-PRESS = 0,590)

- **Considerando-se somente o parâmetro hidrofóbico**, verifica-se que **para a série I** o melhor modelo que descreve a atividade antimicrobiana avaliada contra *E. coli* (DH5α) é obtido utilizando-se $\log P_{CLAE}$ como descritor (eq. IV.4.3.1.7).

- Para a **série II** e para as **séries I e II reunidas**, os modelos que descrevem a atividade antimicrobiana avaliada contra *E. coli* (DH5 α) através do parâmetro lipofílico **não foram significativos, exceto quando se exclui seis compostos (I.6 (R = OCH₃), I.8 (R = 4-COCH₃), I.10 (R = 4-NO₂), II.6 (R = 3-F), II.9 (R = 3-I) e II.10 (R = NO₂)).** (eq.IV.4.3.1.10).

Séries I e II (excluindo-se I.6 (R = OCH₃), I.8 (R = 4-COCH₃), I.10 (R = 4-NO₂), II.6 (R = 3-F), II.9 (R = 3-I) e II.10 (R = NO₂))

$$\log 1/IC_{50} (E. c) = + 0,61 (\pm 0,14) \log P_{CLAE} + 1,18 (\pm 0,28) \quad (\text{eq.IV.4.3.1.10})$$

(n = 22; r = 0,894; s = 0,275; F = 79,342; Q² = 0,736; s-PRESS = 0,315)

- Para a **série I** e para as **série I e II reunidas** (excluindo-se I.6 (R = OCH₃), I.8 (R = 4-COCH₃), I.10 (R = 4-NO₂), II.6 (R = 3-F), II.9 (R = 3-I) e II.10 (R = NO₂)), os compostos mais lipofílicos foram de maneira geral mais potentes para inibir *E. coli* (DH5 α).
- Para todos os modelos estatisticamente válidos gerados, as **contribuições do parâmetro hidrofóbico** descritos por π ou por $\log P_{CLAE}$ para a atividade antimicrobiana avaliada contra *E. coli* (DH5 α) **são menores que 1 (um)** (equações IV.4.3.1.1 e eq.IV.4.3.1.7).
- Para as **séries I, II** e para as **séries I e II reunidas** os modelos que descrevem a atividade antimicrobiana avaliada contra *E. coli* (DH5 α) através de MR mostraram-se **não significativos**.
- Para a **série I, II** e **séries I e II reunidas**, os modelos **QSAR gerados para *E.coli* (DH5 α)**, utilizando-se σ , $\mathfrak{S}$ e $\mathfrak{R}$ e $\nu_{C=O}$ como descritores eletrônicos, são **estatisticamente não significativos**.
- Para as **séries I e II** e para as **séries I e II reunidas**, e no intervalo de variação dos parâmetros estudados até o presente, **os modelos parabólico e bilinear não se aplicam** para descrever a **inibição do crescimento frente à *E.coli* (DH5 α)**.

- Para as **séries I e II reunidas**, o melhor modelo QSAR obtido para a inibição *E. coli* (DH5 α) gerado pela análise multiparâmetrica foi expresso pela equação IV.4.3.4.3..

$$\log 1/IC_{50} (E. c) = + 0,67 (\pm 0,25) \log P_{CLAE} + 1,08 (\pm 0,98) \mathfrak{S} + 0,95 (\pm 0,63)$$

(n = 28; r = 0,737; s = 0,475; F = 14,890; Q² = 0,439; s-PRESS = 0,526) (eq IV.4.3.4.3)

- Para as **séries I e II**, os modelos QSAR gerados para a inibição *E. coli* (DH5 α) utilizando logP_{CLAE} e $\mathfrak{S}$ como descritores foram **estatisticamente não significativos**.
- Para as séries de **cloretos de N,N[(dimetilamino)etil] benzoatos**, respectivamente, **para- e meta-substituídos** estudados neste trabalho, as diferenças observadas nos modelos QSAR gerados para a inibição do crescimento de *S. cerevisiae* (BY4741) e de *E. coli* (DH5 α) podem ser, possivelmente, explicadas considerando-se as diferenças nas membranas de cada microorganismo.

Referências

- Abramson, J.; Smirnova, I.; Kasho, V.; Verner, G.; Kaback, H.R. & Iwata, S. Structure and mechanism of the lactose permease of *Escherichia coli*, *Science.*, 301, 610-615, **2003**.
- 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, *European Journal of Medicinal Chemistry*, 32, 433-443, **1997**.
- Andrews, P.R., Intermolecular forces and molecular binding., In: HANSCH, C., SAMMES, P.G., and Taylor, J.B., Eds., *Comprehensive Medicinal Chemistry*, 4, Pergamon Press, 321-347, **1990**
- Andrews, P.R.; Craik, D.J. & Martin, J.L. Functional-group contributions to drug receptor interactions., *Journal of Medicinal Chemistry*, 27, 1648-1657, **1984**.
- Araki, T.; Uesono, Y.; Oguchi, T. & Toh, E. LAS24/KOG1, a component of the TOR complex 1 (TORC1), is needed for resistance to local anesthetic tetracaine and normal distribution of actin cytoskeleton in yeast, *Genes Genet.Syst.*, 80, 325-343, **2005**.
- Ausubel, F.M., *Saccharomyces cerevisiae*, In: Ausubel, F.M., Brent, R., Kingston, R.E., and Moore, D.D., Eds., *Current Protocols in Molecular Biology*, John Wiley & Sons, 1-14, **1999**
- Avdeef, A. Physicochemical profiling (solubility, permeability, and charge state), *Curr.Top.Med.Chem.*, 1, 277-351, **2001**.
- Aydin, O.N.; Eyigor, M. & Aydin, N. Antimicrobial activity of ropivacaine and other local anaesthetics, *European Journal of Anaesthesiology*, 18, 687-694, **2001**.
- Baroni, R. V. Aspectos estruturais, mecanismo de formação e atividade antimicrobiana de benzilidenotiossemocarbonas 2-ou 4-, potencialmente quimioterápicas. [Dissertação de Mestrado], Faculdade de Ciências Farmacêuticas (FCF) da Universidade de São Paulo, **1987**.
- Barreiro, E.J. & Fraga, C.A.M. The question of innovative drugs in Brazil: the proposal of the Pronfar creation., *Química Nova*, 28, S56-S63, **2005**.
- Bastos-Ceneviva, M.P. Relações lineares de energia livre e atividade farmacológica parte I-equação de Hammett, *Química Nova*, 141-150, **1984**.
- Boon, J.M. & Smith, B.D. Chemical control of phospholipid distribution across bilayer membranes, *Medicinal Research Reviews*, 22, 251-281, **2002**.
- Bordas, B.; Komives, T.; Szanto, Z. & Lopata, A. Comparative three-dimensional quantitative structure-activity relationship study of safeners and herbicides, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48, 926-931, **2000**.

