

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
INSTITUTO DE QUÍMICA
Programa de Pós-Graduação em Química

GUILHERME MARTINS DA SILVA

**Aplicação do conceito do par iônico e seus efeitos
sobre a lipofilicidade de brometos de amônio
quaternários estruturalmente análogos a procaína,
com atividade de bloqueio da transmissão
neuromuscular, para estudos de (Q)SAR**

Versão corrigida da Dissertação conforme Resolução CoPGr 5890

O original se encontra disponível na Secretaria de Pós-Graduação do IQ-USP

São Paulo

10/06/2016

GUILHERME MARTINS DA SILVA

Aplicação do conceito do par iônico e seus efeitos sobre a lipofilicidade de brometos de amônio quaternários estruturalmente análogos a procaína, com atividade de bloqueio da transmissão neuromuscular, para estudos de (Q)SAR

Dissertação apresentada ao Instituto de Química da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre em Química

Orientadora: Profa. Dra. Antonia Tavares do Amaral

São Paulo

2016



UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
INSTITUTO DE QUÍMICA

“Aplicação do conceito do par iônico e seus efeitos sobre a lipofilicidade de brometos de amônio quaternários estruturalmente análogos a procaína, com atividade de bloqueio da transmissão neuromuscular, para estudos de (Q)SAR”

GUILHERME MARTINS DA SILVA

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 - no Programa de Química.

Aprovado por:

Profa. Dra. Antonia Tavares do Amaral
(Orientadora e Presidente)

Profa. Dra. Kathia Maria Honorio
EACH - USP

Prof. Dr. Alberto Malvezzi
UNINOVE

SÃO PAULO
19 de julho de 2016

AGRADECIMENTOS

A Profa. Dra. Antonia pela orientação, paciência, dedicação e, sobretudo, pela oportunidade de desenvolver a presente Dissertação de Mestrado.

Aos funcionários e colegas de laboratório, Inocência, Leandro, Erika, Lucas, Letícia, Noriberto e Júlio, pelo apoio, incentivo e acolhimento.

Aos professores, Omar, Salinas, Toninho e Alberto, que contribuíram com sugestões e discussões científicas para o desfecho desta Dissertação de Mestrado.

Aos meus queridos pais, José Alberto e Maria de Lourdes, pelo suporte amoroso constante, desde sempre, imprescindível para a conclusão da presente Dissertação de Mestrado.

Aos meus irmãos, Vinicius e Ana Luisa, pelo amor, motivação e descontração.

A minha companheira Natália, por ter me amparado com muito amor, carinho, compreensão e paciência.

Aos meus amigos que, distantes ou não, contribuíram para o desenvolvimento da presente Dissertação de Mestrado.

O presente trabalho foi realizado com apoio do CNPq, Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – Brasil.

“ A ciência será sempre uma busca, jamais uma descoberta.

É uma viagem, nunca uma chegada. ”

Karl Popper

RESUMO

Silva, G. M. **Aplicação do conceito do par iônico e seus efeitos sobre a lipofilicidade de brometos de amônio quaternários estruturalmente análogos a procaína, com atividade de bloqueio da transmissão neuromuscular, para estudos de (Q)SAR.** 2016. 175p. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Química. Instituto de Química, Universidade de São Paulo, São Paulo.

Modelos de Relações Quantitativas entre Estrutura Química e Atividade Biológica (QSAR), previamente gerados no grupo para uma série de brometos de *N*-benzil-*N,N*-dimetil-2-(4-*X*-benzamido)etan-1-amônio substituídos (compostos estruturalmente análogos à procaína), mostraram uma contribuição positiva da lipofilicidade (expressa pelo parâmetro lipofílico, $\log P_{app}$) para a atividade de bloqueio da transmissão neuromuscular observada para estes. Como os compostos desta série são sais de amônio quaternários, sendo alguns altamente hidrofílicos, as determinações dos seus valores de $\log P_{app}$ pelo método *shake-flask* acarretam dificuldades experimentais, levando a altas incertezas. Para contornar estas dificuldades, em outro trabalho iniciado no grupo, sugeriu-se, como estratégia metodológica, avaliar a aplicação do conceito do par iônico, usando, para tanto, um contraíon grande e hidrofóbico. Assim, observou-se, para um único composto desta série, o aumento da sua lipofilicidade, por possível formação de par iônico, tornando-o menos hidrofílico.

Nesta dissertação, visando ampliar os estudos envolvendo a aplicação desta estratégia metodológica e seus efeitos sobre a lipofilicidade, outros compostos foram selecionados para que uma faixa mais ampla de valores de $\log P_{app}$ pudesse ser avaliada.

Para tanto, os valores de $\log P_{app}$ de cinco compostos desta série foram determinados pelo método *shake-flask*, usando o sistema *n*-octanol/água, avaliando-se, ainda, os efeitos da força iônica na partição. Para estes, a faixa de valores de $\log P_{app}$ determinados variou de -1,73 a 0,99. Para avaliar a aplicação do conceito do par iônico como estratégia, os valores de $\log P_{app}$ destes compostos foram determinados na presença de diferentes concentrações do contraíon hidrofóbico *n*-octil sulfato de sódio (OcS). Verificou-se aumento da lipofilicidade com aumento das

concentrações de OcS. Obteve-se, também, os correspondentes valores de $\log P_{app}$ extrapolados para concentração zero de OcS ($\log P_{app}^0$), que concordaram, dentro do erro experimental, com os valores determinados diretamente na ausência de OcS. Estes resultados indicam que o conceito do par iônico pode ser aplicado como estratégia metodológica, para melhorar as condições experimentais e diminuir as incertezas nas determinações de valores de $\log P_{app}$ para esta série de brometos de amônio quaternários hidrofílicos.

Finalmente, foram realizados experimentos complementares para verificar a formação de par iônico: (i) determinações dos valores de $\log P$ da benzamida (composto sem carga permanente) na presença de OcS; (ii) análise por RMN de um dos compostos desta série, na presença de OcS. Ambos indicaram que, somente para os brometos de amônio quaternários estudados, o aumento da lipofilicidade observado ocorre por possível formação de par iônico. E, ainda, foi avaliada a aplicação do conceito do par iônico e seus efeitos sobre a lipofilicidade do QX-222 e do brometo de neostigmina (compostos altamente hidrofílicos), revelando limitações na sua aplicação como estratégia metodológica.

Palavras-chave: lipofilicidade, *shake-flask*, par iônico, brometos de amônio quaternários, análogos à procaína, QSAR.

ABSTRACT

Silva, G. M. **Application of the ion-pair concept and its effects on the lipophilicity of procaine structural analogs bearing a quaternary ammonium group with neuromuscular blockage activity for (Q)SAR.** 2016. 175p. Master Thesis – Graduate Program in Chemistry. Instituto de Química, Universidade de São Paulo, São Paulo.

Quantitative Structure-Activity Relationships (QSAR) models previously generated in our group for a set of *N*-benzyl-*N,N*-dimethyl-2-(4-*X*-benzamido)ethan-1-ammonium bromides (procaine structural analogs) showed a positive contribution of the lipophilic term (expressed by the partition coefficient, $\log P_{app}$) to their neuromuscular blockage activity. However, since some of them are hydrophilic quaternary ammonium bromides, their $\log P_{app}$ measurements were usually associated with experimental shortcomings, leading to low accuracy $\log P_{app}$ values. In order to make these experiments more feasible, the application of the ion-pair concept was evaluated as a methodological strategy in another previous work, initially to one compound of this set. For this purpose, $\log P_{app}$ measurements have been done in the presence of a large and hydrophobic counter ion, leading to an increase of its lipophilicity, due to possible ion-pair formation.

In the present work, in order to further investigate this strategy and its effects on the lipophilicity, we include more compounds, allowing the assessment of a wider range of $\log P_{app}$ values.

Thus, $\log P_{app}$ values of five compounds were obtained by the shake-flask method, using *n*-octanol/water, with and without ionic strength adjustment. For them, $\log P_{app}$ range values were determined from -1.73 to 0.99. To evaluate the application of the ion-pair concept as strategy, $\log P_{app}$ values of these compounds were determined in the presence of eleven sodium octyl sulfate (OcS) concentrations. It was observed that the lipophilicity of these compounds, increased with the addition of OcS. Moreover, we obtained the corresponding $\log P_{app}$ values extrapolated to zero OcS concentration ($\log P_{app}^0$), which agreed, within the experimental error, with the corresponding values determined in absence of OcS. These results suggest that the ion-pair concept can be applied as a strategy to improve the experimental conditions,

increasing the accuracy of $\log P_{app}$ measurements for this set of hydrophilic quaternary ammonium bromides.

Finally, supplementary experiments were done to verify the ion-pair formation: (i) measurement of $\log P$ values of benzamide (not a permanent ion) in presence of OcS; (ii) NMR spectroscopy analysis of one compound of this set, also in presence of OcS. Both indicated that only for the studied quaternary ammonium bromides the lipophilicity increase is due to possible ion-pair formation. Additionally, the application of the ion-pair concept and its effects on the lipophilicity was evaluated for QX-222 and for neostigmine bromide (highly hydrophilic compounds), which revealed limitations in its application as a methodological strategy.

Keywords: lipophilicity, shake-flask, ion-pair, quaternary ammonium bromides, procaine analogs, QSAR.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.1. Exemplo ilustrativo das múltiplas interações da cinchocaína (cloreto de 2-(2-butoxiquinolina-4-carboxamido)- <i>N,N</i> -dietiletan-1-amônio) (Seydel, 1979; Raminelli, 2001).	24
Figura 1.2. Balanço energético da(s) interação(ões) ligante-receptor: fatores entálpicos e entrópicos envolvidos (Andrews <i>et al.</i> , 1984; Klebe, 2009).	25
Figura 1.3. Representação das micelas invertidas presentes em <i>n</i> -octanol saturado de água (Franks <i>et al.</i> , 1993).	37
Figura 1.4. Representação esquemática dos equilíbrios simultâneos que ocorrem durante a partição de uma base fraca (B) no sistema <i>n</i> -octanol/água.	49
Figura 1.5. Representação esquemática dos equilíbrios envolvidos na partição de um composto permanentemente carregado, entre as fases aquosa e orgânica (<i>n</i> -octanol), como um par de íons ou como um par iônico.	50
Figura 1.6. Estrutura geral esquemática dos anestésicos locais.	59
Figura 1.7. Representação da estrutura molecular de alguns anestésicos locais comerciais.	60
Figura 1.8. Brometos de <i>N</i> -benzil- <i>N,N</i> -dimetil-2-(4- <i>X</i> -benzamido)etan-1-amônio substituídos (Série I).	62
Figura 3.1. Representação das estruturas moleculares e nomenclatura dos brometos de <i>N</i> -benzil- <i>N,N</i> -dimetil-2-(4- <i>X</i> -benzamido)etan-1-amônio substituídos, estudados neste trabalho, denominados compostos 7 (<i>X</i> =Br), 8 (<i>X</i> =NO ₂), 9 (<i>X</i> =CN), 10 (<i>X</i> =CF ₃) e 11 (<i>X</i> =SO ₂ CH ₃) da Série I.	68
Figura 3.2. Representação da estrutura molecular do <i>n</i> -octil sulfato de sódio (OcS).	68
Figura 4.1. Valores de $\log P_{app}$ obtidos para o composto 7 (<i>X</i> =Br), por <i>shake-flask</i> , usando como fases orgânica e aquosa, respectivamente, <i>n</i> -octanol (<i>psa</i>) e 11 soluções aquosas (<i>pso</i>) de OcS (soluções A'), em função das respectivas concentrações de OcS (M). Em vermelho a melhor reta traçada por regressão linear, obtida pelo programa Origin 9.0.0.	91
Figura 4.2. Valores de $\log P_{app}$ obtidos para o composto 7 (<i>X</i> =Br), por <i>shake-flask</i> , usando como fases orgânica e aquosa, respectivamente, <i>n</i> -octanol (<i>psa</i>) e 11 soluções aquosas (<i>pso</i>) de OcS com força iônica ajustada para <i>I</i> = 0,10 M (NaBr) (soluções B'), em função das respectivas concentrações de OcS (M). Em vermelho a melhor reta traçada por regressão linear, obtida pelo programa Origin 9.0.0.	92
Figura 4.3. Valores de $\log P_{app}$ obtidos para o composto 8 (<i>X</i> =NO ₂), por <i>shake-flask</i> , usando como fases orgânica e aquosa, respectivamente, <i>n</i> -octanol (<i>psa</i>) e 11 soluções aquosas (<i>pso</i>) de OcS (soluções A'), em função das respectivas concentrações de OcS (M). Em vermelho a melhor reta traçada por regressão linear, obtida pelo programa Origin 9.0.0.	93
Figura 4.4. Valores de $\log P_{app}$ obtidos para o composto 8 (<i>X</i> =NO ₂), por <i>shake-flask</i> , usando como fases orgânica e aquosa, respectivamente, <i>n</i> -octanol (<i>psa</i>) e 11 soluções aquosas (<i>pso</i>) de OcS com força iônica ajustada para <i>I</i> = 0,10 M (NaBr) (soluções B'), em função das respectivas concentrações de OcS (M). Em vermelho a melhor reta traçada por regressão linear, obtida pelo programa Origin 9.0.0.	94
Figura 4.5. Valores de $\log P_{app}$ obtidos para o composto 9 (<i>X</i> =CN), por <i>shake-flask</i> , usando como fases orgânica e aquosa, respectivamente, <i>n</i> -octanol (<i>psa</i>) e 11 soluções aquosas (<i>pso</i>) de OcS (soluções A'), em função das respectivas concentrações de OcS (M). Em vermelho a melhor reta traçada por regressão linear, obtida pelo programa Origin 9.0.0.	95
Figura 4.6. Valores de $\log P_{app}$ obtidos para o composto 9 (<i>X</i> =CN), por <i>shake-flask</i> , usando como fases orgânica e aquosa, respectivamente, <i>n</i> -octanol (<i>psa</i>) e 11 soluções aquosas (<i>pso</i>) de OcS com força iônica ajustada para <i>I</i> = 0,10 M (NaBr) (soluções B'), em função das respectivas concentrações de OcS (M). Em vermelho a melhor reta traçada por regressão linear, obtida pelo programa Origin 9.0.0.	97
Figura 4.7. Valores de $\log P_{app}$ obtidos para o composto 10 (<i>X</i> =CF ₃), por <i>shake-flask</i> , usando como fases orgânica e aquosa, respectivamente, <i>n</i> -octanol (<i>psa</i>) e 11 soluções aquosas (<i>pso</i>) de OcS (soluções A'), em função das respectivas concentrações de OcS (M). Em vermelho a melhor reta traçada por regressão linear, obtida pelo programa Origin 9.0.0.	98
Figura 4.8. Valores de $\log P_{app}$ obtidos para o composto 11 (<i>X</i> =SO ₂ CH ₃), por <i>shake-flask</i> , usando como fases orgânica e aquosa, respectivamente, <i>n</i> -octanol (<i>psa</i>) e 11 soluções aquosas (<i>pso</i>) de OcS (soluções A'), em função das respectivas concentrações de OcS (M). Em vermelho a melhor reta traçada por regressão linear, obtida pelo programa Origin 9.0.0.	99
Figura 4.9. Valores de $\log P_{app}$ obtidos para o composto 11 (<i>X</i> =SO ₂ CH ₃), por <i>shake-flask</i> , usando como fases orgânica e aquosa, respectivamente, <i>n</i> -octanol (<i>psa</i>) e 11 soluções aquosas (<i>pso</i>) de OcS com força iônica ajustada para <i>I</i> = 0,10 M (NaBr) (soluções B'), em função das respectivas	

concentrações de OcS (M). Em vermelho a melhor reta traçada por regressão linear, obtida pelo programa Origin 9.0.0.....	100
Figura 4.10. Valores de $\log P_{app}$ obtidos para o QX-222, por <i>shake-flask</i> , usando como fases orgânica e aquosa, respectivamente, <i>n</i> -octanol (<i>psa</i>) e 10 soluções aquosas (<i>psa</i>) de OcS (soluções A'), em função das respectivas concentrações de OcS (M).....	102
Figura 4.11. Valores de $\log P_{app}$ obtidos para o brometo de neostigmina, por <i>shake-flask</i> , usando como fases orgânica e aquosa, respectivamente, <i>n</i> -octanol (<i>psa</i>) e 10 soluções aquosas (<i>psa</i>) de OcS (soluções A'), em função das respectivas concentrações de OcS (M).....	103
Figura 4.12. Valores de $\log P$ obtidos para a benzamida, por <i>shake-flask</i> , usando como fases orgânica e aquosa, respectivamente, <i>n</i> -octanol (<i>psa</i>) e 5 soluções aquosas (<i>psa</i>) de OcS (soluções A'), em função das respectivas concentrações de OcS (M).....	105
Figura 4.13. Valores de $\log P$ obtidos para a benzamida, por <i>shake-flask</i> , usando como fases orgânica e aquosa, respectivamente, <i>n</i> -octanol (<i>psa</i>) e 5 soluções aquosas (<i>psa</i>) de OcS com força iônica ajustada para $I = 0,10$ M (NaBr) (soluções B'), em função das respectivas concentrações de OcS (M).....	106
Figura 4.14. Espectro A: espectro de RMN ¹ H registrado no espectrômetro Bruker - Avance III 200 MHz, utilizando-se D ₂ O como solvente, para o composto 10 (brometo de <i>N</i> -benzil- <i>N,N</i> -dimetil-2-(4-trifluorometilbenzamido)etan-1-amônio) e o contraíon (OcS), na respectiva proporção molar de 1:0.....	107
Figura 4.15. Espectro A: espectro de RMN ¹ H registrado no espectrômetro Bruker AIII 500 MHz, utilizando-se D ₂ O como solvente, para o composto 10 (brometo de <i>N</i> -benzil- <i>N,N</i> -dimetil-2-(4-trifluorometilbenzamido)etan-1-amônio) e o contraíon (OcS), na respectiva proporção molar de 1:0.....	108
Figura 4.16. Espectro B: espectro de RMN ¹ H registrado no espectrômetro Bruker - Avance III 200 MHz, utilizando-se D ₂ O como solvente, para o composto 10 (brometo de <i>N</i> -benzil- <i>N,N</i> -dimetil-2-(4-trifluorometilbenzamido)etan-1-amônio) e o contraíon (OcS), na respectiva proporção molar de 1:0,5.....	108
Figura 4.17. Espectro C: espectro de RMN ¹ H registrado no espectrômetro Bruker - Avance III 200 MHz, utilizando-se D ₂ O como solvente, para o composto 10 (brometo de <i>N</i> -benzil- <i>N,N</i> -dimetil-2-(4-trifluorometilbenzamido)etan-1-amônio) e o contraíon (OcS), na respectiva proporção molar de 1:1.....	109
Figura 4.18. Espectro C: espectro de RMN ¹ H registrado no espectrômetro Bruker AIII 500 MHz, utilizando-se D ₂ O como solvente, para o composto 10 (brometo de <i>N</i> -benzil- <i>N,N</i> -dimetil-2-(4-trifluorometilbenzamido)etan-1-amônio) e o contraíon (OcS), na respectiva proporção molar de 1:1.....	109
Figura 4.19. Espectro D: espectro de RMN ¹ H registrado no espectrômetro Bruker - Avance III 200 MHz, utilizando-se D ₂ O como solvente, para o composto 10 (brometo de <i>N</i> -benzil- <i>N,N</i> -dimetil-2-(4-trifluorometilbenzamido)etan-1-amônio) e o contraíon (OcS), na respectiva proporção molar de 1:2.....	110
Figura 4.20. Espectro E: espectro de RMN ¹ H registrado no espectrômetro Bruker - Avance III 200 MHz, utilizando-se D ₂ O como solvente, para o composto 10 (brometo de <i>N</i> -benzil- <i>N,N</i> -dimetil-2-(4-trifluorometilbenzamido)etan-1-amônio) e o contraíon (OcS), na respectiva proporção molar de 0:1.....	110
Figura 5.1. Brometos de <i>N</i> -benzil- <i>N,N</i> -dimetil-2-(4-X-benzamido)etan-1-amônio substituídos (Série I). 115	
Figura 5.2. Correlação entre os valores de $\log P_{app}$ (determinados por <i>shake-flask</i> , usando <i>n</i> -octanol (<i>psa</i>) como fase orgânica e, água destilada (<i>psa</i>) como fase aquosa A) e de $\log P_{calc}$ (CLOGP) para os brometos de <i>N</i> -benzil- <i>N,N</i> -dimetil-2-(4-X-benzamido)etan-1-amônio substituídos (compostos 7 (X=Br), 8 (X=NO ₂), 9 (X=CN), 10 (X=CF ₃) e 11 (X=SO ₂ CH ₃) da Série I).....	126
Figura 5.3. Correlação entre os valores de $\log P_{app}$ (determinados por <i>shake-flask</i> , usando <i>n</i> -octanol (<i>psa</i>) como fase orgânica e, soluções aquosas de NaBr (para ajuste de força iônica, $I = 0,10$ M - <i>psa</i>) como fase aquosa B) e de $\log P_{calc}$ (CLOGP) para os brometos de <i>N</i> -benzil- <i>N,N</i> -dimetil-2-(4-X-benzamido)etan-1-amônio substituídos (compostos 7 (X=Br), 8 (X=NO ₂), 9 (X=CN), 10 (X=CF ₃) e 11 (X=SO ₂ CH ₃) da Série I).....	127
Figura 5.4. Correlação entre os valores de $\log P_{app}$ (determinados por <i>shake-flask</i> , usando <i>n</i> -octanol (<i>psa</i>) como fase orgânica e, água destilada (<i>psa</i>) como fase aquosa A) e de $\log P_{calc}$ (ALOGPS) para os brometos de <i>N</i> -benzil- <i>N,N</i> -dimetil-2-(4-X-benzamido)etan-1-amônio substituídos (compostos 7 (X=Br), 8 (X=NO ₂), 9 (X=CN), 10 (X=CF ₃) e 11 (X=SO ₂ CH ₃) da Série I).....	128

Figura 5.5. Correlação entre os valores de $\log P_{app}$ (determinados por <i>shake-flask</i> , usando <i>n</i> -octanol (<i>psa</i>) como fase orgânica e, soluções aquosas de NaBr (para ajuste de força iônica, $I = 0,10$ M - <i>psa</i>) como fase aquosa B) e de $\log P_{calc}$ (ALOGPS) para os brometos de <i>N</i> -benzil- <i>N,N</i> -dimetil-2-(4- <i>X</i> -benzamido)etan-1-amônio substituídos (compostos 7 ($X=Br$), 8 ($X=NO_2$), 9 ($X=CN$), 10 ($X=CF_3$) e 11 ($X=SO_2CH_3$) da Série I).	129
Figura 5.6. Correlação entre os valores de $\log P_{app}$ (determinados por <i>shake-flask</i> , usando <i>n</i> -octanol (<i>psa</i>) como fase orgânica e, água destilada (<i>psa</i>) como fase aquosa A) e de $\log P_{calc}$ (Moka) para os brometos de <i>N</i> -benzil- <i>N,N</i> -dimetil-2-(4- <i>X</i> -benzamido)etan-1-amônio substituídos (compostos 7 ($X=Br$), 8 ($X=NO_2$), 9 ($X=CN$), 10 ($X=CF_3$) e 11 ($X=SO_2CH_3$) da Série I).	130
Figura 5.7. Correlação entre os valores de $\log P_{app}$ (determinados por <i>shake-flask</i> , usando <i>n</i> -octanol (<i>psa</i>) como fase orgânica e, soluções aquosas de NaBr (para ajuste de força iônica, $I = 0,10$ M - <i>psa</i>) como fase aquosa B) e de $\log P_{calc}$ (Moka) para os brometos de <i>N</i> -benzil- <i>N,N</i> -dimetil-2-(4- <i>X</i> -benzamido)etan-1-amônio substituídos (compostos 7 ($X=Br$), 8 ($X=NO_2$), 9 ($X=CN$), 10 ($X=CF_3$) e 11 ($X=SO_2CH_3$) da Série I).	130
Figura 5.8. Correlação entre os valores de $\log P_{app}$ (determinados por <i>shake-flask</i> , usando <i>n</i> -octanol (<i>psa</i>) como fase orgânica e, água destilada (<i>psa</i>) como fase aquosa A) e de $\log P_{calc}$ (ACD/LogP) para os brometos de <i>N</i> -benzil- <i>N,N</i> -dimetil-2-(4- <i>X</i> -benzamido)etan-1-amônio substituídos (compostos 7 ($X=Br$), 8 ($X=NO_2$), 9 ($X=CN$), 10 ($X=CF_3$) e 11 ($X=SO_2CH_3$) da Série I).	132
Figura 5.9. Correlação entre os valores de $\log P_{app}$ (determinados por <i>shake-flask</i> , usando <i>n</i> -octanol (<i>psa</i>) como fase orgânica e, soluções aquosas de NaBr (para ajuste de força iônica, $I = 0,10$ M - <i>psa</i>) como fase aquosa B) e de $\log P_{calc}$ (ACD/LogP) para os brometos de <i>N</i> -benzil- <i>N,N</i> -dimetil-2-(4- <i>X</i> -benzamido)etan-1-amônio substituídos (compostos 7 ($X=Br$), 8 ($X=NO_2$), 9 ($X=CN$), 10 ($X=CF_3$) e 11 ($X=SO_2CH_3$) da Série I).	132
Figura 5.10. Correlação entre os valores de $\log P_{app}$ (determinados por <i>shake-flask</i> , usando <i>n</i> -octanol (<i>psa</i>) como fase orgânica e, água destilada (<i>psa</i>) como fase aquosa A) e de $\log P_{calc}$ (Volsurf+) para os brometos de <i>N</i> -benzil- <i>N,N</i> -dimetil-2-(4- <i>X</i> -benzamido)etan-1-amônio substituídos (compostos 7 ($X=Br$), 8 ($X=NO_2$), 9 ($X=CN$), 10 ($X=CF_3$) e 11 ($X=SO_2CH_3$) da Série I).	134
Figura 5.11. Correlação entre os valores de $\log P_{app}$ (determinados por <i>shake-flask</i> , usando <i>n</i> -octanol (<i>psa</i>) como fase orgânica e, soluções aquosas de NaBr (para ajuste de força iônica, $I = 0,10$ M - <i>psa</i>) como fase aquosa B) e de $\log P_{calc}$ (Volsurf+) para os brometos de <i>N</i> -benzil- <i>N,N</i> -dimetil-2-(4- <i>X</i> -benzamido)etan-1-amônio substituídos (compostos 7 ($X=Br$), 8 ($X=NO_2$), 9 ($X=CN$), 10 ($X=CF_3$) e 11 ($X=SO_2CH_3$) da Série I).	134
Figura 5.12. Representação esquemática do equilíbrio atingido na partição de um composto genérico (<i>C</i>), neutro ou não ionizável, no sistema <i>n</i> -octanol/água.	137
Figura 5.13. Curvas ilustrativas para o composto 11 (mais hidrofílico) traçadas, respectivamente, entre os valores de $\log P_{app}$ e as diferentes concentrações de OcS (M), mostrando somente a região até o valor 1:10 (proporção composto:contração). O gráfico (A) representa os valores de $\log P_{app}$ obtidos sem ajuste de força iônica e (B) com ajuste de força iônica, $I = 0,10$ M (NaBr).	148
Figura 5.14. Correlação entre os valores de $\log P_{app}$ (obtidos por <i>shake-flask</i> , usando A como fase aquosa) e os correspondentes $\log P_{app}^0$ (obtidos por extrapolação), para os brometos de <i>N</i> -benzil- <i>N,N</i> -dimetil-2-(4- <i>X</i> -benzamido)etan-1-amônio substituídos (compostos 7 ($X=Br$), 8 ($X=NO_2$), 9 ($X=CN$), 10 ($X=CF_3$) e 11 ($X=SO_2CH_3$) da Série I).	151
Figura 5.15. Correlação entre os valores de $\log P_{app}$ (obtidos por <i>shake-flask</i> , usando B como fase aquosa) e os correspondentes $\log P_{app}^0$ (obtidos por extrapolação) para os brometos de <i>N</i> -benzil- <i>N,N</i> -dimetil-2-(4- <i>X</i> -benzamido)etan-1-amônio substituídos (compostos 7 ($X=Br$), 8 ($X=NO_2$), 9 ($X=CN$), 10 ($X=CF_3$) e 11 ($X=SO_2CH_3$) da Série I).	152
Figura 5.16. Picos de hidrogênios das metilas ligadas ao N^+ (CH_3) ₂ do composto 10 (brometo de <i>N</i> -benzil- <i>N,N</i> -dimetil-2-(4-trifluorometilbenzamido)etan-1-amônio), na presença de diferentes proporções molares de OcS, observados nos respectivos espectros de RMN ¹ H (espectrômetro Bruker - Avance III 200 MHz, D ₂ O como solvente).	162
Figura 5.17. Picos de hidrogênios do metileno da cadeia ligado ao N^+ CH_2 do composto 10 (brometo de <i>N</i> -benzil- <i>N,N</i> -dimetil-2-(4-trifluorometilbenzamido)etan-1-amônio), na presença de diferentes proporções molares de OcS, observados nos respectivos espectros de RMN ¹ H (espectrômetro Bruker - Avance III 200 MHz, D ₂ O como solvente).	162
Figura 5.18. Picos de hidrogênios do metileno da benzila ligado ao N^+ CH_2 do composto 10 (brometo de <i>N</i> -benzil- <i>N,N</i> -dimetil-2-(4-trifluorometilbenzamido)etan-1-amônio), na presença de diferentes proporções molares de OcS, observados nos respectivos espectros de RMN ¹ H (espectrômetro Bruker - Avance III 200 MHz, D ₂ O como solvente).	163

LISTA DE TABELAS

Tabela 1.1. Principais tipos de interações entre um composto e o sistema biológico e as respectivas faixas de energias envolvidas (Seydel, 1979; Böhm-Schneider, 2003).	24
Tabela 1.2. Algumas das propriedades moleculares, as correspondentes interações e os correspondentes parâmetros descritores, envolvidos na formação do complexo ligante-receptor (Kubinyi, 1993; Raminelli, 2001).	24
Tabela 1.3. Valores de $\log P$ e de Fluxo em membrana (PDMS) obtidos para a benzidamina na ausência e, na presença de ibuprofeno ou de octanosulfonato, respectivamente. E, os correspondentes valores de deslocamento químico (δ , ppm) observados nos respectivos espectros de RMN ¹ H.	53
Tabela 1.4. Valores de $\log P_{app}$ para o brometo de propantelina, o brometo de trantelínio, o brometo de etídio e para o brometo de neostigmina (brometos de amônio quaternários; QA) determinados em <i>n</i> -octanol, usando diferentes proporções molares do contraíon ácido desoxicólico (DOC).	54
Tabela 1.5. Valores de P_{app} , de $\log P_{app}$ e de K_f (M ⁻¹) obtidos, respectivamente, para o glicopirrolato na ausência e, na presença dos contraíons glicocolato, glicodeoxicolato e dodecil sulfato de sódio, usando as correspondentes proporções molares.	55
Tabela 3.1. Exemplo ilustrativo das 11 soluções aquosas de OcS (soluções A') preparadas (usadas como fase aquosa nas determinações dos valores de coeficiente de partição do composto 7), dos respectivos valores da concentração molar de OcS e das respectivas proporções composto:contraíon.	76
Tabela 3.2. Exemplo ilustrativo das 11 soluções aquosas de OcS com ajuste de força iônica, $I = 0,10$ M (NaBr) (soluções B') preparadas (usadas como fase aquosa nas determinações dos valores de coeficiente de partição do composto 7), dos respectivos valores da concentração molar de NaBr e de OcS e das respectivas proporções composto:contraíon.	77
Tabela 4.1. Fórmulas moleculares e valores das massas molares (g mol ⁻¹) e dos correspondentes pontos de fusão (°C) dos brometos de <i>N</i> -benzil- <i>N,N</i> -dimetil-2-(4- <i>X</i> -benzamido)etan-1-amônio substituídos (compostos 7 (X=Br), 8 (X=NO ₂), 9 (X=CN), 10 (X=CF ₃) e 11 (X=SO ₂ CH ₃) da Série I).	80
Tabela 4.2. Valores das análises elementares (%C/%H/%N) calculados e obtidos experimentalmente para os brometos de <i>N</i> -benzil- <i>N,N</i> -dimetil-2-(4- <i>X</i> -benzamido)etan-1-amônio substituídos (compostos 7 (X=Br), 8 (X=NO ₂), 9 (X=CN), 10 (X=CF ₃) e 11 (X=SO ₂ CH ₃) da Série I).	81
Tabela 4.3. Valores dos deslocamentos químicos (ppm) relativos ao pico residual do solvente (deslocamento químico de HDO; água dissolvida em água- <i>d</i> ₂) e das constantes de acoplamento <i>J</i> (Hz), observados nos espectros de RMN ¹ H para os brometos de <i>N</i> -benzil- <i>N,N</i> -dimetil-2-(4- <i>X</i> -benzamido)etan-1-amônio substituídos (compostos 7 (X=Br), 8 (X=NO ₂), 9 (X=CN), 10 (X=CF ₃) e 11 (X=SO ₂ CH ₃) da Série I).	81
Tabela 4.4. Valores dos deslocamentos químicos (ppm) relativos ao pico residual do solvente (deslocamento químico de HDO; água dissolvida em água- <i>d</i> ₂), observados nos espectros de RMN ¹³ C para os brometos de <i>N</i> -benzil- <i>N,N</i> -dimetil-2-(4- <i>X</i> -benzamido)etan-1-amônio substituídos (compostos 7 (X=Br), 8 (X=NO ₂), 9 (X=CN), 10 (X=CF ₃) e 11 (X=SO ₂ CH ₃) da Série I).	82
Tabela 4.5. Valores das posições das bandas de absorção mais características no espectro <i>IV</i> , em cm ⁻¹ , obtidos em pastilhas de KBr, para os brometos de <i>N</i> -benzil- <i>N,N</i> -dimetil-2-(4- <i>X</i> -benzamido)etan-1-amônio substituídos (compostos 7 (X=Br), 8 (X=NO ₂), 9 (X=CN), 10 (X=CF ₃) e 11 (X=SO ₂ CH ₃) da Série I).	83
Tabela 4.6. Valores dos pontos de fusão (°C) e das posições das bandas de absorção mais características no espectro <i>IV</i> , em cm ⁻¹ , obtidos em pastilhas de KBr, observados para o reagente comercial OcS de duas procedências (de fabricante não-especificado e fabricado pela <i>Alfa Aesar</i>), e os correspondentes da literatura.	84
Tabela 4.7. Valores da concentração molar das soluções aquosas de <i>n</i> -octil sulfato de sódio (OcS), e das correspondentes absorvâncias observadas no comprimento de onda máximo ($\lambda_{max} = 227$ nm), à temperatura ambiente e, nos tempos $t = 0$ e $t = 16$ dias.	84
Tabela 4.8. Valores do coeficiente de partição preditos pelos programas, respectivamente, <i>CLOGP</i> , <i>ALOGPS</i> , <i>Moka</i> , <i>ACD/LogP</i> e <i>Volsurf+</i> , para os brometos de <i>N</i> -benzil- <i>N,N</i> -dimetil-2-(4- <i>X</i> -benzamido)etan-1-amônio substituídos (compostos 7 (X=Br), 8 (X=NO ₂), 9 (X=CN), 10 (X=CF ₃) e 11 (X=SO ₂ CH ₃) da Série I).	85
Tabela 4.9. Valores do comprimento de onda de máxima absorção (λ_{max}) e dos coeficientes de absorvidade molar (ϵ) determinados, em água destilada (A) e em solução aquosa de NaBr (para ajuste de força iônica, $I = 0,10$ M; B), ambas <i>pso</i> , para os brometos de <i>N</i> -benzil- <i>N,N</i> -dimetil-2-(4- <i>X</i> -	

benzamido)etan-1-amônio substituídos (compostos 7 (X=Br), 8 (X=NO ₂), 9 (X=CN), 10 (X=CF ₃) e 11 (X=SO ₂ CH ₃) da Série I)	86
Tabela 4.10. Valores dos volumes da fase aquosa (V _{aq}) e de <i>n</i> -octanol (V _{oct}) utilizados na partição; das absorvâncias inicial (A _i) e final (A _f); da relação P/R _v e, do coeficiente de partição aparente (logP _{app}) do brometo de <i>N</i> -benzil- <i>N,N</i> -dimetil-2-(4-bromobenzamido)etan-1-amônio (7), determinados em duplicata, pelo método <i>shake-flask</i> , à 25 ± 1 °C, usando <i>n</i> -octanol (<i>psa</i>) como fase orgânica e as soluções, respectivamente, A ^(a) e B ^(b) como fases aquosas, sendo estas últimas <i>psa</i>	87
Tabela 4.11. Valores dos volumes da fase aquosa (V _{aq}) e de <i>n</i> -octanol (V _{oct}) utilizados na partição; das absorvâncias inicial (A _i) e final (A _f); da relação P/R _v e, do coeficiente de partição aparente (logP _{app}) do brometo de <i>N</i> -benzil- <i>N,N</i> -dimetil-2-(4-nitrobenzamido)etan-1-amônio (8), determinados em duplicata, pelo método <i>shake-flask</i> , à 25 ± 1 °C, usando <i>n</i> -octanol (<i>psa</i>) como fase orgânica e as soluções, respectivamente, A ^(a) e B ^(b) como fases aquosas, sendo estas últimas <i>psa</i>	87
Tabela 4.12. Valores dos volumes da fase aquosa (V _{aq}) e de <i>n</i> -octanol (V _{oct}) utilizados na partição; das absorvâncias inicial (A _i) e final (A _f); da relação P/R _v e, do coeficiente de partição aparente (logP _{app}) do brometo de <i>N</i> -benzil- <i>N,N</i> -dimetil-2-(4-cianobenzamido)etan-1-amônio (9), determinados em duplicata, pelo método <i>shake-flask</i> , à 25 ± 1 °C, usando <i>n</i> -octanol (<i>psa</i>) como fase orgânica e as soluções, respectivamente, A ^(a) e B ^(b) como fases aquosas, sendo estas últimas <i>psa</i>	88
Tabela 4.13. Valores dos volumes da fase aquosa (V _{aq}) e de <i>n</i> -octanol (V _{oct}) utilizados na partição; das absorvâncias inicial (A _i) e final (A _f); da relação P/R _v e, do coeficiente de partição aparente (logP _{app}) do brometo de <i>N</i> -benzil- <i>N,N</i> -dimetil-2-(4-trifluorometilbenzamido)etan-1-amônio (10), determinados em duplicata, pelo método <i>shake-flask</i> , à 25 ± 1 °C, usando <i>n</i> -octanol (<i>psa</i>) como fase orgânica e as soluções A ^(a) como fase aquosa, sendo esta última <i>psa</i>	88
Tabela 4.14. Valores dos volumes da fase aquosa (V _{aq}) e de <i>n</i> -octanol (V _{oct}) utilizados na partição; das absorvâncias inicial (A _i) e final (A _f); da relação P/R _v e, do coeficiente de partição aparente (logP _{app}) do brometo de <i>N</i> -benzil- <i>N,N</i> -dimetil-2-(4-metilsulfonilbenzamido)etan-1-amônio (11), determinados em duplicata, pelo método <i>shake-flask</i> , à 25 ± 1 °C, usando <i>n</i> -octanol (<i>psa</i>) como fase orgânica e as soluções, respectivamente, A ^(a) e B ^(b) como fases aquosas, sendo estas últimas <i>psa</i>	89
Tabela 4.15. Experimentos realizados, em duplicata ^(*) , para obtenção por <i>shake flask</i> dos valores de logP _{app} para o brometo de <i>N</i> -benzil- <i>N,N</i> -dimetil-2-(4-bromobenzamido)etan-1-amônio (7 , X=Br) bem como da relação P/R _v . Nestes usou-se <i>n</i> -octanol (<i>psa</i>) como fase orgânica e 11 diferentes soluções aquosas (<i>psa</i>) de OcS (soluções A') como fase aquosa, preparadas nas correspondentes concentrações (mM) e proporções de OcS.	90
Tabela 4.16. Experimentos realizados, em duplicata ^(*) , para obtenção por <i>shake flask</i> dos valores de logP _{app} para o brometo de <i>N</i> -benzil- <i>N,N</i> -dimetil-2-(4-bromobenzamido)etan-1-amônio (7 , X=Br) bem como da relação P/R _v . Nestes usou-se <i>n</i> -octanol (<i>psa</i>) como fase orgânica e 11 diferentes soluções aquosas (<i>psa</i>) de OcS com força iônica ajustada para I = 0,10 M (NaBr) (soluções B') como fase aquosa, preparadas nas correspondentes concentrações (mM) e proporções de OcS.	91
Tabela 4.17. Experimentos realizados, em duplicata ^(*) , para obtenção por <i>shake flask</i> dos valores de logP _{app} para o brometo de <i>N</i> -benzil- <i>N,N</i> -dimetil-2-(4-nitrobenzamido)etan-1-amônio (8 , X=NO ₂) bem como da relação P/R _v . Nestes usou-se <i>n</i> -octanol (<i>psa</i>) como fase orgânica e 11 diferentes soluções aquosas (<i>psa</i>) de OcS (soluções A') como fase aquosa, preparadas nas correspondentes concentrações (mM) e proporções de OcS.	92
Tabela 4.18. Experimentos realizados, em duplicata ^(*) , para obtenção por <i>shake flask</i> dos valores de logP _{app} para o brometo de <i>N</i> -benzil- <i>N,N</i> -dimetil-2-(4-nitrobenzamido)etan-1-amônio (8 , X=NO ₂) bem como da relação P/R _v . Nestes usou-se <i>n</i> -octanol (<i>psa</i>) como fase orgânica e 11 diferentes soluções aquosas (<i>psa</i>) de OcS com força iônica ajustada para I = 0,10 M (NaBr) (soluções B') como fase aquosa, preparadas nas correspondentes concentrações (mM) e proporções de OcS.	93
Tabela 4.19. Experimentos realizados, em duplicata ^(*) , para obtenção por <i>shake flask</i> dos valores de logP _{app} para o brometo de <i>N</i> -benzil- <i>N,N</i> -dimetil-2-(4-cianobenzamido)etan-1-amônio (9 , X=CN) bem como da relação P/R _v . Nestes usou-se <i>n</i> -octanol (<i>psa</i>) como fase orgânica e 11 diferentes soluções aquosas (<i>psa</i>) de OcS, (soluções A') como fase aquosa, preparadas nas correspondentes concentrações (mM) e proporções de OcS.	95
Tabela 4.20. Experimentos realizados, em duplicata ^(*) , para obtenção por <i>shake flask</i> dos valores de logP _{app} para o brometo de <i>N</i> -benzil- <i>N,N</i> -dimetil-2-(4-cianobenzamido)etan-1-amônio (9 , X=CN) bem como da relação P/R _v . Nestes usou-se <i>n</i> -octanol (<i>psa</i>) como fase orgânica e 11 diferentes soluções aquosas de OcS (<i>psa</i>) com força iônica ajustada para I = 0,10 M (NaBr) (soluções B') como fase aquosa, preparadas nas correspondentes concentrações (mM) e proporções de OcS.	96

- Tabela 4.21.** Experimentos realizados, em duplicata^(*), para obtenção por *shake flask* dos valores de $\log P_{app}$ para o brometo de *N*-benzil-*N,N*-dimetil-2-(4-trifluorometilbenzamido)etan-1-amônio (**10**, X=CF₃) bem como da relação P/R_v. Nestes usou-se *n*-octanol (*psa*) como fase orgânica e 11 diferentes soluções aquosas (*psa*) de OcS (soluções **A'**) como fase aquosa, preparadas nas correspondentes concentrações (mM) e proporções de OcS..... 97
- Tabela 4.22.** Experimentos realizados, em duplicata^(*), para obtenção por *shake flask* dos valores de $\log P_{app}$ para o brometo de *N*-benzil-*N,N*-dimetil-2-(4-metilsulfonilbenzamido)etan-1-amônio (**11**, X=SO₂CH₃) bem como da relação P/R_v. Nestes usou-se *n*-octanol (*psa*) como fase orgânica e 11 diferentes soluções aquosas (*psa*) de OcS (soluções **A'**) como fase aquosa, preparadas nas correspondentes concentrações (mM) e proporções de OcS..... 98
- Tabela 4.23.** Experimentos realizados, em duplicata^(*), para obtenção por *shake flask* dos valores de $\log P_{app}$ para o brometo de *N*-benzil-*N,N*-dimetil-2-(4-metilsulfonilbenzamido)etan-1-amônio (**11**, X=SO₂CH₃) bem como da relação P/R_v. Nestes usou-se *n*-octanol (*psa*) como fase orgânica e 11 diferentes soluções aquosas de OcS (*psa*) com força iônica ajustada para $I = 0,10$ M (NaBr) (soluções **B'**) como fase aquosa, preparadas nas correspondentes concentrações (mM) e proporções de OcS..... 99
- Tabela 4.24.** Experimentos realizados, em duplicata^(*), para obtenção por *shake flask* dos valores de $\log P_{app}$ para o QX-222 bem como da relação P/R_v. Nestes usou-se *n*-octanol (*psa*) como fase orgânica e 10 diferentes soluções aquosas (*psa*) de OcS (soluções **A'**) como fase aquosa, preparadas nas correspondentes concentrações (mM) e proporções de OcS..... 101
- Tabela 4.25.** Experimentos realizados, em duplicata^(*), para obtenção por *shake flask* dos valores de $\log P_{app}$ para o brometo de neostigmina bem como da relação P/R_v. Nestes usou-se *n*-octanol (*psa*) como fase orgânica e 10 diferentes soluções aquosas (*psa*) de OcS (soluções **A'**) como fase aquosa, preparadas nas correspondentes concentrações (mM) e proporções de OcS..... 103
- Tabela 4.26.** Experimentos realizados, em duplicata^(*), para obtenção por *shake flask* dos valores de $\log P$ para a benzamida bem como da relação P/R_v. Nestes usou-se *n*-octanol (*psa*) como fase orgânica e 5 diferentes soluções aquosas (*psa*) de OcS (soluções **A'**) como fase aquosa, preparadas nas correspondentes concentrações (mM) e proporções de OcS..... 104
- Tabela 4.27.** Experimentos realizados, em duplicata^(*), para obtenção por *shake flask* dos valores de $\log P$ para a benzamida bem como da relação P/R_v. Nestes usou-se *n*-octanol (*psa*) como fase orgânica e 5 diferentes soluções aquosas (*psa*) de OcS com força iônica ajustada para $I = 0,10$ M (NaBr), (soluções **B'**) como fase aquosa, preparadas nas correspondentes concentrações (mM) e proporções de OcS..... 105
- Tabela 4.28.** Espectros de RMN¹H registrados para o composto **10** (brometo de *N*-benzil-*N,N*-dimetil-2-(4-trifluorometilbenzamido)etan-1-amônio), utilizando-se D₂O como solvente, nas diferentes proporções molares de composto:contraíon, correspondentes às respectivas concentrações, em mol/L, de OcS e do composto **10**. 107
- Tabela 5.1.** Valores do coeficiente de partição preditos, $\log P_{calc}$, pelos programas CLOGP, ALOGPS, Moka e ACD/LogP, respectivamente, para o *n*-octil sulfato de sódio (OcS)..... 119
- Tabela 5.2.** Valores dos coeficientes de partição dos brometos de *N*-benzil-*N,N*-dimetil-2-(4-X-benzamido)etan-1-amônio substituídos (compostos **7** (X=Br), **8** (X=NO₂), **9** (X=CN), **10** (X=CF₃) e **11** (X=SO₂CH₃) da **Série I**) obtidos por cálculo pelo programa CLOGP e determinados pelo método *shake-flask*, à 25 ± 1 °C, usando *n*-octanol (*psa*) como fase orgânica e, água destilada (**A**) ou soluções aquosas de NaBr (**B** - para ajuste de força iônica, $I = 0,10$ M) como fase aquosa, ambas *psa*. 126
- Tabela 5.3.** Valores dos coeficientes de partição dos brometos de *N*-benzil-*N,N*-dimetil-2-(4-X-benzamido)etan-1-amônio substituídos (compostos **7** (X=Br), **8** (X=NO₂), **9** (X=CN), **10** (X=CF₃) e **11** (X=SO₂CH₃) da **Série I**) obtidos por cálculo pelo programa ALOGPS e determinados pelo método *shake-flask*, à 25 ± 1 °C, usando *n*-octanol (*psa*) como fase orgânica e, água destilada (**A**) ou soluções aquosas de NaBr (**B** - para ajuste de força iônica, $I = 0,10$ M) como fase aquosa, ambas *psa*. 128
- Tabela 5.4.** Valores dos coeficientes de partição dos brometos de *N*-benzil-*N,N*-dimetil-2-(4-X-benzamido)etan-1-amônio substituídos (compostos **7** (X=Br), **8** (X=NO₂), **9** (X=CN), **10** (X=CF₃) e **11** (X=SO₂CH₃) da **Série I**) obtidos por cálculo pelo programa Moka e determinados pelo método *shake-flask*, à 25 ± 1 °C, usando *n*-octanol (*psa*) como fase orgânica e, água destilada (**A**) ou soluções aquosas de NaBr (**B** - para ajuste de força iônica, $I = 0,10$ M) como fase aquosa, ambas *psa*. 130
- Tabela 5.5.** Valores dos coeficientes de partição dos brometos de *N*-benzil-*N,N*-dimetil-2-(4-X-benzamido)etan-1-amônio substituídos (compostos **7** (X=Br), **8** (X=NO₂), **9** (X=CN), **10** (X=CF₃) e **11**

(X=SO ₂ CH ₃) da Série I) obtidos por cálculo pelo programa ACD/LogP e determinados pelo método <i>shake-flask</i> , à 25 ± 1 °C, usando <i>n</i> -octanol (<i>psa</i>) como fase orgânica e, água destilada (A) ou soluções aquosas de NaBr (B - para ajuste de força iônica, I = 0,10 M) como fase aquosa, ambas <i>psa</i>	131
Tabela 5.6. Valores dos coeficientes de partição dos brometos de <i>N</i> -benzil- <i>N,N</i> -dimetil-2-(4- <i>X</i> -benzamido)etan-1-amônio substituídos (compostos 7 (X=Br), 8 (X=NO ₂), 9 (X=CN), 10 (X=CF ₃) e 11 (X=SO ₂ CH ₃) da Série I) obtidos por cálculo pelo programa Volsurf+ e determinados pelo método <i>shake-flask</i> , à 25 ± 1 °C, usando <i>n</i> -octanol (<i>psa</i>) como fase orgânica e, água destilada (A) ou soluções aquosas de NaBr (B - para ajuste de força iônica, I = 0,10 M) como fase aquosa, ambas <i>psa</i>	134
Tabela 5.7. Valores de pK _a do grupamento amida nos brometos de <i>N</i> -benzil- <i>N,N</i> -dimetil-2-(4- <i>X</i> -benzamido)etan-1-amônio substituídos (compostos 7 (X=Br), 8 (X=NO ₂), 9 (X=CN), 10 (X=CF ₃) e 11 (X=SO ₂ CH ₃) da Série I).	140
Tabela 5.8. Valores dos coeficientes de partição aparente (<i>logP_{app}</i>) obtidos para os brometos de <i>N</i> -benzil- <i>N,N</i> -dimetil-2-(4- <i>X</i> -benzamido)etan-1-amônio substituídos (compostos 7 (X=Br), 8 (X=NO ₂), 9 (X=CN), 10 (X=CF ₃) e 11 (X=SO ₂ CH ₃) da Série I) determinados, em duplicata, pelo método <i>shake-flask</i> , à 25 ± 1 °C, usando <i>n</i> -octanol (<i>psa</i>) como fase orgânica e, água destilada (A) ou soluções aquosas de NaBr (B - para ajuste de força iônica, I = 0,10 M) como fases aquosas, sendo estas últimas <i>psa</i>	142
Tabela 5.9. Valores das faixas das concentrações de OcS (mM) e dos correspondentes <i>logP_{app}</i> observados para os brometos de <i>N</i> -benzil- <i>N,N</i> -dimetil-2-(4- <i>X</i> -benzamido)etan-1-amônio substituídos (compostos 7 (X=Br), 8 (X=NO ₂), 9 (X=CN), 10 (X=CF ₃) e 11 (X=SO ₂ CH ₃) da Série I), medidos usando as fases aquosas A' ou B' , respectivamente, bem como os correspondentes valores de <i>logP_{app}</i> determinados diretamente (sem OcS).	147
Tabela 5.10. Valores das faixas de concentração de OcS (mM) usados e dos correspondentes <i>logP_{app}</i> medidos para os brometos de <i>N</i> -benzil- <i>N,N</i> -dimetil-2-(4- <i>X</i> -benzamido)etan-1-amônio substituídos (compostos 7 (X=Br), 8 (X=NO ₂), 9 (X=CN), 10 (X=CF ₃) e 11 (X=SO ₂ CH ₃) da Série I), usando as fases aquosas A' ou B' , respectivamente. E ainda, os correspondentes valores de <i>logP_{app}</i> ⁰ , e do coeficiente angular (M ⁻¹) das retas obtidas por extrapolação.	150
Tabela 5.11. Valores de <i>logP_{app}</i> obtidos para os brometos de <i>N</i> -benzil- <i>N,N</i> -dimetil-2-(4- <i>X</i> -benzamido)etan-1-amônio substituídos (compostos 7 (X=Br), 8 (X=NO ₂), 9 (X=CN), 10 (X=CF ₃) e 11 (X=SO ₂ CH ₃) da Série I), pelo método <i>shake-flask</i> , à 25 ± 1 °C, usando <i>n</i> -octanol (<i>psa</i>) como fase orgânica e, água destilada (A) ou soluções aquosas de NaBr (B - para ajuste de força iônica, I = 0,10 M) como fases aquosas, sendo estas últimas <i>psa</i> , e, os correspondentes valores extrapolados para a concentração zero de OcS (<i>logP_{app}</i> ⁰).	151
Tabela 5.12. Valores dos volumes da fase aquosa (V _{aq}) e de <i>n</i> -octanol (V _{oct}) utilizados na partição; das absorvâncias inicial (A _i) e final (A _f); da relação P/R _v e, do coeficiente de partição aparente (<i>logP_{app}</i>) do QX-222, determinados em duplicata, pelo método <i>shake-flask</i> , à 25 ± 1 °C, usando <i>n</i> -octanol (<i>psa</i>) como fase orgânica e as soluções A ^(a) como fases aquosas, sendo estas últimas <i>psa</i>	153
Tabela 5.13. Valores dos volumes da fase aquosa (V _{aq}) e de <i>n</i> -octanol (V _{oct}) utilizados na partição; das absorvâncias inicial (A _i) e final (A _f); da relação P/R _v e, do coeficiente de partição aparente (<i>logP_{app}</i>) do brometo de neostigmina, determinados em duplicata, pelo método <i>shake-flask</i> , à 25 ± 1 °C, usando <i>n</i> -octanol (<i>psa</i>) como fase orgânica e as soluções A ^(a) como fases aquosas, sendo estas últimas <i>psa</i>	155
Tabela 5.14. Espectros de RMN ¹ H registrados para o composto 10 (brometo de <i>N</i> -benzil- <i>N,N</i> -dimetil-2-(4-trifluorometilbenzamido)etan-1-amônio), utilizando-se D ₂ O como solvente, nas diferentes proporções [composto]:[contraion], os correspondentes valores dos deslocamentos químicos (δ ; ppm) e das intensidades dos picos de hidrogênios, ligados aos carbonos numerados na estrutura do composto 10	161

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

QSAR: Quantitative Structure Activity Relationship; Relação Quantitativa entre Estrutura Química e Atividade Biológica

SAR: Structure Activity Relationship; Relação entre Estrutura Química e Atividade Biológica

(Q)SAR: (Quantitative) Structure Activity Relationship; Relação (Quantitativa) entre Estrutura Química e Atividade Biológica

QSAR-3D: Relação Quantitativa entre Estrutura Química e Atividade Biológica em três dimensões (3D)

HTS: High Throughput Screening

SBDD: Structure-based drug design

LBDD: Ligand-based drug design

LFER: Linear Free-Energy Relationship

PCA: Principal Component Analysis

PLS: Partial Least-square

MIFs: Molecular Interaction Fields

RAC_hn: receptor nicotínico de acetilcolina

ADME: absorção, distribuição, metabolismo e excreção (biodisponibilidade)

CMC: concentração micelar crítica (em M)

PF: ponto de fusão (em °C)

RMN: Ressonância Magnética Nuclear

UV-VIS: Ultravioleta - Visível

IV: Infravermelho

HPLC: High Performance Liquid Chromatography (reversed phase); Cromatografia líquida de alta eficiência (fase reversa)

LC-MS: Liquid chromatography–mass spectrometry

IAM: Immobilized Artificial Membrane

PAMPA: Parallel Artificial Membrane Permeability Assay

PDMS: Polydimethylsiloxane

QX-222: (2-[(2,6-dimethylphenyl)amino]-N,N,N-trimethyl-2-oxoethaniminium chloride); composto derivado da lidocaína, anestésico local, sal de amônio quaternário hidrofílico

OcS: *n*-octil sulfato de sódio (contraíon hidrofóbico)

***I*:** força iônica (em M)

Es: constante estérica de Taft

σ : constante eletrônica de Hammett

π : constante hidrofóbica de Hansch-Fujita

logP: coeficiente de partição

logP_{app}: coeficiente de partição aparente

logP_{calc}: coeficiente de partição obtido por cálculo por programa computacional

logP_{app}⁰: coeficiente de partição aparente extrapolado para concentração zero de contraíon

P/R_v: razão entre P (partição) e R_v

R_v: razão entre os volumes das fases aquosa e orgânica (V_{aq}/V_{oct})

V_{aq}: volume de fase aquosa usado na partição

V_{oct}: volume de fase orgânica (*n*-octanol) usado na partição

A_i: absorbância inicial (antes da partição)

A_f: absorbância final (após a partição)

ps_o: pré-saturado de *n*-octanol

ps_a: pré-saturado de água

ϵ : coeficiente de absorvidade molar (em mol⁻¹ L cm⁻¹)

λ_{max} : comprimento de onda de absorção máxima (em nm)

Solução A: água destilada, ps_o, usada como fase aquosa na partição

Solução B: solução aquosa de NaBr (para ajuste de força iônica, *I* = 0,10 M), ps_o, usada como fase aquosa na partição

Solução A': solução aquosa de OcS, ps_o, usada como fase aquosa na partição

Solução B': solução aquosa de OcS com força iônica ajustada para *I* = 0,10 M (NaBr), ps_o, usada como fase aquosa na partição

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	21
1.1 Relações (Quantitativas) entre Estrutura Química e Atividade Biológica (Q)SAR.....	21
1.1.1 Interações entre um composto e o sistema biológico	23
1.1.2 <i>Abordagem Extratermodinâmica</i> e Metodologias Recentes	26
1.1.3 Parâmetro biológico.....	30
1.1.4 Parâmetros físico-químicos/estruturais	31
1.1.4.1 Parâmetros Eletrônicos, Estéricos e relacionados à Polarizabilidade.....	31
1.1.4.2 Parâmetros Hidrofóbicos.....	33
O coeficiente de partição ($\log P$).....	34
O uso do sistema <i>n</i> -octanol/água como modelo de partição	36
Métodos para a determinação do coeficiente de partição	42
O coeficiente de partição de compostos ionizáveis	48
O coeficiente de partição de compostos permanentemente carregados	49
1.2 O Conceito de Par iônico	50
1.2.1 Efeitos do par iônico sobre a lipofilicidade	51
1.3 Alguns aspectos sobre receptores nicotínicos e compostos com atividade de bloqueio da transmissão neuromuscular.....	57
2 OBJETIVOS	63
3 MATERIAIS E MÉTODOS	64
3.1 Reagentes e solventes	64
3.2 Equipamentos	64
3.3 Compostos estudados	67
3.3.1 Brometos de amônio quaternários	67
3.3.2 <i>n</i> -octil sulfato de sódio (OcS) como contraíon hidrofóbico.....	68
3.4 Identificação e caracterização dos compostos estudados	69
3.4.1 Brometos de amônio quaternários	69
3.4.2 Reagente comercial <i>n</i> -octil sulfato de sódio (OcS)	70
3.5 Métodos de determinação dos parâmetros hidrofóbicos.....	71
3.5.1 Obtenção dos valores do coeficiente de partição por cálculo ($\log P_{calc}$).....	71
3.5.2 Determinação por <i>shake-flask</i> dos valores do coeficiente de partição aparente ($\log P_{app}$) .	71
3.5.3 Determinação por <i>shake-flask</i> dos valores do coeficiente de partição aparente ($\log P_{app}$) na presença de contraíon hidrofóbico	75
3.6 Aplicabilidade do conceito do par iônico como estratégia metodológica	78
3.6.1 Determinação dos valores do coeficiente de partição do QX-222 na presença de contraíon hidrofóbico	78

3.6.2	Determinação dos valores do coeficiente de partição do brometo de neostigmina na presença de contraíon hidrofóbico	78
3.7	Experimentos complementares para verificar a formação de par iônico	79
3.7.1	Determinação dos valores do coeficiente de partição da benzamida na presença de contraíon hidrofóbico	79
3.7.2	Registro e análise sistemática dos espectros de RMN ¹ H para verificar a formação de par iônico.....	79
4	RESULTADOS	80
4.1	Identificação e caracterização dos compostos estudados	80
4.1.1	Brometos de amônio quaternários	80
4.1.2	<i>n</i> -octil sulfato de sódio (OcS) como contraíon hidrofóbico	83
4.2	Obtenção dos parâmetros hidrofóbicos	84
4.2.1	Obtenção dos valores do coeficiente de partição por cálculo ($\log P_{calc}$)	85
4.2.2	Determinação por <i>shake-flask</i> dos valores do coeficiente de partição aparente ($\log P_{app}$) ..	85
4.2.3	Determinação por <i>shake-flask</i> dos valores do coeficiente de partição aparente ($\log P_{app}$) na presença de contraíon hidrofóbico	89
4.3	Aplicabilidade do conceito do par iônico como estratégia metodológica	101
4.3.1	Determinação dos valores do coeficiente de partição do QX-222 na presença de contraíon hidrofóbico	101
4.3.2	Determinação dos valores do coeficiente de partição do brometo de neostigmina na presença de contraíon hidrofóbico	102
4.4	Experimentos complementares para verificar a formação de par iônico	104
4.4.1	Determinação dos valores do coeficiente de partição da benzamida na presença de contraíon hidrofóbico	104
4.4.2	Registro e análise sistemática dos espectros de RMN ¹ H para verificar a formação de par iônico.....	106
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	111
5.1	Introdução	111
5.2	Compostos estudados	114
5.2.1	Brometos de amônio quaternários	114
5.2.2	<i>n</i> -octil sulfato de sódio (OcS) como contraíon hidrofóbico	118
5.3	Identificação e caracterização dos compostos estudados	120
5.3.1	Brometos de amônio quaternários	120
5.3.2	Reagente comercial <i>n</i> -octil sulfato de sódio (OcS)	122
5.4	Parâmetros hidrofóbicos	123
5.4.1	Obtenção dos valores do coeficiente de partição por cálculo ($\log P_{calc}$)	124
5.4.2	Determinação dos valores do coeficiente de partição por <i>shake-flask</i> ($\log P_{app}$)	137
5.4.3	Determinação dos valores do coeficiente de partição ($\log P_{app}$) na presença de contraíon hidrofóbico	146
5.5	Aplicabilidade do conceito do par iônico como estratégia metodológica	153

5.5.1 Determinação dos valores do coeficiente de partição do QX-222 na presença de contraíon hidrofóbico	153
5.5.2 Determinação dos valores do coeficiente de partição do brometo de neostigmina na presença de contraíon hidrofóbico	155
5.6 Experimentos complementares para verificar a formação de par iônico	157
5.6.1 Determinação dos valores do coeficiente de partição da benzamida na presença de contraíon hidrofóbico	157
5.6.2 Registro e análise sistemática dos espectros de RMN ¹ H para verificar a formação de par iônico.....	158
6 CONCLUSÕES	165
REFERÊNCIAS	168

1 INTRODUÇÃO

Neste trabalho foi desenvolvido um estudo da lipofilicidade - expressa pelo parâmetro hidrofóbico $\log P$, usando *n*-octanol/água como sistema de partição - de compostos estruturalmente análogos à procaína (brometos de amônio quaternários), visando avaliar a aplicação do conceito do par iônico e seus efeitos sobre a lipofilicidade destes compostos.

