



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO**

**Lucas Villas Bôas Hoelz**

**PLANEJAMENTO E SÍNTESE DE  
ARILOXIPROPANOLAMINAS COM POTENCIAL  
ATIVIDADE DUAL:  
ANTIOXIDANTE E ANTI-HIPERTENSIVA**

**Rio de Janeiro**

**2007**

# **Livros Grátis**

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

**Lucas Villas Bôas Hoelz**

**PLANEJAMENTO E SÍNTESE DE ARILOXIPROPANOLAMINAS COM  
POTENCIAL ATIVIDADE DUAL: ANTIOXIDANTE E ANTI-HIPERTENSIVA**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química Orgânica do Instituto de Química da Universidade Federal do Rio de Janeiro como parte dos requisitos necessários para a obtenção do título de Mestre em Química Orgânica.

**Orientadores: Prof. Dr. Joaquim Fernando Mendes da Silva**

**Profa. Dra. Magaly Girão Albuquerque**

**Rio de Janeiro**

**2007**

## AGRADECIMENTOS

À Deus por toda a força e proteção;

Aos meus pais, Maria Cecília e José Leonel, por todo o amor e apoio incondicional;

Ao meu irmão Mateus, meu melhor amigo, por tudo;

À minha avó, Maria do Carmo, e à minha tia, Maria, por todo amor e apoio incondicional;

À Andreia, minha namorada, por todo amor e compreensão;

Ao professor Dr. Joaquim por tudo que aprendi durante o período de minha iniciação científica até o final deste mestrado e pela oportunidade de desenvolvimento de um trabalho científico;

À professora Dra. Magaly por tudo que aprendi neste mestrado, pela amizade, apoio e pela oportunidade de desenvolvimento de um trabalho científico;

Ao professor Dr. Ricardo Bicca por todo o apoio e por me permitir ir ao primeiro congresso internacional de minha vida;

Ao professor Dr. Pierre por todo conhecimento adquirido no curso de físico-química orgânica e pelos cálculos teóricos apresentados nesta tese;

À professora Dra. Maria Lúcia e ao grande amigo Eduardo pelas análises de RMN presentes nesta tese;

Ao professor Dr. Márcio pelas excelentes aulas de estereoquímica;

Aos amigos Bruno e Felipe por toda a ajuda com os cálculos teóricos;

Aos amigos Rogério, Valter, Anderson, Leonardo, José, Biank, Luciano e Andréia por toda a ajuda com a parte de síntese orgânica;

À todos os amigos do laboratório LabMMol por todo o companheirismo e pelo excelente ambiente de trabalho;

À todos os amigos do laboratório de síntese do pólo de xistoquímica;

Aos meus familiares e amigos que sempre me apoiaram.

## FOLHA DE APROVAÇÃO

**Lucas Villas Bôas Hoelz**

**Planejamento e Síntese de Ariloxipropanolaminas com Potencial Atividade  
Dual: Antioxidante e Anti-Hipertensiva**

Rio de Janeiro, 27 setembro de 2007

---

Prof. Dr. Joaquim Fernando Mendes da Silva, UFRJ.  
(Presidente – Orientador)

---

Profa. Dra Magaly Girão de Albuquerque, UFRJ.  
(Orientador)

---

Prof. Dr. Márcio Contrucci Saraiva de Mattos, UFRJ.

---

Profa. Dra. Nanci Câmara de Lucas Garden, UFRJ.

---

Profa. Dra. Nelilma Correia Romeiro, UFRJ.

---

Prof. Dr. Pierre Mothé Esteves, UFRJ.

---

Prof. Dr. Carlos Rangel Rodrigues, UFRJ.

## RESUMO

HOELZ, Lucas Villas Bôas. **Planejamento e Síntese de Ariloxipropanolaminas com Potencial Atividade Dual: Antioxidante e Anti-hipertensiva**. Rio de Janeiro, 2007. Dissertação (Mestrado em Ciências em Química Orgânica), Instituto de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro, 2007.

As doenças cardiovasculares são as maiores responsáveis pelas causas de morte no Brasil e no mundo. Dentre as patologias que acometem o sistema cardiovascular, a hipertensão é a mais comum. Além do mais, esta doença contribui diretamente no processo de aterosclerose, uma outra patologia responsável por grande número de óbitos. Em meio aos agentes aplicados na terapia das doenças cardiovasculares, a classe dos  $\beta$ -bloqueadores tem sido usada com grande sucesso. Além disso, os agentes antioxidantes evitam o processo de aterogênese, contribuindo para a manutenção da integridade vascular humana e, conseqüentemente, da pressão arterial adequada.

O objetivo deste trabalho é o planejamento e a síntese de ariloxipropanolaminas com potencial atividade dual, antioxidante e anti-hipertensiva, assim como a construção de um modelo de correlação quantitativa entre estrutura e atividade (QSAR) antioxidante, que seja capaz de prever a atividade antioxidante destes compostos.

Para o estudo de QSAR, selecionamos 15 derivados fenólicos, os quais tiveram suas atividades antioxidantes avaliadas em um sistema de micelas de ácido linolênico. Empregando-se o processo de busca sistemática, foram realizadas as análises de regressão usando como variável dependente a atividade antioxidante dos fenóis, em função de todas as possíveis combinações de até três variáveis independentes, *i.e.*, os parâmetros teóricos: entalpia de dissociação homolítica da ligação O–H (EDL-OH), potencial de ligação (PI), afinidade eletrônica (AE), densidade de spin (DS), lipofilicidade (Log*P*) e lipofilicidade relativa (Log*D*). Assim, foram geradas 40 equações e o melhor modelo de QSAR da atividade antioxidante foi a equação 21,  $pIC_{50} = 6,68 - 0,023(EDL-OH) - 0,0036(PI)$ , na qual os dois termos presentes, EDL-OH e PI, foram capazes de explicar 88,5% da variabilidade da atividade antioxidante descrita. Empregando esta equação 21, calculamos os valores de  $pIC_{50}$  (4,16 M e 4,17 M) para duas ariloxipropanolaminas planejadas em nosso trabalho.

A rota sintética para as ariloxipropanolaminas planejadas utiliza substratos de baixo custo, como: vanilina (**47**), 4-hidróxi-benzaldeído (**49**) e nipagin (**52**). Nesta rota o grupamento fenólico da vanilina (**47**) foi protegido com um grupo benzila, formando a vanilina benzilada (**56**), que, por sua vez, foi convertida à sua respectiva amina (**58**), com uma cadeia alquílica espaçadora (um grupo metileno), entre o anel fenólico e o grupo amino. Da mesma forma que **58**, a síntese da amina **63**, que possui uma cadeia espaçadora de dois grupos metilenos, utiliza o intermediário **56** como substrato. Os epóxidos **53**, **54** e **55** foram preparados a partir da reação da vanilonitrila (**50**) e 4-ciano-fenol (**51**), assim como **52**, com epicloridrina, respectivamente. A reação dos epóxidos **53**, **54** e **55** com as aminas **58** e **63**, proporcionaram a formação de seis ariloxipropanolaminas inéditas. No entanto, as metodologias aplicadas na etapa de desbenzilação se mostraram ineficazes, não promovendo a formação das ariloxipropanolaminas com o grupamento fenólico desprotegido.

## ABSTRACT

HOELZ, Lucas Villas Bôas. **Planejamento e Síntese de Ariloxipropanolaminas com Potencial Atividade Dual: Antioxidante e Anti-hipertensiva**. Rio de Janeiro, 2007. Dissertação (Mestrado em Ciências em Química Orgânica), Instituto de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro, 2007.

Cardiovascular diseases are the major cause of death in the world and in Brazil. Within the cardiovascular diseases, hypertension is the most important. Furthermore, this illness is one of the major risk factors for atherosclerosis, another pathology that contributes for a large number of deaths. Within the therapeutics agents, the  $\beta$ -blockers class has been used with great success for the treatment of hypertension. Besides that, antioxidant agents can inhibit oxidative modification of low-density lipoproteins. This chemo-protective action against the atherosclerotic process contributes for maintenance of integrity of human vascular wall and, in consequence, adequate arterial pressure.

The aim of this work is the design and the synthesis of aryloxypropanolamines with putative dual activity, antioxidant and antihypertensive, and also constructs a quantitative structure activity antioxidant relationships (QSAR) model, which could be able to predict the antioxidant activity of the synthesized compounds.

In the QSAR investigations, we selected 15 phenolic derivatives, which were evaluated against the linolenic acid oxidation process. Employing a systematic search, a regression analysis was performed. The experimental antioxidant activity is the dependent variable which was evaluated with all possible combinations until three independent variables, *i.e.*, the theoretical parameters: bond dissociation enthalpy (BDE), ionization potential (IP), electronic affinity (EA), spin density (SD), lipophilicity ( $\text{Log}P$ ) and relative lipophilicity ( $\text{Log}D$ ). It was generated 40 equations and the best QSAR model corresponds to Equation 21,  $pIC_{50} = 6.68 - 0.023(\text{EDL-OH}) - 0.0036(\text{PI})$ , containing two terms, BDE and IP, that are able to explain 88.5% of the variability of the antioxidant activity. Employing this Equation 21, we have calculated the  $pIC_{50}$  values (4.16 M and 4.17 M) for two aryloxypropanolamines designed in our work:

The synthetic route of the designed aryloxypropanolamines uses substrates of low cost, such as vanillin (**47**), 4-hydroxybenzaldehyde (**49**) and nipagyn (**52**). In this route, the phenolic moiety of vanillin was protected with a benzyl group, forming benzyl vanillin (**56**) that was converted into the correspondent amine (**58**), with alkyl spacer (one methylene group) between the phenol moiety and the amino group. In the same manner, the preparation of amine **63**, that has a spacer of two methylenes group, uses **56** as substrate. The epoxides **53**, **54** and **55** were made from reaction of vanillonitrile (**50**), 4-cyanophenol (**51**) and **52** with epichloridrin, respectively. The reaction of **53**, **54** and **55** with the amines **58** and **63**, provides six unpublished aryloxypropanolamines. However, the procedures used in debenzylation step were ineffective and did not provide aryloxypropanolamines with the phenolic group unprotected.

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Fatores que contribuem para o controle da pressão arterial. 23
- Figura 2.** Liberação de noradrenalina na junção neurônio-coração. 25
- Figura 3.** Estrutura do  $\beta_1$ -adrenoceptor, demonstrando o resíduo de aspartato 113 localizado no terceiro domínio. 27
- Figura 4.** Vias de sinalização dos receptores adrenérgicos  $\beta_1$  e  $\beta_2$  do tecido cardíaco. 29
- Figura 5.** Cortes transversais de artéria coronária humana: A) Artéria coronária saudável e B) Artéria coronária obstruída pela placa de ateroma com um processo de calcificação. 30
- Figura 6.** Necrose do tecido cardíaco provocada pela obstrução da artéria coronária. 31
- Figura 7.** Representação esquemática das interações entre o propranolol (**5**) e os resíduos de aminoácidos do receptor  $\beta_1$ -adrenérgico humano obtido por modelagem molecular. 41
- Figura 8.** Potenciais interações de **14** (destacado em vermelho) com o modelo de receptor  $\beta_1$ -adrenérgico de rato. 43
- Figura 9.** (A) Ligação hidrogênio intramolecular formada no ácido salicílico (**13**); 72  
(B) radical fenoxila formado a partir do ácido salicílico.
- Figura 10.** Estrutura das ariloxipropanolaminas com potencial atividade dual: antioxidante e anti-hipertensiva. 95
- Figura 11.** Ariloxipropanolamina com o grupo ariloxipropanol destacado em vermelho. 97
- Figura 12.** Identificação de aminas primárias a partir da reação com ninidrina, teste de Kaiser. 102
- Figura 13.** Expansão do espectro de RMN de  $^1\text{H}$ , em ppm: Acoplamento dos hidrogênios aromáticos da amina **43**. 104
- Figura 14.** Expansão do espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (APT), em ppm, da amina **43**: deslocamento químico dos sinais dos átomos de carbono aromáticos. 106

**Figura 15.** Assinalamento, em ppm, por RMN de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  dos átomos de 110 hidrogênio e de carbono da nitrila **50**.

**Figura 16.** Assinalamento, em ppm, por RMN de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  dos átomos de 111 hidrogênio e de carbono da nitrila **51**.

**Figura 17.** Expansão do espectro de RMN de  $^1\text{H}$ , em ppm: Acoplamento dos 114 hidrogênios do anel oxirano do epóxido **53**.

**Figura 18.** Expansão do espectro de RMN de  $^1\text{H}$ , em ppm, do epóxido **54**: 115 Acoplamento do hidrogênio **H3** com os hidrogênios metilênicos **H4** e **H5**.

**Figura 19.** Expansão do espectro RMN de  $^{13}\text{C}$  (APT), em ppm, do epóxido **53**: 116 deslocamento químico dos carbonos **C1**, **C2** e **C3**.

**Figura 20.** Regiosseletividade na abertura de epóxidos: (a) reação catalisada 118 por base; e (b) reação catalisada por ácido.

**Figura 21.** Expansão do espectro de RMN de  $^1\text{H}$ , em ppm: Acoplamento dos 122 hidrogênios aromáticos da amina **58**.

**Figura 22.** Espectro de HMQC da amina **58**, evidenciando o acoplamento dos 123 carbonos aromáticos **C1** e **C2** com os hidrogênios aromáticos **H2** e **H3**.

**Figura 23.** Expansão do espectro RMN de  $^1\text{H}$ : deslocamento químico, em ppm, 130 dos sinais dos hidrogênios aromáticos da amina **63**.

**Figura 24.** Assinalamento dos deslocamentos químicos, em ppm, dos carbonos 131 do anel vanilóide da amina **63**.

**Figura 25.** Conformação “enovelada” do composto **60**. 136

## LISTA DE ESQUEMAS

<b>Esquema 1.</b> Características estruturais das ariloxipropanolaminas com potencial atividade dual	57
<b>Esquema 2.</b> Etapas do processo de peroxidação lipídica.	67
<b>Esquema 3.</b> Mecanismo de ação antioxidante por transferência de elétrons.	74
<b>Esquema 4.</b> Rota sintética para a preparação das ariloxipropanolaminas com potencial atividade dual: antioxidante e anti-hipertensiva.	100
<b>Esquema 5.</b> Desativação do grupo carbonila frente a um ataque nucleofílico devido à formação do íon fenóxido.	108
<b>Esquema 6.</b> Esquema de intermediários da formação de nitrilas a partir de aldeídos.	108
<b>Esquema 7.</b> Esquema de intermediários da formação do grupo éster etílico presente em <b>61</b> .	126
<b>Esquema 8.</b> Esquema de intermediários da formação do ânion $^-CH_2NO_2$ .	129

## LISTA DE GRÁFICOS

<b>Gráfico 1.</b> Comparação entre os índices de morte relacionados às doenças cardiovasculares e as outras causas de morte na população brasileira, em 2002.	21
<b>Gráfico 2.</b> Derivados fenólicos em ordem crescente dos valores de EDL-OH.	73
<b>Gráfico 3.</b> Derivados fenólicos em ordem crescente dos valores de PI.	76
<b>Gráfico 4.</b> Derivados fenólicos em ordem crescente dos valores de AE.	78
<b>Gráfico 5.</b> Derivados fenólicos em ordem crescente dos valores de DS.	81
<b>Gráfico 6.</b> Correlação entre lipofilicidade experimental e lipofilicidade calculada.	85
<b>Gráfico 7.</b> Derivados fenólicos em ordem crescente dos valores de $\text{Log}P_{\text{Calc}}$ .	85
<b>Gráfico 8.</b> Derivados fenólicos em ordem crescente dos valores de $\text{Log}D_{\text{Calc}}$ .	86
<b>Gráfico 9.</b> Atividade antioxidante observada ( $p\text{IC}_{50 \text{ Obs}}$ ) em função da atividade calculada ( $p\text{IC}_{50 \text{ Calc}}$ ) para os 15 compostos fenólicos.	94
<b>Gráfico 10.</b> Distribuição dos valores residuais ( $p\text{IC}_{50 \text{ Obs}} - p\text{IC}_{50 \text{ Calc}}$ ) para os 15 compostos fenólicos.	94

## LISTA DE TABELAS

- Tabela 1.** Estrutura química dos 15 derivados fenólicos (CHENG *et al.*, 2003) utilizados no estudo de QSAR. 58
- Tabela 2.** Posição da hidroxila fenólica que gerou cada radical livre a partir de cada um dos 15 derivados fenólicos. 61
- Tabela 3.** Valores de EDL-OH (kcal/mol), PI (kcal/mol), AE (kcal/mol) e DS (elétrons) calculados por DFT (B3LYP/6-311++G\*\*) para os 15 derivados fenólicos. 66
- Tabela 4.** Valores de Log*P* (lipofilicidade) e Log*D* (lipofilicidade relativa, pH 7,4) calculados pelo programa ACD/Log*P* e de Log*P* experimental (Log*P*<sub>Exp</sub>) para os 15 derivados fenólicos. 83
- Tabela 5.** Resumo dos dados estatísticos dos 40 modelos de QSAR gerados por combinação sistemática dos seis parâmetros teóricos (EDL-OH, PI, AE, DS, Log*P* e Log*D*). 90
- Tabela 6.** Matriz de correlação cruzada entre os descritores calculados (EDL-OH, PI, AE, DS, Log*P* e Log*D*). Valores de  $R \geq 0,75$  estão destacados em negrito. 92
- Tabela 7.** Valores observados e calculados de  $pIC_{50}$ , resíduos ( $pIC_{50\text{ Obs}} - pIC_{50\text{ Calc}}$ ) e desvio percentual. 93
- Tabela 8.** Valores teóricos de EDL-OH e PI para as moléculas **43**, **44**, **45** e **46** e os respectivos valores de  $pIC_{50}$  preditos pela **Equação 21**. 96

## LISTA DE SIGLAS

<b>AE</b>	Afinidade eletrônica
<b>AMPc</b>	Adenosina monofosfato 3`-5`-cíclico
<b>Asn352</b>	Resíduo de asparagina 352
<b>Asp113</b>	Resíduo de aspartato 113
<b>bpm</b>	Batimentos por minuto
<b>Cys285</b>	Resíduo de cisteína 285
<b>Cam II</b>	Proteína cinase II dependente de $Ca^{2+}$ /Calmodulina
<b>DCVs</b>	Doenças cardiovasculares
<b>DC</b>	Débito cardíaco
<b>DS</b>	Densidade de spin
<b>EDL-OH</b>	Entalpia de dissociação homolítica da ligação O-H
<b>G<math>_{\alpha}</math></b>	Subunidade alfa da proteína G
<b>G<math>_{\beta-\gamma}</math></b>	Subunidade beta-gama da proteína G
<b>G<math>_I</math></b>	Proteína G inibitória
<b>G<math>_S</math></b>	Proteína G estimulatória
<b>GDP</b>	Guanosina difosfato
<b>GTP</b>	Guanosina trifosfato
<b>HB-EGF</b>	Fator de crescimento epidermal ligado a heparina
<b>I-CAM-1</b>	Molécula de adesão intracelular
<b>IL-1</b>	Interleucina -1
<b>Ile112</b>	Resíduo de isoleucina 112
<b>ISA</b>	Atividade simpatomimética intrínseca
<b>k</b>	Número de termos da equação
<b>LDL</b>	Lipoproteína de baixa densidade
<b>LDL-OX</b>	Lipoproteína de baixa densidade oxidada

<b>MCP-1</b>	Proteína quimiotática para monócito
<b>M-CSF</b>	Fator estimulador de colônias de monócitos
<b>MM-LDL-OX</b>	Lipoproteína de baixa densidade minimamente oxidada
<b>NADPH</b>	Nicotinamida adenina fosfodinucléotídeo (forma reduzida)
<b>NADH</b>	Nicotinamida adenina dinucleotídeo (forma reduzida)
<b>NF-<math>\kappa</math>B</b>	Fator nuclear kapa B
<b>PA</b>	Pressão arterial
<b>PDE4D</b>	Fosfodiesterase 4D
<b>Phe289</b>	Resíduo de fenilalanina 289
<b>PI</b>	Potencial de ionização
<b>PI3K</b>	3-Fosfoinositídeos cinase
<b>PKA</b>	Proteína cinase A
<b>PLA<sub>2</sub></b>	Fosfolipase A <sub>2</sub>
<b>Proteína G</b>	Proteína regulatória ligante de nucleotídeo guanina
<b>Pro288</b>	Resíduo de prolina 288
<b>R</b>	Coeficiente de correlação
<b>RA-<math>\alpha</math></b>	Receptor adrenérgico alfa
<b>RA-<math>\beta</math></b>	Receptor adrenérgico beta
<b>RNS</b>	Espécies reativas de nitrogênio
<b>ROS</b>	Espécies reativas de oxigênio
<b>RVP</b>	Resistência vascular periférica
<b>s</b>	Desvio -padrão
<b>TNF-<math>\alpha</math></b>	Fator $\alpha$ de necrose e tumor
<b>Tyr109</b>	Resíduo de tirosina 109
<b>Val292</b>	Resíduo de valina 292
<b>V-CAM-1</b>	Molécula de adesão vascular-1

**APÊNDICE – CADERNO DE ESPECTROS**

<b>Espectro n° 1: IV de 48</b>	<b>175</b>
<b>Espectro n° 2: RMN <sup>1</sup>H de 48</b>	<b>176</b>
<b>Espectro n° 3: RMN <sup>1</sup>H de 48, expansão em 6,20-7,20 ppm</b>	<b>177</b>
<b>Espectro n° 4: RMN <sup>13</sup>C de 48</b>	<b>179</b>
<b>Espectro n° 5: RMN <sup>13</sup>C de 48, expansão em 145-150 ppm</b>	<b>179</b>
<b>Espectro n° 6: IV de 43</b>	<b>181</b>
<b>Espectro n° 7: RMN <sup>1</sup>H de 43</b>	<b>182</b>
<b>Espectro n° 8: RMN <sup>1</sup>H de 43, expansão em 6,70-7,40</b>	<b>183</b>
<b>Espectro n° 9: RMN <sup>13</sup>C de 43</b>	<b>184</b>
<b>Espectro n° 10: RMN <sup>13</sup>C de 43, expansão em 145-150 ppm</b>	<b>185</b>
<b>Espectro n° 11: IV de 50</b>	<b>187</b>
<b>Espectro n° 12: RMN <sup>1</sup>H de 50</b>	<b>188</b>
<b>Espectro n° 13: RMN <sup>1</sup>H de 50, expansão em 6,90-7,30 ppm</b>	<b>189</b>
<b>Espectro n° 14: RMN <sup>13</sup>C de 50</b>	<b>190</b>
<b>Espectro n° 15: IV de 51</b>	<b>192</b>
<b>Espectro n° 16: RMN <sup>1</sup>H de 51</b>	<b>193</b>
<b>Espectro n° 17: RMN <sup>1</sup>H de 51, expansão em 6,60-7,80 ppm</b>	<b>194</b>
<b>Espectro n° 18: RMN <sup>13</sup>C de 51</b>	<b>195</b>

<b>Espectro n° 19: IV de 53</b>	<b>197</b>
<b>Espectro n° 20: RMN <sup>1</sup>H de 53</b>	<b>198</b>
<b>Espectro n° 21: RMN <sup>1</sup>H de 53, expansão em 2,80-4,60 ppm</b>	<b>199</b>
<b>Espectro n° 22: RMN <sup>1</sup>H de 53, expansão em 6,80-7,50 ppm</b>	<b>200</b>
<b>Espectro n° 23: RMN <sup>13</sup>C de 53</b>	<b>201</b>
<b>Espectro n° 24: IV de 54</b>	<b>203</b>
<b>Espectro n° 25: RMN <sup>1</sup>H de 54</b>	<b>204</b>
<b>Espectro n° 26: RMN <sup>1</sup>H de 54, expansão em 2,60-4,60 ppm</b>	<b>205</b>
<b>Espectro n° 27: RMN <sup>1</sup>H de 54, expansão em 6,30-8,20 ppm</b>	<b>206</b>
<b>Espectro n° 28: RMN <sup>13</sup>C de 54</b>	<b>207</b>
<b>Espectro n° 29: IV de 55</b>	<b>209</b>
<b>Espectro n° 30: RMN <sup>1</sup>H de 55</b>	<b>210</b>
<b>Espectro n° 31: RMN <sup>1</sup>H de 55, expansão em 2,80-4,60 ppm</b>	<b>211</b>
<b>Espectro n° 32: RMN <sup>1</sup>H de 55, expansão em 6,30-8,60 ppm</b>	<b>212</b>
<b>Espectro n° 33: RMN <sup>13</sup>C de 55</b>	<b>213</b>
<b>Espectro n° 34: IV de 56</b>	<b>215</b>
<b>Espectro n° 35: RMN <sup>1</sup>H de 56</b>	<b>216</b>
<b>Espectro n° 36: RMN <sup>13</sup>C de 56</b>	<b>217</b>
<b>Espectro n° 37: RMN <sup>13</sup>C de 56, expansão em 120-135 ppm</b>	<b>218</b>
<b>Espectro n° 38: IV de 57</b>	<b>220</b>

<b>Espectro n° 39: RMN <sup>1</sup>H de 57</b>	<b>221</b>
<b>Espectro n° 40: RMN <sup>13</sup>C de 57</b>	<b>222</b>
<b>Espectro n° 41: IV de 58</b>	<b>224</b>
<b>Espectro n° 42: RMN <sup>1</sup>H de 58</b>	<b>225</b>
<b>Espectro n° 43: RMN <sup>1</sup>H de 58, expansão em 6,90-7,50</b>	<b>226</b>
<b>Espectro n° 44: RMN <sup>13</sup>C de 58</b>	<b>227</b>
<b>Espectro n° 45: RMN <sup>13</sup>C de 58, expansão em 112-115 ppm</b>	<b>228</b>
<b>Espectro n° 46: HMQC de 58</b>	<b>229</b>
<b>Espectro n° 47: IV de 59</b>	<b>231</b>
<b>Espectro n° 48: RMN <sup>1</sup>H de 59</b>	<b>232</b>
<b>Espectro n° 49: RMN <sup>13</sup>C de 59</b>	<b>233</b>
<b>Espectro n° 50: RMN <sup>13</sup>C de 59, expansão em 127-131 ppm</b>	<b>234</b>
<b>Espectro n° 51: IV de 60</b>	<b>236</b>
<b>Espectro n° 52: RMN <sup>1</sup>H de 60</b>	<b>237</b>
<b>Espectro n° 53: RMN <sup>13</sup>C de 60</b>	<b>238</b>
<b>Espectro n° 54: IV de 61</b>	<b>240</b>
<b>Espectro n° 55: RMN <sup>1</sup>H de 61</b>	<b>241</b>
<b>Espectro n° 56: RMN <sup>13</sup>C de 61</b>	<b>242</b>
<b>Espectro n° 57: RMN <sup>13</sup>C de 61, expansão em 127-129 ppm</b>	<b>243</b>
<b>Espectro n° 58: IV de 62</b>	<b>245</b>

<b>Espectro n° 59: RMN <sup>1</sup>H de 62</b>	<b>246</b>
<b>Espectro n° 60: RMN <sup>1</sup>H de 62, expansão em 6,5-8,4 ppm</b>	<b>247</b>
<b>Espectro n° 61: RMN <sup>13</sup>C de 62</b>	<b>248</b>
<b>Espectro n° 62: IV de 63</b>	<b>250</b>
<b>Espectro n° 63: RMN <sup>1</sup>H de 63</b>	<b>251</b>
<b>Espectro n° 64: RMN <sup>1</sup>H de 63, expansão em 6,90-7,50</b>	<b>252</b>
<b>Espectro n° 65: RMN <sup>13</sup>C de 63</b>	<b>253</b>
<b>Espectro n° 66: IV de 64</b>	<b>255</b>
<b>Espectro n° 67: RMN <sup>1</sup>H de 64</b>	<b>256</b>
<b>Espectro n° 68: RMN <sup>13</sup>C de 64</b>	<b>257</b>
<b>Espectro n° 69: RMN <sup>13</sup>C de 64, expansão em 149-150 ppm</b>	<b>258</b>
<b>Espectro n° 70: IV de 65</b>	<b>260</b>
<b>Espectro n° 71: IV de 66</b>	<b>262</b>
<b>Espectro n° 72: RMN <sup>1</sup>H de 66</b>	<b>263</b>
<b>Espectro n° 73: RMN <sup>13</sup>C de 66</b>	<b>264</b>
<b>Espectro n° 74: RMN <sup>13</sup>C de 66, expansão em 128-130 ppm</b>	<b>265</b>

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b>	<b>21</b>
1.1 PANORAMA DAS DOENÇAS CARDIOVASCULARES NO BRASIL	21
1.2 CONTROLE DA PRESSÃO ARTERIAL PELO SISTEMA NERVOSO AUTÔNOMO	22
1.3 $\beta$ -ADRENOCEPTORES	25
1.4 SINALIZAÇÃO CELULAR VIA ATIVAÇÃO DOS $\beta$ -ADRENOCEPTORES CARDÍACOS	28
1.5 ATEROGÊNESE: O PAPEL DOS RADICAIS LIVRES NA DISFUNÇÃO DO ENDOTÉLIO VASCULAR	30
1.6 CARACTERÍSTICAS ESTRUTURAIS DE $\beta$ -BLOQUEADORES E AGENTES ANTIOXIDANTES NO COMBATE À HIPERTENSÃO E ATEROSCLEROSE	34
1.6.1.1 AGENTES $\beta$ -BLOQUEADORES	34
1.6.1.2 SÍTIOS DE INTERAÇÃO ENTRE $\beta_1$ -ADRENOCEPTOR E $\beta$ -BLOQUEADORES	41
1.6.2 AGENTES ANTIOXIDANTES	43
1.6.3 AGENTES COM ATIVIDADE DUAL: $\beta$ -BLOQUEADORA E ANTIOXIDANTE	47
1.7 CORRELAÇÃO QUANTITATIVA ENTRE ESTRUTURA E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE	49
1.7.1 AVALIAÇÃO DO GRAU DE AJUSTE	52
1.7.2 AVALIAÇÃO DO GRAU DE SIGNIFICÂNCIA	55
<b>2 OBJETIVOS</b>	<b>56</b>
<b>3 METODOLOGIA</b>	<b>57</b>
3.1 PLANEJAMENTO DE ARILOXIPROPANOLAMINAS COM POTENCIAL ATIVIDADE DUAL: ANTIOXIDANTE E ANTI-HIPERTENSIVA	57
3.2 DERIVADOS FENÓLICOS COM ATIVIDADE ANTIOXIDANTE	57
3.3 ESPÉCIES CALCULADAS	59

3.3.1 DERIVADOS FENÓLICOS NEUTROS	59
3.3.2 RADICAIS LIVRES	60
3.3.3 CÁTIOS-RADICAIS	61
3.3.4 ÂNIOS-RADICAIS	62
3.4 PARÂMETROS CALCULADOS	62
3.4.1 ENTALPIA DE DISSOCIAÇÃO HOMOLÍTICA DA LIGAÇÃO O-H (EDL-OH)	62
3.4.2 POTENCIAL DE IONIZAÇÃO (PI)	63
3.4.3 AFINIDADE ELETRÔNICA (AE)	63
3.4.4 DENSIDADE DE SPIN (DS)	64
3.4.5 LIPOFILICIDADE (LOG <i>P</i> )	64
3.4.6 LIPOFILICIDADE RELATIVA (LOG <i>D</i> ) OU COEFICIENTE DE DISTRIBUIÇÃO	64
<b>4 RESULTADOS E DISCUSSÃO</b>	<b>66</b>
4.1 PARÂMETROS FÍSICO-QUÍMICOS CALCULADOS POR DFT	66
4.1.1 ENTALPIA DE DISSOCIAÇÃO HOMOLÍTICA DA LIGAÇÃO O-H (EDL-OH)	67
4.1.2 POTENCIAL DE IONIZAÇÃO (PI)	73
4.1.3 AFINIDADE ELETRÔNICA (AE)	78
4.1.4 DENSIDADE DE SPIN (DS)	80
4.2 PARÂMETROS FÍSICO-QUÍMICOS DE LIPOFILICIDADE CALCULADO	82
4.2.1 LIPOFILICIDADE (LOG <i>P</i> )	83
4.2.2 LIPOFILICIDADE RELATIVA (LOG <i>D</i> ) OU COEFICIENTE DE DISTRIBUIÇÃO	86
4.3 AVALIAÇÃO DOS MODELOS DE QSAR ANTIOXIDANTE	87
4.4 ESTIMATIVA DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DE ARILOXIPROPANOLAMINAS E AMINAS AROMÁTICAS	95
4.5 ROTA DE SÍNTESE DAS ARILOXIPROPANOLAMINAS COM POTENCIAL ATIVIDADE DUAL: ANTIOXIDANTE E ANTI-HIPERTENSIVA	98

4.5.1 SÍNTESE DO CLORIDRATO DE AMINA <b>43</b>	101
4.5.2 SÍNTESE DE NITRILAS A PARTIR DE ALDEÍDOS	107
4.5.3 PREPARAÇÃO DOS EPÓXIDOS <b>53, 54 E 55</b>	112
4.5.4 ABERTURA DOS EPÓXIDOS <b>53, 54 E 55</b> COM O CLORIDRATO DE AMINA <b>43</b>	117
4.5.5 SÍNTESE DO CLORIDRATO DE AMINA <b>58</b>	119
4.5.6 ABERTURA DOS EPÓXIDOS <b>53, 54 E 55</b> COM O CLORIDRATO DE AMINA <b>58</b>	124
4.5.7 SÍNTESE DO CLORIDRATO DE AMINA <b>63</b>	127
4.5.8 ABERTURA DOS EPÓXIDOS <b>53, 54 E 55</b> COM O CLORIDRATO DE AMINA <b>58</b>	132
4.5.9 REAÇÃO PADRÃO DE DESPROTEÇÃO DO GRUPO FENÓLICO: DESBENZILAÇÃO DE <b>56</b>	134
4.5.10 DESPROTEÇÃO DAS ARILOXIPROPANOLAMINAS <b>59, 60, 61, 64 E 65</b>	135
<b>5 CONCLUSÕES</b>	137
<b>6 PERSPECTIVAS</b>	138
<b>7 EXPERIMENTAL</b>	139
7.1 MATERIAIS E MÉTODOS	139
7.2 REAÇÕES	141
7.2.1 PREPARAÇÃO DA 4-HIDRÓXI-3-METÓXI-BENZALDOXIMA ( <b>48</b> )	141
7.2.2 PREPARAÇÃO DO CLORIDRATO DE 4-(AMINO-METIL)-2-METÓXI-FENOL ( <b>43</b> )	142
7.2.3 PREPARAÇÃO DE NITRILAS A PARTIR DE ALDEÍDOS	143
7.2.3.1 4-HIDRÓXI-3-METÓXI-BENZONITRILA ( <b>50</b> )	144
7.2.3.2 4-HIDRÓXI-BENZONITRILA ( <b>51</b> )	145
7.2.4 PREPARAÇÃO DE EPÓXIDOS A PARTIR DE FENÓIS	146
7.2.4.1 3-METÓXI-4-(2-OXIRANIL-METÓXI)BENZONITRILA ( <b>53</b> )	147
7.2.4.2 4-(2-OXIRANIL-METÓXI)BENZONITRILA ( <b>54</b> )	148

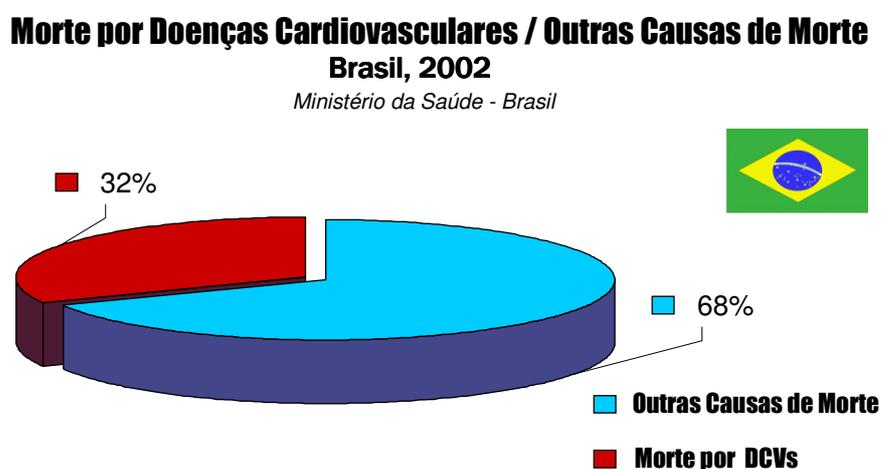
7.2.4.3 4-(2-OXIRANIL-METÓXI)BENZOATO DE METILA (55)	149
7.2.5 PREPARAÇÃO DO 4-(BENZILÓXI)-3-METÓXI-BENZALDEÍDO (56)	150
7.2.6 PREPARAÇÃO DA 4-(BENZILÓXI)-3-METÓXI-BENZALDOXIMA (57)	151
7.2.7 PREPARAÇÃO DO CLORIDRATO DE [4-BENZILÓXI]-3-METÓXI-[FENIL]METANAMINA (58)	152
7.2.8 ABERTURA DOS EPÓXIDOS 53, 54 E 55 COM A AMINA 58	153
7.2.8.1 4-[3-{{4-(BENZILÓXI)-3-METÓXI-BENZIL}AMINO}-2-HIDRÓXI-PROPÓXI]-3-METÓXI-BENZONITRILA (59)	154
7.2.8.2 CLORIDRATO DE 4-[3-{{4-(BENZILÓXI)-3-METÓXI-BENZIL}AMINO}-2-HIDRÓXI-PROPÓXI]BENZONITRILA (60)	155
7.2.8.3 CLORIDRATO DE 4-[3-{{4-(BENZILÓXI)-3-METÓXI-BENZIL}AMINO}-2-HIDRÓXI-PROPÓXI]BENZOATO DE ETILA (61)	156
7.2.9 PREPARAÇÃO DO 1-(BENZILÓXI)-2-METÓXI-4-[(E)-2-NITRO-ETENIL]BENZENO (62)	157
7.2.10 PREPARAÇÃO DO CLORIDRATO DA 2-[4-(BENZILÓXI)-3-METÓXI-FENIL]ETANAMINA (63)	158
7.2.11 ABERTURA DOS EPÓXIDOS 53, 54 E 55 COM A AMINA 63	160
7.2.11.1 4-[3-{{2-[4-(BENZILÓXI)-3-METÓXI-FENIL]ETIL}AMINO)-2-HIDRÓXI-PROPÓXI]-3-METÓXI-BENZONITRILA (64)	161
7.2.11.2 CLORIDRATO DE 4-[3-{{2-[4-(BENZILÓXI)-3-METÓXI-FENIL]ETIL}AMINO)-2-HIDRÓXI-PROPÓXI]BENZONITRILA (65)	162
7.2.11.3 CLORIDRATO DE 4-[3-{{2-[4-(BENZILÓXI)-3-METÓXI-FENIL]ETIL}AMINO)-2-HIDRÓXI-PROPÓXI]BENZOATO DE ETILA (66)	163
7.2.12 DESPROTEÇÃO DO GRUPO FENÓLICO DE 56	164
<b>8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b>	<b>165</b>

# 1 INTRODUÇÃO

## 1.1 Panorama das Doenças Cardiovasculares

As doenças cardiovasculares (DCVs) são a principal causa de morte no mundo (LESSA, 2004). Desde o início da década de 90, a pandemia das doenças cardiovasculares vem preocupando várias organizações internacionais, principalmente países em desenvolvimento (LESSA, 2004).

No Brasil, o panorama não é diferente. Prova disto é o elevado número de óbitos na população brasileira decorrente de DCVs, como ilustra o **Gráfico 1** (MINISTÉRIO DA SAÚDE - BRASIL, 2002), que há quatro décadas estão como primeira causa de morte (LESSA, 2004).

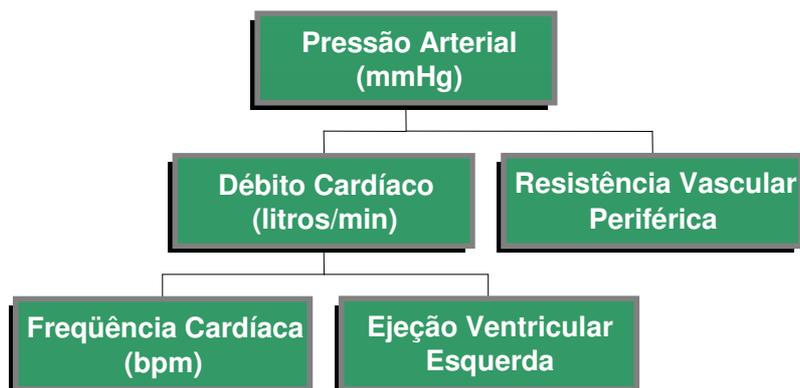


**Gráfico 1.** Comparação entre os índices de morte relacionados às doenças cardiovasculares e às outras causas de morte na população brasileira, em 2002.

Dentre as doenças que acometem o sistema cardiovascular, a hipertensão é a mais comum. Por ser uma patologia com vários fatores de risco, incluindo consumo crônico de álcool (MOREIRA, 2005), diabetes, tabagismo, hiperlipidemia, estresse, idade, fatores genéticos, obesidade, sedentarismo e dieta rica em gordura saturada (LI e CHEN, 2005), a hipertensão é classificada como multifatorial. Além disso, a hipertensão persistente danifica os vasos sanguíneos renais, cardíacos e cerebrais, resultando em um aumento na incidência de insuficiência renal, coronariopatias (principalmente aterosclerose), insuficiência cardíaca e acidente vascular cerebral (COHUET e STRUIJKER-BOUDIER, 2006), que também contribuem para o elevado número de óbitos.

