UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
Programa de Pós-Graduação em Tecnologia Bioquímico-Farmacêutica
Área de Concentração Tecnologia Químico-Farmacêutica

**QSPR/SAR em derivados 5-nitro-heterocíclicos com
atividade antichagásica**
**Estudo das relações entre o potencial de redução do grupo
nitro e propriedades físico-químicas**

Fávero Reisdorfer Paula

Tese para obtenção do grau de
DOUTOR

Orientador:

Prof. Assoc. Leoberto Costa Tavares

SÃO PAULO

2007

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
Programa de Pós-Graduação em Tecnologia Bioquímico-Farmacêutica
Área de Concentração Tecnologia Químico-Farmacêutica

**QSPR/SAR em derivados 5-nitro-heterocíclicos com
atividade antichagásica**
**Estudo das relações entre o potencial de redução do grupo
nitro e propriedades físico-químicas**

Fávero Reisdorfer Paula

Tese para obtenção do grau de
DOUTOR

Orientador:

Prof. Assoc. Leoberto Costa Tavares

SÃO PAULO

2007

Fávero Reisdorfer Paula

**QSPR/SAR em derivados 5-nitro-heterocíclicos com
atividade antichagásica
Estudo das relações entre o potencial de redução do grupo
nitro e propriedades físico-químicas**

Comissão Julgadora
da
Tese para obtenção do grau de Doutor

Prof. Dr. Leoberto Costa Tavares
orientador/presidente

Profa. Dra. Silvia Helena Pires Serrano
Instituto de Química - USP

Prof. Dr. Kerly Fernanda Mesquita Pasqualoto
Instituto de Química - Unicamp

Profa. Dra. Carlota de Oliveira Rangel Yagui
Faculdade de Ciências Farmacêuticas - USP

Profa. Dra. Cristina Northfleet de Albuquerque
Faculdade de Ciências Farmacêuticas - USP

São Paulo, 02 de Maio de 2007.

*“Viver e não ter a vergonha de ser feliz
cantar, e cantar, e cantar
a beleza de ser um eterno aprendiz...”*

Gonzaguinha

*“A mente que se abre a uma nova idéia
jamais retorna ao tamanho original”*

Albert Einstein

Agradecimentos

Ao Prof. Dr. Leoberto Costa Tavares pelos momentos de luz, exemplo e amizade. Agradeço pela orientação, simpatia, ensinamentos e questionamentos os quais direcionaram o meu trabalho e, sobretudo, a minha formação profissional.

A Profa. Dra. Sílvia Helena Pires Serrano pela amizade, orientação, apoio e força. Agradeço por me proporcionar estar presente a fonte abundante de luz e conhecimento, e por despertar-me a alegria de aprender.

A Profa. Dra. Maria Júlia Manso Alves, do Departamento de Bioquímica do Instituto de Química da USP/SP, por proporcionar suporte fundamental para o estabelecimento dos ensaios biológicos desenvolvidos neste estudo. Do mesmo modo, agradeço a Mestre Marinei F. Gonçalves, do Departamento de Bioquímica do Instituto de Química da USP/SP, pelo auxílio, apoio e pelas valiosas discussões sobre manutenção da cultura de *Trypanosoma cruzi*.

A Profa. Dra. Elizabeth Igne Ferreira pela oportunidade de trabalhar e desenvolver as metodologias de modelagem molecular no Laboratório de Planejamento e Síntese de Quimioterápicos.

A colega e Dra. Carla Maria de Souza Menezes pelos ensinamentos e por discussões valiosas sobre a aplicação das técnicas de modelagem molecular.

A Profa. Dra. Carlota de Oliveira Rangel Yagui pela amizade, apoio e exemplo. Agradeço pelo auxílio e valiosas discussões sobre os ensaios biológicos realizados nesta tese.

A Profa. Dra. Nina Coichev, do Departamento de Química Fundamental do Instituto de Química da USP/SP, pela disponibilidade do laboratório e permitir o emprego de equipamentos de sua responsabilidade.

Ao Prof. Dr. Adalberto Pessoa Junior pela oportunidade do emprego de seu laboratório e dos equipamentos de sua responsabilidade.

A Profa. Dra. Cristina Northfleet de Albuquerque pela amizade, força e estímulo.

Ao colega Marcus Tullius Scotti pelas discussões e dicas sobre quimiometria.