Estudos prévios de Relações Quantitativas entre Estrutura Química e Atividade Biológica (QSAR) envolvendo os mesmos brometos de amônio quaternários mostraram uma contribuição positiva do parâmetro hidrofóbico para a atividade de bloqueio da transmissão neuromuscular, observada para estes (Siqueira, 2001).

Assim, torna-se importante apresentar nesta **Introdução** alguns fundamentos básicos, acompanhados de revisões atuais da literatura, sobre: QSAR; parâmetro hidrofóbico; conceito do par iônico e seus efeitos sobre a lipofilicidade e, alguns aspectos sobre receptores nicotínicos e compostos com atividade de bloqueio da transmissão neuromuscular.

1.1 Relações (Quantitativas) entre Estrutura Química e Atividade Biológica (Q)SAR

A descoberta de compostos com atividade biológica tem evoluído desde a obtenção destes a partir de produtos naturais ou a partir do acaso (“baseado” na sorte/intuição/dedicação), até estratégias metodológicas recentes, associadas às novas tecnologias e à necessidade de reavaliar os custos para se introduzir um novo

fármaco/medicamento/agrotóxico no mercado. Entre estas últimas, pode-se citar: Química Combinatória, *High Throughput Screening (HTS)*, técnicas multidimensionais em RMN, Relações (Quantitativas) entre Estrutura Química e Atividade Biológica ((Q)SAR), Relações Quantitativas entre Estrutura Química e Atividade Biológica em três dimensões (*QSAR-3D*) e *Modelagem Molecular* (Pires, 1998; Siqueira, 2001; Malvezzi, 2003; Santos, 2009; Cherkasov, *et al.* 2014).

Atualmente, a busca por novos compostos com atividade biológica se baseia num planejamento racional, envolvendo duas estratégias metodológicas: *structure-based drug design (SBDD)* e *ligand-based drug design (LBDD)*. *SBDD* baseia-se no conhecimento da estrutura do receptor no sistema biológico (incluindo, por exemplo, procedimentos de *Docking*) enquanto que, a *LBDD* se baseia na estrutura do composto (incluindo, por exemplo, *QSAR* e *QSAR-3D*) (Buckle *et al.*, 2011; Sliwoski *et al.*, 2016).

O efeito que um determinado composto (descrito por sua estrutura molecular) exerce sobre um sistema biológico em particular pode ser entendido conhecendo-se inicialmente a(s) interação(ões) entre eles, bem como avaliando-se a(s) relação(ões) entre eles, descritas, por exemplo, pelos respectivos descritores estruturais e biológicos. Essa relação pode ser estabelecida de modo qualitativo, denominada em inglês de *SAR, Structure Activity Relationship* ou de modo quantitativo, denominada em inglês de *QSAR, Quantitative Structure Activity Relationship*. Juntas são designadas de (Q)SAR (Kubinyi, 1993; Worth *et al.*, 2011).

O estudo de (Q)SAR, utilizando diferentes estratégias metodológicas complementares, se estende a diferentes áreas de aplicação, como no planejamento e no mecanismo de ação de fármacos e agrotóxicos, na previsão da toxicidade de compostos, visando tanto a sua aplicação terapêutica quanto para o meio ambiente.

Na literatura são encontrados trabalhos aplicados a diferentes sistemas biológicos, apontando suas potencialidades, bem como as limitações de cada metodologia (Kubinyi, 1993; Hansch & Leo, 1995; Rusyn *et al.*, 2012; Baumann & Baumann, 2014).

1.1.1 Interações entre um composto e o sistema biológico

Como mencionado acima, a atividade biológica de um composto, denominado “ligante”, pode ser descrita como resultado da(s) interação(ões) deste com o sistema biológico, denominado “receptor” (Andrews *et al.*, 1984; McCarthy *et al.*, 2014). Estas interações são, em geral, de caráter não covalente, pois as interações envolvendo ligações covalentes apresentam alta energia de formação, sendo irreversíveis e, portanto, indesejáveis na maioria dos casos (Andrews *et al.*, 1984; Siqueira, 2001; Klebe, 2009).

Neste trabalho, faz-se o uso do termo “ligante” para fazer referência a um determinado composto (fármaco, substrato, inibidor ou composto candidato a fármaco, por exemplo), assim como do termo “receptor” para determinado sistema biológico (macromolécula biológica com a qual um ligante possa interagir, como por exemplo, proteína, enzima, receptor de membrana, canal iônico ou ácido nucléico) (Buckle *et al.*, 2011).

Para um melhor entendimento estão apresentados na **Figura 1.1** e nas **Tabelas 1.1 e 1.2** alguns tipos de interações envolvidas entre um ligante e o sistema biológico, bem como suas respectivas faixas de energia e os correspondentes parâmetros descritores.

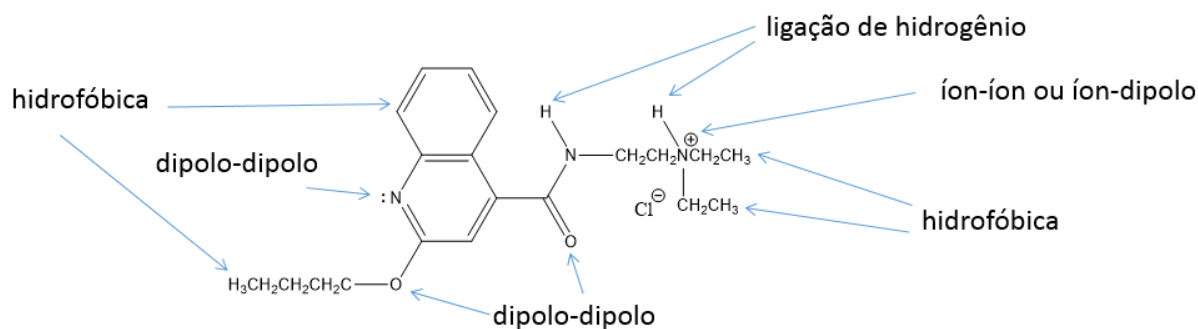


Figura 1.1. Exemplo ilustrativo das múltiplas interações da cinchocaína (cloreto de 2-(2-butoxiquinolona-4-carboxamido)-*N,N*-dietil-1-amônio) (Seydel, 1979; Raminelli, 2001).

Tabela 1.1. Principais tipos de interações entre um composto e o sistema biológico e as respectivas faixas de energias envolvidas (Seydel, 1979; Böhm-Schneider, 2003).

Natureza da interação	Energia de interação (kJ/mol)	Exemplo ^(a)
Covalente	170-600	$\text{H}_3\text{C}-\text{OH}$
Iônica	20	
Íon-dipolo	4-17	
Dipolo-dipolo	4-17	
Ligação de Hidrogênio	4-17	
Transferência de carga	4-17	
Hidrofóbica	4	
Dispersão	2-4	

^(a) exemplos ilustrativos retirados da referência (Böhm-Schneider, 2003) não representam os tamanhos e os ângulos corretos das ligações.

Tabela 1.2. Algumas das propriedades moleculares, as correspondentes interações e os correspondentes parâmetros descritores, envolvidos na formação do complexo ligante-receptor (Kubinyi, 1993; Raminelli, 2001).

Propriedade molecular	Interação(ões)	Parâmetro físico-químico/estrutural
Lipofilicidade	Hidrofóbica	$\log P$, π , f
Polarizabilidade	Dispersão	MR, V
Densidade eletrônica	Eletrostática	σ , \mathfrak{I} , \mathfrak{R} , $\delta^{13}\text{C}=\text{O}$, $\nu_{\text{C}=\text{O}}$
Topologia	Estérica	E_s , r_v (L, B ₁ , B ₂ , B ₃ , B ₄)

A intensidade da interação entre um ligante e o receptor, na formação do complexo ligante-receptor, depende das complementariedades estérica e eletrostática destes. A variação de energia livre (ΔG) associada à formação de um complexo ligante-receptor é a somatória das variações de energia livre associada às interações de naturezas eletrostática, polar, não polar e hidrofóbica que ocorrem entre eles (Seydel, 1979; Andrews *et al.*, 1984; Turega *et al.*, 2014).

Na **Figura 1.2** estão apresentados esquematicamente os fatores termodinâmicos (entálpicos e entrópicos) envolvidos na interação ligante-receptor.

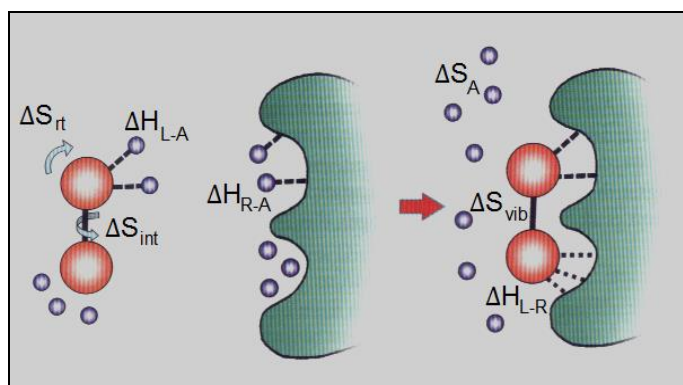


Figura 1.2. Balanço energético da(s) interação(ões) ligante-receptor: fatores entálpicos e entrópicos envolvidos (Andrews *et al.*, 1984; Klebe, 2009).

Observa-se na **Figura 1.2** a formação do complexo ligante-receptor, em que as moléculas de água de solvatação das superfícies de interação sofrem dessolvatação, passando para um estado entropicamente favorável. Observa-se, ainda, os seguintes termos e suas respectivas representações:

ΔH_{L-A} : variação da entalpia de solvatação do ligante;

ΔH_{R-A} : variação da entalpia de solvatação do receptor;

ΔS_{rt} : variação da entropia rotacional e translacional do ligante;

ΔS_{int} : variação da entropia conformacional do ligante;

ΔH_{L-R} : variação da entalpia das interações entre o ligante e o receptor;

ΔS_A : variação da entropia resultante da dessolvatação das superfícies do ligante ou receptor e,

ΔS_{vib} : variação da entropia residual de vibração do complexo ligante-receptor.

As interações eletrostáticas e polares entre o ligante e o solvente estão contidas no termo ΔH_{L-A} , que é a energia necessária para separar as moléculas de água do ligante. Da mesma forma, as interações eletrostáticas e polares entre a água e o receptor estão contidas no termo ΔH_{R-A} .

O termo ΔH_{L-R} contém as energias relativas às interações eletrostáticas, polares e não polares entre o ligante e o receptor enquanto que o termo ΔS_A se refere às interações hidrofóbicas, aumentando a entropia da água quando ocorre a formação do complexo ligante-receptor.

A variação de energia livre que ocorre na formação do complexo ligante-receptor é a somatória de todos estes fatores descritos, acrescida de mais dois termos: ΔS_{rt} que é devido à diminuição da entropia do ligante, por perda das liberdades de rotação e de translação e, ΔS_{int} que é a perda entrópica relativa ao ligante, devido à perda da liberdade conformacional quando ocorre a formação do complexo. Estes dois últimos termos entrópicos se convertem em apenas um termo entrópico residual vibracional no complexo ligante-receptor: ΔS_{vib} (Andrews *et al.*, 1984; Siqueira, 2001; Klebe, 2009).

1.1.2 Abordagem Extratermodinâmica e Metodologias Recentes

O estudo de QSAR teve início com a *Abordagem Extratermodinâmica*, proposta em 1964, por Hansch e Fujita (Hansch & Fujita, 1964; Kubinyi, 1993; Cherkasov, 2014).

A *Abordagem Extratermodinâmica* permite que a atividade ou resposta biológica de uma série de compostos seja expressa em função de parâmetros físico-químicos/estruturais relativos aos compostos como, por exemplo, os hidrofóbicos, eletrônicos/polares, estéricos e de dispersão (Kubinyi, 1993).

O modelo matemático original, proposto por Hansch e Fujita, que relaciona a atividade/resposta biológica de uma série de compostos com seus parâmetros físico-químicos/estruturais, pode ser representado pela seguinte equação (Hansch & Fujita, 1964):

$$\log 1/C = a \log P + b \sigma + c E_s + \text{constante} \quad (\text{Equação 1.1})$$

Em que,

log1/C é o logaritmo do inverso da atividade ou resposta biológica; **C** é a concentração (dose) molar de composto que produz determinada atividade/resposta biológica; **logP**, **σ** , **E_s** são parâmetros físico-químicos que expressam as interações (hidrofóbicas, eletrônicas e estéricas, respectivamente) envolvidas na atividade/resposta biológica e, **a**, **b**, **c** são os coeficientes que expressam as contribuições relativas de cada parâmetro (**logP**, **σ** , **E_s** , respectivamente).

Nesta equação, a atividade/resposta biológica dos compostos é expressa pelo parâmetro biológico, **log1/C**, que, por sua vez, é definido como o logaritmo do inverso da concentração (dose) molar necessária para obter-se determinada resposta biológica (vide **item 1.1.3**).

Os termos **σ** e **E_s** apresentados na **Equação 1.1** como parâmetros eletrônico e estérico descrevem, respectivamente, as interações de natureza eletrônica/polar, estérica e de dispersão que se estabelecem entre o ligante e o receptor (vide **item 1.1.4.1**).

O termo **logP** apresentado na **Equação 1.1** como parâmetro hidrofóbico, pode descrever interações hidrofóbicas importantes tanto durante o transporte e a distribuição do ligante pelo sistema biológico, bem como na formação do complexo ligante-receptor. Demais informações sobre o parâmetro hidrofóbico estão descritas no **item 1.1.4.2**.

Para se estabelecer relações entre os parâmetros físico-químicos/estruturais e a atividade biológica utilizando esta abordagem, deve-se utilizar uma série congênere de compostos, ou seja, devem apresentar uma estrutura fundamental e, além disso,

exercer a atividade/resposta biológica pelo mesmo mecanismo de ação (Kubinyi, 1993; Siqueira, 2001; Gertzen & Gohlke, 2012).

Na *Abordagem Extratermodinâmica* os conceitos utilizados nos estudos dos mecanismos de reações orgânicas, em Química Orgânica (Físico-Química-Orgânica), são estendidos e aplicados ao sistema biológico. Como os modelos de QSAR gerados a partir desta abordagem são relações lineares de energia livre (*Linear Free-Energy Relationships, LFER*), deve-se considerar que as contribuições de determinado grupo substituinte para a atividade biológica são aditivas, ou seja, o conceito de aditividade é aplicado (Kubiniy, 1993).

A aplicação desta abordagem envolve tanto a proposição do modelo matemático (linear, parabólico ou bilinear) assim como a medida, ou o cálculo, dos parâmetros estruturais responsáveis pela atividade, com o intuito de avaliar as contribuições relativas de cada parâmetro para a atividade. A análise subsequente dos resultados, *i.e.* dos parâmetros estatísticos obtidos nas correlações, permite verificar a validade, as limitações e o poder de previsão do modelo proposto. A complexidade do modelo empregado, além das interações *per se*, dependerá de quão exatamente essas interações podem ser expressas. (Kubinyi, 1993; Tropsha & Golbraikh, 2007; Alexander *et al.*, 2015).

A *Abordagem Extratermodinâmica* tem papel muito importante na fase inicial do planejamento de um fármaco, permitindo elucidar quais propriedades físico-químicas/estruturais deste podem ser responsáveis pelas suas interações com determinado receptor. Esta abordagem, embora seja bastante eficaz neste sentido, apresenta limitação em relação à abordagem do aspecto tridimensional das relações ligante-receptor (Kubinyi, 1993; Rusyn *et al.*, 2012; Cherkasov, 2014).

Atualmente, os métodos desenvolvidos em QSAR e os utilizando a *Modelagem Molecular* podem ser aplicados simultaneamente para descrever de modo quantitativo as interações ligante-receptor, considerando seus aspectos tridimensionais. Esta abordagem é denominada QSAR-3D e complementa a primeira. Nesta, considera-se os aspectos estereoquímicos e topológicos das interações ligante-receptor. Estes contribuem e, muitas vezes, são o fator determinante da atividade/resposta biológica (Kubinyi, 1993; Pires *et al.*, 2001; Ishiki & Amaral, 2009; Doweiko, 2004; Malvezzi *et al.*, 2009; Gertzen & Gohlke, 2012; Sliwoski *et al.*, 2016).

Adicionalmente, considerando-se o número de compostos e de descritores moleculares (ou parâmetros físico-químicos/estruturais) utilizados, a primeira abordagem de QSAR atribuída à Hansch-Fujita foi proposta para séries restritas de moléculas e descritores. Posteriormente, com o avanço na aquisição de dados tanto para sistemas químicos quanto para biológicos, grande número de informações foi gerado (Tropsha & Golbraikh, 2007; Martel *et al.*, 2013). Como consequência, nos últimos anos procuram-se ferramentas, fundamentalmente matemáticas, que permitam decodificar este volume imenso de informações em termos que descrevem a estrutura e a atividade biológica dos compostos. E, para expressar correlações a partir deste grande número de dados (em geral apresentado como banco de dados) utilizam-se funções matemáticas, desenvolvidas e/ou aplicadas inicialmente por quimiometria, *e.g.* PCA (*Principal Component Analysis*), PLS (*Partial Least-Square*) (Geladi *et al.*, 1986; Scotti *et al.*, 2016), *k*-NN (*k nearest neighbor*), redes neurais artificiais, etc. (Sliwoski *et al.*, 2016).

Decorrente deste desenvolvimento tecnológico, citado anteriormente, encontram-se na literatura inúmeros descritores moleculares como índices

topológicos, como também índices que codificam as informações geométricas em 3D da molécula. Entre os programas existentes para o cálculo dos descritores moleculares (Xtsar, AMPAC, Molconnz), o programa E-DRAGON versão *web* calcula mais de 1600 descritores (Tetko & Tanchuk, 2002). Todos estes descritores são facilmente e rapidamente calculados, portanto sendo apropriados para análise de QSAR e análises de similaridade/diversidade de extensos bancos de dados. Ao mesmo tempo, observa-se uma procura crescente tanto de descritores moleculares que sejam, no entanto, validados bem como métodos de seleção, visando representar significativamente as informações relacionadas às propriedades físico-químicas e/ou à atividade biológica contidas nas séries de compostos estudadas (Baumann & Baumann, 2014, Cherkasov, 2014; Scotti *et al.*, 2016).

1.1.3 Parâmetro biológico

Nos estudos de QSAR, a atividade ou resposta biológica dos compostos deve ser expressa por parâmetros biológicos. A determinação da atividade ou resposta biológica dos compostos, para o uso em modelos de QSAR, exige a quantificação da concentração (dose) ou do efeito desencadeado pelos mesmos. Com relação à quantificação da dose de um composto que produz determinada resposta biológica, esta pode ser feita em termos de sua potência, expressa por meio do logaritmo do inverso da concentração molar, ($\log 1/C$). Para se determinar a potência de um composto com atividade biológica, pode-se analisar curvas dose-resposta, *i.e.*, curvas que representam determinada resposta biológica em função de diferentes doses (em mol/L) do composto (Kubinyi, 1993; Cherkasov, 2014).

Dentre alguns dos parâmetros biológicos mais comumente usados em estudos de QSAR, citam-se a dose eficaz 50% (**DE₅₀** - dose de um ligante que produz 50%

da eficácia máxima de determinada atividade biológica), a dose letal 50% (**DL₅₀** - dose de um ligante que é esperada ocasionar a morte de 50% de uma determinada população em estudo) e a concentração inibitória 50% (**IC₅₀** - dose de um ligante que reduz ou inibe determinada atividade biológica de um receptor em 50%) (Kubinyi, 1993; Buckle *et al.*, 2011).

1.1.4 Parâmetros físico-químicos/estruturais

1.1.4.1 Parâmetros Eletrônicos, Estéricos e relacionados à Polarizabilidade

Os parâmetros Eletrônicos, Estéricos e relacionados à Polarizabilidade codificam informações sobre as correspondentes propriedades físico-químicas para determinado grupo substituinte, ou fragmento (presente em uma estrutura fundamental dos compostos), ou ainda, para quando se considera a estrutura molecular de um composto como um todo (Kubinyi, 1993; Zou *et al.*, 2016).

As interações eletrônicas/polares entre o ligante e o receptor podem ser descritas por parâmetros eletrônicos, refletindo, de modo quantitativo, a influência relativa de certo grupo substituinte na distribuição eletrônica deste ligante. Para a compreensão da grandeza e da natureza dos efeitos eletrônicos transmitidos pelos substituintes, deve-se, necessariamente, mencionar o parâmetro eletrônico do substituinte, σ de Hammett (Hammett, 1937; Cherkasov, 2014).

A constante σ , definida pela equação de Hammett, é denominada como a constante de grupo substituinte, pois mede a influência eletrônica de um dado grupo substituinte, independentemente da reação ou da molécula a que está ligado. Os valores absolutos de σ refletem a grandeza dos efeitos eletrônicos – sejam estes indutivos ou de ressonância ou de campo de força – 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 para substituintes doadores de elétrons (Kubinyi, 1993; Raminelli, 2001).

Além de σ de Hammett, outros descritores de caráter eletrônico podem ser empregados nos estudos de QSAR, citando-se: ρ e ρ^+ de Swain e Lupton (parâmetros de campo e ressonância); parâmetros experimentais obtidos por técnicas espectroscópicas ($\nu_{C=O}$) ou medidas de RMN ($\delta^{13}C=O$) e, dados obtidos de cálculos de orbitais moleculares (energia de HOMO e LUMO e cargas atômicas parciais) (Hansch & Leo, 1995; Amaral *et al.*, 1997; Pires *et al.*, 2001).

As interações estéricas entre o ligante e o receptor podem ser descritas por parâmetros estéricos, considerando-se o aspecto tridimensional do ligante (e do receptor também). Deve-se, desta forma, considerar o princípio de ajuste entre a estrutura do ligante e o seu receptor (que pode, por exemplo, apresentar flexibilidade). As interações estéricas estão, em sua maioria, relacionadas com efeitos da variação da forma e do tamanho de um substituinte presente no ligante, ou da estrutura inteira do ligante. Estas podem ser expressas pelos parâmetros estéricos, por exemplo, E_s (constante estérica de Taft), e, mais recentemente, por parâmetros obtidos a partir de cálculos computacionais, tais como volume molar, área de acesso ao solvente, refratividade molar, índices topológicos, etc. (Kubinyi, 1993; Zou *et al.*, 2016).

Dentre os parâmetros relacionados a polarizabilidade, cita-se a refratividade molar (MR), que estabelece uma relação direta com a energia das forças de dispersão. MR também está correlacionada com o volume molar (razão entre massa molar e densidade), bem como com termos hidrofóbicos e/ou estéricos. Por isso, a

interpretação da relação entre este parâmetro e determinada atividade biológica, nos estudos de *QSAR*, pode se tornar complexa, pois pode haver, naturalmente, uma combinação de um ou mais efeitos embutidos nos valores de *MR* (Cammarata, 1971; Kubinyi, 1993; Malvezzi, 2003; Scotti *et al.*, 2016).

1.1.4.2 Parâmetros Hidrofóbicos

Trabalhos envolvendo estudos sobre a lipofilicidade (ou hidrofobicidade), considerada como uma das propriedades físico-químicas responsáveis pela atividade biológica, são muito frequentes e despertam enorme interesse em *QSAR*, devido a sua relação direta com a solubilidade na fase aquosa, penetração através de membranas e contribuição entrópica para a ligação com o receptor. Nos dias de hoje, o significativo avanço no planejamento de um fármaco (utilizando abordagens modernas, sofisticadas e também da robótica) permite sugerir, de modo eficiente e acelerado, inúmeras estruturas tridimensionais de ligantes que apresentam um ótimo ajuste a um determinado alvo biológico. No entanto, para um ligante se tornar um fármaco deve-se considerar também a sua biodisponibilidade, ou seja, a sua absorção, distribuição, metabolismo e excreção no sistema biológico (os assim chamados parâmetros ADME do ligante). Estas propriedades devem ser revistas e também otimizadas, estando estas relacionadas diretamente à lipofilicidade do composto (Kubinyi, 1993; Lombardo, 2008; Mannhold *et al.*, 2009; Malvezzi & Amaral, 2010; Andrés *et al.*, 2015; Tsopelas *et al.*, 2016).

A lipofilicidade é uma propriedade molecular que expressa a afinidade de um composto por uma fase orgânica (apolar) em relação a sua afinidade por uma fase aquosa (polar). Quanto mais intensas forem as interações hidrofóbicas entre o composto e a fase orgânica, maior será a sua lipofilicidade. Por outro lado, quanto mais intensas forem as interações polares entre o composto e a fase aquosa, maior

será a sua afinidade pela fase aquosa (maior hidrofiliçidade), e conseqüentemente menor será a sua lipofiliçidade. Essas relações de afinidades relativas entre as duas fases podem ser expressas pela **Equação 1.2**, em que a lipofiliçidade pode ser considerada como o resultado da somatória das interações hidrofóbicas menos a somatória das iterações polares entre o composto e um sistema bifásico (Testa, 1996; Malvezzi, 2003; Caron, 2008).

$$\text{Lipofiliçidade} = \text{Interações hidrofóbicas} - \text{Interações polares} \quad (\text{Equação 1.2})$$

De modo geral, o termo *Interações polares* corresponde às interações por ligações íon-dipolo, dipolo-dipolo e de hidrogênio, enquanto que o termo *Interações hidrofóbicas* corresponde às interações hidrofóbicas e por forças de dispersão. A representação da lipofiliçidade fatorizada em seus termos hidrofóbicos e polares (**Equação 1.2**) é um modelo que contribui para a compreensão da natureza química das forças que compõem a lipofiliçidade de um composto, bem como das forças de interação envolvidas entre um composto e um sistema biológico (Caron, 2008; Liu *et al.*, 2011).

Entre os parâmetros frequentemente empregados em modelos de QSAR, para expressar a lipofiliçidade (ou hidrofobicidade - já que a diferença entre estes termos é apenas a semântica) de um composto, citam-se, entre outros, os valores da constante hidrofóbica de substituintes de Hansch-Fujita (π ; retirados da literatura) e do logaritmo do coeficiente de partição *n*-octanol/água ($\log P$) (Kubinyi, 1993; Amaral *et al.*, 1997; Zou *et al.*, 2016).

O coeficiente de partição ($\log P$)

Um parâmetro frequentemente empregado em modelos de QSAR para expressar a lipofiliçidade é o coeficiente de partição, $\log P$, que é definido como o

logaritmo da razão das concentrações molares de um composto C (não ionizável), no equilíbrio, entre uma fase orgânica e uma fase aquosa (HanschFujita, 1964; Taylor, 1990; Kubiniy, 1993; Lombardo, 2008; Martel *et al.*, 2013).

$$P = \frac{[C]_{org}}{[C]_{aq}} \quad \text{(Equação 1.3)}$$

Em que,

P é o valor do coeficiente de partição, expresso pela razão das concentrações molares, no equilíbrio, do composto C particionado entre uma fase orgânica e uma fase aquosa; $[C]_{org}$ é a concentração molar do composto C dissolvido na fase orgânica e, $[C]_{aq}$ é a concentração molar do composto C dissolvido na fase aquosa.

Por convenção, a concentração do composto C dissolvido na fase orgânica ($[C]_{org}$) encontra-se no numerador da razão das concentrações. Portanto, quanto maior o valor de P maior será a afinidade do composto pela fase orgânica, em relação à fase aquosa (composto lipofílico), e quanto menor o valor de P menor será a afinidade do composto pela fase orgânica, em relação à fase aquosa (composto hidrofílico) (Lombardo, 2008).

P representa a razão das concentrações molares do composto C particionado entre uma fase orgânica e uma fase aquosa, quando atingido o equilíbrio, sendo, portanto, a constante de equilíbrio e estando relacionado às variações de energia livre deste equilíbrio. Desta forma, P é expresso na sua forma logarítmica $\log P$ para representar o parâmetro hidrofóbico (ou lipofílico) em estudos de QSAR (Taylor, 1990; Malvezzi, 2003).

Os valores de $\log P$ dependem principalmente da intensidade e da natureza das interações que ocorrem entre o composto e as moléculas de água, ou seja, durante a partição o composto pode tanto ser expulso da água (interações hidrofóbicas) como solvatado pela água (interações polares). A natureza da fase

orgânica determina quais das interações serão relativamente mais significativas na partição (Testa, 1996; Malvezzi, 2003; Caron, 2008).

O uso do sistema *n*-octanol/água como modelo de partição

Para ampliar a compreensão acerca do coeficiente de partição de compostos biologicamente ativos nos processos de permeação de membranas, buscam-se, por meio de metodologias experimentais, sistemas que mimetizem o funcionamento de uma membrana biológica. No entanto, devido à dificuldade em se reproduzir experimentalmente um sistema biológico, constituído de ambientes lipofílico/aquoso, emprega-se frequentemente como modelo de partição, sistemas químicos de solventes (Dearden & Bresnen, 1988; Liu *et al.*, 2011; Martel *et al.*, 2013).

O uso do *n*-octanol em sistemas químicos de solventes, ou o sistema *n*-octanol/água propriamente dito, tornou-se o sistema de solventes de escolha após os trabalhos pioneiros de Hansch. De acordo com a literatura (Kubinyi, 1993; Dearden & Bresnen, 1988; Natesan *et al.*, 2013), o sistema *n*-octanol/água apresenta as seguintes vantagens, quando comparado a outros sistemas: (i) semelhança com as membranas biológicas (o *n*-octanol é formado por uma cadeia alifática hidrofóbica apolar e uma porção terminal polar); (ii) o grupo hidroxila é tanto acceptor quanto doador de ligação de hidrogênio, solubilizando uma grande variedade de grupos polares dos compostos; (iii) a fase orgânica formada pelo *n*-octanol dissolve uma quantidade apreciável de água (2,3 M), evitando, assim, a contribuição do termo relacionado a dessolvatação do composto ao ser transferido da fase aquosa para a orgânica (**Figura 1.3**); (iv) possui baixa volatilidade, o que permite medidas reproduzíveis; (v) é transparente em *UV* permitindo facilmente a determinação analítica quantitativa de muitos compostos.

Atualmente, a maioria dos valores de $\log P$ encontrados na literatura foram determinados utilizando o sistema *n*-octanol/água e, a partir destes, muitas relações entre lipofilicidade e atividade biológica foram obtidas com sucesso (Lombardo, 2008; Natesan *et al.*, 2013; Tsopelas *et al.*, 2016).

As vantagens do uso do sistema *n*-octanol/água nos estudos de partição foram reforçadas pela análise por difração de raio X da estrutura do *n*-octanol saturado de água. Esta revelou a presença de micelas invertidas, que contém regiões polares e apolares que mimetizam regiões interfaciais de membranas biológicas. Estas micelas invertidas consistem de moléculas de água, rodeadas pelos grupos hidroxila do *n*-octanol e com suas cadeias alquilas estendidas para fora (**Figura 1.3**) (Franks *et al.*, 1993; Avdeef, 2001; Tsopelas *et al.*, 2016).

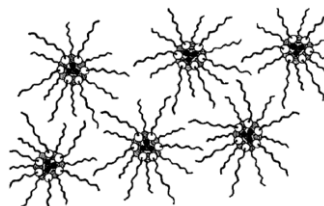


Figura 1.3. Representação das micelas invertidas presentes em *n*-octanol saturado de água (Franks *et al.*, 1993).

O uso de sistemas químicos de solventes como modelo para partição é justificado pela equação de Collander (1951). Nesta (representada pela **Equação 1.4**) pode-se correlacionar valores de $\log P$ medidos no sistema *n*-octanol/água com valores de $\log P$ medidos em outros sistemas de solventes, como por exemplo, cicloexano, *n*-octano, clorofórmio, *n*-dodecano, etc.

$$\log P_2 = a \log P_1 + b \quad \text{(Equação 1.4)}$$

Em que,

$\log P_1$ representa os valores de $\log P$ determinados no sistema de solventes 1; $\log P_2$ representa os valores de $\log P$ determinados no sistema de solventes 2 e, **a** e **b** são os coeficientes angular e linear, respectivamente, da regressão.

A aplicação da equação de Collander para um determinado composto permite identificar algumas características sobre a(s) natureza(s) das interações entre este

composto e os sistemas de solventes usados como, por exemplo, identificação de ligações de hidrogênio entre o composto e um dos sistemas de solventes usados (Kubinyi, 1993; Lombardo, 2008).

Seiler (1974) aplicou a equação de Collander para uma série de compostos com diferentes capacidades doadora/acceptora de ligação de hidrogênio, utilizando os sistemas *n*-octanol/água e cicloexano/água. Ao comparar estes sistemas, observou-se que os valores do coeficiente angular eram próximos de 1, permitindo a inclusão da variável indicadora I_H , que descreve a capacidade de cada composto de estabelecer ligações de hidrogênio. Obteve-se, assim, a **Equação 1.5** que pode ser aplicada para qualquer sistema de partição alceno/água em comparação com o sistema *n*-octanol/água (Lombardo, 2008).

$$\Delta \log P = \log P_{\text{oct}} - \log P_{\text{alc}} = \Sigma I_H - b \quad \text{(Equação 1.5)}$$

Em que,

$\Delta \log P$ representa a variação dos valores de $\log P$ obtidos em cada sistema de solvente; $\log P_{\text{oct}}$ representa os valores de $\log P$ determinados no sistema *n*-octanol/água; $\log P_{\text{alc}}$ representa os valores de $\log P$ determinados no sistema alceno/água; ΣI_H é a variável indicadora da capacidade do composto de estabelecer ligações de hidrogênio e, b é uma constante.

Adicionalmente, a equação de Collander permite estabelecer correlações entre a partição de compostos em sistemas químicos de solventes e aqueles usando membranas artificiais (*immobilized artificial membrane, IAM; parallel artificial membrane permeability assay, PAMPA; polydimethyl siloxane, PDMS; etc.*), e/ou ainda, com a permeação de compostos em membranas biológicas (lipossomos, *Caco-2 cell monolayers, etc.*) (Lombardo, 2008; Samiei *et al.*, 2014; Tsopeles *et al.*, 2016).

Assim, por exemplo, Young *et al.* (1988) estudaram a partição de compostos anti-histamínicos H_2 nos sistemas de solventes *n*-octanol/água, clorofórmio/água bem como cicloexano/água, visando verificar as possíveis correlações entre os

valores de $\log P$ determinados nestes sistemas de solventes e os correspondentes obtidos usando a barreira hematoencefálica ($\log BB$). Observou-se correlação mais significativa entre os valores de $\Delta \log P_{\text{cic}}$ (**Equação 1.6**):

$$\log BB = -0,48 \Delta \log P_{\text{cic}} + 0,89 \quad (\text{Equação 1.6})$$

$$n = 20, R^2 = 0,692, s = 0,439, F = 40,2$$

Em que,

logBB é o logaritmo da concentração dos compostos na barreira hematoencefálica (*brain blood barrier*) e, $\Delta \log P_{\text{cic}}$ representa a variação dos valores de $\log P$ determinados no sistema *n*-octanol/água ($\log P_{\text{oct}}$) e cicloexano/água ($\log P_{\text{cic}}$).

Na **Equação 1.6**, o baixo valor do coeficiente angular (não tão próximo de 1) indica que os termos $\log BB$ e $\Delta \log P_{\text{cic}}$, não necessariamente expressam as mesmas interações para a permeação/partição, e ainda, o seu valor negativo indica uma contribuição negativa do termo $\Delta \log P_{\text{cic}}$ para $\log BB$. Young *et al.* (1988) sugeriram que o termo $\Delta \log P_{\text{cic}} = \log P_{\text{oct}} - \log P_{\text{cic}}$ revela diferentes interações entre os compostos e estes sistemas de partição, como por exemplo, a capacidade de estabelecer ligações de hidrogênio, fator que poderia prejudicar a permeação dos compostos na barreira hematoencefálica.

A partir da análise comparativa dos valores do coeficiente de partição medidos em sistemas alcãno/água, em relação aos medidos no sistema *n*-octanol/água, observa-se que a lipofilicidade pode depender, além do efeito hidrofóbico em si, de efeitos estéricos, polares e de ligações de hidrogênio. Em outras palavras, pode-se revelar outras interações embutidas na partição de um composto, além das interações hidrofóbicas. Assim, as determinações de $\log P$ no sistema *n*-octanol/água refletem, principalmente, as interações hidrofóbicas entre o composto e a água; por isso o termo $\log P$ representa o parâmetro hidrofóbico (Malvezzi, 2003; Liu *et al.*, 2011).

O uso, no entanto, de sistemas alciano/água na partição podem acarretar dificuldades experimentais pelo fato de estes, geralmente, apresentarem alta volatilidade e baixa solubilidade dos compostos, podendo causar “self-associate” dos compostos (Lombardo, 2008; Natesan *et al.*, 2013).

Para a compreensão das interações intra e intermoleculares envolvidas na partição de um composto, Kamlet *et al.* (1984) utilizaram a equação solvatocrômica para descrever valores de $\log P$ determinados no sistema *n*-octanol/água. A equação solvatocrômica, proposta em 1979 por Kamlet e Taft, inclui parâmetros moleculares (descritores) baseados nas interações moleculares que ocorrem entre o composto e os solventes (em cada uma das fases) durante o processo de solvatação. Esta abordagem, também denominada de fatoração de $\log P$, tem evoluído e, atualmente, é descrita conforme a **Equação 1.7** (Abraham, 1993; Abraham *et al.*, 2015). Nesta equação considera-se que o equilíbrio atingido na partição de um composto no sistema *n*-octanol/água é consequência do balanço energético envolvido no processo de solvatação deste composto em cada um dos solventes. Assim, considera-se que a solvatação envolve tanto a formação de uma cavidade dentro do solvente (para acomodar o composto), bem como as interações entre o composto e o solvente.

$$\log P_{oct} = c + eE + sS + aA + bB + vV \quad \text{(Equação 1.7)}$$

Em que,

$\log P_{oct}$ representa o coeficiente de partição no sistema *n*-octanol/água; **E** é a refratividade molar em excesso, definida como a refratividade do composto menos a refratividade de um alciano, de mesmo volume, em (cm³ mol⁻¹)/10; **S** é a polaridade/polarizabilidade do composto; **A** é a somatória da capacidade do composto em doar ligação de hidrogênio; **B** é a somatória da capacidade do composto em receber ligação de hidrogênio; **V** é o volume molar do composto (McGwan volume), em (cm³ mol⁻¹)/100; **e**, **s**, **a**, **b** e **v** são os parâmetros da regressão que expressam as contribuições relativas de cada descritor para a partição no sistema *n*-octanol/água e, **c** é uma constante.

A quantidade de energia necessária para formar a cavidade é proporcional ao volume do composto (*V*). As interações entre o composto e o solvente podem

envolver forças de dispersão (descritas pela refratividade molar em excesso, E), interações dipolos e dipolos induzidos (descritas pela polaridade, S) e ligações de hidrogênio de naturezas doadora e/ou aceptora (A e B) (Abraham, 1993; Caron, 2008; Abraham *et al.*, 2015).

Considera-se, ainda, que cada parâmetro da regressão representa, para o sistema de solventes, as propriedades e/ou as interações correspondentes a cada descritor da equação. Pode-se, desta forma, descrever o sistema de solventes usado como modelo para partição, pelas seguintes características: dispersão geral (e); polaridade e/ou polarizabilidade (s); aceptora de ligação de hidrogênio (a); doadora de ligação de hidrogênio (b) e, ainda dispersão e/ou hidrofobicidade (v).

Portanto, pode-se aplicar a **Equação 1.7** para diferentes sistemas de solventes, além do sistema *n*-octanol/água. Os parâmetros de regressão (e , s , a , b e v) variam de acordo com o sistema de partição utilizado, enquanto que os valores dos descritores (E , S , A , B e V) são constantes para um mesmo composto (Caron, 2008; Balaz, 2015; Tsopelas *et al.*, 2016).

Como exemplo, a **Equação 1.8** apresenta os valores dos parâmetros de regressão correspondentes ao sistema *n*-octanol/água. Esta pode ser aplicada no estudo da partição de diversos compostos neutros (não ionizáveis), de diferentes classes químicas (Abraham & Acree Jr, 2010).

$$\log P_{oct} = 0,088 + 0,562E - 1,054S + 0,034A - 3,460B + 3,814V \quad (\text{Equação 1.8})$$
$$n = 613, R^2 = 0,995, s = 0,116, F = 23162$$

A aplicação da equação solvatocrômica para a partição, por ser tratar de uma relação linear de energia livre, pode ser útil para a compreensão de outros processos relacionados, que envolvem a transferência de um composto entre duas fases como, por exemplo, a permeação entre membranas ou tecidos biológicos

(barreira hematoencefálica) e, a distribuição entre solo-água (de interesse ambiental) (Quina *et al.*, 1995; Poole *et al.*, 2013; Balaz, 2015).

Um fator limitante da aplicação da **Equação 1.8** é a obtenção dos descritores. Somente os descritores E e V podem ser obtidos por cálculo, enquanto que os descritores S , A e B devem ser obtidos experimentalmente por medidas cromatográficas e/ou de solubilidade e/ou de determinações do coeficiente de partição em diferentes sistemas de solventes (Poole *et al.*, 2013).

Métodos para a determinação do coeficiente de partição

Na literatura são descritos vários métodos para se determinar o coeficiente de partição, $\log P$, que podem ser classificados de acordo com a forma da determinação (direta ou indireta) ou, ainda, com o tipo da determinação (experimental ou envolvendo cálculo computacional). Dentre eles, descreve-se neste trabalho: o método *shake-flask*, métodos cromatográficos e métodos envolvendo cálculos computacionais (Lombardo, 2008; Dabrowska *et al.*, 2011; Tsopelas *et al.*, 2016).

Shake-flask

O método *shake-flask* ainda é o mais recomendado por envolver a determinação direta da partição. Este método baseia-se na dissolução de um composto em um sistema bifásico, composto por um solvente polar (água ou solução tampão) e outro apolar (*n*-octanol, clorofórmio, cicloexano, etc.). Depois de atingida a condição de equilíbrio, a concentração do composto é determinada em uma, ou nas duas fases, usando métodos analíticos adequados (espectrofotometria *UV-VIS*, *HPLC*, *LC-MS*, etc.) (Amaral *et al.*, 1997; Lombardo, 2008; Dabrowska *et al.*, 2011; Andrés *et al.*, 2015).

Por se tratar da determinação da razão de concentrações em um equilíbrio, o valor de $\log P$ obtido pode ser influenciado por vários fatores tais como temperatura,

força iônica, pH , concentração do composto, natureza do contraíon, tempo de agitação, pré-saturação das fases, separação das fases, volume das fases e pureza dos compostos. Recomendações importantes de boas práticas e cuidados são encontradas na literatura (Dearden & Bresnen, 1988; Amaral, 1997; OECD, 1995; Lombardo, 2008; Malvezzi & Amaral, 2010; Andrés *et al.*, 2015). Nestas descreve-se que, mesmo seguindo estas recomendações, o valor de $\log P$ para determinado composto pode apresentar alta incerteza e/ou baixa reprodutibilidade. Assim, a faixa de variação aceitável para os valores de $\log P$, medidos experimentalmente por *shake-flask*, é de $\pm 0,3$ unidades de log para um mesmo composto (Dearden & Bresnen, 1988).

O método *shake-flask* apresenta algumas desvantagens, entre elas: requer altos graus de pureza dos compostos e dos solventes utilizados na partição; requer relativamente alta quantidade de material para a análise; é uma metodologia trabalhosa e demorada e, somente pode ser aplicado para compostos com valores de $\log P$ na faixa de -3 a 4 (Dearden & Bresnen, 1988; OECD, 1995; Lombardo, 2008; Segan *et al.*, 2016). Entretanto, em relação a esta última desvantagem, investiga-se na literatura se o uso de algumas estratégias metodológicas poderia tornar viável o *shake-flask* para medir $\log P$ de compostos altamente hidrofílicos (com valores de $\log P$ menores do que -2) (Koufopoulou *et al.*, 2006; Moraes *et al.*, 2009).

Mais recentemente, novas tecnologias têm sido utilizadas na automatização do procedimento do método *shake-flask*, como por exemplo, estações de trabalho automatizadas com dispensador de líquidos robotizado em placas de microtitulação (Lombardo, 2008; Analiza Inc., 2016). Citam-se, ainda, outros métodos usando equipamentos automatizados, e comercialmente disponíveis pela empresa Pion, que possibilitam determinações de valores de $\log P$ e de pK_a para compostos ionizáveis ou não-ionizáveis por meio do método potenciométrico (Avdeef, 2001; Pion Inc., 2016).

Wenlock *et al.* (2011) descrevem técnicas automatizadas e miniaturizadas, acopladas a *HPLC* e a *LC-MS* para análise das concentrações, que permitem a medição simultânea dos valores do coeficiente de partição aparente de compostos ionizáveis (preparados em misturas de até 10 compostos), no entanto pode apresentar resultados com baixa precisão, quando há possibilidade de formação de par iônico entre os compostos.

Recentemente foi proposta uma nova abordagem denominada *Carrier Mediated Distribution System (CAMDIS)*, em que, de modo análogo ao método *shake-flask*, medem-se os valores de *logP* de forma direta, no equilíbrio. Usa-se um filtro-suporte para o *n*-octanol, para facilitar (economizar tempo durante) a etapa de separação das fases aquosa/orgânica. Pode ser aplicada para compostos com valores de *logP* na faixa de -0,5 a 4,2, apresentando limitações para compostos catiônicos (carregados permanentemente) e compostos hidrofílicos (Wagner *et al.*, 2015).

Métodos cromatográficos

Os métodos cromatográficos envolvem a determinação indireta de valores do coeficiente de partição e representam uma boa alternativa para o método *shake-flask*. Dentre algumas técnicas utilizadas, que envolvem métodos cromatográficos, citam-se: *HPLC* (cromatografia líquida de fase reversa), *RP-TLC* (cromatografia em camada delgada em fase reversa), *MEKC* (cromatografia eletrocínética micelar), entre outros (Dabrowska *et al.*, 2011; Martel, 2008).

A determinação dos valores de *logP* por *HPLC* é feita a partir do tempo de retenção de um composto, entre uma fase móvel polar e uma fase estacionária apolar. Estas fases devem reproduzir as interações que ocorrem entre um composto e um sistema de solventes bifásico (*n*-octanol/água), usado na partição. Quanto

mais lipofílico o composto, maiores as interações entre este e a fase estacionária e, conseqüentemente, maior o tempo de retenção do composto (Klein *et al.*, 1988; Martel, 2008). Assim, deve-se construir uma curva de calibração para o sistema cromatográfico, a partir dos valores de $\log P$ conhecidos (no sistema *n*-octanol/água) em função dos correspondentes valores de $\log k'$ (fator de capacidade que expressa os correspondentes tempos de retenção). E, a partir desta, obtém-se o valor de $\log P$ do composto em estudo (Pires, 2001; Dabrowska *et al.*, 2011; Segan *et al.*, 2016).

A obtenção de valores de coeficiente de partição por métodos cromatográficos, em especial usando *HPLC*, apresenta algumas vantagens, como: alta praticidade, velocidade e eficiência, pode ser aplicada a compostos sem elevado grau de pureza e pode ser aplicada a compostos que apresentam valores de $\log P$ entre 0 e 6 (Klein *et al.*, 1988; Martel, 2008; Segan *et al.*, 2016). Uma das limitações do *HPLC* é ter que garantir que o composto em estudo apresente o mesmo mecanismo de interação com a fase móvel/estacionária, que o grupo de compostos padrão usados para construir a curva de calibração do sistema cromatográfico (Pires, 1998; Dabrowska *et al.*, 2011).

Ainda, os métodos cromatográficos podem apresentar-se inadequados quando utilizados em estudos envolvendo compostos com cargas (como por exemplo, sais de amônio quaternários ou zwitterions) (Koufopoulou *et al.*, 2006), ou ainda, de compostos hidrofílicos (com valores de $\log P$ abaixo de zero), ocasionando altas incertezas nas determinações dos valores de $\log P$ (Dabrowska, 2011).

Métodos envolvendo cálculos computacionais

Os valores de $\log P$ de um composto podem ser preditos a partir de programas comerciais usando as abordagens: (i) “*substructure-based*” (na qual as estruturas

são “cortadas” em fragmentos ou em átomos e as contribuições das subestruturas são somadas); (ii) “*property-based*” (na qual as propriedades das estruturas são descritas por meio de índices topológicos, densidade de carga, volume e potencial eletrostático) (Mannhold *et al.*, 2009).

Assim, por exemplo, o programa *CLOGP* emprega o método de fragmentos (baseada em biblioteca com milhares de valores experimentais de *logP* obtidos no sistema *n*-octanol/água). Este, no entanto, não considera a ionização dos compostos para a partição (Leo, 1993; Mannhold *et al.*, 2009).

O programa *ALOGPS* utiliza índices topológicos e modelos de redes neurais artificiais associativas para prever valores de *logP* de compostos com ou sem carga. Foi desenvolvido com base em um banco de dados com mais de 12 mil valores de *logP* experimentais conhecidos (obtidos no sistema *n*-octanol/água) e apresenta, dentre os programas disponíveis, baixos valores de incerteza na predição de valores de *logP* (Tetko & Tanchuk, 2002).

Nos programas Moka e Volsurf+, que utilizam a abordagem “*property-based*”, os valores de *logP* são preditos via uma equação linear resultante do ajuste de “átomos tipo GRID” aos valores de *logP* medidos experimentalmente no sistema *n*-octanol/água (Milletti *et al.*, 2007; Cruciani *et al.*, 2009; Mannhold *et al.*, 2009; Volsurf+ User Manual, 2009; Visconti *et al.*, 2015).

O programa *ACD/LogP* utiliza um algoritmo baseado nas contribuições de átomos separados, de fragmentos estruturais e de interações intramoleculares entre diferentes fragmentos. Estas são baseadas em um banco de dados com mais de 18 mil valores de *logP* experimentais (obtidos no sistema *n*-octanol/água). Apresenta um banco de dados interno de contribuições de fragmentos, que contém

incrementos para diferentes grupos funcionais que são reconhecidos por suas respectivas estruturas químicas (Petrauskas & Kolovanov, 2000; Mannhold *et al.*, 2009).

Os programas disponíveis, no entanto, podem apresentar limitações para considerar corretamente as condições experimentais na partição (sistema de solventes usado, temperatura, *pH*, força iônica, par iônico, etc.), bem como para descrever corretamente as estruturas dos compostos, ocasionando baixo poder de predição para os valores de *logP* (Lombardo, 2008; Segan *et al.*, 2016).

Assim, visando avaliar o poder de predição dos programas, cita-se o trabalho de Mannhold *et al.* (2009), em que foram usados 30 programas computacionais com diferentes abordagens para prever valores de *logP* de um extenso banco de dados, com mais de 96 mil compostos com *logP* conhecidos. Para tal avaliação, considerou-se os valores tanto das diferenças (Δ) bem como dos parâmetros estatísticos das regressões lineares entre os valores de *logP* preditos e medidos experimentalmente. Desta forma, observou-se, de um modo geral, vários programas apresentando diferenças significativas ($\Delta > 1,00$) e, baixa significância estatística entre os valores de *logP* preditos e medidos experimentalmente. Dentre algumas das características estruturais dos compostos que dificultaram a predição dos programas, foi destacada a presença de ligações de hidrogênio intramoleculares bem como de grupos amônio quaternários nos compostos.

Sugere-se, portanto, que os valores de *logP* preditos por programas devam ser sempre validados pelos obtidos por métodos experimentais, como por exemplo, pelo método *shake-flask*, utilizando *n*-octanol/água como sistema de partição (Lombardo, 2008; Mannhold *et al.*, 2009).

O coeficiente de partição de compostos ionizáveis

Nos estudos do coeficiente de partição de compostos contendo grupos ionizáveis é importante considerar a presença tanto de espécies neutras, bem como de espécies ionizadas durante a partição. Este é então denominado coeficiente de partição aparente, $\log P_{app}$, ou ainda coeficiente de distribuição, $\log D$, e expresso como (Scherrer, 2001; Lombardo, 2008; Visconti *et al.*, 2015):

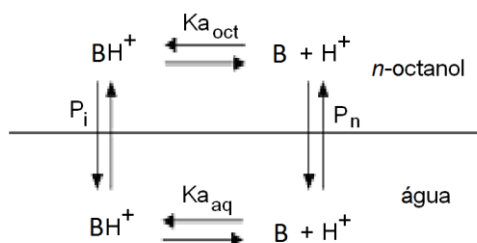
$$\log P_{app} = \log \left(\frac{[B]_{org} + [BH^+]_{org}}{[B]_{aq} + [BH^+]_{aq}} \right) \quad \text{(Equação 1.9)}$$

Em que,

$\log P_{app}$ é o valor das concentrações, no equilíbrio, da espécie ionizada (BH^+) e não-ionizada (B) particionadas entre uma fase orgânica e uma fase aquosa; $[B]_{org}$ é a concentração da espécie não-ionizada dissolvida na fase orgânica; $[B]_{aq}$ é a concentração da espécie não-ionizada dissolvida na fase aquosa; $[BH^+]_{org}$ é a concentração da espécie ionizada dissolvida na fase orgânica e, $[BH^+]_{aq}$ é a concentração da espécie ionizada dissolvida na fase aquosa.

