B I B L I O T E C A
INSTITUTO DE QUÍMICA
Universidade de São Paulo
2025
UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
INSTITUTO DE QUÍMICA

Relação quantitativa entre a estrutura química e o bloqueio da
transmissão neuromuscular para série de brometos de
[2-(4-benzamido)etil]benzildimetilamônio *para*-substituídos

LEONARDO JOSÉ AMARAL DE SIQUEIRA

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

Prof^a. Dr^a ANTONIA TAVARES DO AMARAL
Orientadora

SÃO PAULO
07/12/2001

BIBLIOTECA
INSTITUTO DE QUÍMICA
Universidade de São Paulo

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
INSTITUTO DE QUÍMICA

Dodajisi: J385
ORDEN: 2042
Terminal 0

Relação quantitativa entre a estrutura química e o bloqueio da
transmissão neuromuscular para série de brometos de
[2-(4-benzamido)etil]benzildimetilamônio *para*-substituídos

LEONARDO JOSÉ AMARAL DE SIQUEIRA

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

Prof^a. Dr^a ANTONIA TAVARES DO AMARAL
Orientadora

SÃO PAULO
07/12/2001

Ficha Catalográfica
Elaborada pela Divisão de Biblioteca e
Documentação do Conjunto das Químicas da USP.

S618r Siqueira, Leonardo José Amaral de
Relação quantitativa entre a estrutura química e o bloqueio da transmissão neuromuscular para série de brometos de [2-(4-benzamido)etil]benzildimetilamônio *para*-substituídos / Leonardo José Amaral de Siqueira. -- São Paulo, 2001.
144p.

Dissertação (mestrado) - Instituto de Química da Universidade de São Paulo. Departamento de Química Fundamental.

Orientador: Amaral, Antonia Tavares do

1. Composto orgânico : Propriedades : Química 2. Relações quantitativas entre estrutura química e atividade biológica : Bioquímica I. T. II. Amaral, Antonia Tavares do, orientador.

**"Relação Quantitativa Entre a
Estrutura Química e o Bloqueio da
Transmissão Neuromuscular para Série
de Brometos de [2-(Benzamido)Etil]
Benzildimetilamônio *para-*
substituídos"**

LEONARDO JOSÉ AMARAL DE SIQUEIRA

Dissertação de Mestrado submetida ao Instituto de
Química da Universidade de São Paulo como parte dos requisitos
necessários à obtenção do grau de Mestre em Ciências - Área:
Química Orgânica.

Aprovado por:

Profa. Dra. ANTONIA TAVARES DO AMARAL
IQ - USP
(Orientadora e Presidente)

Prof. Dr. OMAR ABDEL MONEIN ABOU EL SEUD
IQ - USP

Profa. Dra. CADEN SOUCCAR
UNIFESP

SÃO PAULO
07 DE DEZEMBRO 2001.

i – AGRADECIMENTOS

B I B L I O T E C A
INSTITUTO DE QUÍMICA
Universidade de São Paulo

À Professora Dr^a Antonia Tavares do Amaral pela oportunidade e orientação.

Aos Professores Dr. Antônio José Lapa, Dr^a Caden Souccar e Dr^a Maria Teresa Landman pela realização dos testes biológicos e paciência na discussão sobre a parte biológica.

Aos meus pais pelo incentivo constante, além do apoio financeiro necessário para a finalização deste trabalho.

À Maria do Carmo pelo exaustivo trabalho que possibilitou a determinação dos testes biológicos.

Aos amigos do laboratório Alberto (CP), Cristiano, Ênio, Hamilton, Inocência (Nê) e Vicente, pelas discussões científicas e conversas agradáveis e descontraídas.

À Taiza por tudo, carinho, compreensão, ombro amigo ...

Aos amigos Alessandro (Tchê), Antônio, Fernanda Ascenso, Fernanda Siqueira, Jair, José Guilherme (meu “cumpadi”J), Luiz Augusto (Metil), Marcone, Mauro, Onasses, Odonório, Ricardo (cabelo), Weber e Wendel.

Aos amigos Prof. Dr. Luiz Fernando Cappa de Oliveira e Dr^a Rosana Colombara pelas conversas, opiniões e pelos churrascos.

Aos órgãos de amparo à pesquisa, CNPq, FAPESP, DAAD, DFG, pelo suporte didático e financeiro.

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

QSAR – relações quantitativas entre a estrutura química e a atividade biológica
 π - constante de hidrofobicidade de Hansch-Fujita
 σ_p – Constante eletrônica de Hammett na posição *para*
 $\delta^{13}_{C=O}$ – deslocamento químico de ressonância magnética nuclear de carbono 13 do grupo carbonila.
 $\mathfrak{J}$ - constante de Swain e Lupton
 $\mathfrak{R}$ - constante de Swain e Lupton
 σ^* - constante eletrônica de taft
 α - polarizabilidade
 χ - conectividade molar
f – constante fragmentar de Rekker
 $\log P_{app}^{7,40}$ – coeficiente de partição, solvente *n*-octanol em pH 7,40
 $\log P$ – coeficiente de partição
 $\log P_{calc}$ – coeficiente de partição calculado pelo programa CLOG P
RMN de 1H – ressonância magnética nuclear de hidrogênio
RMN de ^{13}C – ressonância magnética nuclear de carbono 13
I.V. – infravermelho
U.V. – ultravioleta
P.F. – ponto de fusão
P.E. – ponto de ebulição
PM – peso molecular
n – índice de refração
d – densidade
 β - relação entre as fases orgânica e aquosa no sistema bilinear
 μ - média da atividade biológica com todos os substituintes no modelo de Free-Wilson
 a_i – contribuição do *i*-ésimo composto na atividade biológica no modelo de Free-Wilson
Rv – relação de volume *n*-octanol/tampão trizma
MV – volume molar
r – coeficiente de correlação
s – desvio padrão
F – fator de confiabilidade
P/Rv – relação para partição (*n*-octanol/tampão trizma)
CL – limite de confiança para a atividade biológica
I.C. – intervalo de confiança para a atividade biológica
*IC*₅₀ – concentração que inibe 50% do efeito
*MR*₄ – Refratividade molar na posição 4 do anel aromático
 η - Rendimento

iii) – OBJETIVOS

Este teve como objetivo a preparação, determinação de parâmetros físico-químicos/estruturais, lipofílico, eletrônico e relacionados à refratividade molar, respectivamente, para uma série de brometo de 2-[(4-X-benzamido)etil] benzildimetilamônio substituídos. A abordagem de Hansch foi aplicada, visando verificar as contribuições relativas dos parâmetros físico-químicos/estruturais responsáveis pelo bloqueio da transmissão neuromuscular, determinada em preparações nervo frênico-músculo diafragma. A partir dos resultados de *QSAR*, pretende-se contribuir para o entendimento das interações que ocorrem entre os compostos e receptor nicotínico da acetilcolina muscular e, na medida do possível, prever a potência de bloqueio da transmissão neuromuscular de compostos ainda não sintetizados.

iv – RESUMO

Neste trabalho foi preparada uma série de onze brometo de 2-[(4-X-benzamido)etil]benzildimetilamônio, compostos I.1-I.11, série I, estruturalmente análogos à procainamida, não descritos na literatura. Os valores do coeficiente de partição, $\log P_{app}^{7,40}$, destes compostos foram determinados pelo método *shake-flask* e foram utilizados como parâmetro lipofílico experimental. Os valores de deslocamento químico do grupamento carbonila, $\delta^{13}C=O$, foram determinados e foram determinados em um espectrômetro de ressonância magnética nuclear a 75 MHz. Adicionalmente, outros parâmetros físico-químicos foram retirados da literatura: π , σ_p , Σ , $\mathfrak{R}$ e MR_4 ou obtidos por cálculo: $\log P_{calc}$ e π_{exp} . Os valores da concentração inibitória média (IC_{50}) capaz de reduzir a contração máxima a 50% no período de 15 minutos, foram determinados em preparações nervo frênico-músculo diafragma de camundongos. Para verificar a natureza e a contribuição relativa dos parâmetros físico-químicos frente ao bloqueio da transmissão neuromuscular foi feito uma análise de *QSAR*, obtendo-se equações, usando análise de regressão linear. As análises de *QSAR* sugerem uma dependência positiva da lipofilicidade para o bloqueio da transmissão neuromuscular expresso por pIC_{50} , segundo o modelo proposto expresso pela equação:

$$pIC_{50} = 0,39(\pm 0,12) \log P_{app}^{7,40} + 3,02(\pm 0,16)$$

$$n = 10; \quad r = 0,930; \quad s = 0,20; \quad F = 51,38; \quad Q^2 = 0,83; \quad s_{PRESS} = 0,22$$

v – ABSTRACT

In this work, a set of eleven 2-[(4-X-benzamido)ethyl]benzyl dimethylammonium bromide structurally related to procainamide was synthesized. The apparent partition coefficient values were determined by means of “shake-flask” method and were taken as lipophilic parameters. The carbonyl chemical shifts values were determined in methanol-d₄ and taken as electronic parameters. Additionally, physicochemical parameters were either taken from literature: π , σ_p , Σ , $\mathfrak{R}$ and MR_4 or calculated: $\log P_{calc}$ and π_{exp} . The median inhibitory concentration values (IC_{50}) able to reduce maximal contraction to 50% at 15 minutes was determined in phrenic nerve-diafrgm muscle preparation of mice. In order to verify the nature and relative contribution of the physicochemical parameters to neuromuscular blockage, QSAR equations were derived using regression analysis. The obtained QSAR model, expressed by the equation below, suggest that lipophilicity term plays an important role to neuromuscular blockage.

$$pIC_{50} = 0,39(\pm 0,12) \log P_{app}^{7,40} + 3,02(\pm 0,16)$$

$$n = 10; r = 0,930; s = 0,20; F = 51,38; Q^2 = 0,83; s_{PRESS} = 0,22$$

vi – ÍNDICE

I – Introdução

I.1 – Alguns aspectos sobre o sistema colinérgico	01
I.1.1 - Receptores nicotínicos	02
I.1.1 - Propriedades funcionais de receptores nicotínicos da acetilcolina	04
I.1.2 - Compostos com ação bloqueadora neuromuscular (antagonistas de receptores nicotínicos muscular)	05
I.1.2.1 - Bloqueadores competitivos de receptores nicotínicos da acetilcolina	06
I.1.2.2 - Inibidores não-competitivos de receptores nicotínicos da acetilcolina	09
I.1.2.2.1 - Propriedades farmacológicas de compostos inibidores não-competitivos de receptores nicotínicos da acetilcolina	09
I.1.2.2.2 - Relação estrutura atividade de compostos inibidores não-competitivos de colinoreceptores nicotínicos	12
I.2 – Relação Quantitativa entre a Estrutura Química e a Atividade Biológica (<i>QSAR</i>)	15
I.2.1 - Interações entre uma substância química e um receptor biológico	15
I.2.2 – Parâmetros lipofílicos	19
I.2.2.1 – Coeficiente de partição	20
I.2.2.2 – Parâmetro π de Hansch-Fujita	26
I.2.2.3 – Parâmetro hidrofóbico de Rekker (f)	27
I.2.2.4 – Parâmetro hidrofóbico obtido por cálculo	28
I.2.3 – Parâmetros Eletrônicos	30
I.2.4 – Parâmetros estéricos	34
I.2.5 – Parâmetros relacionados à polarizabilidade	34
I.2.6 – Planejamento da série de compostos para estudos de <i>QSAR</i>	35
I.2.7 – Abordagens utilizadas em <i>QSAR</i>	36
I.2.7.1 – Abordagem extratermodinâmica	36
I.2.7.1.1 - Modelo linear	37
I.2.7.1.2 – Modelos não-lineares	37

I.2.7.1.2.1 – Modelo parabólico	37
I.2.7.1.2.2 – Modelo bilinear	39
I.2.7.2 – Modelo de aditividade (Análise de Free-Wilson)	40
I.2.7.3 - Relação Estrutura Atividade Biológica	
tridimensional (<i>QSAR-3D</i>)	41

II – Materiais e Métodos

II.1 – Reagentes e solventes	43
II.2 – Equipamentos	44
II.2.1 – Análise elementar	44
II.2.2 – Espectros de Ressonância Magnética	
Nuclear (RMN) de ^1H e de ^{13}C	44
II.2.3 – Espectros na região do Infravermelho (IV)	45
II.2.4 – Espectros na região do Ultravioleta (UV)	45
II.3 – Metodologias	45
II.3.1 – Planejamento da série de substituintes	45
II.3.2 – Preparação dos compostos	46
II.3.2.2 – Métodos gerais de preparação dos compostos	48
II.3.2.2.1 – Métodos de preparação da série de N-[(dimetilamino)	
etil]-4-X-benzamidas substituídas (compostos i.1 -i.11)	48
II.3.2.2.1.1 – Método de preparação das N-[(dimetilamino)etil]	
-4-X-benzamidas substituídas, em que X = H e $n\text{-C}_6\text{H}_{13}$	48
II.3.2.2.1.2 - Método de preparação da série de	
N-[(dimetilamino)etil]-4-X-benzamidas substituídas,	
sendo X = CH_3 , $n\text{-C}_4\text{H}_9$, Cl, Br, NO_2 , CN, CF_3 e SO_2CH_3	49
II.3.2.2.2 – Método geral de preparação da série de brometos	
de [2-(4-X- benzamido)etil]benzildimetilamônio	
substituídos	50
II.3.3 – Obtenção de parâmetros físico-químico e estruturais	51
II.3.3.1 – Parâmetros lipofílico	51
II.3.3.2 – Obtenção de parâmetros eletrônicos	53
II.3.3.3 – Parâmetro relativo a refratividade molar (<i>MR</i>)	54
II.3.4 - Análise de regressão (<i>QSAR</i>)	54

III – Parte experimental

III.1 – Preparação dos compostos	55
III.1.1. Preparação do [2-(benzamido)etil]benzil	
dimetilamônio (X=H; I.1)	55
III.1.1.1 – Preparação do cloreto de benzoíla	55
III.1.1.2 – Preparação do cloridrato de N[(dimetilamino)etil]	
benzamida (X=H; i.1)	55
III.1.1.3 – Preparação da N[(dimetilamino)etil]benzamida	56
III.1.1.4. - Preparação do brometo de [2-(benzamido)etil]benzil	
dimetilamônio (X=H; I.1)	57
III.1.2 – Preparação do brometo de [2-(4-metil-benzamido)etil]	
benzildimetilamônio (X=CH ₃ ; I.2)	58
III.1.2.1. Preparação da N[(dimetilamino)etil]	
-4-metil-benzamida (X=CH ₃ ; i.2)	58
III.1.2.2 – Preparação do brometo de [2-(4-metil-benzamido)etil]	
benzildimetilamônio (X=CH ₃ ; I.2)	59
III.1.3 Preparação do brometo de [2-(4- <i>n</i> -butil-benzamido)etil]	
benzildimetilamônio (X= <i>n</i> -C ₄ H ₉ ; I.3)	60
III.1.3.1– Preparação da N[(dimetilamino)etil]	
-4- <i>n</i> -butil-benzamida (X= <i>n</i> -C ₄ H ₉ ; i.3)	60
III.1.3.2. – Preparação do brometo de [2-(4- <i>n</i> -butil-benzamido)etil]	
benzildimetilamônio (X= <i>n</i> -C ₄ H ₉ ; I.3)	62
III.1.4 – Preparação do brometo de [2-(4- <i>n</i> -hexil-benzamido)etil]	
benzildimetilamônio(X= <i>n</i> -C ₆ H ₁₃ ; I.4)	63
III.1.4.1 - Preparação do cloridrato de N[(dimetilamino)etil]	
4- <i>n</i> -hexil benzamida.....	63
III.1.4.2 – Preparação da N[(dimetilamino)etil]4- <i>n</i> -hexil-benzamida	64
III.1.4.3 – Preparação do brometo de [2-(4- <i>n</i> -hexil-benzamido)etil]	
benzildimetilamônio	64
III.1.5 – Preparação do brometo de [2-(4-metoxi-benzamido)etil]	
benzildimetilamônio (X=OCH ₃ ; I.5)	66
III.1.5.1 – Preparação da N[(dimetilamino)etil]	

-4-metoxi-benzamida (X=OCH ₃ ; i.5)	66
III.1.5.2 – Preparação do brometo de [2-(4-metoxi-benzamido)etil] benzildimetilamônio (X=OCH ₃ ; I.5)	67
III.1.6 – Preparação do brometo de [2-(4-cloro-benzamido)etil] benzildimetilamônio(X=Cl; I.6)	68
III.1.6.1 – Preparação da N[(dimetilamino)etil] -4-cloro-benzamida (X=Cl; i.6)	68
III.1.6.2–Preparação do brometo de [2-(4-cloro-benzamido)etil] benzildimetilamônio (X=Cl; I.6)	69
III.1.7 – Preparação do brometo de [2-(4-bromo-benzamido)etil] benzildimetilamônio (X=Br; I.7)	70
III.1.7.1 – Preparação da N[(dimetilamino)etil] -4-bromo-benzamida (X=Br; i.7)	70
III.1.7.2 – Preparação do brometo de [2-(4-bromo-benzamido)etil] benzildimetilamônio (X=Br; I.7)	71
III.1.8 – Preparação do brometo de [2-(4-nitro-benzamido)etil] benzildimetilamônio (X=NO ₂ ; I.8)	72
III.1.8.1 – Preparação da N[(dimetilamino)etil] -4-nitro-benzamida (X=NO ₂ ; i.8)	72
III.1.8.2 – Preparação do brometo de [2-(4-nitro-benzamido)etil] benzildimetilamônio (X=NO ₂ ; I.8)	73
III.1.9 – Preparação do brometo de [2-(4-ciano-benzamido)etil] benzildimetilamônio (X=CN;I.9)	73
III.1.9.1 – Preparação da N[(dimetilamino)etil] -4-ciano-benzamida (X=CN;i.9)	74
III.1.9.2 – Preparação do brometo de [2-(4-ciano-benzamido)etil] benzildimetilamônio (X=CN;I.9)	74
III.1.10 - Preparação do brometo de [2-(4- α,α,α -trifluorometil- benzamido)etil]benzildimetilamônio (X=CF ₃ ; I.10)	75
III.1.10.1 – Preparação da N[(dimetilamino)etil]-4- α,α,α -trifluorometil- benzamida (X=CF ₃ ; i.10)	75
III.1.10.2 – Preparação do brometo de [2-(4- α,α,α -trifluorometil- benzamido)etil]benzildimetilamônio (X=CF ₃ ; I.10)	76

III.1.11 - Preparação do brometo de [2-(4-metilsulfonyl-benzamido)etil]benzildimetilamônio (X=SO ₂ CH ₃ ; I.11)	77
III.1.11.1 – Preparação da N[(dimetilamino)etil]-4-metilsulfonyl-benzamida (X=SO ₂ CH ₃ ; i.11)	77
III.1.11.2 – Preparação do brometo de [2-(4-metilsulfonyl-benzamido)etil]benzildimetilamônio (X=SO ₂ CH ₃ ; I.11)	78
III.2 – Determinação de parâmetros lipofílicos	90
III.2.1 – Obtenção do coeficiente de partição por cálculo (log P _{calc})	90
III.2.2 – Determinação do coeficiente de partição, log P _{app} ^{7,40} , pelo método <i>shake-flask</i>	91
III.2.2.1 – Planejamento do experimento	91
III.2.2.1.1 – Preparação da solução tampão trizma, pH = 7,40	91
III.2.2.1.2 – Pré-saturação mútua	92
III.2.2.1.3 – Escolha do comprimento de onda (λ) de absorção máxima e determinação da absorvidade molar (ε) de cada composto da série I	93
III.2.2.2 – Resultados obtidos	94
III.2.2.2.1 – Determinação do coeficiente de partição, log P _{app} ^{7,40}	94
III.3 – Obtenção de parâmetros eletrônicos	96
III.3.1 – Determinação dos valores de deslocamento químico de RMN ¹³ C do grupo carbonila (δ ¹³ _{C=O})	96
III.4 – Determinação do parâmetro biológico	97
III.4 – Determinação do bloqueio da transmissão neuromuscular	97

IV – Resultados e Discussão

IV.1 – Introdução	100
IV.2 – Compostos estudados	101
IV.2.1 - Escolha da série de substituintes	101
IV.2.1 – Preparação dos compostos	105
IV.3 – Parâmetros físico-químicos e estruturais	107
IV.3.1 – Parâmetro lipofílico	107
IV.3.2 – Parâmetros eletrônicos	113

IV.3.3 – Parâmetros relacionados à refratividade molar.....	118
IV.4 – Parâmetro biológico	118
IV.4.1 – Introdução	118
IV.4.2 – Análise de <i>QSAK</i>	120
IV.4.3 – Equações de correlação obtidas	123
V – Conclusões	132
VI – Referências bibliográficas	133

Índice de Figuras e Tabelas

Capítulo I

Figura I.1.1 - Estrutura da acetilcolina	01
Figura I.1.1.1 – Diagrama terciário da organização das sub-unidades do receptor nicotínico da acetilcolina	03
Figura I.1.1.2 – Modelo proposto para o receptor nicotínico da acetilcolina de tecido muscular	04
Figura I.1.2.1.1 – Estrutura da <i>d</i> -tubocurarina	06
Figura I.1.2.1.2 - Estruturas dos compostos com ação bloqueadora da transmissão neuromuscular, bastante utilizados uso na clínica	08
Figura I.1.2.2.1.1 – Estrutura de alguns inibidores não competitivos do receptor nicotínico da acetilcolina	11
Figura I.1.2.2.2.1 – Estrutura da bupivacaína	12
Tabela I.1.2.2.2.1 – Resultados obtidos por Bamford para uma série de sulfônio, sulfoxônio análogos do decametônio	13
Tabela I.2.1.1 – Principais tipos de interações entre um composto e o sistema biológico	16
Figura I.2.1.1 – Balanço energético da(s) interação(ões) composto-receptor: fatores entálpicos e entrópicos envolvidos	17
Tabela I.2.2.1.1 – Alguns tipos de fases estacionárias utilizadas para obtenção do valor do coeficiente de partição obtido por <i>HPLC</i>	24
Figura I.2.2.4.1 – Exemplo de interação intramolecular (ligação de hidrogênio) observada em <i>orto</i> nitrofenóis	28
Figura I.2.2.4.2. Representação esquemática dos equilíbrios envolvidos no ciclo termodinâmico da partição de espécies ionizadas, no sistema <i>n</i> -octanol/água	29

Capítulo II

Figura II.3.2.1.1 - Rotas sintéticas <u>A</u> , <u>B</u> , <u>C</u> , <u>D</u>	47
--	----

Capítulo III

Tabela III.1.1. Valores das constantes físicas, dos rendimentos e das massas obtidos para os compostos intermediários	79
Tabela III.1.2 – Valores de análise elementar calculada e obtida experimentalmente para os compostos intermediários.....	80
Tabela III.1.3 – Valores das posições das bandas de absorção na região do infravermelho para os compostos intermediários	81
Tabela III.1.4 – Valores dos deslocamentos químicos e das constantes de acoplamento J de RMN ^1H para os compostos intermediários.....	82
Tabela III 1.5 – Valores dos deslocamentos químicos de RMN ^{13}C para os compostos intermediários	83
Tabela III 1.6 – Valores constantes físicas, dos rendimentos e das massas obtidos para os compostos da série I	84
Tabela III.1.7 – Valores de análise elementar calculada e obtida experimentalmente para os compostos da série I	85
Tabela III.1.8 – Valores das posições das bandas de absorção na região do infravermelho para os compostos da série I	86
Tabela III.1.9 – Valores dos deslocamentos químicos e das constantes de acoplamento J de RMN ^1H para os compostos da série I	87
Tabela III.1.10 – Valores dos deslocamentos químicos de RMN ^{13}C para os compostos da série I	88
Tabela III.2.1 – Valores do coeficiente de partição calculados para os compostos da série I	90
Tabela III.2.2 – Valores do comprimento de onda de absorção e de absortividade molar para os compostos da série I	93
Tabela III.2.2.2.1.1 – Valores do coeficiente de partição determinados experimentalmente para os compostos da série I	94
Tabela III.3.1.1 - Valores dos deslocamentos químicos de RMN ^{13}C de carbonila para os compostos da série I	95
Figura III.4.1 – Curva concentração-resposta obtidos do bloqueio da transmissão neuromuscular	97
Tabela III.4.1 – Valores da concentração inibitória e intervalo de confiança e da atividade biológica para os compostos da série I	98

Capítulo IV

Figura IV.2.1.1 – Estrutura dos compostos da série I	101
Figura IV.2.1.2 -- Representação esquemática dos valores de π em função de σ_p	103
Figura IV.2.1.3 – Representação esquemática dos valores de π em função de MR_4	103
Figura IV.2.1.4 – Representação esquemática dos valores de σ_p em função de MR_4	104
Tabela IV.2.1.1 – Tabela de intercorrelação entre os parâmetros físico-químicos para os compostos da série I	104
Figura IV.2.1.1 – Esquema explicativo de formação do produto secundário obtido na rota B	106
Tabela IV.3.1.1 – Valores do coeficiente de partição obtido pelo método <i>shake-flask</i> , log P calculado e as constantes de hidrofobicidade	110
Figura IV.3.1.1 – Correlação obtida entre os valores de $\log P_{app}^{7,40}$ em função de π para a série I	112
Tabela IV.3.2.1 – Valores dos parâmetros eletrônicos σ_p , $\mathfrak{I}$, $\mathfrak{R}$ e $\delta^{13}_{C=O}$ para os compostos da série I	114
Figura IV.3.2.1 – Correlação obtida entre os valores de σ_p em função de $\delta^{13}_{C=O}$ para os compostos da série I	116
Tabela IV.3.3.1 – Valores de MR_4 retirados da literatura para os os compostos da série I	118
Tabela IV.4.2.1 – Valores de pIC_{50} e dos respectivos parâmetros físico-químicos/estruturais para os compostos da série I	121
Figura IV.4.2.1 – Estrutura da piridostigmina	122
Figura IV.4.2.2 -- Estrutura da procainamida	123
Figura IV.4.2.3 – Estrutura da bupivacaína	123
Tabela IV.2.2 – Matriz de intercorrelação entre as variáveis independentes para os compostos da série	124
Figura IV.4.3.1 – Gráfico e equação obtidos da correlação entre os valores de pIC_{50} experimentais e preditos pelo modelo	129

I – Introdução

Neste trabalho foi desenvolvido um estudo de *QSAR* para uma série de brometos de [2-(4-X-benzamido)etil]benzildimetilamônio atuando como bloqueadores neuromusculares, ou seja, antagonistas não competitivos de receptores nicotínicos musculares, assim, torna-se importante apresentar alguns fundamentos básicos do sistema colinérgico, do qual os receptores nicotínicos fazem parte.

I.1 – Alguns aspectos sobre o sistema colinérgico

O sistema nervoso autônomo se divide em sistema nervoso parassimpático e simpático de acordo com os neurotransmissores que medeiam os impulsos nervosos. Ao nível de sistema parassimpático, a acetilcolina é o neurotransmissor que atua nos neurônios colinérgicos; a norepinefrina é o principal neurotransmissor que atua nos neurônios adrenérgicos. A acetilcolina é liberada por neurônios pré-ganglionares no sistema nervoso autônomo, por todos os neurônios do sistema parassimpático pós-ganglionares, por alguns neurônios pós-ganglionares do sistema simpático, em todas as junções neuromusculares somáticas e por alguns neurônios do sistema nervoso central [Taylor *et al.*, 1993; Lattin, 1995; Hardman *et al.*, 1996].

Figura I.1.1 - Estrutura da acetilcolina.

O sistema nervoso parassimpático inerva tanto músculos lisos como o músculo cardíaco e algumas glândulas exócrinas. Impulsos nervosos do sistema parassimpático são responsáveis pelo estímulo de contração dos músculos lisos do trato gastrointestinal, do trato urinário e dos olhos, no entanto, estes impulsos

nervosos diminuem a frequência cardíaca [Taylor *et al.*, 1993; Lattin, 1995; Hardman *et al.*, 1996].

Para explicar as diferentes respostas fisiológicas produzidas pela acetilcolina, foi introduzido o conceito de receptores muscarínicos e nicotínicos. Receptores muscarínicos foram nomeados pela afinidade à muscarina, um clássico agonista colinérgico; e os receptores nicotínicos, foram nomeados pela afinidade a nicotina, também, um clássico agonista colinérgico. Receptores muscarínicos medeiam respostas em todos os terminais nervosos pós-ganglionares e em membranas dos neurônios ganglionares autônomos. Por outro lado, receptores nicotínicos medeiam respostas nas membranas nervosas pré-sinápticas no sistema autônomo, nos gânglios autônomos e nas junções neuromusculares somáticas [Taylor *et al.*, 1993; Lattin, 1995].

I.1.1 - Receptores nicotínicos

Receptores nicotínicos da acetilcolina pertencem a um grupo de receptores classificados como receptores/canais iônicos ativados pelo neurotransmissor (*ligand-gated*). O receptor individualiza um canal iônico transmembrânico e a acetilcolina funciona como um mantenedor do canal aberto, interagindo com o sítio de reconhecimento colinérgico no receptor, modulando a passagem de íons como K^+ e Na^+ , principalmente [Arias, 1997, 1998].

Figura I.1.1.1 – Diagrama terciário da organização das sub-unidades do receptor nicotínico da acetilcolina. Cada sub-unidade inclui: 1) uma longa região extracelular hidrofílica, N-término extracelular, ligada a oligossacarídeos (Y); 2) quatro domínios altamente hidrofóbicos (M1, M2, M3 e M4); 3) segmento hidrofílico maior voltado para o citoplasma, possuindo vários sítios de fosforilação (P) [Arias, 1997, 1998].

Os receptores nicotínicos do tecido muscular são glicoproteínas que consistem de quatro sub-unidades distintas: α, β, δ e γ (na fase embrionária) ou α, β, δ e ϵ (na fase adulta). Estas quatro sub-unidades se arranjam numa forma pentamérica de duas sub-unidades α e uma combinação de cada sub-unidade β, δ e γ , sendo abreviada $\alpha_2\beta\delta\gamma$ [Taylor *et al.*, 1993; Hardman *et al.*, 1996; Arias, 1997, 1998; Rosini *et al.*, 1999; Bixel, 2000, 2001].

Figura I.1.1.2 – Modelo proposto para o receptor nicotínico da acetilcolina de tecido muscular [Taylor *et al.*, 1993; Hardman *et al.*, 1996; Arias, 1997, 1998; Rosini *et al.*, 1999; Bixel, 2000, 2001].

Resultados de experimentos de biologia molecular indicam que existe uma heterogeneidade na combinação das sub-unidades que compõem o receptor nicotínico. Concordante é o fato de que receptores nicotínicos no sistema nervoso central, aparentemente, são compostos somente pela combinação de sub-unidades α e β [Taylor *et al.*, 1993; Arias, 1997, 1998].

I.1.1 - Propriedades funcionais de receptores nicotínicos da acetilcolina [Taylor *et al.*, 1993; Lattin, 1995]

A acetilcolina é sintetizada nos neurônios colinérgicos pela transferência de um grupo acetila da acetil **coenzima A** (Acetil CoA) à colina e, é por transporte ativo levada para dentro de vesículas citosólicas de armazenamento nas terminações de nervos pré-sinápticos, onde são mantidas até serem liberadas.

A liberação da acetilcolina das vesículas de armazenamento é iniciada por um **potencial de ação** que é transmitido através do axônio até a membrana pré-

sináptica. Este potencial leva à abertura de um canal de cálcio voltagem-dependente produzindo um influxo de Ca^{2+} . O aumento da concentração de cálcio no meio intracelular induz a fusão das vesículas de armazenamento de acetilcolina com a membrana pré-sináptica e, a exocitose da acetilcolina na fenda sináptica [Taylor *et al.*, 1993; Lattin, 1995].

Uma vez liberada, a acetilcolina se liga ao receptor nicotínico fazendo com que o canal iônico acoplado se abra, permitindo o fluxo de íons através da membrana. Ao se abrir o canal, ocorre fluxo de K^+ para o meio extracelular e fluxo de Na^+ para o meio intracelular de acordo com o gradiente de concentração, pois o compartimento citoplasmático tem alta concentração de K^+ e o meio extracelular alta concentração de Na^+ . Esta variação de concentração de íons causa uma despolarização da membrana (**potencial de ação**) que provoca uma **resposta fisiológica específica**. Por exemplo, quando este potencial de ação se origina nas células do tecido muscular, a sua propagação ocorre da placa terminal para os dois extremos da fibra muscular, desencadeando a contração. Inicialmente, durante esta propagação do potencial de ação a liberação de Ca^+ do retículo sarcoplasmático é estimulada, possibilitando a ativação de quinases que induzem o deslizamento das miofibrilas e finalmente a contração [Taylor *et al.*, 1993; Lattin, 1995].

Concomitantemente, as moléculas de acetilcolina são hidrolisadas pela acetilcolinesterase, enzima responsável pela inativação da acetilcolina, formando ácido acético e colina, com atividade 100000 vezes menor que a do mediador.

I.1.2 - Compostos com ação bloqueadora neuromuscular (antagonistas de receptores nicotínicos musculares)

Compostos que apresentam ação bloqueadora neuromuscular causam a interrupção da transmissão do impulso nervoso na junção neuromuscular esquelética. Eles são usados clinicamente na anestesia para produzir relaxamento muscular, necessária em procedimentos cirúrgicos [Wess *et al.*, 1990; Taylor *et al.*, 1993; Verma, *et al.*, 1994]. Desde a década de 40 mais de cinquenta

compostos com ação bloqueadora neuromuscular foram incluídos na clínica, no entanto, poucos deles permanecem em uso [Souccar *et al.*, 1999]. Depois da elucidação da estrutura dos colinoreceptores nicotínicos musculares [Arias, 1998; Souccar *et al.*, 1999] o estudo farmacológico de compostos bloqueadores da transmissão neuromuscular está focalizado na investigação de seus mecanismos moleculares de interação com os sítios de ligação nas subunidades do receptor [Aronstam *et al.*, 1981; Ikeda *et al.*, 1984; Bixel, 2000, 2001]. Neste sentido, torna-se relevante a procura e o entendimento das naturezas e a contribuição das propriedades físico-químicas e estruturais destes compostos para a atividade bloqueadora neuromuscular.

A ação bloqueadora da transmissão neuromuscular ocorre através de mecanismos competitivo ou não-competitivo.

I.1.2.1 – Bloqueadores competitivos de receptores nicotínicos da acetilcolina

A *d*-tubocurarina (**Figura I.1.2.1.1**), um curare, foi o primeiro composto conhecido com atividade bloqueadora da transmissão neuromuscular. É um composto de origem natural, extraído de uma planta nativa da região amazônica (*Chondodendron tomentosum*), sendo utilizada pelos nativos daquela região como veneno de suas flechas, usadas para caça e pesca [Wess *et al.*, 1990;; Taylor *et al.*, 1993; Lattin, 1995].

Para o estereoisômero *l*-tubocurarina foi observado que este é de 20 a 60 vezes menos ativo que o isômero *d*-tubocurarina, de ocorrência natural [Stenlake, 1963; Wess *et al.*, 1990]. Desta forma, a estereoquímica da tubocurarina parece ser importante para a inibição competitiva dos receptores nicotínicos da acetilcolina.

Figura I.1.2.1.1 – Estrutura da *d*-tubocurarina [Wess *et al.*, 1990].

O iodeto de metocurina, análogo da *d*-tubocurarina, um composto *bis*-quaternário obtido pela introdução de mais um grupamento catiônico, contendo átomo de nitrogênio quaternário, através da reação da *d*-tubocurarina com iodeto de metila. Para este composto, foi observado que a introdução de mais um grupamento catiônico apresentou potência bloqueadora neuromuscular quatro vezes maior do que a apresentada pela *d*-tubocurarina [Wess *et al.*, 1990; Taylor *et al.*, 1993; Lattin, 1995].

Alguns compostos, como por exemplo, pancurônio, succinilcolina, vecurônio e atracurônio possuindo dois nitrogênios quaternários apresentam atividade bloqueadora da transmissão neuromuscular e, assim como a *d*-tubocurarina são bastante utilizados na clínica [; Wess *et al.*, 1990; Lattin, 1995; Hardman *et al.*, 1996].

iodeto de metocurina

cloreto de succinilcolina

brometo de pancurônio

brometo de vecurônio

besilato de atracurônio

Figura I.1.2.1.2 - Estruturas dos compostos com ação bloqueadora da transmissão neuromuscular, bastante utilizados na clínica [Wess *et al.*, 1990; Lattin, 1995].

I.1.2.2 - Inibidores não-competitivos de receptores nicotínicos da acetilcolina

Inibidores não-competitivos de receptores nicotínicos da acetilcolina (*NCI's – non-competitive inhibitors*) compreendem uma grande variedade de compostos estruturalmente diferentes [Wess *et al.*, 1990; Arias, 1997, 1998].

I.1.2.2.1 - Propriedades farmacológicas de compostos inibidores não-competitivos de receptores nicotínicos da acetilcolina.

Do ponto de vista farmacológico, inibidores não-competitivos exercem sua ação bloqueadora no canal iônico sem alteração na ligação agonista, reduzindo, porém, o tempo de abertura do canal iônico. No entanto, o mecanismo de inibição do canal ainda é discutível [Arias, 1997, 1998]. Evidências experimentais suportam a idéia de bloqueio do canal por um mecanismo estérico, no qual o composto entra na luz do canal obstruindo-o. Para que o agente inibidor acesse o lúmen, o canal deve estar aberto, portanto, há a necessidade de ativação prévia do receptor [Arias, 1997, 1998; Bixel *et al.*, 2000, 2001].