Aos grandes colegas do Laboratório de Planejamento e Desenvolvimento de Fármacos, em especial para Sibila, Vanderson, Salomão, Maria das Graças, Ana, Ieda, Hélio, Leonardo Viana, Sandra, Leonardo e Luiz pela amizade, auxílio e convivência. Agradeço também aos colegas Andréa, Márcia e Marcos pelo apoio em fases iniciais deste trabalho.

Aos caros colegas Murilo, Rita, Robson e Prof. Wiliam do Laboratório de Bioeletroquímica e Bioeletroanalítica, pelos ensinamentos, convívio, amizade e pelos momentos alegres.

Aos colegas do Laboratório de Planejamento e Síntese de Quimioterápicos, Gustavo, Mauro, Daniela, Carol, Jeanine, Kátia e Vanessa, pelo apoio, discussões valiosas sobre o trabalho, convivência e amizade.

A minha família, Jauri, Ione, Árlen, Giovana, Laís, Heron, Marilda e Murilo, pela dedicação, pelo companheirismo, apoio, amor e carinho nesta e em outras jornadas desta vida. À minha avó Prudenciana (*in memorian*) pelo apoio irrestrito e por proporcionar-me a paixão de estudar.

A Aline Santos da Silva pelo amor, compreensão, carinho, apoio e companheirismo.

Aos meus caros amigos conterrâneos, colegas e companheiros de doutorado, Paulo, Emerson e Marcos, pela amizade, apoio, discussões e companheirismo.

Ao CNPq pela bolsa de pesquisa e auxílio financeiro para a realização deste trabalho.

SUMÁRIO

RESUMO.....	xix
ABSTRACT.....	xxi
1. INTRODUÇÃO.....	01
1.1 Doença de Chagas e terapêutica.....	02
1.2 Nitrocompostos.....	05
1.3 Mecanismo de ação dos nitrocompostos.....	06
1.4 Determinação do potencial de redução dos nitrocompostos.....	09
1.4.1 Voltametria Cíclica.....	11
1.4.2 Voltametria de Onda Quadrada.....	13
1.5 Modelagem Molecular.....	16
1.6 Ensaios de suscetibilidade antichagásica.....	19
1.7 Relações quantitativas entre estrutura-atividade biológica/ Relações quantitativas entre estrutura-propriedade.....	22
1.7.1 Descritores estruturais	25
1.7.1.1 Descritores estruturais que expressam os efeitos eletrônicos.....	25
1.7.1.2 Descritores estruturais que expressam a hidrofobicidade.....	29
1.7.1.3 Parâmetros que expressam a atividade biológica.....	33
1.7.1.4 Escolha dos grupos substituintes.....	33
1.7.1.5 Análise de Hansch.....	35
1.7.1.6 Quimiometria aplicada ao estudo de QSAR/QSPR.....	37
2.1 JUSTIFICATIVA.....	40
2. 2 OBJETIVOS.....	41
3. EXPERIMENTAL.....	42
3.1 Materiais.....	43
3.1.1 Reagentes.....	43
3.1.2 Nitrocompostos.....	43
3.1.1.3 Equipamentos.....	44
3.2 Métodos.....	44

3.2.1 Técnicas experimentais utilizadas.....	44
3.2.2 Preparo de amostras.....	45
3.2.3 Determinação do potencial de redução.....	45
3.2.3.1 Eletrodos.....	45
3.2.3.1 A) Tratamento do eletrodo de carbono vítreo.....	45
3.2.3.1. B) Preparo dos eletrodos de trabalho em pasta de carbono.....	45
3.2.4 Soluções tampão - Escolha e estudo do seu comportamento frente aos nitrocompostos.....	46
3.2.5 Espectrofotometria UV/Vis.....	46
3.2.6 Estudos de modelagem molecular.....	46
3.2.6 A) Otimização de geometria e análise conformacional.....	47
3.2.6 B) Energia de carga de ponto único e mapas de potencial eletrostático.....	48
3.2.6 C) Propriedades físico-químicas.....	49
3.2.7 Ensaio de atividade antichagásica.....	49
3.2.7 A) Meio de cultura.....	49
3.2.7 B) Condições de cultivo.....	50
3.2.7 C) Ensaio de suscetibilidade antichagásica.....	50
3.2.8 Relações estrutura-propriedades - QSPR.....	51
3.2.8.1 Escolha dos substituintes.....	51
3.2.8.2 Estudo de QSPR.....	53
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	56
4.1 Escolha da solução-tampão a ser empregada na determinação do potencial de redução.....	57
4.2 Determinação do potencial de redução de nitrocompostos.....	57
4.2.1 Meio aprótico.....	60
4.2.2 Meio misto (DMSO/solução tampão PIPES 50% v/v).....	66
4.2.2.1 Eletrodo de carbono vítreo.....	66
4.2.2.2 Eletrodo de pasta de carbono.....	69
4.3.3 Meio prótico (aquoso).....	69
4.3 Modelagem Molecular.....	76
4.3.1 Cálculo de otimização de geometria estrutural.....	76
4.3.2 Análise conformacional.....	76
4.3.3 Cálculo de energia de carga de ponto único.....	82
4.3.4 Estudo estereoeletrônico.....	85