Os valores de $\log P_{app}$ de um composto incluem a contribuição da ionização para a partição do mesmo, que podem variar, ou não serem significativas, em função dos valores de pK_a do composto e do pH da fase aquosa utilizada na partição (Amaral *et al.*, 1997; Lombardo, 2008).

As concentrações das espécies ionizada (BH^+) e não-ionizada (B) dependem, respectivamente, dos equilíbrios de partição de cada uma das espécies separadamente, bem como dos equilíbrios de ionização em cada uma das fases. A **Figura 1.4** apresenta um esquema com os quatro equilíbrios simultâneos envolvidos na partição de um composto ionizável (Scherrer, 2001; Malvezzi & Amaral, 2010).



Em que,

P_i : partição da espécie ionizada, BH^+ ; P_n : partição da espécie não-ionizada, B ; $K_{a^{aq}}$: constante de ionização na fase aquosa e, $K_{a^{oct}}$: constante de ionização na fase orgânica (n -octanol).

Figura 1.4. Representação esquemática dos equilíbrios simultâneos que ocorrem durante a partição de uma base fraca (B) no sistema n -octanol/água.

Para descrever o valor de $\log P_{app}$ de uma base fraca, em função dos valores de pH , do $pK_{a^{aq}}$, de $\log P_i$ e do $\log P_n$, utiliza-se a **Equação 1.10**:

$$\log P_{app} = \log (P_n \cdot 10^{pH} + P_i \cdot 10^{pK_a}) - \log (10^{pK_a} + 10^{pH}) \quad (\text{Equação 1.10})$$

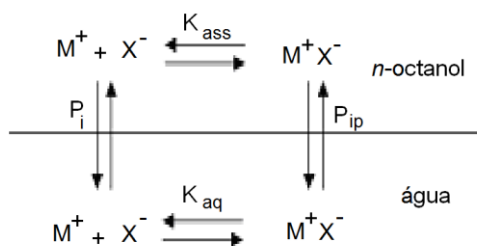
Em que,

$\log P_{app}$: valor do coeficiente de partição aparente do composto; $\log P_i$: valor do coeficiente de partição da espécie ionizada; $\log P_n$: valor do coeficiente de partição da espécie não-ionizada e, $pK_{a^{aq}}$: valor da constante de ionização do composto na fase aquosa.

O coeficiente de partição de compostos permanentemente carregados

Nos estudos do coeficiente de partição de compostos permanentemente carregados considera-se a possibilidade de formação de par iônico entre espécies de cargas opostas durante a partição. Assim, quando se considera a contribuição do par iônico para a partição, utiliza-se, de modo análogo aos compostos ionizáveis, o termo coeficiente de partição aparente, $\log P_{app}$, ou coeficiente de distribuição, $\log D$ (Lombardo, 2008, Malvezzi & Amaral, 2010; Wenlock *et al.*, 2011).

A **Figura 1.5** apresenta os equilíbrios envolvidos na partição de um composto permanentemente carregado (M^+), em presença de um contra-íon de carga oposta (X^-), na qual se observa a possibilidade de partição com formação de par iônico entre M^+ e X^- , bem como de partição sem formação de par iônico, ou seja, M^+ e X^- como um par de íons separados (Abraham & Acree Jr, 2010).



Em que,

P_i : partição de M^+ e X^- como um par de íons separados; P_{ip} : partição com formação de par iônico entre M^+ e X^- ; K_{aq} : constante de equilíbrio do par iônico na fase aquosa; K_{ass} : constante de equilíbrio do par iônico na fase orgânica (*n*-octanol).

Figura 1.5. Representação esquemática dos equilíbrios envolvidos na partição de um composto permanentemente carregado, entre as fases aquosa e orgânica (*n*-octanol), como um par de íons ou como um par iônico.

Na partição de compostos contendo grupos ionizáveis ou permanentemente carregados, encontram-se trabalhos explorando outros aspectos importantes para a partição, como os efeitos das variações da concentração do composto, dos volumes das fases (Dearden & Bresnen, 1988; Andrés *et al.*, 2015), da temperatura (Brooke *et al.*, 1986), da força iônica (Austin *et al.*, 1998; Wenlock *et al.*, 2011), de mudanças nos valores de *pH* utilizando tampões (Avdeef, 2001; Malvezzi & Amaral, 2010) e verificando as possibilidades de formação de par iônico (Takacs-Novak & Szasz, 1999; Koufopoulou *et al.*, 2006; Darwish *et al.*, 2015). Este último aspecto é de grande importância, por exemplo, nos casos em que é observado um aumento da lipofilicidade devido à possível formação do par iônico.

1.2 O Conceito de Par iônico

Define-se par iônico como uma espécie neutra formada em solução, pela atração eletrostática de espécies iônicas de cargas opostas (Bjerrum, 1926; Quintanar-Guerrero *et al.*, 1997; Nagy & Takacs-Novak, 2000, Samiei *et al.*, 2014). Os pares iônicos formados entre íons com cargas opostas dependem tanto da natureza das espécies envolvidas bem como do solvente. Em solventes altamente

polares (como na água, constante dielétrica ~ 80) a formação do par iônico é prejudicada devido à solvatação das moléculas de água, separando as espécies de cargas opostas. Já em solventes apolares (como no *n*-octanol, constante dielétrica ~ 11 , e em biomembranas) pode haver uma força de atração maior entre as espécies de cargas opostas, facilitando a formação do par iônico (Duffey, 1978; Malvezzi & Amaral, 2010).

Na literatura, os aspectos estruturais das interações entre íons e contraíons para a formação de par iônico não estão totalmente elucidados. Sugere-se que espécies orgânicas grandes estão mais disponíveis para formação de par iônico, do que espécies inorgânicas pequenas (Nagy & Takacs-Novak, 2000; Elshaer *et al.*, 2014). Propõe-se, ainda, que contraíons grandes e hidrofóbicos contribuem para a formação de par iônico, podendo levar a um aumento da lipofilicidade de compostos, em especial dos hidrofílicos apresentando baixos valores de *logP* (Takacs Novak, 1999; Koufopoulou *et al.*, 2006; Mazak *et al.*, 2014; Darwish *et al.*, 2015). Então, a aplicação do conceito do par iônico pode viabilizar a medida do parâmetro hidrofóbico, sem tornar necessária a remoção do grupo permanentemente carregado do composto (Schancker, 1960; Malvezzi & Amaral, 2010; Samiei *et al.*, 2014).

1.2.1 Efeitos do par iônico sobre a lipofilicidade

Estudos envolvendo o coeficiente de partição de compostos contendo grupos ionizáveis ou permanentemente carregados devem considerar a possibilidade de formação de par iônico, averiguando os seus efeitos sobre a lipofilicidade (Malvezzi & Amaral, 2010; Mazak *et al.*, 2014).

Para compostos ionizáveis, a partição no sistema *n*-octanol/água, deve incluir mais os equilíbrios relacionados a ionização, completando o ciclo termodinâmico,

(descrito acima na **Figura 1.4**; Scherrer, 2001). Os quatro equilíbrios podem ser relacionados pela **Equação 1.11**:

$$pK_a^{\text{oct}} - pK_a^{\text{aq}} = \log P_n - \log P_i \quad (\text{Equação 1.11})$$

Em que,

logP_n representa o coeficiente de partição das espécies neutras; **logP_i** representa o coeficiente de partição das espécies ionizadas; **pK_a^{aq}** representa a constante de ionização da espécie na fase aquosa e, **pK_a^{oct}** representa a constante de ionização da espécie na fase orgânica (*n*-octanol).

A partir deste ciclo Scherrer (2001) sugere que os valores de K_a^{oct} e de P_i dependem da concentração de contraíons presentes na fase aquosa, que irão particionar junto com a base BH^+ , como par iônico. A partir da **Equação 1.11** pode-se extrair dois termos: *diffpK_a* e *difflogP*, em que $diffpK_a = pK_a^{\text{oct}} - pK_a^{\text{aq}}$ (diferença entre os valores de pK_a determinados no *n*-octanol e na fase aquosa) e, $difflogP = \log P_n - \log P_i$ (diferença entre os valores de $\log P$ das espécies neutras e ionizadas). Scherrer (2001) considerou que estes dois termos podem medir a estabilidade do par iônico formado.

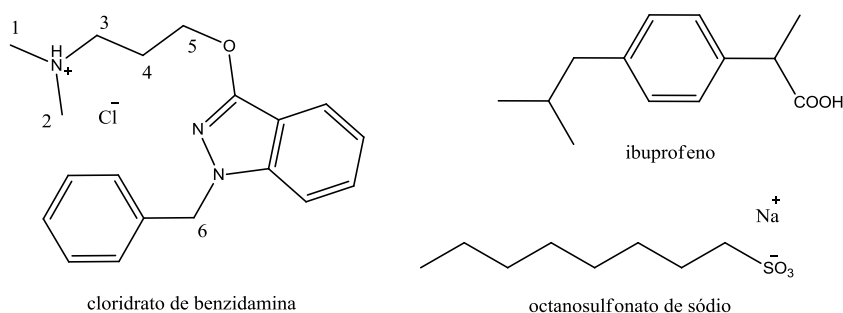
Como exemplo, em um trabalho de nosso grupo (Malvezzi & Amaral, 2010), foram determinados valores de *difflogP* para investigar quais características estruturais de alguns compostos ionizáveis (análogos da procaína contendo o grupo ionizável NH^+) poderiam afetar a estabilidade do par iônico formado (com o contraíon Cl^- do tampão), durante a partição. Verificou-se que a presença de grupos ao redor do NH^+ com capacidade de estabelecer ligação de hidrogênio, bem como com baixo impedimento estérico, levaram a um aumento da lipofilicidade destes análogos da procaína, devido a um aumento da estabilidade do par iônico.

Adicionalmente, a lipofilicidade de compostos ionizáveis, porém, hidrofílicos pode também ser aumentada pela formação de pares iônicos com contraíons lipofílicos (Neubert, 1989; Elshaer *et al.*, 2014; Darwish *et al.*, 2015). Outros trabalhos exploraram, também, a aplicação do conceito de par iônico como uma

estratégia para melhorar a permeabilidade de compostos ionizáveis nas membranas biológicas, aumentando a lipofilicidade relativa destes (considerados altamente hidrofílicos) (Quintanar-Guerrero *et al.*, 1997; Samiei *et al.*, 2014).

Sarveiya *et al.* (2005) investigaram os efeitos de contraíons lipofílicos (ibuprofeno e octanosulfonato de sódio) sobre a permeação em membranas do fármaco ionizável (benzidamina). Para isso, foram determinados os valores de $\log P_{app}$ (usando o método *shake-flask* e o sistema *n*-octanol/água) bem como de Fluxo ($\mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{h}$) através da membrana PDMS (*polydimethyl siloxane*) para a benzidamina com, e sem, os respectivos contraíons (**Tabela 1.3**).

Tabela 1.3. Valores de $\log P$ e de Fluxo em membrana (PDMS) obtidos para a benzidamina na ausência e, na presença de ibuprofeno ou de octanosulfonato, respectivamente. E, os correspondentes valores de deslocamento químico (δ , ppm) observados nos respectivos espectros de RMN¹H.



Compostos	benzidamina	benzidamina+ibuprofeno	benzidamina+octanosulfonato
$\log P_{app}^{(b)}$	0,21 ± 0,01	1,54 ± 0,23	0,96 ± 0,05
Fluxo(PDMS) ($\mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{h}$)	0,087 ± 0,016	12,540 ± 0,940	0,121 ± 0,080
RMN ¹ H ^(a) - δ (ppm)			
CH ₂ (C4)	2,31	2,15	2,22
CH ₃ (C1 e C2)	2,87	2,64	2,75
CH ₂ (C5)	4,47	4,40	4,44
CH ₂ (C3)	3,33	3,06	3,27
CH ₂ (C6)	5,36	5,35	5,26

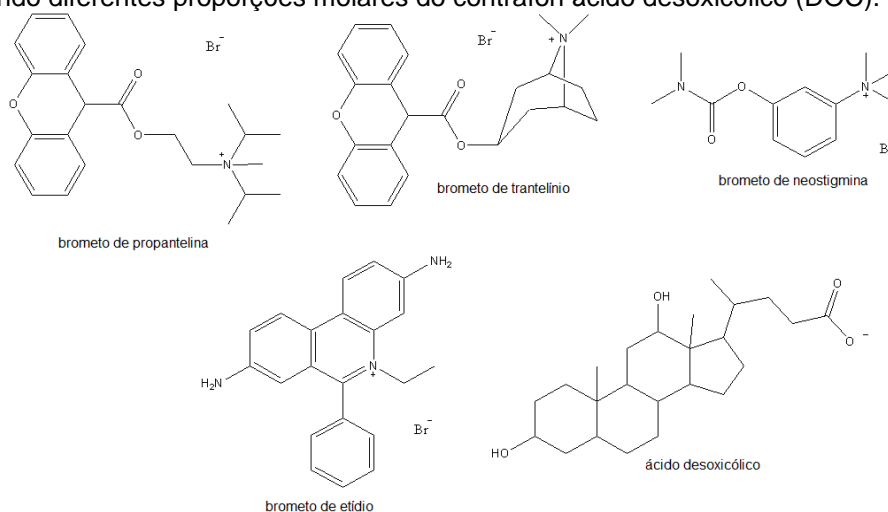
^(a): RMN¹H (espectrômetro de 300 MHz, usando metanol-*d* e, TMS como referência); ^(b): valores de $\log P_{app}$ obtidos usando o método *shake-flask* e o sistema *n*-octanol/água.

Ainda, como mostrado na **Tabela 1.3**, foi verificada a interação (ou a formação por par iônico) composto-contraíon a partir da análise dos deslocamentos químicos (δ , ppm) observados nos correspondentes espectros obtidos por RMN¹H

(300 MHz, usando metanol-*d*, TMS como referência). As diferenças de δ atribuídas aos respectivos prótons foram interpretadas como indícios para a formação de par iônico composto-contraión, incluindo interações de natureza indutiva e/ou hidrofóbica. Assim, demonstrou-se que é possível aumentar tanto o coeficiente de partição como a permeação da benzidamina na presença de contraíons lipofílicos, como resultado das respectivas interações ou da formação de par iônico entre eles.

Para compostos permanentemente carregados, Takacs-Novak & Szasz (1999) estudaram fármacos contendo o grupo amônio quaternário (brometos de amônio quaternários), para os quais foi observado um aumento nos respectivos valores de $\log P_{app}$ quando medidos na presença do contraíon hidrofóbico ácido desoxicólico (DOC), como exemplificado na **Tabela 1.4** a seguir. Além do DOC foram utilizados outros contraíons orgânicos, grandes e hidrofóbicos, observando-se que o aumento da lipofilicidade se deve, majoritariamente, ao tamanho destes contraíons.

Tabela 1.4. Valores de $\log P_{app}$ para o brometo de propantelina, o brometo de trantelínio, o brometo de etídio e para o brometo de neostigmina (brometos de amônio quaternários; QA) determinados em n-octanol, usando diferentes proporções molares do contraíon ácido desoxicólico (DOC).

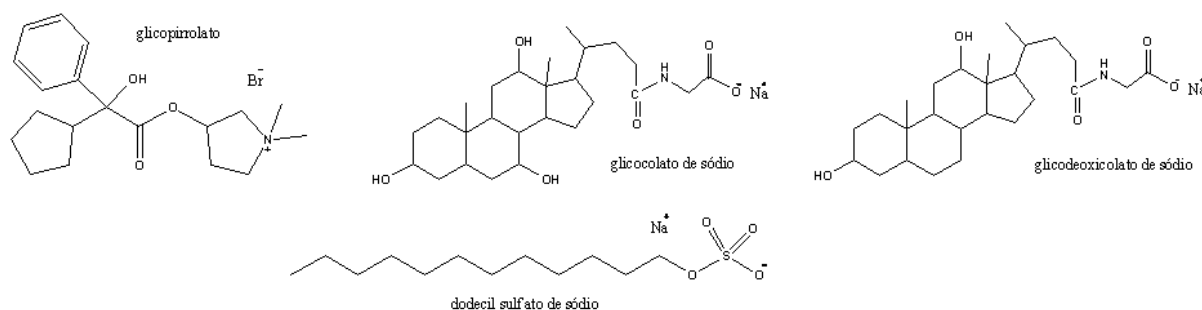


Brometos de amônio quaternários	Valor de $\log P_{app}$		
	Proporção [QA] ^(a) : [DOC] ^(b)		
	1:0	1:1	1:50
brometo de propantelina	-1,07 (± 0,48)	-0,92 (± 0,03)	1,14 (± 0,10)
brometo de trantelínio	-1,45 (± 0,48)	-0,88 (± 0,02)	2,14 (± 0,05)
brometo de etídio	-1,1 (± 0,48)	-0,52 (± 0,01)	2,18 (± 0,01)
brometo de neostigmina	<-3	<-3	-0,7 (± 0,06)

^(a)QA: brometos de amônio quaternários; ^(b)DOC: contraíon, ácido desoxicólico.

Darwish *et al.* (2015) investigaram a formação de par iônico entre um composto permanentemente carregado e hidrofílico (glicopirrolato), na presença de diferentes concentrações de contraíons (glicocolato, glicodeoxicolato e dodecilsulfato de sódio, entre outros) por meio da medida dos respectivos valores de K_f (constante de formação, em M^{-1} , medidas por eletroforese capilar de afinidade) bem como de $\log P_{app}$ (por *shake-flask* no sistema *n*-octanol/água) (**Tabela 1.5**).

Tabela 1.5. Valores de P_{app} , de $\log P_{app}$ e de K_f (M^{-1}) obtidos, respectivamente, para o glicopirrolato na ausência e, na presença dos contraíons glicocolato, glicodeoxicolato e dodecil sulfato de sódio, usando as correspondentes proporções molares.



Compostos	Proporção [composto]:[contraíon]	P_{app}	$\log P_{app}$	$K_f^{(d)}(M^{-1})$
Glicopirrolato	1:0	0,05 ± 0,01	-1,27 ± 0,11	-
glicopirrolato+NaGC ^(a)	1:1	0,35 ± 0,01	-0,45 ± 0,01	7,60 ± 0,65
	1:10	0,80 ± 0,04	-0,10 ± 0,01	-
glicopirrolato+NaGDC ^(b)	1:1	0,48 ± 0,04	-0,31 ± 0,04	18,17 ± 0,80
	1:10	1,03 ± 0,02	0,02 ± 0,01	-
glicopirrolato+SDS ^(c)	1:1	1,67 ± 0,04	0,22 ± 0,01	74,33 ± 9,50
	1:10	-	-	-

^(a): NaGC = glicocolato de sódio; ^(b): NaGDC = glicodeoxicolato de sódio; ^(c): SDS = dodecilsulfato de sódio; ^(d): K_f = constante de formação, em M^{-1} , medidas por eletroforese capilar de afinidade.

Na **Tabela 1.5**, observa-se um aumento de $\log P_{app}$ do glicopirrolato, com o aumento das concentrações de cada um dos contraíons usados. Ainda, foi observada uma correlação significativa entre os valores de P_{app} e K_f . Estas observações foram explicadas pela formação de par iônico entre o glicopirrolato e os contraíons usados, considerando-se que os valores de K_f expressam a força de

afinidade entre o par iônico formado. Além disso, os autores concluem que o uso de dodecilsulfato de sódio como contraíon deve otimizar a formação de par iônico.

Na literatura, no entanto, são encontradas opiniões divergentes quanto à natureza do aumento da lipofilicidade dos compostos na presença de contraíons. Nos estudos citados acima (Scherrer, 2001; Takacs-Novak & Szasz, 1999; Sarveiya *et al.*, 2005; Darwish *et al.*, 2015) o aumento da lipofilicidade de compostos ionizáveis e/ou permanentemente carregados, observado na presença de contraíons inorgânicos e/ou orgânicos, foi atribuído a formação de par iônico. Outros autores (Bouchard *et al.*, 2001), por outro lado, atribuem o aumento da lipofilicidade de compostos permanentemente carregados (sais de amônio quaternários), na presença de contraíons (inorgânicos), à diferença de potencial Galvani entre as fases aquosa/orgânica, e não à formação de par iônico. Apesar das discordâncias, quanto ao mecanismo pelo o qual ocorre o aumento da lipofilicidade de compostos permanentemente carregados na presença de contraíons, este aumento é verificado.

Por fim, descreve-se um trabalho iniciado anteriormente no nosso grupo de pesquisa (Moraes *et al.*, 2009). Neste, propôs-se aplicar o conceito do par iônico como estratégia metodológica, de acordo com Koufopoulou *et al.* (2006), para contornar dificuldades experimentais associadas às determinações dos valores de $\log P_{app}$ (usando o método *shake-flask*, no sistema *n*-octanol/água) do brometo de *N*-benzil-*N,N*-dimetil-2-(4-clorobenzamido)etan-1-amônio hidrofílico, composto **6** (**Série I**, vide **Figura 1.8** no **item 1.3**). Assim, determinou-se os valores de $\log P_{app}$ para **6** na presença de diferentes concentrações de um contraíon grande e hidrofóbico (*n*-octil sulfato de sódio OcS), e ainda, verificou-se a influência da força iônica na partição.

Observou-se, desta forma, aumento de 2,5 e de 0,7 unidades de $\log P_{app}$ para **6** na presença de OcS, sem e com ajuste de força iônica (NaBr; $I = 0,10$ M), respectivamente. Ainda, para cada uma das condições (sem e com ajuste de força iônica) obteve-se os valores de $\log P_{app}$ extrapolados para concentração zero de OcS ($\log P_{app}^0$). Os valores de $\log P_{app}^0$ concordaram, dentro do erro experimental, com os correspondentes, determinados na ausência de contraíon.

Estes resultados (Moraes *et al.*, 2009) sugerem que a variação da concentração do contraíon pode alterar significativamente o valor do coeficiente de partição de um composto permanentemente carregado. Assim, para ampliar a investigação da aplicação do conceito do par iônico e dos seus efeitos sobre a lipofilicidade, deve-se incluir nos estudos compostos que apresentem uma maior faixa de variação de valores de $\log P$.

1.3 Alguns aspectos sobre receptores nicotínicos e compostos com atividade de bloqueio da transmissão neuromuscular

O receptor nicotínico de acetilcolina (RACHn) é bastante conhecido como um membro da superfamília de canais iônicos (Na^+ , Ca^{2+} e K^+), dependente de ligante, e pode ser encontrado na superfície extracelular de células do músculo esquelético de vertebrados bem como do sistema nervoso central e periférico. Os RACHn encontrados em células musculares medeiam a transmissão na junção neuromuscular, já os RACHn encontrados em células neuronais estão envolvidos em diversos processos relacionados com funções cognitivas, aprendizado, memória, coordenação motora e analgesia. Tanto o RACHn do tipo muscular como o neuronal

são considerados importantes sítios de ação de fármacos (Jensen *et al.*, 2005; Westfall & Westfall, 2011; Nencini *et al.*, 2014).

Quando se utiliza o RACHn como alvo na busca de um ligante, um dos maiores desafios é a sua seleção, já que existem muitos subtipos deste receptor (Ussing, 2013). Os subtipos deste receptor são formados por diferentes combinações entre cinco subunidades homologas (α_{1-10} , β_{1-4} , γ , δ e ϵ), organizadas ao redor de um poro central, conhecido como canal iônico (Westfall & Westfall, 2011). Um dos subtipos do RACHn neuronal mais proeminente é o $\alpha_3\beta_4$, que é expressado nos gânglios autonômicos controlando a liberação de neurotransmissores, como a noradrenalina e a adrenalina (Cheffer *et al.*, 2012). Outro subtipo bastante abundante no cérebro é o α_7 , expressado em regiões associadas à memória e o aprendizado e estando envolvido com doenças, como Alzheimer e esquizofrenia (Nencini *et al.*, 2014).

Dentre alguns dos compostos que se ligam naturalmente ao sítio ativo do RACHn, ou seja, agonistas, citam-se: acetilcolina, nicotina, epibatidina, etc. (Westfall & Westfall, 2011). A atividade do receptor pode ser inibida por mecanismos não-competitivo e alostéricos (o ligante não compete com agonistas e se liga a outro sítio, que não o ativo) bem como por mecanismo competitivo (em que há competição no sítio ativo com agonistas). A inibição não competitiva e alostérica do RACHn foi observada para anestésicos locais, como a procaína e a lidocaína (Pagan *et al.*, 2007; Rhee *et al.*, 2015), assim como para agentes bloqueadores neuromusculares (incluindo sais de amônio quaternários, como o QX-222) (Gentry & Lukas, 2001; Heiny *et al.*, 2010; Ring *et al.*, 2015), que serão apresentados a seguir.

Os anestésicos locais causam perda reversível da sensibilidade no local de aplicação pela interrupção do impulso nervoso. Podem agir sobre todo o sistema nervoso e/ou em qualquer tipo de fibra nervosa (Gupta, 1991; Adam, 2014).

A estrutura geral dos anestésicos locais pode ser descrita por uma porção hidrofílica e uma porção lipofílica, separadas por uma cadeia intermediária, geralmente com a presença do grupo funcional éster ou amida (**Figura 1.6**). Estudos das relações entre a potência dos anestésicos locais e suas propriedades físico-químicas indicaram que a potência destes depende do balanço lipofílico-hidrofílico das duas porções da molécula (Gupta, 1991; Amaral *et al.*, 1997; Weizenmann *et al.*, 2012).

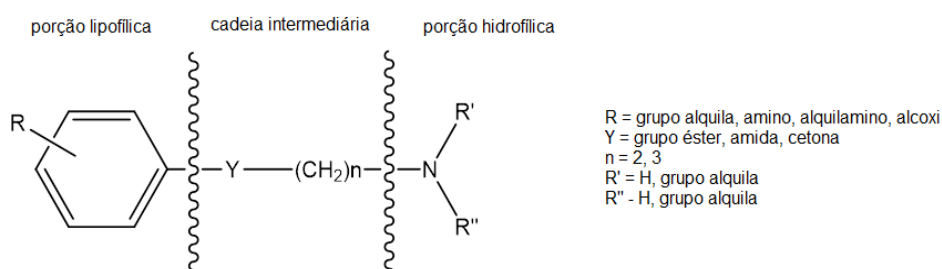


Figura 1.6. Estrutura geral esquemática dos anestésicos locais.

A procaína é um anestésico local sintético que tem sido utilizada tanto como um agente farmacológico em pesquisas científicas bem como na prática clínica/terapêutica, como por exemplo, em procedimentos odontológicos ou para reduzir dores locais induzidas pela injeção intramuscular de penicilina (Adam, 2014). Após a introdução da procaína, vários compostos estruturalmente análogos foram sintetizados, como a procainamida, a lidocaína, a bupivacaína, dentre outros (**Figura 1.7**).

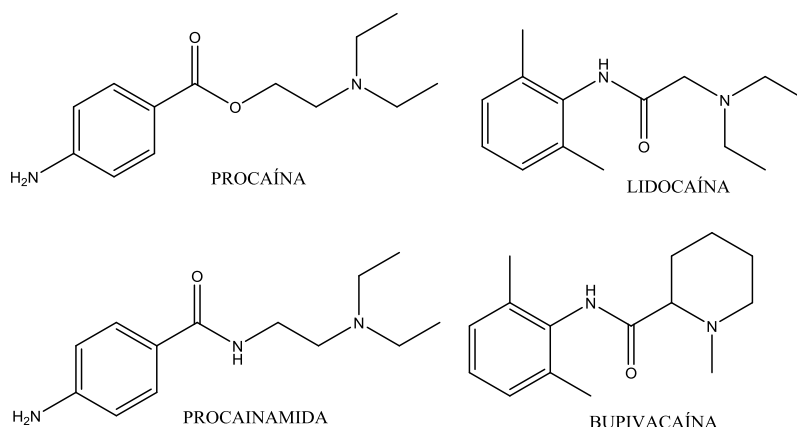


Figura 1.7. Representação da estrutura molecular de alguns anestésicos locais comerciais.

Dentre os mecanismos de ação propostos para os anestésicos locais, sabe-se que estes podem agir no RACHn interrompendo a transmissão do impulso nervoso na junção neuromuscular esquelética e, assim, provocando o relaxamento muscular (além da perda de sensibilidade). Sugere-se que estes compostos se ligam a um sítio específico do canal iônico, induzindo uma mudança de conformação no receptor nicotínico, fechando-o ou impedindo a sua ativação (consequentemente inibindo o fluxo de íons pelo canal) (Yun *et al.*, 2002; Weizenmann *et al.*, 2012).

De acordo com a literatura (Arias & Blanton, 2002; Rhee *et al.*, 2015) os anestésicos locais atuam como inibidores não competitivos do RACHn e têm sido extensivamente utilizados como ferramentas para estudar as propriedades fisiológicas e estruturais deste receptor.

Embora a lidocaína seja um dos anestésicos locais mais comumente utilizados na prática clínica, detalhes do seu mecanismo de ação em RACHn musculares ainda é pouco elucidado. Como a lidocaína é uma amina terciária, em *pH* fisiológico uma parte das moléculas mantém-se sem carga e, portanto, atravessam facilmente a membrana celular. A presença de espécies neutras e

carregadas da lidocaína pode ser o motivo de existir mais de um tipo de mecanismo de ação para a inibição do RACHn muscular (Alberola-Die *et al.*, 2013).

Efeitos adversos da lidocaína e de outros anestésicos locais, como euforia, inquietação, fasciculação e desorientação, podem ser causas (pelo menos parciais) das ações moduladoras destes compostos no RACHn. Isso indica que estes receptores são alvos relevantes para anestésicos locais, mas faltam informações para melhor compreender os mecanismos envolvidos (Heiny *et al.*, 2010; Rhee *et al.*, 2015).

Em nosso grupo de pesquisa, uma série de compostos estruturalmente análogos à procaína foram utilizados para examinar as relações entre as características estruturais destes compostos e suas afinidades pelo RACHn, de subtipo $\alpha\beta 4$. Neste estudo, modelos de QSAR revelaram quais características estruturais destes anestésicos locais contribuem significativamente para a interação com RACHn. Assim, por exemplo, observou-se que a presença de substituintes lipofílicos no anel aromático (avaliados pelos seus respectivos valores de $\log P$, determinados pelo método *shake-flask*, usando o sistema *n*-octanol/água), foi responsável pelo aumento da afinidade com estes receptores (Cheffer *et al.*, 2012).

Compostos estruturalmente análogos à procaína (ou outros anestésicos locais) contendo, no entanto, o grupo amônio quaternário (nitrogênio quaternário catiônico) proporcionam também um aumento da potência inibitória em RACHn. Foi sugerido, ainda, que substituintes volumosos próximos ao grupo amônio quaternário destes compostos aumentam ainda mais suas potências, como é o caso, por exemplo, dos agentes bloqueadores neuromusculares (Stenlake *et al.*, 1992; Olivera-Bravo *et al.*, 2005; Heiny *et al.*, 2010).

Os agentes bloqueadores neuromusculares podem ser usados durante a indução anestésica geral para produzir relaxamento muscular, muitas vezes necessário em procedimentos cirúrgicos. A interação entre agentes bloqueadores neuromusculares e os receptores nicotínicos, localizados na junção neuromuscular esquelética, pode ser denominada bloqueio da transmissão neuromuscular. O bloqueio da transmissão neuromuscular pode ocorrer por interrupção dos impulsos nervosos na junção neuromuscular, causando paralisia ou relaxamento dos músculos esqueléticos (Bowman, 2006; Ring *et al.*, 2015). Estudos envolvendo a relação entre a estrutura e a atividade de agentes bloqueadores neuromusculares sugerem que tanto a presença de grupos com carga positiva bem como a lipofilicidade são características importantes que contribuem para a(s) interação(ões) com o RACHn (Siqueira, 2001; Bowman, 2006; Pagan *et al.*, 2007; Ring *et al.*, 2015).

Em outro trabalho realizado no nosso grupo, Siqueira (2001) sintetizou uma série de brometos de *N*-benzil-*N,N*-dimetil-2-(4-*X*-benzamido)etan-1-amônio substituídos (**Série I**; **Figura 1.8**) e analisou a interação destes com receptores nicotínicos, por meio de ensaios de bloqueio da transmissão neuromuscular.

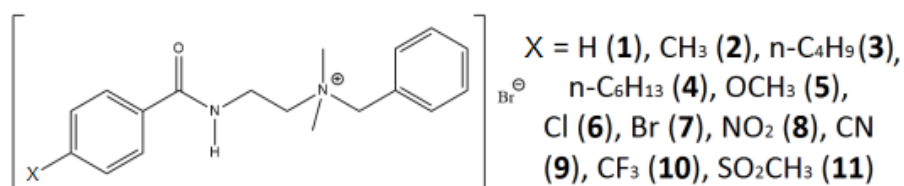


Figura 1.8. Brometos de *N*-benzil-*N,N*-dimetil-2-(4-*X*-benzamido)etan-1-amônio substituídos (**Série I**).

Modelos de QSAR gerados para a **Série I** mostraram uma contribuição positiva do parâmetro hidrofóbico para a atividade de bloqueio da transmissão neuromuscular, observada para estes (Siqueira, 2001).

2 OBJETIVOS

O objetivo desta Dissertação de Mestrado foi ampliar os trabalhos de pesquisa, desenvolvidos anteriormente no grupo, envolvendo o estudo da lipofilicidade (expressa pelo parâmetro hidrofóbico, $\log P_{app}$) de compostos estruturalmente análogos a procaína, visando avaliar a aplicação do conceito do par iônico e seus efeitos sobre a lipofilicidade destes.

Para tanto, foram selecionados brometos de *N*-benzil-*N,N*-dimetil-2-(4-*X*-benzamido)etan-1-amônio substituídos (**Série I**) apresentando uma ampla faixa de variação de valores de $\log P_{app}$. Em seguida, os respectivos valores de $\log P$ foram obtidos usando o método *shake-flask* e o sistema *n*-octanol/água como modelo para partição (na ausência e na presença do contraíon hidrofóbico *n*-octil sulfato de sódio (OcS) e, com e sem ajuste de força iônica), bem como obtidos por cálculo (pelos programas CLOGP, ALOGPS, Moka, ACD/LogP e Volsurf+).

Avaliou-se, por fim, a aplicabilidade do conceito do par iônico como estratégia metodológica nas determinações de $\log P_{app}$ de outros dois sais de amônio quaternários e hidrofílicos, respectivamente, para QX-222 e brometo de neostigmina. E, adicionalmente, foram realizados dois experimentos complementares para verificar se há formação de par iônico: determinação dos valores de $\log P$ da benzamida (composto sem carga permanente) na presença de OcS e, análise por RMN de um composto desta série na presença de OcS.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Reagentes e solventes

- Ácido benzóico (PA, *Riedel-de Hâen ag Seelze-Hannover*)
- Água destilada
- Benzamida > 98% *zur Synthese* (*Merck*)
- Brometo de neostigmina – 1g – *Alfa Aesar*
- Brometo de sódio - NaBr (99+%, *Sigma Aldrich*)
- CDCl₃ – Chloroform-*d* (99.8 atom % D) – *Acros Organics*
- Cloreto de sódio - NaCl (PA-ACS, *Synth*)
- D₂O – *Deuterium Oxide* - 99.9 atom % D – *Aldrich Chem Co*
- HCl (37%, *Merck*)
- Hidróxido de potássio - KOH (PA, *Synth*)
- *n*-octanol (1-octanol) >99% (*Merck, extra pure, grau analítico para HPLC*)
- *n*-octanol (1-octanol) *Chromatosolv for HPLC >99%* (*Sigma Aldrich*)
- *n*-octil sulfato de sódio – OcS (99%, *Alfa Aesar*)
- *n*-octil sulfato de sódio – OcS (fabricante não especificado)
- QX-222 (2-[(2,6-dimethylphenyl)amino]-*N,N,N*-trimethyl-2-oxoethaniminium chloride) - 50 mg - TOCRIS bioscience (*Batch no:1A/123023*)
- TMS tetrametilsilano 99.9%+ *Aldrich*
- Trizma base >99.9% *titration* (*Sigma Aldrich*)

3.2 Equipamentos

Analizador elementar

As análises quantitativas de carbono, de hidrogênio e de nitrogênio dos compostos estudados foram determinadas utilizando o analisador elementar Perkin-Elmer CHN 2400, da Central Analítica do IQ-USP, SP.

Espectrômetro de Ressonância Magnética Nuclear

Para a obtenção dos espectros de RMN¹H e de RMN¹³C dos compostos estudados foi utilizado o espectrômetro Bruker DPX300 de 300 MHz, Bruker AC200 de 200 MHz e Bruker AIII 500 MHz, da Central Analítica do IQ-USP, SP, e o espectrômetro Bruker - Avance III 200 MHz do laboratório do Prof. Dr. Alcindo A. Santos, do IQ-USP, SP.

Espectrômetro Infravermelho

Todos os espectros de absorção na região do infravermelho foram registrados no espectrômetro FTIR Bomem MB100, da Central Analítica do IQ-USP, SP.

Ponto de Fusão

Para a obtenção dos valores do ponto de fusão, em °C, dos compostos estudados foram utilizados os equipamentos Dynamic Optics AHT702040 e Electrothermal 9100.

Agitadores magnéticos

Para a agitação das soluções e/ou misturas (homogêneas ou heterogêneas) foram utilizados agitadores magnéticos Heidolph MR Hei-MixD.

Balança analítica

Foi utilizada a balança analítica Mettler H54AR, com cinco casas decimais.

Banho termostatizado

Para controle e manutenção dos valores da temperatura, durante os experimentos foi utilizado um banho termostatizado, que consiste de um recipiente com água, acoplado a um controlador de temperatura da marca Huber Compatible Control.

Centrífuga

Para a separação das fases, foi utilizada a centrífuga Hitachi Himac CF15D2, com controle de temperatura.

Espectrofotômetro UV-VIS

Para a obtenção dos espectros na região UV/VIS dos compostos estudados, foi utilizado o espectrofotômetro Hitachi U-2010 (UV/VIS). Estes foram obtidos, quando não especificado, em soluções aquosas e utilizando-se cubetas de quartzo com caminho óptico de 1,0 cm.

Recursos Computacionais

Todos os cálculos computacionais foram realizados utilizando:

- PC com processador Intel(R) Core(TM)2 Duo CPU E8400@3.00GHz, 2,00GB RAM, Windows 8.1 Enterprise.
- PC com processador Intel(R) Pentium(R) 4 CPU 3.00GHz, 2GB RAM, Microsoft Windows XP Professional.
- Estação Gráfica Silicon Graphics SGI, com 2 CPUs Quad Core Intel Xeon E5462 @2.80GHz, 6144KB Cache (8 cores); 8GB RAM; 2 HDs 750GB; placa gráfica NVIDIA GPU Quadro FX 3700 com 512MB de memória; Sistema Operacional: CentOS release 6.4 (Final), x86_64.

Programas Computacionais

Para a obtenção dos valores do coeficiente de partição por cálculo, foram utilizados os programas *CLOGP* (1.0.0) (Pomona College, 2003), *ALOGPS* (2.1) disponível no site <http://www.vcclab.org/lab/alogsps/start.html> (Tetko & Tanchuk, 2002), *Moka* (2.0.1) (Molecular Discovery) (Milletti *et al.*, 2007), *ACD/LogP* (ACD/Labs9.0) (Petrauskas, 2000) e *VolSurf+* (1.0.7.1) (Cruciani *et al.*, 2009).

Para a análise e processamento dos espectros de RMN foram utilizados os programas MestReNova LITE v.5.2.5-5780 e/ou Matlab R2013a (8.1.0.604).

Para a construção de gráficos e planilhas foram utilizados os programas Microsoft Office Standard 2013 (Microsoft Word e Microsoft Excel) e/ou Origin 9.0.0 (Origin Labs Corporation).

Análises de Regressão

Para a obtenção das equações de reta por regressão linear utilizou-se o programa Origin 9.0.0 (Origin Labs Corporation). Em todas as equações n representa o número de dados analisados, r expressa o coeficiente de correlação, R^2 coeficiente de determinação e s expressa o desvio padrão. Os valores entre parênteses após os coeficientes angular e linear de todas equações representam o erro padrão no intervalo de 95% de confiança. Adicionalmente, foram calculados os valores de F , teste de significância de *Fisher*, e comparados com os respectivos tabelados (F_{tab} com 95% de confiança), para analisar a significância estatística das regressões.

3.3 Compostos estudados

3.3.1 Brometos de amônio quaternários

Neste trabalho foram estudados cinco brometos de amônio quaternários pertencentes a **Série I** (apresentada na **Figura 1.8** da **Introdução**), sintetizada anteriormente no grupo por Siqueira (2001). Para facilitar a análise conjunta dos resultados obtidos por mim e por Siqueira, optou-se por manter a mesma numeração usada na **Série I**, a saber: brometo de *N*-benzil-*N,N*-dimetil-2-(4-bromobenzamido)etan-1-amônio ($X=Br$, composto **7**), brometo de *N*-benzil-*N,N*-dimetil-2-(4-nitrobenzamido)etan-1-amônio ($X=NO_2$, composto **8**), brometo de *N*-benzil-*N,N*-dimetil-2-(4-

cianobenzamido)etan-1-amônio (X=CN, composto **9**), brometo de *N*-benzil-*N,N*-dimetil-2-(4-trifluorometilbenzamido)etan-1-amônio (X=CF₃, composto **10**) e brometo de *N*-benzil-*N,N*-dimetil-2-(4-metilsulfonilbenzamido) etan -1-amônio (X=SO₂CH₃, composto **11**).

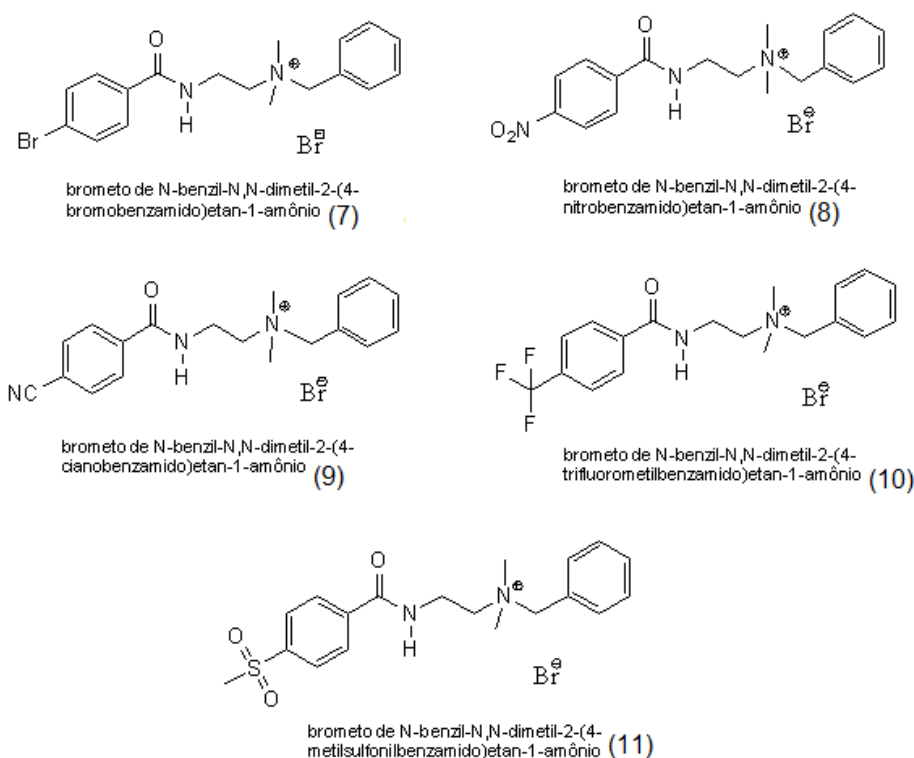


Figura 3.1. Representação das estruturas moleculares e nomenclatura dos brometos de *N*-benzil-*N,N*-dimetil-2-(4-X-benzamido)etan-1-amônio substituídos, estudados neste trabalho, denominados compostos **7** (X=Br), **8** (X=NO₂), **9** (X=CN), **10** (X=CF₃) e **11** (X=SO₂CH₃) da Série I.

3.3.2 *n*-octil sulfato de sódio (OcS) como contraíon hidrofóbico

n-octil sulfato de sódio (OcS), que apresenta um ânion grande e hidrofóbico, foi utilizado como contraíon nas determinações dos valores do coeficiente de partição dos compostos **7**, **8**, **9**, **10** e **11**.

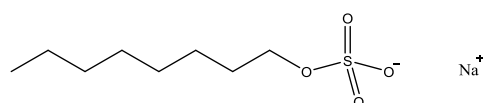


Figura 3.2. Representação da estrutura molecular do *n*-octil sulfato de sódio (OcS).

3.4 Identificação e caracterização dos compostos estudados

3.4.1 Brometos de amônio quaternários

Os compostos estudados neste trabalho tiveram os seus graus de pureza avaliados pelos respectivos valores de *PF* (°C) e análise elementar (em %) de C, de H e de N.

Os valores do ponto de fusão, em °C, foram obtidos para cada composto, utilizando os equipamentos Dynamic Optics AHT702040 e Electrothermal 9100 e não foram corrigidos.

Os valores, em %, de C, de H e de N, de cada composto, foram registrados utilizando o analisador elementar da marca Perkin-Elmer, modelo CHN 2400 automatizado.

Para a identificação e/ou caracterização dos compostos estudados neste trabalho, foram analisados, respectivamente, os valores: dos deslocamentos químicos registrados nos espectros de *RMN*¹*H* (δ , em ppm, usando D₂O como solvente); dos deslocamentos químicos observados nos espectros de *RMN*¹³*C* (δ , em ppm, usando D₂O como solvente) e, das posições das bandas de absorção características na região do infravermelho (em cm⁻¹, obtidos em pastilhas de KBr).

Para a obtenção dos espectros de *RMN*¹*H* e de *RMN*¹³*C* de cada composto, foi utilizado o espectrômetro Bruker DPX300 de 300 MHz e/ou Bruker AC200 de 200 MHz, operando em transformada de Fourier. As amostras dos compostos, utilizadas na obtenção dos espectros de *RMN*¹*H* e de *RMN*¹³*C*, foram preparadas em tubos de quartzo e utilizando água-*d*₂ (D₂O/*deuterium oxide*) como solvente. O pico residual do solvente deuterado (deslocamento químico de água dissolvida em água-*d*₂,

correspondente ao pico de HDO, observado em aproximadamente 4,7 – 4,9 ppm) foi utilizado como referência para a obtenção dos sinais nos espectros de RMN^1H . As concentrações dos compostos variaram na faixa de 3 a 5 mg/mL de solvente. Quando não especificado, todos os espectros foram registrados utilizando D_2O como solvente.

Todos os espectros de absorção na região do infravermelho foram obtidos utilizando pastilhas de KBr e foram registrados no espectrômetro FTIR Bomem MB100, operando em transformada de Fourier.

Os resultados obtidos para identificar e caracterizar os brometos de amônio quaternários estão apresentados no **item 4.1.1**.

3.4.2 Reagente comercial *n*-octil sulfato de sódio (OcS)

O reagente comercial *n*-octil sulfato de sódio (OcS), de fabricante não-especificado e fabricado pela *Alfa Aesar*, tiveram os seus graus de pureza avaliados pelos respectivos valores de *PF* (em °C) e, foram identificados e caracterizados pelos respectivos valores das posições das bandas de absorção características na região do infravermelho (usando pastilhas de KBr). Os resultados obtidos estão apresentados no **item 4.1.2**.

Estabilidade do *n*-octil sulfato de sódio (OcS)

A estabilidade do reagente comercial OcS, frente à hidrólise, foi verificada espectrofotometricamente, acompanhando-se, à temperatura ambiente, os valores de absorbância, no comprimento de onda máximo (227 nm), observado no período de 16 dias. Para tanto, foram preparadas três soluções aquosas de OcS nas concentrações de 0,060, de 0,119 e de 0,240 M e as respectivas absorbâncias registradas, em triplicata. Os resultados obtidos estão apresentados no **item 4.1.2**.

3.5 Métodos de determinação dos parâmetros hidrofóbicos

Neste trabalho, considerou-se como parâmetro hidrofóbico dos compostos estudados, os valores do coeficiente de partição obtidos por cálculo ($\log P_{calc}$) e/ou determinados experimentalmente ($\log P_{app}$).

3.5.1 Obtenção dos valores do coeficiente de partição por cálculo ($\log P_{calc}$)

Para a obtenção dos valores do coeficiente de partição por cálculo, foram utilizados, respectivamente, os programas computacionais CLOGP (1.0.0) (Pomona College, 2003), ALOGPS (2.1) (Tetko & Tanchuk, 2002), Moka (2.0.1) (Milleti *et al.*, 2007), ACD/LogP (ACD/Labs9.0) (Petrauskas, 2000) e VolSurf+ (1.0.7.1) (Cruciani *et al.*, 2009). Os valores do coeficiente de partição, $\log P_{calc}$, obtidos para cada composto estão apresentados no **item 4.2.1**.

3.5.2 Determinação por *shake-flask* dos valores do coeficiente de partição aparente ($\log P_{app}$)

O método *shake-flask* para a determinação dos valores do coeficiente de partição de cada composto encontra-se detalhado, sequencialmente, nas seguintes etapas:

Planejamento do experimento

Quando disponível na literatura, utilizou-se um valor experimental conhecido de $\log P$ para cada composto a ser estudado. Quando não, utilizou-se um valor de $\log P$ obtido por cálculo usando programas computacionais (vide **item 3.5.1**).

Procedendo-se como descrito na literatura (Dearden & Bresnen, 1988; Amaral *et al.*, 1997; OECD, 1995; Lombardo, 2008; Malvezzi & Amaral, 2010), a partição de

cada composto foi avaliada espectrofotometricamente, somente na fase aquosa, através das determinações das absorções inicial (A_i) e final (A_f), ou seja, antes e depois da partição de cada composto. Quando a equação de *Lambert-Beer* pôde ser aplicada, as concentrações em $mol L^{-1}$ do composto na fase aquosa, antes e depois da partição, puderam ser correlacionadas com as absorbâncias medidas.

Realizou-se o planejamento dos experimentos sabendo-se que:

$$P = [C]_{oct}/[C]_{aq} \quad \text{(Equação 3.1)}$$

$$R_v = V_{aq}/V_{oct} \quad \text{(Equação 3.2)}$$

$$P/R_v = (A_i - A_f)/A_f \quad \text{(Equação 3.3)}$$

Em que,

P é a partição do composto **C**; **[C]_{oct}** é a concentração do composto **C** na fase orgânica (*n*-octanol); **[C]_{aq}** é a concentração do composto **C** na fase aquosa; **R_v** é a razão entre os volumes das fases aquosa e orgânica; **V_{aq}** é o volume de fase aquosa utilizado; **V_{oct}** é o volume de fase orgânica (*n*-octanol) utilizado; **A_i** é a absorção inicial medida do composto **C**, na fase aquosa (antes da partição); **A_f** é a absorção final medida do composto **C** na fase aquosa (após a partição).

Os valores da relação P/R_v foram planejados, visando manter essa relação próxima de 5 (Dearden & Bresnen, 1988). A partir do valor de $\log P$ utilizado como referência, e do coeficiente de absorvidade molar (ϵ) obtidos para cada composto, cada experimento foi planejado estimando-se os respectivos valores para V_{aq} , V_{oct} e A_f , e calculando-se o valor de A_i através das **Equações 3.1, 3.2 e 3.3**.

Pré-saturação das fases

Procedendo-se de acordo com as indicações da literatura (Dearden & Bresnen, 1988; Amaral *et al.*, 1997; OECD, 1995; Siqueira, 2001; Raminelli, 2001; Lombardo, 2008; Malvezzi & Amaral, 2010), em um *Erlenmeyer* (ou em um tubo *flask*), equipado com agitador magnético e termostatizado em banho de água à 25 ± 1 °C, saturou-se mutuamente as fases aquosa e orgânica durante um período mínimo de 8 horas de agitação.

Como fase orgânica utilizou-se o solvente orgânico *n*-octanol e, como fase aquosa, utilizou-se ou água destilada (**A**) ou soluções aquosas de NaBr (**B** - para ajuste de força iônica, $I = 0,10$ M). Toda água utilizada no preparo das soluções foi destilada-fervida e resfriada em *Erlenmeyer* e, guardada, protegida com tubo de KOH. Os volumes das fases aquosa (V_{aq}) e orgânica (V_{oct}), utilizados para a pré-saturação, foram estimados com base nos valores de P/R_v previstos para cada composto, em que P e R_v são definidos de acordo com as **Equações 3.1 e 3.2** (Planejamento do experimento).

Após o período de agitação, as duas fases foram deixadas em descanso por 30 min, para auxiliar a separação. A fase aquosa pré-saturada de *n*-octanol (ρ_{so}) foi recolhida com uma pipeta e, em seguida, centrifugada à 15000 rpm por 5 min e à 25 ± 1 °C. Caso observada a formação de emulsão ou branqueamento da fase orgânica pré-saturada de fase aquosa (ρ_{sa}), esta também foi centrifugada. Todos os experimentos foram realizados, pelo menos em duplicata, em sala equipada com ar condicionado e com temperatura ajustada e controlada para 25 ± 1 °C.

Determinação dos valores do comprimento de onda de absorção máxima (λ_{max}) e do coeficiente de absorvidade molar (ϵ) para cada composto, em soluções aquosas (ρ_{so})

Inicialmente, preparou-se uma solução aquosa de cada composto em um balão volumétrico de 1 mL e na concentração de 0,01 M (solução estoque).

Como solvente utilizou-se água destilada (**A**) ou soluções aquosas de NaBr (**B** - para ajuste de força iônica, $I = 0,10$ M), ambas pré-saturadas de *n*-octanol (ρ_{so}). Os experimentos foram realizados à 25 ± 1 °C.

Para a determinação do valor do comprimento de onda de absorção máxima (λ_{\max}) de cada composto, preparou-se uma solução adicionando-se 15 μL da solução estoque em uma cubeta contendo 2,0 mL da fase aquosa (*ps*) centrifugada. Foi utilizada como valor de leitura de absorção nula (branco), a fase aquosa (*ps*) centrifugada. Foram utilizadas cubetas de quartzo de caminho ótico de 1,0 cm e o espectro foi varrido na faixa entre 190 e 350 nm.

O valor do coeficiente de absorvidade molar (ϵ) de cada composto foi determinado aplicando-se a lei de *Lambert-Beer*. Foi utilizada como valor de leitura de absorção nula (branco), a fase aquosa (*ps*) centrifugada. Foram tomadas alíquotas de 5,00 μL da solução estoque, sucessivamente, e adicionadas à uma cubeta contendo 2,0 mL da fase aquosa (*ps*) centrifugada. As leituras de absorbâncias foram feitas nos comprimentos de onda (λ_{\max}) previamente determinados para cada composto.

Obtenção dos valores de *logP*

Para cada composto, os valores de *logP* foram obtidos pelo método *shake-flask*, de acordo com procedimentos descritos na literatura (Dearden & Bresnen, 1988; Amaral *et al.*, 1997; OECD, 1995; Siqueira, 2001; Raminelli, 2001; Lombardo, 2008; Malvezzi & Amaral, 2010). Todos os experimentos foram realizados, pelo menos em duplicata, para incluir as incertezas inerentes às determinações.

Para cada composto, as concentrações molares variaram na faixa de 0,00005 a 0,00007 M, para as quais a lei *Lambert-Beer* pôde ser aplicada.

Em um tubo *flask* de fundo chato, a solução estoque de cada composto foi diluída com volumes variáveis de fase aquosa (*ps*). Uma alíquota de 2 mL desta solução do composto foi transferida para uma cubeta de quartzo, para a leitura de A_i .

A estabilidade de cada composto na fase aquosa foi verificada lendo-se novamente a absorbância da solução inicial (A_i') após o período de partição. As leituras foram feitas no espectrofotômetro, em triplicata.

Ao tubo *flask* de fundo chato, contendo o volume da solução aquosa (p_{so}) do composto (V_{aq}), foi adicionado o volume V_{oct} de *n*-octanol (p_{sa}). Em seguida, foi mantido por um período de 60 minutos, sob agitação magnética (150 rpm) em um banho termostatizado controlando-se a temperatura em 25 ± 1 °C.

Após a etapa de partição, a agitação foi desligada para ocorrer a separação das duas fases. Mediu-se, então, a A_i' (das mesmas cubetas de A_i reservadas durante o tempo de partição). A seguir, com o auxílio de uma pipeta foi retirada a fase aquosa restante, transferida para um tubo Eppendorf e submetida a centrifugação (15000 rpm por 5 min). Depois da centrifugação, uma alíquota de 2 mL foi transferida para uma cubeta de quartzo (caminho ótico de 1,0 cm) registrando-se a absorbância, considerada absorbância final, denominada A_f . A partir dos valores de absorbância obtidos, foram calculados os valores do coeficiente de partição ($\log P$) por meio da **Equação 3.3**. Os valores dos coeficientes de partição, $\log P$, obtidos para cada composto estão apresentados no **item 4.2.2**.

3.5.3 Determinação por *shake-flask* dos valores do coeficiente de partição aparente ($\log P_{app}$) na presença de contraíon hidrofóbico

Procedendo-se de acordo com as indicações da literatura (Koufopoulou *et al.*, 2006; Moraes *et al.*, 2009), foram determinados os valores do coeficiente de partição aparente ($\log P_{app}$) de cada composto, na presença de contraíon hidrofóbico OcS, pelo método *shake-flask* (detalhado no **item 3.5.2**) e utilizando-se, como fases aquosas p_{so} , soluções com duas diferentes composições, a saber: soluções

aquosas de OcS (soluções **A'**) e, soluções aquosas de OcS com força iônica ajustada para $I = 0,10$ M (NaBr) (soluções **B'**).

O preparo das soluções **A'** e **B'** foi feito a partir de soluções aquosas estoque de OcS e de NaBr, previamente preparadas. Estes reagentes foram anteriormente secados em estufa à 60°C (por 6 horas) e à 150°C (por 8 horas), respectivamente. Os experimentos foram planejados fixando-se, para cada composto, um determinado valor de concentração, variando na faixa entre 0,00005 e 0,00007 M, e mantendo-se, ao mesmo tempo, diferentes proporções molares composto:contraíon OcS (variando na faixa entre 1:0,2 e 1:50,0).

A seguir, como exemplo ilustrativo para um composto (**7**), estão apresentados o preparo e a composição das respectivas soluções **A'** (**Tabela 3.1**) e soluções **B'** (**Tabela 3.2**), usadas em cada experimento para determinação dos valores de $\log P_{app}$ para o composto **7**. Neste exemplo, a concentração do composto (**7**) foi fixada em 0,00005 M.