- Borst, P. & Elferink, R.O. Mammalian ABC transporters in health and disease, *Annual Review of Biochemistry*, 71, 537-592, **2002**.
- Butterworth, J.F. & Strichartz, G.R. Molecular mechanisms of local-anesthesia - a review, *Anesthesiology*, 72, 711-734, **1990**.
- Caron, G. & Ermondi, G., Lipophilicity: chemical nature and biological relevance, In: Mannhold, R., Ed., *Molecular Drug Properties - Measurement and Prediction*, 315-325, **2009**
- Caron, G.; Ermondi, G. & Scherrer R.A., Lipophilicity, polarity, and hydrophobicity, In: Taylor, J.B. and Triggle, D.J., Eds., *Comprehensive Medicinal Chemistry II*, Elsevier Ltd., 425-452, **2007**
- Catterall, W.A. & Mackie, K., Anestésicos locais, In: Goodman and Gilman, Eds., *As Bases Farmacológicas da Terapêutica*, 331-346, **2006**
- Collander, R. The distribution of organic compounds between iso-butanol and water, *Acta Chemica Scandinavica*, 4, 1085-1098, **1950**.
- Collander, R. The partition of organic compounds between higher alcohols and water, *Acta Chemica Scandinavica*, 5, 774-780, **1951**.
- Covino, B.G. & Vassallo, H.G. Anestesicos locais: mecanismos de ação e uso clínico. Tradução por Guerra, A. C & Carraretto, A. R., 1-204, **1985**.
- Craig, P.N. Interdependence between physical parameters and selection of substituent groups for correlation studies, *Journal of Medicinal Chemistry*, 14, 680-&, **1971**.
- CraigG, P.N., Drug Compendium, In: SAMMES, P.G. and Taylor, J.B., Eds., *Comprehensive Medicinal Chemistry. The Rational Design, Mechanistic Study e Therapeutic Application of Chemical Compounds*, 6, Pergamon Press, 237-991, **1990**
- Crum Brown, A. & Fraser, T.R. On the connection between chemical constitution and physiological action; with special reference to the physiological action of the salts of the ammonium bases derived from strychnia, brucia, thebaia, codeia, morphia, and nicotia, *J Anat Physiol.*, 2, 224-242, **1868**.
- Dearden, J.C. & Cronin, M.T.D., Quantitative structure-activity relationships (QSAR) in drug design, In: SMITH, J., Ed., *Smith and Willians' Introduction to the Principles of Drug Design and Action*, Taylor & Francis, 186-199, **2006**
- Dearden, J.C. QSAR: Rational approaches in the design of bioactive compounds., 16, **1991a**.
- Dearden, J.C. The QSAR prediction of melting point, a property of environmental relevance, *Science of the total environment*, 109-110, 59-68, **1991b**.

- Dorr, P., Fungi and fungal disease, In: Taylor, J.B. and Triggler, D.J., Eds., *Comprehensive Medicinal Chemistry II*, 7, Elsevier, 419-443, **2007**
- Dowhan, W. Molecular basis for membrane phospholipid diversity: why are there so many lipids?, *Annual Review of Biochemistry*, 66, 199-232, **1997**.
- Doyle, D.A.; Morais, C.J.; Pfuetzner, R.A.; Kuo, A.; Gulbis, J.M.; Cohen, S.L.; Chait, B.T. & MacKinnon, R. The structure of the potassium channel: molecular basis of K⁺ conduction and selectivity, *Science*, 280, 69-77, **1998**.
- Franke, R. & Gruska, A., General introduction to QSAR, In: BENIGNI, R., Ed., *Quantitative structure-activity relationship (QSAR) models of mutagens and carcinogens*, CRC Press, 1-40, **2003**
- Franks, N.P.; Abraham, M.H. & Lieb, W.R. Molecular-organization of liquid n-octanol -an X-ray- diffraction analysis, *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 82, 466-470, **1993**.
- Fujita, T., The extrathermodynamic approach to drug design, In: Hansch, C., SAMMES, P.G., and Taylor, J.B., Eds., *Comprehensive Medicinal Chemistry. The Rational Design, Mechanistic Study e Therapeutic Application of Chemical Compounds*, 4, Pergamon Press, 497-556, **1990**
- Fujiyoshi, Y.; Mitsuoka, K.; de Groot, B.L.; Philippsen, A.; Grubmuller, H.; Agre, P. & Engel, A. Structure and function of water channels, *Current Opinion in Structural Biology*, 12, 509-515, **2002**.
- Gajraj, R.J.; Hodson, M.J.; Gillespie, J.A.; Kenny, G.N.C. & Scott, N.B. Antibacterial activity of lidocaine in mixtures with Diprivan, *British Journal of Anaesthesia*, 81, 444-448, **1998**.
- Giaginis, C. & Tsantili-Kakoulidou, A. Alternative measures of lipophilicity: From octanol-water partitioning to IAM retention, *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 97, 2984-3004, **2008**.
- Grouls, R.J.E.; Ackerman, E.W.; Korsten, H.H.M.; Hellebrekers, L.J. & Breimer, D.D. Partition coefficients (n-octanol/water) of n-butyl-p-aminobenzoate and other local anesthetics measured by reversed-phase high-performance liquid chromatography, *Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications*, 694, 421-425, **1997**.
- Guillier, M.; Boselli, E.; Bouvet, L.; Freney, J.; Renaud, F.N.R.; Chassard, D. & Allaouchiche, B. Levobupivacaine hydrochloride and sufentanil have no antimicrobial effect at 25°C *in vivo*, *European Journal of Anaesthesiology*, 24, 634-639, **2007**.
- Hammett, L.P. The Effect of structure upon the reactions of organic compounds. benzene derivatives, *J.Am.Chem.Soc.*, 59, 96-103, **1937**.