## **1.2 Controle da Pressão Arterial pelo Sistema Nervoso Autônomo**

O equilíbrio da pressão arterial é imprescindível à sobrevivência do ser humano. A pressão arterial (PA) é resultante da ejeção de sangue do ventrículo esquerdo para a artéria aorta (débito cardíaco, DC) e da resistência imposta pelas paredes dos vasos sanguíneos (resistência vascular periférica, RVP) (**Figura 1**). É esse processo que permite a perfusão pelos tecidos, ou seja, a passagem de sangue através dos órgãos, que tem como finalidade a nutrição e oxigenação das células. Pela ejeção ventricular esquerda e frequência cardíaca (medida em batimentos por minuto, bpm), o sangue é lançado do ventrículo esquerdo para a aorta (pressão sistólica) e a parede da artéria oferece uma resistência que regula o fluxo e determina a pressão diastólica (KATZUNG, 2003; IRIGOYEN, KRIEGER e CONSOLIM-COLOMBO, 2005; GOODMAN e GILMAN; 2005).

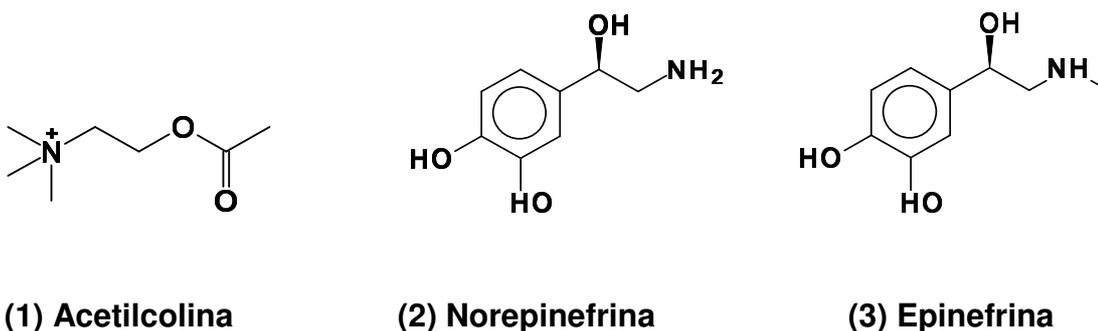


**Figura 1.** Fatores que contribuem para o controle da pressão arterial.

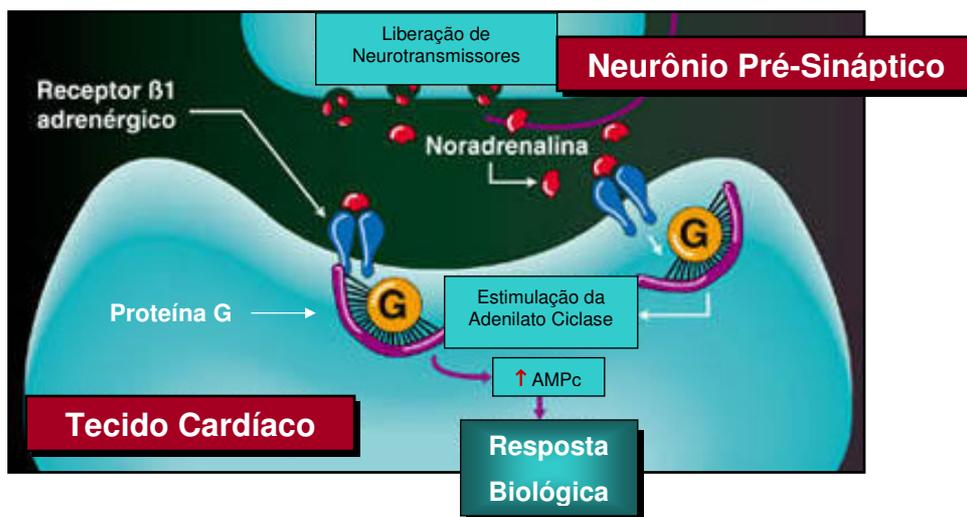
Fisiologicamente, a PA é mantida pela regulação contínua do DC e da RVP, exercida em três locais anatômicos: arteríolas (vasos de resistência), vênulas pós-capilares (vasos de capacitância) e coração. Um quarto local anatômico, o rim, contribui para a manutenção da PA, ao regular o volume de líquido intravascular. Os barorreflexos, mediados por nervos autônomos, atuam em combinação com mecanismos humorais, incluindo o sistema renina-angiotensina-aldosterona, coordenando a função destes quatro locais de controle e mantendo a pressão arterial normal (KATZUNG, 2003; IRIGOYEN, KRIEGER e CONSOLIM-COLOMBO, 2005; GOODMAN e GILMAN, 2005).

O sistema autônomo (parte do sistema nervoso que regula independentemente muitas funções do organismo), principal responsável pelo controle rápido da PA, é subdividido em sistema autônomo simpático e sistema autônomo parassimpático. No coração, a estimulação dos nervos parassimpáticos leva a uma redução da frequência cardíaca, enquanto que a estimulação dos nervos simpáticos aumenta a frequência cardíaca e a força de contração. A resposta do coração a uma determinada situação é governada por um balanço fino entre estes

dois sistemas. O impulso nervoso, decorrente dos nervos simpático e parassimpático, é transmitido pela liberação dos neurotransmissores acetilcolina (**1**) e norepinefrina (noradrenalina, **2**), que se ligam aos seus respectivos receptores, promovendo uma transdução de sinal e, conseqüentemente, uma resposta fisiológica. Adicionalmente, em resposta ao estresse, a glândula supra-renal (glândula adrenal) secreta na corrente sanguínea um hormônio, a epinefrina (adrenalina, **3**), que é responsável pela resposta de “fuga ou luta”, onde o organismo se prepara para fugir ou se proteger quando ameaçado (MAIN e TUCKER, 1993; KATZUNG, 2003; CONSOLIM-COLOMBO, IRIGOYEN e KRIEGER, 2005; GOODMAN e GILMAN, 2005).



As catecolaminas (norepinefrina e epinefrina) regulam vários processos fisiológicos, como, por exemplo, o aumento do débito cardíaco, pela ativação de receptores adrenérgicos localizados na superfície da célula efetora (**Figura 2**) (THE LUNDBECK INSTITUTE, 2006). Estes adrenoceptores têm uma participação vital no aparelho cardiovascular, via sistema nervoso autônômico (KATZUNG, 2003; GOODMAN e GILMAN, 2005).



**Figura 2.** Liberação de noradrenalina na junção neurônio-coração (THE LUNDBECK INSTITUTE, 2006).

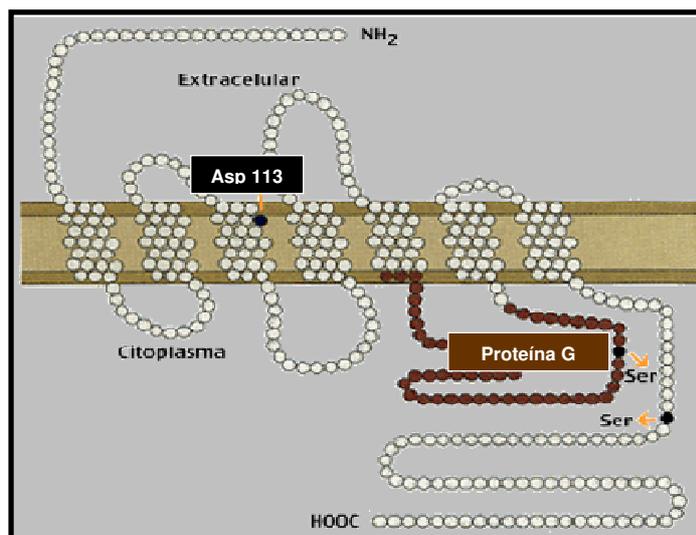
### 1.3 β-Adrenoceptores

Ahlquist, em 1948, introduziu a primeira classificação dos receptores adrenérgicos em  $\alpha$ -adrenérgico ( $\alpha$ -AR) e  $\beta$ -adrenérgico ( $\beta$ -AR) (MAIN e TUCKER, 1993). Atualmente sabe-se que ambos os tipos de adrenoceptores apresentam subtipos. No caso do receptor  $\beta$ , Lands e colaboradores (NAGATOMO e KOIKE, 2000) observaram a existência de duas populações diferentes:  $\beta_1$ , presente no tecido cardíaco, e  $\beta_2$ , presente na musculatura lisa brônquica e nos vasos sanguíneos (MAIN e TUCKER, 1993). No início da década de 80, Nahorski e colaboradores (MAIN e TUCKER, 1993) demonstraram que os tecidos não contêm apenas um subtipo de receptor, e sim uma predominância de um deles. No tecido cardíaco, por exemplo, há o predomínio do adrenoceptor  $\beta_1$  (MAIN e TUCKER, 1993).

No final da década de 80 foi isolado e caracterizado o gene humano responsável por codificar um novo subtipo de adrenoceptor  $\beta$ , conhecido como  $\beta_3$  (NETO, RASCADO e BENDHACK, 2006). A princípio, acreditava-se que o subtipo  $\beta_3$  estava distribuído apenas nos adipócitos (NETO, RASCADO e BENDHACK, 2006), no entanto, após alguns estudos, se evidenciou a presença deste mesmo subtipo no trato digestivo, musculatura lisa brônquica, coração (NETO, RASCADO e BENDHACK, 2006) e na bexiga urinária (TANAKA *et al.*, 2001). Além destes três subtipos ( $\beta_1$ ,  $\beta_2$  e  $\beta_3$ ), foi identificado o subtipo  $\beta_4$ , que é um estado conformacional de baixa afinidade do  $\beta_1$ -adrenoceptor para agonistas e antagonistas convencionais (NETO, RASCADO e BENDHACK 2006).

A existência de vários subtipos de  $\beta$ -adrenoceptores sugere uma seletividade na ação de agentes terapêuticos, visto os diversificados efeitos da epinefrina e norepinefrina nos tecidos.

Os receptores  $\beta$  adrenérgicos pertencem à superfamília de receptores acoplados à proteína G (proteínas regulatórias ligantes de guanosina), caracterizados por apresentar sete domínios transmembrânicos, constituídos por cerca de 22 a 25 resíduos de aminoácidos particularmente hidrofóbicos (STROSBERG e NAHMIAS, 2007). O modelo apresentado por Dixon e colaboradores (DIXON *et al.*, 1991 *apud* MAIN e TUCKER, 1993), assume que cada um dos sete domínios hidrofóbicos atravessa a membrana celular e que o grupo N-terminal do receptor está exposto na região extracelular, enquanto o grupo C-terminal está exposto na região intracelular (**Figura 3**) (THE LUNDBECK INSTITUTE, 2006).



**Figura 3.** Estrutura do  $\beta_1$ -adrenoceptor, demonstrando o resíduo de aspartato 113 localizado no terceiro domínio (THE LUNDBECK INSTITUTE, 2006).

A proteína G faz parte de uma família de proteínas homólogas e triméricas, constituída por três subunidades designadas  $\alpha$  (alfa),  $\beta$  (beta) e  $\gamma$  (gama). As diferenças encontradas na subunidade  $\alpha$  permitem a classificação em diferentes tipos de proteína G (NETO, RASCADO e BENDHACK, 2006). Após a ativação do receptor por agonistas, ocorre a troca de GDP (guanosina difosfato) por GTP (guanosina trifosfato) na subunidade  $G_\alpha$ . O complexo  $G_\alpha$ -GTP dissocia-se das subunidades  $G_{\beta-\gamma}$ , modulando de forma positiva ou negativa várias proteínas que podem modificar a concentração citoplasmática de AMPc (adenosina monofosfato - 3`-5`-cíclico) (XIAO *et al.*, 2006). O AMPc, chamado de segundo mensageiro, inicia, então, uma cascata bioquímica que leva a uma resposta biológica.

A estrutura primária dos  $\beta$  adrenoceptores varia de acordo com subtipo. O  $\beta_1$ , por exemplo, é composto por 477 resíduos de aminoácidos, enquanto o  $\beta_2$  apresenta apenas 413 resíduos. Os dois subtipos apresentam homologia global de 48,9%

(NAGATOMO e KOIKE, 2000). No entanto, os níveis de homologia na região da membrana são maiores (MAIN e TUCKER, 1993).

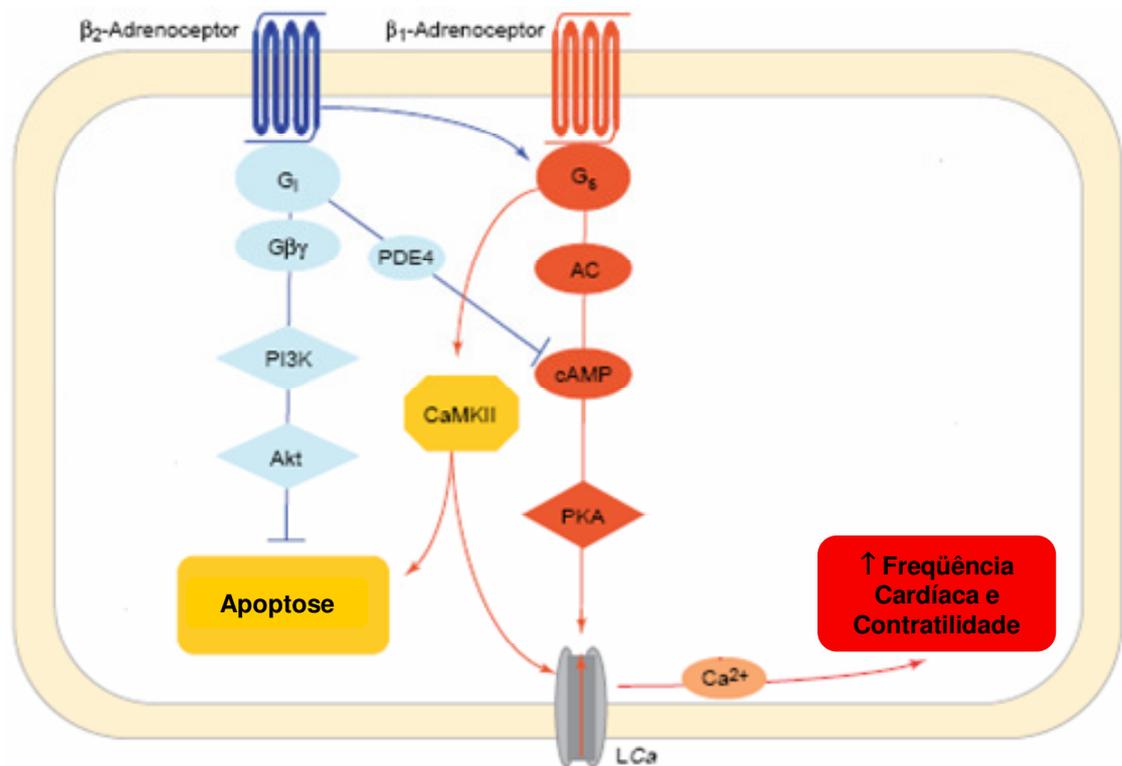
#### **1.4 Sinalização Celular Via Ativação dos $\beta$ -Adrenoceptores Cardíacos**

No tecido cardíaco estão presentes, principalmente, os subtipos de adrenoceptores  $\beta_1$  e  $\beta_2$  (XIAO *et al.*, 2006). Estes dois subtipos apresentam diferentes funções fisiológicas e vias de sinalização. A ativação do subtipo  $\beta_1$  produz AMPc (segundo mensageiro), que é amplamente difundido nos cardiomiócitos, gerando uma resposta contrátil (efeito inotrópico positivo) efetiva. No  $\beta_2$ , essa mesma produção de AMPc é espacialmente e funcionalmente compartimentalizada, provocando um pequeno efeito inotrópico positivo (XIAO *et al.*, 2006). Os diferentes papéis funcionais entre  $\beta_1$  e  $\beta_2$  são atribuídos, em parte, a uma diferente distribuição espacial destes dois subtipos na superfície celular do tecido cardíaco. Adicionalmente, a ativação crônica do receptor  $\beta_1$  provoca um aumento na concentração de  $Ca^{2+}$  intracelular e na contratilidade através da CaM-II (proteína cinase II dependente de  $Ca^{2+}$ /Calmodulina), independente do mecanismo clássico AMPc-PKA (proteína cinase A) que, por sua vez, inicializa um processo de apoptose (morte celular programada) do cardiomiócito (XIAO *et al.*, 2006).

Diferentemente do  $\beta_1$ , a estimulação do adrenoceptor  $\beta_2$  pode ativar tanto a proteína  $G_i$  quanto  $G_s$  (XIAO *et al.*, 1995 *apud* XIAO *et al.*, 2006). Sob estimulação contínua, a preferência de acoplamento do receptor  $\beta_2$  muda de proteína  $G_s$  para  $G_i$ . Assim, a sinalização por meio do adrenoceptor- $\beta_2$ - $G_i$  dependente de PKA (proteína cinase A), ativa a fofatidilinositol 3-cinase (PI3K), que inibe a fosforilação dependente de PKA-AMPc (PKA ativada), promovendo um efeito inotrópico negativo

(XIAO *et al.*, 2006). Uma vez ativada, a proteína  $G_i$  também aciona uma via de inibição do processo de apoptose (gerado pela ativação crônica do  $\beta_1$ ) que envolve, sequencialmente, a  $G_{\beta\gamma}$  (subunidade  $\beta$ - $\gamma$  da proteína  $G_i$ ), PI3K e Akt (proteína cinase B) (XIAO *et al.*, 2006; e MORISCO *et al.*, 2000). Adicionalmente, a fosfolipase  $A_2$  (PLA<sub>2</sub>) e a fosfodiesterase 4D (PDE4D) impedem a ação do  $Ca^{2+}$  (mediado pela proteína  $G_s$ ) e a resposta contrátil no músculo cardíaco, contribuindo, desta forma, com o mecanismo de cardioproteção estabelecido primeiramente pela estimulação crônica dos adrenoceptores  $\beta_2$  (**Figura 4**) (XIAO *et al.*, 2006).

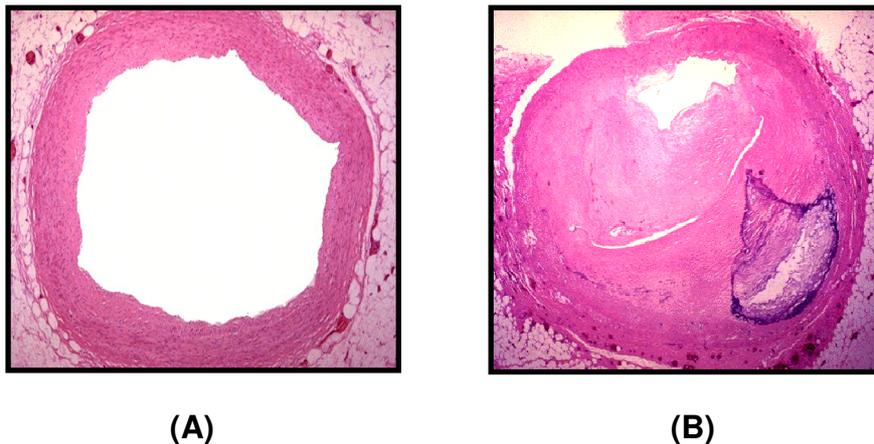
Os efeitos opostos, descritos anteriormente, entre  $\beta_1$  e  $\beta_2$  na estrutura cardíaca provêm uma combinação razoável entre a ativação de  $\beta_2$  e o bloqueio de  $\beta_1$  como uma terapia eficaz para doenças cardiovasculares, como a hipertensão.



**Figura 4.** Vias de sinalização dos receptores adrenérgicos  $\beta_1$  e  $\beta_2$  do tecido cardíaco (XIAO *et al.*, 2006).

## **1.5 Aterogênese: O Papel dos Radicais Livres na Disfunção do Endotélio Vascular**

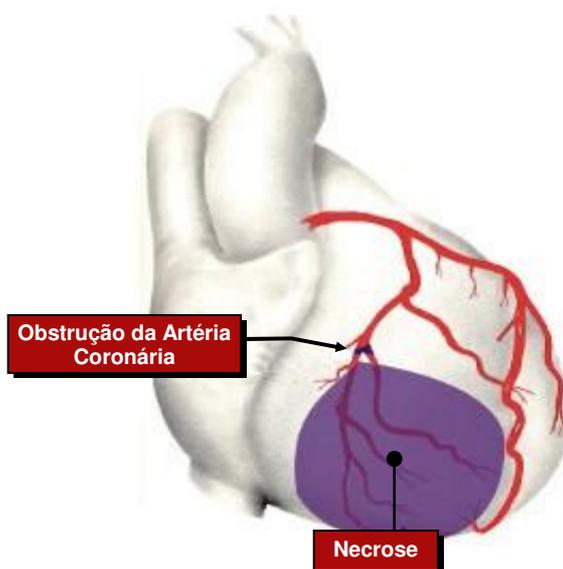
A aterosclerose pode ser definida como uma disfunção da parede dos vasos sanguíneos em função do surgimento de uma placa obstrutiva, que é constituída por um depósito de lipídeos, células do sistema imune e células musculares de proliferação induzida. Além do mais, este processo aterosclerótico pode desencadear, em uma etapa mais avançada, a calcificação do trombo formado (**Figura 5**) (FUNDACIÓN FAVALORO, 2006).



**Figura 5.** Cortes transversais de artéria coronária humana: A) Artéria coronária saudável e B) Artéria coronária obstruída pela placa de ateroma com um processo de calcificação (FUNDACIÓN FAVALORO, 2006).

A hipertensão é um dos principais fatores que contribuem para o surgimento da placa de ateroma (LI e CHEN, 2005, FERRONI *et al.*, 2006) que, por sua vez, pode provocar uma oclusão do vaso (formação de um trombo), interrompendo assim a oxigenação do tecido, com subsequente necrose. Quando este processo ocorre nos vasos coronarianos (**Figura 6**) (FUNDACIÓN FAVALORO, 2006), tem-se o

infarto de miocárdio, patologia severa de tratamento emergencial e que implica em morte do paciente em grande número de casos.



**Figura 6.** Necrose do tecido cardíaco provocada pela obstrução da artéria coronária (FUNDACIÓN FAVALORO, 2006).

O surgimento da placa aterosclerótica está associado à oxidação da lipoproteína de baixa densidade (LDL) por espécies reativas de oxigênio (ROS) e de nitrogênio (RNS) (FERRONI *et al.*, 2006), geradas em processos endógenos ou por fontes exógenas. A produção endógena de ROS e RNS está relacionada aos processos biológicos que normalmente ocorrem no organismo, tais como: redução de flavinas e tióis; resultado da atividade de oxidases, ciclooxigenases, lipoxigenases, desidrogenases e peroxidases; presença de metais de transição no interior da célula e de sistemas de transporte de elétrons. Além do mais, mediadores de inflamação (como Proteína C reativa e  $\text{TNF}\alpha$ ), angiotensina II, catecolaminas, bem como as formas de LDL modificada, podem aumentar a produção destas espécies reativas. Esta produção de radicais livres envolve várias organelas celulares, como mitocôndrias, lisossomos, peroxissomos, núcleo, retículo

endoplasmático e membranas (GALLE *et al.*, 2006, FERRONI *et al.*, 2006). As fontes exógenas geradoras de radicais livres incluem tabaco, poluentes atmosféricos, solventes orgânicos, anestésicos, pesticidas e radiações.

A modificação oxidativa da LDL acontece em dois estágios. O primeiro, antes da ativação dos monócitos, resulta na oxidação dos lipídeos, havendo uma pequena alteração no conteúdo protéico (LDL minimamente oxidada, MM-LDL-OX). O segundo começa quando os monócitos são ativados e diferenciados em macrófagos, que, por sua vez, contribuem com sua grande capacidade oxidativa. Nesse estágio, tanto o conteúdo lipídico quanto o protéico são oxidados. Assim, as LDL altamente oxidadas (LDL-OX) são apenas reconhecidas pelos receptores de LDL-OX (receptores removedores) presentes na superfície de macrófagos, que, diferentemente dos receptores clássicos de LDL, não são regulados pelo conteúdo celular de colesterol. Em conseqüência, ocorre um acúmulo maciço de colesterol, formando as células espumosas, que são a marca característica das placas de ateroma (KEANEY, 2000).

Esse processo oxidativo da LDL, além de induzir uma captação aumentada pelos macrófagos, produz um efeito acentuado na lesão e na ativação de células endoteliais (BARTLOUNI, 1997). A MM-LDL-OX, por sua vez, leva à produção, por células endoteliais, de ativadores potentes de monócitos, como a proteína quimiotática para monócitos (MCP-1) e o fator estimulador de colônias de monócitos (M-CSF), os quais estimulam o crescimento e a diferenciação dos monócitos em macrófagos (BARTLOUNI, 1997). Portanto, LDL-OX, além de transformar macrófagos em células espumosas, aumentam a adesão, a ativação e migração de monócitos.

A LDL-OX também estimula os monócitos a secretarem interleucina-1 (IL-1), um fator de crescimento para células da musculatura lisa. Uma das características peculiares da LDL-OX é o aumento acentuado de seu conteúdo de lisofosfatidilcolina. Essa substância é quimiotática para monócitos e linfócitos T, inibe o relaxamento dependente do endotélio e induz a expressão de moléculas de adesão vascular (VCAM-1) e intracelular (ICAM-1) nas células endoteliais (FERRONI *et al*, 2006).

Em estágio altamente oxidado, a LDL pode, também, inibir a migração de células endoteliais e comprometer a reparação de placas ulceradas em lesões ateroscleróticas avançadas (BATLOUNI, 1997). Alguns estudos demonstraram ainda que a LDL-OX é tóxica para macrófagos e, como conseqüência, pode contribuir para a amplificação do processo inflamatório e formação do núcleo necrótico encontrado nas lesões avançadas (BARTLOUNI, 1997).

Adicionalmente, as ROS/RNS ativam o fator nuclear  $\kappa$ B (um fator pró-inflamatório que é requerido para expressão de citocinas, NF- $\kappa$ B) que, por sua vez, também aumenta a produção de várias moléculas de adesão que estão envolvidas no recrutamento de monócitos, contribuindo ainda mais para o processo inflamatório. Assim, agentes com atividade antioxidante podem impedir ou diminuir a formação da placa aterosclerótica por remoção destas espécies reativas, consistindo, desta forma, numa abordagem terapêutica eficaz para a prevenção da aterosclerose e da hipertensão a ela associada (KALIORA *et al.*, 2006).

Um outro processo patológico onde ocorre um envolvimento significativo de ROS é na lesão cardíaca promovida pela reperfusão sangüínea (retorno do fluxo sangüíneo) após o infarto do miocárdio. Se durante o infarto ocorre uma isquemia, com conseqüente interrupção do fluxo sangüíneo e do aporte de oxigênio molecular,

levando à necrose do tecido cardíaco, após o retorno do fluxo sanguíneo (reperfusão) há uma produção maciça de ROS, principalmente dos radicais superóxido ( $O_2^{\cdot-}$ ) e hidroxila ( $HO^{\cdot}$ ) (FERREIRA e MATSUBARA, 1997), levando ao dano e, conseqüentemente, morte celular, que se soma aos danos causados pela isquemia; resultando em uma lesão severa do miocárdio, que é, em muitos casos, fatal.

## **1.6 Características Estruturais dos $\beta$ -Bloqueadores e Agentes Antioxidantes no Combate à Hipertensão e à Aterosclerose**

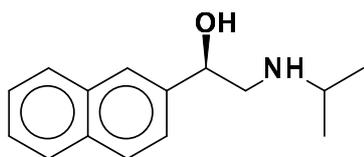
### **1.6.1.1 Agentes $\beta$ -Bloqueadores**

O potencial uso clínico dos  $\beta$ -bloqueadores foi proposto primeiramente por Black, quando formulou a teoria de um possível tratamento para doenças cardiovasculares (BLACK e STEPHENSON, 1962 *apud* MAIN e TUCKER, 1993). Black sabia que a estimulação do sistema nervoso simpático, uma das respostas ao estresse fisiológico, causava (via adrenoceptor  $\beta$ ) um aumento da força de contração e da frequência cardíaca. Assim, o consumo de energia em demasia provoca um aumento na demanda de oxigênio do músculo cardíaco. Se não houver um suprimento de sangue adequado durante esse processo, como, por exemplo, em um indivíduo com doença arterial coronariana, então esta deficiência de oxigênio resultante se manifesta sob a forma de dor (angina de peito). A partir da tentativa mal sucedida de aumentar o suprimento de oxigênio com o uso de agentes vasodilatadores, Black propôs a redução da demanda de oxigênio do tecido cardíaco

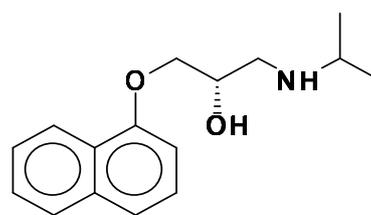
por agentes que bloqueassem a estimulação do nervo simpático, como um meio de tratamento efetivo para este distúrbio.

O pronetalol (**4**), uma molécula da classe das ariletanolaminas, se tornou o primeiro  $\beta$ -bloqueador de uso clínico. A sua utilização não se restringia somente à angina de peito, mas também à arritmia cardíaca e, principalmente, à hipertensão. No entanto, o pronetalol apresenta algumas desvantagens como a atividade simpatomimética intrínseca (atividade estimuladora dos receptores adrenérgicos, ISA) e ação carcinogênica (tumores de timo). Este empecilho levou várias indústrias farmacêuticas a investigar sistematicamente sua estrutura, de forma a otimizar a atividade  $\beta$ -bloqueadora, excluindo estes efeitos indesejáveis (MAIN e TUCKER, 1993).

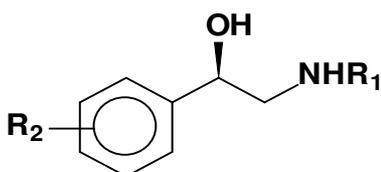
Em 1968, Crowther e Smith sintetizaram o propranolol (**5**), uma ariloxipropanolamina, que apresenta uma maior potência, e sem provocar os efeitos adversos do pronetalol (CROWTHER e SMITH, 1968).



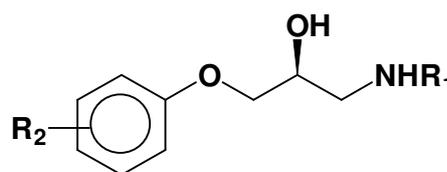
(4) Pronetalol



(5) Propranolol

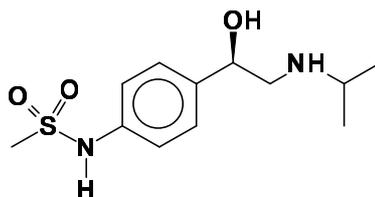


(6) Ariletanolamina



(7) Ariloxipropanolamina

Além do mais, como evidenciado por Crowther e Smith, a classe das ariloxipropanolaminas confere uma maior potência no bloqueio dos receptores  $\beta$ , enquanto, as ariletanolaminas são geralmente associadas a vários graus de ISA, com a exceção do sotalol (**8**).



**(8) Sotalol**

Considerando a estrutura química dos antagonistas dos  $\beta$ -adrenoceptores, podemos identificar dois grupamentos que são essenciais para a atividade  $\beta$ -bloqueadora: a cadeia  $\beta$ -etanolamina e o anel aromático.

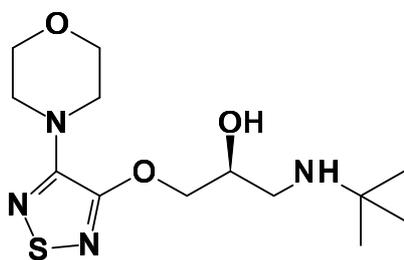
Modificações estruturais nas séries das ariletanolaminas e ariloxipropanolaminas mostraram que substituintes volumosos, tais como isopropil e *t*-butil, ligados diretamente no átomo de nitrogênio da cadeia lateral, conferem uma ótima atividade antagonista dos  $\beta$  adrenoceptores. No entanto, a inserção de grupos funcionais entre a amina e o grupo carbinol; a remoção ou alquilação dos grupos hidroxila e amina, levam a uma substancial ou total perda da atividade  $\beta$ -bloqueadora. Com a exceção do grupo  $-\text{OCH}_2-$ , inserido entre o anel aromático e a cadeia lateral, todos os outros grupos testados ( $-\text{CH}=\text{CH}-$ ,  $-\text{SCH}_2-$ ,  $-\text{CH}_2\text{CH}_2-$  e  $-\text{NHCH}_2-$ ) originaram moléculas com pouca ou nenhuma atividade. Adicionalmente, as substituições com o grupo metila nos átomos de carbono da cadeia

propranolamina resultaram, também, em uma redução da atividade antagonista (MAIN e TUCKER, 1993).

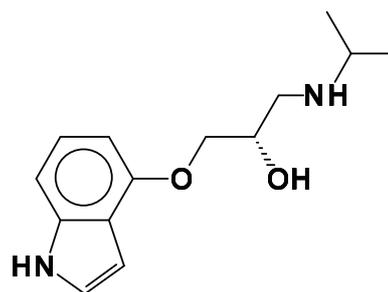
Além disso, a atividade  $\beta$ -bloqueadora reside, em geral ou predominantemente, em apenas um dos enantiômeros desta classe de fármacos. No caso das ariletanolaminas, o enantiômero ativo (eutômero) possui configuração absoluta *R*, diferentemente das ariloxipropranolaminas cujo enantiômero ativo é o *S* (veja os compostos **6** e **7**). Apesar disso, muitos  $\beta$ -bloqueadores são vendidos na forma de racemato.

Com poucas exceções, a maioria destes antagonistas apresenta em sua estrutura um anel aromático, o qual não necessariamente precisa ser benzenóide, como é o caso do timolol (**9**) e pindolol (**10**). A natureza e a posição dos substituintes no anel aromático também têm um efeito crucial na potência e no perfil farmacológico da molécula. Estudos de relação estrutura-atividade indicam que para a série dos isômeros de posição em compostos benzenóides, a ordem de potência relacionada com a atividade antagonista é *orto* > *meta* > *para* substituídos. Em adição, a posição *orto* consegue acomodar grupamentos volumosos sem que haja perda da atividade  $\beta$ -bloqueadora, enquanto que a posição *para* é bastante sensível ao tamanho do grupo. Além do mais, a poli-substituição do anel aromático produz compostos com potências variadas, com exceção dos compostos *orto*-disubstituídos (i.e., substituídos nas posições 2 e 6) que apresentam uma perda total de atividade (MAIN e TUCKER, 1993).

Com relação ao substituinte em *orto*, foi verificado também que o tamanho do grupo inserido nesta posição influencia os níveis de atividade simpatomimética intrínseca (ISA); ou seja, moléculas com substituintes volumosos e *orto* apresentam uma menor ISA (MAIN e TUCKER, 1993).

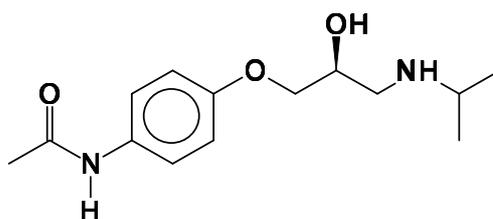


(9) Timolol



(10) Pindolol

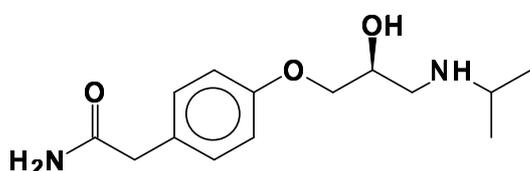
Com a descoberta do practolol (11), houve uma grande procura por ariloxipropanolaminas substituídas com grupos amidas. Esta subclasse de ariloxipropanolaminas apresenta as mesmas relações estrutura-atividade descritas anteriormente, exceto que o substituinte amida em posição *para* origina moléculas com maior potência do que seus isômeros substituídos na posição *orto*. Além disso, apesar de todos estes compostos apresentarem ISA, assim como o practolol, apenas os isômeros *para* substituídos são cardiosseletivos.



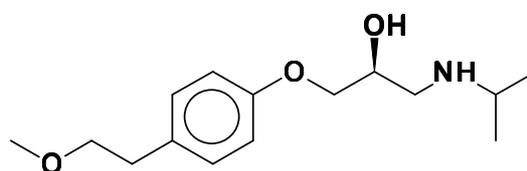
(11) Practolol

Em analogia à estrutura do practolol, Barret e colaboradores (BARRET *et al.*, 1973 *apud* MAIN e TUCKER, 1993) sintetizaram o atenolol (12), no qual o grupo acetanilida é substituído pelo grupo benzilacetamida. O atenolol (12) apresenta

potência equivalente ao propranolol, cardiosseletividade, mas sem atividade simpatomimética intrínseca. Subseqüentemente, foi descoberto que os análogos *p*-CH<sub>2</sub>NHCOR e *p*-CH<sub>2</sub>NHCONHR também apresentam cardiosseletividade sem ISA. Independentemente, Carlsson e colaboradores (CARLSSON *et al.*, 1973 *apud* MAIN e TUCKER, 1993), prepararam o metoprolol (**13**), contendo o grupo *p*-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OCH<sub>3</sub> em substituição ao grupo amida, que apresenta o mesmo perfil farmacológico do atenolol (**12**).

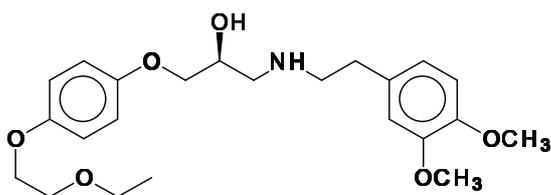


(12) Atenolol

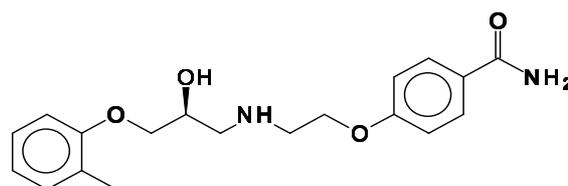


(13) Metoprolol

Hoefle e colaboradores (HOEFLE *et al.*, 1975) relataram que compostos contendo o grupo 3,4-dimetóxi-fenil-etilamino, como **14**, também são cardiosseletivos. Além disso, Augstein e colaboradores (AUGSTEIN *et al.*, 1973) reportaram que o tolamolol (**15**), que contém o grupo amida na porção fenóxi-etilamino, também apresenta cardiosseletividade. Mais tarde, Smith e Tucker (SMITH e TUCKER, 1977 *apud* MAIN e TUCKER, 1993) relataram que compostos contendo substituintes fenoxilamina e tiofenoxilamina (substituinte destacado em vermelho, **16**) também demonstram cardiosseletividade (TUCKER e COOPE, 1978 *apud* MAIN e TUCKER, 1993).

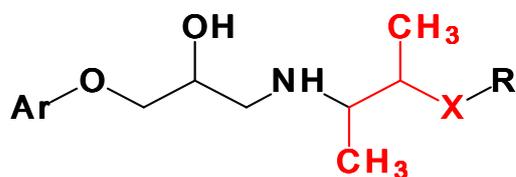


(14)



(15) Tolamolol

Em 1982, Smith e Large, seguindo o trabalho em conjunto com Tucker, fizeram uma série de substituições, com grupamentos amida, sulfonamida e carbamida, entre a cadeia alquilamina e o substituinte R da cadeia lateral das ariloxipropanolaminas (**16**, posição X destacada em vermelho). Estas moléculas apresentam tanto potência quanto cardiosseletividade. O grupo R suportou vários substituintes sem que houvesse perda da atividade. No entanto, o tamanho da cadeia alquilênica foi um fator crítico. A extensão  $(-NH(CH_2)_n-X-R)$  da cadeia lateral e a presença de grupos metila ligado aos átomos carbonos adjacentes à amina (**16**, grupo destacado em vermelho), levou à perda da cardiosseletividade e redução na potência (MAIN e TUCKER, 1993).



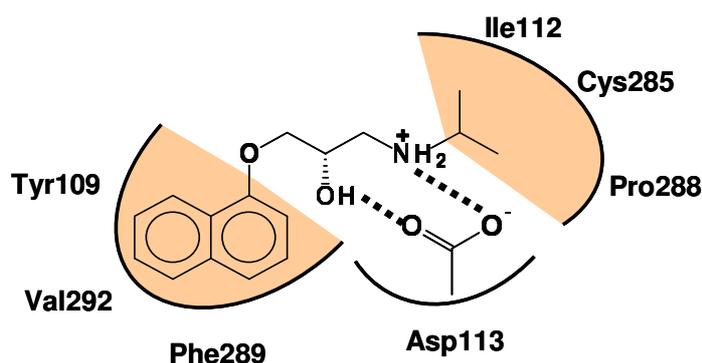
X =  $-O-$ ,  $-S-$ ,  $-NHSO_2-$ ,  $-CONH-$ ,  $-NHCO-$  e  $-NHCONH-$

R = Aril e Alquil

(16)

### 1.6.1.2 Sítios de Interação entre o $\beta_1$ -Adrenoceptor e os $\beta$ -Bloqueadores

Em 2000, com os avanços da química computacional, foi realizada uma análise estrutural do propranolol (**5**) ligado ao adrenoceptor  $\beta_1$  (NAGATOMO e KOIKE, 2000), propondo-se diferentes tipos de interação entre os seguintes grupos (**Figura 7**): 1) Grupo amino protonado e o resíduo Asp113 (ligação hidrogênio, reforçada por ligação iônica); 2) Grupo hidroxila e o resíduo Asp113 (ligação hidrogênio); 3) Grupo naftil e os resíduos Tyr109, Phe289 e Val292 (Interação hidrofóbica); 4) Grupo isopropil e os resíduos Ile112, Pro288 e Cys285 (Interação hidrofóbica).