Tabela 3.1. Exemplo ilustrativo das 11 soluções aquosas de OcS (soluções **A'**) preparadas (usadas como fase aquosa nas determinações dos valores de coeficiente de partição do composto **7**), dos respectivos valores da concentração molar de OcS e das respectivas proporções composto:contraíon.

Soluções aquosas de OcS (A') ^(*)	[OcS] (M)	Proporção [composto]:[contraíon]
0	0	1,0 : 0,0
1	0,00002	1,0 : 0,4
2	0,00003	1,0 : 0,6
3	0,00004	1,0 : 0,8
4	0,00005	1,0 : 1,0
5	0,00006	1,0 : 1,2
6	0,00007	1,0 : 1,4
7	0,00010	1,0 : 2,0
8	0,00025	1,0 : 5,0
9	0,00038	1,0 : 7,6
10	0,00050	1,0 : 10,0
11	0,00250	1,0 : 50,0

^(*) Estas foram feitas a partir de uma solução aquosa estoque de OcS, previamente preparada, nas quais a concentração variou na faixa de 0,00002 a 0,00250 M, usando balões volumétricos de 25,0 ou de 50,0 mL, em função da concentração desejada.

Tabela 3.2. Exemplo ilustrativo das 11 soluções aquosas de OcS com ajuste de força iônica, $I = 0,10$ M (NaBr) (soluções **B'**) preparadas (usadas como fase aquosa nas determinações dos valores de coeficiente de partição do composto **7**), dos respectivos valores da concentração molar de NaBr e de OcS e das respectivas proporções composto:contraíon.

Soluções aquosas de OcS com ajuste de força iônica, $I = 0,10$ M (NaBr) (B') (**)	[NaBr] (M)	[OcS] (M)	Proporção [composto]:[contraíon]
0	0,10000	0	1,0 : 0,0
1	0,09998	0,00002	1,0 : 0,4
2	0,09997	0,00003	1,0 : 0,6
3	0,09996	0,00004	1,0 : 0,8
4	0,09995	0,00005	1,0 : 1,0
5	0,09992	0,00008	1,0 : 1,6
6	0,09990	0,00010	1,0 : 2,0
7	0,09980	0,00020	1,0 : 4,0
8	0,09970	0,00030	1,0 : 6,0
9	0,09960	0,00040	1,0 : 8,0
10	0,09950	0,00050	1,0 : 10,0
11	0,09750	0,00250	1,0 : 50,0

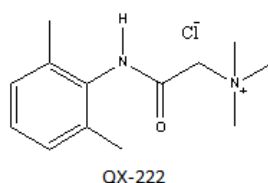
(**) Estas foram feitas a partir das soluções aquosas estoque de NaBr e de OcS, previamente preparadas, nas quais as concentrações de NaBr variaram na faixa de 0,09650 a 0,10000 M e de OcS na faixa de 0,00002 a 0,00250 M. Estas foram feitas usando balões volumétricos de 25,0 ou de 50,0 mL, em função da concentração desejada.

Os valores dos coeficientes de partição, $\log P_{app}$, obtidos para cada composto, na presença de contraíon hidrofóbico, estão apresentados no **item 4.2.3**.

Adicionalmente, para cada composto, os resultados foram analisados a partir de gráficos traçados entre os valores de $\log P_{app}$ e as respectivas concentrações molares de OcS, obtidos para as soluções, respectivamente, sem ajuste da força iônica (soluções **A'**) e usando NaBr para ajuste da força iônica (soluções **B'**). Na parte linear de cada gráfico, foi traçada a melhor reta por regressão linear, usando o programa Origin 9.0.0 (Origin Labs Corporation). O valor do coeficiente linear da equação da melhor reta traçada foi considerado correspondente ao valor de $\log P_{app}$ extrapolado para a concentração zero de OcS, também denominado de $\log P_{app}^0$. Desta forma, pôde-se comparar os valores de $\log P_{app}^0$ com os valores de $\log P_{app}$ correspondentes, determinados experimentalmente para cada composto na ausência de contraíon.

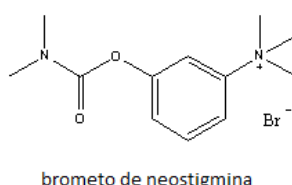
3.6 Aplicabilidade do conceito do par iônico como estratégia metodológica

3.6.1 Determinação dos valores do coeficiente de partição do QX-222 na presença de contraíon hidrofóbico



De modo análogo ao descrito no **item 3.5.3**, foram determinados os valores de $\log P_{app}$ do QX-222, na presença de contraíon hidrofóbico (OcS), pelo método *shake-flask* (detalhado no **item 3.5.2**) e utilizando-se, como fases aquosas, soluções aquosas de OcS *pso* (soluções **A'**). Os valores de $\log P_{app}$ obtidos para o QX-222 na presença de OcS estão apresentados no **item 4.3.1**.

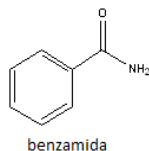
3.6.2 Determinação dos valores do coeficiente de partição do brometo de neostigmina na presença de contraíon hidrofóbico



De modo análogo ao descrito no **item 3.5.3**, foram determinados os valores de $\log P_{app}$ do brometo de neostigmina, na presença de contraíon hidrofóbico (OcS), pelo método *shake-flask* (detalhado no **item 3.5.2**) e utilizando-se, como fases aquosas, soluções aquosas de OcS *pso* (soluções **A'**). Os valores de $\log P_{app}$ obtidos para o brometo de neostigmina na presença de OcS estão apresentados no **item 4.3.2**.

3.7 Experimentos complementares para verificar a formação de par iônico

3.7.1 Determinação dos valores do coeficiente de partição da benzamida na presença de contraíon hidrofóbico



De modo análogo ao descrito no **item 3.5.3**, foram determinados os valores de $\log P$ da benzamida, na presença de contraíon hidrofóbico (OcS), pelo método *shake-flask* (detalhado no **item 3.5.2**) e utilizando-se, como fases aquosas, soluções com duas diferentes composições, a saber: soluções aquosas de OcS (soluções **A'**) e, soluções aquosas de OcS com força iônica ajustada para $I = 0,10$ M (NaBr) (soluções **B'**), ambas *pso*. Os valores de $\log P$ obtidos para a benzamida na presença de OcS estão apresentados no **item 4.4.1**.

3.7.2 Registro e análise sistemática dos espectros de RMN¹H para verificar a formação de par iônico

Procedendo-se como descrito na literatura (Sarveiya *et al.*, 2005), introduzindo-se pequenas modificações, o estudo da formação do par iônico no equilíbrio foi acompanhado por meio do registro e análise sistemática de espectros de RMN¹H. Os espectros de RMN¹H para o composto **10**, na presença de diferentes concentrações de OcS, foram registrados à 25 °C, utilizando-se D₂O como solvente e, como referência externa, utilizou-se um tubo coaxial contendo CDCl₃ com TMS 0,015%. Nesta etapa, os espectros foram registrados nos espectrômetros Bruker - Avance III 200 MHz e/ou Bruker AIII 500 MHz, e os espectros foram processados utilizando os programas MestReNova LITE v.5.2.5-5780 e/ou Matlab R2013a (8.1.0.604). Os resultados obtidos estão apresentados no **item 4.4.2**.

4 RESULTADOS

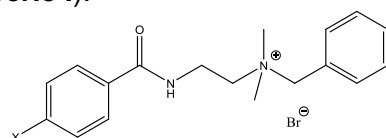
Neste item, procedendo-se como descrito em **Materiais e Métodos**, estão apresentados os resultados relativos: à identificação e caracterização dos compostos estudados; à obtenção dos respectivos parâmetros hidrofóbicos; à aplicabilidade do conceito do par iônico como estratégia metodológica, bem como aos experimentos complementares para verificar a formação do par iônico.

4.1 Identificação e caracterização dos compostos estudados

4.1.1 Brometos de amônio quaternários

Neste trabalho, os cinco brometos de *N*-benzil-*N,N*-dimetil-2-(4-*X*-benzamido)etan-1-amônio substituídos (compostos **7** (*X*=Br), **8** (*X*=NO₂), **9** (*X*=CN), **10** (*X*=CF₃) e **11** (*X*=SO₂CH₃)) da **Série I** (**Figura 3.1**), previamente sintetizados no grupo (Siqueira, 2001), foram identificados e caracterizados, bem como tiveram os seus graus de pureza avaliados, conforme descrito no **item 3.4.1**. Os resultados obtidos, por cada técnica de identificação e de caracterização, estão apresentados nas **Tabelas 4.1, 4.2, 4.3, 4.4 e 4.5**.

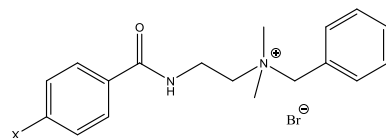
Tabela 4.1. Fórmulas moleculares e valores das massas molares (g mol⁻¹) e dos correspondentes pontos de fusão (°C) dos brometos de *N*-benzil-*N,N*-dimetil-2-(4-*X*-benzamido)etan-1-amônio substituídos (compostos **7** (*X*=Br), **8** (*X*=NO₂), **9** (*X*=CN), **10** (*X*=CF₃) e **11** (*X*=SO₂CH₃)) da **Série I**.



Composto	X	Fórmula Molecular	MM (g/mol)	PF (°C)	PF lit ^(a) (°C)
7	Br	C ₁₈ H ₂₂ Br ₂ N ₂ O	442,19	191-193	190-194
8	NO ₂	C ₁₈ H ₂₂ BrN ₃ O ₃	408,30	211-213	213-215
9	CN	C ₁₉ H ₂₂ BrN ₃ O	388,31	179-182	181-184
10	CF ₃	C ₁₉ H ₂₂ BrF ₃ N ₂ O	431,30	169-172	173-175
11	SO ₂ CH ₃	C ₁₉ H ₂₅ BrN ₂ O ₃ S	441,38	194-196	202-204

^(a) valores da literatura Siqueira, 2001.

Tabela 4.2. Valores das análises elementares (%C/%H/%N) calculados e obtidos experimentalmente para os brometos de *N*-benzil-*N,N*-dimetil-2-(4-*X*-benzamido)etan-1-amônio substituídos (compostos **7** (X=Br), **8** (X=NO₂), **9** (X=CN), **10** (X=CF₃) e **11** (X=SO₂CH₃) da **Série I**).

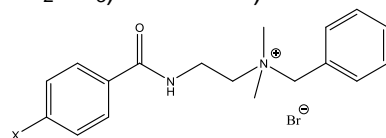


Composto	X	Calculado			Experimental			Δ ^(a)		
		%C	%H	%N	%C	%H	%N	%C	%H	%N
7	Br	48,89	5,01	6,34	48,79	5,25	6,49	0,1	0,2	0,2
8	NO ₂ ^(b)	50,71	5,67	9,86	50,82	5,36	9,76	0,1	0,3	0,1
9	CN ^(b)	56,16	5,95	10,34	55,92	5,92	10,76	0,2	0,0	0,4
10	CF ₃ ^(b)	50,79	5,38	6,23	50,96	5,535	6,59	0,2	0,2	0,4
11	SO ₂ CH ₃	51,70	5,71	6,35	51,37	5,70	6,25	0,3	0,0	0,1

^(a)Valores das diferenças, em módulo, entre os valores calculados e obtidos experimentalmente;

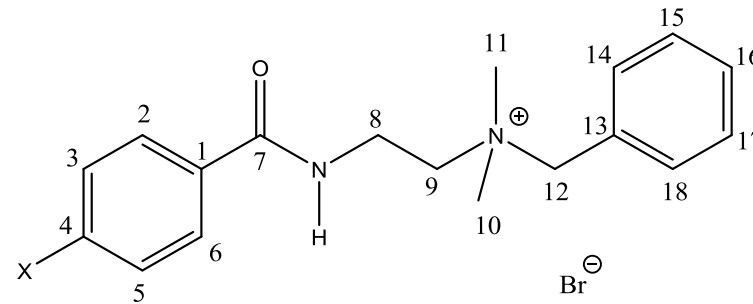
^(b)Valores calculados considerando-se a presença de uma molécula de água.

Tabela 4.3. Valores dos deslocamentos químicos (ppm) relativos ao pico residual do solvente (deslocamento químico de HDO; água dissolvida em água-*d*₂) e das constantes de acoplamento *J* (Hz), observados nos espectros de RMN¹H para os brometos de *N*-benzil-*N,N*-dimetil-2-(4-*X*-benzamido)etan-1-amônio substituídos (compostos **7** (X=Br), **8** (X=NO₂), **9** (X=CN), **10** (X=CF₃) e **11** (X=SO₂CH₃) da **Série I**).



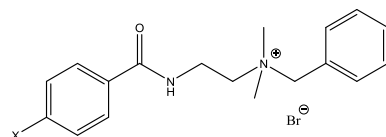
Composto	X	δ (ppm)
7	Br	3,06 (s, 6H, N ⁺ (CH ₃) ₂); 3,51 (t, 2H, CH ₂ N ⁺); 3,89 (t, 2H, NHCH ₂); 4,51 (s, 2H, N ⁺ CH ₂ Ar); 7,49 (m, 5H, Ar-H); 7,61 (m, 4H, Ar-H)
8	NO ₂	3,13 (s, 6H, N ⁺ (CH ₃) ₂); 3,59 (t, 2H, CH ₂ N ⁺); 3,98 (t, 2H, NHCH ₂); 4,58 (s, 2H, N ⁺ CH ₂ Ar); 4,75 (H ₂ O); 7,56 (m, 5H, Ar-H); 7,94 - 8,32 (m, 4H, Ar-H)
9	CN	3,12 (s, 6H, N ⁺ (CH ₃) ₂); 3,58 (t, 2H, CH ₂ N ⁺); 3,96 (t, 2H, NHCH ₂); 4,58 (s, 2H, N ⁺ CH ₂ Ar); 4,75 (H ₂ O); 7,55 (m, 5H, Ar-H); 7,87 (m, 4H, Ar-H)
10	CF ₃	3,12 (s, 6H, N ⁺ (CH ₃) ₂); 3,59 (t, 2H, CH ₂ N ⁺); 3,97 (t, 2H, NHCH ₂); 4,58 (s, 2H, N ⁺ CH ₂ Ar); 4,75 (H ₂ O); 7,56 (m, 5H, Ar-H); 7,85 (dd, 4H, Ar-H)
11	SO ₂ CH ₃	3,08 (s, 6H, N ⁺ (CH ₃) ₂); 3,23 (s, 3H, SO ₂ CH ₃); 3,54 (t, 2H, CH ₂ N ⁺); 3,92 (t, 2H, NHCH ₂); 4,53 (s, 2H, N ⁺ CH ₂ Ar); 7,51 (m, 5H, Ar-H); 7,96 (m, 4H, Ar-H)

Tabela 4.4. Valores dos deslocamentos químicos (ppm) observados em água- d_2 , nos espectros de RMN¹³C para os brometos de *N*-benzil-*N,N*-dimetil-2-(4-*X*-benzamido)etan-1-amônio substituídos (compostos **7** (X=Br), **8** (X=NO₂), **9** (X=CN), **10** (X=CF₃) e **11** (X=SO₂CH₃) da **Série I**).



Composto	X	δ (ppm)														X
		C1	C2,6	C3,5	C4	C7	C8	C9	C10,11	C12	C13	C14,18	C15,17	C16	C19	
7	Br	131,85	128,79	131,91	126,71	170,16	33,79	61,76	49,86	68,74	130,93	132,92	129,20	126,54	-	
8	NO ₂	138,85	133,27	123,85	149,73	169,37	38,88	61,59	49,75	68,52	130,9	128,42	129,29	126,6	-	
9	CN	137,25	127,75	132,92	114,58	169,52	33,85	61,65	49,84	68,73	130,93	129,20	132,89	126,69	118,66	
10	CF ₃	136,43	129,20	127,70	132,83	169,93	33,83	61,71	49,85	68,74	130,93	132,92	132,92	126,71	125,83	
11	SO ₂ CH ₃	138,44	128,39	127,62	141,85	169,41	33,89	61,65	49,87	68,76	130,95	132,94	129,22	126,71	43,03	

Tabela 4.5. Valores das posições das bandas de absorção mais características no espectro IV, em cm^{-1} , obtidos em pastilhas de KBr, para os brometos de *N*-benzil-*N,N*-dimetil-2-(4-*X*-benzamido)etan-1-amônio substituídos (compostos **7** ($X=\text{Br}$), **8** ($X=\text{NO}_2$), **9** ($X=\text{CN}$), **10** ($X=\text{CF}_3$) e **11** ($X=\text{SO}_2\text{CH}_3$) da **Série I**).



Composto	X	$\nu_{\text{N-H amida}}$	$\nu_{\text{NC-H}}$	$\nu_{\text{C=O amida}}$	$\nu_{\text{C=C Ar}}$	$\nu_{\text{C-N amida}}$	ν_{X}
7	Br	3437	3015-2957	1661	1590, 1524	-	608, 512 ^(a)
8	NO ₂	3242	3040	1665	1606	1287	1346 ^(b) ; 842 ^(c)
9	CN	3240	3096-2994	1648	1564	1309	2228 ^(d)
10	CF ₃	3436	3015-2987	1662	1531	-	1327 ^(e) ; 1115 ^(f)
11	SO ₂ CH ₃	3368	3065-2877	1651	1544	1312	1291 ^(g) ; 1145 ^(h)

^(a) ($\nu_{\text{Ar C-Br}}$); ^(b) ($\nu_{\text{N=O nitro}}$); ^(c) ($\nu_{\text{C-N ArNO}_2}$); ^(d) (ν_{CN}); ^(e) ($\nu_{\text{C-F}}$); ^(f) ($\nu_{\text{C-F}}$); ^(g) ($\nu_{\text{S=O}}$); ^(h) ($\nu_{\text{S=O}}$)

4.1.2 *n*-octil sulfato de sódio (OcS) como contraíon hidrofóbico

Conforme descrito no **item 3.3.2**, o reagente comercial OcS foi utilizado como contraíon nas determinações dos valores de $\log P_{app}$ dos brometos de *N*-benzil-*N,N*-dimetil-2-(4-*X*-benzamido)etan-1-amônio substituídos (compostos **7** ($X=\text{Br}$), **8** ($X=\text{NO}_2$), **9** ($X=\text{CN}$), **10** ($X=\text{CF}_3$) e **11** ($X=\text{SO}_2\text{CH}_3$)) da **Série I**.

Para todos os compostos foi utilizado o reagente comercial OcS fabricado pela Alfa Aesar, exceto para o composto **8** em que foi utilizado OcS de fabricante não-especificado. Este reagente, de duas procedências, teve o seu grau de pureza avaliado pelo respectivo valor de *PF* (em °C) e foi identificado e caracterizado pelos respectivos valores das posições das bandas de absorção características na região do infravermelho (usando pastilhas de KBr), como descrito no **item 3.4.2**. Os

resultados obtidos bem como os correspondentes valores encontrados na literatura estão apresentados na **Tabela 4.6** a seguir.

Tabela 4.6. Valores dos pontos de fusão ($^{\circ}\text{C}$) e das posições das bandas de absorção mais características no espectro IV, em cm^{-1} , obtidos em pastilhas de KBr, observados para o reagente comercial OcS de duas procedências (de fabricante não-especificado e fabricado pela *Alfa Aesar*), e os correspondentes da literatura.

OcS	PF ($^{\circ}\text{C}$)	Principais bandas de absorção (cm^{-1}) características no espectro IV, obtido em KBr
Fabricante não-especificado	189 - 192	2922-2873 ($\nu_{\text{C-H, CH}_2\text{CH}_3}$); 1469 ($\nu_{\text{C-H}}$); 1250 ($\nu_{\text{S=O}}$)
Alfa Aesar	192 - 194	2921-2876 ($\nu_{\text{C-H, CH}_2\text{CH}_3}$); 1468 ($\nu_{\text{C-H}}$); 1219 ($\nu_{\text{S=O}}$)
Literatura	194 ^(a) ; 195 ^(b)	2920-2860 ($\nu_{\text{C-H, CH}_2\text{CH}_3}$); 1470 ($\nu_{\text{C-H}}$); 1210 ($\nu_{\text{S=O}}$) ^(c)

^(a) MSDS Alfa Aesar; ^(b) MSDS Sigma Aldrich; ^(c) Biorad.

Estabilidade do *n*-octil sulfato de sódio (OcS)

A estabilidade do OcS, frente à hidrólise, foi verificada procedendo-se conforme o **item 3.4.2**. Os resultados obtidos estão apresentados na **Tabela 4.7**.

Tabela 4.7. Valores da concentração molar das soluções aquosas de *n*-octil sulfato de sódio (OcS), e das correspondentes absorbâncias observadas no comprimento de onda máximo ($\lambda_{\text{max}} = 227 \text{ nm}$), à temperatura ambiente e, nos tempos $t = 0$ e $t = 16$ dias.

[OcS] (M)	Absorbâncias ($\lambda = 227 \text{ nm}$)	
	Inicial ($t = 0$)	Final ($t = 16$ dias)
0,060	0,107	0,104
0,119	0,215	0,216
0,240	0,421	0,426

4.2 Obtenção dos parâmetros hidrofóbicos

Neste trabalho, considerou-se como parâmetro hidrofóbico dos compostos estudados, os valores do coeficiente de partição obtidos por cálculo ($\log P_{\text{calc}}$) e determinados experimentalmente ($\log P_{\text{app}}$).

4.2.1 Obtenção dos valores do coeficiente de partição por cálculo ($\log P_{calc}$)

Procedendo-se como descrito no **item 3.5.1**, os valores dos coeficientes de partição dos brometos de *N*-benzil-*N,N*-dimetil-2-(4-*X*-benzamido)etan-1-amônio substituídos (compostos **7** (*X*=Br), **8** (*X*=NO₂), **9** (*X*=CN), **10** (*X*=CF₃) e **11** (*X*=SO₂CH₃) da **Série I**) foram obtidos a partir dos métodos envolvendo cálculos computacionais, utilizando os programas *CLOGP* (1.0.0), *ALOGPS* (2.1), *Moka* (2.0.1), *ACD/LogP* (*ACD/Labs9.0*) e *VolSurf+* (1.0.7.1). Os resultados obtidos estão apresentados resumidamente na **Tabela 4.8** a seguir.

Tabela 4.8. Valores do coeficiente de partição preditos pelos programas, respectivamente, *CLOGP*, *ALOGPS*, *Moka*, *ACD/LogP* e *VolSurf+*, para os brometos de *N*-benzil-*N,N*-dimetil-2-(4-*X*-benzamido)etan-1-amônio substituídos (compostos **7** (*X*=Br), **8** (*X*=NO₂), **9** (*X*=CN), **10** (*X*=CF₃) e **11** (*X*=SO₂CH₃) da **Série I**).

Composto	Valores do coeficiente de partição obtidos por cálculo ($\log P_{calc}$)				
	<i>CLOGP</i> ^(a)	<i>ALOGPS</i> ^(b)	<i>Moka</i> ^(c)	<i>ACD/LogP</i> ^(d)	<i>VolSurf+</i> ^(e)
7 (<i>X</i> = Br)	7,55	-0,52	-0,7	-0,48 (± 0,48)	-0,67
8 (<i>X</i> = NO ₂)	6,46	-0,81	-1,7	-1,26 (± 0,57)	-1,69
9 (<i>X</i> = CN)	6,12	-1,18	-1,9	-1,77 (± 0,45)	-1,92
10 (<i>X</i> = CF ₃)	7,57	0,31	-0,7	-0,46 (± 0,46)	-0,69
11 (<i>X</i> = SO ₂ CH ₃)	5,04	-1,04	-2,9	-2,69 (± 0,49)	-2,86

^(a)*CLOGP* (1.0.0) (Pomona College, 2003); ^(b)*ALOGPS* (2.1) disponível no site <http://www.vcclab.org/lab/alogsps/start.html> (Tetko & Tanchuk, 2002); ^(c)*Moka* (2.0.1) (Molecular Discovery) (Milleti *et al.*, 2007); ^(d)*ACD/LogP* (*ACD/Labs9.0*) (Petrauskas, 2000), apresentando valores de incertezas nos resultados; ^(e)*VolSurf+* (1.0.7.1) (Cruciani *et al.*, 2009).

4.2.2 Determinação por *shake-flask* dos valores do coeficiente de partição aparente ($\log P_{app}$)

Procedendo-se como descrito no **item 3.5.2**, foram determinados os valores do coeficiente de partição ($\log P_{app}$) dos brometos de *N*-benzil-*N,N*-dimetil-2-(4-*X*-benzamido)etan-1-amônio substituídos (compostos **7** (*X*=Br), **8** (*X*=NO₂), **9** (*X*=CN),

10 (X=CF₃) e **11** (X=SO₂CH₃) da **Série I**). Estes foram obtidos, em duplicata, pelo método *shake-flask*, usando-se *n*-octanol (*psa*) como fase orgânica e mantendo-se a temperatura à 25 ± 1 °C. Como fases aquosas utilizou-se água destilada (**A**) ou soluções aquosas de NaBr (**B** - para ajuste de força iônica, *I* = 0,10 M), ambas *psa*. No entanto, para o composto **10** utilizou-se apenas água destilada (**A**) *psa* como fase aquosa (como discutido no **item 5.4.2**). Os valores de $\log P_{app}$ obtidos, para cada composto, estão apresentados nas **Tabelas 4.10, 4.11, 4.12, 4.13 e 4.14**.

Numa primeira etapa, procedendo-se como descrito no **item 3.5.2**, foram obtidos os valores do comprimento de onda de máxima absorção (λ_{max} , nm) bem como do coeficiente de absorvidade molar (ϵ , mol⁻¹ L cm⁻¹) para os compostos **7, 8, 9, 10 e 11**, e utilizados na determinação dos valores do $\log P_{app}$. Os valores de λ e de ϵ estão apresentados na **Tabela 4.9**.

Tabela 4.9. Valores do comprimento de onda de máxima absorção (λ_{max}) e dos coeficientes de absorvidade molar (ϵ) determinados, em água destilada (A) e em solução aquosa de NaBr (para ajuste de força iônica, *I* = 0,10 M; B), ambas *psa*, para os brometos de *N*-benzil-*N,N*-dimetil-2-(4-X-benzamido)etan-1-amônio substituídos (compostos 7 (X=Br), 8 (X=NO₂), 9 (X=CN), 10 (X=CF₃) e 11 (X=SO₂CH₃) da Série I).

Composto	X	λ_{max} (nm)		ϵ (mol ⁻¹ L cm ⁻¹)	
		Soluções aquosas		Soluções aquosas	
		A ^(a)	B ^(b)	A ^(a)	B ^(b)
7	Br	244	244	16468	16468
8	NO ₂	268	268	11617	12182
9	CN	238	238	14288	17839
10	CF ₃	214	<i>nd</i> ^(d)	16043	<i>nd</i> ^(d)
11	SO ₂ CH ₃	228	230	15299	14964

^(a): água destilada, *psa*; ^(b): solução aquosa de NaBr (para ajuste de força iônica, *I* = 0,10 M), *psa*; ^(d): não determinado.

Brometo de N-benzil-N,N-dimetil-2-(4-bromobenzamido)etan-1-amônio (7)

Foram determinados os valores do coeficiente de partição ($\log P_{app}$) do brometo de N-benzil-N,N-dimetil-2-(4-bromobenzamido)etan-1-amônio (7) conforme o procedimento descrito no item 3.5.2. Os resultados estão apresentados na Tabela 4.10.

Tabela 4.10. Valores dos volumes da fase aquosa (V_{aq}) e de *n*-octanol (V_{oct}) utilizados na partição; das absorbâncias inicial (A_i) e final (A_f); da relação P/R_v e, do coeficiente de partição aparente ($\log P_{app}$) do brometo de N-benzil-N,N-dimetil-2-(4-bromobenzamido)etan-1-amônio (7), determinados em duplicata, pelo método *shake-flask*, à 25 ± 1 °C, usando *n*-octanol (*psa*) como fase orgânica e as soluções, respectivamente, **A**^(a) e **B**^(b) como fases aquosas, sendo estas últimas *psa*.

Experimento	Fases aquosas	V_{aq} (mL)	V_{oct} (mL)	A_i	A_f	P/R_v	$\log P_{app}$
1	A ^(a)	5	10	0,83	0,65	0,3	-0,85 ($\pm 0,03$)
2	A ^(a)	5	5	0,85	0,73	0,2	-0,80 ($\pm 0,04$)
3	A ^(a)	5	5	0,92	0,81	0,1	-0,89 ($\pm 0,03$)
4	B ^(b)	5	5	0,88	0,08	10,3	1,01 ($\pm 0,03$)
5	B ^(b)	6	2	0,83	0,19	3,3	0,99 ($\pm 0,00$)
6	B ^(b)	6	2	0,80	0,20	3,0	0,96 ($\pm 0,01$)

(a): água destilada, *psa*; (b): solução aquosa de NaBr (para ajuste de força iônica, $I = 0,10$ M), *psa*.

Brometo de N-benzil-N,N-dimetil-2-(4-nitrobenzamido)etan-1-amônio (8)

Foram determinados os valores do coeficiente de partição ($\log P_{app}$) do brometo de N-benzil-N,N-dimetil-2-(4-nitrobenzamido)etan-1-amônio (8) conforme o procedimento descrito no item 3.5.2. Os resultados estão apresentados na Tabela 4.11.

Tabela 4.11. Valores dos volumes da fase aquosa (V_{aq}) e de *n*-octanol (V_{oct}) utilizados na partição; das absorbâncias inicial (A_i) e final (A_f); da relação P/R_v e, do coeficiente de partição aparente ($\log P_{app}$) do brometo de N-benzil-N,N-dimetil-2-(4-nitrobenzamido)etan-1-amônio (8), determinados em duplicata, pelo método *shake-flask*, à 25 ± 1 °C, usando *n*-octanol (*psa*) como fase orgânica e as soluções, respectivamente, **A**^(a) e **B**^(b) como fases aquosas, sendo estas últimas *psa*.

Experimento	Fases aquosas	V_{aq} (mL)	V_{oct} (mL)	A_i	A_f	P/R_v	$\log P_{app}$
1	A ^(a)	3	15	0,80	0,65	0,2	-1,34 ($\pm 0,01$)
2	A ^(a)	3	15	0,80	0,67	0,2	-1,37 ($\pm 0,07$)
3	A ^(a)	3	15	0,77	0,20	2,9	-0,24 ($\pm 0,03$)
4	A ^(a)	3	15	0,80	0,72	0,1	-1,63 ($\pm 0,04$)
5	A ^(a)	3	15	0,81	0,76	0,1	-1,82 ($\pm 0,02$)
6	A ^(a)	3	15	0,84	0,78	0,1	-1,82 ($\pm 0,09$)
7	B ^(b)	3	15	0,89	0,12	6,4	0,11 ($\pm 0,01$)
8	B ^(b)	3	15	0,89	0,10	7,6	0,18 ($\pm 0,01$)
9	B ^(b)	3	15	0,91	0,10	8,3	0,22 ($\pm 0,02$)

(a): água destilada, *psa*; (b): solução aquosa de NaBr (para ajuste de força iônica, $I = 0,10$ M), *psa*.

Brometo de *N*-benzil-*N,N*-dimetil-2-(4-cianobenzamido)etan-1-amônio (9)

Foram determinados os valores do coeficiente de partição ($\log P_{app}$) do brometo de *N*-benzil-*N,N*-dimetil-2-(4-cianobenzamido)etan-1-amônio (9) conforme o procedimento descrito no item 3.5.2. Os resultados estão apresentados na Tabela 4.12.

Tabela 4.12. Valores dos volumes da fase aquosa (V_{aq}) e de *n*-octanol (V_{oct}) utilizados na partição; das absorbâncias inicial (A_i) e final (A_f); da relação P/R_v e, do coeficiente de partição aparente ($\log P_{app}$) do brometo de *N*-benzil-*N,N*-dimetil-2-(4-cianobenzamido)etan-1-amônio (9), determinados em duplicata, pelo método *shake-flask*, à 25 ± 1 °C, usando *n*-octanol (*psa*) como fase orgânica e as soluções, respectivamente, **A**^(a) e **B**^(b) como fases aquosas, sendo estas últimas *psa*.

Experimento	Fases aquosas	V_{aq} (mL)	V_{oct} (mL)	A_i	A_f	P/R_v	$\log P_{app}$
1	A ^(a)	3	15	1,06	0,96	0,1	-1,73 (\pm 0,16)
2	A ^(a)	3	20	1,09	0,88	0,2	-1,44 (\pm 0,01)
3	A ^(a)	3	15	0,94	0,80	0,2	-1,46 (\pm 0,01)
4	B ^(b)	3	10	0,86	0,30	1,9	-0,25 (\pm 0,01)
5	B ^(b)	3	10	0,87	0,31	1,8	-0,26 (\pm 0,01)
6	B ^(b)	3	10	0,89	0,30	1,9	-0,24 (\pm 0,00)

(a): água destilada, *psa*; (b): solução aquosa de NaBr (para ajuste de força iônica, $I = 0,10$ M), *psa*.

Brometo de *N*-benzil-*N,N*-dimetil-2-(4-trifluorometilbenzamido)etan-1-amônio (10)

Foram determinados os valores do coeficiente de partição ($\log P_{app}$) do brometo de *N*-benzil-*N,N*-dimetil-2-(4-trifluorometilbenzamido)etan-1-amônio (10) conforme o procedimento descrito no item 3.5.2, utilizando-se, no entanto, como fase aquosa (*psa*) apenas água destilada (**A**) (como discutido no item 5.4.2). Os resultados estão apresentados na Tabela 4.13.

Tabela 4.13. Valores dos volumes da fase aquosa (V_{aq}) e de *n*-octanol (V_{oct}) utilizados na partição; das absorbâncias inicial (A_i) e final (A_f); da relação P/R_v e, do coeficiente de partição aparente ($\log P_{app}$) do brometo de *N*-benzil-*N,N*-dimetil-2-(4-trifluorometilbenzamido)etan-1-amônio (10), determinados em duplicata, pelo método *shake-flask*, à 25 ± 1 °C, usando *n*-octanol (*psa*) como fase orgânica e as soluções **A**^(a) como fase aquosa, sendo esta última *psa*.

Experimento	Fases aquosas	V_{aq} (mL)	V_{oct} (mL)	A_i	A_f	P/R_v	$\log P_{app}$
1	A ^(a)	3	4	0,82	0,63	0,3	-0,66 (\pm 0,03)
2	A ^(a)	3	5	0,82	0,66	0,3	-0,83 (\pm 0,01)
3	A ^(a)	3	5	0,82	0,64	0,3	-0,79 (\pm 0,02)

(a): água destilada, *psa*.

Brometo de N-benzil-N,N-dimetil-2-(4-metilsulfonilbenzamido)etan-1-amônio (11)

Foram determinados os valores do coeficiente de partição ($\log P_{app}$) do brometo de N-benzil-N,N-dimetil-2-(4-metilsulfonilbenzamido)etan-1-amônio (11) conforme o procedimento descrito no **item 3.5.2**. Os resultados estão apresentados na **Tabela 4.14**.

Tabela 4.14. Valores dos volumes da fase aquosa (V_{aq}) e de *n*-octanol (V_{oct}) utilizados na partição; das absorbâncias inicial (A_i) e final (A_f); da relação P/R_v e, do coeficiente de partição aparente ($\log P_{app}$) do brometo de N-benzil-N,N-dimetil-2-(4-metilsulfonilbenzamido)etan-1-amônio (11), determinados em duplicata, pelo método *shake-flask*, à 25 ± 1 °C, usando *n*-octanol (*psa*) como fase orgânica e as soluções, respectivamente, **A**^(a) e **B**^(b) como fases aquosas, sendo estas últimas *psa*.

Experimento	Fases aquosas	V_{aq} (mL)	V_{oct} (mL)	A_i	A_f	P/R_v	$\log P_{app}$
1	A ^(a)	3	15	0,89	0,82	0,1	-1,76 ($\pm 0,05$)
2	A ^(a)	3	15	0,89	0,79	0,1	-1,59 ($\pm 0,03$)
3	A ^(a)	3	15	0,91	0,85	0,1	-1,83 ($\pm 0,05$)
4	B ^(b)	3	10	0,82	0,68	0,2	-1,20 ($\pm 0,01$)
5	B ^(b)	3	10	0,80	0,63	0,3	-1,10 ($\pm 0,02$)
6	B ^(b)	3	10	0,83	0,69	0,2	-1,21 ($\pm 0,02$)
7	B ^(b)	3	10	0,86	0,70	0,2	-1,19 ($\pm 0,00$)
8	B ^(b)	3	10	0,88	0,72	0,2	-1,20 ($\pm 0,03$)

(a): água destilada, *psa*; (b): solução aquosa de NaBr (para ajuste de força iônica, $I = 0,10$ M), *psa*.

4.2.3 Determinação por *shake-flask* dos valores do coeficiente de partição aparente ($\log P_{app}$) na presença de contraíon hidrofóbico

Procedendo-se como descrito no **item 3.5.3** foram determinados os valores do coeficiente de partição ($\log P_{app}$) dos brometos de N-benzil-N,N-dimetil-2-(4-X-benzamido)etan-1-amônio substituídos (compostos **7** (X=Br), **8** (X=NO₂), **9** (X=CN), **10** (X=CF₃) e **11** (X=SO₂CH₃) da **Série I**), utilizando na partição fases aquosas com duas diferentes composições, a saber: soluções aquosas de OcS (soluções **A'**) bem como soluções aquosas de OcS com força iônica ajustada para $I = 0,10$ M (NaBr) (soluções **B'**), ambas pré saturadas de *n*-octanol.

Os resultados para cada composto (**7**, **8**, **9**, **10** e **11**) estão apresentados, respectivamente, nas **Tabelas 4.15, 4.16, 4.17, 4.18, 4.19, 4.20, 4.21, 4.22** e **4.23**. E

ainda, conforme descrito no **item 3.5.3**, estes foram analisados a partir de gráficos traçados entre os valores de $\log P_{app}$ e as respectivas concentrações de OcS (M), conforme apresentado nas **Figuras 4.1, 4.2, 4.3, 4.4, 4.5, 4.6, 4.7, 4.8 e 4.9**.

Brometo de N-benzil-N,N-dimetil-2-(4-bromobenzamido)etan-1-amônio (7)

➤ **Fase aquosa usada na partição: soluções aquosas de OcS (soluções A')**

Tabela 4.15. Experimentos realizados, em duplicata^(*), para obtenção por *shake flask* dos valores de $\log P_{app}$ para o brometo de N-benzil-N,N-dimetil-2-(4-bromobenzamido)etan-1-amônio (7, X=Br) bem como da relação P/R_v. Nestes usou-se *n*-octanol (*psa*) como fase orgânica e 11 diferentes soluções aquosas (*psa*) de OcS (soluções A') como fase aquosa, preparadas nas correspondentes concentrações (mM) e proporções de OcS.

Experimento ^(*)	Fase aquosa: soluções A' (<i>psa</i>)		P/R _v	$\log P_{app}$
	[composto]:[contraíon]	[OcS] (mM)		
1a	1,0 : 0,4	0,02	0,9	-0,04
1b			1,0	0,00
2a	1,0 : 0,6	0,03	1,4	0,13
2b			1,3	0,12
3a	1,0 : 0,8	0,04	2,8	0,45
3b			2,6	0,42
4a	1,0 : 1,0	0,05	5,2	0,71
4b			4,7	0,67
5a	1,0 : 1,1	0,08	5,6	0,97
5b			4,7	0,89
6a	1,0 : 1,2	0,10	6,3	1,28
6b			4,9	1,17
7a	1,0 : 2,1	0,20	8,9	1,43
7b			8,8	1,42
8a	1,0 : 4,8	0,30	30,6	2,06
8b			21,0	1,90
9a	1,0 : 7,7	0,40	6,6	2,00
9b			7,1	2,03
10a	1,0 : 9,6	0,50	9,6	2,16
10b			8,0	2,08
11a	1,0 : 48,8	2,50	4,8	1,96
11b			4,7	1,95

^(*) experimentos realizados em duplicata (a e b).

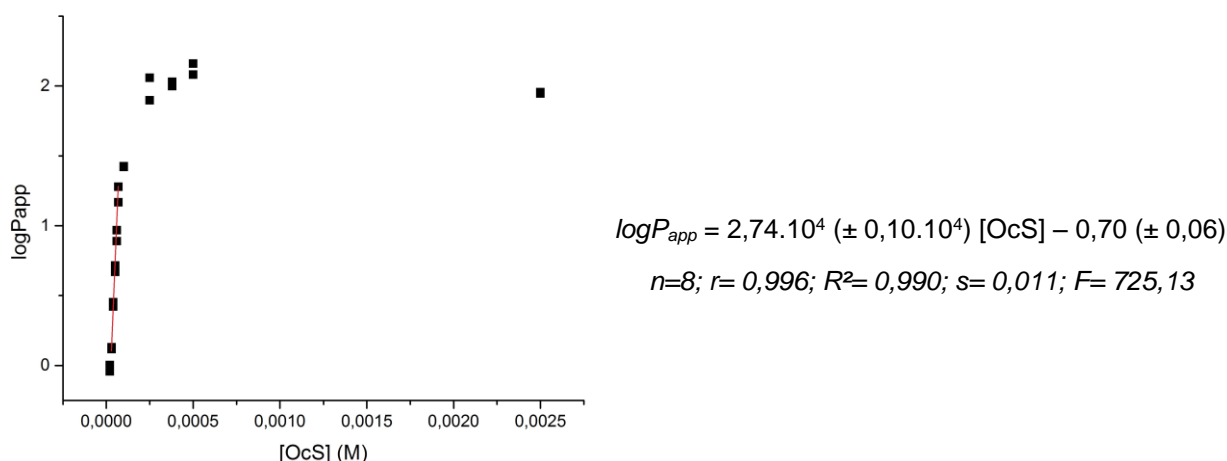


Figura 4.1. Valores de $\log P_{app}$ obtidos para o composto **7** (X=Br), por *shake-flask*, usando como fases orgânica e aquosa, respectivamente, *n*-octanol (*psa*) e 11 soluções aquosas (*psa*) de OcS (soluções **A'**), em função das respectivas concentrações de OcS (M). Em vermelho a melhor reta traçada por regressão linear, obtida pelo programa Origin 9.0.0.

➤ **Fase aquosa usada na partição: soluções aquosas de OcS com força iônica ajustada para $I = 0,10$ M (NaBr) (soluções B')**

Tabela 4.16. Experimentos realizados, em duplicata^(*), para obtenção por *shake flask* dos valores de $\log P_{app}$ para o brometo de *N*-benzil-*N,N*-dimetil-2-(4-bromobenzamido)etan-1-amônio (**7**, X=Br) bem como da relação P/R_v. Nestes usou-se *n*-octanol (*psa*) como fase orgânica e 11 diferentes soluções aquosas (*psa*) de OcS com força iônica ajustada para $I = 0,10$ M (NaBr) (soluções **B'**) como fase aquosa, preparadas nas correspondentes concentrações (mM) e proporções de OcS.

Experimento ^(*)	Fase aquosa: soluções B' (<i>psa</i>)		P/R _v	$\log P_{app}$
	[composto]:[contraíon]	[OcS] (mM)		
1a	1,0 : 0,4	0,02	4,0	1,08
1b			4,1	1,09
2a	1,0 : 0,7	0,03	3,8	1,06
2b			4,0	1,08
3a	1,0 : 0,8	0,04	4,8	1,16
3b			4,6	1,14
4a	1,0 : 1,0	0,05	5,1	1,18
4b			4,9	1,17
5a	1,0 : 1,7	0,08	6,3	1,28
5b			6,6	1,30
6a	1,0 : 2,0	0,10	7,7	1,36
6b			7,9	1,38
7a	1,0 : 3,9	0,20	9,5	1,72
7b			10,1	1,75
8a	1,0 : 5,7	0,30	7,4	1,74
8b			7,4	1,74
9a	1,0 : 7,8	0,40	6,0	1,68
9b			5,9	1,68

Experimento ^(*)	Fase aquosa: soluções B' (pso)		P/R _v	logP _{app}
	[composto]:[contraíon]	[OcS] (mM)		
10a	1,0 : 9,6	0,50	8,9	1,85
10b			9,2	1,87
11a	1,0 : 49,2	2,50	5,6	1,86
11b			4,2	1,74

(*) experimentos realizados em duplicata (a e b).

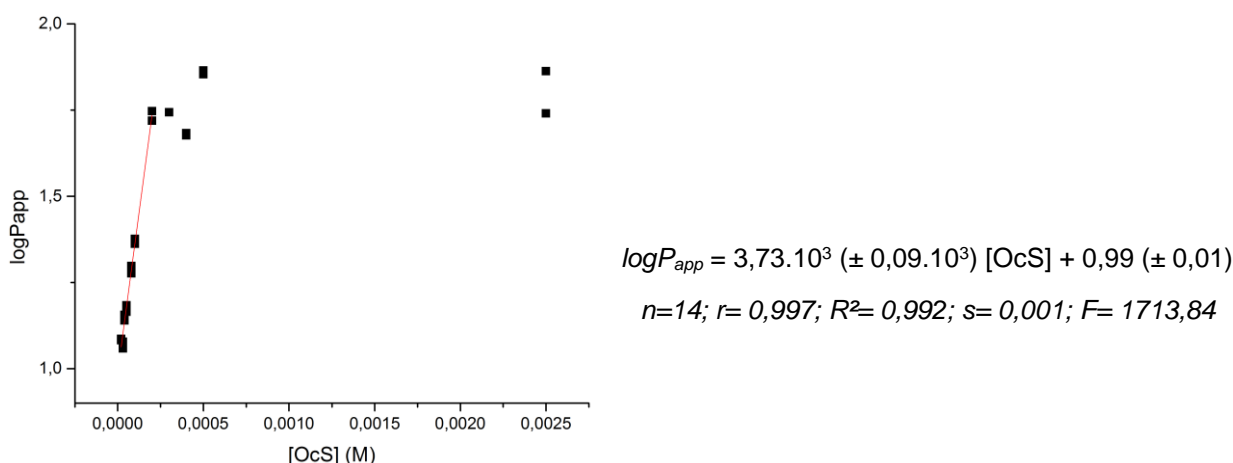


Figura 4.2. Valores de $\log P_{app}$ obtidos para o composto **7** (X=Br), por *shake-flask*, usando como fases orgânica e aquosa, respectivamente, *n*-octanol (*psa*) e 11 soluções aquosas (*pso*) de OcS com força iônica ajustada para $I = 0,10$ M (NaBr) (soluções **B'**), em função das respectivas concentrações de OcS (M). Em vermelho a melhor reta traçada por regressão linear, obtida pelo programa Origin 9.0.0.

Brometo de N-benzil-N,N-dimetil-2-(4-nitrobenzamido)etan-1-amônio (**8**)

➤ Fase aquosa usada na partição: soluções aquosas de OcS (soluções **A'**)

Tabela 4.17. Experimentos realizados, em duplicata^(*), para obtenção por *shake flask* dos valores de $\log P_{app}$ para o brometo de *N*-benzil-*N,N*-dimetil-2-(4-nitrobenzamido)etan-1-amônio (**8**, X=NO₂) bem como da relação P/R_v. Nestes usou-se *n*-octanol (*psa*) como fase orgânica e 11 diferentes soluções aquosas (*pso*) de OcS (soluções **A'**) como fase aquosa, preparadas nas correspondentes concentrações (mM) e proporções de OcS.

Experimento ^(*)	Fase aquosa: soluções A' (pso)		P/R _v	logP _{app}
	[composto]:[contraíon]	[OcS] (mM)		
1a	1,0 : 0,4	0,03	0,1	-0,84
1b			0,7	-0,92
2a	1,0 : 0,5	0,04	0,6	-0,72
2b			0,6	-0,73
3a	1,0 : 0,6	0,04	0,6	-0,54
3b			1,0	-0,66
4a	1,0 : 0,7	0,05	0,7	-0,58
4b			0,9	-0,58
5a	1,0 : 0,9	0,06	0,9	-0,24
5b			1,0	-0,37

Experimento ^(*)	Fase aquosa: soluções A' (pso)		P/R _v	logP _{app}
	[composto]:[contraíon]	[OcS] (mM)		
6a	1,0 : 1,0	0,07	0,7	-0,27
6b			0,9	-0,23
7a	1,0 : 2,0	0,14	1,0	0,37
7b			2,4	0,38
8a	1,0 : 5,0	0,35	2,4	0,71
8b			5,1	0,71
9a	1,0 : 7,5	0,53	5,2	0,82
9b			6,6	0,84
10a	1,0 : 10,0	0,70	6,9	1,07
10b			7,8	1,06
11a	1,0 : 50,0	3,50	7,7	1,77
11b			35,0	1,73

(*) experimentos realizados em duplicata (a e b).

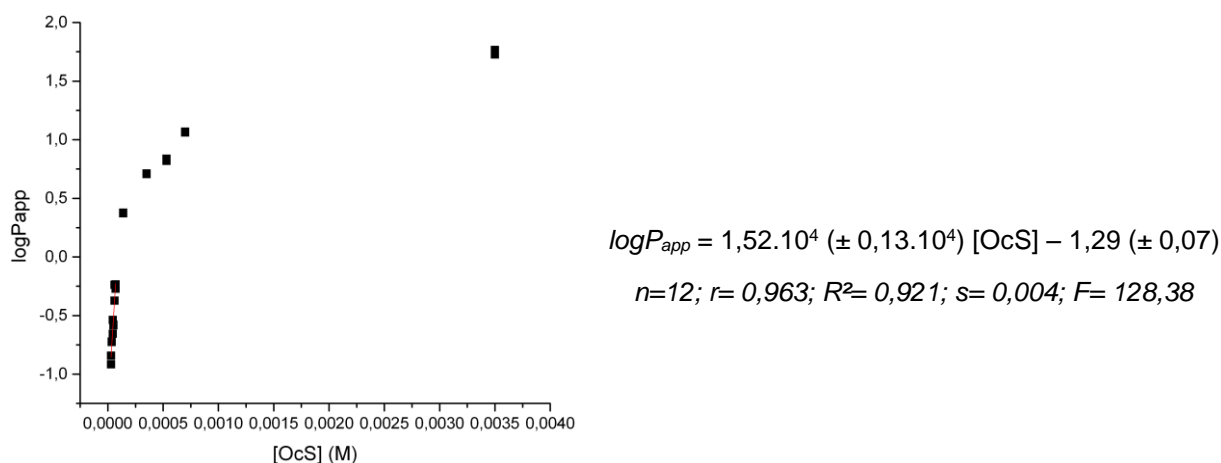


Figura 4.3. Valores de $\log P_{app}$ obtidos para o composto **8** (X=NO₂), por *shake-flask*, usando como fases orgânica e aquosa, respectivamente, *n*-octanol (*psa*) e 11 soluções aquosas (*pso*) de OcS (soluções A'), em função das respectivas concentrações de OcS (M). Em vermelho a melhor reta traçada por regressão linear, obtida pelo programa Origin 9.0.0.

➤ **Fase aquosa usada na partição: soluções aquosas de OcS com força iônica ajustada para I = 0,10 M (NaBr) (soluções B')**

Tabela 4.18. Experimentos realizados, em duplicata^(*), para obtenção por *shake flask* dos valores de $\log P_{app}$ para o brometo de *N*-benzil-*N,N*-dimetil-2-(4-nitrobenzamido)etan-1-amônio (**8**, X=NO₂) bem como da relação P/R_v. Nestes usou-se *n*-octanol (*psa*) como fase orgânica e 11 diferentes soluções aquosas (*pso*) de OcS com força iônica ajustada para I = 0,10 M (NaBr) (soluções B') como fase aquosa, preparadas nas correspondentes concentrações (mM) e proporções de OcS.

Experimento ^(*)	Fase aquosa: soluções B' (pso)		P/R _v	logP _{app}
	[composto]:[contraíon]	[OcS] (mM)		
1a	1,0 : 0,4	0,03	1,8	-0,44
1b			1,8	-0,45
2a	1,0 : 0,5	0,04	5,0	0,18
2b			4,7	0,15

Experimento ^(*)	Fase aquosa: soluções B' (pso)		P/R _v	logP _{app}
	[composto]:[contraíon]	[OcS] (mM)		
3a	1,0 : 0,6	0,04	1,4	-0,39
3b			1,4	-0,37
4a	1,0 : 0,7	0,05	0,8	-0,32
4b			1,0	-0,24
5a	1,0 : 0,9	0,06	1,0	-0,22
5b			1,0	-0,24
6a	1,0 : 1,0	0,07	2,8	0,22
6b			2,7	0,21
7a	1,0 : 2,0	0,14	6,7	0,60
7b			6,5	0,59
8a	1,0 : 5,0	0,35	9,8	0,90
8b			10,0	0,90
9a	1,0 : 7,5	0,53	14,1	1,25
9b			10,3	1,11
10a	1,0 : 10,0	0,70	7,3	1,26
10b			7,2	1,26
11a	1,0 : 50,0	3,50	33,7	1,93
11b			31,5	1,90

(a) experimentos realizados em duplicata (a e b).

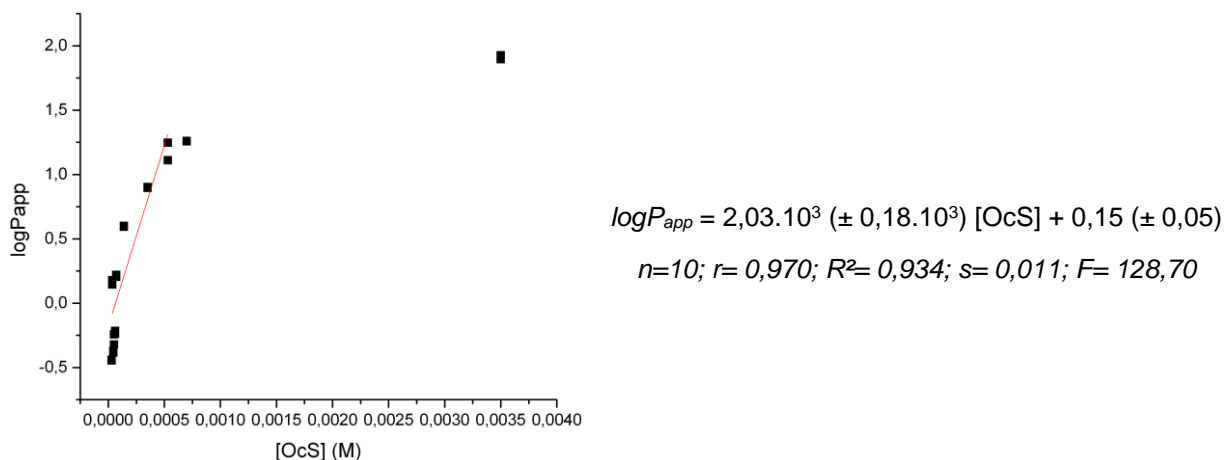


Figura 4.4. Valores de $\log P_{app}$ obtidos para o composto **8** ($X=\text{NO}_2$), por *shake-flask*, usando como fases orgânica e aquosa, respectivamente, *n*-octanol (*psa*) e 11 soluções aquosas (*pso*) de OcS com força iônica ajustada para $I = 0,10$ M (NaBr) (soluções **B'**), em função das respectivas concentrações de OcS (M). Em vermelho a melhor reta traçada por regressão linear, obtida pelo programa Origin 9.0.0.

Brometo de N-benzil-N,N-dimetil-2-(4-cianobenzamido)etan-1-amônio (9)

- Fase aquosa usada na partição: soluções aquosas de OcS (soluções A')

Tabela 4.19. Experimentos realizados, em duplicata^(*), para obtenção por *shake flask* dos valores de $\log P_{app}$ para o brometo de *N*-benzil-*N,N*-dimetil-2-(4-cianobenzamido)etan-1-amônio (**9**, X=CN) bem como da relação P/R_v. Nestes usou-se *n*-octanol (*psa*) como fase orgânica e 11 diferentes soluções aquosas (*psa*) de OcS, (soluções **A'**) como fase aquosa, preparadas nas correspondentes concentrações (mM) e proporções de OcS.

Experimento ^(*)	Fase aquosa: soluções A' (<i>psa</i>)		P/R _v	$\log P_{app}$
	[composto]:[contraíon]	[OcS] (mM)		
1a	1,0 : 0,3	0,02	1,3	-0,60
1b			1,7	-0,48
2a	1,0 : 0,6	0,04	1,8	-0,45
2b			1,9	-0,42
3a	1,0 : 0,7	0,04	2,1	0,01
3b			2,3	0,06
4a	1,0 : 0,9	0,05	2,4	0,08
4b			2,8	0,14
5a	1,0 : 1,0	0,06	2,3	0,14
5b			2,2	0,11
6a	1,0 : 1,2	0,07	2,3	0,13
6b			2,6	0,19
7a	1,0 : 1,7	0,10	5,1	0,49
7b			4,9	0,47
8a	1,0 : 4,2	0,25	11,8	0,85
8b			12,7	0,88
9a	1,0 : 6,4	0,38	5,1	1,11
9b			5,3	1,12
10a	1,0 : 8,3	0,50	7,7	1,28
10b			7,3	1,26
11a	1,0 : 41,7	2,50	24,4	1,91
11b			22,0	1,87

^(*) experimentos realizados em duplicata (a e b).

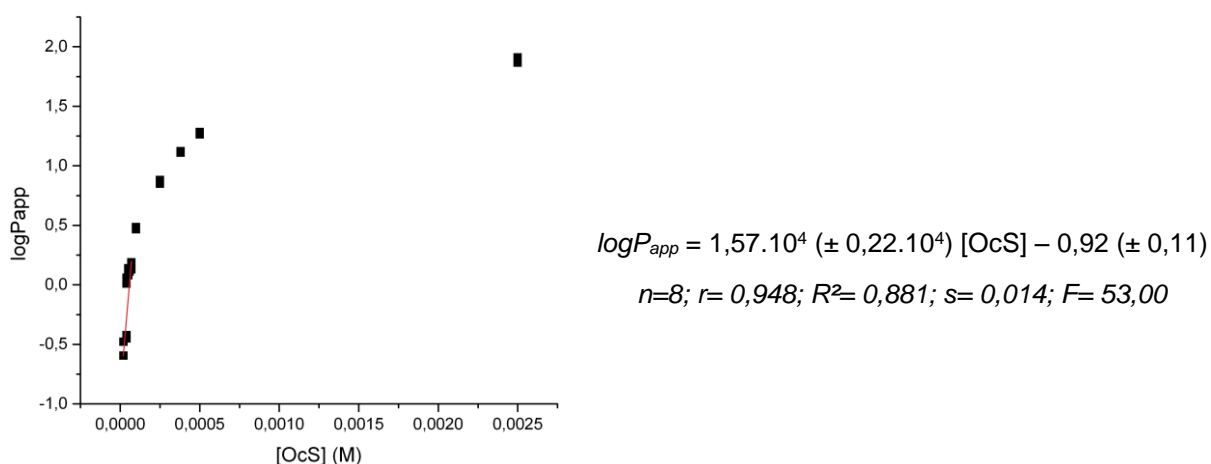


Figura 4.5. Valores de $\log P_{app}$ obtidos para o composto **9** (X=CN), por *shake-flask*, usando como fases orgânica e aquosa, respectivamente, *n*-octanol (*psa*) e 11 soluções aquosas (*psa*) de OcS (soluções **A'**), em função das respectivas concentrações de OcS (M). Em vermelho a melhor reta traçada por regressão linear, obtida pelo programa Origin 9.0.0.