- Hansch, C. & Fujita, T. p-SI-PI Analysis. A method for the correlation of biological activity and chemical structure, *J.Am.Chem.Soc.*, 86, 1616-1626, **1964**.
- Hansch, C. & Leo, A., QSAR of Nonspecific Toxicity, *Exploring QSAR: Fundamentals and Applications in Chemistry and Biology*, 1, American Chemical Society, 169-170, **1995**
- Hansch, C. & Selassie, C., Quantitative structure-activity relationship - a historical perspective and the future, In: John, B.T. and David, J.T., Eds., *Comprehensive Medicinal Chemistry II*, Elsevier, 43-63, **2007**
- Hansch, C. & Unger, S.H. Strategy in drug design. Cluster anlysis as an aid in the selection of substituents, *Journal of Medicinal Chemistry*, 16, 1217-1222, **1973**.
- Hansch, C. & Verma, R.P. A QSAR study for the cytotoxic activities of taxoids against macrophage (Mphi)-like cells, *European Journal of Medicinal Chemistry*, 44, 274-279, **2009**.
- Hansch, C. Quantitative structure-activity relationships and the unnamed science, *Accounts of Chemical Research*, 26, 147-153, **1993**.
- Hansch, C.; Leo, A. & Hoekman, D. Exploring QSAR. Hydrophobic, Electronic and Steric Constants, **1995**.
- Hansch, C.; Leo, A. & Taft, R.W. A survey of Hammett substituent constants and resonance and field parameters, *Chem.Rev*, 91, 165-195, **1991**.
- Heavner, J.E. Local anesthetics, *Curr Opin Anaesthesiol.*, 20, 336-342, **2007**.
- Heijne, G.V. Membrane proteins: from sequence to structure, *Annual Review of Biophysics and Biomolecular Structure*, 23, 167-192, **1994**.
- Hodson, M.; Gajraj, R. & Scott, N.B. A comparison of the antibacterial activity of levobupivacaine vs. bupivacaine: an in vitro study with bacteria implicated in epidural infection, *Anaesthesia*, 54, 699-702, **1998**.
- Hung, L.Q. Electrochemical properties of the interface between 2 immiscible electrolyte-solutions .1. Equilibrium situation and galvani potential difference, *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 115, 159-174, **1980**.
- Ishiki, H.M. Relações Quantitativas entre Estrutura Química e Atividade Biológica (QSAR/QSAR-3D) de compostos com potencial atividade antituberculose. [Tese de Doutorado] Instituto de Química da Universidade de São Paulo, 1-253, **2005**.

- Ishiki, H.M. Relações Quantitativas estrutura-atividade QSAR/QSAR-3D de dipiridodiazepinonas, inibidoras da transcriptase reversa do vírus da imunodeficiência humana do tipo I (HIV-1), Depto. Química, FFCLRP, USP, Ribeirão Preto, S P, 1-88, **1999**.
- Ishiki, H.M.; Galembeck, S.E. & do Amaral, A.T. Application of two alignments procedures in CoMFA analysis of nevirapine derivatives, *Rational Approaches to Drug Design*, 340-344, **2001**.
- Jaworska, J.S. & Schultz, T.W. Mechanism-based comparisons of acute toxicities elicited by industrial organic chemicals in procaryotic and eucaryotic systems, *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 29, 200-213, **1994**.
- Jiang, Y.; Lee, A.; Chen, J.; Ruta, V.; Cadene, M.; Chait, B.T. & MacKinnon, R. X-ray structure of a voltage-dependent K⁺ channel, *Nature*, 423, 33-41, **2003**.
- Johnson, S.M.; Saint John, B.E. & Dine, A.P. Local anesthetics as antimicrobial agents: a review, *Surg.Infect. (Larchmt.)*, 9, 205-213, **2008**.
- Kah, M. & Brown, C.D. LogD: Lipophilicity for ionisable compounds, *Chemosphere*, 72, 1401-1408, **2008**.
- Kalipatnapu, S. & Chattopadhyay, A. Membrane organization and function of the serotonin1A receptor, *Cellular and Molecular Neurobiology*, 27, 1097-1116, **2007**.
- Kaliszan, R. Chromatography in studies of quantitative structure-activity relationships., *J Chromatogr.*, 220, 71-83, **1981**.
- Kampe, S.; Poetter, C.; Buzello, S.; Wenchel, H.-M.; Paul, M.; Kiencke, P. & Kasper, S.M. Ropivacaine 0.1% with Sufentanil 1 µg/mL Inhibits In Vitro Growth of *Pseudomonas aeruginosa* and does not Promote Multiplication of *Staphylococcus aureus*, *Anesthesia Analgesia*, 97, 409-411, **2003**.
- Klein, W.; Kördel, W.; Weib, 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, 361-386, **1988**.
- Kubinyi, H. Lipophilicity and Drug Activity, *Progress in drug research*, 23, 97-198, **1979**.
- Kubinyi, H., QSAR: Hansch analysis and related approaches., In: Mannhold, R., Kroogsgard- Larsen P., and Timmerman R., Eds., *Methods and Principles in Medicinal Chemistry*., 1, Wiley - VCH, 1-240, **1993**
- Kumar, A.; Sharma, P.; Gurram, V.K. & Rane, N. Studies on synthesis and evaluation of quantitative structure-activity relationship of 10-methyl-6-oxo-5-arylazo-6,7-dihydro-5H-[1,3]azaphospholo[1,5-