4.4	Descritor eletrônico de Hammett.....	93
4.5	Descritores de Hidrofobicidade.....	93
4.6	Relações entre as propriedades físico-químicas e o potencial de redução ou potencial de pico catódico dos nitrocompostos, QSPR.....	95
4.6.1	Análise de QSPR em meio aprótico.....	95
4.6.2	Análise de QSPR em meio misto.....	105
4.6.3	Análise de QSPR em meio aquoso.....	108
4.6.4	Considerações parciais da análise de QSPR.....	109
4.7	Ensaio de atividade frente ao <i>Trypanosoma cruzi</i>	109
4.7.1	Estudo das relações estrutura-atividade.....	112
4.7.2	Considerações parciais da atividade antichagásica dos nitrocompostos....	113
5.	CONCLUSÕES.....	114
6.	PESPECTIVAS.....	117
7.	BIBLIOGRAFIA.....	119
8.	ANEXO 1.....	136
8.1	Espectros de Espectrofotometria UV/Vis.....	137
9.	Curriculum vitae.....	139

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.	Ciclo evolutivo do <i>Trypanosoma cruzi</i>	03
Figura 2.	Estrutura química dos fármacos atualmente empregados no tratamento da Doença de Chagas.....	04
Figura 3.	Estrutura química da nifuroxazida e de análogos antichagásicos potenciais.....	06
Figura 4.	Rotas de biorredução anaeróbia e aeróbia de nitrocompostos aromáticos, e os intermediários, formados em reações subseqüentes, ativos frente ao <i>Trypanosoma cruzi</i> e a bactérias.....	07
Figura 5.	Onda triangular de potencial aplicado ao eletrodo de trabalho (A), expressão gráfica da corrente vs potencial característica da voltametria cíclica (B).....	12
Figura 6.	Seqüência de pulsos (1-4) característica para a Voltametria de Onda Quadrada aplicados em determinado período de tempo. Corrente amostrada é sempre $i_2 - i_1$	14
Figura 7.	Voltamograma de onda quadrada que demonstra a ocorrência de pulsos direto (corrente catódica), reverso (corrente anódica) e a corrente resultante.....	15
Figura 8.	Reação de ionização de ácidos benzóicos.....	26
Figura 9.	Diagrama de intercorrelação σ vs π em substituição <i>para</i> -aromática do ácido benzóico.....	34
Figura 10.	Estrutura química dos compostos <i>5-nitro-2-furfulideno 4-R-benzidrazidas</i> , X=O, e <i>5-nitro-tiofilideno 4-R-benzidrazidas</i> , X=S, utilizadas neste trabalho.....	44