➤ **Fase aquosa usada na partição: soluções aquosas de OcS com força iônica ajustada para $I = 0,10$ M (NaBr) (soluções B')**

Tabela 4.20. Experimentos realizados, em duplicata^(*), para obtenção por *shake flask* dos valores de $\log P_{app}$ para o brometo de *N*-benzil-*N,N*-dimetil-2-(4-cianobenzamido)etan-1-amônio (**9**, X=CN) bem como da relação P/R_v. Nestes usou-se *n*-octanol (*psa*) como fase orgânica e 11 diferentes soluções aquosas de OcS (*psa*) com força iônica ajustada para $I = 0,10$ M (NaBr) (soluções **B'**) como fase aquosa, preparadas nas correspondentes concentrações (mM) e proporções de OcS.

Experimento ^(*)	Fase aquosa: soluções B' (<i>psa</i>)		P/R _v	$\log P_{app}$
	[composto]:[contraíon]	[OcS] (mM)		
1a	1,0 : 0,4	0,02	2,2	-0,18
1b			2,2	-0,19
2a	1,0 : 0,6	0,03	2,3	-0,16
2b			2,3	-0,16
3a	1,0 : 0,8	0,04	2,7	-0,09
3b			2,8	-0,08
4a	1,0 : 1,0	0,05	3,1	-0,03
4b			3,1	-0,04
5a	1,0 : 1,6	0,08	1,8	0,03
5b			1,8	0,03
6a	1,0 : 1,9	0,10	2,3	0,14
6b			2,4	0,15
7a	1,0 : 4,0	0,20	3,5	0,32
7b			3,6	0,33
8a	1,0 : 5,9	0,30	4,2	0,52
8b			4,0	0,50
9a	1,0 : 7,8	0,40	4,5	0,66
9b			4,4	0,64
10a	1,0 : 9,9	0,50	4,1	0,71
10b			4,3	0,73
11a	1,0 : 48,6	2,50	20,1	1,52
11b			18,3	1,49

^(*) experimentos realizados em duplicata (a e b).

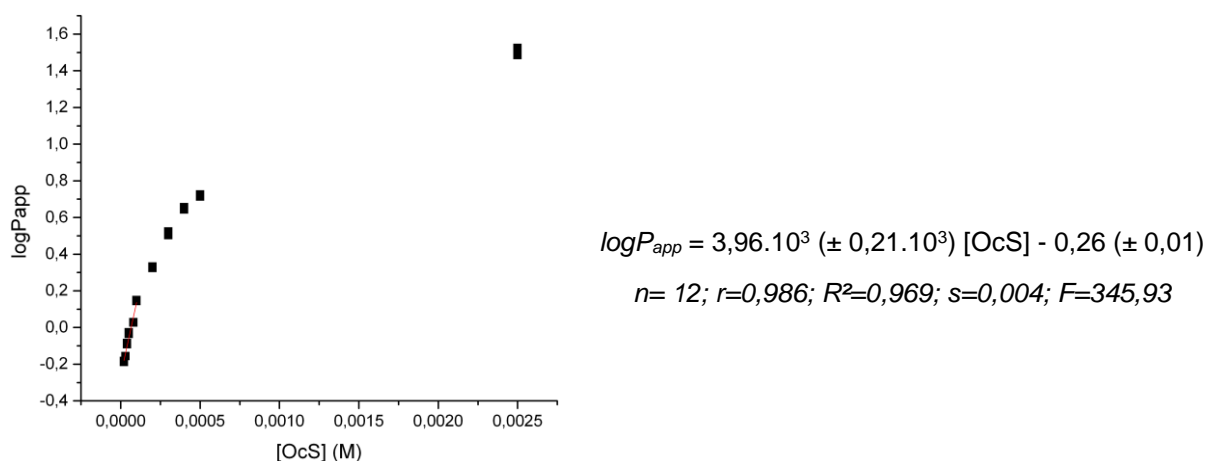


Figura 4.6. Valores de $\log P_{app}$ obtidos para o composto **9** ($X=\text{CN}$), por *shake-flask*, usando como fases orgânica e aquosa, respectivamente, *n*-octanol (*psa*) e 11 soluções aquosas (*pso*) de OcS com força iônica ajustada para $I = 0,10$ M (NaBr) (soluções **B'**), em função das respectivas concentrações de OcS (M). Em vermelho a melhor reta traçada por regressão linear, obtida pelo programa Origin 9.0.0.

Brometo de N-benzil-N,N-dimetil-2-(4-trifluorometilbenzamido)etan-1-amônio (10)

➤ Fase aquosa usada na partição: soluções aquosas de OcS (soluções **A'**)

Tabela 4.21. Experimentos realizados, em duplicata^(*), para obtenção por *shake flask* dos valores de $\log P_{app}$ para o brometo de *N*-benzil-*N,N*-dimetil-2-(4-trifluorometilbenzamido)etan-1-amônio (**10**, $X=\text{CF}_3$) bem como da relação P/R_v. Nestes usou-se *n*-octanol (*psa*) como fase orgânica e 11 diferentes soluções aquosas (*pso*) de OcS (soluções **A'**) como fase aquosa, preparadas nas correspondentes concentrações (mM) e proporções de OcS.

Experimento ^(*)	Fase aquosa: soluções A' (<i>pso</i>)		P/R _v	$\log P_{app}$
	[composto]:[contração]	[OcS] (mM)		
1a	1,0 : 0,4	0,02	1,2	-0,13
1b			1,3	-0,12
2a	1,0 : 0,6	0,03	1,7	0,01
2b			1,7	0,00
3a	1,0 : 0,8	0,04	3,4	0,32
3b			3,5	0,32
4a	1,0 : 1,0	0,05	8,0	0,68
4b			9,3	0,75
5a	1,0 : 1,2	0,06	7,1	1,07
5b			6,4	1,03
6a	1,0 : 1,3	0,07	5,8	1,16
6b			6,1	1,19
7a	1,0 : 1,8	0,10	9,3	1,51
7b			9,1	1,50
8a	1,0 : 4,5	0,25	12,3	1,99
8b			12,3	1,99
9a	1,0 : 7,7	0,38	7,7	2,04
9b			8,5	2,09

Experimento ^(*)	Fase aquosa: soluções A' (pso)		P/R _v	logP _{app}
	[composto]:[contraíon]	[OcS] (mM)		
10a	1,0 : 10,2	0,50	5,1	1,93
10b			4,2	1,85
11a	1,0 : 50,9	2,50	4,5	1,88
11b			6,1	2,01

(*) experimentos realizados em duplicata (a e b).

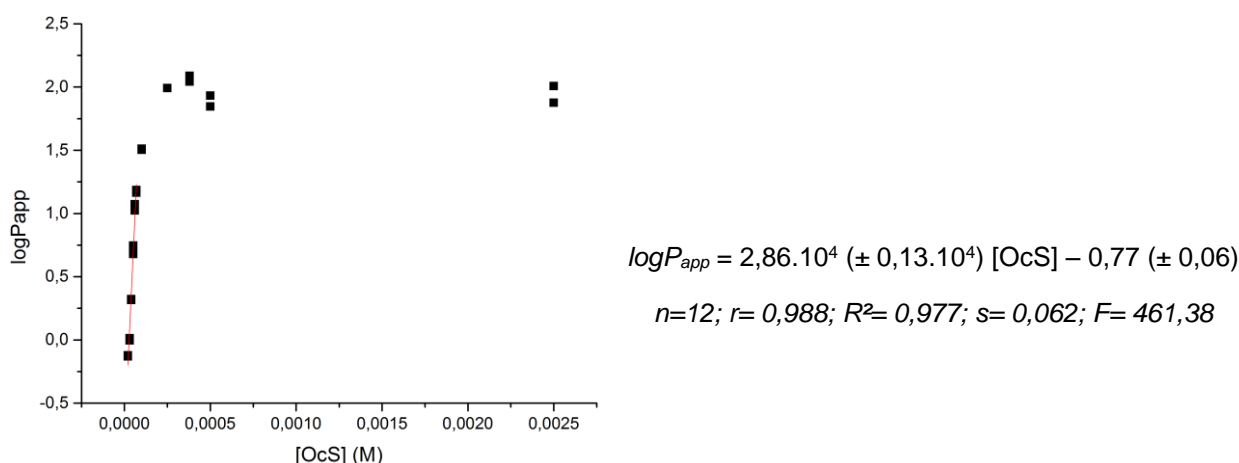


Figura 4.7. Valores de $\log P_{app}$ obtidos para o composto **10** ($X=\text{CF}_3$), por *shake-flask*, usando como fases orgânica e aquosa, respectivamente, *n*-octanol (*psa*) e 11 soluções aquosas (*pso*) de OcS (soluções **A'**), em função das respectivas concentrações de OcS (M). Em vermelho a melhor reta traçada por regressão linear, obtida pelo programa Origin 9.0.0.

Brometo de N-benzil-N,N-dimetil-2-(4-metilsulfonilbenzamido)etan-1-amônio (11)

➤ Fase aquosa usada na partição: soluções aquosas de OcS (soluções A')

Tabela 4.22. Experimentos realizados, em duplicata^(*), para obtenção por *shake flask* dos valores de $\log P_{app}$ para o brometo de N-benzil-N,N-dimetil-2-(4-metilsulfonilbenzamido)etan-1-amônio (**11**, $X=\text{SO}_2\text{CH}_3$) bem como da relação P/R_v. Nestes usou-se *n*-octanol (*psa*) como fase orgânica e 11 diferentes soluções aquosas (*pso*) de OcS (soluções **A'**) como fase aquosa, preparadas nas correspondentes concentrações (mM) e proporções de OcS.

Experimento ^(*)	Fase aquosa: soluções A' (pso)		P/R _v	logP _{app}
	[composto]:[contraíon]	[OcS] (mM)		
1a	1,0 : 0,3	0,02	0,5	-1,04
1b			0,4	-1,07
2a	1,0 : 0,5	0,03	0,5	-1,00
2b			0,5	-1,03
3a	1,0 : 0,6	0,04	0,4	-0,90
3b			0,4	-0,88
4a	1,0 : 0,8	0,05	0,6	-0,76
4b			0,6	-0,74
5a	1,0 : 1,0	0,06	0,4	-0,66
5b			0,4	-0,62

Experimento ^(*)	Fase aquosa: soluções A' (psa)		P/R _v	logP _{app}
	[composto]:[contraíon]	[OcS] (mM)		
6a	1,0 : 1,3	0,08	0,6	-0,46
6b			0,5	-0,52
7a	1,0 : 1,8	0,12	0,9	-0,29
7b			0,9	-0,28
8a	1,0 : 5,0	0,30	2,7	0,20
8b			2,7	0,21
9a	1,0 : 7,5	0,45	2,7	0,21
9b			2,7	0,20
10a	1,0 : 9,9	0,60	3,4	0,30
10b			3,5	0,33
11a	1,0 : 48,4	3,00	10,0	0,90
11b			10,1	0,91

(*) experimentos realizados em duplicata (a e b).

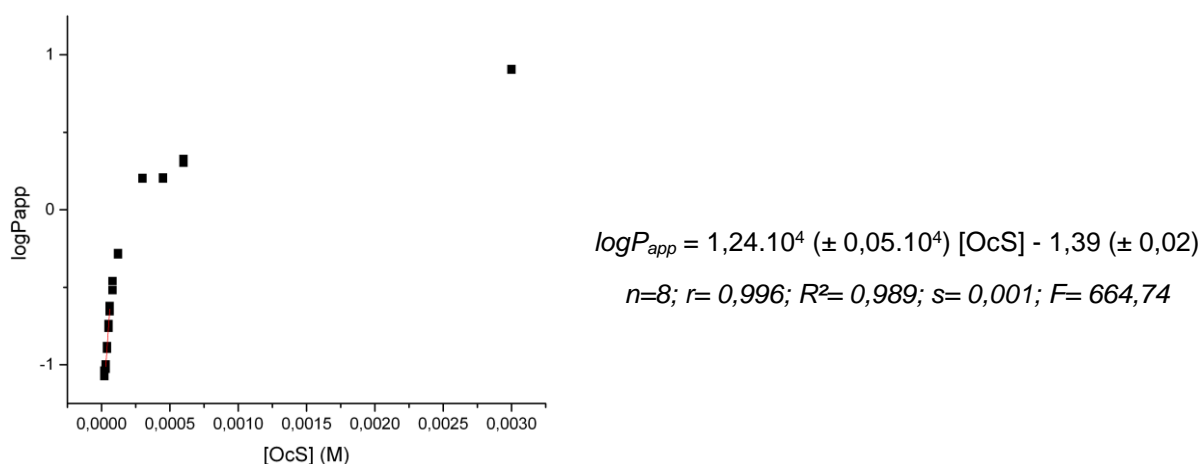


Figura 4.8. Valores de $\log P_{app}$ obtidos para o composto **11** ($X=\text{SO}_2\text{CH}_3$), por *shake-flask*, usando como fases orgânica e aquosa, respectivamente, *n*-octanol (*psa*) e 11 soluções aquosas (*psa*) de OcS (soluções A'), em função das respectivas concentrações de OcS (M). Em vermelho a melhor reta traçada por regressão linear, obtida pelo programa Origin 9.0.0.

➤ **Fase aquosa usada na partição: soluções aquosas de OcS com força iônica ajustada para $I = 0,10$ M (NaBr) (soluções B')**

Tabela 4.23. Experimentos realizados, em duplicata^(*), para obtenção por *shake flask* dos valores de $\log P_{app}$ para o brometo de *N*-benzil-*N,N*-dimetil-2-(4-metilsulfonilbenzamido)etan-1-amônio (**11**, $X=\text{SO}_2\text{CH}_3$) bem como da relação P/R_v. Nestes usou-se *n*-octanol (*psa*) como fase orgânica e 11 diferentes soluções aquosas de OcS (*psa*) com força iônica ajustada para $I = 0,10$ M (NaBr) (soluções B') como fase aquosa, preparadas nas correspondentes concentrações (mM) e proporções de OcS.

Experimento ^(*)	Fase aquosa: soluções B' (psa)		P/R _v	logP _{app}
	[composto]:[contraíon]	[OcS] (mM)		
1a	1,0 : 0,4	0,02	0,3	-1,11
1b			0,2	-1,13

Experimento ^(*)	Fase aquosa: soluções B' (pso)		P/R _v	logP _{app}
	[composto]:[contraíon]	[OcS] (mM)		
2a	1,0 : 0,5	0,03	0,3	-0,99
2b			0,3	-1,01
3a	1,0 : 0,9	0,05	0,5	-0,87
3b			0,5	-0,83
4a	1,0 : 1,0	0,06	0,6	-0,78
4b			0,6	-0,78
5a	1,0 : 1,5	0,09	0,8	-0,64
5b			0,8	-0,61
6a	1,0 : 2,1	0,12	0,8	-0,62
6b			0,8	-0,62
7a	1,0 : 4,2	0,24	0,5	-0,51
7b			0,5	-0,50
8a	1,0 : 5,7	0,36	0,7	-0,35
8b			0,7	-0,37
9a	1,0 : 8,2	0,48	1,2	-0,15
9b			1,2	-0,15
10a	1,0 : 10,3	0,60	1,3	-0,11
10b			1,2	-0,13
11a	1,0 : 51,9	3,00	4,5	0,65
11b			4,3	0,63

(*) experimentos realizados em duplicata (a e b).

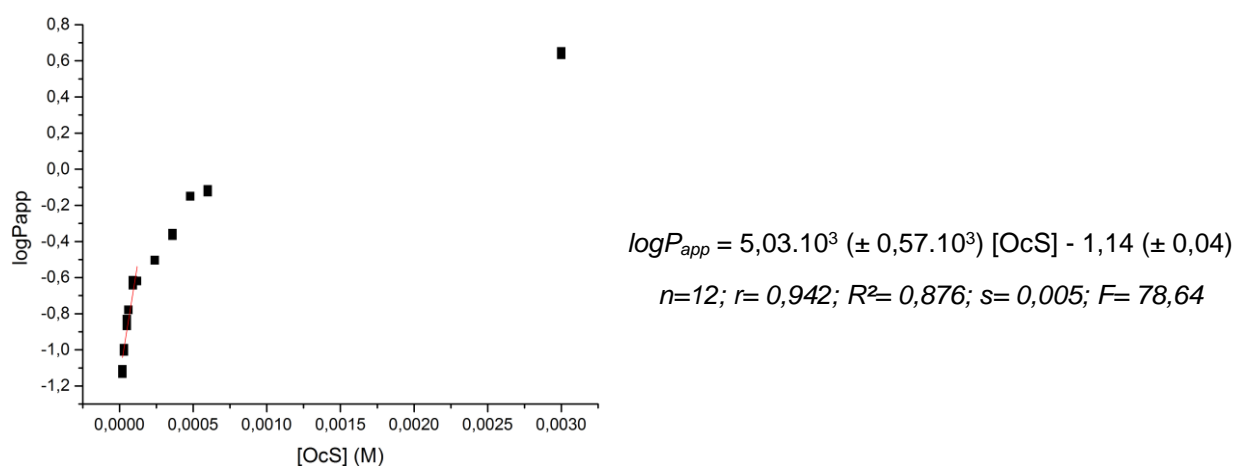


Figura 4.9. Valores de $\log P_{app}$ obtidos para o composto **11** ($X=\text{SO}_2\text{CH}_3$), por *shake-flask*, usando como fases orgânica e aquosa, respectivamente, *n*-octanol (*psa*) e 11 soluções aquosas (*pso*) de OcS com força iônica ajustada para $I = 0,10$ M (NaBr) (soluções **B'**), em função das respectivas concentrações de OcS (M). Em vermelho a melhor reta traçada por regressão linear, obtida pelo programa Origin 9.0.0.

4.3 Aplicabilidade do conceito do par iônico como estratégia metodológica

4.3.1 Determinação dos valores do coeficiente de partição do QX-222 na presença de contraíon hidrofóbico

De modo análogo aos experimentos realizados para os compostos da **Série I** (vide **item 4.2.3**), e procedendo-se conforme descrito no **item 3.6.1**, foram determinados os valores de $\log P_{app}$ do QX-222, utilizando na partição, fases aquosas constituindo de 10 soluções aquosas de OcS ρ_{so} (soluções **A'**). Os resultados estão apresentados na **Tabela 4.24**. E ainda, conforme descrito no **item 3.5.3**, estes foram analisados a partir de gráficos traçados entre os valores de $\log P_{app}$ (obtidos para o QX-222) e as respectivas concentrações de OcS (M), conforme apresentado na **Figura 4.10**.

➤ **Fase aquosa usada na partição: soluções aquosas de OcS (soluções A')**

Tabela 4.24. Experimentos realizados, em duplicata^(*), para obtenção por *shake flask* dos valores de $\log P_{app}$ para o QX-222 bem como da relação P/R_v. Nestes usou-se *n*-octanol (ρ_{sa}) como fase orgânica e 10 diferentes soluções aquosas (ρ_{so}) de OcS (soluções **A'**) como fase aquosa, preparadas nas correspondentes concentrações (mM) e proporções de OcS.

Experimento ^(*)	Fase aquosa: soluções A' (ρ_{so})		P/R _v	$\log P_{app}$
	[composto]:[contraíon]	[OcS] (mM)		
1a	1,0 : 0,3	0,45	0,5	-1,02
1b			0,5	-0,99
2a	1,0 : 0,5	0,75	1,1	-0,67
2b			0,9	-0,74
3a	1,0 : 0,7	1,05	2,4	-0,33
3b			2,4	-0,32
4a	1,0 : 0,9	1,35	4,3	0,11
4b			4,3	0,11
5a	1,0 : 1,2	1,65	3,8	0,36
5b			3,8	0,35
6a	1,0 : 1,3	1,95	3,5	0,54
6b			3,6	0,56
7a	1,0 : 1,9	3,00	4,3	0,81
7b			4,3	0,81
8a	1,0 : 4,6	7,50	8,7	1,34
8b			9,2	1,36

Experimento ^(*)	Fase aquosa: soluções A' (pso)		P/R _v	logP _{app}
	[composto]:[contraíon]	[OcS] (mM)		
9a	1,0 : 7,2	11,25	5,6	1,53
9b			5,5	1,52
10a	1,0 : 9,6	15,00	6,5	1,59
10b			6,7	1,61

(*) experimentos realizados em duplicata (a e b).

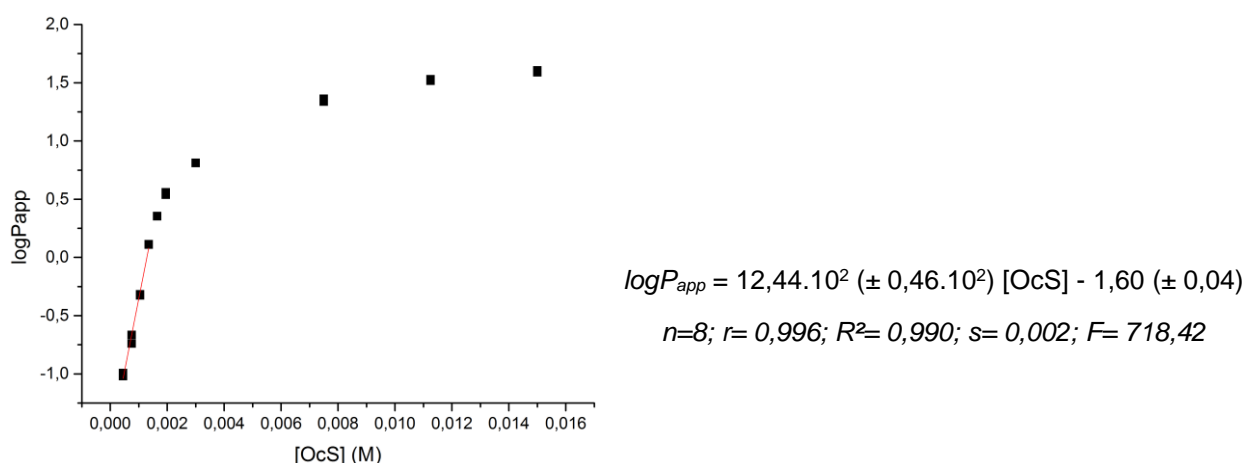


Figura 4.10. Valores de $\log P_{app}$ obtidos para o QX-222, por *shake-flask*, usando como fases orgânica e aquosa, respectivamente, *n*-octanol (*psa*) e 10 soluções aquosas (*pso*) de OcS (soluções **A'**), em função das respectivas concentrações de OcS (M).

4.3.2 Determinação dos valores do coeficiente de partição do brometo de neostigmina na presença de contraíon hidrofóbico

De modo análogo aos experimentos realizados para os compostos da **Série I** (vide **item 4.2.3**), e procedendo-se conforme descrito no **item 3.6.2**, foram determinados os valores de $\log P_{app}$ do brometo de neostigmina, utilizando na partição, fases aquosas constituindo de 10 soluções aquosas de OcS *pso* (soluções **A'**). Os resultados estão apresentados na **Tabela 4.25**. E ainda, conforme descrito no **item 3.5.3**, estes foram analisados a partir de gráficos traçados entre os valores de $\log P_{app}$ (obtidos para o brometo de neostigmina) e as respectivas concentrações de OcS (M), conforme apresentado na **Figura 4.11**.

➤ Fase aquosa usada na partição: soluções aquosas de OcS (soluções A')

Tabela 4.25. Experimentos realizados, em duplicata^(*), para obtenção por *shake flask* dos valores de $\log P_{app}$ para o brometo de neostigmina bem como da relação P/R_v. Nestes usou-se *n*-octanol (*psa*) como fase orgânica e 10 diferentes soluções aquosas (*psa*) de OcS (soluções A') como fase aquosa, preparadas nas correspondentes concentrações (mM) e proporções de OcS.

Experimento ^(*)	Fase aquosa: soluções A' (<i>psa</i>)		P/R _v	$\log P_{app}$
	[composto]:[contraíon]	[OcS] (mM)		
1a	1,0 : 0,3	0,41	0,3	-1,34
1b			0,3	-1,35
2a	1,0 : 0,5	0,69	0,5	-1,17
2b			0,5	-1,15
3a	1,0 : 0,6	0,97	0,8	-0,93
3b			0,8	-0,94
4a	1,0 : 0,8	1,24	0,9	-0,77
4b			0,9	-0,77
5a	1,0 : 1,0	1,52	1,1	-0,65
5b			1,1	-0,66
6a	1,0 : 1,2	1,79	1,3	-0,58
6b			1,3	-0,60
7a	1,0 : 1,8	3,20	2,1	-0,38
7b			2,3	-0,35
8a	1,0 : 4,7	8,00	3,4	0,01
8b			4,1	0,09
9a	1,0 : 6,8	12,00	2,3	0,14
9b			2,8	0,22
10a	1,0 : 9,0	16,00	3,5	0,32
10b			3,7	0,34

^(*) experimentos realizados em duplicata (a e b).

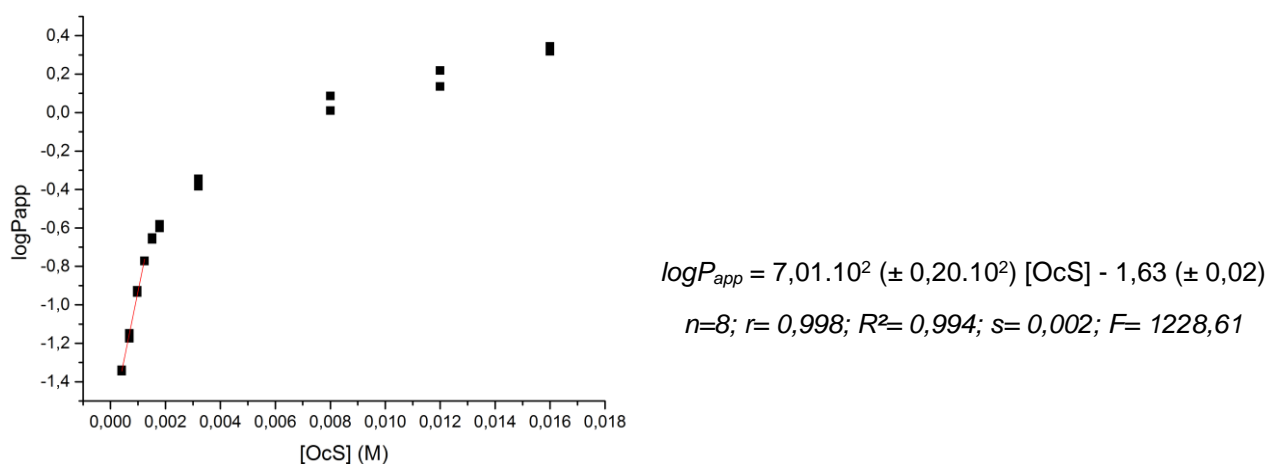


Figura 4.11. Valores de $\log P_{app}$ obtidos para o brometo de neostigmina, por *shake-flask*, usando como fases orgânica e aquosa, respectivamente, *n*-octanol (*psa*) e 10 soluções aquosas (*psa*) de OcS (soluções A'), em função das respectivas concentrações de OcS (M).

4.4 Experimentos complementares para verificar a formação de par iônico

4.4.1 Determinação dos valores do coeficiente de partição da benzamida na presença de contraíon hidrofóbico

De modo análogo aos experimentos realizados para os compostos da **Série I** (vide **item 4.2.3**), e procedendo-se conforme descrito no **item 3.7.1**, foram determinados os valores de $\log P$ da benzamida, utilizando na partição, fases aquosas com duas diferentes composições, a saber: soluções aquosas de OcS (soluções **A'**) bem como soluções aquosas de OcS com força iônica ajustada para $I = 0,10$ M (NaBr) (soluções **B'**), ambas *pso*. Os resultados para benzamida estão apresentados nas **Tabelas 4.26** e **4.27**. E ainda, conforme descrito no **item 3.5.3**, estes foram analisados a partir de gráficos traçados entre os valores de $\log P$ (obtidos para benzamida) e as respectivas concentrações de OcS (M), conforme apresentado nas **Figuras 4.12** e **4.13**.

➤ Fase aquosa usada na partição: soluções aquosas de OcS (soluções **A'**)

Tabela 4.26. Experimentos realizados, em duplicata^(*), para obtenção por *shake flask* dos valores de $\log P$ para a benzamida bem como da relação P/R_v. Nestes usou-se *n*-octanol (*pso*) como fase orgânica e 5 diferentes soluções aquosas (*pso*) de OcS (soluções **A'**) como fase aquosa, preparadas nas correspondentes concentrações (mM) e proporções de OcS.

Experimento ^(*)	Fase aquosa: soluções A' (<i>pso</i>)		P/R _v	$\log P$
	[composto]:[contraíon]	[OcS] (mM)		
1a	1,0 : 0,4	0,04	3,3	0,67
1b			3,3	0,67
2a	1,0 : 1,0	0,11	3,0	0,63
2b			3,2	0,66
3a	1,0 : 2,1	0,22	3,3	0,67
3b			3,2	0,67
4a	1,0 : 9,3	1,00	3,2	0,65
4b			3,3	0,68
5a	1,0 : 46,6	5,00	3,1	0,65
5b			3,1	0,65

^(*) experimentos realizados em duplicata (a e b).

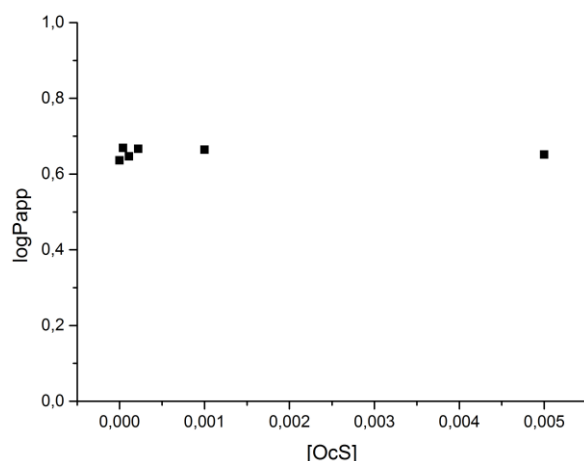


Figura 4.12. Valores de $\log P$ obtidos para a benzamida, por *shake-flask*, usando como fases orgânica e aquosa, respectivamente, *n*-octanol (*psa*) e 5 soluções aquosas (*psa*) de OcS (soluções **A'**), em função das respectivas concentrações de OcS (M).

➤ **Fase aquosa usada na partição: soluções aquosas de OcS com força iônica ajustada para $I = 0,10$ M (NaBr) (soluções **B'**)**

Tabela 4.27. Experimentos realizados, em duplicata^(a), para obtenção por *shake flask* dos valores de $\log P$ para a benzamida bem como da relação P/R_v. Nestes usou-se *n*-octanol (*psa*) como fase orgânica e 5 diferentes soluções aquosas (*psa*) de OcS com força iônica ajustada para $I = 0,10$ M (NaBr), (soluções **B'**) como fase aquosa, preparadas nas correspondentes concentrações (mM) e proporções de OcS.

Experimento ^(a)	Fase aquosa: soluções B' (<i>psa</i>)		P/R _v	$\log P$
	[composto]:[contraíon]	[OcS] (mM)		
1a	1,0 : 0,5	0,05	2,4	0,60
1b			2,5	0,62
2a	1,0 : 1,0	0,10	2,6	0,64
2b			2,7	0,66
3a	1,0 : 2,0	0,20	2,8	0,67
3b			2,6	0,63
4a	1,0 : 9,9	1,00	2,6	0,63
4b			2,5	0,63
5a	1,0 : 49,4	5,00	2,6	0,64
5b			2,6	0,63

^(a) experimentos realizados em duplicata (a e b).

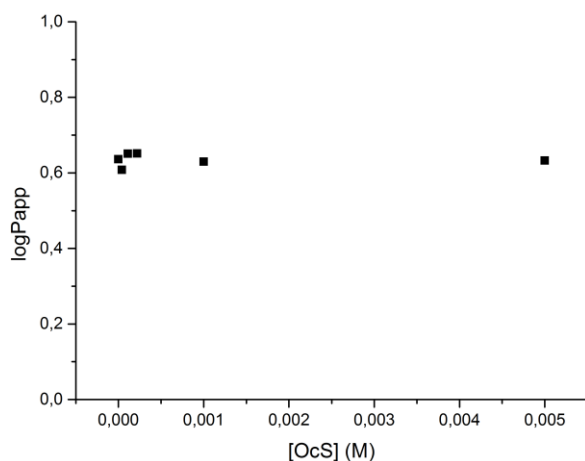


Figura 4.13. Valores de $\log P$ obtidos para a benzamida, por *shake-flask*, usando como fases orgânica e aquosa, respectivamente, *n*-octanol (*psa*) e 5 soluções aquosas (*psa*) de OcS com força iônica ajustada para $I = 0,10$ M (NaBr) (soluções **B'**), em função das respectivas concentrações de OcS (M).

4.4.2 Registro e análise sistemática dos espectros de RMN¹H para verificar a formação de par iônico

Procedendo-se como no **item 3.7.2**, foram registrados quatro espectros de RMN¹H do composto **10** na presença de, respectivamente, 0,00000, 0,00348, 0,00696 e 0,01391 M de contraíon OcS. Estes correspondem às proporções molares composto:contraíon OcS de 1:0, 1:0,5, 1:1 e 1:2, e foram denominados neste trabalho de, respectivamente, espectro *A*, espectro *B*, espectro *C* e espectro *D*.

Os espectros de RMN¹H correspondentes aos espectros *A* e *C* foram também obtidos usando o equipamento Bruker Avance III 500 MHz. Quando não mencionado, usou-se o equipamento Bruker - Avance III 200 MHz.

Adicionalmente, inclui-se o espectro *E* que corresponde ao espectro registrado somente para o contraíon OcS. A **Tabela 4.28** a seguir, mostra de forma resumida, todas estas informações a respeito de cada espectro registrado.

Tabela 4.28. Espectros de RMN¹H registrados para o composto **10** (brometo de *N*-benzil-*N,N*-dimetil-2-(4-trifluorometilbenzamido)etan-1-amônio), utilizando-se D₂O como solvente, nas diferentes proporções molares de composto:contraíon, correspondentes às respectivas concentrações, em mol/L, de OcS e do composto **10**.

Espectro	Figura	Proporção [composto]:[contraíon]	[OcS] (M)	[composto] (M)
A	4.14	1:0	0,00000	0,00696
A ^(a)	4.15	1:0	0,00000	0,00696
B	4.16	1:0,5	0,00348	0,00696
C	4.17	1:1	0,00696	0,00696
C ^(a)	4.18	1:1	0,00696	0,00696
D	4.19	1:2	0,01391	0,00696
E	4.20	0:1	0,00696	0,00000

^(a) espectros registrados no espectrômetro Bruker Avance III 500 MHz

Os espectros obtidos, processados e normalizados pelo programa Mestrenova, estão apresentados a seguir nas **Figuras 4.14, 4.15, 4.16, 4.17, 4.18, 4.19 e 4.20**. Adicionalmente, os espectros correspondentes aos espectros *A, B, C, D* e *E* foram processados pelo programa Matlab e utilizados na discussão dos resultados, no **item 5.6.2**.

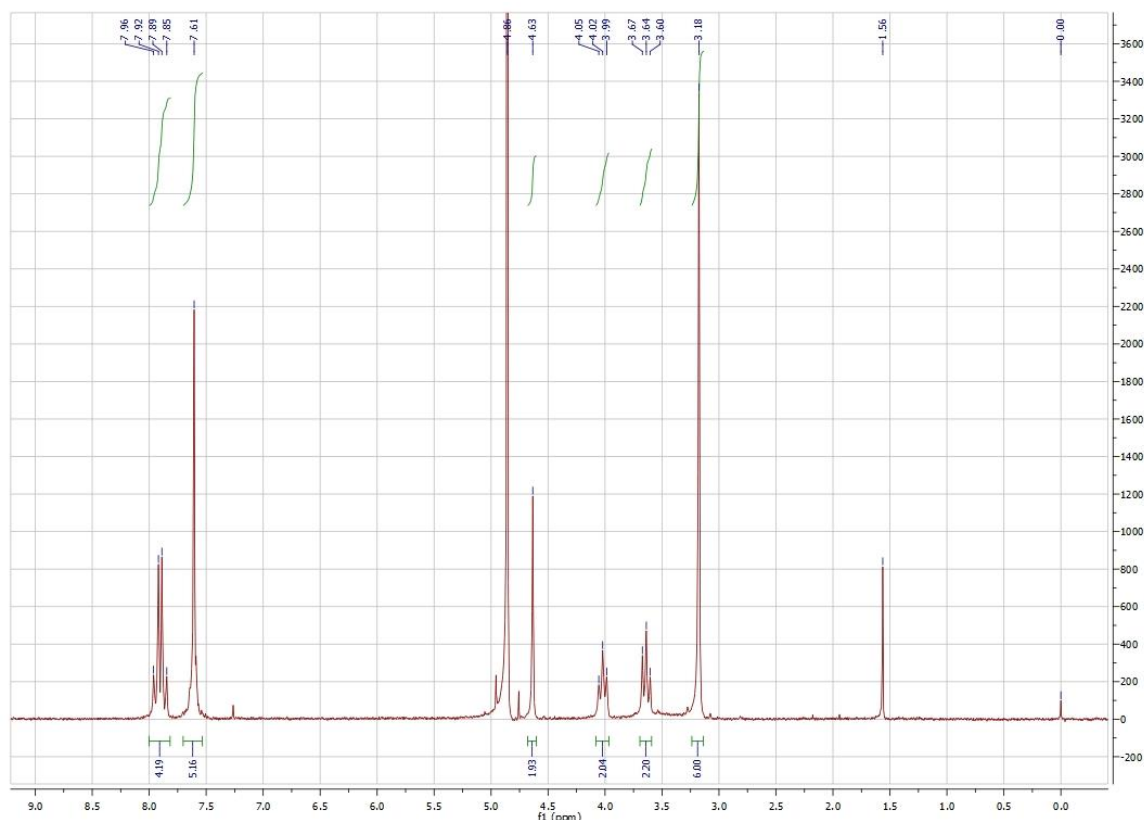


Figura 4.14. Espectro A: espectro de RMN¹H registrado no espectrômetro Bruker - Avance III 200 MHz, utilizando-se D₂O como solvente, para o composto **10** (brometo de *N*-benzil-*N,N*-dimetil-2-(4-trifluorometilbenzamido)etan-1-amônio) e o contraíon (OcS), na respectiva proporção molar de 1:0.

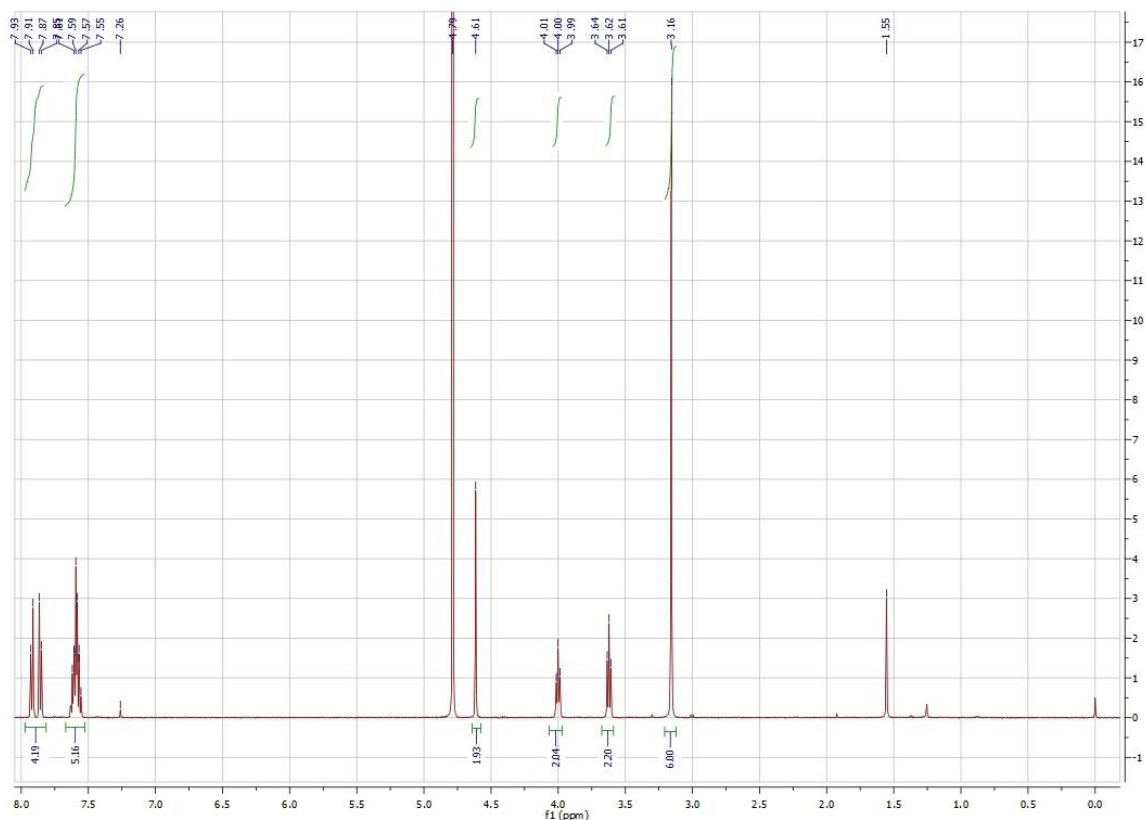


Figura 4.15. Espectro A: espectro de RMN ^1H registrado no espectrômetro Bruker Avance III 500 MHz, utilizando-se D_2O como solvente, para o composto **10** (brometo de *N*-benzil-*N,N*-dimetil-2-(4-trifluorometilbenzamido)etan-1-amônio) e o contraíon (OcS), na respectiva proporção molar de 1:0.

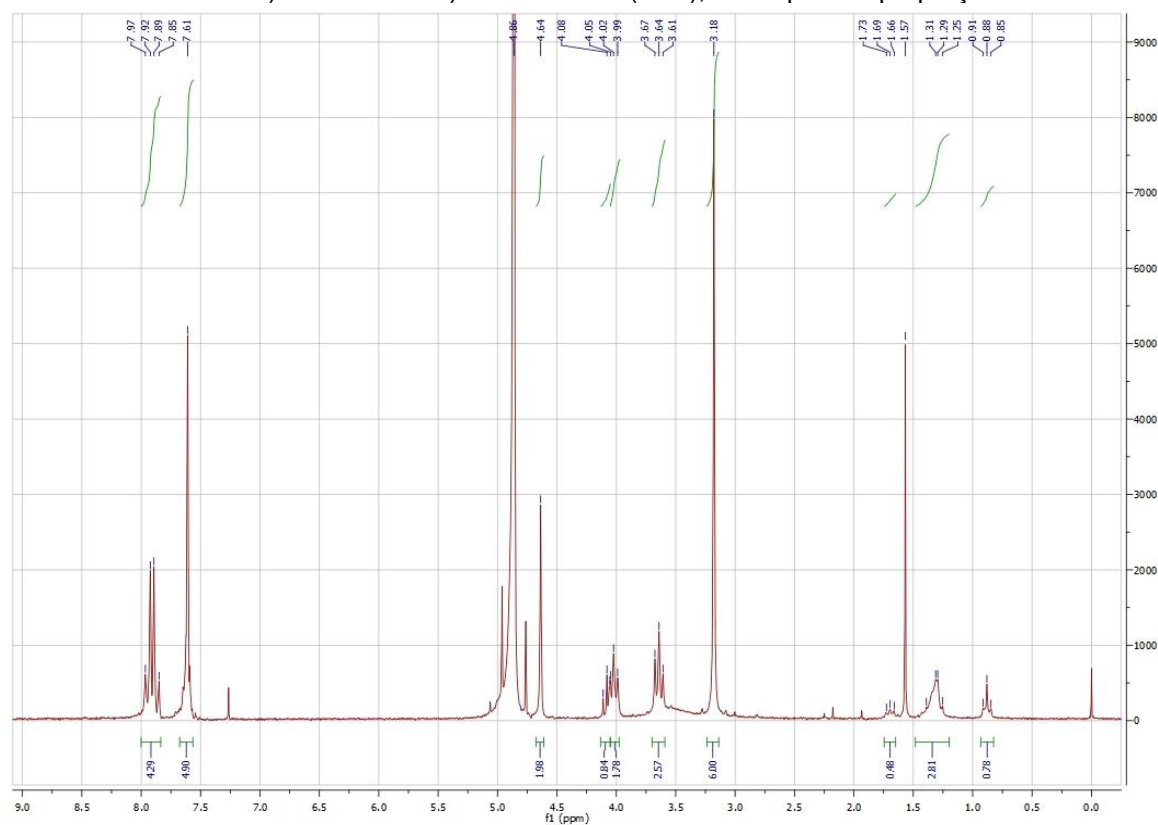


Figura 4.16. Espectro B: espectro de RMN ^1H registrado no espectrômetro Bruker - Avance III 200 MHz, utilizando-se D_2O como solvente, para o composto **10** (brometo de *N*-benzil-*N,N*-dimetil-2-(4-trifluorometilbenzamido)etan-1-amônio) e o contraíon (OcS), na respectiva proporção molar de 1:0,5.

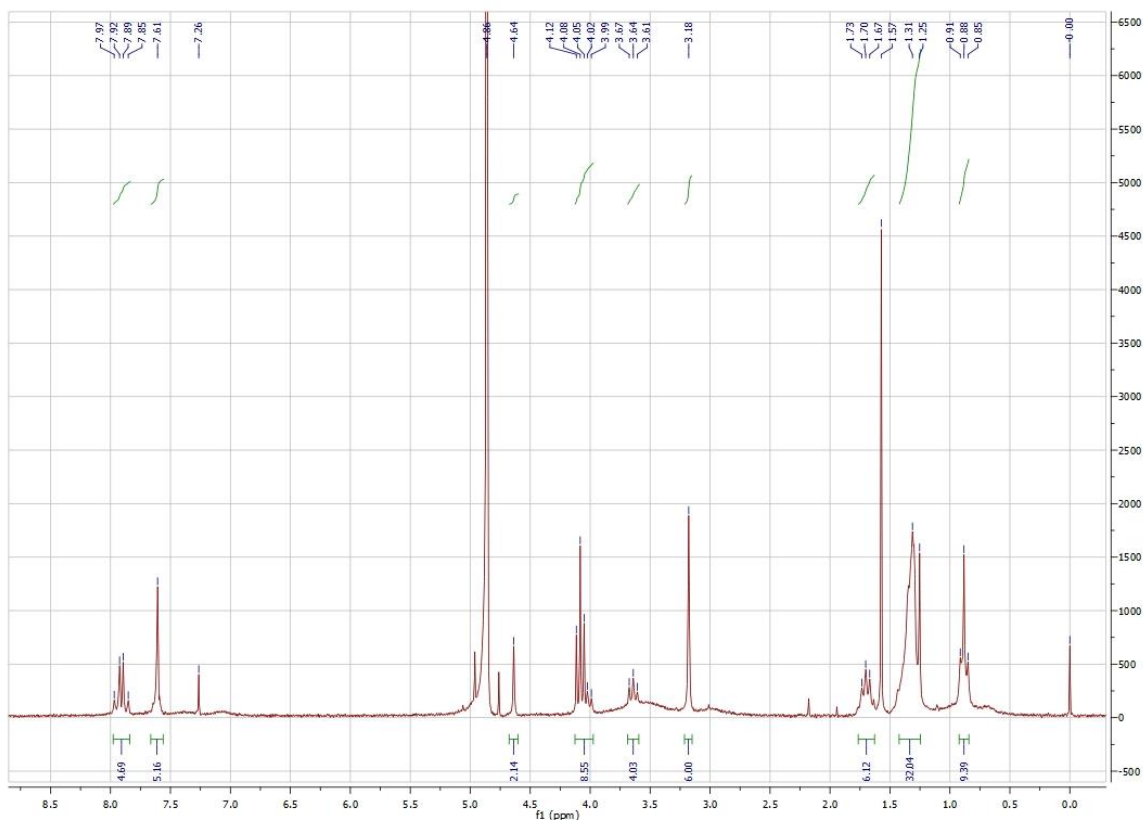


Figura 4.17. Espectro C: espectro de RMN¹H registrado no espectrômetro Bruker - Avance III 200 MHz, utilizando-se D₂O como solvente, para o composto **10** (brometo de *N*-benzil-*N,N*-dimetil-2-(4-trifluorometilbenzamido)etan-1-amônio) e o contraíon (OcS), na respectiva proporção molar de 1:1.

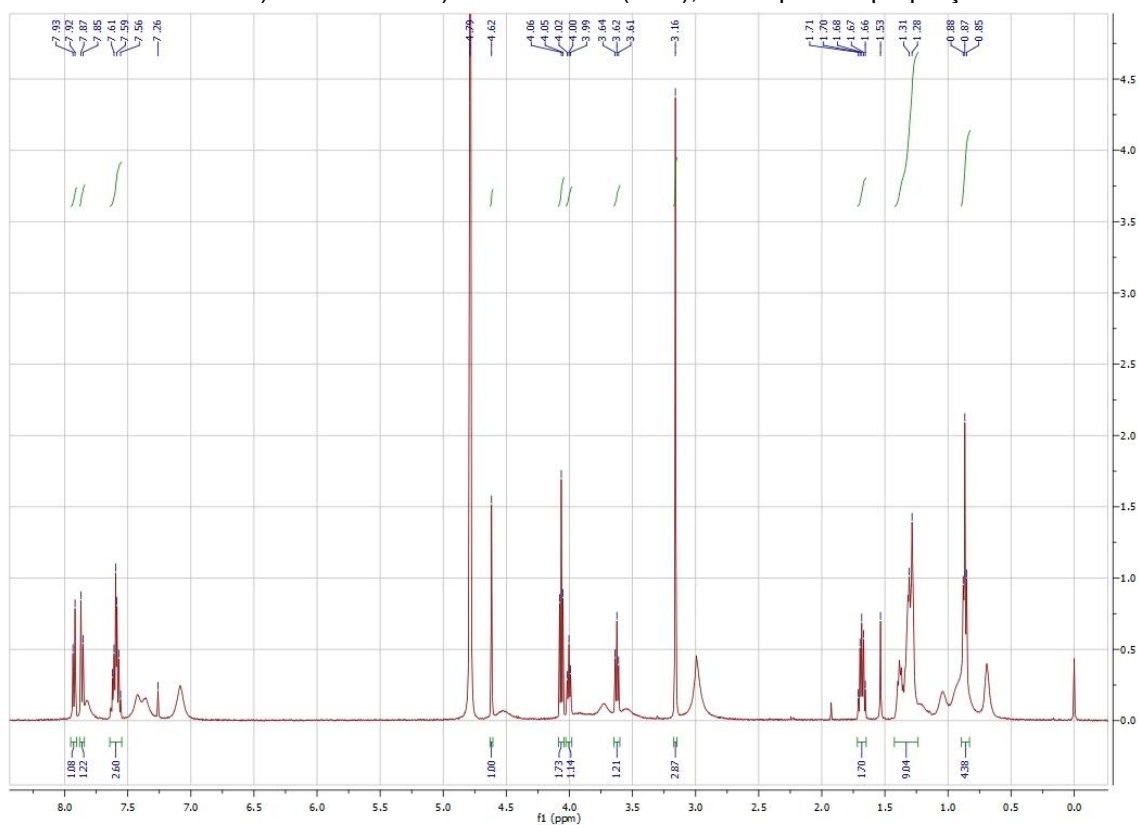


Figura 4.18. Espectro C: espectro de RMN¹H registrado no espectrômetro Bruker AIII 500 MHz, utilizando-se D₂O como solvente, para o composto **10** (brometo de *N*-benzil-*N,N*-dimetil-2-(4-trifluorometilbenzamido)etan-1-amônio) e o contraíon (OcS), na respectiva proporção molar de 1:1.

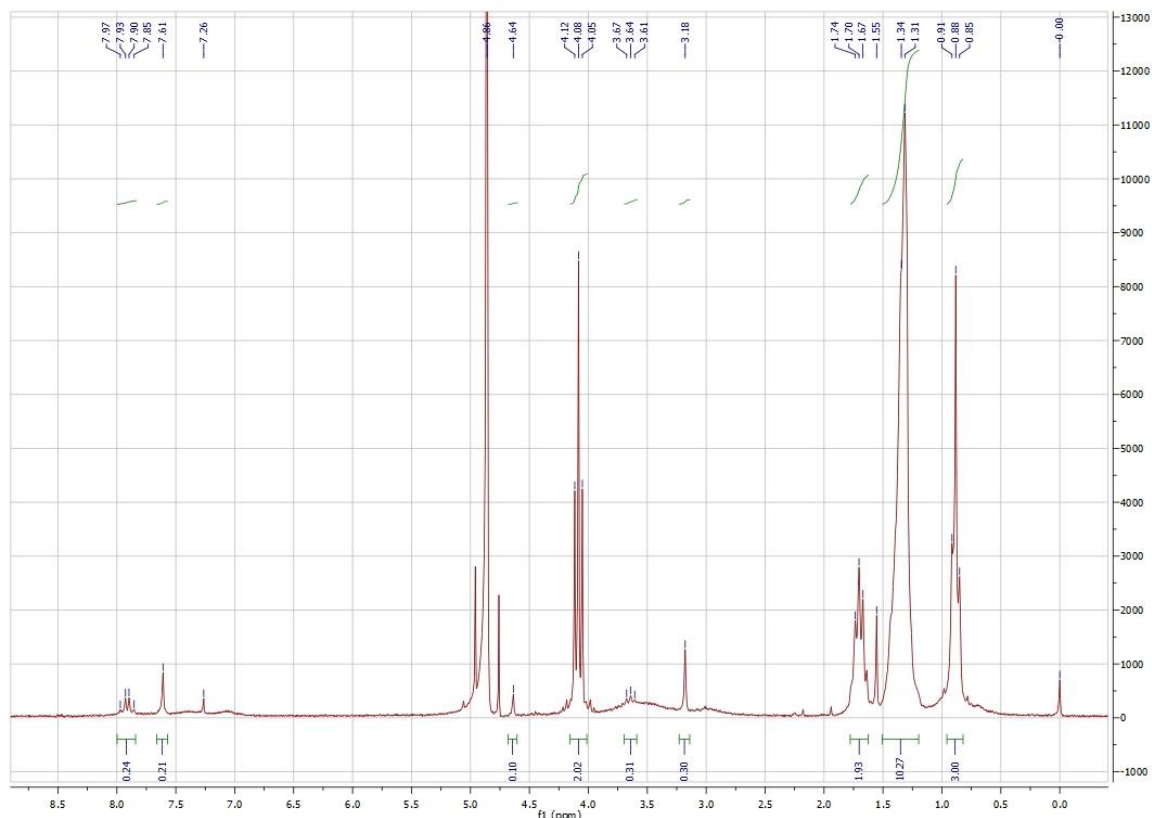


Figura 4.19. Espectro D: espectro de RMN¹H registrado no espectrômetro Bruker - Avance III 200 MHz, utilizando-se D₂O como solvente, para o composto **10** (brometo de *N*-benzil-*N,N*-dimetil-2-(4-trifluorometilbenzamido)etan-1-amônio) e o contraíon (OcS), na respectiva proporção molar de 1:2.

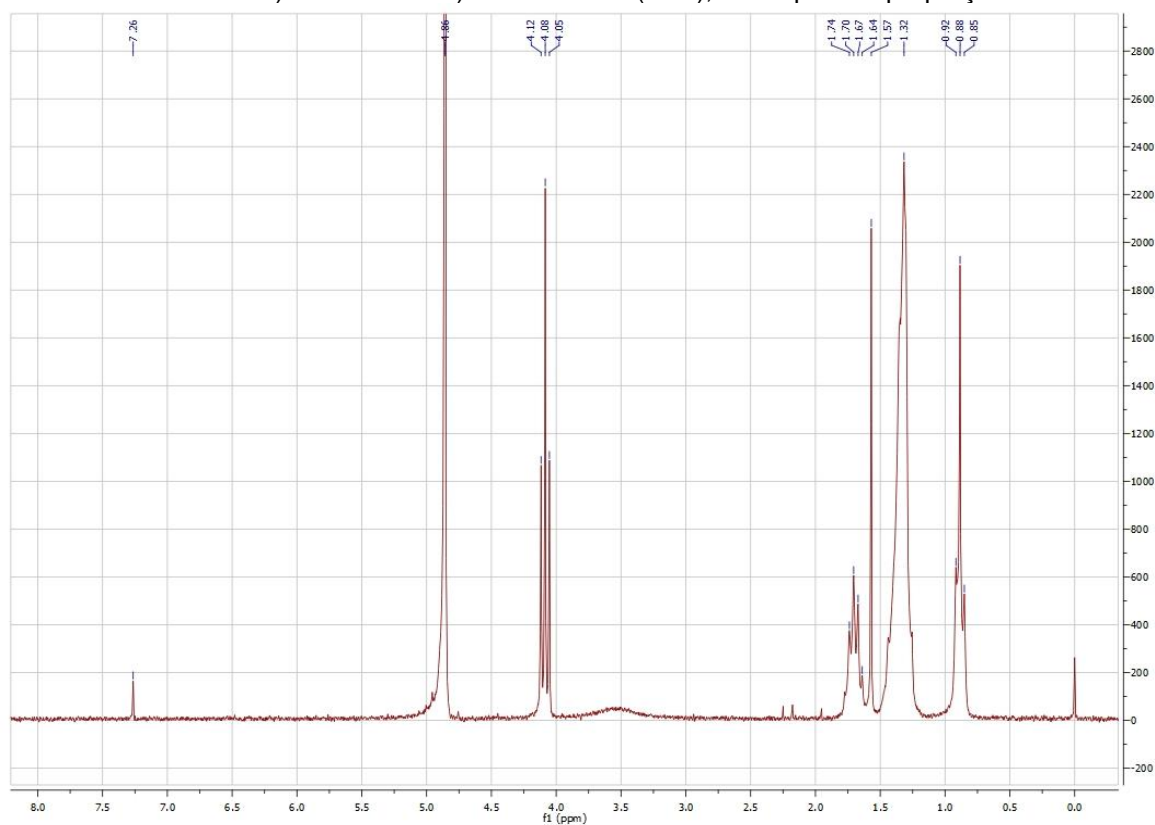


Figura 4.20. Espectro E: espectro de RMN¹H registrado no espectrômetro Bruker - Avance III 200 MHz, utilizando-se D₂O como solvente, para o composto **10** (brometo de *N*-benzil-*N,N*-dimetil-2-(4-trifluorometilbenzamido)etan-1-amônio) e o contraíon (OcS), na respectiva proporção molar de 0:1.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Introdução

O Laboratório de QSAR e Modelagem Molecular de Compostos Bioativos do Instituto de Química, da Universidade de São Paulo, liderado pela Profa. Associada Antonia Tavares do Amaral, vem se dedicando desde 1988/1989 ao estudo de diferentes aspectos relacionados a compostos bioativos.