- d][1,4]benzodiazepin-2-phospha-3-ethoxycarbonyl-1-phosphorus dichlorides, *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 16, 2484-2491, **2006**.
- Lehninger, D. & Cox, M.M., Fundamentos da Bioquímica. Tradução por Simões, A. A & Lodi, W.R.N., *Lehninger Princípios de Bioquímica*, Sarvier, 1-47, **2006a**
- Lehninger, D. & Cox, M.M., Membranas Biológicas e Transporte. Tradução por Simões, A. A & Lodi, W.R.N., *Lehninger Princípios de Bioquímica*, Sarvier, 368-418, **2006b**
- Leo, A.J. Calculating logP(oct) from structures, *Chemical Reviews*, 93, 1281-1306, **1993**.
- Liao, Y.Y.; Wang, L.S.; He, Y.B. & Yang, H. Toxicity QSAR of substituted benzenes to yeast *Saccharomyces cerevisiae*, *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 56, 460-466, **1996**.
- Lipinski, C.A.; Lombardo, F.; Dominy, B.W. & Feeney, P.J. Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings., *Advanced Drug Delivery Reviews*, 23, 3-25, **1997**.
- Machatha, S.G. & Yalkowsky, S.H. Comparison of the octanol/water partition coefficients calculated by ClogP, ACDlogP and KowWin to experimentally determined values, *Int.J Pharm.*, 294, 185-192, **2005**.
- Maloney, P.P.; HANSCH, C.; Fujita, T. & Muir, R.M. Correlation of biological activity of phenoxyacetic acids with Hammett substituent constants and partition coefficients, *Nature*, 194, 178-180, **1962**.
- Malvezzi, A. Estudo comparativo de parâmetros hidrofóbicos e, relacionados à ionização, de série de derivados da procaina com atividade bloqueadora neuromuscular. [Dissertação de Mestrado] Instituto de Química da Universidade de São Paulo, 1-128, **2003**.
- Malvezzi, A. Modelos de virtual screening de inibidores da cruzaina: desenvolvimento e validação experimental. [Tese de Doutorado] Instituto de Química da Universidade de São Paulo. 1-189, **2008**.
- Malvezzi, A; de Rezende, L.; Izidoro, M.A.; Cezari, M.H.S.; Juliano, L. & Amaral, A.T. Uncovering false positives on a virtual screening search for cruzain inhibitors, *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 18, 350-354, **2008**.
- Mannhold, R. & Ostermann, C., Prediction of logP with substructure-based methods, In: Mannhold, R., Kubinyi, H., and Folkers, G., Eds., *Molecular Drug Properties - Measurement and Prediction*, Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, 357-379, **2008**

- Marguet, D.; Lenne, P.F.; Rigneault, H. & He, H.T. Dynamics in the plasma membrane: how to combine fluidity and order, *Embo Journal*, 25, 3446-3457, **2006**.
- Martel, S.; Guillaume, D.; Henchoz, Y.; Galland, A.; Veuthey, J.-L.; Rudaz, S. & Carrupt, P.-A., Chromatographic approaches for measuring logP, In: Mannhold, R., Ed., *Molecular Drug Properties - Measurement and Prediction*, Wiley-VCH, 331-355, **2008**
- Martin, Y.C.; Bush, E.N. & Kyncl, J.J., Quantitative description of biological activity, In: SAMMES, P.G. and Taylor, J.B., Eds., *Comprehensive Medicinal Chemistry. The Rational Design, Mechanistic Study e Therapeutic Application of Chemical Compounds*, 4, Pergamon Press, 349-372, **1990**
- McFarland, J.W. On the parabolic relationship between drug potency and hydrophobicity, *Journal of Medicinal Chemistry*, 13, 1192-1196, **1970**.
- Mirreles, M.S.; Moulton, S.J.; Murphy, C.T. & Taylor, P.J. Direct Measurement of Octanol-Water Partition Coefficients by High-Pressure Liquid Chromatography, *Journal of Medicinal Chemistry*, 19, 615-619, **1976**.
- Miyazawa, A.; Fujiyoshi, Y. & Unwin, N. Structure and gating mechanism of the acetylcholine receptor pore, *Nature*, 423, 949-955, **2003**.
- Montanari, M.L.C. & Montanari, C.A. Validação lateral em relações quantitativas entre estrutura e atividade farmacológica, QSAR, *Química Nova*, 25, 231-240, **2002**.
- Morris, W.; Simon, L.; Pineiro, A.; Simon, A.; Pelle-Lancien, E.; Laplace, C. & Hamza, J. Evaluation of antibacterial filters for peridural obstetrical anesthesia., *Ann Fr Anesth Reanim*, 20, 600-603, **2001**.
- Motiejunas, D. & Wade, R.C., Structural, energetic, and dynamic aspects of ligand-receptor interactions, In: Taylor, J.B. and Triggle, D.J., Eds., *Comprehensive Medicinal Chemistry II*, 4, Elsevier, 193-213, **2007**
- Nikaido, H. Role of permeability barriers in resistance to beta-lactam antibiotics, *Pharmacol Ther.*, 27, 197-231, **1985**.
- Pere, P.; Lindgren, L. & Vaara, M. Poor antibacterial effect of ropivacaine: comparison with bupivacaine, *Anesthesiology*, 91, 884-886, **1999**.
- Pires, J.R. Relações quantitativas entre a estrutura química de derivados nitrofurânicos e a atividade antimicrobiana contra *Caulobacter crescentus* e *Staphylococcus aureus*. [Tese de Doutorado] Instituto de Química da Universidade de São Paulo, 1-212, **1998**.