Figura 11.	Fluxograma que expressa as etapas e procedimentos semi-empírico (AM1) e <i>ab initio</i> (HF 3,21G* e 6,31G*) utilizados na modelagem molecular.....	47
Figura 12.	Ângulos diedros (θ) utilizados na análise conformacional dos 5-nitro-heterocíclicos.....	48
Figura 13.	Grupos substituintes escolhidos para a realização dos experimentos em meio aprótico de redução.....	52
Figura 14.	Grupos substituintes escolhidos para a realização dos experimentos em meio misto de redução.....	53
Figura 15.	Voltamogramas cíclicos (A) e voltamogramas de onda quadrada (B) registrados com eletrodo de carbono vítreo em solução 0,5 mmol L ⁻¹ de 5-nitro-2-tiofilideno benzidrazida (DMSO, contendo Bu ₄ NH ₄ BF ₄ 0,1 mol L ⁻¹).....	62
Figura 16.	Comportamento da corrente em função do acréscimo da frequência utilizada em VOQ, na redução da 5-nitro-2-tiofilidênico benzidrazida (E_{pc}) em meio aprótico (DMSO).....	65
Figura 17.	Voltamogramas cíclicos (A) e de onda quadrada (B) registrados com eletrodo de carbono vítreo em solução 0,5 mmol L ⁻¹ de 5-nitro-2-tiofilideno benzidrazida (DMSO/solução tampão PIPES, 50% v/v)	68
Figura 18.	Voltamogramas registrados com eletrodo de pasta de carbono (----) e eletrodo de pasta de carbono modificado com a 5-nitro-2-tiofilideno benzidrazida (—) em solução tampão PIPES pH 7,06..	72
Figura 19.	Voltamogramas registrados com eletrodo de pasta de carbono (----) e eletrodo de pasta de carbono modificado com a 5-nitro-2-tiofilideno benzidrazida (—) em solução NaOH (pH 10,0).....	73

- Figura 20.** Confôrmeros de menor energia mínima obtidos por AM1 dos 5-nitro-heterocíclicos (S) e (O): modelos CPK (1) e tubo - visão frontal e lateral (2). Cor dos átomos: C (cinza); H (branco); N (Azul); O (vermelho); S (verde)..... 77
- Figura 21.** Confôrmero de menor energia mínima obtido por método AM1 (configuração *s-trans*) e confôrmero (hidrogênios em configuração *s-cis*) descrito na literatura para a nifuroxazida: modelo misto de bolas e tubo. Coloração dos átomos: C (cinza); H (branco); N (Azul); O (vermelho); S (verde)..... 80
- Figura 22.** Estrutura química dos nitrocompostos (A) *5-nitro-2-tiofilideno 4-fluor-di-vinilhidrazida* e (B) *5-nitro-2-tiofilideno 4-etilhidrazida* utilizados na investigação da influência do anel benzênico sobre a conformação dos derivados 5-nitro-heterocíclicos,..... 81
- Figura 23.** Hipótese de ocorrência de equilíbrio ceto-enólico da estrutura da *5-nitro-2-tiofilideno benzidrazida*..... 82
- Figura 24.** Mapas de distribuição orbitalar de HOMO (A) e LUMO (B) calculados por AM1 para os compostos 1) *5-nitro-2-tiofilideno benzidrazida* e 2) *5-nitro-2-furfurilideno benzidrazida*, isossuperfície de 0,032 eV. Cor dos átomos: C (cinza); H (branco); N (Azul); O (vermelho); S (verde)..... 87
- Figura 25.** Mapas tridimensionais do potencial eletrostático calculado por AM1 para os compostos 1) *5-nitro-2-tiofilidênico benzidrazidas [(S)OH]* e 2) *5-nitro-2-furfurilidênico benzidrazidas [(O)H]*, isossuperfície de 0,002 eV. Parte superior: (A) visão frontal; Abaixo (B) visão posterior. Escala de cor nível 11: vermelha -65,00, verde cerca de -10,00 até azul 41,00 Kcal/mol..... 89

Figura 26.	Influência da distribuição eletrônica, σ_R , e da carga de potencial eletrostático do carbono ligado ao grupo nitro (QC ₁₄) sobre o potencial de pico catódico, $E_{pc\ 1}$, de nitrocompostos em meio aprótico.....	97
Figura 27.	Resíduo de correlação obtido a partir da equação 27 vs potencial de pico catódico ($E_{pc\ 1}$) determinado experimentalmente.....	101
Figura 28.	Resíduo da correlação obtido a partir da equação 27 vs potencial de pico catódico ($E_{pc\ 1}$) predito no modelo.....	101
Figura 29.	Relação entre os valores de $E_{pc\ 1}$ determinados e predito pelo modelo.....	104
Figura 30.	Relação entre o erro de predição e o número de componentes do modelo.....	104
Figura 31.	Relação entre o erro de predição e o número de componentes do modelo.....	108
Figura 32.	Espectro de UV/vis de <i>5-nitro-2-tiofilidênico benzidrazida</i> em meio misto (DMSO/PIPES 50% v/v), varredura de scan 200-750 nm, velocidade de scan 1200 nm min ⁻¹	137
Figura 33.	Espectro de UV/vis de <i>5-nitro-2-tiofilidênico benzidrazida</i> em meio aprótico (DMSO, 100% v/v), varredura de scan 200-750 nm, velocidade de scan 1200 nm min ⁻¹	138