Há, também, evidências que suportam a proposta de um mecanismo de ação alostérico. Neste caso, é proposto que o inibidor se liga a um sítio específico, não necessariamente no lúmen do canal. A interação entre o inibidor e o receptor induz uma mudança de conformação no receptor nicotínico, fechando o canal, ou impedindo a sua ativação e, conseqüentemente, inibindo o fluxo de íons pelo canal [Bouzat *et al.*, 1996; Arias, 1997, 1998; Steinbach *et al.*, 2000].

Tomando-se por base estudos de eletrofisiologia, nos quais inibidores não-competitivos de receptores da acetilcolina podem ser discriminados segundo a dependência ou não-dependência do potencial de membrana. Alguns inibidores não-competitivos apresentam dependência com o potencial de membrana, assim, tem sido considerada uma evidência de um mecanismo de bloqueio com o canal aberto [Arias, 1997, 1998].

Dentre os inibidores sensíveis à voltagem podem ser citados: alguns compostos com atividade anestésica local [Tiedt *et al.*, 1979; Ikeda *et al.*, 1987], amantadina [Warnick *et al.*, 1982] (antiviral), HTX [Aronstam *et al.*, 1981] (histrionicotoxina, toxina obtida de uma espécie de rã natural da Colômbia), quinacrina, efedrina, hexametônio, decametônio e etídio. No entanto, fenciclidina, clorpromazina, benzocaína, e ciclotiazida são exemplos de inibidores não-competitivos não-sensíveis a voltagem e, portanto, bloqueadores do canal em sua conformação fechada [Arias, 1997, 1998].

Quinacrina

Clorpromazina

Decametônio

Hexametônio

Amantadina

Benzocaína

QX-222

Etídio

Figura I.1.2.2.1.1 – Estrutura de alguns inibidores não competitivos do receptor nicotínico da acetilcolina [Warnick *et al.*, 1982; Arias, 1997, 1998].

I.1.2.2.2 - Relação estrutura atividade de compostos inibidores não-competitivos de colinoreceptores nicotínicos

De uma forma geral, a presença de um grupo catiônico parece ser uma característica estrutural necessária para a inibição não-competitiva dos receptores nicotínicos. Várias aminas não quaternárias que se encontram em grande parte ionizada em pH fisiológico, como por exemplo, quinina, nicotina e derivados da eritroidina bloqueiam receptores nicotínicos da acetilcolina na junção neuromuscular [Wess *et al.*, 1990; Hardman *et al.*, 1993]. No entanto, os seus respectivos análogos, sais quaternários de amônio, apresentam-se mais potentes [Ikeda *et al.*, 1984; Wess *et al.*, 1990]. Neste sentido, Ikeda e colaboradores [Ikeda *et al.*, 1984] em um de seus trabalhos, no qual tinham como objetivo estudar as interações da bupivacaína (**Figura I.1.2.2.2.1**), anestésico local, com canais iônicos do receptor nicotínico, observaram que a introdução de grupo metila na cadeia lateral da bupivacaína, levando à formação do grupamento contendo um átomo de nitrogênio quaternário catiônico, proporciona um aumento na potência inibitória, avaliada em preparações de músculo sartório-nervo ciático de rãs.

Figura I.1.2.2.2.1 – Estrutura da bupivacaína.

Adicionalmente, a densidade de carga no grupo catiônico, também exerce influência na potência de bloqueio dos receptores nicotínicos. Em uma série análoga de amônio, de sulfônio, de fosfônio e de arsônio, a potência antagonista nos receptores nicotínicos neuromusculares decresce em paralelo com o decréscimo da densidade de carga do grupo catiônico [Stenlake, 1979, 1981; Wess *et al.*, 1990]. Bamford, e colaboradores [Bamford *et al.*, 1970] estudando análogos do decametônio (clássico agente bloqueador neuromuscular),

observaram que a substituição do grupo amônio por grupos sulfônio e sulfoxônio causou um decréscimo de atividade de bloqueio da transmissão neuromuscular em relação à atividade do decametônio, avaliada em preparações nervo ciático-músculo tibial de gatos, apresentados na tabela I.1.2.2.2.1.

Tabela I.1.2.2.2.1 – Resultados obtidos por Bamford [Bamford *et al.*, 1970] para uma série de sulfônio, sulfoxônio análogos do decametônio.

Composto	R	ED ₅₀ mg/Kg
Decametônio	-N ⁺ (CH ₃) ₃ , I ⁻	0,008
IIf	-S(=O)CH ₃	>7,0
Ilg	-S(=O)C ₂ H ₅	>10,0
IIh	-S ⁺ (=O)CH ₃ , Ts ⁻ (a)	1,1
IIi	-S ⁺ (CH ₃)C ₂ H ₅ , I ⁻	0,55

(a) Ts⁻ = *p*-toluenosulfonato

Não menos importante, a lipofilicidade também exerce influência sobre a atividade bloqueadora neuromusculares. Segundo Stenlake [Stenlake, 1979, 1992, 1993] a potência de agentes bloqueadores neuromusculares é aumentada quando substituintes lipofílicos estão próximos ou diretamente ligados no grupo amônio. Recentemente, Bixel e colaboradores [Bixel *et al.*, 2000] estudaram a relação entre a estrutura e atividade e o sítio de ligação de uma série de 14 poliaminas análogas da philantoxina atuando como inibidores não competitivos dos receptores nicotínicos da acetilcolina, avaliados pelas constantes de ligação dos compostos com o receptor nicotínico. Neste trabalho, os autores puderam observar que aumentando o tamanho da cabeça hidrofóbica, introduzindo grupos aromáticos volumosos ocorria um aumento da afinidade pelo receptor quando comparada com a philantoxina. Desta forma, os autores explicaram estes resultados, assumindo que a hidrofobicidade da cabeça hidrofóbica é uma característica estrutural importante para a excepcional afinidade pelo receptor nicotínico. Neste trabalho, no entanto, a lipofilicidade não foi determinada ou

mesmo calculada. Além disso, os autores puderam propôr que estes compostos exercem a atividade de inibição pelo mecanismo estérico, pois foi sugerido que tanto a philantoxina como as poliaminas entram no canal iônico do receptor vindos do meio extracelular, as cabeças hidrofóbicas se ligam ao sítio de alta afinidade enquanto que as cadeias laterais contendo carga positiva provavelmente interagem com as cadeias laterais de aminoácidos carregados negativamente projetados para o lúmen do canal.

Outros fatores como ligação de van der Waals e fatores estéricos também são propostos como importantes para a interação do antagonista ao receptor [Stenlake, 1981; Wess *et al.*, 1990].

I.2 – Relação Quantitativa entre a Estrutura Química e a Atividade Biológica (QSAR).

Durante décadas a descoberta de compostos com atividade biológica foi a partir de produtos naturais (ex. morfina, curare, cocaína), metabólitos secundários de microorganismos (ex. penicilina, tetrodoxina). Não muito raro, no entanto, encontram-se compostos com atividade biológica descobertos ao acaso “baseado” na sorte/intuição/dedicação (ex. penicilina, sacarina). Posteriormente, estes compostos foram modificados de forma mais ou menos sistemática para se obter compostos com melhor atividade biológica, ou seja, maior seletividade, maior biodisponibilidade, maior estabilidade ou menor toxicidade e menos efeitos colaterais [Pires, 1998].

Atualmente, novas abordagens metodológicas associadas às novas tecnologias e à necessidade de reavaliar os custos para se introduzir um novo fármaco/medicamento no mercado, foram introduzidas. Entre elas pode-se citar: *High throughput screening (HTS)*, Química combinatória, Cristalografia de proteínas, técnicas multidimensionais em RMN, Relação Quantitativa entre Estrutura Química e a Atividade Biológica (QSAR), Relação Quantitativa entre Estrutura Química e a Atividade Biológica em três dimensões (QSAR/3D) e modelagem molecular [Pires, 1998].

I.2.1 - Interações entre uma substância química e um receptor biológico

Atividade biológica de um composto é resultado da(s) interação(ões) deste composto com o sistema biológico [Andrews *et al.* , 1984, 1990; Tute, 1990].

As interações que ocorrem entre um composto e o sistema biológico são de natureza química e, em geral, são de caráter não covalente. As interações envolvendo ligações covalentes apresentam energia de formação alta, sendo irreversíveis e, portanto, não são importantes para a maioria dos fármacos de interesse terapêutico, exceto para composto que apresentam atividade anticancerígena (ex. agentes alquilantes [Tute, 1990; Pires, 1998; Dimmock *et al.*

1998; Hansch *et al.* 2001]), compostos que inibem de forma irreversível a acetilcolinesterase (ex. inseticidas organofosforados [Lattin, 1995]) e, composto, intercalantes no *DNA* (ex. melfalam [Pires, 1998]).

Na Tabela I.2.1.1 estão apresentados os vários tipos de interações envolvidas entre um composto (ligante)-receptor, assim como suas respectivas atribuições de energia.

Tabela I.2.1.1 – Principais tipos de interações entre um composto e o sistema biológico, um exemplo e as respectivas faixas de energias envolvidas.

INTERAÇÃO			INTERAÇÃO		
Tipo	Energia (KJ/mol)	Exemplo	Tipo	Energia (KJ/mol)	Exemplo
covalente	170-600	$\text{CH}_3\text{—OH}$	lig. de hidrogênio	4-17	$\text{ROH}\cdots\text{O}=\text{C}(\text{CH}_3)_2$
Iônica	40		transf. de carga	4-17	$\text{—OH}\cdots\text{C}(\text{CH}_3)_2$
íon-dipolo	4-17	$\text{R}_4\text{N}^+\cdots\text{O}(\text{H})_2$	Hidrofóbica	4
dipolo-dipolo	4-17	$\text{O}=\text{C}(\text{CH}_3)_2\cdots\text{O}=\text{C}(\text{CH}_3)_2$	van der Waals	2-4

A intensidade da interação entre um composto (ligante) com o sistema biológico, na formação do complexo (composto-receptor), depende das complementaridades estérica e eletrostática destes [Seydel *et al.* , 1979].

A variação de energia livre (ΔG) associada à formação de um complexo composto (ligante)-receptor (C-R) é a somatória das variações de energia livre associada às interações de naturezas eletrostática, polar, não polar e hidrofóbica que ocorrem entre as moléculas do composto (ligante).

Na figura I.2.1.1 estão apresentados esquematicamente os fatores energéticos envolvidos na interação C-R bem como a decomposição da variação de energia livre associada à interação composto (ligante)-receptor em fatores entálpicos e entrópicos.

Figura I.2.1.1 – Balanço energético da(s) interação(ões) composto-receptor: fatores entálpicos e entrópicos envolvidos. [Andrews *et al.* , 1984, 1990; Pires, 1998; Kubinyi, 1993].

Quando ocorre a formação do complexo composto (ligante)-receptor, as moléculas de água de solvatação das superfícies de interação sofrem dessolvatação, passando para um estado favorável devido à entropia.

Na figura I.2.1.1, os termos ΔH_{C-A} e ΔH_{R-A} são as entalpias respectivamente de solvatação do composto e do receptor, energia que precisa ser fornecida para a dessolvatação; ΔS_{Rt} é a energia que precisa ser fornecida devido à diminuição da entropia do sistema pela diminuição de graus de liberdade de

rotação e de translação do ligante; ΔS_{int} é a energia que precisa ser fornecida devido à diminuição de flexibilidade conformacional; $\Delta H_{\text{C-R}}$ é a energia liberada das complementaridades estéricas e eletrostática do ligante e do receptor; ΔS_A é a energia liberada pelo aumento de entropia das moléculas de água que deixam de estar organizadas ao redor das superfícies de contato do ligante e receptor; ΔS_{vib} é a entropia residual de vibração do complexo composto-receptor. As interações eletrostáticas e polares entre o ligante e o solvente estão contidas no termo $\Delta H_{\text{C-A}}$, que é uma quantidade de energia que precisa ser fornecida para separar as moléculas de água do ligante. Da mesma forma, as interações eletrostáticas e polares entre a água e o receptor compõem o termo $\Delta H_{\text{R-A}}$. O termo $\Delta H_{\text{C-R}}$ contém as energias relativas às interações eletrostáticas, polares e não polares entre o ligante e o receptor enquanto que o termo ΔS_A se refere às interações hidrofóbicas, aumentando a entropia da água por ocasião da formação do complexo composto-receptor. A variação de energia livre que ocorre na formação do complexo composto-receptor é a soma de todos estes fatores apontados acrescida de mais dois termos: ΔS_{R} que é devido a diminuição da entropia do ligante, por perda das liberdades de rotação e de translação e ΔS_{int} que é a perda entrópica relativa ao ligante, devido à perda da liberdade conformacional por ocasião da formação do complexo. Estes dois últimos termos entrópicos se convertem apenas em uma entropia residual vibracional no complexo composto-receptor ΔS_{vib} ” [Pires, 1998].

Em 1964, C. Hansch e T. Fujita [Hansch *et al.* , 1964, 1995; Fujita 1990] desenvolveram um modelo matemático que correlaciona a atividade biológica com propriedades físico-químicas das moléculas.

Este modelo é expresso através de uma equação, desde que as propriedades físico-químicas determinantes da resposta biológica sejam expressas por parâmetros adequados [Fujita 1990; Hansch *et al.* 1995].

$$\log 1/[C] = a(\log P)^2 + b(\log P) + c(\sigma) + d(E_s) + \dots + \text{Constante}$$

$\log 1/[C]$ = atividade biológica ou resposta biológica.

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

$\log P$, σ , E_s , são parâmetros físico-químicos que expressam as interações envolvidas (hidrofóbicas, eletrônicas e estéricas, respectivamente) na resposta biológica medida.

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

Constante é o coeficiente linear da função matemática envolvida na resposta biológica.

Os fatores eletrônicos [Tute, 1971; Sousa, 1997; Amaral 1997] são responsáveis basicamente pelas interações de natureza polar que se estabelecem entre o composto e o sistema biológico. Os fatores de hidrofóbicos, ou lipofílicos, regulam o transporte do fármaco através dos tecidos biológicos além das próprias interações hidrofóbicas entre composto-receptor, enquanto o fator estérico está relacionado basicamente com o ajuste tridimensional do composto com o sistema biológico.

1.2.2 – Parâmetros lipofílicos

O sucesso no desenvolvimento de novos fármacos requer não apenas estudos de otimização das interações ligante-receptor, mas também é preciso que o fármaco atinja seu alvo [van der Waterbeemd, 1995]. Assim, por não apresentarem a biodisponibilidade adequada, muitos compostos candidatos a fármacos que são bastante ativos *in vitro*, apresentam-se inativos *in vivo*. Assim recomenda-se [Kubinyi, 1998] considerar parâmetros ADME (absorção, distribuição, metabolismo e excreção) já no início do planejamento, ou seja, já na fase de otimização da estrutura fundamental. Por outro lado, sabe-se que a distribuição de um composto tem relação direta com sua lipofilicidade. Além disso, a lipofilicidade também fornece informações de possíveis interações

hidrofóbicas entre um composto e o sistema biológico. A lipofilicidade de um composto pode ser expressa por seu coeficiente de partição.

I.2.2.1 – Coeficiente de partição

O coeficiente de partição de um determinado composto é definido como sendo a razão entre as concentrações que se estabelecem em condições de equilíbrio de uma determinada espécie química, quando dissolvida em um sistema constituído por uma fase orgânica e uma fase aquosa [Dearden *et al.* , 1988; Kubinyi, 1993]. Como se trata de um equilíbrio termodinâmico, está associado à variação de energia livre do sistema [Dearden *et al.* , 1988; Kubinyi, 1993].

$$P = [A_{(orgânica)}] / [A_{(aquosa)}] \quad \text{eq. I.2.2.1.1}$$

Onde:

P é o coeficiente de partição do composto A.

$[A_{(orgânica)}]$ é a concentração do composto A na fase orgânica, em condições de equilíbrio.

$[A_{(aquosa)}]$ é a concentração do composto A na fase aquosa, em condições de equilíbrio.

Pela definição, valores positivos de $\log P$ refletem uma maior preferência pela fase orgânica enquanto que valores negativos de $\log P$ refletem uma preferência pela fase aquosa [Kubinyi, 1993; Hansch *et al.* , 1995].

Vários estudos de *QSAR* mostram que o coeficiente de partição é uma das propriedades físico-químicas mais utilizadas [Dearden *et al.* , 1988; Kubinyi, 1993]. Vários tipos de solventes têm sido estudados [Collander, 1950; Malvezzi *et al.*, 2000; Gonçalves *et al.* , 2001], mas o *n*-octanol é o solvente que tem demonstrado mais adequado para uso em *QSAR*.

A utilização do sistema *n*-octanol-água para a determinação do coeficiente de partição apresenta muitas vantagens que podem ser citadas [Kubinyi, 1993; Hansch *et al.* , 1995]:

- 1 – é o solvente que apresenta grande semelhança com a estrutura da membrana celular.
- 2 – possui grande capacidade de dissolução de diferentes compostos.
- 3 – não é volátil à temperatura ambiente.
- 4 – baixa absorção na região do UV.
- 5 – quimicamente estável.
- 6 – disponível comercialmente.
- 7 – A solubilidade de água em *n*-octanol é de aproximadamente 4/1, ou seja, 4 moléculas de *n*-octanol para 1 molécula de água.

Devido ao *n*-octanol possuir a capacidade de dissolver água e apresentar um grupo hidroxila, que pode agir como doador e/ou aceitor de ligações de hidrogênio, as ligações de hidrogênio de uma molécula solvatada não precisam ser rompidas durante sua transferência da fase orgânica para a fase aquosa, fazendo com que se expresse apenas as interações hidrofóbicas.

O uso de um único sistema de partição de compostos com atividade biológica é justificado pela equação de Collander que relaciona o coeficiente de partição de diferentes sistemas de solventes como, por exemplo, heptano, éter dibutílico, clorofórmio, etc com o coeficiente de partição do sistema *n*-octanol-água, conforme mostra a equação I.2.2.1.2.

$$\log P_2 = a \log P_1 + c \quad \text{eq. I.2.2.1.2}$$

Para medir a capacidade de formação de ligação de hidrogênio de grupos funcionais de um determinado soluto foi introduzido por Seiler o termo $\Delta \log P$, definido a partir da diferença entre os valores de $\log P_{\text{oct}}$ e de $\log P_{\text{alcano}}$. Os valores do coeficiente de partição em alcanos podem ser obtidos utilizando-se

cicloexano, *n*-heptano, *n*-decaoctano. Na literatura [Kubinyi, 1993], tem-se encontrado relatos da existência de correlação entre $\Delta \log P$ e a penetração de compostos com atividade H_2 -antihistamínicos na barreira hemato-encefálica, expressa pela equação.

$$\log (C_{\text{cérebro}}/C_{\text{sangue}}) = -0,604 (\pm 0,17) \Delta \log P + 1,23 (\pm 0,56) \quad \text{eq.I.2.2.1.3}$$

$n = 6; r = 0,980; s = 0,249; F = 98,0$

Adicionalmente, Abraham e colaboradores [Abraham *et al.* , 1994] fizeram um estudo, onde os autores utilizaram as mesmas metodologias previamente descritas por Kamlet e Testa, desmembrando $\Delta \log P$ em propriedades moleculares conforme a equação I.2.2.1.4

$$\log SP = c + rR_2 + s\pi_2^H + a\alpha_2^H + b\beta_2^H + vV_x \quad \text{eq. I.2.2.1.4}$$

onde:

SP é qualquer propriedade da série de solutos

R_2 é um excesso de refatividade molar do soluto

π_2^H é a polarizabilidade do soluto

α_2^H é a acidez da ligação de hidrogênio do soluto

β_2^H é a basicidade da ligação de hidrogênio do soluto

V_x é o volume molecular

Neste trabalho, os autores observaram que os fatores que mais influenciam os valores de $\log P_{\text{oct}}$ são a polarizabilidade e a basicidade da ligação de hidrogênio do soluto, favorecendo a partição para a água enquanto o tamanho do soluto, favorecendo a partição para o *n*-octanol, conforme apresentado na equação I.2.2.1.5

$$\log P_{oct} = 0,047 + 0,583R_2 - 1,104\pi_2^H - 0,059\alpha_2^H - 3,478\beta_2^H + 3,890V_x \quad \text{eq. I.2.2.1.5.}$$

$n = 288; r = 0,9950; s = 0,125; F = 5571,8$

Dentre os vários métodos de determinação do coeficiente de partição, o método *shake-flask* [Dearden *et al.* , 1988; Kubinyi, 1993; Hansch *et al.* , 1995; Amaral *et al.* , 1997; Malvezzi *et al.* , 2000; Pires *et al.* , 2001] é muito utilizado em *QSAR*, por se tratar de um método de determinação direta. Este método se baseia na dissolução de um composto em um sistema bifásico, formado por um solvente polar (água, solução tampão) e outro apolar (*n*-octanol, CHCl_3 , *n*-heptano, cicloexano, etc.) [Gonçalves *et al.* , 2001]. Embora seja um método simples, alguns cuidados devem ser tomados, pois fatores como a temperatura, tempo para atingir o equilíbrio, concentração, pureza do soluto e a relação de volumes entre as fases e a natureza do tampão exercem grande influência nos valores de coeficiente de partição [Dearden, 1988].

O coeficiente de partição pode também ser determinado através de métodos cromatográficos, neste caso, tratando-se de uma determinação indireta. Ou seja, parâmetros cromatográficos são indiretamente correlacionados com o coeficiente de partição, $\log P$. Dentre os métodos cromatográficos pode-se utilizar cromatografia líquida de alta eficiência (*HPLC*) ou cromatografia de camada delgada (*TLC*) [Kubinyi, 1993; Hansch *et al.* , 1995; van der Waterbeemd *et al.* , 1995; Amaral *et al.* , 1997; Raminelli *et al.* , 2000; Rando *et al.* , 2001]. Por *HPLC*, inicialmente, determina-se o tempo de retenção de cada composto e posterior cálculo de k' (fator capacidade). O fator capacidade pode ser determinado pela equação:

$$k' = (t_r - t_0) / t_0 \quad \text{eq. I.2.2.1.6}$$

Onde:

k' é denominado fator capacidade.

t_r é o tempo de retenção, relativo ao composto.

t_0 é tempo de eluição do solvente ou de um composto que não deve ter nenhuma interação com o sistema cromatográfico também chamado de tempo morto.

A determinação de valores de $\log P$ a partir de parâmetros cromatográficos, como k' , é feita inicialmente através da construção de uma curva de padronização do sistema cromatográfico. A curva é obtida através dos valores de k' de compostos padrões, cujos valores de $\log P$ já são conhecidos e tabelados. Feita a curva de padronização, determina-se os valores do tempo de retenção do composto a ser analisado e calcula-se o valor de k' . A partir da curva de padronização determina-se o valor de $\log P$ correspondente ao valor de k' calculado. O valor do coeficiente angular da equação para a curva de calibração do sistema cromatográfico deve ser próximo da unidade, para que os valores de k' obtidos reflitam uma medida da lipofilicidade.

Para a determinação dos valores de $\log P_{HPLC}$ tem-se, geralmente, empregado uma fase estacionária que tenha as mesmas propriedades do *n*-octanol [Terada, 1986]. Alguns tipos de fases estacionárias utilizadas estão apresentadas na tabela I.2.2.1.1.

Tabela I.2.2.1.1 – Alguns tipos de fases estacionárias utilizadas para obtenção do valor do coeficiente de partição obtido por *HPLC*.

Material de empacotamento	Abreviatura
Octadecilsilano	ODS (RP-18)
Octilsilano	OS (RP-8)
Poetileno	PE
Copolímero de octadecil polivinilalcool	ODP
Copolímero de estireno-divinilbenzeno	PS-DVB
Membranas artificiais imobilizadas	IAM

Para a determinação dos valores de $\log k'$ relacionados a $\log P_{\text{oct}}$ tem-se sugerido formar um “filme” de *n*-octanol na fase estacionária, sendo que a mais comumente utilizada são as colunas empacotadas com octadecilsilano (ODS) [van der Waterbeemd *et al.* , 1995]. No entanto, El Tayar e colaboradores [El Tayar *et al.* , 1988] observaram que as colunas de ODS não são ideais, pois elas contêm uma alta proporção de grupos silanóis ácidos ($\text{pK}_a = 6,8 \pm 0,2$), encontrando-se dificuldades para a obtenção de valores de $\log P$ de compostos susceptíveis à formação de ligação de hidrogênio. Assim, os autores recomendam utilizar agentes mascaradores como, por exemplo, N,N-dimetiloctamina. Atualmente, pode-se empregar colunas já com grupos silóis protegidos.

Por outro lado, a fase móvel e o tamanho da coluna também exercem influência sobre os valores de t_r (tempo de retenção) e, conseqüentemente, nos valores de k' , portanto, devem ser considerados [Terada, 1986; van der Waterbeemd *et al.* , 1995].

Segundo Terada [Terada, 1986], em cromatografia líquida, a fase móvel consiste de uma mistura de uma solução aquosa (tampão) com solventes como, por exemplo, metanol, acetonitrila e THF.

Em nosso grupo de estudos de *QSAR* [Amaral *et al.* , 1997], no entanto, tem-se utilizado somente solução aquosa (tampão) como fase móvel para a determinação dos valores de coeficiente partição por *HPLC*, para compostos que não são muito lipofílicos ($\log P_{\text{app}} = 2,89$). Desta forma, não se tem a necessidade de considerar a influência de solventes orgânicos nos valores de k' , que diminuem com o aumento da concentração de solvente. Por outro lado, para compostos mais lipofílicos ($\log P = 3,86$) a utilização de fase móvel composta de metanol/solução tampão 50% (v/v) foi necessária para a diminuição do tempo de retenção na coluna, tornando a análise factível nas condições experimentais [Pires, 1998, 2001].

Alternativamente, para compostos muito lipofílicos, por exemplo, $\log P = 3,86$, pode-se optar pela utilização de uma coluna menor, por exemplo, coluna de 2 a 10 cm, ao invés de se utilizar colunas de tamanho mais usados, por exemplo, coluna de 25 a 15 cm [van der Waterbeemd *et al.* , 1995].

A obtenção de valores de log P por *HPLC* não exige que se trabalhe com solutos puros além de ser um método considerado de grande eficiência e reprodutível. Uma das desvantagens deste método, no entanto, é a medida indireta do valor de coeficiente de partição [van der Waterbeemd *et al.* , 1995].

1.2.2.2 – Parâmetro π de Hansch-Fujita

Analogamente a Hammett, C. Hansch e T. Fujita [Hansch *et al.* , 1964] definiram o parâmetro π , que representa a contribuição hidrofóbica de um determinado substituinte. Este parâmetro foi definido como a relação entre o logaritmo do coeficiente de partição do composto substituído e o logaritmo do coeficiente de partição de seu análogo não-substituído, sendo representado pela seguinte equação:

$$\pi_x = \log P_X - \log P_H \quad \text{eq. 1.2.2.2.1}$$

onde:

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

P_x é o coeficiente de partição do composto substituído.

P_H é o coeficiente de partição do composto não-substituído, para X = H.

Por definição, valores positivos de π são encontrados para substituintes com propriedade mais lipofílica que o substituinte H, enquanto valores negativos apresentam caráter mais hidrofílico que H [Kubinyi, 1993; Hansch *et al.* , 1995].

Na literatura, [Fujita, 1990; Kubinyi, 1993; Hansch *et al.* , 1995; Sousa, 1997; Amaral *et al.* , 1997; Pires, 1998] são encontrados vários estudos de *QSAR* que utilizam valores de π , como medida da contribuição hidrofóbica de grupos substituintes, pois mede a contribuição individual desses substituintes para o coeficiente de partição de uma determinada molécula.

Valores de π obtidos a partir de dados experimentais de coeficiente de partição de peptídeos são encontrados na literatura [Hansch *et al.* , 1995]. Segundo Hansch [Hansch *et al.* , 1995], estes valores de π são muito especiais, pois a troca do hidrogênio ocorre na posição α da cadeia do peptídeo, assim, a inserção de outros grupos nesta posição fornece valores de π que sofrem a influência de grupos altamente polares e a influência da deficiência de elétrons da posição α .

Sousa [Sousa, 1997] determinou a constante π de 16 substituintes localizados na posição *meta* de benzoatos análogos da procaina. Embora não discutido pelos autores, os valores de π , retirados da literatura [Hansch *et al.* , 1979; Kubinyi, 1993, Hansch *et al.* , 1995] e os por eles obtidos, para alguns substituintes na posição *meta* não eram compatíveis, por exemplo, para o substituinte OH ($\pi_m = -0,50$ $\pi_{exp} = -0,13$) e para o substituinte N(CH₃)₂ ($\pi_m = 0,50$ $\pi_{exp} = 0,11$). Estas diferenças podem ser explicadas devido à possibilidade de ionização destes substituintes, desde que as medidas do coeficiente de partição obtidas pelos autores foram feitas utilizando-se tampão em pH 7,40.

I.2.2.3 – Parâmetro hidrofóbico de Rekker (*f*)

Rekker [Rekker, 1979] definiu o parâmetro (*f*), baseando-se no conceito de aditividade de grupos substituintes de uma determinada sub-estrutura, de acordo com a **equação I.2.2.3.1**.

$$\log P = \sum a . f \quad \text{eq. I.2.2.3.1}$$

Onde:

log P é o coeficiente de partição do composto

f é a constante de fragmentos (expressa a contribuição de um fragmento ou sub-estrutura).

a é a frequência que um grupo ou uma sub-estrutura aparece na estrutura em análise.

É importante salientar que f é uma medida da contribuição absoluta da lipofilicidade do correspondente fragmento ou grupo. Assim, f não é mais a contribuição relativa devido a substituição do átomo de hidrogênio por um substituinte X, como a constante de hidrofobicidade de Hansch-Fujita [Nys *et al.*, 1974; Leo *et al.*, 1975; Rekker, 1979; Reynolds, 1984].

1.2.2.4 – Parâmetro hidrofóbico obtido por cálculo

O valor do coeficiente de partição, além de ser determinado experimentalmente, pode ser calculado ou previsto. Os valores de coeficiente de partição obtido por cálculo podem ser feitos por métodos baseados na contribuição de substituintes, pela somatória da constante de fragmentos, pela contribuição atômica e/ou área de superfície, por propriedade moleculares e por parâmetros solvatocrômicos. Embora existam vários métodos para calcular os valores de coeficiente de partição, tem-se mostrado que os valores obtidos pelo método de somatória de fragmentos são mais precisos, pois as constantes de fragmentos são obtidas a partir de valores experimentais [Leo, 1995]. Segundo Leo [Leo, 1995], há a necessidade de métodos que calculem, de forma rápida, parâmetros lipofílicos para bancos de dados grandes para se realizar estudos de *QSAR*. O cálculo de coeficiente de partição pelo método de propriedades moleculares, utilizando-se de cálculos *ab initio*, embora seja mais lento que os demais métodos de cálculo, tem sido muito utilizado para se estudar efeitos de solventes polares e apolares em estruturas de interesse especial.

Embora com limitações, o programa CLOGP é um dos programas mais utilizados para se obter o valor do coeficiente de partição calculado, fundamentado, basicamente, no conceito de fragmentos desenvolvidos por Rekker. Assim, o valor do coeficiente de partição de um determinado composto pode ser previsto ou calculado pela somatória de cada fragmento e, ainda,

inserindo os valores da(s) contribuição(ões) de interações inter- e/ou intramoleculares relativos aos fragmentos em consideração, exemplificado na figura I.2.2.4.1.

Figura I.2.2.4.1 – Exemplo de interação intramolecular (ligação de hidrogênio) observada em *orto* nitrofenóis, contribuindo para o aumento do valor do coeficiente de partição [Leo, 1995].

Por outro lado, programas como CLIP, HINT fazem o cálculo do coeficiente partição a partir de potenciais hidrofóbicos tridimensionais. Os programas CLIP e HINT estão sendo muito utilizados em estudos de *QSAR-3D*, pois metodologias como DOCKING utilizam os potenciais hidrofóbicos gerados por estes programas para fazer ajuste de ligantes ao seu receptor. [Gaillard *et al.* , 1994; Programa CLOGP, 1995; Duban *et al.* , 2001].

Recentemente, Duban, [Duban *et al.* , 2001] fez uma revisão crítica sobre programas comerciais disponíveis para se calcular o valor do coeficiente de partição. Dentre os vários programas analisados foi constatado que os valores de coeficiente de partição calculados pelo programa CLOGP v1.3 foram os que melhor correlacionavam com os valores experimentais do coeficiente de partição de compostos do banco de dados da Medchem97. No entanto, esta boa concordância observada é difícil de ser analisada, pois o programa CLOGP foi desenvolvido utilizando-se o mesmo banco de dados, ou seja, o banco de dados da Medchem97 [Duban *et al.* , 2001]. Manhold e colaboradores [Manhold *et al.* , 1996], em 1996, também fizeram um estudo, onde foi comparado o poder de preditividade de 14 programas que fazem o cálculo de coeficiente de partição. Neste estudo os autores utilizaram um banco de dados muito menor (138 compostos) que o utilizado por Martin (com mais de 8500 compostos),

demonstrando que programas que se baseiam na somatória de fragmentos apresentaram maior poder de predição que aqueles cujo princípio do cálculo se baseia em conectividade ou dependente de conformação. No entanto, os autores fazem um comentário quanto ao número pequeno de compostos utilizados para o estudo. Além disso, os autores puderam observar que o poder de predição dos cálculos foram significativamente melhores para compostos orgânicos simples do que para estruturas heterogêneas.

Para compostos que apresentam grupos ionizáveis deve-se considerar o equilíbrio ácido-base na partição (figura I.2.2.4.2).

Figura I.2.2.4.2 - Representação esquemática dos equilíbrios envolvidos no ciclo termodinâmico da partição de espécies ionizadas, no sistema octanol/água [Kubinyi, 1993].

I.2.3 – Parâmetros Eletrônicos

Em 1937, Hammett [Hammett, 1937] baseou-se em conhecimentos de Físico-Química-Orgânica e mostrou que o efeito eletrônico pode ser medido e quantificado.

Em 1962, Hansen [Hansen, 1962] estudando a toxicidade de derivados de ácidos benzóicos substituídos, observou que a toxicidade em ‘mosquito larvae’ apresentava correlação com a constante σ de Hammett.

$$\log I/C = 1,45 (\pm 0,42) \sigma + 1,79 (\pm 0,17) \quad \text{eq. I.2.3.1}$$

$$(n = 13, r = 0,918, s = 0,24, F = 58,91)$$

Hammett observou que ao dividir o logaritmo da constante de ionização de ácidos benzóicos *meta/para*-substituídos ($\log K_x$), em água à 25°C, pelo logaritmo da constante de ionização do ácido benzóico não substituído ($\log K_o$) também em água a 25°C, obedecia uma relação constante, a qual estava relacionada ao efeito do grupo substituinte na constante de ionização do composto substituído. Assim, foi definido σ (constante descritora do efeito eletrônico do grupo substituinte) para um grande número de substituintes. Ele observou também que a constante σ de vários substituintes e o logaritmo da constante de ionização do ácido benzóico substituído ($\log K_x$) apresentou uma relação linear. Assim, temos:

$$\log K_x = \rho\sigma + \log K_o \quad \text{eq. I.2.3.1}$$

onde:

K_x é a constante de ionização do ácido benzóico *para/meta* substituído.

K_o é a constante de ionização do ácido benzóico não-substituído.

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

ρ é a constante de reação.

A constante σ é conhecida como constante eletrônica de grupo substituinte, pois mede a influência eletrônica de determinado substituinte, não dependendo da molécula ou da reação. O módulo dos valores de σ reflete a grandeza do efeito eletrônico, enquanto o sinal reflete a propriedade eletrônica do substituinte. Assim, valores de σ negativos correspondem à substituintes doadores de elétrons, enquanto valores positivos correspondem à substituintes retiradores de elétrons [Bastos-ceneviva et al., 1984; Hansch *et al.* , 2001].

O coeficiente angular da equação de Hammett corresponde à constante ρ , chamada de constante de reação. O seu módulo mede a susceptibilidade da reação ou da propriedade medida ao efeito exercido pelo substituinte e depende da natureza da reação que o definiu [Hammett, 1937; Taft, 1952; Bastos-ceneviva *et al.* , 1984].

O sinal de ρ expressa a natureza da reação (reação eletrofílica ou nucleofílica) e o tipo de mecanismo envolvido. 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 *et al.* , 1984; Carey *et al.* , 1990].

Foi verificado que a constante de substituinte σ apresenta valores diferentes dependendo do padrão de substituição do substituinte em relação ao grupo carbonila do ácido benzóico. Como a constante eletrônica σ pode expressar o efeito indutivo, de campo e ressonância, assim estes efeitos podem variar dependendo do padrão de substituição. São encontradas na literatura [Kubinyi, 1993; Hansch, 1995] compilações que trazem vários valores de σ , principalmente, os valores de σ_p e σ_m . Para substituintes na posição *orto*, além dos efeitos indutivos, de campo e ressonância, efeitos estéricos e até ligação de hidrogênio podem influenciar a análise do efeito eletrônico.

Como a equação de Hammett, originalmente foi definida para a constante de ionização de ácidos benzóicos, em alguns casos, ou seja, para determinados tipos de sistemas foi necessário a definição de novas coleções de valores de σ .

Swain e Lupton [Swain *et al.* , 1968] em 1968 tiveram como objetivos interromper a proliferação de constante σ de Hammett e decompor o efeito eletrônico dos grupos substituintes em efeitos de campo e indutivo ($\mathfrak{J}$) e em efeito de ressonância ($\mathfrak{R}$) que independem da posição do substituinte. Então, foi definido que:

$$\sigma = f\mathfrak{J} + r\mathfrak{R} \quad \text{eq. I.2.3.2}$$

Onde:

σ é a constante do grupo substituinte de Hammett

$\mathcal{I}$ corresponde aos efeitos indutivos e de campos.