Entre eles, destacam-se estudos de Relações Quantitativas entre Estrutura Química e Atividade Biológica (incluindo-se aqueles envolvendo modelagem molecular, QSAR e QSAR-3D) e estudos para a determinação de propriedades físico-químicas e estruturais (como lipofilicidade e variação de densidade eletrônica no grupo carbonila) de compostos com atividade biológica, em especial antiarrítmicos, anestésicos locais e compostos com atividade de bloqueio da transmissão neuromuscular (Amaral *et al.*, 1997; Souza, 1997; Siqueira, 2001; Malvezzi, 2003; Malvezzi & Amaral, 2010; Moraes *et al.*, 2009; Cheffer *et al.*, 2012), antitumorais (Raminelli, 2001), antibacterianos (Pires, 1998; Pires *et al.*, 2001), anti-HIV (Ishiki, 1999; Ishiki *et al.*, 2001), antimicrobianos (Santos, 2009; USP/INPI Souza *et al.*, 2010), antifúngicos (Fonseca, 2013), tuberculostáticos (Ishiki, 2005) e antichagásicos (Scotti, 2005; Scotti *et al.*, 2016). Estes estudos foram realizados com o objetivo de contribuir para elucidar o mecanismo de ação destes compostos e, quando possível, para prever derivados mais potentes e/ou menos tóxicos.

Adicionalmente, desenvolvem-se projetos de pesquisa ainda em andamento, envolvendo a modelagem molecular, incluindo o planejamento de compostos com atividade biológica baseado no conhecimento da estrutura do receptor, SBDD, com foco em antichagásicos (Malvezzi *et al.*, 2008; Malvezzi *et al.*, 2009; USP/INPI

Amaral *et al.*, 2008; Viviani *et al.*, 2013), antitumorais (Viviani *et al.*, 2014) e antivirais (USP/INPI Amaral *et al.*, 2015; Piccirillo *et al.*, 2015, Piccirillo *et al.*, 2016).

No presente trabalho, destinado à dissertação de mestrado, foi realizado um estudo da lipofilicidade - expressa pelo parâmetro hidrofóbico $\log P$, usando *n*-octanol/água como sistema de partição - de uma série de compostos estruturalmente análogos à procaína (brometos de amônio quaternários, **Série I**), visando ampliar e complementar estudos realizados anteriormente no grupo (Amaral *et al.*, 1997; Siqueira, 2001; Raminelli, 2001; Malvezzi, 2003; Santos, 2009; Moraes *et al.*, 2009; Malvezzi & Amaral, 2010).

Os compostos estruturalmente análogos à procaína correspondem aos brometos de *N*-benzil-*N,N*-dimetil-2-(4-*X*-benzamido)etan-1-amônio substituídos (**Série I**, **Figura 1.8** ou **5.1**), sintetizados previamente no grupo (Siqueira, 2001). Modelos de QSAR gerados para esta série mostraram uma contribuição positiva dos valores de $\log P_{app}$ para a atividade de bloqueio da transmissão neuromuscular, observada para estes.

Como os compostos da **Série I** são sais de amônio quaternários, alguns sendo altamente hidrofílicos, as determinações de seus valores de $\log P_{app}$ acarretaram dificuldades experimentais, levando a um aumento das incertezas. Para contornar estas dificuldades, sugeriu-se aplicar o conceito do par iônico como estratégia metodológica (Koufopoulou *et al.*, 2006). Assim, através do uso de contraíons grandes e hidrofóbicos, observou-se um aumento da lipofilicidade de um dos compostos desta série, devido a possível formação de par iônico (Moraes *et al.*, 2009).

Dando continuidade a estes estudos desenvolvidos no grupo, neste trabalho, foi aplicado o conceito do par iônico como estratégia metodológica para melhorar as

condições experimentais e diminuir as incertezas das determinações dos valores de $\log P_{app}$ destes, usando o método *shake-flask*, ampliando a faixa de variação dos valores de $\log P_{app}$ dos compostos desta série. Acrescentam-se, ainda, estudos complementares para verificar a formação de par iônico.

Deve-se ressaltar que a avaliação dos efeitos associados ao uso de contraíon, bem como ao ajuste de força iônica, sobre o parâmetro hidrofóbico, expresso pelo coeficiente de partição, são aspectos que não haviam sido totalmente elucidados em estudos anteriores realizados no laboratório (Malvezzi & Amaral, 2010; Moraes *et al.*, 2009).

Neste trabalho, o estudo da lipofilicidade dos compostos e das correspondentes interações hidrofóbicas foi feito usando o sistema químico *n*-octanol/água. Conforme descrito em detalhes na **Introdução**, este apresenta as duas principais vantagens: semelhança com as membranas biológicas (formado por uma cadeia alifática hidrofóbica apolar e uma porção terminal polar); capacidade de dissolver grande quantidade de água (2,3 M) garantindo que parte da esfera de solvatação ao redor do composto seja preservada, mesmo durante a transferência deste da fase aquosa para a orgânica. Portanto, as determinações de $\log P$ no sistema *n*-octanol/água refletem, principalmente, as interações hidrofóbicas entre o composto e a água; por isso o termo $\log P$ representa o parâmetro hidrofóbico e foi usado neste estudo (Dearden & Bresnen, 1988; Lombardo, 2008).

Para as determinações dos valores de $\log P$ utilizando o sistema de partição *n*-octanol/água foi usado o método *shake-flask* que, conforme descrito na **Introdução** deste trabalho, permite as determinações diretas dos valores de $\log P$. Por isso, o método *shake-flask* é mais adequado para estudos envolvendo as medidas de $\log P$ de compostos hidrofílicos, e/ou na presença de contraíon hidrofóbico, do que outros

métodos, como por exemplo, o método cromatográfico (*HPLC*) ou envolvendo cálculos computacionais (vide **Introdução**).

No entanto, como já descrito na **Introdução**, é importante lembrar que, a faixa de variação aceitável é significativa ($\pm 0,3$ unidades) para os valores de $\log P_{app}$ medidos por *shake-flask* (Dearden & Bresnen, 1988; OECD, 1995). Assim, neste trabalho, todos os experimentos foram realizados pelo menos em duplicata, para incluir as incertezas inerentes às determinações, ou ainda, melhorar a reprodutibilidade dos experimentos.

Por fim, vale ressaltar que, no presente estudo, torna-se relevante ampliar os estudos prévios incluindo os brometos de amônio quaternários (**Série I**), pelo fato de terem sido planejados e sintetizados em nosso próprio grupo e, também, pelo fato de que os modelos de *QSAR* gerados para esta série mostrarem uma contribuição positiva dos valores de $\log P_{app}$ para a atividade de bloqueio da transmissão neuromuscular, observada para estes.

5.2 Compostos estudados

5.2.1 Brometos de amônio quaternários

Origem e análise estrutural dos compostos da **Série I**

Como descrito acima, os brometos de amônio quaternários da **Série I**, foram anteriormente sintetizados no grupo (Siqueira, 2001) e mostraram atividade de bloqueio da transmissão neuromuscular.

Naquele estudo, a escolha da série de brometos de *N*-benzil-*N,N*-dimetil-2-(4-*X*-benzamido)etan-1-amônio substituídos (**Série I**, **Figura 5.1**) foi planejada, inicialmente, visando a obtenção de compostos estruturalmente análogos à procaína

ou procainamida (vide **Figura 1.7**), apresentando, no entanto, um grupo amônio quaternário ao invés de um grupo ionizável.

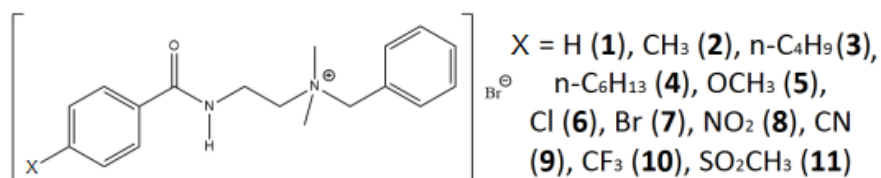


Figura 5.1. Brometos de *N*-benzil-*N,N*-dimetil-2-(4-*X*-benzamido)etan-1-amônio substituídos (**Série I**).

Assim, ao nitrogênio terminal da porção hidrofílica da procainamida foi adicionado um grupo benzila, transformando-o no grupo amônio quaternário (com carga permanente positiva), bem como aumentando o impedimento estérico ao redor deste grupo.

Ainda, a seleção dos substituintes *X* presentes na estrutura fundamental foi feita de acordo com os critérios sugeridos por Craig (1971). Neste critério propõe-se que os substituintes devam apresentar intercorrelação não significativa entre os correspondentes parâmetros físico-químicos como, por exemplo, hidrofóbico, eletrônico e relacionados à refratividade molar, responsáveis pela atividade biológica apresentada por cada composto.

Análise do parâmetro hidrofóbico dos compostos da Série I

A presença do grupo amônio quaternário (que também os caracteriza como espécies permanentemente carregadas) confere alta hidrofiliidade para alguns destes compostos podendo-se observar baixos valores de $\log P_{app}$ na faixa de 0 a -2, o que acarreta dificuldades experimentais nas medições do parâmetro hidrofóbico destes. Para contornar estas dificuldades experimentais sugere-se, na literatura (Koufopoulou *et al.*, 2006; Moraes *et al.*, 2009), que o uso de contraíons grandes e hidrofóbicos, por possível formação de par iônico, possa levar a um aumento da

lipofilicidade destes compostos, diminuindo, conseqüentemente, os valores das incertezas nos valores de $\log P_{app}$.

Ainda, nas determinações dos valores de $\log P_{app}$ torna-se importante comparar estudos envolvendo o parâmetro hidrofóbico de compostos ionizáveis e de compostos permanentemente carregados, como discutido a seguir.

Para compostos ionizáveis, pode-se obter condições mais favoráveis de medida de $\log P_{app}$ adequando-se, por meio da protonação/desprotonação, a espécie que irá particionar (variando os valores de pH da fase aquosa usada na partição) ou ainda, como descrito acima, possibilitando-se a formação de par iônico (Scherrer, 2001; Malvezzi & Amaral, 2010; Koufopoulou *et al.*, 2006).

No entanto, para compostos permanentemente carregados, não sendo possível alterar a natureza das espécies na partição por meio da variação do pH, pode-se, alternativamente, alterar as concentrações de um contraíon hidrofóbico (presente na fase aquosa da partição), visando aumentar os valores de $\log P_{app}$ destes, por possível formação de par iônico. Desta maneira, obtêm-se condições mais favoráveis para determinações dos valores de $\log P_{app}$ de compostos altamente hidrofílicos e permanentemente carregados.

Por fim, vale mencionar que no trabalho de Siqueira (2001) foram determinados os valores de $\log P_{app}$ para os compostos da **Série I** utilizando-se, no entanto, condições experimentais diferentes das utilizadas neste trabalho. Naquele, também foi usado o método *shake-flask*, porém, as fases aquosas consistiam de soluções tampão trizma, pH = 7,40 e com força iônica ajustada para 0,1 M (NaCl). Por este motivo os correspondentes valores de $\log P_{app}$ não foram usados neste trabalho.

Atividade biológica apresentada pelos compostos da Série I

Como descrito acima, trabalhos anteriores no grupo (Siqueira, 2001) mostraram que os compostos da **Série I** apresentaram atividade de bloqueio da transmissão neuromuscular avaliada no sistema músculo diafragma-nervo frênico de camundongos, e expressa por valores de IC_{50} . Os valores de IC_{50} (concentração inibitória média 50%, em mol L⁻¹) foram determinados a partir da curva dose-resposta, como sendo a concentração molar do composto que inibe 50% do efeito máximo observado, no período de 15 minutos. Os valores de IC_{50} variaram na faixa de $7,89 \cdot 10^{-5}$ a $2,80 \cdot 10^{-3}$ mol L⁻¹ e foram usados como parâmetro biológico nas análises de QSAR.

Escolha dos brometos de amônio quaternários (Série I) estudados neste trabalho

Da série original (**Série I**), cinco compostos foram estudados neste trabalho: brometos de *N*-benzil-*N,N*-dimetil-2-(4-*X*-benzamido)etan-1-amônio substituídos (compostos **7** (*X*=Br), **8** (*X*=NO₂), **9** (*X*=CN), **10** (*X*=CF₃) e **11** (*X*=SO₂CH₃), **Figura 3.1**). Estes foram selecionados, pois apresentam diferentes substituintes na posição *para*-do anel aromático da benzamida, que conferem características bastante hidrofílicas (SO₂CH₃ ($\pi=-1,63$); CN ($\pi=-0,56$); e NO₂ ($\pi=-0,28$)) bem como lipofílicas (Br ($\pi=0,86$) e CF₃ ($\pi=0,88$)), assegurando que o estudo tenha uma faixa de variação de 2,5 unidades do parâmetro hidrofóbico π usado, inicialmente, para expressar a lipofilicidade de cada composto.

Além do parâmetro hidrofóbico relativo ao substituinte (π), analisou-se a lipofilicidade dos compostos **7**, **8**, **9**, **10** e **11**, também expressa pelo parâmetro hidrofóbico $\log P_{calc}$, preditos pelos programas computacionais CLOGP, ALOGPS,

Moka, ACD/LogP e Volsurf+. Observou-se, por exemplo usando o Volsurf+, uma faixa de 2,2 unidades de valores de $\log P_{calc}$, variando de -2,86 a -0,67, permitindo, desta forma, ampliar os estudos envolvendo o parâmetro hidrofóbico de compostos mais, e menos, hidrofílicos (vide **Tabela 5.6**).

Dentre os compostos da **Série I**, especificamente os compostos **8**, **9** e **11**, apresentam valores de $\log P_{app}$ bastante negativos, sendo altamente hidrofílicos (vide **Tabela 5.8**). Como descrito acima, esta alta hidrofílicidade acarreta dificuldades experimentais nas medições do parâmetro hidrofóbico ($\log P_{app}$) destes, podendo ser minimizadas pelo uso de contraíons hidrofóbicos. Assim, a seleção destes compostos altamente hidrofílicos e permanentemente carregados, permite verificar se a aplicação do conceito do par iônico, e avaliação dos seus efeitos sobre o parâmetro hidrofóbico, pode ser utilizada como estratégia metodológica e, então, extrapolada para outros compostos hidrofílicos e permanentemente carregados.

5.2.2 *n*-octil sulfato de sódio (OcS) como contraíon hidrofóbico

Escolha do *n*-octil sulfato de sódio (OcS) como contraíon hidrofóbico

O sal orgânico utilizado como contraíon neste trabalho foi o *n*-octil sulfato de sódio (OcS). Este apresenta o grupo aniônico sulfato bem como uma cadeia longa, grande e hidrofóbica (**Figura 3.2**), atribuindo a este um alto valor de $\log P$, de acordo com a **Tabela 5.1**.

Os valores de $\log P$ do OcS foram obtidos por cálculo, usando programas computacionais. Os resultados estão apresentados na **Tabela 5.1**.

Tabela 5.1. Valores do coeficiente de partição preditos, $\log P_{calc}$, pelos programas CLOGP, ALOGPS, Moka e ACD/LogP, respectivamente, para o n-octil sulfato de sódio (OcS).

Composto	Valores do coeficiente de partição preditos pelos programas			
	CLOGP	ALOGPS	Moka	ACD/LogP
OcS	4,579	1,94	1,0	3,27 ($\pm 0,61$)

Na **Tabela 5.1**, observa-se, com exceção do Moka, altos valores de $\log P_{calc}$ do OcS preditos pelos programas, ou seja, indicando alta hidrofobicidade do composto. Estes resultados sugerem que o uso do OcS como contraíon é bastante apropriado para estudos de aplicação do conceito do par iônico.

Ainda na **Tabela 5.1**, o valor de 3,27 ($\pm 0,61$) predito pelo programa ACD/LogP está no limite da faixa de valores de $\log P$ possíveis de serem determinados pelo método *shake-flask*, dificultando a determinação experimental do $\log P$ do OcS, por este método.

Assim, o valor de $\log P$ para o OcS só foi obtido por cálculo e não pôde ser determinado experimentalmente por *shake-flask*, como explicado a seguir. O método *shake-flask* requer baixas concentrações do composto, que são determinadas, em geral, espectrofotometricamente. Observou-se que o OcS absorve na região UV (comprimento de onda de $\lambda_{max} = 227$ nm), apresentando, no entanto, absorvância significativa (0,420) apenas para altas concentrações de solução aquosa de OcS (0,240 M), ou seja, acima da sua concentração micelar crítica (CMC), que é igual a 0,120 M (Xing, 2007). Nestas condições experimentais, como descrito na literatura, o uso de soluções aquosas de OcS altamente concentradas dificultaria a determinação do seu valor de $\log P$ por *shake-flask* pois: o método requer o uso de baixas concentrações do composto; dificilmente seria observada a aplicação da lei de *Lambert-Beer* e, seriam observadas dificuldades experimentais com possível formação de emulsão/espuma durante os experimentos.

Adicionalmente, o OcS apresenta um caráter surfactante, desta forma, durante os procedimentos experimentais, os devidos cuidados (como por exemplo, evitar agitação magnética muito veloz e/ou variação excessiva de temperatura) foram tomados (OECD, 1995).

Como apresentado na **Introdução**, na literatura encontram-se alguns estudos visando avaliar os efeitos de contraíons sobre o $\log P$ de compostos permanentemente carregados. Nestes foram utilizados outros contraíons lipofílicos que apresentam, no entanto, semelhanças estruturais ao OcS, como descrito a seguir.

Nos estudos de Takacs-Novak & Szasz (1999), foram utilizados como contraíons ácido capróico (com cadeia linear longa de hidrocarbonetos) e *p*-toluenossulfônico (grupo sulfonato), verificando-se um aumento de até 40 vezes nos valores do coeficiente de partição de sais de amônio quaternário. Koufopoulou *et al.* (2006) mostraram que o uso do *n*-octil sulfonato de sódio (cadeia linear longa de hidrocarbonetos e grupo sulfonato) como contraíon também levou um aumento nos valores do coeficiente de partição dos compostos estudados.

Deste modo, o OcS pôde ser usado como contraíon nas determinações dos valores de $\log P$ dos compostos estudados neste trabalho (brometos de amônio quaternários permanentemente carregados), para avaliar os seus respectivos efeitos sobre este parâmetro hidrofóbico, por possível formação de par iônico.

5.3 Identificação e caracterização dos compostos estudados

5.3.1 Brometos de amônio quaternários

Conforme mencionado anteriormente, os brometos de *N*-benzil-*N,N*-dimetil-2-(4-*X*-benzamido)etan-1-amônio substituídos (compostos **7** ($X=Br$), **8** ($X=NO_2$), **9**

(X=CN), **10** (X=CF₃) e **11** (X=SO₂CH₃) da **Série I (Figura 3.1)** foram previamente sintetizados no grupo (Siqueira, 2001). Embora os compostos estavam disponíveis para uso no laboratório, estes foram reavaliados quanto aos graus de pureza, a partir da determinação de ponto de fusão bem como por análise elementar.

Dentro do erro experimental, os valores de ponto de fusão obtidos para os compostos **7**, **8**, **9**, **10** e **11** concordaram com os determinados previamente por Siqueira (2001) (vide **Tabela 4.1**). Até o presente trabalho, não existe na literatura, outras referências que descrevem os valores de *PF* para estes compostos.

De acordo com os resultados apresentados na **Tabela 4.2**, os compostos **7**, **8**, **9**, **10** e **11** apresentaram graus de pureza satisfatórios (Jocs, 2013) verificados por análise elementar, como discutido a seguir.

Recomendações da literatura (Jocs, 2013) foram seguidas e usadas como critério para analisar o grau de pureza dos compostos por análise elementar. De acordo com estas recomendações, as diferenças entre os valores das análises elementares (em %, de C, de H e de N) obtidos experimentalmente e calculados, não deve exceder o valor de 0,4%. E ainda, quando considerada a presença de moléculas de água para cada molécula de composto, esta deve ser confirmada pela análise do composto por outras técnicas como, por exemplo, pela presença de um pico referente à água no espectro de *RMN¹H*.

Nas análises elementares de C, de H e de N calculadas, para os compostos **8**, **9** e **10** foi necessário considerar a presença de 1 molécula de água para cada molécula do composto (vide **Tabela 4.2**), para que se observasse concordância entre os valores calculados e experimentais, como recomendado na literatura (Jocs,

2013). Ainda, foram observados para os compostos **8**, **9** e **10** picos referentes à água nos respectivos espectros de RMN^1H (vide **Tabela 4.3**).

Os compostos **7**, **8**, **9**, **10** e **11** foram identificados e caracterizados pelos correspondentes espectros na região do *IV*, de RMN^1H e de $RMN^{13}C$. Os valores dos deslocamentos químicos observados nos espectros de RMN^1H , de $RMN^{13}C$ e das posições das bandas de absorção características na região do infravermelho, para os compostos estudados estão apresentados, respectivamente, nas **Tabelas 4.3**, **4.4** e **4.5**. Todas as técnicas foram aplicadas com sucesso para estes, que apresentaram espectros coerentes com as suas estruturas.

5.3.2 Reagente comercial *n*-octil sulfato de sódio (OcS)

O reagente comercial *n*-octil sulfato de sódio, OcS, de ambas procedências (de fabricante não-especificado e fabricado pela *Alfa Aesar*), foram identificados com sucesso, apresentando alto grau de pureza de acordo com seus valores de *PF* (em °C) que concordaram, dentro do erro experimental, com o da literatura. Ainda, o OcS foi identificado pelo correspondente espectro na região do *IV* (vide **Tabela 4.6**). O espectro observado mostrou-se coerente com a estrutura e concordante com o da literatura (Biorad).

Desta maneira, a partir destes resultados, torna-se indiferente fazer menção quanto à utilização de um ou de outro, de acordo com as duas diferentes procedências do reagente OcS. Neste trabalho, o OcS de ambas procedências puderam ser considerados idênticos e representativos do contraíon hidrofóbico.

Estabilidade do *n*-octil sulfato de sódio (OcS)

Na literatura, até onde nos é conhecido, não foram encontrados estudos sistemáticos sobre a estabilidade do OcS frente à hidrólise. No entanto, para a

espécie análoga metil sulfato observa-se hidrólise espontânea a 25 °C, expressa pelo respectivo valor da constante de velocidade ($k = 2 \cdot 10^{-11} \text{ s}^{-1}$) (Wolfenden & Yuan, 2007). Considerando que o possível mecanismo de hidrólise deste e do OcS possam ser semelhantes, fez-se necessário verificar, neste trabalho, a estabilidade do OcS frente à hidrólise, à temperatura ambiente.

Para tanto, os valores de absorvância de três soluções aquosas de OcS de diferentes concentrações, respectivamente, de 0,060, de 0,119 e de 0,240 M foram medidos espectrofotometricamente, nos tempos inicial ($t = 0$ dias) e final ($t = 16$ dias) (vide **Tabela 4.7**). Esta análise foi feita no período de 16 dias, pois este corresponde ao máximo de tempo necessário para completar uma série de experimentos em que se utiliza uma mesma solução estoque de OcS.

Como pode ser observado na **Tabela 4.7**, o espectro no *UV* do OcS apresentou uma única banda de absorção máxima, no comprimento de onda de 227 nm. Neste comprimento de onda, os valores de absorvância do OcS observados na faixa de 0,104 a 0,426, não variaram significativamente no período analisado de 16 dias.

Ainda, os baixos valores de absorvância apresentado pelo OcS, devido ao seu baixo valor do coeficiente de absorvância molar em água, permite o seu uso como contra-íon nos experimentos de determinação de $\log P_{app}$ pelo método *shake-flask*. Estas características fazem com que o OcS não interfira significativamente nas determinações espectrofotométricas das concentrações dos brometos estudados neste trabalho, durante os estudos da partição.

5.4 Parâmetros hidrofóbicos

Neste trabalho, considerou-se como parâmetro hidrofóbico dos compostos estudados, os valores do coeficiente de partição obtidos por cálculo ($\log P_{calc}$) e

determinados experimentalmente ($\log P_{app}$), usando o sistema *n*-octanol/água como modelo para partição.

5.4.1 Obtenção dos valores do coeficiente de partição por cálculo ($\log P_{calc}$)

Os valores de $\log P_{calc}$ dos brometos de *N*-benzil-*N,N*-dimetil-2-(4-*X*-benzamido)etan-1-amônio substituídos (compostos **7** (*X*=Br), **8** (*X*=NO₂), **9** (*X*=CN), **10** (*X*=CF₃) e **11** (*X*=SO₂CH₃) da **Série I**) foram obtidos por cálculo usando cinco diferentes programas, a saber, CLOGP, ALOGPS, Moka, ACD/LogP e VolSurf+ (1.0.7.l), conforme apresentado na **Tabela 4.8**, no **item 4.2.1**.

Neste trabalho, os cinco programas usados para predizer os valores de $\log P_{calc}$ dos compostos baseiam-se em diferentes abordagens, permitindo, desta forma, verificar suas aplicabilidades e limitações. Como descrito na **Introdução**, os programas CLOGP e ACD/LogP usam a abordagem “*substructure-based*”, ou seja, as estruturas são “cortadas” em fragmentos ou em átomos e as contribuições das subestruturas são somadas. Por outro lado, os programas ALOGPS, Moka e VolSurf+ usam a abordagem “*property-based*”, na qual as estruturas são representadas em 3D e/ou por meio de descritores topológicos (Mannhold *et al.*, 2009).

Na **Tabela 4.8**, para o programa CLOGP, que não inclui correções tanto para compostos ionizáveis como para compostos com carga permanente, observam-se somente valores positivos de $\log P_{calc}$ para os compostos **7**, **8**, **9**, **10** e **11**, variando de 5,05 a 7,57. Estes apresentam uma faixa de variação de aproximadamente 2,5 unidades, sendo que o composto **11** apresentou-se como o menos lipofílico e o composto **10** o mais lipofílico. Para os demais programas, que consideram a ionização, os valores de $\log P_{calc}$ obtidos para os compostos foram todos negativos

(com exceção do composto **10** predito pelo ALOGPS, $\log P_{calc}=0,31$), e o composto **11** apresentou-se como o mais hidrofílico e os compostos **10** e/ou **7** os mais hidrofóbicos.

A seguir, é apresentada uma comparação entre os valores de $\log P_{calc}$ e $\log P_{app}$ obtidos para os compostos estudados neste trabalho.

Comparação entre os valores de $\log P_{calc}$ e de $\log P_{app}$

Para os compostos **7**, **8**, **9**, **10** e **11**, foi feita uma comparação entre os valores de $\log P$ obtidos, respectivamente, por cada programa ($\log P_{calc}$) e, diretamente por *shake-flask* ($\log P_{app}$) usando o sistema *n*-octanol/água para partição (apresentados adiante **item 5.4.2**).

Vale ressaltar que, de acordo com recomendações da literatura (Dearden & Bresnen, 1988; OECD, 1995), a faixa de variação aceitável é de $\pm 0,3$ unidades para os valores de $\log P_{app}$ medidos experimentalmente por *shake-flask*. Portanto, ao comparar valores de $\log P_{app}$ com valores de $\log P_{calc}$ deve-se considerar tanto esta faixa de variação, que é significativa, bem como as limitações inerentes ao poder de predição de cada programa.

Apesar destas limitações, neste trabalho, o poder de predição de cada programa foi analisado, levando-se em conta os mesmos critérios usados por Mannhold *et al.* (2009), apresentados na **Introdução**. Nestes, propõe-se considerar os valores de Δ (diferença entre valores de $\log P$ obtidos por cálculo e determinados experimentalmente) bem como os parâmetros estatísticos das regressões lineares entre os valores de $\log P_{calc}$ (obtidos, respectivamente, pelos programas CLOGP, ALOGPS, Moka, ACD/LogP e Volsurf+; apresentados na **Tabela 4.8**) e de $\log P_{app}$ (obtidos utilizando-se na partição água destilada (**A**) ou soluções aquosas de NaBr (**B** - para ajuste de força iônica, $I = 0,10$ M), vide adiante na **Tabela 5.8**). Ainda, de

acordo com este critério, os valores de Δ podem ser considerados “aceitável” (na faixa de 0,00 a 0,50), “duvidoso” (na faixa de 0,50 a 1,00) e, “inaceitável” (maior do que 1,00). A seguir, as comparações foram discutidas e apresentadas separadamente por programa.

$\log P_{calc}$ (CLOGP) vs $\log P_{app}$

Tabela 5.2. Valores dos coeficientes de partição dos brometos de *N*-benzil-*N,N*-dimetil-2-(4-*X*-benzamido)etan-1-amônio substituídos (compostos **7** (X=Br), **8** (X=NO₂), **9** (X=CN), **10** (X=CF₃) e **11** (X=SO₂CH₃) da **Série I**) obtidos por cálculo pelo programa CLOGP e determinados pelo método *shake-flask*, à 25 ± 1 °C, usando *n*-octanol (*psa*) como fase orgânica e, água destilada (**A**) ou soluções aquosas de NaBr (**B** - para ajuste de força iônica, *I* = 0,10 M) como fase aquosa, ambas *psa*.

Composto	$\log P_{calc}$		$\log P_{app}$		
	CLOGP	Fase Aquosa A ^(a)	Δ_A ^(c)	Fase Aquosa B ^(b)	Δ_B ^(c)
7 (X = Br)	7,55	-0,84 (± 0,04)	-8,39	0,99 (± 0,03)	-6,56
8 (X = NO ₂)	6,46	-1,35 (± 0,05)	-7,81	0,17 (± 0,06)	-6,29
9 (X = CN)	6,12	-1,54 (± 0,16)	-7,66	-0,25 (± 0,01)	-6,37
10 (X = CF ₃)	7,57	-0,76 (± 0,09)	-8,33	<i>nd</i> ^(d)	<i>nd</i> ^(d)
11 (X = SO ₂ CH ₃)	5,05	-1,73 (± 0,12)	-6,78	-1,18 (± 0,04)	-6,23

^(a): água destilada, *psa*; ^(b): solução aquosa de NaBr (para ajuste de força iônica, *I* = 0,10 M), *psa*; ^(c): Δ , diferença entre os correspondentes valores de $\log P$ obtidos por cálculo e determinados experimentalmente; ^(d): não determinado.

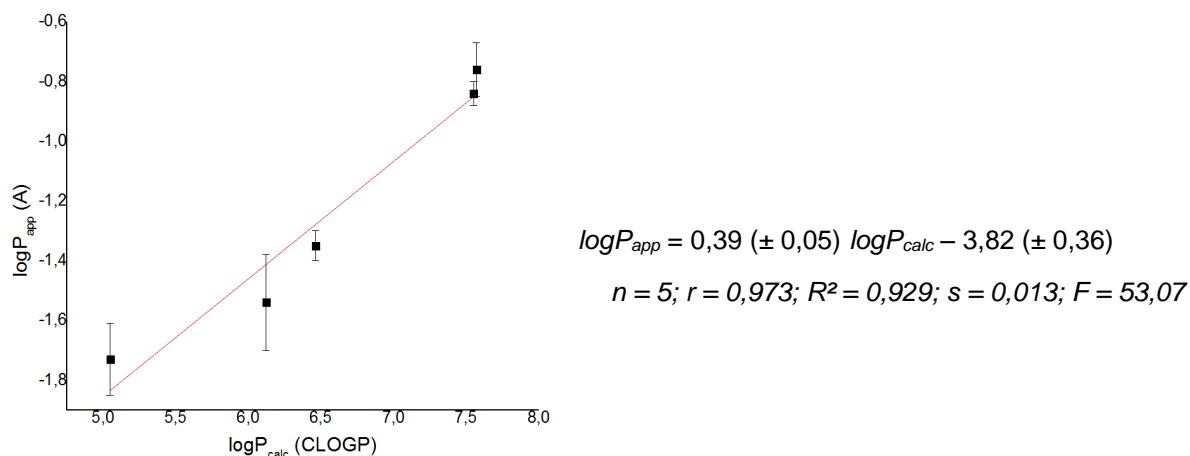


Figura 5.2. Correlação entre os valores de $\log P_{app}$ (determinados por *shake-flask*, usando *n*-octanol (*psa*) como fase orgânica e, água destilada (*psa*) como fase aquosa **A**) e de $\log P_{calc}$ (CLOGP) para os brometos de *N*-benzil-*N,N*-dimetil-2-(4-*X*-benzamido)etan-1-amônio substituídos (compostos **7** (X=Br), **8** (X=NO₂), **9** (X=CN), **10** (X=CF₃) e **11** (X=SO₂CH₃) da **Série I**).

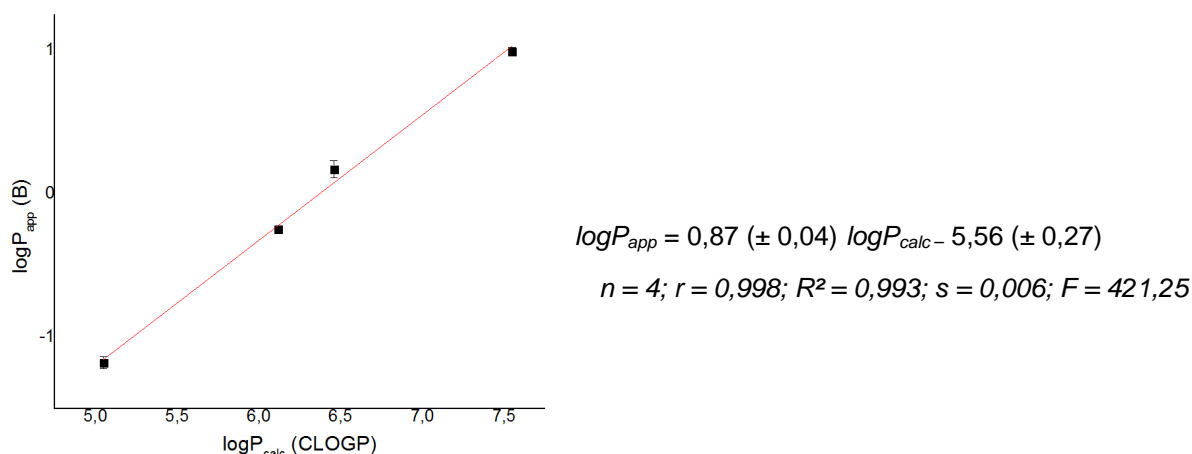


Figura 5.3. Correlação entre os valores de $\log P_{app}$ (determinados por *shake-flask*, usando *n*-octanol (*psa*) como fase orgânica e, soluções aquosas de NaBr (para ajuste de força iônica, $I = 0,10$ M - *psa*) como fase aquosa **B**) e de $\log P_{calc}$ (CLOGP) para os brometos de *N*-benzil-*N,N*-dimetil-2-(4-*X*-benzamido)etan-1-amônio substituídos (compostos **7** ($X=Br$), **8** ($X=NO_2$), **9** ($X=CN$) e **11** ($X=SO_2CH_3$) da **Série I**).

Como mencionado acima, observa-se na **Tabela 5.2** uma variação de 2,52 unidades entre os valores de $\log P_{calc}$ obtidos pelo CLOGP para os cinco compostos. O composto **10** apresenta o maior caráter lipofílico e o composto **11** o menor caráter lipofílico, de modo análogo ao observado para os resultados experimentais sem ajuste de força iônica (**A**).

Dentro do erro experimental, observa-se que tanto os valores de Δ_A como os de Δ_B apresentam diferenças significativas (maiores do que 1 unidade). De acordo com a literatura (Mannhold *et al.*, 2009), estes seriam considerados aparentemente “inaceitáveis”. Estas diferenças significativas, no entanto, podem ser explicadas pelos fragmentos e/ou interações ainda não descritas pelo CLOGP, que podem ser incluídos quando disponíveis.

Sabe-se que o programa CLOGP não considera a contribuição da ionização para a partição. Assim, o valor do coeficiente de partição calculado pelo CLOGP não inclui o fragmento N^+R_4 presente nos compostos estudados neste trabalho. A contribuição deste fragmento para a partição, quando considerada, resulta em valores negativos de $\log P_{calc}$, refletindo a baixa lipofilicidade destes compostos.

Ainda, os valores de Δ_B mantiveram-se constantes, dentro do erro experimental, sugerindo que a contribuição do grupo amônio quaternário para o valor do coeficiente de partição é constante, para os compostos estudados.

Pode-se observar nas Figuras 5.2 e 5.3 que há correlação entre os valores de $\log P_{app}$ e os respectivos $\log P_{calc}$. Embora as correlações tenham sido construídas utilizando-se apenas 5 ou 4 pontos, as correspondentes equações de retas obtidas por regressão linear mostram que os modelos foram bem ajustados aos dados (altos valores de R^2 e baixos valores de s), apresentando significância estatística (valores de $F > F_{tab}$).

$\log P_{calc}$ (ALOGPS) vs $\log P_{app}$

Tabela 5.3. Valores dos coeficientes de partição dos brometos de *N*-benzil-*N,N*-dimetil-2-(4-*X*-benzamido)etan-1-amônio substituídos (compostos **7** ($X=Br$), **8** ($X=NO_2$), **9** ($X=CN$), **10** ($X=CF_3$) e **11** ($X=SO_2CH_3$)) da **Série I**) obtidos por cálculo pelo programa ALOGPS e determinados pelo método *shake-flask*, à 25 ± 1 °C, usando *n*-octanol (*psa*) como fase orgânica e, água destilada (**A**) ou soluções aquosas de NaBr (**B** - para ajuste de força iônica, $I = 0,10$ M) como fase aquosa, ambas *psa*.

Composto	$\log P_{calc}$		$\log P_{app}$		$\Delta_B^{(c)}$
	ALOGPS	Fase Aquosa A ^(a)	$\Delta_A^{(c)}$	Fase Aquosa B ^(b)	
7 ($X = Br$)	-0,52	-0,84 ($\pm 0,04$)	-0,32	0,99 ($\pm 0,03$)	1,51
8 ($X = NO_2$)	-0,81	-1,35 ($\pm 0,05$)	-0,54	0,17 ($\pm 0,06$)	0,98
9 ($X = CN$)	-1,18	-1,54 ($\pm 0,16$)	-0,36	-0,25 ($\pm 0,01$)	0,93
10 ($X = CF_3$)	0,31	-0,76 ($\pm 0,09$)	-1,07	<i>nd</i> ^(d)	<i>nd</i> ^(d)
11 ($X = SO_2CH_3$)	-1,04	-1,73 ($\pm 0,12$)	-0,69	-1,18 ($\pm 0,04$)	-0,14

^(a): água destilada, *psa*; ^(b): solução aquosa de NaBr (para ajuste de força iônica, $I = 0,10$ M), *psa*; ^(c): Δ , diferença entre os correspondentes valores de $\log P$ obtidos por cálculo e determinados experimentalmente; ^(d): não determinado.

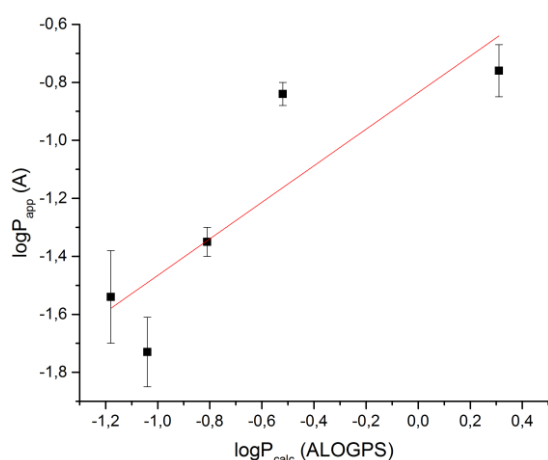


Figura 5.4. Correlação entre os valores de $\log P_{app}$ (determinados por *shake-flask*, usando *n*-octanol (*psa*) como fase orgânica e, água destilada (*psa*) como fase aquosa **A**) e de $\log P_{calc}$ (ALOGPS) para os brometos de *N*-benzil-*N,N*-dimetil-2-(4-*X*-benzamido)etan-1-amônio substituídos (compostos **7** ($X=Br$), **8** ($X=NO_2$), **9** ($X=CN$), **10** ($X=CF_3$) e **11** ($X=SO_2CH_3$)) da **Série I**).

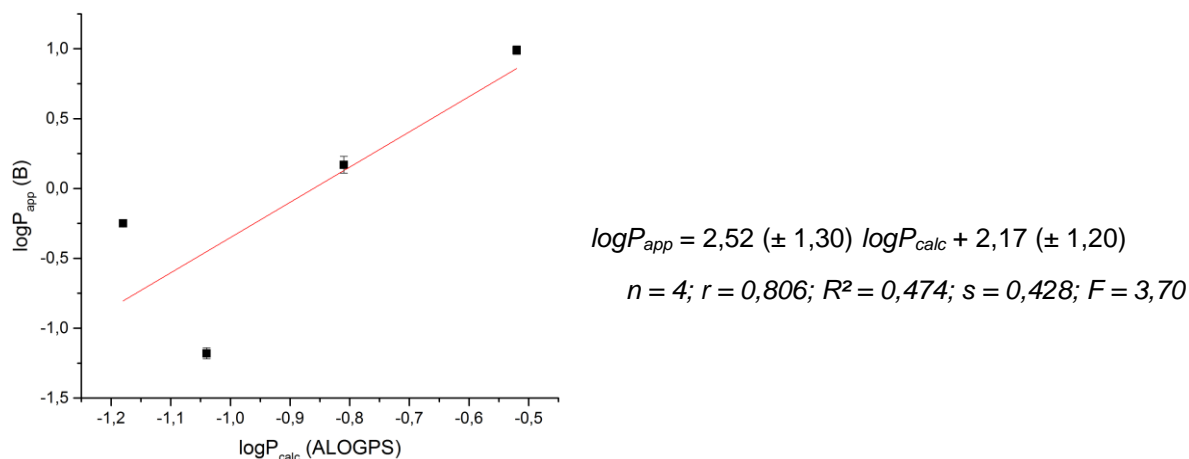


Figura 5.5. Correlação entre os valores de $\log P_{app}$ (determinados por *shake-flask*, usando *n*-octanol (*psa*) como fase orgânica e, soluções aquosas de NaBr (para ajuste de força iônica, $I = 0,10$ M - *psa*) como fase aquosa **B**) e de $\log P_{calc}$ (ALOGPS) para os brometos de *N*-benzil-*N,N*-dimetil-2-(4-*X*-benzamido)etan-1-amônio substituídos (compostos **7** ($X=Br$), **8** ($X=NO_2$), **9** ($X=CN$) e **11** ($X=SO_2CH_3$) da **Série I**).

Observa-se na **Tabela 5.3** uma variação de 1,49 unidades entre os valores de $\log P_{calc}$ obtidos pelo ALOGPS para os cinco compostos. O composto **10** apresenta-se com o maior caráter lipofílico e o composto **9** com o maior caráter hidrofílico.

Dentro do erro experimental e de acordo com a literatura (Mannhold *et al.*, 2009), observam-se 2 valores de Δ_A "aceitáveis" e 1 valor de Δ_B "aceitável",

Pode-se observar nas **Figuras 5.4** e **5.5** que há baixa correlação entre os valores de $\log P_{app}$ e os respectivos $\log P_{calc}$. Além das correlações terem sido construídas utilizando-se apenas 5 ou 4 pontos, as correspondentes equações de retas obtidas por regressão linear mostram que os modelos não foram bem ajustados aos dados (valores de R^2 próximos de 0,5 e valores de s igual ou menor do que 0,4), não apresentando significância estatística (valores de $F < F_{tab}$).

$\log P_{calc}$ (Moka) vs $\log P_{app}$

Tabela 5.4. Valores dos coeficientes de partição dos brometos de *N*-benzil-*N,N*-dimetil-2-(4-*X*-benzamido)etan-1-amônio substituídos (compostos **7** (*X*=Br), **8** (*X*=NO₂), **9** (*X*=CN), **10** (*X*=CF₃) e **11** (*X*=SO₂CH₃) da **Série I**) obtidos por cálculo pelo programa Moka e determinados pelo método *shake-flask*, à 25 ± 1 °C, usando *n*-octanol (*psa*) como fase orgânica e, água destilada (**A**) ou soluções aquosas de NaBr (**B** - para ajuste de força iônica, *I* = 0,10 M) como fase aquosa, ambas *psa*.

Composto	$\log P_{calc}$		$\log P_{app}$		
	Moka	Fase Aquosa A ^(a)	Δ_A ^(c)	Fase Aquosa B ^(b)	Δ_B ^(c)
7 (<i>X</i> = Br)	-0,7	-0,84 (± 0,04)	-0,14	0,99 (± 0,03)	1,69
8 (<i>X</i> = NO ₂)	-1,7	-1,35 (± 0,05)	0,35	0,17 (± 0,06)	1,87
9 (<i>X</i> = CN)	-1,9	-1,54 (± 0,16)	0,36	-0,25 (± 0,01)	1,65
10 (<i>X</i> = CF ₃)	-0,7	-0,76 (± 0,09)	-0,06	<i>nd</i> ^(d)	<i>nd</i> ^(d)
11 (<i>X</i> = SO ₂ CH ₃)	-2,9	-1,73 (± 0,12)	1,17	-1,18 (± 0,04)	1,72

(a): água destilada, *psa*; (b): solução aquosa de NaBr (para ajuste de força iônica, *I* = 0,10 M), *psa*; (c): Δ , diferença entre os correspondentes valores de $\log P$ obtidos por cálculo e determinados experimentalmente; (d): não determinado.

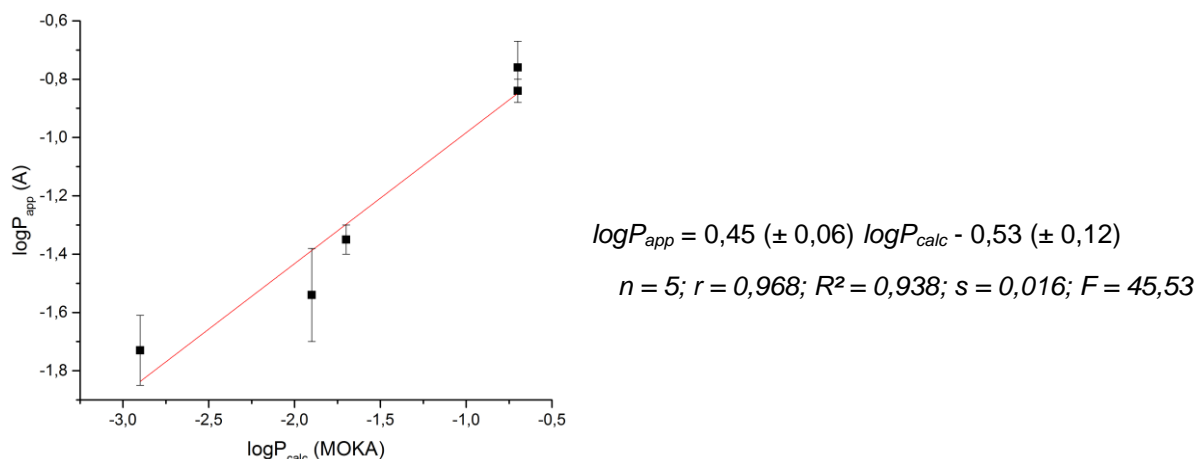


Figura 5.6. Correlação entre os valores de $\log P_{app}$ (determinados por *shake-flask*, usando *n*-octanol (*psa*) como fase orgânica e, água destilada (*psa*) como fase aquosa **A**) e de $\log P_{calc}$ (Moka) para os brometos de *N*-benzil-*N,N*-dimetil-2-(4-*X*-benzamido)etan-1-amônio substituídos (compostos **7** (*X*=Br), **8** (*X*=NO₂), **9** (*X*=CN), **10** (*X*=CF₃) e **11** (*X*=SO₂CH₃) da **Série I**).

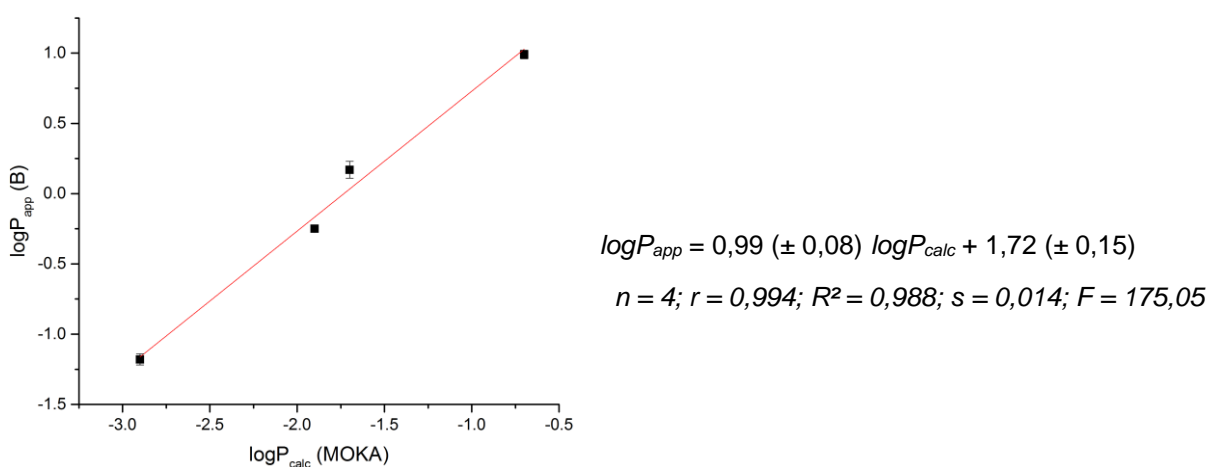


Figura 5.7. Correlação entre os valores de $\log P_{app}$ (determinados por *shake-flask*, usando *n*-octanol (*psa*) como fase orgânica e, soluções aquosas de NaBr (para ajuste de força iônica, *I* = 0,10 M - *psa*) como fase aquosa **B**) e de $\log P_{calc}$ (Moka) para os brometos de *N*-benzil-*N,N*-dimetil-2-(4-*X*-benzamido)etan-1-amônio substituídos (compostos **7** (*X*=Br), **8** (*X*=NO₂), **9** (*X*=CN) e **11** (*X*=SO₂CH₃) da **Série I**).

Observa-se na **Tabela 5.4** uma variação de 2,2 unidades entre os respectivos valores de $\log P_{calc}$ obtidos pelo Moka para os cinco compostos. Os compostos **10** ou **7** apresentam-se com maior caráter lipofílico e o composto **11** com o maior caráter hidrofílico, de modo análogo ao observado para os resultados experimentais sem ajuste de força iônica (**A**). Dentro do erro experimental e de acordo com a literatura (Mannhold *et al.*, 2009), observam-se 4 valores de Δ_A “aceitáveis” e 4 valores de Δ_B “inaceitáveis”.

Pode-se observar nas **Figuras 5.6 e 5.7** que há correlação entre os valores de $\log P_{app}$ e os respectivos $\log P_{calc}$. Embora as correlações tenham sido construídas utilizando-se apenas 5 ou 4 pontos, as correspondentes equações de retas obtidas por regressão linear mostram que os modelos foram bem ajustados aos dados (altos valores de R^2 e baixos valores de s), apresentando significância estatística (valores de $F > F_{tab}$).

Os programas Moka e Volsurf+ utilizam o mesmo algoritmo para prever valores de $\log P_{calc}$, por isso os resultados observados são próximos. No entanto, o Volsurf+ disponibiliza resultados com maior número de algarismos significativos. Desta forma, neste trabalho, optou-se por considerar os valores obtidos pelo Volsurf+ na discussão e na conclusão dos resultados.

$\log P_{calc}$ (ACD/LogP) vs $\log P_{app}$

Tabela 5.5. Valores dos coeficientes de partição dos brometos de *N*-benzil-*N,N*-dimetil-2-(4-*X*-benzamido)etan-1-amônio substituídos (compostos **7** ($X=Br$), **8** ($X=NO_2$), **9** ($X=CN$), **10** ($X=CF_3$) e **11** ($X=SO_2CH_3$) da **Série I**) obtidos por cálculo pelo programa ACD/LogP e determinados pelo método *shake-flask*, à 25 ± 1 °C, usando *n*-octanol (*psa*) como fase orgânica e, água destilada (**A**) ou soluções aquosas de NaBr (**B** - para ajuste de força iônica, $I = 0,10$ M) como fase aquosa, ambas *psa*.

Composto	$\log P_{calc}$		$\log P_{app}$		
	ACD/LogP	Fase Aquosa A ^(a)	Δ_A ^(c)	Fase Aquosa B ^(b)	Δ_B ^(c)
7 ($X = Br$)	-0,48 ($\pm 0,48$)	-0,84 ($\pm 0,04$)	-0,36	0,99 ($\pm 0,03$)	1,47
8 ($X = NO_2$)	-1,26 ($\pm 0,57$)	-1,35 ($\pm 0,05$)	-0,09	0,17 ($\pm 0,06$)	1,43
9 ($X = CN$)	-1,77 ($\pm 0,45$)	-1,54 ($\pm 0,16$)	0,23	-0,25 ($\pm 0,01$)	1,52
10 ($X = CF_3$)	-0,46 ($\pm 0,46$)	-0,76 ($\pm 0,09$)	-0,30	<i>nd</i> ^(d)	<i>nd</i> ^(d)
11 ($X = SO_2CH_3$)	-2,69 ($\pm 0,49$)	-1,73 ($\pm 0,12$)	0,96	-1,18 ($\pm 0,04$)	1,51

^(a): água destilada, *psa*; ^(b): solução aquosa de NaBr (para ajuste de força iônica, $I = 0,10$ M), *psa*; ^(c): Δ , diferença entre os correspondentes valores de $\log P$ obtidos por cálculo e determinados experimentalmente; ^(d): não determinado.

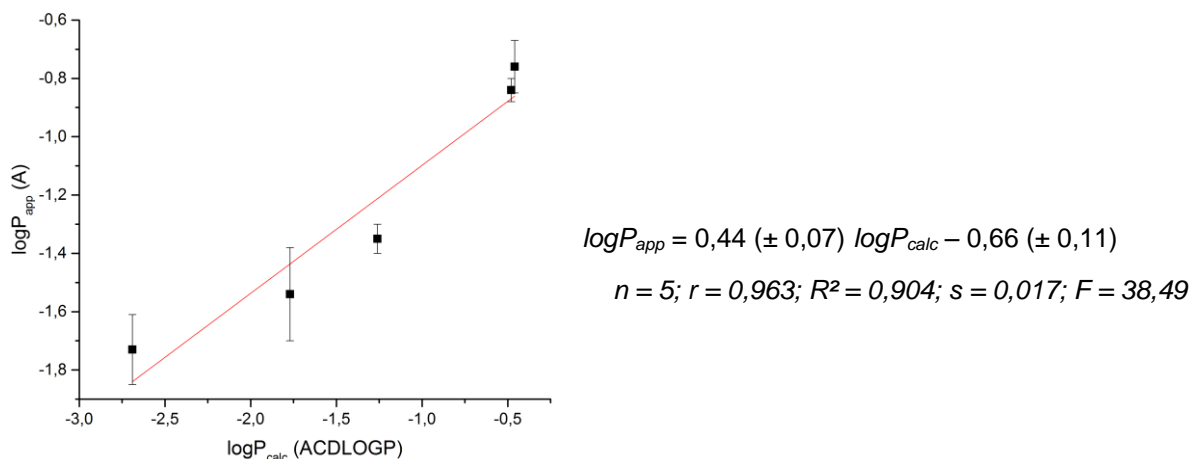


Figura 5.8. Correlação entre os valores de $\log P_{app}$ (determinados por *shake-flask*, usando *n*-octanol (*psa*) como fase orgânica e, água destilada (*psa*) como fase aquosa **A**) e de $\log P_{calc}$ (ACD/LogP) para os brometos de *N*-benzil-*N,N*-dimetil-2-(4-*X*-benzamido)etan-1-amônio substituídos (compostos **7** (*X*=Br), **8** (*X*=NO₂), **9** (*X*=CN), **10** (*X*=CF₃) e **11** (*X*=SO₂CH₃) da **Série I**).

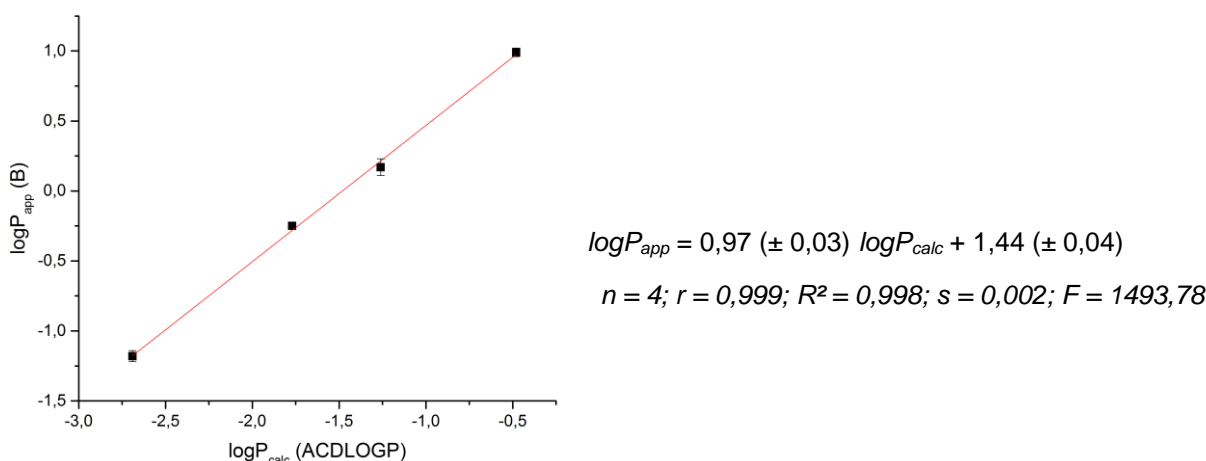


Figura 5.9. Correlação entre os valores de $\log P_{app}$ (determinados por *shake-flask*, usando *n*-octanol (*psa*) como fase orgânica e, soluções aquosas de NaBr (para ajuste de força iônica, *I* = 0,10 M - *psa*) como fase aquosa **B**) e de $\log P_{calc}$ (ACD/LogP) para os brometos de *N*-benzil-*N,N*-dimetil-2-(4-*X*-benzamido)etan-1-amônio substituídos (compostos **7** (*X*=Br), **8** (*X*=NO₂), **9** (*X*=CN) e **11** (*X*=SO₂CH₃) da **Série I**).

