BIBLIOTECA
INSTITUTO DE QUÍMICA
Universidade de São Paulo
20564

**UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
INSTITUTO DE QUÍMICA**

**Estudo da relação quantitativa entre a estrutura química e a atividade
citotóxica de séries de derivados de bases de Mannich**

CRISTIANO RAMINELLI

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

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

SÃO PAULO
05/12/2001

DEDALUS - Acervo - CQ

30100005681

Ficha Catalográfica

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

Raminelli, Cristiano

R173e Estudo da relação quantitativa entre a estrutura química e a atividade citotóxica de séries de derivados de bases de Mannich / Cristiano Raminelli. -- São Paulo, 2003. 149p.

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

Orientador: Amaral, Antonia Tavares do

1. Química orgânica 2. Relações quantitativas entre estrutura química e atividade biológica (QSAR) : Bioquímica I. T. II. Amaral, Antonia Tavares do, orientador.

547 CDD

**“Estudo da Relação Quantitativa Entre a
Estrutura Química e a Atividade Citotóxica de
Séries de Derivados de Bases de Mannich”**

CRISTIANO RAMINELLI

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. FRANK HERBERT QUINA
IQ - USP

Profa. Dra. ELIZABETH IGNE FERREIRA
FCF – USP

SÃO PAULO
05 DE DEZEMBRO 2001.

**Dedico a presente dissertação de mestrado
a meus pais, José e Joana (Dorinha),
pelo apoio
e por todo o amor que me dedicam.**

Agradecimento especial
a Prof^a. Dr^a. Antonia Tavares do Amaral
pela orientação e estímulo, fundamentais na realização da
presente dissertação de mestrado.

i. Agradecimentos

Ao Prof. Dr. Szulim B. Zynger, do Instituto de Ciências Biológicas, USP, SP, e a seu aluno Humberto Valvassori, pela realização dos testes preliminares de citotoxicidade.

A pesquisadora MsC Sizue Otta Rogero, do Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, São Paulo, pela realização dos testes de citotoxicidade.

Ao Prof. Dr. Paulo Roberto Olivato, do Instituto de Química, USP, SP por ter possibilitado as medidas de cromatografia gasosa (C.G.) e dos espectros na região do I.V. (em solução).

A Prof^a. Dr^a. Keiko Takashima, do Departamento de Química da UEL, PR, pela amizade.

Ao amigo Alessandro Rodrigues pelo apoio e incentivo.

Aos funcionários do laboratório, Ênio e Inocência.

Aos colegas do laboratório, Alberto Malvezzi, Hamilton Ishiki e Leonardo J. A. de Siqueira, pelo apoio e incentivo nos momentos mais difíceis.

Aos amigos, Fernando (Macabro), Marco Antônio, Marcone, Maria Fernanda, Ricardo (Cabelo), Rodolfo, Vicente e Weber.

A todos aqueles que indiretamente contribuíram para a realização da presente dissertação de mestrado.

Ao CNPq e a FAPESP pelo suporte financeiro.

ii. Objetivos

Neste trabalho, destinado a dissertação de mestrado, foram preparadas e purificadas por métodos triviais descritos na literatura, duas séries de derivados de bases de Mannich, a saber: nove cloretos de 3-(dimetilamino)-propiofenonas-4-X-substituídas (série I, compostos **I.1** a **I.9**), e seis dos correspondentes iodetos de 3-(trimetilamino)-propiofenonas-4-X-substituídas (série II, compostos **II.1** a **II.6**). Em seguida, para cada composto preparado, foram determinados experimentalmente e/ou retirados da literatura e/ou calculados parâmetros físico-químicos/estruturais descritores de propriedades, respectivamente: hidrofóbicas/lipofílicas; eletrônicas/polares e, ainda aquela relativa à polarizabilidade, com o objetivo de se desenvolver estudos de *QSAR*, aplicando a *abordagem tradicional* para os compostos respectivamente das séries I e II, e a *abordagem mista* que considera as duas séries conjuntamente. Desta forma, foram propostos modelos, através dos quais pode-se avaliar a(s) natureza(s) e contribuição(ões) relativa(s) dos parâmetros físico-químicos e/ou estruturais responsáveis pela citotoxicidade dos compostos respectivamente das séries I e II, bem como avaliar a contribuição da variação estrutural existente entre as duas séries, contribuindo pelo menos em parte, para o entendimento da(s) interação(ões) dos derivados de bases de Mannich no sistema biológico.

iii. Resumo

Bases de Mannich têm sido sintetizadas como pró-fármacos de cetonas α,β -insaturadas,^{22,20} sendo estas importantes no tratamento do câncer.²⁰ Assim, torna-se de interesse o desenvolvimento de estudos de *QSAR* envolvendo bases de Mannich com propriedades citotóxicas e/ou anticâncer, contribuindo-se, para o entendimento da(s) interação(ões) destes compostos (agentes alquilantes) no sistema biológico.^{40, 5, 36, 53}

Neste trabalho, destinado a dissertação de mestrado, foram preparadas e purificadas por métodos triviais descritos na literatura^{8 47} duas séries de derivados de bases de Mannich, a saber: nove cloretos de 3-(dimetilamino)-propiofenonas-4-X-substituídas (série I, compostos **I.1** a **I.9**), e seis dos correspondentes iodetos de 3-(trimetilamino)-propiofenonas-4-X-substituídas (série II, compostos **II.1** a **II.6**). Destes, quatro não estão descritos na literatura.

A seleção dos substituintes foi feita visando obter intercorrelações não significativas entre os correspondentes valores dos parâmetros físico-químicos analisados (π , σ_p e MR_4).⁴⁵ Outro critério considerado, se refere as faixas de variação para cada parâmetro físico-químico analisado.^{62, 31, 15} Para a série II, estes critérios foram parcialmente contemplados.

Em seguida, para cada composto preparado, foram determinados experimentalmente e/ou retirados da literatura⁴⁵ e/ou calculados parâmetros físico-químicos/estruturais descritores de propriedades, respectivamente: hidrofóbicas/lipofílicas (π , $\log P_{calc}$ e $\log P_{app}$ (sendo os valores este último determinados somente para os compostos da série I)); eletrônicas/polares (σ_p , σ_p^+ , σ_p^- , σ_L , σ_R , $\mathfrak{J}$, $\mathfrak{R}$, $\delta_{13C=O}$ e $\nu_{C=O}$) e, ainda aquela relativa à polarizabilidade (MR_4). Como parâmetro biológico para os compostos das séries I e II foram determinados os valores da potência citotóxica, expressos por $\log(1/IC_{50})$.

A seguir, com o objetivo de se desenvolver estudos de *QSAR*, aplicando a *abordagem tradicional*⁴⁰ para os compostos respectivamente das séries I e II, e a *abordagem mista*,^{62, 63, 53} que considera as duas séries conjuntamente, foram propostos respectivamente modelos expressos pelas equações IV.4 e IV.6:

$$\log(1/IC_{50}) = -0,27(\pm 0,23)\delta_{13C=0} - 0,48(\pm 0,35)\log P_{calc} + 56,32(\pm 44,30) \text{ eq. IV.4}$$

$$(n = 9; r = 0,87; s = 0,17; F = 9,23; Q^2 = 0,36; s_{PRESS} = 0,28)$$

$$\log(1/IC_{50}) = -0,56(\pm 0,27)\pi + 0,35(\pm 0,29)MR_4 + 0,23(\pm 0,22) I_{[N(Me)_3]^+} + 1,53(\pm 0,22) \text{ eq. IV.6}$$

$$(n = 15; r = 0,82; s = 0,18; F = 7,64; Q^2 = 0,43; s_{PRESS} = 0,24)$$

Primeiramente, através da análise do modelo expresso pela equação IV.4 foi possível avaliar as naturezas e contribuições relativas dos parâmetros estruturais responsáveis pela citotoxicidade dos compostos da série I.

Em seguida, através da análise do modelo expresso pela equação IV.6 foi possível avaliar a contribuição dos parâmetros físico-químicos, bem como a contribuição da variação estrutural existente entre as séries I e II, responsáveis pela citotoxicidade dos compostos. A interpretação e significado de $I_{[N(Me)_3]^+}$, que assume valor 0 para os compostos da série I e valor 1 para os compostos da série II, foi discutida em termos estruturais.

Nenhum modelo com significado estatístico foi obtido para os compostos da série II. E, tanto para a série I, bem como para as séries I e II, a aplicação dos modelos tanto parabólico como bilinear não resultou em correlações estatisticamente significativas.

Pela análise dos modelos foi possível, pelo menos em parte, o entendimento da(s) interação(ões) dos derivados de bases de Mannich no sistema biológico.^{40, 5, 36, 53}

iv. Summary

Mannich bases have been used as prodrugs of α,β -unsaturated ketones that are important in the cancer therapy^{80, 22}. In this way, a *QSAR* study^{20, 81} was performed with two sets of Mannich bases derivatives, namely: 3-(dimethylamine)-propiphenon-4-X-substituted hydrochlorides (set I, composed of nine derivatives) and 3-(trimethylamine)-propiphenon-4-X-substituted iodides (set II, composed of six derivatives). The sets I and II were prepared by trivial methods described in the literature^{58, 8}. For each compound the physicochemical/structural descriptors, hydrophobic/lipophilic (π , $\log P_{\text{calc}}$ and $\log P_{\text{app}}$ (it was determined only for set I), electronic/polar (σ_p , σ_p^+ , σ_p^- , σ_I , σ_R , $\mathfrak{I}$, $\mathfrak{R}$, $\delta_{13\text{C}=\text{O}}$ e $\nu_{\text{C}=\text{O}}$) and the polarizability related (MR_4), were determined experimentally and/or calculated and/or obtained from the literature⁷. The biological parameter was the cytotoxic potency, expressed by values of $\log(1/\text{IC}_{50})$.

In order to investigate the interaction of this class of compounds with the biological system a *QSAR* study was performed^{20, 81}. The most significant *QSAR* models obtained for set I and sets I and II altogether, were expressed respectively by equations 1 and 2.

$$\log(1/\text{IC}_{50}) = -0,27(\pm 0,23)\delta_{13\text{C}=\text{O}} - 0,48(\pm 0,35)\log P_{\text{calc}} + 56,32(\pm 44,30) \quad \text{eq. 1}$$

$$(n = 9; r = 0,87; s = 0,17; F = 9,23; Q^2 = 0,36; s_{\text{PRESS}} = 0,28)$$

$$\log(1/\text{IC}_{50}) = -0,56(\pm 0,27)\pi + 0,35(\pm 0,29)\text{MR}_4 + 0,23(\pm 0,22)\text{I}_{[\text{N}(\text{Me})_3]^+ \text{I}^-} + 1,53(\pm 0,22) \quad \text{eq. 2}$$

$$(n = 15; r = 0,82; s = 0,18; F = 7,64; Q^2 = 0,43; s_{\text{PRESS}} = 0,24)$$

To equation 2 was included an variable indicator ($\text{I}_{[\text{N}(\text{Me})_3]^+ \text{I}^-}$) that assumed the value 0 for set I compounds and the value of 1 for set II compounds. The interpretation and meaning of $\text{I}_{[\text{N}(\text{Me})_3]^+ \text{I}^-}$, were discussed in structural terms.

No significant models were obtained for the compounds of the set II. For set I and sets I and II altogether, the application of the parabolic and the bilinear models were verified and showed to be not statistically significant.

v. Sumário

I. Introdução	01
I.1. Considerações sobre bases de Mannich	01
I.1.1. Reação de Mannich	01
I.1.2. Mecanismo proposto para a reação	03
I.1.3. Reações das bases de Mannich	05
I.1.3.1. Clivagem	05
I.1.3.2. Substituição do amino grupo	06
I.2. Considerações sobre agentes alquilantes	08
I.2.1. Ciclo celular e a quimioterapia do câncer	08
I.2.2. Definição e divisão dos agentes alquilantes	09
I.2.3. Mecanismo de ação	11
I.2.4. Bases de Mannich como agentes alquilantes	13
I.2.4.1. Propriedades anticâncer das bases de Mannich	14
I.2.3.2. Bis bases de Mannich	17
I.2.3.3. Propriedades citotóxicas de bases Mannich	19
I.3. Estudos de relações quantitativas entre estrutura química e atividade biológica (QSAR)	21
I.3.1. Parâmetros eletrônicos	24
I.3.2. Parâmetros hidrofóbicos/lipofílicos	31
I.3.3. Parâmetros estéricos	36
I.3.4. Parâmetro relativo à polarizabilidade (MR)	38
I.3.5. Parâmetros que expressam a atividade biológica	39
I.4. Modelos em QSAR	40
I.4.1. Abordagem extratermodinâmica	40
I.4.1.1. Modelo linear	40
I.4.1.2. Modelo parabólico	41
I.4.1.3. Modelo bilinear	42
I.5. Modelo da aditividade (análise de Free-Wilson)	43
I.6. Estudos de QSAR sobre mutagenicidade e câncer	45
II. Materiais e Métodos	48
II.1. Reagentes e Solventes	48
II.2. Equipamentos	49
II.3. Metodologias	50
II.3.1. Análises e medidas realizadas	50
II.3.2. Planejamento da série de compostos	53
II.3.3. Esquemas de preparação dos compostos	53
II.3.4. Parâmetros físico-químicos e estruturais	55
II.3.4.1. Parâmetros lipofílicos	55
II.3.4.2. Parâmetros eletrônicos	55
II.3.4.3. Parâmetro relativo à polarizabilidade	56
II.3.5. Parâmetro biológico	56
II.3.5. Análise de regressão (QSAR)	57
III. Parte Experimental	58
III.1. Preparação dos Compostos	58
III.1.1. Preparação dos cloretos de 3-(dimetilamino)-propiofenonas-4-X-substituídas (série I, compostos I.1 a I.9)	58
III.1.1.1. Preparação do cloreto de 3-(dimetilamino)-propiofenona (I.1)	58
III.1.1.2. Preparação do cloreto de 3-(dimetilamino)-p-metil-propiofenona (I.2)	59
III.1.1.3. Preparação do cloreto de 3-(dimetilamino)-p-metóxi-propiofenona (I.3)	60
III.1.1.4. Preparação do cloreto de 3-(dimetilamino)-p-etóxi-propiofenona (I.4)	60
III.1.1.5. Preparação do cloreto de 3-(dimetilamino)-p-fluoro-propiofenona (I.5)	61
III.1.1.6. Preparação do cloreto de 3-(dimetilamino)-p-bromo-propiofenona (I.6)	62
III.1.1.7. Preparação do cloreto de 3-(dimetilamino)-p-nitro-propiofenona (I.7)	63
III.1.1.8. Preparação do cloreto de 3-(dimetilamino)-p-ciano-propiofenona (I.8)	64
III.1.1.9. Preparação do cloreto de 3-(dimetilamino)-p-hidróxi-propiofenona (I.9)	65
III.1.2. Preparação das 3-(dimetilamino)-propiofenonas-4-X-substituídas (série de bases livres intermediárias, compostos 1 a 6)	69
III.1.2.1. Preparação da 3-(dimetilamino)-propiofenona (1)	69
III.1.2.2. Preparação da 3-(dimetilamino)-p-metil-propiofenona (2)	70
III.1.2.3. Preparação da 3-(dimetilamino)-p-metóxi-propiofenona (3)	70
III.1.2.4. Preparação da 3-(dimetilamino)-p-etóxi-propiofenona (4)	71
III.1.2.5. Preparação da 3-(dimetilamino)-p-fluoro-propiofenona (5)	71
III.1.2.6. Preparação da 3-(dimetilamino)-p-bromo-propiofenona (6)	72
III.1.3. Preparação dos iodetos de 3-(trimetilamino)-propiofenonas-4-X-substituídas (série II, compostos II.1 e II.6)	74
III.1.3.1. Preparação do iodeto de 3-(trimetilamino)-propiofenona (II.1)	74
III.1.3.2. Preparação do iodeto de 3-(trimetilamino)-p-metil-propiofenona (II.2)	74
III.1.3.3. Preparação do iodeto de 3-(trimetilamino)-p-metóxi-propiofenona (II.3)	75
III.1.3.4. Preparação do iodeto de 3-(trimetilamino)-p-etóxi-propiofenona (II.4)	76
III.1.3.5. Preparação do iodeto de 3-(trimetilamino)-p-fluoro-propiofenona (II.5)	77
III.1.3.6. Preparação do iodeto de 3-(trimetilamino)-p-bromo-propiofenona (II.6)	77

III.2. Obtenção de parâmetros lipofílicos.....	82
III.2.1. Valores de constante hidrofóbica de substituintes.....	82
III.2.2. Obtenção do coeficiente de partição por cálculo, $\log P_{calc}$	82
III.2.3. Determinação do coeficiente de partição aparente, $\log P_{app}$, pelo método do shake-flask (frasco agitado), no sistema 1-octanol/água (tampão trizma pH = 7,40 e $\mu = 0,1M$ (ajustada com adição de NaCl)), para os cloretos de 3-(dimetilamino)-propiofenonas-4-X-substituídas (série I, compostos L1 a L9).....	83
III.2.3.1. Planejamento do experimento.....	83
III.2.3.1.1. Preparação da solução tampão trizma, pH = 7,40 e $\mu = 0,1M$ (ajustada pela adição de NaCl).....	83
III.2.3.1.2. Pré-saturação mútua.....	84
III.2.3.1.3. Escolha do comprimento de onda (λ) de absorção máxima e determinação do valor de absorvidade específica (a) para cada um dos cloretos de 3-(dimetilamino)-propiofenonas-4-X-substituídas (série I, compostos L1 a L9).....	85
III.2.4. Experimentos realizados.....	86
III.2.4.1. Determinação do coeficiente de partição aparente, $\log P_{app}$, do cloreto de 3-(dimetilamino)-propiofenona (L1).....	86
III.2.4.2. Determinação do coeficiente de partição aparente, $\log P_{app}$, do cloreto de 3-(dimetilamino)-p-metil-propiofenona (L2).....	88
III.2.4.3. Determinação do coeficiente de partição aparente, $\log P_{app}$, do cloreto de 3-(dimetilamino)-p-metóxi-propiofenona (L3).....	89
III.2.4.4. Determinação do coeficiente de partição aparente, $\log P_{app}$, do cloreto de 3-(dimetilamino)-p-etóxi-propiofenona (L4).....	90
III.2.4.5. Determinação do coeficiente de partição aparente, $\log P_{app}$, do cloreto de 3-(dimetilamino)-p-fluoro-propiofenona (L5).....	90
III.2.4.6. Determinação do coeficiente de partição aparente, $\log P_{app}$, do cloreto de 3-(dimetilamino)-p-bromo-propiofenona (L6).....	91
III.2.4.7. Determinação do coeficiente de partição aparente, $\log P_{app}$, do cloreto de 3-(dimetilamino)-p-nitro-propiofenona (L7).....	92
III.2.4.8. Determinação do coeficiente de partição aparente, $\log P_{app}$, do cloreto de 3-(dimetilamino)-p-ciano-propiofenona (L8).....	93
III.2.4.9. Determinação do coeficiente de partição aparente, $\log P_{app}$, do cloreto de 3-(dimetilamino)-p-hidróxi-propiofenona (L9).....	94
III.3. Obtenção de parâmetros eletrônicos.....	95
III.3.1. Valores de constantes de grupo substituinte tipo Hammett (σ_p , σ_p^+ , σ_p^- , σ_i e σ_R) e de Swain-Lupton (Σ e $\mathcal{R}$).....	95
III.3.2. Valores do deslocamento químico do carbono carbonílico (δ_{13C-O}), considerados como parâmetro eletrônico.....	96
III.3.3. Valores da posição de absorção do grupo carbonila ($\nu_{C=O}$) (em cm^{-1}) na região do I. V., considerados como parâmetro eletrônico.....	96
III.4. Refratividade molar (MR_s) como parâmetro relativo à polarizabilidade.....	97
III.5. Determinação do parâmetro biológico.....	99
III.5.1. Determinação da citotoxicidade, IC_{50}	99
IV. Resultados e discussão.....	101
IV.1. Introdução.....	101
IV.2. Escolha dos substituintes para os compostos das séries I e II.....	103
IV.3. Preparação, purificação e identificação dos compostos.....	108
IV.4. Determinação e validação dos parâmetros físico-químicos e estruturais.....	112
IV.4.1. Parâmetros lipofílicos.....	112
IV.4.2. Parâmetros eletrônicos.....	119
IV.4.3. Parâmetro relativo à polarizabilidade.....	130
IV.4.4. Parâmetro biológico.....	130
IV.5. Análise das regressões obtidas para estudos de QSAR.....	131
IV.5.1. Análise da intercorrelação dos parâmetros utilizados.....	134
IV.5.2. Equações de correlação obtidas para os compostos da série I.....	134
IV.5.3. Equações de correlação obtidas para os compostos da série II.....	138
IV.5.4. Aplicação da abordagem mista.....	138
V. Conclusões.....	143
VI. Referências.....	145

vi. Índice de figuras

Figura I.1: Estruturas dos produtos formados na reação de Mannich (C-bases de Mannich, N-bases de Mannich e O-, S-, P- e, ainda As-bases de Mannich) utilizando diferentes <i>substratos</i> , formaldeído e dimetilamina.....	02
Figura I.2: Esquema da reação da base de benzimidazol (reagente aminometilante pré-formado), com acetofenona, produzindo uma C-base de Mannich possuindo amina secundária e aromática, como grupamento terminal.....	02
Figura I.3: Reagentes aminometilantes pré-formados utilizados na preparação de bases de Mannich.....	03
Figura I.4: Representação esquemática dos caminhos mecanísticos (A e B) propostos para a reação de Mannich.....	03
Figura I.5: Representação esquemática das principais reações das bases de Mannich.....	05
Figura I.6: Esquema das reações de desaminometilação e de desaminação para bases de Mannich de heterocíclicos.....	06
Figura I.7: Reação de substituição nucleofílica em bases de Mannich, com ataque de H-X e liberação de dimetilamina.....	06
Figura I.8: Representação esquemática do mecanismo de eliminação-adição, proposto para as reações de bases de Mannich do naftol com compostos aromáticos de enxofre.....	07
Figura I.9: Representação esquemática do ciclo celular, em que S, G ₁ , G ₂ e G ₀ representam, respectivamente as fases do ciclo.....	08
Figura I.10: Mecanismo de ação proposto para a reação da mecloretamina (agente alquilante) com um resíduo de guanina presente em cadeias de DNA.....	12
Figura I.11: Estruturas da mitindomida e do correspondente análogo obtido por reações de Mannich representadas pelas estruturas 1a e 1b, respectivamente. A estrutura 2 representa a base de Mannich obtida da nor-mecloretamina[bis(2-cloroetil)metamina].....	15
Figura I.12: Estruturas, exemplificando, algumas cetonas e algumas de suas correspondentes bases de Mannich representadas pelas estruturas 1 e 2, respectivamente.....	15
Figura I.13: Série de cetonas representadas pelas estruturas 1a-e, e suas correspondentes bases de Mannich representadas pelas estruturas 2a-e.....	16
Figura I.14: Estrutura proposta para do intermediário formado na reação de etanotiol com cetonas α,β -insaturadas e com suas respectivas bases de Mannich.....	17
Figura I.15: Séries de mono bases de Mannich (1a-e), e das correspondentes bis bases de Mannich (2a-e).....	17
Figura I.16: Acrilofenonas 1a e 1b, obtidas respectivamente das bis bases de Mannich 2c e 2e (Figura I.15).....	18
Figura I.17: Compostos 1 e 2, obtidos por desaminação e adição de 2-mercaptoetanol aos compostos 1e e 2c, respectivamente.....	18
Figura I.18: Estruturas das mono e bis bases de Mannich derivadas da acetofenona, respectivamente representadas pelos compostos 1a-d e 1e-h.....	18
Figura I.19: Estruturas do fluorouracil e do melfalano.....	20
Figura I.20: Exemplo ilustrativo das múltiplas interações de um fármaco.....	23
Figura I.21: Estrutura dos ácido biciclo[2.2.2]-octano-carboxílico 4-X-substituídos.....	27
Figura I.22: Equilíbrios envolvidos na partição, entre solvente orgânico e água, para um composto AH, contendo grupo ionizável... Figura II.1: Esquema de preparação da série de cloretos de 3-(dimetilamino)-propiofenonas-4-X-substituídas (série I, compostos I.1 a I.9).....	33 54
Figura II.2: Esquema de preparação das bases livres intermediárias que constituem a série de 3-(dimetilamino)-propiofenonas-4-X-substituídas (compostos I a 6), e dos correspondentes iodetos de 3-(trimetilamino)-propiofenonas-4-X-substituídas (série II, compostos II.1 a II.6).....	55
Figura IV.1: Gráfico e equação de correlação dos valores de π em função de σ_p , retirados da literatura para os substituintes dos compostos I.1-I.9, série I.....	105
Figura IV.2: Gráfico e equação de correlação dos valores de π em função de MR_4 , retirados da literatura, para os substituintes dos compostos I.1-I.9, série I.....	105
Figura IV.3: Gráfico e equação de correlação dos valores de σ_p em função de MR_4 , retirados da literatura, para os substituintes dos compostos I.1-I.9, série I.....	106
Figura IV.4: Gráfico e equação de correlação dos valores de π em função de σ_p , retirados da literatura, para os substituintes dos compostos II.1-II.6, série II.....	106
Figura IV.5: Gráfico e equação de correlação dos valores de π em função de MR_4 , retirados da literatura, para os substituintes dos compostos II.1-II.6, série II.....	107
Figura IV.6: Gráfico e equação de correlação dos valores de σ_p em função de MR_4 , retirados da literatura, para os substituintes dos compostos II.1-II.6, série II.....	107
Figura IV.7: Esquema de preparação para os cloretos de 3-(dimetilamino)-propiofenonas-4-X-substituídas (compostos I.1 a I.9, série I).....	109
Figura IV.8: Esquema de preparação das bases livres intermediárias (série de 3-(dimetilamino)-propiofenonas-4-X-substituídas) e dos correspondentes iodetos de 3-(trimetilamino)-propiofenonas-4-X-substituídas (compostos I.1 a I.6, série II).....	109
Figura IV.9: Gráfico e equação de correlação para os valores de $\log P_{app}$, determinados por <i>shake-flask</i> , no sistema 1-octanol/água (tampão trizma pH = 7,40 e μ = 0,1M (NaCl)) e temperatura (23 $\pm$ 1) $^{\circ}$ C ^{43, 44, 51, 56, 59} , em função de π , retirado da literatura, para os compostos I.1 a I.9, série I.....	117
Figura IV.10: Gráfico e equação de correlação para os valores de $\log P_{app}$ determinados por <i>shake-flask</i> , no sistema 1-octanol/água (tampão trizma pH = 7,40 e μ = 0,1M (NaCl)) e temperatura (23 $\pm$ 1) $^{\circ}$ C ^{43, 44, 51, 56, 59} , em função de $\log P_{calc}$, para os compostos série I.....	118
Figura IV.11: Valores de deslocamento químico do carbono carbonílico ($\delta^{13}C=O$) em ppm, em solução de DMSO- <i>d</i> ₆ em função dos valores das constantes de substituintes Σ e $\mathcal{R}$ de Swain-Lupton, para os compostos da série I.....	125
Figura IV.12: Valores da posição da banda de absorção do grupo carbonila ($\nu_{C=O}$) (cm ⁻¹) na região do I.V., obtidos em solução de DMSO, em função de Σ e $\mathcal{R}$ de Swain-Lupton, para os compostos da série I.....	126
Figura IV.13: Valores das posições da banda de absorção do grupo carbonila ($\nu_{C=O}$) (em cm ⁻¹) na região do I.V., obtidos em solução de DMSO, em função dos valores de σ_p^+ , para os compostos da série I.....	127
Figura IV.14: Valores de deslocamento químico do carbono carbonílico ($\delta^{13}C=O$) em ppm, em solução de DMSO- <i>d</i> ₆ em função da constante $\mathcal{R}$ de Swain-Lupton, para os compostos da série II.....	128

Figura 15: Valores das posições da banda de absorção do grupo carbonila ($\nu_{C=O}$) (em cm^{-1}) na região do I.V., obtidos em solução de DMSO- d_6 , da constante eletrônica de substituinte tipo-Hammett, σ_p^+ , para os compostos da série II.....	129
Figura IV.16: Gráfico da correlação entre os valores de atividade biológica, $\log(1/C_{50})$ determinadas experimentalmente e calculados pela equação IV.4, para os compostos da série I.....	137
Figura IV.17: Gráfico da correlação entre os valores de atividade biológica, $\log(1/C_{50})$ determinadas experimentalmente e calculados pela equação IV.6, para os compostos das séries I e II.....	142

vii. Índice de tabelas

Tabela I.1: Grupos de compostos químicos que constituem os agentes alquilantes.....	10
Tabela I.2: Principais tipos de interações entre um composto e o sistema biológico e as respectivas energias envolvidas.....	22
Tabela I.3: Propriedades moleculares, interações correspondentes no sistema biológico e os correspondentes parâmetros descritores, envolvidos na interação entre um composto e o sistema biológico.....	23
Tabela I.4: Valores de constantes de substituinte tipo-Hammett, σ_m , σ_p , σ_p^+ , σ_p^- , σ_R , Σ e $\mathcal{R}$, retirados da literatura, para nove grupos substituintes.....	30
Tabela I.5: Valores de atividade biológica determinados experimentalmente $\log(1/C)_{exp}$ para a série de anilinas mostardas, bem como os respectivos valores de atividade biológica calculados $\log(1/C)_{calc}$ pelo modelo expresso pela equação 25 e, ainda valores de σ e de CLOGP.....	46
Tabela III.1: Valores das constantes físicas, das massas e dos rendimentos dos produtos obtidos nas preparações dos cloretos de 3-(dimetilamino)-propiofenonas-4-X-substituídas (série I, compostos I.1 a I.9).....	66
Tabela III.2: Análises elementares calculadas e obtidas experimentalmente para os cloretos de 3-(dimetilamino)-propiofenonas-4-X-substituídas (série I, compostos I.1 a I.9).....	66
Tabela III.3: Valores observados das posições das bandas de absorção, em cm^{-1} , no espectro I.V., obtidos em pastilhas de KBr, para os cloretos de 3-(dimetilamino)-propiofenonas-4-X-substituídas (série I, compostos I.1 a I.9).....	67
Tabela III.4: Valores dos deslocamentos químicos (δ) em ppm, relativos ao TMS, das multiplicidades e das constantes de acoplamento (J) em Hz, observados nos espectros de RMN $^1H^{(a)}$, para os cloretos de 3-(dimetilamino)-propiofenonas-4-X-substituídas, (série I, compostos I.1 e I.9) utilizando-se o DMSO - $d_6^{(b)}$ como solvente.....	68
Tabela III.5: Valores dos deslocamentos químicos (δ) em ppm retirados dos espectros de RMN $^{13}C^{(a)}$, relativos ao pico central do setpleto do DMSO - d_6 (ajustado para 39,70ppm), observados em solução de DMSO - d_6 na concentração de aproximadamente 0,1M, para os cloretos de 3-(dimetilamino)-propiofenonas-4-X-substituídas (série I compostos I.1 a I.9).....	69
Tabela III.6: Valores das constantes físicas, das massas e dos rendimentos dos produtos obtidos nas preparações das 3-(dimetilamino)-propiofenonas-4-X-substituídas, compostos 1 a 6.....	73
Tabela III.7: Valores dos deslocamentos químicos (δ) em ppm, relativos ao TMS, das multiplicidades e das constantes de acoplamento (J) em Hz, observados nos espectros de RMN $^1H^{(a)}$, para as 3-(dimetilamino)-propiofenonas-4-X-substituídas, compostos 1 a 6, utilizando-se $CDCl_3 - d_1^{(b)}$ como solvente.....	73
Tabela III.8: Valores das constantes físicas, das massas e dos rendimentos dos produtos obtidos nas preparações dos iodetos de 3-(trimetilamino)-propiofenonas-4-X-substituídas (série II, compostos II.1 a II.6).....	78
Tabela III.9: Análises elementares calculadas e obtidas experimentalmente para os iodetos de 3-(trimetilamino)-propiofenonas-4-X-substituídas (série II, compostos II.1 a II.6).....	79
Tabela III.10: Valores observados das posições das bandas de absorção, em cm^{-1} , no espectro I.V. obtidos em pastilhas de KBr, para os iodetos de 3-(trimetilamino)-propiofenonas-4-X-substituídas (série II, compostos II.1 a II.6).....	79
Tabela III.11: Valores dos deslocamentos químicos (δ) em ppm, relativos ao TMS, das multiplicidades e das constantes de acoplamento (J) em Hz, observados nos espectros de RMN $^1H^{(a)}$, para os iodetos de 3-(trimetilamino)-propiofenonas-4-X-substituídas (série II, compostos II.1 a II.6), utilizando-se o DMSO - $d_6^{(b)}$ como solvente.....	80
Tabela III.12: Valores dos deslocamentos químicos (δ) em ppm retirados dos espectros de RMN $^{13}C^{(a)}$, relativos ao pico central do setpleto do DMSO - d_6 (ajustado para 39,70ppm), observados em solução de DMSO - d_6 na concentração de aproximadamente 0,1M, para os iodetos de 3-(trimetilamino)-propiofenonas-4-X-substituídas (série II, compostos II.1 a II.6).....	81
Tabela III.13: Valores de razão massa/carga (m/z) e abundância relativa (%) e dos fragmentos positivos obtidos por espectrometria de massas em injeção direta, para os iodetos de 3-(trimetilamino)-propiofenonas-4-X-substituídas (série II, compostos II.1 a II.6).....	81
Tabela III.14: Valores de constante hidrofóbica de grupo substituinte (π) de Hansch-Fujita, retirados da literatura.....	82
Tabela III.15: Valores do coeficiente de partição no sistema 1-octanol/água obtidos por cálculo ($\log P_{calc}$), utilizando-se o programa CLOGP, versão 1.0.0. para Windows (1995), BioByte, USA, para os compostos das séries I e II.....	83
Tabela III.16: Valores dos comprimentos de onda (λ) (nm) de absorção máxima e das absorvidades específicas (a) ($cm^{-1}mg^{-1}mL$), em tampão-pso, obtidos para os composto da série de cloretos de 3-(dimetilamino)-propiofenonas-4-X-substituídas (série I, ccompostos I.1 a I.9).	86
Tabela III.17: Valores do coeficiente de partição aparente, $\log P_{app}$ (determinados conforme descrito no item III.2.3), N° de determinações realizadas, da concentração na partição ($\mu g/mL$), de decomposição (%) e do quociente entre a partição e relação de volumes (tampão-pso/1-octanol-pst), P/R_v , obtidos para cada um dos cloretos de 3-(dimetilamino)-propiofenonas-4-X-substituídas (série I, compostos I.1 a I.9).....	95
Tabela III.18: Valores dos parâmetros eletrônicos retirados da literatura e obtidos experimentalmente ($\delta_{13C=O}$ e $\nu_{C=O}$) e parâmetro relativo à polarizabilidade (MR_4) retirado da literatura para os compostos da série I.....	98
Tabela III.19: Valores dos parâmetros eletrônicos retirados da literatura e obtidos experimentalmente ($\delta_{13C=O}$ e $\nu_{C=O}$) e do parâmetro relativo à polarizabilidade (MR_4) retirado da literatura para os compostos da série II.....	98
Tabela III.20: Valores do índice de citotoxicidade 50%, IC_{50} (μM), e os correspondentes valores de desvio padrão e de $\log(1/IC_{50})$, obtidos para os compostos da série I e da série II.....	100
Tabela IV.1: Valores dos parâmetros físico-químicos respectivamente lipofílico, eletrônico e relacionado à polarizabilidade, expressos pelos valores das constantes respectivamente, π , σ_p e MR_4 , retirados da literatura para grupos substituintes da série I (compostos I.1-I.9) e série II (compostos II.1-II.6).....	104
Tabela IV.2: Matriz dos valores do coeficiente de correlação (r) obtidos nas intercorrelações dos parâmetros físico-químicos (π , σ_p e MR_4), retirados da literatura relativos à série I.....	107
Tabela IV.3: Matriz dos valores do coeficiente de correlação (r) obtidos nas intercorrelações dos parâmetros físico-químicos (π , σ_p e MR_4), retirados da literatura relativos à série II.....	108
Tabela IV.4: Valores de π retirados da literatura e de π_{exp} obtidos a partir dos valores de $\log P_{app}$ determinados por shake-flask $^{(a)}$ para a série I (compostos de I.1 a I.9).....	113
Tabela IV.5: Valores de $\log P_{app}$ determinados por <i>shake-flask</i> $^{(a)}$ e valores de $\log P_{calc}$ obtidos por cálculo $^{(b)}$ para a série I (compostos I.1 a I.9).....	114

Tabela IV.6: Faixas de variação dos valores das constantes de grupo substituinte tipo Hammett (σ_p , σ_p^+ , σ_p^- , σ_I e σ_R) e de Swain-Lupton ($\mathcal{S}$ e $\mathcal{R}$), retiradas da literatura, e, utilizadas como parâmetros eletrônicos para os compostos da série I (compostos I.1 a I.9) e da série II (compostos II.1 a II.6).....	119
Tabela IV.7: Valores ^(a) da posição da banda de absorção do grupo carbonila, $\nu_{C=O}$ (cm^{-1}) obtidos para os compostos das séries I e II...	123
Tabela IV.8: Valores de potência citotóxica, $\log(1/IC_{50})$, dos parâmetros físico-químicos/estruturais utilizados nas regressões para as análises de QSAR e, da variável indicadora, $I_{(N^+(CH_3)SI^-)}$, para os compostos das séries I e II.....	133
Tabela IV.9: Matriz dos valores do coeficiente de correlação (r) obtidos nas intercorrelações dos parâmetros físico-químicos ($\log P_{app}$, $\log P_{calc}$, π , δ_{13C-O}), incluídos nas equações IV.2 a IV.5, para os compostos da série I ($n = 9$).....	134
Tabela IV.10: Matriz dos valores do coeficiente de correlação (r) obtidos nas intercorrelações dos parâmetros físico-químicos (π , MR_4 , I) incluídos na equação IV.6, séries I e II ($n = 15$).....	134
Tabela IV.11: Valores de atividade biológica, $\log(1/IC_{50})$ determinadas experimentalmente e calculadas respectivamente, pelas equações IV.2 e IV.4, para os compostos da série I.....	137
Tabela IV.12: Valores de atividade biológica, $\log(1/IC_{50})$, determinadas experimentalmente e calculadas pela equação IV.6, obtidos pela utilização da <i>abordagem mista</i> para os compostos das séries I e II.....	141

I. Introdução

I.1. Considerações sobre bases de Mannich

A reação de Mannich tem sido empregada para obtenção tanto de bases de Mannich utilizadas como intermediários reativos, por exemplo, na síntese de heterocíclicos, bem como na obtenção de compostos de interesse biológico,⁸⁰ atuando, por exemplo como pró-fármacos de cetonas $\alpha\beta$ -insaturadas,^{22, 20} sendo estas importantes no tratamento do câncer.

20

I.1.1. Reação de Mannich

A reação de Mannich é uma reação de aminoalquilação, que ocorre por condensação de um composto contendo um átomo de hidrogênio ativado/ácido (denominado *substrato*) com um aldeído (em geral o formaldeído) e uma amina (não terciária).^{80, 81, 58, 8}

O produto formado depende primordialmente da natureza do *substrato*, que pode dar origem respectivamente a C-bases de Mannich, N-bases de Mannich e O-, S-, P- e, ainda As-bases de Mannich, como apresentado na Figura I.1.^{80, 81}

Por outro lado, de acordo com dados da literatura,^{48, 34} a reação de Mannich não ocorre quando se empregam aminas secundárias estericamente impedidas como, por exemplo, diisopropilamina, dicitclohexilamina e 2,6-dimetilpiperidina. No entanto, existe controvérsia,⁸¹ pois, por exemplo pela utilização de perclorato de diisopropil(metileno)amônio ($\text{iso-Pr}_2\text{N}^+=\text{CH}_2 \text{ClO}_4^-$), um reagente aminometilante pré-formado, se obtém bases de Mannich com um grupamento diisopropilamina terminal, volumoso.^{58, 51}

Figura I.1: Estruturas dos produtos formados na reação de Mannich (C-bases de Mannich, N-bases de Mannich e O-, S-, P- e, ainda As-bases de Mannich) utilizando diferentes *substratos*, formaldeído e dimetilamina.^{80, 81}

Adicionalmente, a utilização de reagentes aminometilantes pré-formados, se estende, por exemplo à obtenção de bases de Mannich, possuindo aminas secundárias e aromáticas, como grupamento terminal. Esta aplicação para os intermediários aminometilantes pré-formados, pode ser exemplificada pela reação da base de benzimidazol com acetofenona, apresentada na Figura I.2. Nesta reação, a base de benzimidazol é facilmente desaminometilada formando um sal reativo (metileno-amônio aromático), que reage com acetofenona resultando na C-base de Mannich de interesse¹.