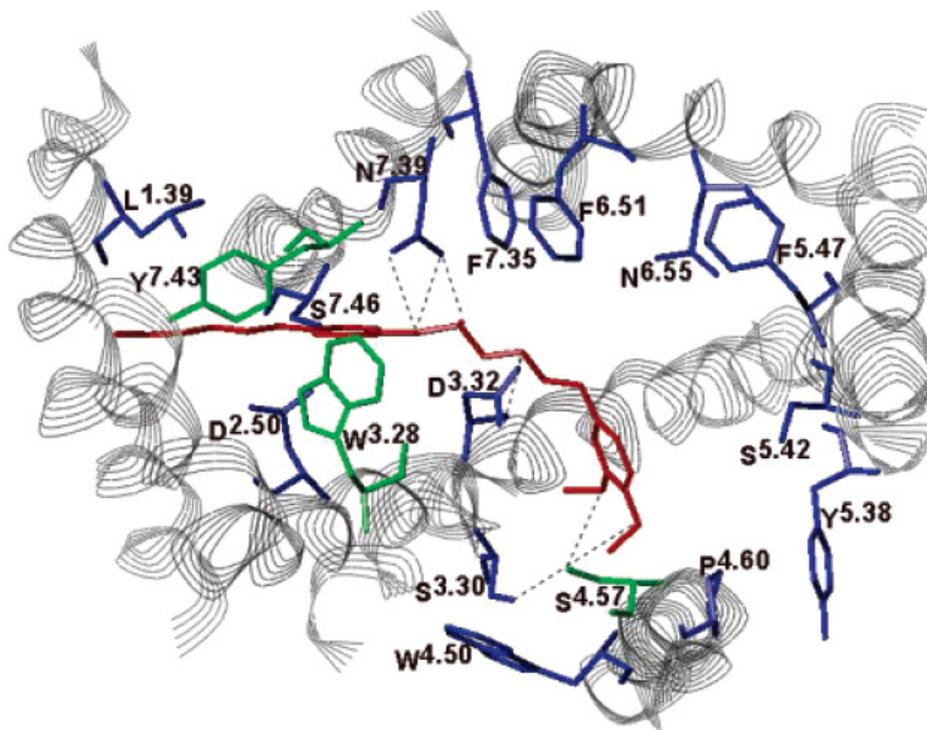


**Figura 7.** Representação esquemática das interações entre o propranolol (**5**) e os resíduos de aminoácidos do receptor  $\beta_1$ -adrenérgico humano obtido por modelagem molecular. As interações hidrofóbicas estão representadas pela região em laranja e as ligações hidrogênio por linhas tracejadas.

Diferente do estudo feito por Nagatomo e Koike (NAGATOMO e KOIKE, 2000), alguns autores identificaram o resíduo Asn, equivalente ao resíduo Asn352 do receptor  $\beta_1$ -adrenérgico de rato, como um sítio de interação por ligação hidrogênio com o grupo hidroxila da cadeia lateral propanolamina e/ou o átomo de oxigênio do grupo arilóxi do propranolol (**5**) e pindolol (**10**) (REZMANN-VITTI *et al.*, 2006). Entretanto, Suryanarayana, Langlois e Kolbilka relataram que

fenoxipropanolaminas substituídas na posição *para*, como o atenolol (**12**) e practolol (**11**), e a ariletanolamina sotalol (**8**), não interagem com este mesmo resíduo, já que suas afinidades não são afetadas pela mutação deste aminoácido (SURYANARAYANA *et al.*, 1991; LANGLOIS *et al.*, 1993; e SURYANARAYANA e KOLBILKA, 1993 *apud* REZMANN-VITTI *et al.*, 2006).

Adicionalmente, Rezmann-Vitti e colaboradores (REZMANN-VITTI *et al.*, 2006), em estudos utilizando  $\beta_1$ -adrenoceptores de rato, demonstraram que quando um  $\beta$ -bloqueador interage com o receptor, ligando-se simultaneamente aos resíduos Asp138 e Asn352, o grupo oxiaril interage com um sítio hidrofóbico definido pelos resíduos dos domínios transmembrânicos 1, 2, 3 e 7. Os dois resíduos aromáticos neste sítio, Tyr356 e Trp134, estão situados de tal forma que possibilitam uma perfeita interação  $\pi$ - $\pi$  com grupo arila dos antagonistas. Além disso, neste mesmo trabalho, foi evidenciado que os resíduos Ser190 e Ser136 (localizados nos domínios 4 e 3, respectivamente) interagem por ligação hidrogênio com os substituintes metoxila do grupo 3,4-dimetóxi-fenil-etilamino de antagonistas de terceira geração (**14**) (**Figura 8**) (REZMANN-VITTI *et al.*, 2006).



**Figura 8.** Potenciais interações de **14** (destacado em vermelho) com o modelo de receptor  $\beta_1$ -adrenérgico de rato. Os átomos de oxigênio, do substituinte 3,4-dimetóxi-fenil-etilamino, interagem com os resíduos Ser190 (S 4.57)<sup>1</sup> e Ser136 (S 3.30) por ligação hidrogênio. O Resíduo Asn352 (N 7.39) interage, por ligação hidrogênio, tanto com o oxigênio do grupo oxiarila quanto com o grupo hidroxila da cadeia propanolamina de **14**. O substituinte amino interage, também por ligação hidrogênio, com o resíduo Asp138 (D 3.32). O grupo oxiarila é alocado no sítio hidrofóbico definido pelos resíduos Leu65 (L 1.39), Trp134 (W 3.28), Asn352 (N 7.39) e Tyr356 (Y 7.43), onde interage, por interação  $\pi$ - $\pi$ , com os resíduos Trp134 (W 3.28) e Tyr356 (Y 7.43) (REZMANN-VITTI *et al.*, 2006).

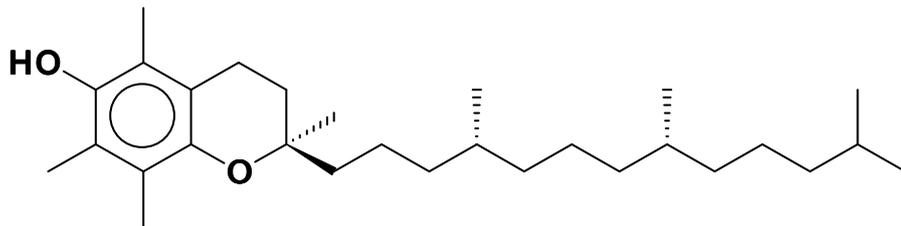
### 1.6.2 Agentes Antioxidantes

Recentemente, Kaliora e colaboradores (KALIORA *et al.*, 2006) relataram também o efeito benéfico de vários antioxidantes no tratamento e profilaxia da aterosclerose. Dentre os compostos antioxidantes apresentados neste estudo estão

<sup>1</sup> (S, abreviação de uma letra do aminoácido; 4, número do domínio hidrofóbico em que esse aminoácido se localiza; e 57, posição do aminoácido no domínio hidrofóbico).

os lipossolúveis (vitamina E, carotenóides, coenzima Q10 e os polifenóis) e os hidrossolúveis (vitamina C).

A vitamina E (17), cuja forma mais prevalente e ativa é o  $\alpha$ -tocoferol, é o antioxidante lipossolúvel predominante nos tecidos e nas LDL. A vitamina E é um antioxidante extremamente potente, que captura os radicais peroxila, interrompendo a cadeia de peroxidação lipídica, o que garante o funcionamento adequado das membranas celulares (BARREIROS, DAVID e DAVID, 2006).

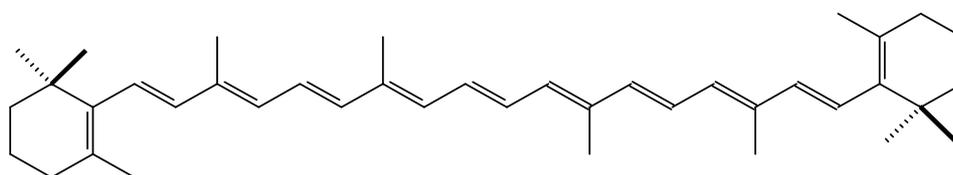


(17)

Adicionado ao plasma, o  $\alpha$ -tocoferol aumenta a resistência das LDL à oxidação. Além de prevenir a lipoperoxidação, a vitamina E parece exercer outros efeitos benéficos em patologias cardiovasculares como: redução da adesão e agregação plaquetária (STEINER, 1991 *apud* BARTLOUNI, 1997); inibição dos fatores de coagulação dependentes de vitamina K e da estimulação da produção de endotelina (DOWND e ZHENG, 1995 *apud* BARTLOUNI, 1997); atenuação da inibição da produção de óxido nítrico mediada pela LDL-OX (BOULANGER *et al.*, 1992 *apud* BARTLOUNI, 1997); e função vasodilatadora de artérias (KEANEY *et al.*, 1994 BARTLOUNI, 1997). Uma outra propriedade da vitamina E é a inibição de secreção de IL-1 (interleucina-1 envolvida na proliferação de células musculares

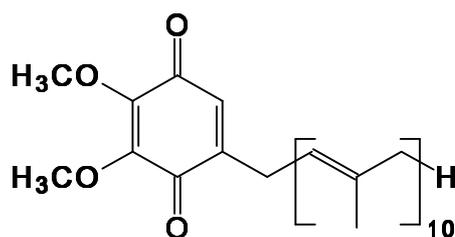
lisas e na diferenciação de monócitos) pelos monócitos (JACKSON, KU e THOMAS, 1993 apud BARTLOUNI, 1997).

Dentre os carotenóides, o  $\beta$ -caroteno (**18**) é um dos principais precursores da vitamina A e, por isso, é designado como pró-vitamina A. Este antioxidante lipossolúvel é um potente supressor de oxigênio singlete, principalmente em baixos níveis de oxigênio, o que também evita o processo de lipoperoxidação (BARREIROS, DAVID e DAVID, 2006).



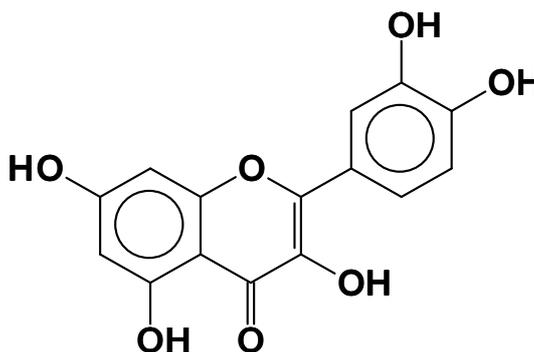
(18)

A coenzima Q10 (CoQ10, **19**), também conhecida como ubiquinona, é uma benzoquinona que possui uma cadeia isoprenóide grande, conferindo uma elevada lipossolubilidade. A CoQ10 é o único lipídeo sintetizado endogenamente que apresenta uma função redox. Na sua forma reduzida, CoQ10-H<sub>2</sub>, esta coenzima torna a LDL resistente ao estresse oxidativo e regenera a vitamina E, protegendo a parede das artérias; o que garante a manutenção da função endotelial (BARREIROS, DAVID e DAVID, 2006).



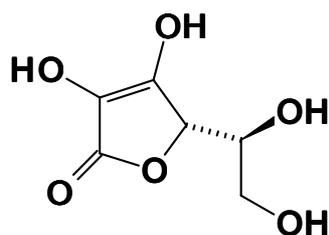
(19)

Dentre os polifenóis, os flavonóides são os compostos que apresentam atividade antioxidante mais potente. Através da formação de radicais fenoxil altamente estáveis (SOBRATTEE *et al.*, 2005), provenientes da reação com ROS/RNS, que podem neutralizar a reação em cadeia provocada por estas espécies reativas. O flavonóide quercetina (**20**), o principal flavonóide, é removedor do radical superóxido ( $O_2^{\cdot-}$ ), oxigênio singlete ( $^1O_2$ ) e peróxidos lipídicos (ROOH). Além disso, inibe a oxidação de LDL e os efeitos citotóxicos da LDL-OX (SALVAGYRE N. e SALVAGYRE R, 1992 *apud* BARTLOUNI, 1997).



(20)

A vitamina C (ácido ascórbico, **21**) é um antioxidante hidrossolúvel, removedor de ROS, que também é capaz de impedir a lipoperoxidação. Além disso, preserva os níveis de vitamina E e  $\beta$ -caroteno durante o estresse oxidativo, devido à ação sinérgica (BARREIROS, DAVID, DAVID, 2006).



(21)

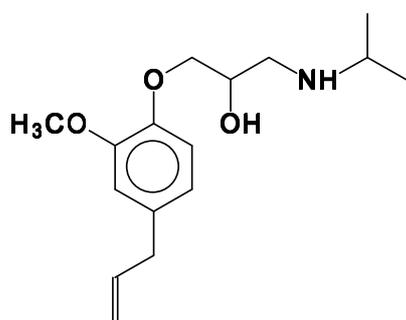
Assim, a associação da atividade antagonista seletiva dos receptores  $\beta_1$  com atividade antioxidante, removedora das ROS e RNS, provê um excelente alvo terapêutico para o tratamento da hipertensão e da aterosclerose.

### **1.6.3 Agentes com Atividade Dual: $\beta$ -Bloqueadora e Antioxidante**

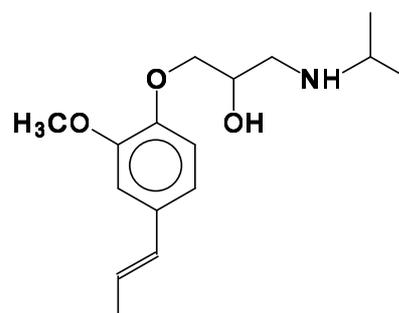
Chen e colaboradores (CHEN *et al.*, 2001) sintetizaram uma série de  $\beta$ -bloqueadores derivados de moléculas com o núcleo vanilóide. Os vários compostos produzidos apresentaram tanto atividade antioxidante quanto antagonista dos adrenoceptores  $\beta$ , ou seja, potenciais agentes terapêuticos para hipertensão e, ao mesmo tempo, profiláticos para patologias associadas aos efeitos nocivos das ROS, como, por exemplo, aterosclerose. Com exceção de **22**, que apresentou a maior potência antagonista entre as moléculas testadas, a maioria dos compostos foi menos potente do que o propranolol (**5**), porém mais potente que o atenolol (**12**). Em particular, **22** e **23** apresentaram cardiosseletividade semelhante ao atenolol (**12**).

A partir dos ensaios de atividade antioxidante, foi observado que os compostos **25**, **26** e **27** são mais potentes do que seus análogos **22**, **23** e **24**, indicando que a presença do grupo guaiacoxil-etilamina confere uma maior ação

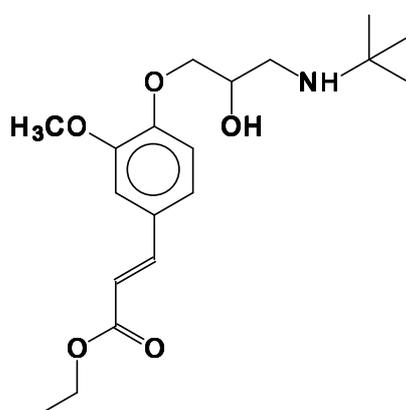
protetora contra a lipoperoxidação, devido à presença de grupos insaturados, prevenindo a disfunção do endotélio vascular.



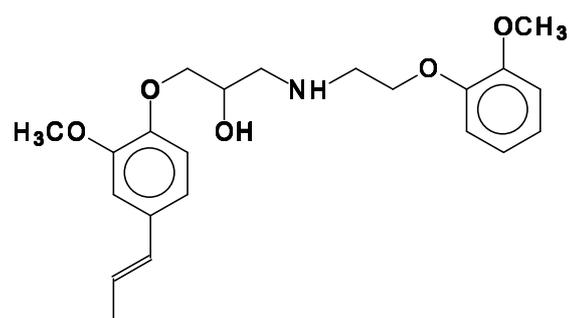
(22)



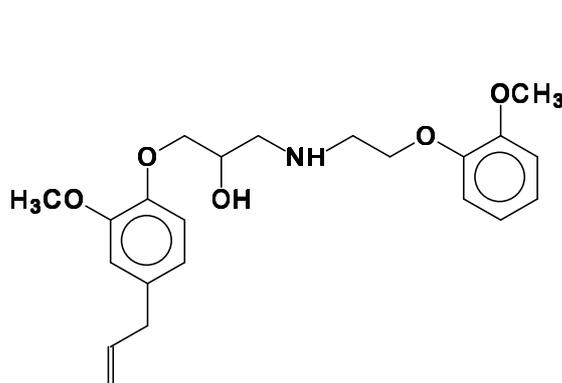
(23)



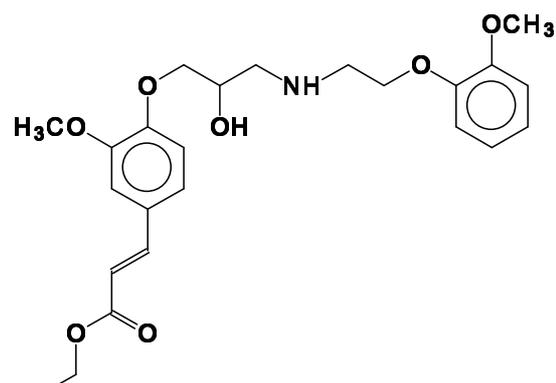
(24)



(25)



(26)



(27)

## 1.7 Correlação Quantitativa entre Estrutura e Atividade Antioxidante

O estudo da atividade antioxidante de derivados fenólicos tem sido alvo de um grande número de trabalhos de QSAR (“quantitative structure-activity relationship”), (LIEN *et al.*, 1999; WRIGHT, JOHNSON e DILABIO, 2001; CHENG *et al.*, 2003; PASHA, SRIVASTAVA e SINGH, 2005; REIS *et al.*, 2007). Muitos autores tentam construir modelos matemáticos que sejam capazes de explicar a variação da atividade antioxidante de compostos fenólicos e, inclusive, de predizê-la dentro e, se possível, fora dos limites investigados, como uma função de diversos parâmetros físico-químicos. Em estudos de QSAR, a atividade biológica corresponde à variável dependente, enquanto que os parâmetros, tais como lipofílico ( $\pi$ ) e eletrônico ( $\sigma$ ), correspondem às variáveis independentes.

O modelo de Hansch-Fujita (HANSCH e FUJITA, 1964; TUTE, 1971; MARTIN, 1978; KUBINYI, 1993; GAUDIO, 1996 *apud* GAUDIO E ZANDONADE, 2001) propõe que a medida quantitativa da atividade biológica de uma série de compostos pode ser correlacionada às suas propriedades físico-químicas e estruturais de acordo com modelos matemáticos lineares (e.g. **Equação 1**) ou quadráticos (e.g. **Equação 2**) (GAUDIO E ZANDONADE, 2001).

$$\text{Log } 1/C = a X_{\text{Lipofílico}} + b X_{\text{Eletrônico}} + c X_{\text{Estérico}} + d X_{\text{Polar}} + e \quad (\text{Eq.1})$$

$$\text{Log } 1/C = -a X_{\text{Lipofílico}}^2 + b X_{\text{Lipofílico}} + c X_{\text{Eletrônico}} + d X_{\text{Estérico}} + e X_{\text{Polar}} + f \quad (\text{Eq.2})$$

Nas **Equações 1 e 2**,  $C$  corresponde à concentração molar mínima de uma substância (e.g. inibidor enzimático, modulador de receptor, etc) capaz de produzir uma determinada resposta biológica (e.g.  $IC_{50}$ , menor concentração capaz de inibir 50% da atividade catalítica de uma enzima;  $LD_{100}$ , menor concentração capaz de matar 100% dos indivíduos testados;  $ED_{50}$ , menor concentração capaz de produzir 50% do efeito máximo); os símbolos " $X_{Propriedade}$ " são variáveis que correspondem às propriedades físico-químicas e estruturais locais (constantes de substituintes) ou globais (propriedades moleculares) da substância analisada e os símbolos " $a-f$ " são coeficientes de ajuste obtidos por análise de regressão linear (GAUDIO e ZANDONADE, 2001).

Embora a **Equação 2** não seja linear, o método de obtenção dos seus coeficientes é o mesmo utilizado para a obtenção dos coeficientes dos modelos lineares (**Equação 1**). O modelo linear é uma combinação linear de variáveis independentes, também denominadas de *variáveis explicativas* ( $X_1, X_2, \dots, X_k$ ), capaz de reproduzir da melhor forma possível os valores experimentais de um grupo de  $n$  observações do fenômeno  $Y$  (**Equação 3**) (GAUDIO e ZANDONADE, 2001).

$$Y = \beta_0 + \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + \dots + \beta_k X_k + \varepsilon \quad (\text{Eq.3})$$

Na **Equação 3**,  $\beta_0$  corresponde à constante de ajuste;  $\beta_1, \beta_2, \dots, \beta_k$  correspondem aos coeficientes das variáveis independentes; e  $\varepsilon$  corresponde ao erro associado ao modelo. Nesta equação, os valores de  $\varepsilon$  são desconhecidos, sendo conhecidos apenas os valores de  $X_1, X_2, \dots, X_k$  e  $Y$  (GAUDIO e ZANDONADE, 2001).

A **Equação 3**, que poderia ser denominada de *verdadeiro modelo de regressão*, é exata no sentido de que se os coeficientes  $\beta$  e o erro  $\varepsilon$  forem conhecidos, o modelo será capaz de reproduzir exatamente o valor observado  $Y$ . No entanto, a determinação exata dos valores de  $\beta$  só pode ser feita se todos os possíveis valores de  $Y$  forem incluídos no modelo, o que em QSAR significaria incluir no modelo todos os compostos com alguma atividade sobre o sistema biológico em estudo, o que na prática é impossível, pois não é possível saber *a priori* quantos compostos, conhecidos e desconhecidos, apresentam atividade sobre um dado sistema (GAUDIO e ZANDONADE, 2001).

Além disso, a determinação do erro  $\varepsilon$  é uma tarefa muito difícil porque os fatores que contribuem para o seu valor são irregulares, tais como possíveis erros aleatórios inerentes ao fenômeno observado, erros experimentais na medida de  $Y$  e  $X$  (apesar dos valores de  $X$  serem supostamente isentos de erro, na prática não o são) e a própria qualidade do ajuste do modelo, como a ausência de variável explicativa importante (GAUDIO e ZANDONADE, 2001). Portanto, na prática, os parâmetros verdadeiros da **Equação 3** permanecerão desconhecidos. Tudo o que se pode fazer é obter uma *estimativa do modelo* por análise de uma amostra do conjunto de todos os objetos (compostos) (GAUDIO e ZANDONADE, 2001).

Apesar do termo correto que designa as **Equações 1-3** ser *modelos estimados*, é usual que essas equações sejam denominadas somente como *modelos*. Assim, em QSAR, modelos ou modelos estimados correspondem apenas às equações de regressão que apresentam relação entre estrutura e atividade em que as regras de proposição de modelos de Unger e Hansch (UNGER e HANSCH, 1973 *apud* GAUDIO e ZANDONADE, 2001) tenham sido observadas. O modelo

estimado é uma equação capaz de fornecer *valores previstos* para  $Y$ , que são geralmente representados por  $\hat{Y}$  (**Equação 4**).

$$\hat{Y} = b_0 + b_1 X_1 + b_2 X_2 + \dots + b_k X_k \quad (\text{Eq.4})$$

Na **Equação 4**,  $b_0, b_1, \dots, b_k$  correspondem aos valores estimados dos parâmetros  $\beta_0, \beta_1, \dots, \beta_k$ , respectivamente. Na construção desta equação, aplica-se o método dos mínimos quadrados (MMQ), que é um processo de busca dos coeficientes que minimizam a soma dos quadrados dos resíduos, visando a obtenção da equação que melhor se ajusta aos dados.

Uma medida da “qualidade do ajuste” da curva  $C$  aos dados apresentados, definindo a “melhor” equação (ou *equação de mínimo quadrado*), é dada pelo somatório dos quadrados dos desvios (também denominados de erros ou resíduos). Assim, a “melhor” equação corresponde àquela cujo conjunto de valores  $b_0, b_1, \dots, b_k$  “minimiza” o valor do somatório dos quadrados dos desvios calculados como as diferenças entre os valores observados,  $Y_i$ , e os respectivos valores previstos,  $\hat{Y}_i$ , ou seja, o somatório  $\sum_{i=1}^n (Y - \hat{Y}_i)^2$  (GAUDIO e ZANDONADE, 2001).

### **1.7.1 Avaliação do Grau de Ajuste**

O grau de ajuste do modelo é medido em termos de sua capacidade de reproduzir o valor observado dos objetos, pelo cálculo do coeficiente de correlação ( $R$ ), do coeficiente de correlação ajustado ( $R_{Ajust}$ ), que permite comparações entre modelos com número diferente de variáveis (número de termos final da equação), e do desvio-padrão ( $s$ ), além da análise dos resíduos ( $Y_i - \hat{Y}_i$ ). O que se espera de um modelo em relação ao grau de ajuste é que ele apresente valor modular de  $R$  o mais

próximo possível de 1, que o valor de  $s$  seja o mais próximo possível de zero e que os resíduos apresentem distribuição normal em torno de zero (GAUDIO e ZANDONADE, 2001).

A avaliação do ajuste do modelo pode ser feita pela análise da variância (ANOVA do inglês *analysis of variance*) que tem como objetivos principais: (a) verificar se há falta de ajuste no modelo (*lack of fit, LOF*); (b) obter estimativa correta para a variância do modelo ( $s^2$ ) e; (c) estimar o grau de ajuste e significância do modelo. A análise da variância ajuda a compreender o significado de alguns dos termos que aparecem numa equação de regressão, como, por exemplo,  $R$ ,  $s$  e  $F$ . A ANOVA é geralmente apresentada em forma de tabela e é construída com base nos valores de  $Y$  (observado),  $\hat{Y}$  (previsto) e  $\bar{Y}$  (média do valor observado) (GAUDIO e ZANDONADE, 2001).

A ANOVA está fundamentada no particionamento da variância de acordo com a **Equação 5**.

$$SS_{Tot} = SS_{Reg} + SS_{Res} \quad (\text{Eq. 5})$$

Na **Equação 5** a abreviação  $SS$  refere-se à soma dos quadrados dos desvios (do inglês *sum of squares*), onde o termo  $SS_{Tot}$  corresponde à variabilidade total,  $SS_{Reg}$  corresponde à variabilidade explicada e  $SS_{Res}$  corresponde à variabilidade que o modelo não consegue explicar e refere-se aos resíduos (GAUDIO e ZANDONADE, 2001).

O quadrado do coeficiente de correlação ( $R^2$ ), dado pela **Equação 6** corresponde à fração da variabilidade total que é explicada pelo modelo (GAUDIO e ZANDONADE, 2001).

$$R^2 = SS_{Reg} / SS_{Tot} \quad (\text{Eq. 6})$$

As **Equações 7 e 9** correspondem, respectivamente, à média da soma dos quadrados da regressão e à média da soma dos quadrados dos resíduos, onde o símbolo  $k$  corresponde ao número de descritores efetivamente incluídos nos modelos de QSAR. O quadrado do desvio-padrão ou estimativa da variância ( $s^2$ ) é definido como a razão entre a variabilidade não explicada ( $SS_{Res}$ ) pelo modelo e o número de graus de liberdade ( $gl$ ) (**Equação 8**) relativo aos resíduos da regressão (**Equação 9**). Assim, quanto maior for a variabilidade dos valores de  $Y$  que o modelo for capaz de explicar (maior  $R^2$ ), menor será o desvio-padrão (GAUDIO e ZANDONADE, 2001).

$$MS_{Reg} = SS_{Reg} / k \quad (\text{Eq. 7})$$

$$gl = n - k - 1 \quad (\text{Eq. 8})$$

$$MS_{Res} = SS_{Res} / gl = s^2 \quad (\text{Eq. 9})$$

O quadrado do coeficiente de correlação ajustado ( $R^2_{Ajust}$ ) é calculado de acordo com a **Equação 10**.

$$R^2_{Ajust} = 1 - \frac{(n-1)}{[n-(k+1)]} (1 - R^2) \quad (\text{Eq. 10})$$

### **1.7.2 Avaliação do Grau de Significância**

O grau de significância é medido pela execução de testes de validação (teste estatístico de hipótese), sendo que cada teste destina-se a verificar a significância de diferentes partes do modelo. Para testar a significância estatística de  $R^2$ , aplica-se um teste de hipótese conhecido como teste  $F$ . O teste  $F$  verifica o quanto da variabilidade de  $Y$  pode ser explicada pelas variáveis  $X_1, X_2, \dots, X_k$ , e o quanto pode ser atribuída ao efeito do erro aleatório  $\varepsilon$ . Para validar  $R^2$  pelo teste  $F$ , é preciso comparar o valor de  $F$  obtido no modelo com o valor de referência. Este, em geral, se refere ao nível de confiança de 95% e pode ser obtido em tabelas encontradas em livros didáticos (TRIOLA, 1999).

## 2 OBJETIVOS

O planejamento de ariloxipropanolaminas com potencial atividade dual, antioxidante e antagonista seletivo do  $\beta_1$ -adrenoceptor.

A construção de um modelo de correlação quantitativa entre estrutura e atividade antioxidante de derivados fenólicos, que seja capaz de prever a atividade antioxidante dos potenciais agentes terapêuticos planejados em nosso trabalho.

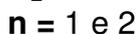
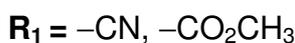
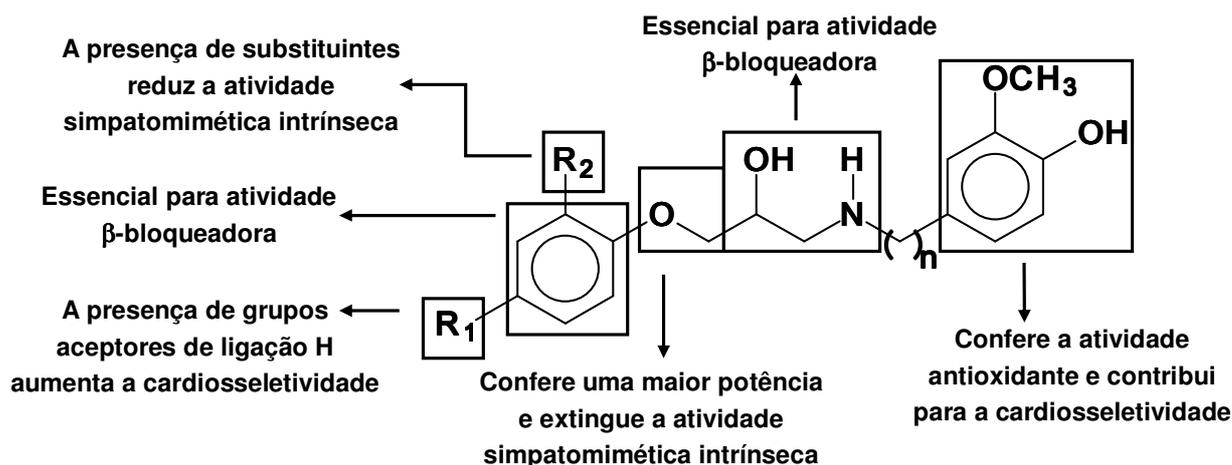
A síntese das ariloxipropanolaminas planejadas neste trabalho, a partir de substratos de baixo custo, como: 4-hidróxi-3-metóxi- benzaldeído (vanilina), 4-hidróxi-benzaldeído e 4-hidróxi-benzoato de metila (nipagin)

### 3 METODOLOGIA

#### 3.1 Planejamento de Ariloxipropanolaminas com Potencial Atividade Dual:

##### Antioxidante e Anti-Hipertensiva

O planejamento molecular das ariloxipropanolaminas com potencial atividade dual (**Esquema 1**), presentes em nosso trabalho, foi baseado nos estudos de correlação estrutura-atividade de antagonistas do  $\beta_1$ -adrenoceptor, assim como nos agentes antioxidantes descritos na literatura (veja o item 1.6).



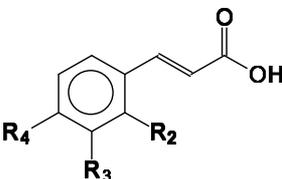
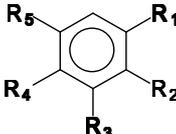
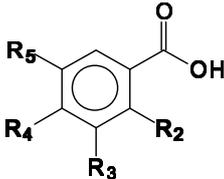
**Esquema 1.** Características estruturais das ariloxipropanolaminas com potencial atividade dual

#### 3.2 Derivados Fenólicos com Atividade Antioxidante

Para o estudo de QSAR, selecionamos 15 derivados fenólicos, avaliados por Cheng e colaboradores (CHENG *et al.*, 2003) como antioxidantes em um sistema de

micelas de ácido linolênico que mimetiza a lipoperoxidação de membranas biológicas. Na **Tabela 1** são apresentadas as estruturas químicas destes derivados fenólicos, que podem ser divididos em três classes: (i) ácidos cinâmicos (**28-31**); (ii) fenóis (**32-37**); e (iii) ácidos benzóicos (**38-42**).

**Tabela 1.** Estrutura química dos 15 derivados fenólicos (CHENG *et al.*, 2003) utilizados no estudo de QSAR.

Estrutura geral	#	Nomenclatura	Substituinte R
	<b>28</b>	Ácido <i>o</i> -cumárico <sup>a</sup>	R <sub>2</sub> = OH, R <sub>3</sub> = R <sub>4</sub> = H
	<b>29</b>	Ácido <i>p</i> -cumárico <sup>b</sup>	R <sub>2</sub> = R <sub>3</sub> = H, R <sub>4</sub> = OH
	<b>30</b>	Ácido ferúlico <sup>c</sup>	R <sub>2</sub> = H, R <sub>3</sub> = OCH <sub>3</sub> , R <sub>4</sub> = OH
	<b>31</b>	Ácido cafeico <sup>d</sup>	R <sub>2</sub> = H, R <sub>3</sub> = R <sub>4</sub> = OH
	<b>32</b>	Catecol <sup>e</sup>	R <sub>1</sub> = R <sub>2</sub> = OH, R <sub>3</sub> = R <sub>4</sub> = R <sub>5</sub> = H
	<b>33</b>	Pirogalol <sup>f</sup>	R <sub>1</sub> = R <sub>2</sub> = R <sub>3</sub> = OH, R <sub>4</sub> = R <sub>5</sub> = H
	<b>34</b>	Floroglucinol <sup>g</sup>	R <sub>1</sub> = R <sub>3</sub> = R <sub>5</sub> = OH, R <sub>2</sub> = R <sub>4</sub> = H
	<b>35</b>	Resorcinol <sup>h</sup>	R <sub>1</sub> = R <sub>3</sub> = OH, R <sub>2</sub> = R <sub>4</sub> = R <sub>5</sub> = H
	<b>36</b>	Hidroquinona <sup>i</sup>	R <sub>1</sub> = R <sub>4</sub> = OH, R <sub>2</sub> = R <sub>3</sub> = R <sub>5</sub> = H
	<b>37</b>	<i>p</i> -Amino-fenol	R <sub>1</sub> = OH, R <sub>2</sub> = R <sub>3</sub> = R <sub>5</sub> = H, R <sub>4</sub> = NH <sub>2</sub>
	<b>38</b>	Ácido protocatecuico <sup>j</sup>	R <sub>2</sub> = R <sub>5</sub> = H, R <sub>3</sub> = R <sub>4</sub> = OH
	<b>39</b>	Ácido gálico <sup>l</sup>	R <sub>2</sub> = H, R <sub>3</sub> = R <sub>4</sub> = R <sub>5</sub> = OH
	<b>40</b>	Ácido salicílico <sup>m</sup>	R <sub>2</sub> = OH, R <sub>3</sub> = R <sub>4</sub> = R <sub>5</sub> = H
	<b>41</b>	Ácido <i>m</i> -hidróxi-benzóico	R <sub>3</sub> = OH, R <sub>2</sub> = R <sub>4</sub> = R <sub>5</sub> = H
	<b>42</b>	Ácido <i>p</i> -hidróxi-benzóico	R <sub>4</sub> = OH, R <sub>2</sub> = R <sub>3</sub> = R <sub>5</sub> = OH

a) ácido (*E*)-3-(2-hidróxi-fenil)-2-propenóico; b) ácido (*E*)-3-(4-hidróxi-fenil)-2-propenóico; c) ácido (*E*)-3-(4-hidróxi-3-metóxi-fenil)-2-propenóico; d) ácido (*E*)-3-(3,4-diidróxi-fenil)-2-propenóico; e) 1,2-diidróxi-benzeno (pirocatecol); f) 1,2,3-triidróxi-benzeno; g) 1,3,5-triidróxi-benzeno; h) 1,3-diidróxi-benzeno; i) 1,4-diidróxi-benzeno; j) ácido 3,4-diidróxi-benzóico; l) ácido 3,4,5-triidróxi-benzóico; m) ácido 2-hidróxi-benzóico.

### **3.3 Espécies Calculadas**

#### **3.3.1 Derivados Fenólicos Neutros**

As estruturas tridimensionais dos 15 derivados fenólicos (ArOH) foram construídas no programa Spartan'06 (Wavefunction, Inc.) e as geometrias foram otimizadas por mecânica molecular, usando o campo de força MMFF94 (HALGREN, 1996) disponível neste programa. Cada estrutura foi simulada isoladamente, *i.e.* no vácuo, e sem qualquer restrição geométrica.

Deve ser ressaltado que o cálculo no vácuo é justificado pelo fato de que no sistema de ácido linolênico, ou seja, um meio predominantemente apolar, as conformações de menor energia são as que se estabilizam pela formação de interações intramoleculares (CHENG *et al.* 2003), o que também acontece no vácuo.

Em seguida, as estruturas foram submetidas à análise conformacional sistemática, em função dos ângulos de torção ( $\phi$ ) relevantes, usando o mesmo campo de força. Usou-se a opção padrão (*default*) do programa Spartan'06 no que se refere aos ângulos de torção a serem percorridos, incrementos (em graus) a serem usados na varredura, número máximo de conformações (100) e valor máximo de energia em relação à conformação de menor energia (10 kcal/mol). Estes dois últimos parâmetros foram usados como critérios de corte para limitar o número total de conformações.

Após a análise conformacional, cada uma das conformações geradas foi otimizada por mecânica quântica utilizando o método semi-empírico PM3 (STEWART, 1989) no programa Spartan'06. Em seguida, o conformero de menor

energia foi novamente otimizado pelo método da Teoria do Funcional de Densidade (DFT) (JONES e GUNARSSON, 1989; PARR e YANG, 1989; e LABANOWSKI e ANDZELM, 1991 *apud* WARREN, 1998) empregando o funcional híbrido B3LYP e conjunto de bases 6-311++G\*\* no programa Gaussian 03 (Gaussian, Inc.).

### **3.3.2 Radicais Livres**

Cada radical livre foi gerado a partir da abstração de hidrogênio radicalar (H $\cdot$ ) do grupo hidroxila fenólico, da estrutura otimizada por DFT, de cada derivado fenólico. Na **Tabela 2** são apresentados o número total e a posição dos radicais livres gerados a partir dos 15 derivados fenólicos. A espécie radical livre resultante (ArO $\cdot$ ), com multiplicidade igual a dois (dublete, *i.e.*, um elétron desemparelhado) e carga total igual a zero, foi otimizada por DFT no nível de teoria (RO)B3LYP/6-311++G\*\*.

**Tabela 2.** Posição da hidroxila fenólica que gerou cada radical livre a partir de cada um dos 15 derivados fenólicos.

#	Derivado fenólico	Posição do radical	Nº total de radicais
<b>28</b>	Ácido <i>o</i> -cumárico	R <sub>2</sub>	1
<b>29</b>	Ácido <i>p</i> -cumárico	R <sub>4</sub>	1
<b>30</b>	Ácido ferúlico	R <sub>4</sub>	1
<b>31</b>	Ácido cafeico	R <sub>3</sub> e R <sub>4</sub>	2
<b>32</b>	Catecol	R <sub>1</sub> e R <sub>2</sub>	2
<b>33</b>	Pirogalol	R <sub>1</sub> e R <sub>2</sub> e R <sub>3</sub>	3
<b>34</b>	Floroglucinol	R <sub>1</sub>	1
<b>35</b>	Resorcinol	R <sub>1</sub> e R <sub>3</sub>	2
<b>36</b>	Hidroquinona	R <sub>1</sub>	1
<b>37</b>	<i>p</i> -Amino-fenol	R <sub>1</sub>	1
<b>38</b>	Ácido protocatecuico	R <sub>3</sub> e R <sub>4</sub>	2
<b>39</b>	Ácido gálico	R <sub>3</sub> e R <sub>4</sub> e R <sub>5</sub>	3
<b>40</b>	Ácido salicílico	R <sub>2</sub>	1
<b>41</b>	Ácido <i>m</i> -hidróxi-benzóico	R <sub>3</sub>	1
<b>42</b>	Ácido <i>p</i> -hidróxi-benzóico	R <sub>4</sub>	1

### 3.3.3 Cátions-Radicais

Cada cátion-radical foi gerado a partir da abstração de um elétron da estrutura otimizada por DFT de cada derivado fenólico. A espécie cátion-radical resultante (ArOH<sup>+</sup>), com multiplicidade igual a dois e carga total igual a +1, foi otimizada por DFT no nível de teoria (RO)B3LYP/6-311++G\*\*.

### 3.3.4 Ânions-Radicais

Cada ânion-radical foi gerado a partir da adição de um elétron na estrutura otimizada por DFT de cada derivado fenólico. A espécie ânion-radical resultante ( $\text{ArOH}^{\cdot-}$ ), com multiplicidade igual a dois e carga total igual a  $-1$ , foi otimizada por DFT no nível de teoria (RO)B3LYP/6-311++G\*\*.

## 3.4 Parâmetros Calculados

### 3.4.1 Entalpia de Dissociação Homolítica da Ligação O–H (EDL-OH)

Como os métodos de DFT tendem a superestimar a energia total para o átomo de hidrogênio ( $\text{H}^{\cdot}$ ) (JURSIC, 1997), a energia necessária para a dissociação homolítica da ligação O–H (EDL-OH) dos derivados fenólicos ( $\text{ArOH}$ ) foi calculada de acordo com a **Equação 11**.

$$\text{EDL-OH} = [\Delta H_f(\text{PhOH}) + \Delta H_f(\text{ArO}^{\cdot})] - [\Delta H_f(\text{PhO}^{\cdot}) + \Delta H_f(\text{ArOH})] + \text{EDL-OH}_{\text{Exp}}(\text{PhOH}) \quad \text{Eq. 11}$$

Na **Equação 11**,  $\Delta H_f(\text{PhOH})$  corresponde ao valor calculado da entalpia de formação do fenol ( $\text{C}_6\text{H}_5\text{OH}$ );  $\Delta H_f(\text{ArO}^{\cdot})$ , ao valor calculado da entalpia de formação do radical livre mais estável do derivado fenólico;  $\Delta H_f(\text{PhO}^{\cdot})$ , ao valor calculado da entalpia de formação do radical livre do fenol;  $\Delta H_f(\text{ArOH})$ , ao valor calculado da entalpia de formação do derivado fenólico; e, finalmente,  $\text{EDL-OH}_{\text{Exp}}(\text{PhOH})$

corresponde ao valor experimental da entalpia de formação do fenol, que é igual a 86,5 kcal/mol (CHANDRA e UCHIMARU, 2002).