$\mathcal{H}$ corresponde ao efeito de ressonância.

f e r são coeficientes empíricos obtidos através de análise de regressão.

No trabalho de Swain e Lupton [Swain *et al.* , 1968], eles utilizaram o ácido carboxílico 4-X-biciclo[2,2,2]-octano e consideraram que teoricamente não há contribuição da ressonância no íon amônio $[\text{N}^+(\text{CH}_3)_3]$, ou seja, $r = 0$, obtendo as seguintes equações:

$$\sigma_m = 0,60 (\pm 0,00) \mathcal{I} + 0,27 (\pm 0,00) \mathcal{H} + 0,00 (\pm 0,00) \quad \text{eq. I.2.3.3}$$

$$n = 42, \quad r = 1,00, \quad s = 0,00$$

$$\sigma_p = 0,56 (\pm 0,00) \mathcal{I} + 1,00 (\pm 0,00) \mathcal{H} + 0,00 (0,00) \quad \text{eq. I.2.3.4}$$

$$n = 42, \quad r = 1,00, \quad s = 0,00$$

No entanto, em 1973 Hansch [Hansch *et al.* , 1973] reavaliou os valores e a abordagem de Swain e Lupton, considerando que os mesmo não estavam corretamente dimensionados, propondo a equação abaixo.

$$\mathcal{I} = 1,39 (\pm 0,19) \sigma_m - 0,373 (\pm 0,14) \sigma_p - 0,01 (\pm 0,04) \quad \text{eq. I.2.3.5}$$

$$n = 14, \quad r = 0,992, \quad s = 0,004$$

$$\mathcal{H} = \sigma_p - 0.921 \mathcal{I} \quad \text{eq. I.2.3.6}$$

As constantes de substituintes propostas por Swain e Lupton têm sido empregadas com sucesso em diversos trabalhos de *QSAR* [Kubinyi, 1993; Hansch, 1995].

Parâmetros obtidos por técnicas espectroscópicas [Amaral *et al.* , 1991, 1993, 1995, 1997] como por exemplo medidas na região do infravermelho ou medidas de RMN são de utilidade para a descrição de influências eletrônicas de substituintes. Por outro lado, dados obtidos de cálculos de orbitais moleculares

(energia de *HOMO* e *LUMO* e cargas atômicas parciais), bem como dados de potencial de oxi-redução [Pires *et al.* , 2001] são, também, utilizados como parâmetro eletrônico em análise de *QSAR* [Kubinyi,1993; Pires, 1998].

I.2.4 – Parâmetros estéricos

Os parâmetros estéricos dos substituintes são medidas de dimensão ou da geometria da molécula toda ou do substituinte, relacionados com tamanho e forma.

Taft [Taft, 1952] definiu a constante estérica de substituinte (E_s) a partir da hidrólise ácida de ésteres alifáticos de acordo com a **equação I.2.4.1**.

$$E_s = \log (K/K_0)_A \quad \text{eq. I.2.4.1}$$

No entanto, foi observado que o parâmetro estérico de Taft (E_s) sofre influência de grupos retiradores de elétrons, como Cl e Br [Kubinyi, 1993], e por isso este parâmetro estérico não tem sido muito utilizado em estudos de *QSAR*.

Muitos outros parâmetros relacionados com o tamanho e/ou forma, por exemplo, volume de van der Waals, volumes molares, área de acesso ao solvente, refratividade molar, parâmetros STERIMOL (L, B1, B2, B3 e B4) [Verloop, 1976] entre outros têm sido usados para descrever efeitos estéricos.

Com o surgimento de *QSAR-3D*, parâmetros estéricos, como, por exemplo, volume do substituinte, pode ser, alternativamente, calculado e, assim, ser utilizado como parâmetro na análise de *QSAR*, abordagem de Hansch [Kubinyi, 1993].

I.2.5 – Parâmetros relacionados à polarizabilidade

Volume molar (MV), refratividade molar (MR) e parachor (PA) são por definição parâmetros intercorrelacionados como pode ser observado pelas equações a seguir.

$$MV = MM / \rho \quad \text{eq. I.2.5.1}$$

$$MR = MV (n^2 - 1) / (n^2 + 2) \quad \text{eq. I.2.5.2}$$

$$PA = MV \gamma^{1/4} \quad \text{eq. I.2.5.3}$$

Onde:

MM = Massa molar

ρ = densidade

n = índice de refração

γ = tensão superficial

Destes três parâmetros, MR é o que mais comumente se utiliza em estudos de *QSAR*, sendo que MV e PA são menos utilizados.

A refratividade molar é um termo de volume, assim está relacionada à lipofilicidade, volume molar e fatores estérico, mas também é proporcional a polarizabilidade eletrônica, pois o índice de refração está relacionado à polarizabilidade eletrônica, portanto sua interpretação em estudos de *QSAR* é um pouco dificultada [Dearden, 1991].

Em *QSAR*, se é obtido um termo positivo relacionado a MR , este pode ser interpretado como a existência de interações de dispersão ou semi-polares. Por outro lado, termo negativo relacionado à MR pode ser associado ao efeito estérico. Portanto, muita atenção deve ser tomada na análise deste parâmetro, principalmente na escolha do substituinte, pois, senão, pode-se chegar a uma conclusão falsa, devido à intercorrelações entre a lipofilicidade, polarizabilidade eletrônica, ou entre fatores estéricos na série de substituintes [Kubinyi, 1993].

I.1.2.6 – Planejamento da série de compostos para estudos de *QSAR*

O provável sucesso de um estudo de *QSAR* [Kubinyi, 1993] depende do planejamento de uma série de compostos congêneres, onde todos os compostos da série, devam possuir o mesmo mecanismo de ação. É comum na literatura

[Kim, 1996; Hansch, 2001] encontrar trabalhos onde os compostos de uma série de *QSAR* tenham a mesma estrutura base, com variação estrutural apenas em uma ou várias posições desta estrutura base.

A primeira contribuição para o planejamento de uma série cujos parâmetros não sejam intercorrelacionados foi feita por Craig [Craig, 1971]. Nesta abordagem, Craig considerou o estudo de gráficos em duas dimensões das propriedades físico-químicas de substituintes (por exemplo, π versus σ , π versus MR), sugerindo a escolha de substituintes distribuídos nos quatro quadrantes destes gráficos bidimensionais.

Outros métodos de planejamento de série para estudos de *QSAR* têm sido encontrados na literatura [Fujita, 1990]. Dentre estes, encontra-se métodos baseados em princípios estatísticos e não estatísticos. Assim, a análise de componentes principais (*PCA*) é um método estatístico utilizado para seleção de variáveis para estudos de *QSAR*, para este método a análise da intercorrelação dos parâmetros não se faz necessária. Por outro lado, métodos não estatísticos como, por exemplo, TOPLISS e Craig são utilizados para escolha de substituintes. O método de TOPLISS tem como objetivo chegar a compostos mais ativos, enquanto a abordagem de Craig não necessariamente tem estes objetivos, sendo uma abordagem útil para escolha da série de compostos para estudos *QSAR*, onde se aplica a abordagem de Hansch.

I.2.7 – Abordagens utilizadas em *QSAR*

A resposta biológica é o resultado da(s) interação(ões) de um composto com o sistema biológico, assumindo-se que a atividade/resposta biológica está relacionada com a variação de energia livre (ΔG) envolvida. Adicionalmente, a variação de ΔG pode ser decomposta em termos relacionados com as variações de energia livre associadas, aos termos de naturezas eletrônicas, lipofílicas, estéricas e de dispersão, respectivamente.

I.2.7.1 – Abordagem extratermodinâmica

A abordagem extratermodinâmica proposta por Hansch e Fujita [Hansch, 1964] correlaciona a atividade biológica com parâmetros físico-químicos e/ou estruturais dos compostos de uma série congênere. Os compostos desta série devem apresentar uma estrutura fundamental e, além disso, exercer a resposta biológica pelo mesmo mecanismo de ação.

I.2.7.1.1 - Modelo linear

O modelo extratermodinâmico que correlaciona a atividade biológica através de relações lineares e múltiplas com os parâmetros físico-químicos é chamado de modelo linear, ilustrativamente apresentado na **equação I.2.7.1.1.1**.

$$\log I/C = a\pi + b\sigma + cE_s \text{ constante} \quad \text{eq. I.2.7.1.1.1}$$

onde:

$\log I/C$ é a resposta biológica do composto

π é o parâmetro lipofílico expresso pela constante de Hansch-Fujita

σ é o parâmetro eletrônico, expresso pela constante de Hammett.

E_s parâmetro estérico, expresso pela constante Taft.

a , b , c , indicam as contribuições relativas de cada parâmetro (lipofílico, eletrônico e estérico, respectivamente) determinadas pela análise de regressão.

I.2.7.1.2 – Modelos não-lineares

I.2.7.1.2.1 – Modelo parabólico

Pelo modelo linear, a atividade biológica aumenta com o aumento da lipofilicidade. No entanto, sabe-se que a atividade biológica aumenta diretamente

proporcional com a lipofilicidade até um determinado limite, passando, a partir deste limite de lipofilicidade, a ser inversamente proporcional ao aumento da lipofilicidade [Fujita, 1990; Kubinyi, 1993], pois moléculas muito lipofílicas ou, o contrário, muito hidrofílicas não são capazes de se distribuir pelo sistema biológico, ou seja não são capazes de atingir o sítio de ligação. Uma vez que o modelo linear não prevê adequadamente a distribuição do composto pelo sistema biológico foi preciso, então, proposição de um modelo mais abrangente que pudesse considerá-la.

Hansch e Fujita verificaram [Hansch, 1964] que com o aumento do número de carbonos em uma cadeia carbônica, aumentando a lipofilicidade da molécula, salvo quando existem interações intramoleculares de grupos polares próximos, que aumentando a distância entre os grupos polares diminui a lipofilicidade, obtinha-se um aumento na atividade biológica até que em determinado limite, a atividade biológica passa a diminuir com a lipofilicidade. Adicionalmente, eles observaram que o gráfico da atividade biológica em função da lipofilicidade aproximava-se de uma parábola. Então, Hansch e Fujita propuseram que a atividade biológica poderia ser expressa pelo modelo parabólico [Hansch, 1964; Fujita, 1990; Kubinyi, 1993].

Além da contribuição quadrática observada para a lipofilicidade eles verificaram que outros parâmetros como parâmetro eletrônico e parâmetro estérico, entre outros, também poderiam contribuir para atividade biológica, resultando na proposição do modelo parabólico, ilustrativamente, expresso pela equação abaixo.

$$\log I/C = a\pi^2 + b\pi + c\sigma + dE_s + \text{constante} \quad \text{eq. I.2.7.1.2.1.1}$$

onde:

$\log I/C$ é a resposta biológica

π é o parâmetro de lipofílico de Hansch-Fujita

σ é o parâmetro eletrônico, expresso pela constante de Hammett.

E_s é parâmetro estérico, expresso pela constante de Taft.

a, b, c, d , indicam a contribuição relativa de cada parâmetro, lipofílico, eletrônico e estérico, respectivamente, determinada pela análise de regressão

I.2.7.1.2.2 – Modelo bilinear

Embora o modelo parabólico descreva com maior precisão os fenômenos ocorridos no sistema biológico do que o modelo linear, observou-se que tanto o ramo ascendente como descendentes se assemelhavam mais ao modelo linear de Hansch-Fujita. Além disso, observou-se também que o aumento de um átomo de carbono na cadeia metilênica provoca uma resposta linear até um limite máximo. A partir deste valor o aumento da lipofilicidade provocava uma queda linear na resposta biológica. Diante desta situação era necessária a proposição de um novo modelo que pudesse expressar a atividade biológica adequadamente.

Kubinyi, então, propôs o modelo bilinear que está fundamentado na probabilidade de compostos com atividade biológica atingirem seu sítio de ação, considerando um sistema multicompartimentado [Kubinyi, 1963, 1993; Fujita, 1990; Hansch, 1995], ou seja, a discrepância observada entre os modelos linear e parabólico poderia ser atribuída a diferentes fatores entre eles: cinética do transporte do composto, à distribuição do composto em diferentes compartimentos do sistema biológico, espaço limitado para as interações de grupos lipofílicos no sítio de ação, efeitos alostéricos, formação de micelas, princípio de ocupação mínima do receptor, etc [Kubinyi, 1993].

$$\log 1/C = a \log P - b \log(\beta P + 1) + c \sigma + d E_s + \text{constante} \quad \text{eq.I.2.7.2.2.1}$$

onde:

$\log 1/C$ é a resposta biológica

$\log P$ é o parâmetro de lipofílico

β é a relação entre os volumes das fases orgânica e aquosa.

σ é o parâmetro eletrônico, expresso pela constante de Hammett.

E_s é o parâmetro estérico, expresso pela constante de Taft.

a , b , c , d indicam a contribuição relativa de cada parâmetro, lipofílico, eletrônico e estérico, respectivamente, determinada pela análise de regressão

Apesar de descrever com mais precisão a relação entre a atividade biológica e os parâmetros físico-químicos, o modelo bilinear apresenta limitações. Ou seja, há necessidade tanto de se obter uma quantificação precisa dos dados biológicos, o que muitas vezes não é possível, [Kubinyi, 1993] bem como de cálculos iterativos que são mais complexos do que a análise de regressão do modelo parabólico de Hansch.

I.2.7.2 – Modelo de aditividade (Análise de Free-Wilson)

No mesmo ano em que foi proposto o modelo extratermodinâmico, em 1964, Free e Wilson [Free, 1964; Kubinyi, 1990] propuseram um modelo que se baseia no conceito de aditividade de contribuições da atividade biológica dentro de uma série congênere. Este modelo também é conhecido como análise de Free-Wilson e é representado pela equação a seguir.

$$\log AB = \sum a_i X_i + \mu \quad \text{eq.I.2.7.2.1}$$

onde:

AB é a atividade biológica.

a_i corresponde à contribuição do i -ésimo substituinte na atividade biológica. A soma total das contribuições de todos os substituintes para a atividade biológica deve ser igual a zero.

μ corresponde à média das atividades biológicas de todos os substituintes presentes na estrutura básica.

Tanto a_i quanto μ são obtidos por análise de regressão.

Neste modelo, a atividade biológica (AB) é correlacionada com as características estruturais de cada grupo, enquanto no modelo extratermodinâmico AB é correlacionada com parâmetros físico-químicos. No entanto, as duas abordagens estão correlacionadas, do ponto de vista aplicabilidade. A utilidade e aplicabilidade [Free, 1964; Kubinyi, 1990] do modelo de aditividade em comparação com o modelo de Hansch-Fujita são mais limitadas. Em casos favoráveis, o modelo de Hansch permite conclusões gerais, melhor entendimento da ação do composto (fármaco) a nível molecular enquanto a abordagem de Free-Wilson fornece apenas a quantificação dos efeitos das mudanças dos substituintes na atividade biológica [Kubinyi, 1990]. Assim, por exemplo, abordagem de Free-Wilson não permite a extrapolação dos resultados.

Fujita-Ban [Fujita, 1971; Kubinyi, 1990] ao analisar a equação de Free-Wilson verificaram que o valor de μ dependia da realização de cálculos exaustivos. Quando era necessária a retirada de um dos compostos da série, um novo valor de média teria que ser obtido e, conseqüentemente, uma nova análise de regressão para obtenção de novos valores de a_i . Assim, para facilitar os cálculos e tornar o cálculo mais simples, Fujita-Ban propuseram uma modificação onde o valor de μ passaria a ser considerado como sendo igual ao valor da atividade biológica do composto não substituído ($X = H$).

Posteriormente, Fujita-Ban verificou que nem sempre é possível obter o valor da atividade biológica do composto não substituído e, com isso, passou a utilizar um valor teórico calculado para o composto não substituído.

I.2.7.3 - Relação Estrutura Atividade Biológica tridimensional (*QSAR-3D*)

O avanço tecnológico ocorrido na área de informática, seja no desenvolvimento de programas computacionais ou no desenvolvimento de *hardwares* de alta velocidade de processamento, possibilitou o surgimento e/ou o aperfeiçoamento de métodos computacionais que permitem incluir a modelagem molecular em estudos de *QSAR*, denominada *QSAR-3D*.

Em estudos de *QSAR*, a modelagem molecular pode ser aplicada tanto quando não se conhece a estrutura do receptor como quando a estrutura do receptor é conhecida.

Para o primeiro caso, metodologias como *CoMFA* (Análise Comparativa de Campos Moleculares) e, mais recentemente, *CoMSIA* (Análise Comparativa dos Índices de Similaridade) estão sendo muito utilizadas [Crammer, 1988; Kubinyi, 1993; Klebe, 1994; Pires, 1998; Ishiki, 1999, 2001]. Para as metodologias *CoMFA* e *CoMSIA*, inicialmente, utilizam-se moléculas que possuem a mesma resposta biológica, construindo-se, assim, um banco de dados. Para cada molécula do banco de dados é feito cálculo de orbitais moleculares, obtendo-se geometrias otimizadas e cargas atômicas parciais. Em seguida, deve-se fazer o alinhamento das moléculas (proposição dos grupos farmacofóricos) e, por fim, realizar as análises *CoMFA* ou *CoMSIA* [Crammer, 1988; Klebe, 1994]. De certa forma parecidos os resultados dessas metodologias são apresentados como poliedros coloridos que significam regiões que são favoráveis ou desfavoráveis para a atividade biológica [Crammer, 1988; Klebe, 1994].

Nessas duas metodologias, o alinhamento das moléculas do banco de dados é considerado como o ponto crucial [Kubinyi, 1993; Klebe, 1994] para a análise correta dos resultados. Assim, a busca de métodos racionais de alinhamento das moléculas para estudos de *QSAR-3D* está sendo um dos desafios mais importantes em química medicinal. Neste sentido, nosso laboratório tem dedicado muitos esforços para propor metodologias racionais de alinhamento das moléculas [Ishiki, 1999, 2001].

Por outro lado, quando a estrutura do receptor é conhecida, pode-se utilizar metodologia que permite, virtualmente, a proposição de novos ligantes que a princípio apresentarão a atividade desejada [Boehm, 2000]. Alguns pacotes de programas computacionais comerciais como DOCK [DesJarlais, 1988], LUDI [Böhm, 1993] e CATALYST [Klebe, 1993] possibilitam este tipo de estudo.

II – Materiais e Métodos

II.1 – Reagentes e solventes

Ácido benzóico (99%, Aldrich),
Ácido 4-metil-benzóico (98%, Aldrich),
Ácido 4-*n*-butil-benzóico (99%, Aldrich),
Ácido 4-metoxi-benzóico (99%, Aldrich),
Ácido 4-cloro-benzóico (99% Aldrich),
Ácido 4-bromo-benzóico (98%, Aldrich),
Ácido 4-nitro-benzóico (98%, Aldrich),
Ácido 4-ciano-benzóico (99%, Aldrich),
Ácido 4- α,α,α -trifluorometil-benzóico (98%, Aldrich),
Ácido 4-metilsulfonil-benzóico (97%, Aldrich),

Cloreto de 4-*n*-hexil-benzoíla (98%, Aldrich),
N,N-dimetiletilenodiamina (98%, Merck),
Trietilamina (98%, Aldrich),
Cloroformato de etila (97%, Aldrich),
Brometo de benzila (98%, Merck),
Cloreto de tionila (Aldrich),
Hidróxido de amônio (25-28%, p.a. CAAL),
Ácido clorídrico (37 %, p.a. Merck),
Metanol (CAAL),
Etanol (CAAL),
Clorofórmio (CAAL),
Éter etílico (CAAL),
Tetrahidrofurano (THF) (Merck),
Acetona (p.a. CAAL),
Tolueno (Hoesch)
MgSO₄ anidro (p.a. Merck),

CaCl₂ anidro (p.a. CAAL),
Trizma base (p.a. Sigma),
KCl (p.a. Merck),
NaHCO₃ (p.a. Merck),
NaOH (p.a. CAAL),

(Solventes grau espectroscópico)

Tetrametilsilano (TMS) (99,9%, Aldrich),
Metanol-d₄ (99,9%d, Merck),
Clorofórmio-d₁ (99,9%d, Aldrich)
KBr (Merck),

II.2 - Equipamentos

II.2.1– Análise elementar

As análises quantitativas dos átomos de carbono, de hidrogênio e de nitrogênio dos compostos preparados foram determinados em um analisador elementar marca Perkin-Elmer 2400 CHN automatizado, no laboratório de microanálise da central analítica do Instituto de Química da USP.

II.2.2 – Espectros de Ressonância Magnética Nuclear (RMN) de ¹H e de ¹³C

Todos os espectros de RMN-¹H (300MHz) e de RMN-¹³C (75MHz) foram registrados em um espectrômetro Varian INOVA 300, utilizando-se metanol-d₄ como solvente e tetrametilsilano como referência interna, para caracterização da estrutura. Para a obtenção dos valores de deslocamento químico do grupo carbonila ($\delta^{13}_{C=O}$) foi utilizado o sinal de metanol em 49,00 ppm como referência interna. Estes foram realizados utilizando-se o equipamento pertencente à central analítica do Instituto de Química da USP.

II.2.3 – Espectros na região do Infravermelho (IV)

Todos os espectros de absorção na região do infravermelho foram realizados em pastilhas de KBr e registrados em um espectrômetro FTIR, Nicolet modelo 510 FT-IR Spectrometer. Estes foram realizados na central analítica do Instituto de Química da USP.

II.2.4 – Espectros na região do Ultravioleta (UV)

Todos o espectros eletrônicos dos compostos preparados, bem como as determinações espectrofotométricas utilizadas para a obtenção dos valores do coeficiente de partição aparente ($\log P_{app}^{7,40}$) dos compostos da série I foram realizados em um espectrofotômetro Hitachi U-2000.

II.3 - Metodologias

II.3.1 – Planejamento da série de substituintes

A escolha dos substituintes da série de onze brometos de [2-(4-X-benzamido)etil]benzildimetilamônio substituídos, série I, (sendo X = H(I.1), CH₃(I.2), *n*-C₄H₉ (I.3), *n*-C₆H₁₃(I.4), OCH₃,(I.5), Cl,(I.6), Br(I.7), NO₂,(I.8), CN(I.9), CF₃(I.10), SO₂CH₃,(I.11)) estudados neste trabalho (**Figura II.3.2.1.1**) feita baseando-se no critério sugerido por Craig [Craig, 1971]. Este sugere que a intercorrelação entre os parâmetros físico-químicos/estruturais analisados deva ser não significativa.

II.3.2 – Preparação dos compostos

Na figura II.3.2.1.1 é apresentado o esquema de preparação proposto para obtenção da série de brometos de [2-(4-X-benzamido)etil]benzildimetilamônio (para X = H, CH₃, *n*-C₄H₉, *n*-C₆H₁₃, OCH₃, Cl, Br, NO₂, CN, CF₃, SO₂CH₃, rota **D** (compostos **I.1-I.11**) a partir das correspondentes bases livres intermediárias (compostos **i.1-i.11**), sendo estas obtidas a partir dos correspondentes cloretos de benzoíla, rota **A**: (para X=H (**i.1**) e 4-*n*-C₆H₁₃ (**i.4**) ou ácidos benzóicos substituídos, rota **B**: (para X= CH₃(**i.2**); *n*-C₄H₉,(**i.3**); Cl (**i.6**); Br (**i.7**); NO₂, (**i.8**); CN,(**i.9**) CF₃, (**i.10**); SO₂CH₃, (**i.11**), e rota **C** (para X = 4-OCH₃ (**i.5**)).

II.3.2.1 – Esquema de Preparação dos Compostos

Obtenção das bases livres intermediárias (rotas **A**, **B** e **C**)

Rota **A**. Rota sintética utilizada para a preparação das N-[(dimetilamino)etil]-4-X-benzamidas substituídas, compostos **i.1** e **i.4**).

Rota **B**. Rota sintética utilizada para a preparação das N-[(dimetilamino)etil]-4-X-benzamidas substituídas, compostos **i.2**, **i.3** e **i.6-i.11**.

Rota **C**. Rota sintética utilizada para a preparação da N-[(dimetilamino)etil]-4-metoxi-benzamida, composto **i.5**.

Obtenção da série de brometos de [2-(4-X-benzamido)etil]benzildimetilamônio substituídos (rota D)

Rota **D**. Rota sintética utilizada para a preparação da série de brometos de [2-(4-X-benzamido)etil]benzildimetilamônio substituídos, compostos **I.1 -I.11**.

- I.1; X = H
- I.2; X = CH₃
- I.3; X = n-C₄H₉
- I.4; X = n-C₆H₁₃
- I.5; X = OCH₃
- I.6; X = Cl
- I.7; X = Br
- I.8; X = NO₂
- I.9; X = CN
- I.10; X = CF₃
- I.11; X = SO₂CH₃

Figura II.3.2.1.1. Esquema de preparação da série de brometos de [2-(4-X-benzamido)etil]benzildimetilamônio, sendo X =H, CH₃, n-C₄H₉, n-C₆H₁₃, OCH₃, Cl, Br, NO₂, CN, CF₃, SO₂CH₃, compostos **I.1 -I.11**.

II.3.2.2 – Métodos gerais de preparação dos compostos

II.3.2.2.1 – Métodos de preparação da série de N-[(dimetilamino)etil]-4-X-benzamidas substituídas (compostos i.1 -i.11).

II.3.2.2.1.1 – Método de preparação das N-[(dimetilamino)etil]-4-X-benzamidas substituídas, em que X = H e n-C₆H₁₃, compostos i.1 e i.4, rota A, (Figura II.3.2.1.1).

Procedendo-se de acordo com indicações de Testa [Testa, 1983], em um balão de 3 bocas de 250 mL, equipado com funil de adição, tubo de CaCl_2 anidro, agitador magnético, cuba de gelo/água, foram adicionados 40 mmol de N,N-dimetiletilenodiamina, 50 mL de éter etílico (tratado e seco) [Perrin, 1988] e lentamente 40 mmol de cloreto de 4-X-benzoíla, preparado ou comercial, observando a formação de precipitados. Após a adição do cloreto de ácido, o banho de gelo foi retirado e a mistura reacional foi mantida sob agitação por ~1 hora à temperatura ambiente. O produto da reação, sólido, foi filtrado através de funil de placa sinterizada. O resíduo sólido separado foi seco em dessecador e, a seguir, recristalizado de éter etílico / etanol.

A seguir, a obtenção das respectivas bases livres foi feita procedendo-se de acordo com indicações de Becker [Becker, 1993], em um balão de 100mL de três bocas, equipado com cuba de gelo/água e agitador magnético foram adicionados 50mL de uma solução saturada de NaHCO_3 e 5mmol do cloridrato de N-[(dimetilamino)etil]-4-X-benzamida substituído, mantendo-se a mistura reacional sob agitação à temperatura de 0°C por 30 minutos, a seguir, a mistura reacional foi transferida para um funil de separação submetida a 3 extrações sucessivas com 30 mL de clorofórmio. As frações orgânicas reunidas foram secas com MgSO_4 por 3 horas, filtradas e o solvente eliminado em rotaevaporador. O produto da reação, líquido viscoso, foi seco em bomba de vácuo.

II.3.2.2.1.2 - Método de preparação da série de N-[(dimetilamino)etil]-4-X-benzamidas substituídas, sendo X = CH_3 , $n\text{-C}_4\text{H}_9$, Cl, Br, NO_2 , CN, CF_3 e SO_2CH_3 (compostos i.2-i.3 e i.5-i.11; rota B; figura II.3.2.1.1.).

Procedendo-se de acordo com indicações de Harrold [Harrold, 1993], em um balão de três bocas de 100mL, equipado com funil de adição, tubo de CaCl_2 anidro, agitador magnético e cuba de gelo/água, foram adicionados 10 mmol do correspondente ácido benzóico 4-X-substituído, 35 mL de tetrahidrofurano (THF) previamente tratado e seco [Perrin, 1988] e 10 mmol (1,01g) de trietilamina tratada e seca [Perrin, 1988]. A mistura reacional foi

resfriada a 0°C e, então, foram adicionados lentamente com o auxílio de um funil de adição 10 mmol (1,09g) de cloroformato de etila. Terminada a adição, a mistura reacional foi submetida a agitação por 1 hora, mantendo-se a temperatura do banho a 0°C. Foi observado a formação de um sólido branco (cloridrato de trietilamina), que foi filtrado através de um funil de placa sinterizada protegido da umidade, com tubo CaCl₂ em “U” conectado a uma rolha adaptada ao funil. Ao filtrado, recolhido em um balão de 3 bocas de 100 mL, equipado com funil de adição e tubo de CaCl₂, foram adicionados com o auxílio de um funil de adição 10 mmol (0,88g) de N,N-dimetiletilenodiamina. A mistura de reação foi deixada sob agitação a temperatura ambiente por 3 horas, observando-se o aparecimento de uma solução reacional límpida. A seguir, o produto de reação, foi transferido para um balão de fundo redondo de 100 mL, sendo o solvente e materiais voláteis eliminados em rotaevaporador. Após este período o solvente e o material volátil foram eliminados em rotaevaporador. O resíduo obtido foi solubilizado em 30 mL de éter etílico e a solução etérea transferida para um funil de separação. A solução etérea do composto foi tratada com 50 mL de uma solução saturada de Na₂CO₃, observando-se a formação de duas fases. A fase etérea foi recolhida e, em seguida a fase aquosa foi submetida a 4 extrações sucessivas com 30 mL de éter etílico. As frações etéreas reunidas foram secas com MgSO₄ anidro por 48 horas, filtradas e o solvente eliminado em rotaevaporador. O resíduo obtido foi seco em bomba de vácuo, observando-se a formação de um sólido que foi submetido à recristalização de *n*-hexano/éter etílico ou de éter etílico/etanol.

II.3.2.2.2 – Método geral de preparação da série de brometos de [2-(4-X-benzamido)etil]benzildimetilamônio substituídos, sendo X = H, CH₃, *n*-C₄H₉, *n*-C₆H₁₃, OCH₃, Cl, Br, NO₂, CN, CF₃, SO₂CH₃. (compostos I.1-I.11, rota D, figura II.3.2.1.1)

Procedendo-se de acordo com indicações de Harrold [Harrold, 1993], em um balão de 25 mL de três bocas, equipado com funil de adição, condensador de refluxo protegido com tubo de CaCl₂ anidro, agitador magnético e banho de óleo

de silicone, foram adicionados 2 mmol da correspondente N[(dimetilamino)etil]-4-X-benzamida substituída, preparadas como descritas nos itens **II.3.2.2.1.1**, **II.3.2.2.1.2** ou **III.1.5.1** e, a seguir dissolvidas em 10 mL de THF tratado e seco [Perrin, 1988]. À solução foram adicionados lentamente 16 mmol de brometo de benzila recém purificado [Perrin, 1988]. A mistura reacional foi mantida sob agitação e refluxo por 3 horas. A mistura de reação foi filtrada através de um funil de placa sinterizada e o produto sólido obtido foi lavado com éter etílico gelado e, a seguir, rescritalizado de éter-etanol ou de etanol.

II.3.3 – Obtenção de parâmetros físico-químico e estruturais

II.3.3.1 – Parâmetros lipofílico

Como parâmetro lipofílico, foram determinados os valores do coeficiente de partição ($\log P_{app}^{7,40}$) de cada composto da **série I**, obtidos pelo método *shake-flask*, utilizando-se *n*-octanol como fase orgânica e solução tampão (Trizma pH=7,40; $\mu = 0,10$ M (acertada com KCl)) como fase aquosa, procedendo-se de acordo com indicações de Dearden [Dearden, 1988] e de Amaral [Amaral *et al.*, 1997]. A partição foi avaliada na fase aquosa espectrofotometricamente, através das determinações das absorções inicial e final, ou seja, antes e depois da partição de cada composto.

Inicialmente, foi preparada uma solução de cada composto em água bidestilada e recentemente fervida (solução **A**) de concentração $\sim 0,01$ mol/L. A partir da solução **A** foram preparadas, por diluição com solução tampão pré-saturada com *n*-octanol (*tampão pso*) duas outras soluções **B₁** e **B₂**, respectivamente. As soluções **B₁** e **B₂** foram preparadas, adicionando-se uma alíquota da solução **A** suficiente para se obter absorbâncias de $\sim 0,8$ u.A..

A seguir, alíquotas de 2mL, respectivamente das soluções **B₁** e **B₂**, foram transferidas para 2 cubetas de quartzo de caminho ótico de 1cm, obtendo-se as absorbâncias iniciais A_{i1} e A_{i2} , respectivamente. Todas as leituras foram feitas no comprimento de onda de máxima absorção de cada composto.

Em paralelo, foram adicionados a 2 tubos de fundo chato com tampa esmerilhada, volumes das soluções B₁ e B₂ e volumes de *n*-octanol (pré-saturado com tampão) para que fosse obtido uma relação entre P (partição) e Rv (relação de volumes) que estivesse na faixa de 1 a 10. Em que:

$$P = [A]_{oct}/[A]_{aq} \quad \text{eq. II.3.3.1.1.1}$$

Onde:

$[A]_{oct}$ é a concentração do composto na fase orgânica (*n*-octanol).

$[A]_{aq}$ é a concentração do composto na fase aquosa (tampão).

$$Rv = V_{aq}/V_{oct} \quad \text{eq. II.3.3.1.1.2}$$

Onde:

V_{aq} é o volume da solução aquosa (tampão) utilizada para a partição.

V_{oct} é volume de *n*-octanol utilizado para a partição.

Em seguida, os dois tubos, contendo as soluções B₁ e B₂, respectivamente solução aquosa (tampão) e *n*-octanol, foram mantidos por um período de 60 minutos, sob agitação magnética em um banho termostatzado controlando-se a temperatura (25±1°C). Após o período de partição, a agitação foi desligada para ocorrer a separação das duas fases. Então, com o auxílio de uma pipeta foi retirado o *n*-octanol dos 2 tubos e as duas fases aquosas, restantes, foram transferidas para dois tubos *ependorff* e submetidas a centrifugação (15000 rpm por 5 minutos). Depois da centrifugação, 2 alíquotas de aproximadamente 2 mL foram transferidas para 2 cubetas de quartzo, caminho ótico de 1cm, registrando-se as absorbâncias, consideradas absorbâncias finais, denominadas A_{f1} e A_{f2}, respectivamente.

A estabilidade de cada composto em solução aquosa (solução tampão Trizma pH=7,40, μ = 0,10 M (certada com KCl)) foi verificada ao se comparar

os valores de A_{i1} e de A_{i2} ($t=0$) e com os correspondentes valores de A_{f1} e de A_{f2} ($t=60\text{min}$).

A partir dos valores de absorbância obtidos, foram calculados os valores do coeficiente de partição ($\log P_{\text{app}}^{7,40}$) através da **equação II.3.3.1.1.3**.

$$P = [(A_i - A_f)/(A_f)] / [(V_{aq})/(V_{oct})] \quad \text{eq. II.3.3.1.1.3}$$

Onde:

P é a partição.

A_i é a absorbância inicial da solução (B_1 e B_2) antes da partição.

A_f é a absorbância final da solução (B_1 e B_2) depois da partição.

V_{aq} é o volume da solução (B_1 e B_2) utilizado para a partição.

V_{oct} é o volume de n -octanol utilizado para a partição.

Foram obtidos os valores do coeficiente de partição $\log P_{\text{calc}}$ através do programa CLOGP, versão 1.0.0 para Windows (1995), Byobite, USA. Inicialmente, as moléculas são construídas em linguagem SMILES e, em seguida, o programa faz o cálculo através da somatória dos fragmentos presentes na molécula, de uma banco de dados com valores experimentais. Adicionalmente foram utilizados como parâmetro lipofílico a constante de hidrofobicidade de Hansch π . Estas foram retiradas da literatura [Hansch, 1979; Kubinyi, 1993] e obtidas a partir de $\log P_{\text{app}}^{7,40} \pi_{\text{exp}}$.

II.3.3.2 – Obtenção de parâmetros eletrônicos

Como parâmetro eletrônico foram utilizadas as constantes de grupo substituinte σ_p de Hammett e as constantes de grupo substituinte $\mathfrak{S}$ e $\mathfrak{R}$ de Swain-Lupton, retirados da literatura [Hansch 1979; Kubinyi, 1993]. Adicionalmente, foram utilizados os valores de deslocamento químico de RMN ^{13}C do grupo carbonila ($\delta^{13}\text{C}=\text{O}$), obtidos em metanol- d_4 , concentração de $\sim 0,1$

mol/L e utilizando-se como referência interna o sinal em 49,00 ppm de metanol- d_4 .

II.3.3.3 – Parâmetro relativo a refratividade molar (MR)

A refratividade molar na posição *para* do anel aromático na série de brometos de [2-(4-X-benzamido)etil]benzildimetilamônio substituídos, onde X = H, CH₃, *n*-C₄H₉, *n*-C₆H₁₃, OCH₃, Cl, Br, NO₂, CN, CF₃, SO₂CH₃ foi utilizada na análise. Os valores de MR₄ de cada substituinte foram retirados da literatura [Hansch 1979; Kubinyi, 1993].

II.3.4 - Análise de regressão (QSAR)

A abordagem de Hansch [Hansch, 1964, 1995] foi utilizada para avaliar a influência da lipofilicidade, do efeito eletrônico e da polarizabilidade sobre o bloqueio da transmissão neuromuscular para os compostos I.1 a I.11, preparados neste trabalho.