Figura I.2: Esquema da reação da base de benzimidazol (reagente aminometilante pré-formado), com acetofenona, produzindo uma C-base de Mannich possuindo amina secundária e aromática, como grupamento terminal.⁸⁰

Vários tipos de reagentes aminometilantes pré-formados são conhecidos e apresentados na Figura I.3, sendo os derivados **1**; **3a**; **3b** e **3c** mais empregados do que os derivados azometínicos, **2**.⁸⁰

Figura I.3: Reagentes aminometilantes pré-formados utilizados na preparação de bases de Mannich.⁸⁰

1.1.2. Mecanismo proposto para a reação

Propõe-se que a reação de Mannich pode ocorrer por meio de dois caminhos mecanísticos distintos (**A** e **B**), representados esquematicamente na Figura I.4.^{80, 81} O caminho mecanístico preferencialmente seguido, resultado de uma série complexa de equilíbrios, dependerá da natureza dos reagentes bem como das condições de reação.⁸⁰

Figura I.4: Representação esquemática dos caminhos mecanísticos (**A** e **B**) propostos para a reação de Mannich.^{80, 81}

Como pode ser observado na Figura I.4, no caminho mecanístico **A**, ocorre inicialmente o ataque da amina sobre o aldeído. Em seguida, através de uma complexa série de equilíbrios, ocorre a formação de metiolamina (HOCH_2NR_2) e/ou de metileno-bis-amina ($\text{R}_2\text{NCH}_2\text{NR}_2$), e a formação do íon metileno-amônio ($\text{H}_2\text{C}^+-\text{NR}_2 \leftrightarrow \text{H}_2\text{C}=\text{N}^+\text{R}_2$). Propõe-

se que este reage com o *substrato*, resultando na base de Mannich de interesse. Por outro lado, no caminho mecanístico **B**, ocorre inicialmente o ataque do *substrato* sobre o aldeído, acarretando a formação de um hidroximetilderivado (OHCH_2R), que sofre ataque da amina reagente, resultando na base de Mannich de interesse.^{80, 81}

O caminho mecanístico **A** é o proposto na maioria dos casos, sendo sugerido por exemplo, para a reação de aminometilação intramolecular do ácido γ -carboxiglutâmico com formaldeído. Nesta, foi proposto o ataque inicial do formaldeído sobre o grupo amino do composto, ocorrendo em seguida uma ciclização intramolecular.^{80, 13}

O caminho **B** é menos comum, no entanto, é proposto para a C-aminometilação do indol, devido à confirmação da formação do intermediário 3-hidroximetilindol (hidroximetilderivado), que em seguida sofre uma condensação com a amina reagente.^{80, 67}

Considerando-se que o caminho mecanístico **A** ocorre na maioria das reações de Mannich, alguns pontos sobre o mesmo serão abordados. Inicialmente, por meio de observações experimentais descritas na literatura, concluiu-se que, em condições ácidas o ataque da amina reagente sobre o aldeído é o passo determinante da velocidade da reação. Por outro lado, em condições básica ou neutra o passo determinante da velocidade da reação é a eliminação do grupo hidroxila, da metiolamina intermediária, com a formação do íon metileno-amônio.²

Outro ponto a ser abordado, é razão molar amina/aldeído, que também se mostra um fator determinante da natureza do agente aminometilante.¹¹ Assim, medidas de RMN ^{13}C têm mostrado que a concentração de metiolamina é máxima quando a razão é 1. E, a formação de metileno-bis-amina é favorecida quando a razão molar é maior do que 1.^{80, 11}

As metileno-*bis*-aminas podem formar bases de Mannich, sempre exibindo altas exigências estéricas. Assim, por exemplo, as metileno-*bis*-aminas sofrem um ataque SN_2 por íons enolato originados de alquilacetonas, ou participam de estados de transição cíclicos com estas, em suas formas enólicas, sempre sob pressão muito alta.⁸⁰

Considerando-se a tautomerização do *substrato* em reações de Mannich, esta pode estar envolvida na etapa determinante da velocidade da reação.⁸⁰ Assim, por exemplo, observa-se a formação na etapa lenta da reação de α -metilenopirrolina ($\text{H-Pirr}=\text{CH}_2$) para

derivados do 2-metil-pirrol,³⁹ bem como de estruturas enólicas (RC(OH)=CR_2) para derivados carbonílicos.⁵¹

Conclusivamente, o mecanismo para a reação de Mannich é, portanto, resultado de uma série de equilíbrios simultâneos apresentados esquematicamente na Figura I.4.⁸⁰

I.1.3. Reações das bases de Mannich

Dentre as transformações das bases de Mannich apresentadas esquematicamente na Figura I.5, serão enfatizadas as reações de clivagem e de substituição.

Figura I.5: Representação esquemática das principais reações das bases de Mannich.⁸⁰

I.1.3.1. Clivagem

A clivagem de uma base de Mannich pode ocorrer por uma desaminometilação, que é uma retro-reação de Mannich, ou por uma desaminação, produzindo uma amina e um derivado insaturado do substrato. O tipo de clivagem que pode ocorrer fica na dependência, fundamentalmente, da classe de base de Mannich. Por exemplo, C-bases de Mannich, sofrem preferencialmente desaminação em relação à desaminometilação. O valor do pH é também um outro fator, que deve ser considerado afetando tanto a natureza da clivagem bem como a cinética da decomposição.⁸⁰

Esses processos de clivagem (desaminometilação e desaminação) podem ser exemplificados pelas reações de bases de Mannich de compostos heterocíclicos,

apresentadas na Figura I.6. Assim, a desaminometilação ocorre pelo tratamento com ácido clorídrico e a desaminação ocorre pela reação em ácido acético. A seguir, o produto da desaminação sofre uma adição de H₂O com a formação de um hidroximetil derivado.⁸⁰

Figura I.6: Esquema das reações de desaminometilação e de desaminação para bases de Mannich de heterocíclicos.⁸⁰

I.1.3.2. Substituição do amino grupo

Os amino grupos de bases de Mannich podem ser substituídos por meio da reação com reagentes nucleofílicos do tipo H-X, conforme representado esquematicamente na Figura I.7.

Figura I.7: Reação de substituição nucleofílica em bases de Mannich, com ataque de H-X e liberação de dimetilamina¹.

Estas reações podem ser formalmente consideradas como alquilações de X-, pelo resíduo, R-CH₂-, das bases de Mannich. Assim, como exemplo dessas alquilações, serão discutidas as substituições de amino grupos de bases de Mannich por S-derivados, investigadas pela relevância farmacológica.²⁶

Assim, por exemplo, o estudo do mecanismo das reações de substituição de bases de Mannich do naftol por compostos aromáticos de enxofre sugere que ocorra uma reação de

eliminação (ou desaminação), como etapa determinante da velocidade da reação, seguida por uma reação de adição rápida, como apresentado na Figura I.8.³

Figura I.8: Representação esquemática do mecanismo de eliminação-adição, proposto para as reações de bases de Mannich do naftol com compostos aromáticos de enxofre.³

Através das reações de eliminação (ou desaminação) as bases de Mannich formam intermediários insaturados (por exemplo, cetonas α,β -insaturadas). Estes intermediários insaturados podem sofrer adição de um nucleófilo, podendo reagir com compostos de enxofre preferencialmente aos amino- e hidróxi- derivados.^{26, 3, 35, 21, 28}

A maior reatividade de compostos α,β -insaturados frente a compostos de enxofre quando comparados, por exemplo, com amino derivados pode ser explicada considerando-se a maior polarizabilidade dos elétrons disponíveis do enxofre quando comparados com os elétrons disponíveis do nitrogênio. No entanto, outros fatores devem ser considerados como por exemplo, efeito de solvatação.³⁵

1.2. Considerações sobre agentes alquilantes

1.2.1. Ciclo celular e a quimioterapia do câncer

O ciclo celular consiste de uma sequência de eventos caracterizando o crescimento e a divisão das células. Uma representação esquemática do ciclo celular é apresentada na Figura I.9.^{46, 14}

No ciclo de divisão celular a *fase S* é o período de síntese do DNA. Esse período é seguido pela *fase G₂*, ou período de preparação para a mitose (*M*). Após a mitose, as duas novas células resultantes entram no período entre a mitose e o início da síntese de DNA, ou seja, na *fase G₁*. A *fase G₁* pode dar origem a um estado de repouso, denominado *G₀*, no qual as células são relativamente inativas do ponto de vista metabólico e são resistentes à maioria dos agentes quimioterápicos.^{46, 14}

Os fatores que induzem as células a penetrar em *G₀*, ou estágio de repouso, não são bem compreendidos. A capacidade de fazer com que essas células em estado de repouso voltem a penetrar no ciclo celular seria extremamente útil, pois as células em proliferação são mais sensíveis à quimioterapia.^{46, 14}

Figura I.9: Representação esquemática do ciclo celular, em que S, G₁, G₂ e G₀ representam, respectivamente as fases do ciclo.¹⁴

Os medicamentos anticâncer podem ser classificados em três classes de acordo com sua ação no ciclo celular:

Agentes da classe 1

Nestes, a citotoxicidade ocorre de modo inespecífico com relação às fases do ciclo celular, atuando independentemente da proliferação celular. ¹⁴ Citam-se como exemplos: cloridrato de mecloretamina e carmustina (apresentados na Tabela I.1).

Agentes da classe 2

São específicos para determinada fase do ciclo celular, atuando, portanto, somente nas células que estão em divisão. Citam-se como exemplos, produtos naturais como paclitaxel (taxol) e alcalóides vinca (vinblastina e vincristina), que destroem apenas as células em mitose. ¹⁴

Agentes da classe 3

Exercem a citotoxicidade também de maneira inespecífica com relação às fases do ciclo celular, no entanto, matam preferencialmente as células em proliferação sendo capazes de poupar as células que estão em G₀. ¹⁴ Cita-se como exemplo: ciclofosfamida (apresentados na Tabela I.1).

1.2.2. Definição e divisão dos agentes alquilantes

Os agentes alquilantes constituem uma classe de quimioterápicos, exercendo citotoxicidade de maneira inespecífica com relação às fases do ciclo celular. Esta classe de quimioterápicos, estruturalmente diversa, pode ser considerada em cinco grupos de acordo com suas características estruturais, como apresentado na Tabela I.1.

Tabela I.1: Grupos de compostos químicos que constituem os agentes alquilantes.^{46, 14}

Grupos de compostos químicos	Exemplo (nome e estrutura do composto)	
Mostardas nitrogenadas	Cloridrato de mecloretamina
	Ciclofosfamida
	Clorambucil
	Melfalano
	Isofosfamida
Sulfonatos alquilicos	Bussulfano
Nitrosouréias	Carmustina
	Lomustina
	Semustina
	Estreptozocina
Etileniminas (Aziridinas)	Tiotepa
Triazenos	Dacarbazina

De modo análogo todos estes compostos apresentam, ou podem gerar, centros eletrofílicos que reagem rapidamente formando ligações covalentes (com valores de energia de ligação variando entre 170 - 600 kJ.mol⁻¹)⁵⁵ com vários grupos nucleófilos presentes no sistema biológico, como por exemplo: fosfato, amino, sulfidril, hidroxila, carbonila e grupo imidazólico. No entanto, acredita-se que os efeitos citotóxicos e quimioterápicos dos agentes alquilantes estejam diretamente relacionados com o grau de alquilação do DNA, sendo essa interação responsável também pelas propriedades mutagênicas e carcinogênicas^{14, 33} desta classe de antineoplásicos.^{46, 14}

1.2.3. Mecanismo de ação

As reações dos agentes alquilantes no sistema biológico, geralmente ocorrem por dois mecanismos de alquilação distintos: (i) por uma substituição nucleofílica unimolecular, ocorrendo à formação de um cátion intermediário altamente reativo, seguida por uma reação com o nucleófilo biológico, ou (ii) por uma substituição nucleofílica bimolecular na qual um complexo de transição é formado entre a estrutura do agente alquilante e o nucleófilo do sistema biológico.^{46, 14}

As reações dos agentes alquilantes com DNA foram estudadas, sendo a reação com o nitrogênio 7 (N7) da guanina do DNA considerada como a mais favorecida ao ataque eletrofílico pelo agente alquilante.⁵ No entanto, Cairns e Farmer,^{12, 33} estudando agentes alquilantes estruturalmente simples, julgaram também de grande importância a alquilação do oxigênio 6 (O6) da guanina do DNA. Na literatura,¹⁴ encontram-se, ainda, relatos de que as alquilações tanto do N7 como a do O6 da guanina do DNA são de grande importância para os efeitos citotóxicos e quimioterápicos dos agentes alquilantes.

Interações dos agentes alquilantes com outros átomos das bases purínicas e pirimidínicas do DNA também podem ser consideradas, como por exemplo, as interações que ocorrem com os nitrogênios 1 e 3 da adenina; com o nitrogênio 3 da citosina e com o nitrogênio 3 da guanina. Em menor grau pode-se considerar a alquilação dos átomos de oxigênio de fosfato internucleosídeos do DNA e a alquilação dos N-amino ácidos terminais, além da histidina e da cisteína de proteínas e/ou peptídeos.^{46, 33}

Para ilustrar um possível mecanismo de ação para os agentes alquilantes, apresenta-se na Figura I.10 a reação da mecloretamina (mostarda nitrogenada) com um resíduo de guanina presente em cadeias de DNA. Esta reação se inicia pela ciclização intramolecular de unimolecular (SN_1), com liberação de Cl^- e formação de um intermediário iônico, ou seja, um anel aziridínico com nitrogênio tetravalente altamente reativo que pode formar um aduto com, por exemplo, o nitrogênio 7 (N7) da guanina de uma cadeia do DNA por dois mecanismos distintos: ou por meio da formação de um carbocátion primário ou por um complexo de transição.^{46, 14}

Figura I.10: Mecanismo de ação proposto para a reação da mecloretamina (agente alquilante) com um resíduo de guanina presente em cadeias de DNA.^{46, 42}

A alquilação do N7 dos resíduos da guanina do DNA, é uma reação favorecida do ponto de vista energético,⁴⁶ podendo desencadear efeitos distintos, de considerável importância biológica, apresentados a seguir:

Ligação cruzada

Os agentes anticâncer, com dois grupos alquilantes, como por exemplo as mostardas nitrogenadas, podem formar ligações covalentes com dois resíduos de guanina presentes em duas posições não-adjacentes da fita do DNA. Acredita-se que a formação destas ligações cruzadas seja a lesão letal para as células expostas a agentes com dois grupos alquilantes.^{46,}

Pareamento defeituoso das bases

A alquilação ao nível do N7 da guanina pode transformar o O6 no correspondente tautômero. Esta modificação na guanina pode alterar o emparelhamento das bases nitrogenadas durante a síntese do DNA, alterando a codificação genética, que tem como resultado a produção de proteínas defeituosas.^{5,39}

Despurinização

A alquilação do N7 da guanina pode desestabilizar o anel imidazólico, tornando possível a sua abertura ou a despurinação pela cisão do resíduo guanina, resultando dessa forma em uma possível ruptura das fitas do DNA.^{5,39}

Esses efeitos de considerável importância biológica podem explicar tanto a mutagenicidade quanto os efeitos citotóxicos dos agentes aquilantes.⁵

1.2.4. Bases de Mannich como agentes aquilantes

A partir da confirmação da reação de desaminação (ou eliminação) das bases de Mannich tanto *in vitro*,^{22, 20, 26, 21, 25, 38} quanto *in vivo*,^{20, 38} esses compostos foram sintetizados como pró-fármacos de cetonas α,β -insaturadas.^{22, 20}

Estas cetonas α,β -insaturadas são relevantes na quimioterapia do câncer devido à propriedade de alquilar preferencialmente grupos tiol em relação a grupos amino e hidróxi.^{26, 3, 35, 21, 28} Assim, interações destes compostos com ácidos nucleicos são evitadas,^{21, 28, 38, 6} conferindo a estas enonas certa vantagem sobre os agentes alquilantes de uso clínico, pois estes interagem preferencialmente com DNA, e, portanto, podem ser mutagênicos e carcinogênicos.^{46, 14, 12, 33}

Considerando-se que o mecanismo de ação proposto para cetonas α,β -insaturadas envolve principalmente a alquilação de grupos tiol^{21, 28, 25, 38, 29, 27, 24, 23} e, sabendo-se que a concentração de enxofre, proveniente por exemplo da glutatona (GHS),⁸³ aumenta pouco antes ou durante o processo de divisão celular (mitose),⁷² cetonas α,β -insaturadas podem demonstrar seletividade frente a tecidos tumorais, devido à rápida multiplicação das células destes tecidos em comparação com as correspondentes células normais.²⁰

Adicionalmente, pode-se atribuir uma maior seletividade aos tecidos tumorais pelas cetonas α,β -insaturadas (em relação aos agentes alquilantes de uso clínico), devido ao fato de realizarem diminuição de vários precursores do DNA, do RNA e de proteínas, preferencialmente em tecidos tumorais em comparação com tecidos normais. No caso dos agentes alquilantes tradicionais a diminuição na incorporação de substratos para produção de macromoléculas biológicas em tecidos normais é maior do que nos tecidos cancerosos.

20

Outra vantagem da utilização de bases de Mannich para a liberação de suas correspondentes cetonas α,β -insaturadas, é o fato desses últimos compostos serem estruturalmente diferentes de todos os quimioterápicos usados no tratamento do câncer, podendo demonstrar atividade contra certos tumores que não são tratados pelos quimioterápicos de uso clínico. Esta promissora classe de agentes alquilantes pode ser utilizada ainda no tratamento de neoplasias que têm adquirido resistência aos fármacos disponíveis para o combate ao câncer.^{20, 28, 23}

1.2.4.1. Propriedades anticâncer das bases de Mannich

Inicialmente, algumas bases de Mannich foram sintetizadas como agentes anticâncer. Assim, como exemplo, apresenta-se na Figura I.11 (estrutura 1a) a mitindomida que é um útil agente anticâncer, no entanto, extremamente lipofílico (de acordo com os autores). Esta foi transformada por reações de Mannich no composto representado pela estrutura 1b da Figura I.11, que apresenta maior solubilidade em água (solubilidade >5 g/100 mL em água à temperatura ambiente) e comparativamente manteve a atividade *in vivo*.¹⁹

A utilização de *nor*-mecloretamina[bis(2-cloroetil)metamina] como a amina componente da reação de Mannich levou à formação da mostarda nitrogenada (estrutura 2 apresentada na Figura I.11), que também apresentou atividade *in vivo*. Este composto foi ativo contra leucemia linfóide L1210 em camundongos e em tumor de ovário humano transplantado em camundongos.⁶⁸

Figura I.11: Estruturas da mitindomida e do correspondente análogo obtido por reações de Mannich representadas pelas estruturas 1a e 1b, respectivamente. A estrutura 2 representa a base de Mannich obtida da *nor*-mecloretamina[bis(2-cloroetil)metamina]. ⁶⁸

Outros exemplo de bases de Mannich que foram sintetizadas e apresentaram atividade anticâncer são apresentados na Figura I.12. Nestas, foi verificada marcante diferença entre a atividade anticâncer das cetonas e suas correspondentes bases de Mannich. Assim, enquanto as cetonas (1) foram inativas, ou possuíam baixa atividade frente à linhagens de células tumorais em camundongos, algumas das suas correspondentes bases de Mannich (2) foram tanto ativas em testes *in vitro*, como demonstraram pronunciada toxicidade contra camundongos e, ainda mais, alguns dos compostos desta série demonstraram significantes resultados contra tumores em camundongos. ²⁹

Figura I.12: Estruturas exemplificando algumas cetonas e algumas de suas correspondentes bases de Mannich representadas pelas estruturas 1 e 2, respectivamente. ²⁹

Na tentativa de explicar a disparidade na atividade anticâncer existente entre as séries de compostos 1 e 2 da Figura I.12 e considerando-se que tal atividade seja obtida principalmente pela alquilação de tiol celular, ^{21, 28, 25, 38, 29, 27} foi realizado um estudo cinético para determinação das constantes de velocidade para reação de adição de etanotiol

em cetonas (**1a-e**), e suas correspondentes bases de Mannich (**2a-e**), apresentadas na Figura I.13.²⁹

Figura I.13: Série de cetonas representadas pelas estruturas **1a-e**, e suas correspondentes bases de Mannich representadas pelas estruturas **2a-e**.²⁹

A comparação dos valores da constante de velocidade entre as séries de cetonas (**1a-e**), e as correspondentes bases de Mannich (**2a-e**) sugere que as bases de Mannich reagem em média aproximadamente 240 vezes mais rápido com etanotiol do que as cetonas correspondentes.²⁹

Estes resultados podem ser explicados considerando que o átomo de nitrogênio tetravalente dos sais de bases de Mannich (**2a-e**) estejam parcialmente protonados nos valores de pH dos experimentos realizados ($pH = 7,4$), podendo estabilizar, por efeito indutivo e por ligações de hidrogênio, o intermediário da adição, apresentado na Figura I.14. Outros fatores devem ser considerados, dentre os quais fatores relacionados à solvatação e ao efeito indutivo exercido pelo grupo ligado ao carbono α -carbonila.²⁹

Esta pronunciada diferença na reatividade química frente a etanotiol observada entre as séries **1a-e** e **2a-e** (Figura I.13) pode, ao menos em parte, explicar de forma geral a disparidade nas propriedades anticâncer de cetonas α,β -insaturadas e suas respectivas bases de Mannich.²⁹

Foi realizado um estudo para comparar a atividade anticâncer de mono bases de Mannich (**1a-e**), e suas correspondentes *bis* bases de Mannich (**2a-e**), apresentadas na Figura I.15. O padrão de substituição no anel aromático para estas séries de compostos foi sugerido pela abordagem de Topliss.²⁵

O estudo da estabilidade para compostos representativos das duas séries (**1a-e** e **2a-e**, apresentadas na Figura I.15), indica que as mono bases de Mannich (**1c** e **1e**) são estáveis

no período de tempo de 1,5 horas, em tampão fosfato pH 7,4 a 37 °C. No entanto, nas mesmas condições as *bis* bases de Mannich (**2c** e **2e**), mostraram-se instáveis no período de tempo de 5 minutos, resultando nas correspondentes acrilofenonas **1a** e **1b**, apresentadas na Figura I.16.²⁵

Figura I.16: Acrilofenonas **1a** e **1b**, obtidas respectivamente das *bis* bases de Mannich **2c** e **2e** (Figura I.16).²⁵

A seguir, foi realizado um estudo da reatividade dos compostos representativos das séries **1** e **2** (Figura I.15), frente a compostos de enxofre. Assim, foram realizadas as reações dos compostos **1e** e **2c** (Figura I.15) com 2-mercaptoetanol, em tampão fosfato pH = 7,4 e clorofórmio, sob agitação a 37 °C e durante respectivamente 1 hora e 15 minutos, levando à formação dos compostos **1** e **2**, apresentados na Figura I.17.²⁵

Figura I.17: Compostos **1** e **2**, obtidos por desaminação e adição de 2-mercaptoetanol aos compostos **1e** e **2c**, respectivamente.²⁵

Conclusivamente, a análise de todos os resultados apresentados anteriormente tanto para as mono bases de Mannich (**1a-e**) bem como para as correspondentes *bis* bases de Mannich (**2a-e**), apresentadas na Figura I.15, demonstra que a maior instabilidade e reatividade, respectivamente, em tampão e frente a 2-mercaptoetanol foi observada para as

bis bases de Mannich. Assim, estes fatos podem explicar, ao menos em parte, a maior atividade anticâncer desses análogos, com exceção de **2c**, que foi inativo.

Utilizando os resultados de atividade encontrados para cada composto da série **2** (Figura I.15), os autores sugerem que a análise de Topliss indica maior contribuição do parâmetro σ de Hammett, do que do parâmetro π Hansch, para a atividade anticâncer desses compostos.²⁵

I.2.3.3. Propriedades citotóxicas de bases Mannich

Uma série de mono e *bis* bases de Mannich derivadas da acetofenona, apresentadas na Figura I.18, teve a citotoxicidade avaliada contra células de carcinoma renal de camundongos (células Renca) e contra linfócitos T humanos transformados (células Jurkat).³⁸

Figura I.18: Estruturas das mono e *bis* bases de Mannich derivadas da acetofenona, respectivamente representadas pelos compostos **1a-d** e **1e-h**.³⁸

As *bis* bases de Mannich (**1e-g**) planejadas para serem mais alquilantes em relação as mono, devido à possível liberação de dois centros eletrofílicos capazes de reagir com nucleófilos biológicos, apresentam ainda como característica estrutural um hidrogênio ácido no metino adjacente ao grupo carbonila. Este influencia a liberação das respectivas cetonas α,β -insaturadas alquilantes. Essas propriedades explicam, ao menos em parte, a maior citotoxicidade desses compostos em comparação com as suas correspondentes mono

bases de Mannich (**1a-c**), testadas contra as linhagens de células Renca e Jurkat.³⁸

Os compostos **1d** e **1h**, são sais de amônio quaternário com carga permanente e, portanto, podem, através da eliminação de Hoffmann, formar a cetona α,β -insaturada correspondente. Esta eliminação pode ser mais favorecida do que a aquela que ocorre para os cloridratos de bases de Mannich. Assim, a transformação de **1a** em **1d** não proporciona aumento significativo da citotoxicidade na linhagem de células Renca. No entanto, proporciona aumento de 15 vezes na linhagem de células Jurkat. Este resultado pode ter sido obtido pela eliminação de Hoffmann, que leva a cetona α,β -insaturada, que apresenta afinidade por nucleófilos de enxofre das células.^{29, 21, 25, 27, 28, 38}

Por outro lado, a conversão de **1e** em **1h** diminui a citotoxicidade nas duas linhagens de células consideradas (Renca e Jurkat). Observa-se também que o composto **1d** é mais ativo que o composto **1h** na linhagem de células Jurkat. Estes resultados podem ser explicados considerando-se que o composto **1h** é bastante instável e, portanto, não chega ao seu alvo.³⁸

Os compostos **1e**, **1f** e **1g** demonstraram-se mais citotóxicos do que 5-fluorouracil e melfalano (com estruturas apresentadas na Figura I.19), contra as células Renca. E, com exceção dos compostos **1b** e **1h**, todos os compostos sintetizados mostraram-se mais ativos do que 5-fluorouracil contra células Jurkat. Estes estudos sugerem que os compostos **1e**, **1f** e **1g**, possam ser utilizados como compostos líderes para mais estudos visando compostos mais ativos.³⁸

Figura I.19: Estruturas do fluorouracil e do melfalano.^{46, 14}

I.3. Estudos de relações quantitativas entre estrutura química e atividade biológica (QSAR)

O estudo de relações quantitativas entre estrutura química e atividade biológica (QSAR) teve início com a abordagem proposta em 1964 por Hansch e Fujita.^{55, 40, 54}

Esta estratégia metodológica é conhecida como *QSAR tradicional* e, se baseia na proposição de modelos estatisticamente validados, representados por equações matemáticas, que descrevem de forma quantitativa a relação entre estrutura química e a atividade biológica. Na abordagem tradicional considera-se a atividade biológica de um composto como sendo resultado da(s) interação(ões) deste com as diferentes fases do sistema biológico, podendo ser expressa(s) pelas contribuições relativas das propriedades físico-químicas/estruturais do composto, descritas por parâmetros físico-químicos/estruturais independentes, não intercorrelacionados e aditivos, como por exemplo hidrofóbicos, eletrônicos/polares, estéricos e aqueles relacionados a polarizabilidade.^{55, 7, 76, 16, 62, 63}

Para um melhor entendimento, estão relacionados a seguir e, apresentados na Figura I.20 e nas Tabelas I.2 e I.3 os diferentes tipos de interações que podem ocorrer entre o fármaco e as diferentes biofases, bem como, suas respectivas atribuições energéticas e, os correspondentes parâmetros descritores.

Tabela I.2: Principais tipos de interações entre um composto e o sistema biológico e as respectivas energias envolvidas.^{55, 70, 5}

Tipo de interação	Energia de interação kJ/mol	Exemplo
Covalente	170-600	$\text{CH}_3\text{—OH}$
Iônica	17-34
Íon-dipolo	4-17	$\text{R}_4\text{N}^+ \cdots \text{O}=\text{C}\text{R}_2$
Dipolo-dipolo	4-17
Ligação de hidrogênio	4-17
Transferência de carga	4-17
Hidrofóbica	~4
Forças de London	2-4

Figura I.20: Exemplo ilustrativo das múltiplas interações de um fármaco. ^{16, 70}

Tabela I.3: Propriedades moleculares, interações correspondentes no sistema biológico e os correspondentes parâmetros descritores, envolvidos na interação entre um composto e o sistema biológico. ^{55, 16}

Propriedade molecular	Interação	Parâmetro descritor
Hidrofobicidade ^(a)	Hidrofóbica	$\log P$, $\log P_{app}$, π , π_{exp} , f , $\log P_{calc}$
Polarizabilidade	Forças de London	MR, MV
Densidade eletrônica	Iônica, íon-dipolo, dipolo-dipolo, ligação de hidrogênio, transferência de carga	σ , $\mathfrak{J}$, $\mathfrak{R}$, σ^* , $\delta^{13}_{C=O}$, $\nu_{C=O}$
Topologia	Estérica	E_s , r_v , (L, B ₁ , B ₂ , B ₃ e B ₄)

(a) Propriedade estrutural (molecular) relativa a um sistema bifásico (líquido/líquido).

Em 1964, coube a Hansch e Fujita ⁴⁰ a correlação dos parâmetros físico-químicos: eletrônicos, lipofílicos e, estéricos com a atividade biológica. O modelo matemático desenvolvido por Hansch e Fujita, que relaciona a atividade de compostos biologicamente ativos com seus parâmetros físico-químicos/estruturais, pode ser representado pela seguinte equação: ^{40, 7, 76}

$$AB = f(\text{parâmetros eletrônicos} + \text{parâmetros hidrofóbicos} + \text{parâmetros estéricos} + \text{etc...}) + C$$

Em que:

AB é a atividade biológica ou resposta biológica;

Parâmetros eletrônicos, hidrofóbicos e estéricos são os parâmetros físico-químicos/estruturais que contribuem para a atividade ou resposta biológica;

f é uma função matemática que expressa a correlação entre os parâmetros físico-químicos/estruturais que contribuem para a atividade ou resposta biológica;

C é o coeficiente linear da função matemática utilizada na correlação.

Os parâmetros hidrofóbicos regulam o transporte e a distribuição do fármaco pelo sistema biológico, além de descreverem interações hidrofóbicas fármaco-receptor. Os parâmetros eletrônicos descrevem as interações de natureza polar que se estabelecem entre o fármaco ou ligante e o receptor, enquanto o fator estérico está relacionado com o ajuste tridimensional do fármaco ou ligante com o seu sítio de ligação no receptor.^{55, 54, 44}

1.3.1. Parâmetros eletrônicos

Somente com base nos conhecimentos de Físico-Química Orgânica do trabalho clássico publicado por Hammett em 1935 é que o(s) efeito(s) eletrônico(s) transmitido(s) por um grupo substituinte pode ser medido e quantificado, para posteriormente ser usado em estudos de *QSAR*.⁷ Inúmeros trabalhos envolvendo estudos em *QSAR* publicados na literatura apresentam correlação das atividades biológicas estudadas com o parâmetro eletrônico expresso, por exemplo, pela constante σ de Hammett.⁴²

O entendimento da grandeza e da(s) contribuição(ões) relativa(s) do(s) efeito(s) eletrônico(s) transmitido(s) pelos substituintes requer profundo entendimento do trabalho publicado por Hammett, que estudou a ionização de ácidos benzóicos *meta* e *para* substituídos, em água a 25 °C. Neste estudo, foram analisados os valores das constantes de

ionização, K_a , para uma série de ácidos benzóicos *meta* ou *para* substituídos. A seguir, foi verificada a relação logarítmica entre os valores de $\log K_X$ (logaritmo da constante de ionização para o correspondente ácido benzóico X-substituído) e de $\log K_H$ (constante de ionização do ácido benzóico não-substituído, $X = H$). Desta forma, foi estabelecido/definido o parâmetro eletrônico do substituinte, σ de Hammett, expresso pela equação 1. ^{7, 41, 44}

$$\sigma = \log (K_X / K_H) \quad \text{equação 1}$$

A constante σ é conhecida como a constante eletrônica do grupo substituinte e mede a influência eletrônica de um dado substituinte independentemente da reação ou da molécula a que está ligado. Os valores absolutos de σ refletem a grandeza do efeito eletrônico, sejam por exemplo indutivos, ou de ressonância, exercidos pelo substituinte sobre o centro da reação ou sobre a propriedade físico-química medida, em relação ao composto não substituído. Valores positivos de σ são observados para substituintes aceptores de elétrons, enquanto valores negativos são observados em substituintes doadores de elétrons. ^{7, 76, 41, 44}

A partir dos valores de σ obtidos para diversos substituintes Hammett propôs uma relação linear de energia livre, conhecida por *equação de Hammett*. Esta correlaciona os valores de σ obtidos para substituintes nas posições *meta* ou *para* de anel benzênico sobre a posição de equilíbrio ou sobre a velocidade para o estabelecimento do equilíbrio, em reação de mesmo tipo para os compostos estudados. Estas correlações podem ser representadas, respectivamente, pelas equações 2 e 3. ^{7, 41, 44}

$$\log K_X = \rho\sigma + \log K_H \quad \text{equação 2}$$

$$\log k_X = \rho\sigma + \log k_H \quad \text{equação 3}$$

Em que:

K_X são as constantes de equilíbrio para os compostos *meta-* e/ou *para-* X substituídos;

k_X são as constantes de velocidade para os compostos *meta-* e/ou *para-* X substituídos;

K_H é a constante de equilíbrio para o composto não-substituído ($X = H$);

k_H é a constante de velocidade para o composto não-substituído ($X = H$).

O valor do coeficiente angular da equação de Hammett corresponde a constante ρ , que é denominada de constante da reação. Sua grandeza mede a suscetibilidade da reação ou da propriedade medida ao efeito polar exercido pelo substituinte e depende da reação que a definiu. Valores positivos de ρ são observados em reações favorecidas por grupos que atraem elétrons e valores negativos são observados em reações favorecidas por grupos que repelem elétrons. O valor absoluto de ρ expressa a sensibilidade da reação ao efeito de grupos substituintes. Ou seja, quanto maior for seu valor absoluto, maior será a suscetibilidade da reação ao efeito desses grupos.^{7, 41, 44}

Ainda com relação à constante eletrônica σ , esta apresenta diferentes valores de acordo com o padrão de substituição no anel aromático, podendo em alguns casos variar até mesmo com o tipo de sistema (reação) que as definiu, além de expressar efeitos eletrônicos de diferentes naturezas, sendo eles efeitos, respectivamente indutivo, de campo e de ressonância. Assim, têm sido encontrados na literatura^{55, 45} diversas coleções de valores para σ , sendo os mais usuais: σ_m ; σ_p ; σ_p^+ ; σ_p^- ; σ_I e σ_R .

Os valores da constante de substituinte σ obtidos para a posição *orto* são bastante afetados quanto à análise dos efeitos indutivo, de ressonância e de campo, devido ao efeito estérico do substituinte e até ligações de hidrogênio intramoleculares em determinados substituintes.⁵⁵

A constante eletrônica de substituinte denominada σ_p^+ foi definida em sistema cujo centro reacional é deficiente de elétrons. Assim, os valores de σ_p^+ obtidos para grupos doadores de elétrons por ressonância são mais negativos que os correspondentes valores de

σ_p obtidos por Hammett. Este efeito anômalo, pode ser explicado pelo aparecimento de conjugação cruzada entre o grupo substituinte eletrodoador por ressonância e o centro reacional deficiente de elétrons. Assim, os valores de σ_p^+ podem ser empregados em sistemas semelhantes ao descrito, sendo apresentados na Tabela I.2.^{7, 41, 44}

Por outro lado, a constante eletrônica de substituinte denominada σ_p^- foi definida em sistema cujo centro reacional é rico em elétrons. Assim, os valores de σ_p^- obtidos para grupos aceptores de elétrons por ressonância são mais positivos que os correspondentes valores de σ_p obtidos por Hammett. Este efeito anômalo, pode ser explicado pelo aparecimento de conjugação cruzada por ressonância entre o grupo substituinte eletroceptor e o centro reacional rico em elétrons. Assim, os valores de σ_p^- podem ser empregados em sistemas semelhantes ao descrito, sendo apresentados na Tabela I.2.^{7, 41, 44}

A separação do parâmetro σ em seus componentes indutivo e de ressonância, respectivamente representados por σ_I e σ_R , é importante por possibilitar a utilização da equação de Hammett expandida, pela qual se torna possível a análise das contribuições relativas dos efeitos indutivos e de ressonância separadamente.

Inúmeras coleções de constantes de substituinte tipo-Hammett foram propostas para diversos sistemas, desde a proposta original de Hammett. Assim, na tentativa de condensar essa gama de novas constantes de substituinte, Swain e Lupton, em 1968,⁷³ propuseram a definição das constantes eletrônicas, a partir dos efeitos indutivo/campo ($\mathfrak{I}$) e de ressonância ($\mathfrak{R}$) dos grupos substituintes. Eles se basearam na dissociação dos ácidos biciclo[2.2.2]-octano-carboxílicos 4-substituídos, em água/etanol 50% (v/v), representados na Figura I.21. Para estes compostos foi definida constante eletrônica do substituinte, expressa pela equação 4:^{16, 73, 63}

$$\sigma' = \log (K_X / K_H) \quad \text{equação 4}$$

Figura I.21: Estrutura dos ácido biciclo[2.2.2]-octano-carboxílico 4-X-substituídos.^{73, 63}

Na equação 4, $\log K_X$ representa o logaritmo da constante de dissociação para os ácidos biciclo[2.2.2]-octano-carboxílicos 4-X-substituídos e $\log K_H$ representa o logaritmo da constante de dissociação para $X = H$. O valor da constante de grupo substituinte σ' é considerado como medida exclusiva dos efeitos de campo e indutivo para o substituinte X, ou seja, é considerado que na estrutura rígida em questão o efeito do substituinte só poderá se fazer sentir por campo ou indução das ligações sigma. Não ocorrerá nenhuma transmissão de efeito eletrônico por ressonância.^{16, 73, 63}

Swain e Lupton assumiram que $\mathfrak{I} = \sigma'$ para 14 substituintes que tiveram seus valores de σ' determinados. Estes autores obtiveram a relação expressa pela equação 5.^{16, 73, 63}

$$\mathfrak{I} = 2,26(\pm 0,14)\sigma_m - 0,62(\pm 0,11)\sigma_p - 0,01(\pm 0,03) \quad \text{equação 5}$$

$$(n = 14; r = 0,990; s = 0,07)$$

A partir da equação 5 foram calculados os valores de $\mathfrak{I}$ para os demais substituintes, com valores de σ_m e σ_p determinados. E, para o cálculo da constante $\mathfrak{R}$, Swain e Lupton consideraram que:

- a) $\sigma_p = \alpha\mathfrak{I} + \mathfrak{R}$
- b) No caso do substituinte $N^+(CH_3)_3$ ($\sigma_p = 0,82$; $\mathfrak{I} = 1,46$) $\mathfrak{R}$ foi considerado como sendo zero, e então o valor de α foi determinado como sendo 0,56.^{16, 73, 63}

Desta forma Swain e Lupton utilizaram-se da equação 6 para o cálculo dos valores de $\mathfrak{R}$ para os demais substituintes.^{16, 73, 63}

$$\mathfrak{R} = \sigma_p - 0,56\mathfrak{I} \quad \text{equação 6}$$

Hansch e outros pesquisadores escalonaram os valores de $\mathfrak{I}$ e $\mathfrak{R}$ de forma mais

consistente, como apresentado nas equações 7, 8 e 9: ^{7, 62, 66}

$$\mathfrak{S} = \sigma'/1,65 \quad \text{equação 7}$$

$$\mathfrak{S} = 1,297\sigma_m - 0,385\sigma_p + 0,033 \quad \text{equação 8}$$

(n = 38; r = 0,937; s = 0,046)

$$\mathfrak{R} = \sigma_p - \mathfrak{S} \quad \text{equação 9}$$

Compilações mais recentes ^{43, 45} contêm os valores de σ_m , σ_p de Hammett, $\mathfrak{S}$ e $\mathfrak{R}$ de Swain e Lupton redefinidos por Hansch.

Os parâmetros eletrônicos propostos por Swain e Lupton têm sido empregados com sucesso em diversos trabalhos de *QSAR*, ^{55, 10} principalmente quando se deseja analisar os efeitos indutivo/campo e ressonância separadamente.

Na Tabela I.4 são apresentados para nove grupos substituintes os correspondentes valores das constantes de substituinte de Hammett σ_m e σ_p e os correspondentes valores das constantes de substituinte tipo-Hammett σ_p , σ_p^+ , σ_p^- , σ_I , σ_R , $\mathfrak{S}$ e $\mathfrak{R}$, retirados da literatura. ⁴⁵

Tabela I.4: Valores de constantes de substituinte tipo-Hammett, σ_m , σ_p , σ_p^+ , σ_p^- , σ_I , σ_R , Σ e $\mathcal{R}$, retirados da literatura,⁴⁵ para nove grupos substituintes.

Grupo substituinte	σ_m	σ_p	σ_I	σ_R	σ_{p^+}	σ_{p^-}	Σ	$\mathcal{R}$
4-H	0	0	0	0	0	0	0	0
4-CH ₃	-0,07	-0,17	-0,04	-0,14	-0,31	-0,17	0,01	-0,18
4-OCH ₃	0,12	-0,27	0,27	-0,43	-0,78	-0,26	0,29	-0,56
4-OC ₂ H ₅	0,10	-0,24	0,28	-0,44	-0,81	-0,28	0,26	-0,50
4-F	0,34	0,06	0,52	-0,48	-0,07	0,12	0,45	-0,39
4-Br	0,39	0,23	0,44	-0,19	0,15	0,25	0,45	-0,22
4-NO ₂	0,71	0,78	0,64	0,15	0,79	1,27	0,65	0,13
4-CN	0,56	0,66	0,53	0,08	0,66	1,00	0,51	0,15
4-OH	0,12	-0,37	0,29	-0,43	-0,92	-0,37	0,33	-0,70

Para compostos alifáticos, o parâmetro eletrônico utilizado é a constante σ^* definida por Taft,^{41, 44, 74} de acordo com a equação 10.

$$\sigma^* = [\log(k_X/k_H)_B - \log(k_X/k_H)_A] / 2,48 \quad \text{equação 10}$$

Onde

k_X é a constante de hidrólise para um éster do tipo XCH_2COOR ;

k_H é a constante de hidrólise quando $X = H$. B refere-se a hidólise em meio básico, enquanto, A refere-se a uma hidrólise em meio ácido.