- Pires, J.R.; Saito, C.; Gomes, S.L.; Giesbrecht, A.M. & Amaral, A.T.D. Investigation of 5-nitrofurantoin derivatives: synthesis, antibacterial activity, and quantitative structure-activity relationships, *Journal of Medicinal Chemistry*, 44, 3673-3681, **2001**.
- Pliska, V.; Testa, B. & Waterbeemd, H. Methods and Principles in Medicinal Chemistry. Lipophilicity in drug action and toxicology., 4, 1-438, **1996**.
- Podunavac-Kuzmanovic, S.; Dijana J.B. & Dragoljub D.C. Quantitative structure-activity relationship of some 1-benzyl benzimidazole derivatives as antifungal agents, *Acta Periodica Technologica*, 38, 139-147, **2007**.
- Rahier, N.J.; Eisenhauer, B.M.; Gao, R.; Jones, S.H. & Hecht, S.M. Water-Soluble Camptothecin Derivatives that Are Intrinsic Topoisomerase I Poisons, *Organic Letters*, 6, 321-324, **2004**.
- Raminelli, C. Estudo da relação quantitativa entre a estrutura química e a atividade citotóxica de séries de derivados de bases de Mannich. [Dissertação de Mestrado] Instituto de Química da Universidade de São Paulo, **2001**.
- Rodrigues, A.A.; Pina-Vaz, C.; Mardh, P.A.; Martinez-De-Oliveira, J. & Freitas-da-Fonseca, A. Inhibition of germ tube formation by *Candida albicans* by local anesthetics: an effect related to ionic channel blockade, *Curr Microbiol.*, 40, 145-148, **2000**.
- Rodrigues, A.G.; Araujo, R. & Pina-Vaz, C. Interaction of local anaesthetics with other antifungal agents against pathogenic *Aspergillus*, *Int.J.Antimicrob Agents.*, 27, 339-343, **2006**.
- Rosenberg, P.H. & Renkonen, O.V. Antimicrobial activity of bupivacaine and morphine, *Anesthesiology*, 62, 178-179, **1985**.
- Rothchild, R. Identification of a heroin diluent: one- and two-dimensional proton and carbon-13 nmr studies of procaine hydrochloride: computational studies of procaine and its conjugate acid, *Spectroscopy Letters*, 36, 35-42, **2003**.
- Ruetsch, Y.A.; Boni, T. & Borgeat, A. From cocaine to ropivacaine: The history of local anesthetic drugs, *Current Topics in Medicinal Chemistry*, 1, 175-182, **2001**.
- Sakuragi, T.; Ishino, H. & Dan, K. Bactericidal activity of preservative-free bupivacaine on microorganisms in the human skin flora, *Acta Anaesthesiologica Scandinavica*, 42, 1096-1099, **1998**.
- Sakuragi, T.; Yanagisawa, K.; Shirai, Y. & Dan, K. Growth of *Escherichia coli* in propofol, lidocaine, and mixtures of propofol and lidocaine, *Acta Anaesthesiologica Scandinavica*, 43, 476-479, **1999**.

- Schmitt, L. & Tampe, R. Structure and mechanism of ABC transporters, *Curr.Opin.Struct.Biol.*, 12, 754-760, **2002**.
- Scholz, A., Sodium channel gating and drug blockade, In: Kevin Coward and Mark D.Baker, Ed., *Sodium Channels, Pain, and Analgesia*, Birkhäuser Basel, 165-180, **2005**
- Schop, H.; Wiese, M.; Cordes, H.P. & Seydel, J.K. Partial resistance of *E. coli* mutants against 2,4-diamino-5-benzylpyrimidines by interactions with bacterial membrane lipopolysaccharides. Derivation of quantitative structure-binding relationships, *European Journal of Medicinal Chemistry*, 35, 619-634, **2000**.
- Scotti, M.T. Estudo de propriedades físico-químicas e de critérios para obtenção e validação de modelos QSAR para séries de análogos de semicarbazonas com atividade antichagásica, retiradas da literatura. [Dissertação de Mestrado] Instituto de Química da Universidade de São Paulo, 1-200, **2005**.
- Selassie, C.D., The history of quantitative structure activity relationships, In: D.J.Abraham, Ed., *Burger's Medicinal Chemistry and Drug Discovery*, 1, John Wiley and Sons Publishers, 1-48, **2003**
- Selmann, G. Significance of composition and structure of the enterobacterial outer membrane to the transport of desired and undesired substances and its inhibition, *Acta Biotechnologica*, 10, 107-115, **2004**.
- Seydel, J.K., Function, composition, and organization of membranes, *Drug-Membrane Interactions: Analysis, Drug Distribution, Modeling.*, 1-33, **2002**
- Seydel, J.K.; Coats, E.A.; Visser, K. & Wiese, M., Drug-membrane interaction and its importance for drug efficacy, *Chemistry and Molecular Aspects of Drug Design and Action*, 313-324, **2008**.
- Silverstein, R.M. & Webster, X., Espectrometria de ¹³C-RMN, *Identificação Espectrométrica de Compostos Orgânicos*, LTC - Livros Técnicos e Científicos Editora S. A., 204-234, **2000**.
- Siqueira, L.J.A. Relação quantitativa entre a estrutura química e bloqueio da transmissão neuromuscular para série de brometos de [2-(4-benzamido)etil]benzildimetilamônio para-substituídos. [Dissertação de Mestrado] Instituto de Química da Universidade de São Paulo, **2001**.
- Sousa, W.A. Estudo da relação entre a estrutura química e a toxicidade aguda em série de cloretos de [2-(benzoiloxi)etil] dimetilamônio meta-substituídos, com atividade anestésica local. [Dissertação de Mestrado] Instituto de Química da Universidade de São Paulo, 1-143, **1997**.
- Steyaert, G.; Lisa, G.; Gaillard, P.; Boss, G.; Reymond, F.; Girault, H.H.; Carrupt, P.A. & Testa, B. Intermolecular forces expressed in 1,2-dichloroethane-water partition coefficients - A