As equações de correlação foram obtidas utilizando-se o programa BILIN, versão 1994, [Programa BILIN, 1994]. Em todas as equações de correlação *n* representa o número de compostos e os valores entre parênteses representam o intervalo de confiança (95%) dos coeficientes. Adicionalmente, foram calculados os seguintes parâmetros estatísticos: *F* é o teste de significância de Fisher, *r* expressa o coeficiente de correlação e *s* expressa o desvio padrão, Q^2 e S_{PRESS} expressam o quadrado do coeficiente de correlação e o desvio padrão, associados ao teste de validação cruzada. O programa BILIN versão 1994 [Programa BILIN, 1994] foi gentilmente fornecido pelo Prof. Dr. Hugo Kubinyi, Alemanha.

III – Parte experimental

III.1 – Preparação dos compostos

III.1.1. Preparação do [2-(benzamido)etil]benzildimetilamônio (X=H ;I.1.)

III.1.1.1 – Preparação do cloreto de benzoíla

Procedendo-se de acordo com indicações de Hellmann [Hellmann, 1957], em um balão de três bocas de 250 mL, equipado com condensador de refluxo protegido com tubo de CaCl₂ anidro, funil de adição, agitador magnético e banho de óleo de silicone, foram adicionados 12,21 g (100 mmol) de ácido benzóico, 50 mL de tolueno tratado e seco [Perrin, 1988], 0,8 mL (10mmol) de dimetilformamida tratada e seca [Perrin, 1988] e 17,85 g (150 mmol) de cloreto de tionila, previamente purificado [Perrin, 1988]. A mistura reacional foi mantida sob refluxo e agitação por aproximadamente 40 minutos, até que não mais se observasse a formação de vapores de HCl, que foram detectados com NH₄OH. Depois de esfriada, esta foi transferida para um balão de fundo redondo de 100 mL e os materiais voláteis eliminados em rotaevaporador. O resíduo obtido, cloreto de benzoíla impuro, foi, a seguir, destilado, utilizando-se uma aparelhagem usual de destilação a pressão reduzida, obtendo-se o 15,29 g de um líquido de cor amarela clara.

$\eta = 79\%$ P.E.(~5mmHg) = 66-68 °C. P.E. [Handbook, 1972] = 71°C(9mmHg)

III.1.1.2 – Preparação do cloridrato de N[(dimetilamino)etil]benzamida (X=H; i.1)

Procedendo-se de acordo com o método descrito no item II.3.2.2.1.1, partiu-se de 8,81g (100 mmol) de *N,N*-dimetiletilenodiamina, 14,06g (100 mmol) de cloreto de benzoíla em 125 mL de éter etílico (tratado e seco) [Perrin, 1988].

Foram obtidos 17,45 g de um sólido amorfo branco que foi lavado várias vezes com éter etílico.

$\eta = 76\%$ P.F.(exp.) = 123-125⁰C P.F.[Testa, 1983] = 149⁰C

Análise elementar:

calc. C(%)57,76 H(%)7,49 N(%)12,25

exp. C(%)57,33 H(%)7,58 N(%)12,04

RMN ¹H (Metanol-d₄ 99,9%; ref. TMS):

δ (ppm): 7,92-7,45(m, 5H, Ar-H); 3,78 (t, J=6,00Hz, 2H, NHCH₂); 3,41 (t, J=5,70Hz, 2H, CH₂N (CH₃)₂); 2,99(s, 6H, N(CH₃)₂).

RMN ¹³C(Metanol-d₄ 99,9%; ref. TMS):

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

IV (cm⁻¹): 3058-2959(ν_{C-H} , Ar e alif); 1647($\nu_{C=O}$); 1538($\nu_{C=C}$); 1306(ν_{C-N} amida); 1079, 716(δ_{C-H} , Ar);

III.1.1.3 – Preparação da N[(dimetilamino)etil]benzamida

Procedendo-se de acordo com o método descrito no item II.3.2.2.1.1, partiu-se de 100 mL de uma solução saturada de NaHCO₃ e de 2,29g (10 mmol) de cloridrato de N[(dimetilamino)etil]benzamida. Foram obtidos 1,72g de um líquido viscoso de cor amarela clara que foi caracterizado por RMN ¹H.

RMN ¹H (CDCl₃ 99,9%; ref TMS):

δ (ppm): 7,85-7,42(m, 5H, Ar-H); 3,53 (t, J=6,90Hz, 2H, NHCH₂); 2,58(t, J=6,90Hz, 2H, CH₂N (CH₃)₂) 2,32(s, 6H, N(CH₃)₂).

III.1.1.4. - Preparação do brometo de [2-(benzamido)etil]benzildimetilamônio (X=H; I.1)

Procedendo-se de acordo com o método descrito no item II.3.2.2.2, partiu-se de 1,72g (9 mmol) de N[(dimetilamino)etil]benzamida, de 12,24g (72 mmol) de brometo de benzila e de 45mL de tetrahidrofurano. Ao resfriar o meio reacional foi observado a formação de duas fases, superior (THF) e inferior (um líquido viscoso). A fase superior (THF) foi retirada com o auxílio de uma pipeta graduada. Em seguida, foram adicionados 50 mL de éter etílico, sendo observado que o líquido viscoso, anteriormente citado, se solidificava na presença de éter etílico. Então, resíduo viscoso contido no balão foi submetido a agitação em éter etílico por ~24 horas, quando foi observado a formação de um sólido amorfo de cor branca que foi filtrado através de um funil de placa sinterizada e seco sob vácuo. Foram obtidos 3,03 g de um sólido amorfo de cor branca.

$\eta = 93\%$ P.F.(exp.) = 151-152 °C P.F.(lit.) = composto não descrito

Análise elementar:

calc. C(%) 59,51 H(%) 6,38 N(%) 7,71

exp. C(%) 59,67 H(%) 6,31 N(%) 7,65

RMN ^1H (Metanol- d_4 99,9%; ref. TMS):

δ (ppm): 7,90-7,40 (m, 10H, Ar-H); 4,68 (s, 2H, $\text{N}^+\text{CH}_2\text{Ar}$); 3,97(t, J = 6,60 Hz, 2H, NHCH_2); 3,62(t, J = 6,60 Hz, 2H, CH_2N^+); 3,17 (s, 6H, $\text{N}^+(\text{CH}_3)_2$)

RMN ^{13}C (Metanol- d_4 99,9%; ref. TMS):

δ (ppm): 134,73(C1), 129,75(C2-6), 128,43(C3-5), 133,23(C4), 170,40(C7), 35,04(C8), 63,77(C9), 50,79(C10-11), 69,64(C12), 134,31(C13), 132,06(C14-18), 130,42(C15-17), 128,67(C16).

IV (cm^{-1}): 3240($\nu_{\text{N-H, amida}}$); 3086-2933($\nu_{\text{C-H, Ar, CH}_2\text{CH}_3}$); 1658($\nu_{\text{C=O, amida}}$); 1579,
1530($\nu_{\text{C=C}}$); 1305($\nu_{\text{C-N, amida}}$); 1021, 760($\delta_{\text{C-H, Ar}}$);

III.1.2 – Preparação do brometo de [2-(4-metil-benzamido)etil]benzildimetil amônio ($\text{X}=\text{CH}_3$; I.2)

III.1.2.1. Preparação da N[(dimetilamino)etil]-4-metil-benzamida ($\text{X}=\text{CH}_3$; i.2)

Procedendo-se de acordo com o método descrito no item II.3.2.2.1.2, partiu-se de 4,08g (30 mmol) do ácido 4-metil-benzóico, de 3,04g (30 mmol) de trietilamina, de 3,26g (30 mmol) de cloroformato de etila, de 105 mL de tetrahydrofurano e de 2,65g de (30 mmol) de N,N-dimetiletilenodiamina. Foram obtidos 1,54g de um sólido levemente amarelado.

$\eta = 25\%$ P.F.(exp.) = 47-51 $^{\circ}\text{C}$ P.F.(lit.) = composto não descrito

Análise elementar:

calc. C(%) 68,66 H(%) 8,85 N(%) 13,34

exp. C(%) 68,86 H(%) 8,84 N(%) 13,42

RMN ^1H (Metanol- d_4 99,9%; ref. TMS):

δ (ppm): 7,74-7,23(m, 4H, Ar-H); 3,52 (t, $J=6.90\text{Hz}$, 2H, NHCH_2); 2,60(t,
 $J=6.90\text{Hz}$, 2H, $\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_3)_2$); 2,32 (s, 6H, $\text{N}(\text{CH}_3)_2$)

RMN ^{13}C (Metanol- d_4 99,9%; ref. TMS):

δ (ppm): 132,72 (C1), 128,35(C2-6), 130,17 (C3-5), 143,42 (C4),
170,25(C7), 38,44(C8), 59,27(C9), 45,49(C10-11), 21,44(C12).

IV (cm^{-1}): 3335($\nu_{\text{N-H, amida}}$); 3096-2765($\nu_{\text{C-H, Ar, CH}_2\text{CH}_3}$); 1631($\nu_{\text{C=O, amida}}$); 1552(
 $\nu_{\text{C=C}}$); 1306($\nu_{\text{C-N amida}}$) 1042, 751($\delta_{\text{C-H, Ar}}$);

III.1.2.2 – Preparação do brometo de [2-(4-metil-benzamido)etil]benzildimetilamônio (X=CH₃, I.2).

Procedendo-se de acordo com o método descrito no item II.3.2.2.2, partiu-se de 0,43g (1,78 mmol) de N[(dimetilamino)etil]-4-metil-benzamida, de 2,73g (16 mmol) de brometo de benzila e de 15mL de tetrahidrofurano. Ao resfriar o meio reacional foram recolhidos 0,75g de um sólido branco amorfo que foi purificado lavando-se várias vezes com éter-etílico gelado.

η = 25% P.F.(exp.) = 168-169 °C P.F.(lit.) = composto não descrito

Análise elementar:

calc. C(%) 60,48 H(%) 6,68 N(%) 7,42

exp. C(%) 60,00 H(%) 6,71 N(%) 7,53

RMN ¹H (Metanol-d₄ 99,9%; ref. TMS):

δ (ppm): 7,78-7,28 (2m,9H, Ar-H); 4,68 (s,2H, N⁺CH₂Ar); 3,95(t, J=6,60 Hz, 2H, NHCH₂); 3,63(t, J=6,60 Hz, 2H, CH₂N⁺); 3,17 (s, 6H, N⁺(CH₃)₂)

RMN ¹³C (Metanol-d₄ 99,9%; ref. TMS):

δ (ppm): 132,09(C1), 130,35(C2-6), 130,35(C3-5), 144,10(C4), 170,42(C7), 34,97(C8), 63,81(C9), 50,76(C10-11), 69,64(C12), 134,30(C13), 132,09(C14-18), 130,45(C15-17), 128,66(C16), 21,48(C19).

IV (cm⁻¹): 3248(ν_{N-H} , amida); 3070-2955(ν_{C-H} , Ar, CH₂ CH₃); 1659($\nu_{C=O}$, amida); 1571, 1528($\nu_{C=C}$); 1304(ν_{C-N} amida); 755,737(δ_{C-H} , Ar);

III.1.3 Preparação do brometo de [2-(4-*n*-butil-benzamido)etil]benzildimetilamônio (X=*n*-C₄H₉; I.3)

III.1.3.1– Preparação da N[(dimetilamino)etil]-4-*n*-butil-benzamida (X=*n*-C₄H₉, i.3).

Procedendo-se de acordo com o método descrito no item II.3.2.2.1.2. partiu-se de 5,23g (30 mmol) do ácido 4-*n*-butil-benzóico, de 3,04g (30 mmol) de trietilamina, de 3,26g (30 mmol) de cloroformato de etila, de 105 mL de tetrahidrofurano e de 2,65g (30 mmol) de N,N-dimetiletilenodiamina. Foram obtidos 5,49g de um líquido viscoso de cor amarela. Foi possível observar através do espectro de RMN ¹H desse líquido viscoso a presença de um produto secundário, que foi identificado como sendo o derivado carbamato.

O mistura de reação foi purificada através do correspondente cloridrato, procedendo-se de acordo com as indicações de Vogel [Vogel, 1989] em um balão de 250 mL de 3 bocas, equipado com agitador magnético, banho de gelo, tubo de CaCl₂, entrada para gás, foram adicionados 5,49 g da mistura obtida 100 mL de tolueno (tratado e seco) [Perrin, 1988]. Sob agitação e à 0°C foi passado cloreto de hidrogênio, seco e gerado *in situ*, na solução toluênica. Após a saturação da solução foi observado a turvação, seguida da separação de um sólido de coloração branca. Continuou-se a passar a corrente de gás até que não se observasse mais a formação de sólido. A mistura reacional foi transferida para um balão de fundo redondo de 250 mL e os solventes e materiais voláteis foram eliminados em um rotaevaporador. O produto sólido foi, a seguir, seco à pressão reduzida. O resíduo obtido foi recristalizado duas vezes de éter-etanol. Foram obtidos 3,83g de um sólido branco bastante higroscópico, depois de duas recristalizações de éter-etanol.

$\eta = 48\%$ P.F.(exp.) = 106-108⁰C P.F.(lit.) = composto não descrito

* a partir do ácido 4-*n*-butil-benzóico

Análise elementar:

calc. C(%) 63,25 H(%) 8,85 N(%) 9,84

exp. C(%) 62,71 H(%) 8,53 N(%) 9,96

RMN ^1H (Metanol- d_4 99,9%; ref. TMS):

δ (ppm): 7,84-7,28(m, 4H, Ar-H); 3,77(t, $J=6,00$ Hz, 2H, NHCH_2); 3,40(t, $J=5,70$ Hz, 2H, $\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_3)_2$); 2,98 (s, 6H, $\text{N}(\text{CH}_3)_2$); 2,67(t, $J=7,50$ Hz, 2H, CH_2Ar); 1,61(p, $J=6,90$ Hz, 2H, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$); 1,35(sext, $J=7,80$ Hz, 2H, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$); 0,97(t, $J=7,20$ Hz, 3H, CH_2CH_3)

RMN ^{13}C (Metanol- d_4 99,9%; ref. TMS):

δ (ppm): 132,00(C1), 128,62(C2-6), 129,64(C3-5), 148,84(C4), 171,02(C7), 36,44(C8), 58,79(C9), 43,94(10-11), 36,34(C12), 34,59(C13), 23,29(C14), 14,21(C15).

IV (cm^{-1}): 3337($\nu_{\text{N-H, amida}}$); 3019-2857($\nu_{\text{C-H, Ar, CH}_2\text{CH}_3}$); 1636($\nu_{\text{C=O, amida}}$); 1541($\nu_{\text{C=C}}$); 1298($\nu_{\text{C-N, amida}}$);

Preparação da N[(dimetilamino)etil]-4-*n*-butil-benzamida ($\text{X}=\text{n-C}_4\text{H}_9$; i.3)

Procedendo-se como descrito no item II.3.2.2.1.1, partiu-se de 1,42g (5 mmol) do cloridrato de N[(dimetilamino)etil]-4-*n*-butil-benzamida e de 50 mL de uma solução de NaHCO_3 . Foram obtidos 1,06g de um líquido viscoso de cor amarela clara que foi caracterizado por seu espectro de RMN ^1H .

RMN ^1H : (CDCl_3 99,9%; ref. TMS)

δ (ppm): 7,84-7,28(m, 4H, Ar-H); 6,83(s_{alargado} , 1H, $\text{C}(\text{O})\text{NH}$); 3,50(q, $J=7,50$ Hz, 2H, NHCH_2); 2,67(t, $J=7,50$ Hz, 2H, CH_2Ar); 2,45(t, $J=7,50$ Hz,

2H, $\underline{CH_2}N(CH_3)_2$); 2,20 (s, 6H, $N(\underline{CH_3})_2$) 1,61(p, $J=7,50$ Hz, 2H, $\underline{CH_2CH_2CH_2CH_3}$); 1,35(sext, $J=7,50$ Hz, 2H, $\underline{CH_2CH_2CH_3}$); 0,97(t, $J=7,50$ Hz, 3H, $\underline{CH_2CH_3}$).

III.1.3.2. – Preparação do brometo de [2-(4-*n*-butil-benzamido)etil]benzil dimetilamônio (X=*n*-C₄H₉, I.3).

Procedendo-se de acordo com o método descrito no item II.3.2.2.2, partiu-se de 1,06g (4,2 mmol) de N[(dimetilamino)etil]-4-*n*-butil-benzamida, de 5,84g (34 mmol) de brometo de benzila e de 20 mL de tetrahidrofurano. Ao se esfriar a mistura reacional não cristalizou sendo transferida para um balão de 50 mL. A seguir, o solvente foi removido em rotaevaporador e o resíduo obtido (líquido oleoso, bastante viscoso, amarelado) foi lavado com éter etílico gelado e, a seguir seco sob pressão reduzida (~2mmHg). Obteve-se um produto sólido amorfo de cor branca. O sólido obtido foi tentativamente submetido à recristalização de éter-etanol e, deixado sob refrigeração por uma semana, não sendo observado a formação de cristais. Após eliminar os solventes foi observado a formação de um resíduo líquido, viscoso e amarelado, que foi seco, sob vácuo, obtendo-se um produto sólido, branco amorfo (bastante higroscópico). Foram obtidos 1,71g de um sólido amorfo de cor branca. O produto mostrou-se puro, de acordo com seus espectros de RMN ¹H e de RMN ¹³C, pelos quais foi caracterizado.

$\eta = 96\%$ P.F.(exp.) = 76-80 P.F.(lit) = composto não descrito

Análise elementar:

calc.	C(%)63,00	H(%)7,45	N(%)6,68
exp.	C(%)61,69	H(%)7,21	N(%)6,58

RMN ¹H (Metanol-d₄ 99,9%; ref. TMS):

δ (ppm): 7,81-7,28(2m, 9H, Ar-H); 4,68 (s, 2H, N^+CH_2Ar); 3,96(t, J=6,90 Hz, 2H, $NHCH_2$); 3,61(t, J=6,90 Hz, 2H, CH_2N^+); 3,16 (s, 6H, $N^+(CH_3)_2$); 2,66(t, J=7,50 Hz, 2H, CH_2CH_2Ar); 1,62(p, J=7,50 Hz, 2H, CH_2CH_2Ar); 1,32(m, 6H, $CH_3CH_2CH_2CH_2CH_2$); 0,89(t, J=6.30 Hz, 3H, CH_2CH_3)

RMN ^{13}C (Metanol- d_4 99,9%; ref. TMS):

δ (ppm): 132,04(C1), 128,50(C2-6), 129,75(C3-5), 148,92(C4), 170,37(C7), 34,99(C8), 63,81(C9), 50,77(C10-11), 69,61(C12), 134,31(C13), 132,04(C14-18), 130,41(C15-17), 128,67(C16), 36,76(C19), 32,82(C20), 32,37(21), 29,97(C22), 23,65(23), 14,40(C24).

IV (cm^{-1}): 3258(ν_{N-H} , amida); 3027-2863(ν_{C-H} , Ar, CH_2CH_3); 1648($\nu_{C=O}$, amida); 1538($\nu_{C=C}$); 1302(ν_{C-N} , amida); 761(δ_{C-H});

III.1.4 – Preparação do brometo de [2-(4-*n*-hexil-benzamido)etil]benzil dimetilamônio(X=*n*-C₆H₁₃;I.4)

III.1.4.1 - Preparação do cloridrato de N[(dimetilamino)etil]4-*n*-hexil-benzamida

Procedendo-se de acordo com o método descrito no item II.3.2.2.1.1, partiu-se de 1,76g (20 mmol) de N,N-dimetiletilenodiamina, de 4,17g (20 mmol) de cloreto de 4-*n*-hexil-benzoíla comercial em 25 mL de éter etílico (tratado e seco). Foram obtidos 5,58 g de um sólido amorfo de cor branca, bastante higroscópico. Depois de seco sob vácuo este foi submetido a recristalização de éter etílico/etanol.

η = 89% P.F.(exp.) = 98-102 P.F.(lit) = composto não descrito

Análise elementar:

calc.	C(%)65,26	H(%)9,34	N(%)8,95
exp.	C(%)64.53	H(%)9.11	N(%)8,88

RMN ^1H (Metanol- d_4 99,9%; ref. TMS):

δ (ppm): 7,84-7,28(m, 4H, Ar-H); 3,77(t, $J=6,00$ Hz, 2H, NHCH_2); 3,40(t, $J=5,70$ Hz, 2H, $\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_3)_2$); 2,98 (s, 6H, $\text{N}(\text{CH}_3)_2$); 2,67(t, $J=7,50$ Hz, 2H, CH_2Ar); 1,63(p, $J=6,90$ Hz, 2H, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$); 1,4-1,2(m, 6H, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$); 0,89(t, $J=6,90$ Hz, 3H, CH_2CH_3)

RMN ^{13}C (Metanol- d_4 99,9%; ref. TMS):

δ (ppm): 132,05(C1), 128,65(C2-6), 129,69(C3-5), 148,88(C4), 171,06(C7), 36,76(C8), 58,84(C9), 43,98(C10-11), 36,39(C12), 32,82(C13), 32,37(C14), 29,68(C15), 29,66(C16), 14,40(C17).

IV (cm^{-1}): 3332($\nu_{\text{N-H}}$, amida); 3020-2885($\nu_{\text{C-H}}$, Ar, CH_2 CH_3); 1634($\nu_{\text{C=O}}$, amida); 1540($\nu_{\text{C=C}}$); 1311($\nu_{\text{C-N}}$, amida); 840($\delta_{\text{C-H}}$);

III.1.4.2 – Preparação da N[(dimetilamino)etil]-4-*n*-hexil-benzamida.

Procedendo-se como descrito no item III.1.3, partiu-se de 1,56g (5 mmol) do cloridrato de N[(dimetilamino)etil]-4-*n*-hexil-benzamida e 50 mL de uma solução de NaHCO_3 . Foram obtidos 1,18g de um líquido viscoso de cor amarela clara.

III.1.4.3 – Preparação do brometo de [2-(4-*n*-hexil-benzamido)etil]benzil dimetilamônio.

Procedendo-se de acordo com o método descrito no item II.3.2.2.2, partiu-se de 1,18g (4,2 mmol) de N[(dimetilamino)etil]-4-*n*-hexil-benzamida, de 5,84g (34 mmol) de brometo de benzila e de 20 mL de tetrahidrofurano.

$\eta = 97\%$ P.F.(exp.) = 74-78 P.F.(lit) = composto não descrito

Análise elementar:

[illegible]

δ (ppm): 7,81-7,28(2m, 9H, Ar-H); 4,68 (s, 2H, $\text{N}^+\text{CH}_2\text{Ar}$); 3,96(t, J=6,90 Hz, 2H, NHCH_2); 3,61(t, J=6,90 Hz, 2H, CH_2N^+); 3,16 (s, 6H, $\text{N}^+(\text{CH}_3)_2$); 2,66(t, J=7,50 Hz, 2H, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Ar}$); 1,62(p, J=7,50 Hz, 2H, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Ar}$); 1,32(m, 6H, $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$); 0,89(t, J=6.30 Hz, 3H, CH_2CH_3)

δ (ppm): 132,04(C1), 128,50(C2-6), 129,75(C3-5), 148,92(C4), 170,37(C7), 34,99(C8), 63,81(C9), 50,77(C10-11), 69,61(C12), 134,31(C13), 132,04(C14-18), 130,41(C15-17), 128,67(C16), 36,76(C19), 32,82(C20), 32,37(C21), 29,97(C22), 23,65(C23), 14,40(C24).

65

III.1.5 – Preparação do brometo de [2-(4-metoxi-benzamido)etil]benzil dimetilamônio (X=OCH₃; I.5).

III.1.5.1 – Preparação da N[(dimetilamino)etil]-4-metoxi-benzamida (X=OCH₃; i.5).

Procedendo-se de acordo com indicações de Becker [Becker, 1993], em um balão de 500 mL de fundo redondo, equipado com aparelho de ‘Dean-Stark’, funil de adição, condensador de refluxo protegido com tubo de CaCl₂ anidro, agitador magnético e manta aquecedora, foram adicionados 15,23 g (100 mmol) de ácido 4-metoxi-benzóico, 250 mL de tolueno (tratado e seco). Em seguida, foi dado início ao aquecimento para solubilizar o ácido que é praticamente insolúvel em tolueno à temperatura ambiente e adição de 10,58 g (120 mmol) de N,N-dimetiletilenodiamina solubilizados em tolueno. A mistura reacional foi mantida sob refluxo, acompanhando-se o progresso da reação através de placas de cromatografia (TLC) eluídas em CHCl₃ : MeOH (9 : 1 v/v) e através da formação de gotículas de água, que se decantavam, observadas no aparelho de ‘Dean-Stark’. Após 55 horas de refluxo, não foi observada a formação de gotículas de água, a mistura reacional se apresentou numa coloração marron bastante intensa e, então, foi decidido desligar o refluxo. Ao esfriar a mistura reacional foi observada a formação de um sólido marron que foi filtrado através de um funil de placa sinterizada e lavado com tolueno gelado. Foi observado também que este sólido foi solúvel em água e corresponde ao sal de amônio do ácido 4-metoxi-benzóico e da N,N-dimetiletilenodiamina.

O filtrado, solução toluênica, teve o solvente eliminado, obtendo-se 5,49g de um líquido viscoso de cor marron que mostrou conter o produto desejado, conforme os sinais observados no seu espectro de RMN ¹H. A N[(dimetilamino)etil]-4-metoxi-benzamida foi purificada através de coluna cromatográfica, utilizando como eluentes CHCl₃ : MeOH : trietilamina (8 : 1 : 1), obtendo-se 3,87g de um sólido de cor amarelo-amarronzada, que após ter sido

deixado sob vácuo por ~5 horas foi observado a formação de um sólido amarelo-amarronzado.

$\eta = 17\%$ P.F.(exp.) = 50-52 °C P.F.(lit) = composto não descrito

Análise elementar:

calc. C(%)64,84 H(%)8,16 N(%)12,60

exp. C(%)64,57 H(%)8,03 N(%)12,26

RMN ^1H (Metanol- d_4 99,9%; ref. TMS):

δ (ppm): 7,84-6,94(m, 4H, Ar-H); 3,83 (s, 3H, OCH_3); 3,50 (t, $J=6,90$ Hz, 2H, NHCH_2); 2,55(t, $J=6,90$ Hz, 2H, $\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_3)_2$); 2,30 (s, 6H, $\text{N}(\text{CH}_3)_2$)

RMN ^{13}C (Metanol- d_4 99,9%; ref. TMS):

δ (ppm): 127,64(C1), 130,10(C2-6), 114,68(C3-5), 163,88(C4), 169,67(C7), 38,45(C8), 59,30(C9), 45,50(C10-11), 55,89(C12).

IV (cm^{-1}): 3364($\nu_{\text{N-H, amida}}$); 3071-2771($\nu_{\text{C-H, Ar, CH}_2\text{CH}_3}$); 1634($\nu_{\text{C=O, amida}}$); 1607, 1550($\nu_{\text{C=C}}$); 1297($\nu_{\text{C-N, amida}}$); 1256($\nu_{\text{O-CH}_3}$); 1033, 847, 768($\delta_{\text{C-H, Ar}}$);

III.1.5.2 – Preparação do brometo de [2-(4-metoxi-benzamido)etil]benzil dimetilamônio (X=OCH₃, I.5).

Procedendo-se de acordo com o método descrito no item II.3.2.2.2, partiu-se de 1,13 g (5 mmol) de N[(dimetilamino)etil]-4-metoxi-benzamida, de 6,84g (40 mmol) de brometo de benzila e de 25 mL de tetrahidrofurano. Ao resfriar o meio reacional foi recolhido 1,94 g de um sólido branco amorfo.

$\eta = 97\%$ P.F.(exp.) = 155-157°C P.F.(lit) = composto não descrito

Análise elementar:

calc. C(%) 58,02 H(%) 6,41 N(%) 7,12

exp. C(%) 57,92 H(%) 6,38 N(%) 7,13

RMN ^1H (Metanol- d_4 99,9%; ref. TMS):

δ (ppm): 7,88-6,90 (2m,9H, Ar-H); 4,67 (s, 2H, $\text{N}^+\text{CH}_2\text{Ar}$); 3,95(t, J=6,60 Hz, 2H, CH_2N^+); 3,84 (s, 3H, OCH_3) 3,60(t, J=6,60 Hz, 2H, NHCH_2); 3,16 (s, 6H, $\text{N}^+(\text{CH}_3)_2$)

RMN ^{13}C (Metanol- d_4 99,9%; ref. TMS):

δ (ppm): 126,74(C1), 130,38(C2-6), 114,93(C3-5), 164,37(C4), 169,96(C7), 34,99(C8), 63,88(C9), 50,79(C10-11), 69,63(C12), 134,32(C13), 132,05(C14-18), 130,42(C15-17), 128,69(C16), 56,05 (C19).

IV (cm^{-1}): 3228($\nu_{\text{N-H}}$, amida); 3048-2773($\nu_{\text{C-H}}$, Ar, CH_2 CH_3); 1655($\nu_{\text{C=O}}$, amida); 1607($\nu_{\text{C=C}}$); 1316($\nu_{\text{C-N}}$, amida); 1252($\nu_{\text{O-CH}_3}$); 1036, 841, 736($\delta_{\text{C-H}}$, Ar);

III.1.6 – Preparação do brometo de [2-(4-cloro-benzamido)etil]benzildimetil amônio(X=Cl; I.6)

III.1.6.1 – Preparação da N[(dimetilamino)etil]-4-cloro-benzamida (X=Cl; i.6).

Procedendo-se de acordo com o método descrito no item II.3.2.2.1.2, partiu-se de 1,21g (10 mmol) do ácido 4-cloro-benzóico, de 1,01g (10 mmol) de trietilamina, de 1,09g (10 mmol) de cloroformato de etila, de 35 mL de tetrahidrofurano e de 0,88g de (10 mmol) de N,N-dimetiletilenodiamina. Após recristalização com éter etílico – *n*-hexano foram obtidos 0,57g de um sólido de cor branca, que foi recristalizado de *n*-hexano/éter etílico.

$\eta = 25\%$ P.F.(exp.) = 74-78 $^{\circ}\text{C}$ P.F.(lit) = P.F. não encontrado

Análise elementar:

calc. C(%)58,28 H(%)6,67 N(%)12,36

exp. C(%)58,26 H(%)6,40 N(%)12,41

RMN ^1H (Metanol- d_4 99,9%; ref. TMS):

δ (ppm): 7,84-7,44(m, 4H, Ar-H); 3,53 (t, $J=6,90$ Hz, 2H, NHCH_2); 2,62(t, $J=6,90$ Hz, 2H, $\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_3)_2$); 2,35 (s, 6H, $\text{N}(\text{CH}_3)_2$)

RMN ^{13}C (Metanol- d_4 99,9%; ref. TMS):

δ (ppm): 138,79(C1), 130,05(C2-6), 129,74(C3-5), 134,23(C4), 169,06(C7), 38,47(C8), 59,18(C9), 45,47(C10-11).

IV (cm^{-1}): 3375($\nu_{\text{N-H, amida}}$); 3062-2785($\nu_{\text{C-H, Ar, CH}_2\text{CH}_3}$); 1636($\nu_{\text{C=O, amida}}$); 1596, 1540($\nu_{\text{C=C}}$); 1325($\nu_{\text{C-N, amida}}$); 1091, 758($\delta_{\text{C-H, Ar}}$);

III.1.6.2–Preparação do brometo de [2-(4-clorobenzamido)etil]benzildimetilamônio (X=Cl; I.6).

Procedendo-se de acordo com o método descrito no item II.3.2.2.2, partiu-se de 0,40g (1,8 mmol) de N[(dimetilamino)etil]-4-cloro-benzamida, de 2,41g (14 mmol) de brometo de benzila e de 9 mL de tetrahidrofurano. Ao resfriar o meio reacional foi recolhido 0,65g de um sólido branco amorfo, que foi recristalizado de éter etílico/etanol.

$\eta = 93\%$ P.F.(exp.) = 188-190 $^{\circ}\text{C}$ P.F.(lit) = composto não descrito

Análise elementar:

calc. C(%) 54,36 H(%) 5,57 N(%) 7,04

exp. C(%) 54,49 H(%) 5,45 N(%) 6,83

RMN ^1H (Metanol- d_4 99,9%; ref. TMS):

δ (ppm): 7,87-7,49 (2m,9H, Ar-H); 4,68 (s, 2H, $\text{N}^+\text{CH}_2\text{Ar}$); 3,97(t, $J=6,60$ Hz, 2H, CH_2N^+); 3,62(t, $J=6,60$ Hz, 2H, NHCH_2); 3,17 (s, 6H, $\text{N}^+(\text{CH}_3)_2$)

RMN ^{13}C (Metanol- d_4 99,9%; ref. TMS):

δ (ppm): 139,30(C1), 130,18(C2-6), 129,91(C3-5), 133,35(C4), 169,18(C7), 35,04(C8), 63,66(C9), 50,77(C10-11), 69,59(C12), 134,31(C13), 132,11(C14-18), 130,46(C15-17), 128,65(C16).

IV (cm^{-1}): 3244($\nu_{\text{N-H}}$, amida); 3001-2771($\nu_{\text{C-H}}$, Ar, CH_2CH_3); 1665($\nu_{\text{C=O}}$, amida); 1590($\nu_{\text{C=C}}$); 1305($\nu_{\text{C-N}}$, amida) 1071, 752($\delta_{\text{C-H}}$, Ar);

III.1.7 – Preparação do brometo de [2-(4-bromo-benzamido)etil]benzil dimetilamônio (X=Br; I.7).

III.1.7.1 – Preparação da N[(dimetilamino)etil]-4-bromo-benzamida (X=Br; i.7).

Procedendo-se de acordo com o método descrito no item II.3.2.2.1.2, partiu-se de 6,03g (30 mmol) do ácido 4-bromo-benzóico, de 3,04g (30 mmol) de trietilamina, de 3,26g (30 mmol) de cloroformato de etila, de 105 mL de tetrahydrofurano e de 2,65g de (30 mmol) de N,N-dimetiletilenodiamina. Após recristalização com éter etílico – *n*-hexano foram obtidos 3,16g de um sólido cristalino de cor amarelo-amarronzado (pardo).

$\eta = 39\%$ P.F.(exp.) = 73-75 $^{\circ}\text{C}$ P.F.(lit) = P.F. não encontrado

Análise elementar:

calc. C(%) 48,72 H(%) 5,58 N(%) 10,33

exp. C(%) 48,54 H(%) 5,39 N(%) 10,01

RMN ^1H (Metanol- d_4 99,9%; ref. TMS):

δ (ppm): 7,76-7,61(m, 4H, Ar-H); 3,52 (t, $J=6,90$ Hz, 2H, NHCH_2); 2,58(t, $J=6,90$ Hz, 2H, $\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_3)_2$); 2,32 (s, 6H, $\text{N}(\text{CH}_3)_2$)

RMN ^{13}C (Metanol- d_4 99,9%; ref. TMS):

δ (ppm): 127,09(C1), 132,77(C2-6), 130,13(C3-5), 134,68(C4), 169,12(C7), 38,55(C8), 59,16(C9), 45,50(C10-11).

IV (cm^{-1}): 3375($\nu_{\text{N-H}}$, amida); 3059-2782($\nu_{\text{C-H}}$, Ar, CH_2CH_3); 1636($\nu_{\text{C=O}}$, amida); 1592, 1538($\nu_{\text{C=C}}$); 1314($\nu_{\text{C-N}}$, amida); 1072, 756($\delta_{\text{C-H}}$, Ar);

III.1.7.2 – Preparação do brometo de [2-(4-bromo-benzamido)etil]benzil dimetilamônio (X=Br; I.7).

Procedendo-se de acordo com o método descrito no item II.3.2.2.2, partiu-se de 1,36g (5 mmol) de N[(dimetilamino)etil]-4-bromo-benzamida, de 6,84g (40 mmol) de brometo de benzila e de 25mL de tetrahidrofurano. Ao resfriar o meio reacional foram recolhidos 2,06g de um sólido branco amorfo.

$\eta = 93\%$ P.F.(exp.) = 190-194 °C P.F.(lit.) = composto não descrito

Análise elementar:

calc. C(%)48,89 H(%)5,01 N(%)6,34

exp. C(%)48,64 H(%)5,11 N(%)6,32

RMN ^1H (Metanol- d_4 99,9%; ref. TMS):

δ (ppm): 7,81-7,50 (2m,9H, Ar-H); 4,66 (s,2H, $\text{N}^+\text{CH}_2\text{Ar}$); 3,95 (t, J=6,60 Hz, 2H, NHCH_2); 3,59 (t, J=6,60 Hz, 2H, CH_2N^+); 3,16 (s, 6H, $\text{N}^+(\text{CH}_3)_2$)

RMN ^{13}C (Metanol- d_4 99,9%; ref. TMS):

δ (ppm): 127,72(C1), 132,99(C2-6), 130,30(C3-5), 133,82(C4), 169,27(C7), 35,05(C8), 63,63(C9), 50,78(C10-11), 69,69(C12), 134,31(C13), 132,11(C14-18), 130,46(C15-17), 128,65(C16).

IV (cm^{-1}): 3239($\nu_{\text{N-H}}$, amida); 3013-2956($\nu_{\text{C-H}}$, Ar, CH_2CH_3); 1663($\nu_{\text{C=O}}$, amida); 1590, 1524($\nu_{\text{C=C}}$); 1305($\nu_{\text{C-N}}$, amida); 1071, 752($\delta_{\text{C-H}}$, Ar);

III.1.8 – Preparação do brometo de [2-(4-nitro-benzamido)etil]benzildimetilamônio (X=NO₂; I.8).

III.1.8.1 – Preparação da N[(dimetilamino)etil]-4-nitro-benzamida (X=NO₂; i.8).