### 3.4.2 Potencial de Ionização (PI)

A energia necessária para abstrair um elétron dos derivados fenólicos (ArOH), *i.e.* energia ou potencial de ionização (PI), foi calculada de acordo com a **Equação 12**.

$$PI = \Delta H_f(\text{ArOH}^{\bullet+}) - \Delta H_f(\text{ArOH}) \quad \text{Eq. 12}$$

Na **Equação 12**,  $\Delta H_f(\text{ArOH}^{\bullet+})$  corresponde ao valor calculado da entalpia de formação do cátion-radical do derivado fenólico e  $\Delta H_f(\text{ArOH})$ , ao valor calculado da entalpia de formação do derivado fenólico.

### 3.4.3 Afinidade Eletrônica (AE)

A energia liberada com o ganho de um elétron pelos derivados fenólicos (ArOH), ou afinidade eletrônica (AE), foi calculada de acordo com a **Equação 13**.

$$AE = \Delta H_f(\text{ArOH}^{\bullet-}) - \Delta H_f(\text{ArOH}) \quad \text{Eq. 13}$$

Na **Equação 13**,  $\Delta H_f(\text{ArOH}^{\cdot-})$  corresponde ao valor calculado da entalpia de formação do ânion-radical do derivado fenólico e  $\Delta H_f(\text{ArOH})$ , ao valor calculado da entalpia de formação do derivado fenólico.

#### **3.4.4 Densidade de Spin (DS)**

A distribuição da densidade de spin (*i.e.* a densidade eletrônica de uma espécie com elétron desemparelhado) no átomo de oxigênio (do grupo hidroxila fenólico) que sofreu a quebra homolítica da ligação O–H foi obtida a partir do nível de teoria (RO)B3LYP/6-311++G\*\*.

#### **3.4.5 Lipofilicidade (LogP)**

A lipofilicidade de um composto pode ser estimada pelo cálculo do coeficiente de partição (LogP). Assim, o LogP de cada derivado fenólico (ArOH), *i.e.* a razão de distribuição do composto neutro entre a fase orgânica (1-octanol) e a fase aquosa ( $P = [\text{ArOH}]_{\text{octanol}} / [\text{ArOH}]_{\text{água}}$ ), foi calculado com o auxílio do programa ACD/LogP 9.5 (ACD/Labs, Inc.). O algoritmo de predição deste programa usa a expressão  $\text{Log}P = \sum f_n + \sum F_m$ , onde “f” corresponde a incrementos atômicos ou fragmentais e “F” corresponde a fatores de correção, para estimar o valor de LogP.

#### **3.4.6 Lipofilicidade Relativa (LogD) ou Coeficiente de Distribuição**

Assim como o parâmetro LogP, o cálculo do LogD ( $D = \sum [\text{microespécies}]_{\text{octanol}} / \sum [\text{microespécies}]_{\text{água}}$ ) para cada derivado fenólico foi realizado com o auxílio do

programa ACD/Log $P$  9.5 (ACD/Labs, Inc.) considerando o valor do pH fisiológico (pH 7,4). O algoritmo de predição deste programa usa a expressão  $\text{Log}D(\text{pH}) = f(\text{Log}P, \text{p}K_a)$  para estimar o valor de  $\text{Log}D$ .

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 Parâmetros Físico-Químicos Calculados por DFT

A **Tabela 3** apresenta os valores de entalpia de dissociação homolítica da ligação OH (EDL-OH), potencial de ionização (PI), afinidade eletrônica (AE) e densidade de spin (DS), calculados por DFT (B3LYP/6-311++G\*\*), para os 15 derivados fenólicos com atividade antioxidante estudados por Cheng e colaboradores (CHENG *et al.*, 2003).

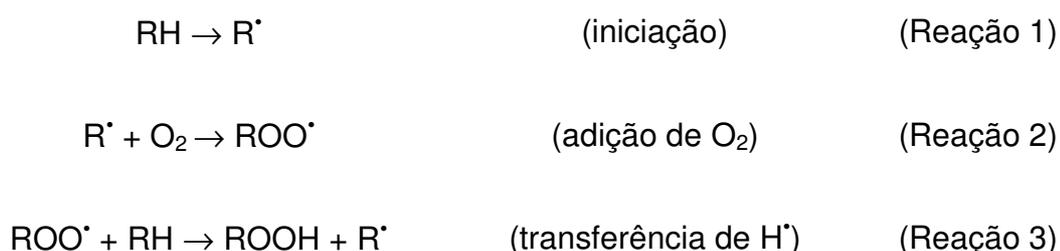
**Tabela 3.** Valores de EDL-OH (kcal/mol), PI (kcal/mol), AE (kcal/mol) e DS (elétrons) calculados por DFT (B3LYP/6-311++G\*\*) para os 15 derivados fenólicos.

#	Derivado fenólico	EDL-OH <sup>a</sup>	PI <sup>b</sup>	AE <sup>c</sup>	DS <sup>d</sup>
<u>28</u>	Ácido <i>o</i> -cumárico	84,4	188,8	-15,1	0,2441
<u>29</u>	Ácido <i>p</i> -cumárico	84,9	184,9	-15,6	0,2162
<u>30</u>	Ácido ferúlico	84,5	177,6	-16,0	0,1909
<u>31</u>	Ácido cafeico	74,9	181,6	-16,3	0,2013
<u>32</u>	Catecol	76,4	184,5	8,7	0,2615
<u>33</u>	Pirogalol	77,7	183,2	6,9	0,2792
<u>34</u>	Floroglucinol	87,7	188,2	8,8	0,2744
<u>35</u>	Resorcinol	86,1	186,9	9,4	0,2879
<u>36</u>	Hidroquinona	80,6	178,4	24,0	0,2895
<u>37</u>	<i>p</i> -Amino-fenol	76,8	163,2	11,3	0,2602
<u>38</u>	Ácido protocatecuico	79,6	228,2	-1,4	0,2444
<u>39</u>	Ácido gálico	79,8	228,6	-2,0	0,2503
<u>40</u>	Ácido salicílico	93,0	196,6	-7,8	0,2886
<u>41</u>	Ácido <i>m</i> -hidróxi-benzóico	88,9	199,0	-6,4	0,3412
<u>42</u>	Ácido <i>p</i> -hidróxi-benzóico	89,2	200,3	0,3	0,2929

a) EDL-OH (entalpia de dissociação homolítica da ligação OH) (EDL-OH experimental do fenol em fase gasosa = 86,5 kcal/mol); b) PI (potencial de ionização) (PI calculado para o fenol = 193,2 kcal/mol); c) AE (afinidade eletrônica); d) DS (densidade de spin).

#### 4.1.1 Entalpia de Dissociação Homolítica da Ligação O-H (EDL-OH)

No sistema de micelas de ácido linolênico, o processo de lipoperoxidação é iniciado pela adição de  $\text{Fe}^{3+}$ -ADP e ácido ascórbico. Neste ensaio, Bondet e colaboradores (BONDET, CUVELIER e BERSET, 2000 *apud* CHENG *et al.*, 2003) relatam que a etapa de iniciação (Reação 1, **Esquema 2**) é muito rápida para ser impedida e que, portanto, a ação do antioxidante se deve, exclusivamente, pela neutralização dos radicais livres formados no processo de reação em cadeia (Reações 2 e 3, **Esquema 2**). Na Reação 1 ocorre a abstração de hidrogênio radicalar ( $\text{H}^\bullet$ ), gerando o radical livre  $\text{R}^\bullet$ . Em seguida, ocorre o processo de reação em cadeia, onde a Reação 2 é mais rápida ( $10^9 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ ) do que a Reação 3 ( $10^1 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ ) (WRIGHT, JOHNSON e DILABIO, 2001). Com o início deste ciclo, muitos lipídeos (R-H) são convertidos em seus respectivos hidroperóxidos (ROOH) que, mais uma vez, sustentam as reações em cadeia.



#### **Esquema 2.** Etapas do processo de peroxidação lipídica.

Para ser efetivo, um antioxidante (*e.g.* ArOH) deve formar um radical livre estável, ou seja, deve reagir lentamente com RH (substrato lipídico) e rapidamente com radicais livres, como, por exemplo, os radicais peroxila ( $\text{RO}_2^\bullet$ ), hidroxila ( $\text{HO}^\bullet$ ),

hidroperoxila ( $\text{HOO}^\bullet$ ) e superóxido ( $\text{O}_2^{\bullet-}$ ) que são encontrados em sistemas biológicos (FERREIRA e MATSUBARA, 1997).

A velocidade de reação, tanto de RH quanto de ArOH com um determinado radical livre, depende da altura da barreira de energia da transferência do átomo de hidrogênio de ambos os substratos (RH e ArOH). Assim, quanto menor for a barreira de energia da reação entre um radical livre e ArOH, mais rápida será a ação deste antioxidante na prevenção da lipoperoxidação. A partir disso, fica claro que a entalpia de dissociação homolítica da ligação O-H (EDL-OH) dos derivados fenólicos é um importante parâmetro na determinação da eficácia de um antioxidante, visto que quanto mais fraca for a ligação O-H, mais rápida será a reação de “neutralização” do radical livre.

A estimativa precisa da EDL-OH a partir de estudos teóricos é um grande desafio, visto que são necessários cálculos em níveis elevados de teoria para estimar ambas as partes, dinâmica e não dinâmica, da correlação eletrônica (CHANDRA e UCHIMARU, 2002). Desta forma, cálculos *ab initio* são impraticáveis para sistemas com um grande número de átomos, como, por exemplo, compostos fenólicos que possuem em sua estrutura substituintes grandes.

Cheng e colaboradores (CHENG *et al.*, 2003) avaliaram o uso do método semi-empírico AM1 no cálculo da EDL-OH dos 15 derivados fenólicos presentes em nosso trabalho. No entanto, os valores determinados por este método não apresentam qualquer correlação com os valores experimentais em fase gasosa de EDL-OH descritos por Bordwell e Cheng (BORDWELL e CHENG, 1991). Em adição, Brinck e colaboradores (BRINCK, HAEBERLIEN e JONSSON, 1997) relataram que os métodos MP2 e MP4 superestimam o valor de EDL-OH de fenóis.

No entanto, Chandra e Uchimarú (CHANDRA e UCHIMARU, 2002) relataram que o uso da teoria do funcional de densidade (DFT), no cálculo da EDL-OH de compostos fenólicos, reproduz com precisão os valores experimentais obtidos em fase gasosa. Este estudo foi conduzido pelo uso de dois conjuntos de bases, 6-311G(d,p) e 6-311++G(2df,2p), onde o método B3LYP foi utilizado no cálculo dos derivados fenólicos neutros no estado fundamental e o (RO)B3LYP para as espécies fenólicas (neutras ou carregadas) com um elétron desemparelhado. Além disso, Klein e Lukes (KLEIN e LUKES, 2006) avaliaram a utilização dos métodos MP2, MP3, MP4, HF, CCSD(T) e B3LYP (DFT), assim como o uso das bases 6-31G\*, 6-311G\*\*, 6-311++G\*\*, 6-311++G(2d,2p) e 6-311++G(3d,3p), no cálculo de EDL-OH de 37 compostos fenólicos substituídos na posição *orto*, *meta* ou *para*. De acordo com os resultados obtidos pelos autores, o nível de teoria B3LYP/6-311++G\*\* forneceu valores de EDL-OH em excelente acordo com os dados experimentais, enquanto os outros métodos aplicados neste mesmo estudo não o fizeram.

Como pode ser observado na **Tabela 3** e no **Gráfico 2**, o emprego do nível de teoria B3LYP/6-311++G\*\*, assim como descrito pelo trabalho de Klein e Lukes (KLEIN e LUKES, 2006), forneceu valores de EDL-OH em excelente acordo com os valores experimentais em fase gasosa (BORDWELL e CHENG, 1991) para os derivados resorcinol (**35**) ( $\text{EDL-OH}_{\text{Exp}} = 86,7 \text{ kcal/mol}$ ), hidroquinona (**36**) ( $\text{EDL-OH}_{\text{Exp}} = 81,5 \text{ kcal/mol}$ ) e *p*-amino-fenol (**37**) ( $\text{EDL-OH}_{\text{Exp}} = 77,3 \text{ kcal/mol}$ ). Para os demais derivados fenólicos, os valores experimentais de EDL-OH não estão disponíveis para serem comparados.

Apesar dos valores experimentais de EDL-OH não estarem disponíveis para todos os derivados, encontramos uma uniformidade de valores de EDL-OH calculados para a classe dos ácidos cinâmicos (**28-31**) (**Tabela 3** e **Gráfico 2**), com

exceção de **31** (74,9 kcal/mol). Para **28** ( $\text{EDL-OH}_{\text{Calc}} = 84,4$  kcal/mol), **29** ( $\text{EDL-OH}_{\text{Calc}} = 84,9$  kcal/mol) e **30** ( $\text{EDL-OH}_{\text{Calc}} = 84,5$  kcal/mol), a posição relativa do substituinte  $-\text{OH}$  em relação ao grupo  $-\text{CH}=\text{CHCO}_2\text{H}$ , **28** (*orto*) e **29** (*para*), assim como a presença adicional do grupo  $-\text{OCH}_3$  na posição *meta* (**30**), não provocou diferenças significativas entre os valores de EDL-OH calculados. No entanto, a presença simultânea do grupo  $-\text{OH}$  nas posições *orto* e *para* reduziu em cerca de 10 kcal/mol o valor de EDL-OH calculado para o derivado **31**. Este fato se deve, provavelmente, a capacidade do grupo  $-\text{OH}$  em interagir por ligação hidrogênio intramolecular com o átomo de oxigênio do radical fenoxila formado (ARDOUDI *et al.*, 2006). Esta interação possibilita uma efetiva estabilização do radical, diminuindo, conseqüentemente, o valor calculado de EDL-OH.

Comparando os fenóis dihidroxilados **32** (catecol, *orto*), **35** (resolcinol, *meta*) e **36** (hidroquinona, *para*), podemos observar que a presença do substituinte  $-\text{OH}$  (doador de elétrons) na posição *orto* reduz a EDL-OH em relação aos isômeros *meta* e *para*. Assim como descrito anteriormente, este fato se deve à possibilidade de formação de uma ligação hidrogênio intramolecular, o que não é possível para **35** e **36**.

Adicionalmente, percebemos que existe uma considerável diferença de energia ( $\Delta\text{EDL-OH} = 5,5$  kcal/mol) entre **35** e **36**, que pode estar relacionada aos efeitos eletrônicos opostos, em função das diferentes posições relativas ocupadas pelo grupo  $-\text{OH}$ . Enquanto que na posição *para*, o grupo  $-\text{OH}$  atua como doador de elétrons ( $\sigma_p = -0,37$ ), estabilizando o radical formado, na posição *meta*, este mesmo grupo atua como aceptor de elétrons ( $\sigma_m = 0,12$ ), apresentando, portanto, efeito desestabilizador.

Um fato que corrobora com esta explicação é o valor de EDL-OH calculado para o *p*-amino-fenol (**37**), que é inferior ( $\Delta\text{EDL-OH} = 3,8$  kcal/mol) ao calculado para **36**. Em analogia ao derivado **36**, o composto **37** também apresenta um grupo doador de elétrons na posição *para*, no caso, o grupo  $-\text{NH}_2$ , que é um melhor doador de elétrons ( $\sigma_p = -0,66$ ) do que o grupo  $-\text{OH}$ .

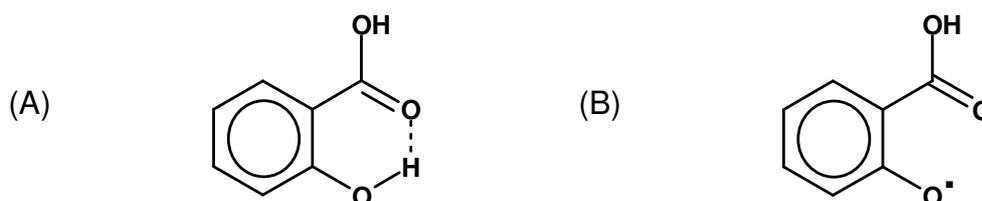
Comparando os derivados fenólicos dihidroxilados (**32** e **35**) com os trihidroxilados (**33** e **34**), vemos que as pequenas diferenças de EDL-OH encontradas entre **32** e **33** ( $\Delta\text{EDL-OH} = 1,3$  kcal/mol), assim como entre **34** e **35** ( $\Delta\text{EDL-OH} = 1,6$  kcal/mol), indicam que a quantidade de hidroxilas fenólicas não é um fator determinante para a diminuição da EDL-OH. No entanto, quando comparamos **33** e **34**, encontramos uma diferença de EDL-OH de 10 kcal/mol, que pode ser justificada da mesma maneira que a diferença encontrada entre **32** e **35**, discutida anteriormente.

A presença do grupo carboxila ( $-\text{COOH}$ ) nos fenóis, considerando os derivados hidroxilados dos ácidos cinâmico (**28-31**) e benzóico (**38-42**), excluindo, porém, os que apresentam o padrão de substituição *orto* entre dois grupos  $-\text{OH}$  (*i.e.*, **31**, **39** e **40**), provoca, em geral, uma desestabilização do radical formado pela abstração homolítica de  $\text{H}^\bullet$ . Este efeito é mais pronunciado quando o grupo carboxila está ligado diretamente ao anel aromático, como é o caso dos ácidos *orto*- (**40**), *meta*- (**41**) e *para*-hidróxi-benzóicos (**42**), como pode ser observado por seus valores elevados de EDL-OH, quando comparados com os valores de EDL-OH dos derivados dos ácidos cinâmicos. Neste último caso, o grupo carboxila, apesar de estar conjugado ao anel aromático, não está diretamente ligado a ele, o que diminui

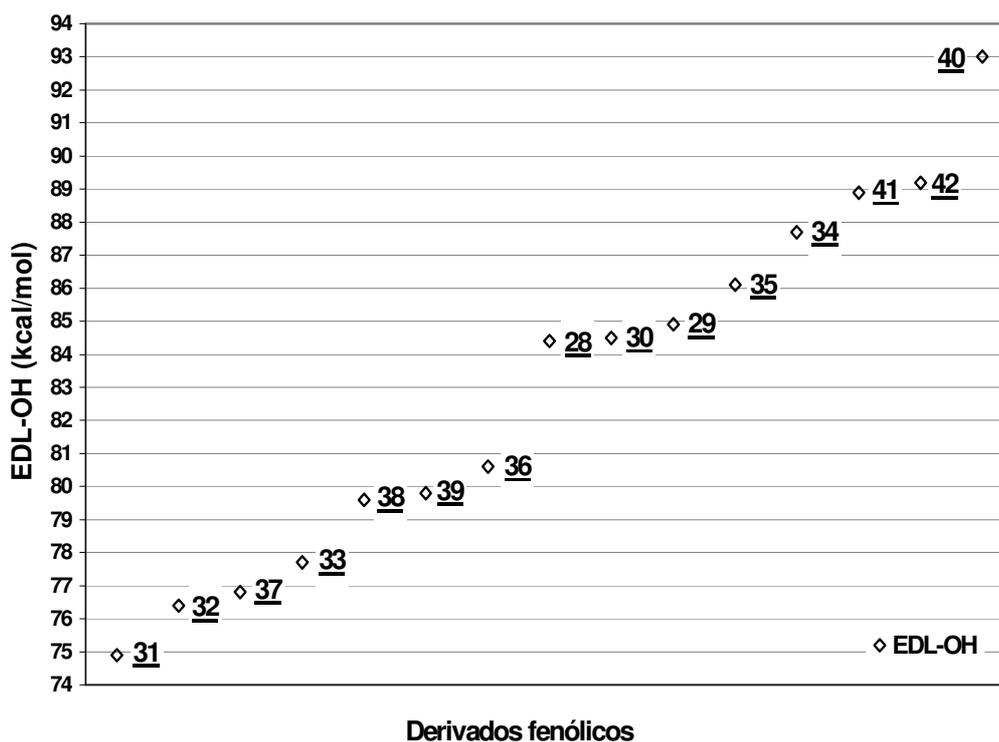
a intensidade do efeito indutivo proporcionada por este substituinte acceptor de elétrons.

Adicionalmente, apesar das diferentes posições relativas entre os grupos  $-\text{COOH}$  e  $-\text{OH}$  em **41** e **42** (*meta* e *para*, respectivamente), os valores de EDL-OH calculados para estes dois compostos são muito próximos ( $\Delta\text{EDL-OH} = 0,3$  kcal/mol), reforçando que o efeito eletrônico que deve estar operando é o efeito indutivo.

Por outro lado, o isômero *orto*, composto **40** (ácido salicílico), apresenta o maior valor de EDL-OH calculado. Este acréscimo de energia pode estar correlacionado com a maior estabilidade do estado inicial, *i.e.* antes da abstração de  $\text{H}^\bullet$ , devido a formação de ligação hidrogênio intramolecular, o que não acontece com seu respectivo radical (**Figura 9**). Desta forma, há uma maior diferença de energia entre o estado inicial de **40** e o respectivo radical formado pela abstração de  $\text{H}^\bullet$ , aumentando, conseqüentemente, o valor de EDL-OH calculado.



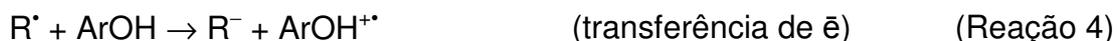
**Figura 9.** (A) Ligação hidrogênio intramolecular formada no ácido salicílico (**40**); (B) radical fenoxila formado a partir do ácido salicílico.



**Gráfico 2.** Derivados fenólicos em ordem crescente dos valores de EDL-OH.

#### 4.1.2 Potencial de Ionização (PI)

Além dos mecanismos de ação antioxidante já discutidos referentes às Reações 1-3 no **Esquema 2**, um outro possível mecanismo pelo qual um antioxidante pode neutralizar um radical livre é pela transferência de elétrons, como é ilustrado pela Reação 4 no **Esquema 3**. Neste processo, o antioxidante (*e.g.* ArOH) doa um elétron para o radical livre ( $R^{\cdot}$ ), gerando um cátion-radical ( $ArOH^{+\cdot}$ ). Neste caso, o cátion-radical deve ser estável o suficiente para não reagir com o substrato lipídico e, desta forma, interromper a propagação do ciclo oxidativo em cadeia.



**Esquema 3.** Mecanismo de ação antioxidante por transferência de elétrons.

Muitos dos trabalhos disponíveis na literatura correlacionam a capacidade antioxidante de um determinado composto com a sua energia de ionização, ou potencial de ionização (PI) (WRIGHT, JOHNSON e DILABIO, 2001; CHENG *et al.*, 2003; LEOPOLDINI *et al.*, 2004; KLEIN *et al.*, 2006; KLEIN e LUKES, 2006). O PI é definido como a energia mínima necessária para abstração de um único elétron de um átomo ou molécula em fase gasosa. Desta forma, valores baixos de PI favorecem a reatividade, frente a um processo de transferência de elétrons de uma molécula.

O cálculo do PI de compostos fenólicos, utilizando a teoria do funcional de densidade (DFT), foi descrito por alguns pesquisadores em estudos teóricos disponíveis na literatura. Por exemplo, Wright, Johnson e DiLabio (WRIGHT, JOHNSON E DILABIO, 2001), utilizando o nível de teoria (U)B3LYP/311+G(2d,2p), calcularam o PI para o *p*-amino-fenol (**37**), encontrando valor igual a 163,0 kcal/mol, de acordo com o nosso resultado, apresentado na **Tabela 3**, para este composto (PI = 163,2 kcal/mol).

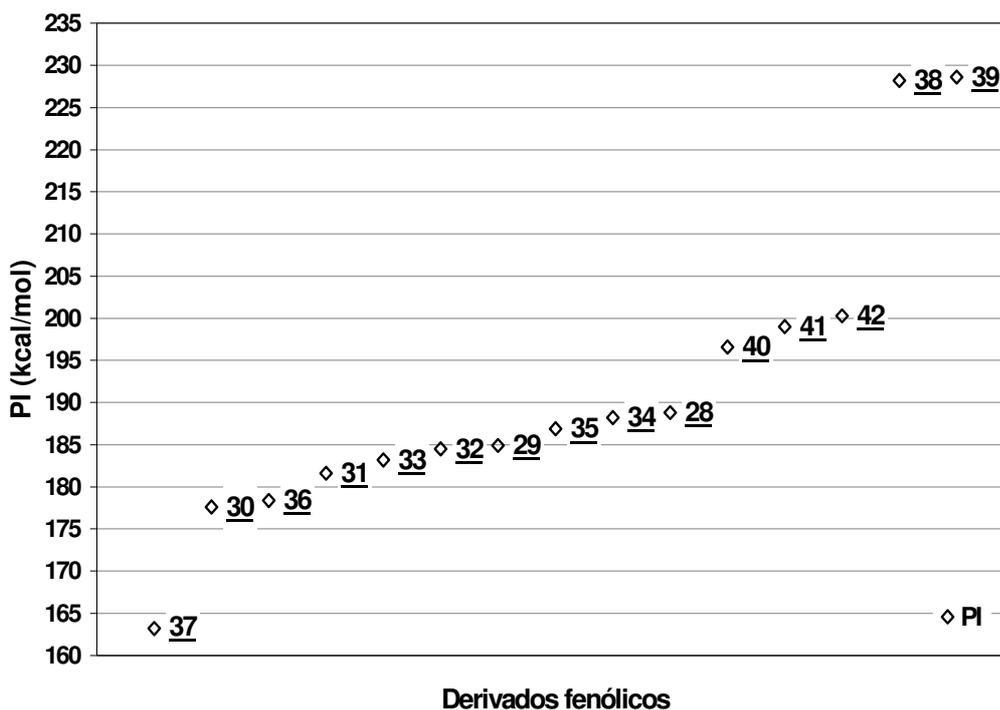
Chen e colaboradores (CHEN *et al.*, 2006) estimaram valores teóricos de PI, usando o nível de teoria (RO)B3LYP/6-311+G(2d,2p), para outros fenóis também presentes em nosso estudo. Os valores de PI calculados por esses autores para os ácidos cafeico (**31**) (181,09 kcal/mol) e o catecol (**32**) (184,40 kcal/mol), foram bem próximos da estimativa encontrada em nosso trabalho (**31**, 181,6 kcal/mol; **32**, 184,5

kcal/mol, **Tabela 3**). Contudo, o valor do PI calculado para o ácido *p*-cumárico (**29**) (194,56 kcal/mol) foi bastante diferente do valor encontrado em nosso trabalho (**29**, 184,9 kcal/mol).

Assim como Chen e colaboradores (CHEN *et al.*, 2006), Leopoldini e colaboradores (LEOPOLDINI *et al.*, 2004), empregando o nível de teoria (RO)B3LYP/6-311++G(3df,2p), encontraram um valor de PI para o ácido cafeico (**31**) (181,15 kcal/mol) também em concordância com o nosso cálculo. No entanto, neste mesmo trabalho, o valor de PI calculado para o ácido gálico (**39**) (189,09 kcal/mol) foi discrepante do nosso resultado (**39**, 228,6 kcal/mol, **Tabela 3**).

A comparação dos valores de PI calculados com dados experimentais foi possível apenas para o resorcinol (**35**) e a hidroquinona (**36**) que, de acordo com o trabalho de Klein e Lukes (KLEIN e LUKES, 2006), apresentam valores de PI experimentais, obtidos em fase gasosa, iguais a 199,01 kcal/mol e 194,63 kcal/mol, respectivamente. Apesar de serem maiores do que os respectivos valores calculados em nosso estudo, a ordem relativa é a mesma para estes dois derivados fenólicos (**35**,  $PI_{\text{Calc}} = 186,9$  kcal/mol e **36**,  $PI_{\text{Calc}} = 178,4$  kcal/mol) (**Tabela 3**).

Como podemos observar, na **Tabela 3** e no **Gráfico 3**, a presença dos substituintes  $-\text{OH}$ ,  $-\text{NH}_2$ ,  $-\text{OCH}_3$ ,  $-\text{CH}=\text{CHCO}_2\text{H}$  no anel fenólico consegue diminuir a diferença de energia entre o estado fundamental do composto fenólico e o seu respectivo cátion-radical, fornecendo valores calculados de PI menores do que o apresentado pelo fenol.



**Gráfico 3.** Derivados fenólicos em ordem crescente dos valores de PI.

A diferença da posição relativa de substituição na subclasse dos ácidos cinâmicos, como a encontrada entre **28** e **29**, fornece uma variação de energia de aproximadamente 4 kcal/mol, onde o isômero substituído na posição *para* apresenta uma menor diferença de energia entre seu estado fundamental e o respectivo cátion-radical (**Tabela 3**). Além do mais, assim como evidenciado por Nenadis e colaboradores (NENADIS *et al.*, 2005), a presença adicional, na posição *orto*, de um grupo doador de elétrons, como em **30** e **31**, contribui para a estabilização do cátion-radical, diminuindo, desta maneira, o valor de PI.

Assim como nos ácidos cinâmicos, o padrão de substituição nos polifenóis também interfere no valor de PI. Ao compararmos **32**, **35** e **36**, constatamos que a presença do grupo –OH (doador de elétrons), nas posições *orto* e *para*, fornece um

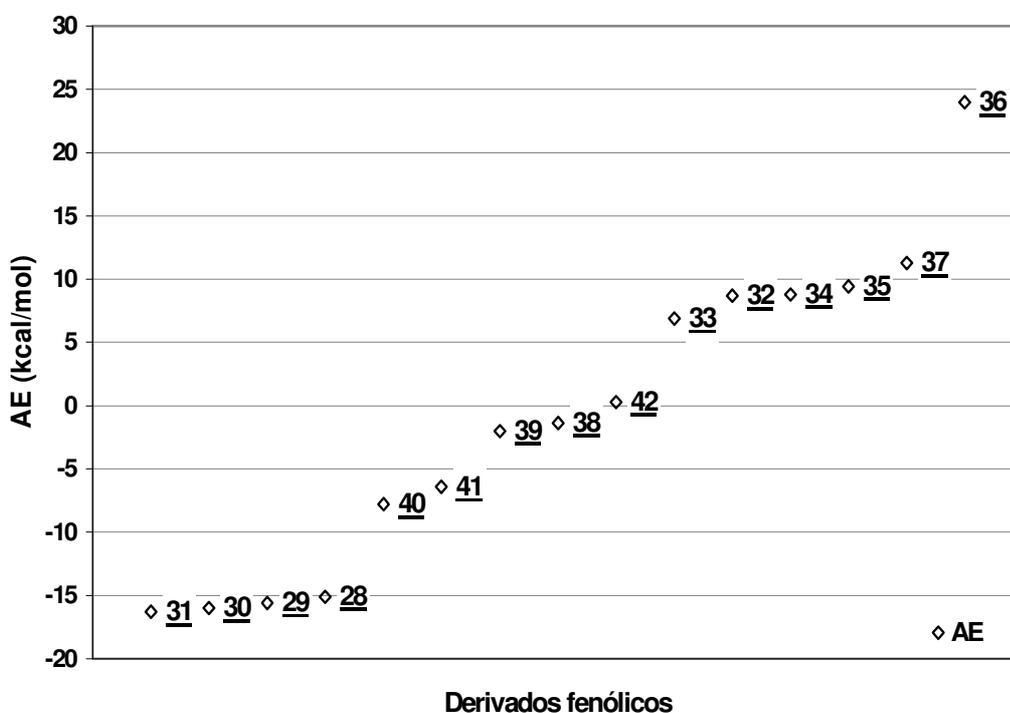
menor valor de PI do que o calculado para o seu isômero *meta*. No entanto, diferentemente do descrito para EDL-OH, o isômero *orto* apresenta um valor de PI maior do que o calculado para o isômero *para*. Este fato sugere que a estabilização do cátion-radical se dá, exclusivamente, pelo efeito eletrônico de grupos doadores de elétrons, e não pela formação de uma ligação hidrogênio intramolecular. Prova disto é o valor da energia de ionização apresentado por **37**. Diferente de **36**, este composto apresenta em *para* o grupo  $-NH_2$ , que é um grupo doador de elétrons mais efetivo que o grupo  $-OH$ , o qual fornece uma maior estabilização ao cátion-radical formado a partir da abstração de um elétron da molécula do *p*-amino-fenol. Em adição, a relação entre **32** e **33**, assim como entre **34** e **35**, demonstra que a quantidade de grupos  $-OH$ , tanto em *orto* quanto em *meta*, não provoca mudanças consideráveis no perfil do potencial de ionização.

Na classe dos ácidos benzóicos, onde temos derivados fenólicos substituídos com o grupo  $-CO_2H$ , encontramos valores calculados de PI maiores do que o apresentado pelo fenol. Adicionalmente, comparando **38** e **39** com **40**, **41** e **42**, vimos que a quantidade de hidroxilas fenólicas, para este caso, provoca uma desestabilização extra, fornecendo valores de PI maiores. Diferentemente do observado na EDL-OH, a presença de grupos  $-OH$ , capazes de formar ligação hidrogênio intramolecular, parecem não contribuir para a estabilização do cátion-radical dos ácidos benzóicos hidroxilados.

### 4.1.3 Afinidade Eletrônica (AE)

A afinidade eletrônica é definida como a energia liberada com o ganho de um elétron em um átomo ou molécula, resultando na formação de um íon negativo.

Diferentemente do PI, a afinidade eletrônica não é abordada, pela literatura, como um parâmetro relacionado com a capacidade antioxidante de compostos fenólicos. No entanto, mesmo assim, decidimos avaliar o comportamento deste possível descritor para os fenóis presentes em nosso estudo, visto que este descritor deve ter, teoricamente, um comportamento oposto ao da energia de ionização. Os valores obtidos para AE dos quinze compostos fenólicos presentes neste estudo estão descritos na **Tabela 3** e no **Gráfico 4**.



**Gráfico 4.** Derivados fenólicos em ordem crescente dos valores de AE.

Como podemos observar na **Tabela 3** e no **Gráfico 4**, a AE tem um comportamento diferente daquele apresentado pelo PI, onde as três séries de derivados fenólicos estão agrupadas separadamente. A presença de grupos aceptores de elétrons estabiliza o ânion radical, fazendo com que a espécie iônica formada seja mais estável que o composto fenólico de origem.

Na série dos derivados fenólicos da classe dos ácidos cinâmicos (28-31), o substituinte  $-\text{CH}=\text{CHCO}_2\text{H}$ , que forma um sistema conjugado com o anel aromático, permite uma maior liberação de energia com o ganho de um elétron. Além disso, a presença adicional de grupos doadores de elétrons em *orto*, como  $-\text{OH}$  e  $-\text{OCH}_3$ , não altera o perfil do valor de AE encontrado para esta classe.

Em contra partida, na série dos fenóis (32-37), fenóis que possuem em sua estrutura apenas substituintes  $-\text{OH}$  (36) e  $-\text{NH}_2$  (37), localizam mais a carga do ânion radical formado. Assim, a desestabilização provocada por estes grupos, faz com que a espécie formada seja menos estável que o fenol de origem, o que gera um valor positivo de AE. Em adição, o padrão de substituição *para*, fornece uma maior diferença de energia entre o fenol de origem do que seus isômeros de posição *orto* e *meta*.

Apesar do  $-\text{NH}_2$  ser um doador de elétrons mais efetivo do que  $-\text{OH}$ , o cálculo por DFT estima uma maior diferença de energia, entre o fenol neutro e o ânion radical correspondente para o composto **36** do que **37**. Este fato sugere que, com o ganho de um elétron, **37** gera um ânion radical mais estável que **36**.

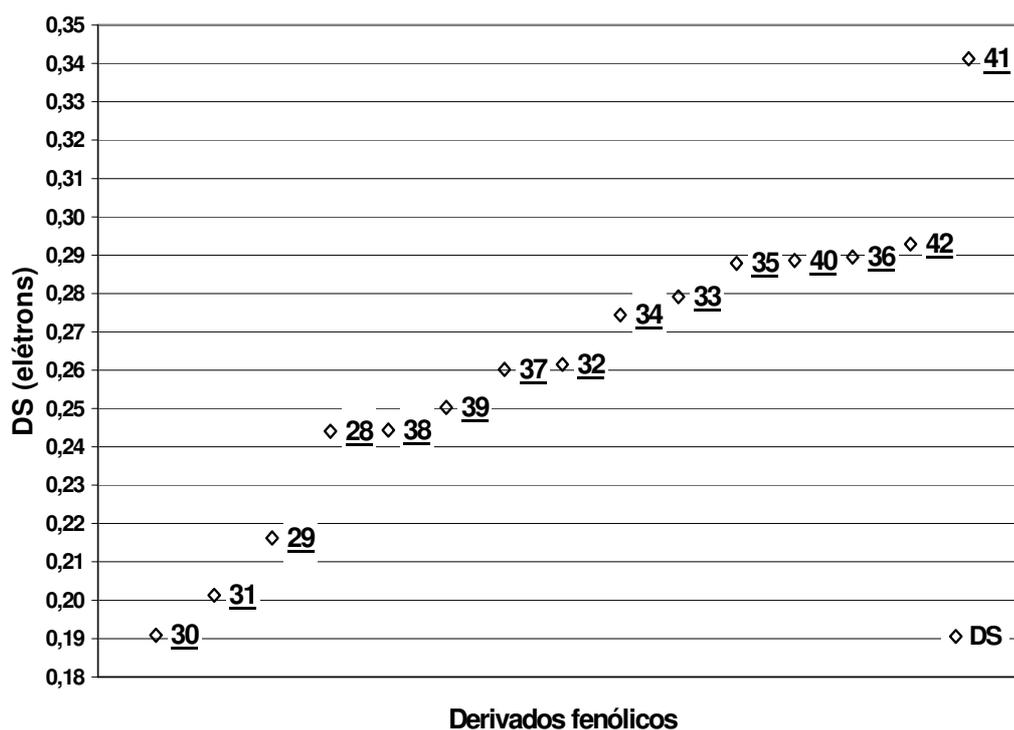
Com exceção de **42**, os ânions radicais foram mais estáveis do que os respectivos ácidos benzóicos de origem, obtendo, assim, valores negativos de AE. O valor de AE positivo, encontrado para **42**, sugere que a posição de substituição *para*

fornece uma maior diferença de energia entre o estado inicial e a espécie aniônica deste mesmo composto. No entanto, apesar de **38** e **39** possuírem o mesmo padrão de substituição do que **42**, a presença adicional de grupos –OH parece provocar uma estabilização extra no ânion radical, tornando o valor de AE negativo.

#### **4.1.4 Densidade de Spin (DS)**

A influência dos grupos substituintes nos radicais formados pela abstração do átomo de hidrogênio pode ser observada pela melhor distribuição de spin calculada no átomo de oxigênio do radical fenoxil (CHEN *et al.*, 2006). Assim, quanto menor for a DS no átomo de oxigênio que sofreu a abstração homolítica, maior será a deslocalização do elétron desemparelhado do radical. A **Tabela 3** e o **Gráfico 5** apresentam os valores da densidade de spin (DS) do átomo de oxigênio de cada radical fenoxil dos quinze compostos fenólicos estudados.

Em 2006, Chen e colaboradores (CHEN *et al.*, 2006), utilizando a teoria do funcional de densidade (DFT), reportaram valores teóricos da densidade de spin de alguns radicais de compostos fenólicos. Os valores encontrados por Chen, a partir do nível de teoria (RO)B3LYP/6-311+G(2d, 2p), para os radicais dos ácidos cafeico (0,2060) e *p*-cumárico (0,2172), assim como para o catecol (0,2686), estão de acordo com os estimados em nosso trabalho (**Tabela 3**).



**Gráfico 5.** Derivados fenólicos em ordem crescente dos valores de DS.

Para os radicais dos ácidos cinâmicos, a diferença de valores encontrada entre os isômeros 28 e 29, indica que o radical gerado na posição *para* apresenta maior deslocalização de elétrons do que aquele gerado em *orto*. Além disso, a presença adicional de grupos doadores de elétrons em *orto*, como em 30 e 31, provoca uma redução no valor da DS em relação a 28 e 29.

A relação de valores de DS encontrada para 32 e 33, assim como para 34 e 35, indica que a presença adicional de grupos –OH torna o respectivo radical livre menos deslocalizado e, portanto, menos estável. Adicionalmente, a diferença da posição de substituição, como a relação entre 32 e 35 e entre 33 e 34, também interfere na DS. O efeito da deslocalização provocado pela ligação hidrogênio intramolecular, fornece um valor de DS, em 32, menor do que em seu isômero 35. O

mesmo acontece entre **33** e **34**. Além disso, a presença do grupo  $\text{-NH}_2$  em **37** fornece um radical mais deslocalizado do que o **36**, onde temos um grupo  $\text{-OH}$  na mesma posição.

O subgrupo dos ácidos carboxílicos hidroxilados apresenta uma grande variação dos valores de DS. A quantidade de substituintes  $\text{-OH}$ , assim como a posição que este grupo ocupa no anel fenólico, interfere no valor de DS. A presença de grupos  $\text{-OH}$  adicionais provoca uma diminuição na DS dos radicais desta subclasse. Além do mais, radicais substituídos em *orto* (**40**) são mais deslocalizados do que seus isômeros de posição *meta* (**41**) e *para* (**42**), onde o padrão de substituição *meta* fornece um radical menos deslocalizado que aquele em *para*.