A constante 2,48 foi obtida pela subtração do valor de ρ para a hidrólise de benzoatos substituídos catalisada por base ($\rho = 2,51$), do valor de ρ para a hidrólise dos mesmos benzoatos substituídos catalisada por ácido ($\rho = 0,03$).^{41, 44, 74}

A premissa fundamental proposta por Taft está fundamentada na observação de que

a constante de hidrólise em meio básico, depende dos efeitos indutivo e estérico do substituinte X, enquanto que em meio ácido, por outro lado, depende apenas do efeito estérico de X, afetando a energia do estado de transição. Considerando-se a subtração, $\log(k_X/k_H)_B - \log(k_X/k_H)_A$, o efeito estérico pode ser considerado nulo, restando somente o efeito indutivo transmitido por X, e expresso por σ^* .^{41, 44, 74}

Dados retirados de técnicas espectroscópicas, como por exemplo valores de $\delta^{13}_{C=O}$ e de $\nu_{C=O}$, obtidos respectivamente por medidas de RMN - ^{13}C ou no espectro de infravermelho, podem ser utilizados em estudos de *QSAR* como parâmetros eletrônicos para descrição do efeito eletrônico transmitido por substituintes, apresentando a vantagem de serem obtidos experimentalmente para o sistema em estudo. Os valores de $\delta^{13}_{C=O}$ e de $\nu_{C=O}$, podem, ainda, ser usados como parâmetros eletrônicos para sistemas nos quais valores de σ são desconhecidos.^{76, 82, 31}

1.3.2. Parâmetros hidrofóbicos/lipofílicos

É importante reconhecer que a hidrofobicidade de um fármaco determina a extensão e velocidade de sua absorção e distribuição, além da capacidade de ligação ao sítio receptor devido a interações hidrofóbicas, bem como sua biotransformação e excreção.^{16, 77, 78}

O valor do coeficiente de partição de uma determinada espécie química pode ser utilizado como parâmetro hidrofóbico em análises de *QSAR*, sendo definido como a razão, representada na equação 11, entre as concentrações que se estabelecem nas condições de equilíbrio de uma determinada espécie química, quando dissolvida em um sistema constituído por duas fases uma orgânica e outra aquosa.^{55, 17} Sendo um equilíbrio termodinâmico, está associado à variação de energia livre do sistema.⁷⁸

$$P = [A_{(orgânica)}]/[A_{(aquosa)}] \quad \text{equação 11}$$

Em que:

P é o coeficiente de partição do composto A;

$[A_{(org\acute{a}nica)}]$ é a concentração do composto A na fase orgânica, nas condições de equilíbrio;

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

Pela definição, valores positivos de $\log P$ refletem uma preferência pela fase orgânica enquanto que valores negativos de $\log P$ refletem uma preferência pela fase aquosa.

Vários tipos de solventes são utilizados na determinação do coeficiente de partição, no entanto, o 1-octanol é o solvente que tem demonstrado melhores condições para uso em *QSAR*, pois, embora seja imiscível com água, tem capacidade de dissolver até 2,3 mol de água por litro nas condições de equilíbrio e apresenta um grupo hidroxila, que pode agir como doador e como receptor na formação de ligações de hidrogênio. Assim, como consequência, as ligações de hidrogênio de uma molécula solvatada não precisam ser quebradas durante sua transferência da fase aquosa para a fase orgânica, fazendo com que se expressem apenas as interações hidrofóbicas.^{52, 1}

Entre os diversos métodos de determinação do coeficiente de partição, o mais recomendado é o método denominado por *shake-flask*, revisado por Dearden e Bresnen.¹⁷ Neste método o composto é deixado particionar entre as duas fases previamente saturadas uma na outra. Depois de atingida a condição de equilíbrio a concentração da substância é determinada, de preferência em ambas as fases, por métodos analíticos adequados. Este método é adequado, particularmente, para substâncias com valores de coeficiente de partição na faixa compreendida entre -4,0 e 4,0.^{78, 17}

Para compostos contendo grupos ionizáveis, é importante ressaltar a necessidade de se determinar, o valor do coeficiente de partição aparente, $\log P_{app}$, com a finalidade de se considerar o equilíbrio ácido-base na partição, apresentado na Figura I.22. Desta forma, em determinado pH, as contribuições hidrofóbicas tanto das formas ionizada como não ionizada, são consideradas. O valor de $\log P_{app}$ pode ser determinado utilizando-se para partição o sistema 1-octanol/água (tampão).⁵²

Figura I.22: Equilíbrios envolvidos na partição, entre solvente orgânico e água, para um composto AH, contendo grupo ionizável. ^{55, 16}

Vários métodos cromatográficos podem ser utilizados para determinação indireta do valor de logP. A técnica de cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) em coluna de fase reversa tem sido a mais usada, por causa da praticidade e reprodutibilidade que este método cromatográfico apresenta na determinação de valores de logP. Como princípio deste método os fatores de capacidade (k') de compostos são determinados em um sistema cromatográfico, estando relacionados com a partição destas substâncias entre a fase móvel (eluente) e a fase estacionária (material da coluna), sendo k' definido pela equação 13.

$$k' = (t_R - t_0) / t_0 \quad \text{equação 13}$$

Em que:

t_R é o tempo de retenção para o composto que está sendo medido;

t_0 é o tempo de retenção de uma substância que não interage com a fase estacionária.

Os valores de log k' se correlacionam com os valores de logP por meio da equação 14.

$$\log P = a \log k' + b \quad \text{equação 14}$$

Os valores dos coeficientes a e b são determinados para cada sistema cromatográfico em questão pela determinação de $\log k'$ para substâncias padrão, com valores de $\log P$ conhecidos na literatura.^{16, 63, 79}

Entre as vantagens deste método podemos citar: rapidez, aplicabilidade a compostos com $\log P$ bastante altos, aplicabilidade para compostos sem alto grau de pureza. Uma das desvantagens deste método, no entanto, é a necessidade de se traçar uma curva padrão incluindo compostos, tanto com valores de $\log P$ bastante variados bem como mostrando diferentes tipos de interação com a coluna. Poderia, também, ser até certo ponto uma desvantagem a constante verificação (diária) das condições de trabalho, pela reconstrução da curva padrão.^{16, 63}

Hansch e Fujita,⁴⁰ procedendo analogamente ao proposto para o parâmetro eletrônico, σ de Hammett, definiram a constante hidrofóbica de substituinte π , que representa a contribuição hidrofóbica de um determinado substituinte e pode ser utilizada como parâmetro hidrofóbico em estudos de *QSAR*. Este parâmetro é definido como a relação entre o logaritmo do coeficiente de partição do composto substituído, $\log P_X$, e o logaritmo do coeficiente de partição do composto não substituído, $\log P_H$, de acordo com a equação 15.^{55, 40, 41, 44}

$$\pi_X = \log P_X - \log P_H \quad \text{equação 15}$$

Em que:

π_X é o parâmetro que pode refletir 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 ($X = H$).

Os valores de π obtidos para série de benzenos monossustituídos são os mais usados. No entanto, pela utilização da equação 15, valores de π podem ser obtidos para cada sistema estudado, sendo denominados de π experimental (π_{exp}). Estes refletem as

interações hidrofóbicas dos substituintes para cada série de compostos em estudo.^{55, 44}

Pela definição e por convenção, valores positivos de π de Hansch são encontrados para substituintes com caráter mais lipofílico que H, enquanto valores negativos apresentam caráter mais hidrofílico que H. O parâmetro hidrofóbico, π de Hansch, é definido a partir das contribuições relativas à substituição do átomo de hidrogênio por um substituinte X e é aplicado exclusivamente em estruturas aromáticas. A utilização de π de Hansch em sistemas alifáticos pode levar a erros significativos.⁵⁵

A definição do parâmetro hidrofóbico f de Rekker, que também pode ser utilizado em análises de *QSAR*, se baseia no conceito de aditividade de grupos substituintes em uma dada subestrutura. Assim, a partir da equação 16, Rekker definiu uma constante de fragmento f , que é a medida da contribuição absoluta da lipofilicidade do correspondente fragmento ou grupo. Assim, f não é mais a contribuição relativa devido à substituição do átomo de hidrogênio por um substituinte X.^{55, 41, 44}

$$\log P = \sum a \cdot f \quad \text{equação 16}$$

Em que:

$\log P$ é o logaritmo do coeficiente de partição do composto;

f é a constante fragmentar (expressa a contribuição de um fragmento ou subestrutura);

a é a frequência que um grupo ou subestrutura aparece na estrutura em análise.

Baseando-se no conceito de aditividade e assumindo as contribuições individuais de cada grupo substituinte, ou subestrutura, foi possível o desenvolvimento de programas computacionais, que permitem o cálculo e previsão do valor do coeficiente de partição. Torna-se relevante ressaltar que dentre os diversos programas para cálculo do valor do coeficiente de partição disponíveis comercialmente, existem divergências, no que diz respeito ao cálculo de $\log P$ de compostos com grupamentos iônicos/ionizáveis, bem como

os que apresentam na estrutura anéis aromáticos condensados ou heterocíclicos.^{52, 66}

Atenção especial tem sido dada ao programa CLOGP, que se fundamenta basicamente no conceito de fragmentos desenvolvido por Leo e Hansch, sendo bastante empregado por considerar nos cálculos do valor de logP, as contribuições hidrofóbicas de cada fragmento molecular. Estas são obtidas de um banco de dados com valores de coeficiente de partição determinados experimentalmente para milhares de compostos. Correções para as interações existentes entre fragmentos moleculares polares também são incluídas nos cálculos.⁵⁶ Ainda se constitui uma das limitações do programa, pelo menos até o momento, o fato de não se poder considerar nos cálculos a contribuição de fragmentos iônicos.⁵⁶

1.3.3. Parâmetros estéricos

A descrição e representação tridimensional tanto do composto biologicamente ativo, assim como de seu(s) receptor(es), no sistema biológico são, muitas vezes, fundamentais e decisivas para a compreensão dos mecanismos envolvidos no estabelecimento das interações fármaco/ligante-receptor.⁵⁵

A primeira abordagem quantitativa envolvendo o estudo do(s) efeito(s) estérico(s) nas reações orgânicas foi feita por Taft, em 1956. Este, seguindo sugestões de Ingold, definiu E_s de acordo com a equação 17:^{41, 44}

$$E_s = \log(k_X/k_H)_A \quad \text{equação 17}$$

Onde

k é a constante de hidrólise, catalisada por ácido, de um éster do tipo XCH_2COOR .

Nestas condições, o efeito estérico do grupo X afeta a energia do estado de transição de reação, enquanto o efeito eletrônico é desprezível.

Por definição, E_s é igual a zero, para $X = H$, ou seja, para o composto onde o grupo ligado à função éster é o grupo metila ($-CH_3$). Este parâmetro estérico sugerido por Taft tem como limitação o fato de não poder ser obtido para muitos substituintes X , pois, por exemplo, os derivados onde $X = -CN$ (ciano), $-NO_2$ (nitro); $X =$ (halogênios) e RO (alcooxi) etc...resultaram em compostos instáveis.

Na tentativa de se obter valores de E_s para uma coleção de novos substituintes anteriormente não determinados, Charton e posteriormente Kutter e Hansch propuseram um novo parâmetro, no qual o efeito estérico está correlacionado com o raio de van der Waals. Pôde-se, assim, obter valores de E_s par novos substituintes pela aplicação da equação 18.^{41,44}

$$E_s = -1,839r_v(av) + 3,484 \quad \text{equação 18}$$
$$(n = 6, r = 0,996, s = 0,132)$$

Em que:

$r_v(av)$ é o valor médio do raio de van der Waals do Grupo substituinte.

Deve-se ressaltar que as interações estéricas intermoleculares fármaco/ligante-receptor no sistema biológico podem ser consideradas de maior complexidade do que as interações estéricas intramoleculares, que ocorrem nos centros de reações orgânicas, a partir dos quais os valores de E_s são obtidos. Assim, pelo fato do sistema biológico ser mais complexo, abordagens mais complexas para se propor um parâmetro estérico adequado podem ser necessárias.⁴⁴ Neste sentido, Verloop e Hoogenstraaten contribuíram significativamente, definindo uma série de parâmetros estéricos denominada Sterimol. Estes parâmetros representam o grupo substituinte no espaço por 5 dimensões, L , B_1 , B_2 , B_3 e B_4 . São obtidos por vários cálculos computacionais usando o raio de van der Waals, comprimentos e ângulos padrão para ligações e uma “razoável” conformação para definir o requerimento espacial do grupo substituinte.^{55, 41, 44}

I.3.4. Parâmetro relativo à polarizabilidade (MR)

O valor de MR é diretamente relacionado com a polarizabilidade molecular por meio da equação 19, podendo expressar em estudos de *QSAR* interações de diferentes naturezas entre o fármaco e o receptor.^{18, 32}

$$MR = (4\pi N\alpha)/3 \quad \text{equação 19}$$

Em que:

N = número de Avogadro;

$\pi = 3,1415$;

α = polarizabilidade.

A refratividade molar (MR) é um parâmetro que pode expressar interações dispersivas para um grupo substituinte, bem como, suas interações de natureza estérica e hidrofóbica.^{55, 41, 44, 18, 32}

Sugere-se que quando se tem coeficientes de regressão positivos em MR, este termo pode estar modelando as interações de dispersão, ou semi-polares. Por outro lado, para coeficientes de regressão negativos em MR, este termo pode estar associado ao efeito estérico. Portanto, atenção especial deve ser tomada na análise deste parâmetro principalmente na escolha dos substituintes, caso contrário pode-se chegar a uma conclusão falsa, devido a inter-correlações entre lipossolubilidade, polarizabilidade eletrônica ou mesmo interações de natureza estérica na série de substituintes.^{55, 41, 44, 18, 32}

O parâmetro refratividade molar (MR) expressa uma propriedade físico-química de caráter constitutiva e aditiva, sendo, portanto, extremamente dependente da estrutura do composto químico.^{55, 41, 44} Com base nesta propriedade, os valores de MR relativos à subestrutura molecular podem ser determinados experimentalmente.^{41, 44} O método de se medir a refratividade molar é através do emprego da relação de Lorentz-Lorenz,^{41, 44, 18, 32} expressa pela equação 20.

$$MR = [(n^2 - 1)/(n^2 + 2)] \cdot (PM/d) \quad \text{equação 20}$$

Em que:

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

d = é a sua densidade a 20 °C;

PM = é o peso molecular do composto.

1.3.5. Parâmetros que expressam a atividade biológica

Pode-se dizer que em estudos de *QSAR* o significado estatístico das correlações obtidas será tanto maior quanto mais precisas forem as medidas de atividade biológica, pois os parâmetros físico-químicos são medidos com alto grau de precisão.^{55, 16}

A atividade biológica apresentada por um composto pode ser expressa em termos da correspondente potência biológica. Esta é definida como o logaritmo do inverso da concentração (ou dose), expressa em mol/L (ou molar (M)), necessária para se obter uma determinada resposta biológica. Desta forma, quanto menor for a dose necessária para se obter uma determinada resposta biológica, maior será a potência do composto em questão.^{55, 59}

O planejamento de um ensaio biológico visando à determinação da potência biológica de um fármaco se baseia na análise de uma curva dose-resposta obtida pelo gráfico da resposta biológica em função de diferentes doses do composto.⁵⁹ Análise da dispersão em torno da potência biológica média é recomendável, não devendo ultrapassar 20% de porcentagem de desvio padrão.

Entre os parâmetros biológicos utilizados em *QSAR*, citam-se: a dose efetiva 50% (ED_{50}), a dose letal 50% (DL_{50}) e o índice de citotoxicidade 50% (IC_{50}).

A dose efetiva 50% (ED_{50}) é definida como sendo a dose de um composto biologicamente ativo requerida para produzir 50% do efeito máximo de uma determinada

atividade biológica.⁸⁵

A dose letal 50% (DL₅₀) é definida como sendo a dose de um composto biologicamente ativo necessária para causar a morte em 50% de uma determinada população em estudo.⁸⁵

O índice de citotoxicidade 50% (IC₅₀) pode ser definido como sendo a dose de um composto biologicamente ativo, que resulta em 50% de morte em uma determinada população celular.⁸⁵

1.4. Modelos em QSAR

1.4.1. Abordagem extratermodinâmica

O modelo proposto por Hansch e Fujita,⁴⁰ também conhecido por abordagem extratermodinâmica,^{55, 36} correlaciona por meio de relações lineares, lineares múltiplas e não-lineares, a atividade biológica de compostos, em séries análogas com os correspondentes parâmetros físico-químicos/estruturais.

1.4.1.1. Modelo linear

No modelo linear proposto por Hansch e Fujita⁴⁰ a atividade biológica é expressa pela somatória das contribuições individuais de parâmetros físico-químicos, entre eles: hidrofóbicos, eletrônicos e estéricos, relativos ao substituinte ou à molécula toda. Este modelo é representado pela equação 21.

$$\log 1/C = a\pi + \rho\sigma + cE_s + r \quad \text{equação 21}$$

Em que:

$\log 1/C$ é a resposta biológica do composto, sendo C é a concentração molar utilizada no ensaio biológico;

π é o parâmetro de hidrofobicidade de Hansch-Fujita;

σ é a constante de Hammett, que expressa o efeito eletrônico;

E_s é o parâmetro estérico de Taft;

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

r é uma constante.

Sabe-se que a atividade biológica aumenta somente até determinado limite com o aumento da hidrofobicidade dos compostos. Assim, em séries homólogas apresentando grande variação de lipofilicidade ($\log P$ variando de -4 a +4), a atividade biológica, tendo atingido o seu máximo, sofre um rápido decréscimo à medida que lipofilicidade aumenta. Por esta razão, o modelo linear de Hansch apresenta limitações em relação à sua aplicabilidade em diferentes sistemas biológicos.³⁶

I.4.1.2. Modelo parabólico

Hansch e Fujita⁴⁰ verificaram que colocando em um gráfico a atividade biológica em função da lipossolubilidade obtém-se uma curva. O perfil da curva obtida se aproxima a uma parábola. Propuseram, então, que a atividade biológica podia ser expressa em função do quadrado do termo que apresenta o efeito hidrofóbico destes compostos.³⁶

Apesar da grande importância da lipossolubilidade para a atividade biológica, Hansch e Fujita verificaram que outros parâmetros também podiam contribuir para a atividade. Foram, então, introduzidos e considerados os parâmetros relacionados aos efeitos eletrônico e estérico na sua equação original, resultando a equação 22, onde $a < 0$.⁴⁰

$$\log 1/C = a\pi^2 + b\pi + \rho\sigma + cE_s + r \quad \text{equação 22}$$

Em que:

$\log 1/C$ é a resposta biológica do composto, sendo C a concentração molar utilizada

no ensaio biológico;

π é o parâmetro de hidrofobicidade de Hansch-Fujita;

σ é a constante de grupo de Hammett, que expressa o efeito eletrônico;

E_s é o parâmetro estérico de Taft;

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

r é uma constante.

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

55, 16

Ainda com relação ao modelo parabólico, observou-se, no entanto, que as partes ascendentes e descendentes das curvas obtidas, se assemelham ao modelo linear de Hansch. Embora pequeno, o afastamento entre a curva teórica e os pontos experimentais motivou a proposição de um novo modelo na tentativa de descrever mais adequadamente as relações quantitativas entre a estrutura química e a atividade de compostos biologicamente ativos.⁵⁵

16

1.4.1.3. Modelo bilinear

Em busca de um modelo matemático que melhor expressasse a relação atividade biológica em função dos parâmetros físico-químicos, Kubinyi verificou que o melhor modelo matemático deveria ser composto por um misto entre os modelos linear e o parabólico, denominado de modelo bilinear expresso pela equação 23.^{55, 64}

$$\log 1/C = a \log P - b \log(\beta + 1) + \rho \sigma + c E_s + r \quad \text{equação 23}$$

Em que:

$\log 1/C$ é a potência biológica dos compostos;

$\log P$ representa o efeito hidrofóbico;

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

σ representa o efeito eletrônico;

E_s representa o efeito estérico;

a, b, ρ, c medem a contribuição de cada parâmetro para a atividade biológica;

r é uma constante.

O modelo bilinear, proposto por Kubinyi, está fundamentado na probabilidade de compostos biologicamente ativos atingem seu sítio de ação considerando um sistema multicompartimentado, ou seja, a discrepância observada entre o modelo linear e o modelo parabólico poderia ser atribuída a diferentes fatores, entre eles: cinética do transporte do fármaco, à distribuição do fármaco em diferentes compartimentos do sistema biológico, espaço limitado para as interações de grupos hidrofóbicos no sítio de ação, efeitos alostéricos, formação de micelas, princípio de ocupação mínima do receptor, entre outros. O modelo bilinear consiste em aprimoramento do modelo parabólico proposto por Hansch, observando-se melhoria da curva teórica dos dados experimentais. No entanto, a aplicação deste modelo necessita de cálculos iterativos, que são mais complexos do que a análise de regressão do modelo parabólico de Hansch.^{16, 36, 64}

1.5. Modelo da aditividade (análise de Free-Wilson)

A abordagem de Free-Wilson correlaciona por análise de regressão linear múltipla as características estruturais de compostos biologicamente ativos com os seus valores de atividade biológica. Nesta abordagem, uma variável indicadora (**I**) é gerada para cada

característica estrutural que é modificada de um composto, arbitrariamente escolhido como composto de referência. Os valores do coeficiente de regressão obtidos para cada variável indicadora indicam as contribuições das correspondentes características estruturais para a atividade biológica.^{55, 16, 63}

“Modelo matemático”, “modelo de aditividade” e “abordagem *de novo*” são sinônimos para o método de Free-Wilson, que foi reformulado por Fujita e Ban, que simplificaram a aplicação do modelo de aditividade, podendo ser definido pela equação 24, e, denominado de Free-Wilson-Fujita-Ban.^{55, 16, 62, 63}

$$\log BA = \sum a_i X_i + \mu \quad \text{equação 24}$$

Em que:

BA é a atividade biológica;

X_i corresponde à contribuição do substituinte i-ésimo com valor igual a 1 caso esteja presente e com valor igual a 0 caso esteja ausente;

a_i corresponde à contribuição do substituinte i-ésimo para a atividade biológica;

μ corresponde ao valor de atividade biológica (teórico) do composto de referência.

No modelo de Hansch, diferentemente do modelo de aditividade, a atividade biológica está correlacionada com parâmetros físico-químicos. As duas abordagens, no entanto, estão correlacionadas, não do ponto de vista teórico, mas de suas aplicabilidades. Assim, em muitos casos, os dois modelos podem ser combinados numa *abordagem mista*.⁵³ Nesta, os parâmetros introduzidos por Free-Wilson caracterizam a contribuição aditiva causada pela modificação de uma estrutura padrão, enquanto os parâmetros físico-químicos de Hansch descrevem o efeito dos substituinte na atividade biológica.^{55, 16, 63}

1.6. Estudos de QSAR sobre mutagenicidade e câncer

Estudos de *QSAR* que tratam de mutagenicidade e de câncer mostram-se diferenciados com respeito à contribuição dos parâmetros físico-químicos/estruturais para a resposta/atividade biológica.

Assim, de forma geral, se observa para a resposta/atividade biológica uma contribuição significativa e grande do termo relativo ao parâmetro eletrônico, enquanto que a contribuição do termo relativo ao parâmetro lipofílico é, em geral, não significativa, podendo ser ainda pequena e negativa, mesmo em sistemas complexos, ou seja em estudos com animais inteiros. Estas observações podem ser exemplificadas pelo modelo de *QSAR* expresso pela equação 25, obtido a partir de estudos do aumento de 25% no tempo de vida de camundongos com melanoma *B₁₆*, tratados com mostardas de anilina atuando como agentes alquilantes.⁴²

$$\log 1/C = -1,67(\pm 0,53)\sigma - 0,42(\pm 0,13)\text{CLOGP} + 5,60(\pm 0,52) \quad \text{equação 25}$$

$$(n = 20; r^2 = 0,848; s = 0,389; Q^2 = 0,777)$$

Neste modelo, os valores das contribuições dos parâmetros eletrônico e lipofílico são de -1,67 e de -0,42 respectivamente, sendo os mesmos expressos por valores de σ de Hammett da literatura e, pelos valores do parâmetro hidrofóbico calculados pelo programa CLOGP.

Os valores de atividade biológica ($\log 1/C$) determinados experimentalmente para a série de mostardas de anilina, bem como os respectivos valores calculados pelo modelo expresso pela equação 25 são apresentados na Tabela I.5.⁴²

Tabela I.5: Valores de atividade biológica determinados experimentalmente $\log(1/C)_{\text{exp}}$ para a série de mostardas de anilinas, bem como os respectivos valores de atividade biológica calculados $\log(1/C)_{\text{calc}}$ pelo modelo expresso pela equação 25 e, ainda, valores de σ e de CLOGP. ⁴²

Nº	X-	Log(1/C)exp	log(1/C)calc	σ	CLOGP
1	4-Cl	2,74	3,37	0,23	4,38
2	4-CH=CHC ₆ H ₅	2,86	3,28	-0,07	5,78
3	4-CH=C(CN) ₂	3,00	3,26	0,70	2,78
4	4-CONHC ₃ H ₇	3,25	3,54	0,36	3,46
5	4-OC ₆ H ₅	3,35	3,25	-0,03	5,69
6	4-NC ₄ H ₉	3,44	3,51	-0,16	5,58
7	4-CN	3,57	3,10	0,66	3,32
8	3,5-di-NHCONH ₂	3,69	5,33	-0,06	0,90
9	4-Me	3,86	4,20	-0,17	3,99
10	H	4,38	4,13	0,00	3,49
11	3,4-di-Me	4,45	4,13	-0,24	4,44
12	3,5-di-NH ₂	4,45	5,70	-0,32	1,04
13	3,4-di-OMe	4,52	4,52	-0,15	3,17
14	4-Obu	4,56	3,98	-0,32	5,10
15	4-NHCONH ₂	4,63	5,08	-0,24	2,19
16	4-OMe	4,68	4,57	-0,27	3,51
17	4-(CH ₂) ₃ COOH	4,70	4,35	-0,17	3,63
18	4-OEt	4,87	4,30	-0,24	4,04
19	4-OH	4,93	5,03	-0,37	2,82
20	4-NH ₂	5,35	5,75	-0,66	2,26
21	4-NH ₂ , 3-Me	5,50	5,68	-0,73	2,71
22	4-CH ₂ CH(NH ₂)COOH	6,18	5,81	-0,07	-0,21

Para os vinte compostos incluídos no modelo expresso pela equação 25, os valores do parâmetro hidrofóbico calculados pelo programa CLOGP não levam em consideração que os compostos possuem um grupo ionizável, não considerando o equilíbrio ácido-base

na partição. Este equilíbrio, no entanto, pode estar sendo descrito ao se considerar σ e CLOGP no mesmo modelo, justificando a contribuição significativa (e grande) do termo relativo ao parâmetro eletrônico σ .

Por outro lado, sugere-se, de forma geral, que a contribuição significativa e grande do termo relativo ao parâmetro eletrônico para a atividade, provavelmente, esteja relacionada à decomposição do composto. Assim, para agentes alquilantes, esta observação sugere que na etapa determinante da resposta/atividade biológica esteja ocorrendo decomposição do composto que leva à formação de um eletrófilo (composto com centro eletrofílico), que reage formando ligações covalentes com, por exemplo, uma macromolécula do sistema biológico.^{46, 14}

Como hipóteses para se tentar explicar a contribuição não, significativa do termo hidrofóbico, podendo ser ainda pequena e negativa, nas equações de *QSAR*, pode-se considerar que a reação responsável pela atividade biológica de uma série de análogos bioativos possa ocorrer na superfície da célula e não no seu interior, ou possivelmente que o transporte ativo dos compostos esteja envolvido. Também, pode-se considerar que o termo hidrofóbico que aparece nas equações de *QSAR*, muitas vezes relacionado com a passagem dos fármacos através de membranas, seja cancelado por interações dos mesmos com um receptor polar.⁴²

II. Materiais e Métodos

II.1. Reagentes e Solventes

- acetofenona (99%, P.A. - Aldrich)
- 4-metil-acetofenona (P.A. - Merck)
- 4-metóxi-acetofenona (98%, P.A. - Avocado)
- 4-etóxi-acetofenona (98%, P.A. - Aldrich))
- 4-fluoro-acetofenona (99%, P.A. - Avocado)
- 4-bromo-acetofenona (98%, P.A. - Avocado)
- 4-nitro-acetofenona (P.A. - Aldrich)
- 4-ciano-acetofenona (P.A. - Aldrich)
- 4-hidróxi-acetofenona (98%, P.A. - Aldrich)

- cloreto de dimetilamônio (P.A. - Aldrich)
- paraformaldeído (Vetec - Química fina)
- etanol (99,5%, P.A. - ACS - CAAL)
- ácido clorídrico (36,5-38,0%, P.A. - Cinética química)
- acetona (99,5%, P.A. - ACS - CAAL)
- metanol (99,5%, P.A. - ACS - QEEL)
- bicarbonato de sódio (Merck)
- hidróxido de potássio (85%, P.A. - CAAL)
- éter etílico (P.A. - CAAL)
- sulfato de magnésio anidro (Merck)
- iodeto de metila (99%, P.A. - Merck)
- tetraidrofurano (99,5%, P.A. - CAAL)
- sódio metálico (Merck)
- sulfato ferroso monoidratado (99%, P.A. - CAAL)
- bissulfato de sódio monoidratado (99%, P.A. - CAAL)
- pentóxido de fósforo (Merck)
- cloreto de cálcio anidro (CAAL)

- base trizma (P.A - Sigma)
- cloreto de sódio (P.A. - Becto)
- tampão-titrisol pH = 3,0, pH = 7,0 e pH = 9,0 (Merck)
- hidróxido de sódio (P.A. - Codex)

Reagentes com grau de pureza espectroscópicos e solventes deuterados

- DMSO - d_6 (99% D, Acros Organics)
- $CDCl_3$ - d_1 (99,8% D, Aldrich)
- DMSO Uvasol (99,8%, Merck)
- 1-octanol extra puro ($\geq 99,0\%$, Merck)
- tetrametilsilano (TMS) (99,9%, Aldrich)

II.2. Equipamentos

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

Os espectros de RMN 1H e de RMN ^{13}C foram registrados em um espectrômetro marca Varian, modelo, INOVA 300, operando em transformada de Fourier, pertencente ao Instituto de Química da USP, São Paulo.

Os espectros obtidos na região do infravermelho (I.V.) em patilhas de KBr foram realizados em um espectrômetro marca Bomem, modelo MB 100, operando em transformada de Fourier, no laboratório de RMN e I.V. da Central Analítica do Instituto de Química da USP, São Paulo.

Os espectros obtidos na região do infravermelho (I.V.) em solução de DMSO Uvasol, foram realizados em um espectrômetro FT-IR Nicolett Modelo Magna IR 550, operando em transformada de Fourier, pertencente ao laboratório do Prof. Dr. Paulo Roberto Olivato do Instituto de Química da USP, São Paulo.

Os espectros de massas (EM) foram obtidos em um espectrômetro de massas marca Hitachi, modelo Himac CF 15D2, sob injeção direta, sendo realizados no laboratório de Microanálise e Espectroscopia de Massas da Central Analítica do Instituto de Química da USP, São Paulo.

Os pontos de fusão não-corrigidos foram determinados em um aparelho tipo Köfler, marca Thomas/Scientific Aparatus (Micro Hot Stage, modelo 40), pertencente ao nosso grupo de pesquisa, laboratório de *QSAR*, IQ-USP, SP.

Os espectros de absorção na região do ultravioleta (UV) foram registrados em um espectrofotômetro marca Hitachi, modelo U-2010, pertencente ao nosso grupo de pesquisa, laboratório de *QSAR*, IQ-USP, SP.

Os ajustes de pH foram feitos em um pH-metro marca Micronal, modelo B275, utilizando-se eletrodos de vidro Ag/AgCl, $KCl_{(sat.)}$, pertencente ao nosso grupo de pesquisa, laboratório de *QSAR*, IQ-USP, SP.

As centrífugas utilizadas são de marca Hitachi, modelo Himac CF 15D2 e de marca Incibráz, modelo spin IV, pertencente ao nosso grupo de pesquisa, laboratório de *QSAR*, IQ-USP, SP.

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

II.3. Metodologias

II.3.1. Análises e medidas realizadas

As análises elementares dos elementos carbono, hidrogênio e nitrogênio para os nove cloretos de 3-(dimetilamino)-propiofenonas-4-X-substituídas, com X = -H, -CH₃, -OCH₃, -OCH₂CH₃, -F, -Br, -NO₂, -CN e -OH (série I, compostos **I.1** a **I.9**, Figura II.1) e para os seis correspondentes iodetos de 3-(trimetilamino)-propiofenonas-4-X-substituídas, com X = -H, -CH₃, -OCH₃, -OCH₂CH₃, -F e -Br (série II, compostos **II.1** a **II.6**, Figura II.2) foram determinadas utilizando um analisador elementar marca Perkin-Elmer, modelo 2400 CHN automatizado. A análise do ânion cloreto para os compostos da série I foi realizada por titulação com solução de nitrato de mercúrio, após o tratamento prévio da amostra utilizando um frasco de Schöniger (para queima do composto contendo o elemento

cloro ou íon cloreto), e subsequente tratamento com hidróxido de sódio, no laboratório de Microanálise da Central Analítica do Instituto de Química da USP, São Paulo.

Os espectros de RMN ^1H e de RMN ^{13}C dos nove cloretos de 3-(dimetilamino)-propiofenonas-4-X-substituídas, com X = -H, -CH₃, -OCH₃, -OCH₂CH₃, -F, -Br, -NO₂, -CN e -OH (série I, compostos **I.1** a **I.9**) e dos seis correspondentes iodetos de 3-(trimetilamino)-propiofenonas-4-X-substituídas, com X = -H, -CH₃, -OCH₃, -OCH₂CH₃, -F e -Br (série II, compostos **II.1** a **II.6**), bem como os espectros de RMN ^1H das 3-(dimetilamino)-propiofenonas-4-X-substituídas, com X = -H, -CH₃, -OCH₃, -OCH₂CH₃, -F e -Br (série de bases livres intermediárias, compostos **1** a **6**, Figura II.2), foram registrados em um espectrômetro marca Varian, modelo, INOVA 300, operando em transformada de Fourier. A precisão nas medidas foi limitada pelo erro sistemático de $\pm 0,01\text{ppm}$ do equipamento de acordo com as especificações do mesmo.

As amostras para realização dos espectros de RMN ^1H dos compostos das séries I e II foram preparadas em DMSO - d_6 com 0,03% (v/v) de tetrametilsilano (TMS). As amostras para realização dos espectros de RMN ^1H dos compostos da série de bases livres intermediárias foram preparadas em CDCl₃ com 0,03% (v/v) de tetrametilsilano (TMS). O tetrametilsilano (TMS) foi utilizado como padrão interno.

Os espectros de RMN ^{13}C para os compostos das séries I e II foram determinados na concentração de aproximadamente 0,1 M, em DMSO - d_6 , sendo o sinal central do setpleto obtido para o DMSO - d_6 ajustado para 39,70ppm, de acordo a literatura.⁷¹ Destes espectros de RMN ^{13}C obtidos para os compostos das séries I e II, foram retirados os valores de deslocamento químico do carbono carbonílico ($\delta^{13}\text{C=O}$) para cada um dos compostos das séries.

Adicionalmente, espectros de RMN ^{13}C para os compostos **I.1** (X = 4-H), **I.3** (X = 4-OCH₃) e **I.7** (X = 4-NO₂) da série I e **II.1** (X = 4-H) e **II.3**, (X = 4 -OCH₃) da série II, foram registrados em duas diferentes concentrações de aproximadamente 0,05 e 0,15 M, em DMSO - d_6 , sendo o sinal central do setpleto obtido para o DMSO - d_6 ajustado para 39,70ppm.⁷¹ Destes espectros foram obtidos os valores de $\delta^{13}\text{C=O}$ nas concentrações de aproximadamente 0,05 e 0,15 M, respectivamente para os compostos **I.1** (X = 4-H); **I.3** (X = 4-OCH₃) e **I.7** (X = 4-NO₂) e **II.1** (X = 4-H) e **II.3** (X = 4-OCH₃). O espectro do

composto **II.1** ($X = 4\text{-H}$) na concentração de 0,15 M, não foi obtido, pois o composto se mostrou insolúvel nessa concentração.

Os espectros obtidos na região do infravermelho (I.V.) para os compostos das séries I e II, foram obtidos em patilhas de KBr em um espectrômetro marca Bomem, modelo MB 100, operando em transformada de Fourier.

Para os compostos das séries I e II, os valores da posição da banda de absorção do grupo carbonila ($\nu_{\text{C=O}}$) em número de onda (cm^{-1}) na região do I.V. foram obtidos de forma sistemática em um espectrômetro FT-IR Nicolett Modelo Magna IR 550, em uma cela de NaCl, de caminho óptico de 0,5 mm, com resolução igual a 1, em solução de DMSO Uvasol, na concentração de aproximadamente 2×10^{-2} M.

A reprodutibilidade dos valores observados foi avaliada para o composto **I.1** ($X = 4\text{-H}$), para o qual foram obtidos espectros em triplicata, nas mesmas condições de registro. O valor da média dos valores observados de $\nu_{\text{C=O}}$ (cm^{-1}) foi considerado o valor verdadeiro e a precisão expressa pelo correspondente desvio padrão, sendo ($1684,20 \pm 0,09$).

Adicionalmente, o efeito da concentração sobre os valores de $\nu_{\text{C=O}}$ (cm^{-1}) foi avaliado para os compostos **I.1** ($X = 4\text{-H}$), **I.3** ($X = 4\text{-OCH}_3$) e **I.7** ($X = 4\text{-NO}_2$) da série I e compostos **II.1** ($X = 4\text{-H}$) e **II.3** ($X = 4\text{-OCH}_3$) da série II, sendo obtidos de forma sistemática em um espectrômetro FT-IR Nicolett Modelo Magna IR 550, em uma cela de NaCl, de caminho óptico de 0,5 mm, com resolução igual a 1, em solução de DMSO Uvasol, em duas concentrações de 1×10^{-2} e 4×10^{-2} M, respectivamente.

Os espectros de massas (EM) referentes aos compostos da série II foram realizados em um espectrômetro de massas marca Hitachi, modelo Himac CF 15D2, sob injeção direta.

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

Toda as medidas espectrofotométricas foram realizadas em um espectrofotômetro marca Hitachi, modelo U-2010, utilizando-se cubetas de quartzo com caminho óptico de 1,0 cm.

O ajuste de pH da solução tampão trizma pH = 7,40, μ = 0,1 M (ajustada pela adição de NaCl) foi feito em um pH-metro marca Micronal, modelo B275, utilizando-se eletrodos de vidro Ag/AgCl, KCl_(sat.), calibrados com solução tampão-tritisol, nos valores de pH = 3,00; de pH = 7,00 e de pH = 9,00.

Nas centrifugações realizadas foram utilizadas: uma centrífuga marca Hitachi, modelo Himac CF 15D2 e uma centrífuga marca Incibráz, modelo spin IV.

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

II.3.2. Planejamento da série de compostos

A seleção dos substituintes para a série de nove cloretos de 3-(dimetilamino)-propiofenonas-4-X-substituídas (sendo X = -H, -CH₃, -OCH₃, -OCH₂CH₃, -F, -Br, -NO₂, -CN e -OH) (série I, compostos **I.1** a **I.9**) bem como para a série de seis iodetos de 3-(trimetilamino)-propiofenonas-4-X-substituídas (sendo X = -H, -CH₃, -OCH₃, -OCH₂CH₃, -F e -Br) (série II, compostos **II.1** a **II.6**) está de acordo com o critério sugerido por Craig⁷³. Este sugere que para a série escolhida, as intercorrelações entre os parâmetros analisados sejam não significativas, ou seja, o valor do coeficiente de correlação (r) obtido nas correlações deve ser, idealmente, $\leq 0,3$. Outro critério a ser observado na seleção de substituintes se refere às faixas de variação tanto de cada parâmetro físico-químico analisado bem como do parâmetro biológico, devendo ser significativas.^{55, 16, 31}

II.3.3. Esquemas de preparação dos compostos

Foram preparados nove cloretos de 3-(dimetilamino)-propiofenonas-4-X-substituídas, com X = -H, -CH₃, -OCH₃, -OCH₂CH₃, -F, -Br, -NO₂, -CN e -OH (série I, compostos **I.1** a **I.9**) e seis das 3-(dimetilamino)-propiofenonas-4-X-sbstituídas, com X = -H, -CH₃, -OCH₃, -OCH₂CH₃, -F e -Br (série de bases livres intermediárias, compostos **1** a **6**), bem como seis

iodetos de 3-(trimetilamino)-propiofenonas-4-X-substituídas, com X = -H, -CH₃, -OCH₃, -OCH₂CH₃, -F e -Br (série II, compostos II.1 a II.6), de acordo com métodos triviais descritos na literatura,^{8, 47} conforme esquemas de preparação apresentados nas Figuras II.1 e II.2.

Os compostos da série I foram purificados por recristalização e, em seguida, foram identificados e caracterizados por meio dos espectros de RMN ¹H, de RMN ¹³C e na região do I.V. Os graus de pureza foram avaliados pelos respectivos valores do ponto de fusão (P.F.) e análises elementares (CHNCl).

As correspondentes bases livres intermediárias foram identificadas e caracterizadas por meio dos espectros de RMN ¹H. Para os compostos 5 (X = 4-F) e 6 (X = 4-Br) sólidos, os correspondentes grau de pureza foram avaliados pelos respectivos valores do ponto de fusão (P.F.).

Os compostos da série II foram purificados por recristalização e, em seguida, identificados e caracterizados por meio dos espectros de RMN ¹H, de RMN ¹³C e na região do I.V., bem como por EM. Os correspondentes graus de pureza foram avaliados pelas análises elementares (CHN).

Figura II.1: Esquema de preparação da série de cloretos de 3-(dimetilamino)-propiofenonas-4-X-substituídas (série I, compostos I.1 a I.9).

Figura II.2: Esquema de preparação das bases livres intermediárias que constituem a série de 3-(dimetilamino)-propiofenonas-4-X-substituídas (compostos 1 a 6), e dos correspondentes iodetos de 3-(trimetilamino)-propiofenonas-4-X-substituídas (série II, compostos II.1 a II.6).