Procedendo-se de acordo com o método descrito no item II.3.2.2.1.2, partiu-se de 5,01g (30 mmol) do ácido 4-nitro-benzóico, de 3,04g (30 mmol) de trietilamina, de 3,26g (30 mmol) de cloroformato de etila, de 105 mL de tetrahidrofurano e de 2,65g (30 mmol) de N,N-dimetiletilenodiamina. Após recristalização com éter etílico – *n*-hexano foram obtidos 3,92g de um sólido cristalino de cor amarela clara.

η =55% P.F.(exp.) = 68-69⁰C P.F.(lit) = P.F. não encontrado

Análise elementar:

calc. C(%) 55,69 H(%) 6,37 N(%) 17,71

exp. C(%) 55,66 H(%) 6,05 N(%) 17,92

RMN ¹H (Metanol-d₄ 99,9%; ref. TMS):

δ (ppm): 8,33-8,02(m, 4H, Ar-H); 3,55 (t, J=6,60 Hz, 2H, NHCH₂); 2,59(t, J=6,60 Hz, 2H, CH₂N(CH₃)₂); 2,32 (s, 6H, N(CH₃)₂)

RMN ¹³C (Metanol-d₄ 99,9%; ref. TMS):

δ (ppm): 141,40(C1), 129,73(C2-6), 124,62(C3-5), 151,07(C4), 168,12(C7), 38,74(C8), 59,13(C9), 45,55(C10-11).

IV (cm⁻¹): 3242(ν_{N-H} , amida); 3105-2791(ν_{C-H} , Ar, CH₂ CH₃); 1654($\nu_{C=O}$, amida); 1602, 1521($\nu_{C=C}$); 1344(ν_{N-O}); 1306(ν_{C-N} , amida); 1106, 716(δ_{C-H} , Ar);

III.1.8.2 – Preparação do brometo de [2-(4-nitro-benzamido)etil]benzil dimetilamônio (X=NO₂; I.8).

Procedendo-se de acordo com o método descrito no item II.3.2.2.2, partiu-se de 2,37g (10 mmol) de N[(dimetilamino)etil]-4-nitro-benzamida, de 13,68g (80 mmol) de brometo de benzila e de 50mL de tetrahidrofurano. Ao resfriar o meio reacional foram recolhidos 4,04g de um sólido branco amorfo, que foi recristalizado de éter etílico/etanol.

$\eta = 99\%$ P.F.(exp.) = 213-215⁰C P.F.(lit.) = composto não descrito

Análise elementar:

calc. C(%) 52,95 H(%) 5,43 N(%) 10,29

exp. C(%) 52,65 H(%) 5,37 N(%) 10,09

RMN ¹H (Metanol-d₄ 99,9%; ref. TMS):

δ (ppm): 8,34-7,50 (2m,9H, Ar-H); 4,68 (s, 2H, N⁺CH₂Ar); 3,99(t, J=6,60 Hz, 2H, NHCH₂); 3,63(t, J=6,60 Hz, 2H, CH₂N⁺); 3,17 (s, 6H, N⁺(CH₃)₂)

RMN ¹³C (Metanol-d₄ 99,9%; ref. TMS):

δ (ppm): 140,40(C1), 129,92(C2-6), 124,78(C3-5), 151,34(C4), 168,29(C7), 35,17(C8), 63,56(C9), 50,80(C10-11), 69,65(C12), 134,33(13), 132,10(C14-18), 130,45(C15-17), 128,66(C16).

IV (cm⁻¹): 3231(ν_{N-H} , amida); 3042-2960(ν_{C-H} , Ar, CH₂ CH₃); 1666($\nu_{C=O}$, amida); 1605, 1527($\nu_{C=C}$); 1346(ν_{N-O}); 1303(ν_{C-N} , amida); 738(δ_{C-H} , Ar);

III.1.9 – Preparação do brometo de [2-(4-ciano-benzamido)etil]benzildimetil amônio (X=CN; I.9).

III.1.9.1 – Preparação da N[(dimetilamino)etil]-4-ciano-benzamida (X=CN;i.9).

Procedendo-se de acordo com o método descrito no item II.3.2.2.1.2. partiu-se de 4,41g (30 mmol) do ácido 4-ciano-benzóico, de 3,04g (30 mmol) de trietilamina, de 3,26g (30 mmol) de cloroformato de etila, de 105 mL de tetrahidrofurano e de 2,65g de (30mmol) de N,N-dimetiletenodiamina. Após recristalização com éter etílico – *n*-hexano foram obtidos 1,44g de um sólido cristalino de cor amarela clara.

$\eta = 22 \%$ P.F.(exp.) = 79-81⁰C P.F.(lit) = composto não descrito

Análise elementar:

calc. C(%) 66,34 H(%) 6,96 N(%) 19,34

exp. C(%) 65,90 H(%) 6,82 N(%) 19,12

RMN ¹H (Metanol-d₄ 99,9%; ref. TMS):

δ (ppm): 8,00-7,81(m, 4H, Ar-H); 3,54 (t, J=6.90 Hz, 2H, NHCH₂); 2,59(t, J=6.90 Hz, 2H, CH₂N(CH₃)₂); 2,32 (s, 6H, N(CH₃)₂)

RMN ¹³C (Metanol-d₄ 99,9%; ref. TMS):

δ (ppm): 139,82(C1), 129,23(C2-6), 133,52(C3-5), 116,06(C4), 168,36(C7), 38,70(C8), 59,12(C9), 45,53(C10-11), 119,09(C12).

IV (cm⁻¹): 3312(ν_{N-H} , amida); 3087-2784(ν_{C-H} , Ar, CH₂ CH₃); 2234(ν_{CN}); 1642($\nu_{C=O}$, amida); 1553($\nu_{C=C}$); 1311(ν_{C-N} , amida); 768(δ_{C-H} , Ar);

III.1.9.2 – Preparação do brometo de [2-(4-ciano-benzamido)etil]benzil dimetilamônio (X=CN;I.9).

Procedendo-se de acordo com o método descrito no item II.3.2.2.2, partiu-se de 1,09g (5 mmol) de N[(dimetilamino)etil]-4-ciano-benzamida, de 6,84g (40

mmol) de brometo de benzila e de 25mL de tetrahidrofurano. Ao resfriar o meio reacional foram recolhidos 2,13g de um sólido branco amorfo. Após recristalização com éter-etílico etanol (seco) foram obtidos 1,79 g de cristais brancos.

$\eta = 92\%$ P.F.(exp.) = 181-184⁰C P.F.(lit.) = composto não descrito

Análise elementar:

calc.* C(%) 56,78 H(%) 5,90 N(%) 10,45

exp. C(%) 56,94 H(%) 6,00 N(%) 10,24

* - valores calculados considerando-se a presença de uma molécula de água.

RMN ¹H (Metanol-d₄ 99,9%; ref. TMS):

δ (ppm): 8,06-7,50 (2m,9H, Ar-H); 4,70 (s,2H, N⁺CH₂Ar); 3,99(t, J=6,60 Hz, 2H, NHCH₂); 3,64(t, J=6,60 Hz, 2H, CH₂N⁺); 3,18 (s, 6H, N⁺(CH₃)₂)

RMN ¹³C (Metanol-d₄ 99,9%; ref. TMS):

δ (ppm): 138,82(C1), 129,39(C2-6), 133,67(C3-5), 116,47(C4), 168,51(C7), 35,15(C8), 63,59(C9), 50,82(C10-11), 69,63(C12), 134,34(C13), 132,07(C14-18), 130,42(C15-17), 128,65(C16), 119,01(C19).

IV (cm⁻¹): 3240(ν_{N-H} , amida); 3096-2957(ν_{C-H} , Ar, CH₂ CH₃); 2228(ν_{CN}); 1648($\nu_{C=O}$, amida); 1570($\nu_{C=C}$); 1308(ν_{C-N} , amida); 730(δ_{C-H} , Ar);

III.1.10 - Preparação do brometo de [2-(4- α,α,α -trifluorometil-benzamido) etil]benzildimetilamônio (X=CF₃; I.10).

III.1.10.1 – Preparação da N[(dimetilamino)etil]-4- α,α,α -trifluorometil-benzamida (X=CF₃; i.10).

Procedendo-se de acordo com o método descrito no item II.3.2.2.1.2, partiu-se de 1,90g (10 mmol) do ácido 4- α,α,α -trifluorometil-benzóico, de 1,01g

(10 mmol) de trietilamina, de 1,09g (10 mmol) de cloroformato de etila, de 35 mL de tetrahydrofurano e de 0,88g (10 mmol) de N,N-dimetiletilenodiamina. Após recristalização com éter etílico – n-hexano foram obtidos 1,27g de um sólido cristalino de cor branca.

$\eta = 49\%$ P.F.(exp.) = 49-54⁰C P.F.(lit) = P.F. não encontrado

Análise elementar:

calc. C(%)55,38 H(%)5,81 N(%)10,76

exp. C(%)55,18 H(%)5,83 N(%)10,79

RMN ¹H (Metanol-d₄ 99,9%; ref. TMS):

δ (ppm): 8,03-7,76(m, 4H, Ar-H); 3,56 (t, J=6.60 Hz, 2H, NHCH₂); 2,63(t, J=6.60 Hz, 2H, CH₂N(CH₃)₂); 2,35 (s, 6H, N(CH₃)₂)

RMN ¹³C (Metanol-d₄ 99,9%; ref. TMS):

δ (ppm): 139,32(C1), 130,68(C2-6), 129,09(C3-5), 134,28(C4), 168,77(C7), 38,55(C8), 59,10(C9), 45,42(C10-11), 126,49(C12).

IV (cm⁻¹): 3328(ν_{N-H} , amida); 3100-2784(ν_{C-H} , Ar, CH₂ CH₃); 1644($\nu_{C=O}$, amida); 1579($\nu_{C=C}$); 1331(ν_{C-F}); 1308(ν_{C-N} , amida); 1065, 772(δ_{C-H} , Ar);

III.1.10.2 – Preparação do brometo de [2-(4- α,α,α -trifluorometilbenzamido)etil]benzildimetilamônio (X=CF₃, I.10).

Procedendo-se de acordo com o método descrito no item II.3.2.2.2, partiu-se de 1,04g (4 mmol) de N[(dimetilamino)etil]-4- α,α,α -trifluorometilbenzamida, de 5,47g (32 mmol) de brometo de benzila e de 20 mL de tetrahydrofurano. Ao resfriar o meio reacional foi recolhido um sólido branco amorfo. Após recristalização com éter-etílico etanol (seco) foram obtidos 1,06 g de cristais brancos.

$\eta = 62\%$ P.F.(exp.) = 173-175⁰C P.F.(lit.) = composto não descrito

Análise elementar:

calc.* C(%)50,78 H(%)5,39 N(%)6,23

exp. C(%)50,74 H(%)5,31 N(%)6,13

* - Valores calculados considerando-se a presença de uma molécula de água.

RMN ^1H (Metanol- d_4 99,9%; ref. TMS):

δ (ppm): 8,07-7,50(2m, 9H, Ar-H); 4,68 (s, 2H, $\text{N}^+\text{CH}_2\text{Ar}$); 3,99(t, $J=6,60$ Hz, 2H, NHCH_2); 3,63(t, $J=6,60$ Hz, 2H, CH_2N^+); 3,17 (s, 6H, $\text{N}^+(\text{CH}_3)_2$)

RMN ^{13}C (Metanol- d_4 99,9%; ref. TMS):

δ (ppm): 138,47(C1), 130,47(C2-6), 129,29(C3-5), 134,72,(C4), 168,99(C7), 35,10(C8), 63,60(C9), 50,79(C10-11), 69,68(C12), 134,32(C13), 132,13(C14-18), 130,47(C15-17), 128,65(C16), 126,73(C19).

IV (cm^{-1}): 3275($\nu_{\text{N-H}}$, amida); 3071-2940($\nu_{\text{C-H}}$, Ar, CH_2 CH_3); 1662($\nu_{\text{C=O}}$, amida); 1580, 1531($\nu_{\text{C=C}}$); 1326($\nu_{\text{C-F}}$); 1304($\nu_{\text{C-N}}$, amida); 1065, 731($\delta_{\text{C-H}}$, Ar);

III.1.11 - Preparação do brometo de [2-(4-metilsulfonil-benzamido)etil] benzildimetilamônio ($\text{X}=\text{SO}_2\text{CH}_3$, I.11).

III.1.11.1 – Preparação da N[(dimetilamino)etil]-4-metilsulfonil-benzamida ($\text{X}=\text{SO}_2\text{CH}_3$, i.11).

Procedendo-se de acordo com o método descrito no item II.3.2.2.1.2, partiu-se de 4,00g (20 mmol) do ácido 4-metilsulfonil-benzóico, de 2,02g (20 mmol) de trietilamina, de 2,18g (20 mmol) de cloroformato de etila, de 70 mL de tetrahidrofurano e de 1,76g (20 mmol) de N,N-dimetiletilenodiamina. Após recristalização com éter etílico – etanol foram obtidos 0.89g de um sólido cristalino de cor branca.

$\eta = 33\%$ P.F.(exp.) = 118-119⁰C P.F.(lit) = composto não descrito

Análise elementar:

calc. C(%)53,31 H(%)6,71 N(%)10,36

exp. C(%)52,72 H(%)6,64 N(%)10,01

RMN ¹H (Metanol-d₄ 99,9%; ref. TMS):

δ (ppm): 8,07-8,00(m, 4H, Ar-H); 3,62 (t, J=6.60 Hz, 2H, NHCH₂); 2,59(t, J=6.90 Hz, 2H, CH₂N(CH₃)₂); 3,15(s, 3H, SO₂CH₃); 2,50(s, 6H, N(CH₃)₂)

RMN ¹³C (Metanol-d₄ 99,9%; ref. TMS):

δ (ppm): 140,66(C1), 129,44(C2-6), 128,66(C3-5), 144,64(C4), 168,49(C7), 38,74(C8), 59,15(C9), 45,55(C10-11), 44,19(C12).

IV (cm⁻¹): 3333(ν_{N-H} , amida); 3063-2764(ν_{C-H} , Ar, CH₂ CH₃); 1638($\nu_{C=O}$, amida); 1571($\nu_{C=C}$); 1320(ν_{C-N} , amida); 1290($\nu_{S=O}$); 1089, 753(δ_{C-H} , Ar);

III.1.11.2 – Preparação do brometo de [2-(4-metilsulfonil-benzamido)etil]benzildimetilamônio (X=SO₂CH₃, I.11).

Procedendo-se de acordo com o método descrito no item II.3.2.2.2, partiu-se de 0,49g (1,8 mmol) de N[(dimetilamino)etil]-4-metilsulfonil-benzamida, de 2,46g (14,4 mmol) de brometo de benzila e de 10 mL de tetrahidrofurano. Ao resfriar o meio reacional foi recolhido um sólido branco amorfo. Após recristalização com etanol (seco) foram obtidos 0,41 g de cristais brancos.

$\eta = 51\%$ P.F.(exp.) = 202-204⁰C P.F.(lit.) = composto não descrito

Análise elementar:

calc. C(%) 51,70 H(%)5,71 N(%)6,35

exp. C(%) 51,26 H(%)5,80 N(%)6,23

RMN ^1H (Metanol- d_4 99,9%; ref. TMS):

δ (ppm): 8,12-7,50(2m,9H, Ar-H); 4,69 (s, 2H, $\text{N}^+\text{CH}_2\text{Ar}$); 4,00 (t, $J=6,60$ Hz, 2H, NHCH_2); 3,65(t, $J=6,60$ Hz, 2H, CH_2N^+); 3,18 (s, 6H, $\text{N}^+(\text{CH}_3)_2$); 3,17(s, 3H, SO_2CH_3)

RMN ^{13}C (Metanol- d_4 99,9%; ref. TMS):

δ (ppm): 139,64(C1), 129,62(C2-6), 128,82(C3-5), 145,06(C4), 168,64(C7), 35,15(C8), 63,59(C9), 50,76(C10-11), 69,63(C12), 134,34(C13), 132,09(C14-18), 130,45(C15-17), 128,66(C16), 44,18(C19).

IV (cm^{-1}): 3367($\nu_{\text{N-H}}$, amida); 3080-2877($\nu_{\text{C-H}}$, Ar, CH_2 CH_3); 1650($\nu_{\text{C=O}}$, amida); 1544($\nu_{\text{C=C}}$); 1312($\nu_{\text{C-N}}$, amida); 1291($\nu_{\text{S=O}}$); 1145, 786($\delta_{\text{C-H}}$, Ar);

Tabela III.1.1. Valores das constantes físicas, das massas e dos rendimentos obtidos nas preparações da série de N[(dimetilamino)etil]-4-X-benzamida substituídas, compostos i.1-i.11.

Com posto	X	Fórmula Molecular	P.M. (g/mol)	P.F. (°C)	P.F. (°C) lit	Quant Material (g)	Rendimento (%)
i.1	H ^(c)	C ₁₁ H ₁₇ Cl ₁ N ₂ O ₁ ^(c)	228,78 ^(c)	123-125 ^(c)	149 ^(c)	17,45 ^(c)	76 ^(c)
i.2	CH ₃	C ₁₂ H ₁₈ N ₂ O ₁	206,30	47-51	^(a)	1,54	25
i.3	<i>n</i> -C ₄ H ₉ ^(c)	C ₁₅ H ₂₅ Cl ₁ N ₂ O ₁ ^(c)	284,85 ^(c)	106-108 ^(c)	^(a)	3,83 ^(c)	48 ^(c)
i.4	<i>n</i> -C ₆ H ₁₃ ^(c)	C ₁₇ H ₂₉ Cl ₁ N ₂ O ₁ ^(c)	312,91 ^(c)	98-102 ^(c)	^(a)	5,58 ^(c)	89 ^(c)
i.5	OCH ₃	C ₁₂ H ₁₈ N ₂ O ₂	222,30	50-52	^(a)	3,87	17
i.6	Cl	C ₁₁ H ₁₅ Cl ₁ N ₂ O ₁	226,70	74-77	^(b)	0,57	25
i.7	Br	C ₁₁ H ₁₅ Br ₁ N ₂ O ₁	271,16	73-75	^(b)	3,16	39
i.8	NO ₂	C ₁₁ H ₁₅ N ₃ O ₃	237,26	65-66	^(a)	3,92	55
i.9	CN	C ₁₂ H ₁₅ N ₃ O ₁	217,27	79-81	^(a)	1,44	22
i.10	CF ₃	C ₁₂ H ₁₅ F ₃ N ₂ O ₁	260,27	49-54	^(b)	1,27	49
i.11	SO ₂ CH ₃	C ₁₂ H ₁₈ N ₂ O ₁ S ₁	270,36	118-119	^(a)	0,89	33

^(a) – Valor não disponível, composto não descrito na literatura pesquisada.

^(b) – Valor não encontrado na literatura.

^(c) Os dados para os compostos **i.1**, **i.3**, **i.4** referem-se aos correspondentes cloridratos.

Tabela III.1.2 – Valores das análises elementares calculada e obtida experimentalmente para a série de N[(dimetilamino)etil]-4-X-benzamida substituídas, compostos i.1-i.11.

Com posto	X	Calculado ^(b)			Experimental ^(b)			$\Delta^{(a)(b)}$		
		%C	%H	%N	%C	%H	%N	%C	%H	%N
i.1	H ^(a)	57,76	7,49	12,25	57,33	7,58	12,04	0,43	0,09	0,21
i.2	CH ₃	68,66	8,85	13,34	68,86	8,84	13,42	0,20	0,01	0,08
i.3	<i>n</i> -C ₄ H ₉ ^(b)	63,25	8,85	9,84	62,71	8,53	9,96	0,54	0,32	0,12
i.4	<i>n</i> -C ₆ H ₁₃ ^(b)	65,26	9,34	8,95	64,53	9,11	8,88	0,73	0,23	0,07
i.5	OCH ₃	64,84	8,16	12,60	64,57	8,03	12,26	0,27	0,13	0,34
i.6	Cl	58,28	6,67	12,36	58,26	6,40	12,41	0,02	0,27	0,05
i.7	Br	48,72	5,58	10,33	48,54	5,39	10,01	0,18	0,19	0,32
i.8	NO ₂	55,69	6,37	17,71	55,66	6,05	17,92	0,03	0,32	0,21
i.9	CN	66,34	6,96	19,34	65,90	6,82	19,12	0,44	0,14	0,22
i.10	CF ₃	55,38	5,81	10,76	55,18	5,83	10,79	0,20	0,02	0,03
i.11	SO ₂ CH ₃	53,31	6,71	10,36	52,72	6,64	10,01	0,59	0,07	0,35

^(a) – Variação entre os valores calculados e obtidos experimentalmente.

^(b) – Os dados para os compostos i.1, i.3, i.4 se referem aos correspondentes cloridratos.

Tabela III.1.3 – Valores das posições das bandas de absorção na região do infravermelho, em cm^{-1} , obtidos em pastilhas de KBr, para a série de N[(dimetilamino)etil]-4-X-benzamida substituídas, compostos i.1-i.11.

Com posto	X	$\nu_{\text{N-H}}$ ^(a)	$\nu_{\text{C-H}}$ ^(a)	$\nu_{\text{C=O}}$ ^(a)	$\nu_{\text{C=C}}$ ^(a)	$\nu_{\text{C-N}}$ ^(a) amida	$\delta_{\text{C=C}}$ ^(b)	ν_{X} ^(a)
i.1	H ^(c)	-	3058-2959 ^(c)	1647 ^(c)	1538 ^(c)	1306 ^(c)	1079, 716 ^(c)	
i.2	CH ₃	3335	3096-2765	1631	1552	1306	1042, 751	2971, 2944 _(C-H)
i.3	<i>n</i> -C ₄ H ₉ ^(c)	3337 ^(c)	3019-2857 ^(c)	1636 ^(c)	1541 ^(c)	1298 ^(c)	1298 ^(c)	2957, 2931 _(C-H) ^(c)
i.4	<i>n</i> -C ₆ H ₁₃ ^(c)	3332 ^(c)	3020-2885 ^(c)	1634 ^(c)	1540 ^(c)	1311 ^(c)	840 ^(c)	2960- 2855 _(C-H) ^(c)
i.5	OCH ₃	3364	3071-2771	1634	1607	1297	1033, 847	1256 ($\nu_{\text{O-CH}_3}$)
i.6	Cl	3375	3062-2785	1636	1596, 1540	1325	1091, 758	
i.7	Br	3375	3059-2782	1636	1592, 1538	1314	1072, 756	
i.8	NO ₂	3242	3105-2791	1654	1602, 1521	1306	1106, 716	1344 _(N-O)
i.9	CN	3312	3087-2784	1642	1553	1311	768	2234 _(CN)
i.10	CF ₃	3328	3100-2784	1644	1579	1308	1065, 772	1331 _(C-F)
i.11	SO ₂ CH ₃	3333	3063-2764	1638	1571	1320	1089, 753	1290 _(S=O)

^(a) ν - Deformação axial.

^(b) δ - Deformação angular.

^(c) - Os compostos **i.1**, **i.3**, **i.4** foram caracterizados como os correspondentes cloridratos.

Tabela III.1.4 – Valores dos deslocamentos químicos, em ppm, relativos ao TMS e das constantes de acoplamento J ,em Hz, observados nos espectros de RMN ¹H, utilizando-se metanol-d₄ como solvente para a série de N[(dimetilamiono)etil]-4-X-benzamida substituídas, compostos i.1-i.11.

Composto		δ (ppm)
i.1	H ^(a)	7,92-7,45(m, 5H, Ar-H); 3,78 (t, J=5,70 Hz, 2H, $\underline{\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_3)_2}$); 3,41(t, J=6,00 Hz, 2H, $\text{NH}\underline{\text{CH}_2}$); 2,99 (s, 6H, $\text{N}(\underline{\text{CH}_3})_2$)
i.2	CH ₃	7,74-7,23(m, 4H, Ar-H); 3,52 (t, J=6,90 Hz, 2H, $\text{NH}\underline{\text{CH}_2}$); 2,60(t, J=6,90 Hz, 2H, $\underline{\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_3)_2}$); 2,32 (s, 6H, $\text{N}(\underline{\text{CH}_3})_2$)
i.3	<i>n</i> -C ₄ H ₉ ^(a)	7,84-7,28(m, 4H, Ar-H); 3,77 (t, J=5,70 Hz, 2H, $\underline{\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_3)_2}$); 3,40(t, J=6,00 Hz, 2H, $\text{NH}\underline{\text{CH}_2}$); 2,98 (s, 6H, $\text{N}(\underline{\text{CH}_3})_2$) 2,67(t, J=7,50 Hz, 2H, $\underline{\text{CH}_2\text{Ar}}$); 1,61(p, J=6,90 Hz, 2H, $\text{CH}_2\underline{\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3}$); 1,35(sext, J=7,80 Hz, 2H, $\text{CH}_2\underline{\text{CH}_2\text{CH}_3}$); 0,97(t, J=7,20 Hz, 3H, $\text{CH}_2\underline{\text{CH}_3}$)
i.4	<i>n</i> -C ₆ H ₁₃ ^(a)	7,84-7,28(m, 4H, Ar-H); 3,77 (t, J=5,70 Hz, 2H, $\underline{\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_3)_2}$); 3,40(t, J=6,00 Hz, 2H, $\text{NH}\underline{\text{CH}_2}$); 2,98 (s, 6H, $\text{N}(\underline{\text{CH}_3})_2$)2,67(t, J=7,50 Hz, 2H, $\underline{\text{CH}_2\text{Ar}}$); 1,63(p, J=6,90 Hz, 2H, $\text{CH}_2\underline{\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3}$); 1,4-1,2(m, 6H, $\text{CH}_2\text{CH}_2\underline{\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3}$); 0,89(t, J=6,90 Hz, 3H, $\text{CH}_2\underline{\text{CH}_3}$)
i.5	OCH ₃	7,84-6,94(m, 4H, Ar-H); 3,83 (s, 3H, OCH_3); 3,50 (t, J=6,90 Hz, 2H, $\text{NH}\underline{\text{CH}_2}$); 2,55(t, J=6,90 Hz, 2H, $\underline{\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_3)_2}$); 2,30 (s, 6H, $\text{N}(\underline{\text{CH}_3})_2$)
i.6	Cl	7,84-7,44(m, 4H, Ar-H); 3,53 (t, J=6,90 Hz, 2H, $\text{NH}\underline{\text{CH}_2}$); 2,62(t, J=6,90 Hz, 2H, $\underline{\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_3)_2}$); 2,35 (s, 6H, $\text{N}(\underline{\text{CH}_3})_2$)
i.7	Br	7,76-7,61(m, 4H, Ar-H); 3,52 (t, J=6,90 Hz, 2H, $\text{NH}\underline{\text{CH}_2}$); 2,58(t, J=6,90 Hz, 2H, $\underline{\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_3)_2}$); 2,32 (s, 6H, $\text{N}(\underline{\text{CH}_3})_2$)
i.8	NO ₂	8,33-8,02(m, 4H, Ar-H); 3,55 (t, 6,60 Hz, 2H, $\text{NH}\underline{\text{CH}_2}$); 2,59(t, 6,60 Hz, 2H, $\underline{\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_3)_2}$); 2,32 (s, 6H, $\text{N}(\underline{\text{CH}_3})_2$)
i.9	CN	8,00-7,81(m, 4H, Ar-H); 3,54 (t, J=6,9Hz, 2H, $\text{NH}\underline{\text{CH}_2}$); 2,59(t, J=6,90 Hz, 2H, $\underline{\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_3)_2}$); 2,32 (s, 6H, $\text{N}(\underline{\text{CH}_3})_2$)
i.10	CF ₃	8,03-7,76(m, 4H, Ar-H); 3,56 (t, J=6,60 Hz, 2H, $\text{NH}\underline{\text{CH}_2}$); 2,63(t, J=6,60 Hz, 2H, $\underline{\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_3)_2}$); 2,35 (s, 6H, $\text{N}(\underline{\text{CH}_3})_2$)
i.11	SO ₂ CH ₃	8,07-8,00(m, 4H, Ar-H); 3,62 (t, J=6,60 Hz, 2H, $\text{NH}\underline{\text{CH}_2}$); 2,59(t, J=6,90 Hz, 2H, $\underline{\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_3)_2}$); 3,15(s, 3H, SO_2CH_3); 2,50(s, 6H, $\text{N}(\underline{\text{CH}_3})_2$)

^(a) Os compostos i.1, i.3, i.4 foram caracterizados como os correspondentes cloridratos.

Tabela III.1.5 – Valores dos deslocamentos químicos, em ppm, observados nos espectros de RMN ¹³C, com referência ao TMS, utilizando-se metanol-d₄ como solvente para a série de N[(dimetilamiono)etil]-4-X-benzamida substituídas, compostos i.1-i.11.

Com posto	X	C1	C2,6	C3,5	C4	C7	C8	C9	C10, 11	C12	C13	C14	C15	C16	C17
i.1	H ^(a)	134,69	129,69	128,57	133,22	171,09	36,44	58,82	43,99						
i.2	CH ₃	132,72	128,35	130,17	143,42	170,25	38,44	59,27	45,49	21,44					
i.3	n-C ₄ H ₉ ^(a)	132,00	128,62	129,64	148,84	171,02	36,44	58,79	43,94	36,34	34,59	23,29	14,21		
i.4	n-C ₆ H ₁₃ ^(a)	132,05	128,65	129,69	148,88	171,06	36,76	58,84	43,98	36,39	32,82	32,37	29,68	29,66	14,40
i.5	OCH ₃	127,64	130,10	114,68	163,88	169,67	38,45	59,30	45,50	55,89					
i.6	Cl	138,79	130,05	129,74	134,23	169,06	38,47	59,18	45,47						
i.7	Br	127,09	132,77	130,13	134,68	169,12	38,55	59,16	45,50						
i.8	NO ₂	141,40	129,73	124,62	151,07	168,12	38,74	59,13	45,55						
i.9	CN	139,82	129,23	133,52	116,06	168,36	38,70	59,12	45,53	119,09					
i.10	CF ₃	139,32	130,68	129,09	134,28	168,77	38,55	59,10	45,42	126,49					
i.11	SO ₂ CH ₃	140,66	129,44	128,66	144,64	168,49	38,74	59,15	45,55	44,19					

^(a) - Os compostos i.1, i.3, i.4 foram caracterizados como os correspondentes cloridratos.

Tabela III.1.6. - Valores das constantes físicas, da massa e dos rendimentos obtidos nas preparações da série de brometos de [2(4-X-benzamido)etil]benzildimetilamônio substituídos, compostos I.1-I.11.

Com posto	X	Fórmula Molecular	P.M. (g/mol)	P.F. (°C)	P.F. (°C) lit	Quant Material (g)	Rendimento (%)
I.1	H	C ₁₈ H ₂₃ Br ₁ N ₂ O ₁	363,32	151-152	(a)	3,03	93
I.2	CH ₃	C ₁₉ H ₂₅ Br ₁ N ₂ O ₁	377,34	168-169	(a)	0,75	95
I.3	<i>n</i> -C ₄ H ₉	C ₂₂ H ₃₁ N ₂ O ₁	419,43	76-80	(a)	1,71	96
I.4	<i>n</i> -C ₆ H ₁₃	C ₂₄ H ₃₅ Br ₁ N ₂ O ₁	447,49	74-78	(a)	1,85	97
I.5	OCH ₃	C ₁₉ H ₂₅ Br ₁ N ₂ O ₂	393,33	155-157	(a)	1,94	97
I.6	Cl	C ₁₈ H ₂₂ Br ₁ Cl ₁ N ₂ O ₁	397,75	188-190	(a)	0,70	93
I.7	Br	C ₁₈ H ₂₂ Br ₂ N ₂ O ₁	442,20	190-194	(a)	2,06	93
I.8	NO ₂	C ₁₈ H ₂₂ Br ₁ N ₃ O ₃	408,30	213-215	(a)	4,04	99
I.9	CN	C ₁₉ H ₂₂ Br ₁ N ₃ O ₁	388,31	181-184	(a)	1,79	92
I.10	CF ₃	C ₁₉ H ₂₂ Br ₁ F ₃ N ₂ O ₁	431,31	173-175	(a)	1,06	62
I.11	SO ₂ CH ₃	C ₁₉ H ₂₅ Br ₁ N ₂ O ₃ S ₁	441,40	202-204	(a)	0,41	51

^(a) Compostos não descritos na literatura.

Tabela III.1.7 – Valores das análises elementares calculada e obtida experimentalmente para a série de brometos de [2(4-X-benzamido)etil]benzildimetilamônio substituídos, compostos I.1-I.11.

Composto	X	Calculado			Experimental			$\Delta^{(a)}$		
		%C	%H	%N	%C	%H	%N	%C	%H	%N
I.1	H	59,51	6,38	7,71	59,67	6,31	7,65	0,16	0,07	0,06
I.2	CH ₃	60,48	6,68	7,42	60,68	6,43	7,19	0,20	0,27	0,23
I.3	n-C ₄ H ₉	63,00	7,45	6,68	61,69	7,21	6,58	1,31	0,24	0,10
I.4	n-C ₆ H ₁₃	64,42	7,88	6,26	63,38	7,43	6,13	1,04	0,45	0,13
I.5	OCH ₃	58,02	6,41	7,12	57,92	6,38	7,13	0,10	0,30	0,01
I.6	Cl	54,36	5,57	7,04	54,49	5,45	6,83	0,13	0,12	0,21
I.7	Br	48,89	5,01	6,34	48,64	5,11	6,32	0,25	0,10	0,02
I.8	NO ₂	52,95	5,43	10,29	52,65	5,37	10,09	0,30	0,06	0,20
I.9	CN ^(b)	56,78	5,90	10,45	56,94	6,00	10,24	0,16	0,10	0,21
I.10	CF ₃ ^(b)	50,78	5,39	6,23	50,74	5,31	6,13	0,04	0,08	0,10
I.11	SO ₂ CH ₃	51,70	5,71	6,35	51,26	5,80	6,23	0,44	0,09	0,12

^(a) – Variação entre os valores calculados e obtidos experimentalmente.

^(b) – Valores calculados considerando-se a presença de uma molécula de água.

Tabela III.1.8 – Valores das posições das bandas de absorção na região do infravermelho, em cm^{-1} , pastilhas de KBr, para a série de brometos de [2(4-X-benzamido)etil]benzildimetilamônio substituídos, compostos I.1-I.11.

Com posto	X	$\nu_{\text{N-H}}^{(a)}$	$\nu_{\text{C-H}}^{(a)}$	$\nu_{\text{C=O}}^{(a)}$	$\nu_{\text{C=C}}^{(a)}$	$\nu_{\text{C-N}}^{(a)}$ Amida	$\delta_{\text{C=C}}^{(b)}$	$\nu_{\text{X}}^{(a)}$
I.1	H	3240	3086-2933	1658	1601, 1579	1305	1021, 861, 712	
I.2	CH ₃	3248	3070-2955	1659	1571, 1528	1304	755, 737	2994, 2985 _(C-H)
I.3	n-C ₄ H ₉	3258	3027-2863	1648	1538	1302	761	2956- 2863 _(C-H)
I.4	n-C ₆ H ₁₃	3266	3070-2856	1649	1539	1301	761	2955- 2856 _(C-H)
I.5	OCH ₃	3228	3077-2773	1655	1607	1316	1036, 841, 736	1252 ($\nu_{\text{O-CH}_3}$)
I.6	Cl	3244	3001-2771	1665	1590, 1524	1305	1071, 752	
I.7	Br	3239	3013-2956	1663	1590, 1524	1305	1071, 752	
I.8	NO ₂	3231	3042-2960	1666	1605, 1527	1303	738	1346 _(N-O)
I.9	CN	3240	3096-2957	1648	1570	1308	730	2228 _(CN)
I.10	CF ₃	3275	3071-2940	1662	1580, 1531	1304	1065, 731	1326 _(C-F)
I.11	SO ₂ CH ₃	3367	3080-2877	1650	1544	1312	1145, 789	1291 _(S=O)

^(a) ν - Deformação axial.

^(b) δ - Deformação angular.

Tabela III.1.9 - Valores dos deslocamentos químicos, em ppm, relativos ao TMS e das constantes de acoplamento J ,em Hz, observados nos espectros de RMN ^1H , utilizando-se metanol- d_4 como solvente, para a série de brometos de [2(4-X-benzamido)etil]benzil dimetilamônio substituídos, compostos I.1-I.11.