- solvatochromic analysis, *Journal of the Chemical Society-Faraday Transactions*, 93, 401-406, **1997**.
- Swain, C.G.; Lupton & E.C. Field and resonance components of substituent effects, *Journal of the American Chemical Society*, 90, 4328-4337, **1968**.
- Taft Jr, R.W. & Lewis, I.C. Evaluation of resonance effects on reactivity by application of the linear inductive energy relationship-IV: Hyperconjugation effects of para-alkyl groups, *Tetrahedron*, 5, 210-232, **1959**.
- Tavares, L.C. & Amaral, A.T. Efeito eletrônico de substituintes sobre a polaridade do grupo carbonila e avaliação da atividade anestésica local de N-[(dimetilamino)metil]benzamidas 4-substituídas, *Rev Farm Bioquim.Univ.S.Paulo*, 33, 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] Faculdade de Ciências Farmacêuticas (FCF) da Universidade de São Paulo, **1987**.
- Tavares, L.C. Relações quantitativas entre a estrutura química e a atividade antimicrobiana de análogos à nifuroxazida. [Tese de Doutorado] Faculdade de Ciências Farmacêuticas (FCF) da Universidade de São Paulo, **1993**.
- Tute, M.S., History and objectives of quantitative drug design., In: Hansch, C., SAMMES, P.G., and Taylor, J.B., Eds., *Comprehensive Medicinal Chemistry. The Rational Design, Mechanistic Study e Therapeutic Application of Chemical Compounds*, 4, Pergamon Press, 1-31, **1990**
- Uesono, Y.; Araki, T. & Toh-E, A. Local anesthetics, antipsychotic phenothiazines, and cationic surfactants shut down intracellular reactions through membrane perturbation in yeast, *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 72, 2884-2894, **2008**.
- Vereb, G.; Szollosi, J.; Matko, J.; Nagy, P.; Farkas, T.; Vigh, L.; Matyus, L.; Waldmann, T.A. & Damjanovich, S. Dynamic, yet structured: The cell membrane three decades after the Singer-Nicolson model, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 100, 8053-8058, **2003**.
- Verma, R.P. & Hansch, C. Camptothecins: A SAR/QSAR Study, *Chemical Reviews*, 109, 213-235, **2009**.
- White, S.H.; Ladokhin, A.S.; Jayasinghe, S. & Hristova, K. How membranes shape protein structure, *Journal of Biological Chemistry*, 276, 32395-32398, **2001**.
- Yamagami, C. Recent Advances in Reversed-Phase-HPLC Techniques to Determine Lipophilicity, *Pharmacokinetic Optimization in Drug Research*, 23, 383-400, **2001**.

- Yamagami, C.; Kawase, K. & Iwaki, I. Hydrophobicity parameters determined by reversed-phase liquid chromatography. xv: optimal conditions for prediction of logP oct by using RP-HPLC procedures, *Chemical & Pharmaceutical Bulletin*, 50, 1578-1583, **2002**.
- Zanatta, N.; Alves, S.H.; Coelho, H.S.; Borchhardt, D.M.; Machado, P.; Flores, K.M.; da Silva, F.M.; Spader, T.B.; Santurio, J.M.; Bonacorso, H.G. & Martins, M.A.P. Synthesis, antimicrobial activity, and QSAR studies of furan-3-carboxamides, *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 15, 1947-1958, **2007**.
- Zhou, Y.; Morais-Cabral, J.H.; Kaufman, A. & MacKinnon, R. Chemistry of ion coordination and hydration revealed by a K⁺ channel-Fab complex at 2.0 Å resolution, *Nature*, 414, 43-48, **2001**.