II.3.4. Parâmetros físico-químicos e estruturais

II.3.4.1. Parâmetros lipofílicos

Para os compostos das séries I e II foram utilizados como parâmetro lipofílico os valores da constante hidrofóbica de grupo substituinte (π) de Hansch-Fujita retirados da literatura.⁴⁵ Adicionalmente, foram obtidos os valores do coeficiente de partição calculado ($\log P_{\text{calc}}$), pelo programa ClogP, versão 1.0.0. para Windows (1995), Biobyte, USA.⁵⁶

Como parâmetro lipofílico para os compostos da série I foram determinados os valores do coeficiente de partição aparente $\log P_{\text{app}}$ de cada composto da série, obtidos pelo método *shake-flask* (frasco agitado), utilizando-se 1-octanol, como fase orgânica e solução tampão trizma (pH=7,40 e $\mu=0,1$ M (ajustada pela adição de NaCl) como fase aquosa.^{16, 63, 31, 17} A partição foi realizada em condições de equilíbrio e avaliada na fase aquosa (tampão), por meio dos valores das absorvâncias final e inicial determinadas espectrofotometricamente, em um espectrofotômetro marca Hitachi, modelo U-2010.

II.3.4.2. Parâmetros eletrônicos

Como parâmetros eletrônicos para os compostos das séries I e II foram utilizados os valores das constantes de grupo substituinte tipo Hammett (σ_p , σ_p^+ , σ_p^- , σ_I e σ_R) e de Swain-Lupton (Σ e $\mathcal{R}$), retiradas da literatura.⁴⁵

Como parâmetro eletrônico experimental para os compostos das séries I e II foram utilizados os valores do deslocamento químico do carbono carbonílico ($\delta^{13}\text{C}=\text{O}$), retirados dos espectros de RMN ^{13}C obtidos em DMSO- d_6 na concentração de aproximadamente 0,1 M. O efeito da concentração no valor de $\delta^{13}\text{C}=\text{O}$, respectivamente para os compostos **I.1** (X = 4-H), **I.3** (X = 4-OCH₃) e **I.7** (X = 4-NO₂) da série I e para os compostos **II.1** (X = 4-H) e **II.3** (X = 4-OCH₃) da série II, foi avaliado, considerando-se a medida dos valores de $\delta^{13}\text{C}=\text{O}$ em três concentrações, de aproximadamente 0,05, 0,1 e 0,15 M.

Os valores da posição da banda de absorção do grupo carbonila ($\nu_{\text{C}=\text{O}}$) (cm^{-1}) na região do I.V. também foram utilizadas como parâmetro eletrônico experimental para os compostos das séries I e II. Estas foram obtidas de forma sistemática, utilizando uma cela de NaCl, de caminho óptico de 0,5 mm, em solução de DMSO Uvasol, na concentração de aproximadamente 2×10^{-2} M. O efeito de concentração no valor de $\nu_{\text{C}=\text{O}}$ (cm^{-1}), para os compostos **I.1** (X = 4-H), **I.3** (X = 4-OCH₃) e **I.7** (X = 4-NO₂) da série I e para os compostos **II.1** (X = 4-H) e **II.3** (X = 4-OCH₃) da série II, foi avaliado considerando-se a medida dos valores de $\nu_{\text{C}=\text{O}}$ (cm^{-1}) em três concentrações, a saber: 1×10^{-2} , 2×10^{-2} e 4×10^{-2} M.

II.3.4.3. Parâmetro relativo à polarizabilidade

Como parâmetro relativo à polarizabilidade dos grupos substituintes para os compostos das séries I e II, foram utilizados os valores de refratividade molar (MR_4) dos grupos substituintes retirados da literatura.⁴⁵ Nas equações de correlação obtidas para análise de QSAR os valores de MR_4 foram multiplicados por 0,1.

II.3.5. Parâmetro biológico

O parâmetro biológico considerado foi a citotoxicidade determinada para os nove cloretos de 3-(dimetilamino)-propiofenonas-4-X-substituídas, com X = -H, -CH₃, -OCH₃, -OCH₂CH₃, -F, -Br, -NO₂, -CN e -OH (série I, compostos **I.1** a **I.9**) bem como para os seis iodetos de 3-(trimetilamino)-propiofenonas-4-X-substituídas, com X = -H, -CH₃, -OCH₃, -OCH₂CH₃, -F e -Br (série II compostos **II.1** a **II.6**).

A citotoxicidade para cada composto das séries I e II foi determinada pelo método de incorporação do vermelho neutro em linhagem celular NCTC-clone L929 de tecido conectivo de camundongo.⁴⁹ A incorporação do corante nas células vivas foi avaliada espectrofotometricamente. E a citotoxicidade foi expressa pelo valor médio do índice de citotoxicidade 50%, IC₅₀, em micromolar, μM .⁶⁹ Para fins de correlação, a atividade biológica de cada composto foi expressa pela potência biológica sendo $\log(1/\text{IC}_{50})$ o valor de IC₅₀, expresso em μM e multiplicado por 0,0001.

Os experimentos de citotoxicidade para os compostos das séries I e II, foram realizados pela pesquisadora MSc Sizue Otta Rogero, do Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, São Paulo.

II.3.6. *Análise de regressão (QSAR)*

A abordagem tradicional de QSAR desenvolvida por Hansch e Fujita em 1964³⁹, foi utilizada para avaliar a(s) natureza(s) e contribuição (ções) relativa(s) dos parâmetros físico-químicos/estruturais responsáveis pela citotoxicidade determinada para cada um dos compostos das séries I e II.

A seguir, as séries I e II foram analisadas conjuntamente pela utilização da abordagem mista (Fujit-Ban-Free-Wilson),^{55, 16, 62, 63, 53} que considera a influência de parâmetros físico-químicos/estruturais, bem como a contribuição de determinada característica estrutural expressa por uma variável indicadora ($I_{[\text{N}(\text{Me})_3]^+}$) para a citotoxicidade.

As equações de correlação foram obtidas utilizando-se o programa BILIN, versão 1994. Em todas as equações de correlação *n* representa o número de compostos e os valores entre parênteses representam o intervalo de confiança dos coeficientes (95%). 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 foi fornecido gentilmente pelo Prof. Dr. Hugo Kubinyi.

III. Parte Experimental

III.1. Preparação dos Compostos

III.1.1. Preparação dos cloretos de 3-(dimetilamino)-propiofenonas-4-X-substituídas (série I, compostos I.1 a I.9)

III.1.1.1. Preparação do cloreto de 3-(dimetilamino)-propiofenona (I.1)

Procedeu-se de acordo com as indicações da literatura.⁸ A aparelhagem utilizada consiste de um balão de fundo redondo de 100 mL equipado com condensador para refluxo protegido com tubo de cloreto de cálcio, banho de óleo de silicone munido com termômetro e chapa de aquecimento com agitação magnética.

Após a montagem da aparelhagem, foram adicionados 12,01 g (0,10 mol) de acetofenona (previamente destilada na faixa de temperatura de 54-56 °C, em sistema apropriado equipado com coluna *Vigreux*, sob pressão reduzida de aproximadamente 3 mmHg, apresentando após a destilação grau de pureza maior que 99%, analisado por cromatografia gasosa (C.G.)), 17,5 mL de etanol tratado e seco, conforme indicações da literatura,⁶⁰ 8,05 g (0,10 mol) de cloreto de dimetilamônio, (previamente seco em dessecador sob vácuo, com P.F. de 170-173 °C) e 5,10 g (0,17 mol) de paraformaldeído (previamente seco em dessecador). Esta mistura foi aquecida sob agitação na temperatura de refluxo do etanol por 1 hora. Foram adicionados aproximadamente 0,1 mL de HCl concentrado com auxílio de pêra e pipeta. O aquecimento e a agitação foram cessados.

A mistura reacional foi transferida para um erlenmeyer de 125 mL e o balão que continha o meio reacional foi lavado com 5 mL de etanol. O erlenmeyer foi tapado e a mistura cristalizou à temperatura ambiente, formando um material sólido branco, que foi filtrado em funil com placa de vidro sinterizado. Este foi, a seguir lavado com acetona tratada, seca⁶⁰ e gelada. O material foi recristalizado de etanol/acetona, ambos tratados e secos⁶⁰. Foram obtidos 9,07 g de um material sólido branco e cristalino, que apresentou ponto de fusão de 155-156 °C. O rendimento obtido na preparação foi de 42,4%. Rendimento da literatura = 66%; P.F._{literatura} = 158 °C.³⁸

I.V.: (vide tabela III.3)

RMN ¹H: (vide tabela III.4)

RMN ¹³C: (vide tabela III.5)

Análise Elementar:

Calculado: %C = 61,82; %H = 7,54; %N = 6,55; %Cl = 16,59.

Experimental: %C = 61,54; %H = 7,55; %N = 6,56; %Cl = 16,69.

III.1.1.2. Preparação do cloreto de 3-(dimetilamino)-p-metil-propiofenona (I.2)

Procedendo-se analogamente ao descrito no item III.1.1.1, partiu-se de 13,42 g (0,10 mol) de *p*-metil-acetofenona (apresentando grau de pureza de aproximadamente de 95% analisado por cromatografia gasosa (C.G.)), de 17,5 mL de etanol tratado e seco,⁶⁰ de 8,05 g (0,10 mol) de cloreto de dimetilamônio, (previamente seco em dessecador sob vácuo, com P.F. de 170-173 °C) e de 5,10 g (0,17 mol) de paraformaldeído (previamente seco em dessecador). Esta mistura foi aquecida sob agitação na temperatura de refluxo do etanol por 1 hora. Foram adicionados aproximadamente 0,1 mL de HCl concentrado com auxílio de pêra e pipeta. O aquecimento e a agitação foram cessados.

O solvente juntamente com resíduos voláteis foram eliminados da mistura reacional por meio de um evaporador rotatório a pressão reduzida (aproximadamente 20 mmHg). O material sólido branco obtido foi lavado com acetona tratada, seca⁶⁰ e gelada em funil com placa de vidro sinterizado. O material foi recrystalizado em geladeira a partir de etanol/acetona, ambos tratados e secos.⁶⁰ Foram obtidos 7,55 g de um material sólido branco e cristalino, que apresentou ponto de fusão de 162-164 °C. O rendimento obtido na preparação foi de 33,1%.

I.V.: (vide tabela III.3)

RMN ¹H: (vide tabela III.4)

RMN ¹³C: (vide tabela III.5)

Análise Elementar:

Calculado: %C = 63,29; %H = 7,97; %N = 6,15; %Cl = 15,57.

Experimental: %C = 63,04; %H = 7,67; %N = 6,27; %Cl = 15,82.

III.1.1.3. Preparação do cloreto de 3-(dimetilamino)-p-metóxi-propiofenona (I.3)

Procedendo-se analogamente ao descrito no item III.1.1.1, partiu-se de 15,02 g (0,10 mol) de *p*-metóxi-acetofenona (previamente seca em dessecador sob vácuo, com P.F. de 36-37 °C), de 17,5 mL de etanol tratado e seco, ⁶⁰ de 8,05 g (0,10 mol) de cloreto de dimetilamônio, (previamente seco em dessecador sob vácuo, com P.F. de 170-173 °C) e de 5,10 g (0,17 mol) de paraformaldeído (previamente seco em dessecador). Esta mistura foi aquecida sob agitação na temperatura de refluxo do etanol por 1 hora. Foram adicionados aproximadamente 0,1 mL de HCl concentrado com auxílio de pêra e pipeta. O aquecimento e a agitação foram cessados.

O solvente juntamente com resíduos voláteis foram eliminados da mistura reacional por meio de um evaporador rotatório a pressão reduzida (aproximadamente 20 mmHg). O material sólido branco obtido foi lavado com acetona tratada, seca ⁶⁰ e gelada em funil com placa de vidro sinterizado. O material foi recristalizado de etanol/acetona, ambos tratados e secos ⁶⁰. Foram obtidos 17,05 g de um material sólido branco e cristalino, que apresentou ponto de fusão de 184-186 °C. O rendimento obtido na preparação foi de 70,0%. Rendimento da literatura = 14%, ²² P.F._{literatura} = 167-170 °C; ²² P.F._{literatura} = 182-184 °C. ⁴

I.V.: (vide tabela III.3)

RMN ¹H: (vide tabela III.4)

RMN ¹³C: (vide tabela III.5)

Análise Elementar:

Calculado: %C = 59,13; %H = 7,44; %N = 5,74; %Cl = 14,55.

Experimental: %C = 58,92; %H = 7,27; %N = 5,97; %Cl = 14,30.

III.1.1.4. Preparação do cloreto de 3-(dimetilamino)-p-etóxi-propiofenona (I.4)

Procedendo-se analogamente ao descrito no item III.1.1.1, partiu-se de 13,62 g (0,08 mol) de *p*-etóxi-acetofenona (previamente seca em dessecador sob vácuo, com P.F. de 33-35 °C), de 15,0 mL de etanol tratado e seco, ⁶⁰ de 6,44 g (0,08 mol) de cloreto de dimetilamônio, (previamente seco em dessecador sob vácuo, com P.F. de 170-173 °C) e de 4,20 g (0,14 mol) de paraformaldeído (previamente seco em dessecador). Esta mistura foi aquecida sob agitação na temperatura de refluxo do etanol por 1 hora. Foram adicionados

aproximadamente 0,1 mL de HCl concentrado com auxílio de pêra e pipeta. O aquecimento e a agitação foram cessados.

O solvente juntamente com resíduos voláteis foram eliminados da mistura reacional por meio de um evaporador rotatório a pressão reduzida (aproximadamente 20 mmHg). O material sólido branco obtido foi lavado com acetona tratada, seca ⁶⁰ e gelada em funil com placa de vidro sinterizado. O material foi recristalizado de etanol/acetona, ambos tratados e secos. ⁶⁰ Foram obtidos 5,09 g de um material sólido branco e cristalino, que apresentou ponto de fusão de 155-156 °C. O rendimento obtido na preparação foi de 24,7%. Composto não descrito na literatura.

I.V.: (vide tabela III.3)

RMN ¹H: (vide tabela III.4)

RMN ¹³C: (vide tabela III.5)

Análise Elementar:

Calculado: %C = 60,58; %H = 7,82; %N = 5,43; %Cl = 13,75.

Experimental: %C = 60,71; %H = 7,71; %N = 5,61; %Cl = 13,50.

III.1.1.5. Preparação do cloreto de 3-(dimetilamino)-p-fluoro-propiofenona (I.5)

Procedendo-se analogamente ao descrito no item III.1.1.1, partiu-se de 13,81g (0,10mol) de *p*-fluoro-acetofenona (apresentando grau de pureza de 100% analisado por cromatografia gasosa (C.G.)), de 17,5mL de etanol tratado e seco, ⁶⁰ de 8,05g (0,10mol) de cloreto de dimetilamônio, (previamente seco em dessecador sob vácuo, com P.F. de 170-173°C) e de 5,10g (0,17mol) de paraformaldeído (previamente seco em dessecador). Esta mistura foi aquecida sob agitação na temperatura de refluxo do etanol por 1 hora. Foram adicionados aproximadamente 0,1mL de HCl concentrado com auxílio de pêra e pipeta. O aquecimento e a agitação foram cessados.

O solvente foi eliminado da mistura reacional por meio de um evaporador rotatório à pressão reduzida (aproximadamente 20mmHg). Um material de aspecto oleoso e incolor foi obtido. As substâncias voláteis residuais foram eliminadas em bomba de vácuo a aproximadamente 1mmHg. O material oleoso e incolor cristalizou lentamente (aproximadamente 8 horas) à temperatura ambiente, resultando em um sólido branco, que

foi recristalizado de etanol/metanol, ambos tratados e isentos de umidade.⁶⁰ O material sólido branco e higroscópico foi lavado com etanol tratado, seco⁶⁰ e gelado. Foram obtidos 4,72 g de um material sólido branco, cristalino e pouco higroscópico, que apresentou ponto de fusão de 159-161 °C. O rendimento obtido na preparação foi de 20,4%.

I.V.: (vide tabela III.3)

RMN ¹H: (vide tabela III.4)

RMN ¹³C: (vide tabela III.5)

Análise Elementar:

Calculado: %C = 57,02; %H = 6,52; %N = 6,04; %Cl = 15,30.

Experimental: %C = 56,99; %H = 6,43; %N = 6,22; %Cl = 15,38.

III.1.1.6. Preparação do cloreto de 3-(dimetilamino)-p-bromo-propiofenona (I.6)

Procedendo-se analogamente ao descrito no item III.1.1.1, partiu-se de 19,90 g (0,10 mol) de *p*-bromo-acetofenona (previamente seca em dessecador sob vácuo, com P.F. de 47-49 °C), de 17,5 mL de etanol tratado e seco,⁶⁰ de 8,05 g (0,10 mol) de cloreto de dimetilamônio (previamente seco em dessecador sob vácuo, com P.F. de 170-173 °C) e de 5,10 g (0,17 mol) de paraformaldeído (previamente seco em dessecador). Esta mistura foi aquecida sob agitação na temperatura de refluxo do etanol por 1 hora. Foram adicionados aproximadamente 0,1 mL de HCl concentrado com auxílio de pêra e pipeta. O aquecimento e a agitação foram cessados.

A mistura reacional foi transferida para um erlenmeyer de 125 mL e o balão que continha o meio reacional foi lavado com 5 mL de etanol. O erlenmeyer foi tampado e a mistura cristalizou à temperatura ambiente um material sólido branco que foi filtrado em funil com placa de vidro sinterizado e lavado com acetona tratada, seca⁶⁰ e gelada. O material foi recristalizado de etanol/metanol, ambos tratados e secos⁶⁰ e, em seguida, foi lavado com etanol tratado, seco⁶⁰ e gelado. Foram obtidos 6,80 g de um material sólido branco e cristalino, que apresentou ponto de fusão de 201-203 °C. O rendimento obtido na preparação foi de 23,2%.

I.V.: (vide tabela III.3)

RMN ^1H : (vide tabela III.4)

RMN ^{13}C : (vide tabela III.5)

Análise Elementar:

Calculado: %C = 45,15; %H = 5,17; %N = 4,79; %Cl = 12,12.

Experimental: %C = 45,20; %H = 5,12; %N = 5,06; %Cl = 12,20.

III.1.1.7. Preparação do cloreto de 3-(dimetilamino)-p-nitro-propiofenona (I.7)

Procedendo-se analogamente ao descrito no item III.1.1.1, partiu-se de 16,51 g (0,10 mol) de *p*-nitro-acetofenona (previamente seca em dessecador sob vácuo, com P.F. de 80-82 °C), de 17,5 mL de etanol tratado e seco, conforme indicações da literatura,⁶⁰ de 8,05 g (0,10 mol) de cloreto de dimetilamônio, (previamente seco em dessecador sob vácuo, com P.F. de 170-173 °C) e de 5,10 g (0,17 mol) de paraformaldeído (previamente seco em dessecador). Esta mistura foi aquecida sob agitação na temperatura de refluxo do etanol por 1 hora. Foram adicionados aproximadamente 0,1 mL de HCl concentrado com auxílio de pêra e pipeta. O aquecimento e a agitação foram cessados.

A mistura reacional foi transferida para um erlenmeyer de 125 mL e o balão que continha o meio reacional foi lavado com 5 mL de etanol. O erlenmeyer foi tampado e a mistura cristalizou em geladeira um material sólido amarelado, que foi filtrado em funil com placa de vidro sinterizado e lavado com acetona tratada, seca⁶⁰ e gelada. O material foi recristalizado de etanol/acetona, ambos tratados e secos.⁶⁰ Foram obtidos 5,53 g de um material sólido amarelado e cristalino, que apresentou ponto de fusão de 187-189 °C. O rendimento obtido na preparação foi de 21,4%. Rendimento da literatura = 64%;⁸⁴ P.F.^{literatura} (corrigido) = 187,5 - 188,5 °C.⁸⁴

I.V.: (vide tabela III.3)

RMN ^1H : (vide tabela III.4)

RMN ^{13}C : (vide tabela III.5)

Análise Elementar:

Calculado: %C = 51,07; %H = 5,84; %N = 10,83; %Cl = 13,70.

Experimental: %C = 50,78; %H = 5,64; %N = 11,09; %Cl = 13,55.

III.1.1.8. Preparação do cloreto de 3-(dimetilamino)-p-ciano-propiofenona (I.8)

Procedendo-se analogamente ao descrito no item III.1.1.1, partiu-se de 14,52 g (0,10 mol) de *p*-ciano-acetofenona (previamente seca em dessecador sob vácuo, com P.F. de 55-57 °C), de 17,5 mL de etanol tratado e seco, ⁶⁰ de 8,05 g (0,10 mol) de cloreto de dimetilamônio (previamente seco em dessecador sob vácuo, com P.F. de 170-173 °C) e de 5,10 g (0,17 mol) de paraformaldeído (previamente seco em dessecador). Esta mistura foi aquecida sob agitação na temperatura de refluxo do etanol por 1 hora. Foram adicionados aproximadamente 0,1 mL de HCl concentrado com auxílio de pêra e pipeta. O aquecimento e a agitação foram cessados.

A mistura reacional teve o solvente eliminado juntamente com os resíduos voláteis em evaporador rotatório à pressão reduzida (aproximadamente 20 mmHg). O material sólido branco obtido foi lavado com acetona tratada, seca ⁶⁰ e gelada em funil com placa de vidro sinterizado. O material foi recristalizado em geladeira a partir de etanol/acetona, ambos tratados e secos. ⁶⁰ Foram obtidos 5,91 g de um material sólido branco e cristalino, que apresentou ponto de fusão de 165-167 °C. Rendimento obtido na preparação foi de 24,7%. Composto não descrito na literatura.

I.V.: (vide tabela III.3)

RMN ¹H: (vide tabela III.4)

RMN ¹³C: (vide tabela III.5)

Análise Elementar:

Calculado: %C = 60,38; %H = 6,33; %N = 11,73; %Cl = 14,85.

Experimental: %C = 60,61; %H = 6,40; %N = 11,52; %Cl = 14,70.

III.1.1.9. Preparação do cloreto de 3-(dimetilamino)-p-hidroxi-propiofenona (I.9)

Procedendo-se analogamente ao descrito no item III.1.1.1, partiu-se de 13,62 g (0,10 mol) de *p*-hidroxi-acetofenona (previamente seca em dessecador sob vácuo, com P.F. de 109-110 °C), de 17,5 mL de etanol tratado e seco, ⁶⁰ de 8,05 g (0,10 mol) de cloreto de dimetilamônio (previamente seco em dessecador sob vácuo, com P.F. de 170-173 °C) e de 5,10 g (0,17 mol) de paraformaldeído (previamente seco em dessecador). Esta mistura foi aquecida sob agitação na temperatura de refluxo do etanol por 1 hora. Foram adicionados aproximadamente 0,1 mL de HCl concentrado com auxílio de pêra e pipeta. O aquecimento e a agitação foram cessados.

A mistura reacional cristalizou no próprio balão de reação. O material sólido branco obtido foi lavado com acetona tratada, seca ⁶⁰ e gelada, em funil com placa de vidro sinterizado. O material foi recristalizado de etanol/acetona, ambos tratados e secos. ⁶⁰ Foram obtidos 9,62 g de um material sólido branco e cristalino, que apresentou ponto de fusão de 202-204 °C. O rendimento obtido na preparação foi de 41,9.

I.V.: (vide tabela III.3)

RMN ¹H: (vide tabela III.4)

RMN ¹³C: (vide tabela III.5)

Análise Elementar:

Calculado: %C = 57,82; %H = 7,02; %N = 6,10; %Cl = 15,43.

Experimental: %C = 57,73; %H = 6,99; %N = 6,08; %Cl = 15,30.

Tabela III.1: Valores das constantes físicas, das massas e dos rendimentos dos produtos obtidos nas preparações dos cloretos de 3-(dimetilamino)-propiofenonas-4-X-substituídas (série I, compostos I.1 a I.9).

Nº do Composto	-X	Fórmula Molecular	M.M. (g.mol ⁻¹)	P.F. (°C)	P.F. _{lit} ^(a) (°C)	Massa (g)	Rend. (%)
I.1	-H	C ₁₁ H ₁₆ ClNO	213,71	155-156	158	9,07	42,4
I.2	-CH ₃	C ₁₂ H ₁₈ ClNO	227,73	162-164	-	7,55	33,1
I.3	-OCH ₃	C ₁₂ H ₁₈ ClNO ₂	243,73	184-186	167-170/ 182-184	17,05	70,0
I.4	-OC ₂ H ₅	C ₁₃ H ₂₀ ClNO ₂	257,76	155-156	-	5,09	24,7
I.5	-F	C ₁₁ H ₁₅ ClNOF	231,70	159-161	-	4,72	20,4
I.6	-Br	C ₁₁ H ₁₅ BrClNO	292,60	201-203	-	6,80	20,3
I.7	-NO ₂	C ₁₁ H ₁₅ ClN ₂ O ₃	258,70	187-189	187,5-188,5	5,53	21,4
I.8	-CN	C ₁₂ H ₁₅ ClN ₂ O	238,72	165-167	-	5,91	24,7
I.9	-OH	C ₁₁ H ₁₆ ClNO ₂	229,70	202-204	-	9,62	41,9

^(a) Valores dos pontos de fusão encontrados na literatura.

Tabela III.2: Análises elementares calculadas e obtidas experimentalmente para os cloretos de 3-(dimetilamino)-propiofenonas-4-X-substituídas (série I, compostos I.1 a I.9).

Nº do Comp.	-X	Análise Elemental calculada				Análise Elemental experimental				$\Delta^{(a)}$			
		%C	%H	%N	%Cl	%C	%H	%N	%Cl	%C	%H	%N	%Cl
I.1	-H	61,82	7,54	6,55	16,59	61,54	7,55	6,56	16,69	0,28	0,01	0,01	0,10
I.2	-CH ₃	63,29	7,97	6,15	15,57	63,04	7,67	6,27	15,82	0,25	0,30	0,12	0,25
I.3	-OCH ₃	59,13	7,44	5,74	15,55	58,92	7,27	5,97	13,30	0,21	0,17	0,23	0,25
I.4	-OC ₂ H ₅	60,58	7,82	5,43	13,75	60,71	7,71	5,61	13,50	0,13	0,11	0,18	0,25
I.5	-F	57,02	6,52	6,04	15,30	56,99	6,43	6,22	15,38	0,03	0,09	0,18	0,08
I.6	-Br	45,15	5,17	4,79	12,12	45,20	5,12	5,06	12,20	0,05	0,05	0,27	0,08
I.7	-NO ₂	51,07	5,84	10,83	13,70	50,78	5,64	11,09	13,55	0,29	0,20	0,26	0,15
I.8	-CN	60,38	6,33	11,73	14,85	60,61	6,40	11,52	14,70	0,23	0,07	0,21	0,15
I.9	-OH	57,82	7,02	6,10	15,43	57,73	6,99	6,08	15,30	0,09	0,03	0,02	0,13

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

Tabela III.3: Valores observados das posições das bandas de absorção, em cm^{-1} , no espectro I.V., obtidos em pastilhas de KBr, para os cloretos de 3-(dimetilamino)-propiofenonas-4-X-substituídas (série I, compostos I.1 a I.9).

Nº do Composto	-X	$\nu_{\text{C=O}}$ (cm^{-1})	$\nu_{\text{C-CO-C}}$ e $\delta_{\text{C-CO-C}}$ (cm^{-1})	$\nu_{\text{N-H}}$ (bandas múltiplas) (cm^{-1})	δ_{fdp} C-Harom. (cm^{-1})	ν_{X} (cm^{-1})
I.1	-H	1678	1224	2648-2439	754	-
I.2	-CH ₃	1676	1237	2710-2446	830	2955-2905 ($\nu_{\text{C-Halif.}}$)
I.3	-OCH ₃	1669	1232	2698-2407	833	2963 ($\nu_{\text{C-Halif.}}$)
I.4	-OC ₂ H ₅	1670	1230	2666-2445	851	2983-2903 ($\nu_{\text{C-Halif.}}$)
I.5	-F	1685	1224	2681-2466	858	1154 ($\nu_{\text{C-Farom.}}$)
I.6	-Br	1684	1219	2638-2404	853	1068 ($\nu_{\text{C-Brarom.}}$)
I.7	-NO ₂	1701	1214	2678-2476	852	1528 ($\nu_{\text{asN=Oarom.}}$) 1330 ($\nu_{\text{sN=Oarom.}}$)
I.8	-CN	1688	1219	2625-2381	859	2227 ($\nu_{\text{CNarom.}}$)
I.9	-OH	1671	1229	2679-2439	861	3057 ($\nu_{\text{C-OHarom.}}$)

Tabela III.4: Valores dos deslocamentos químicos (δ) em *ppm*, relativos ao TMS, das multiplicidades e das constantes de acoplamento (*J*) em *Hz*, observados nos espectros de RMN ^1H ^(a), para os cloretos de 3-(dimetilamino)-propiofenonas-4-X-substituídas, (série I, compostos I.1 e I.9) utilizando-se o DMSO - d_6 ^(b) como solvente.

Nº do Composto	-X	δ (<i>ppm</i>), multiplicidade e <i>J</i> (<i>Hz</i>)
I.1	-H	10,83 (s, 1H, (+NH)); 8,04-8,01 (m, 2H, (Ar-H)); 7,72-7,55 (m, 3H, (Ar-H)); 3,65 (t, 2H, (CH ₂ N ⁺), <i>J</i> =7,50); 3,40 (t, 2H, (CH ₂ CO), <i>J</i> =7,50); 2,80 (s, 6H, (+N(CH ₃) ₂));
I.2 ^(c)	-CH ₃	10,83 (s, 1H, (+NH)); 7,92 (d, 2H, (Ar-H), <i>J</i> =8,10); 7,38 (d, 2H, (Ar-H), <i>J</i> =8,10); 3,61 (t, 2H, (CH ₂ N ⁺), <i>J</i> =7,50); 2,79 (s, 6H, (+N(CH ₃) ₂)); 2,40 (s, 3H, (CH ₃));
I.3 ^(c)	-OCH ₃	10,75 (s, 1H, (+NH)); 8,02-7,98 (m, 2H, (Ar-H)); 7,11-7,06 (m, 2H, (Ar-H)); 3,86 (s, 3H, (OCH ₃)); 3,57 (t, 2H, (CH ₂ N ⁺), <i>J</i> =7,50); 2,79 (s, 6H, (+N(CH ₃) ₂));
I.4 ^(c)	-OC ₂ H ₅	10,53 (s, 1H, (+NH)); 8,00-7,96 (m, 2H, (Ar-H)); 7,09-7,05 (m, 2H, (Ar-H)); 4,14 (q, 2H, (CH ₂ O), <i>J</i> =7,20); 3,55 (t, 2H, (CH ₂ N ⁺), <i>J</i> =7,20); 2,79 (s, 6H, (+N(CH ₃) ₂)); 1,36 (t, 3H, (CH ₂ CH ₃));
I.5	-F	10,83 (s, 1H, (+NH)); 8,13-8,09 (m, 2H, (Ar-H)); 7,44-7,38 (m, 2H, (Ar-H)); 3,64 (t, 2H, (CH ₂ N ⁺), <i>J</i> =7,50); 3,39 (t, 2H, (CH ₂ CO), <i>J</i> =7,50); 2,80 (s, 6H, (+N(CH ₃) ₂));
I.6 ^(c)	-Br	10,70 (s, 1H, (+NH)); 7,90 (d, 2H, (Ar-H), <i>J</i> =8,70); 7,80 (d, 2H, (Ar-H), <i>J</i> =8,70); 3,62 (t, 2H, (CH ₂ N ⁺), <i>J</i> =7,20); 2,80 (s, 6H, (+N(CH ₃) ₂));
I.7	-NO ₂	10,83 (s, 1H, (+NH)); 8,42-7,37 (m, 2H, (Ar-H)); 8,27-8,23 (m, 2H, (Ar-H)); 3,73 (t, 2H, (CH ₂ N ⁺), <i>J</i> =7,20); 3,42 (t, 2H, (CH ₂ CO), <i>J</i> =7,20); 2,81 (s, 6H, (+N(CH ₃) ₂));
I.8	-CN	10,82 (s, 1H, (+NH)); 8,19-8,15 (m, 2H, (Ar-H)); 8,09-8,05 (m, 2H, (Ar-H)); 3,69 (t, 2H, (CH ₂ N ⁺), <i>J</i> =7,50); 3,40 (t, 2H, (CH ₂ CO), <i>J</i> =7,50); 2,80 (s, 6H, (+N(CH ₃) ₂));
I.9	-OH	10,68 (s, 1H, (+NH)); 10,68 (s, 1H, (OH)); 7,92-7,87 (m, 2H, (Ar-H)); 6,95-6,91 (m, 2H, (Ar-H)); 3,53 (t, 2H, (CH ₂ N ⁺), <i>J</i> =7,20); 3,37 (t, 2H, (CH ₂ CO), <i>J</i> =7,20); 2,79 (s, 6H, (+N(CH ₃) ₂));

^(a) Registrados em um espectrômetro marca Varian, modelo, INOVA 300, operando em transformada de Fourier, em que a precisão nas medidas foi considerada como sendo igual ao erro sistemático de $\pm 0,01$ *ppm*.

^(b) DMSO - d_6 com 0,03% (v/v) de tetrametilsilano (TMS).

^(c) Compostos com o sinal (triplete) referente aos dois hidrogênios do grupo (CH₂)CO sobrepostos pelo sinal de água (3,35 *ppm*) dissolvida no DMSO - d_6 .

Tabela III.5: Valores dos deslocamentos químicos (δ) em *ppm* retirados dos espectros de RMN ^{13}C ^(a), relativos ao pico central do setpleto do DMSO - *d*₆ (ajustado para 39,70 *ppm*), observados em solução de DMSO - *d*₆ na concentração de aproximadamente 0,1 M, para os cloretos de 3-(dimetilamino)-propiofenonas-4-X-substituídas (série I, compostos I.1 a I.9).

Nº do Composto	-X	a	b	c	d	e	f	g	h	Substituintes (-X)
I.1	-H	33,33	51,94	42,38	196,95	136,11	129,01	128,22	133,92	-
I.2	-CH ₃	33,16	52,00	42,36	196,43	133,68	129,52	128,32	144,37	21,57
I.3	-OCH ₃	32,90	52,11	42,39	195,27	130,61	129,08	114,20	163,73	55,83
I.4	-OC ₂ H ₅	32,87	52,13	42,39	195,23	130,62	128,92	114,56	163,04	14,66 e 63,85
I.5	-F	33,33	51,92	42,43	195,58	132,91	131,31	116,07	165,51	-
I.6	-Br	33,40	51,86	42,45	196,22	135,15	130,27	132,11	128,05	-
I.7	-NO ₂	34,04	51,67	42,43	196,15	140,71	129,70	124,11	150,38	-
I.8	-CN	33,79	51,65	42,38	196,36	133,06	128,06	115,72	139,26	118,30
I.9	-OH	32,67	52,25	42,44	195,00	130,81	127,66	115,56	162,85	-

^(a) Registrados em um espectrômetro marca Varian, modelo, INOVA 300, operando em transformada de Fourier, em que a precisão nas medidas foi considerada como sendo igual ao erro sistemático de $\pm 0,01$ *ppm*.

III.1.2. Preparação das 3-(dimetilamino)-propiofenonas-4-X-substituídas (série de bases livres intermediárias, compostos 1 a 6)

III.1.2.1. Preparação da 3-(dimetilamino)-propiofenona (1)

Procedeu-se de acordo com as indicações da literatura.⁸ A aparelhagem utilizada consiste de um balão de fundo redondo de 50 mL equipado com condensador para refluxo com camisa de ar, termômetro com adaptador de teflon (com bulbo posicionado para emersão no meio reacional), cuba de vidro e chapa com agitação magnética.

Após a montagem da aparelhagem, foram adicionados 20 mL de solução de hidróxido de potássio (KOH) na concentração de 3 M e, a seguir, sob agitação a solução foi resfriada à temperatura de 0 °C, com banho de gelo e água. Com auxílio de um funil de vidro foram adicionados 3,85 g (18 mmol) do cloreto de 3-(dimetilamino)-propiofenona (preparado no item III.1.1.1). A agitação do meio reacional foi mantida por 1 hora à temperatura de 0 °C.

A mistura reacional foi transferida para um funil de separação de 60 mL,

observando-se a formação de duas fases. Em seguida, foram realizadas três extrações com alíquotas de 20 mL de éter etílico tratado.⁶⁰ A fase etérea foi seca com sulfato de magnésio anidro (MgSO₄) e filtrada. O éter foi evaporado em um evaporador rotatório à pressão de aproximadamente 20 mmHg. Traços de éter foram eliminados à pressão reduzida (1 mmHg). Foram obtidos como resíduo 2,00 g de um material oleoso e incolor. O rendimento bruto obtido na preparação foi de 62,7%.

RMN ¹H: (vide tabela III.7)

III.1.2.2. Preparação da 3-(dimetilamino)-p-metil-propiofenona (2)

Procedendo-se analogamente ao descrito no item III.1.2.1, a um balão de fundo redondo de 50 mL foram adicionados 20 mL de solução de hidróxido de potássio (KOH) com concentração de 3 M e, a seguir, sob agitação a solução foi resfriada à temperatura de 0 °C, com banho de gelo e água. Com auxílio de um funil de vidro foram adicionados 4,00 g (17 mmol) do cloreto de 3-(dimetilamino)-p-metil-propiofenona (preparado no item III.1.1.2). A agitação do meio reacional foi mantida por 1 hora à temperatura de 0 °C.

A mistura reacional foi transferida para um funil de separação de 60 mL observando-se a formação de duas fases. Em seguida, foram realizadas três extrações com alíquotas de 20 mL de éter etílico tratado.⁶⁰ A fase etérea foi seca com sulfato de magnésio anidro (MgSO₄) e filtrada. O éter foi evaporado em um evaporador rotatório à pressão de aproximadamente 20 mmHg. Traços de éter foram eliminados à pressão reduzida (1 mmHg). Foram obtidos como resíduo 2,80 g de um material oleoso e incolor. O rendimento bruto obtido na preparação foi de 86,1%.

RMN ¹H: (vide tabela III.7)

III.1.2.3. Preparação da 3-(dimetilamino)-p-metóxi-propiofenona (3)

Procedendo-se analogamente ao descrito no item III.1.2.1, a um balão de fundo redondo de 100 mL foram adicionados 45 mL de solução de hidróxido de potássio (KOH) com concentração de 3 M e, a seguir, sob agitação a solução foi resfriada à temperatura de 0 °C, com banho de gelo e água. Com auxílio de um funil de vidro foram adicionados 9,00 g (37 mmol) do cloreto de 3-(dimetilamino)-p-metóxi-propiofenona (preparado no item

III.1.1.3). A agitação do meio reacional foi mantida por 1 hora à temperatura de 0 °C.

A mistura reacional foi transferida para um funil de separação de 250 mL observando-se a formação de duas fases. Em seguida, foram realizadas três extrações com alíquotas de 30 mL de éter etílico tratado.⁶⁰ A fase etérea foi seca com sulfato de magnésio anidro (MgSO₄) e filtrada. O éter foi evaporado em um evaporador rotatório à pressão de aproximadamente 20 mmHg. Traços de éter foram eliminados à pressão reduzida (1 mmHg). Foram obtidos como resíduo 6,55 g de um material oleoso e incolor. O rendimento bruto obtido na preparação foi de 85,4%.

RMN ¹H: (vide tabela III.7)

III.1.2.4. Preparação da 3-(dimetilamino)-p-etóxi-propiofenona (4)

Procedendo-se analogamente ao descrito no item III.1.2.1, a um balão de fundo redondo de 50 mL foram adicionados 20 mL de solução de bicarbonato de sódio 5% (m/v) e, sob agitação a solução foi resfriada à temperatura de 0 °C, com banho de gelo e água. Com auxílio de um funil de vidro foram adicionados 1,60 g (6 mmol) do cloreto de 3-(dimetilamino)-p-etóxi-propiofenona (preparado no item III.1.1.4). A agitação do meio reacional foi mantida por 1 hora à temperatura de 0 °C.

A mistura reacional foi transferida para um funil de separação de 60 mL. Foram realizadas três extrações com porções de 20 mL de éter etílico tratado.⁶⁰ A fase etérea foi seca com sulfato de magnésio anidro (MgSO₄) e filtrada. O éter foi evaporado em um evaporador rotatório à pressão de aproximadamente 20 mmHg. Traços de éter foram eliminados à pressão reduzida (1 mmHg). Foi obtido como resíduo 1,00 g de um material oleoso e incolor. O rendimento bruto obtido na preparação foi de 75,2%.

RMN ¹H: (vide tabela III.7)

III.1.2.5. Preparação da 3-(dimetilamino)-p-fluoro-propiofenona (5)

Procedendo-se analogamente ao descrito no item III.1.2.1, a um balão de fundo redondo de 50 mL foram adicionados 20 mL de solução de bicarbonato de sódio 5% (m/v) e, sob agitação a solução foi resfriada à temperatura de 0 °C, com banho de gelo e água. Com auxílio de um funil de vidro foram adicionados 1,50 g (6 mmol) do cloreto de 3-

(dimetilamino)-*p*-fluoro-propiofenona (preparado no item III.1.1.5). A agitação do meio reacional foi mantida por 1 hora à temperatura de 0 °C.

A mistura reacional foi transferida para um funil de separação de 60 mL. Foram realizadas três extrações com porções de 20 mL de éter etílico tratado.⁶⁰ A fase etérea foi seca com sulfato de magnésio anidro (MgSO₄) e filtrada. O éter foi evaporado em um evaporador rotatório à pressão de aproximadamente 20 mmHg. Um material de aspecto oleoso e incolor foi obtido. Traços de éter foram eliminados à pressão reduzida (1 mmHg). O material oleoso e incolor cristalizou lentamente à temperatura ambiente obtendo-se 0,70 g de um sólido branco e cristalino, com ponto de fusão de 36-39 °C. O rendimento obtido na preparação foi de 59,8%.