Composto	X	δ (ppm)
I.1	H	7,89-7,44(m, 10H, Ar-H); 4,68 (s, 2H, $\text{N}^+\text{CH}_2\text{Ar}$); 3,97 (t, $\text{J}=6,60$ Hz, 2H, NHCH_2); 3,62(t, $\text{J}=6,60$ Hz, 2H, CH_2N^+); 3,17 (s, 6H, $\text{N}^+(\text{CH}_3)_2$);
I.2	CH_3	7,78-7,28(2m, 9H, Ar-H); 4,66 (s, 2H, $\text{N}^+\text{CH}_2\text{Ar}$); 3,95 (t, $\text{J}=6,60$ Hz, 2H, NHCH_2); 3,59(t, $\text{J}=6,60$ Hz, 2H, CH_2N^+); 3,16 (s, 6H, $\text{N}^+(\text{CH}_3)_2$); 2,39(s, 3H, CH_3Ar)
I.3	$n\text{-C}_4\text{H}_9$	7,81-7,28(2m, 9H, Ar-H); 4,67 (s, 2H, $\text{N}^+\text{CH}_2\text{Ar}$); 3,96(t, $\text{J}=6,60$ Hz, 2H, NHCH_2); 3,61 (t, $\text{J}=6,60$ Hz, 2H, CH_2N^+); 3,16 (s, 6H, $\text{N}^+(\text{CH}_3)_2$); 2,67(t, $\text{J}=7,50$ Hz, 2H, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Ar}$); 1,61(p, $\text{J}=7,50$ Hz, 2H, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Ar}$); 1,35(sext, $\text{J}=7,50$ Hz, 2H, $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2$); 0,93(t, $\text{J}=7,50$ Hz, 3H, CH_2CH_3)
I.4	$n\text{-C}_6\text{H}_{13}$	7,81-7,28(2m, 9H, Ar-H); 4,68 (s, 2H, $\text{N}^+\text{CH}_2\text{Ar}$); 3,96(t, $\text{J}=6,60$ Hz, 2H, NHCH_2); 3,61(t, $\text{J}=6,90$ Hz, 2H, CH_2N^+); 3,16 (s, 6H, $\text{N}^+(\text{CH}_3)_2$); 2,66(t, $\text{J}=7,50$ Hz, 2H, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Ar}$); 1,62(p, $\text{J}=7,50$ Hz, 2H, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Ar}$); 1,32(m, 6H, $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$); 0,89(t, $\text{J}=6,30$ Hz, 3H, CH_2CH_3)
I.5	OCH_3	7,88-6,97(m, 9H, Ar-H); 4,67 (s, 2H, $\text{N}^+\text{CH}_2\text{Ar}$); 3,95 (t, $\text{J}=6,60$ Hz, 2H, NHCH_2); 3,84(s, 2H, OCH_3); 3,60(t, $\text{J}=6,60$ Hz, 2H, CH_2N^+); 3,16 (s, 6H, $\text{N}^+(\text{CH}_3)_2$);
I.6	Cl	7,90-7,47(2m,9H, Ar-H); 4,68 (s, 2H, $\text{N}^+\text{CH}_2\text{Ar}$); 3,97(t, $\text{J}=6,60$ Hz, 2H, NHCH_2); 3,62(t, $\text{J}=6,60$ Hz, 2H, CH_2N^+); 3,17 (s, 6H, $\text{N}^+(\text{CH}_3)_2$)
I.7	Br	7,81-7,50(2m, 9H, Ar-H); 4,66 (s, 2H, $\text{N}^+\text{CH}_2\text{Ar}$); 3,95(t, $\text{J}=6,60$ Hz, 2H, NHCH_2); 3,60(t, $\text{J}=6,60$ Hz, 2H, CH_2N^+); 3,16 (s, 6H, $\text{N}^+(\text{CH}_3)_2$)
I.8	NO_2	8,34-7,50(2m, 9H, Ar-H); 4,68 (s, 2H, $\text{N}^+\text{CH}_2\text{Ar}$); 3,99(t, $\text{J}=6,60$ Hz, 2H, NHCH_2); 3,63(t, $\text{J}=6,60$ Hz, 2H, CH_2N^+); 3,18 (s, 6H, $\text{N}^+(\text{CH}_3)_2$)
I.9	CN	8,06-7,50(2m, 9H, Ar-H); 4,70 (s, 2H, $\text{N}^+\text{CH}_2\text{Ar}$); 3,99(t, $\text{J}=6,60$ Hz, 2H, NHCH_2); 3,65(t, $\text{J}=6,60$ Hz, 2H, CH_2N^+); 3,18 (s, 6H, $\text{N}^+(\text{CH}_3)_2$)
I.10	CF_3	8,07-7,50(2m, 9H, Ar-H); 4,68 (s, 2H, $\text{N}^+\text{CH}_2\text{Ar}$); 3,99(t, $\text{J}=6,60$ Hz, 2H, NHCH_2); 3,63(t, $\text{J}=6,60$ Hz, 2H, CH_2N^+); 3,17 (s, 6H, $\text{N}^+(\text{CH}_3)_2$)
I.11	SO_2CH_3	8,12-7,50(2m,9H, Ar-H); 4,69 (s, 2H, $\text{N}^+\text{CH}_2\text{Ar}$); 4,00(t, $\text{J}=6,60$ Hz, 2H, NHCH_2); 3,65(t, $\text{J}=6,60$ Hz, 2H, CH_2N^+); 3,18 (s, 6H, $\text{N}^+(\text{CH}_3)_2$); 3,17(s, 3H, SO_2CH_3)

Tabela III.1.10 – Valores dos deslocamentos químicos, em ppm, observados nos espectros de RMN-¹³C para a série de brometos de [2(4-X-benzamido)etil]benzildimetilamônio substituídos, compostos I.1-I.11, na concentração de ~0,1mol/L, com referência ao TMS, utilizando-se metanol-d₄ como solvente.

Composto	X	C1	C2,6	C3,5	C4	C7	C8	C9	C10, 11	C12	C13	C	C	C16	C19	C20	C21	C22	C23	C24
I.1	H	134,73	129,75	128,43	133,23	170,40	35,04	63,77	50,79	69,64	134,31	132,06	130,42	128,67						
I.2	CH ₃	132,09	128,46	130,35	144,10	170,42	34,97	63,81	50,76	69,64	134,30	132,09	130,45	128,66	21,48					
I.3	<i>n</i> -C ₄ H ₉	132,06	128,49	129,76	148,93	170,40	34,99	63,80	50,77	69,63	134,30	132,06	130,42	128,65	36,46	34,59	23,31	14,23		
I.4	<i>n</i> -C ₆ H ₁₃	132,04	128,50	129,75	148,92	170,37	34,99	63,81	50,77	69,61	134,31	132,04	130,41	128,67	36,76	32,82	32,37	29,97	23,65	14,40
I.5	OCH ₃	126,74	130,38	114,93	164,37	169,96	34,99	63,86	50,79	69,63	134,32	132,05	130,42	128,69	56,05					
I.6	Cl	139,30	130,18	129,91	133,35	169,18	35,04	63,66	50,77	69,59	134,31	132,11	130,46	128,65						
I.7	Br	127,72	132,99	130,30	133,82	169,27	35,05	63,63	50,78	69,69	134,31	132,11	130,46	128,65						
I.8	NO ₂	140,40	129,92	124,78	151,34	168,29	35,17	63,56	50,80	69,65	134,33	132,10	130,45	128,66						
I.9	CN	138,82	129,39	133,67	116,47	168,51	35,15	63,59	50,82	69,63	134,34	132,07	130,42	128,65	119,01					
I.10	CF ₃	138,47	130,47	129,29	134,72	168,99	35,10	63,60	50,79	69,68	134,32	132,13	130,47	128,65	126,73					
I.11	SO ₂ CH ₃	139,64	129,62	128,82	145,06	168,64	35,15	63,59	50,76	69,63	134,34	132,09	130,45	128,66	44,18					

III.2 – Determinação de parâmetros lipofílicos

Para a série de brometos de [2-(4-X-benzamido)etil]benzildimetilamônio substituídos (compostos **I.1-1.11**, série I) a lipofilicidade total da molécula foi analisada através dos respectivos valores do coeficiente de partição obtidos por cálculo ($\log P_{\text{calc}}$) ou determinados experimentalmente para o sistema *n*-octanol/água ($\log P_{\text{app}}^{7.40}$). Para cada composto o valor obtido foi considerado como parâmetro lipofílico.

O efeito hidrofóbico exercido por cada substituinte foi avaliado através da constante hidrofóbica de Hansch-Fujita (π)_{lit}, cujos valores foram tanto retirados da literatura [Hansch 1979, 1995; Kubinyi, 1993] bem como através dos valores de π_{exp} obtidos a partir de $\log P_{\text{app}}^{7.40}$.

Para os compostos da série I, os valores obtidos de $\log P_{\text{calc}}$ e de $\log P_{\text{app}}^{7.40}$ descritos nos itens **III.2.1** e **III.2.2**, estão apresentados respectivamente nas tabelas **III.2.1** e **III.2.3**. Os valores da constante hidrofóbica dos substituintes (π)_{lit} e de π_{exp} estão apresentados na tabela **IV.3.1.1**, ver resultados e discussão.

III.2.1 – Obtenção do coeficiente de partição por cálculo ($\log P_{\text{calc}}$)

Os valores do coeficiente de partição calculado ($\log P_{\text{calc}}$) foram obtidos através do programa CLOG P [Programa CLOGP, 1995], versão 1.0.0. para Windows (1995), Byobbyte, USA.

Tabela III.2.1 – Valores do coeficiente de partição calculado $\log P_{\text{calc}}$, obtido através do programa CLOG P para a série de brometos de [2-(4-X-benzamido)etil]benzildimetilamônio substituídos, (compostos **I.1-I.11**, série I), estudados neste trabalho.

Composto	X	$\log P_{\text{calc}}$
I.1	H	4,88
I.2	CH ₃	5,38
I.3	<i>n</i> -C ₄ H ₉	6,97
I.4	<i>n</i> -C ₆ H ₁₃	8,02
I.5	OCH ₃	5,08
I.6	Cl	5,79
I.7	Br	5,94
I.8	NO ₂	5,05
I.9	CN	4,78
I.10	CF ₃	6,12
I.11	SO ₂ CH ₃	3,89

III.2.2 – Determinação do coeficiente de partição, $\log P_{\text{app}}^{7,40}$, pelo método *shake-flask*, no sistema *n*-octanol/água (tampão Trizma pH = 7,40 , μ = 0,10 mol/L (KCl)), temperatura ajustada e mantida à (25±1°C).

III.2.2.1 – Planejamento do experimento

III.2.2.1.1 – Preparação da solução tampão trizma, pH = 7,40

Procedendo-se de acordo com as indicações de D.D. Perrin [Perrin, 1994], foi preparado 1 litro de uma solução tampão em pH = 7,40 e força iônica μ = 0,10 mol/L.

Em um balão volumétrico de 1,00 litro foram adicionados 427 mL de uma solução de HCl (0,10 mol/L), 100 mL de uma solução de Trizma base (0,50 mol/L), 57,3 mL de uma solução de KCl (1,00 mol/L) e completando até o

menisco com água bidestilada recém fervida. O pH da solução foi, inicialmente, medido utilizando-se eletrodos de vidro Ag/AgCl, $\text{KCl}_{(\text{sal})}$, calibrado com solução tampão-Tritisol (Merck), $\text{pH} = 7,00$ e $\text{pH} = 9,00$. Os valores exatos de pH foram ajustados para o pH desejado (7,40), utilizando-se uma solução de HCl (0,10 mol/L). Toda água utilizada no preparo das soluções-tampão foi água bidestiladas e fervida.

III.2.2.1.2 – Pré-saturação mútua

Os procedimentos experimentais foram feitos em duplicata, procedendo-se de acordo com as indicações de Dearden [Dearden, 1988], Amaral [Amaral *et al.*, 1997]; Pires [Pires, 1998].

Em dois erlenmeyers de 500 mL, equipados com agitadores magnéticos e termostatizados em banho de água mantidos à $(25 \pm 1^\circ\text{C})$, foram saturados mutuamente e simultaneamente, por um período de ~ 15 horas, 200 mL de *n*-octanol e 200 mL de uma solução tampão preparada como descrito no item **III.2.2.1.1** ($\text{pH} = 7,40$ e $\mu = 0,10\text{mol/L}$) adicionados a cada erlenmeyer. Após os períodos de, respectivamente, ~ 15 horas de agitação e de ~ 1 hora de decantação as duas fases foram separadas. Em seguida, as duas fases foram, já separadas, centrifugadas em uma centrífuga refrigerada à $(25 \pm 1^\circ\text{C})$, mantendo-se a rotação em 4000 rpm por 30 minutos. Todos os experimentos foram executados em duplicata, ou seja, foram preparadas duas amostras distintas, por exemplo: duas fases orgânicas, saturadas com tampão e duas amostras distintas de fase aquosa de tampão, saturados com *n*-octanol.

Todos os experimentos foram realizados em uma sala equipada com ar condicionado e com temperatura ajustada e controlada para $(25 \pm 1^\circ\text{C})$.

III.2.2.1.3 – Escolha do comprimento de onda (λ) de absorção máxima e determinação da absortividade molar (ϵ) de cada composto da série I, brometos de [2-(4-X-benzamido)etil]benzildimetilamônio substituídos, compostos I.1-I.11.

A escolha do comprimento de onda (λ) ideal para a determinação do coeficiente de partição ($\log P_{app}^{7,40}$) para cada composto da série I, foi feita preparando-se soluções aquosas (água bidestilada e recém fervida) na faixa de concentrações compreendidas entre $1,0 \times 10^{-5}$ a $1,0 \times 10^{-4}$ mol/L. A seguir, utilizando-se cubetas de quartzo de caminho ótico 1,0 cm foram registrados os espectros eletrônicos, fazendo-se aquisição na faixa de 800 a 190 nm para a obtenção do comprimento de onda de máxima absorção.

A absortividade molar (ϵ) foi determinado para cada composto da série I, preparando-se soluções de cada composto em água-bidestilada e recém fervida na faixa de concentração compreendida entre $1,0 \times 10^{-2}$ a $1,0 \times 10^{-3}$ mol/L. Destas soluções foram tomadas, sucessivamente, alíquotas de 5 μ L e adicionadas à uma cubeta de quartzo de caminho ótico 1,0 cm contendo 2,00 mL de água bidestilada e fervida. As leituras de absorbância foram feitas nos comprimentos de onda de máxima absorção, previamente, escolhidos para cada composto. Foi utilizada água bidestilada e fervida em uma cubeta de quartzo de caminho ótico 1,0 cm como valor de absorbância zero. A validade e a aplicação da lei de Lambert-Beer foi verificada. A seguir, foi utilizado o programa comercial (EXCEL para windows), calculando-se o valor da absortividade molar de cada composto da série estudada.

Na **tabela III.2.2** estão apresentados os valores dos comprimentos de onda ($\lambda_{água}$) de máxima absorção e os valores de absortividade molar (ϵ) obtidos para a série de brometos de [2-(4-X-benzamido)etil]benzildimetilamônio substituídos, compostos **I.1-I.11**.

Tabela III.2.2 – Valores dos comprimentos de onda ($\lambda_{\text{água}}$) de absorção máxima e dos absortividade molar (ϵ), em água, obtidos para os brometos de [2-(4-X-benzamido)etil]benzildimetilamônio substituídos, compostos I.1-I.11.

Composto	X	$\lambda_{\text{(água)}}$ (nm)	$\epsilon_{\text{(água)}}$ (mol ⁻¹ .L.cm ⁻¹)
I.1	H	226	13592
I.2	CH ₃	239	12812
I.3	<i>n</i> -C ₄ H ₉	242	14067
I.4	<i>n</i> -C ₆ H ₁₃	241	15149
I.5	OCH ₃	251	14372
I.6	Cl	239	16519
I.7	Br	244	17157
I.8	NO ₂	267	11553
I.9	CN	238	15594
I.10	CF ₃	216	16246
I.11	SO ₂ CH ₃	238	14556

III.2.2.2 – Resultados obtidos

III.2.2.2.1 – Determinação do coeficiente de partição, $\log P_{\text{app}}^{7,40}$, da série de brometos de [2-(4-X-benzamido)etil]benzildimetilamônio substituídos, (compostos I.1-I.11, série I).

Procedendo-se como descrito no item II.3.3.1.1.1 foram determinados os valores do coeficiente de partição, $\log P_{\text{app}}^{7,40}$, para a série brometos de [2-(4-X-benzamido)etil]benzildimetilamônio substituídos, compostos I.1-I.11. Estes estão apresentados na Tabela III.2.2.2.1.1.

Tabela III.2.2.2.1.1 – Valores dos volumes das fases aquosa e orgânica (*n*-octanol) (V_{aq} ; V_{oct}) utilizados na partição; das absorções antes e depois da

partição (A_i , e A_f , respectivamente) e do coeficiente de partição aparente, $\log P_{app}^{7,40}$ determinados^(a) para a série de brometos de [2-(4-X-benzamido)etil]benzildimetilamônio substituídos, compostos I.1-I.11.

Com posto	X	V_{aq} (mL)	V_{oct} (mL)	A_i		A_f		$P/R_v^{(b)}$	P	$\log P_{app}^{7,40}$
				A_{i1}	A_{i2}	A_{f1}	A_{f2}			
I.1	H	3	12	0,478	0,484	0,185	0,178	~2	0,41	-0,38±0,02
I.2	CH ₃	3	7	0,816	0,882	0,169	0,172	~4	1,71	0,23±0,02
I.3	n-C ₄ H ₉	10	1	0,860	0,851	0,104	0,101	~7	73,51	1,87±0,01
I.4	n-C ₆ H ₁₃	50	1	1,408	1,417	0,125	0,103	~10	575,53	2,76±0,07
I.5	OCH ₃	3	12	0,516	0,510	0,118	0,115	~3	0,85	-0,07±0,01
I.6	Cl	3	7	1,005	1,083	0,118	0,113	~8	3,45	0,54±0,04
I.7	Br	4	6	1,084	1,100	0,113	0,130	~8	5,35	0,73±0,04
I.8	NO ₂	2	8	0,856	0,875	0,262	0,264	~1	0,57	-0,24±0,06
I.9	CN	2	8	0,566	0,543	0,255	0,273	~1	0,28	-0,56±0,06
I.10	CF ₃	5	5	0,834	0,844	0,138	0,156	~5	4,73	0,68±0,04
I.11	SO ₂ CH ₃	1	60	0,855	0,577	0,347	0,369	~1	0,024	-1,63±0,01

^(a) Método *shake-flask*; tampão trizma, pH=7,40, $\mu=0,10$ (KCl), temperatura ajustada e mantida a $25 \pm 1^\circ\text{C}$.

^(b) R_v , relação entre os volumes das fases aquosa e orgânica (n-octanol) utilizados para a partição.

III.3 – Obtenção de parâmetros eletrônicos

III.3.1 – Determinação dos valores de deslocamento químico de RMN ^{13}C do grupo carbonila ($\delta^{13}_{\text{C=O}}$) da série de brometos de [2-(4-X-benzamido)etil]benzildimetilamônio substituídos, compostos I.1-I.11.

Os valores de deslocamento químico de RMN- ^{13}C do grupo carbonila ($\delta^{13}_{\text{C=O}}$) da série de brometos de [2-(4-X-benzamido)etil]benzildimetilamônio substituídos foram determinados, utilizando-se um espectrômetro VARIAN INOVA 300 a 75 MHz, utilizando-se soluções de cada composto de $\sim 0,1$ mol/L em metanol- d_4 . Como referência foi utilizado o sinal em 49,00 ppm do metanol- d_4 , empregado como solvente. Os valores observados estão apresentados na Tabela III.3.1.1.

Tabela III.3.1.1 – Valores^(a) do deslocamento químico^(b) de RMN ^{13}C do grupo carbonila ($\delta^{13}_{\text{C=O}}$) da série de brometos de [2-(4-X-benzamido)etil]benzildimetilamônio substituídos, compostos I.1-I.11.

Composto	X	$\delta^{13}_{\text{C=O}}$ ^(c) (ppm)*
I.1	H	170,40
I.2	CH ₃	170,37
I.3	<i>n</i> -C ₄ H ₉	170,40
I.4	<i>n</i> -C ₆ H ₁₃	170,37
I.5	OCH ₃	169,96
I.6	Cl	169,18
I.7	Br	169,27
I.8	NO ₂	168,29
I.9	CN	168,54
I.10	CF ₃	168,96
I.11	SO ₂ CH ₃	168,64

^(a) Deslocamento químico (δ) expressos em ppm;

^(b) Dados obtidos em um espectrômetro Varian INOVA 300 a 75MHz

^(c) Precisão do aparelho 0,01 ppm, de acordo com especificação do aparelho.

III.4 – Determinação do parâmetro biológico

III.4 – Determinação do bloqueio da transmissão neuromuscular.

O bloqueio da transmissão neuromuscular foi avaliado no sistema músculo diafragma-nervo frênico de camundongos (albino Swiss 25-30g). Os camundongos foram sacrificados por anestesia, por inalação de éter-etílico. Os músculos e seus respectivos nervos foram isolados imediatamente e mantidos em solução fisiológica contendo solução Tyrode: (em mM) NaCl 135, NaHCO₃ 15, KCl 5, CaCl₂ 2, mgCl₂ 1, NaH₂PO₄ 1 e glicose 11; pH 7.3 – 7.4 depois de gaseificação com 95% O₂ e 5% CO₂. Os músculos diafragma-nervo frênico foram montados sob tensão de 1g em um banho contendo 2 mL de uma solução fisiológica continuamente gaseificada com 95% O₂ e 5% de CO₂. As contrações musculares foram promovidas por estimulação nervosa supramáxima (0,5 ms, 0,1 Hz) e as contrações dos músculos foram isometricamente registrados usando um transdutor de força (“force-displacement transducer” FT03, Grass Instruments) em um polígrafo (Beckman R116). Depois de 30 minutos de estabilização, a tensão de repouso foi reajustada e os efeitos dos compostos da série de brometos de 2-[(benzamido)etil]benzildimetilamônio 4-X-substituídos foram registrados por 30 minutos [Souccar, 1998, 1999]. Os valores de IC₅₀ (concentração inibitória média) foram determinados a partir da curva concentração-resposta (Figura III.4.1) como a concentração que produz 50% da inibição do máximo de contração no tempo de 15 minutos.

Para cada composto, a atividade biológica estudada foi o bloqueio da transmissão neuromuscular, expressa através dos valores de (IC₅₀). O valor de IC₅₀ obtido, expresso em mol/L, foi considerado como parâmetro biológico [Martin, 1978, 1990; Hansch, 1995].

A precisão dos valores estimados de IC₅₀ foram avaliados calculando-se os limites de confiança de 95%.

Figura III.4.1 – Curva concentração-resposta obtidos do bloqueio da transmissão neuromuscular do sistema músculo diafragma-nervo frênico de camundongos.

Para fins de correlação, a atividade biológica de cada composto foi expressa como sendo $\log 1/IC_{50}$ (pIC_{50}), sendo que os valores de IC_{50} são expressos em mol/L.

A obtenção dos valores de IC_{50} para a série de compostos estudados neste trabalho foi feita e orientada pelo Prof. Dr. Antônio José Lapa e sua equipe no Departamento de Farmacologia do Instituto de Farmacologia da Universidade Federal de São Paulo (EPM), São Paulo.

Tabela – III.4.1 - Valores da concentração inibitória média (IC_{50})^(a), intervalo de confiança com 95% de confiabilidade e pIC_{50} ^(c).

Composto	X	IC_{50} ^(a) mol/L	I.C. ^(b) Mol/L	pIC_{50} ^(c)
I.1	4-H	$1,08 \times 10^{-3}$	$1,51 \times 10^{-3} - 6,44 \times 10^{-4}$	2,97
I.2	4-CH ₃	$8,25 \times 10^{-4}$	$1,04 \times 10^{-3} - 6,10 \times 10^{-4}$	3,08
I.3	4- <i>n</i> -C ₄ H ₉	$1,18 \times 10^{-4}$	$1,53 \times 10^{-4} - 8,35 \times 10^{-5}$	3,93
I.4	4- <i>n</i> -C ₆ H ₁₃	$7,89 \times 10^{-5}$	$1,51 \times 10^{-4} - 6,60 \times 10^{-6}$	4,10
I.5	4-OCH ₃	$1,06 \times 10^{-3}$	$1,42 \times 10^{-3} - 6,94 \times 10^{-4}$	2,98
I.6	4-Cl	$7,57 \times 10^{-4}$	$1,10 \times 10^{-3} - 4,19 \times 10^{-4}$	3,12
I.7	4-Br	$1,66 \times 10^{-4}$	$2,09 \times 10^{-4} - 1,22 \times 10^{-4}$	3,78
I.8	4-NO ₂	$1,22 \times 10^{-3}$	(d)	2,95 ^(e)
I.9	4-CN	$1,82 \times 10^{-3}$	$2,70 \times 10^{-3} - 9,44 \times 10^{-4}$	2,74
I.10	4-CF ₃	$7,03 \times 10^{-4}$	$9,96 \times 10^{-4} - 4,09 \times 10^{-4}$	3,15
I.11	4-SO ₂ CH ₃	$2,80 \times 10^{-3}$	$3,48 \times 10^{-3} - 2,12 \times 10^{-3}$	2,55

^(a) Valores expressos em mol/L.

^(b) Limite de confiança dos valores de IC_{50} com 95% de confiabilidade.

^(c) Valores pIC_{50} , obtidos de $\log 1/IC_{50}$.

^(d) Valor não determinado por razões experimentais, vide resultados e discussão

^(e) Valor estimado.

IV – Resultados e Discussão

IV.1 - Introdução

Diversos aspectos do estudo de Relações Quantitativas entre a Estrutura Química e Atividade biológica (*QSAR e QSAR 3D*) estão sendo desenvolvidos no laboratório de *QSAR* do Instituto de Química da Universidade de São Paulo. Entre eles, destaca-se o estudo e a determinação de propriedades físico-químicas, como lipofilicidade e propriedades eletrônicas de substituintes, de compostos com atividade biológica/ biologicamente ativos, em especial antiarrítmicos e anestésicos locais; [Tavares, 1987, 1997; Sousa, 1997; Amaral *et al.*, 1997; Malvezzi, 2000]; antibacterianos [Baroni 1987; Pires, 1998,2000, 2001]; derivados não nucleosídeos anti-HIV [Ishiki, 1999, 2001] e mais recentemente tuberculostáticos, visando elucidar o(s) mecanismo(s) das interações expressas por cada um dos parâmetros, contribuir para elucidar mecanismo e prever derivados mais potentes.

Estudos de Relação Quantitativa entre Estrutura química e Atividade biológica (*QSAR/QSAR-3D*) utilizando diferentes estratégias metodológicas complementares, aplicadas iterativamente, se estende a diferentes áreas de aplicação, seja no planejamento racional de novos fármacos, defensivos agrícolas, nos estudos de seus mecanismos de ação, na previsão da toxicidade de compostos e no controle ambiental. Na literatura são encontrados trabalhos de revisão que mostram vantagens e limitações das metodologias aplicadas em *QSAR*, sendo aplicada em diversos sistemas e atividade biológica [Fujita, 1990; Kubinyi, 1993; Hansch, 1995].

Considera-se, fundamentalmente, que a atividade biológica de um composto é resultado das interações deste com as diferentes biofases, podendo ser expressa pela contribuição de propriedades físico-químicas do composto (*QSAR* tradicional ou Análise de Hansch) ou de variável(is) indicadora(s) ou a contribuição de grupos substituintes (análise de Free-Wilson). Através destas considerações, procura-se 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 ser expressa como uma função de parâmetros estruturais, respectivamente, lipofílicos, eletrônicos, estéricos e de dispersão. O emprego desta abordagem envolve tanto a proposição de um modelo matemático como a medida, ou o cálculo dos parâmetros responsáveis pela atividade e de suas contribuições relativas para a mesma. A análise dos resultados permite verificar tanto a validade, limitações e poder de previsão do modelo proposto. O grau de complexidade do modelo dependerá de quão exatamente essas interações podem ser expressas, além da interação entre os parâmetros.

IV.2 – Compostos estudados

IV.2.1 - Escolha da série de substituintes

Para a realização deste trabalho foram preparados, por métodos descritos na literatura [Harrold, 1993], uma série de onze brometos de [2-(benzamido)etil]benzildimetilamônio 4-X-substituídos, em que X = H, CH₃, *n*-C₄H₉, *n*-C₆H₁₃, OCH₃, Cl, Br, NO₂, CN, CF₃ e SO₂CH₃, compostos **I.1** a **I.11**.

Figura IV.2.1.1 – Fórmula estrutural da série de brometos [2-(4-X-benzamido)etil]benzildimetilamônio substituídos, compostos **I.1-I.11**.

A escolha dos substituintes obedeceu a critérios sugeridos por Craig [Craig, 1971], visando obter uma série de compostos que apresentasse intercorrelação não significativa entre os correspondentes parâmetros físico-químicos, lipofílico, eletrônico e relacionados à refratividade molar, a princípio, responsáveis pela atividade bloqueadora da transmissão neuromuscular apresentada por cada composto. A partir desta série, poder-se-á realizar a análise de *QSAR* [Kubinyi, 1993; Hansch, 1995].

Os efeitos lipofílico, eletrônico e relativo à refratividade molar, relativos aos substituintes, foram analisados, respectivamente através dos valores das constantes de hidrofobicidade de Hansch (π); da constante eletrônica do substituinte de Hammett (σ) e da constante relativa à refratividade molar MR , retirados da literatura [Hansch, 1979, 1995; Kubinyi, 1993].

No planejamento da série foram escolhidos onze substituintes que apresentam faixas de variação significativa, respectivamente, em termos, do efeito lipofílico ($\pi_{SO_2CH_3} = -1,63$ e $\pi_{n-C_6H_{13}} = 3,10$), do efeito eletrônico ($\sigma_{pNO_2} = 0,78$ e $\sigma_{pOCH_3} = -0,22$) e, também, ao relacionado à refratividade molar ($MR_{4(H)} = 0,10$ e $MR_{4(n-C_6H_{13})} = 2,89$). Foram observados os seguintes intervalos de variação: 4,73 unidades em π , 1,00 unidades em σ_p e 2,79 unidades em MR_4 .

As intercorrelações entre os parâmetros lipofílico, eletrônico e o relacionados à refratividade molar podem ser observadas tanto pela análise dos gráficos obtidos das correlações de π versus σ_p ; de π versus MR_4 e de σ_p versus MR_4 , apresentados nas **Figuras IV.2.1.2 –IV.2.1.4**, respectivamente, bem como pela análise dos valores dos coeficientes de correlação apresentados na **Tabela IV.2.1.1**.

$$\sigma_p = -0,19(\pm 0,19) \pi + 0,32(\pm 0,25) \quad \text{eq. IV.2.1.1}$$

$$n = 11; r = 0,607; s = 0,33; F = 5,24$$

Figura IV.2.1.2 – Representação esquemática dos valores de π em função de σ_p retirados da literatura.

$$MR_4 = 0,40(\pm 0,36) \pi + 0,80(\pm 0,47) \quad \text{eq. IV.2.1.2}$$

$$n = 11; r = 0,643; s = 0,64; F = 6,34$$

Figura IV.2.1.3 – Representação esquemática dos valores de π em função de MR_4 retirados da literatura.

$$MR_4 = -0,57(\pm 1,43) \sigma_p + 0,13(\pm 0,63) \quad \text{eq. IV.2.1.3}$$

$$n = 11; r = 0,288; s = 0,80; F = 0,82$$

Figura IV.2.1.4– Representação esquemática dos valores de σ_p em função de MR_4 retirados da literatura.

Tabela IV.2.1.1 – Tabela de intercorrelação (r^2) dos parâmetros físico-químicos, retirados da literatura [31,51], utilizados na escolha da série de substituintes.

	π	σ_p	MR_4
π	1.000	0,368	0,413
σ_p		1.000	0,083
MR_4			1.000

Segundo Kubinyi [Kubinyi, 1993], é recomendado que o coeficiente de intercorrelação (r) dos parâmetros não seja maior que 0,6 – 0,7, no entanto, a análise do coeficiente de correlação revela que existe uma intercorrelação pouco significativa entre π versus σ_p e, entre π versus MR_4 , tornando, até certo ponto, a análise da natureza dos parâmetros comprometida. Assim, por exemplo, a contribuição do termo associado à MR_4 pode ser devido à lipolilicidade ou à polarizabilidade, pois os parâmetros que as descrevem possuem dependência do volume molar, conforme apresentado no capítulo I. Alternativamente, pode-se aumentar a série de substituintes, incluindo-se substituintes capazes de diminuir a intercorrelação, por exemplo, entre π e σ_p , e, assim, poderia se contornar a

intercorrelação entre os parâmetros. Por outro lado, a inclusão de novos substituintes implica em mais preparações.

IV.2.1 – Preparação dos compostos

Para a obtenção da série de brometos de [2-(4-X-benzamido)etil]benzil dimetilamônio substituídos, em que $X = H, CH_3, n-C_4H_9, n-C_6H_{13}, Cl, Br, NO_2, CN, CF_3, SO_2CH_3$, compostos **I.1-I.11**, série I, foram preparados os respectivos intermediários, compostos **i.1-i.11**, série i, sendo 7 compostos ($X = CH_3, n-C_4H_9, n-C_6H_{13}, NO_2, CN, CF_3, SO_2CH_3$) não descritos na literatura.

Os compostos intermediários foram obtidos pelas rotas **A**, **B** e **C**, respectivamente, apresentando rendimentos satisfatórios, variando de 25 a 89%.

Com exceção do composto **i.4**, N[(dimetilamino)etil]4-*n*-hexil-benzamida, as preparações de todos os intermediários foram tentativamente feitas através das reações apresentadas-na rota **B**. Deste modo, métodos alternativos foram utilizados para a obtenção dos compostos **i.1** e **i.5** ($X=H$ e $X=OCH_3$), ou seja, através das rotas **A** e **C**, respectivamente, considerando-se as dificuldades experimentais encontradas na etapa de purificação dos mesmos quando foi utilizada a rota **B**.

Na reação para obtenção do composto **I.3**, $X=n-C_4H_9$, foi observado a formação de um produto secundário, o carbamato proveniente da reação do anidrido misto do ácido carbônico com a N,N-dimetiletilenodiamina. A presença do grupo doador de elétrons ($n-C_4H_9$; $\sigma_p=-0,16$) faz com que haja um aumento da densidade eletrônica no carbono carbonílico proveniente do ácido benzóico e, assim, diminuindo a sua reatividade frente ao ataque nucleofílico. Da mesma forma, para o composto **i.5** $X=OCH_3$, ($\sigma_p=-0,28$) quando este foi tentativamente preparado pela rota **B** também foi observada a presença do referido carbamato. Como pode ser observado pelo esquema apresentado:

Figura IV.2.1.1 – Esquema explicativo de formação do produto secundário obtido na rota **B**.

Os compostos da **série I**, todos ainda não descritos na literatura, foram obtidos através da reação dos correspondentes compostos intermediários, **i.1-i.11**, **série i**, com brometo de benzila (rota **D**), apresentando bons rendimentos que variaram de 51 a 99%. Para os compostos **I.10** e **I.11** foram obtidos rendimentos menores que os demais, por motivos experimentais.

Todos os compostos intermediários **i.1-i.11** e compostos **I.1-I.11**, **série I** foram identificados e caracterizados através dos espectros de IV, de RMN ^1H e de RMN ^{13}C . O grau de pureza de cada composto foi avaliado pelo ponto de fusão e análise elementar.

Nas tabelas **III.1.1**, **III.1.2**, **III.1.6**, **III.1.7** (parte experimental) estão apresentados os valores das constantes físicas, dos rendimentos, das massas obtidas nas preparações e dos resultados relativos as análises elementares dos compostos preparados.

Como pode ser observado na **tabela III.1.7**, para os compostos **I.9** e **I.10** ($\text{X} = 4\text{-CN}$ e 4-CF_3) as análises elementares de C, H e N foram calculados considerando-se a presença respectivamente de 0,75 e 1 moléculas de água para cada molécula do composto.

Para os compostos **I.3** e **I.4** foi observado que as análises elementares dos elementos C, H e N calculados e experimentais foram elevadas, sendo muito acima

do recomendado (0,4%) (composto I.3 $\Delta C = 1,31$, $\Delta H = 0,24$, $\Delta N = 0,10$; composto I.4 $\Delta C = 1,04$, $\Delta H = 0,45$, $\Delta N = 0,13$). Estas diferenças podem ser atribuídas à impossibilidade de se obter os compostos na forma de cristais. No entanto, outros procedimentos experimentais de purificação, como lavagem com éter-etílico e percolação através coluna de cromatografia de sílica, eluída com clorofórmio, foram realizadas com o objetivo de aumentar o grau de pureza destes compostos. Estas tentativas, porém não tiveram sucesso. Além disso, vale ressaltar que estes dois compostos são muito higroscópicos.

Estão apresentados nas **tabelas III.1.3, III.1.4, III.1.5, III.1.8, III.1.9, III.1.10** (parte experimental) os valores, respectivamente, das frequências de absorção características na região do infravermelho, dos deslocamentos químicos observados nos espectros de RMN de ^1H , de RMN de ^{13}C para intermediários, compostos **i.1-i.11, série i**, e para a os correspondentes brometos de [2-(4-X-benzamido)etil]benzildimetilamônio substituídos, compostos **I.1-I.11, série I**.

IV.3 – Parâmetros físico-químicos e estruturais

IV.3.1 – Parâmetro lipofílico

Para analisar o efeito lipofílico foram utilizados como parâmetros lipofílicos relativos aos substituintes, valores de π , constante de hidrofobicidade de Hansch-Fujita, retirados da literatura [Kubinyi, 1993; Hansch, 1979], bem como valores de π_{exp} , calculados a partir de $\log P_{\text{app}}$ ^{7,40}. Os valores da constante hidrofóbica dos substituintes, π e π_{exp} , para a série de substituintes estudados estão apresentados na tabela **IV.3.1.1**.

Adicionalmente, a lipofilicidade da molécula toda foi avaliada através dos valores do coeficiente de partição calculados, $\log P_{\text{calc}}$, e determinados experimentalmente, $\log P_{\text{app}}$ ^{7,40}, pelo método *shake-flask*.

Os valores de $\log P_{\text{calc}}$ foram obtidos pelo programa CLOGP [Programa CLOGP, 1995] para os compostos da série I e estão apresentados na tabela **IV.3.1.1**.

Os valores de coeficiente de partição determinado pelo método *shake-flask* [Dearden, 1988; Amaral *et al.*, 1997] ($\log P_{app}^{7,40}$), tampão Trizma, pH = 7,40 μ = 0,10M (KCl), estão descritos no item **III.3.3.1.1** e apresentados na tabela **IV.3.1.1**.