LISTA DE TABELAS

Tabela 1.	Propriedades físico-químicas utilizadas no estudo de QSPR de 5-nitro-2-tiofilideno benzidrazidas e 5-nitro-2-furfulideno benzidrazidas.....	55
Tabela 2.	Influência de diferentes soluções-tampão sobre a solubilidade de 1,0 mmol L ⁻¹ de nitrocompostos dissolvidos em DMSO.....	57
Tabela 3.	Critérios de diagnóstico utilizados para identificar o número de elétrons e caracterizar o tipo de reação eletródica.....	59
Tabela 4.	Valores dos potenciais de picos catódicos (E _{pc}) e picos anódicos (E _{pa}) dos nitrocompostos em meio aprótico.....	64
Tabela 5.	Valores de E _{1/2} dos nitrocompostos, referente ao par Ar-NO ₂ /Ar-NO ₂ ^{•-} e E _{pc 1} obtidos em meio aprótico (VC), em meio misto (VOQ) e meio prótico (VC).....	75
Tabela 6.	Valores de ângulos diedros e distâncias atômicas de maior importância para o estudo dos nitrocompostos.....	84
Tabela 7.	Valores das energias de HOMO, de LUMO dos nitrocompostos obtidos com o método AM1 e das propriedades eletrônicas calculadas a partir destes.....	91
Tabela 8.	Valores de energia de formação em vácuo e meio solvatado, momento de dipolo e cargas de potencial eletrostático calculadas pelo método AM1.....	92
Tabela 9.	Valores dos descritores estruturais de caráter eletrônico, σ_p e σ_R , e hidrofóbico, π e $Clog P$, e do delta do potencial de meia onda, $\Delta E_{1/2}$	94

Tabela 10.	Matriz de intercorrelação dos descritores físico-químicos empregados nos estudos de QSPR/SAR.....	98
Tabela 11.	Modelos correlacionais, parâmetros estatísticos, número de compostos das dez melhores correlações que expressam a dependência de Epc 1 e E _{1/2} , determinados em meio aprótico, de descritores estruturais.....	100
Tabela 12.	Atividade frente a cepas Y de <i>Trypanosoma cruzi</i> dos derivados 5-nitro-2-tiofilideno benzidrazidas determinado pelo método de inibição de proliferação parasitária.....	111
Tabela 13.	Atividade frente a cepas Y de <i>Trypanosoma cruzi</i> dos derivados 5-nitro-2-furfurilideno benzidrazidas e do composto de referência benznidazol determinado pelo método de inibição de proliferação parasitária.....	112

GLOSSÁRIO

AE: afinidade eletrônica

Ag/AgCl_{sat.}: fio condutor de prata e solução de cloreto de prata saturada

AM1: método semi-empírico de cálculo Austim Model

Ar-NO₂: 5-nitro-heterocíclico

Ar-NO₂^{•-}: radical nitro ânion

Ar-NO: intermediário nitroso de redução

Ar-NHOH: intermediário hidroxilamínico de redução

Ar-NH₂: aminoderivado formado no processo de redução

Bu₄NH₄BF₄: *N-Tetrafluoroborato de tetrabutilamônia*

BHI: *brain-hearth infusion*

ClogP: coeficiente de partição calculado pelo *ClogP Program 4.0*, (BioByte, Co – USA)

CoMFA: *Comparative Molecular Field Analysis* (análise comparativa de campos moleculares)

CV: *cross-validation* (validação cruzada)

DE₅₀: dose efetiva em cinquenta por cento do número total de indivíduos

DL₅₀: dose que resulta em óbito de cinquenta por cento do número total de indivíduos

E°: potencial formal de redução determinado frente a eletrodo de hidrogênio

e⁻: elétron

E_i: potencial inicial de varredura

E_λ: potencial de inversão de varredura

E_f: potencial final de varredura

ECS: eletrodo de referência de calomelano saturado

E_{pc}: potencial de pico catódico

E_{pa}: potencial de pico anódico

F: grau de significância de *Fischer*

f: frequência

Σ: constante de efeito indutivo de Swain e Lupton

HF: método *ab initio* em nível Hartree-Fock

HOMO: *highest occupied molecular orbital* (último orbital molecular de mais alta energia)