#### **4.2 Parâmetros Físico-Químicos de Lipofilicidade Calculada**

A **Tabela 4** apresenta os valores de lipofilicidade ( $\text{Log}P$ ) e de lipofilicidade relativa ( $\text{Log}D$ ) calculados pelo programa ACD/Labs 9.5 (2005) para os 25 derivados fenólicos estudados. A **Tabela 4** apresenta também os valores de  $\text{Log}P$  experimentais compilados da literatura (HANSCH, LEO e HOEKMAN, 1995) para os compostos **29** a **42**.

**Tabela 4.** Valores de  $\text{Log}P$  (lipofilicidade) e  $\text{Log}D$  (lipofilicidade relativa, pH 7,4) calculados pelo programa ACD/LogP e de  $\text{Log}P$  experimental ( $\text{Log}P_{\text{Exp}}$ ) para os 15 derivados fenólicos.

#	Derivado fenólico	$\text{Log}P_{\text{Calc}}$	$\text{Log}P_{\text{Exp}}$	$\text{Log}D$
<u>28</u>	Ácido <i>o</i> -cumárico	2,43	nd	-1,06
<u>29</u>	Ácido <i>p</i> -cumárico	1,88	1,46	-1,51
<u>30</u>	Ácido ferúlico	1,64	1,51	-1,78
<u>31</u>	Ácido cafeico	1,42	1,15	-2,01
<u>32</u>	Catecol	0,88	0,88	0,88
<u>33</u>	Pirogalol	0,29	0,68	0,29
<u>34</u>	Floroglucinol	0,06	0,16	0,05
<u>35</u>	Resorcinol	0,76	0,80	0,76
<u>36</u>	Hidroquinona	0,64	0,59	0,64
<u>37</u>	<i>p</i> -Amino-fenol	0,04	0,04	-0,29
<u>38</u>	Ácido protocatecuico	1,16	1,15	-1,73
<u>39</u>	Ácido gálico	0,91	0,70	-2,08
<u>40</u>	Ácido salicílico	2,06	2,26	-1,09
<u>41</u>	Ácido <i>m</i> -hidróxi-benzóico	1,50	1,50	-1,47
<u>42</u>	Ácido <i>p</i> -hidróxi-benzóico	1,42	1,58	-1,33

#### 4.2.1 Lipofilicidade ( $\text{Log}P$ )

Para interromper o processo de lipoperoxidação em cadeia, no sistema de micelas do ácido linolênico (CHENG *et al.*, 2003), o antioxidante o deve permear a fase lipídica. Assim, decidimos analisar o comportamento do  $\text{Log}P$  na capacidade antioxidante dos quinze compostos fenólicos presentes em nosso trabalho.

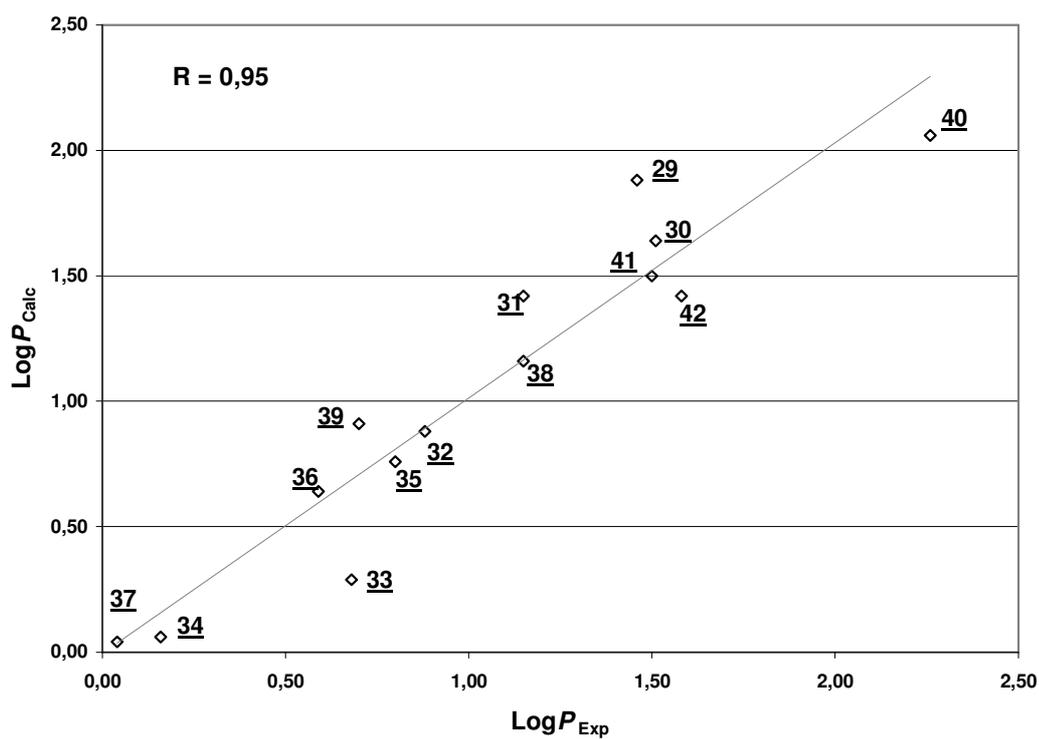
A lipofilicidade representa a afinidade de uma molécula com o ambiente lipofílico. Para um composto orgânico, a lipofilicidade pode ser descrita em termos do coeficiente de partição  $P$  ou  $\text{Log}P$ , como é geralmente expresso. Este é definido como a razão das concentrações de um composto em equilíbrio entre as fases orgânica e aquosa (**Equação 14**).

$$\text{Log}P = \frac{[\text{composto}]_{\text{FaseOrgânica}}}{[\text{composto}]_{\text{FaseAquosa}}} \quad (\text{Eq. 14})$$

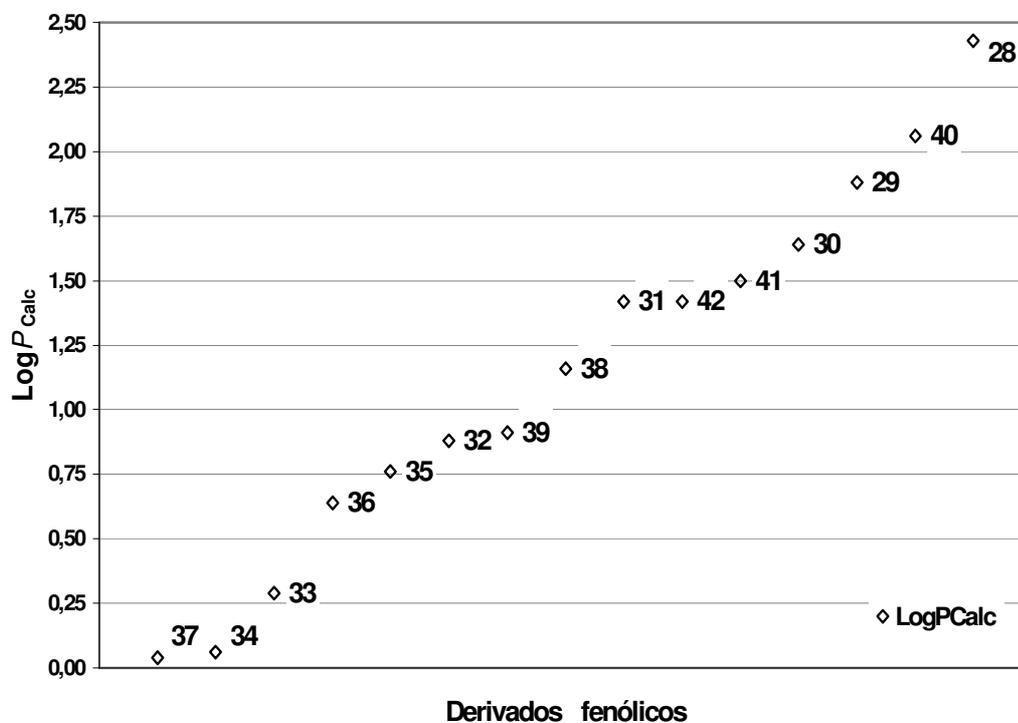
O coeficiente de partição descreve a *lipofilicidade intrínseca* de uma coleção de grupos funcionais e esqueleto de carbono, que se combinam para formar um determinado composto. Sabendo que cada componente de um composto orgânico tem uma lipofilicidade definida, podemos fazer uma previsão do coeficiente de partição de uma estrutura designada. Da mesma maneira, o efeito provocado no valor de  $\text{Log}P$  pela introdução de um grupo substituinte em um composto pode ser predito por vários métodos como, por exemplo, o de Hansh (HANSCH e LEO, 1979, 1995; HANSCH, LEO e HOEKMAN, 1995; FUJITA, IWASA e HANSCH, 1964 *apud* SMITH *et al.*, 2001) (valores de  $\pi$ ).

Nem todos os compostos presentes em nosso estudo apresentam um valor experimental de lipofilicidade. Desta forma, usamos valores de  $\text{Log}P$  calculados pelo programa ACDLabs/LogP 9.5 (ACD/Labs, Inc.) (**Tabela 4**).

Com o intuito de validar os valores de  $\text{Log}P$  calculados, estes foram correlacionados frente aos valores de  $\text{Log}P$  experimentais por análise de regressão. A partir do valor do coeficiente de correlação linear obtido ( $R = 0,95$ ) (**Gráfico 6**), podemos verificar uma excelente correlação entre os valores calculados e experimentais, o que justifica a utilização dos valores teóricos.



**Gráfico 6.** Correlação entre lipofilicidade experimental e lipofilicidade calculada.

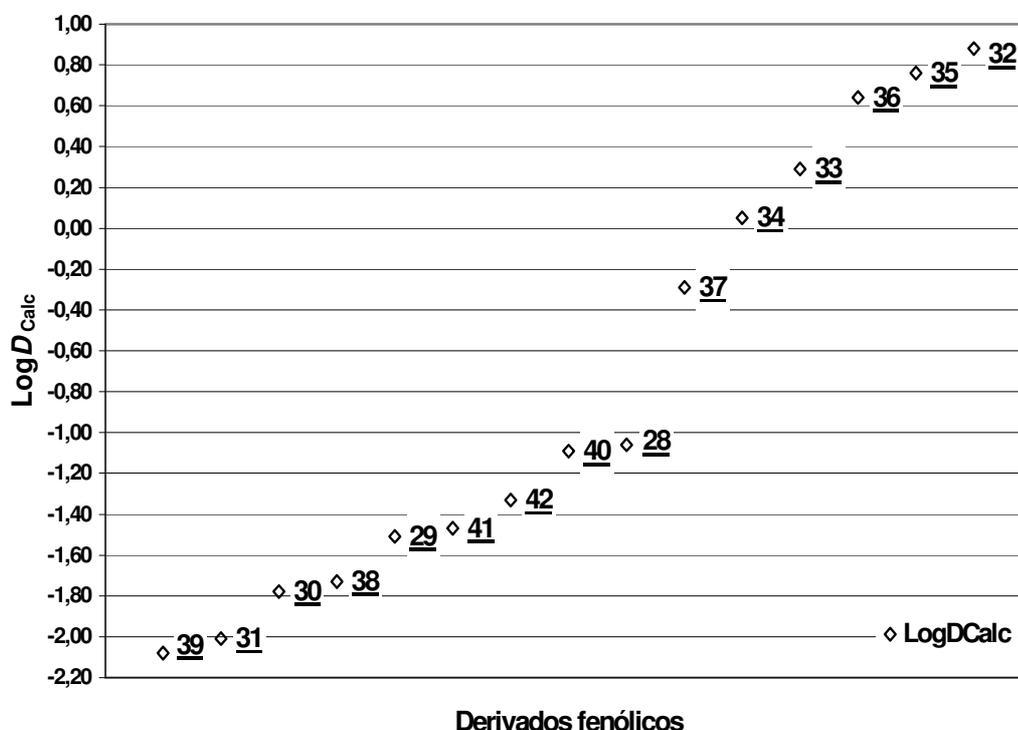


**Gráfico 7.** Derivados fenólicos em ordem crescente dos valores de  $\text{Log } P_{\text{Calc}}$ .

#### 4.2.2 Lipofilicidade Relativa (LogD) ou Coeficiente de Distribuição

Sabendo que o ensaio de lipoperoxidação proposto por Cheng e colaboradores (CHENG *et al.*, 2003) foi realizado em um pH 7,4, decidimos avaliar o comportamento de LogD na atividade antioxidante dos 15 fenóis presentes em nosso estudo.

Diferentemente do coeficiente de partição (LogP), que corresponde à razão da concentração entre água/fase lipídica de uma única espécie, o LogD é definido como o somatório das concentrações de todas as formas estado-carga de uma substância dissolvida na fase lipídica dividida pelo somatório daquelas dissolvidas em água. Ou seja, este parâmetro é dependente do pH. Os valores de LogD calculados pelo programa ACDLabs/LogD 9.5 (2005) são apresentados na **Tabela 4** e no **Gráfico 8**.



. **Gráfico 8.** Derivados fenólicos em ordem crescente dos valores de LogD<sub>Calc</sub>.

A diferença entre os valores calculados de  $\text{Log}D$  e  $\text{Log}P$  (**Tabela 4**) descreve a influência de grupos ionizáveis na capacidade de permeação dos compostos fenólicos. A presença do grupo carboxila (que se encontra na forma de carboxilato em pH 7,4) diminui a lipofilicidade da molécula, impedindo que o antioxidante consiga penetrar na micela de ácido linolênico e, conseqüentemente, interromper o processo de lipoperoxidação. Da mesma forma, a presença do grupo amino, passível de protonação, altera o perfil de  $\text{Log}P$  da molécula, prejudicando a capacidade de penetração da mesma.

#### **4.3 Avaliação dos Modelos de QSAR da Atividade Antioxidante**

Baseado no trabalho de Topliss e Costelo (TOPLISS e COSTELO, 1972 *apud* GAUDIO e ZANDONADE, 2001), Unger e Hansch (UNGER e HANSCH, 1973 *apud* GAUDIO e ZANDONADE, 2001) sugerem que, em uma seleção de parâmetros independentes, para cada variável incluída em modelos de QSAR, deve haver, no mínimo, cerca de cinco ou seis compostos, evitando assim, a correlação por coincidência.

Dentre os principais métodos utilizados na seleção de variáveis em QSAR (*e.g.* busca sistemática, algoritmo genético, quimiometria), utilizamos o método de busca sistemática que consiste na combinação das  $m$  variáveis disponíveis para construir e analisar todas as possíveis equações de regressão com  $k$  variáveis e, a partir daí, selecionar as melhores (FERREIRA *et al.*, 2002).

A busca sistemática no processo de seleção de variáveis é o único procedimento de seleção que pode assegurar que a melhor combinação será

encontrada (FERREIRA *et al.*, 2002). Entretanto, considerando-se a necessidade de executar regressões com todas as possíveis combinações de variáveis independentes, deve-se questionar a eficiência do método em termos de tempo de duração (FERREIRA *et al.*, 2002).

Empregando-se o processo de busca sistemática, foram realizadas as análises de regressão linear, a partir do programa Microsoft Office Excel 2003, (Microsoft, Inc.), usando como variável dependente a atividade antioxidante (**Tabela 7**) ( $\text{Log } 1/\text{IC}_{50} = -\text{Log } \text{IC}_{50} = \text{pIC}_{50}$ ) dos 15 derivados fenólicos (CHENG *et al.*, 2003) em função de todas as possíveis combinações dos descritores (variáveis independentes) calculados neste trabalho para estes compostos: entalpia de dissociação homolítica da ligação O-H (EDL-OH), potencial de ionização (PI), afinidade eletrônica (AE), densidade de spin (DS), lipofilicidade ( $\text{Log}P$ ) e lipofilicidade relativa ( $\text{Log}D$ ). A execução da busca sistemática com os descritores calculados gerou 40 equações de regressão. Destas, seis equações com um parâmetro, 15 equações com dois parâmetros e 19 equações com três parâmetros. Na **Tabela 5** estão listados os descritores incluídos em cada equação e os respectivos parâmetros estatísticos ( $R$ ,  $R^2$ ,  $R^2$  ajustado,  $s$ ,  $F$  e  $p$ ) destas equações.

A melhor equação com uma variável é a **Eq.15**,  $\text{pIC}_{50} = 6,15 - 0,24(\text{EDL-OH})$ , destacada em negrito na **Tabela 5**, na qual o único termo presente, EDL-OH, é capaz de explicar 72,5 % ( $R^2 \times 100$ ) da variabilidade da atividade antioxidante. Como a variável EDL-OH explica a maior parte da variabilidade da atividade antioxidante, é de se esperar que este descritor esteja presente nos melhores modelos com um maior número de termos.

Assim, a melhor equação com duas variáveis é a **Eq.21**,  $\text{pIC}_{50} = 6,68 - 0,023(\text{EDL-OH}) - 0,0036(\text{PI})$ , na qual os dois termos presentes, EDL-OH e PI, são

capazes de explicar 88,5 % ( $R^2 \times 100$ ) da variabilidade da atividade antioxidante. Quando comparamos as equações **Eq.15** e **Eq.21**, que apresentam número total de termos diferente, os parâmetros estatísticos  $R$ ,  $R^2$ ,  $s$  e  $F$  não podem ser utilizados. Nestes casos, os valores de  $R^2_{Ajust}$  e  $p$  são mais adequados à comparação, pois consideram correções para o número de variáveis utilizado em cada equação (GUADIO e ZANDONADE, 2001). Assim, na comparação entre **Eq.15** e **Eq.21**, esta última é preferida, pois apresenta o maior valor de  $R^2_{Ajust}$  (**Tabela 5**).

A melhor equação com três variáveis é a **Eq.36**,  $pIC_{50} = 6,62 - 0,022(\text{EDL-OH}) - 0,0035(\text{PI}) + 0,0012(\text{AE})$ , na qual os três termos presentes, EDL-OH, PI e AE, são capazes de explicar 89,3 % ( $R^2 \times 100$ ) da variabilidade da atividade antioxidante (**Tabela 5**). Comparando **Eq.21** com **Eq.36**, vemos que a presença do parâmetro teórico AE não provoca uma alteração significativa nos valores de  $R^2$  ajustado e  $p$ , o que torna essas duas equações aproximadamente equivalentes (**Tabela 5**). No entanto, o princípio da parcimônia aconselha a escolha do modelo com menor número de variáveis (GAUDIO e ZANDONADE, 2001). Desta forma, como a equação **Eq.21** representa o melhor modelo de QSAR da atividade antioxidante da série dos 15 compostos fenólicos, ela foi usada para calcular a atividade antioxidante dos 15 compostos fenólicos em estudo. Os valores de  $pIC_{50}$  calculados, os valores residuais ( $pIC_{50 \text{ Obs}} - pIC_{50 \text{ Calc}}$ ) e o desvio percentual para os 15 compostos são apresentados na **Tabela 7**.

**Tabela 5.** Resumo dos dados estatísticos dos 40 modelos de QSAR gerados por combinação sistemática dos seis parâmetros teóricos (EDL-OH, PI, AE, DS, LogP e LogD).

Eq. <sup>a</sup>	EDL-OH	PI	AE	DS	LogP	LogD	<i>R</i>	<i>R</i> <sup>2</sup>	<i>R</i> <sup>2</sup> <sub>Ajust</sub>	<i>s</i>	<i>F</i>
15	•						<b>0,852</b>	<b>0,725</b>	<b>0,704</b>	<b>0,085</b>	<b>34,33</b>
16		•					0,531	0,282	0,227	0,137	5,11
17			•				0,324	0,105	0,036	0,153	1,53
18				•			0,355	0,126	0,059	0,152	1,88
19					•		0,396	0,157	0,092	0,149	2,01
20						•	0,336	0,134	0,067	0,151	2,42
21	•	•					<b>0,941</b>	<b>0,885</b>	<b>0,866</b>	<b>0,057</b>	<b>46,09</b>
22	•		•				0,864	0,747	0,705	0,085	17,72
23	•			•			0,852	0,726	0,680	0,088	15,86
24	•				•		0,853	0,728	0,682	0,088	16,03
25	•					•	0,888	0,789	0,754	0,077	22,48
26		•	•				0,582	0,338	0,228	0,137	3,07
27		•		•			0,605	0,366	0,260	0,134	3,46
28		•			•		0,616	0,379	0,276	0,133	3,66
29		•				•	0,546	0,298	0,181	0,141	2,55
30			•	•			0,703	0,494	0,410	0,120	5,86
31			•		•		0,396	0,157	0,017	0,155	1,12
32			•			•	0,370	0,137	-0,007	0,157	0,95
33				•	•		0,615	0,378	0,275	0,133	3,65
34				•		•	0,668	0,446	0,353	0,126	4,82
35					•	•	0,429	0,184	0,048	0,152	1,35
36	•	•	•				<b>0,945</b>	<b>0,893</b>	<b>0,864</b>	<b>0,058</b>	<b>30,68</b>
37	•	•		•			0,942	0,886	0,856	0,059	28,65
38	•	•			•		0,941	0,885	0,853	0,060	28,17
39	•	•				•	0,944	0,890	0,860	0,058	29,76
40	•		•	•			0,874	0,763	0,699	0,086	11,82
41	•		•		•		0,872	0,761	0,696	0,086	11,70
42	•		•			•	0,893	0,797	0,742	0,079	14,43
43	•			•	•		0,853	0,728	0,654	0,092	9,80
44	•			•		•	0,900	0,809	0,757	0,077	15,57
45	•				•	•	0,897	0,805	0,752	0,078	15,18
46		•	•	•			0,776	0,603	0,495	0,111	5,57
47		•	•		•		0,616	0,380	0,210	0,140	2,24
48		•	•			•	0,596	0,355	0,179	0,142	2,02
49		•		•	•		0,730	0,533	0,405	0,120	4,18
50		•		•		•	0,695	0,482	0,341	0,127	3,42
51		•			•	•	0,620	0,384	0,216	0,138	2,29
52			•	•	•		0,703	0,494	0,356	0,125	3,58
53			•	•		•	0,722	0,521	0,391	0,122	3,99
54				•	•	•	0,705	0,497	0,360	0,125	3,63

a) Equações com um (Eq.15-20), dois (Eq.21-35) e três (Eq.36-54) descritores. As melhores equações de cada conjunto estão destacadas em negrito. Em todas as equações  $N = 15$  e  $p = 0,05$ .

É importante verificar também o grau de correlação entre os descritores calculados que aparecem numa mesma equação. A construção de modelos por MMQ exige que as variáveis presentes num dado modelo sejam, essencialmente, independentes. Além de descreverem a mesma propriedade, duas ou mais variáveis altamente correlacionadas geram problemas de dependência linear no conjunto de dados e imprecisão numérica na construção do modelo (GAUDIO e ZANDONADE, 2001).

O grau de correlação entre as variáveis independentes é verificado pela construção da matriz de correlação cruzada entre os seis descritores calculados (EDL-OH, PI, AE, DS, Log $P$  e Log $D$ ). A análise da matriz de correlação (**Tabela 6**) revela que as únicas variáveis que não devem ser combinadas numa mesma equação são AE e Log $P$ , da mesma forma que AE e Log $D$ , pois apresentam coeficiente de correlação ( $R$ ) igual a 0,804 e 0,801, respectivamente. É importante ressaltar que as equações selecionadas como os melhores modelos (**15**, **21** e **36**), não incluem essas variáveis simultaneamente.

**Tabela 6.** Matriz de correlação cruzada entre os descritores calculados (EDL-OH, PI, AE, DS, Log*P* e Log*D*). Valores de  $R \geq 0,75$  estão destacados em negrito.

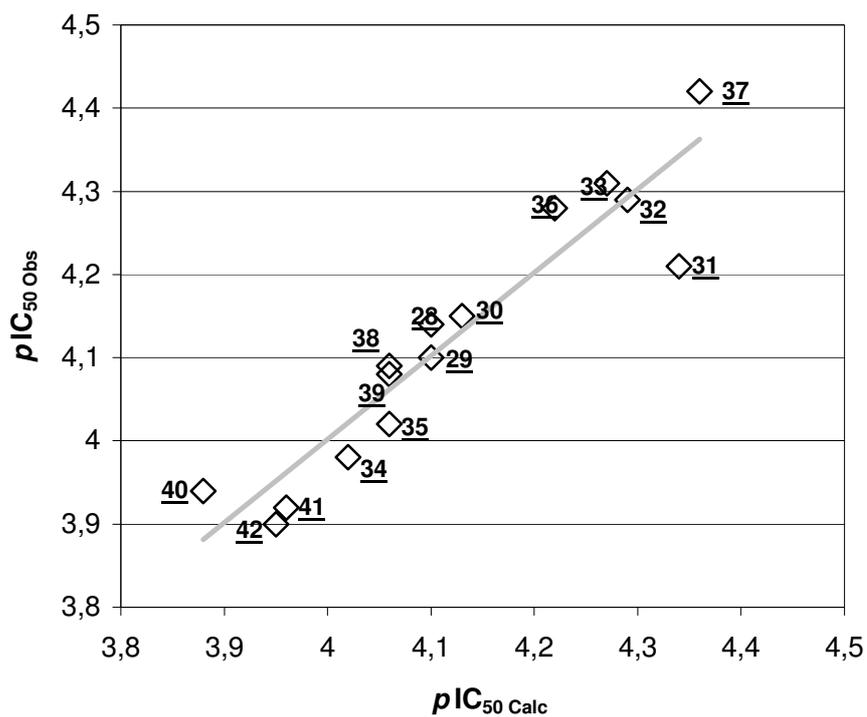
	EDL-OH	PI	AE	DS	Log <i>P</i>	Log <i>D</i>
EDL-OH	1,000	0,161	0,212	0,433	0,414	0,136
PI		1,000	0,171	0,129	0,168	0,481
AE			1,000	0,532	<b>0,804</b>	<b>0,801</b>
DS				1,000	0,251	0,416
Log <i>P</i>					1,000	0,592
Log <i>D</i>						1,000

Além do mais, é importante observar o alinhamento dos pontos em relação à reta ajustada (**Gráfico 9**), bem como a distribuição ao longo do intervalo dos valores de atividade estudados. Desta maneira, vimos que dentre os quinze compostos estudados, todos apresentam um desvio menor que 5% do valor da atividade experimental, o que caracteriza a inexistência de *outliers* (compostos que possuem grandes resíduos num modelo de regressão). A maioria dos valores de atividade predita apresentou desvios em torno de 1%, com a exceção de **31** (ácido cafeico), cujo desvio foi de 3,09% (**Tabela 7**).

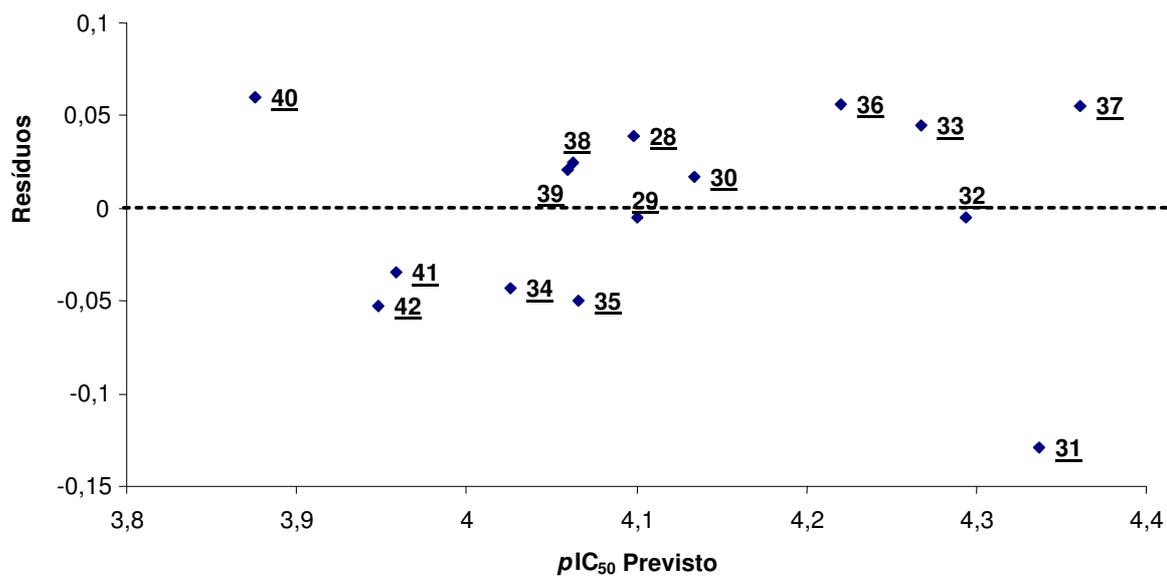
No **Gráfico 10**, podemos observar também que os resíduos estão dispostos aleatoriamente em torno de zero (linha tracejada), o que acontece em um modelo adequado (GAUDIO e ZANDONADE, 2001).

**Tabela 7.** Valores observados e calculados de  $pIC_{50}$ , resíduos ( $pIC_{50\text{ Obs}} - pIC_{50\text{ Calc}}$ ) e desvio percentual.

#	Composto	$pIC_{50\text{ Obs}}$	$pIC_{50\text{ Calc}}$	Resíduo	Desvio %
<u>28</u>	Ácido <i>o</i> -cumárico	4,14	4,10	0,0387	0,98
<u>29</u>	Ácido <i>p</i> -cumárico	4,10	4,10	-0,0048	0,00
<u>30</u>	Ácido ferúlico	4,15	4,13	0,0168	0,48
<u>31</u>	Ácido cafeico	4,21	4,34	-0,1290	3,09
<u>32</u>	Catecol	4,29	4,29	-0,0050	0,00
<u>33</u>	Pirogalol	4,31	4,27	0,0444	0,94
<u>34</u>	Floroglucinol	3,98	4,02	-0,0426	1,00
<u>35</u>	Resorcinol	4,02	4,06	-0,0496	1,00
<u>36</u>	Hidroquinona	4,28	4,22	0,0558	1,42
<u>37</u>	<i>p</i> -Amino-fenol	4,42	4,36	0,0554	1,38
<u>38</u>	Ácido protocatecuico	4,09	4,06	0,0249	0,74
<u>39</u>	Ácido gálico	4,08	4,06	0,0211	0,49
<u>40</u>	Ácido salicílico	3,94	3,88	0,0598	1,55
<u>41</u>	Ácido <i>m</i> -hidróxi-benzóico	3,92	3,96	-0,0336	1,02
<u>42</u>	Ácido <i>p</i> -hidróxi-benzóico	3,90	3,95	-0,0522	1,28



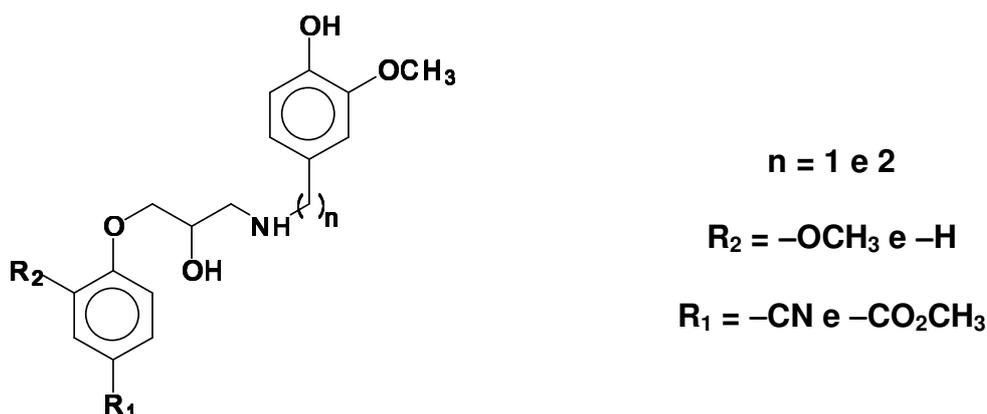
**Gráfico 9.** Atividade antioxidante observada ( $pIC_{50} \text{ Obs}$ ) em função da atividade calculada ( $pIC_{50} \text{ Calc}$ ) pra os 15 compostos fenólicos.



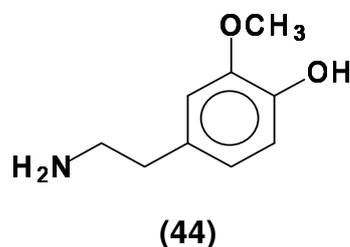
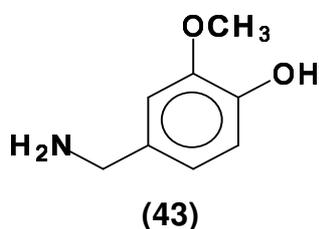
**Gráfico 10.** Distribuição dos valores residuais ( $pIC_{50} \text{ Obs} - pIC_{50} \text{ Calc}$ ) para os 15 compostos fenólicos.

#### 4.4 Estimativa da Atividade Antioxidante de Ariloxipropanolaminas e Aminas aromáticas

Como as ariloxipropanolaminas planejadas em nosso estudo (**Figura 10**) apresentam uma estrutura relativamente grande e, portanto, demandam grande custo computacional em seus cálculos, decidimos estudar a atividade antioxidante das aminas **43** e **44**, que representam modelos da subestrutura planejada para apresentar atividade antioxidante, e que apresentam similaridade estrutural com os 15 compostos fenólicos estudados.



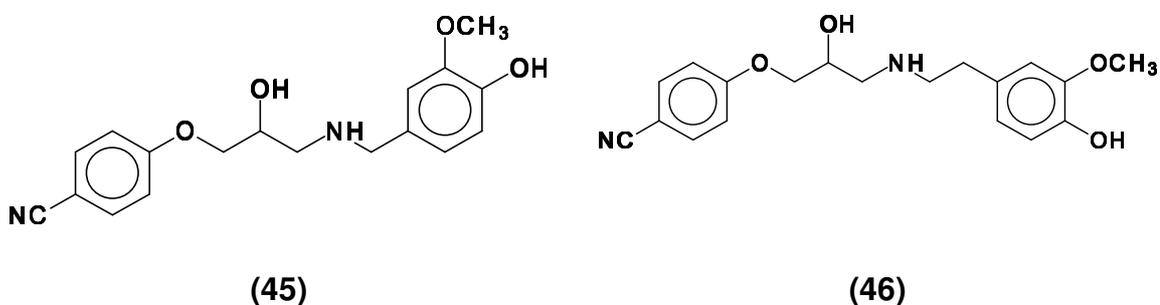
**Figura 10.** Estrutura das ariloxipropanolaminas planejadas com potencial atividade dual: antioxidante e anti-hipertensiva.



Assim, a partir da equação **21** (**Tabela 5**), o melhor modelo obtido no estudo de QSAR com os compostos fenólicos descritos no trabalho de Cheng e

colaboradores (CHENG *et al.*, 2003), calculamos os valores de  $pIC_{50 \text{ Calc}}$  para as moléculas **43** e **44** (**Tabela 8**).

Para comparar o efeito do cálculo dos descritores presentes na **Eq. 21** (EDL-OH e PI) das subestruturas modelos (**43** e **44**) com as respectivas moléculas planejadas, calculamos estes mesmos parâmetros teóricos para as menores ariloxipropanolaminas propostas em nosso trabalho (**45** e **46**), e os respectivos valores de  $pIC_{50}$  (**Tabela 8**).



**Tabela 8.** Valores teóricos de EDL-OH e PI para as moléculas **43**, **44**, **45** e **46** e os respectivos valores de  $pIC_{50}$  preditos pela **Equação 21**.

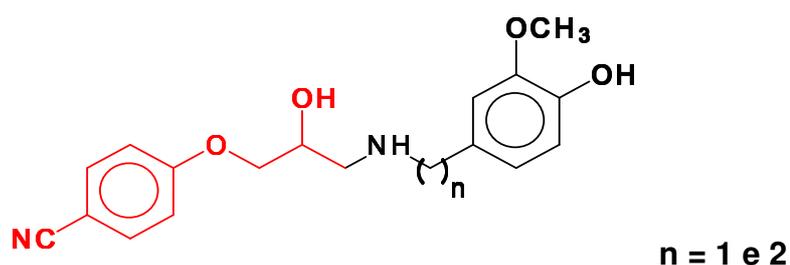
Número	EDL-OH (kcal/mol)	PI (kcal/mol)	$pIC_{50 \text{ Calc}}$
<b>43</b>	84,21	171,65	4,16
<b>44</b>	84,25	170,63	4,18
<b>45</b>	84,80	169,65	4,16
<b>46</b>	84,10	166,87	4,17

A partir dos resultados descritos na **Tabela 8**, podemos afirmar que não houve uma diferença significativa entre os valores de EDL-OH calculados para os compostos **43**, **44**, **45** e **46**. Este fato indica que o grupo substituinte adicional (destacado em vermelho, **Figura 11**), assim como o comprimento da cadeia alquílica

espaçadora, localizada entre o átomo de nitrogênio da cadeia lateral e o anel fenólico, não influenciaram no valor estimado deste parâmetro.

Diferentemente da EDL-OH, os valores calculados de PI para **43**, **44**, **45** e **46** apresentaram discrepância, principalmente no caso de **46**, onde a diferença encontrada, considerando **44** e **46**, não passa de 4 kcal/mol. Esta diferença é devido à influência do grupo substituinte adicional e à cadeia espaçadora de maior comprimento (**Figura 10**).

Desta forma, como as diferenças nos valores calculados de EDL-OH e PI não foram grandes e o peso de EDL-OH é maior na **Eq. 21**, os valores de  $pIC_{50}$  previstos para os composto **43** e **45**, assim como para **44** e **46**, são equiparáveis (**Tabela 9**). Este resultado indica que o grupo substituinte adicional (destacado em vermelho, **Figura 11**) não influencia no valor de atividade calculada. Além do mais, quando comparamos os valores de  $pIC_{50}$  calculados para **43** e **44**, da mesma forma que **45** e **46**, verificamos que o tamanho da cadeia espaçadora pouco altera os valores de atividade antioxidante calculada.



**Figura 11.** Ariloxipropanolamina com o grupo ariloxipropanol destacado em vermelho.

#### **4.5 Rota de Síntese das Ariloxipropanolaminas com Potencial Atividade Dual, Antioxidante e Anti-Hipertensiva**

A rota sintética para a preparação das ariloxipropanolaminas planejadas neste trabalho está descrita no **Esquema 4**.

Nesta rota, a hidroxila fenólica da vanilina (**47**) (4-hidróxi-3-metóxi-benzaldeído) é protegida com um grupo benzila, formando o intermediário **56**. Seguindo a metodologia descrita por Gannett e colaboradores (GANNETT *et al.*, 1988), **56** é convertido no respectivo cloridrato de amina (**58**), que possui apenas um grupo metilênico entre o grupo amino e o anel aromático (**n = 1**), atuando como grupo espaçador.

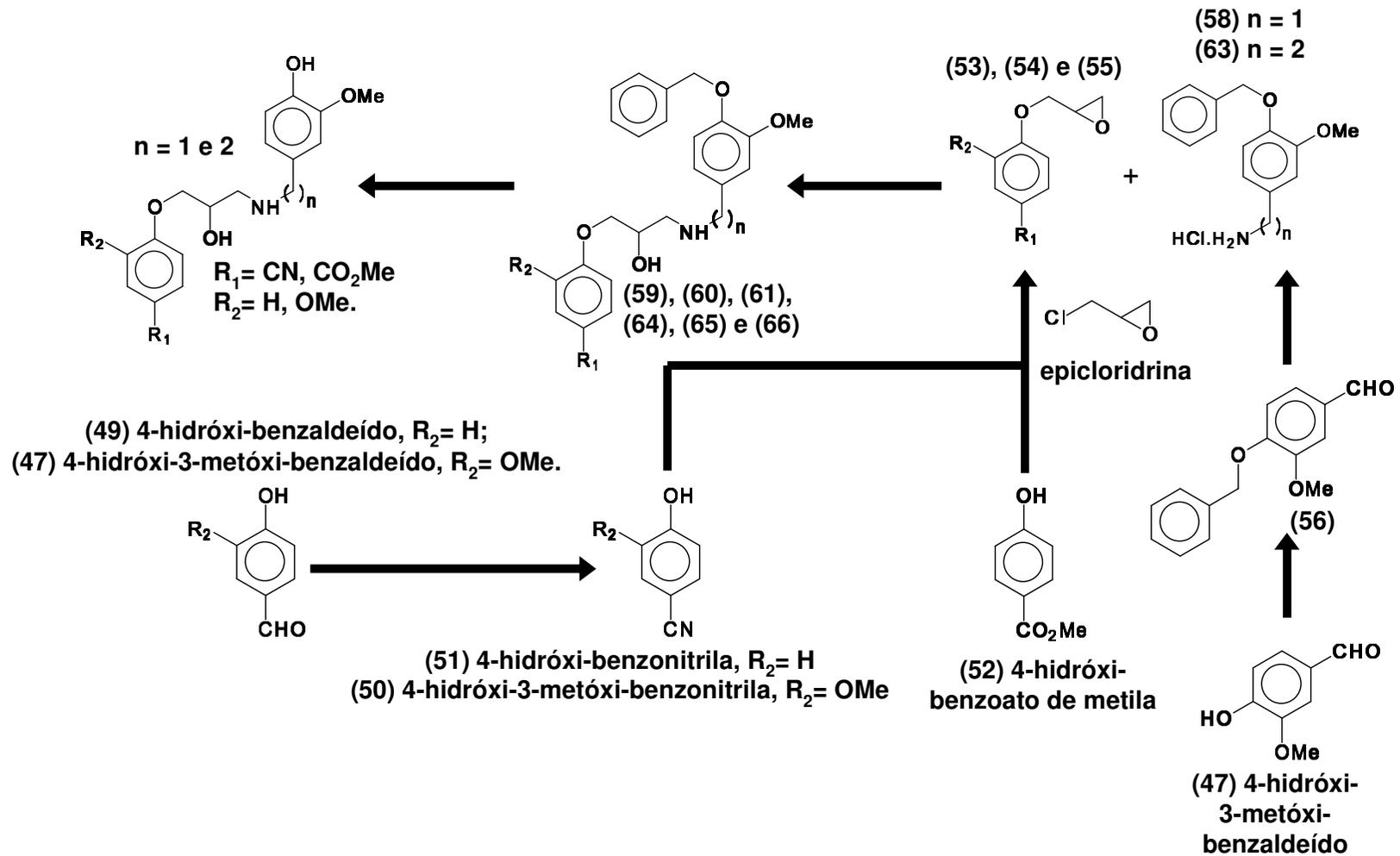
Da mesma forma que **58**, a preparação do cloridrato de amina **63** utiliza o intermediário **56** como substrato. No entanto, a obtenção de uma cadeia alquílica espaçadora com dois grupos metilênicos (**n = 2**) é obtida a partir da metodologia proposta por Batra e colaboradores (BATRA *et al.*, 2003).