Para a determinação dos valores do coeficiente de partição dos compostos estudados brometos de [2-(4-X-benzamido)etil]benzildimetilamônio substituídos, alguns procedimentos experimentais foram feitos, como por exemplo a faixa de concentração utilizada na partição na faixa de 1×10^{-4} a 1×10^{-5} mol/L para evitar a autoassociação do soluto e/ou mesmo a formação de micelas. Isto levando ao aumento do valor do coeficiente de partição [Dearden, 1988]. Além disso, o sistema de partição foi mantido sob agitação, a $25 \pm 1^\circ\text{C}$, por um período de aproximadamente 1 hora para que o soluto possa atingir o equilíbrio nas duas fases.

Ao se determinar, por exemplo, o valor do coeficiente de partição de uma espécie com grande caracter lipofílico, por exemplo, $n\text{-C}_6\text{H}_{13}$, e ao se utilizar volumes iguais de tampão e de n -octanol não será possível se chegar ao valor correto do coeficiente de partição, pois na solução aquosa (tampão) não haverá quantidade suficiente da espécie para ser detectado com a precisão analítica necessária. Assim, recomenda-se [Dearden, 1988] utilizar um volume maior da solução aquosa (tampão) em relação ao n -octanol para que as concentrações das espécies nas duas fases sejam próximas e não se introduza erro adicional analítico devido ao limite de detecção dado pelo aparelho. Portanto, na etapa de partição, a relação entre os volumes (R_v) de tampão-*pso* (tampão pré-saturado com n -octanol) e de n -octanol-*pst* (n -octanol pré-saturado com tampão) é um fator experimental limitante.

Na série em estudo, brometos de [2-(4-X-benzamido)etil]benzil dimetilamônio substituídos, os valores da relação P/R_v foram planejados, visando manter essa relação próxima a 5, sendo aceitável valores entre 1 e 10, segundo Dearden [Dearden, 1988]. Estes estão apresentados na tabela **III.2.2.2.1.1**.

As determinações da concentração do soluto antes e depois da partição foi feita somente na fase aquosa. Segundo Dearden [Dearden, 1988] a determinação da concentração deve ser, preferencialmente, nas duas fases. No entanto, a determinação da concentração do soluto nas duas fases se torna essencial quando o

soluto é volátil ou se há a suspeita de ocorrência de adsorção. Deste modo, para os compostos brometos de [2-(4-X-benzamido)etil]benzildimetilamônio substituídos as determinações foram feitas somente na fase aquosa.

A fase aquosa utilizada em todas as determinações do coeficiente de partição foi uma solução tampão de pH 7,40 e força iônica 0,10 M (KCl). Embora o coeficiente de partição dos compostos estudados neste trabalho não sofram influência do pH, este se constitui num fator importante de promoção de variação do valor do coeficiente de partição. Por exemplo, para uma base fraca de pK_a entre 7 e 8 a variação no pH promove uma mudança na posição do equilíbrio entre as espécies protonadas e desprotonadas. Em pH 9,00 aproximadamente 90% das moléculas desta base estão desprotonadas, contribuindo significativamente para o aumento da lipofilicidade. Por outro lado, em pH 7,40, aproximadamente 50% das espécies estarão protonadas ou desprotonadas. Neste caso, a presença de espécies ionizadas vai aumentar a solubilidade relativa na fase aquosa, resultando em uma redução no valor do coeficiente de partição aparente. Não menos importante, a força iônica também exerce influência sobre o valor do coeficiente de partição. O aumento da força iônica acarreta um aumento da concentração de íons em solução. Assim, para os solutos estudados neste trabalho sendo espécies carregadas, um aumento no valor da força iônica proporciona um aumento da possibilidade de formar par iônico, observando-se um aumento no valor do coeficiente de partição. Segundo Dearden [Dearden, 1988], é recomendado utilizar solução tampão de força iônica na concentração $\leq 0,1M$, pois nestas concentrações a influência da força iônica seria esperada ser pouco significativa.

Como as medidas do valor do coeficiente de partição experimental devem ser obtidas em condições de equilíbrio, deve-se ajustar e controlar rigorosamente a temperatura. Desta forma, em todas as etapas dos experimentos, inclusive nas etapas de pré saturação, centrifugação e partição, a temperatura foi controlada e mantida a $25 \pm 1^\circ C$. Apesar de muitas vezes ignorado por alguns autores, a falta de controle e de manutenção da temperatura para a partição, segundo Dearden [Dearden, 1988], é responsável pela não reprodutibilidade dos valores de $\log P$, obtidos experimentalmente.

Na tabela IV.3.1.1 estão apresentados os valores dos parâmetros lipofílicos, expressos pelos valores dos coeficientes de partição calculados ($\log P_{\text{calc}}$) e obtidos experimentalmente ($\log P_{\text{app}}^{7,40}$), pelas constantes de substituintes hidrofóbicas, retiradas da literatura [Hansch, 1979; Kubinyi, 1993], bem como por π_{exp} para a série de brometos de [2-(4-X-benzamido)etil]benzildimetilamônio substituídos, compostos I.1-I.11, série I.

Tabela IV.3.1.1 – Valores do coeficiente de partição respectivamente, obtidos por calculo ($\log P_{\text{calc}}$) e determinados experimentalmente, ($\log P_{\text{app}}^{7,40}$) bem como da constante de substituinte hidrofóbica, π , retirados da literatura e π_{exp} para a série de brometos de [2-(4-X-benzamido)etil]benzildimetilamônio substituídos, compostos I.1-I.11.

Composto	X	$\log P_{\text{calc}}^{(a)}$	$\log P_{\text{app}}^{7,40(b)}$	$\Delta^{(c)}$	π	$\pi_{\text{exp}}^{(d)}$
I.1	H	4,88	-0,38(±0,02)	5,26	0,00	0,00
I.2	CH ₃	5,38	0,23(±0,02)	5,15	0,56	0,61
I.3	<i>n</i> -C ₄ H ₉	6,97	1,87(±0,01)	5,10	2,13	2,25
I.4	<i>n</i> -C ₆ H ₁₃	8,02	2,76(±0,07)	5,26	3,10	3,14
I.5	OCH ₃	5,08	-0,07(±0,01)	5,15	-0,02	0,31
I.6	Cl	5,79	0,54(±0,04)	5,26	0,71	0,92
I.7	Br	5,94	0,73(±0,04)	5,21	0,86	1,11
I.8	NO ₂	5,05	-0,24(±0,06)	5,29	-0,28	0,14
I.9	CN	4,78	-0,56(±0,06)	5,34	-0,57	-0,18
I.10	CF ₃	6,12	0,68(±0,04)	5,44	0,88	1,06
I.11	SO ₂ CH ₃	3,89	-1,63(±0,01)	5,53	-1,63	-1,25

^(a) Obtidos pelo programa CLOGP, Versão 1.0.0, BioByte, USA. ^(b) – Cada valor foi determinado em duplicata e seu desvio padrão apresentado entre parênteses. Este foram obtidos pelo método *shake-flask*, tampão Trizma, pH = 7,40, μ = 0,10 M (KCl), e faixa de concentrações compreendida entre 1×10^{-4} – 1×10^{-5} mol/L. ^(c) $\Delta = \log P_{\text{calc}} - \log P_{\text{app}}^{7,40}$. ^(d) Valores obtidos da relação: $\pi_{\text{exp}} = (\log P_{\text{app}}^{7,40})_{\text{X}} - (\log P_{\text{app}}^{7,40})_{\text{H}}$.

Na tabela IV.3.1.1, ao se analisar os valores de $\log P_{app}^{7.40}$ e de $\log P_{calc}$ obtidos para os compostos da série I, observa-se que há uma variação na série de ~ 4 unidades logarítmicas, devido ao caráter hidrofóbico de cada substituinte. Assim, grupos substituintes lipofílicos, como por exemplo $n\text{-C}_6\text{H}_{13}$ presente no composto (I.4) apresenta valores tanto de $\log P_{app}^{7.40} = 2,76$ como de $\log P_{calc} = 8,02$ maiores do que aqueles observados para o composto não substituído, apresentando valores de $\log P_{app}^{7.40} = -0,38$ e de $\log P_{calc} = 4,88$. Por outro lado, substituintes que apresentam caráter hidrofílico como, por exemplo SO_2CH_3 presente no composto I.11 apresenta valores tanto de $\log P_{app}^{7.40}$ como $\log P_{calc}$ menores que o composto não substituído.

No entanto, quando se compara os valores de $\log P_{app}^{7.40}$ e de $\log P_{calc}$ correspondentes à cada substituinte observa-se que existe uma diferença significativa, ~ 5 unidades logarítmica. Esta se mantém constante, dentro do erro, experimental, para todos os substituintes.

Sabe-se, que o programa CLOGP (versão 1.0.0, para Windows, por nós utilizada) considera apenas a contribuição de cada composto na sua forma não ionizada. Desta forma, os valores de $\log P_{calc}$ obtidos se referem à partição do composto no sistema octanol/água e não incluem a contribuição de fragmentos contendo grupamentos ionizados ou ionizáveis para a partição. Portanto, o valor do coeficiente de partição calculado, $\log P_{calc}$, não inclui a contribuição do grupamento ionizado (N^+R_4) presente na série de brometos de [2-(4-X-benzamido)etil]benzil dimetilamônio substituídos, contribuindo de forma a diminuir a lipofilicidade do composto.

Vários programas que fazem o cálculo do coeficiente de partição não consideram (por exemplo, o programa CLOGP v.1.0.0 [Programa CLOGP, 1995]) ou não consideram adequadamente (por exemplo, o PALLAS [Programa Pallas, 1998]) a contribuição de fragmentos ionizados e/ou ionizáveis, sendo considerado como uma limitação dos programas. Por outro lado, o programa CLOGP considera, se houver, as interações intramoleculares, como por exemplo, a interação de uma hidroxila em posição *orto* em relação a uma carboxila que contribui para diminuir o valor do coeficiente de partição. Apesar de fazer esta consideração, pode ocorrer

que esta interação seja sub ou superestimada pelo programa. Outra limitação pode ser observada se o programa não possui em seu banco de dados a contribuição do fragmento. Frente a estas limitações, a determinação experimental de valores do coeficiente de partição se torna imprescindível, pois em estudos de *QSAR* é necessário que se tenha um valor confiável do parâmetro descritor da lipofilicidade bem como dos outros parâmetros utilizados. No entanto, a obtenção do valor do coeficiente de partição calculado é importante, pois, segundo Leo [Leo, 1993] a análise das diferenças entre os valores experimentais e os valores calculados muitas vezes se torna interessante, mais que o próprio valor, pois a análise das diferenças pode indicar, por exemplo, a existência de alguma interação intramolecular. Adicionalmente, o cálculo de coeficiente de partição é recomendado quando se tem uma série de compostos muito grande, por exemplo, em *HTS* (*high throughput screening*).

A figura IV.3.1.1 mostra as correlações obtidas entre valores de $\log P_{app}^{7,40}$ medido experimentalmente em função de parâmetros, respectivamente, retirados da literatura e obtidos por cálculo.

$$\log P_{app}^{7,40} = 0,92(\pm 0,06) \pi + 0,12(\pm 0,09) - \text{eq. IV.3.1.1} \quad \log P_{app}^{7,40} = 1,05(\pm 0,11) \log P_{calc} - 5,53(\pm 0,62) - \text{eq. IV.3.1.2}$$

$$n = 11; r = 0,995; s = 0,12; F = 947,33; \quad n = 11; r = 0,995; s = 0,12; F = 966,06;$$

$$Q^2 = 0,99; s_{PRESS} = 0,14 \quad Q^2 = 0,98; s_{PRESS} = 0,16$$

Figura IV.3.1.1 – Correlação obtida entre os valores de $\log P_{app}^{7,40}$, π e de $\log P_{calc}$ para a série de brometos de [2-(4-X-benzamido)etil]benzildimetilamônio substituídos, série I.

Pela figura IV.3.1.1 pode-se observar que os valores de $\log P_{app}^{7,40}$ apresentam correlação significativa tanto com os valores de $\log P_{calc}$ como com os valores de π . As equações IV.3.1.1 e IV.3.1.2 obtidas apresentaram coeficiente angular próximo de 1. Esta observação sugere que o princípio de aditividade dos substituintes é mantido e que não existe interação(ões) intramolecular(es) significativa, observada, entre o grupo substituinte e o restante da molécula, mostrando que os dois parâmetros medem a mesma propriedade. Adicionalmente, os resultados sugerem que a contribuição hidrofóbica do grupo contendo nitrogênio quaternário para o valor do coeficiente de partição é constante, dentro do erro experimental, para a série de compostos estudados até o momento.

Os valores de $\log P_{app}^{7,40}$ e de π_{exp} , serão utilizados como parâmetro lipofílico experimental no estudo de *QSAR*.

IV.3.2 – Parâmetros eletrônicos

Para analisar os efeitos eletrônicos exercidos pelos substituintes foram utilizados os valores das constantes de substituinte σ_p de Hammett [Hansch, 1979, 1993], Σ , $\Re$ de Swain-Lupton [Hansch, 1979; Kubinyi, 1993], retirados da literatura e apresentados na tabela IV.3.2.1.

No sistema biológico, geralmente, as contribuições das interações de natureza polar são descritas por parâmetros eletrônicos, definidos, entretanto, para sistemas mais simples que o sistema biológico. As interações que ocorrem em sistemas mais simples podem não ser, necessariamente, as mesmas para o sistema biológico, assim por exemplo, quando se compara a posição do substituinte em relação ao centro de reação (no sistema em que foi definido) com a posição do substituinte em relação ao receptor esta não é necessariamente a mesma. Assim, em análise de *QSAR* é recomendado utilizar, na medida do possível, as constantes Σ e $\Re$ de Swain-Lupton, pois estas independem do padrão de substituição ou do parâmetro eletrônico experimental [Kubinyi, 1993; Hansch, 1995].

Deste modo, foram determinados os valores do deslocamento químico de RMN de ^{13}C do grupo carbonila ($\delta_{13\text{C}=\text{O}}$), como descrito no item III.3.3.2, em uma única concentração ($\sim 0,1$ mol/L) e apresentado na tabela IV.3.2.1.

Tabela IV.3.2.1 – Valores dos parâmetros eletrônicos, respectivamente: σ_p , $\mathfrak{I}$, $\mathfrak{R}$ retirados da literatura [Hansch, 1979; Kubinyi, 1993] e dos valores^(a) de deslocamento químico de RMN de ^{13}C do grupo carbonila ($\delta_{13\text{C}=\text{O}}$), para a série de brometos de [2-(4-X-benzamido)etil]benzildimetilamônio substituídos, compostos I.1-I.11.

Composto	X	σ_p	$\mathfrak{I}$	$\mathfrak{R}$	$\delta_{13\text{C}=\text{O}}$ ^(a) (ppm)
I.1	H	0,00	0,00	0,00	170,40
I.2	CH ₃	-0,17	0,01	-0,18	170,37
I.3	<i>n</i> -C ₄ H ₉	-0,16	-0,01	-0,15	170,40
I.4	<i>n</i> -C ₆ H ₁₃	-0,16	-0,06	-0,09	170,37
I.5	OCH ₃	-0,27	0,26	-0,51	169,96
I.6	Cl	0,23	0,42	-0,19	169,18
I.7	Br	0,23	0,45	-0,22	169,27
I.8	NO ₂	0,78	0,65	0,13	168,29
I.9	CN	0,66	0,51	0,15	168,54
I.10	CF ₃	0,54	0,38	0,16	168,96
I.11	SO ₂ CH ₃	0,72	0,53	0,19	168,64

^(a) Valores obtidos em um espectrômetro Varian INOVA 300 a 75 MHz, utilizando-se metanol-d₄ como solvente, tomando-se como referência o sinal em 49,00 ppm de metanol-d₄ e concentrações de $\sim 0,1$ mol/L. Precisão de $\pm 0,01$ ppm de acordo com especificações do aparelho.

Sabendo-se que os valores de σ refletem a grandeza e natureza do(s) efeito(s) eletrônico, transmitidos pelos substituintes, valores de σ negativos correspondem à substituintes doadores de elétrons ($\text{X}=\text{OCH}_3$, $\sigma_p = -0,27$) enquanto valores positivos correspondem à substituintes receptores de elétrons ($\text{X}=\text{NO}_2$, $\sigma_p = 0,78$). De modo análogo, valores negativos de $\mathfrak{I}$ correspondem a substituintes doadores de elétrons por efeito de campo/indutivo ($\text{X}=\textit{n}\text{-C}_6\text{H}_{13}$, $\mathfrak{I} = -0,07$) enquanto valores positivos $\mathfrak{I}$ correspondem a substituintes retiradores de elétrons por efeito de campo/indutivo e valores de $\mathfrak{R}$ negativos correspondem a substituintes doadores de elétrons por efeito de ressonância ($\text{X}=\text{OCH}_3$, $\mathfrak{R} = -0,51$) enquanto valores

positivos correspondem a substituintes retiradores de elétrons por efeito de ressonância ($X=\text{SO}_2\text{CH}_3$, $\rho=0,19$) [Bastos-Ceneviva, 1984; Hansch, 1991].

Os valores observados para $\delta^{13}_{\text{C}=\text{O}}$ estão em concordância com o descrito na literatura para benzamidas substituídas [Silvertein, 1994]. Como pode ser observado pela tabela IV.3.2.1 os valores de $\delta^{13}_{\text{C}=\text{O}}$ sofrem influência dos substituintes em *para* no anel aromático, embora esta seja pequena ($<3\text{ppm}$). Para substituintes retiradores de elétrons os valores de $\delta^{13}_{\text{C}=\text{O}}$ se apresentam em campo mais alto em relação a substituintes doadores de elétrons.

Na literatura [Craik, 1983], estudos da influência de substituintes em *para* no anel aromático sobre os valores de deslocamento químico do grupo carbonila de amidas aromáticas mostram variações comparáveis, próxima de 3 ppm. Grupos substituintes receptores de elétrons deslocam os valores de $\delta^{13}_{\text{C}=\text{O}}$ para valores de campo baixo, enquanto, grupos doadores de elétrons deslocam os valores de $\delta^{13}_{\text{C}=\text{O}}$ para valores de campo alto.

A aplicação da equação tipo Hammett aos valores de $\delta^{13}_{\text{C}=\text{O}}$ em função dos valores das constantes eletrônicas de substituintes de Hammett σ_p , resultou nas equações IV.3.2.1 (compostos I.1-I.11), IV.3.2.2 (compostos I.1-I.4 e I.6-I.11) e em função de $\Sigma\rho$ de Swain-Lupton resultou na equação IV.3.2.3.(compostos I.1-I.11), sendo estas significativas.

$$\delta^{13}_{C=O} = -1,98(\pm 0,50) \sigma_p + 169,90(\pm 0,22) \quad \text{equação IV.3.2.1}$$

$$n = 11; r = 0,95; s = 0,28; F = 80,32; Q^2 = 0,85; s_{PRESS} = 0,34$$

Figura IV.3.2.1 – Correlação obtida entre os valores das constantes de substituinte Hammett (σ_p) e do deslocamento químico de RMN de ^{13}C do grupo carbonila ($\delta^{13}_{C=O}$) para a série de brometos de [2-(4-X-benzamido)etil]benzildimetilamônio substituídos, compostos **I.1-I.11**.

Pode-se observar, no entanto, que o valor de $\delta^{13}_{C=O}$ do composto **I.5** ($X=\text{OCH}_3$) apresenta um comportamento anômalo ao apresentados pelos outros substituintes, não sendo descrito pelo modelo expresso pela equação **IV.3.2.1**. A exclusão do composto **I.5** resulta na equação **IV.3.2.2**.

Sem composto **I.5**

$$\delta^{13}_{C=O} = -2,18(\pm 0,43) \sigma_p + 170,00(\pm 0,20) \quad \text{equação IV.3.2.2}$$

$$n = 10; r = 0,972; s = 0,21; F = 134,59; Q^2 = 0,92; s_{PRESS} = 0,25$$

Como pode ser observado, a **equação IV.3.2.2** explica cerca de 97 % dos resultados. Assim, do ponto de vista estrutural, os resultados sugerem que a influência dos grupos substituintes sobre a blindagem do carbono carbonílico parece ser devido a efeitos indutivos transmitidos pelos grupos substituintes. Para avaliar a(s) natureza(s) da influência do efeito eletrônico, ou seja, verificar se a blindagem do carbono carbonílico ocorre preponderantemente através de efeitos de

campo/indutivo ou de ressonância foi aplicada a equação de Hammett expandida utilizando-se os parâmetros $\mathcal{T}$ e $\mathcal{R}$ de Swain e Lupton .

$$\delta_{C=O}^{13} = -2,82(\pm 0,30) \mathcal{T} - 0,94(\pm 0,51) \mathcal{R} + 170,20(\pm 0,17) \quad \text{eq. IV.3.2.3}$$

$$n = 11; r = 0,994; s = 0,098; F = 359,47; Q^2 = 0,98; s_{PRESS} = 0,13$$

A análise da equação tipo Hammett expandida equação IV.3.2.3, sendo estatisticamente significativa, mostra que a influência dos grupos substituintes sobre a blindagem do carbono carbonílico de amidas aromáticas. é (67%) de naturezas de campo-indutivo e (33%) de ressonância.

Estudos análogos encontrados na literatura [Craik, 1983] realizados em clorofórmio deuterado como solvente, para uma série de 14 benzamidas *para* substituídas e utilizando σ_1 como constante eletrônica de substituinte, medindo $\delta_{C=O}^{13}$, mostraram que a contribuição do efeito transmitido pelo substituinte é de natureza campo/indutivo (ρ_1), sendo esta de $-2,7 \pm 0,3$. Desta forma, a influência de substituintes que doam elétrons por campo/indução favorece a polarização (C^+-O^-) do grupo carbonila, apresentando sinal em campo mais baixo em relação ao sinal observado para o composto não substituído. Por outro lado, para grupos retiradores observa-se um deslocamento oposto.

Concordantemente, dados de cristalografia de Raio X [Penfold, 1959] mostram que o ângulo encontrado entre os planos da ligação carbonila de amidas e do anel aromático é de 26° , desfavorecendo a conjugação estendida entre o substituinte e o grupo carbonila. Assim, estes resultados de literatura corroboram as informações obtidas pela equação de Hammett expandida, aplicadas aos compostos I.1-I.11. Ou seja, a natureza do efeito eletrônico transmitido pelos grupos substituintes é de natureza preponderantemente campo/indutiva.

Para a série I, os valores de deslocamento químico de RMN de ^{13}C do grupo carbonila ($\delta_{C=O}^{13}$) serão utilizados como parâmetro eletrônico experimental, com o objetivo de se estudar o efeito da distribuição eletrônica do grupo carbonílico sobre o bloqueio da transmissão neuromuscular.

IV.3.3 – Parâmetros relacionados à refratividade molar

O efeito dos parâmetros relacionados à refratividade molar foram avaliados pelos valores de MR_4 (refratividade molar na posição 4), estes foram retirados da literatura [Hansch, 1979; Kubinyi, 1993] e estão apresentados na tabela IV.3.3.1.

Tabela IV.3.3.1 – Valores de MR_4 retirados da literatura [Hansch, 1979; Kubinyi, 1993] para a série de brometos de [2-(4-X-benzamido)etil]benzildimetilamônio substituídos, **série I**.

Composto	X	$MR_4^{(a)}$
I.1	H	0,103
I.2	CH ₃	0,565
I.3	<i>n</i> -C ₄ H ₉	1,959
I.4	<i>n</i> -C ₆ H ₁₃	2,887
I.5	OCH ₃	0,787
I.6	Cl	0,603
I.7	Br	0,888
I.8	NO ₂	0,736
I.9	CN	0,633
I.10	CF ₃	0,502
I.11	SO ₂ CH ₃	1,349

^(a) Valores escalonados por um fator de 0,1.

A análise dos valores de MR_4 retirados da literatura [Collander, 1950; Kubinyi, 1993], mostra que para esta série de compostos há uma variação de 2,79 unidades de MR.

IV.4 – Parâmetro biológico

IV.4.1 – Introdução

Como apresentado e discutido, no capítulo I, colinoreceptores nicotínicos musculares pertencem à superfamília de receptores que individualizam os canais iônicos e é uma proteína transmembrânica heteropentamérica com sub-unidades

estequiométrica de $\alpha_2\beta\gamma\delta$. As cinco sub-unidades configuram um canal central permeável a cátions, quando este se encontra aberto [Arias, 1997, 1998; Bixel 2000, 2001]. A estrutura primária de cada sub-unidade contém quatro domínios hidrofóbicos M1-M4 que são longos o suficiente para atravessarem a membrana plasmática. Tem-se mostrado que o domínio M2 de todas as subunidades contribui estruturalmente para a formação do poro iônico, formando a luz do canal. A sua seletividade por cátions é dada por vários anéis de cadeias laterais de aminoácidos carregados negativamente e projetados para dentro da luz do canal [Eiselé, 1993; Bixel, 2000, 2001].

Após a elucidação dos receptores nicotínicos musculares da acetilcolina, o foco das atenções de estudos farmacológicos concentrou-se na investigação dos sítios receptores de compostos análogos de curares [Souccar *et al.*, 1999], compostos análogos de toxinas de serpentes, de rãs etc. [Bixel, 2000, 2001] e, de compostos análogos de anestésicos locais [Arias, 1997, 1998].

Nos anos 90 estudos farmacológicos e neuroquímicos mostraram que receptores nicotínicos da acetilcolina modulam a liberação de acetilcolina bem como de outros neurotransmissores em diferentes regiões do cérebro. Recentemente, foi relatado que receptores nicotínicos neuronais pós-sinápticos medeiam a transmissão sináptica rápida no sistema nervoso central [Souccar *et al.*, 1999]. Estas evidências fizeram surgir o uso potencial de ligantes colinérgicos específicos na terapia farmacológica de distúrbios comportamentais e outras desordens centrais como *Mal de Alzheimer* e *Parkinson* [Souccar *et al.*, 1999]. Neste sentido, agentes considerados como agentes colinérgicos clássicos estão sendo novamente analisados, buscando-se sondas (ligantes) que possam vislumbrar novas funções dos subtipos de receptores nicotínicos [Souccar *et al.*, 1999].

No presente trabalho, a atividade bloqueadora neuromuscular dos compostos da série I foi avaliada através do teste clássico em sinapses periféricas de preparações neuromusculares, ou seja, preparações nervo frênico-músculo diafragma de camundongos. Ainda mais, devido à aquisição de dados ser relativamente rápida quando comparados com avaliações, como por exemplo *Patch-Clamp*. Assim, o teste clássico foi considerado adequado para avaliar as

interação(ões) não-competitiva(s) em colinoreceptores nicotínicos, a ser utilizado nas análises de *QSAR*.

Os valores da concentração inibitória média (IC_{50} , em mol/L) capazes de reduzir a contração máxima a 50% no período de 15 minutos, determinados em preparações nervo frênico-músculo diafragma de camundongos, foram considerados como parâmetro biológico.

Os valores de IC_{50} , para os compostos **I.1-I.11**, expressos com nível de confiança de 95%, estão apresentados na tabela **III.4.1**.

Compostos mais potentes apresentam valores de pIC_{50} maiores enquanto que o oposto é apresentado por compostos menos potentes.

Para efeito de comparação, o valor de pIC_{50} para a procainamida, um composto com atividade anestésica local (Figura **IV.4.2.2**), é 2,37, utilizando-se as mesmas condições experimentais.

A determinação do parâmetro biológico foi efetuada e orientada pelo Prof. Dr. Antônio José Lapa e sua equipe do Departamento de Farmacologia do Instituto de Farmacologia da Universidade Federal de São Paulo (EPM).

IV.4.2 – Análise de *QSAR*

Estudos da relação quantitativa entre a estrutura química e a concentração inibitória média foram feitos empregando-se a abordagem de Hansch [Kubinyi, 1993; Hansch, 1995; Amaral *et al.*, 1997; Pires, 2001], aplicados aos compostos da série I, considerando-se que estes apresentam a mesma estrutura fundamental onde foram introduzidos substituintes na posição *para*, de acordo com o critério de Craig. Este estudo foi feito com o objetivo de se obter informações sobre as interações entre o composto e o sistema biológico, podendo contribuir para o entendimento do mecanismo de ação dos sais de amônio quaternário análogos da procainamida.

Na tabela **IV.4.2.1** estão apresentados os valores de IC_{50} e dos parâmetros físico-químicos/estruturais utilizados na análise de regressão, respectivamente:

lipofílicos (π , $\log P_{app}^{7,40}$, $\log P_{calc}$), eletrônicos (σ_p , $\mathfrak{I}$, $\mathfrak{R}$ e $\delta^{13}C=O$) e relativos à refratividade molar (MR_4), para os compostos **I.1-I.11**.

Tabela IV.4.2.1 – Valores de pIC_{50} e dos respectivos parâmetros físico-químicos/estruturais utilizados na análise de regressão, respectivamente π , $\log P_{app}^{7,40}$, $\log P_{calc}$, σ_p , $\mathfrak{I}$, $\mathfrak{R}$, $\delta^{13}C=O$ e MR_4 , para a série de brometos de [2-(4-X-benzamido)etil]benzildimetilamônio substituídos, compostos **I.1-I.11**.

Série I		Parâmetros biológicos			Parâmetros lipofílicos			Parâmetros eletrônicos				MR_4 (c)
Com posto	X	pIC_{50} (a)	pIC_{50} (b)	$[\Delta]$	π (c)	$\log P_{app}^{7,40}$ (d)	$\log P_{calc}$ (e)	σ_p (c)	$\mathfrak{I}$ (c)	$\mathfrak{R}$ (c)	$\delta^{13}C=O$ (f)	
I.1	H	2,97	2,92	0,05	0,00	-0,38	4,88	0,00	0,00	0,00	170,40	0,10
I.2	CH ₃	3,08	3,16	-0,08	0,56	0,23	5,38	-0,17	0,01	-0,18	170,37	0,57
I.3	<i>n</i> -C ₄ H ₉	3,93	3,81	0,12	2,13	1,87	6,97	-0,16	-0,01	-0,15	170,40	1,96
I.4	<i>n</i> -C ₆ H ₁₃	4,10	4,15	-0,05	3,10	2,76	8,02	-0,16	-0,06	-0,09	170,37	2,89
I.5	OCH ₃	2,98	3,05	-0,07	-0,02	-0,07	5,08	-0,27	0,26	-0,51	169,96	0,79
I.6	Cl	3,12	3,29	-0,17	0,71	0,54	5,79	0,23	0,42	-0,19	169,18	0,60
I.7	Br	3,78	3,36	0,42	0,86	0,73	5,94	0,23	0,45	-0,22	169,27	0,89
I.8	NO ₂	nd ^(g)	2,98	-0,03	-0,28	-0,24	5,05	0,78	0,65	0,13	168,29	0,74
I.9	CN	2,74	2,85	-0,11	-0,57	-0,56	4,78	0,66	0,51	0,15	168,54	0,63
I.10	CF ₃	3,15	3,34	-0,19	0,88	0,68	6,12	0,54	0,38	0,16	168,96	0,50
I.11	SO ₂ CH ₃	2,55	2,43	0,12	-1,63	-1,63	3,89	0,72	0,53	0,19	168,64	1,35

^(a) Valor de pIC_{50} , sendo IC_{50} em mol/L.

^(b) Valores previstos pela equação IV.4.3.2.

^(c) Valores retirados da literatura [Hansch, 1979; Kubinyi, 1993].

^(d) Valores determinados método *shake-flask*, tampão Trizma, pH = 7,40, μ = 0,10 M (KCl), e faixa de concentrações compreendida entre 1×10^{-4} – 1×10^{-5} mol/L.

^(e) Valores obtidos por cálculo pelo programa CLOGP [Programa CLOGP, 1995].

^(f) Valores obtidos em um espectrômetro Varian INOVA 300 a 75 MHz, utilizando-se metanol- d_4 como solvente, tomando-se como referência o sinal em 49,00 ppm de metanol- d_4 e concentrações de ~0,1 mol/L. Precisão de $\pm 0,01$ ppm de acordo com especificações do aparelho.

^(g) Para o composto cujo substituinte é NO₂ não foi possível determinar a relação de bloqueio da transmissão neuromuscular em função da concentração, pois por questões de solubilidade em água não foi possível preparar soluções nas concentrações requeridas para que o mesmo pudesse exercer a ação bloqueadora.

Na tabela **IV.4.2.1** pode ser observado que os valores de pIC_{50} apresentaram uma faixa de variação de potência de inibição de 1,55 unidades logarítmicas. O maior valor ($pIC_{50} = 4,10$) foi observado para o brometo de 2-[(4-*n*-hexilbenzamido)etil]benzildimetilamônio (composto **I.4**), enquanto, que o menor valor ($pIC_{50} = 2,55$) foi observado para o brometo de 2-[(4-metilsulfonilbenzamido)etil]benzildimetilamônio (composto **I.11**).

Para o composto **I.7** ($X = 4-NO_2$) não foi possível obter soluções aquosas em concentrações adequadas para se observar o bloqueio da contração muscular, pois este se mostrou insolúvel em água em concentrações maiores que 0,01 mol/L. Assim, o valor de pIC_{50} para o composto **I.7** não foi determinado, sendo apenas predito pelo modelo de *QSAR*, expresso pela equação IV.4.3.2.2.

Para o composto **I.11** ($X = 4-SO_2CH_3$), em concentrações na faixa de $4,53 \times 10^{-4}$ a $1,36 \times 10^{-3}$ mol/L, foi observado uma potenciação da transmissão neuromuscular, ou seja, houve um estímulo da contração muscular, enquanto que em concentrações mais elevadas foi observado o bloqueio da transmissão neuromuscular. Pascuzzo e colaboradores [Pascuzzo *et al.*, 1983] estudando a natureza das interações da piridostigmina (Figura IV.4.2.1) em receptores nicotínicos da acetilcolina, porém utilizando o sistema nervo-músculo de rã, também observaram que em concentrações baixas a piridoestigmina causa uma potenciação do estímulo muscular e em concentrações mais elevadas o mesmo composto apresenta bloqueio da contração muscular.

Figura IV.4.2.1 – Estrutura da piridostigmina.

Para efeito de comparação, o valor de pIC_{50} para a procainamida, um composto com atividade anestésica local (Figura IV.4.2.2), é 2,37, utilizando-se as mesmas condições experimentais. Pode-se observar pelos valores de pIC_{50} , que a procainamida é menos potente que todos os compostos estudados neste trabalho. Este anestésico local apresenta $\log P_{app} = 0,88$ [Comprehensive Medicinal

Chemistry, vol 6, 1990] e $pK_a = 9.26$, assim, em pH fisiológico (7,24-7,40) este composto se encontra 97% na forma ionizada.

Figura IV.4.2.2 – Estrutura da procainamida.

Como acima exposto, os dados sugerem que o grupo catiônico, nitrogênio quaternário presente na estrutura dos compostos da série, aumenta a atividade bloqueadora dos compostos. Estes dados são concordantes com resultados apresentados na literatura [Ikeda, 1984], como por exemplo, onde foi demonstrado que a introdução de grupo metila na cadeia lateral da bupivacaína (**Figura IV.4.2.3**) com formação de grupamento contendo um átomo de nitrogênio quaternário catiônico proporciona um aumento da potência inibitória avaliada em preparações músculo sartório-nervo ciático de rãs.

Figura IV.4.2.3 – Estrutura da bupivacaína.

As intercorrelações observadas entre os parâmetros utilizados na análise de *QSAR* (Abordagem Extra-termodinâmica) estão apresentadas na **Tabela IV.4.2.2**, avaliadas através dos coeficientes de correlação (r^2), para a série de brometos de [2-(4-X-benzamido)etil]benzildimetilamônio substituídos, compostos **I.1-I.11**.

Tabela IV.2.2 – Matriz de intercorrelação entre as variáveis independentes, utilizadas nas correlações (r^2), para a série de brometos de [2-(4-X-benzamido) etil]benzildimetilamônio substituídos, compostos **I.1-I.11**.

	π	$\log P_{app}^{7,40}$	$\log P_{calc}$	σ_p	$\mathfrak{I}$	$\mathfrak{R}$	$\delta^{13}C=O$	MR_4
π	1.000	0,991	0,979	0,368	0,427	0,114	0,365	0,413
$\log P_{app}^{7,40}$		1.000	0,991	0,320	0,349	0,112	0,297	0,448
$\log P_{calc}$			1.000	0,257	0,313	0,070	0,247	0,478
σ_p				1.000	0,744	0,649	0,886	0,083
$\mathfrak{I}$					1.000	0,156	0,942	0,142
$\mathfrak{R}$						1.000	0,329	0,006
$\delta^{13}C=O$							1.000	0,092
MR_4								1.000

IV.4.3 – Equações de correlação obtidas

Para os compostos da série I, a avaliação da(s) natureza(s) e a(s) contribuição(ões) relativa(s) dos parâmetros físico-químicos e estruturais envolvidos no bloqueio da transmissão neuromuscular foi feita aplicando-se a abordagem extratermodinâmica ou abordagem de Hansch e utilizando-se o programa BILIN [Programa BILIN, 1994].