Súmula Curricular

SÚMULA CURRICULAR

I. Dados Pessoais

Nome Elba Vieira Mustafa dos Santos
Nascimento 28/05/1970 - Manaus/AM - Brasil

Formação Acadêmica/Titulação

- 2004 - Atual** Doutorado em Química Orgânica.
Universidade de São Paulo, USP, São Paulo, Brasil
Título: Relações entre estrutura química e atividade biológica de compostos bioativos, em especial com potencial atividade agroquímica: QSAR/QSAR 3D
Orientador: Antonia Tavares do Amaral
Bolsista do(a): Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico
- 2000 - 2003** Mestrado em Química.
Universidade Federal do Amazonas, UFAM, Manaus, Brasil
Título: Um seco-iridóide das folhas de *Tachia grandiflora* Maguire e Weaver (Gentianaceae), Ano de obtenção: 2003
Orientador: Adrian Martin Pohlit
- 1995 - 1999** Graduação em Licenciatura Em Química.
Universidade Federal do Amazonas, UFAM, Manaus, Brasil
- 1995 - 1999** Graduação em Bacharel Em Química.
Universidade Federal do Amazonas, UFAM, Manaus, Brasil
-

II. Produção bibliográfica

Artigos completos publicados em periódicos

(1). Pohlit, Adrian Martin, Tigre, Riuga, Cavalcanti, B C, Moraes, M F, Lutofo, Leticia Veras Costa, Moraes, Maria Elisabete Amaral de, Santos, E. V. M., Moraes, Sabrina Kelly Reis de, Nunomura, Sergio Massayoshi. **Cytotoxic Fractions from the Leaves of *Tachia grandiflora***. *Pharmaceutical Biology*, v.45, p.429/ - 433, **2007**.

(2). Santos, E. V. M., Pohlit, Adrian Martin, Quignard, Etienne Louis Jacques, Nunomura, Sergio Massayoshi, TADEI, Wanderli Pedro, Hidalgo, Ari de Freitas, Pinto, Ana Cristina da Silva, Moraes, Sabrina Kelly Reis de, Saraiva, Rita de Cássia Guedes, Ming, Lin Chau, Alecrim, Alexandre Mascarenhas, Ferraz, Alfeu de Barros, Pedroso, Andreza Cristina da Silva, Diniz, Elisangela Vieira, Finney, Ellen Kathrryn, Gomes, Erika de Oliveira, DIAS, Hercules Bezerra, Souza, Katiuscia dos Santos de, Oliveira, Laura Cristina

Pereira de, Don, Luciana de Castro, Queeiroz, Mara Mireide Andrade, Henrique, Marycleuma Campos, Santos, Mirian dos, Lacerda Júnior, Orivalda da Silva, Pinto, Patrícia de Souza, Silva, Suniá Gomes, Graça, Yara Rodrigues. **Screening of plants found in the State of Amazonas, Brazil for larvicidal activity against *Aedes aegypti* larvae.** Acta Amazônica. , v.34, p.97 - 105, 2004.

(3). Santos, E. V. M., Quignard, Etienne Louis Jacques, Pohlit, Adrian Martin, Nunomura, Sergio Massayoshi, Pinto, Ana Cristina da Silva, Moraes, Sabrina Kelly Reis de, Alecrim, Alexandre Mascarenhas, Pedroso, Andreza Cristiana da Silva, Cyrino, B. R. B., Melo, C. S., Finney, Ellen Kathryn, Gomes, E. O., Souza, K. S., Oliveira, Laura C P, Castro, Luciana de, Silva, Luiz F R, Queiroz, Maria Mireide Andrade de, Henrique, M. C., Santos, Mirian dos, Pinto, Patrícia de Souza, Silva, Suniá Gomes. **Screening of Plants Found in Amazonas State for Lethality Towards Brine Shrimp *Artemia franciscana*.** Acta Amazonica. , v.33, p.93 - 104, 2003.

III. Trabalhos publicados em anais de eventos (resumo)

Congresso Internacional

(1). Giovanni F. Caramori, Renato L. T. Parreira, Elba V. M. dos Santos, Leandro de Rezende, Antonia T.-do Amaral. **Substituents Effects on the Intramolecular Hydrogen Bond of Procaine Analogs – A DFT Study.** The 17th European Symposium on Quantitative Structure-Activity Relationships & Omics Technologies and Systems Biology. Uppsala, Suécia. 21-26/09 de 2008.

(2). Santos, E. V. M., Moraes Filho, Manoel Odorico de, Moraes, Maria Elisabete Amaral de, Lutofo, Leticia Veras Costa, Moraes, Sabrina Kelly Reis de, Nunomura, Sergio Massayoshi, Pohlit, Adrian Martin, Cavalcanti, Bruno Coelho, Pessoa, Claudia Ó, Mourão, Ana Raquel, Tigre, Riuga F. **Cytotoxic fractions from the leaves of *Tachia grandiflora* Maguire & Weaver (Gentianaceae).** In: International Congress on Natural Products Research, 2004, Phoenix. **Proceedings of 2004 International Congress on Natural Products Research.** Phoenix: , 2004. v.1. p.596 – 596.

(3). Santos, E. V. M., Pohlit, Adrian Martin, Nunomura, Sergio Massayoshi, Quignard, Etienne Louis Jacques, Pedroso, Andreza Cristiana da Silva, Cyrino, B R B, Pinto, Ana Cristina da Silva, Moraes, Sabrina Kelly Reis de, Alecrim, Alexandre Mascarenhas, Castro, Luciana de, Queiroz, Maria Mireide Andrade de, Henrique, Marycleuma Campos, Pinto, Patrícia de Souza, Silva, Suniá Gomes, Santos, Mirian dos. **Screening of extracts of amazonian medicinal plants for activity against *Artemia franciscana*** In: X Congreso Italo Latinoamericano de Etnomedicina, 2001, Isla de Margarita. **Memorias del X Congreso Italo Latinoamericano de Etnomedicina.** Venezuela: , 2001. p.171 – 172.

Congresso Nacional

(1). Santos, E. V. M., Malvezzi, A., Amaral, A. T. Determinação dos valores de coeficiente de partição para série de cloretos de N-[(N,N-dimetilamino)etil]benzoato meta-substituídos. In: 31ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, 2008, Águas de Lindóia. **31ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química.** , 2008.