RMN ¹H: (vide tabela III.7)

*III.1.2.6. Preparação da 3-(dimetilamino)-*p*-bromo-propiofenona (6)*

Procedendo-se analogamente ao descrito no item III.1.2.1, a um balão de fundo redondo de 50 mL foram adicionados 20 mL de solução de bicarbonato de sódio 5% (m/v) e, sob agitação a solução foi resfriada à temperatura de 0 °C, com banho de gelo e água. Com auxílio de um funil de vidro foram adicionados 1,90 g (6 mmol) do cloreto de 3-(dimetilamino)-*p*-bromo-propiofenona (preparado no item III.1.1.6). A agitação do meio reacional foi mantida por 1 hora à temperatura de 0 °C.

A mistura reacional foi transferida para um funil de separação de 60 mL. Foram realizadas três extrações com porções de 20 mL de éter etílico tratado.⁶⁰ A fase etérea foi seca com sulfato de magnésio anidro (MgSO₄) e filtrada. O éter foi evaporado em um evaporador rotatório à pressão de aproximadamente 20 mmHg. Traços de éter foram eliminados à pressão reduzida (1 mmHg). Foram obtidos 1,19 g de um material sólido branco e cristalino, que apresentou ponto de fusão de 65-67 °C. O rendimento obtido na preparação foi de 73,3%.

RMN ¹H: (vide tabela III.7)

Tabela III.6: Valores das constantes físicas, das massas e dos rendimentos dos produtos obtidos nas preparações das 3-(dimetilamino)-propiofenonas-4-X-substituídas, compostos **1** a **6**.

Nº do Composto	-X	Fórmula Molecular	M.M. (g.mol ⁻¹)	P.F. (°C)	Massa (g)	Rend. (%)
1	-H	C ₁₁ H ₁₅ NO	177,24	-	2,00	62,7
2	-CH₃	C ₁₂ H ₁₇ NO	191,27	-	2,80	86,1
3	-OCH₃	C ₁₂ H ₁₇ NO ₂	207,27	-	6,55	85,4
4	-OC₂H₅	C ₁₃ H ₁₉ NO ₂	221,30	-	1,00	75,2
5	-F	C ₁₁ H ₁₄ NOF	195,23	36-39	0,70	59,8
6	-Br	C ₁₁ H ₁₄ BrNO	256,14	65-67	1,19	73,3

Tabela III.7: Valores dos deslocamentos químicos (δ) em *ppm*, relativos ao TMS, das multiplicidades e das constantes de acoplamento (*J*) em *Hz*, observados nos espectros de RMN ¹H^(a), para as 3-(dimetilamino)-propiofenonas-4-X-substituídas, compostos **1** a **6**, utilizando-se CDCl₃ - *d*₁^(b) como solvente.

Nº do Composto	-X	δ (ppm), multiplicidade e <i>J</i> (Hz)
1	-H	7,99-7,95 (m, 2H, (Ar-H)); 7,58-7,42 (m, 3H, (Ar-H)); 3,15 (t, 2H, (CH ₂ N), <i>J</i> =7,35); 2,75 (t, 2H, (CH ₂ CO), <i>J</i> =7,35); 2,29 (s, 6H, (N(CH ₃) ₂));
2	-CH₃	7,89-7,85 (m, 2H, (Ar-H)); 7,27-7,24 (m, 2H, (Ar-H)); 3,13 (t, 2H, (CH ₂ N)); 2,74 (t, 2H, (CH ₂ CO), <i>J</i> =7,35); 2,40 (s, 3H, (CH ₃)); 2,28 (s, 6H, (N(CH ₃) ₂));
3	-OCH₃	7,97-7,91 (m, 2H, (Ar-H)); 6,95-6,90 (m, 2H, (Ar-H)); 3,85 (s, 3H, (OCH ₃)); 3,10 (t, 2H, (CH ₂ N), <i>J</i> =7,35); 2,73 (t, 2H, (CH ₂ CO), <i>J</i> =7,35); 2,28 (s, 6H, (N(CH ₃) ₂));
4	-OC₂H₅	7,96-7,91 (m, 2H, (Ar-H)); 6,94-6,89 (m, 2H, (Ar-H)); 4,09 (q, 2H, (CH ₂ CH ₃), <i>J</i> =6,90); 3,10 (t, 2H, (CH ₂ N), <i>J</i> =7,35); 2,74 (t, 2H, (CH ₂ CO), <i>J</i> =7,35); 2,29 (s, 6H, (N(CH ₃) ₂)); 1,44 (s, 3H, (CH ₂ CH ₃), <i>J</i> =6,90);
5	-F	8,03-7,96 (m, 2H, (Ar-H/F)); 7,17-7,09 (m, 2H, (Ar-H/F)); 3,13 (t, 2H, (CH ₂ N), <i>J</i> =7,50); 2,75 (t, 2H, (CH ₂ CO), <i>J</i> =7,50); 2,29 (s, 6H, (N(CH ₃) ₂));
6	-Br	7,85-7,81 (m, 2H, (Ar-H)); 7,63-7,59 (m, 2H, (Ar-H)); 3,11 (t, 2H, (CH ₂ N), <i>J</i> =7,30); 2,74 (t, 2H, (CH ₂ CO)); 2,28 (s, 6H, (N(CH ₃) ₂));

^(a) Registrados em um espectrômetro marca Varian, modelo, INOVA 300, operando em transformada de Fourier, em que a precisão nas medidas foi considerada como sendo igual ao erro sistemático de $\pm 0,01$ ppm.

^(b) CDCl₃ - *d*₁ com 0,03% (v/v) de tetrametilsilano (TMS).

III.1.3. Preparação dos iodetos de 3-(trimetilamino)-propiofenonas-4-X-substituídas (série II, compostos II.1 e II.6)

III.1.3.1. Preparação do iodeto de 3-(trimetilamino)-propiofenona (II.1)

Procedeu-se de acordo com as indicações da literatura.⁴⁷ A aparelhagem utilizada consiste de balão de fundo redondo de 100 mL equipado com condensador para refluxo protegido com tubo de cloreto de cálcio, funil de adição com equalizador de pressão e chapa com agitação magnética.

Ao balão reacional foram adicionados 1,06 g (6 mmol) de 3-(dimetilamino)-propiofenona (preparada como descrito no item III.1.2.1) e 30 mL de tetraidrofurano (THF) tratado e seco.⁶⁰ Sob agitação à temperatura ambiente foram adicionados lentamente 5,96 g (42 mmol) de iodeto de metila com auxílio do funil de adição com equalizador de pressão. A agitação permaneceu por 30 minutos.

Observou-se a formação de um sólido branco que foi separado da mistura reacional por filtração em funil com placa de vidro sinterizado. Este, foi a seguir lavado com porções de éter etílico, tratado e seco.⁶⁰ Foram obtidos 1,64 g de um material sólido branco, com ponto de fusão (P.F.) de 214-221 °C. O rendimento obtido na preparação foi de 85,9%. Rendimento da literatura = 39%;³⁸ P.F._{literatura} = 204-208 °C.³⁸

I.V.: (vide tabela III.10)

RMN ¹H: (vide tabela III.11)

RMN ¹³C: (vide tabela III.12)

Espectrometria de massas (vide tabela III.13)

Análise Elementar:

Calculado: %C = 45,16; %H = 5,68; %N = 4,38.

Experimental: %C = 45,15; %H = 5,48; %N = 4,41.

III.1.3.2. Preparação do iodeto de 3-(trimetilamino)-p-metil-propiofenona (II.2)

Procedendo-se analogamente ao descrito no item III.1.3.1, em um balão de 100 mL foram adicionados 1,40 g (7 mmol) de 3-(dimetilamino)-p-metil-propiofenona (preparada como descrito no item III.1.2.2) e 40 mL de tetraidrofurano (THF) tratado e seco.⁶⁰ Sob

agitação à temperatura ambiente foram adicionados lentamente 6,95 g (49 mmol) de iodeto de metila com auxílio do funil de adição com equalizador de pressão. A agitação permaneceu por 30 minutos.

Observou-se a formação de um sólido branco que foi separado da mistura reacional por filtração em funil com placa de vidro sinterizado e lavado com porções de éter etílico, tratado e seco.⁶⁰ O material sólido branco foi recristalizado de água/metanol.

Foram obtidos 0,91 g de um material sólido branco, com ponto de fusão (P.F.) de 194-215 °C. O rendimento obtido na preparação foi de 39,0%.

I.V.: (vide tabela III.10)

RMN ¹H: (vide tabela III.11)

RMN ¹³C: (vide tabela III.12)

Espectrometria de massas (vide tabela III.13)

Análise Elementar:

Calculado: %C = 46,86; %H = 6,05; %N = 4,20.

Experimental: %C = 47,10; %H = 6,08; %N = 4,03.

III.1.3.3. Preparação do iodeto de 3-(trimetilamino)-p-metóxi-propiofenona (II.3)

Procedendo-se analogamente ao descrito no item III.1.3.1, em um balão de 250 mL foram adicionados 3,00 g (14 mmol) de 3-(dimetilamino)-p-metóxi-propiofenona (preparada como descrito no item III.1.2.3) e 75 mL de tetraidrofurano (THF) tratado e seco.⁶⁰ Sob agitação à temperatura ambiente foram adicionados lentamente 13,91 g (98 mmol) de iodeto de metila com auxílio do funil de adição com equalizador de pressão. A agitação permaneceu por 30 minutos.

Observou-se a formação de um sólido branco que foi separado da mistura reacional por filtração em funil com placa de vidro sinterizado e lavado com porções de éter etílico, tratado e seco.⁶⁰ O material sólido branco foi recristalizado de água/metanol.

Foram obtidos 2,44 g de um material sólido branco, com ponto de fusão (P.F.) de 190-210 °C. O rendimento obtido na preparação foi de 49,9.

I.V.: (vide tabela III.10)

RMN ^1H : (vide tabela III.11)

RMN ^{13}C : (vide tabela III.12)

Espectrometria de massas (vide tabela III.13)

Análise Elementar:

Calculado: %C = 44,71; %H = 5,77; %N = 4,01.

Experimental: %C = 44,84; %H = 5,98; %N = 4,12.

*III.1.3.4. Preparação do iodeto de 3-(trimetilamino)-*p*-etóxi-propiofenona (II.4)*

Procedendo-se analogamente ao descrito no item III.1.3.1, em um balão de 50 mL foram adicionados 0,96 g (4 mmol) de 3-(dimetilamino)-*p*-etóxi-propiofenona (preparada como descrito no item III.1.2.4) e 20 mL de tetraidrofurano (THF) tratado e seco.⁶⁰ Sob agitação à temperatura ambiente foram adicionados lentamente 3,97 g (28 mmol) de iodeto de metila com auxílio do funil de adição com equalizador de pressão. A agitação permaneceu por 30 minutos.

Observou-se a formação de um sólido branco que foi separado da mistura reacional por filtração em funil com placa de vidro sinterizado e lavado com porções de éter etílico, tratado e seco.⁶⁰ O material sólido branco foi recristalizado em geladeira de água/metanol.

Foram obtidos 0,66 g de um material sólido branco, com ponto de fusão (P.F.) de 160-218 °C. O rendimento obtido na preparação foi de 45,5%. Rendimento da literatura = 74%.⁴

I.V.: (vide tabela III.10)

RMN ^1H : (vide tabela III.11)

RMN ^{13}C : (vide tabela III.12)

Espectrometria de massas (vide tabela III.13)

Análise Elementar:

Calculado: %C = 46,29; %H = 6,10; %N = 3,86.

Experimental: %C = 45,91; %H = 6,04; %N = 3,72.

III.1.3.5. Preparação do iodeto de 3-(trimetilamino)-p-fluoro-propiofenona (II.5)

Procedendo-se analogamente ao descrito no item III.1.3.1, em um balão de 50 mL foram adicionados 0,65 g (3 mmol) de 3-(dimetilamino)-p-fluoro-propiofenona (preparada como descrito no item III.1.2.5) e 15 mL de tetraidrofurano (THF) tratado e seco.⁶⁰ Sob agitação à temperatura ambiente foram adicionados lentamente 2,98 g (21 mmol) de iodeto de metila com auxílio do funil de adição com equalizador de pressão. A agitação permaneceu por 30 minutos.

Observou-se a formação de um sólido branco que foi separado da mistura reacional por filtração em funil com placa de vidro sinterizado e lavado com porções de éter etílico, tratado e seco.⁶⁰ O material sólido branco foi recristalizado em geladeira de água/metanol.

Foram obtidos 0,10 g de um material sólido branco, com ponto de fusão (P.F.) de 184-222 °C. O rendimento obtido na preparação foi de 9,9%. Composto não descrito na literatura.

I.V.: (vide tabela III.10)

RMN ¹H: (vide tabela III.11)

RMN ¹³C: (vide tabela III.12)

Espectrometria de massas (vide tabela III.13)

Análise Elementar:

Calculado: %C = 42,75; %H = 5,08; %N = 4,15.

Experimental: %C = 42,78; %H = 5,01; %N = 4,14.

III.1.3.6. Preparação do iodeto de 3-(trimetilamino)-p-bromo-propiofenona (II.6)

Procedendo-se analogamente ao descrito no item III.1.3.1, em um balão de 50 mL foram adicionados 1,17 g (4 mmol) de 3-(dimetilamino)-p-bromo-propiofenona (preparada como descrito no item III.1.2.6) e 20 mL de tetraidrofurano (THF) tratado e seco.⁶⁰ Sob agitação à temperatura ambiente foram adicionados lentamente 3,97 g (28 mmol) de iodeto de metila com auxílio do funil de adição com equalizador de pressão. A agitação permaneceu por 30 minutos.

Observou-se a formação de um sólido branco que foi separado da mistura reacional por filtração em funil com placa de vidro sinterizado e lavado com porções de éter etílico, tratado e seco.⁶⁰ O material sólido branco foi recristalizado em geladeira de água/metanol.

Foram obtidos 1,06 g de um material sólido branco, com ponto de fusão (P.F.) de 190-203 °C. O rendimento obtido na preparação foi de 66,7%. Composto não descrito na literatura.

I.V.: (vide tabela III.10)

RMN ¹H: (vide tabela III.11)

RMN ¹³C: (vide tabela III.12)

Espectrometria de massas (vide tabela III.13)

Análise Elementar:

Calculado: %C = 36,21; %H = 4,30; %N = 3,52.

Experimental: %C = 36,10; %H = 4,31; %N = 3,47.

Tabela III.8: Valores das constantes físicas, das massas e dos rendimentos dos produtos obtidos nas preparações dos iodetos de 3-(trimetilamino)-propiofenonas-4-X-substituídas (série II, compostos II.1 a II.6).

Nº do Composto	-X	Fórmula Molecular	P.M. (g.mol ⁻¹)	P.F. (°C)	P.F. _{lit} ^(a) (°C)	Massa (g)	Rend. (%)
II.1	-H	C ₁₂ H ₁₈ INO	319,18	214-221	204-208	1,64	85,9
II.2	-CH ₃	C ₁₃ H ₂₀ INO	333,21	194-215	-	0,91	39,0
II.3	-OCH ₃	C ₁₃ H ₂₀ INO ₂	349,21	190-220	-	2,44	49,9
II.4	-OC ₂ H ₅	C ₁₄ H ₂₂ INO ₂	363,23	160-218	-	0,66	45,5
II.5	-F	C ₁₂ H ₁₇ INOF	337,17	184-222	-	0,10	9,9
II.6	-Br	C ₁₂ H ₁₇ IBrNO	398,08	190-203	-	1,06	66,7

^(a) Os valores dos pontos de fusão encontrados na literatura.

Tabela III.9: Análises elementares calculadas e obtidas experimentalmente para os iodetos de 3-(trimetilamino)-propiofenonas-4-X-substituídas (série II, compostos II.1 a II.6).

N° do Comp.	-X	Análise Elemental calculada			Análise Elemental experimental			$\Delta^{(a)}$		
		%C	%H	%N	%C	%H	%N	%C	%H	%N
II.1	-H	45,16	5,68	4,38	45,15	5,48	4,41	0,01	0,20	0,03
II.2	-CH ₃	46,86	6,05	4,20	47,10	6,08	4,03	0,24	0,03	0,17
II.3	-OCH ₃	44,71	5,77	4,01	44,84	5,98	4,12	0,13	0,21	0,11
II.4	-OC ₂ H ₅	46,29	6,10	3,86	45,91	6,04	3,72	0,38	0,06	0,14
II.5	-F	42,75	5,08	4,15	42,78	5,01	4,14	0,03	0,07	0,01
II.6	-Br	36,21	4,30	3,52	36,10	4,31	3,47	0,11	0,01	0,05

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

Tabela III.10: Valores observados das posições das bandas de absorção, em cm⁻¹, no espectro I.V. obtidos em pastilhas de KBr, para os iodetos de 3-(trimetilamino)-propiofenonas-4-X-substituídas (série II, compostos II.1 a II.6).

N° do Composto	-X	$\nu_{C=O}$ (cm ⁻¹)	ν_{C-CO-C} e δ_{C-CO-C} (cm ⁻¹)	δ_{fdp} C-Harom. (cm ⁻¹)	ν_X (cm ⁻¹)
II.1	-H	1678	1217	757	-
II.2	-CH ₃	1674	1220	829	2982-2922 ($\nu_{C-Halif.}$)
II.3	-OCH ₃	1669	1219	836	2982-2930 ($\nu_{C-Halif.}$)
II.4	-OC ₂ H ₅	1672	1216	842	2981-2881 ($\nu_{C-Halif.}$)
II.5	-F	1680	1213	860	1163 ($\nu_{C-Farom.}$)
II.6	-Br	1682	1212	837	1072 ($\nu_{C-Brarom.}$)

Tabela III.11: Valores dos deslocamentos químicos (δ) em *ppm*, relativos ao TMS, das multiplicidades e das constantes de acoplamento (*J*) em *Hz*, observados nos espectros de RMN $^1\text{H}^{(a)}$, para os iodetos de 3-(trimetilamino)-propiofenonas-4-X-substituídas (série II, compostos II.1 a II.6), utilizando-se o DMSO - $d_6^{(b)}$ como solvente.

Nº do Composto	-X	δ (ppm), multiplicidade e <i>J</i> (Hz)
II.1	-H	8,09-8,06 (m, 2H, (Ar-H)); 7,74-7,56 (m, 3H, (Ar-H)); 3,71 (s, 4H, (CH ₂ CH ₂)); 3,15 (s, 9H, (+N(CH ₃) ₃));
II.2	-CH ₃	7,98 (d, 2H, (Ar-H), <i>J</i> =7,95); 7,39 (d, 2H, (Ar-H), <i>J</i> =7,95); 3,72-3,64 (m, 4H, (CH ₂ CH ₂)); 3,15 (s, 9H, (+N(CH ₃) ₃)); 2,41 (s, 3H, (CH ₃));
II.3	-OCH ₃	8,08-8,03 (m, 2H, (Ar-H)); 7,12-7,07 (m, 2H, (Ar-H)); 3,87 (s, 3H, (OCH ₃)); 3,73-3,60 (m, 4H, (CH ₂ CH ₂)); 3,15 (s, 9H, (+N(CH ₃) ₃));
II.4	-OC ₂ H ₅	8,03 (d, 2H, (Ar-H), <i>J</i> = 8,70); 7,08 (d, 2H, (Ar-H), <i>J</i> = 8,70); 4,15 (q, 2H, (CH ₂ O), <i>J</i> =7,10); 3,65 (m, 4H, (CH ₂ CH ₂)); 3,13 (s, 9H, (+N(CH ₃) ₃)); 1,36 (t, 3H, (CH ₂ CH ₃), <i>J</i> = 7,10);
II.5	-F	8,18-8,13 (m, 2H, (Ar-H)); 7,46-7,39 (m, 2H, (Ar-H)); 3,69 (s, 4H, (CH ₂ CH ₂)); 3,13 (s, 9H, (+N(CH ₃) ₃));
II.6	-Br	8,01-7,98 (m, 2H, (Ar-H)); 7,83-7,80 (m, 2H, (Ar-H)); 3,68 (s, 4H, (CH ₂ CH ₂)); 3,13 (s, 9H, (+N(CH ₃) ₃));

^(a) Registrados em um espectrômetro marca Varian, modelo, INOVA 300, operando em transformada de Fourier, em que a precisão nas medidas foi considerada como sendo igual ao erro sistemático de $\pm 0,01$ *ppm*.

^(b) DMSO - d_6 com 0,03% (v/v) de tetrametilsilano (TMS).

Tabela III.12: Valores dos deslocamentos químicos (δ) em *ppm* retirados dos espectros de RMN $^{13}\text{C}^{(a)}$, relativos ao pico central do setpleto do DMSO - d_6 (ajustado para 39,70 *ppm*), observados em solução de DMSO - d_6 na concentração de aproximadamente 0,1 M, para os iodetos de 3-(trimetilamino)-propiofenonas-4-X-substituídas (série II, compostos **II.1** a **II.6**).

Nº do Composto	-X	a	b	c	d	e	f	g	h	Substituintes (-X)
II.1	-H	32,43	61,08	52,82	196,46	136,11	128,96	128,36	133,99	-
II.2	-CH₃	32,26	61,14	52,80	195,92	133,67	129,46	128,46	144,45	21,39
II.3	-OCH₃	31,97	61,22	52,79	194,74	130,73	129,07	114,11	163,75	55,88
II.4	-OC₂H₅	31,93	61,22	52,78	194,69	130,74	128,91	114,47	163,05	14,64 e 31,93
II.5	-F	32,45	60,98	52,80	195,04	132,89	131,40	115,96	165,50	-
II.6	-Br	32,53	60,92	52,81	195,69	135,10	131,98	130,34	128,06	-

^(a) Registrados em um espectrômetro marca Varian, modelo, INOVA 300, operando em transformada de Fourier, em que a precisão nas medidas foi considerada como sendo igual ao erro sistemático de $\pm 0,01$ *ppm*.

Tabela III.13: Valores de razão massa/carga (*m/z*) e abundância relativa (%) e dos fragmentos positivos obtidos por espectrometria de massas 71 em injeção direta, para os iodetos de 3-(trimetilamino)-propiofenonas-4-X-substituídas (série II, compostos **II.1** a **II.6**).

Nº do Composto	-X	razão massa/carga (<i>m/z</i>) e intensidade relativa (%)
II.1	-H	<i>m/z</i> 192, 0,15% ([C ₆ H ₅ COCH ₂ CH ₂ N(CH ₃) ₃] ⁺ , íon molecular); <i>m/z</i> 128, 49,98% ([HI] ⁺); <i>m/z</i> 105, 100,00% ([C ₆ H ₅ CO] ⁺); <i>m/z</i> 77, 96,51% ([C ₆ H ₅] ⁺);
II.2	-CH₃	<i>m/z</i> 206, 0,02% ([CH ₃ C ₆ H ₅ COCH ₂ CH ₂ N(CH ₃) ₃] ⁺ , íon molecular); <i>m/z</i> 128, 53,07% ([HI] ⁺); <i>m/z</i> 119, 100,00% ([CH ₃ C ₆ H ₅ CO] ⁺); <i>m/z</i> 91, 65,15% ([CH ₃ C ₆ H ₅] ⁺);
II.3	-OCH₃	<i>m/z</i> 222, 0,03% ([CH ₃ OC ₆ H ₅ COCH ₂ CH ₂ N(CH ₃) ₃] ⁺ , íon molecular); <i>m/z</i> 135, 100,00% ([CH ₃ OC ₆ H ₅ CO] ⁺); <i>m/z</i> 128, 10,62% ([HI] ⁺); <i>m/z</i> 107, 16,14% ([CH ₃ OC ₆ H ₅] ⁺);
II.4	-OC₂H₅	<i>m/z</i> 236,33, 0,02% ([H ₅ C ₂ C ₆ H ₅ COCH ₂ CH ₂ N(CH ₃) ₃] ⁺ , íon molecular); <i>m/z</i> 128, 63,31% ([HI] ⁺); <i>m/z</i> 149, 88,27% ([H ₅ C ₂ C ₆ H ₅ CO] ⁺); <i>m/z</i> 121, 100,00% ([H ₅ C ₂ C ₆ H ₅] ⁺);
II.5	-F	<i>m/z</i> 210, 0,02% ([FC ₆ H ₅ COCH ₂ CH ₂ N(CH ₃) ₃] ⁺ , íon molecular); <i>m/z</i> 128, 65,89% ([HI] ⁺); <i>m/z</i> 123, 100,00% ([FCH ₃ C ₆ H ₅ CO] ⁺); <i>m/z</i> 95, 72,95% ([FCH ₃ C ₆ H ₅] ⁺);
II.6	-Br	<i>m/z</i> 271, 0,04% ([BrC ₆ H ₅ COCH ₂ CH ₂ N(CH ₃) ₃] ⁺ , íon molecular); <i>m/z</i> 183, 100,00% ([CH ₃ CH ₂ N(CH ₃) ₃] ⁺); <i>m/z</i> 128, 66,85% ([HI] ⁺);

III.2. Obtenção de parâmetros lipofílicos

III.2.1. Valores de constante hidrofóbica de substituintes

Para os compostos das séries I e II foram utilizados como parâmetro lipofílico os valores da constante hidrofóbica de grupo substituinte (π) de Hansch-Fujita, retirados da literatura ⁴⁵ e, apresentados na tabela III.14.

Tabela III.14: Valores de constante hidrofóbica de grupo substituinte (π) de Hansch-Fujita, retirados da literatura. ⁴⁵

Grupo substituinte	π
-H	0,00
-CH ₃	0,56
-OCH ₃	-0,02
-OCH ₂ CH ₃	0,38
-F	0,14
-Br	0,86
-NO ₂	-0,28
-CN	-0,57
-OH	-0,67

III.2.2. Obtenção do coeficiente de partição por cálculo, $\log P_{\text{calc}}$

Para cada composto das séries I e II a lipofilicidade da molécula toda foi avaliada por meio dos valores de coeficiente de partição calculados ($\log P_{\text{calc}}$), obtidos pelo programa CLOGP, ⁵⁶ versão 1.0.0. para Windows (1995), Biobyte, USA.

Os valores de $\log P_{\text{calc}}$ obtidos referem-se à partição do composto no sistema 1-octanol/água e não incluem a contribuição de fragmentos contendo grupos iônicos/ionizáveis. ⁵⁶ Os valores obtidos são apresentados na tabela III.15.

Tabela III.15: Valores do coeficiente de partição no sistema 1-octanol/água obtidos por cálculo ($\log P_{\text{calc}}$), utilizando-se o programa CLOGP,⁵⁶ versão 1.0.0. para Windows (1995), BioByte, USA, para os compostos das séries I e II.

-R	série I		série II	
	Composto	$\log P_{\text{calc}}$	Composto	$\log P_{\text{calc}}$
-H	I.1	1,625	II.1	4,031
-CH ₃	I.2	2,124	II.2	4,530
-OCH ₃	I.3	1,845	II.3	4,251
-OCH ₂ CH ₃	I.4	2,374	II.4	4,780
-F	I.5	1,844	II.5	4,250
-Br	I.6	2,564	II.6	4,970
-NO ₂	I.7	1,530		
-CN	I.8	1,234		
-OH	I.9	1,499		

III.2.3. *Determinação do coeficiente de partição aparente, $\log P_{\text{app}}$, pelo método do shake-flask (frasco agitado), no sistema 1-octanol/água (tampão trizma pH = 7,40 e μ = 0,1 M (ajustada com adição de NaCl)), para os cloretos de 3-(dimetilamino)-propiofenonas-4-X-substituídas (série I, compostos I.1 a I.9).*¹⁶

Para os cloretos de 3-(dimetilamino)-propiofenonas-4-X-substituídas (série I, compostos I.1 a I.9), a lipofilicidade de cada composto foi avaliada por meio do seu valor de coeficiente de partição aparente, $\log P_{\text{app}}$, determinado em sistema 1-octanol/tampão trizma (pH = 7,40 e força iônica (μ) = 0,1 M (ajustada pela adição de NaCl)),^{16, 62, 31, 63, 17} conforme descrito a seguir.

III.2.3.1. Planejamento do experimento

III.2.3.1.1. *Preparação da solução tampão trizma, pH = 7,40 e μ = 0,1 M (ajustada pela adição de NaCl)*

Procedendo-se de acordo com as indicações da literatura,⁶¹ preparou-se 1,00 litro

de solução tampão trizma $\text{pH} = 7,40$ e $\mu = 0,1 \text{ M}$ (ajustada pela adição de NaCl), em sala com temperatura ajustada e mantida constante a $(23 \pm 1) ^\circ\text{C}$.

Em um béquer de 1000 mL foram adicionados com provetas respectivamente de 250 mL, de 500 mL, de 100 mL e de 250 mL os seguintes volumes: 100 mL de solução 0,50 M de base trizma (*tris*(hidroximetil)aminoetano - previamente seca em dessecador); 427 mL de solução de HCl 0,10 M; 57,3 mL de solução de NaCl 1,00 M; e, 200 mL de água bidestilada-fervida. A seguir, o pH da solução foi ajustado para 7,40 adicionando-se, sob agitação, realizada por agitador magnético, alíquotas de NaOH 1,0 M e/ou HCl 1,0 M. As leituras dos valores de pH foram obtidas em um pH-metro, com temperatura ajustada e mantida constante para $23 ^\circ\text{C}$, calibrado com soluções tampão-titrisol com valores de pH respectivamente: 3,00; 7,00 e 9,00. A solução tampão foi transferida para um balão volumétrico de 1,00 L, e o volume foi completado até o menisco. A solução tampão teve o pH medido, permanecendo no valor de 7,40 unidades. Toda a água bidestilada utilizada no preparo do tampão foi previamente fervida.

III.2.3.1.2. Pré-saturação mútua

Os procedimentos experimentais foram realizados em duplicata, procedendo-se de acordo com as indicações de Dearden¹⁷ e Amaral.^{62, 31}

Em uma sala equipada com ar condicionado e com a temperatura ajustada e mantida constante a $(23 \pm 1) ^\circ\text{C}$, foram adicionados a um erlenmeyer de 500 mL, 200 mL de 1-octanol e, 200 mL de solução tampão trizma ($\text{pH} = 7,40$ e $\mu = 0,1 \text{ M}$ (ajustada pela adição de NaCl), preparada como descrito no item III.2.3.1.1). Em seguida, o erlenmeyer foi termostatizado em banho de água (ajustado e mantido constante à $(23 \pm 1) ^\circ\text{C}$), iniciando-se com auxílio de um agitador magnético a agitação da mistura heterogênea (1-octanol/tampão), durante um período de oito horas. Ao término da agitação, o erlenmeyer de 500 mL foi deixado em repouso por 1 hora, para decantação do 1-octanol. A seguir, as duas fases, mutuamente saturadas, foram centrifugadas em centrífuga refrigerada tendo a temperatura ajustada e mantida constante a $(23 \pm 1) ^\circ\text{C}$, mantendo-se uma rotação de 4000 rpm por um período de 30 minutos. Este procedimento foi realizado em duplicata, obtendo-se duas soluções de 1-octanol saturadas com tampão, denominadas de *1-octanol-pst A* e *1-*

octanol-pst B, e que resultaram nas respectivas soluções tampão saturadas com 1-octanol, denominadas de *tampão-pso A* e *tampão-pso B*.

III.2.3.1.3. Escolha do comprimento de onda (λ) de absorção máxima e determinação do valor de absortividade específica (a) para cada um dos cloretos de 3-(dimetilamino)-propiofenonas-4-X-substituídas (série I, compostos I.1 a I.9)

A seleção do comprimento de onda (λ) de absorção máxima para cada um dos cloretos de 3-(dimetilamino)-propiofenonas-4-X-substituídas (série I, compostos I.1 a I.9) foi feita preparando-se uma solução para cada composto da série em *tampão-pso* (item III.2.3.1.2), sendo diluída até apresentar absorvância entre 0,5 e 0,8. Foram utilizadas celas de quartzo de caminho óptico de 1,0 cm. O espectro foi varrido na faixa entre 400 e 200 nm.

A absortividade específica (a) foi determinada para cada um dos cloretos de 3-(dimetilamino)-propiofenonas-4-X-substituídas (série I, compostos I.1 a I.9). Esta determinação foi feita preparando-se soluções de cada composto em água bidestilada na concentração de 1,0 mg/mL. Destas soluções foram tomadas sucessivamente alíquotas de 5 μ L e adicionadas a uma cubeta de quartzo de caminho óptico de 1,0 cm contendo 2,0 mL de *tampão-pso* (item III.2.3.1.2). As leituras de absorvância foram feitas nos valores de comprimento de onda λ , previamente escolhidos para cada composto. Foi utilizada como branco *tampão-pso* (item III.2.3.1.2), colocado em uma cubeta de quartzo de caminho óptico 1,0 cm. A validade e aplicação da lei de Lambert-Beer foram verificadas e a seguir, utilizando-se o programa Excel 97, calculou-se por uma regressão linear o valor da absortividade específica (a) para cada composto da série.

Estão apresentados na tabela III.16 os valores dos comprimentos de onda (λ) de absorção máxima em nm e os valores das absortividades específicas (a) ($\text{cm}^{-1}\text{mg}^{-1}\text{mL}$) obtidos respectivamente para cada composto da série I.

Tabela III.16: Valores dos comprimentos de onda (λ) (nm) de absorção máxima e das absorptividades específicas (a) ($\text{cm}^{-1}\text{mg}^{-1}\text{mL}$), em *tampão-pso*, obtidos para os compostos da série de cloretos de 3-(dimetilamino)-propiofenonas-4-X-substituídas (série I, compostos I.1 a I.9).

Número do Composto	-X	$\lambda(\text{nm})$	$a (\text{cm}^{-1}\text{mg}^{-1}\text{mL})$
I.1	-H	245,8	65,476
I.2	-CH ₃	256,5	50,289
I.3	-OCH ₃	280,5	66,281
I.4	-OC ₂ H ₅	281,5	64,338
I.5	-F	245,0	0,126
I.6	-Br	260,0	62,087
I.7	-NO ₂	266,0	58,814
I.8	-CN	247,5	102,950
I.9	-OH	280,5	53,164

III.2.4. Experimentos realizados

III.2.4.1. Determinação do coeficiente de partição aparente, $\log P_{app}$, do cloreto de 3-(dimetilamino)-propiofenona (I.1)

Procedeu-se de acordo com as indicações da literatura,^{16, 62, 63, 31, 17, 57, 65} realizando-se os experimentos em duplicata (com exceção do experimento descrito no item III.2.4.1 que foi realizado em quadruplicata) com o objetivo de verificar suas reprodutividades, garantindo a precisão dos valores determinados de $\log P_{app}$.

Preparou-se inicialmente uma solução do composto na concentração de 1,0 mg/mL em água bidestilada (*solução A*). A partir da *solução A*, foram preparadas por diluição nas soluções *tampão-pso A* e *tampão-pso B*, (item III.2.3.1.2) quatro outras soluções, respectivamente: B_1 , B_2 , B_3 e B_4 .

As soluções B_1 e B_2 foram preparadas pela adição de 27 μL da *solução A* em 2,0 mL de *tampão-pso A* e em 2,0 mL de *tampão-pso B*, respectivamente, obtendo-se assim

soluções do composto com concentração 13,5 µg/mL.

As soluções B_3 e B_4 foram preparadas pela adição de 28 µL da *solução A* em 2,0 mL de *tampão-pso A* e em 2,0 mL de *tampão-pso B*, respectivamente, obtendo-se assim soluções do composto com concentração 14 µg/mL.

A seguir, alíquotas de aproximadamente 1 mL, respectivamente das soluções B_1 , B_2 , B_3 e B_4 , foram transferidas para quatro cubetas de quartzo de caminho óptico 1,0 cm. As absorvâncias das soluções foram lidas e consideradas como absorvâncias iniciais (A_i), respectivamente: $A_{i1} = 0,929$, $A_{i2} = 0,930$, $A_{i3} = 0,860$, $A_{i4} = 0,863$. Todas as leituras foram feitas no comprimento de onda de $\lambda = 245,8$ nm, utilizando-se solução *tampão-pso* (item III.2.3.1.2) como solução de absorvância igual a zero.

Em paralelo, foram preparados quatro tubos de vidro transferindo-se respectivamente: 1,0 mL da solução B_1 , 1,0 mL da solução B_2 , 1,0 mL da solução B_3 e 1,0 mL da solução B_4 . A cada um dos tubos contendo as soluções B_1 e B_3 foram adicionados 4,0 mL de *1-octanol-pst A* (item III.2.3.1.2) e cada um dos tubos contendo as soluções B_2 e B_4 foram adicionados 4,0 mL de *1-octanol-pst B* (item III.2.3.1.2).

A seguir, estes quatro tubos foram mantidos, por um período de 60 minutos, sob agitação magnética suave e constante, em um banho termostatzado, mantendo-se a temperatura igual a (23 ± 1) °C. Após este período de partição esperou-se a mistura heterogênea decantar (cerca de dez minutos). Com auxílio de uma pipeta, quatro alíquotas de aproximadamente 1 mL da fase aquosa (inferior) foram transferidas para tubos de centrifugação. Estas alíquotas foram centrifugadas por um período de tempo de 5 minutos em uma centrífuga refrigerada, com temperatura ajustada para 23 °C e a 1500 rpm. Após esta etapa de centrifugação, quatro alíquotas de aproximadamente 1 mL foram transferidas para cubetas de quartzo efetuando-se, a seguir, as leituras de absorvância. Estas leituras foram consideradas absorvâncias finais (A_f), respectivamente: $A_{f1} = 0,332$; $A_{f2} = 0,303$; $A_{f3} = 0,350$ e $A_{f4} = 0,335$.

A estabilidade do composto em tampão trizma (pH = 7,40 e $\mu = 0,1$ M (ajustada pela adição de NaCl)), foi verificada comparando-se os valores de A_i , lidos no início ($t = 0$) e no final do experimento ($t = 60$ minutos). No período de 60 minutos, constatou-se decomposição de ~3%.

A partir dos valores obtidos calcularam-se os valores de $\log P_{app}$, por meio da equação III.1,

$$P = [(A_i - A_f)/(A_f)] \times [(V_{aq})/(V_{oct})] \quad \text{equação III.1}$$

Em que: P é a partição do composto;

A_i é a absorvância inicial;

A_f é a absorvância final;

V_{aq} é o volume da fase aquosa (tampão trizma (pH = 7,40 e $\mu = 0,1M$) ajustada pela adição de NaCl);

V_{oct} é o volume da fase orgânica (1-octanol);

Os valores obtidos foram $(\log P)_1 = -0,348$; $(\log P)_2 = -0,286$; $(\log P)_3 = -0,432$ e $(\log P)_4 = -0,404$. Em seguida, foram calculados o valor médio e seu correspondente desvio padrão, obtendo-se $\log P_{app} = -0,38 \pm 0,07$.

A relação de volumes (R_v) (*tampão-pso / 1-octanol-pst*) manteve-se adequada sendo igual a 0,25 e $(P/R_v) \cong 2$.

III.2.4.2. Determinação do coeficiente de partição aparente, $\log P_{app}$, do cloreto de 3-(dimetilamino)-p-metil-propiofenona (I.2)

Procedeu-se analogamente ao descrito no item III.2.4.1.

A partir da solução do composto (*solução A*) preparada na concentração de 1,0 mg/mL em água bidestilada, foram obtidas as soluções B_1 e B_2 , na concentração 11 $\mu\text{g/mL}$. As soluções B_1 e B_2 foram obtidas pela adição de 22 μL da *solução A* em 2,0 mL de *tampão-pso A* e em 2,0 mL de *tampão-pso B*, respectivamente.

As soluções B_1 e B_2 apresentaram absorvâncias iniciais (A_i), respectivamente: $A_{i1} = 0,749$ e $A_{i2} = 0,759$, sendo as duas leituras realizadas no comprimento de onda (λ) de 256,5 nm.

Em dois tubos de vidro foram adicionados respectivamente: 1,0 mL da solução B_1 e 3,0 mL de *1-octanol-pst A* e 1,0 mL da solução B_2 e 3,0 mL de *1-octanol-pst B*.

Após a partição, as soluções B_1 e B_2 apresentaram absorvâncias finais (A_f), respectivamente: $A_{f1} = 0,117$ e $A_{f2} = 0,122$, sendo as duas leituras realizadas no

comprimento de onda (λ) de 256,5 nm.

Para o composto I.2, no período de 60 minutos, contatou-se decomposição de ~1%.

Os valores de $\log P_{app}$, foram calculados através da equação III.1. Os resultados obtidos foram: $(\log P)_1 = 0,253$ e $(\log P)_2 = 0,242$. Em seguida, foram calculados o valor médio e seu correspondente desvio padrão, obtendo-se $\log P_{app} = 0,25 \pm 0,01$.

A relação de volumes (R_v) (*tampão-pso / 1-octanol-pst*) manteve-se adequada sendo igual a 0,33 e $(P/R_v) \cong 5$.

III.2.4.3. Determinação do coeficiente de partição aparente, $\log P_{app}$, do cloreto de 3-(dimetilamino)-p-metóxi-propiofenona (I.3)

Procedeu-se analogamente ao descrito no item III.2.4.1.

A partir da solução do composto (*solução A*) preparada na concentração de 1,0 mg/mL em água bidestilada, foram obtidas as soluções B_1 e B_2 , na concentração 13,5 μ g/mL. As soluções B_1 e B_2 foram obtidas pela adição de 27 μ L da *solução A* em 2,0 mL de *tampão-pso A* e em 2,0 mL de *tampão-pso B*, respectivamente.

As soluções B_1 e B_2 apresentaram absorvâncias iniciais (A_i), respectivamente: $A_{i1} = 0,927$ e $A_{i2} = 0,896$, sendo as duas leituras realizadas no comprimento de onda (λ) de 280,5 nm.

Em dois tubos de vidro foram adicionados respectivamente: 1,0 mL da solução B_1 e 2,0 mL de *1-octanol-pst A* e 1,0 mL da solução B_2 e 2,0 mL de *1-octanol-pst B*.