A síntese das nitrilas segue o procedimento apresentado por Ballini e colaboradores (BALLINI, FIORINI e PALMIERI, 2003), onde a vanilina (**47**) e o 4-hidróxi-benzaldeído (**49**) são empregados como substratos.

Os epóxidos **53**, **54** e **55** foram preparados a partir da reação das nitrilas **50** (4-hidróxi-3-metóxi-benzonitrila) e **51** (4-hidróxi-benzonitrila), assim como o nipagin (**52**) (4-hidróxi-benzoato de metila), com epiclорidrina, seguindo a metodologia descrita por Srivastava e colaboradores (SRIVASTAVA *et al.*, 2004).

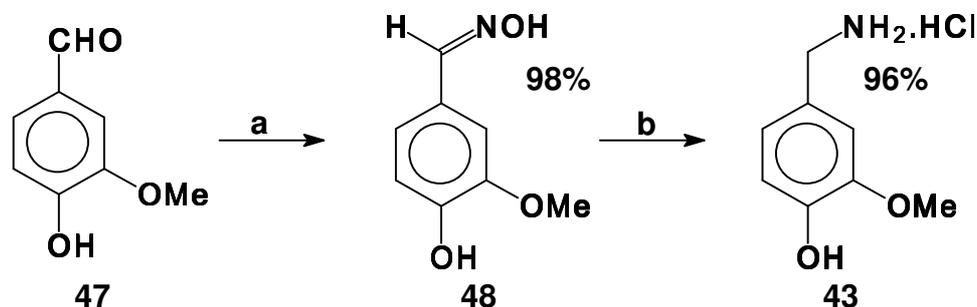
Aplicando o procedimento descrito por Srivastava e colaboradores (SRIVASTAVA *et al.*, 2004), a reação dos epóxidos **53**, **54** e **55** com as aminas **58** e **63**, forma as ariloxipropanolaminas **59**, **60**, **61**, **62**, **63** e **64**. E, finalmente, a etapa de

desbenzilação é feita a partir da metodologia descrita por Barrero, Alvarez-Manzaneda e Chahboun (WHITE e AMEDIO, 1989; BARRERO, ALVAREZ-MANZANEDA e CHAHBOUN, 1997 *apud* GREENE e WUTS, 1999).



**Esquema 4.** Rota sintética para a preparação das ariloxipropanolaminas com potencial atividade dual: antioxidante e anti-hipertensiva.

#### 4.5.1 Síntese do cloridrato de amina **43**



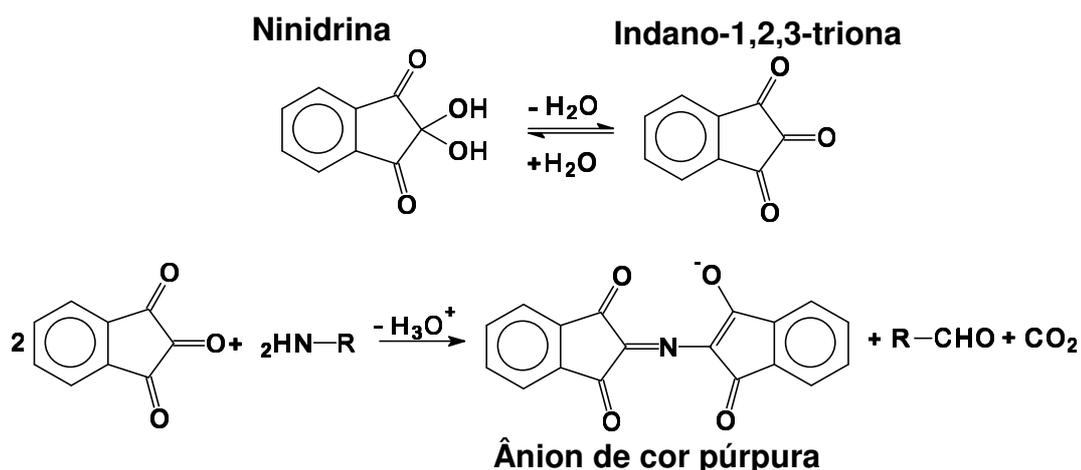
(a)  $\text{H}_2\text{NOH.HCl}$ , NaOH,  $\text{H}_2\text{O}$ , EtOH, t.a., 15 min; (b) 1)  $\text{H}_2$ , Pd/C, 50 psi, t.a., 2h; 2) HCl,  $\text{EtO}_2/\text{EtOH}_{\text{ABS}}$ ,  $0^\circ\text{C}$ .

A amina **43** foi obtida usando a rota proposta por Gannett e colaboradores (GANNETT *et al.*, 1988), onde a vanilina (**47**) é convertida na oxima correspondente (**48**), que, posteriormente, é reduzida à amina (**43**).

Na reação de preparação da vaniloxima (**48**), o cloridrato de hidroxilamina ( $\text{H}_2\text{NOH.HCl}$ ) é tratado com uma solução aquosa de NaOH (hidróxido de sódio), gerando *in situ* a hidroxilamina na forma livre, que reage com a vanilina, formando a oxima correspondente. Por se tratar de um meio reacional aquoso, onde a vanilina é insolúvel, se faz necessária a adição de uma quantidade suficiente de etanol (EtOH) para tornar o meio reacional homogêneo. Este pequeno, porém importante, detalhe garante a formação da oxima **48** em excelente rendimento (98%) e em curto tempo reacional (15 minutos).

Na etapa de formação da amina, Gannett e colaboradores verificaram que a redução de oximas pelo tratamento de Pd/C (paládio sobre carbono) e  $\text{H}_2$  (hidrogênio) provê excelentes resultados. Desta forma, a redução da oxima da vanilina foi obtida com Pd/C a 5% e  $\text{H}_2$  em metanol, sob pressão de 40 psi. Após 2

horas de reação, a formação da amina foi evidenciada pelo teste de Kaiser (KAISER *et al.*, 1970) (**Figura 12**). Neste ensaio, a amina primária é condensada com duas moléculas de indano-1,2,3-triona (obtido pela desidratação da ninidrina), o que gera a formação de um ânion de coloração púrpura.



**Figura 12.** Identificação de aminas primárias pelo teste de Kaiser, usando ninidrina (KAISER *et al.*, 1970)

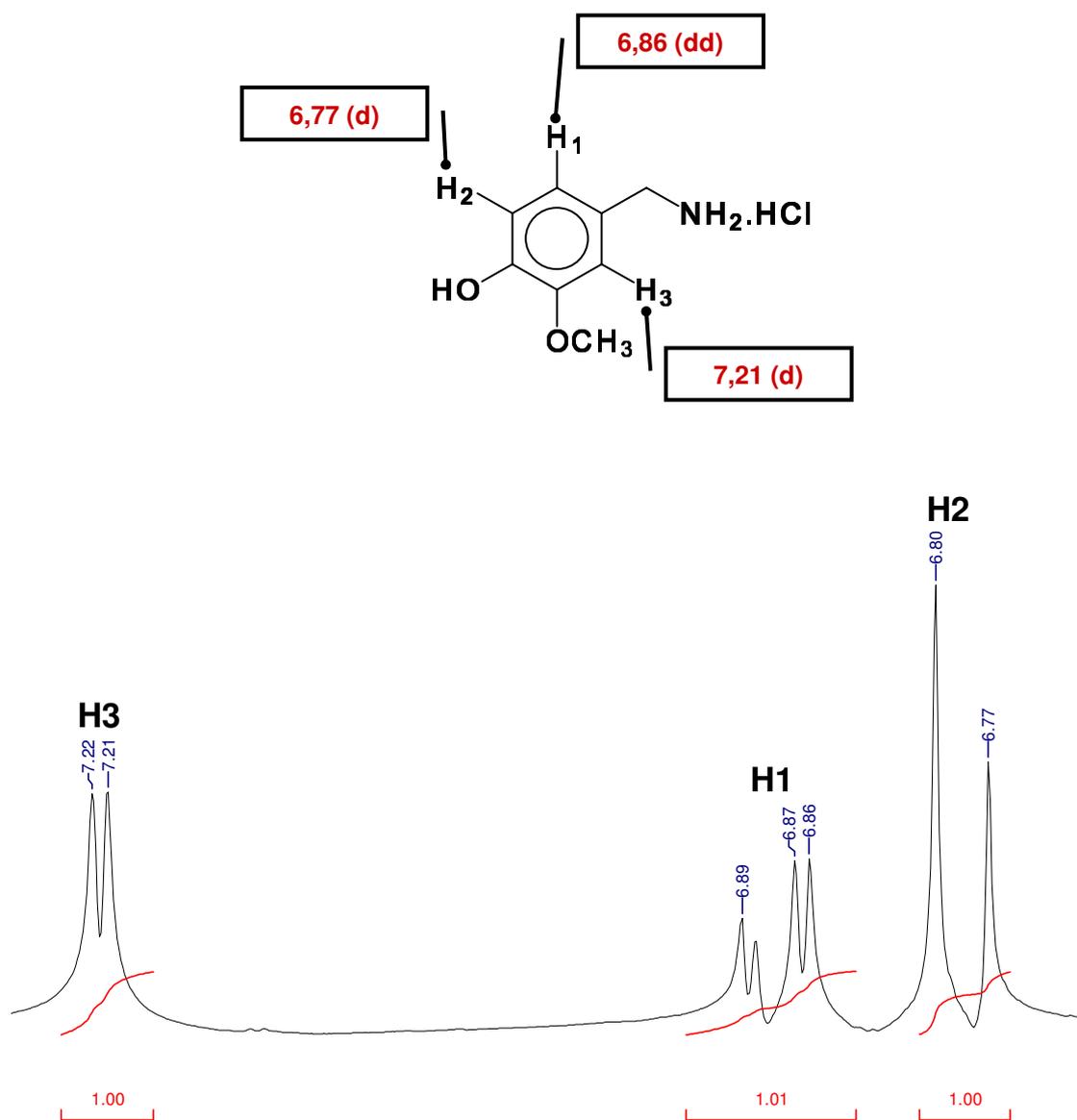
Por ser lábil (facilmente oxidada) e higroscópica, a amina **43** foi convertida no cloridrato correspondente, que apresenta maior estabilidade.

A caracterização estrutural da amina **43** foi feita a partir do ponto de fusão (215°C) e dos espectros de IV e RMN de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ .

O espectro de IV do cloridrato desta amina apresenta as bandas referentes à deformação axial da hidroxila fenólica em  $3361\text{ cm}^{-1}$ , à deformação axial da ligação N-H do sal da amina em  $3139\text{-}2935\text{ cm}^{-1}$  e à deformação axial C=C de aromático em  $1605\text{ cm}^{-1}$ .

O espectro de RMN de  $^1\text{H}$  de **43** demonstra acoplamentos de spin em *orto* (**H1** e **H2**) e *meta* (**H1** e **H3**) para os hidrogênios aromáticos. O acoplamento de **H1** com os dois hidrogênios **H2** e **H3** gera um duplo dublete em 6,86 ppm ( $J = 8,40\text{ Hz}$  e

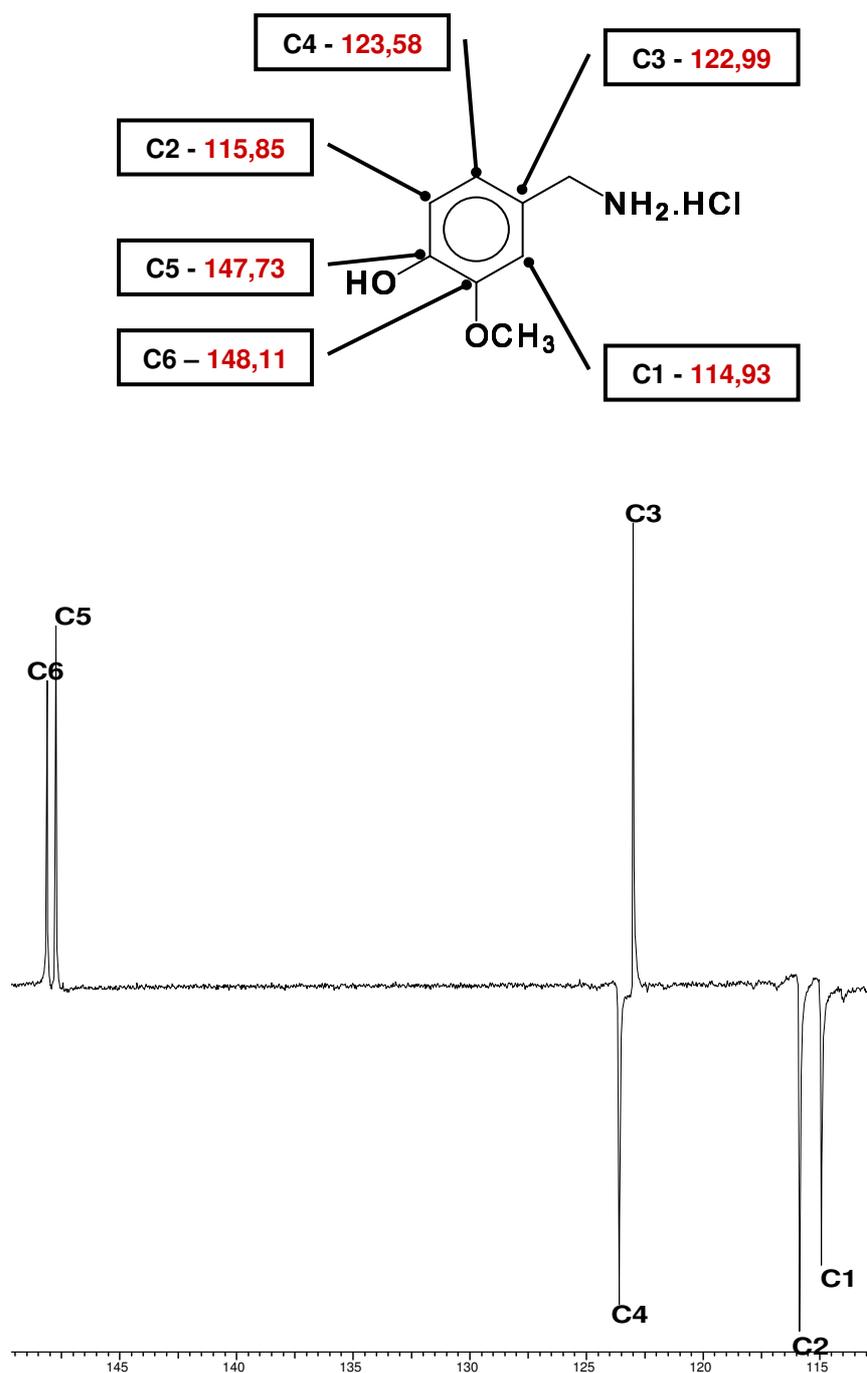
$J = 1,80$  Hz, respectivamente). Além disso, **H2** acopla com **H1** para dar um dublete em 6,77 ppm ( $J = 8,40$  Hz) e **H3** acopla com **H1** para dar um dublete em 7,21 ppm ( $J = 1,80$  Hz) (**Figura 13**) (GANNETT *et al.*, 1988). Adicionalmente, podemos observar que, devido à maior densidade eletrônica, **H2**, presente na posição *orto* em relação à hidroxila fenólica, está mais blindado do que **H1** e **H3**. Apesar de haver um efeito de desblindagem, proporcionada pelo grupo  $-\text{CH}_2\text{NH}_3^+$ , em **H1** e **H3** em relação a **H2**, existe uma diferença considerável entre o deslocamento químico destes dois hidrogênios. O maior efeito de blindagem em **H1** (presente na posição *para* em relação à metoxila) faz com que este hidrogênio apresente um menor valor de deslocamento químico que **H3** (**Figura 13**).



**Figura 13.** Expansão do espectro de RMN de  $^1\text{H}$ , em ppm: Acoplamento dos hidrogênios aromáticos da amina **43**.

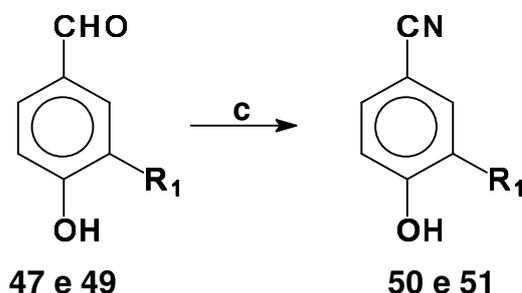
O espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  usando a técnica APT (“Attached Proton Test”) da amina **43** apresenta o deslocamento químico dos seis carbonos aromáticos (**Figura 14**). Neste espectro, podemos observar que **C1**, **C2** e **C4** são átomos de carbonos terciários, enquanto que **C3**, **C5** e **C6** são átomos carbonos quaternários (GANNETT *et al.*, 1988).

A considerável diferença de deslocamento químico encontrada para **C5** e **C6** em relação aos demais átomos de carbono, se deve pelo efeito da eletronegatividade do átomo de oxigênio dos substituintes hidroxila e metoxila diretamente ligados a estes carbonos, que deslocam os referentes sinais para a esquerda do espectro (**Figura 14**).



**Figura 14.** Expansão do espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (APT), em ppm, da amina **43**: deslocamento químico dos sinais dos átomos de carbono aromáticos.

#### 4.5.2 Síntese de nitrilas a partir de aldeídos



**(47) Vanilina,  $R_1 = \text{OMe}$**

**(49) 4-Hidróxi-benzaldeído,  $R_1 = \text{H}$**

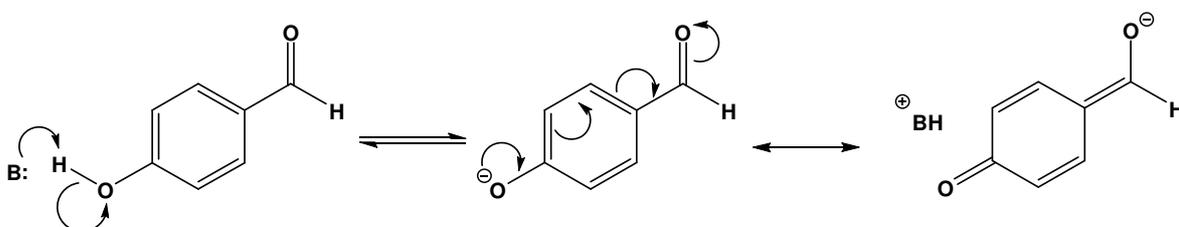
**(50) Vanilonitrila,  $R_1 = \text{OMe}$  (66%)**

**(51) 4-Ciano-fenol,  $R_1 = \text{H}$  (60%)**

**(c)**  $\text{H}_2\text{NOH.HCl}$ ,  $\text{NaI}$ ,  $\text{MeCN}$ , refluxo, 4h.

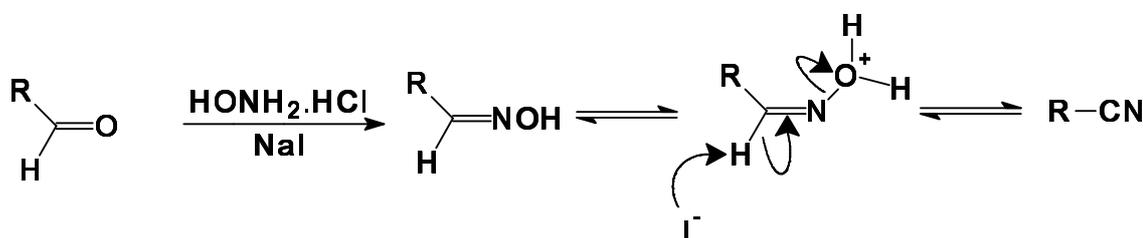
As nitrilas **50** e **51** foram preparadas a partir dos aldeídos **47** e **49** empregando o método de Ballini e colaboradores (BALLINI, FIORINI e PALMIERI, 2003). Muitos métodos sintéticos envolvem a conversão inicial de aldeídos em oximas, que são desidratadas para formar nitrilas (TALUKDAR *et al.*, 2001). Na literatura, encontramos várias metodologias que descrevem a conversão direta de aldeídos nas respectivas nitrilas, como o emprego de: a)  $\text{HONH}_2.\text{HCl}$ ,  $(\text{Et})_3\text{N}$  e anidrido ftálico (WANG e LI, 1998); b) N-metil-pirrolidona e  $\text{HONH}_2.\text{HCl}$  sob irradiação de microondas (CHAKRABORTI e KAUR, 1999); c)  $\text{NH}_3$  e  $\text{I}_2$  em meio aquoso (TALUKDAR *et al.*, 2001); d)  $\text{HONH}_2.\text{HCl}$  e  $\text{MeSO}_2\text{Cl}$  em  $\text{Al}_2\text{O}_3$  seca (SHARGHI e SARVARI, 2002). Estes procedimentos, entretanto, fazem uso de reagentes que são onerosos e tóxicos, necessitam de longo tempo de reação e apresentam baixos rendimentos. Além disso, a presença de hidroxilas fenólicas em ambos os aldeídos (**47** e **49**) impede a utilização de procedimentos em meios excessivamente básicos, como  $\text{NH}_3(\text{aq})$  e  $\text{I}_2$  (TALUKDAR *et al.*, 2001). Sob condições

básicas tem-se a formação de uma apreciável quantidade do ânion fenóxido, que inativa a carbonila do aldeído, diminuindo a reatividade deste grupo frente ao ataque nucleofílico de  $\text{HONH}_2$  (**Esquema 5**).



**Esquema 5.** Desativação do grupo carbonila, frente a um ataque nucleofílico, devido à formação do íon fenóxido.

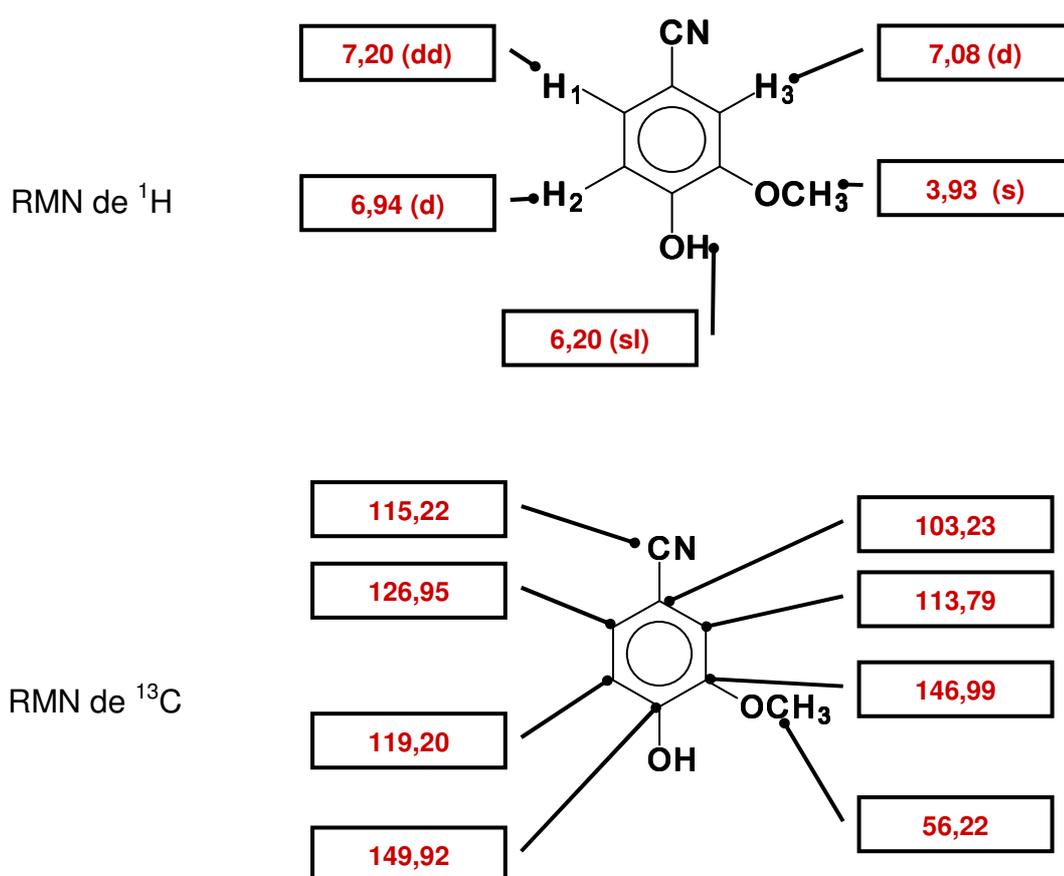
Contudo, utilizando o procedimento descrito por Ballini e colaboradores (BALLINI, FIORINI e PALMIERI, 2003), obtivemos as nitrilas **50** e **51**, diretamente dos respectivos aldeídos, e em bons rendimentos (66% e 60%, respectivamente). Nesta metodologia, a utilização de um solvente polar aprótico (MeCN), assim com a presença de 50% mol de NaI, produz facilmente, via formação de aldoxima *in situ*, a respectiva nitrila (**Esquema 6**).



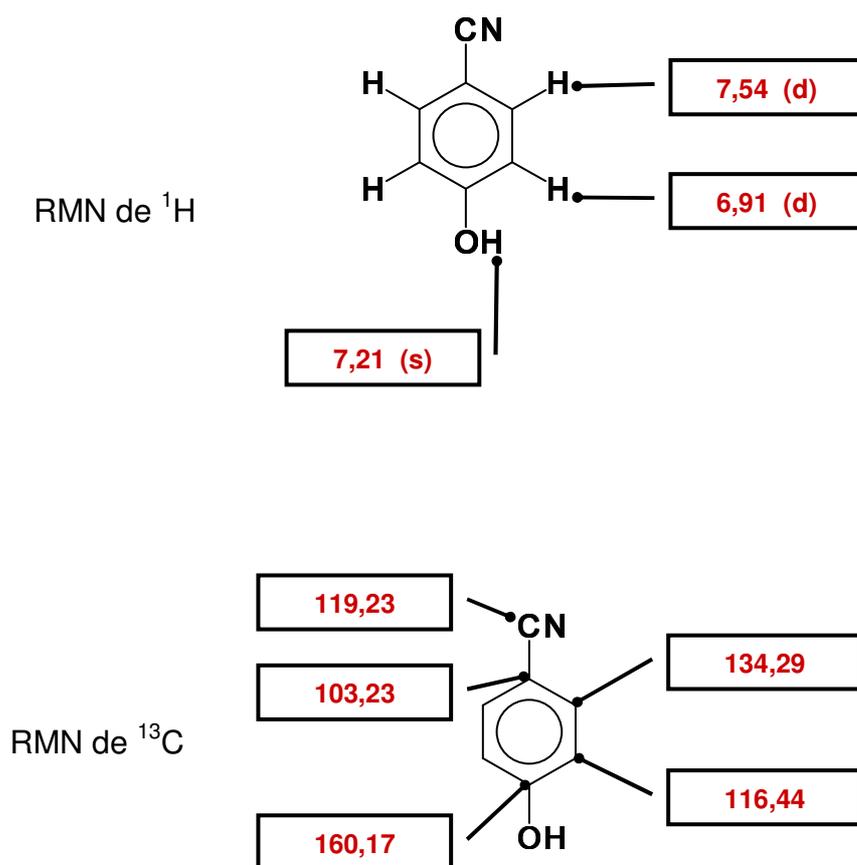
**Esquema 6.** Esquema de intermediários na formação de nitrilas a partir de aldeídos.

As nitrilas **50** e **51** foram caracterizadas pelos pontos de fusão (87°C e 112°C, respectivamente) e pelos espectros de IV e RMN de  $^1\text{H}$  e de  $^{13}\text{C}$ . Os espectros de IV de ambas as nitrilas apresentam bandas de deformação axial da ligação O–H da hidroxila fenólica em  $3287\text{ cm}^{-1}$  e  $3373\text{ cm}^{-1}$ , respectivamente, assim como bandas de deformação axial da ligação C≡N da nitrila em  $2229\text{ cm}^{-1}$  e  $2233\text{ cm}^{-1}$  (SHARGHI e SARVARI, 2002).

O espectro de RMN de  $^1\text{H}$  da vanilonitrila (**50**) apresenta os mesmos acoplamentos, entre os hidrogênios aromáticos **H1**, **H2**, **H3**, que a amina **43**. Diferentemente, a nitrila **51** exibe um acoplamento *orto* entre **H1** e **H2** ( $J = 8,00\text{ Hz}$ ), confirmando o padrão de substituição *para*. Os assinalamentos dos espectros de RMN de  $^1\text{H}$  e de  $^{13}\text{C}$  das nitrilas **50** e **51** encontram-se descritos nas **Figuras 15** e **16** (WANG e LIN, 1998).

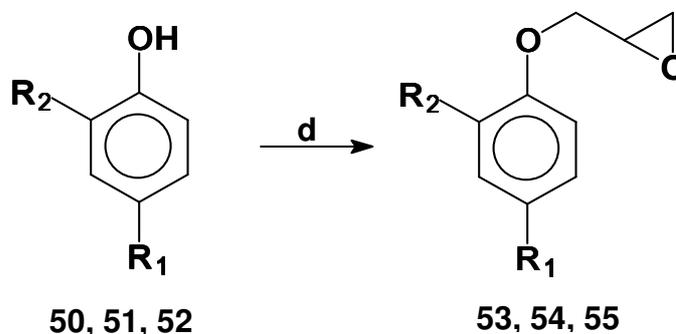


**Figura 15.** Assinalamento, em ppm, por RMN de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  dos átomos de hidrogênio e de carbono da nitrila **50**.



**Figura 16.** Assinalamento, em ppm, por RMN de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  dos átomos de hidrogênio e de carbono da nitrila **51**.

### 4.5.3 Preparação dos epóxidos 53, 54 e 55



(50) Vanilonitrila,  $R_1 = \text{CN}$  e  $R_2 = \text{OMe}$

(51) 4-Ciano-fenol,  $R_1 = \text{CN}$  e  $R_2 = \text{H}$

(52) Nipagin,  $R_1 = \text{CO}_2\text{Me}$  e  $R_2 = \text{H}$

(53)  $R_1 = \text{CN}$  e  $R_2 = \text{OMe}$  (88%)

(54)  $R_1 = \text{CN}$  e  $R_2 = \text{H}$  (87%)

(55)  $R_1 = \text{CO}_2\text{Me}$  e  $R_2 = \text{H}$  (77%)

(d) epicloridrina,  $\text{K}_2\text{CO}_3$ , refluxo, 1h.

Utilizando a metodologia descrita por Liang e colaboradores (LIANG *et al.*, 2002), que emprega solução de EtOH,  $\text{H}_2\text{O}$  e NaOH, o epóxido **53** foi obtido com rendimento de 71%. Apesar disso, quando utilizamos este mesmo procedimento para a preparação de **54** e **55** a partir dos fenóis correspondentes (**51** e **52**), não evidenciamos a formação dos produtos desejados.

Contudo, quando seguimos a metodologia descrita por Srivastava e colaboradores (SRIVASTAVA *et al.*, 2004), onde não se emprega solvente prótico, os três epóxidos (**53**, **54** e **55**) foram formados em excelentes rendimentos.

Diferentemente dos fenóis **51** e **52**, o fenol **50** apresenta o grupo  $-\text{OCH}_3$  em posição *orto* à hidroxila fenólica. Assim, a presença deste substituinte pode estar provocando dois efeitos: o primeiro está relacionado ao efeito estérico deste grupo,

que impede que ânion fenóxido formado seja solvatado pelo meio polar prótico e o segundo está relacionado ao efeito eletrônico deste grupo na posição *orto* ( $\sigma_o^- = -0,2$ ) que pode desestabilizar o ânion formado, tornando-o mais reativo.

A análise estrutural dos epóxidos foi feita a partir dos espectros de IV e de RMN de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ .

O espectro de IV para o epóxido **53** exibe as bandas de deformação axial da ligação C $\equiv$ N em  $2228\text{ cm}^{-1}$  e da ligação C=C do anel aromático em  $1600\text{-}1515\text{ cm}^{-1}$  (SIVERSTAIN e WEBSTER, 2000). As deformações axiais simétrica e assimétrica da ligação C–O–C do anel oxirano absorvem em  $1272\text{-}1251\text{ cm}^{-1}$  e  $875\text{-}804\text{ cm}^{-1}$ , respectivamente (CHUNG *et al.*, 2001).

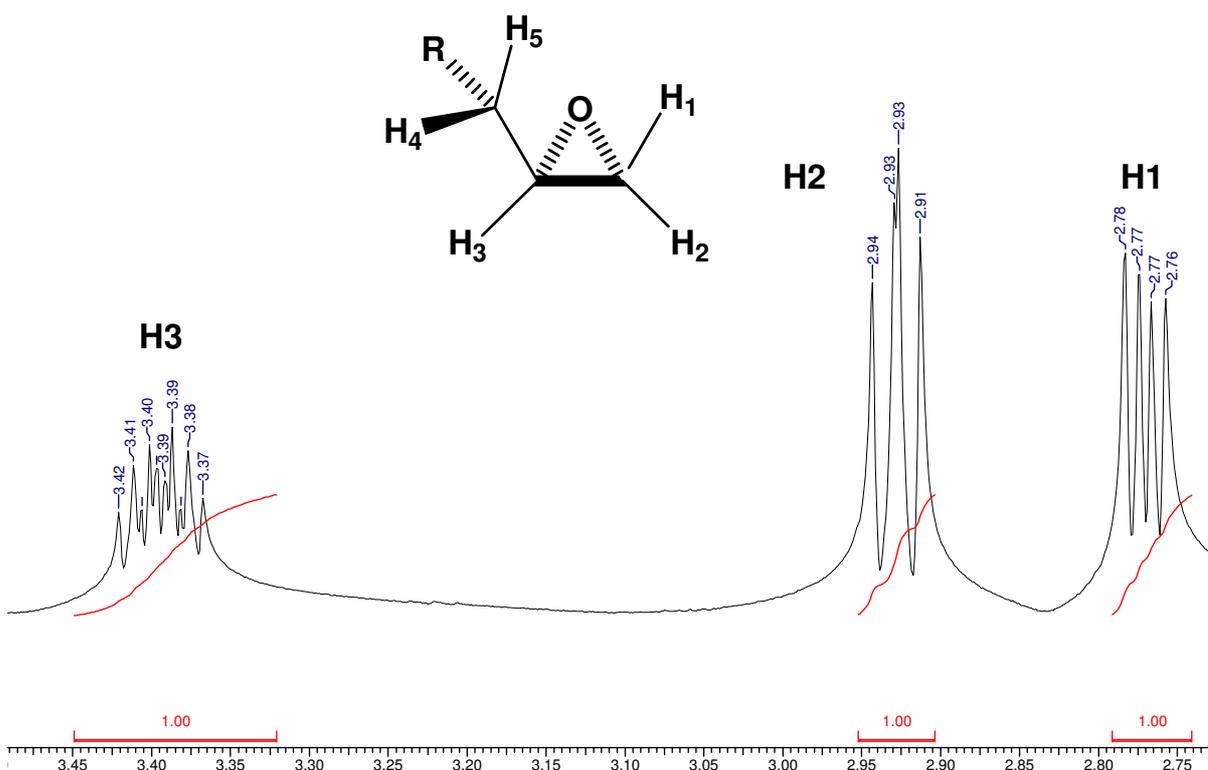
Em analogia estrutural ao epóxido **53**, **54** também apresenta as bandas de deformação axial de C $\equiv$ N em  $2221\text{ cm}^{-1}$  e de C=C de anel aromático em  $1604\text{-}1508\text{ cm}^{-1}$ , assim como as bandas referentes às deformações axiais simétrica e assimétrica de C–O–C em  $1258\text{ cm}^{-1}$  e  $840\text{-}824\text{ cm}^{-1}$ , respectivamente.

No espectro de IV do epóxido **55** temos a presença de bandas relacionadas à de deformação axial da carbonila de éster em  $1709\text{ cm}^{-1}$  (SILVERSTEIN e WEBSTER, 2000), deformação axial da ligação C=C de aromático em  $1604\text{-}1610\text{ cm}^{-1}$ , assim como as bandas referentes às deformações axiais simétrica e assimétrica do anel oxirano em  $1281\text{-}1256\text{ cm}^{-1}$  e  $849\text{-}772\text{ cm}^{-1}$ , respectivamente.

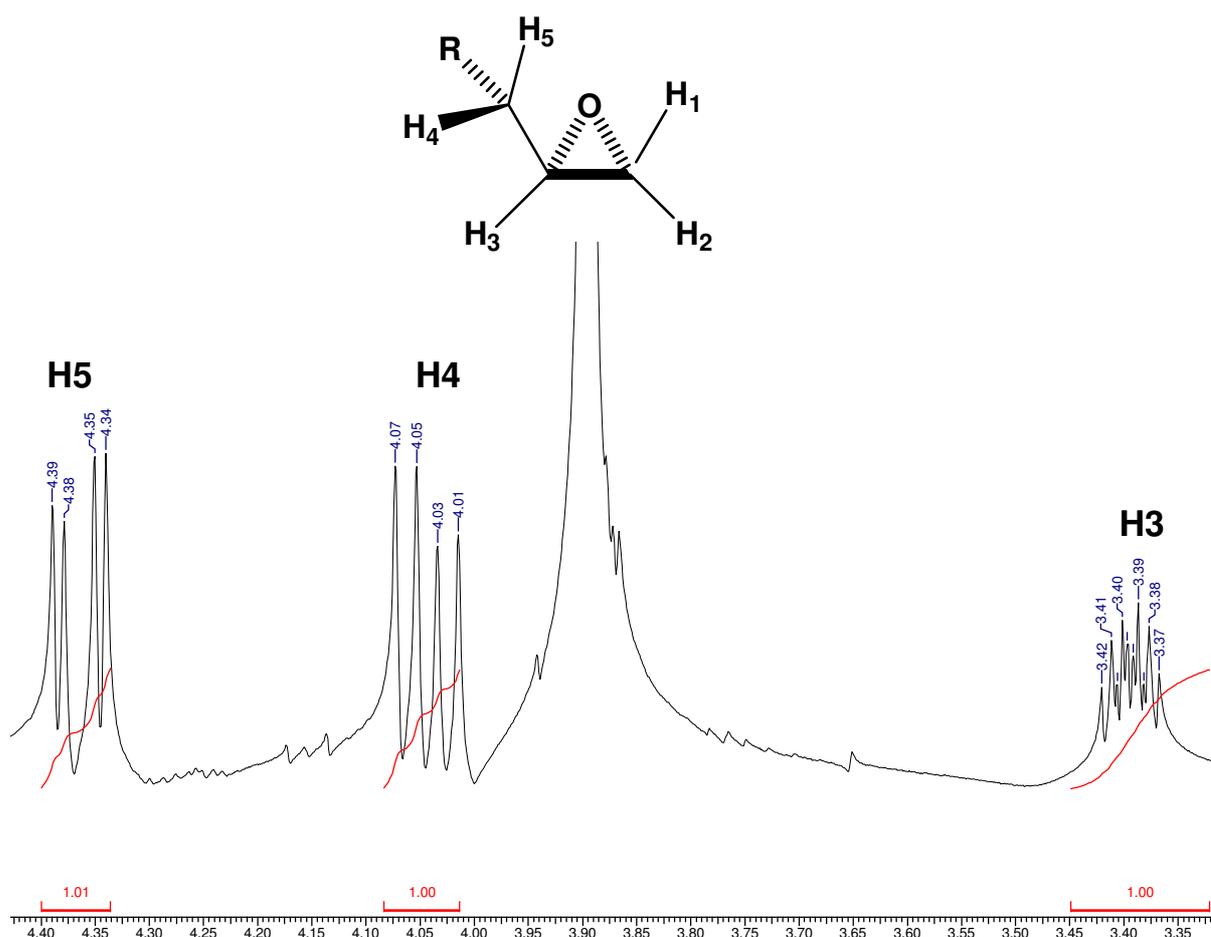
O espectro de RMN  $^1\text{H}$  de ambos os epóxidos (**53**, **54** e **55**) exibe acoplamentos entre os hidrogênios do anel oxirano (**H1**, **H2** e **H3**) (PAVIA, LAMPMAN e KRIZ, 1996; CHUNG *et al.*, 2001; JINDAL *et al.*, 2003), assim como o acoplamento do hidrogênio **H3** com os hidrogênios metilênicos **H4** e **H5** (CHUNG *et al.*, 2001).

A **Figura 17** mostra o acoplamento entre os hidrogênios **H1**, **H2** e **H3** do anel oxirano de **53**. Neste sistema, **H1** acopla com os hidrogênios **H2** ( $J = 4,80$  Hz) e **H3** ( $J = 2,60$  Hz) para formar um duplo dublete. Da mesma forma, **H2** acopla **H1** ( $J = 4,80$  Hz) e **H3** ( $J = 4,10$  Hz), resultando também em um duplo dublete.

A **Figura 18** mostra o acoplamento de **H3** do anel oxirano com os hidrogênios metilênicos **H4** e **H5**. O hidrogênio **H3** acopla tanto com **H1** ( $J = 2,60$  Hz) e **H2** ( $J = 4,10$  Hz) quanto com os hidrogênios **H4** ( $J = 5,80$  Hz) e **H5** ( $J = 2,90$  Hz), dando origem à um multiplete (**Figura 17** e **18**). Os hidrogênios **H4** e **H5** ( $J = 11,10$  Hz) também se acoplam entre si e com **H3** ( $J = 5,80$  Hz e  $J = 2,90$  Hz, respectivamente), formando dois duplo dubletes (**Figura 18**).