Observa-se na **Tabela 5.5** uma variação de 2,23 unidades entre os respectivos valores de $\log P_{calc}$ obtidos pelo ACD/LogP para os cinco compostos. O composto **10** apresenta-se com o maior caráter lipofílico e o composto **11** com o maior caráter hidrofílico, de modo análogo ao observado para os resultados experimentais sem ajuste de força iônica (**A**).

Dentro do erro experimental e de acordo com a literatura (Mannhold *et al.*, 2009), observam-se 4 valores de Δ_A “aceitáveis” e nenhum valor de Δ_B “aceitável”, mostrando que as predições dos valores de $\log P_{calc}$ usando o programa ACD/LogP

foram mais próximas dos valores de $\log P_{app}$, determinados usando água destilada (pso) como fase aquosa **A**. Ou seja, quando não se considerou, na partição, a presença de outros íons que pudessem influenciar a partição de compostos carregados positivamente (experimentos sem ajuste de força iônica).

Ainda, considerando-se os valores de Δ_A , observa-se, dentre os compostos estudados, o maior valor de Δ_A para o composto mais hidrofílico (**11**), ou seja, não concordância, dentro do erro experimental, entre os respectivos valores de $\log P_{calc}$ e $\log P_{app}$. Sugerindo que o programa apresenta limitações na predição de valores de $\log P_{calc}$ para compostos bastante hidrofílicos, além das limitações associadas ao método *shake-flask* nesta faixa de valores.

Pode-se observar nas **Figuras 5.8 e 5.9** que há correlação entre os valores de $\log P_{app}$ e os respectivos $\log P_{calc}$. Embora as correlações tenham sido construídas utilizando-se apenas 5 ou 4 pontos, as correspondentes equações de retas obtidas por regressão linear mostram que os modelos foram bem ajustados aos dados (altos valores de R^2 e baixos valores de s), apresentando significância estatística (valores de $F > F_{tab}$).

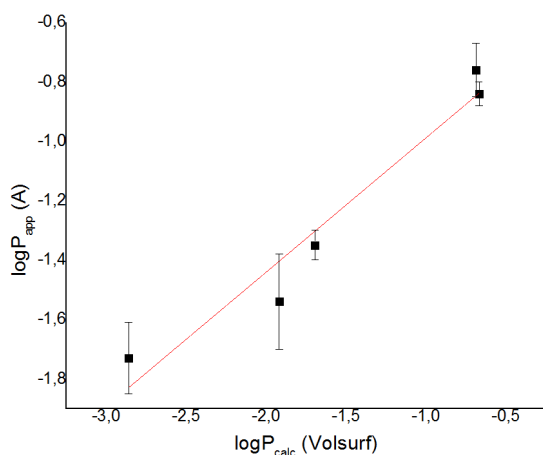
Os valores obtidos pelo ACD/LogP, apesar de utilizar a mesma abordagem que o programa CLOGP, ou seja, por fragmentos, apresentaram valores mais próximos aos experimentais, dentro do erro experimental, pois o ACD/LogP considera a contribuição do fragmento N^+R_4 para a partição.

$\log P_{calc}$ (Volsurf+) vs $\log P_{app}$

Tabela 5.6. Valores dos coeficientes de partição dos brometos de *N*-benzil-*N,N*-dimetil-2-(4-*X*-benzamido)etan-1-amônio substituídos (compostos **7** (*X*=Br), **8** (*X*=NO₂), **9** (*X*=CN), **10** (*X*=CF₃) e **11** (*X*=SO₂CH₃) da **Série I**) obtidos por cálculo pelo programa Volsurf+ e determinados pelo método *shake-flask*, à 25 ± 1 °C, usando *n*-octanol (*psa*) como fase orgânica e, água destilada (**A**) ou soluções aquosas de NaBr (**B** - para ajuste de força iônica, *I* = 0,10 M) como fase aquosa, ambas *psa*.

Composto	$\log P_{calc}$	$\log P_{app}$			
	Volsurf+	Fase Aquosa A ^(a)	Δ_A ^(c)	Fase Aquosa B ^(b)	Δ_B ^(c)
7 (<i>X</i> = Br)	-0,67	-0,84 (± 0,04)	0,17	0,99 (± 0,03)	-1,66
8 (<i>X</i> = NO ₂)	-1,69	-1,35 (± 0,05)	-0,34	0,17 (± 0,06)	-1,86
9 (<i>X</i> = CN)	-1,92	-1,54 (± 0,16)	-0,38	-0,25 (± 0,01)	-1,67
10 (<i>X</i> = CF ₃)	-0,69	-0,76 (± 0,09)	0,07	<i>nd</i> ^(d)	<i>nd</i> ^(d)
11 (<i>X</i> = SO ₂ CH ₃)	-2,86	-1,73 (± 0,12)	-1,13	-1,18 (± 0,04)	-1,68

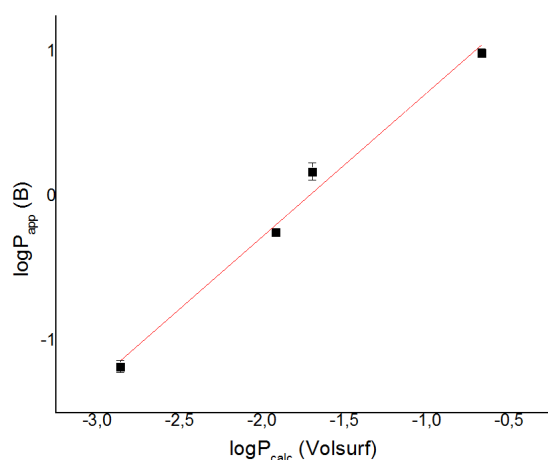
(a): água destilada, *psa*; (b): solução aquosa de NaBr (para ajuste de força iônica, *I* = 0,10 M), *psa*; (c): Δ , diferença entre os correspondentes valores de $\log P$ obtidos por cálculo e determinados experimentalmente; (d): não determinado.



$$\log P_{app} = 0,45 (\pm 0,06) \log P_{calc} - 0,54 (\pm 0,11)$$

$$n = 5; r = 0,973; R^2 = 0,930; s = 0,060; F = 54,18$$

Figura 5.10. Correlação entre os valores de $\log P_{app}$ (determinados por *shake-flask*, usando *n*-octanol (*psa*) como fase orgânica e, água destilada (*psa*) como fase aquosa **A**) e de $\log P_{calc}$ (Volsurf+) para os brometos de *N*-benzil-*N,N*-dimetil-2-(4-*X*-benzamido)etan-1-amônio substituídos (compostos **7** (*X*=Br), **8** (*X*=NO₂), **9** (*X*=CN), **10** (*X*=CF₃) e **11** (*X*=SO₂CH₃) da **Série I**).



$$\log P_{app} = 0,99 (\pm 0,08) \log P_{calc} + 1,71 (\pm 0,15)$$

$$n = 4; r = 0,994; R^2 = 0,982; s = 0,014; F = 167,59$$

Figura 5.11. Correlação entre os valores de $\log P_{app}$ (determinados por *shake-flask*, usando *n*-octanol (*psa*) como fase orgânica e, soluções aquosas de NaBr (para ajuste de força iônica, *I* = 0,10 M - *psa*) como fase aquosa **B**) e de $\log P_{calc}$ (Volsurf+) para os brometos de *N*-benzil-*N,N*-dimetil-2-(4-*X*-benzamido)etan-1-amônio substituídos (compostos **7** (*X*=Br), **8** (*X*=NO₂), **9** (*X*=CN) e **11** (*X*=SO₂CH₃) da **Série I**).

Observa-se na **Tabela 5.6** uma variação de 2,19 unidades entre os valores de $\log P_{calc}$ obtidos pelo Volsurf+ para os cinco compostos. O composto **7** apresenta-se com o maior caráter lipofílico e o composto **11** com o maior caráter hidrofílico.

Dentro do erro experimental e de acordo com a literatura (Mannhold *et al.*, 2009), observam-se 4 valores de Δ_A “aceitáveis” e nenhum valor de Δ_B “aceitável”, mostrando que as predições dos valores de $\log P_{calc}$ usando o programa Volsurf+ foram mais próximas dos valores de $\log P_{app}$, determinados usando água destilada (*pso*) como fase aquosa **A**. Ou seja, quando não se considerou, na partição, a presença de outros íons que pudessem influenciar a partição de compostos carregados positivamente (experimentos sem ajuste de força iônica).

Pode-se observar nas **Figuras 5.10** e **5.11** que há alta correlação entre os valores de $\log P_{app}$ e os respectivos $\log P_{calc}$. Embora as correlações tenham sido construídas utilizando-se apenas 5 ou 4 pontos, as correspondentes equações das retas obtidas por regressão linear mostram que os modelos foram bem ajustados aos dados (altos valores de R^2 e baixos valores de s), apresentando significância estatística (valores de $F > F_{tab}$), e ainda, indicando que o programa Volsurf+ apresenta um alto poder de predição.

Considerações finais sobre a comparação entre os valores de $\log P_{calc}$ e de $\log P_{app}$

Dentre os programas utilizados para a obtenção dos valores de $\log P_{calc}$ dos compostos **7**, **8**, **9**, **10** e **11**, por cálculo, o programa Volsurf+ apresentou um maior poder de predição, de acordo com os critérios da literatura (Mannhold *et al.*, 2009).

Dentro do erro experimental, foi observada correlação significativa entre os valores de $\log P_{app}$ (**A**) e $\log P_{calc}$ (Volsurf+), assim como 4 valores de Δ_A “aceitáveis”.

Por outro lado, também foi observada correlação significativa entre os valores de $\log P_{app}$ (**B**) e $\log P_{calc}$ (Volsurf+), no entanto nenhum valor de Δ_B “aceitável”.

As correlações significativas observadas entre os valores de $\log P_{calc}$ (Volsurf+) e os correspondentes valores de $\log P_{app}$ (**A** ou **B**) indicam o quanto os valores obtidos por cálculo simulam adequadamente as interações hidrofóbicas reais que ocorrem durante a partição de cada composto no sistema de solventes *n*-octanol/água, usado nas determinações experimentais por *shake-flask*.

Além do mais, o Volsurf+ apresentou, neste estudo, um maior poder de predição usando a abordagem “*property-based*”. Isso reforça que é importante considerar as estruturas dos compostos representadas em 3D e/ou pelos descritores topológicos na descrição das interações hidrofóbicas, no cálculo dos valores de $\log P$.

Por fim, como mencionado acima, tanto para o programa Volsurf+ como para o programa ACD/LogP, observaram-se, dentre os compostos estudados, maiores valores de Δ_A para o composto mais hidrofílico (**11**). Ou seja, verifica-se maior divergência, dentro do erro experimental, entre os respectivos valores de $\log P_{calc}$ e $\log P_{app}$ para este composto. Constatou-se dessa forma que o programa apresenta limitações na predição de valores de $\log P_{calc}$ para compostos bastante hidrofílicos, além das limitações associadas ao método *shake-flask* nesta faixa de valores.

Como mencionado na **Introdução** deste trabalho, os valores de $\log P$ preditos por programas devem sempre ser validados pelos correspondentes valores obtidos por métodos experimentais como, por exemplo, pelo método *shake-flask*, utilizando os solventes *n*-octanol/água como sistema de partição. Especialmente quando se estuda a lipofilicidade de compostos ionizáveis ou permanentemente carregados, como os sais de amônio quaternários (Mannhold *et al.*, 2009).

5.4.2 Determinação dos valores do coeficiente de partição por *shake-flask* ($\log P_{app}$)

Os valores do coeficiente de partição dos brometos de *N*-benzil-*N,N*-dimetil-2-(4-*X*-benzamido)etan-1-amônio substituídos (compostos **7** (*X*=Br), **8** (*X*=NO₂), **9** (*X*=CN), **10** (*X*=CF₃) e **11** (*X*=SO₂CH₃) da **Série I**) foram determinados de acordo com procedimentos da literatura (Dearden & Bresnen, 1988; OECD, 1995; Amaral *et al.*, 1997), descritos em **Materiais e Métodos**. Estes foram determinados em duplicata, pelo método *shake-flask*, à 25 ± 1 °C, usando *n*-octanol (*psa*) como fase orgânica e, água destilada (**A**) ou soluções aquosas de NaBr (**B** - para ajuste de força iônica, *I* = 0,10 M) como fases aquosas, sendo estas últimas *pso*.

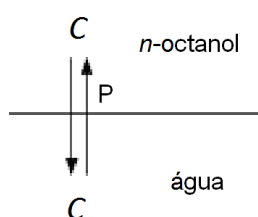


Figura 5.12. Representação esquemática do equilíbrio atingido na partição de um composto genérico (C), neutro ou não ionizável, no sistema *n*-octanol/água.

Considerando-se que as determinações experimentais do coeficiente de partição devem ser obtidas em condições onde se alcança o equilíbrio, deve-se ajustar e controlar rigorosamente a temperatura durante os experimentos. Desta forma, todos os experimentos foram realizados a 25 ± 1 °C, em sala com temperatura controlada utilizando um banho termostaticado, durante a pré-saturação e a partição e, ainda, uma centrífuga com controle de temperatura, visando manter a temperatura constante durante todas as etapas da partição. A falta de controle da temperatura durante a partição é um dos fatores responsáveis pela não reprodutibilidade das determinações experimentais dos valores de $\log P$ (Dearden & Bresnen, 1988, Malvezzi & Amaral, 2010).

As fases aquosa/orgânica foram mutuamente pré-saturadas para manter tanto a relação de volumes das fases orgânica/aquosa não alterada, antes e depois da partição, bem como evitar a contribuição da dessolvatação do composto para a partição, durante este processo. De acordo com Dearden & Bresnen (1988) a pré-saturação mútua das fases orgânica/aquosa deve ser feita sob agitação constante, por um período mínimo de 8 horas, em um banho termostaticado, com temperatura controlada. A temperatura do banho deve ser a mesma a ser utilizada no procedimento de partição.

Após este período de pré-saturação das fases orgânica/aquosa (com agitador magnético), estas foram separadas em centrífuga com temperatura controlada, acelerando-se, desta maneira, a separação das mesmas.

Os valores dos volumes das fases aquosa/orgânica utilizados em cada experimento para a determinação dos valores de $\log P$ dos compostos **7, 8, 9, 10 e 11** estão apresentados nas **Tabelas 4.10, 4.11, 4.12, 4.13 e 4.14, item 4.2.2**. Os volumes das fases aquosa/orgânica foram calculados baseando-se nos valores de $\log P$ estimado para cada composto (planejamento do experimento, **item 3.5.2**). Para compostos lipofílicos (valores de $\log P$ estimados maiores do que zero) foram utilizados volumes da fase aquosa maiores que os correspondentes volumes da fase orgânica. De modo contrário, para compostos hidrofílicos (valores de $\log P$ estimados menores do que zero) foram utilizados volumes da fase aquosa menores do que os correspondentes volumes da fase orgânica. Este procedimento visa garantir que as concentrações do composto na fase aquosa, no final da partição, sejam adequadas dentro do limite de detecção do espectrofotômetro. Desta forma, a razão entre o valor do coeficiente de partição (P) e a relação dos volumes das fases

aquosa/orgânica (R_v), ou seja, a razão P/R_v variou numa faixa de 0,1 – 35,0 (Dearden & Bresnen, 1988; Amaral *et al.*, 1997).

A faixa de concentração inicial de cada um dos compostos utilizada na partição variou de 0,00005 a 0,00007 M. Esta faixa de valores se encontra dentro da faixa de detecção do espectrofotômetro utilizado, para determinação das concentrações dos compostos antes e depois da partição, e na faixa de concentração em que a lei de *Lambert-Beer* é observada. Além disso, a concentração dos compostos deve ser sempre baixa para manter os valores das concentrações próximas ao dos valores de atividade molar, que correspondem as concentrações tendendo a zero (Dearden & Bresnen, 1988).

A estabilidade de cada um dos compostos, durante a partição, foi também avaliada observando-se as absorbâncias dos mesmos antes e depois da partição. O grau de decomposição observado foi menor ou igual a 5% para todos os compostos da série estudada, para o período de 60 minutos.

A determinação das concentrações do composto, antes e depois da partição, foi feita somente na fase aquosa. A determinação da concentração do composto nas duas fases é essencial, somente quando os compostos em estudo são voláteis ou podem sofrer adsorção, o que não ocorre com os compostos estudados (Dearden & Bresnen, 1988; Amaral *et al.*, 1997).

Neste trabalho, toda água utilizada no preparo das soluções e nos experimentos foi recém destilada-fervida e resfriada em Erlenmeyer e, guardada, protegida com tubo de KOH. Deste modo, evitando a dissolução de gás carbônico do ar atmosférico na água, que poderia alterar o *pH* da água. O valor do *pH* da água utilizada, em todos os experimentos, foi igual ou próximo de 7,0.

Como descrito na **Introdução**, para compostos ionizáveis, o valor de $\log P$ varia com os valores de pH e do pK_a do composto. Esta variação ocorre em função das diferentes espécies que podem sofrer partição, no sistema *n*-octanol/água, em condições de equilíbrio.

Neste trabalho, no entanto, os valores do coeficiente de partição dos compostos estudados não variam com o *pH*, pois estes, diferentemente de compostos ionizáveis, são permanentemente carregados e, assim, as espécies na partição deveriam ser as mesmas. Por outro lado, apresentam na sua estrutura um único grupo funcional capaz de sofrer ionização, o grupamento amida. Por esta razão, os valores de pK_a do grupamento amida nos compostos **7**, **8**, **9**, **10** e **11** foram calculados pelo programa Moka e estão apresentados na **Tabela 5.7**.

Tabela 5.7. Valores de pK_a do grupamento amida nos brometos de *N*-benzil-*N,N*-dimetil-2-(4-*X*-benzamido)etan-1-amônio substituídos (compostos **7** (*X*=Br), **8** (*X*=NO₂), **9** (*X*=CN), **10** (*X*=CF₃) e **11** (*X*=SO₂CH₃) da **Série I**).

Composto	X	$pK_a^{(a)}$
7	Br	11,93
8	NO ₂	11,83
9	CN	11,87
10	CF ₃	12,46
11	SO ₂ CH ₃	12,29

^(a) valores de pK_a obtidos pelo programa Moka (2.0.1).

Na **Tabela 5.7** observa-se que todos apresentaram valores de pK_a próximos de 12. Portanto, o grupamento amida dos compostos apresentarão ionização significativa apenas em pHs maiores do que 12. Desta forma, neste trabalho o uso de solução tampão na partição fez-se desnecessário. E, ainda, o uso de solução tampão acarretaria a inserção de outras espécies, de diferentes naturezas, podendo influenciar os valores de $\log P$ dos compostos estudados, impedindo verificar o efeito do contraíon hidrofóbico (OcS) na partição dos mesmos.

Os valores dos coeficientes de partição de um composto, usando o sistema *n*-octanol/água para partição, podem também sofrer influência da força iônica, de acordo com Dearden & Bresnen (1988). Neste trabalho, visando avaliar a influência da força iônica sobre os valores de $\log P$, foram determinados os valores de $\log P$ dos compostos utilizando duas diferentes fases aquosas, a saber: água destilada (**A**) ou soluções aquosas de NaBr (**B** - para ajuste de força iônica, $I = 0,10$ M), ambas *pso*. A força iônica ajustada para o valor de 0,10 M foi escolhida, pois está no limite máximo recomendado por Dearden & Bresnen (1988) e, ainda, se aproxima do valor da força iônica nos compartimentos biológicos. O NaBr foi escolhido para o ajuste de força iônica, pois é um sal presente no sistema biológico; é praticamente transparente para a radiação ultravioleta e, não se particiona significativamente em *n*-octanol.

Adicionalmente e de modo análogo, foi avaliada a influência da força iônica sobre a partição dos compostos estudados também na presença do contraíon hidrofóbico OcS, realizando os experimentos de partição sem, e com, ajuste de força iônica. Nestes experimentos, NaBr foi também o sal usado para o ajuste da força iônica, para evitar a inserção de espécies iônicas inéditas daquelas presentes nas fases aquosa/orgânica durante a partição, pois já estavam presentes o cátion Na⁺ (proveniente do OcS) e o ânion Br⁻ (proveniente dos brometos de amônio quaternários).

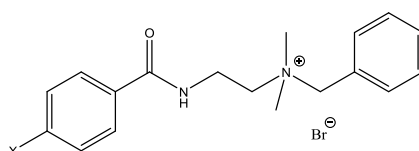
Na literatura, são descritas diferentes faixas de valores de $\log P$ que podem ser determinados adequadamente pelo método *shake-flask*, usando o sistema *n*-octanol/água. Nestas recomendações, as faixas permitidas variam de -3 a 4 (de acordo com Dearden & Bresnen, 1988) e de -2 a 4 (de acordo com OECD, 1995). Para compostos hidrofílicos com valores de $\log P$ bastante negativos, as dificuldades nos procedimentos experimentais acarretam, adicionalmente, altas incertezas nos

valores de $\log P$, explicando os limites inferiores (-2 ou -3) citados acima. Assim, faz-se necessário o uso de estratégias metodológicas para diminuir as incertezas das determinações de $\log P$ por *shake-flask*, de compostos altamente hidrofílicos.

Vale ressaltar que, de acordo com recomendações da literatura (Dearden & Bresnen, 1988; OECD, 1995) a faixa de variação aceitável é de $\pm 0,3$ unidades para os valores de $\log P$ medidos experimentalmente por *shake-flask*. Assim, neste trabalho, todos os experimentos foram realizados pelo menos em duplicata, para incluir as incertezas inerentes às determinações, ou ainda, melhorar a reprodutibilidade dos experimentos.

Os valores de $\log P_{app}$ obtidos e apresentados nas Tabelas 4.10, 4.11, 4.12, 4.13 e 4.14 foram transpostos, de forma resumida, para a Tabela 5.8 apresentada a seguir.

Tabela 5.8. Valores dos coeficientes de partição aparente ($\log P_{app}$) obtidos para os brometos de *N*-benzil-*N,N*-dimetil-2-(4-*X*-benzamido)etan-1-amônio substituídos (compostos **7** (X=Br), **8** (X=NO₂), **9** (X=CN), **10** (X=CF₃) e **11** (X=SO₂CH₃) da **Série I**) determinados, em duplicata, pelo método *shake-flask*, à 25 ± 1 °C, usando *n*-octanol (*psa*) como fase orgânica e, água destilada (**A**) ou soluções aquosas de NaBr (**B** - para ajuste de força iônica, $I = 0,10$ M) como fases aquosas, sendo estas últimas *psa*.



Composto	X	Fases aquosas	$\log P_{app}^{(c)}$
7	Br	A ^(a)	-0,84 ($\pm 0,04$)
		B ^(b)	0,99 ($\pm 0,03$)
8	NO ₂	A ^(a)	-1,35 ($\pm 0,05$)
		B ^(b)	0,17 ($\pm 0,06$)
9	CN	A ^(a)	-1,54 ($\pm 0,16$)
		B ^(b)	-0,25 ($\pm 0,01$)
10	CF ₃	A ^(a)	-0,76 ($\pm 0,09$)
		B ^(b)	<i>nd</i> ^(d)
11	SO ₂ CH ₃	A ^(a)	-1,73 ($\pm 0,12$)
		B ^(b)	-1,18 ($\pm 0,04$) e

^(a): água destilada *psa*; ^(b): solução aquosa de NaBr (para ajuste de força iônica, $I = 0,10$ M) *psa*.
^(c): Média dos valores determinados, pelo menos em duplicata e as correspondente incertezas entre parêntesis; ^(d) não determinado.

Na **Tabela 5.8**, os valores de $\log P_{app}$ para cada composto (**7**, **8**, **9**, **10** e **11**) corresponde a média aritmética entre os valores de $\log P_{app}$ determinados, utilizando as soluções **A** ou **B**, apresentados nas **Tabelas 4.10**, **4.11**, **4.12**, **4.13** e **4.14**, respectivamente. Os valores de $\log P_{app}$ considerados no cálculo desta média aritmética foram somente aqueles obtidos a partir de experimentos que apresentaram tanto maior reprodutibilidade, menores incertezas, bem como valores de P/R_v próximos de 5 e/ou próximos entre si.

Na determinação experimental de $\log P$, por *shake-flask*, é importante considerar que podem haver erros sistemáticos e/ou cumulativos que se propagam durante todas as etapas do procedimento analítico (como por exemplo necessidade da alta pureza do composto, pesagem, pipetagem, transferência de volumes, separação de fases, etc.). Estes aspectos, já salientados na literatura (Dearden & Bresnen, 1988), explicam a necessidade de realizar os experimentos no mínimo em duplicata e, ainda, justificam a exclusão de alguns resultados inadequados, obtidos fora da faixa de incerteza recomendada.

Desta forma, para o composto **7**, os valores de $\log P_{app}$ considerados correspondem à média dos valores do $\log P_{app}$ obtidos nos experimentos 1, 2 e 3 (utilizando **A** como fase aquosa - **Tabela 4.10**) e, nos experimentos 4, 5 e 6 (utilizando **B** como fase aquosa - **Tabela 4.10**). Para o composto **8**, os valores de $\log P_{app}$ considerados correspondem à média dos valores do $\log P_{app}$ obtidos nos experimentos 1 e 2 (utilizando **A** como fase aquosa - **Tabela 4.11**) e nos experimentos 7, 8 e 9 (utilizando **B** como fase aquosa - **Tabela 4.11**). Para o composto **9**, os valores de $\log P_{app}$ considerados correspondem à média dos valores do $\log P_{app}$ obtidos nos experimentos 1, 2 e 3 (utilizando **A** como fase aquosa - **Tabela 4.12**) e nos experimentos 4, 5 e 6 (utilizando **B** como fase aquosa - **Tabela**

4.12). Para o composto **10**, os valores de $\log P_{app}$ considerados correspondem à média dos valores do $\log P_{app}$ obtidos nos experimentos 1, 2 e 3 (utilizando **A** como fase aquosa - **Tabela 4.13**). Para o composto **11**, os valores de $\log P_{app}$ considerados correspondem à média dos valores do $\log P_{app}$ obtidos nos experimentos 1, 2 e 3 (utilizando **A** como fase aquosa - **Tabela 4.14**) e nos experimentos 4, 5, 6, 7 e 8 (utilizando **B** como fase aquosa - **Tabela 4.14**).

Observa-se na **Tabela 5.8** que, para os compostos estudados, a ordem crescente da lipofilicidade, expressa pelos respectivos valores de $\log P_{app}$ determinados, é de: **11** < **9** < **8** < **7** < **10**. Sendo, portanto, o composto **11** o mais hidrofílico e o composto **10** o mais lipofílico. O valor de $\log P_{app}$ do composto **11** é o mais negativo, devido a presença do grupo substituinte metilsulfonila, que confere um maior caráter hidrofílico para **11**. Os valores de $\log P_{app}$ dos cinco compostos estudados variaram na faixa de -1,73 a 0,99.

Os valores de $\log P_{app}$ para o composto **10** não puderam ser determinados utilizando solução aquosa de NaBr (**B**) como fase aquosa. Isto ocorreu, pois, para determinar as concentrações deste composto por espectrofotometria, observou-se sobreposição das bandas do ânion brometo do NaBr (209 nm, Guenther *et al.*, 2001) com a do composto **10** (214 nm).

Foram observadas diferenças significativas nos valores de $\log P_{app}$ determinados para um mesmo composto, utilizando **A** ou **B** como fases aquosas. Estas diferenças mostram a influência da força iônica sobre os valores de $\log P_{app}$. Para os compostos **7**, **8**, **9** e **11**, essas diferenças são, respectivamente, de 1,83, 1,52, 1,29 e 0,55 unidades. Sugere-se, portanto, que a força iônica deva exercer uma maior influência sobre os valores de $\log P_{app}$ dos compostos mais lipofílicos, do que dos compostos mais hidrofílicos, desta série estudada.

Dentro do que nos é conhecido, poucos estudos descrevem valores de $\log P_{app}$ medidos experimentalmente para brometos de amônio quaternários. Entre eles, como apresentado na **Introdução** deste trabalho, menciona-se a publicação de Takacs-Novak & Szasz (1999), em que se observa, assim como neste trabalho, valores de $\log P_{app}$ bastante negativos como, por exemplo, para o brometo de trantelínio com $\log P_{app} = -1,45 (\pm 0,48)$ (vide **Tabela 1.4**). Menciona-se também a publicação de Darwish *et al.* (2015), em que se observa um valor de $\log P_{app}$ igual a $-1,27 (\pm 0,11)$ para o glicopirrolato (também brometo de amônio quaternário), confirmando a contribuição hidrofílica do grupo amônio quaternário na partição (vide **Tabela 1.5**).

Para compostos hidrofílicos, as dificuldades experimentais observadas nas determinações dos valores de $\log P_{app}$ são consequência, principalmente, da limitação na escolha dos volumes das fases aquosa/orgânica, que é responsável por: valores de P/R_v inadequados; altas incertezas ou baixa reprodutibilidade nos experimentos. Como exemplo, nas **Tabelas 4.11 e 4.14**, exclusivamente para os compostos hidrofílicos **8** e **11**, observa-se que foram realizados mais de três experimentos, cada um em duplicata, para obter valores de $\log P_{app}$ reprodutíveis, dentro do erro experimental.

Nesta etapa do trabalho, foram determinados os valores de $\log P_{app}$ para os brometos de amônio quaternários (**Serie I**, compostos **7, 8, 9, 10 e 11**) pelo método *shake-flask*, usando o sistema *n*-octanol/água como modelo para partição. Estes apresentaram uma faixa de variação de ~ 3 unidades de $\log P_{app}$ (de $-1,73$ a $0,99$), cobrindo uma faixa que representa compostos mais hidrofílicos até lipofílicos, respectivamente. Mesmo estes compostos apresentando valores de $\log P_{app}$ relativamente baixos, próximos ao limite recomendado para o método *shake-flask*, foi possível determinar, dentro do erro experimental, os seus respectivos valores de

$\log P_{app}$ com baixas incertezas. Desta forma, a série de brometos de amônio quaternários aqui estudada permitiu verificar a aplicabilidade da estratégia proposta neste trabalho, comparando-se os resultados obtidos diretamente (descritos neste **item**) com os obtidos usando a estratégia (descritos a seguir no **item 5.4.3**).

Neste contexto, propõe-se aplicar o conceito de par iônico descrito na literatura (Koufopoulou *et al.*, 2006; Moraes *et al.*, 2009), como estratégia metodológica para contornar as dificuldades experimentais inerentes às medidas, bem como diminuir as incertezas nas determinações, como descrito a seguir.

5.4.3 Determinação dos valores do coeficiente de partição ($\log P_{app}$) na presença de contraíon hidrofóbico

Foram determinados os valores do coeficiente de partição, $\log P_{app}$, dos brometos de *N*-benzil-*N,N*-dimetil-2-(4-*X*-benzamido)etan-1-amônio substituídos (compostos **7** (*X*=Br), **8** (*X*=NO₂), **9** (*X*=CN), **10** (*X*=CF₃) e **11** (*X*=SO₂CH₃) da **Série I**), pelo método *shake-flask*, utilizando na partição fases aquosas com duas diferentes composições, a saber: soluções aquosas de OcS (soluções **A'**) bem como soluções aquosas de OcS com força iônica ajustada para *I* = 0,10 M (NaBr) (soluções **B'**), ambas pré-saturadas de *n*-octanol. Os resultados obtidos estão descritos, respectivamente, nas **Tabelas 4.15, 4.16, 4.17, 4.18, 4.19, 4.20, 4.21, 4.22 e 4.23** e nas **Figuras 4.1, 4.2, 4.3, 4.4, 4.5, 4.6, 4.7, 4.8 e 4.9**.

Nestas tabelas e nos gráficos correspondentes observa-se que cada experimento está apresentado em duplicata (a e b), tanto para facilitar sua análise visual bem como para considerar cada ponto, ao invés de suas médias aritméticas. Como descrito no **item 3.5.3**, a partir destes gráficos foi traçada a melhor reta por

regressão linear, na parte linear dos mesmos, que apresentará maior poder estatístico quando não se usa a média aritmética (Copeland, 2005).

Verificou-se aumento da lipofilicidade, expressa pelo coeficiente de partição aparente ($\log P_{app}$), com a adição de diferentes concentrações de OcS, como observado na **Tabela 5.9**.

Tabela 5.9. Valores das faixas das concentrações de OcS (mM) e dos correspondentes $\log P_{app}$ observados para os brometos de *N*-benzil-*N,N*-dimetil-2-(4-*X*-benzamido)etan-1-amônio substituídos (compostos **7** (*X*=Br), **8** (*X*=NO₂), **9** (*X*=CN), **10** (*X*=CF₃) e **11** (*X*=SO₂CH₃) da **Série I**), medidos usando as fases aquosas **A'** ou **B'**, respectivamente, bem como os correspondentes valores de $\log P_{app}$ determinados diretamente (sem OcS).

Composto	X	Com contraíon			Sem contraíon		$\Delta^{(c)}$
		Fases aquosas	Faixas de valores [OcS] (mM)	$\log P_{app}$	Fases aquosas	$\log P_{app}$	
7	Br	A' ^(a)	0,02 a 2,50	-0,04 a 1,96	A ^(e)	-0,84 ($\pm 0,04$)	2,80
		B' ^(b)	0,02 a 2,50	1,08 a 1,86	B ^(f)	0,99 ($\pm 0,03$)	0,87
8	NO ₂	A' ^(a)	0,03 a 3,50	-0,92 a 1,77	A ^(e)	-1,35 ($\pm 0,05$)	3,12
		B' ^(b)	0,03 a 3,50	-0,45 a 1,93	B ^(f)	0,17 ($\pm 0,06$)	1,76
9	CN	A' ^(a)	0,02 a 2,50	-0,60 a 1,91	A ^(e)	-1,54 ($\pm 0,16$)	3,45
		B' ^(b)	0,02 a 2,50	-0,19 a 1,52	B ^(f)	-0,25 ($\pm 0,01$)	1,77
10	CF ₃	A' ^(a)	0,02 a 2,50	-0,13 a 2,01	A ^(e)	-0,76 ($\pm 0,09$)	2,77
		B' ^(b)	<i>nd</i> ^(d)	<i>nd</i> ^(d)	B ^(f)	<i>nd</i> ^(d)	<i>nd</i> ^(d)
11	SO ₂ CH ₃	A' ^(a)	0,02 a 3,00	-1,07 a 0,91	A ^(e)	-1,73 ($\pm 0,12$)	2,64
		B' ^(b)	0,02 a 3,00	-1,13 a 0,65	B ^(f)	-1,18 ($\pm 0,04$)	1,83

^(a): soluções aquosas de OcS, *pso* (soluções **A'**); ^(b): soluções aquosas de OcS com força iônica ajustada para *I* = 0,10 M (NaBr), *pso* (soluções **B'**); ^(c): valores das diferenças entre os valores destacados em negrito (maior valor de $\log P_{app}$ na maior [OcS] e valor de $\log P_{app}$ medido diretamente sem OcS); ^(d) não determinado. ^(e): água destilada *pso*(soluções **A**); ^(f): solução aquosa de NaBr (para ajuste de força iônica, *I* = 0,10 M) *pso*(soluções **B**).

Na **Tabela 5.9**, para cada composto e em cada uma das composições da fases aquosas (soluções **A'** ou **B'**), estão apresentados os valores das diferenças (Δ) entre o valor de $\log P_{app}$ obtido com as maiores concentrações de OcS e o correspondente valor de $\log P_{app}$ determinado diretamente, na ausência de OcS (ambos destacados em negrito). Os valores destas diferenças (Δ) correspondem aos aumentos de coeficiente de partição verificados para cada composto, na presença de OcS, por possível formação de par iônico.

Observa-se na **Tabela 5.9**, maiores valores das diferenças Δ , usando como fase aquosa as soluções **A'** ao invés de **B'** como, por exemplo, para o composto **9** em que se observa uma diferença de 3,45 unidades de $\log P_{app}$. Assim, sugere-se que há um aumento mais significativo nos valores de $\log P$ dos compostos, utilizando as soluções **A'** na partição, ou seja, na condição sem ajuste de força iônica e, portanto, sem a presença de outras espécies iônicas (Na^+ e Br^-) em excesso.

Observa-se nas **Figuras 4.1, 4.2, 4.3, 4.4, 4.5, 4.6, 4.7, 4.8 e 4.9** que os valores de $\log P_{app}$ aumentaram com o aumento das concentrações de OcS até atingir um determinado valor, sugerindo que há um valor de saturação pela possível formação de par iônico. O ponto no gráfico correspondente a mais alta concentração do contraíon indica a tendência em se atingir um platô, que corresponde ao valor de saturação para a possível formação do par iônico. Estudos (Takacs-Novak & Szasz, 1999) de vários perfis traçados por formação de par iônico entre diversos compostos e contraíons, indicam que este perfil da curva depende das naturezas do cátion e do ânion. Observou-se ainda, neste trabalho, que mesmo para os perfis das curvas sem o ponto na proporção 1:50, ou seja, mesmo com o valor máximo de proporção composto:contraíon igual a 1:10, também observa-se esta tendência em se atingir um platô, como exemplificado na **Figura 5.13** a seguir.

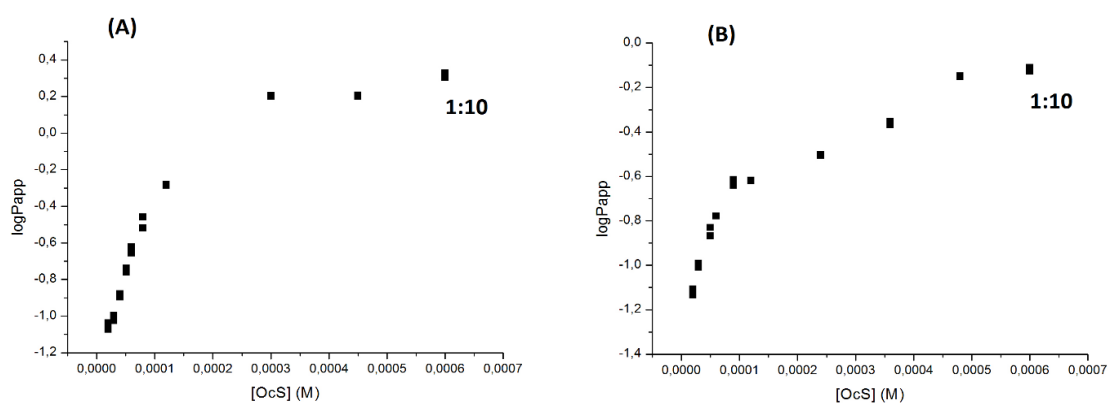


Figura 5.13. Curvas ilustrativas para o composto **11** (mais hidrofílico) traçadas, respectivamente, entre os valores de $\log P_{app}$ e as diferentes concentrações de OcS (M), mostrando somente a região até o valor 1:10 (proporção composto:contraíon). O gráfico (A) representa os valores de $\log P_{app}$ obtidos sem ajuste de força iônica e (B) com ajuste de força iônica, $I = 0,10$ M (NaBr).

Conforme descrito no **item 3.5.3**, foram obtidos os valores de $\log P_{app}^0$ através da reta de extrapolação na parte linear dos gráficos traçados entre os valores de $\log P_{app}$ e as respectivas concentrações molares de OcS. No entanto, na literatura (Koufopoulou *et al.*, 2006; Moraes *et al.*, 2009) não se encontram critérios robustos descritos para a seleção dos pontos que irão formar esta reta de extrapolação. Esta etapa é fundamental na estratégia metodológica proposta, pois a partir desta determina-se o valor do coeficiente linear da reta, que corresponde ao valor extrapolado de $\log P_{app}$, ou seja, de $\log P_{app}^0$. Neste trabalho, no traçado das retas, optamos por selecionar no mínimo 4 pontos que resultassem em equações de retas (obtidas por regressão linear) apresentando significância estatística e/ou selecionar os pontos que apresentassem valores de P/R_v próximos (observados nas respectivas determinações dos valores de $\log P_{app}$).

A **Tabela 5.10** apresenta os valores de $\log P_{app}$ extrapolados para a concentração zero de OcS ($\log P_{app}^0$), bem como os correspondentes valores do coeficiente angular das retas, obtidos a partir da análise das **Tabelas 4.15, 4.16, 4.17, 4.18, 4.19, 4.20, 4.21, 4.22 e 4.23** e das **Figuras 4.1, 4.2, 4.3, 4.4, 4.5, 4.6, 4.7, 4.8 e 4.9**.

Tabela 5.10. Valores das faixas de concentração de OcS (mM) usados e dos correspondentes $\log P_{app}$ medidos para os brometos de *N*-benzil-*N,N*-dimetil-2-(4-*X*-benzamido)etan-1-amônio substituídos (compostos **7** (*X*=Br), **8** (*X*=NO₂), **9** (*X*=CN), **10** (*X*=CF₃) e **11** (*X*=SO₂CH₃) da **Série I**), usando as fases aquosas **A'** ou **B'**, respectivamente. E ainda, os correspondentes valores de $\log P_{app}^0$, e do coeficiente angular (M⁻¹) das retas obtidas por extrapolação.

Composto	X	Fases aquosas	Faixas		$\log P_{app}^0$	Valores do coeficiente angular das retas (M ⁻¹)
			[OcS] (mM)	$\log P_{app}$		
7	Br	A'(a)	0,02 a 2,50	-0,04 a 1,96	-0,70 (± 0,06)	27369
		B'(b)	0,02 a 2,50	1,08 a 1,86	0,99 (± 0,01)	3732
8	NO ₂	A'(a)	0,03 a 3,50	-0,92 a 1,77	-1,29 (± 0,07)	15229
		B'(b)	0,03 a 3,50	-0,45 a 1,93	0,15 (± 0,05)	2031
9	CN	A'(a)	0,02 a 2,50	-0,60 a 1,91	-0,92 (±0,11)	15709
		B'(b)	0,02 a 2,50	-0,19 a 1,52	-0,26 (± 0,01)	3962
10	CF ₃	A'(a)	0,02 a 2,50	-0,13 a 2,01	-0,77 (± 0,06)	28566
		B'(b)	<i>nd</i> ^(c)	<i>nd</i> ^(c)	<i>nd</i> ^(c)	<i>nd</i> ^(c)
11	SO ₂ CH ₃	A'(a)	0,02 a 3,00	-1,07 a 0,91	-1,39 (± 0,02)	12433
		B'(b)	0,02 a 3,00	-1,13 a 0,65	-1,14 (± 0,04)	5031

(a): soluções aquosas de OcS, *p*so (soluções **A'**); (b): soluções aquosas de OcS com força iônica ajustada para *I* = 0,10 M (NaBr), *p*so (soluções **B'**); (c): não determinado.

Observa-se na **Tabela 5.10** que para os brometos de amônio quaternários, os valores do coeficiente angular das retas extrapoladas para concentração zero de OcS foram maiores na condição sem NaBr. Ou ainda, nos gráficos traçados entre os valores de $\log P_{app}$ e as respectivas concentrações de OcS, observa-se uma maior sensibilidade à variação da concentração de OcS, nas condições sem ajuste de força iônica. Estes resultados foram observados anteriormente para o composto **6** (Moraes *et al.*, 2009) e, também neste trabalho, para os compostos **7**, **8**, **9**, **10** e **11**.

Dentro do erro experimental, os valores de $\log P_{app}^0$ concordaram com os valores de $\log P_{app}$ medidos diretamente sem adição de contração (apresentados anteriormente na **Tabela 5.8**), como pode-se observar na **Tabela 5.11**.

Tabela 5.11. Valores de $\log P_{app}$ obtidos para os brometos de *N*-benzil-*N,N*-dimetil-2-(4-*X*-benzamido)etan-1-amônio substituídos (compostos **7** (*X*=Br), **8** (*X*=NO₂), **9** (*X*=CN), **10** (*X*=CF₃) e **11** (*X*=SO₂CH₃) da **Série I**), pelo método *shake-flask*, à 25 ± 1 °C, usando *n*-octanol (*psa*) como fase orgânica e, água destilada (**A**) ou soluções aquosas de NaBr (**B** - para ajuste de força iônica, *I* = 0,10 M) como fases aquosas, sendo estas últimas *psa*, e, os correspondentes valores extrapolados para a concentração zero de OcS ($\log P_{app}^0$).

Composto	X	Fases aquosas	$\log P_{app}$	$\log P_{app}^0$	$\Delta^{(c)}$
7	Br	A ^(a)	-0,84 ($\pm 0,04$)	-0,70 ($\pm 0,06$)	0,14
		B ^(b)	0,99 ($\pm 0,03$)	0,99 ($\pm 0,01$)	0,00
8	NO ₂	A ^(a)	-1,35 ($\pm 0,05$)	-1,29 ($\pm 0,07$)	0,06
		B ^(b)	0,17 ($\pm 0,06$)	0,15 ($\pm 0,05$)	-0,02
9	CN	A ^(a)	-1,54 ($\pm 0,16$)	-0,92 ($\pm 0,11$)	0,62
		B ^(b)	-0,25 ($\pm 0,01$)	-0,26 ($\pm 0,01$)	-0,01
10	CF ₃	A ^(a)	-0,76 ($\pm 0,09$)	-0,77 ($\pm 0,06$)	-0,01
		B ^(b)	<i>nd</i> ^(d)	<i>nd</i> ^(d)	<i>nd</i> ^(d)
11	SO ₂ CH ₃	A ^(a)	-1,73 ($\pm 0,12$)	-1,39 ($\pm 0,02$)	0,34
		B ^(b)	-1,18 ($\pm 0,04$)	-1,14 ($\pm 0,04$)	0,04

(^a): água destilada *psa*; (^b): solução aquosa de NaBr (para ajuste de força iônica, *I* = 0,10 M) *psa*. (^c): valores das diferenças entre $\log P_{app}^0$ e $\log P_{app}$; (^d): não determinado.

Adicionalmente, foram construídos gráficos entre os valores de $\log P_{app}$, determinados para cada composto nas fases aquosas (**A** ou **B**), em função dos correspondentes valores de $\log P_{app}^0$, para analisar a correlação entre estes, bem como se há significância estatística nas respectivas equações de reta obtidas por regressão linear. Os gráficos estão apresentados nas **Figuras 5.14** e **5.15**.

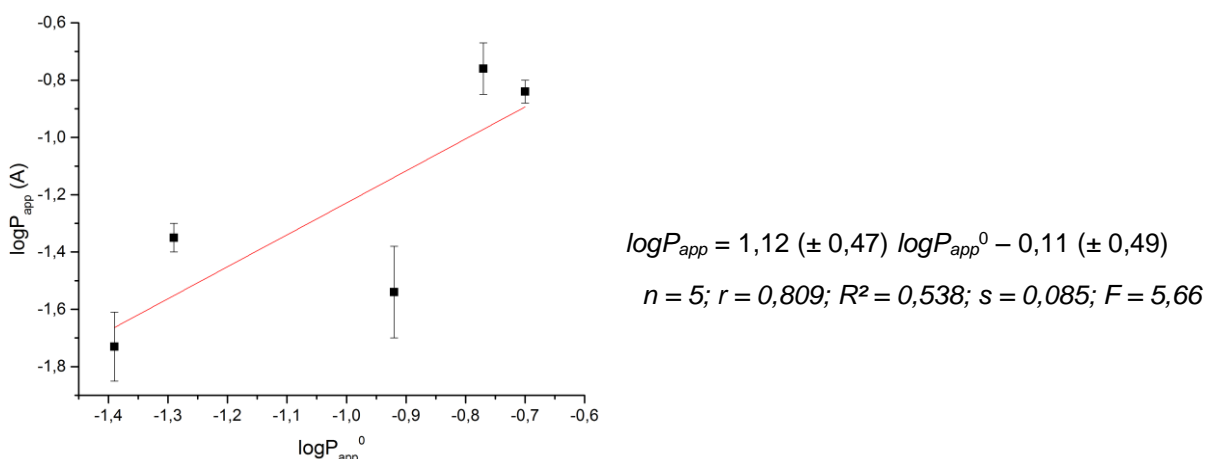


Figura 5.14. Correlação entre os valores de $\log P_{app}$ (obtidos por *shake-flask*, usando **A** como fase aquosa) e os correspondentes $\log P_{app}^0$ (obtidos por extrapolação), para os brometos de *N*-benzil-*N,N*-dimetil-2-(4-*X*-benzamido)etan-1-amônio substituídos (compostos **7** (*X*=Br), **8** (*X*=NO₂), **9** (*X*=CN), **10** (*X*=CF₃) e **11** (*X*=SO₂CH₃) da **Série I**).

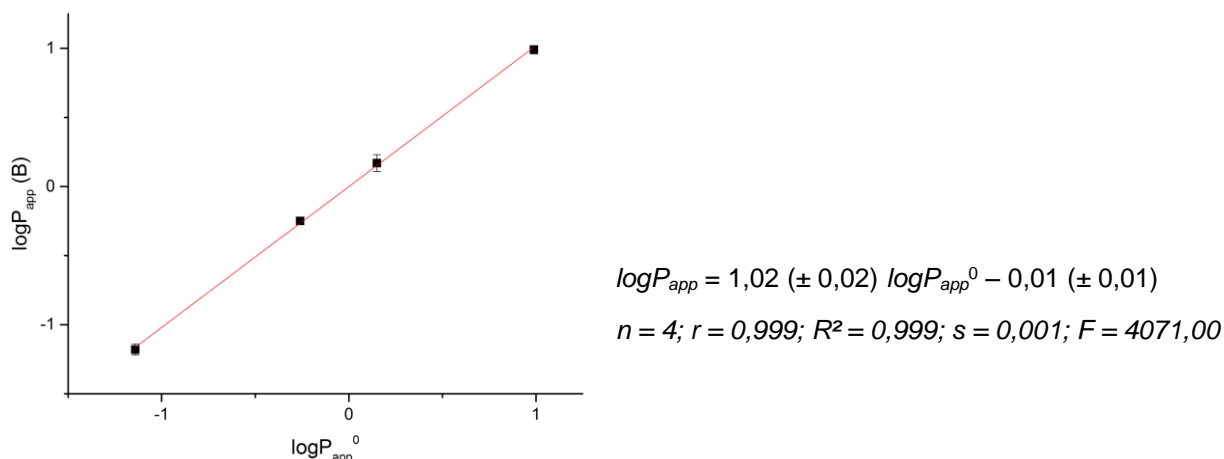


Figura 5.15. Correlação entre os valores de $\log P_{app}$ (obtidos por *shake-flask*, usando **B** como fase aquosa) e os correspondentes $\log P_{app}^0$ (obtidos por extrapolação) para os brometos de *N*-benzil-*N,N*-dimetil-2-(4-*X*-benzamido)etan-1-amônio substituídos (compostos **7** (*X*=Br), **8** (*X*=NO₂), **9** (*X*=CN) e **11** (*X*=SO₂CH₃) da **Série I**).

Observa-se nas **Figuras 5.14 e 5.15** que há correlação, dentro do erro experimental, entre os valores de $\log P_{app}$ (usando como fases aquosas **A** ou **B**) e os respectivos $\log P_{app}^0$. Embora as correlações tenham sido construídas utilizando-se apenas 5 ou 4 pontos, as correspondentes equações de retas obtidas por regressão linear mostram que os modelos foram bem ajustados aos dados (altos valores de R^2 e baixos valores de s). Em especial na **Figura 5.15**, observa-se que a equação de reta obtida por regressão linear apresenta significância estatística (com valor de $F > F_{tab}$), sugerindo uma concordância ligeiramente maior entre os valores de $\log P_{app}$, determinados para cada composto usando fases aquosas **B**, e os correspondentes valores de $\log P_{app}^0$.

Além disso, as diferenças observadas entre os valores de $\log P_{app}$ determinados na presença de OcS, tanto com ajuste como sem ajuste da força iônica, indicam que há uma competição entre os ânions orgânico (*n*-octil sulfato) e inorgânico (Br⁻) pelo cátion amônio (N⁺R₄). Mesmo na presença de um ânion pouco lipofílico e inorgânico (Br⁻) na fase aquosa, observa-se o aumento da lipofilicidade devido a possível formação de par iônico entre o sal de amônio quaternário e o ânion brometo. Para averiguar esta hipótese, estudos envolvendo a partição de um

composto neutro (sem carga permanente), foram realizados, sem e com ajuste de força iônica (utilizando NaBr). Estes estão apresentados no **item 5.6.1**.

Os resultados obtidos, nesta etapa do trabalho, indicam que o conceito do par iônico pode ser aplicado como estratégia metodológica para melhorar as condições experimentais e diminuir as incertezas, dentro do erro experimental, nas determinações dos valores de $\log P_{app}$ de compostos hidrofílicos, pelo método *shake-flask*.

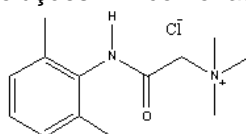
5.5 Aplicabilidade do conceito do par iônico como estratégia metodológica

5.5.1 Determinação dos valores do coeficiente de partição do QX-222 na presença de contraíon hidrofóbico

Nesta dissertação de mestrado, inclui-se o estudo da partição do QX-222, para verificar se a estratégia metodológica proposta neste trabalho é viável para compostos altamente hidrofílicos ($\log P_{calc}$ (Volsurf+) = -2,37). Além de apresentar um valor de $\log P_{app}$ mais negativo do que os compostos da **Serie I**, o QX-222 pode ser também considerado um análogo da lidocaína, apresentando atividade anestésica local (Gentry & Lukas, 2001).

Os valores de $\log P_{app}$ obtidos para o QX-222 diretamente, sem contraíon, conforme o procedimento descrito no **item 3.5.2**, estão apresentados na **Tabela 5.12**.

Tabela 5.12. Valores dos volumes da fase aquosa (V_{aq}) e de *n*-octanol (V_{oct}) utilizados na partição; das absorbâncias inicial (A_i) e final (A_f); da relação P/R_v e, do coeficiente de partição aparente ($\log P_{app}$) do QX-222, determinados em duplicata, pelo método *shake-flask*, à 25 ± 1 °C, usando *n*-octanol (*psa*) como fase orgânica e as soluções **A**^(a) como fases aquosas, sendo estas últimas *psa*.



Experimento	Fases aquosas	V_{aq} (mL)	V_{oct} (mL)	A_i	A_f	P/R_v	$\log P_{app}$
1	A ^(a)	3	20	0,21	0,19	0,1	-2,10 (\pm 0,09)
2	A ^(a)	3	20	0,21	0,20	0,1	-2,01 (\pm 0,06)

^(a): água destilada *psa*.

A média entre os valores de $\log P_{app}$ calculada para o QX-222 foi de -2,05 ($\pm 0,07$).

Os valores de $\log P_{app}$ determinados para o QX-222 na presença de OcS, e usando como fases orgânica e aquosa, respectivamente, *n*-octanol (*psa*) e 10 soluções aquosas de OcS (*psa*) (soluções **A'**), estão descritos pela **Figura 4.10** e na **Tabela 4.24** (no item 4.3.1).

De modo análogo ao verificado para os compostos **7**, **8**, **9**, **10** e **11**, observou-se aumento da lipofilicidade do QX-222, expressa pelo coeficiente de partição aparente ($\log P_{app}$), com a adição de diferentes concentrações de OcS.

O valor da diferença entre o valor de $\log P_{app}$ obtido nas maiores concentrações de OcS e o correspondente valor de $\log P_{app}$ determinado diretamente na ausência de OcS foi de 3,7 unidades de log. O valor desta diferença corresponde ao aumento do valor do coeficiente de partição, na presença de OcS, por possível formação de par iônico.

Para a obtenção do valor de $\log P_{app}^0$ foram selecionados 4 pontos para obter a reta extrapolada, na parte linear do gráfico traçado entre os valores de $\log P_{app}$ e as respectivas concentrações de OcS (vide **Figura 4.10**). O valor obtido foi de -1,60 ($\pm 0,04$) e o valor do coeficiente angular desta reta foi de 1243,64. O valor de $\log P_{app}^0$ do QX-222 concordou, dentro do erro experimental, com o valor obtido diretamente sem a presença de contraíon. O valor do coeficiente angular observado para a condição sem ajuste de força iônica (**A'**) não concordou em ordem de grandeza com os valores observados para os outros brometos de amônio quaternários estudados neste trabalho.

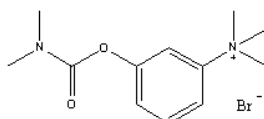
Para o QX-222, os valores de $\log P_{app}$ determinados diretamente e de $\log P_{app}^0$ foram concordantes, dentro do erro experimental. Portanto, a aplicação do conceito do par iônico na determinação do parâmetro hidrofóbico do QX-222 pode ser usada como estratégia metodológica, viabilizando a determinação do valor de $\log P_{app}$ do QX-222 (composto hidrofílico e com carga permanente), pelo método *shake-flask*.

5.5.2 Determinação dos valores do coeficiente de partição do brometo de neostigmina na presença de contraíon hidrofóbico

Nesta dissertação, inclui-se ainda o estudo da partição do brometo de neostigmina para verificar se a estratégia metodológica proposta neste trabalho é viável para compostos altamente hidrofílicos. O brometo de neostigmina apresenta um valor de $\log P_{app}$ mais negativo ($\log P_{app} < -3$, Takacs, 1999) do que os observados tanto para os compostos da **Serie I**, bem como para o QX-222. Além disso, o brometo de neostigmina também apresenta atividade de bloqueio da transmissão neuromuscular.

Os valores de $\log P_{app}$ obtidos para o brometo de neostigmina diretamente, sem contraíon, conforme procedimento descrito no **item 3.5.2**, estão apresentados a seguir na **Tabela 5.13**.

Tabela 5.13. Valores dos volumes da fase aquosa (V_{aq}) e de *n*-octanol (V_{oct}) utilizados na partição; das absorbâncias inicial (A_i) e final (A_f); da relação P/R_v e, do coeficiente de partição aparente ($\log P_{app}$) do brometo de neostigmina, determinados em duplicata, pelo método *shake-flask*, à 25 ± 1 °C, usando *n*-octanol (*psa*) como fase orgânica e as soluções **A**^(a) como fases aquosas, sendo estas últimas *psa*.



Experimento	Fases aquosas	V_{aq} (mL)	V_{oct} (mL)	A_i	A_f	P/R_v	$\log P_{app}$
1	A ^(a)	3	20	0,61	0,61	0,0	-3,44
2	A ^(a)	3	20	0,63	0,62	0,1	-2,62

(a): água destilada *psa*.