Após a partição as soluções B_1 e B_2 apresentaram absorvâncias finais (A_f), respectivamente: $A_{f1} = 0,408$ e $A_{f2} = 0,464$, sendo as duas leituras realizadas no comprimento de onda (λ) de 280,5 nm.

Para o composto I.3, no período de 60 minutos, contatou-se decomposição de 0,0%.

Os valores de $\log P_{app}$, foram calculados através da equação III.1. Os resultados obtidos foram: $(\log P)_1 = -0,196$ e $(\log P)_2 = -0,332$. Em seguida, foram calculados o valor médio e seu correspondente desvio padrão, obtendo-se $\log P_{app} = -0,26 \pm 0,10$.

A relação de volumes (R_v) (*tampão-pso / 1-octanol-pst*) manteve-se adequada sendo igual a 0,50 e $(P/R_v) \cong 1$.

III.2.4.4. Determinação do coeficiente de partição aparente, $\log P_{app}$, do cloreto de 3-(dimetilamino)-p-etóxi-propiofenona (I.4)

Procedeu-se analogamente ao descrito no item III.2.4.1.

A partir da solução do composto (*solução A*) preparada na concentração de 1,0 mg/mL em água bidestilada, foram obtidas as soluções B_1 e B_2 , na concentração 12,5 µg/mL. As soluções B_1 e B_2 foram obtidas pela adição de 50 µL da *solução A* em 4,0 mL de *tampão-pso A* e em 4,0 mL de *tampão-pso B*, respectivamente.

As soluções B_1 e B_2 apresentaram absorvâncias iniciais (A_i), respectivamente: $A_{i1} = 0,811$ e $A_{i2} = 0,834$, sendo as duas leituras realizadas no comprimento de onda (λ) de 281,5 nm.

Em dois tubos de vidro foram adicionados respectivamente: 3,0 mL da solução B_1 e 2,0 mL de *1-octanol-pst A* e 3,0 mL da solução B_2 e 2,0 mL de *1-octanol-pst B*.

Após a partição as soluções B_1 e B_2 apresentaram absorvâncias finais (A_f), respectivamente: $A_{f1} = 0,359$ e $A_{f2} = 0,359$, sendo as duas leituras realizadas no comprimento de onda (λ) de 281,5 nm.

Para o composto I.4, no período de 60 minutos, constatou-se decomposição de $\leq 0,4\%$.

Os valores de $\log P_{app}$ foram calculados através da equação III.1. Os resultados obtidos foram: $(\log P)_1 = 0,277$ e $(\log P)_2 = 0,298$. Em seguida, foram calculados o valor médio e seu correspondente desvio padrão, obtendo-se $\log P_{app} = 0,29 \pm 0,02$.

A relação de volumes (R_v) (*tampão-pso / 1-octanol-pst*) manteve-se adequada sendo igual a 1,50 e $(P/R_v) \cong 1$.

III.2.4.5. Determinação do coeficiente de partição aparente, $\log P_{app}$, do cloreto de 3-(dimetilamino)-p-fluoro-propiofenona (IV.5)

Procedeu-se analogamente ao descrito no item III.2.4.1.

A partir da solução do composto (*solução A*) preparada na concentração de 1,0mg/mL em água bidestilada, foram obtidas as soluções B_1 e B_2 , na concentração 16,5

$\mu\text{g/mL}$. As soluções B_1 e B_2 foram obtidas pela adição de $33 \mu\text{L}$ da *solução A* em $2,0 \text{ mL}$ de *tampão-pso A* e em $2,0 \text{ mL}$ de *tampão-pso B*, respectivamente.

As soluções B_1 e B_2 apresentaram absorvâncias iniciais (A_i), respectivamente: $A_{i1} = 0,806$ e $A_{i2} = 0,831$, sendo as duas leituras realizadas no comprimento de onda (λ) de $245,0 \text{ nm}$.

Em dois tubos de vidro foram adicionados respectivamente: $1,0 \text{ mL}$ da solução B_1 e $7,0 \text{ mL}$ de *1-octanol-pst A* e $1,0 \text{ mL}$ da solução B_2 e $7,0 \text{ mL}$ de *1-octanol-pst B*.

Após a partição as soluções B_1 e B_2 apresentaram absorvâncias finais (A_f), respectivamente: $A_{f1} = 0,116$ e $A_{f2} = 0,132$, sendo as duas leituras realizadas no comprimento de onda (λ) de $245,0 \text{ nm}$.

Para o composto **L5**, no período de 60 minutos, constatou-se decomposição de $0,0\%$.

Os valores de $\log P_{\text{app}}$ foram calculados através da equação III.1. Os resultados obtidos foram: $(\log P)_1 = -0,070$ e $(\log P)_2 = -0,119$. Em seguida, foram calculados o valor médio e seu correspondente desvio padrão, obtendo-se $\log P_{\text{app}} = -0,09 \pm 0,04$.

A relação de volumes (R_v) (*tampão-pso / 1-octanol-pst*) manteve-se adequada sendo igual a $0,14$ e $(P/R_v) \cong 6$.

III.2.4.6. Determinação do coeficiente de partição aparente, $\log P_{\text{app}}$, do cloreto de 3-(dimetilamino)-p-bromo-propiofenona (**L6**)

Procedeu-se analogamente ao descrito no item III.2.4.1.

A partir da solução do composto (*solução A*) preparada na concentração de $1,0 \text{ mg/mL}$ em água bidestilada, foram obtidas as soluções B_1 e B_2 , na concentração $14 \mu\text{g/mL}$. As soluções B_1 e B_2 foram obtidas pela adição de $112 \mu\text{L}$ da *solução A* em $8,0 \text{ mL}$ de *tampão-pso A* e em $8,0 \text{ mL}$ de *tampão-pso B*, respectivamente.

As soluções B_1 e B_2 apresentaram absorvâncias iniciais (A_i), respectivamente: $A_{i1} = 0,697$ e $A_{i2} = 0,687$, sendo as duas leituras realizadas no comprimento de onda (λ) de 260 nm .

Em dois tubos de vidro foram adicionados respectivamente: $6,0 \text{ mL}$ da solução B_1 e $3,0 \text{ mL}$ de *1-octanol-pst A* e $6,0 \text{ mL}$ da solução B_2 e $3,0 \text{ mL}$ de *1-octanol-pst B*.

Após a partição as soluções B_1 e B_2 apresentaram absorvâncias finais (A_f), respectivamente: $A_{f1} = 0,098$ e $A_{f2} = 0,094$, sendo as duas leituras realizadas no comprimento de onda (λ) de 260,0 nm.

Para o composto I.6, no período de 60 minutos, contatou-se decomposição de ~1%.

Os valores de $\log P_{app}$, foram calculados através da equação III.1. Os resultados obtidos foram: $(\log P)_1 = 1,089$ e $(\log P)_2 = 1,101$. Em seguida, foram calculados o valor médio e seu correspondente desvio padrão, obtendo-se $\log P_{app} = 1,09 \pm 0,01$.

A relação de volumes (R_v) (*tampão-pso* / *1-octanol-pst*) manteve-se adequada sendo igual a 0,33 e $(P/R_v) \cong 5$

III.2.4.7. Determinação do coeficiente de partição aparente, $\log P_{app}$, do cloreto de de 3-(dimetilamino)-*p*-nitro-propiofenona (I.7)

Procedeu-se analogamente ao descrito no item III.2.4.1.

A partir da solução do composto (*solução A*) preparada na concentração de 1,0 mg/mL em água bidestilada, foram obtidas as soluções B_1 e B_2 , na concentração 13,5 µg/mL. As soluções B_1 e B_2 foram obtidas pela adição de 27 µL da *solução A* em 2,0 mL de *tampão-pso A* e em 2,0 mL de *tampão-pso B*, respectivamente.

As soluções B_1 e B_2 apresentaram absorvâncias iniciais (A_i), respectivamente: $A_{i1} = 0,878$ e $A_{i2} = 0,891$, sendo as duas leituras realizadas no comprimento de onda (λ) de 266,0 nm.

Em dois tubos de vidro foram adicionados respectivamente: 1,0 mL da solução B_1 e 8,0 mL de *1-octanol-pst A* e 1,0 mL da solução B_2 e 8,0 mL de *1-octanol-pst B*.

Após a partição as soluções B_1 e B_2 apresentaram absorvâncias finais (A_f), respectivamente: $A_{f1} = 0,249$ e $A_{f2} = 0,274$, sendo as duas leituras realizadas no comprimento de onda (λ) de 266,0 nm.

Para o composto I.7, no período de 60 minutos, contatou-se decomposição de $\leq 0,2\%$.

Os valores de $\log P_{app}$, foram calculados através da equação III.1. Os resultados obtidos foram: $(\log P)_1 = -0,501$ e $(\log P)_2 = -0,551$. Em seguida, foram calculados o valor

médio e seu correspondente desvio padrão, obtendo-se $\log P_{app} = -0,53 \pm 0,04$.

A relação de volumes (R_v) (*tampão-pso / 1-octanol-pst*) manteve-se adequada sendo igual a 0,12 e $(P/R_v) \cong 2$

III.2.4.8. Determinação do coeficiente de partição aparente, $\log P_{app}$, do cloreto de de 3-(dimetilamino)-p-ciano-propiofenona (I.8)

Procedeu-se analogamente ao descrito no item III.2.4.1.

A partir da solução do composto (*solução A*) preparada na concentração de 1,0 mg/mL em água bidestilada, foram obtidas as soluções B_1 e B_2 , na concentração 7,5 µg/mL. As soluções B_1 e B_2 foram obtidas pela adição de 15 µL da *solução A* em 2,0 mL de *tampão-pso A* e em 2,0 mL de *tampão-pso B*, respectivamente.

As soluções B_1 e B_2 apresentaram absorvâncias iniciais (A_i), respectivamente: $A_{i1} = 0,679$ e $A_{i2} = 0,655$, sendo as duas leituras realizadas no comprimento de onda (λ) de 247,5 nm.

Em dois tubos de vidro foram adicionados respectivamente: 1,0 mL da solução B_1 e 14,0 mL de *1-octanol-pst A* e 1,0 mL da solução B_2 e 14,0 mL de *1-octanol-pst B*.

Após a partição as soluções B_1 e B_2 apresentaram absorvâncias finais (A_f), respectivamente: $A_{f1} = 0,280$ e $A_{f2} = 0,260$, sendo as duas leituras realizadas no comprimento de onda (λ) de 247,5 nm.

Para o composto I.8, no período de 60 minutos, constatou-se decomposição de ~3%.

Os valores de $\log P_{app}$, foram calculados através da equação III.1. Os resultados obtidos foram: $(\log P)_1 = -0,992$ e $(\log P)_2 = -0,966$. Em seguida, foram calculados o valor médio e seu correspondente desvio padrão, obtendo-se $\log P_{app} = -0,98 \pm 0,02$.

A relação de volumes (R_v) (*tampão-pso / 1-octanol-pst*) manteve-se adequada sendo igual a 0,07 e $(P/R_v) \cong 1$.

III.2.4.9. Determinação do coeficiente de partição aparente, $\log P_{app}$, do cloreto de de 3-(dimetilamino)-p-hidróxi-propiofenona (I.9)

Procedeu-se analogamente ao descrito no item III.2.4.1.

A partir da solução do composto (*solução A*) preparada na concentração de 1,0 mg/mL em água bidestilada, foram obtidas as soluções B_1 e B_2 , na concentração 14,7 μ g/mL. As soluções B_1 e B_2 foram obtidas pela adição de 44 μ L da *solução A* em 3,0 mL de *tampão-pso A* e em 3,0 mL de *tampão-pso B*, respectivamente.

As soluções B_1 e B_2 apresentaram absorvâncias iniciais (A_i), respectivamente: $A_{i1} = 0,735$ e $A_{i2} = 0,750$, sendo as duas leituras realizadas no comprimento de onda (λ) de 280,5 nm.

Em dois tubos de vidro foram adicionados respectivamente: 1,0 mL da solução B_1 e 12,0 mL de *1-octanol-pst A* e 1,0 mL da solução B_2 e 12,0 mL de *1-octanol-pst B*.

Após a partição as soluções B_1 e B_2 apresentaram absorvâncias finais (A_f), respectivamente: $A_{f1} = 0,182$ e $A_{f2} = 0,175$, sendo as duas leituras realizadas no comprimento de onda (λ) de 280,5 nm.

Para o composto I.9, no período de 60 minutos, constatou-se decomposição de 0,0%.

Os valores de $\log P_{app}$ foram calculados através da equação III.1. Os resultados obtidos foram: $(\log P)_1 = -0,596$ e $(\log P)_2 = -0,562$. Em seguida, foram calculados o valor médio e seu correspondente desvio padrão, obtendo-se $\log P_{app} = -0,58 \pm 0,03$.

A relação de volumes (R_v) (*tampão-pso* / *1-octanol-pst*) manteve-se adequada sendo igual a 0,08 e $(P/R_v) \cong 3$.

Tabela III.17: Valores do coeficiente de partição aparente, $\log P_{app}$ (determinados conforme descrito no item III.2.3), N° de determinações realizadas, da concentração na partição ($\mu\text{g/mL}$), de decomposição (%) e do quociente entre a partição e relação de volumes (*tampão-pso/1-octanol-pst*), P/R_v , obtidos para cada um dos cloretos de 3-(dimetilamino)-propiofenonas-4-X-substituídas (série I, compostos **I.1** a **I.9**).

N° do composto	-X	N° de determinações	$\log P_{app}^{(a)}$	Concentração do composto na partição ($\mu\text{g/mL}$)	Decomposição (%)	P/R_v
I.1	-H	4	$-0,38 \pm 0,07$	13,5 e 14,0	~3	~2
I.2	-CH ₃	2	$0,25 \pm 0,01$	11,0	~1	~5
I.3	-OCH ₃	2	$-0,26 \pm 0,10$	13,5	0	~1
I.4	-OCH ₂ CH ₃	2	$0,29 \pm 0,02$	12,5	$\leq 0,4$	~1
I.5	-F	2	$-0,09 \pm 0,04$	16,5	0	~6
I.6	-Br	2	$1,09 \pm 0,01$	14,0	≤ 1	~6
I.7	-NO ₂	2	$-0,53 \pm 0,04$	13,5	$\leq 0,2$	~2
I.8	-CN	2	$-0,98 \pm 0,02$	7,5	~3	~1
I.9	-OH	2	$-0,58 \pm 0,03$	14,7	0	~3

^(a) Valores médios de coeficiente de partição aparente e correspondentes valores de desvio padrão, obtidos para cada um dos compostos da série I.

III.3. Obtenção de parâmetros eletrônicos

III.3.1. Valores de constantes de grupo substituinte tipo Hammett (σ_p , σ_p^+ , σ_p^- , σ_I e σ_R) e de Swain-Lupton ($\mathcal{J}$ e $\mathcal{R}$)

Como parâmetros eletrônicos para os compostos das séries I e II foram utilizados os seus respectivos valores de constantes de grupo substituinte tipo Hammett (σ_p , σ_p^+ , σ_p^- , σ_I e σ_R) e de Swain-Lupton ($\mathcal{J}$ e $\mathcal{R}$), retirados da literatura⁴⁵ e apresentados nas tabelas III.18 e III.19.

III.3.2. Valores do deslocamento químico do carbono carbonílico ($\delta_{13C=O}$), considerados como parâmetro eletrônico

Foram retirados dos espectros de RMN ^{13}C obtidos para os cloretos de 3-(dimetilamino)-propiofenonas-4-X-substituídas (série I, compostos **I.1** a **I.9**) e para os correspondentes iodetos de 3-(trimetilamino)-propiofenonas-4-X-substituídas (série II, compostos **II.1** a **II.6**) os valores do deslocamento químico do carbono carbonílico ($\delta_{13C=O}$) para cada composto das séries, sendo utilizados como parâmetro eletrônico.

Os espectros de RMN ^{13}C foram obtidos em solução de DMSO- d_6 na concentração de aproximadamente 0,1 M. Como referência foi utilizado o pico central do setpleto característico do DMSO- d_6 ajustado para 39,70 ppm. Os valores de deslocamentos químicos do carbono carbonílico ($\delta_{13C=O}$), são apresentados nas tabelas III.18 e III.19, relativos respectivamente aos compostos das séries I e II.

Adicionalmente, espectros de RMN ^{13}C para os compostos **I.1** (X = 4-H), **I.3** (X = 4-OCH₃) e **I.7** (X = 4-NO₂) da série I e para os compostos **II.1** (X = 4-H) e **II.3** (X = 4-OCH₃) da série II, foram determinados nas concentrações de aproximadamente 0,05 e 0,15 M, em DMSO - d_6 , sendo o sinal central do setpleto obtido para o DMSO - d_6 ajustado para 39,70 ppm⁷². O espectro do composto **II.1** (X = 4-H), na concentração de 0,15 M não pode ser obtido, pois o composto não foi solúvel em DMSO - d_6 . Destes espectros foram obtidos os valores de $\delta_{13C=O}$ nas concentrações de aproximadamente 0,05 e 0,15 M, para os compostos **I.1** (X = 4-H), **I.3** (X = 4-OCH₃) e **I.7** (X = 4-NO₂) da série I e para os compostos **II.1** (X = 4-H) e **II.3** (X = 4-OCH₃) da série II.

A precisão, de cada medida feita no espectrômetro marca Varian, modelo, INOVA 300, operando em transformada de Fourier, é expressa pelo erro sistemático de $\pm 0,01$ ppm, de acordo com as especificações do aparelho.

III.3.3. Valores da posição de absorção do grupo carbonila ($\nu_{C=O}$) (em cm^{-1}) na região do I.V., considerados como parâmetro eletrônico

Procedendo-se de acordo com indicações da literatura,^{76, 31, 30} para os cloretos de 3-(dimetilamino)-propiofenonas-4-X-substituídas (série I, compostos **I.1** a **I.9**) e para os correspondentes iodetos de 3-(trimetilamino)-propiofenonas-4-X-substituídas (série II, compostos

II.1 a II.6), os valores das posições da banda de absorção do grupo carbonila ($\nu_{C=O}$) (em cm^{-1}) na região do I.V., foram utilizados como parâmetro eletrônico, sendo obtidos de forma sistemática, utilizando uma cela de NaCl de caminho óptico de 0,5 mm, em solução de DMSO Uvasol na concentração de aproximadamente 2×10^{-2} M. Os valores das posições de absorção do grupo carbonila ($\nu_{C=O}$) (em cm^{-1}) na região do I.V. são apresentados nas tabelas III.18 e III.19, relativas respectivamente aos compostos das séries I e II.

Adicionalmente, valores de $\nu_{C=O}$ (cm^{-1}) para os compostos **I.1** (X = 4-H), **I.3** (X = 4-OCH₃) e **I.7** (X = 4-NO₂) da série I e para os compostos **II.1** (X = 4-H) e **II.3** (X = 4-OCH₃) da série II, foram obtidos de forma sistemática em um espectrômetro FT-IR Nicolett Modelo Magna IR 550, em uma cela de NaCl, de caminho óptico de 0,5 mm, com resolução igual a 1, em solução de DMSO Uvasol, nas concentrações de 1×10^{-2} e 4×10^{-2} M.

III.4. Refratividade molar (MR_4) como parâmetro relativo à polarizabilidade

Para os compostos das séries I e II, foram utilizados como parâmetro relativo à polarizabilidade dos grupos substituintes, os valores de refratividade molar na posição quatro do anel aromático (MR_4), retirados da literatura ⁴⁵ e, apresentados nas tabelas III.18 e III.19, relativas respectivamente aos compostos das séries I e II.

Tabela III.18: Valores dos parâmetros eletrônicos retirados da literatura ⁴⁵ e obtidos experimentalmente ($\delta_{13C=O}$ e $\nu_{C=O}$) e parâmetro relativo à polarizabilidade (MR_4) retirado da literatura ⁴⁵ para os compostos da série I.

Nº	-X	$\delta_{13C=O}$ ^{(a)(b)}	$\nu_{C=O}$ ^(c)	σ_p	σ_I	σ_R	σ_{p+}	σ_{p-}	Σ	$\mathcal{R}$	MR_4
I.1	-H	196,95	1684,20±0,09 ^(d)	0	0	0	0	0	0	0	1,03
I.2	-CH ₃	196,42	1680,04	-0,17	-0,04	-0,14	-0,31	-0,17	0,01	-0,18	5,65
I.3	-OCH ₃	195,26	1674,90	-0,27	0,27	-0,43	-0,78	-0,26	0,29	-0,56	7,87
I.4	-OC ₂ H ₅	195,23	1674,43	-0,24	0,28	-0,44	-0,81	-0,28	0,26	-0,50	12,47
I.5	-F	195,58	1684,97	0,06	0,52	-0,48	-0,07	0,12	0,45	-0,39	0,92
I.6	-Br	196,22	1685,81	0,23	0,44	-0,19	0,15	0,25	0,45	-0,22	8,88
I.7	-NO ₂	196,15	1692,84	0,78	0,64	0,15	0,79	1,27	0,65	0,13	7,36
I.8	-CN	196,36	1691,81	0,66	0,53	0,08	0,66	1,00	0,51	0,15	6,33
I.9	-OH	194,99	1670,34	-0,37	0,29	-0,43	-0,92	-0,37	0,33	-0,70	2,85

^(a) Valores do deslocamento químico do carbono carbonílico expressos em *ppm*, retirados dos RMN ¹³C, obtidos em DMSO-*d*₆, na concentração de 0,1 M.

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

^(c) Valores da posição de absorção do grupo carbonila, expressos em cm⁻¹, retirados dos espectros de I.V., obtidos em DMSO Uvasol, na concentração de aproximadamente 2 x 10⁻² M.

^(d) Valores da média e do desvio padrão, observados para determinações realizadas em três repetições para medida do valor de $\nu_{C=O}$ (cm⁻¹).

Tabela III.19: Valores dos parâmetros eletrônicos retirados da literatura ⁴⁵ e obtidos experimentalmente ($\delta_{13C=O}$ e $\nu_{C=O}$) e do parâmetro relativo à polarizabilidade (MR_4) retirado da literatura ⁴⁵ para os compostos da série II.

Nº	-X	$\delta_{13C=O}$ ^{(a)(b)}	$\nu_{C=O}$ ^(c)	σ_p	σ_I	σ_R	σ_{p+}	σ_{p-}	Σ	$\mathcal{R}$	MR_4 ^(d)
II.1	-H	196,46	1684,87	0,00	0	0	0	0	0	0	1,03
II.2	-CH ₃	195,91	1680,08	-0,17	-0,04	-0,14	-0,31	-0,17	0,01	-0,18	5,65
II.3	-OCH ₃	194,74	1674,88	-0,27	0,27	-0,43	-0,78	-0,26	0,29	-0,56	7,87
II.4	-OC ₂ H ₅	194,69	1675,30	-0,24	0,28	-0,44	-0,81	-0,28	0,26	-0,50	12,47
II.5	-F	195,04	1684,91	0,06	0,52	-0,48	-0,07	0,12	0,45	-0,39	0,92
II.6	-Br	195,69	1684,90	0,23	0,44	-0,19	0,15	0,25	0,45	-0,22	8,88

^(a) Valores do deslocamento químico do carbono carbonílico expressos em *ppm*, retirados dos RMN ¹³C, obtidos em DMSO-*d*₆, na concentração de 0,1 M.

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

^(c) Valores da posição de absorção do grupo carbonila, expressos em cm⁻¹, retirados dos espectros de I.V., obtidos em DMSO Uvasol, na concentração de aproximadamente 2 x 10⁻² M.

III.5. Determinação do parâmetro biológico

III.5.1. Determinação da citotoxicidade, IC₅₀

Os valores da citotoxicidade foram determinados para os nove compostos da série de cloretos de 3-(dimetilamino)-propiofenonas-4-X-substituídas, com X = -H, -CH₃, -OCH₃, -OCH₂CH₃, -F, -Br, -NO₂, -CN e -OH (série I, compostos **I.1** a **I.9**) e para os seis iodetos de 3-(trimetilamino)-propiofenonas-4-X-substituídas, com X = -H, -CH₃, -OCH₃, -OCH₂CH₃, -F e -Br (série II, compostos **II.1** a **II.6**).

A citotoxicidade para cada composto das séries I e II foi determinada pelo método⁴⁹ de incorporação do vermelho neutro em linhagem celular NCTC-clone L929 de tecido conectivo de camundongo. A incorporação do corante nas células lesadas (e/ou mortas) foi avaliada espectrofotometricamente. E, a citotoxicidade foi expressa pelo valor médio do índice de citotoxicidade 50%, IC₅₀, em micromolar, μM . Para fins de correlação, a atividade biológica de cada composto foi expressa pela potência biológica $\log(1/\text{IC}_{50})$, sendo o valor de IC₅₀, expresso em μM e multiplicado por 0,0001.

Os valores médios de IC₅₀, foram obtidos por três repetições dentro de um único experimento realizando-se a interpolação nas curvas dose-resposta considerando-se como 50% de morte celular a metade da viabilidade celular das células controle. As doses dos compostos das séries I e II utilizadas na construção das curvas dose-resposta foram respectivamente: 1000 μM ; 500 μM ; 250 μM ; 125 μM e 62,5 μM .

A validação do método é confirmada pela utilização de fenol como padrão de citotoxicidade. Para todos os respectivos valores médios de IC₅₀ determinados, foram calculados os correspondentes valores do desvio padrão.

Os experimentos de citotoxicidade para os compostos das séries I e II, foram realizados pela pesquisadora MsC Sizue Otta Rogero, do Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, São Paulo.

Os valores do índice de citotocidade 50%, IC₅₀ (μM), e os seus correspondentes valores de desvio padrão e de $\log(1/\text{IC}_{50})$, obtidos para os compostos das séries I e II, são apresentados na tabela III.20.

Tabela III.20: Valores do índice de citotoxicidade 50%, IC₅₀ (μM), e os correspondentes valores de desvio padrão e de log(1/IC₅₀), obtidos para os compostos da série I e da série II.

Nº dos compostos	-R	IC ₅₀ (μM) ^(a)	Desvio padrão	log(1/IC ₅₀) ^(b)
I.1	-H	423,08	60,05	1,37
I.2	-CH ₃	413,71	5,48	1,38
I.3	-OCH ₃	81,38	5,03	2,09
I.4	-OC ₂ H ₅	263,93	27,17	1,58
I.5	-F	195,23	12,06	1,71
I.6	-Br	401,63	23,39	1,40
I.7	-NO ₂	190,85	13,19	1,72
I.8	-CN	76,67	7,32	2,12
I.9	-OH	102,31	15,2	1,99
II.1	-H	97,7	14,96	2,01
II.2	-CH ₃	256,00	45,35	1,59
II.3	-OCH ₃	89,69	12,36	2,05
II.4	-OC ₂ H ₅	84,5	2,96	2,07
II.5	-F	349,92	22,8	1,46
II.6	-Br	263,59	21,49	1,58

^(a) Valores obtidos por três repetições dentro de um único experimento.

^(b) O valor de IC₅₀ expresso em μM é multiplicado por 0,0001.

IV. Resultados e discussão

IV.1. Introdução

A reação de Mannich tem sido empregada para obtenção tanto de intermediários de reação utilizados, por exemplo, na síntese de heterocíclicos, bem como na obtenção de compostos de interesse biológico,⁸⁰ atuando, por exemplo como pró-fármacos de cetonas α,β -insaturadas,^{22, 20} sendo estas importantes no tratamento do câncer.²⁰

É de interesse o desenvolvimento de estudos de *QSAR* envolvendo bases de Mannich com propriedades citotóxicas e/ou anticâncer, através do qual se avalia a(s) natureza(s) e contribuição(ões) relativa(s) dos parâmetros físico-químicos e/ou estruturais responsáveis pelas propriedades citotóxica e/ou anticâncer desta classe de compostos, contribuindo pelo menos em parte, para o entendimento da(s) interação(ões) desta classe de compostos (agentes alquilantes) no sistema biológico.^{20, 55, 40, 76, 5, 36, 53}

Outro aspecto importante em estudos de *QSAR* para bases de Mannich, envolve a comparação com estudos de *QSAR* relatados na literatura,^{42, 36} desenvolvidos para outros agentes anticâncer. Nestes estudos, de forma geral, se observa uma contribuição significativa e grande do termo relativo ao parâmetro eletrônico, enquanto que a contribuição do termo relativo ao parâmetro lipofílico é, em geral, não significativa, podendo ser ainda pequena e negativa.

Sugere-se de forma geral que a contribuição significativa e grande do termo relativo ao parâmetro eletrônico para a atividade, provavelmente, esteja relacionada à decomposição do composto. Assim, para agentes alquilantes, esta observação sugere que na etapa determinante da resposta/atividade biológica esteja ocorrendo decomposição do composto que leva à formação de uma espécie eletrofílica (composto com centro eletrofílico), que reage formando ligações covalentes com, por exemplo, uma macromolécula do sistema biológico.^{46, 14}

Por outro lado, a observação da contribuição não significativa, ou ainda pequena e negativa do termo relativo ao parâmetro lipofílico pode ser explicada considerando-se que a etapa que determina a resposta/atividade biológica esteja ocorrendo na superfície da célula.

⁴² Sugere-se, ainda, que o mecanismo de ação proposto deva envolver transporte ativo do

composto, ou ainda que a contribuição do termo lipofílico poderia estar sendo mascarada ou anulada por uma possível interação polar com o receptor.⁴²

A contribuição significativa e grande do termo relativo ao parâmetro eletrônico bem como a contribuição pequena e negativa do termo relativo ao parâmetro lipofílico para a resposta/atividade biológica, mesmo em sistemas complexos (animais inteiros) podem ser exemplificadas pelos estudos de *QSAR* do aumento de 25% no tempo de vida de camundongos com melanoma *B₁₆*, tratados com anilinas mostardas, atuando como agentes alquilantes. Assim, para esta série de vinte compostos, apresentada e discutida no item I.6 (introdução), o modelo de *QSAR* sugerido foi expresso pela equação 25, sendo as contribuições dos parâmetros eletrônico e lipofílico, respectivamente -1,67 e -0,42, sendo estes expressos por valores de σ de Hammett da literatura e do parâmetro hidrofóbico calculados pelo programa CLOGP.

$$\log 1/C = -1,67(\pm 0,53)\sigma - 0,42(\pm 0,13)\text{CLOGP} + 5,60(\pm 0,52) \quad \text{equação 25}$$

$$(n = 20; r^2 = 0,848; s = 0,389; Q^2 = 0,777)$$

No presente trabalho destinado a dissertação de mestrado, foram preparadas duas séries de derivados de bases de Mannich, a saber: nove cloretos de 3-(dimetilamino)-propiofenonas-4-X-substituídas, com X = -H, -CH₃, -OCH₃, -OCH₂CH₃, -F, -Br, -NO₂, -CN e -OH (compostos **I.1** a **II.9**, série I), e seis dos correspondentes iodetos de 3-(trimetilamino)-propiofenonas-4-X-substituídas, com X = -H, -CH₃, -OCH₃, -OCH₂CH₃, -F e -Br (compostos **I.1** a **II.9**, série II). Em seguida, foram determinados experimentalmente e/ou retirados da literatura⁴⁵ parâmetros físico-químicos/estruturais descritores de propriedades hidrofóbicas/lipofílicas, eletrônicas/polares e ainda aquela relativa à polarizabilidade, para cada um dos compostos destas duas séries. A abordagem tradicional de *QSAR*, desenvolvida por Hansch e Fujita, em 1964,^{40, 36} foi utilizada para avaliar o(s) efeito(s) e contribuição(ões) relativa(s) da hidrofobicidade, do efeito eletrônico e da polarizabilidade sobre a citotoxicidade determinada para cada um dos compostos das séries I e II. As duas séries foram analisadas conjuntamente por meio da introdução de uma

variável indicadora, $I_{[N(Me)_3]^+}$, assumindo os valores iguais a zero e a um respectivamente para os compostos das séries I e II e, utilizando-se a *abordagem mista* (Fujita-Ban, Free-Wilson).^{55, 53, 62, 63}

IV.2. Escolha dos substituintes para os compostos das séries I e II

No presente trabalho, a seleção dos substituintes para os compostos **I.1** a **I.9** (série I: cloretos de 3-(dimetilamino)-propiofenonas-4-X-substituídas, com X = -H, -CH₃, -OCH₃, -OCH₂CH₃, -F, -Br, -NO₂, -CN e -OH) e compostos **II.1** a **II.6** (série II: iodetos de 3-(trimetilamino)-propiofenonas-4-X-substituídas, com X = -H, -CH₃, -OCH₃, -OCH₂CH₃, -F e -Br), foi feita de acordo com critério sugerido por Craig,¹⁵ visando propor séries de substituintes, nas quais se observa intercorrelações não significativas entre os correspondentes valores dos parâmetros físico-químicos dos substituintes analisados, ou seja, os valores do coeficiente de correlação (*r*) nas intercorrelações devem, idealmente, ser $\leq 0,3$.

Outro critério a ser observado na seleção de substituintes, se refere as faixas de variação tanto de cada parâmetro físico-químico analisado bem como do parâmetro biológico, devendo ser significativas.^{55, 16, 31}

Inicialmente, foram analisados os parâmetros físico-químicos/estruturais potencialmente responsáveis pela atividade biológica, sendo eles: parâmetros lipofílico, eletrônico e aquele relacionado à polarizabilidade, expressos pelos valores das constantes do grupo substituinte respectivamente hidrofóbica (π de Hansch- Fujita); eletrônica (σ_p de Hammett) e, relacionada à polarizabilidade (MR₄) retirados da literatura^{41, 44, 18, 32} e apresentados na Tabela IV.1.

Tabela IV.1: Valores dos parâmetros físico-químicos respectivamente lipofílico, eletrônico e relacionado à polarizabilidade, expressos pelos valores das constantes respectivamente, π , σ_p e MR_4 retirados da literatura ⁴⁵ para grupos substituintes da série I (compostos **I.1-I.9**) e série II (compostos **II.1-II.6**).

Grupo substituinte	π	σ_p	$MR_4^{(a)}$
4-H	0	0	0,103
4-CH ₃	0,56	-0,17	0,565
4-OCH ₃	-0,02	-0,27	0,787
4-OCH ₂ CH ₃	0,38	-0,24	1,247
4-F	0,14	0,06	0,092
4-Br	0,86	0,23	0,888
4-NO ₂	-0,28	0,78	0,736
4-CN	-0,57	0,66	0,633
4-OH	-0,67	-0,37	0,285

^(a) Os valores de MR_4 foram multiplicados por 0,1.

Para a série I (compostos **I.1-I.9**) uma variação significativa foi observada com relação ao parâmetro eletrônico ($\Delta\sigma_p=1,15$) apresentando os seguintes valores extremos: $\sigma_p(4-NO_2) = 0,78$ e $\sigma_p(4-OH) = -0,37$. Para os parâmetros respectivamente lipofílico e aquele relacionado à polarizabilidade, observa-se variações respectivamente de $\Delta\pi = 1,53$ (sendo $\pi(4-Br) = 0,86$ e $\pi(4-OH) = -0,67$) e de $\Delta MR_4 = 1,155$ (sendo $MR_4(4-OCH_2CH_3) = 1,247$ e $MR_4(4-F) = 0,092$). ^{16, 31, 15}

De modo análogo, fez-se à análise para a série II (compostos **II.1-II.6**), observando-se as seguintes variações para os parâmetros, respectivamente, lipofílico: $\Delta\pi = 0,88$ (sendo $\pi(4-Br) = 0,86$ e $\pi(4-OCH_3) = -0,02$); eletrônico: $\Delta\sigma_p = 0,50$ (sendo $\sigma_p(4-Br) = 0,23$ e $\sigma_p(4-OCH_3) = -0,27$) e, aquele relacionado à polarizabilidade: $\Delta MR_4 = 1,155$ (sendo $MR_4(4-OCH_2CH_3) = 1,247$ e $MR_4(4-F) = 0,092$). ^{16, 31, 15}

As intercorrelações não significativas observadas entre os valores dos parâmetros lipofílico, eletrônico e, ao relacionado à polarizabilidade expressos respectivamente por π , σ_p e MR_4 , para os substituintes dos compostos das séries I e II, podem ser verificadas tanto graficamente bem como pelos parâmetros estatísticos, das equações de regressão, em especial os valores dos coeficientes de correlação, r .

Para os compostos da série I, os gráficos de π vs σ_p , de π vs MR_4 e, de σ_p vs MR_4 são apresentados, respectivamente, nas Figuras IV.1, IV.2 e IV.3. E, para os compostos da série II, os gráficos de π vs σ_p , π vs MR_4 e, σ_p vs MR_4 são apresentados, respectivamente, nas Figuras IV.4, IV.5 e IV.6.

Os valores dos coeficientes de correlação (r) obtidos nas intercorrelações são apresentados nas Tabelas IV.2 e IV.3, respectivamente para os compostos das séries I e II.

$$\pi = -0,26(\pm 1,08)\sigma_p + 0,06(\pm 0,42)$$

$$(n = 9; r = 0,21; s = 0,53; F = 0,33)$$

Figura IV.1: Gráfico e equação de correlação dos valores de π em função de σ_p , retirados da literatura,⁴⁵ para os substituintes dos compostos **I.1-I.9**, série I.

$$\pi = +0,48(\pm 1,11)MR_4 - 0,24(\pm 0,77)$$

$$(n = 9; r = 0,36; s = 0,50; F = 1,04)$$

Figura IV.2: Gráfico e equação de correlação dos valores de π em função de MR_4 , retirados da literatura,⁴⁵ para os substituintes dos compostos **I.1-I.9**, série I.

$$\sigma_p = +0,07(\pm 0,96)MR_4 + 0,03(\pm 0,67)$$

$$(n = 9; r = 0,07; s = 0,44; F = 0,03)$$

Figura IV.3: Gráfico e equação de correlação dos valores de σ_p em função de MR_4 , retirados da literatura,⁴⁵ para os substituintes dos compostos **I.1-I.9**, série I.

$$\pi = +0,79(\pm 2,22)\sigma_p + 0,37(\pm 0,42)$$

$$(n = 6; r = 0,44; s = 0,35; F = 0,97)$$

Figura IV.4: Gráfico e equação de correlação dos valores de π em função de σ_p , retirados da literatura,⁴⁵ para os substituintes dos compostos **II.1-II.6**, série II.

$$\pi = +0,36(\pm 0,93)MR_4 + 0,10(\pm 0,69)$$

$$(n = 6; r = 0,47; s = 0,34; F = 1,14)$$

Figura IV.5: Gráfico e equação de correlação dos valores de π em função de MR_4 , retirados da literatura,⁴⁵ para os substituintes dos compostos **II.1-II.6**, série II.

$$\sigma_p = -0,15(\pm 0,55)MR_4 + 0,03(\pm 0,41)$$

$$(n = 6; r = 0,36; s = 0,20; F = 0,58)$$

Figura IV.6: Gráfico e equação de correlação dos valores de σ_p em função de MR_4 , retirados da literatura,⁴⁵ para os substituintes dos compostos **II.1-II.6**, série II.

Tabela IV.2: Matriz dos valores do coeficiente de correlação (r) obtidos nas intercorrelações dos parâmetros físico-químicos (π , σ_p e MR_4), retirados da literatura⁴⁵ relativos à série I.

	π	MR_4	σ_p
π	1,000	0,360	0,212
MR_4		1,000	0,068
σ_p			1,000

Tabela IV.3: Matriz dos valores do coeficiente de correlação (**r**) obtidos nas intercorrelações dos parâmetros físico-químicos (π , σ_p e MR_4), retirados da literatura ⁴⁵ relativos à série II.

	π	MR_4	σ_p
π	1,000	0,470	0,442
MR_4		1,000	0,356
σ_p			1,000

Para os compostos da série II (compostos **II.1** a **II.6**), os valores de coeficientes de correlação (**r**) de 0,470 e 0,442, respectivamente obtidos para as intercorrelações de π vs MR_4 e π vs σ_p , podem estar indicando intercorrelação entre os parâmetros analisados, ou seja, π pode estar descrevendo tanto propriedades relacionadas à polarizabilidade ou volume, bem como propriedades de natureza polar/eletrônica, MR_4 poderia estar descrevendo propriedades lipofílicas e σ_p poderia estar descrevendo propriedades polares eletrônicas. Assim, a análise de *QSAR* para os compostos da série II (compostos **II.1** a **II.6**), poderia apresentar intercorrelações entre os parâmetros analisados, impossibilitando uma análise adequada da contribuição dos mesmos para a atividade.

IV.3. Preparação, purificação e identificação dos compostos

Foram preparadas duas séries de compostos, a saber: nove cloretos de 3-(dimetilamino)-propiofenonas-4-X-substituídas, com X = -H, -CH₃, -OCH₃, -OCH₂CH₃, -F, -Br, -NO₂, -CN e -OH (compostos **I.1** a **I.9**, série I) e seis iodetos de 3-(trimetilamino)-propiofenonas-4-X-substituídas, com X = -H, -CH₃, -OCH₃, -OCH₂CH₃, -F e -Br (compostos **II.1** a **II.6**, série II), a partir respectivamente das correspondentes acetofenonas 4-substituídas e das bases livres intermediárias (compostos **1** a **6**). Todos os compostos foram preparados de acordo com métodos triviais descritos na literatura ^{8, 47} conforme esquemas de preparação apresentados nas Figuras IV.7 e IV.8. Os compostos **I.4** (X = -OCH₂CH₃), **I.8** (X = -CN), **II.5** (X = -F) e **II.6** (X = -Br), não estão descritos na literatura.

Figura IV.7: Esquema de preparação para os cloretos de 3-(dimetilamino)-propiofenonas-4-X-substituídas (compostos I.1 a I.9, série I).

Figura IV.8: Esquema de preparação das bases livres intermediárias (série de 3-(dimetilamino)-propiofenonas-4-X-substituídas) e dos correspondentes iodetos de 3-(trimetilamino)-propiofenonas-4-X-substituídas (compostos I.1 a I.6, série II).

Os compostos da série I (compostos I.1 a I.9), foram a seguir purificados por recristalização, como descrito no item III.1.1, parte experimental.