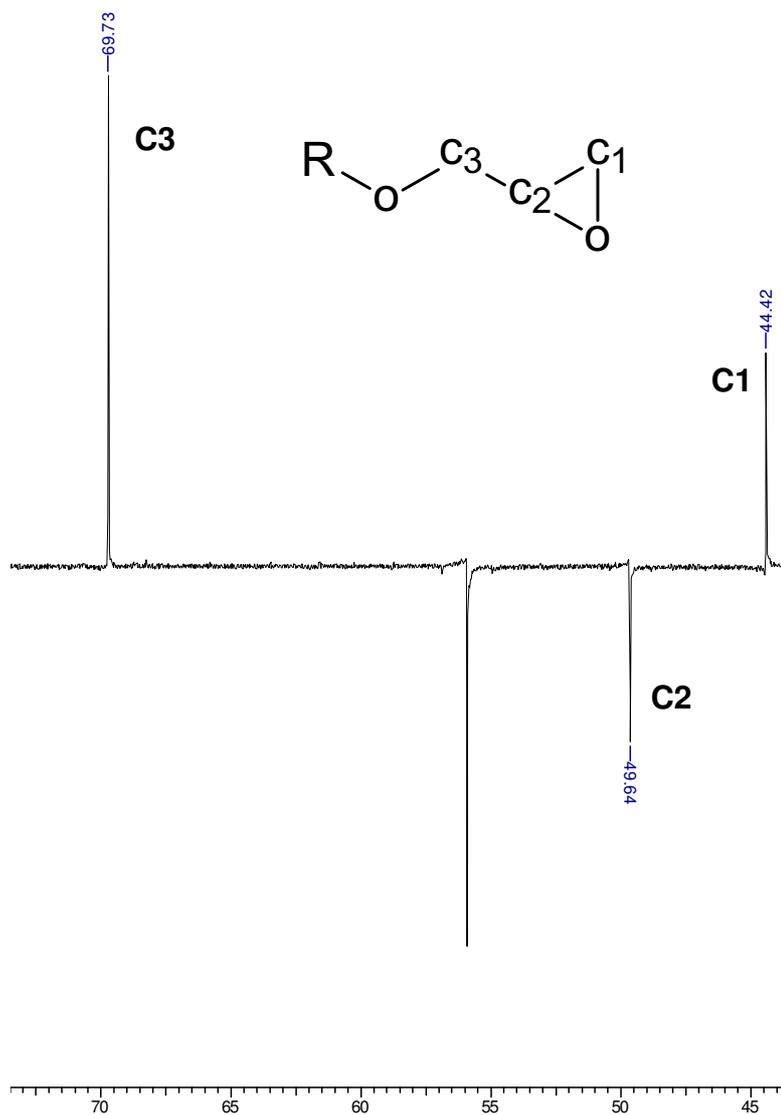


**Figura 17.** Expansão do espectro de RMN de  $^1\text{H}$ , em ppm: Acoplamento dos hidrogênios do anel oxirano do epóxido **53**.



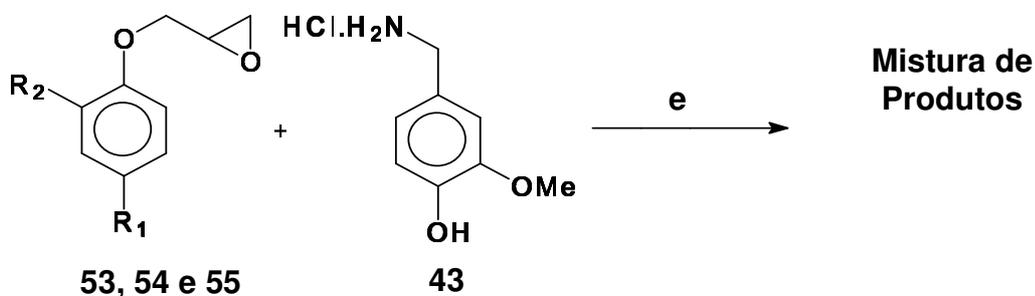
**Figura 18.** Expansão do espectro de RMN de  $^1\text{H}$ , em ppm, do epóxido **54**: Acoplamento do hidrogênio **H3** com os hidrogênios metilênicos **H4** e **H5**.

Os espectros de RMN de  $^{13}\text{C}$  dos epóxidos **53**, **54** e **55** exibem sinais dos carbonos  $-\text{CH}-$  e  $-\text{CH}_2-$  do anel oxirano em 49,65-49,89 ppm e 44,42-44,57 ppm, respectivamente, assim como o metileno da cadeia lateral em 68,85-69,73 ppm (CHUNG *et al.*, 2001). A **Figura 19** apresenta uma expansão do espectro de APT do epóxido **53** com os deslocamentos químicos dos carbonos do anel oxirano (**C1** e **C2**) e do carbono metilênico da cadeia lateral (**C3**).



**Figura 19.** Expansão do espectro RMN de <sup>13</sup>C (APT), em ppm, do epóxido **53**: deslocamento químico dos carbonos **C1**, **C2** e **C3**.

#### 4.5.4 Abertura dos epóxidos 53, 54 e 55 com a amina 43



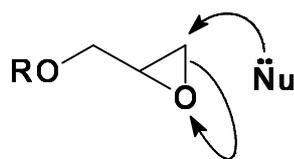
**(53)  $\text{R}_1 = \text{CN}$  e  $\text{R}_2 = \text{OMe}$**

**(54)  $\text{R}_1 = \text{CN}$  e  $\text{R}_2 = \text{H}$**

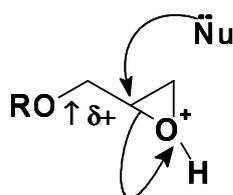
**(55)  $\text{R}_1 = \text{CO}_2\text{Me}$  e  $\text{R}_2 = \text{H}$**

**(e)** EtOH absoluto,  $\text{K}_2\text{CO}_3$ , refluxo, 6 h

Os  $\beta$ -bloqueadores da série das ariloxipropanolaminas são comumente preparados a partir da reação regiosseletiva, promovida em meio básico, de um epóxido e uma amina (MAIN e TUCKER, 1993). Quando a abertura de um anel epóxido não simétrico é catalisada por base, o ataque nucleofílico ocorre, principalmente, no átomo de carbono menos substituído. Este fato é justificado por um mecanismo de reação do tipo  $\text{S}_{\text{N}}2$ , onde substratos primários, com menor impedimento estérico, reagem mais rapidamente. Diferentemente, quando a catálise é ácida, o ataque nucleofílico ocorre, principalmente, no átomo de carbono mais substituído. Neste caso, a reação é do tipo  $\text{S}_{\text{N}}1$ , onde o átomo de carbono mais substituído possui uma densidade de carga positiva ( $\delta^+$ ) (BRUCKNER, 2001) (Figura 20).



(a)



(b)

**Figura 20.** Regiosseletividade na abertura de epóxidos: (a) reação catalisada por base; e (b) reação catalisada por ácido.

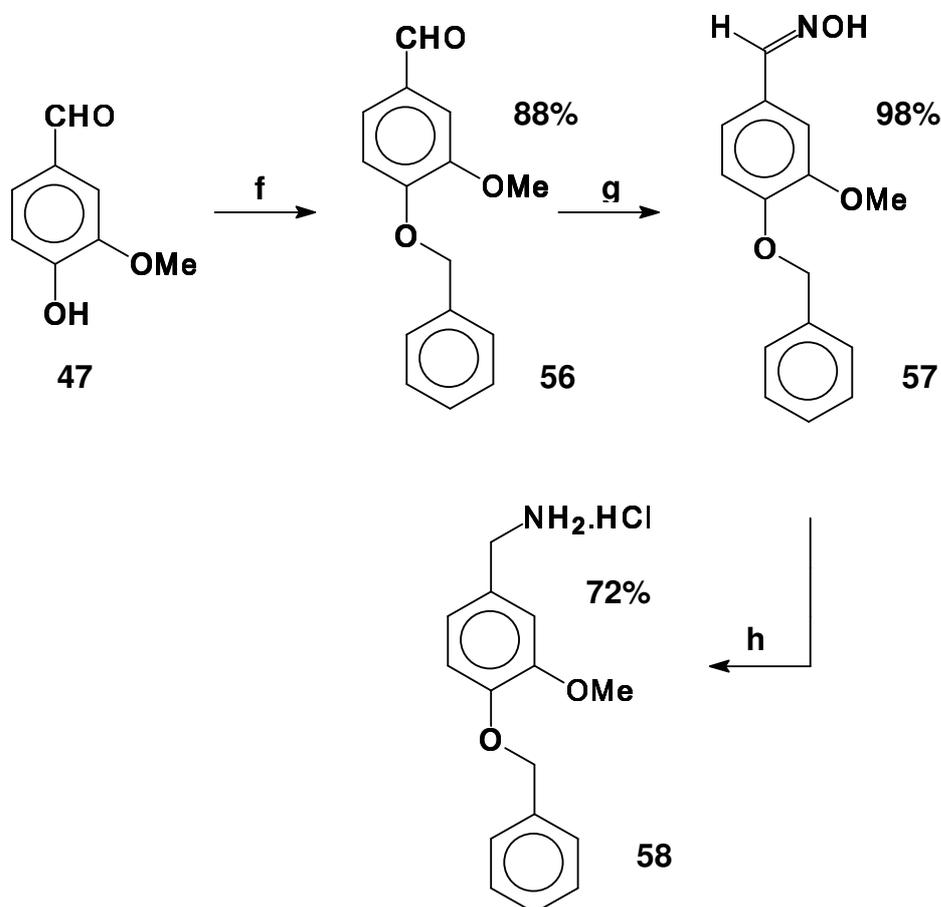
A metodologia descrita por Srivastava e colaboradores (SRIVASTAVA *et al.*, 2004), para a abertura de epóxidos por aminas, emprega  $K_2CO_3$  em etanol absoluto, sob refluxo. No entanto, ao utilizarmos este procedimento para a condensação dos epóxidos **53**, **54** e **55** com a amina **43**, verificamos por cromatografia em camada fina (CCF) a formação de vários produtos.

Este resultado pode ser explicado, em parte, pela presença da hidroxila fenólica na amina **43**, que em meio básico pode gerar o ânion fenóxido. Assim, o ataque nucleofílico pode ser feito tanto pelo nitrogênio da amina quanto pelo oxigênio do ânion fenóxido, o que possibilita a formação de mais de um produto. Além disso, o aquecimento do meio reacional também pode interferir na regiosseletividade, visto que este fator aumenta a probabilidade do ataque

nucleofílico ocorrer no carbono mais substituído do anel oxirano, levando, da mesma maneira, a formação de vários produtos.

A partir deste resultado, resolvemos proteger a hidroxila fenólica da amina **43**, e também realizar a reação de abertura dos epóxidos sob temperatura ambiente, com o intuito de evitar a formação de uma mistura de produtos.

#### 4.5.5 Síntese do cloridrato da amina **58**



(f) BnCl, K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, MeCN, refluxo, 7 h (g) HONH<sub>2</sub>.HCl, NaOH, H<sub>2</sub>O, THF, t.a., 10 min

(h) 1) LiAlH<sub>4</sub>, THF seco, refluxo, 2 h; 2) HCl, EtO<sub>2</sub>, 0°C.

A preparação da amina **58** teve, assim como **43**, a vanilina (**47**) como produto de partida. No entanto, este aldeído (**47**), antes de ser convertido na respectiva

oxima, foi protegido com um grupo benzila. A reação de proteção foi realizada pelo tratamento de **43** com cloreto de benzila (BnCl) em meio básico, utilizando acetonitrila (MeCN) como solvente. O uso de solvente polar aprótico (MeCN) levou a formação de **56** em menor tempo reacional do que em solvente prótico, como, por exemplo, etanol absoluto (POUYSÉGU, AVELLAN e QUIDEAU, 2002). Este resultado pode ser explicado pela incapacidade da MeCN em solvatar ânions. Desta forma, como o íon fenóxido formado não é estabilizado pelo solvente (meio reacional), o ataque nucleofílico ao carbono benzílico (Ar-CH<sub>2</sub>-Cl), acontece mais rapidamente do que quando o meio é prótico, formando a vanilina benzilada (**56**) em apenas uma hora de reação.

Após a etapa de proteção, **56** foi convertido na respectiva oxima (**57**) com excelente rendimento (98%). Esta reação foi conduzida nas mesmas condições descritas para a preparação da oxima **48**, com a exceção de um único detalhe. Por **56** ser mais lipofílico do que **47**, se faz necessária a adição de pequena quantidade de THF (tetrahidrofurano) à mistura reacional contendo o aldeído benzilado (**56**), ao invés de etanol. Este pequeno cuidado torna o meio homogêneo, fazendo com que **57** seja formado em apenas 10 minutos e com alto grau de pureza.

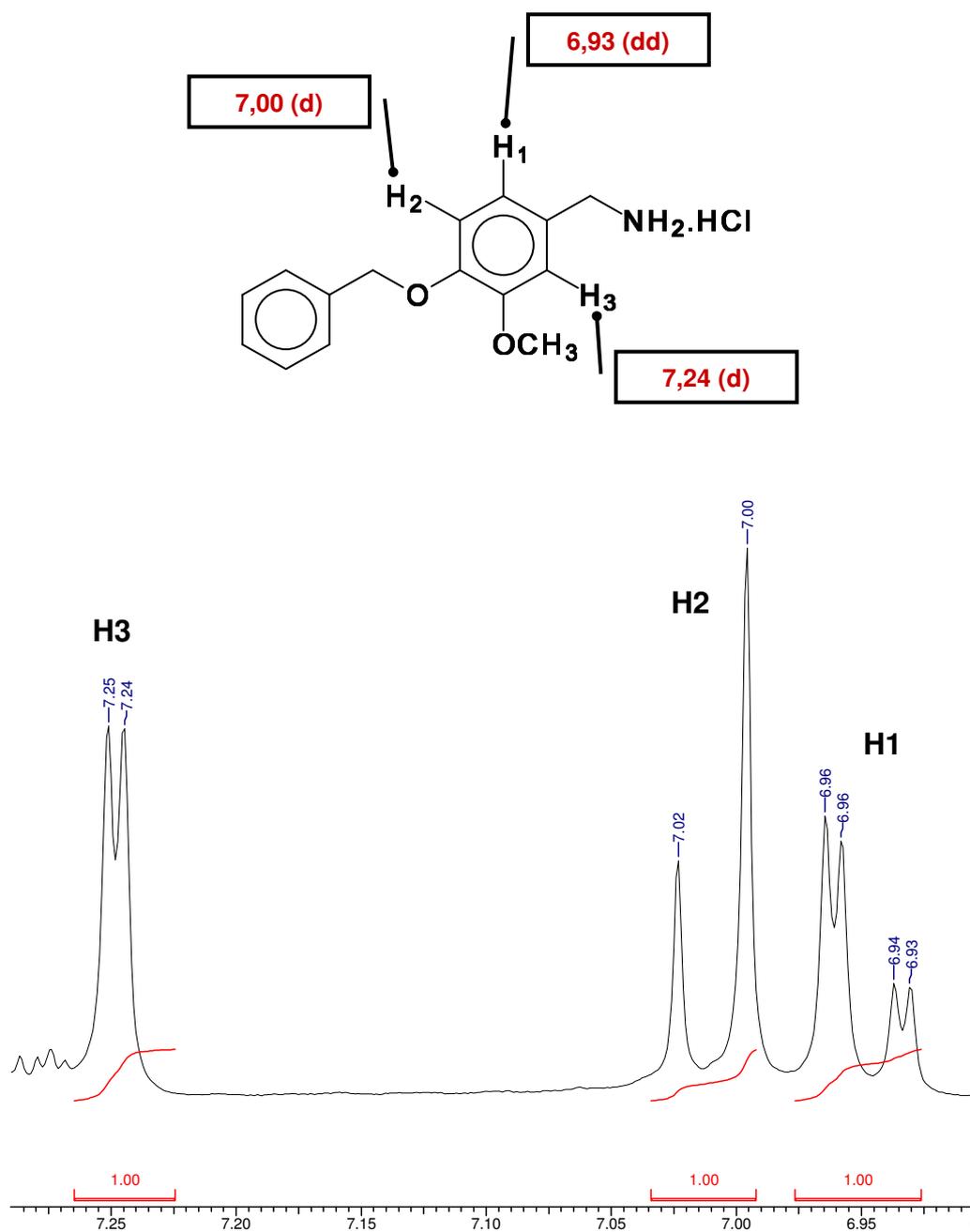
Diferentemente da rota seguida para a preparação de **43**, a oxima **57** foi reduzida pelo tratamento com hidreto de lítio e alumínio (LiAlH<sub>4</sub>) (RAMIREZ e BURGER, 1950; KUBO *et al.*, 1987). Apesar de reduzir oximas em rendimento menor (75%) do que o obtido com a metodologia descrita por Gannet e colaboradores (GANNETT *et al.*, 1988), o LiAlH<sub>4</sub> consegue reduzir **57** sem que haja a desproteção do grupo fenólico, o que não acontece quando utilizamos Pd/C e H<sub>2</sub>. Neste procedimento, a oxima benzilada (**57**) foi adicionada lentamente em uma suspensão

de  $\text{LiAlH}_4$  em THF sob banho de gelo. A adição lenta, assim como o banho de gelo, evita que haja a degradação de **57** pelo aumento exacerbado da temperatura.

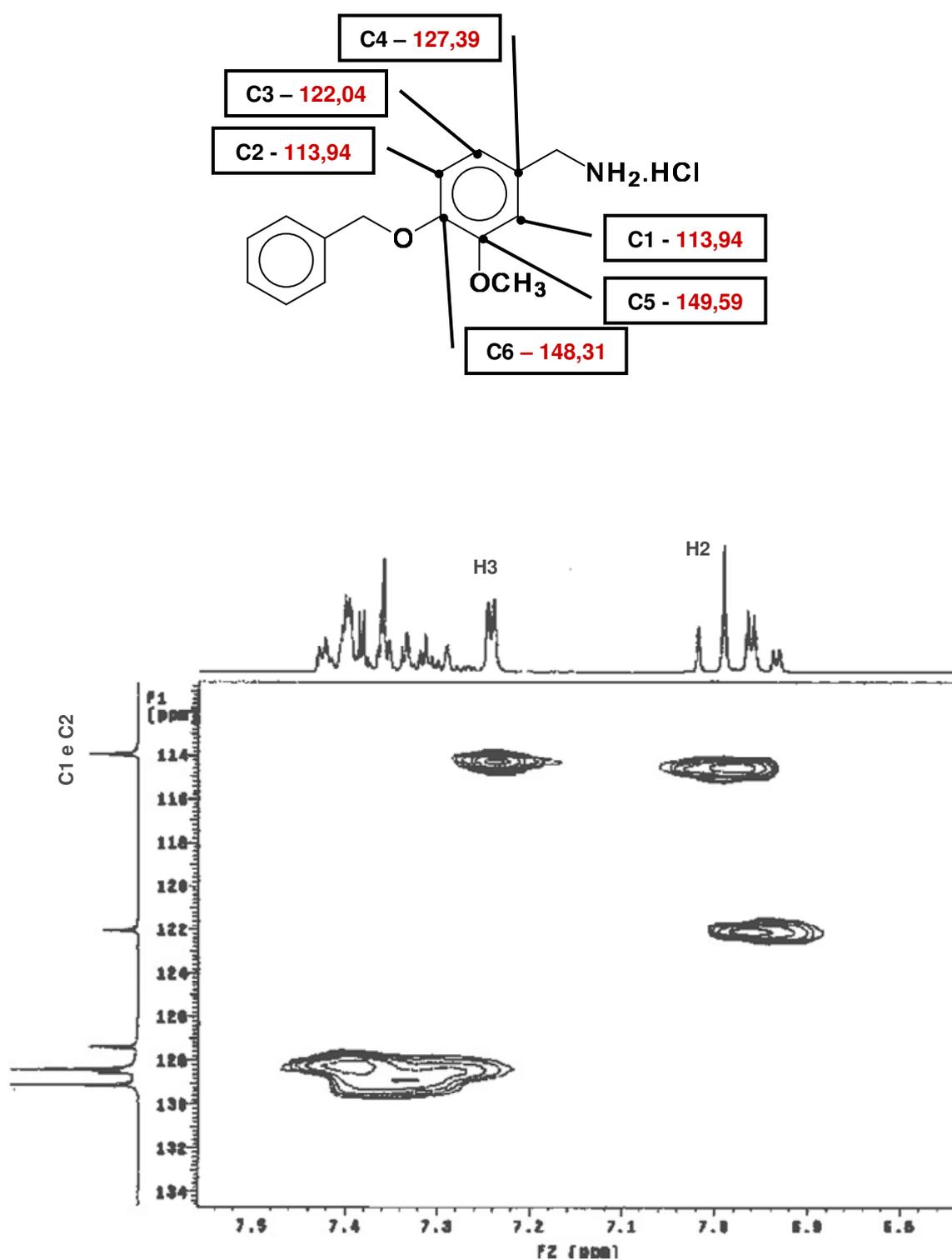
Assim como no caso da amina **43**, o espectro de IV da amina **58** apresenta uma banda larga referente à deformação axial da ligação N–H do sal de amina em  $2954\text{--}2607\text{ cm}^{-1}$ , uma banda em  $2059\text{ cm}^{-1}$ , atribuída a uma combinação das vibrações de deformação angular assimétrica e torcional do grupo  $\text{NH}_3^+$ , assim como a banda em  $1595\text{--}1522\text{ cm}^{-1}$  relacionada com a deformação axial da ligação C=C de aromático (SILVERSTEIN e WEBSTER, 2000).

Como evidenciado para **43**, o espectro de RMN de  $^1\text{H}$  da amina **58** mostra o acoplamento entre os hidrogênios aromáticos **H1**, **H2** e **H3** (Figura 21). No entanto, apesar de **H1** e **H3** apresentarem o mesmo deslocamento descrito para **43**, **H2**, neste caso, exibe um deslocamento maior. Este maior deslocamento pode ser explicado pela diminuição da densidade eletrônica, provocada pela benzilação da hidroxila fenólica, o que torna **H2** menos blindado.

Comparando os espectros de RMN de  $^{13}\text{C}$  das aminas **43** e **58**, verificamos que a benzilação da hidroxila fenólica não provocou uma mudança significativa no deslocamento químico dos carbonos presentes no anel vanilóide. No entanto, a partir da análise do espectro HMQC, observamos uma sobreposição dos sinais dos carbonos **C1** e **C2** que apresentam o mesmo valor de deslocamento químico (Figura 22). Apesar de não ter alterado o deslocamento dos outros átomos de carbono presentes no núcleo vanilóide, a diminuição da densidade eletrônica na posição *orto* (**C2**), provocada pela presença do grupo benzilóxi, pode ter influenciado o ambiente químico em **C2** e **C1**, fazendo os sinais coalescerem.

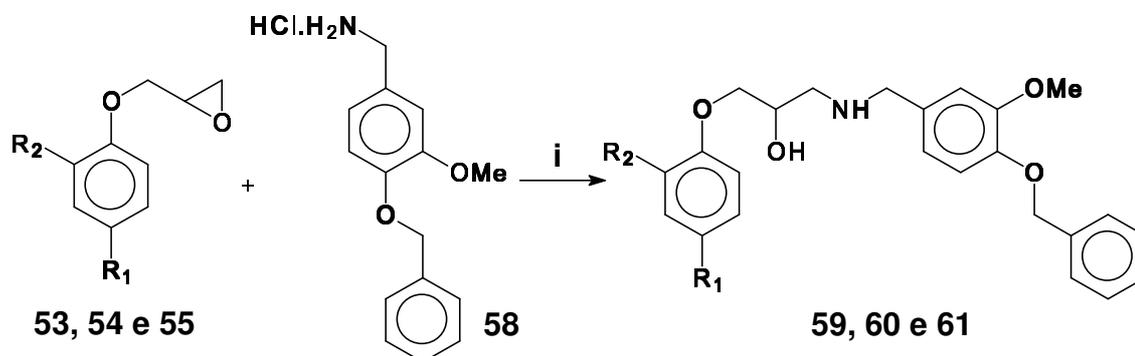


**Figura 21.** Expansão do espectro de RMN de  $^1\text{H}$ , em ppm: Acoplamento dos hidrogênios aromáticos da amina **58**.



**Figura 22.** Espectro de HMQC da amina **58**, evidenciando o acoplamento dos carbonos aromáticos **C1** e **C2** com os hidrogênios aromáticos **H2** e **H3**.

#### 4.5.6 Abertura dos epóxidos 53, 54 e 55 com a amina 58



(53)  $R_1 = \text{CN}$  e  $R_2 = \text{OMe}$

(54)  $R_1 = \text{CN}$  e  $R_2 = \text{H}$

(55)  $R_1 = \text{CO}_2\text{Me}$  e  $R_2 = \text{H}$

(59)  $R_1 = \text{CN}$  e  $R_2 = \text{OMe}$  (53%)

(60)  $R_1 = \text{CN}$  e  $R_2 = \text{H}$  (76%)

(61)  $R_1 = \text{CO}_2\text{Et}$  e  $R_2 = \text{H}$  (43%)

(i)  $\text{EtOH}_{\text{ABS}}$ ,  $\text{K}_2\text{CO}_3$ , t.a., 72 h

Os epóxidos **53**, **54** e **55** foram submetidos à reação de abertura de anel com o emprego da amina benzilada **58** em meio básico e a temperatura ambiente. Apesar da reação ser mais lenta, a utilização da amina protegida **58**, assim como a condição de temperatura ambiente, levou a formação das ariloxipropanolaminas desejadas em bons rendimentos, sem que houvesse a formação de uma mistura intratável de produtos. Os compostos **60** e **61** foram convertidos à forma de cloridrato correspondente, enquanto que **59** se manteve estável na forma de base livre.

As ariloxipropanolaminas foram caracterizadas por espectros de IV e RMN de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ .

Os espectros de IV dos compostos **59**, **60** e **61** apresentam o mesmo perfil das ariloxipropanolaminas presentes nos trabalhos de Chung e colaboradores (CHUNG *et al.*, 2001), Huang e colaboradores (HUANG *et al.*, 2001), Jindal e colaboradores (JINDAL *et al.*, 2003) e Brizzi e colaboradores (BRIZZI, BRIZZI e

VATOLI, 2004). As três ariloxipropanolaminas (**59**, **60** e **61**) sintetizadas em nosso estudo exibem uma banda de deformação axial da ligação O–H de álcool em 3390-3215  $\text{cm}^{-1}$ . Adicionalmente, **60** e **61** apresentam banda de deformação axial da ligação N–H do sal de amina em 3139-2935  $\text{cm}^{-1}$ , enquanto **59** apresenta uma banda referente à deformação axial de amina livre em 3279  $\text{cm}^{-1}$ .

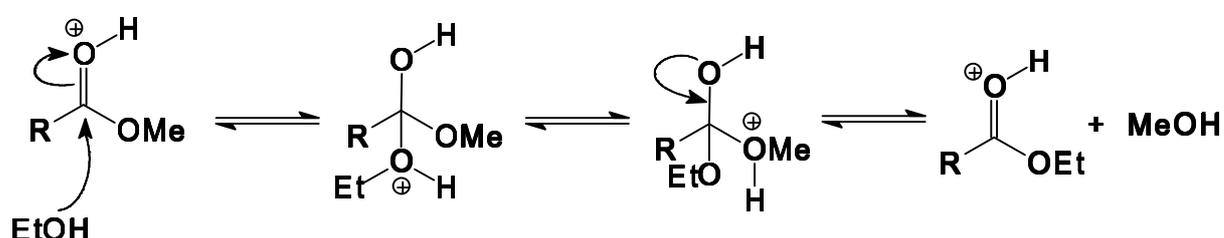
Os espectros de RMN de  $^1\text{H}$  das moléculas descritas por Chung e colaboradores (CHUNG *et al.*, 2001), Huang e colaboradores (HUANG *et al.*, 2001) e Brizzi e colaboradores (BRIZZI, BRIZZI e VATOLI, 2004) apresentam os mesmos sinais, referentes aos hidrogênios da cadeia propanolamina, que **59**, **60** e **61**.

O espectro de RMN  $^1\text{H}$  da ariloxipropanolamina **59** exhibe um multiplete em 2,54-2,62 ppm (2H,  $-\text{HCOH}-\underline{\text{CH}_2}-\text{NH}-$ ), dois singletes em 3,72-3,76 ppm (6H,  $2-\text{OCH}_3$ ) (HUANG *et al.*, 2001), um multiplete em 3,91-3,96 ppm (4H,  $-\text{O}-\underline{\text{CH}_2}-\text{HCOH}-$  e  $-\text{NH}-\underline{\text{CH}_2}-\text{Ar}-$ ), um multiplete em 4,00-4,04 ppm (1H,  $-\text{CH}_2-\underline{\text{H}}\text{COH}-\text{CH}_2-$ ), um singlete em 5,02 ppm (2H,  $-\text{O}-\underline{\text{CH}_2}-\text{Ph}$ ), um multiplete 6,73-7,43 ppm (11H, Ar-H).

O espectro de RMN  $^1\text{H}$  de **60** exhibe os mesmos sinais descritos para **59**, com a exceção de um dos singletes em 3,76 ppm, referente aos hidrogênios da metoxila da porção vanilonitrila. No entanto, no espectro de **60** existe um dublete em 7,72-7,76 ppm (2H, Ar-H) referente aos dois hidrogênios aromáticos presentes na posição *orto* em relação do grupo  $-\text{CN}$ , o que não acontece em **59**.

O espectro de RMN  $^1\text{H}$  de **61** apresenta o mesmo perfil de **60**, com exceção da presença de um triplete em 1,3 ppm (3H,  $-\text{CH}_3$ ) e um quartete em 4,2-4,4 ppm (3H,  $-\text{CH}_2-\text{CH}_3$  e  $-\text{CH}_2-\underline{\text{H}}\text{COH}-\text{CH}_2-$ ) (HUANG *et al.*, 2001). Ao analisarmos este último espectro vimos que, diferentemente do esperado, existe a presença de um éster etílico e não metílico. Esta transesterificação pode ser explicada pela

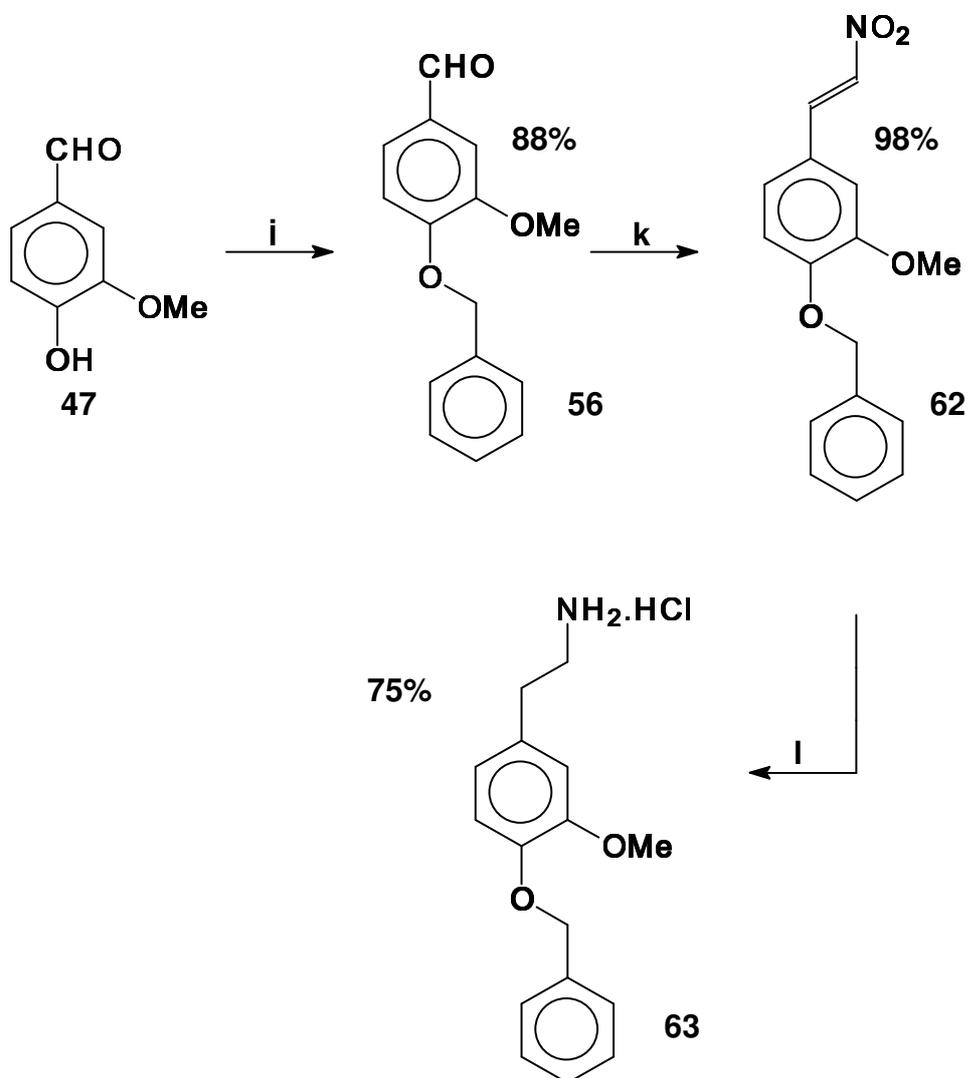
quantidade de etanol que adicionamos para converter o composto **61**, que se encontrava na forma de amina livre, em cloridrato. Com o meio extremamente ácido, a carbonila do éster metílico foi provavelmente ativada e, como conseqüência, se tornou reativa frente ao ataque nucleofílico pelo excesso de etanol presente no meio, produzindo, assim, o respectivo éster etílico (**Esquema 7**).



**Esquema 7.** Esquema de intermediários da formação do grupo éster etílico presente em **61**.

As três ariloxipropanolaminas (**59**, **60** e **61**) exibem, em seus espectros de RMN de  $^{13}\text{C}$ , sinais dos carbonos alifáticos ( $\text{HCOH}-\underline{\text{C}}\text{H}_2-\text{NH}-$ ) em 48,39-48,60 ppm, ( $-\text{HN}-\underline{\text{C}}\text{H}_2-\text{Ar}-$ ) em 50,04-50,09 ppm, ( $-\text{H}\underline{\text{C}}\text{OH}-$ ) em 64,67-64,74 ppm, ( $\text{Ph}-\text{O}-\underline{\text{C}}\text{H}_2-\text{Ar}-$ ) em 69,74-69,82 ppm e ( $\text{Ar}-\text{O}-\underline{\text{C}}\text{H}_2-\text{HCOH}-$ ) em 69,94-70,59 ppm (CHUNG *et al.*, 2001, MUTHUKRISHNAN *et al.*, 2007). Além do mais, **59** e **60** apresentam um sinal em 119,13-119,30 ppm, referente ao carbono do grupo  $\text{Ar}-\underline{\text{C}}\text{N}$ . Diferentemente, o composto **60** apresenta um pico em 165,37 ppm referente à ao carbono da carboxila de éster, assim como a presença dos sinais em 14,3 ppm e em 60,4 ppm, referentes aos carbonos  $-\underline{\text{C}}\text{H}_3$  e  $-\underline{\text{C}}\text{H}_2-$  da cadeia alquílica do grupo éster.

#### 4.5.7 Síntese do cloridrato da amina **63**



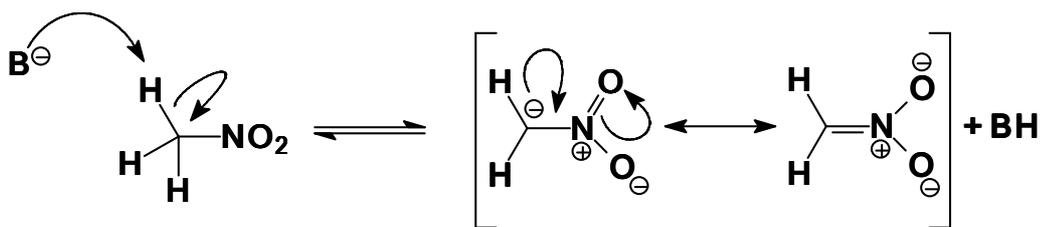
(j) BnCl, K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, MeCN, refluxo, 7 h (k) MeNO<sub>2</sub>, HOAc, NH<sub>4</sub>OAc, refluxo, 3 h (l) 1) LiAlH<sub>4</sub>, THF seco, refluxo, 2 h; 2) HCl, EtO<sub>2</sub>, 0°C.

A amina **63** foi obtida pela rota descrita por Batra e colaboradores (BATRA *et al.*, 2003). Assim, da mesma forma que **58**, o tratamento de **47** com cloreto de benzila (BnCl) em meio básico, utilizando MeCN como solvente, e refluxo, levou a formação do benzaldeído **56** com 88% de rendimento.

Em seguida, a preparação do  $\beta$ -nitro-estireno **62** foi feita pela reação do benzaldeído **56** com nitro-metano (reação de Henry) (MCNULTY, STEERE e WOLF, 1998). Esta condensação tem sido geralmente catalisada por (a) bases, como por exemplo, KOH em metanol, NaOH em água ou metilamina em metanol (OTTO e GRAEFE, 1952); (b) soluções tampão contendo um par de ácido-base conjugado, como  $\text{NH}_4\text{OH}$  em HOAc sob refluxo (GAIRAUD e LAPPIN, 1953 *apud* WANG e WANG, 2002) ou sonicada em ultra-som à temperatura ambiente (MCNULTY, STEERE e WOLF, 1998); (c) sais, como ZnCl ou KF na presença de cloreto de dimetilamônio em refluxo com tolueno (DAUZONNE e ROYER, 1984 *apud* WANG e WANG, 2002); e (d) na presença de  $\text{K}_2\text{CO}_3/\text{Al}_2\text{O}_3$  sob irradiação de microondas sem solvente.

O procedimento mais eficiente na preparação de **62** foi obtido usando uma solução de  $\text{NH}_4\text{OH}/\text{HOAc}$  tampão (GAIRAUD e LAPPIN, 1953). No entanto, quando utilizamos 18,4 mmol de  $\text{MeNO}_2$  para 1g de aldeído, proporção descrita por Gairaud e Lappin, a reação de condensação entra em equilíbrio, não ocorrendo o consumo total do substrato. Contudo, com o aumento da concentração de  $\text{MeNO}_2$  no meio reacional (27,6 mmol de  $\text{MeNO}_2$  para 1g do aldeído), há o consumo completo do substrato, formando **62** com excelente rendimento (98%).

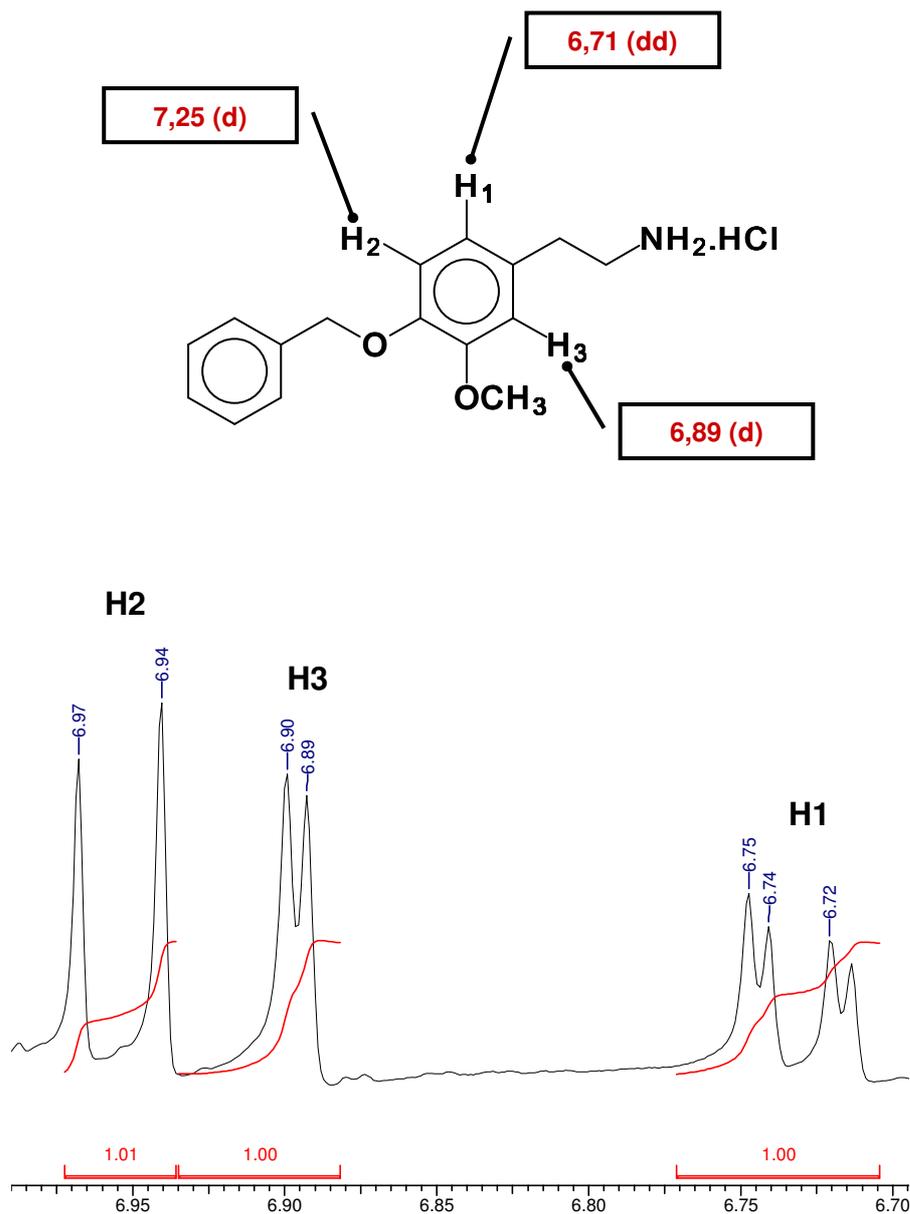
O uso de uma maior quantidade de  $\text{MeNO}_2$  reflete numa concentração maior de  $^-\text{CH}_2\text{NO}_2$  no meio reacional, já que existe um equilíbrio entre o nitro-metano e o respectivo ânion (**Esquema 8**). Assim, quando utilizamos o número de equivalentes com um acréscimo de 50% em relação ao descrito na metodologia Gairaud e Lapin, a concentração de  $^-\text{CH}_2\text{NO}_2$  gerada *in situ* se torna suficiente para que haja um total consumo do aldeído de partida.