A média entre os valores de $\log P_{app}$ calculada para o brometo de neostigmina foi de -3,03 ($\pm 0,58$), mostrando, no entanto, uma diferença significativa (0,82 unidades) entre os valores de $\log P_{app}$ obtidos nos experimentos 1 e 2 da **Tabela 5.13**. Assim, como descrito na literatura (Dearden & Bresenen, 1988) e discutido no **item 5.4.2**, esta baixa reprodutibilidade demonstra as dificuldades experimentais verificados nos limites inferiores (-2 ou -3).

Os valores de $\log P_{app}$ determinados para o brometo de neostigmina na presença de OcS, e usando como fases orgânica e aquosa, respectivamente, *n*-octanol (*psa*) e 10 soluções aquosas de OcS (*psa*) (soluções **A'**) estão descritos pela **Figura 4.11** e **Tabela 4.25** (no **item 4.3.2**). De modo análogo ao verificado para os compostos **7, 8, 9, 10** e **11**, verificou-se o aumento da lipofilicidade do brometo de neostigmina, expressa pelo coeficiente de partição aparente ($\log P_{app}$), com a adição de diferentes concentrações de OcS.

O valor da diferença entre o valor de $\log P_{app}$ obtido nas maiores concentrações de OcS e o correspondente valor de $\log P_{app}$ determinado diretamente, na ausência de OcS foi de 3,4 unidades de log. O valor desta diferença corresponde ao aumento do valor do coeficiente de partição, na presença de OcS, por possível formação de par iônico.

Para a obtenção do valor de $\log P_{app}^0$ foram selecionados 4 pontos para obter a reta extrapolada, na parte linear do gráfico traçado entre os valores de $\log P_{app}$ e as respectivas concentrações de OcS (vide **Figura 4.11**). O valor obtido foi de -1,63 ($\pm 0,02$) e o valor do coeficiente angular desta reta foi de 700,96. Dentro do erro experimental, o valor de $\log P_{app}^0$ do brometo de neostigmina não concordou com o valor obtido diretamente, sem a presença de contraíon. O valor do coeficiente angular observado para a condição sem ajuste de força iônica (**A'**) também não

concordou em ordem de grandeza com os valores observados para os outros brometos de amônio quaternários estudados neste trabalho.

Para o brometo de neostigmina, os valores de $\log P_{app}$ determinados diretamente e de $\log P_{app}^0$ não foram concordantes, dentro do erro experimental. Portanto, não se teve êxito na aplicação do conceito do par iônico sobre a determinação do parâmetro hidrofóbico do brometo de neostigmina como estratégia metodológica. Isso mostra que a aplicação desta estratégia apresenta limitações para compostos altamente hidrofílicos (com valor de $\log P_{app} \sim -3$), utilizando-se o método *shake-flask* e sistema *n*-octanol/água para partição.

5.6 Experimentos complementares para verificar a formação de par iônico

5.6.1 Determinação dos valores do coeficiente de partição da benzamida na presença de contraíon hidrofóbico

Como descrito no **item 3.7.1**, foram determinados os valores de $\log P$ da benzamida na presença do contraíon hidrofóbico OcS. Os resultados obtidos estão descritos nas **Figuras 4.12 e 4.13** e nas **Tabelas 4.26 e 4.27**.

Nas **Tabelas 4.26 e 4.27** observa-se que os valores de $\log P$ obtidos para a benzamida variaram na faixa de 0,60 a 0,67. Como discutido acima, as variações observadas estão dentro da faixa de erro experimental esperada de $\pm 0,3$ (Dearden, 1988), para as determinações de valores de $\log P$ utilizando o mesmo sistema para partição. Estes valores foram, ainda, concordantes com os valores encontrados na literatura de 0,64 (Hansch *et al.*, 1995).

Observa-se nas **Figuras 4.12 e 4.13** que os valores de $\log P$ para a benzamida mantiveram-se constantes com o aumento da concentração de OcS em

até ~ 50 vezes (o mesmo aumento para os compostos **7**, **8**, **9**, **10** e **11**). Como esperado, os valores de $\log P$ determinados para a benzamida na presença do OcS (em diferentes concentrações) não sofreram alteração.

Como apresentado acima, a benzamida – ao contrário dos brometos de amônio quaternários estudados neste trabalho, brometos de *N*-benzil-*N,N*-dimetil-2-(4-*X*-benzamido)etan-1-amônio (compostos **7**, **8**, **9**, **10** e **11**) – não é um composto permanentemente carregado, por isso não se espera observar um aumento da lipofilicidade por possível formação de par iônico com o ânion hidrofóbico do contraíon (OcS).

Os resultados obtidos para a benzamida foram concordantes, dentro do erro experimental, utilizando na partição fases aquosas com duas diferentes composições, a saber: soluções aquosas de OcS (soluções **A'**) bem como soluções aquosas de OcS com força iônica ajustada para $I = 0,10$ M (NaBr) (soluções **B'**), ambas *pso*. Ou seja, os resultados mostraram que não houve diferença nos valores de $\log P$ medidos na presença ou na ausência do sal NaBr (para ajuste da força iônica). Sugere-se, portanto, que o ânion brometo (Br⁻) não afeta os valores de $\log P$ de um composto sem carga permanente (como a benzamida), no entanto, leva a um aumento dos valores de $\log P$ de um composto com carga permanente (compostos **7**, **8**, **9**, **10** e **11**), por possível formação de par iônico.

5.6.2 Registro e análise sistemática dos espectros de RMN¹H para verificar a formação de par iônico

Nesta dissertação, inclui-se ainda o registro e análise sistemática dos espectros de RMN¹H para o composto **10** (brometo de *N*-benzil-*N,N*-dimetil-2-(4-trifluorometilbenzamido)etan-1-amônio), na presença de diferentes concentrações do

contração OcS (de 0,00000, de 0,00348, de 0,00696 e de 0,01391 M), para verificar se há formação de par iônico entre eles, como descrito no **item 4.4.2**.

Para estas concentrações, as proporções molares composto:contração correspondem a 1:0, 1:0,5, 1:1 e 1:2, e são denominadas de, respectivamente, espectros *A*, *B*, *C* e *D*. Inclui-se ainda o espectro *E* que corresponde ao espectro de RMN¹H registrado somente para o OcS. Estes dados estão sumarizados na **Tabela 4.28**, e os espectros apresentados, respectivamente, nas **Figuras 4.14, 4.15, 4.16, 4.17, 4.18, 4.19 e 4.20**.

Dentre os cinco compostos da **Série I** estudada neste trabalho, utilizou-se o composto **10** para registro e análise sistemática dos espectros de RMN (para verificar a formação de par iônico) por este ser o mais hidrofóbico e, por não conter hidrogênios adicionais no grupo substituinte do anel benzênico (que poderiam dificultar a análise dos espectros).

Vale mencionar que todos os espectros foram registrados utilizando-se como referência o pico de TMS, presente em um tubo coaxial interno (CDCl₃ com 0,015% de TMS), e calibrado em 0,00 ppm. Este procedimento foi adotado, pois ao usar o pico HDO como referência – do próprio solvente D₂O utilizado para solubilizar os compostos – poderiam haver deslocamentos, devido as possíveis interações entre o solvente D₂O e os dois compostos (OcS e composto **10**).

Os espectros registrados para o composto **10**, sem contração (espectro *A*), bem como somente para o contração OcS (espectro *E*), foram considerados como referências para auxiliar a análise dos outros espectros (*B*, *C* e *D*), registrados em diferentes proporções composto:contração.

Nos espectros *B* e *D*, obtidos nas proporções molares de 1:0,5 e de 1:2, **Figuras 4.16 e 4.19** respectivamente, observam-se variações nas intensidades dos picos de acordo com a variação (aumento ou diminuição) da concentração de OcS, em relação ao composto **10**. Observa-se, portanto, sobreposição de alguns picos e, conseqüentemente, dificuldade para analisar os mesmos.

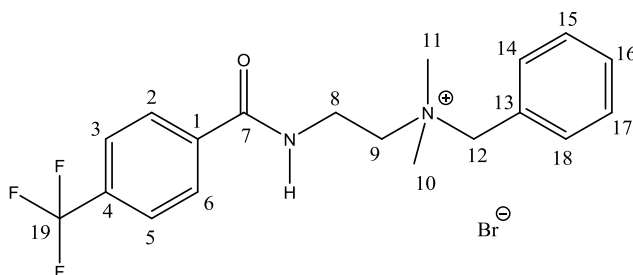
No espectro *C* (**Figuras 4.17 e 4.18**) obtido na proporção molar de 1:1, observa-se o surgimento de picos com baixas intensidades e largos, próximos aos picos de hidrogênio (situados na vizinhança do grupo amônio quaternário). Estes poderiam indicar possíveis interações entre o composto **10** e o OcS, devido a possível formação de par iônico, pois estes não aparecem nos espectros *A* e *E*. Torna-se interessante notar que estes picos são ainda mais nítidos quando se analisa os espectros *A* e *C* (**Figuras 4.15 e 4.18**) registrados no equipamento de RMN de 500 MHz, devido a maior resolução do espectrômetro.

Adicionalmente, os espectros *A*, *B*, *C*, *D* e *E* foram analisados dando especial atenção aos picos de hidrogênio, ligados aos carbonos vizinhos do grupo amônio quaternário do composto **10**. Esperava-se que alguma variação ou no deslocamento químico, ou na intensidade destes picos, fosse observada como consequência da formação de par iônico entre o composto **10** e o contraíon OcS. A **Tabela 5.14**, a seguir, apresenta os valores observados para estes picos.

Observa-se na **Tabela 5.14**, para os espectros *A*^(a) e *C*^(a), uma variação no valor de δ de 0,01 ppm, tanto para o CH₂ (*C12*), assim como para o CH₂ (*C9*). Ainda, para os espectros *A* e *C*, observa-se a mesma variação no valor de δ de 0,01 ppm para o CH₂ (*C12*). Esta variação de apenas 0,01 ppm corresponde ~ 5 MHz (para o espectrômetro de 500 MHz) e poderia representar um indício para interações de

naturezas indutiva/hidrofóbica e/ou formação de par iônico entre o composto **10** e OcS, como sugerido por Sarveiya *et al.* (2005) (descrito na **Introdução**).

Tabela 5.14. Espectros de RMN¹H registrados para o composto **10** (brometo de *N*-benzil-*N,N*-dimetil-2-(4-trifluorometilbenzamido)etan-1-amônio), utilizando-se D₂O como solvente, nas diferentes proporções [composto]:[contraíon], os correspondentes valores dos deslocamentos químicos (δ ; ppm) e das intensidades dos picos de hidrogênios, ligados aos carbonos numerados na estrutura do composto **10**.



Espectro	Proporção [composto]:[contraíon]	CH ₂				(CH ₃) ₂	
		C12		C9		C10 e C11	
		δ (ppm)	intensidade	δ (ppm)	intensidade	δ (ppm)	intensidade
A	1:0	4,63	6,75	3,64	2,67	3,18	18,87
A^(a)	1:0	4,61	5,72	3,61	2,38	3,16	16,76
B	1:0,5	4,64	1,82	3,64	0,75	3,18	5,06
C	1:1	4,64	1,25	3,64	0,70	3,18	3,53
C^(a)	1:1	4,62	1,51	3,62	0,70	3,16	4,37
D	1:2	4,64	0,41	3,64	0,39	3,18	1,20

^(a) espectro registrado no espectrômetro de 500 MHz.

Os espectros *A*, *B*, *C*, *D* e *E* foram sobrepostos pelo programa Matlab. As **Figuras 5.16, 5.17 e 5.18** mostram estes espectros sobrepostos, exibindo imagens ampliadas para os três principais picos de hidrogênio (ligados ao CH₂ (C12), ao CH₂ (C9) e ao (CH₃)₂ (C10 e C11), vide **Tabela 5.14**), obtidos para o composto **10** na presença de diferentes concentrações de OcS.

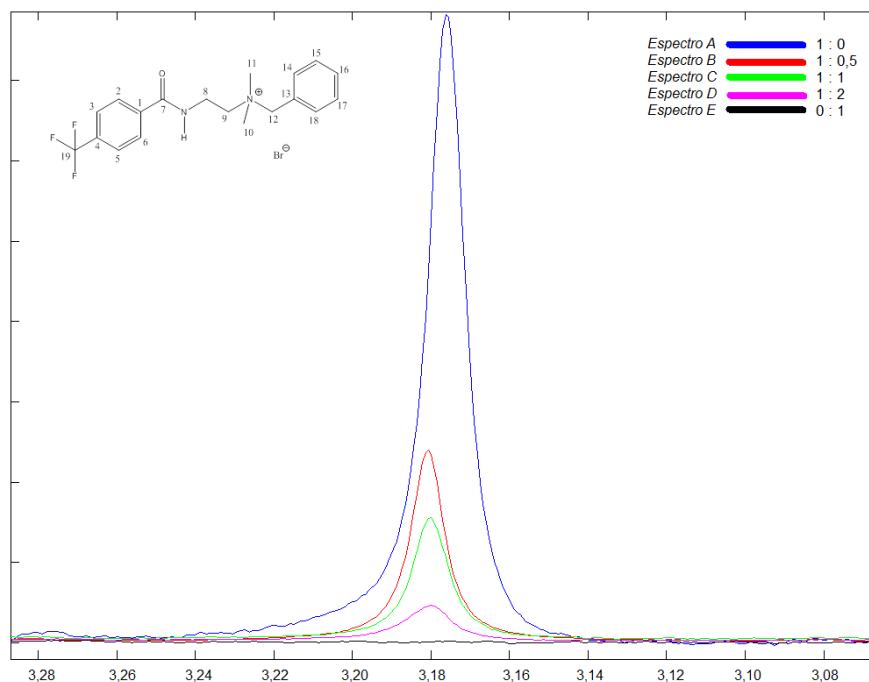


Figura 5.16. Picos de hidrogênios das metilas ligadas ao N^+ (CH_3)₂ do composto **10** (brometo de *N*-benzil-*N,N*-dimetil-2-(4-trifluorometilbenzamido)etan-1-amônio), na presença de diferentes proporções molares de OcS, observados nos respectivos espectros de RMN¹H (espectrômetro Bruker - Avance III 200 MHz, D₂O como solvente).

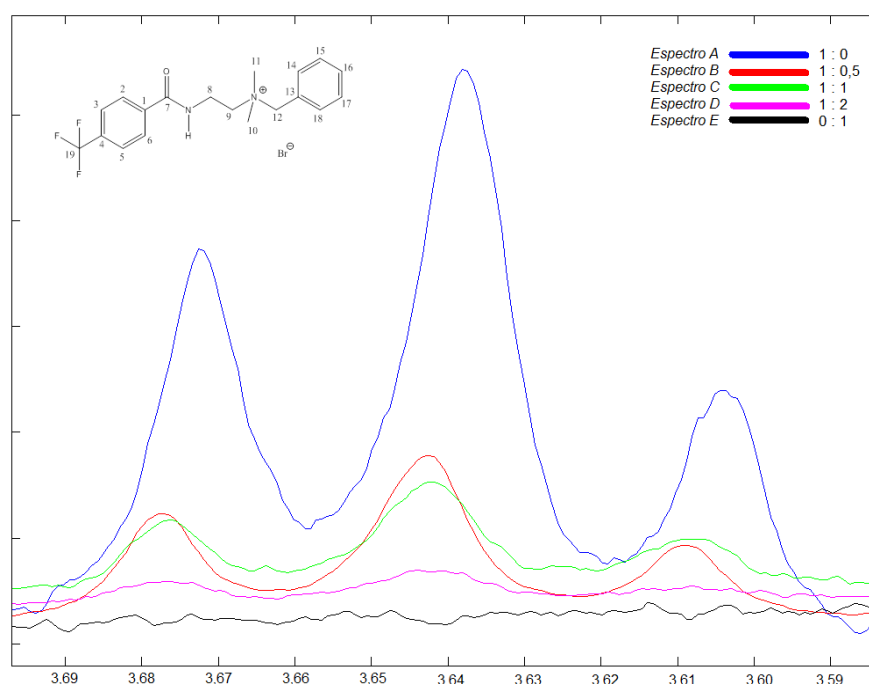


Figura 5.17. Picos de hidrogênios do metileno da cadeia ligado ao N^+ CH_2 do composto **10** (brometo de *N*-benzil-*N,N*-dimetil-2-(4-trifluorometilbenzamido)etan-1-amônio), na presença de diferentes proporções molares de OcS, observados nos respectivos espectros de RMN¹H (espectrômetro Bruker - Avance III 200 MHz, D₂O como solvente).

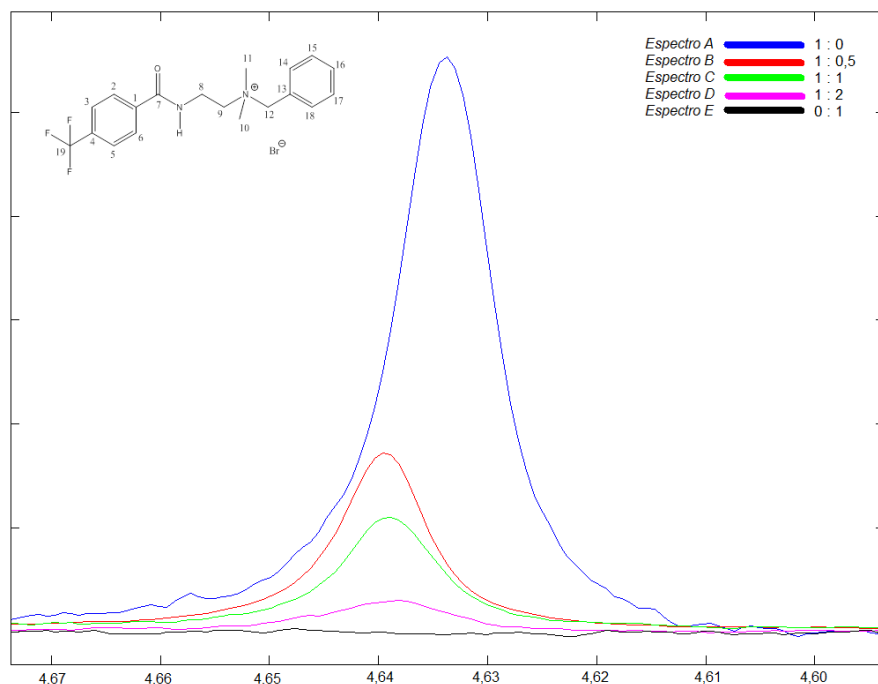


Figura 5.18. Picos de hidrogênios do metileno da benzila ligado ao N^+CH_2 do composto **10** (brometo de *N*-benzil-*N,N*-dimetil-2-(4-trifluorometilbenzamido)etan-1-amônio), na presença de diferentes proporções molares de OcS, observados nos respectivos espectros de RMN¹H (espectrômetro Bruker - Avance III 200 MHz, D₂O como solvente).

Nas **Figuras 5.16, 5.17 e 5.18** observa-se um ligeiro deslocamento para esquerda (sentido crescente da escala) dos picos, conforme aumenta-se as concentrações de OcS, sugerindo a possível formação de par iônico entre o composto **10** e OcS.

Como descrito na **Introdução** deste trabalho, solventes altamente polares (como a água ou D₂O) apresentam uma alta constante dielétrica (~80) e, portanto, não favorecem a formação de par iônico entre íons de cargas opostas. No entanto, usando-se *n*-octanol (constante dielétrica ~11), os compostos iônicos deveriam estar mais suscetíveis à formação de par iônico, devido a menor polaridade do solvente. Assim, o registro dos mesmos espectros, sob as mesmas condições, no entanto utilizando *n*-octanol deuterado como solvente, permitiria complementar este estudo para verificar a formação do par iônico.

Para dar continuidade a estas investigações complementares para verificar a formação do par iônico, poderiam ser utilizados outros compostos mais hidrofílicos e/ou ainda, outras técnicas como, por exemplo, eletroforese capilar de afinidade (Darwish *et al.*, 2015), RMN e IV (Song *et al.*, 2016), potenciometria ou voltametria cíclica (Bouchard *et al.*, 2001), abordagens computacionais (Fry, 2013), dentre outras.

6 CONCLUSÕES

O estudo da lipofilicidade (expressa pelo parâmetro hidrofóbico, $\log P$) de compostos estruturalmente análogos a procaína foi feito analisando-se os valores de $\log P$ obtidos para cinco brometos de *N*-benzil-*N,N*-dimetil-2-(4-*X*-benzamido)etan-1-amônio substituídos (**Série I**), usando o método *shake-flask* e o sistema *n*-octanol/água ($\log P_{app}$) (na ausência e na presença do contraíon hidrofóbico *n*-octil sulfato de sódio (OcS) e, com e sem ajuste de força iônica). E, ainda, obtidos por cálculo ($\log P_{calc}$), usando os programas CLOGP, ALOGPS, Moka, ACD/LogP e Volsurf+. Desta forma, nesta dissertação de mestrado, conclui-se que:

- Foi possível determinar os valores de $\log P_{app}$ para os compostos **7** (*X*=Br), **8** (*X*=NO₂), **9** (*X*=CN), **10** (*X*=CF₃) e **11** (*X*=SO₂CH₃), ampliando, desta forma, a faixa de variação de $\log P_{app}$ (de -1,73 a 0,99) e incluindo compostos permanentemente carregados e hidrofílicos.
- Para todos os compostos estudados, os valores de $\log P_{app}$ determinados com ajuste de força iônica (usando soluções **B** – com NaBr, *I* = 0,10 M) são maiores do que os mesmos determinados sem ajuste de força iônica (usando soluções **A**).
- Há alta correlação entre os valores de $\log P_{calc}$ (CLOGP) e de $\log P_{app}$ (determinados utilizando soluções **A** e **B**, como fases aquosas). As diferenças de Δ observada para os mesmos, sugerem que a contribuição do grupo amônio quaternário para o valor do coeficiente de partição dos compostos estudados é constante, pois este fragmento não foi considerado nos cálculos do programa CLOGP.
- Há alta correlação entre os valores de $\log P_{calc}$ (Volsurf+) e de $\log P_{app}$ (determinados utilizando soluções **A** e **B**, como fases aquosas). As pequenas

diferenças Δ observadas para os mesmos, especialmente sem considerar o ajuste de força iônica, mostram que o programa Volsurf+ apresenta um poder de predição razoável para calcular os valores de $\log P_{app}$ dos compostos estudados.

- Há um aumento da lipofilicidade, expressa pelo parâmetro hidrofóbico ($\log P_{app}$), dos compostos estudados com o aumento da concentração de OcS, em até 50 vezes.
- Há um aumento mais significativo para os valores de $\log P_{app}$ determinados na presença de OcS sem ajuste de força iônica (soluções **A'**) do que para os mesmos determinados com ajuste de força iônica (soluções **B'** – com NaBr, $I = 0,10$ M).
- Há uma tendência em se atingir um platô, quando se observam os gráficos traçados entre os valores de $\log P_{app}$ e as respectivas concentrações molares de OcS, sugerindo que há um valor de saturação pela possível formação de par iônico.
- Há concordância, dentro do erro experimental, entre os valores de $\log P_{app}^0$ (extrapolados para concentração zero de OcS) e os correspondentes medidos diretamente, na ausência de OcS, para os compostos estudados.
- Na partição, o Br^- pode competir com o ânion hidrofóbico do OcS, por possível formação de par iônico com o cátion amônio quaternário ($^+\text{NR}_4$) dos compostos estudados.
- O conceito do par iônico pode ser aplicado como estratégia metodológica para melhorar as condições experimentais e diminuir as incertezas nas determinações dos valores de $\log P_{app}$ dos brometos de amônio quaternários hidrofílicos, estudados neste trabalho.

- Os valores de $\log P_{app}$ obtidos para a benzamida (composto sem carga permanente), na presença de OcS não leva a um aumento da lipofilicidade desta.
- A aplicação do conceito do par iônico como estratégia metodológica apresentou limitações, quando avaliada para o brometo de neostigmina ($\log P_{app} \sim -3$), no entanto, foi bem-sucedida quando avaliada para o QX-222 ($\log P_{app} \sim -2$).
- O registro e a análise sistemática dos espectros de RMN¹H para verificar a formação de par iônico revelaram indícios para a interação (ou a formação de par iônico) entre o composto **10** e o OcS. No entanto, esta análise pode vir a ser, ainda, complementada.
- Estudos futuros podem ser realizados com o objetivo de avaliar o efeito do uso de diferentes contraíons hidrofóbicos, continuar ampliando a faixa de variação dos valores de $\log P_{app}$ e, estender a aplicabilidade do conceito do par iônico como estratégia para outros brometos de amônio quaternários.

REFERÊNCIAS

- ABRAHAM, M. H. Scales of Solute Hydrogen-bonding: Their Construction and Application to Physicochemical and Biochemical Processes. *Chemical Society Reviews*, p. 73, 1993.
- ABRAHAM, M. H.; ACREE JR, W. E. The transfer of neutral molecules, ions and ionic species from water to wet octanol. *Phys. Chem. Chem. Phys.*, v. 12, p. 13182–13188, 2010.
- ABRAHAM, M. H.; GOLLA, J. M.R.; IBRAHIM, A.; ACREE JR, W. E.; LIU, X. A simple method for estimating in vitro air-tissue and in vivo bloodtissue partition coefficients. *Chemosphere*, v. 120, p. 188–191, 2015.
- ADAM, A. M. A. Application of Charge-Transfer Complexation for Evaluation of the Drug-Receptor Mechanism of Interaction: Spectroscopic and Structure Morphological Properties of Procaine and Pilocarpine Complexes with Chloranilic Acid Acceptor. *Russian Journal of General Chemistry*, v. 84, n. 6, 2014.
- ALBEROLA-DIE, A.; REBOREDA, A.; LAMAS, A.; MORALES, A. Lidocaine effects on acetylcholine-elicited currents from mouse superior cervical ganglion neurons. *Neuroscience Research*, v. 75, p. 198–203, 2013.
- ALEXANDER, D. L. J.; TROPSHA, A.; WINKLER, D. A. Beware of R²: Simple, Unambiguous Assessment of the Prediction Accuracy of QSAR and QSPR Models. *J. Chem. Inf. Model.*, v. 55, p. 1316–1322, 2015.
- AMARAL, A. T., OLIVEIRA, A. C., NEIDLEIN, R., GALLACI, M., CAPRARA, L.; MIYAZAKI, Y. Physicochemical parameters involved in the lethal toxicity of N,N-[(dimethylamino)ethyl]-4-substituted benzoate hydrochlorides: a QSAR study. *Eur J Med Chem*, v. 32, p. 433-443, 1997.
- Analiza. ADME, Physicochemical Properties Contract Research Services. Analiza Inc., 2016. Disponível em: <<http://analiza.com/index.html>>. Acesso em: 8 de Junho de 2016.
- ANDRÉS, A.; Roses, M.; Rafols, C.; Bosch, E.; Espinosa, S.; Segarra, V.; Huerta, J. M. Setup and validation of shake-flask procedures for the determination of partition coefficients (logD) from low drug amounts. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, v. 76, p. 181–191, 2015.
- ANDREWS, P. R.; CRAIK, D. J.; MARTIN, J. L. Functional Group Contributions to Drug-Receptor Interactions. *J. Med. Chem.*, v. 27, p. 1648-1657, 1984.
- ARIAS, H. R.; BLANTON, M. P. Molecular and Physicochemical Aspects of Local Anesthetics Acting on Nicotinic Acetylcholine Receptor-containing Membranes. *Mini Reviews in Medicinal Chemistry*, v. 2, p. 385-410, 2002.
- AUSTIN, R. P.; BARTON, P.; DAVIS, A. M.; MANNERS, C. N.; STANSFIELD, M. C. The Effect of Ionic Strength on Liposome-Buffer and 1-Octanol-Buffer Distribution Coefficients. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, v. 87, n. 5, p. 599, 1998.
- AVDEEF, A. *Curr. Topics Med. Chem.*, v. 1, p. 277, 2001.
- BALAZ, S. Response to “Comment on ‘Structural Determinants of Drug Partitioning in Surrogates of Phosphatidylcholine Bilayer Strata’”. *Mol. Pharmaceutics*, v. 12, p. 1330–1334, 2015.
- BAUMANN, D.; BAUMANN, K. Reliable estimation of prediction errors for QSAR models under model uncertainty using double cross-validation. *Journal of Cheminformatics*, 6, 47, 2014.
- Biorad Infrared spectral data from the Bio-Rad/Sadtler IR Data Collection was obtained from Bio-Rad Laboratories, Philadelphia, PA (US). Copyright © Bio-Rad Laboratories. All Rights Reserved. Disponível em: <<https://scifinder.cas.org/>>. Acesso em: 8 de Junho de 2016.
- Bjerrum, N. *Kgl. Danske Selskab*, v. 7, n. 9, 1926.
- Böhm, H. J., in Böhm, H. J.; Schneider, G. Protein-Ligand Interactions: From Molecular Recognition to Drug Design, vol. 19, Weinheim: Wiley-VCH, cap. 1, p. 5, 2003.

BOUCHARD, G.; CARRUPT, P.; TESTA, B.; GOBRY, V.; GIRAULT, H. H. The Apparent Lipophilicity of Quaternary Ammonium Ions Is Influenced by Galvani Potential Difference, Not Ion-Pairing: A Cyclic Voltammetry Study. *Pharmaceutical Research*, v. 18, n. 5, p. 702, 2001.

BOWMAN, W. C. Neuromuscular block. *British Journal of Pharmacology*, v. 147, p. S277–S286, 2006.

BROOKE, D. N.; DOBBS, A. J.; WILLIAMS, N. Octanol Water Partition Coefficients (P): Measurement, Estimation, and Interpretation, Particularly for Chemicals with $P > 10^5$. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, v. 11, p. 251, 1986.

Buckle, D. R.; Erhardt, P. W.; Ganellin, C. R.; Kobayashi, T.; Perun, T. J.; Proudfoot, J.; Bilfinger, J. S. GLOSSARY OF TERMS USED IN MEDICINAL CHEMISTRY PART II (IUPAC Provisional Recommendations). *Chemistry and human health division, Subcommittee on Medicinal Chemistry and Drug Development*. 2011.

CAMMARATA, S. J. Y. A.; ROGERS, K. S. Structure-Activity Relationships having a basis in regular solution theory. *Journal of Medicinal Chemistry*, v. 14, n. 12, 1971.

CARON, G.; ERMONDI, G. in MANNHOLD, R.; KUBINYI, H.; FOLKERS, G. Molecular Drug Properties: Measurement and Prediction, vol. 37, Weinheim: Wiley-VCH, cap. 12, p. 315-328, 2008.

CHEFFER, A.; MUSTAFA, E. V.; AMARAL, A. T.; ULRICH, H. Lipophilicity as a determinant of binding of procaine analogs to rat $\alpha 3\beta 4$ nicotinic acetylcholine receptor. *Journal of neuroscience research*, v. 90, p. 1607-1614, 2012.

CHERKASOV, A.; MURATOV, E. N.; FOURCHES, D.; VARNEK, A.; BASKIN, I. I.; CRONIN, M.; DEARDEN, J.; GRAMATICA, P.; MARTIN, Y. C.; TODESCHINI, R.; CONSONNI, V.; KUZMIN, V. E.; CRAMER, R.; BENIGNI, R.; YANG, C.; RATHMAN, J.; TERFLOTH, L.; GASTEIGER, J.; RICHARD, A.; TROPSHA, A. QSAR Modeling: Where Have You Been? Where Are You Going To? *J. Med. Chem.*, v. 57, p. 4977–5010, 2014.

COLLANDER, R. The Partition of organic compounds between higher alcohols and water. *Acta Chemica Scandinavica*, v. 5, p. 774-780, 1951.

COPELAND, R. A. *Evaluation of enzyme inhibitors in Drug Discovery: A guide for Medicinal Chemists and pharmacologists*. New Jersey: Wiley Interscience – John Wiley & Sons, 2005.

CRAIG, P. J. *J Med Chem*, v. 71, p. 680, 1971.

CRUCIANI, G.; MILLETI, F.; STORCHI, L.; SFORNA, G.; GORACCI, L. In silico pKa Prediction and ADME Profiling. *Chemistry & Biodiversity*, v. 6, p. 1812, 2009.

DABROWSKA, M.; STAREK, M.; SKUCINSKI, J. Lipophilicity study of some non-steroidal anti-inflammatory agents and cephalosporin antibiotics: A review. *Talanta*, v. 86, p. 35–51, 2011.

DARWISH, K. A.; Mrestani, Y.; Neubert, R. H. H. Optimization of ion-pair formation between glycopyrronium bromide and different ion-pair agents using ACE. *Electrophoresis*, v. 36, p. 2805–2810, 2015.

DEARDEN, J. C.; BRESNEN, G. M. The measurement of partition-coefficients. *Quantitative Structure-Activity Relationships*, v. 7, p. 133-144, 1988.

DOWEYKO, A. M. 3D-QSAR illusions. *Journal of Computer-Aided Molecular Design*, v. 18, p. 587–596, 2004.

DUFFEY, M. E.; EVANS, D. F.; CUSSLER, E. L. Simultaneous diffusion of ions and ion pairs across liquid membranes. *Journal of Membrane Science*, v. 3, p. 1-14, 1978.

ELSHAER, A.; Hanson, P.; Mohammed, A. R. A novel concentration dependent amino acid ion pair strategy to mediate drug permeation using indomethacin as a model insoluble drug. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, v. 62, p. 124–131, 2014.

FONSECA, J. J. F. A. Perspectivas e usos de (Q)SAR e de outros métodos computacionais na avaliação de perigo de agrotóxicos. 2013. Dissertação (Mestrado em Toxicologia Aplicada a Vigilância Sanitária), Universidade Estadual de Londrina - Agência de Vigilância Sanitária - Instituto de Química, USP, São Paulo, 2013.

- FRY, A. J. Computational Studies of Ion Pairing. 10. Ion Pairing Between Tetrabutylammonium ion and Inorganic Ions - a General Motif Confirmed. *J. Org. Chem.*, v. 78, p. 5476–5481, 2013.
- GENTRY, C. L.; LUKAS, R. J. Local Anesthetics Noncompetitively Inhibit Function of Four Distinct Nicotinic Acetylcholine Receptor Subtypes. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, v. 299, n. 3, p. 1038, 2001.
- GERTZEN, C. G. W.; GOHLKE, H. From Hansch-Fujita Analysis to AFMoC: A Road to Structure-Based QSAR. *Molecular Informatics*, v. 31, n. 10, p. 698, 2012.
- GUENTHER, E. A.; Johnson, K. S.; Coale, K. H. Direct Ultraviolet Spectrophotometric Determination of Total Sulfide and Iodide in Natural Waters. *Anal. Chem.*, v. 73, p. 3481–3487, 2001.
- GUPTA, S. P. Quantitative structure activity relationship studies on local anesthetics. *Chem. Rev.*, v. 91, p. 1109, 1991.
- HAMMET, L. P. The Effect of structure upon the reactions of organic compounds. Benzene derivatives. *Structure and reactivity of benzene compounds*. v. 59, p. 96, 1937.
- HANSCH, C., LEO, A. *Exploring QSAR: Fundamental and Applications in Chemistry and Biology*, Washington: ACS Professional reference Book, 1995.
- HANSCH, C.; FUJITA, T. p-s-pi Analysis. A method for the correlation of biological activity and chemical structure. *J. Am. Chem. Soc. Washington*, v. 86, p. 1616, 1964.
- HEINY, J. A.; Kravtsova, V. V.; Mandel, F.; Benziane, B.; Prokofiev, A.; Pedersen, S. E.; Chibalin, A. V.; Krivoi, I. I. The Nicotinic Acetylcholine Receptor and the Na,K-ATPase $\alpha 2$ Isoform Interact to Regulate Membrane Electrogenesis in Skeletal Muscle. *The Journal of Biological Chemistry*, v. 285, n. 37, p. 28614–28626, 2010.
- ISHIKI, H. M.; Amaral, A. T. Three-Dimensional Quantitative Structure-Activity Relationship Study of Antitumor 2-Formylpyridine Thiosemicarbazones Derivatives as Inhibitors of Ribonucleotide Reductase. *QSAR Comb. Sci.*, v. 28, n. 11-12, p. 1334 – 1345, 2009.
- ISHIKI, H. M.; Galembeck, S. E.; Amaral, A. T. Application of two alignments procedures in CoMFA analysis of nevirapine derivatives. *Rational Approaches to Drug Design*, p. 340-344, 2001.
- JENSEN, A. A.; FROLUND, B.; LILJEFORS, T.; KROGSGAARD-LARSEN, P. Neuronal Nicotinic Acetylcholine Receptors: Structural Revelations, Target Identifications, and Therapeutic Inspirations. *Journal of medicinal chemistry*, v. 48, n. 15, p. 4705, 2005.
- Jocs. The Journal of Organic Chemistry. Guideline for Authors. Updated August 2013.
- KAMLET, M. J.; ABRAHAM, M. H.; DOHERTY, R. M.; TAFT, R. W. Solubility Properties in Polymers and Biological Media. 4. Correlation of Octanol/Water Partition Coefficients with Solvatochromic Parameters. *J. Am. Chem. Soc.*, v. 106, n. 2, p. 464, 1984.
- KLEBE, G. Wirkstoffdesign – Entwurf und Wirkung von Arzneistoffen, Heidelberg: Spektrum Akademischer Verlag, 2ed., cap. 4, 2009.
- KLEIN, W.; KORDEL, W.; WEISS, M.; POREMSKI, H. J. Updating of the OECD test guideline 107 partition coefficient n-octanol/water: OECD laboratory intercomparison test on the HPLC method. *Chemosphere*, v. 17, n. 2, p. 361-386, 1988.
- KOUFOPOLOU, S. A.; PISTOS, C.; GIAGINIS, C.; TSANTILI-KAKOULIDOU, A. Application of the ion pair concept to the n-octanol–water partitioning of cefepime and cefpirome. *Int. J. Pharm.*, v. 316, p. 52, 2006.
- KUBINYI, H. *QSAR: Hansch Analysis and Related Approaches*, v. 1. Edited by R.Mannhold, P.Krosgaard-Larsen, and H.Timmerman. Weinheim: VCH, 1993.
- LEO, A. J. Calculating $\log P_{oct}$ from sstructures. *Chem Rev*, v. 93, p. 1281-1306, 1993.
- LIU, X.; TESTA, B.; FAHR, A. Lipophilicity and Its Relationship with Passive Drug Permeation. *Pharm Res*, v. 28, p. 962–977, 2011.

LOMBARDO, F., *et al.*, in MANNHOLD, R.; KUBINYI, H.; FOLKERS, G. Molecular Drug Properties: Measurement and Prediction, vol. 37, Weinheim: Wiley-VCH, cap. 16, p. 407-430, 2008.

MALVEZZI, A. Estudo comparativo de parâmetros hidrofóbicos e relacionados à ionização de série de derivados da procaína com atividade bloqueadora neuromuscular. 2003. Dissertação de Mestrado, Instituto de Química, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2003.

MALVEZZI, A.; AMARAL, A. T. Ion pair stabilization effects on a series of procaine structural analogs. *Eur J Pharm Sci*, v. 41, p. 631-635, 2010.

MALVEZZI, A.; AMARAL, A. T.; REZENDE, L. Pharmacophore Model of Cruzain Inhibitors. *QSAR & Combinatorial Science*, v. 28, p. 781-784, 2009.

MANNHOLD, R.; PODA, G. I.; OSTERMANN, C.; TETKO, I. V. Calculation of Molecular Lipophilicity: State-of-the-Art and Comparison of Log P Methods on More Than 96,000 Compounds. *Journal of pharmaceutical sciences*, v. 98, n. 3, 2009.

MARTEL, S., *et al.*, in MANNHOLD, R.; KUBINYI, H.; FOLKERS, G. Molecular Drug Properties: Measurement and Prediction, vol. 37, Weinheim: Wiley-VCH, cap. 13, p. 331, 2008.

MARTEL, S.; GILLERAT, F.; CAROSATI, E.; MAIARELLI, D.; TETKO, I. V.; MANNHOLD, R.; CARRUPT, P.A. Large, chemically diverse dataset of *logP* measurements for benchmarking studies. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, v. 48, p. 21-29, 2013.

MAZAK, K.; Noszal, B. Drug delivery: A process governed by species-specific lipophilicities. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, v. 62, p. 96-104, 2014.

McCarthy, D. J., Campbell, A. J.; Kern, G.; Moustakas, D. Fragment-Based Lead Discovery and Design. *J. Chem. Inf. Model.* 54, v. 54, p. 693-704, 2014.

MILLETTI, F., STORCHI, L.; SFORNA, G.; CRUCIANI, G. New and Original pKa Prediction Method Using Grid Molecular Interaction Fields. *J. Chem. Inf. Model.*, v. 47, p. 2172-2181, 2007.

MORAES, J. M.; SIQUEIRA, L. J. A.; LAPA, A. J.; SOUCCAR, C.; MALVEZZI, A.; AMARAL, A. T. Lipophilicity studies of set of quaternary ammonium bromides with neuromuscular blockage activity, Physchem and ADMET profiling in drug research, The 4th *logP* Symposium, Zürich, Switzerland, 2009.

MSDS Alfa Aesar – Safety Data Sheet, per OSHA HazCom 2012. Disponível em: <<https://www.alfa.com/pt/content/msds/USA/A11786.pdf>>. Acesso em: 8 de Junho de 2016.

MSDS Sigma Aldrich- Ficha de Informações de Segurança de Produtos Químicos, versão 5.3, revisada em 13/03/2015. Sigma Aldrich - O4003. Disponível em: <<http://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/sigma/o4003?lang=pt®ion=BR>>. Acesso em: 8 de Junho de 2016.

NAGY, P. I.; TAKACS-NOVAK, K. Theoretical and Experimental Study on Ion-Pair Formation and Partitioning of Organic Salts in Octanol/Water and Dichloromethane/Water Systems. *J. Am. Chem. Soc.*, v. 122, p. 6583-6593, 2000.

NATESAN, S.; WANG, Z.; LUKACOVA, V.; PENG, M.; SUBRAMANIAM, R.; LYNCH, S.; BALAZ, S. Structural Determinants of Drug Partitioning in n-Hexadecane/Water System. *J. Chem. Inf. Model.*, v. 53, p. 1424-1435, 2013.

NENCINI, A.; CASTALDO, C.; COMERY, T. A.; DUNLOP, J.; GENESIO, E.; GHIRON, C.; HAYDAR, S.; MACCARI, L.; MICCO, I.; TURLIZZI, E.; ZANALETI, R.; ZHANG, J. Design and synthesis of a hybrid series of potent and selective agonists of $\alpha 7$ nicotinic acetylcholine receptor. *European Journal of Medicinal Chemistry*, v. 78, p. 401-418, 2014.

NEUBERT, R. Ion pair transport across membranes. *Pharmaceutical Research*, v. 6, n. 9, p. 743-747, 1989.

OECD 107 Method, 1995. OECD guideline for the testing of chemicals adopted by the Council on 27th July 1995 Partition Coefficient (n-octanol/water): Shake Flask Method. <<http://www.oecd.org/chemicalsafety/risk-assessment/1948169.pdf>>.

OLIVERA-BRAVO, S.; IVORRA, I.; MORALES, A. The acetylcholinesterase inhibitor BW284c51 is a potent blocker of Torpedo nicotinic AchRs incorporated into the *Xenopus* oocyte membrane. *British journal of pharmacology*, v. 144, p. 88-97, 2005.

PAGAN, O. R.; SIVAPRAKASAM, K.; OSWALD, R. E. Molecular Properties of Local Anesthetics as Predictors of Affinity for Nicotinic Acetylcholine Receptors. *Journal of Neuroscience Research*, v. 85, p. 2943–2949, 2007.

PETRAUSKAS, A. A.; KOLOVANOV, E. A. ACD/LogP method description. *Perspectives in Drug Discovery and Design*, v. 19, p. 99–116, 2000.

PICCIRILLO, E.; MERGET, B.; SOTRIFFER, C. A.; AMARAL, A. T.-do. How to assess Dengue virus NS2B/NS3pro binding-site flexibility in the search for novel inhibitors?, In: Gordon Research Conference on Computer-Aided Drug Design, Mount Snow Resort, VT, Estados Unidos, de 19 a 24 de Julho de 2015.

PICCIRILLO, E.; MERGE, B.; SOTRIFFER, C. A.; AMARAL, A. T. Conformational flexibility of DENV NS2B/NS3pro: from the inhibitor effect to the serotype influence. *Journal of Computer-Aided Molecular Design*, v. 30, p. 251-270, 2016.

Pion. World leader in drug absorption measurement: ionization, dissolution, solubility, permeability, flux. © 2016 Pion Inc. Disponível em: <<http://www.pion-inc.com/>>. Acesso em: 8 de Junho de 2016.

PIRES J.R., SAITO C., GOMES S.L., GIESBRECHT, A.M., AMARAL. A.T.-DO. Investigation of 5-Nitrofurans Derivatives: Synthesis, Antibacterial Activity and Traditional Quantitative Structure-Activity Relationships, *J. Med. Chem.*, v.44, p. 3673-3681, 2001.

PIRES, J. R. M. Relações quantitativas entre a estrutura química de derivados nitrofurânicos e a atividade antimicrobiana contra *Caulobacter crescentus* e *Staphylococcus aureus*. 1998. Tese de doutorado, Instituto de Química, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1998.

POMONA COLLEGE, Biobyte. CLOGP. Pomona College, Claremont, CA, USA, 2003.

POOLE, C. F.; ARIYASENA, T. C.; LENCA, N. Estimation of the environmental properties of compounds from chromatographic measurements and the solvation parameter model. *Journal of Chromatography A*, v. 1317, p. 85–104, 2013.

QUINA, F. H.; ALONSO, E. O.; FARAH, J. P. S. Incorporation of Nonionic Solutes into Aqueous Micelles: A Linear Solvation Free Energy Relationship Analysis. *J. Phys. Chem.*, v. 99, p. 11708-11714, 1995.

QUINTANAR-GUERRERO, D.; ALLEMANN, E.; FESSI, H.; DOELKER, E. Applications of the ion-pair concept to hydrophilic substances with special emphasis on peptides. *Pharmaceutical Research*, v. 14, n. 2, p. 119-127, 1997.

RAMINELLI, C. Estudo da relação quantitativa entre a estrutura química e a atividade citotóxica de séries de derivados de bases de Mannich. 2001. Dissertação de mestrado, Instituto de Química, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2001.

RHEE, W. J.; Lee, S. Y.; Lee, J.; Choi, S. R.; Lee, S.; Lee, J. H. The effect of high concentration of magnesium with ropivacaine, gentamicin, rocuronium, and their combination on neuromuscular blockade. *Korean J Anesthesiol*, v. 68, n. 1, 2015.

RING *et al.* Bispyridinium Compounds Inhibit Both Muscle and Neuronal Nicotinic Acetylcholine Receptors in Human Cell Lines. *Plos One* DOI:10.1371/journal.pone.0135811, 2015.

RUSYN, I.; SEDYKH, A.; LOW, Y.; GUYTON, K. Z.; TROPSHA, A. Predictive Modeling of Chemical Hazard by Integrating Numerical Descriptors of Chemical Structures and Short-term Toxicity Assay Data. *Toxicological sciences*, v. 127, n. 1, p. 1–9, 2012.

SAMIEI, N.; SHAFATI, A.; ZARGHI, A.; MOGHIMI, H. R.; FOROUTAN, S. M. Enhancement and in vitro evaluation of amifostine permeation through artificial membrane (PAMPA) via ion pairing approach and mechanistic selection of its optimal counter ion. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, v. 51, p. 218–223, 2014.

SANTOS, E. V. M. Estudo da relação quantitativa entre a estrutura química e a atividade antimicrobiana de cloretos de N,N[(dimetilamino)etil]benzoatos para e meta substituídos avaliada contra *Saccharomyces cerevisiae* (BY4741) e *Escherichia coli* (DH5a). 2009. Tese de doutorado, Instituto de Química, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2009.

SARVEIYA, V.; Templeton, J. F.; Benson, H. A. E. Effect of lipophilic counter-ions on membrane diffusion of benzydamine. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, v. 26, p. 39–46, 2005.

SCHANKER, L. S. On the mechanism of absorption of drugs from the gastrointestinal tract. *Journal of medicinal and pharmaceutical chemistry*, v. 2, n. 4, 1960.

SCHERRER, R. A. Biolipid pKa values and the lipophilicity of ampholytes and ion pairs, in TESTA, B.; VAN DE WATERBEEMD, H.; FOLKER, G.; GUY, R. Pharmacokinetic Optimization in Drug Research: Biological, Physicochemical, and Computational Strategies, Zurich: Verlag Helvetica Chimica Acta, 2001.

SCOTTI, M. T. Estudo de propriedades físico-químicas e de critérios para obtenção e validação de modelos QSAR para séries de análogos de semicarbazonas com atividade antichagásica, retiradas da literatura. 2005. Dissertação (Mestrado em Química Orgânica), Instituto de Química Universidade de São Paulo, São Paulo, 2005.

SCOTTI, M. T.; SCOTTI, L.; ISHIKI, H. M.; PERON, L. M.; REZENDE, L.; AMARAL, A. T. Variable-selection approaches to generate QSAR models for a set of antichagasic semicarbazones and analogues. *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems*, v. 154, p. 137–149, 2016.

SEGAN, S.; Opsenica, I.; Zlatovic, M.; Opsenica, D. M.; Solaja, B. Quantitative structure retention/activity relationships of biologically relevant 4-amino-7-chloroquinoline based compounds. *Journal of Chromatography B*, v. 1012-1013, p. 144–152, 2016.

SEILER P. Interconversion of lipophilicities from hydrocarbon-water systems into octanol-water system. *Eur J Med Chem*, v. 5, p. 473-479, 1974.

SEYDEL, J. K.; SCHAPER, K. J. Chemische Struktur und Biologische Aktivität von Wirkstoffen Methoden der Quantitative Struktur-Wirkung-Analyse. Weinheim: VCH, 1979.

SIQUEIRA, L. J. A. Relação quantitativa entre a estrutura química e o bloqueio da transmissão neuromuscular para série de brometos de [2-(4-benzamido)etil]benzildimetilamônio para-substituídos. 2001. Dissertação de mestrado, Instituto de Química, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2001.

SLIWOSKI, G.; MENDENHALL, J.; MEILER, J. Autocorrelation descriptor improvements for QSAR: 2DA_Sign and 3DA_Sign. *J Comput Aided Mol Des*, v. 30, p. 209–217, 2016.

SONG et al. Regulating the Skin Permeation Rate of Escitalopram by Ion-pair Formation with Organic Acids. *AAPS PharmSciTech*, DOI: 10.1208/s12249-015-0474-y, 2016.

SOUZA, W. A. Estudo da relação entre estrutura química e toxicidade aguda em série de cloretos de [2-(benzoiloxi)etil]dimetilamônio meta substituídos, com atividade anestésica local. 1997. Dissertação de Mestrado, Instituto de Química, Universidade de São Paulo, 1997.

STENLAKE, J. B.; DHAR, N. C.; HADDOW, J.; MCDONALD, I. M.; MAEHR, R. B.; WASTILA, W. B. Neuromuscular blocking agents some approaches to short acting compounds. *Eur. J. Med. Chem.*, v. 27, p. 463, 1992

TAKACS-NOVAK, K.; SZASZ, G. Ion-pair partition of quaternary ammonium drugs: the influence of counter ions of different lipophilicity, size and flexibility. *Pharmaceutical Research*, v. 16, n. 10, p. 1633-1638, 1999.

TAYLOR, P. J. Hydrophobic properties of drugs, p. 241, in HANSCH, C., SAMMES, P. G., TAYLOR, J. B. Comprehensive Medicinal Chemistry, v. 4, Oxford: Pergamon Press, 1990.

TESTA, B., et al., in PLISKA, V.; TESTA, B.; VAN DER WATERBEEMD, H. Lipophilicity in drug action and toxicology, vol. 4, Weinheim (Germany): VCH Publishers, cap. 4, p. 49-70, 1996.

TETKO, I. V.; TANCHUK, V. Y. Application of associative neural networks for prediction of lipophilicity in ALOGPS 2.1 program. *J. Chem. Inf. Comput. Sci.*, v. 42, p. 1136-45, 2002.

TROPSHA, A.; GOLBRAIKH, A. Predictive QSAR Modeling Workflow, Model Applicability Domains, and Virtual Screening. *Current Pharmaceutical Design*, v. 13, p. 3494-3504, 2007.

TSOPELAS, F.; VALLIANATOU, T.; TSANTILI-KAKOULIDOU, A. Advances in immobilized artificial membrane (IAM) chromatography for novel drug discovery. *Expert Opinion on Drug Discovery*, DOI: 10.1517/17460441.2016.1160886, 2016.

TUREGA, S.; CULLEN, W.; WHITEHEAD, M.; HUNTER, C. A.; WARD, M. D. Mapping the Internal Recognition Surface of an Octanuclear Coordination Cage Using Guest Libraries. *J. Am. Chem. Soc.*, v. 136, p. 8475-8483, 2014.

Universidade de São Paulo – Instituto Nacional da Propriedade Industrial. SOUZA, M. A.; AMARAL, A. T.-do; SANTOS, E. V. M.; SOUZA, G. M.; NETTO, L. Composição antimicrobiana, método de inibição de microorganismos, uso de cloretos de N,N[(dimetilamino)etil] benzoatos substituídos e método de avaliação da funcionalidade de antimicrobianos. BR PI0181000083582010, 11 de Março de 2010.

Universidade de São Paulo – Instituto Nacional da Propriedade Industrial. SOUZA, M. A.; AMARAL, A. T.-do; MALVEZZI, A.; REZENDE, L. MÉTODO PARA TRIAGEM DE MODULADORES DA ATIVIDADE DE CISTEÍNO-PROTEASES, MODULADORES DA ATIVIDADE DE CISTEÍNO-PROTEASES E COMPOSIÇÃO FARMACÊUTICA COMPREENDENDO OS MESMOS. BR PI08054924, 1 de Dezembro de 2008.

Universidade de São Paulo – Instituto Nacional da Propriedade Industrial. AMARAL, A. T.-do; PICCIRILLO, E.; YURI, M.; JULIANO, M. A. MÉTODO DE IDENTIFICAÇÃO DE COMPOSTOS ANTIVIRAIS, COMPOSTOS ANTIVIRAIS, MÉTODO DE AVALIAÇÃO DA FUNCIONALIDADE DOS COMPOSTOS ANTIVIRAIS, USO DOS COMPOSTOS ANTIVIRAIS E COMPOSIÇÃO FARMACÊUTICA ANTIVIRAL. BR1020150006562, 24 de Março de 2015.

USSING, C. A.; *et al.* Synthesis, Pharmacology, and Biostructural Characterization of Novel α 4 β 2 Nicotinic Acetylcholine Receptor Agonists. *J. Med. Chem.*, v. 56, p. 940-951, 2013.

VISCONTI, A.; ERMONDI, G.; CARON, G.; ESPOSITO, R. Prediction and interpretation of the lipophilicity of small peptides. *J Comput Aided Mol Des*, v. 29, p. 361-370, 2015.

VIVIANI, L. G.; Piccirillo, E.; Rezende, L.; Amaral, A.T.-do. Virtual screening search for potential inhibitors and selectivity studies for Trypanosoma cruzi lipoamide dehydrogenase. In: Antioxidants and redox process in health - Bilateral meeting Brazil-Japan, 2013, Sao Paulo. Antioxidants and redox process in health - Bilateral meeting Brazil-Japan, 2013.

VIVIANI, L.G.; Piccirillo, E.; Rezende, L.; Peron, L.; Amaral, A.T.-do. In silico identification of novel potential inhibitors of human ecto-5'-nucleotidase (E5NT/CD73). In: 20thEuroQSAR, 20., 2014, St. Petersburg. Painel P137, Rússia, St. Petersburg, 2014, p. 211.

Volsurf+ User Manual, 2009. Copyright © 2002, 2008 Molecular Discovery Ltd. Reference manual for the VolSurf+ program. Build Date: 4 March 2009

WAGNER, B.; FISCHER, H.; KANSY., M.; SEELIG, A.; ASSMUS, F. Carrier Mediated Distribution System (CAMDIS): A new approach for the measurement of octanol/water distribution coefficients. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, v. 68, p. 68-77, 2015.

WEIZENMANN, N.; HUSTER, D.; SCHEIDT, H. A. Interaction of local anesthetics with lipid bilayers investigated by 1H MAS NMR spectroscopy. *Biochimica et Biophysica Acta*, v. 1818, p. 3010-3018, 2012.

WENLOCK, M. C.; POTTER, T.; BARTON, P.; AUSTIN, R. P. A Method for Measuring the Lipophilicity of Compounds in Mixtures of 10. *J Biomol Screen*, v. 16, p. 348, 2011.

WESTFALL, T. C.; WESTFALL, D. P. Neurotransmissão: os sistemas nervosos autônomo e somático motor. In: BRUNTON, L. L.; CHABNER, B. A.; KNOLLMANN, B. C. As bases Farmacológicas da Terapêutica de Goodman & Gilman. 12 ed., New York: The McGraw-Hill Companies, 2011, cap. 8.

WOLFENDEN, R.; YUAN, Y. Monoalkyl sulfates as alkylating agents in water, alkylsulfatase rate enhancements, and the "energy-rich" nature of sulfate half-esters. *PNAS*, v. 104, n. 1, 2007.

WORTH, A.; FUART-GATNIK, M.; LAPENNA, S.; SERAFIMOVA, R. Applicability of QSAR analysis in the evaluation of developmental and neurotoxicity effects for the assessment of the toxicological relevance of metabolites and degradates of pesticide active substances for dietary risk. Italy: [s.n.], 174 p., 2011.

XING et al. NMR Studies on Selectivity of α -Cyclodextrin to fluorinated/Hydrogenated Surfactant Mixtures. *J. Phys. Chem. B*, v. 111, p. 8089-8095, 2007.

YOUNG, R. C.; MITCHELL, R. C.; BROWN, T. H.; GANELLIN, C. R.; GRIFFITHS, R.; JONES, M.; RANA, K. K.; SAUNDERS, D.; SMITH, I. R.; SORE, N. E.; WILKS, T. J. Development of a New Physicochemical Model for Brain Penetration and Its Application to the Design of Centrally Acting H₂ Receptor Histamine Antagonists. *J. Med. Chem.*, v. 31, p. 656-671, 1988.

YUN, I. CHO ES, JANG HO. Amphiphilic effects of local anesthetics on rotational mobility in neuronal and model membranes. *BBA-biomembranes*, v. 1564, 1, p. 123-132, 2002.

ZOU, J. W.; HUANG, M.; HUANG, J. X.; HU, G. X.; JIANG, Y. J. Quantitative structure–hydrophobicity relationships of molecular fragments and beyond. *Journal of Molecular Graphics and Modelling*, v. 64, p. 110–120, 2016.