H₂O₂: peróxido de oxigênio

IC₅₀: concentração inibitória em cinquenta por cento do número total de indivíduos

Ip: corrente de pico

Ka: constante de ionização

LIT: *liver infusion tryptose*

log 1/C: logaritmo da atividade biológica

LUMO: *lowest unoccupied molecular orbital* (ultimo orbital desocupado de mais baixa energia)

MD: momento de dipolo

MIC: minimum inhibitory concentration (CIM: concentração inibitória mínima)

m/v: massa por volume

NNN: *Nicolle McNeal & Novy*

NaNO₃: nitrato de sódio

O₂: molécula de oxigênio

O₂[•]: radical de oxigênio

OH[•]: radical hidroxila

r: coeficiente de correlação

r²: coeficiente de determinação

PI: potencial de ionização

PIPES: *ácido Bis-N,N-piperazina-etanosulfônico*

PLS: *Partial Least Squares* (regressão por mínimos quadrados parciais)

Q²: Soma da variancia das equações predita no processo de validação cruzada

QSAR: *Quantitative Structure-Activity Relationship*

QSPR: *Quantitative Structure-Property Relationship*

℔: constante de campo de Swain e Lupton

RMN ¹H: ressonância magnética nuclear de próton

RMN ¹³C: ressonância magnética nuclear de carbono treze

SAR: *Structure-Activity Relationship*

s: desvio padrão

SOD: superóxido dismutase

S_{press}: desvio padrão de validação cruzada da soma dos quadrados do erro

TR: tripanotiona redutase

TS₂: substrato tripanotiona reduzido da enzima tripanotiona redutase

T(SH₂): substrato tripanotiona oxidado da enzima tripanotiona redutase

VC: voltametria cíclica

VOQ: voltametria de onda quadrada

v/v: volume por volume

v: velocidade de varredura

δ: deslocamento químico em espectros de RMN

WHO: *World Health Organization* (Organização Mundial da Saúde)

π : constante de grupo de Hansch-Fujita referente a hidrofobicidade

σ : constante de Hammett

σ_P : Constante de grupo referente ao efeito eletrônico a partir da posição *para*

σ_R : constante de grupo referente ao efeito de ressonância a partir da posição *para*

ρ : coeficiente angular da equação de Hammett e corresponde a constante que indica a susceptibilidade de ocorrência a reação de ionização

λ : comprimento de onda

2D: bidimensional ou segunda dimensão

3D: tridimensional ou terceira dimensão

ΔH_f : energia de formação (calor de formação)

$E_{1/2}$: potencial de redução, obtido por meio da diferença entre os valores dos picos catódico e anódico, correspondente ao radical nitro ânion, dividido por dois

μ : potencial químico

θ : ângulo diedro

η : dureza química

RESUMO

Alguns nitrocompostos apresentam atividade antichagásica resultante do processo de redução do grupo nitro com conseqüente formação de radical nitro ânion e de intermediários tóxicos ao parasita. A variação estrutural dos derivados 5-nitro-heterocíclicos pode interferir no processo de redução destes compostos e, também, na atividade biológica. Neste aspecto, o estudo da redução dos nitrocompostos por meio de técnicas voltamétricas, como a voltametria cíclica e a voltametria de onda quadrada é uma forma de avaliar ou até simular o mecanismo de ação destes derivados. Assim, a avaliação de processos eletródicos e a determinação dos potenciais de redução dos nitrocompostos fornecem subsídios para a compreensão do mecanismo da atividade antiparasitária.

Neste trabalho, desenvolveram-se procedimentos eletroquímicos utilizados para a determinação do potencial de redução e do potencial de meia onda de vinte e três nitrocompostos (5-nitro-2-tiofilideno 4-R-benzidrazidas e 5-nitro-2-furfurilideno 4-R-benzidrazidas), visando o emprego destes em estudos de QSPR e SAR. As determinações foram realizadas empregando-se Voltametria Cíclica e Voltametria de Onda Quadrada em célula eletroquímica de 10 mL nos meios prótico (solução tampão PIPES com eletrólito de suporte NaNO_3 0,1 mol L^{-1}), misto de DMSO/solução tampão PIPES (50% v/v) e em meio aprótico de DMSO (com eletrólito de suporte $\text{Bu}_4\text{NH}_4\text{BF}_4$). O eletrodos de referência e auxiliar utilizados foram Ag/AgCl saturado e platina. Os eletrodos de trabalho utilizados foram o carbono vítreo (meio aprótico e misto), pasta de carbono (meio misto e prótico) e pasta de carbono modificada com nitrocompostos (meio prótico).