Cada composto foi identificado e caracterizado através dos respectivos espectros na região do I.V., de RMN 1H e de RMN ^{13}C , apresentados respectivamente nas Tabelas III.3, III.4 e III.5 (parte experimental), e, o grau de pureza para cada composto da série foi avaliado pelos respectivos valores do ponto de fusão não corrigidos, apresentados na Tabela III.1, parte experimental e respectivos valores das análises elementares (CHNCl), apresentados na Tabela III.2, parte experimental.

Os rendimentos foram calculados para os compostos puros, apresentando análises elementares (CHNCl) concordantes com os valores calculados. Estes variaram na faixa de 20,3-70,0%, e estão apresentados na Tabela III.1, parte experimental.

As bases livres intermediárias (compostos **1** a **6**) foram identificadas e caracterizadas através dos respectivos espectros de RMN ^1H , apresentados na Tabela III.7, parte experimental. Os intermediários **5** e **6** ($\text{X} = 4\text{-F}$ e $\text{X} = 4\text{-Br}$), sólidos, tiveram seus graus de pureza avaliados pelos correspondentes valores do ponto de fusão, apresentados na Tabela III.6, parte experimental. Os rendimentos observados variaram na faixa de 41,3-86,1%, e estão apresentados na Tabela III.6, parte experimental.

O procedimento descrito na literatura ⁸ usado para transformar os compostos **I.1**, **I.2** e **I.3**, em suas correspondentes bases livres intermediárias **1**, **2** e **3** utilizando KOH (3M), foi convenientemente modificado pela utilização de condições mais brandas na obtenção dos compostos **I.4**, **I.5** e **I.6**. Assim, para estes compostos a formação da base livre correspondente, foi feita utilizando-se solução de NaHCO_3 , 5% (m/v). Tal procedimento foi adotado para evitar uma possível reação de desaminação, ⁸⁰ ou seja, eliminação de dimetilamina com formação de cetona α,β -insaturada, mais provável para os compostos **I.5** e **I.6**, que possuem grupos eletroaceptores, respectivamente, 4-F e 4-Br, com valores de σ_p , respectivamente de 0,06 e 0,23. ⁴⁵

Os compostos da série II (compostos **II.1** a **II.6**) foram purificados por recristalização, como descrito no item III.1.3, parte experimental. Estes compostos foram identificados e caracterizados por meio dos espectros na região do I.V., de RMN ^1H , de RMN ^{13}C , e através de espectroscopia de massas, apresentados respectivamente nas Tabelas III.10; III.11; III.12 e, III.13, parte experimental. O grau de pureza de cada composto foi avaliado pela comparação dos valores de análise elementar (CHN) calculados e obtidos experimentalmente, apresentados na Tabela III.9, parte experimental. O rendimento para cada composto da série foi calculado para os compostos puros (apresentando análises elementares (CHN) concordantes com os valores calculados) e variaram de 9,9-85,9%, e estão apresentados na Tabela III.8, parte experimental.

Os compostos da série II, foram obtidos na forma de iodetos, ou seja, possuem o íon iodeto como contra-íon, devido à utilização do iodeto de metila, que é líquido a temperatura ambiente, na reação de alquilação realizada nas respectivas preparações dos compostos da série.

Os compostos da série II com X = 4-CN e 4-NO₂, embora tenham sido preparados, não foram incluídos no presente trabalho, por não terem sido ainda obtidos com grau de pureza adequado, para serem avaliados quanto aos parâmetros físico-químicos/estruturais e biológico. A obtenção do composto da série II com X = 4-OH, a partir do composto I.9 (X = 4-OH) não foi factível, observando-se decomposição do mesmo, até em condições brandas de reação.

Os valores do ponto de fusão para os compostos da série II não puderam ser determinados, observando-se faixas de fusão variando de 6 a 58⁰C, correspondendo, a decomposição dos mesmos.

O baixo rendimento (9,9%) observado na preparação do iodeto de 3-(trimetilamino)-p-fluoro-propiofenona, (composto II.5) descrita no item III.1.3.5, parte experimental, pode ser atribuído à grande solubilidade do composto na mistura de solventes (água/etanol) utilizada na recristalização.

Embora a análise quantitativa do contra-íon iodeto para os compostos da série II não tenha sido realizada, a análise dos espectros de massas destes compostos confirma de forma indireta, a presença do contra-íon iodeto em todos os compostos pela presença do fragmento de razão massa/carga (m/z) igual a 128, interpretado como [HI]⁺, com abundância relativa variando na faixa de 10,62-66,85%, para os compostos da série (Tabela III.13, parte experimental).

IV.4. Determinação e validação dos parâmetros físico-químicos e estruturais

VI.4.1. Parâmetros lipofílicos

Para os compostos das séries I e II foram utilizados como parâmetro lipofílico relativo ao substituinte os valores da constante hidrofóbica de grupo substituinte (π) de Hansch-Fujita, retirados da literatura ⁴⁵ e apresentados nas Tabelas III.14, parte experimental.

Para os compostos da série I os valores de π , retirados da literatura, ⁴⁵ apresentaram uma faixa de variação de -0,67 a 0,86 unidades. O substituinte com maior caráter lipofílico foi o 4-Br (composto **I.6**), apresentando $\pi = 0,86$. E, o substituinte com maior caráter hidrofílico foi o 4-OH (composto **I.9**), apresentando $\pi = -0,67$, de acordo com o apresentado e discutido no item I.3.2 (introdução).

Para os compostos da série II os valores de π , retirados da literatura, ⁴⁵ apresentaram uma faixa de variação de -0,02 a 0,86 unidades. O substituinte com maior caráter lipofílico foi o 4-Br (composto **II.6**), apresentando $\pi = 0,86$. Por outro lado, o substituinte com maior caráter hidrofílico foi o 4-OCH₃ (composto **II.3**), apresentando $\pi = -0,02$, de acordo com o apresentado e discutido no item I.3.2 (introdução).

Considerando-se a importância de se descrever o sistema em estudo por parâmetros experimentais, torna-se importante considerar parâmetros experimentais que descrevam as interações hidrofóbicas tanto da molécula toda bem como do substituinte.

Assim, os valores da constante hidrofóbica de substituinte experimental, π_{exp} , foram obtidos a partir dos valores de $\log P_{\text{app}}$ determinados experimentalmente para cada um dos compostos da série I (compostos de **I.1** a **I.9**), sendo apresentados na Tabela IV.4.

Tabela IV.4: Valores de π retirados da literatura e de π_{exp} obtidos a partir dos valores de $\log P_{\text{app}}$ determinados por *shake-flask* ^(a) para a série I (compostos de **I.1** a **I.9**).

Nº do Composto	-X	π ^(b)	π_{exp} ^(c)	$\Delta\pi$ ^(d)
I.1	4-H	0,00	0,00	0,00
I.2	4-CH3	0,56	0,63	0,07
I.3	4-OCH3	-0,02	0,12	0,14
I.4	4-OC2H5	0,38	0,67	0,29
I.5	4-F	0,14	0,29	0,15
I.6	4-Br	0,86	1,47 (0,97 ^(e))	0,61 (0,11)
I.7	4-NO2	-0,28	-0,15	0,13
I.8	4-CN	-0,57	-0,60	0,03
I.9	4-OH	-0,67	-0,20 (-0,16 ^(e))	0,47 (0,51)

^(a) Os valores de $\log P_{\text{app}}$ foram obtidos para o sistema 1-octanol/água (tampão trizma pH = 7,40 e $\mu = 0,1$ M (ajustada com adição de NaCl) em sala com temperatura ajustada e mantida constante a $(23 \pm 1)^\circ\text{C}$), como descrito no item III.2.3, parte experimental.

^(b) Valores retirados da literatura. ⁴⁵

^(c) Valores de π_{exp} obtidos pela seguinte equação: $\pi_{\text{exp}} = (\log P_{\text{app}})_X - (\log P_{\text{app}})_{\text{H}}$, equação 15, item I.3.2, introdução.

^(d) Valores obtidos pela seguinte equação: $\Delta\pi = \pi_{\text{exp}} - \pi$.

^(e) Valores estimados pela equação IV.2.

Observa-se pelos valores de $\Delta\pi$ apresentados na Tabela IV.1, que estes são constantes dentro do erro experimental, com exceção dos valores obtidos para os compostos **I.6** ($X = 4\text{-Br}$; $\Delta\pi = 0,61$) e **I.9** ($X = 4\text{-OH}$; $\Delta\pi = 0,47$). Assim, esta observação pode ser interpretada pela presença de interações hidrofóbicas específicas para estes substituintes, podendo-se sugerir para o 4-OH derivado, a formação de pontes de hidrogênio intermoleculares, com a água ou o 1-octanol.

Para as séries I e II, a lipofilicidade de cada composto foi avaliada por meio dos valores de coeficiente de partição calculado ($\log P_{\text{calc}}$), obtidos pelo programa CLOGP, versão 1.0.0. para Windows (1995), Biobyte, USA. Os valores de $\log P_{\text{calc}}$ obtidos referem-se a partição dos compostos no sistema 1-octanol/água e não incluem a contribuição dos

fragmentos iônicos/ionizáveis presentes nos compostos das séries.⁵⁶ Os valores obtidos são apresentados na Tabela III.15, parte experimental e na Tabela IV.5.

Tabela IV.5: Valores de $\log P_{app}$ determinados por *shake-flask*^(a) e valores de $\log P_{calc}$ obtidos por cálculo^(b) para a série I (compostos I.1 a I.9).

Nº do composto	-X	$\log P_{app}$	$\log P_{calc}$	Δ
I.1	4-H	$-0,38 \pm 0,07$	1,625	2,00
I.2	4-CH ₃	$0,25 \pm 0,01$	2,124	1,87
I.3	4-OCH ₃	$-0,26 \pm 0,10$	1,845	2,10
I.4	4-OCH ₂ CH ₃	$0,29 \pm 0,02$	2,374	2,08
I.5	-F	$-0,09 \pm 0,04$	1,844	1,93
I.6	-Br	$1,09 \pm 0,01$ (0,59 ^(c))	2,564	1,47 (1,97)
I.7	-NO ₂	$-0,53 \pm 0,04$	1,530	2,06
I.8	-CN	$-0,98 \pm 0,02$ (-0,82 ^(c))	1,234	2,21 (2,05)
I.9	-OH	$-0,58 \pm 0,03$	1,499	2,08

^(a) Os valores de $\log P_{app}$ foram obtidos para o sistema 1-octanol/água (tampão trizma pH = 7,40 e $\mu = 0,1$ M (ajustada com adição de NaCl) em sala com temperatura ajustada e mantida constante a (23 ± 1) °C), como descrito no item III.2.3, parte experimental.

^(b) Valores de coeficiente de partição calculado, obtidos pelo programa CLOGP, versão 1.0.0. para Windows (1995), Biobyte, USA.

^(c) Valores estimados pela equação apresentada na Figura IV.10.

Para a série I (compostos I.1 a I.9) os valores de $\log P_{calc}$, apresentaram uma faixa de variação de 1,065, sendo o composto I.6 (X = 4-Br; $\log P_{calc} = 2,564$) o que apresenta maior caráter lipofílico e, o composto I.9 (X = 4-OH; $\log P_{calc} = 1,499$) o que apresenta menor caráter lipofílico. Para a série II (compostos II.1 a II.6) os valores de $\log P_{calc}$, apresentaram uma faixa de variação de 0,939, sendo o composto II.6 (X = 4-Br; $\log P_{calc} = 4,970$), o que apresenta maior caráter lipofílico e, o composto II.1 (X = 4-H; $\log P_{calc} = 4,031$), o que apresenta menor caráter lipofílico.

Embora os valores absolutos de $\log P_{calc}$ não forneçam diretamente informações sobre a lipofilicidade dos compostos das séries I (ionizáveis) e II (iônicos), comparando-se os valores de $\log P_{calc}$, passando-se da série I para a série II observa-se um aumento de aproximadamente duas unidades (2,406). Esta variação é constante e é maior do que o valor

esperado pela introdução de um grupamento metila, que seria de 0,56 (π_{CH_3}) ou de 0,701 (f_{CH_3}) ao se passar da série I para a série II.

Considerando-se que na obtenção dos valores de $\log P_{calc}$ não são incluídas nem a contribuição hidrofóbica da porção ionizável/iônica para partição e nem a natureza e carga do contra-íon, pode-se sugerir que a variação observada seja atribuída à diminuição da superfície de acesso ao solvente com relação ao átomo de nitrogênio para os compostos da série II, que apresentam os valores mais altos de $\log P_{calc}$.

Para cada composto da série I, os valores do coeficiente de partição aparente ($\log P_{app}$) foram determinados experimentalmente, pelo método *shake-flask*, procedendo-se como descrito no item III.2.3, parte experimental. Todas as determinações foram feitas em duplicata (com exceção do compostos **I.1**, que teve a medida realizada em quadruplicata) e a média foi considerada como valor verdadeiro. A dispersão dos valores foi analisada através do desvio padrão, sendo este de no máximo 0,1. O efeito da variação da concentração para a partição não foi avaliado. E, os valores obtidos são apresentados na Tabela III 17, parte experimental e na Tabela IV.2.

Como pode ser observado na Tabela IV.2, para os compostos da série I os valores de $\log P_{app}$, apresentaram uma faixa de variação de 1,09 a -0,98 unidades. Sendo o composto **I.6** (X = 4-Br) o mais lipofílico com valor de $\log P_{app} = 1,09$ e o composto **I.8** (X = 4-CN) o mais hidrofílico com valor de $\log P_{app} = -0,98$.

Para os compostos da série I, os valores observados para $\log P_{app}$ são menores do que os correspondentes $\log P_{calc}$. Esta constatação pode ser explicada, levando-se em conta que os compostos da série I contem grupo dimetilamino ionizável ($\sim pK_a = 11$) e que $\log P_{app}$ considera o equilíbrio ácido-base na partição, aspecto apresentado e discutido na introdução deste trabalho. Assim, pode-se afirmar que os valores de $\log P_{app}$ determinados incluem uma correção da ionização para partição. E, no valor de pH no qual os experimentos foram realizados (pH = 7,40), as contribuições hidrofóbicas tanto das formas ionizada como não ionizada, foram consideradas. Por outro lado, os valores de $\log P_{calc}$ obtidos pelo programa CLOGP não incluem a contribuição dos fragmentos ionizáveis para a partição.

Uma comparação entre os valores de $\log P_{app}$ e $\log P_{calc}$, torna-se interessante. Assim, na Tabela IV.5, a contribuição da ionização para a partição, analisada através do valor de Δ ,

é praticamente constante dentro do erro experimental e, aproximadamente igual a 2,0, exceto para os compostos **I.6** ($\Delta = 1,47$; X = 4-Br) e **I.9** ($\Delta = 2,21$; X = 4-CN).

Assumindo-se que todos os compostos da série I apresentam a mesma estrutura fundamental e que o efeito eletrônico transmitido pelo substituinte não proporciona variação significativa nos valores de pK_a dos compostos da série, esta constatação revela que para estes dois substituintes interações hidrofóbicas específicas são observadas.

Considerando-se que os compostos da série I são flexíveis e que apresentam grupos polares (grupo carbonila, $RR'C=O$ e dimetilamônio, $R'-N(CH_3)_2H^+$) separados por dois grupos metilênicos, interações intramoleculares poderiam estar presentes podendo causar alteração no valor do coeficiente de partição desses compostos. Este efeito poderia ser observado, principalmente, para compostos contendo substituintes com grande caráter aceitor/doador de elétrons, o que poderia estar sendo observado no composto **I.7** (X = 4-CN; $\sigma_p = 0,66$), mas não se aplica ao composto **I.6** (X = 4-Br) apresentando valor de $\sigma_p = 0,23$.

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

A validação dos valores π_{exp} para utilização em estudos de *QSAR* envolvendo os composto de **I.1** a **I.9**, série I, foi realizada pelas correlações: π_{exp} vs π e, π_{exp} vs $\log P_{calc}$ expressas pelas equações IV.1 e IV.2.

$$\pi_{exp} = +1,13(\pm 0,36)\pi + 0,20(\pm 0,17) \quad \text{equação IV.1}$$

$$(n = 9; r = 0,94; s = 0,22; F = 55,63; Q^2 = 0,74; s_{PRESS} = 0,33)$$

$$\pi_{exp} = +1,06(\pm 0,30)\log P_{calc} - 1,75(\pm 0,56) \quad \text{equação IV.2}$$

$$(n = 7; r = 0,97; s = 0,09; F = 80,93; Q^2 = 0,84; s_{PRESS} = 0,15)$$

Assim as correlações significativas observadas nas equações IV.1 e IV.2, validam a utilização dos valores de π_{exp} como descritores das interações hidrofóbica de grupos substituintes para os compostos da série I.

Analogamente a validade da utilização em análises de *QSAR* de $\log P_{app}$, como parâmetro estrutural descritor da lipossolubilidade de cada composto da série I foi verificada pela análise das correlações entre os valores de $\log P_{app}$ determinados experimentalmente e os correspondentes valores de π de Hansch-Fujita e $\log P_{calc}$, respectivamente retirados da literatura⁴⁵ e obtido pelo programa CLOGP. As correlações obtidas entre os valores de $\log P_{app}$ e π , bem como entre $\log P_{app}$ e $\log P_{calc}$ são expressas pelas equações de correlação e pelos gráficos apresentados nas Figuras IV.9 e IV.10, respectivamente.

$$\log P_{app} = +1,13(\pm 0,36)\pi - 0,18(\pm 0,17)$$

$$(n = 9; r = 0,94; s = 0,22; F = 55,63; Q^2 = 0,74; s_{PRESS} = 0,33)$$

Figura IV.9: Gráfico e equação de correlação para os valores de $\log P_{app}$, determinados por *shake-flask*, no sistema 1-octanol/água (tampão trizma pH = 7,40 e $\mu = 0,1$ M (NaCl)) e temperatura (23±1) °C),^{16, 62, 63, 31, 17} em função de π , retirado da literatura, para os compostos I.1 a I.9, série I.

$$\log P_{app} = 1,06(\pm 0,30)\log P_{calc} - 2,13(\pm 0,56)$$

$$(n = 7; r = 0,97; s = 0,09; F = 80,93; Q^2 = 0,84; s_{PRESS} = 0,15)$$

Figura IV.10: Gráfico e equação de correlação para os valores de $\log P_{app}$ determinados por shake-flask, no sistema 1-octanol/água (tampão trizma pH = 7,40 e $\mu = 0,1$ M (NaCl)) e temperatura (23 ± 1) °C), ^{16, 62, 63, 31, 17} em função de $\log P_{calc}$, para os compostos série I.

De modo análogo, as correlações significativas observadas entre os valores de $\log P_{app}$, obtidos para compostos, série I, e, os seus correspondentes valores da constante π da literatura ⁴⁵ bem como as correlações significativas observadas com os seus respectivos valores de $\log P_{calc}$, validam a utilização de $\log P_{app}$ como parâmetro descritor da lipofilicidade para os compostos da série I, incluindo uma correção devida à contribuição da ionização dos compostos para a partição. Assim, para a série I os valores de $\log P_{app}$ podem ser utilizados como parâmetro estrutural descritor da lipolicidade em análises de QSAR. ^{62, 31, 57}

Nas equações de validação é necessário que as mesmas apresentem tanto validade estatística bem como coeficiente angular com valor próximo da unidade. Assim, torna-se necessário considerar $n = 7$, para a equação IV.2 e para a equação da Figura IV.10. Valores estimados por estes modelos são usados para os compostos não considerados nas correlações e são apresentados nas Tabelas IV.4 e IV.5.

Os valores de logaritmo do coeficiente de partição, $\log P$, para os compostos da série II, não puderam ser obtidos pelo método *shake-flask* (frasco agitado) utilizando-se o sistema 1-octanol/trizma (pH=7,40 e $\mu=0,1$ M (NaCl)) devido a rápida decomposição de iodetos de 3-(trimetilamino)-propiofenona-substituídos. Este comportamento já havia sido

anteriormente relatado,²⁶ em estudos de estabilidade, em água, realizados à temperatura ambiente.

IV.4.2. Parâmetros eletrônicos

Inicialmente, como parâmetros eletrônicos para os compostos das séries I e II foram utilizados, os correspondentes valores das constantes de grupo substituinte tipo Hammett (σ_p , σ_p^+ , σ_p^- , σ_I e σ_R) e de Swain-Lupton ($\mathfrak{S}$ e $\mathfrak{R}$), retiradas da literatura.⁴⁵ Estas foram apresentadas e discutidas no capítulo I (introdução).

Para cada uma das constantes de grupo substituinte tipo Hammett estudadas neste trabalho, são apresentadas na Tabela IV.6. as respectivas faixas de variação, conforme discutido, anteriormente, no item IV.2.

Tabela IV.6: Faixas de variação dos valores das constantes de grupo substituinte tipo Hammett (σ_p , σ_p^+ , σ_p^- , σ_I e σ_R) e de Swain-Lupton ($\mathfrak{S}$ e $\mathfrak{R}$), retiradas da literatura,⁴⁵ e, utilizadas como parâmetros eletrônicos para os compostos da série I (compostos I.1 a I.9) e da série II (compostos II.1 a II.6).

Constante eletrônica de grupo substituinte	Série I			Série II		
	Maior valor (grupo substituinte)	Menor valor (grupo substituinte)	$[\Delta]^{(a)}$	Maior valor (grupo substituinte)	Menor valor (grupo substituinte)	$[\Delta]^{(b)}$
σ_p	0,78 (4-NO ₂)	-0,37 (4-OH)	1,15	0,23 (4-Br)	-0,27 (4-OCH ₃)	0,50
σ_p^+	0,79 (4-NO ₂)	-0,92 (4-OH)	1,71	0,15 (4-Br)	-0,81 (4-OCH ₂ CH ₃)	0,96
σ_p^-	1,27 (4-NO ₂)	-0,37 (4-OH)	1,64	0,25 (4-Br)	-0,28 (4-OCH ₂ CH ₃)	0,53
σ_I	0,64 (4-NO ₂)	-0,04 (4-OCH ₃)	0,68	0,52 (4-F)	-0,04 (4-CH ₃)	0,56
σ_R	0,15 (4-NO ₂)	-0,48 (4-F)	0,63	0 (4-H)	-0,48 (4-F)	0,48
$\mathfrak{S}$	0,65 (4-NO ₂)	0 (4-H)	0,65	0,45 (4-F/4-Br)	0 (4-H)	0,45
$\mathfrak{R}$	0,15 (4-CN)	-0,70 (4-OH)	0,85	0 (4-H)	-0,56 (4-CH ₃)	0,56

^(a) Diferença entre o maior e o menor valor de constante de grupo substituinte para os compostos da série I.

^(b) Diferença entre o maior e o menor valor de constante de grupo substituinte para os compostos da série II.

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

Como parâmetro eletrônico experimental para os compostos das séries I e II, foram utilizados os valores do deslocamento químico do carbono carbonílico ($\delta^{13}C=O$), retirados dos espectros de RMN ^{13}C , obtidos em DMSO- d_6 na concentração de aproximadamente 0,1 M, tomando como referência o sinal central do setpleto obtido para o DMSO- d_6 (39,70 ppm), e procedendo-se como descrito no item III.3.2, parte experimental.

A precisão de cada medida foi considerada e expressa pelo erro sistemático de $\pm 0,01$ ppm, de acordo com as especificações fornecidas pelo catálogo do equipamento. O efeito da concentração sobre os valores de $\delta^{13}C=O$ para os compostos das séries I e II foi avaliado por meio do comportamento frente à variação na concentração para três compostos selecionados para a série I, a saber: **I.1** (X = 4-H), **I.3** (X = 4-OCH₃) e **I.7** (X = 4-NO₂). E, dois compostos selecionados para a série II, a saber: **II.1** (X = 4-H) e **II.3** (X = 4-OCH₃). Esta análise foi feita procedendo-se como descrito no item III.3.2, realizando-se as medidas em três concentrações, a saber: 0,05, 0,1 e 0,15 M. O composto **II.1** (X = 4-H) não se mostrou solúvel em DMSO- d_6 , na concentração de 0,15 M. Os valores de $\delta^{13}C=O$ permaneceram constantes dentro do erro sistemático de $\pm 0,01$ ppm.

Os valores observados de $\delta^{13}C=O$ para as séries I e II estão apresentados respectivamente nas Tabelas III.18 e III.19, parte experimental. A comparação entre os valores de $\delta^{13}C=O$ obtidos para os compostos das série I e II, mostra que os compostos da série I absorvem aproximadamente 0,5 ppm em campo mais baixo do que os compostos da série II.

Como se observa na Tabela III.18, para os compostos da série I os valores de $\delta^{13}\text{C}=\text{O}$ apresentaram uma faixa de variação de 1,96 ppm. O maior valor foi encontrado para o composto **I.1** (X = 4-H; 196,95 ppm), enquanto o menor valor foi observado para o composto **I.9** (X = 4-OH; 194,99 ppm). O composto **I.1** (X = 4-H) apresenta o átomo de carbono carbonílico mais desblindado da série, ou seja, absorve em campo mais baixo, 196,95 ppm. E, o composto **I.9** (X = 4-OH) apresenta o átomo de carbono carbonílico menos desblindado da série, ou seja, absorve em campo mais alto, 194,99 ppm. Tanto os valores observados de $\delta^{13}\text{C}=\text{O}$, bem como a faixa de variação de 1,96 ppm estão de acordo com dados da literatura considerando-se acetofenonas 4-substituídas em CDCl_3 .⁷⁵

Como se observa na Tabela III.19, para os compostos da série II os valores de $\delta^{13}\text{C}=\text{O}$, apresentaram uma faixa de variação de 1,77 ppm. O maior valor foi encontrado para o composto **II.1** (X = 4-H; 196.46 ppm), enquanto o menor valor foi observado para o composto **II.4** (X = 4-OCH₂CH₃; 194.69 ppm). O composto **II.1** (X = 4-H) apresenta o átomo de carbono carbonílico mais desblindado da série, ou seja, absorve em campo mais baixo, 196.46 ppm. E, o composto **II.4** (X = 4-OCH₂CH₃) apresenta o átomo de carbono carbonílico menos desblindado da série, ou seja, absorve em campo mais alto, 194.69 ppm. Tanto os valores observados de $\delta^{13}\text{C}=\text{O}$, bem como a faixa de variação de 1,77 ppm estão de acordo com dados da literatura considerando-se acetofenonas 4-substituídas em CDCl_3 .⁷⁵

Os valores mais altos de $\delta^{13}\text{C}=\text{O}$ observados para os compostos da série I, podem ser explicados considerando-se que estes são flexíveis e diferentemente dos compostos da série II, apresentam grupos polares, $[\text{-N}(\text{CH}_3)_2\text{H}]^+\text{Cl}^-$ e $\text{C}=\text{O}$, capazes de interagir por meio de ligação de hidrogênio. A ligação de hidrogênio intramolecular presente nos compostos da série I poderia estar acarretando na desblindagem do carbono carbonílico, causando o aparecimento de sinal em campo mais baixo, relativamente aos compostos da série II.

Os valores da posição da banda de absorção do grupo carbonila ($\nu_{\text{C}=\text{O}}$) (em cm^{-1}) na região do I.V. também foram utilizadas como parâmetro eletrônico experimental, para os compostos das séries I e II.

Estas foram obtidas, de forma sistemática, em solução de DMSO, na concentração de aproximadamente 2×10^{-2} M, procedendo-se como descrito no item III.3.3. Os valores

da banda de absorção do grupo carbonila obtidos para os compostos das séries I e II, apresentaram traçado simétrico, o que facilitou a determinação das suas posições exatas no espectro. ^{76, 31, 77, 30}

A precisão nas medidas de $\nu_{C=O}$ (cm^{-1}) foi avaliada pelo desvio padrão calculado a partir de três repetições na medida de $\nu_{C=O}$ efetuadas para o composto **I.1** ($X = 4\text{-H}$). Este foi de $\pm 0,09$ e considerado constante para os compostos das séries I e II.

O efeito de concentração no valor de $\nu_{C=O}$ (cm^{-1}), para os compostos **I.1** ($X = 4\text{-H}$), **I.3** ($X = 4\text{-OCH}_3$) e **I.7** ($X = 4\text{-NO}_2$) e para os compostos **II.1** ($X = 4\text{-H}$) e **II.3** ($X = 4\text{-OCH}_3$), foi avaliado realizando-se a medida dos valores de $\nu_{C=O}$ (cm^{-1}) em três concentrações, a saber: 1×10^{-2} , 2×10^{-2} e 4×10^{-2} M, procedendo-se como descrito no item III.3.3. Os valores de $\nu_{C=O}$ (cm^{-1}) permaneceram constantes dentro do erro experimental.

Os valores observados de $\nu_{C=O}$ para as séries I e II estão apresentados respectivamente nas Tabelas III.18 e III.19, parte experimental, e Tabela IV.7. Estes estão de acordo com valores descritos na literatura considerando-se acetofenonas 4-substituídas.

Tabela IV.7: Valores^(a) da posição da banda de absorção do grupo carbonila, $\nu_{C=O}$ (cm^{-1}) obtidos para os compostos das séries I e II.

-R	Série I			Série II			$\Delta\nu_{C=O}$ ^(d)
	N°	$\nu_{C=O}$	$\Delta\nu$ ^(b)	N°	$\nu_{C=O}$	$\Delta\nu$ ^(c)	
-H	I.1	1684,20 ^(e)	-	II.1	1684,87	-	0,67
-CH ₃	I.2	1680,04	-4,16	II.2	1680,08	-4,79	0,04
-OCH ₃	I.3	1674,90	-9,30	II.3	1674,88	-9,99	0,02
-OC ₂ H ₅	I.4	1674,43	-9,77	II.4	1675,30	-9,57	-0,87
-F	I.5	1684,97	+0,77	II.5	1684,91	0,04	0,06
-Br	I.6	1685,81	+1,61	II.6	1684,90	0,03	0,91
-NO ₂	I.7	1692,84	+8,64				
-CN	I.8	1691,81	+7,61				
-OH	I.9	1670,34	-13,86				

^(a) Valores determinados de forma sistemática, em solução de DMSO, na concentração de aproximadamente 2×10^{-2} M, procedendo-se como descrito no item III.3.3, parte experimental.

^{(b) (c)} Diferença entre os valores de $\nu_{C=O}$ para o composto substituído e o não substituído.

^(d) Diferença entre os valores $\nu_{C=O}$ dos compostos da série I e correspondentes compostos da série II.

^(e) Valor médio e desvio padrão, observados para 3 repetições na medida de $\nu_{C=O}$.

Para os compostos da série I, os valores de $\nu_{C=O}$ apresentaram uma faixa de variação de $22,5 \text{ cm}^{-1}$. O maior valor foi encontrado para o composto I.7 ($X = 4\text{-NO}_2$; $1692,84 \text{ cm}^{-1}$), enquanto o menor valor foi atribuído ao composto I.9 ($X = 4\text{-OH}$; $1670,34 \text{ cm}^{-1}$).

Para os compostos da série II os valores de $\nu_{C=O}$, apresentaram uma faixa de variação de $10,03 \text{ cm}^{-1}$. O maior valor foi encontrado para o composto II.5 ($X = 4\text{-F}$; $1684,91 \text{ cm}^{-1}$), enquanto o menor valor foi atribuído ao composto II.3 ($X = 4\text{-OCH}_3$; $1674,88 \text{ cm}^{-1}$).

Como pode ser observado nas Tabela IV.7, para as duas séries, grupos substituintes aceptores de elétrons ($\sigma_p > 0$) deslocam a posição de absorção do grupo carbonila para

valores mais altos de frequência em cm^{-1} , em relação ao composto não substituído para as séries I e II. Deslocamento oposto é observado para grupos substituintes eletrodoadores ($\sigma_p < 0$).

Para o mesmo grupo substituinte, observa-se que os valores de $\nu_{\text{C=O}}$ (cm^{-1}), determinados para os compostos **I.1** a **I.6**, série I, são iguais dentro do erro experimental aos correspondentes da série II, com exceção dos compostos **I.1** ($X = 4\text{-H}$; $\Delta = 0,67$), **I.4** ($X = 4\text{-OCH}_2\text{CH}_3$; $\Delta = -0,87$) e, **I.6** ($X = 4\text{-Br}$; $\Delta = 0,91$). No entanto, a falta de valores correspondentes aos compostos com grupos fortemente eletroaceptores (4-CN ; 4-NO_2) prejudica a análise comparativa entre as duas séries.

Para os compostos das séries I e II, a validade de se utilizar como descritores do(s) efeitos(s) eletrônico(s) transmitido(s) pelo substituinte parâmetros espectroscópicos foi verificada através da aplicação e análise da equação tipo-Hammett simples e expandida aos valores de, respectivamente, $\delta_{13\text{C=O}}$ e $\nu_{\text{C=O}}$, e os correspondentes valores das constantes de grupo substituinte tipo Hammett (σ_p , σ_p^+ , σ_p^- , σ_I e σ_R) e $\mathfrak{S}$ e $\mathfrak{R}$ de Swain-Lupton, retirados da literatura,⁴⁵ com o objetivo de avaliar a natureza e contribuição do(s) efeito(s) eletrônico(s) transmitido(s) pelo substituinte sobre a polaridade da carbonila.

Para a série I, as correlações mais significativas são expressas pelas equações de correlação e pelos gráficos apresentados nas Figura IV.11, IV.12 e IV.13. Os valores de $\delta_{13\text{C=O}}$ e de $\nu_{\text{C=O}}$, respectivamente não foram normalizados para a obtenção das correlações.

$$\delta^{13}_{\text{C=O}} = -1,30(\pm 0,89)\Sigma + 2,05(\pm 0,64)\mathcal{R} + 196,80(\pm 0,40)$$

$$(n = 9; r = 0,96; s = 0,22; F = 33,18; Q^2 = 0,85; s_{\text{PRESS}} = 0,29)$$

Figura IV.11: Valores de deslocamento químico do carbono carbonílico ($\delta^{13}_{\text{C=O}}$) em *ppm*, em solução de DMSO-*d*₆, em função dos valores das constantes de substituintes Σ e $\mathcal{R}$ de Swain-Lupton,⁴⁵ para os compostos da série I.

Para as correlações obtidas entre $\delta^{13}_{\text{C=O}}$ vs Σ e $\mathcal{R}$, para os compostos da série I, apresentadas na Figura IV.11, a suscetibilidade de $\delta^{13}_{\text{C=O}}$ ao efeito de campo/indutivo (Σ) e ao efeito de ressonância ($\mathcal{R}$) é respectivamente de -1,30 e +2,05.

$$\nu_{\text{C=O}} = +11,78(\pm 9,32)\rho + 21,58(\pm 6,63)\sigma + 1684,00(\pm 4,21)$$

$$(n = 9; r = 0,97; s = 2,31; F = 42,97; Q^2 = 0,88; s_{\text{PRESS}} = 3,18)$$

Figura IV.12: Valores da posição da banda de absorção do grupo carbonila ($\nu_{\text{C=O}}$) (cm^{-1}) na região do I.V., obtidos em solução de DMSO, em função de ρ e σ de Swain-Lupton,⁴⁵ para os compostos da série I.

Para as correlações obtidas entre $\nu_{\text{C=O}}$ vs ρ e σ , para os compostos da série I, apresentadas na Figura IV.12, a suscetibilidade de $\nu_{\text{C=O}}$ ao efeito de campo/indutivo (ρ) e ao efeito de ressonância (σ) é respectivamente de +11,78 e +21,58.

$$\nu_{\text{C=O}} = +12,41(\pm 1,61)\sigma_p^+ + 1684,00(\pm 0,97)$$

$$(n = 9; r = 0,99; s = 1,20; F = 333,36; Q^2 = 0,96; s_{\text{PRESS}} = 1,61)$$

Figura IV.13: Valores das posições da banda de absorção do grupo carbonila ($\nu_{\text{C=O}}$) (cm^{-1}) na região do I.V., obtidos em solução de DMSO, em função dos valores de σ_p^+ ,⁴⁸ para os compostos da série I.

A suscetibilidade (+12,41) de $\nu_{\text{C=O}}$ à constante de substituinte σ_p^+ , referente aos compostos da série I, apresentadas na Figura IV.13, pode ser aferida a uma conjugação estendida.

Do mesmo modo, para os compostos da série II foram verificadas as correlações entre os valores dos parâmetros espectroscópicos obtidos experimentalmente, $\delta_{13\text{C=O}}$ e $\nu_{\text{C=O}}$, e os correspondentes valores das constantes de grupo substituinte tipo Hammett (σ_p , σ_p^+ , σ_p^- , σ_I , σ_R , $\mathfrak{J}$ e $\mathfrak{R}$), retirados da literatura⁴⁵ com o objetivo de avaliar a natureza e contribuição do(s) efeito(s) eletrônico(s) transmitido(s) pelo substituinte sobre a polaridade da carbonila.

As correlações mais significativas são expressas pelas equações de correlação e pelos gráficos apresentados nas Figuras IV.14 e IV.15. Os valores de $\delta_{13\text{C=O}}$ e de $\nu_{\text{C=O}}$, respectivamente não foram normalizados para a obtenção das correlações.

Observa-se pela análise da equação IV.3, que o termo relativo à constante de substituinte $\mathfrak{J}$ de Swain e Lupton é estatisticamente não significativo, justificando a retirada deste termo, resultando na equação apresentada na Figura IV.14. Esta indica que os valores

de $\delta^{13}_{C=O}$ para os compostos da série II, são influenciados pelo efeito eletrônico de ressonância ($\mathcal{R}$) transmitido pelos substituintes, sendo o termo relativo ao efeito de campo/indutivo ($\mathcal{I}$) não significativo.

$$\delta^{13}_{C=O} = -0,29(\pm 0,95)\mathcal{I} + 3,16(\pm 0,90)\mathcal{R} + 196,50(\pm 0,28) \quad \text{equação IV.3}$$

$$(n = 6; r = 0,99; s = 0,11; F = 99,66; Q^2 = 0,95; s_{PRESS} = 0,21)$$

$$\delta^{13}_{C=O} = +3,31(\pm 0,65)\mathcal{R} + 196,40(\pm 0,24)$$

$$(n = 6; r = 0,99; s = 0,11; F = 200,01; Q^2 = 0,95; s_{PRESS} = 0,18)$$

Figura IV.14: Valores de deslocamento químico do carbono carbonílico ($\delta^{13}_{C=O}$) em *ppm*, em solução de DMSO-*d*₆, em função da constante $\mathcal{R}$ de Swain-Lupton,⁴⁵ para os compostos da série II.

Para as correlações obtidas entre $\delta^{13}_{C=O}$ vs $\mathcal{R}$, para os compostos da série II, apresentadas na Figura IV.14, a suscetibilidade de $\delta^{13}_{C=O}$ ao efeito de ressonância ($\mathcal{R}$) é de +3,31.

$$\nu_{\text{C=O}} = +11,56(\pm 3,16)\sigma_p^+ + 1684,00(\pm 1,52)$$

$$(n = 6; r = 0,98; s = 1,04; F = 103,49; Q^2 = 0,92; s_{\text{PRESS}} = 1,53)$$

Figura IV 15: Valores das posições da banda de absorção do grupo carbonila ($\nu_{\text{C=O}}$) (cm^{-1}) na região do I.V., obtidos em solução de DMSO- d_6 , em função dos valores de σ_p^+ ,⁴⁵ para os compostos da série II.

A suscetibilidade (+11,56) de $\nu_{\text{C=O}}$ à constante de substituinte σ_p^+ , referente aos compostos da série II, apresentadas na Figura IV.15, pode ser aferida a uma conjugação estendida e está de acordo em sinal e módulo com equação análoga obtida para os compostos da série I e apresentada na Figura IV.13.

Para os compostos da série I, as correlações significativas observadas nas Figuras IV.11, IV.12 e IV.13, respectivamente entre $\delta_{13\text{C=O}}$ e $\mathfrak{I}/\mathfrak{R}$; $\nu_{\text{C=O}}$ e $\mathfrak{I}/\mathfrak{R}$; e, $\nu_{\text{C=O}}$ e σ_p^+ , validam a utilização tanto de $\delta_{13\text{C=O}}$ quanto de $\nu_{\text{C=O}}$ como descritores do(s) efeito(s) eletrônico(s) transmitido(s) pelo substituinte. Assim, para a série I, tanto os valores de $\delta_{13\text{C=O}}$ quanto de $\nu_{\text{C=O}}$ poderão ser utilizados como descritores estruturais do(s) efeito(s) eletrônico(s) transmitido(s) pelo substituinte em análises de QSAR.

Para os compostos da série II, as correlações significativas observadas nas Figuras IV.14 e IV.15, respectivamente entre $\delta_{13\text{C=O}}$ e $\mathfrak{R}$ e, $\nu_{\text{C=O}}$ e σ_p^+ , validam a utilização dos valores tanto de $\delta_{13\text{C=O}}$ quanto de $\nu_{\text{C=O}}$ como descritores do(s) efeito(s) eletrônico(s) transmitido(s) pelo substituinte para os compostos da série II. Assim, para esta série de

compostos estes parâmetros poderão ser utilizados como descritores estruturais do(s) efeito(s) eletrônico(s) transmitido(s) pelo substituinte em análises de *QSAR*.

IV.4.3. Parâmetro relativo à polarizabilidade

O valor de MR é diretamente relacionado com a polarizabilidade molecular, podendo expressar em estudos de *QSAR* interações dispersivas entre o fármaco/ligante e o receptor.^{18, 32} Por outro lado, pode-se considerar que a refratividade molar pode expressar também interações de naturezas estérica e hidrofóbica.^{55, 41, 44, 18, 32} Assim, torna-se de grande importância uma escolha adequada dos substituintes que constituem a série, conforme discutido no item IV.2.

Como parâmetro relativo à polarizabilidade dos grupos substituintes para os compostos das séries I e II, foram utilizados os valores de refratividade molar de grupo substituinte na posição 4 do anel aromático (MR₄), retirados da literatura.⁴⁵

Para os compostos da série I os valores de MR₄ apresentaram uma faixa de variação de 1,155 unidades. O maior valor foi encontrado para X = 4-OCH₂CH₃ (compostos **I.4**), enquanto o menor valor foi observado para X = 4-F (composto **I.5**).