Análise do efeito lipofílico sobre o bloqueio da transmissão neuromuscular:

Inicialmente, a avaliação da contribuição do efeito lipofílico sobre a atividade de bloqueio da transmissão neuromuscular foi feita através da correlação entre os valores de pIC_{50} e os valores dos parâmetros lipofílicos (π , $P_{app}^{7,40}$ e $\log P_{calc}$, respectivamente). As análises de regressão foram obtidas utilizando-se os compostos da série I.

a) utilizando-se os compostos I.1-I.11 (n=11)

$$pIC_{50} = 0,36(\pm 0,12) \pi + 3,02(\pm 0,16) \quad \text{eq. IV.4.3.1}$$

$$n = 10; r = 0,930; s = 0,20; F = 51,38; Q^2 = 0,83; s_{PRESS} = 0,22$$

$$pIC_{50} = 0,39(\pm 0,12) \log P_{app}^{7,40} + 3,08(\pm 0,15) \quad \text{eq. IV.4.3.2}$$

$$n = 10; r = 0,936; s = 0,19; F = 57,01; Q^2 = 0,84; s_{PRESS} = 0,21$$

$$pIC_{50} = 0,41(\pm 0,12) \log P_{calc} + 0,915(\pm 0,71) \quad \text{eq. IV.4.3.3}$$

$$n = 10; r = 0,925; s = 0,21; F = 47,69; Q^2 = 0,81; s_{PRESS} = 0,23$$

Como pode ser observado na tabela de intercorrelação dos parâmetros Tabela IV.2.2, os valores de r^2 que expressam as intercorrelações dos parâmetros lipofílicos (π , $\log P_{app}^{7,40}$ e $\log P_{calc}$) e MR_4 são de 0,413, de 0,448 e de 0,478, respectivamente. Embora os valores não sejam estatisticamente significativos, a correlação observada entre os parâmetros compromete, até certo ponto, a análise do termo relacionado à lipofilicidade. Assim, excluindo-se da análise o composto I.4, os valores de r^2 se tornam iguais a 0,066; 0,096; 0,100. Por outro lado, deve-se ressaltar que a exclusão do *n*-hexil derivado ($\log P_{app}^{7,40} = 2,76$) bastante lipofílico restringe a faixa de variação do parâmetro lipofílico, comprometendo, até certo ponto, o modelo de *QSAR* proposto a partir da série sem o composto I.4.

b) excluindo-se o composto I.4 (X = *n*-C₆H₁₃)

$$pIC_{50} = 0,38(\pm 0,17) \pi + 3,023(\pm 0,18) \quad \text{eq. IV.4.3.4}$$

$$n = 9; r = 0,894; s = 0,21; F = 27,83; Q^2 = 0,69; s_{PRESS} = 0,25$$

$$pIC_{50} = 0,41(\pm 0,17) \log P_{app}^{7,40} + 3,08(\pm 0,16) \quad \text{eq. IV.4.3.5}$$

$$n = 9; r = 0,904; s = 0,20; F = 31,44; Q^2 = 0,72; s_{PRESS} = 0,24$$

$$pIC_{50} = 0,44(\pm 0,20) \log P_{calc} + 0,74(\pm 1,11) \quad \text{eq. IV.4.3.6}$$

$$n = 9; \quad r = 0,891; \quad s = 0,22; \quad F = 26,92; \quad Q^2 = 0,69; \quad s_{PRESS} = 0,25$$

As correlações obtidas para a série I. mostraram que a atividade de bloqueio neuromuscular, expressa por pIC_{50} , se correlaciona significativamente com o parâmetro lipofílico. Além disso, a exclusão do composto **I.4** ($n\text{-C}_6\text{H}_{13}$) na análise resultou em modelos estaticamente menos significativos, que pode ser observado pelos correspondentes parâmetros estatísticos das equações de correlação.

Análise do efeito eletrônico sobre o bloqueio da transmissão neuromuscular

Analogamente ao efeito lipofílico, a contribuição do efeito eletrônico exercido pelos substituintes sobre a atividade de bloqueio da transmissão neuromuscular foi feita através da correlação dos parâmetros eletrônicos σ_p , $\mathfrak{I}$, $\mathfrak{R}$ e $\delta^{13}_{C=O}$, respectivamente. As análises de regressão foram obtidas utilizando-se os compostos da série I.

a) utilizando-se os compostos I.1-I.11

$$pIC_{50} = -0,75(\pm 0,96) \sigma_p + 3,36(\pm 0,37) \quad \text{eq. IV.4.3.7}$$

$$n = 10; \quad r = 0,536; \quad s = 0,46; \quad F = 3,22; \quad Q^2 = -0,04; \quad s_{PRESS} = 0,54$$

O(s) efeito(s) eletrônico(s) dos grupos substituintes pode(m) ser desdobrado(s) em suas componentes campo/indutivo e de ressonância, utilizando-se por exemplo, as constantes de $\mathfrak{I}$ e $\mathfrak{R}$ de Swain e Lupton. Assim, utilizando-se as constantes de $\mathfrak{I}$ e $\mathfrak{R}$ de Swain e Lupton como parâmetro eletrônico resultou na equação IV.4.3.8.

$$pIC_{50} = -1,02(\pm 1,69) \mathfrak{I} - 0,46(\pm 1,87) \mathfrak{R} + 3,45(\pm 0,61) \quad \text{eq. IV.4.3.8}$$

$$n = 10; \quad r = 0,558; \quad s = 0,49; \quad F = 1,58; \quad Q^2 = -0,53; \quad s_{PRESS} = 0,69$$

Considerando-se $\delta'^3_{C=O}$ como parâmetro eletrônico experimental resulta na equação IV.4.3.9

$$pIC_{50} = 34,81(\pm 46,40) \delta'^3_{C=O} - 55,78(\pm 78,70) \quad \text{eq. IV.4.3.9}$$

$$n = 10; r = 0,522; s = 0,47; F = 2,99; Q^2 = -0,06; s_{PRESS} = 0,54$$

b) excluindo-se o composto I.4 (X=n-C₆H₁₃)

Considerando-se pertinente o que foi apresentado e discutido para o parâmetro lipofílico foram obtidas as equações de correlação

$$pIC_{50} = -0,51(\pm 0,77) \sigma_p + 3,25(\pm 0,35) \quad \text{eq. IV.4.3.10}$$

$$n = 9; r = 0,473; s = 0,40; F = 2,31; Q^2 = -0,21; s_{PRESS} = 0,50$$

$$pIC_{50} = -0,44(\pm 1,42) \mathcal{T} - 0,60(\pm 1,63) \mathcal{R} + 3,23(\pm 0,62) \quad \text{eq. IV.4.3.11}$$

$$n = 9; r = 0,48; s = 0,42; F = 1,05; Q^2 = -0,94; s_{PRESS} = 0,67$$

$$pIC_{50} = 22,91(\pm 37,90) \delta'^3_{C=O} - 35,68(\pm 64,20) \quad \text{eq. IV.4.3.12}$$

$$n = 9; r = 0,442; s = 0,41; F = 1,94; Q^2 = -0,27; s_{PRESS} = 0,51$$

Para a série de brometos [2-(4-X-benzamido)etil]benzildimetilamônio substituídos, compostos I.1-I.11, a análise das equações que correlacionam o bloqueio da transmissão neuromuscular com o efeito eletrônico indica que a contribuição do termo relativo ao efeito eletrônico não é significativa. Além disso, a contribuição do termo relativo à distribuição eletrônica do grupo carbonila também não é significativa para o parâmetro biológico.

Análise do efeito relacionado à refratividade molar

Assim como para os outros dois parâmetros, respectivamente, lipofílico e eletrônico analisados anteriormente, a contribuição do termo relativo à refratividade

molar foi avaliada através da correlação entre os valores de pIC_{50} e de correspondentes valores de MR_4 .

a) utilizando-se os compostos I.1-I.11

$$pIC_{50} = 0,43(\pm 0,37) MR_4 + 2,80(\pm 0,48) \quad \text{eq. IV.4.3.13}$$

$$n = 10; r = 0,678; s = 0,40; F = 6,82; Q^2 = 0,30; s_{PRESS} = 0,44$$

b) excluindo-se o composto I.4 (X=n-C₆H₁₃)

$$pIC_{50} = 0,36(\pm 0,66) MR_4 + 2,85(\pm 0,64) \quad \text{eq. IV.4.3.14}$$

$$n = 9; r = 0,439; s = 0,43; F = 1,67; Q^2 = -0,82; s_{PRESS} = 0,61$$

Analisando-se as duas equações obtidas pode-se observar que a equação obtida para série I completa (**equação IV.4.2.13**) apresenta uma pequena correlação com os valores de MR_4 , enquanto que a equação **IV.4.3.14** não apresenta uma correlação significativa. Quando o composto I.4 (X = n-C₆H₁₃) é excluído, obtém-se como resultado a diminuição da correlação entre os parâmetros π e MR_4 . Assim, os resultados da análise de regressão da **equação IV.4.3.13** podem ser devido à correlação dos parâmetros π e MR_4 .

Para verificar se a refratividade molar, realmente, contribui para a ação bloqueadora da transmissão neuromuscular, foi feita uma análise multiparamétrica, utilizando-se $\log P_{app}^{7,40}$ e MR_4 e que estão apresentadas a seguir.

$$pIC_{50} = 0,36(\pm 0,17) \log P_{app}^{7,40} + 0,06(\pm 0,26) MR_4 + 3,02(\pm 0,27) \quad \text{eq. IV.4.3.15}$$

$$n = 10; r = 0,940; s = 0,20; F = 26,33; Q^2 = 0,78; s_{PRESS} = 0,26$$

$$pIC_{50} = 0,39(\pm 0,17) \log P_{app}^{7,40} + 0,15(\pm 0,30) MR_4 + 2,96(\pm 0,24) \quad \text{eq. IV.4.3.16}$$

$$n = 9; r = 0,922; s = 0,19; F = 19,77; Q^2 = 0,73; s_{PRESS} = 0,25$$

Como pode ser observado, nas equações eq. IV.4.3.15 e eq. IV.4.3.16 o termo referente a MR_4 é não significativo, sugerindo, portanto, que a refratividade molar não contribui para a atividade biológica em questão.

Assim, foi possível propor, que o modelo que melhor se ajusta aos dados do parâmetro biológico é aquele descrito pela equação IV.4.3.2. Além disso, este modelo explica a maioria da variação nos valores de pIC_{50} .

A predição do modelo proposto avaliado pelo valor de ΔpIC_{50} mostrou o ajuste dos dados de atividade biológica, obtidos experimentalmente, ao modelo, não sendo maior do 0,19, exceto para o composto I.7 (X=Br) que foi de 0,42.

$$pIC_{50} \text{ pred} = 0,88(\pm 0,11) pIC_{50} \text{ exp} + 0,39(\pm 0,79) \quad \text{eq. IV.4.3.17}$$

$$n = 10; r = 0,938; s = 0,17; F = 66,08; Q^2 = 0,80; s_{PRESS} = 0,22$$

Figura IV.4.3.1 – Gráfico e equação obtidos da correlação entre os valores de pIC_{50} determinados experimentalmente em função dos valores de pIC_{50} preditos pela equação IV.4.3.2.

Pelo modelo expresso pela equação IV.4.3.2, pode ser observado que a lipofilicidade exerce contribuição positiva para a atividade bloqueadora da transmissão neuromuscular, ou seja, quanto maior for a lipofilicidade de um composto maior será o bloqueio. Apesar de a lipofilicidade contribuir

positivamente, esta contribuição (0,39) é um tanto quanto pequena, como pode ser verificado pelo valor do coeficiente angular (0,39) do termo relativo ao parâmetro lipofílico da equação de *QSAR* proposta.

$$pIC_{50} = 0,39(\pm 0,12) \log P_{app}^{7,40} + 3,08(\pm 0,15) \quad \text{eq. IV.4.3.2}$$

$$n = 10; r = 0,936; s = 0,19; F = 57,01; Q^2 = 0,84; s_{PRESS} = 0,21$$

Nos modelos gerados de *QSAR* [Kubinyi, 1993; Amaral *et al.*, 1997], quando a contribuição do termo associado à lipofilicidade é observada ser menor que uma unidade, tem-se interpretado como sendo uma “real” ausência de contribuição ou uma aparente ausência de contribuição que estaria encobrindo outras informações sobre a interação. Por outro lado, assume-se que a lipofilicidade de um composto [van der Waterbeemd, 1995] pode ser expressa por uma componente polar, diminuindo a lipofilicidade (ex.: ligação de hidrogênio) e por uma segunda componente hidrofóbica aumentando a lipofilicidade (ex. superfície de acesso de ao solvente). Assim, por exemplo, se um composto possui grupos capazes de formar ligação de hidrogênio e se esta for favorável à interação com o seu receptor, e, além disso, se a lipofilicidade também for importante para que este composto possa chegar até este receptor, então, o efeito da capacidade de formar ligação de hidrogênio, esperado diminuir a lipofilicidade, poderá proporcionar uma diminuição da contribuição do parâmetro lipofílico.

Na literatura [Stenlake, 1981] são encontrados relatos que descrevem que a lipofilicidade exerce influência sobre o bloqueio da transmissão neuromuscular. Como apresentado no capítulo I, recentemente, Bixel e colaboradores [Bixel *et al.*, 2000, 2001], estudando a relação entre a estrutura e a atividade de uma série de 14 poliaminas análogas da philantoxina como inibidores não competitivos (NIC's) do receptor nicotínico da acetilcolina (nAChR) e avaliando a constante de associação, mostraram que aumentando o tamanho do grupo da cabeça hidrofóbica, introduzindo grupos aromáticos volumosos ocorria um aumento da afinidade pelo receptor quando comparada com a philantoxina. Estes resultados foram explicados,

assumindo que a hidrofobicidade da cabeça hidrofóbica é a característica estrutural importante para a excepcional afinidade observada, embora a lipofilicidade não tenha sido determinada ou mesmo calculada pelos autores. Estes sugerem que tanto a philantoxina como as poliaminas entram no receptor do canal iônico vindos do meio extracelular. As cabeças hidrofóbicas se ligam ao sítio de alta afinidade enquanto que as cadeias de poliaminas com carga positiva provavelmente interagem com as cadeias laterais de aminoácidos carregados negativamente projetados para o lúmen do canal. Concordantemente, neste trabalho foi observado que para a série de brometos [2-(4-X-benzamido)etil]benzildimetilamônio substituídos, compostos **I.1-I.11**, o bloqueio da transmissão neuromuscular, ou seja, inibição não-competitiva dos receptores nicotínicos musculares é aumentada com o aumento da lipofilicidade. A resposta biológica, no entanto, foi avaliada pelo teste clássico em sinapses periféricas de preparações neuromusculares e não se determinou a constante de associação, portanto, não fornecendo informações necessárias para sugerir que a atividade observada ocorra pelo mecanismo estérico ou alostérico.

Adicionalmente, a aplicação dos modelos parabólico e bilinear foi verificada para os valores de pIC_{50} da série de brometos [2-(4-X-benzamido)etil]benzildimetilamônio substituídos, compostos **I.1-I.11**. Os resultados obtidos se mostraram estatisticamente não significantes. Apesar do intervalo de variação dos valores de $\log P_{app}^{7.40}$ ter sido de 4,39 unidades logarítmicas, este pode ter sido ainda pequeno para que fosse observado um modelo não linear, ou seja, um modelo parabólico ou bilinear.

V – Conclusões

Através da análise de *QSAR*, abordagem de Hansch, aplicada aos valores do bloqueio da transmissão neuromuscular determinados para a série de onze brometos de [2-(4-X-benzamido)etil]benzildimetilamônio substituídos, sendo X = H (I.1); CH₃ (I.2); *n*-C₄H₉ (I.3); *n*-C₆H₁₃ (I.4); OCH₃ (I.5); Cl (I.6); Br (I.7); NO₂ (I.8); CN (I.9); CF₃ (I.10); e SO₂CH₃ (I.11) sintetizados e tendo obtidos os parâmetros, respectivamente lipofílicos (π , $\log P_{app}^{7,40}$ e $\log P_{calc}$), eletrônicos (σ_p , $\mathfrak{J}$, $\mathfrak{R}$ e $\delta^{13}_{C=O}$) e MR₄, neste trabalho foi possível constatar:

- 1 – Há correlação significativa entre a atividade biológica, expressa pelo parâmetro pIC₅₀ e os parâmetros lipofílicos, expresso pelos parâmetros π , $\log P_{app}^{7,40}$ e $\log P_{calc}$.
- 2 – Não há correlação significativa dos parâmetros eletrônicos e refratividade molar com pIC₅₀.
- 3 – Não há correlação significativa para as equações em que foram incluídos dois parâmetros.
- 4 – Aplicação dos modelos parabólico e bilinear não apresentou correlação significativa.
- 5 – O modelo proposto que melhor explica a variação dos valores de pIC₅₀ foi obtido pela equação **eq. IV.4.3.2**.

$$pIC_{50} = 0,39(\pm 0,12) \log P_{app}^{7,40} + 3,08(\pm 0,15) \quad \text{eq. IV.4.3.2}$$

$$n = 10; \quad r = 0,936; \quad s = 0,19; \quad F = 57,01; \quad Q^2 = 0,84; \quad s_{PRESS} = 0,21$$

6 – Na equação **eq. IV.4.3.2**, a análise dos coeficientes de regressão indica a contribuição positiva (0,39) de $\log P_{app}^{7,40}$ para o bloqueio da transmissão neuromuscular.

7 – Uma análise comparativa preliminar entre os resultados por nós obtidos e resultados da literatura confirma tanto a importância da presença de um grupo catiônico como da lipofilicidade para o bloqueio da transmissão neuromuscular.

8 – Os resultados por nós obtidos, embora tenham fornecido subsídios sobre o tipo de interação composto-sistema biológico, não nos permite decidir pelo mecanismo estérico ou alostérico, como o mais provável.

9 – Estudos futuros podem ser realizados com o objetivo de avaliar a densidade de carga no nitrogênio quaternário.

10 – Estudos de eletrofisiologia (*patch clamp*) podem ser realizados para se verificar a dependência de voltagem para a atividade destes compostos. E assim, poder contribuir para elucidar se o mecanismo de ação é estérico ou alostérico.

VI – Referências Bibliográficas

- Abraham M.H., Chadha, H.S., Whiting, G.S., Mitchell, R.C., *J. Pharm. Sci.*, **83**, 1085, (1994).
- Amaral, A.T., Miyazaki, Y., Stachissini, A.S., Caprara, L., Oliveira, A.C., In: *QSAR: Rational Approaches to Design of Bioactive Compound*, vol. 16, p. 509-512, (Silipo, C., Vittoria, A., eds), Elsevier, Amsterdam, (1991).
- Amaral, A.T., Miyazaki, Y., Capobianco, G., Frey, B.Y., Stachissini, S., Miguel, S.M., Kawabe, A.B., Tavares, L.C., Gallacci, m., Caprara, L., Oliveira, A.C., In: *Trends in QSAR and Molecular Modeling 92.*, p.558-559, (Wermuth, C.G., ed.) ESCOM, Leiden (1993).
- Amaral, A.T., Miyazaki, Y., Tavares, L.C., Gallacci, M., Oliveira, A.C., In: *QSAR and Molecular Modeling: Concepts, Computational Tools and Biological Applications*, p.134-136, (Sans, F., Giraldo, J., Manaut, F., eds.) Prous Science Publisher, Barcelona. (1995).
- Amaral, A.T. do, Oliveira, A.C, Neidlen, R., Gallacci, M., Caprara, L., Miyazaki,Y., *Eur. J Med Chem.*, **32**, 433, (1997).
- Andrews P.R., Craik, D.J., Martin, J.L., *J.Med. Chem.***27**, 1648, (1984).
- Andrews, P.R., Tintelnot, M., In: *Comprehensive Medicinal Chemistry*, vol 4, p.321-347, (Hansch, C., Sammes, P.G., Taylor, J.B. eds.), Pergamon Press, Oxford, (1990).
- Arias, H. R., *Brain Res. Rev.*, **25**, 133, (1997).
- Arias, H. R., *Bioch. Bioph. Acta*, **173**, 1376, (1998).
- Aronstam, R.S., Eldefrawi, A.T., Pessah, I.N., Daly, J.W., Albuquerque, E.X., Eldefrawi, M.E. *J. Biol. Chem.*, **256**, 2483, 1981.

Bamford, D.G., Biggs, D.F., Chaplen. P., Davis, M. *J. Pharm. Pharmacol.*, 22, 110, 1970.

Baroni, R. *Aspectos estruturais, mecanismo de formação e atividade antimicrobiana de benzilidenotiossemocarbazonas 2- ou 4-, potencialmente quimioterápicas* [Dissertação de Mestrado, Faculdade de Ciências Farmacêuticas da USP], 1987.

Bastos-Ceneviva, M.P., *Química Nova*, julho, 141, (1984).

Becker, H.G.O., Berger, W., Domschke, G., Fanghänel, E., Faust, J., Fischer, M., Gentz, F., Gewald, K., Gluch, R., Mayer, R., Muller, K., Pavel, D., Schimidt, H., Schollberg, K., Seiler, E., Zeppenfeld, G., *Organikum – Química Orgânica Experimental*, tradução da 19ª edição, Fundação Calouste Gulbenkian, p. 281-284 (1993).

Becker, H.G.O., Berger, W., Domschke, G., Fanghänel, E., Faust, J., Fischer, M., Gentz, F., Gewald, K., Gluch, R., Mayer, R., Muller, K., Pavel, D., Schimidt, H., Schollberg, K., Seiler, E., Zeppenfeld, G., *Organikum – Química Orgânica Experimental*, tradução da 19ª edição, Fundação Calouste Gulbenkian, p.561-562, (1993).

Bixel, M.G., Krauss, M., Liu, Y., Bolognesi, M.L., Rosini, M., Mellor, I.S., Usherwood, P.N.R., Melchiorre, C., Nakanishi, K., Huchho, F. *Eur. J. Biochem.*, 267, 110, (2000).

Bixel, M.G., Weise, C., Bolognesi, M.L., Rosini, M., Brierly, M.J., Mellor, I.R., Usherwood, P.N.R., Melchiorres, C., Hucho, F. *J. Biol.Chem.*, 276, 6151, (2001).

Boehm H.J., Boehringer M, Bur D, Gmuender H, Huber W, Klaus W, Kostrewa D, Kuehne H, Luebbers T, Meunier-Keller N, *J.Med. Chem.*,43, 2664, (2000)

Böhm, H.J., In: *3D-QSAR in Drug Design Theory, Methods and Applications*, p.386, H. Kubinyi ed., ESCOM, Leinden, (1993).

Bouzat, C., Barrantes, F.J. *J. biol. Chem.*271, 25835, (1996).

Carey, F.A., Sundberg, R.J., In: *Advanced Organic Chemistry*, 3rd edition, Plenum press, New York, (1990).

Collander, R., *Acta Chem. Scand.*, 4, 1085, (1950).

Comprehensive Medicinal Chemistry, vol 6, (Hansch, C., Sammes, P.G., Taylor, J.B. eds.), Pergamon Press, Oxford, (1990).

Craig, P.J., *J Med Chem*, 71, 680, (1971).

Craik, D.J., Brownlee, R.T.C., In: *Progress in Physical Organic Chemistry*, vol 14, p. 1-67, (Taft, R.W. ed), Wiley & Sons, New York, (1983).

Crammer, R.D. III, Patterson, D.E., Bunce, J.D. *J. Am. Chem. Soc.*, 110, 5959, (1988).

Dearden, J.C., Bresnen, G.M., *Quant. Struct. Act. Relat.*, 7, 133, (1988).

Dearden, J. C., Bradburne, S.J.A., Abraham, M.H., In: *QSAR: Rational Approaches to the Design of Bioactive Compound.*, vol. 16, p. 143 – 151, (Silipo, C., Vittoria, A., eds.), Elsevier, Amsterdam, (1991).

DesJarlais, R.L., *J. Med. Chem.*, 31, 722, (1988).

Dimmock, J.R., Kandepu, N.M., Hetherington, M., Quail, J.W., Pugazhenth, U., Sudon, A.M., Chamankhah, M., Rose, P., Pass, E., Allen, T.M., Halleran, S., Szydlowski, J., Mutus, B., Tannous, M., Manavathu, E.K., Myers, T.G., De Clercq, E., Balzarini, J. *J. Med. Chem.*, 41, 1014, (1998).

Duban, M.E., Bures, M.G., DeLazzer, J., Martin, Y.C., In: *Pharmokinetic Optimization in Drug Research – Biological, Physicochemical, and computational Strategies*, p. 485-498, (Testa, B., van der Waterbeemd, H., Folkers, G., Guy, R., eds) WILEY-VCH, Zürich, (2001).

Eiselé, J.L., Bertrand, S., Galzi, J.L., Devillers-Thiéry, A., Changeux, J.P., Bertrand, D., *Nature*, 366, 479, (1993).

El Tayar, N., Tsantili-Kakoulidou, Röthlisberger, T., Testa, B., Gal, J., *J.Cromatogr.*, 439, 237, (1988).

Free, S.M., Wilson, J.W., *J. Med. Chem.*, 7, 395, (1964).

Fujita, T., Ban, T., *J. Med. Chem.*, 14, 148, (1971).

Fujita, T., In: *Comprehensive Medicinal Chemistry*, vol 4, p.497-560, (Hansch, C., Sammes, P.G., Taylor, J.B. eds.), Pergamon Press, Oxford, (1990).

Gaillard, P., Carrupt, P.A., Testa, B., Boudon, A., *J.Comp. Aided Mol. Des.*, 8, 83, (1994).

Gonçalves, R.S., Malvezzi, A., Amaral, A. T.do., *Aspectos intermoleculares no coeficiente de partição em uma série de análogos da procainamida para estudos de QSAR*, MD-056. Poços de Caldas, MG. 24^a R.A. Sociedade Brasileira de Química 28-31 de maio de 2001.

Hammett, L. P., *J. Am. Chem. Soc.*, 59, 96, (1937).

Handbook of Chemistry and Physics, 52^a Ed. 1971-1972.

Hansch, C., Fujita, T., *J. Am.Chem.Soc.*, Washhington,, 86, 1616, (1964).

Hansch, C., Leo, A., Unger, S. H., Kim, K. H.Mikitani, D., Lien, E.J., *J. Med. Chem.*, 16, 1207, (1973).

Hansch, C., Leo, A.J., *Substituent Constants for Correlation Analysis in Chemistry and Biology*, Jonh Wiley, New York, (1979).

Hansch, C., Leo, A.J., Taft, R.W., *Chem. Rev.*, 91, 165, (1991).

Hansch, C., Leo, A.J. & Hoekman, D.. In: *Exploring QSAR. Fundamentals and applications in chemistry and biology*, ACS Professional Reference Book, Washington. (1995).

Hansch, C., Kurup, A., Garg, R., Gao, H., *Chem. Rev.*, 101, 619, (2001).

Hansen, O.R., *Acta. Chem. Scand.*, 16, 1593 (1962).

Hardman, J.G., Gilman, A.G., Limbird, L.E., *Goodman & Gilman's – The pharmacological Basis of Therapeutics*, Ed. P.B. Molinoff e R.W. Ruddon, The McGraw-Hill. (1996).

Harrold, M.W., Sriburi, A., Matsumoto, K., Miller, D.D., Farooqui, T., Uretsky, N., *J. Med. Chem.* 36, 3166, (1993).

Hellmann, H., *Angew. Chem.*, 69, 463 (1957).

Ikeda, S.R., Aronstam, R.S., Daly, J.W., Aracava, Y., Albuquerque, E.X. *Mol. Pharmacol.* 26, 293, (1984).

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)*, [Dissertação de Mestrado, Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto USP], 1999.

Ishiki, H.M, Galembeck, S.E & Amaral, A.T._do Application of two alignments procedures in CoMFA analysis of nevirapine derivative *Proceedings of 13th European Symposium on Quantitative Structure-Activity Relationships: Rational Approaches to Drug Design*, ESCOM, Science Publishers B.V., The Netherlands; p.340-344, (2001).

Ishiki, H., do-Amaral, A.T., Bruns, E.B., Galembeck, S.E., comunicação pessoal.

Kim, K.H., Lin, N.H., Anderson, D.J., *Bioorg. Med. Chem.*, 4, 2211, (1996).

Klebe, G., In: *3D-QSAR in Drug Design Theory, Methods and Applications*, p.173, H. Kubinyi ed., ESCOM, Leiden, (1993).

Klebe, G., Abraham, U., Mietzner, T., *J. Med. Chem.*, 37, 4130, (1994).

Kubinyi, H., *Arzeim.-Forsch.*, 29, 1067, (1963).

Kubinyi, H., In: *Comprehensive Medicinal Chemistry*, vol 4, p. 589-643, (Hansch, C., Sammes, P.G., Taylor, J.B. eds.), Pergamon Press, Oxford, (1990).

Kubinyi H. *3D-QSAR: Theory, Methods and Applications*. Leiden: ESCOM, 1993.

Kubinyi, H., (1993). In: *QSAR: Hansch Analysis and Related Approaches*; Ed. R.Mannhold, P.Krosgaard-Larsen and Timmerman, VCH, Weinheim.

Kubinyi, H., *Current Opin. in Drug Disc. & Develop.*, 1, 4, (1998).

Lattin, D. L., In: *Principles of Medicinal Chemistry*, 4^a Ed., p. 321, (Foye, W. O., Lemke, T. L., Williams, D. A., Eds.), Lippincott Williams & Wilkins, Media, (1995).

Leo, A., Jow, P.Y.C., Hansch, C., *J. Med. Chem.*, 8, 865, (1975).

Leo, A.J. *Chemical Reviews*, 93, 1281, (1993).

Leo, A.J. In: *Methods and Principles in Medicinal Chemistry*, cap 9, vol 4, (Manhold, R., Kubinyi, H., Timmerman, H., eds) VCH, Weinheim, (1995).

Malvezzi, A., Policastro, D. S., da Silva, W. C. F. N., and Amaral A.T.do. *Study of ion-pair formation in a set of [(N,N-dimethylamino)-methyl]-4 - substituted benzamide hydrochlorides*. P-C5. 2000. Lausanne, Suíça. The second log P symposium 'Lipophilicity in Drug Disposition'. 5-3-2000.

Mannhold, R., Dross, K., *Quant. Struct-Act. Relat.*, 15, 403, (1996).

Martin, Y.C., *Quantitative Drug Design, A Critical Introduction*, vol 8, *Medicinal Series*, Marcel Dekker, New York, (1978).

Martin, Y.C., Bush, E.N., Kyncl, J.J., In: *Comprehensive Medicinal Chemistry*, vol 4, p. 349-373, (Hansch, C., Sammes, P.G., Taylor, J.B. eds.), Pergamon Press, Oxford, (1990).

Nys, G., Rekker, R.F., *Eur. J. Med. Chem.*, 9, 361, (1974).

Pascuzzo, G.J., Akaike, A., Maleque, M.A., Shaw, K.P., Aronstam, R.S., Rickett, D.L., Albuquerque, E.X., *Mol. Pharmacol.* 25, 92, (1983).

Penfold, B.R., White, J.C., *Acta Cryst.*, 12, 130, (1959).

Perrin, D. D., Armarego, W. L. F. In *Textbook Purification of Laboratories Chemicals*, 3^a Ed. 1988

Perrin, D.D., Dempsey, B., *Buffers for pH and Metal Ion Control*, Chapman and Hall, London. (1994).

Pires, J.R.M., *Relações Quantitativas entre a Estrutura Química de Derivados Nitrofurânicos e a Atividade Antimicrobiana contra *Caulobacter crescentus* e *Staphylococcus aureus**, [Tese de doutoramento, Instituto de Química da USP], 1998.

Pires, J.R.; Giesbrecht A.M.; Gomes, S.L.; Amaral, A.T-do. (2000) *Structure-activity relationships of nitrofurán derivatives with antibacterial activity*. In: *Molecular Modelling and Prediction of Bioactivity*, Gundertofte and Jørgensen, eds. (ISBN 0-306-46217-6) (C) Kluwer Academic/Plenum Publishers, New York, 290-291.

Pires, J.R., Saito, C., Gomes, S.L., Giesbrecht, A.M.; Amaral, A.T.-do *J.Med.Chem* (in press).

Programa BILIN, versão (1994) [software], gentilmente cedido pelo Prof. Hugo Kubinyi, Alemanha.

Programa CLOGP versão 1.0.0 para Windows, Biobyte, Claremont USA, (1995) [software].

Programa Pallas 3.0. CompuDrug Chemistry Ltd (1994, 95) [software].

Raminelli, C. Siqueira, L.J.A., Malvezzi, A. Policastro, D., *Planejamento Fatorial para estudo da influência das interações intramoleculares na lipofilicidade de análogos da procainamida*, MD-077. Poços de Caldas – MG 23^a RA Sociedade Brasileira de Química, 23 a 26 de maio de 2000.

Rando, Daniela G., Sato, Dayse N.; Siqueira, Leonardo J.A.; Malvezzi, Alberto.; Leite, Clarice Q. F; Amaral, Antonia T.do, Ferreira, Elizabeth I.; Tavares, Leoberto C., *Bioorganic & Medicinal Chemistry (in press)*.

Rekker, R.F., Kort, H.M., *Eur. J. Méd. Chem.*, 14, 479, (1979).

Reynolds, W.F., Tompsom, J., *J. Org. Chem.*, 49, 1989, (1984).

Rosini, M., Budriesi, R., Bixel, M.G., Bolognesi, M.L., Chiarini, A., Hucho, F., Krogsgaard-Larsen, P., Mellor, I.A., Minarini, A., Tumiatti, V., Usherwood, P.N.R., Melchiorre, C., *J. Med. Chem.*, 42, 5212, (1999).

Seydel, J.K., Schaper, K.J., *Chemische Struktur und Biologische Aktivität von Wirkstoffen. Methoden der Quantitative Struktur-Wirkung-Analyse*, VCH, Weinheim, (1979).

Silverstein, R.M., Bassler, G.C., Morrill, T.C., *Identificação espectrométrica de compostos orgânicos*, Tradução de R.B. de Alencastro, Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, (1994).

Souccar, C. Lima-Landman, M. T. R., Ballejo, G., Lapa, A. J., *Brit. J. Pharmacol.*, 124, 1270, (1998).

Souccar, C., Borrás, M. R. L., Corrado, A. P., Lima-Landman, M. T. R., Lapa, A. J., *APPTLA*, 49, 268, (1999).

Sousa, W.A. de. *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 USP], 1997.

Steinbach, J.H., Bracamontes, J., Yu, L., Zhang, P.N., Covey, D.F., *Mol. Pharmacol.* 58, 11, (2000).

Stenlake, J.B., *Prog. Med. Chem.*, 3, 1, (1963).

Stenlake, J.B., *Prog. Med. Chem.*, 16, 257, (1979).

Stenlake, J. B., In: *Burger's Medicinal Chemistry*, vol 3, p. 431, (Wolff, M. E. Ed.), Wiley, New York, (1981).

Stenlake, J.B., Dhar, N.C., Haddow, J., McDonald, I.M., Maehr, R.B., Wastila, W.B., *Eur. J. Med. Chem.*, 27, 463, (1992).

Stenlake, J.B., Dhar, N.C., Henderson, C.F., Maehr, R.B., Scharver, J., Wastila, W.B., Midgley, J.M., *Eur. J. Med. Chem.*, 28, 415, (1993).

Swain, R.W., Lupton, E.C., *J. Am. Chem. Soc.*, 90, 4328, (1968).

Taft, R.W., *J. Am. Chem. Soc.*, 74, 3120, (1952).

Tavares, L.C., *Efeitos de substituintes sobre a polaridade do grupo carbonila e a atividade anestésica local de N,N-[(dimetil)metil]benzamidas para substituídas*, [Dissertação de Mestrado, Faculdade de Ciências Farmacêuticas da USP], 1987.

Tavares, L.C., Amaral, A.T., *Rev. Farm. Bioquím. Univ. S. Paulo*, 33, 123-129, (1997).

Taylor, P., Brown, J.H., In: *Basic Neurochemistry, molecular, cellular, and medical aspects*, cap. 11, p 231, (Siegel, G.J., Agranoff, B.W., Albers, R.W., Molinoff, P.B., Eds) Raven press, New York, (1993).

Terada, H. *Quant. Struct.-Act. relat.* 5, 81, (1986).

Testa, B., Anker, L., van der Waterbeemd, H., Bornard-Crausaz, A., Theodorou, A., Jenner, P., Marsden, C.D., *Helv. Chim. Acta*, 66 (2), 542, (1983).

Tiedt, T.N., Albuquerque, E.X., Barry, N.M., Eldefrawi, M.E., Eldefrawi, A.T. *Mol. Pharmacol.*, 16, 909, (1979).

Tute, M.S., *Adv. Drug. Res.*, 06, 01, (1971).

Tute, M.S., In: *Comprehensive Medicinal Chemistry*, vol 4, p.1-31, (Hansch, C., Sammes, P.G., Taylor, J.B. eds.), Pergamon Press, Oxford, (1990).

van der Waterbeemd, H., In: *Methods and Principles in Medicinal Chemistry*, vol 4, (Manhold, R., Kubinyi, H., Timmerman, H., eds) VCH, Weinheim, (1995).

Verloop, A., Hoogenstraaten, W., Tipker, J., In: *Drug Design*, vol. 7, p.165-207, (Ariens, E.J., Ed.), Academic Press, New York, (1976).

Verma, A. K., Lee, C. Y., Habtemariam, S., Harvey, A. L., Jindal, D.P., *Eur. J. Med. Chem.*, 29, 331, (1994).

Vogel, A.I., *Vogel's Text book of Practical Organic Chemistry*, 5th ed., Longman, Essex (1989).

Warnick, J.E., Maleque, M.A., Bakry, N., Eldefrawi, A.T., Albuquerque, E.X. *Mol. Pharmacol.*, 22, 82, (1982).

Waterbeemd. H., Kansy, Manfred, Wagner, B., Fischer, H. In: *Methods and Principles in Medicinal Chemistry*, vol 4, cap 5, (Manhold, R., Kubinyi, H., Timmerman. H.. Eds) VCH, Weiheim. (1995).

Wess, J. Buhl. T., Lambrecht. G., Mustchler, E.. In: *Comprehensive Medicinal Chemistry*, vol 3. p. 423-491, (Hansch, C., Sammes, P.G., Taylor, J.B. eds.), Pergamon Press, Oxford, (1990).