Foram realizados estudos teóricos, de modelagem molecular, e experimental, espectrofotometria UV/visível, com o objetivo de determinar a conformação de menor energia mínima global e confirmar a ocorrência de disposição estrutural co-planar. No estudo teórico, utilizou-se as metodologias de otimização de geometria, e análise conformacional dos nitrocompostos calculadas por meio de AM1 e HF3-21G* e HF6-31G* para obtenção dos confôrmeros de menor energia mínima. Estes confôrmeros foram submetidos a cálculo de carga de ponto único (AM1), onde determinou-se os valores de energia de diversas propriedades de caráter eletrônico (energias de formação em vácuo e meio solvatado, de HOMO, de LUMO, momento de dipolo, dureza, potencial químico, afinidade eletrônica, potencial de ionização, cargas de potencial eletrostático), geométrica (volume molecular) e mapas 3D de densidade de potencial eletrostático, de HOMO e de LUMO. Todos os cálculos foram realizados

empregando-se os pacotes computacionais Spartan O2 for Linux, Spartan O4 for Windows e ClogP 4.0 (para determinar os valores de hidrofobicidade).

Os valores do potencial de pico catódico ($E_{pc\ 1}$) e de meia onda bem como as propriedades físico-químicas, obtidos a partir de cálculos de química quântica, de σ_p e σ_R , *ClogP* e π) foram utilizados em análise de QSPR aplicando-se a Análise de Hansch e regressão multivariada, *PLS*. Avaliou-se ainda, a atividade antichagásica de dez nitrocompostos (oito derivados tiofilidênicos e dois derivados fufurilidênicos) visando investigar a possibilidade de influência do processo de redução dos nitrocompostos sobre a atividade biológica. Realizaram-se ensaios que permitiram avaliar o efeito antiproliferativo dos nitrocompostos sobre o parasita, em 24 horas, por meio de contagem do número de unidades viáveis em câmara de Neubauer.

Os métodos voltamétricos utilizados mostraram-se adequados para a avaliação da redução eletroquímica dos nitrocompostos, e foram apropriados para a obtenção dos potenciais de redução de pico catódico e dos potenciais de meia onda de todos os derivados em meio aprótico e misto. Em meio aquoso, obtiveram-se os valores dos potenciais de redução de pico catódico apenas para os derivados tiofilidênicos.

A partir dos resultados obtidos na análise conformacional, observou-se a quebra de efeito co-planar estrutural na região do anel benzênico substituído e porção hidrazídica molecular. Adicionalmente, nos mapas de densidade de potencial eletrostático, registrou-se a ocorrência de efeito mesomérico conjugado reduzido entre as porções moleculares citadas acima. De posse destes dados, em conjunto com as visualizações de sinais característicos para grupos cromóforos distintos em espectros UV/visível, sugere-se a ausência de efeito conjugado molecular e, como consequência, de influência dos grupos substituintes em posição *para* do anel benzênico sobre o grupo nitro ligado ao anel heterocíclico.

Nos resultados obtidos a partir das análises de QSPR, observou-se que não ocorre correlação entre as propriedades físico-químicas, determinadas para os nitrocompostos, e os descritores eletroquímicos, obtidos em diferentes meios de reação. Diante deste fato, sugere-se que a quebra do efeito co-planar interfere diretamente na intensidade da influência das propriedades físico-químicas de grupos substituintes sobre o potencial de redução dos nitrocompostos.

Observou-se, também, que a maioria dos compostos apresentou atividade antichagásica superior ao fármaco de referência, o benznidazol. Verificou-se que os compostos não substituído e cloro derivado da série dos 5-nitro-2-furfilidênicos são mais ativos que os correspondentes análogos das 5-nitro-2-tiofilideno benzidrazidas. Em análise preliminar, observou-se que o potencial de redução e o potencial de meia onda não exercem influência sobre a atividade antichagásica dos nitrocompostos.

ABSTRACT

Some nitrocompounds have show activity against to *Trypanosoma cruzi*. Those biological activity are resulting from nitro group reduction with subsequent formation of radical nitro anion and other reaction's intermediates, which are toxic to the parasite. The structural difference among the 5-nitro-heterocyclic derivatives might exert influence on these compounds reduction and also on the antichagasic activity. In this way, the study of reduction process by voltammetric techniques, such as cyclic voltammetry and square wave voltammetry, is a mode of evaluate the biological action mechanism. Therefore, the evaluation of the electrodic process and the determination of nitrocompounds reduction potential provide information for elucidating the anti-trypanosomal activity mechanism.