Para os compostos da série II os valores de MR₄ apresentaram uma faixa de variação de 1,155 unidades. O maior valor MR₄ foi encontrado para X = 4-OCH₂CH₃ (composto **II.4**), enquanto o menor valor foi observado para X = 4-F (composto **II.5**).

Nas equações de correlação para análise de *QSAR* os valores de MR₄ foram multiplicados por 0,1.

IV.4.4. Parâmetro biológico

A citotoxicidade foi expressa pelo valor médio do índice de citotoxicidade 50%, IC₅₀, expresso em µM,⁶⁹ que foi obtido como descrito no item III.5, parte experimental. IC₅₀ foi avaliado, para os compostos respectivamente, **I.1** a **I.9** (série I) e **II.1** a **II.6** (série II) e, foi considerado como parâmetro biológico. A dispersão, em torno dos valores médios do IC₅₀ (µM) obtidos para cada um dos compostos das séries I e II, foi analisada pelos

respectivos valores de desvio padrão. Para as séries estudadas, estes foram menores que 20% dos valores médios do IC_{50} (μM).

Para fins de correlação, a atividade biológica de cada composto foi expressa pela potência biológica, $\log(1/IC_{50})$, sendo o valor de IC_{50} expresso em μM , multiplicado por 0,0001.⁵⁹

Para os compostos I.1 a I.9 (série I), foi observada uma pequena variação no valor da potência biológica ($\log(1/IC_{50})$) igual a 0,75. O composto I.1 (X = 4-H) apresenta o menor valor de $\log(1/IC_{50}) = 1,37$ enquanto que o composto I.8 (X = 4-CN) apresenta o maior valor de $\log(1/IC_{50}) = 2,12$.⁵⁹

Para os compostos II.1 a II.6 (série II) observou-se que a variação no valor da potência biológica ($\log(1/IC_{50})$) foi de 0,61. O composto II.5 apresenta o menor valor de $\log(1/IC_{50}) = 1,46$ enquanto que o composto II.4 apresenta o maior valor de $\log(1/IC_{50}) = 2,07$.

Os experimentos de citotoxicidade para os compostos das séries I e II foram realizados pela pesquisadora MSc Sizue Otta Rogero, do Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, São Paulo.

Os valores do índice de citotoxicidade 50%, IC_{50} expressos em μM , e os correspondentes valores de desvio padrão e de $\log(1/IC_{50})$, sendo IC_{50} expresso em μM e, multiplicado por 0,0001, obtidos para os compostos das séries I e II, são apresentados na Tabela III.20, parte experimental.

IV.5. Análise das regressões obtidas para estudos de QSAR

A abordagem de QSAR desenvolvida por Hansch e Fujita⁴⁰ foi utilizada para avaliar a(s) natureza(s) e contribuição(ões) relativa(s) dos parâmetros físico-químicos/estruturais nas séries de cloretos de 3-(dimetilamino)-propiofenonas-4-X-substituídas (compostos I.1 a I.9, série I) e de iodetos de 3-(trimetilamino)-propiofenonas-4-X-substituídas (compostos II.1 a II.6, série II) responsáveis pela citotoxicidade, determinada como descrito no item III.5, parte experimental.

Em seguida, as duas séries foram analisadas conjuntamente, através da utilização da *abordagem mista* proposta por Kubinyi,^{55, 62, 63, 53} Esta abordagem considera a citotoxicidade descrita tanto por parâmetros físico-químicos/estruturais bem como por determinada característica estrutural, não possível de ser descrita, somente por parâmetros e que diferencia as séries estudadas.

Estão apresentados na Tabela IV.8, para os cloretos de 3-(dimetilamino)-propiofenonas-4-X-substituídas (série I, compostos **I.1** a **I.9**) e para os iodetos de 3-(trimetilamino)-propiofenonas-4-X-substituídas (série II, compostos **II.1** a **II.6**), os valores da potência citotóxica, $\log(1/IC_{50})$, e, os correspondentes valores dos parâmetros físico-químicos/estruturais utilizados nas regressões, respectivamente: lipofílicos (π e $\log P_{calc}$), eletrônicos (σ_p , σ_p^+ , σ_p^- , σ_I , σ_R , $\mathfrak{J}$, $\mathfrak{R}$, $\delta_{13C=O}$ e $\nu_{C=O}$) e aquele relativo à polarizabilidade (MR_4). Os valores do parâmetro lipofílico $\log P_{app}$, determinados experimentalmente foram somente considerados na análise dos compostos da serie I.

Tabela IV.8: Valores de potência citotóxica, $\log(1/IC_{50})$, dos parâmetros físico-químicos/estruturais utilizados nas regressões para as análises de *QSAR* e, da variável indicadora, $I_{cN^+}(CH_3)_3I^-$, para os compostos das série I e II.

Substituinte (Composto)	$\log(1/IC_{50})$ (a)	δ_{asc-o} (b)	$\nu_{C=O}$ (c)	σ_p (d)	σ_p^+ (d)	σ_p^- (d)	σ_I (d)	σ_R (d)	Σ (d)	$\mathcal{R}$ (d)	π (e)	$\log P_{calc}$ (f)	MR_4 (g)	$\log P_{app}$ (h)	$I_{cN^+}(CH_3)_3I^-$ (i)
4-H(L1)	1,37	196,95	1684,20	0	0	0	0	0	0	0	0	1,625	0,103	-0,37	0
4-CH3(L2)	1,38	196,42	1680,04	-0,17	-0,04	-0,14	-0,31	-0,17	0,01	-0,18	0,56	2,124	0,565	0,25	0
4-OCH3(L3)	2,09	195,26	1674,90	-0,27	0,27	-0,43	-0,78	-0,26	0,29	-0,56	-0,02	1,845	0,787	-0,26	0
4-OC2H5(L4)	1,58	195,23	1674,43	-0,24	0,28	-0,44	-0,81	-0,28	0,26	-0,5	0,38	2,374	1,247	0,29	0
4-F(L5)	1,71	195,58	1684,97	0,06	0,52	-0,48	-0,07	0,12	0,45	-0,39	0,14	1,844	0,092	-0,09	0
4-Br(L6)	1,4	196,22	1685,81	0,23	0,44	-0,19	0,15	0,25	0,45	-0,22	0,86	2,564	0,888	0,17	0
4-NO2(L7)	1,72	196,15	1692,84	0,78	0,64	0,15	0,79	1,27	0,65	0,13	-0,28	1,530	0,736	-0,53	0
4-CN(L8)	2,12	196,36	1691,81	0,66	0,53	0,08	0,66	1	0,51	0,15	-0,57	1,234	0,633	-0,98	0
4-OH(L9)	1,99	194,99	1670,34	-0,37	0,29	-0,43	-0,92	-0,37	0,33	-0,7	-0,67	1,499	0,285	-0,72	0
4-H(L1)	2,01	196,46	1684,87	0	0	0	0	0	0	0	0	4,031	0,103	-	1
4-CH3(L2)	1,59	195,91	1680,08	-0,17	-0,04	-0,14	-0,31	-0,17	0,01	-0,18	0,56	4,530	0,565	-	1
4-OCH3(L3)	2,05	194,74	1674,88	-0,27	0,27	-0,43	-0,78	-0,26	0,29	-0,56	-0,02	4,251	0,787	-	1
4-OC2H5(L4)	2,07	194,69	1675,30	-0,24	0,28	-0,44	-0,81	-0,28	0,26	-0,5	0,38	4,780	1,247	-	1
4-F(L5)	1,46	195,04	1684,91	0,06	0,52	-0,48	-0,07	0,12	0,45	-0,39	0,14	4,250	0,092	-	1
4-Br(L6)	1,58	195,69	1684,90	0,23	0,44	-0,19	0,15	0,25	0,45	-0,22	0,86	4,970	0,888	-	1

- (a) Valores de potência citotóxica determinados experimentalmente, em que IC_{50} é expresso em μM e multiplicado por 0,0001, para os compostos das séries I e II.
- (b) Valores retirados dos espectros de RMN ^{13}C , em DMSO - d_6 em relação ao pico central do septeto do DMSO - d_6 em 39,70 ppm, com precisão de $\pm 0,01$ ppm.
- (c) Valores retirados dos espectros obtidos na região do infravermelho em DMSO, com precisão de $\pm 0,09$ cm^{-1} .
- (d) Valores das constantes de substituintes tipo-Hammett, retirados da literatura.⁴⁵
- (e) Valores da constante hidrofóbica de substituinte de Hansch-Fujita, retirados da literatura.⁴⁵
- (f) Valores obtidos por cálculo, utilizando o programa CLOGP, versão 1.0.0., para windows, 1995, BioByte, USA.⁵⁶
- (g) Valores retirados da literatura, multiplicados por 0,1.
- (h) Valores de $\log P_{app}$ determinados pelo método do *shake-flask*, no sistema octanol/água (ampmão trizma, pH = 7,40 e $\mu = 0,10$ M (ajustada pela adição de NaCl) e à temperatura de $(23 \pm 1)^\circ C$), para a série I.
- (i) Variável Indicadora da presença do grupo - $N^+(CH_3)_3I^-$, assumindo o valor zero para os compostos ad série I e para série II o valor de 1.

IV.5.1. Análise da Intercorrelação dos parâmetros utilizados

Tabela IV.9: Matriz dos valores do coeficiente de correlação (*r*) obtidos nas intercorrelações dos parâmetros físico-químicos ($\log P_{app}$, $\log P_{calc}$, π , $\delta_{13C=O}$), incluídos nas equações IV.4 a IV.7, para os compostos da série I (*n* = 9).

	$\log P_{app}$	$\log P_{calc}$	π	$\delta_{13C=O}$
$\log P_{app}$	1,000	0,971	0,942	0,010
$\log P_{calc}$		1,000	0,931	0,110
π			1,000	0,206
$\delta_{13C=O}$				1,000

Tabela IV.10: Matriz dos valores do coeficiente de correlação (*r*) obtidos nas intercorrelações dos parâmetros físico-químicos (π , MR_4) e da variável indicadora (I) incluídos na equação IV.8, séries I e II (*n* = 15).

	π	MR_4	I
π	1,000	0,374	0,306
MR_4		1,000	0,027
I			1,000

IV.5.2. Equações de correlação obtidas para os compostos da série I

Para os compostos da série I, são expressas pelas equações IV.4 a IV.7, as melhores equações de correlação obtidas entre os valores dos parâmetros, respectivamente, lipofílicos (π e $\log P_{calc}$); eletrônicos (σ_p , σ_p^+ , σ_p^- , σ_I , σ_R , $\mathfrak{J}$, $\mathfrak{R}$, $\delta_{13C=O}$ e $\nu_{C=O}$) e aquele relativo à polarizabilidade (MR_4) e os valores da potência citotóxica ($\log(1/IC_{50})$), apresentados na Tabela IV.8.

Inicialmente, considerando-se a citotoxicidade descrita por um só parâmetro, constatam-se correlações significativas ao se utilizar parâmetros descritores da lipossolubilidade, expressos por π e $\log P_{app}$, sendo estes relativos, respectivamente ao substituinte e ao composto todo. Estas correlações apresentam, no entanto, valor do coeficiente de correlação de no máximo 0,76, sendo expressas pelas equações IV.4 e IV.5. Por outro lado, foi observada uma correlação estatisticamente não significativa ao se

utilizar $\log P_{\text{calc}}$ como parâmetro descritor da lipossolubilidade, tendo 63% da variância na atividade citotóxica explicada ($r = 0,63$).

$$\log(1/IC_{50}) = -0,45(\pm 0,35)\pi + 1,73(\pm 0,17) \quad \text{equação IV.4}$$

$$(n = 9; r = 0,76; s = 0,21; F = 9,67; Q^2 = 0,43; s_{\text{PRESS}} = 0,24)$$

$$\log(1/IC_{50}) = -0,34(\pm 0,32)\log P_{\text{app}} + 1,66(\pm 0,19) \quad \text{equação IV.5}$$

$$(n = 9; r = 0,68; s = 0,24; F = 6,02; Q^2 = 0,18; s_{\text{PRESS}} = 0,29)$$

A análise comparativa dos parâmetros estatísticos das equações IV.4 e IV.5 indica que a equação IV.4 é estatisticamente mais significativa embora, somente 76% da variância na atividade citotóxica tenha sido explicada ($r = 0,76$).

Numa segunda etapa, considerou-se a citotoxicidade descrita por todas as combinações possíveis de dois parâmetros, de diferentes naturezas. Deste modo, as correlações multiparamétricas estatisticamente mais significativas obtidas para os compostos da série I, são expressas pelas equações IV.6 e IV.7.

A equação IV.6, expressa o modelo proposto considerando a potência citotóxica dos compostos da série I, descrita pelos valores de $\delta_{13C=O}$ e de $\log P_{\text{calc}}$, utilizados como parâmetros lipofílico e eletrônico, respectivamente. Equação IV.7 expressa o modelo proposto considerando a potência citotóxica dos compostos da série I, descrita pelos valores de $\log P_{\text{app}}$ e de $\delta_{13C=O}$, utilizados como parâmetros lipofílico e eletrônico, respectivamente. Por outro lado, utilizando como parâmetros descritores, $\delta_{13C=O}$ e π , observa-se para a série I, que 85% da variância na atividade citotóxica é explicada ($r = 0,85$), no entanto, a contribuição do termo relacionado ao parâmetro eletrônico (descrito por $\delta_{13C=O}$) é não significativa.

$$\log(1/IC_{50}) = -0,27(\pm 0,23)\delta_{13C=0} - 0,48(\pm 0,35)\log P_{calq} + 56,32(\pm 44,30) \quad \text{eq. IV.6}$$

$$(n = 9; r = 0,87; s = 0,17; F = 9,23; Q^2 = 0,36; s_{PRESS} = 0,28)$$

$$\log(1/IC_{50}) = -0,24(\pm 0,23)\delta_{13C=0} - 0,33(\pm 0,25)\log P_{app} + 47,97(\pm 45,80) \quad \text{eq. IV.7}$$

$$(n = 9; r = 0,86; s = 0,18; F = 8,27; Q^2 = 0,12; s_{PRESS} = 0,33)$$

Pela análise dos parâmetros estatísticos relativos, respectivamente às equações IV.6 e IV.7, pode-se considerar que a equação IV.6 é estatisticamente (ligeiramente) mais significativa, explicando 87% da variância na atividade citotóxica ($r = 0,87$). Salienta-se, no entanto, que na equação IV.7 os parâmetros são experimentais, revelando características do sistema não descritas por parâmetros tomados da literatura ou obtidos por cálculo.

Fazendo-se uma comparação com relatos de literatura para estudos de *QSAR* para compostos apresentando atividade anticâncer, constata-se que estes concordam, em parte, com os resultados por nós obtidos para a série I.⁴² Assim, para a série I, nos modelos expressos pelas equação IV.4 e equação IV.6 constata-se uma contribuição relacionada ao parâmetro lipofílico pequena e negativa, sendo iguais a $-0,45$ e a $-0,48$, respectivamente, como encontrado na literatura. Por outro lado, pela equação IV.6, constata-se uma contribuição pequena e negativa, relacionada ao termo eletrônico, enquanto que na literatura esta é negativa, porém grande.

Na Tabela IV.11 são apresentados os valores de atividade biológica, $\log(1/IC_{50})$ determinadas experimentalmente e calculadas respectivamente, pelas equações IV.4 e IV.6, para os compostos da série I.

Tabela IV.11: Valores de atividade biológica, $\log(1/IC_{50})$ determinados experimentalmente e calculados respectivamente, pelas equações IV.4 e IV.6, para os compostos da série I.

Nº do Composto	-X	$\log(1/IC_{50})$ (a)	$\log(1/IC_{50})$ (b)	$[\Delta]$ (c)	$\log(1/IC_{50})$ (d)	$[\Delta]$ (e)
I.1	-H	1,37	1,73	-0,36	1,53	-0,16
I.2	-CH ₃	1,38	1,47	-0,09	1,43	-0,05
I.3	-OCH ₃	2,09	1,74	0,35	1,89	0,20
I.4	-OC ₂ H ₅	1,58	1,55	0,03	1,64	-0,06
I.5	-F	1,71	1,66	0,05	1,80	-0,09
I.6	-Br	1,40	1,34	0,06	1,28	0,12
I.7	-NO ₂	1,72	1,85	-0,13	1,79	-0,07
I.8	-CN	2,12	1,98	0,14	1,88	0,24
I.9	-OH	1,99	2,03	-0,04	2,13	-0,14

(a) Valores de potência citotóxica, sendo IC_{50} em μM , multiplicado por 0,0001, determinados como descrito item III.5, para os compostos da série I.

(b) Valores de potência citotóxica, sendo IC_{50} em μM , multiplicado por 0,0001, previstos pela equação IV.4.

(c) Diferença entre os valores de potência citotóxica determinados experimentalmente e previstos pela equação IV.4.

(d) Valores de potência citotóxica, sendo IC_{50} em μM , multiplicado por 0,0001, previstos pela equação IV.6.

(e) Diferença entre os valores de potência citotóxica determinados experimentalmente e previstos pela equação IV.6.

$$\log(1/IC_{50}) = -0,27(\pm 0,23)\delta_{13C=0} - 0,48(\pm 0,35)\log P_{cal} + 56,32(\pm 44,30) \text{ eq. IV.6}$$

$$(n = 9; r = 0,87; s = 0,17; F = 9,23; Q^2 = 0,36; s_{PRESS} = 0,28)$$

Figura IV.16: Gráfico da correlação entre os valores de potência citotóxica, $\log(1/IC_{50})$ determinados experimentalmente e calculados pela equação IV.6, para os compostos da série I.

Como pode ser observado pela Tabela IV.11 os valores determinados experimentalmente e previstos pelas equações de regressão são relativamente concordantes dentro do erro experimental, sendo as variações observadas de, no máximo, 0,36. De modo análogo, observa-se na Figura IV.16 a correlação entre os valores de $\log(1/IC_{50})$ determinadas experimentalmente e calculados pela equação IV.6, mostrando o ajuste dos dados experimentais ao modelo descrito pela equação.

Para a série I, a faixa de variação alcançada em termos do parâmetro lipofílico, descrito por π , é igual a 1,53, como discutido no item IV.4.1, tornando a aplicação dos modelos tanto parabólico como bilinear não válida. Assim, a verificação da aplicabilidade dos modelos bilinear e parabólico, para esta série de compostos, fica limitada pelo estreita faixa de variação dos compostos, com respeito à lipofilicidade. O estudo completo de QSAR necessita compostos na série, com valores de $\log P$, variando de pelo menos 4-6 unidades, para assegurar a observação de um dos dois modelos, modelo parabólico ou bilinear, se for o caso. Deste modo, para esta série I, não se pode diferenciar se os modelos não se aplicam ou, se não houve variação suficiente de lipofilicidade, para que sejam observados.

IV.5.3. Equações de correlação obtidas para os compostos da série II

Para os compostos da série II, foram observadas correlações estatisticamente não significativas ao se efetuar a análise com um único parâmetro. Por outro lado, as análises multiparamétricas não são estatisticamente permitidas sendo limitadas pelo número restrito de seis compostos. Pretende-se em projetos futuros estender a série para, no mínimo, os substituintes utilizados na série I.

IV.5.4. Aplicação da abordagem mista

As séries I e II foram analisadas conjuntamente, através da utilização de uma *abordagem mista*,^{55, 62, 63, 53} que considera a citotoxicidade descrita tanto por parâmetros físico-químicos/estruturais bem como por determinada característica estrutural, que diferencia as séries estudadas.

Desta forma para as séries I e II é necessário se definir e incluir na análise de *QSAR* uma variável indicadora, que expresse as características estruturais que diferenciam as duas séries. Assim, a presença do grupo $[-N(CH_3)_3]^+ I^-$, nos compostos da série II, é descrita pela variável indicadora $I_{[N(Me)_3]^+ I^-}$ que assume os valores de 1 (um) para série II e de 0 (zero) para série I.

A análise conjunta dos compostos das séries I e II, utilizando os dados da Tabela IV.8. foi feita por meio da aplicação da abordagem denominada *mista*, que combina os modelos de Hansch-Fujita e Free-Wilson-Fujita-Ban.^{55, 62, 63, 53}

A equações IV.8 expressa a correlação estatisticamente significativa obtida, em função de π ; MR_4 e, $I_{[N(Me)_3]^+ I^-}$ utilizando este modelo.

$$\log(1/IC_{50}) = -0,56(\pm 0,27)\pi + 0,35(\pm 0,29)MR_4 + 0,23(\pm 0,22)I_{[N(Me)_3]^+ I^-} + 1,53(\pm 0,22) \text{ eq. IV.8}$$

$$(n = 15; r = 0,82; s = 0,18; F = 7,64; Q^2 = 0,43; s_{PRESS} = 0,24)$$

Na *abordagem mista*, a variável $I_{[N(Me)_3]^+ I^-}$, incluída nas equação IV.8, não é um parâmetro físico-químico, mas sim uma variável indicadora de uma determinada característica estrutural, não possível de ser descrita, pelo menos inicialmente, por um único parâmetro. Portanto, $I_{[N(Me)_3]^+ I^-}$ assume o valor igual de 0 (zero) para os compostos **I.1** a **I.9**, ou seja, cloretos de 3-(dimetilamino)-propiofenonas 4-X- substituídas, e valor igual a 1 (um) para compostos **II.1** a **II.6**, ou seja, para os iodetos de 3-(trimetilamino)-propiofenonas 4-X-substituídas, indicando a presença do grupo trimetilamônio (com carga permanente) e iodeto como contra-íon, para esses compostos.

A análise dos parâmetros estatísticos da equação IV.8 indica que a equação IV.8 é estatisticamente significativa e com 82% da variância na atividade citotóxica sendo explicada ($r = 0,82$).

Nesta equação as intercorrelações entre seus termos são analisadas pelos coeficientes de correlação (r), sendo o r (π vs MR_4) = 0,374; r (π vs $I_{[N(Me)_3]^+ I^-}$) = 0,306; e r (MR_4 vs $I_{[N(Me)_3]^+ I^-}$) = 0,027., apresentados na Tabela IV.10.

De acordo com a equação IV.8 obtida para as séries I e II, a contribuição para a atividade biológica do termo relativo ao parâmetro lipofílico, expresso por π , é pequena e negativa (-0,56). Esta observação está de acordo com o descrito na literatura ⁴² para compostos apresentando atividade anticâncer, como apresentado e discutido no capítulo I.

A contribuição do termo relativo ao parâmetro MR_4 é positiva e pequena. Esta, para os compostos estudados, pode sugerir a contribuição de interações dispersivas ou semi-polares, por estar contribuindo de forma positiva (+0,35) para atividade biológica. ^{55, 62, 63, 53} Adicionalmente, a variável indicadora, $I_{[N(Me)_3]^+ I^-}$, indica uma pequena contribuição para a atividade biológica (+0,23), devido às características estruturais presentes nos compostos da série II.

Sabe-se da literatura que sais de amônio quaternário de bases de Mannich podem sofrer eliminação de Hofmann em meio básico levando à formação das correspondentes aminas e cetonas α,β -insaturadas. Assim, nos compostos da série II, a presença do grupo $[-N(CH_3)_3]^+ I^-$, poderia estar promovendo por eliminação de Hofmann a formação de cetonas α,β -insaturadas, com propriedades citotóxicas/anticâncer. ²⁰

Ainda mais, poderia-se esperar que esta decomposição seria mais efetiva para compostos contendo substituintes aceptores de elétrons, que não foram ainda incluídos na série estudada (série II), pelo menos até o momento. Assim, em trabalhos futuros, numa série que mostrasse maior faixa de variação com respeito ao parâmetro eletrônico, incluindo grupos aceptores de elétrons, poderia ser verificada a validade do modelo, no qual a contribuição do termo associado à variável indicadora fosse mais significativa do que o observado para as séries I e II avaliadas neste trabalho.

Como discutido anteriormente e, em relação à série I, a introdução do grupo $[-N(CH_3)_3]^+ I^-$ poderia promover, por outro lado, interações intramoleculares que poderiam afetar tanto a lipofilicidade como a distribuição eletrônica do composto, que por sua vez poderiam determinar a atividade biológica.

Todos os fatores acima apresentados e ponderados constituem a variável indicadora, $I_{[N(Me)_3]^+ I^-}$.

Na Tabela IV.12, são apresentados os valores de potência citotóxica, $\log(1/IC_{50})$, determinados experimentalmente e calculados pela equação IV.8, obtidos pela utilização da *abordagem mista*, para os compostos das séries I e II.

Tabela IV.12: Valores de atividade biológica, $\log(1/IC_{50})$, determinadas experimentalmente e calculadas pela equação IV.8, obtidos pela utilização da *abordagem mista* para os compostos das séries I e II.

Composto	$\log(1/IC_{50})$ (a)	$\log(1/IC_{50})$ (b)	$[\Delta]$ (c)
4-H(I.1)	1,37	1,56	-0,19
4-CH ₃ (I.2)	1,38	1,41	-0,03
4-OCH ₃ (I.3)	2,09	1,81	0,28
4-OC ₂ H ₅ (I.4)	1,58	1,74	-0,16
4-F(I.5)	1,71	1,48	0,23
4-Br(I.6)	1,40	1,35	0,05
4-NO ₂ (I.7)	1,72	1,94	-0,22
4-CN(I.8)	2,12	2,07	0,05
4-OH(I.9)	1,99	2,00	-0,01
4-H(II.1)	2,01	1,80	0,21
4-CH ₃ (II.2)	1,59	1,64	-0,05
4-OCH ₃ (II.3)	2,05	2,04	0,01
4-OC ₂ H ₅ (II.4)	2,07	1,98	0,09
4-F(II.5)	1,46	1,71	-0,25
4-Br(II.6)	1,58	1,58	0,00

^(a) Valores de potência citotóxica, sendo IC_{50} em μM , multiplicado por 0,0001, determinados como descrito item III.5, para os compostos das séries I e II.

^(b) Valores de potência citotóxica, sendo IC_{50} em μM , multiplicado por 0,0001, previstos pela equação IV.8.

^(c) Diferença entre os valores de potência citotóxica determinados experimentalmente e previstos pela equação IV.8.

Figura IV.17: Gráfico da correlação entre os valores de potência citotóxica, $\log(1/IC_{50})$ determinados experimentalmente e calculados pela equação IV.8, para os compostos das séries I e II.

Como pode ser observado pelas Tabela IV.12 os valores determinados experimentalmente e previstos pelas equações de regressão são relativamente concordantes dentro do erro experimental, sendo as variações observadas de, no máximo, 0,28. De modo análogo, observa-se na Figura IV.17 a correlação entre os valores de $\log(1/IC_{50})$ determinados experimentalmente e calculados pela equação IV.8, mostrando o ajuste dos dados experimentais ao modelo descrito pela equação.

Para as séries I e II, a aplicação dos modelos tanto parabólico como bilinear não resultou em correlações estatisticamente significativas.

V. Conclusões

- Para a série de cloretos de 3-(dimetilamino)-propiofenonas-4-X-substituídas, com X = -H, -CH₃, -OCH₃, -OCH₂CH₃, -F, -Br, -NO₂, -CN e -OH (série I, compostos I.1 a II.9), os parâmetros experimentais logP_{app} e π_{exp} podem ser utilizados como descritores da lipolicidade respectivamente, de cada composto e substituinte em análises de QSAR.
- Para as séries de cloretos de 3-(dimetilamino)-propiofenonas-4-X-substituídas, com X = -H, -CH₃, -OCH₃, -OCH₂CH₃, -F, -Br, -NO₂, -CN e -OH (série I, compostos I.1 a II.9), e dos correspondentes iodetos de 3-(trimetilamino)-propiofenonas-4-X-substituídas, com X = -H, -CH₃, -OCH₃, -OCH₂CH₃, -F e -Br (série II, compostos I.1 a II.9), os parâmetros espectroscópicos, respectivamente $\delta_{13C=O}$ e $\nu_{C=O}$ podem ser usados como descritores do(s) efeito(s) eletrônico(s) transmitido(s) pelo substituinte em análises de QSAR.
- Para os compostos das series I e II foram determinados os valores da potência citotóxica, expressos por log(1/IC₅₀) e considerados como parâmetro biológico.
- Aplicando-se a *abordagem tradicional* de QSAR, foi obtido o modelo expresso pela equação IV.6, que explica 87% da variância na atividade citotóxica:

$$\log(1/IC_{50}) = -0,27(\pm 0,23)\delta_{13C=O} - 0,48(\pm 0,35)\log P_{calc} + 56,32(\pm 44,30) \quad \text{eq. IV.6}$$

(n = 9; r = 0,87; s = 0,17; F = 9,23; Q² = 0,36; S_{PRESS} = 0,28)

- Na equação IV.6, constata-se que a contribuição pequena e negativa relacionada ao termo lipofílico está de acordo com o observado na literatura. Por outro lado, constata-se uma contribuição pequena e negativa relacionada ao termo eletrônico, que de acordo com a literatura poderia ser negativa porém deveria ser grande.
- Pela análise de QSAR para os compostos da série II, foram observadas correlações estatisticamente não significativas ao se efetuar a análise com um único parâmetro. As análises multiparamétricas não são estatisticamente permitidas, considerando-se o número restrito de seis compostos.

- A análise conjunta das série I e II foi possível através da introdução de uma variável indicadora, $I_{[N(Me)_3]^+I^-}$, assumindo os valores iguais a 0 (zero) e a 1 (um) respectivamente para os compostos das séries I e II.
- Aplicando-se a *abordagem mista*, foi obtida o modelo expresso pela equação IV.8, que explica 82% da variância na atividade citotóxica.

$$\log(1/IC_{50}) = -0,56(\pm 0,27)\pi + 0,35(\pm 0,29)MR_4 + 0,23(\pm 0,22)I_{[N(Me)_3]^+I^-} + 1,53(\pm 0,22) \text{ eq.IV.8}$$

(n = 15; r = 0,82; s = 0,18; F = 7,64; Q² = 0,43; S_{PRESS} = 0,24)

- De acordo com a equação IV.8 a contribuição para a atividade biológica do termo relativo ao parâmetro lipofílico, expresso por π , é pequena e negativa. Esta observação está de acordo com o descrito na literatura.
- A contribuição do termo relativo ao parâmetro MR_4 é positiva (e pequena). Assim, sugere-se que MR_4 possa estar expressando interações dispersivas ou semi-polares no sistema biológico.
- A variável indicadora, $I_{[N(Me)_3]^+I^-}$, sugere uma pequena contribuição para a atividade biológica (+0,23), devido às características estruturais presentes nos compostos da série II.
- A aplicação dos modelos parabólico e bilinear foi verificada, não mostrando significado estatístico tanto para a série I, bem como para as séries I e II.

VI. Referências

1. Abraham, M.H. *et al.* *J. Med. Chem.*, 28, 865 (1979).
2. Abrams, W.R. & Kallen, R.G., *J. Am. Chem. Soc.*, 93, 6236 (1971).
3. Adrisano, R. *et al.* *J. Chem. Soc. (C)*, 1866 (1970).
4. Albrech, H.A., Plati, J.T. e Wener, W.U.S. Patent 3058987, October 16, 1962.
5. Andrews, P.R., & Tintelnot, M., *Comprehensive Medicinal Chemistry*, vol. 4, p. 321-347, (Ed. C. Hansch, P.G. Sammes e J.B.) Pergamon Press, Oxford (1990).
6. Baluja, G. *et al.* *Chem. Ind.*, (1964).
7. Bastos-Ceneviva, M.P., *Química Nova*, 141 (1984).
8. Becker, H.G.O., Berger W., Domschke, G., Fanghänel, E., Faust, J., Fischer, M., Gentz, F., Gewalt, K., Gluch, R., Mayer, R., Muller, K., Pavel, D., Schmidt, H., Schollberg, K., Schwetlick, K., Seiler E. e Zeppenfeld, G., *Organikum - Química Orgânica Experimental*, tradução da 19ª edição, Fundação Calouste Gulbenkian, 638 - 641 (1993).
9. Bellamy, L.J., *Advances in Infrared Group frequencies*, Methuen & CO. LTD., Great Britain (1969).
10. Bowden, K., *Comprehensive Medicinal Chemistry*, vol. 4, p. 205-239, (Ed. C. Hansch, P.G. Sammes e J.B.) Pergamon Press, Oxford (1990)
11. Buorguignon, J.J. & Wermuth, C.G., *J. Org. Chem.*, 46, 4889 (1981)
12. Cairns, J., *Nature*, 286 (1980).
13. Capasso, R. *et al.* *Can. J. Chem.*, 61, 2657 (1983).
14. Craig, C.R., *Farmacologia Moderna*, Ed. R.E. Stitzel e P. Silva, tradução da 4ª edição, Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, 595 - 612 (1996).
15. Craig, P. N., *J. Med. Chem.*, 14, 680 (1971).
16. de Sousa, W.A. *Estudo da relação entre a estrutura química e a toxicidade aguda de série de cloretos de [2-(benzoiloxi) etil]-dimetilamônio meta-substituídas, com atividade anestésica local*, (1997), Dissertação de Mestrado IQ-USP.

17. Dearden, J. C. & Bresnen, G. M., *The Measurement of Partition -Coefficients. Quant. Struc.-Act. Relat.*, 7, 133 (1988).
18. Dearden, J. *et al.* *QSAR: Rational Approaches to the Design of Bioactive Compound*, vol. 16, Ed. C. Silipo e A. Vittoria, Elsevier, Amsterdam, 143 (1991).
19. Deutsch, H.M. *et al.* *J. Med. Chem.*, 29, 2164 (1986)
20. Dimmock, J.R. & Kumar. P., *Curr. Med. Chem.*, 4, 1 (1997).
21. Dimmock, J.R. *et al.* *Eur. J. Med. Chem. - Chim. Ther.*, 18, 3, 248 (1983).
22. Dimmock, J.R. *et al.* *Eur. J. Med. Chem.*, 22, 545 (1987).
23. Dimmock, J.R. *et al.* *Eur. J. Med. Chem.*, 30, 209 (1995).
24. Dimmock, J.R. *et al.* *J. Med. Chem.*, 41, 1014 (1998).
25. Dimmock, J.R. *et al.* *J. Pharm. Sci.*, 72, 8, (1983)
26. Dimmock, J.R. *et al.* *Pharmazie*, 39, 7, 467 (1984).
27. Dimmock, J.R. *et al.* *Pharmazie*, 50, 7 (1995).
28. Dimmock, J.R. *et al.* *Pharmazie*, 53, 10, 702 (1998)
29. Dimock, J.R. & Smith, P.J., *Can. J. Chem.*, 58, 984 (1980).
30. do Amaral A.T. & do Amaral L., *J. Org. Chem.*, 41, 1623 (1976).
31. do Amaral, A.T. *et al.* *Eur. J. Med. Chem.*, 32, 433 (1997).
32. Dunn, W.J., *Eur. J. Med. Chem. - Chim. Ther.*, 12, 2, 109 (1976).
33. Farmer, P.B., *Chem. Brit.*, 790 (1982).
34. Fernandez, J.E. & Calderazzo, J.M., *J. Chem. Eng. Data*, 10, 402 (1965)
35. Friedma, M. *et al.* *J. Am. Chem. Soc.*, 87,16 (1965).
36. Fujita, T., *Comprehensive Medicinal Chemistry*, vol. 4, p. 497-560, (Ed. C. Hansch, P.G. Sammes e J.B.) Pergamon Press, Oxford (1990).
37. Garcia, S.T. *et al.* *Biochem. Pharm.*, 37, 16, 3189 (1988).
38. Gul, H.I. *et al.* *Pharm Acta Helv*, 74, 393 (2000).
39. Gurulli, A. & Sleiter, G., *J. Org. Chem.*, 50, 4925 (1985).
40. Hansch C & Fujita T., *J. Am. Chem. Soc.*, 86, 1616 (1964).

41. Hansch, C. & Leo, A., *Substituent Constants for Correlation Analysis in Chemistry and Biology*, John Willey & Sons, New York (1979).
42. Hansch, C. *et al.* *Chem. Rev.*, 101, 619 (2001).
43. Hansch, C. *et al.* *Chem. Rev.*, 91, 165 (1991).
44. Hansch, C. & Leo, A., *Exploring QSAR. Fundamentals and applications in chemistry and biology*, ACS Professional Reference Book, Washington (1995).
45. Hansch, C., Leo, A. e Hoekman, D., *Exploring QSAR. Hydrophobic, Electronic and Steric Constants*, ACS Professional Reference Book, Washington (1995).
46. 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, 1225 - 1243 (1996).
47. Harrold M.W. *et al.* *J. Med. Chem*, 36, 3166 (1993).
48. Heaney, H., *Comprehensive Organic Synthesis. Selectivity, Strategy & Efficiency in Modern Organic Chemistry*, Ed. B.M. Trost, I. Fleming e C.H. Heathcock, vol. 02, Pergamon Press, 956 (1991).
49. ISO document 10993-5, *Biological evaluation of medical devices, Part 5, Tests for cytotoxicity: in vitro methods* (1992).
50. Jasor, Y. *et al.* *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, 253 (1974).
51. Jasor, Y. *et al.* *Tetrahedron*, 33, 295 (1977).
52. Kubinyi, H., *Prog. Drug Res.*, 23, 97 (1979).
53. Kubinyi, H., *Comprehensive Medicinal Chemistry*, vol. 4, p. 589 - 643, (Ed. C. Hansch, P.G. Sammes e J.B.) Pergamon Press, Oxford (1990).
54. Kubinyi, H., *J. Cancer Res. Oncol.*, 116, 529 (1990).
55. Kubinyi, H., *QSAR: Hansch Analysis and Related Approaches*, Ed. R. Mannhold, P. Krosgaard-Larsen e Timmerman, VHC, Weinheim (1993).
56. Leo, A. J., *Chem. Reviews*, 93, 1281 (1993).
57. Malvezzi, A., Policastro, D. S, da Silva, W. C. F. N., e do Amaral A.T. *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.
58. March, J., *Advanced Organic Chemistry - Reactions, Mechanisms and Structure*, 4ª edição, John Wiley & Sons, 900 - 902 (1992).
59. Martin, Y.C., Bush, E.N. e Kyncl, J.J., *Comprehensive Medicinal Chemistry*, vol. 4, p. 349 - 373, (Ed. C. Hansch, P.G. Sammes e J.B.) Pergamon Press, Oxford (1990).
60. Perrin, D.D. & Amarego, W.L.F., *Textbook Purification of Laboratory Chemicals*, 4ª edição, Butterworth e Hinemann (1996).
61. Perrin, D.D. & Dempsey, B., *Buffers for pH and Metal Ion Central*, Chapman and Hall, London (1994).
62. Pires, J.R.M. *et al. J. Med. Chem* (in press).
63. Pires, J.R.M., *Relações quantitativas entre a estrutura química de derivados nitrofurânicos e a atividade antimicrobiana contra Caulobacter crescentus e Staphylococcus aureus*, (1998), Tese de Doutorado IQ-USP.
64. Programa BILIN, versão (1994) [Software].
65. Rando, D.G. *et al. Bioorganic & Medicinal Chemistry* (in press).
66. Rekker, R.F. & Mannhold, R., *Calculation of Drug Lipophilicity. The Hydrophobic Fragmental Constant Approach*, Weinheim, New York, Basel, Cambridge (1992).
67. Rigo, B. *et al. J. Heteroc. Chem.*, 21, 1381 (1984).
68. Riondel, J. *et al. Pharmazie*, 1992, 47, 67 (1992)
69. Rogero, S.O. *et al. Toxicology in Vitro*, 14, 497 (2000).
70. Seydel, J. K. & Schaper, K.J., *Chemische Struktur und Biologische Aktivität von Wirkstoffen. Methoden der Quantitative Struktur-Wirkung-Analyse*, VCH, Weinheim (1979).
71. Silverstein, R.M., Bassler, G.C. e Morrill, T.C., *Identificação espectrofotométrica de compostos orgânicos*, tradução de R.B. de Alencastro, Guanabara Koogan, Rio de Janeiro (1994).
72. Stern, H., *Science*, 124, 1292 (1956).
73. Swain, C.G. & Lupton, E.C., *J. Am. Chem. Soc.*, 90, 4328 (1968).

74. Sykes, P., *Guia de Mecanismos da Química Orgânica*, tradução de M.J.O. Baptista, A.M. Lobo e M.M. Mantas, Longman, Londres e Nova Iorque, 427-432 (1989).
75. Taft, R.W., *Progress in Organic Chemistry*, vol. 14, John Wiley & Sons, New York, Chichester, Brisbane, Toronto, Singapore (1983).
76. Tavares, L.C. & do Amaral, A.T., *Rev. Farm. Bioq. USP*, 32, 2, 123 (1997).
77. Tavares, L.C., *Relações quantitativas entre a estrutura química e a atividade antimicrobiana de análogos a nitrofuraxazida*, (1993), Tese de Doutorado, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, USP, SP.
78. Taylor, P.J., *Comprehensive Medicinal Chemistry*, vol. 4, p. 241 - 294, (Ed. C. Hansch, P.G. Sammes e J.B.) Pergamon Press, Oxford (1990).
79. Terada, H., *Quant. Struct.-Act. Relat.*, 5, 81, (1986).
80. Tramontini, M. & Angiolini, L., *Tetrahedron*, 46, 6, 1791 (1990).
81. Tramontini, M., *Synthesis*, 703 (1973).
82. van de Waterbeemd, H. & Testa, B., *Advances in Drug Research*, vol.16, 143 - 148 (1987).
83. Wermuth, C.G., *The Practice of Medicinal Chemistry*, Academic Press, 638 - 640 (1996).
84. Wheatley, W.B. *et al. J. Org. Chem.*, 60, 2456 (1965).
85. Zinger, S.B. & Fortes, Z.B., *Farmacodinâmica, Ensaios biológicos*, (Ed. C.E. Cobertt), 5ª edição, Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, 37 (1977).