(2). Santos, E. V. M., Trossini, Gustavo Henrique Goulart, Giarolla, Jeanine, Rezende, Leandro de, Martins, Claudinei, Ferreira, Elizabeth Igne. Planejamento Fatorial 22 para otimização da síntese de hidroximetilnitrofural In: X Semana Farmacêutica de Ciência e Tecnologia, 2005, São Paulo. **Poster FCF081.** São Paulo. , 2005.

(3). Santos, E. V. M., Pohlit, Adrian Martin, Moraes, Maria Elisabete Amaral de, Moraes Filho, Manoel Odorico de, Nunomura, Sergio Massayoshi, Moraes, Sabrina Kelly Reis de, Tigre, Riuga, Wilke, D V, Cavalcanti, Bruno Coelho, Lutufo, Leticia Veras Costa, Mourão, Ana Raquel R B
Ação Antiproliferativa da Tachia Grandiflora Tachia Grandiflora Maguire & Weaver Weaver In: XXXV Congresso Brasileiro de Farmacologia e Terapêutica, 2003, Águas de Lindóia. **XXXV Congresso Brasileiro de Farmacologia e Terapêutica**. São Paulo: , 2003. v.35. p.179 - 179

(4). Santos, E. V. M., Silva, Luiz F R, Quignard, Etienne Louis Jacques, Pohlit, Adrian Martin, Pinto, Ana Cristina da Silva, Alecrim, Wilson, Alecrim, Alexandre Mascarenhas, Vieira, Pedro Paulo R
Estudo in vitro da atividade antimalarica de substancias isoladas das plantas Tachia Grandiflora (Gentianaceae) e Pothomorphe Peltata (Piperaceae) In: XXXIX Congresso da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, 2003, Belém. **Encontro Anual da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**. , 2003.

(5). Santos, E. V. M., Moraes, Sabrina Kelly Reis de, Nunomura, Sergio Massayoshi, Quignard, Etienne Louis Jacques, Pohlit, Adrian Martin, Tadei, W. P., Pedroso, Andreza Cristiana da Silva, Gomes, Erica O. Análise Fitoquímica, Atividade Biológica de Tachia Grandiflora (Gentianaceae) In: XVI Semana de Química, 2002, Manaus. **Livro de Resumos XVI Semana de Química**. Manaus: , 2002. v.1. p.14 – 14

(6). Santos, E. V. M., Silva, Luiz F R, Quignard, Etienne Louis Jacques, Pedroso, Andreza Cristiana da Silva, Gomes, Erica O, Pinto, Ana Cristina da Silva, Moraes, Sabrina Kelly Reis de, Alecrim, Alexandre Mascarenhas, Castro, Luciana de, Queiroz, Maria Mireide Andrade de, Henrique, M. C., Silva, Suniá Gomes, Pinto, Patrícia de Souza, Santos, Mirian dos, Nunomura, Sergio Massayoshi, Pohlit, Adrian Martin
Busca de Substâncias Bioativas em Extratos de Plantas Amazônicas - II In: XVI Semana de Química, 2002, Manaus. **Livro de Resumos XVI Semana de Química**. , 2002. v.1. p.17 - 17

(7). Santos, E. V. M., Quignard, Etienne Louis Jacques, Pedroso, Andreza Cristiana da Silva, Cyrino, B. R. B., Melo, C. S., Pinto, Ana Cristina da Silva, Moraes, Sabrina Kelly Reis de, Alecrim, Alexandre Mascarenhas, Castro, Luciana de, Queiroz, Maria Mireide Andrade de, Henrique, M. C., Silva, Suniá Gomes, Pinto, Patrícia de Souza, Santos, Mirian dos, Nunomura, Sergio Massayoshi, Pohlit, Adrian Martin
Busca de Substâncias em extratos de Plantas Amazônicas In: XVI Semana de Química, 2002, Manaus. **Química Ciência e Sociedade**. , 2002. v.1. p.16 - 16

(8). Santos, E. V. M., Gomes, Erica O, Pedroso, Andreza Cristiana da Silva, Quignard, Etienne Louis Jacques, Pinto, Ana Cristina da Silva, Moraes, Sabrina Kelly Reis de, Alecrim, Alexandre Mascarenhas, Castro, Luciana de, Souza, K. S., Oliveira, Laura C P, Henrique, M. C., Silva, Suniá Gomes, Pinto, Patrícia de Souza, Santos, Mirian dos, Rodrigues, I. B., Tadei, W. P., Nunomura, Sergio Massayoshi, Pohlit, Adrian Martin
Busca de Substâncias Larvicidas em Extratos de Plantas Amazônicas In: XVI Semana de Química, 2002, Manaus. **Química Ciência e Sociedade**. Manaus: UFAM, 2002. v.1. p.14 - 14

(9). Santos, E. V. M., Oliveira, L. G. S., Alcântara, A. F. C., Costa, H. N. R., Barros, H. S.
Estudo da Formação de Gama-Iminoamidas a partir de alfa-bromoamidas e aldiminas alifáticas In: VIII Jornada de Iniciação Científica da Universidade do Amazonas, 1999, Manaus. Resumos da VIII Jornada de Iniciação Científica da Universidade do Amazonas. , 1999.

IV. Participação em Eventos

(1) 31ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química. 2008. **Determinação dos valores de coeficiente de partição para série de cloretos de N-[(N,N-dimetilamino)etil] benzoato meta-substituídos.** (Poster). Águas de Lindóia – SP, de 26-29/05/2008.

(2) Curso **New Approaches in Drug Discovery**. **New Approaches in Drug Discovery**. Proferido pelo Profº. Dr. Hugo Kubinyi- Alemanha. 2008. Instituto de Química – São Paulo-SP, de 11-14/03 de 2008.