In the present work, the procedures employed to determinate the cathodic reduction and reduction potentials were carried out on twenty three nitrocompounds (5-nitro-2-tiofilidenic benzhydrazides and 5-nitro-2-furfurilidenic benzhydrazides) with the aim using those data in QSPR and SAR analysis. Cyclic voltammetry and square wave voltammetry techniques were used to determined the reduction potential in electrochemical cell of 10 mL in the protic media (PIPES buffer and electrolyte of support NaNO_3 0.1 mol L^{-1}), mixed media of DMSO and PIPES buffer 50:50 v/v (electrolyte of support NaNO_3 0.1 mol L^{-1}), and aprotic media of DMSO (electrolyte of support $\text{Bu}_4\text{NH}_4\text{BF}_4$ 0.1 mol L^{-1}). The reference and counter electrodes used were Ag/AgCl (with KCl saturated) and platinum, respectively. In these studies, the work electrodes were glassy carbon (aprotic and mixed media), carbon paste (mixed and protic media) and carbon paste modified with nitrocompounds (protic media).

Molecular modeling studies and UV/visible spectrophotometry were investigated with the aim for determining the lowest conformational energy and the occurrence of co-planarity molecular structure. In this work were performed the geometry optimization (using the quantum chemistry AM1, *ab initio* HF3-21G* and HF6-31G* level of theory), conformational analysis(AM1 and *ab initio* HF6-31G*) and single point calculations (AM1). All the lowest energy conformers from conformational analysis were submitted to single point calculations. These models were used to determine the physicochemical properties (energy of formation in vacuum and solvated media, energy of HOMO, energy of LUMO, dipole moment, hardness, chemistry potential, electronic affinity, ionization potential and charges of electrostatic potential) and the molecular electrostatic potential, HOMO and LUMO maps, respectively. All calculations were

performed using the computational software Spartan O2 for Linux, Spartan O4 for Windows, and the ClogP 4.0 (only for hydrophobicity).

The cathodic reduction and half-wave potentials values and the set of physicochemical properties, which are obtained from quantum chemistry calculations, as well as the electronic effect (σ_p and σ_R derived of σ Hammett) and the hydrophobicity property (*ClogP*, and π of Hansch) were used in QSPR analysis applying Hansch analysis and *PLS* methodologies. Afterwards, the antichagasic activity of ten compounds (eight thiofilidenic and two furfurylidenic derivatives) was evaluated considering the influence of nitrocompounds reduction on biological activity. This assay allows to analyse the antiproliferative effect of nitrocompounds on the parasites growing, in twenty-four (24) hours, reading the number of trypanosomes in Haemocytometer.

The voltammetric methodologies allowed to determinate the cathodic reduction and half-wave potential values in aprotic and mixed media to all nitrocompounds. In protic media, however, the cathodic reduction potential values were obtained only for the 5-nitro-2-thiofilidenic benzhydrazides. Those procedures seem to be appropriated for perform the electrochemistry reduction evaluation.

The geometry optimization and conformational analysis allows determining a lack of structural planarity in all derivatives located at the bond between the carbonilic carbon and benzhoil group. Additionally, the electrostatic potential maps presented a decreased on the electronic conjugate effect of the structures of nitrocompounds investigated. The conformational analysis allows us to determine the nitroheterocyclic biosostere conformations dependence on the reaction phase studied. The UV/visible spectra presented two waves, which are indicating responses related to different chromophores. These results suggest the absence of conjugate effect in nitrocompound structure, indicating that the presence of groups attached to benzene ring do not exert influence on the nitro group attached to heterocyclic ring.

In the QSPR analysis was not detected any correlations between the physicochemical properties and the cathodic reduction and reduction potentials, in all reaction media investigated. Those results might be occurred due to the lack of molecular co-planarity, which is reducing the influence of any property on the nitrocompounds reduction.

Almost all nitrocompounds investigated show higher antichagasic activity than the reference drug, benznidazol. In a preliminary analysis it was verified that the cathodic reduction and half-wave potentials do not exert influence on the nitrocompounds antichagasic activity.