**Esquema 8.** Esquema de intermediários da formação do ânion  $^-\text{CH}_2\text{NO}_2$ .

A redução de **62** à amina **63** foi obtida com o uso de  $\text{LiAlH}_4$  (RAMIREZ e BURGER, 1950; KUBO *et al.*, 1987; POUYSÉGU, AVELLAN e QUIDEAU, 2002). Neste procedimento, o  $\beta$ -nitro-estireno foi adicionado lentamente em uma suspensão de  $\text{LiAlH}_4$  em THF sob banho de gelo. A adição lenta, assim como o banho de gelo, evita que haja a degradação do  $\beta$ -nitro-estireno **62** pelo aumento exacerbado da temperatura. Após 4 horas, sob temperatura ambiente, não havia mais substrato. A formação da amina foi evidenciada, da mesma forma que a amina **43**, pelo teste de ninidrina (KAISER *et al.*, 1970).

Da mesma forma que a amina **43**, o cloridrato da amina **63** apresenta uma estabilidade maior do que a respectiva forma livre, que é facilmente oxidada sob exposição ao ar.



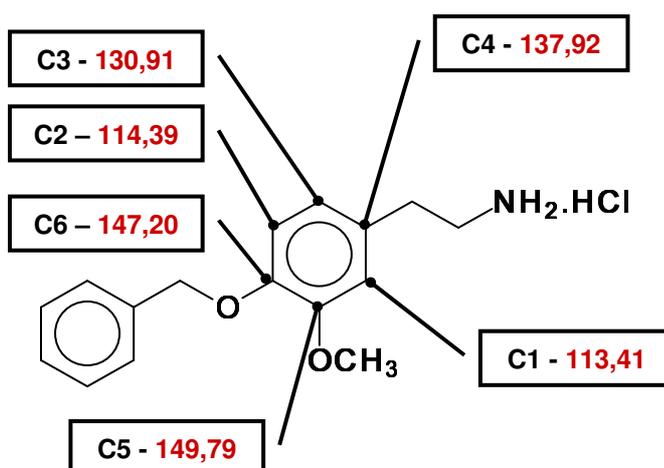
**Figura 23.** Expansão do espectro RMN de  $^1\text{H}$ : deslocamento químico, em ppm, dos sinais dos hidrogênios aromáticos da amina **63**.

O espectro de IV da amina **63** apresenta uma banda larga em  $3359\text{ cm}^{-1}$  referente à presença de água, o que é justificado pela higroscopicidade do cloridrato. Além disso, assim como no espectro de **58**, encontramos uma banda larga de deformação axial da ligação N–H do sal de amina em  $3066\text{--}2666\text{ cm}^{-1}$  (POUYSGU, AVELLAN e QUIDEAU, 2002), uma banda em  $2000\text{ cm}^{-1}$ , atribuída a uma combinação das vibrações de deformação angular assimétrica e torcional do grupo

$\text{-NH}_3^+$  e a presença de uma banda em  $11625\text{-}1518\text{ cm}^{-1}$  relacionada com a deformação axial da ligação  $\text{C}=\text{C}$  de aromático.

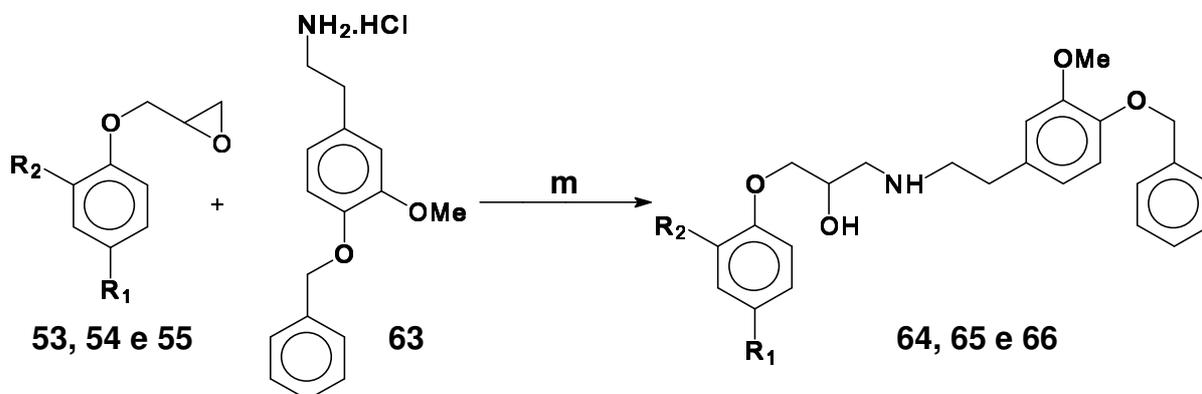
O espectro de RMN  $^1\text{H}$  da amina **63** mostra o acoplamento entre os hidrogênios aromáticos **H1**, **H2** e **H3** (Figura 23) (POUYSÉGU, AVELLAN e QUIDEAU, 2002). Contudo, nesta molécula, **H1** e **H3** estão mais blindados do que os hidrogênios encontrados na amina **58**, apresentando valores de deslocamento químico menores. Este efeito de blindagem pode estar relacionado com o afastamento do grupo  $\text{-NH}_3^+$  (aceptor de elétrons) do núcleo aromático, visto que a cadeia alquílica espaçadora é maior do que a do composto **58**. Com este afastamento, **H1** e **H3** sofrem um menor efeito de desblindagem do que aquele observado na metilamina **58**, tornando-os menos deslocalizados.

O espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  da amina **63** apresenta o mesmo padrão de deslocamento químico para os carbonos aromáticos do núcleo vanilóide do que aquele observado para **58** (Figura 24) (POUYSÉGU, AVELLAN e QUIDEAU, 2002).



**Figura 24.** Assinalamento dos deslocamentos químicos, em ppm, dos carbonos do anel vanilóide da amina **63**.

#### 4.5.8 Abertura dos epóxidos 53, 54 e 55 com o cloridrato da amina 63



(53)  $R_1 = \text{CN}$  e  $R_2 = \text{OMe}$

(54)  $R_1 = \text{CN}$  e  $R_2 = \text{H}$

(55)  $R_1 = \text{CO}_2\text{Me}$  e  $R_2 = \text{H}$

(64)  $R_1 = \text{CN}$ ,  $R_2 = \text{OMe}$  (57%)

(65)  $R_1 = \text{CN}$ ,  $R_2 = \text{H}$  (21%)

(66)  $R_1 = \text{CO}_2\text{Et}$ ,  $R_2 = \text{H}$  (75%)

(m)  $\text{K}_2\text{CO}_3$ , EtOH absoluto, t.a., 72 h

A metodologia usada na preparação de **59**, **60** e **61** também se mostrou eficaz na reação de abertura dos epóxidos **53**, **54** e **55** com a amina **63**. As ariloxipropanolaminas **64**, **65** e **66** foram adquiridas sem que houvesse a formação de uma mistura intratável de produtos indesejáveis.

Estas moléculas foram identificadas pelos respectivos espectros de IV e RMN de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ . No entanto, o composto **65** se degradou, antes de ser analisado por RMN de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ . Desta forma, apresentaremos neste trabalho apenas o espectro de IV do referido composto.

Os espectros de IV dos compostos **64**, **65** e **66** exibem uma banda de deformação axial da ligação O–H de álcool em  $3390\text{--}3215\text{ cm}^{-1}$ . Adicionalmente, **65**

e **66** apresentam deformação axial de ligação N–H do sal de amina em 3139-2935  $\text{cm}^{-1}$ , enquanto **64** apresenta uma banda referente à deformação axial de amina livre em 3279  $\text{cm}^{-1}$  (CHUNG *et al.*, 2001; HUANG *et al.*, 2001; JINDAL *et al.*, 2003; BRIZZI, BRIZZI e VATOLI, 2004).

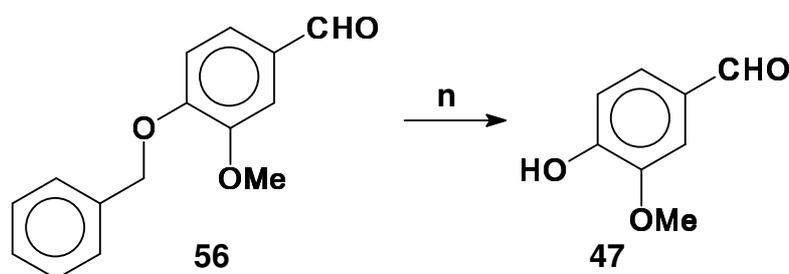
O espectro de RMN de  $^1\text{H}$  de **64**, da mesma forma que **59** (CHUNG *et al.*, 2001; HUANG *et al.*, 2001; BRIZZI, BRIZZI e VATOLI, 2004), apresenta um multiplete em 2,61-2,72 ppm (6H,  $-\text{HCOH}-\underline{\text{CH}_2}-\text{NH}-$ ,  $-\text{NH}-\underline{\text{CH}_2}-\underline{\text{CH}_2}-\text{Ar}$ ), dois singletes em 3,72-3,78 ppm (6H,  $2-\text{OCH}_3$ ), um multiplete em 3,86-3,88 ppm (4H,  $-\text{O}-\underline{\text{CH}_2}-\text{HCOH}-$  e  $-\text{NH}-\underline{\text{CH}_2}-\text{Ar}-$ ), um multiplete em 3,94-4,02 ppm (1H,  $-\text{CH}_2-\underline{\text{HCOH}}-\text{CH}_2-$ ), um singlete em 5,00 ppm (2 H,  $-\text{O}-\underline{\text{CH}_2}-\text{Ph}$ ), um multiplete em 6,67-7,42 ppm (11H, Ar-H).

O espectro de RMN de  $^1\text{H}$  de **66** exibe os mesmos sinais descritos para **64**, com exceção de um dos singletes em 3,78 ppm, referente aos hidrogênios da metoxila da porção vanilonitrila. Além do mais, da mesma forma que **61** (HUANG *et al.*, 2001), **66** apresenta um dublete em 7,89-7.92 ppm (2H, Ar-H) referente aos dois hidrogênios aromáticos presentes na posição *orto* em relação ao grupo  $-\text{CO}_2\text{Et}$ , um triplete em 1,26 ppm (3H,  $-\text{CH}_3$ ) e um quartete em 4,24-4,30 ppm (3H,  $-\text{CH}_2-\text{CH}_3$ ,  $-\text{CH}_2-\underline{\text{HCOH}}-\text{CH}_2-$ ) referente à cadeia alquílica do éster.

As ariloxipropanolaminas **64** e **66** exibem, em seus espectros de RMN de  $^{13}\text{C}$ , sinais dos carbonos alifáticos ( $-\text{HN}-\text{CH}_2-\underline{\text{C}}\text{H}_2-\text{Ar}$ ) em 31,62-36,18 ppm, ( $-\text{HN}-\underline{\text{C}}\text{H}_2-\text{CH}_2-\text{Ar}$ ) em 50,06-51,92 ppm, ( $\text{HCOH}-\underline{\text{C}}\text{H}_2-\text{NH}-$ ) em 50,06-52,90 ppm, ( $-\text{H}\underline{\text{C}}\text{OH}-$ ) em 65,39-68,62 ppm, ( $\text{Ar}-\text{O}-\underline{\text{C}}\text{H}_2-\text{HCOH}-$ ) em 70,55-70,78 e ppm ( $\text{Ph}-\text{O}-\underline{\text{C}}\text{H}_2-\text{Ar}-$ ) em 70,65-72,27 ppm (CHUNG *et al.*, 2001, MUTHUKRISHNAN *et al.*, 2007). Além do mais, **64** apresenta um sinal em 119,95 ppm referente ao

carbono do grupo Ar-CN e dois sinais, em 56,20 ppm e 56,63, ppm referentes às duas metoxilas presentes em sua estrutura. Da mesma forma que **61**, o composto **66** apresenta um sinal em 166,04 ppm referente ao carbono da carboxila de éster, assim como a presença dos sinais em 14,90 ppm e em 61,07 ppm, referentes aos carbonos -CH<sub>3</sub> e -CH<sub>2</sub>-, respectivamente, da cadeia alquílica do grupo éster.

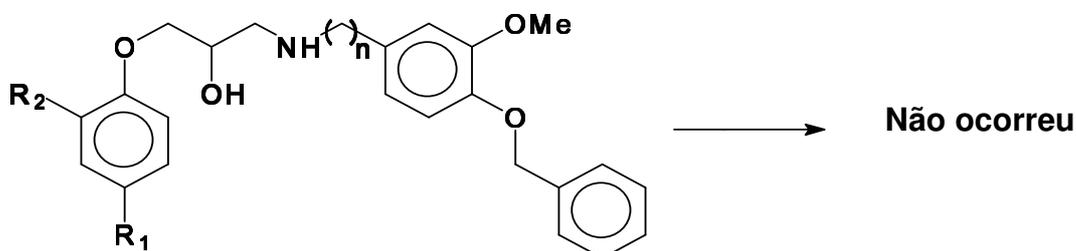
#### 4.5.9 Reação Padrão de Desproteção do Grupo Fenólico: Desbenzilação de 56



(n) H<sub>2</sub>, Pd/C, t.a., pressão atmosférica, 2 h

Com o intuito de avaliar a reação de desproteção do grupo fenólico, utilizamos, como substrato, o composto **56** (vanilina benzilada). Esta reação padrão de desbenzilação foi feita a partir de um sistema de Pd/C a 5% e H<sub>2</sub> (BARRERO, ALVAREZ-MANZANEDA e CHAHBOUN, 1997 *apud* GREENE e WUTS, 1999) em metanol a pressão atmosférica. Após 2 horas de reação, a formação do produto desejado (vanilina, **47**) foi evidenciada por cromatografia em camada fina.

#### 4.5.10 Desproteção das Ariloxipropanolaminas 59, 60, 61, 64 e 66



(59)  $R_1 = \text{CN}$ ,  $R_2 = \text{OMe}$  e  $n = 1$

(60)  $R_1 = \text{CN}$ ,  $R_2 = \text{H}$  e  $n = 1$

(61)  $R_1 = \text{CO}_2\text{Et}$ ,  $R_2 = \text{H}$  e  $n = 1$

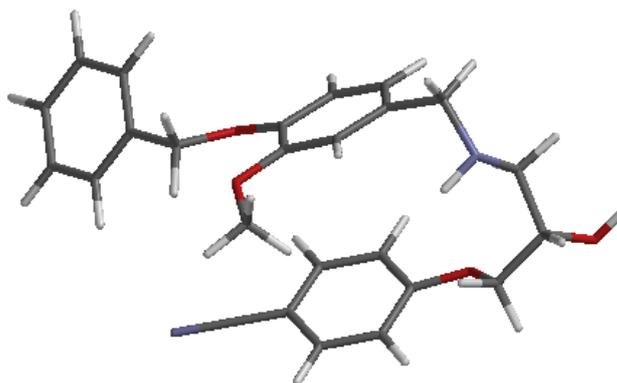
(64)  $R_1 = \text{CN}$ ,  $R_2 = \text{OMe}$  e  $n = 2$

(66)  $R_1 = \text{CO}_2\text{Et}$ ,  $R_2 = \text{H}$  e  $n = 2$

A utilização de um sistema de Pd/C a 5% e  $\text{H}_2$  (BARRERO, ALVAREZ-MANZANEDA e CHAHBOUN, 1997 *apud* GREENE e WUTS, 1999) em metanol a pressão atmosférica, 10 psi, 20 psi e 50 psi, assim como a utilização de ácido trifluoroacético (WHITE e AMEDIO, 1989 *apud* GREENE e WUTS, 1999) e formiato de amônio e ácido fórmico em metanol não foram capazes de retirar o grupamento de proteção (OBn) da hidroxila fenólica presente nas respectivas ariloxipropanolaminas (59, 60, 61, 64 e 66).

Por possuírem um grande grau de liberdade, estas moléculas podem estar adotando uma conformação “enovelada” (Figura 25), onde, provavelmente, existe o estabelecimento de interações intramoleculares. Com isso, acreditamos que a dificuldade, nesta etapa de desbenzilação, esteja relacionada ao impedimento estérico. A rota de síntese apresentada em nosso trabalho se mostrou eficaz na obtenção das ariloxipropanolaminas inéditas (59, 60, 61, 64 e 66). No entanto, na

última etapa sintética descrita, a metodologia de desproteção por hidrogenólise, assim como a utilização de ácido trifluoroacético, não teve êxito, impedindo a obtenção das moléculas finais, onde o grupo hidroxila fenólico se encontra livre.



**Figura 25.** Conformação “enovelada” do composto **60**. Modelo de representação em tubo: átomos de nitrogênio em azul, átomos de oxigênio em vermelho, átomos de hidrogênio em branco e átomos de carbono em cinza.

## 5 CONCLUSÕES

O melhor modelo de QSAR da atividade antioxidante dos 15 derivados fenólicos corresponde a **Equação. 21**, na qual os dois termos presentes, EDL-OH e PI, são capazes de explicar 88,5 % ( $R^2 \times 100$ ) da variabilidade da atividade antioxidante descrita por Cheng e colaboradores.

Os valores de  $pIC_{50}$  preditos pela **Equação 21** para os composto **43** e **45**, assim como para os compostos **44** e **46** foram muito próximos, o que indica que o grupo substituinte adicional (4-(2-hidróxi-propóxi)benzonitrila), presente em **46** e **45**, não influencia no valor de atividade antioxidante calculada. Além do mais, quando comparamos os valores de  $pIC_{50}$  calculados para **43** e **44**, da mesma forma que **45** e **46**, verificamos que o tamanho da cadeia alquílica espaçadora, entre o anel fenólico e o nitrogênio da cadeia lateral, pouco altera os valores de atividade antioxidante calculada.

A metodologia de formação de nitrilas a partir de aldeídos, empregando um solvente aprótico polar e NaI, se mostrou eficiente, até mesmo para aldeídos que possuem em sua estrutura grupamentos sensíveis (hidroxila fenólica) ao meio básico, tornando possível a formação das nitrilas **50** e **51**, sem a necessidade de proteção da hidroxila fenólica.

O acréscimo de  $MeNO_2$ , utilizado na etapa de preparação do nitroestireno **62**, forneceu um melhor rendimento do que a metodologia descrita por Gairaud e Lappin. Através da rota de síntese, desenvolvida em nosso trabalho, foram obtidas seis ariloxipropanolaminas inéditas.

As metodologias empregadas para desproteção do grupo fenólico, das ariloxipropanolaminas sintetizadas neste trabalho, se mostraram ineficazes.

## 6 PERSPECTIVAS

A preparação de ariloxipropanolaminas com o grupo fenólico livre.

A aplicação da rota sintética desenvolvida na preparação do enantiômero *S* (eutômero) das ariloxipropanolaminas planejadas em nosso trabalho.

A avaliação farmacológica, tanto da atividade antioxidante como da atividade antagonista dos  $\beta_1$ -adrenoceptores.

## 7 EXPERIMENTAL

### 7.1 Materiais e Métodos

Os valores não corrigidos de ponto de fusão (**P.F.**) foram determinados com o auxílio de um tubo de Thiele com óleo de silicone, termômetro e bico de Bunsen.

Os espectros na região do infravermelho (**IV**) foram obtidos em espectrofotômetro Nicolet 550 FTIR, usando pastilhas comprimidas de KBr (brometo de potássio) anidro. Os valores para a absorção foram referidos em número de onda, utilizando-se como unidade o centímetro recíproco ( $\text{cm}^{-1}$ ).

Os espectros de ressonância magnética nuclear de hidrogênio (RMN de  $^1\text{H}$ ) foram obtidos a 200 MHz em aparelho Bruker HC200 e a 300 MHz em aparelho Bruker DRX300. Os valores de deslocamento químico foram referidos em unidades adimensionais,  $\delta$ , representando partes por milhão (ppm) da frequência aplicada. As áreas relativas dos sinais foram obtidas por integração eletrônica e suas multiplicidades descritas do seguinte modo: s = singlete, sl = singlete largo, d = dublete, dd = duplo dublete, t = triplete, q = quartete, m = multiplete.

Os espectros de ressonância magnética nuclear de carbono 13 (RMN de  $^{13}\text{C}$ ) foram obtidos a 50 MHz em aparelho Bruker HC200 e a 75 MHz em aparelho Bruker DRX300. Os valores de deslocamento químico foram referidos em unidades adimensionais  $\delta$ , representando partes por milhão (ppm) da frequência aplicada.

As reações foram acompanhadas por cromatografia em camada fina (CCF) e os produtos, após isolamento, foram purificados por recristalização.

Nos procedimentos de CCF foram utilizadas cromatoplasas Merck ou Riedel-de-Häen F264. A visualização das substâncias foi realizada sob luz ultravioleta (254

ou 360 nm) e/ou por oxidação com uma solução de ácido sulfúrico a 10% em etanol e solução de ninidrina a 5% em etanol e aquecimento a 120 °C em estufa.

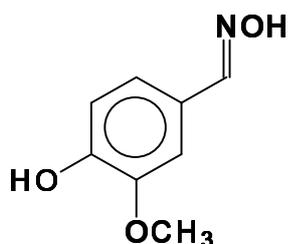
A evaporação do solvente do meio reacional foi realizada sob pressão reduzida em evaporador Fisaton, com banho térmico de temperatura controlada.

Os solventes utilizados foram das marcas Isofar, Merck, Reagen ou Vetec, e foram utilizados conforme recebidos ou, quando necessário, tratados segundo a metodologia descrita. O tetrahidrofurano (THF) anidro foi obtido por secagem e destilação com sódio metálico/benzofenona.

Os estudos de modelagem molecular foram realizados empregando o programa Gaussian'03 (Gaussian, Inc.) e o programa Spartan'06 (Wavefunction, Inc.)

## 7.2 Reações

### 7.2.1 Preparação da 4-hidróxi-3-metóxi-benzaldoxima (48)



15g (215,8 mmol) de cloridrato de hidroxilamina foram dissolvidos em 60mL de solução de hidróxido de sódio a 10%. Após a dissolução, foram adicionados 60mL de água destilada, 6g (393,4 mmol) de vanilina (4-hidróxi-3-metóxi-benzaldeído) e uma quantidade suficiente de etanol 95% para que a mistura se tornasse uma solução límpida. A mistura foi agitada, sob aquecimento, por 15 minutos e, em seguida, resfriada em banho de gelo. Os cristais brancos resultantes foram filtrados e secos.

**Rendimento:** 98%

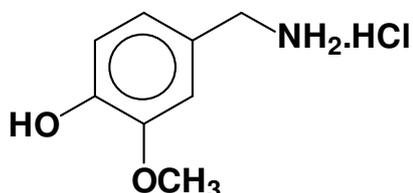
**P.F.:** 118 °C (lit. 118-119 °C, GANNET *et al.*, 1988)

**RMN <sup>1</sup>H** (300MHz, DMSO-D<sub>6</sub>): ppm, δ: 1) 3,78 (3H, s), 2) 6,77 (1H, d), 3) 6,95 (1H, dd), 4) 7,15 (1H, d), 5) 7,98 (1H, s), 6) 9,10 (1H, OH), 7) 10,67 (1H, s).

**RMN <sup>13</sup>C** (75MHz, DMSO-D<sub>6</sub>): ppm, δ: 1) 55,50, 2) 109,17, 3) 115,52, 4) 120,59, 5) 124,51, 6) 147,89, 7) 148,06 8) 148,16.

**IV** (ν<sub>máx</sub>, KBr) cm<sup>-1</sup>: 3450, 3068, 3008, 2000-1650, 1642, 1600.

### 7.2.2 Preparação do cloridrato de 4-(amino-metil)-2-metóxi-fenol (43)



0,4g (3,8 mmol) de paládio sobre carbono a 5% (Pd/C) foram adicionados à uma solução de 4g (24,0 mmol) de (4-hidróxi-3-metóxi-benzoxima) em 50mL de metanol. A mistura reacional resultante foi agitada sob uma pressão de 50 psi por 2 horas. Ao final o tempo reacional, o catalisador foi removido através de uma filtração em celite a vácuo e, em seguida, o solvente evaporado sob pressão reduzida, dando origem a um óleo amarelo pálido. Consecutivamente, este mesmo óleo foi diluído em uma mistura de acetato de etila e etanol absoluto (9:1), onde se borbulhou ácido clorídrico (proporcionado através da reação entre cloreto de sódio e ácido sulfúrico). O precipitado branco formado foi filtrado e seco em dessecador.

**Rendimento:** 96%

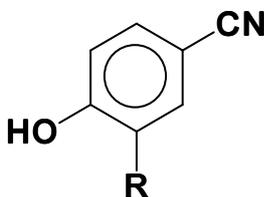
**P.F.:** 214-215 °C (lit. 216-218°C, KAGA, MIURA e ORIOTO, 1989).

**RMN <sup>1</sup>H** (300MHz, DMSO-D<sub>6</sub>): ppm, δ: 1) 3,78 (3H, s), 2) 3,95 (2H, s), 3) 6,78 (1H, d), 4) 6,88 (1H, dd), 5) 7,23 (1H, d), 6) 9,05 (1H, NH<sub>3</sub><sup>+</sup>), 7) 9,45 (1H, OH).

**RMN <sup>13</sup>C** (75MHz, DMSO-D<sub>6</sub>): ppm, δ: 1) 49,44, 2) 55,69, 3) 114,33, 4) 115,26, 5) 122,37, 6) 122,97, 7) 147,14 8) 147,51.

**IV** (ν<sub>máx</sub>, KBr) cm<sup>-1</sup>: 3361, 3139-2935, 2000-1650, 1605, 1527.

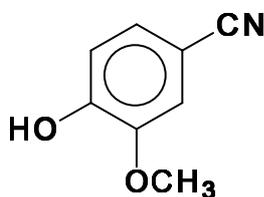
### 7.2.3 Preparação de nitrilas a partir de aldeídos



(50) R = OCH<sub>3</sub>;

(51) R = H.

10 mmol do respectivo aldeído foram adicionados, a temperatura ambiente, em uma mistura de 0,94g NH<sub>2</sub>OH.HCl (13,5 mmol) e 0,75g de iodeto de sódio (5 mmol), em 40mL de acetonitrila (761 mmol). A formação da referente nitrila foi evidenciada após 4 horas de reação, sob refluxo. Com o término do tempo reacional, foram adicionados 70mL de solução de Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> a 5%. A mistura de coloração vermelha foi agitada até ficar incolor. Em seguida, foi feita uma extração com diclorometano (3 x 50mL), sendo, posteriormente, a fase orgânica seca com Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> e evaporada. O sólido resultante foi recristalizado, obtendo, assim, o produto desejado.

**7.2.3.1 4-hidróxi-3-metóxi-benzonitrila (50)**

**Recristalização:** etanol x água destilada, 6 : 4.

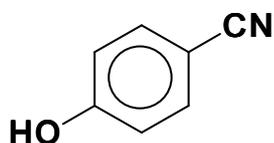
**Rendimento:** 66%

**P.F.:** 86-87 °C (lit. 87 °C, RITTER, 1946)

**RMN <sup>1</sup>H** (200MHz, CDCl<sub>3</sub>): ppm, δ: 1) 3,93 (3H, s), 2) 6,20 (OH), 3) 6,94 (1H, d), 4) 7,02 (1H, s), 5) 7,35 (1H, d).

**RMN <sup>13</sup>C** (50MHz, CDCl<sub>3</sub>): ppm, δ: 1) 56,29, 2) 103,30, 3) 113,87, 4) 115,30, 5) 119,27, 6) 127,04, 7) 146,74, 8) 15,01.

**IV** (ν<sub>máx</sub>, KBr) cm<sup>-1</sup>: 3373, 3076, 3030, 2229, 2000-1650, 1604, 1589.

**7.2.3.2 4-hidróxi-benzonitrila (51)**

**Recristalização:** água destilada.

**Rendimento:** 60%

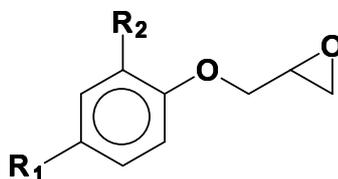
**P.F.:** 111-112 °C

**RMN <sup>1</sup>H** (200MHz, CDCl<sub>3</sub>): ppm, δ: 1) 6,96 (2H, d), 2) 7,32 (OH), 3) 7,67 (2H, d).

**RMN <sup>13</sup>C** (50MHz, CDCl<sub>3</sub>): ppm, δ: 1) 103,31, 2) 116,53, 3) 119,32, 4) 134,39, 5) 160,26.

**IV** (ν<sub>máx</sub>, KBr) cm<sup>-1</sup>: 3287, 3078, 3026, 2233, 2000-1650, 1614, 1586.

#### 7.2.4 Preparação de epóxidos a partir de fenóis

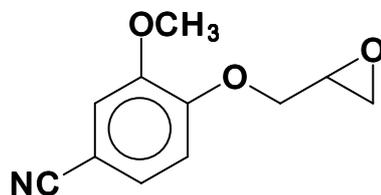


**(53)  $R_1 = \text{CN}$ ,  $R_2 = \text{OCH}_3$ ;**

**(54)  $R_1 = \text{CN}$ ,  $R_2 = \text{H}$ ;**

**(55)  $R_1 = \text{CO}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$ ,  $R_2 = \text{H}$ .**

Uma mistura do requerido fenol (50mmol),  $\text{K}_2\text{CO}_3$  (60mmol) e epícloridrina (250mmol) foi agitada, sob refluxo, por 2 horas. Ao final do tempo reacional, o sólido presente foi removido, obtendo uma solução límpida. Em seguida, esta solução foi diluída com 50 mL de água destilada e extraída com acetato de etila (3 x 20mL). A fase orgânica resultante foi seca com  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anidro, filtrada e concentrada sob pressão reduzida. O óleo resultante foi atritado até haver a cristalização do produto. Em seguida, este produto bruto foi recristalizado, com a mistura de solvente adequada, seco e armazenado em vidro âmbar.

**7.2.4.1 3-metóxi-4-(2-oxiranil-metóxi)benzonitrila (53)**

**Recristalização:** etanol absoluto.

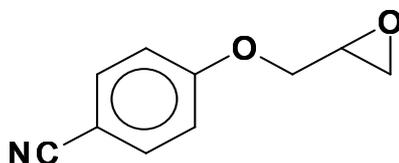
**Rendimento:** 88%

**P.F.:** 119-1 °C

**RMN <sup>1</sup>H** (300MHz, CDCl<sub>3</sub>): ppm, δ: 1) 2,76 (1H, dd), 2) 2,92 (1H, dd), 3) 3,40 (1H, m), 4) 3,90 (3H, s), 5) 4,01 (1H, dd), 6) 4,35 (1H, dd), 7) 6,95 (1H, d), 8) 7,09 (1H, d), 9) 7,27 (1H, dd).

**RMN <sup>13</sup>C** (75MHz, CDCl<sub>3</sub>): ppm, δ: 1) 44,42, 2) 49,65, 3) 52,92, 4) 69,73, 5) 104,35, 6) 112,91, 7) 114,17 8) 118,90, 9) 126,04, 10) 149,29, 11) 151,8.

**IV** (ν<sub>máx</sub>, KBr) cm<sup>-1</sup>: 3081, 3005, 2985, 2947, 2929, 2228, 2100-1800, 1600, 1585, 1515, 1272.

**7.2.4.2 4-(2-oxiranil-metóxi)benzonitrila (54)**

**Recristalização:** acetato de etila x hexano, 4:6.

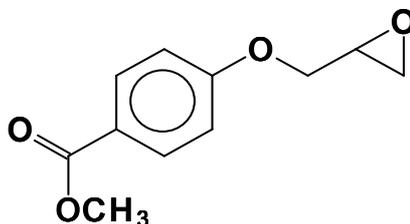
**Rendimento:** 87%

**P.F.:** 64-65 °C (lit. 67 °C, PETROW e STEPHENSON, 1953)

**RMN <sup>1</sup>H** (200MHz, CDCl<sub>3</sub>): ppm, δ: 1) 2,76 (1H, m), 2) 2,93 (1H, m), 3) 3,37 (1H, m), 4) 3,96 (1H, m), 5) 4,33 (1H, m), 6) 6,98 (2H, d), 7) 7,59 (2H, d).

**RMN <sup>13</sup>C** (50MHz, CDCl<sub>3</sub>): ppm, δ: 1) 44,40, 2) 49,74, 3) 69,05, 4) 104,48, 5) 115,36, 6) 119,0, 7) 133,97, 8) 161,68.

**IV** (ν<sub>máx</sub>, KBr) cm<sup>-1</sup>: 3100, 3071, 3007, 2937, 2928, 2881, 2221, 2000-1650, 1604, 1575, 1508.

**7.2.4.3 4-(2-oxiranil-metóxi)benzoato de metila (55)**

**Recristalização:** água destilada x etanol, 1:1.

**Rendimento:** 77%

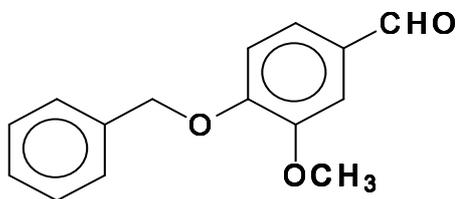
**P.F.:** 55-56 °C

**RMN <sup>1</sup>H** (200MHz, CDCl<sub>3</sub>): ppm, δ: 1) 2,46 (1H, q), 2) 2,89 (1H, q), 3) 3,33 (1H, m), 4) 3,87 (3H, s), 5) 3,93 (1H, dd), 6) 4,02 (1H, dd), 7) 6,90 (2H, dd), 8) 7,95 (2H, dd).

**RMN <sup>13</sup>C** (50MHz, CDCl<sub>3</sub>): ppm, δ: 1) 44,49, 2) 48,82, 3) 51,79, 4) 68,78, 5) 114,15, 6) 123,10, 7) 131,55, 8) 162,10, 9) 166,85.

**IV** (ν<sub>máx</sub>, KBr) cm<sup>-1</sup>: 3082, 3018, 2996, 2951, 2600-2000, 1712, 1605, 1511.

### 7.2.5 Preparação do 4-(benzilóxi)-3-metóxi-benzaldeído (56)



Uma mistura de 5g (32,9 mmol) de vanilina (4-hidróxi-3-metóxi-benzaldeído), 9,1g (65,9 mmol) de carbonato de potássio anidro, 0,1g (0,7 mmol) de iodeto de sódio e 4mL (34,5 mmol) de cloreto de benzila, em 50mL de acetonitrila, foi agitada, sob refluxo, por 2 horas. Ao final do tempo reacional, a acetonitrila foi removida sob pressão reduzida e o sólido remanescente foi solubilizado em 50mL de água destilada. A solução aquosa obtida foi extraída com diclorometano (3 x 25mL). A fase orgânica resultante foi seca com sulfato de sódio anidro, filtrada e evaporada sob pressão reduzida. O óleo resultante foi mantido no freezer até cristalizar, resultando num sólido branco.

**Rendimento:** 88%

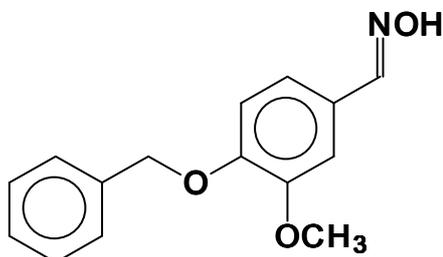
**P.F.:** 63-64°C (lit. 62-63 °C, POUYSÉGU, AVELLAN e QUIDEAU, 2002)

**RMN <sup>1</sup>H** (200MHz, CDCl<sub>3</sub>): ppm, δ: 1) 34,94 (3H, s), 2) 5,24 (2H, s), 3) 6,97 (1H, d), 4) 4,36 (7H, m), 5) 5,83 (1H, s).

**RMN <sup>13</sup>C** (50MHz, CDCl<sub>3</sub>): ppm, δ: 1) 56,08, 2) 70,92, 3) 109,52, 4) 112,51, 5) 126,55, 6) 127,25, 7) 128,23, 8) 128,74, 9) 130,37, 10) 136,08, 11) 150,15, 12) 153,67, 13) 190,89.

**IV** ( $\nu_{\text{máx}}$ , KBr) cm<sup>-1</sup>: 3061, 3034, 3013, 2949, 2840, 2762, 2000-1800, 1677, 1583.

### 7.2.6 Preparação da 4-(benzilóxi)-3-metóxi-benzaldoxima (57)



15g (215,8 mmol) de cloridrato de hidroxilamina foram dissolvidos em 60mL de solução de hidróxido de sódio a 10%. Após a dissolução, foram adicionados 60mL de água destilada, 6g (393,4 mmol) de 4-benzilóxi-3-metóxi-benzaldeído e uma quantidade suficiente de tetrahidrofurano para que a mistura se tornasse uma solução límpida. A mistura foi agitada, sob aquecimento, por 15 minutos e, em seguida, resfriada em banho de gelo. Os cristais brancos resultantes foram filtrados e secos.

**Rendimento:** 99%

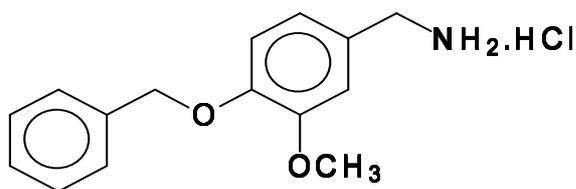
**P.F.:** 111 °C

**RMN <sup>1</sup>H** (300MHz, DMSO-D<sub>6</sub>): ppm, δ: 1) 3,77 (3H, s), 2) 5,09 (2H, s), 3) 7,04 (1H, d), 4) 7,15 (1H, d), 5) 7,37 (5H, m), 6) 8,02 (1H, s), 7) 10,96 (1H, –NOH).

**RMN <sup>13</sup>C** (75MHz, DMSO-D<sub>6</sub>): ppm, δ: 1) 55,44, 2) 69,89, 3) 108,82, 4) 113,35, 5) 120,16, 6) 126,19, 7) 127,80 8) 127,88 9)128,40, 10) 136,89, 11)147,80, 12) 148,90, 13) 149,26.

**IV** ( $\nu_{\text{máx}}$ , KBr)  $\text{cm}^{-1}$ : 3279, 3136, 2968, 2000-1650, 1606, 1586, 1513.

### 7.2.7 Preparação do cloridrato de [4-benzilóxi]-3-metóxi-fenil]metanamina (58)



Uma solução de 1g (3,9 mmol) 4-benzilóxi-3-metóxi-benzaldoxima em 25mL de THF seco foi gotejada em uma suspensão composta de 0,4g (10,2 mmol) de  $\text{LiAlH}_4$  em 25mL de THF seco. A mistura reacional foi agitada por 2 horas, à temperatura ambiente. Ao final do tempo reacional, a mistura resultante foi resfriada a  $0^\circ\text{C}$  e o restante de  $\text{LiAlH}_4$  degradado com uma solução de  $\text{NaOH}$  a 30%. Posteriormente, com a adição de 50mL de acetato de etila, a mistura foi agitada por mais 30 minutos. A fase orgânica foi então filtrada e seca com  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anidro, obtendo um óleo amarelo pálido. Este mesmo óleo foi dissolvido em uma mistura de éter etílico e metanol, onde se borbulhou ácido clorídrico. O precipitado branco formado foi filtrado e armazenado em dessecador.

**Rendimento:** 72%

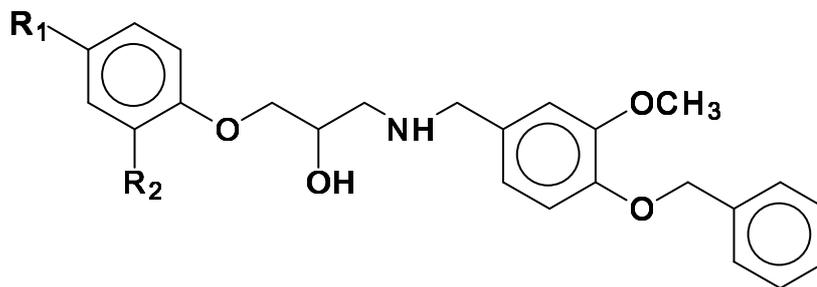
**P.F.:** 182-183  $^\circ\text{C}$  .

**RMN  $^1\text{H}$**  (300MHz,  $\text{DMSO-D}_6$ ): ppm,  $\delta$ : 1) 3,78 (3H, s), 2) 3,90 (2H, s), 3) 5,09 (2H, s), 4) 6,94 (1H, dd), 5) 7,00 (1H, d), 6) 7,25 (1H, d), 7) 7,39 (5H, m) 8) 8,24 (2H,  $\text{NH}_3^+$ ).

**RMN  $^{13}\text{C}$**  (75MHz,  $\text{DMSO-D}_6$ ): ppm,  $\delta$ : 1) 55,74, 2) 69,83, 3) 113,32, 4) 121,44, 5) 126,79, 6) 127,79, 7) 127,92, 8) 1128,50, 9) 137,11, 10) 147,72, 11)149,00.

**IV** ( $\nu_{\text{máx}}$ , KBr)  $\text{cm}^{-1}$ : 2954-2863, 2801, 2059, 1595, 1522.

### **7.2.8 Abertura dos epóxidos 53, 54 e 55 com a amina 58**



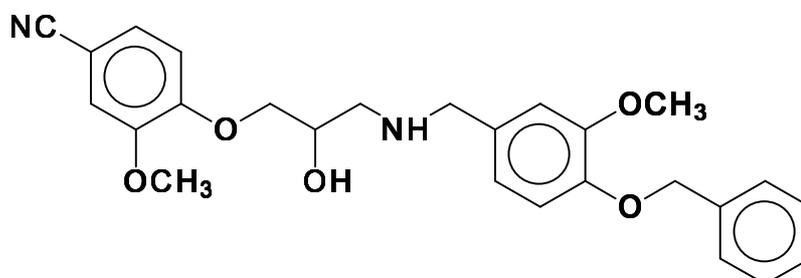
**(59)  $R_1 = \text{CN}$ ,  $R_2 = \text{OCH}_3$ ;**

**(60)  $R_1 = \text{CN}$ ,  $R_2 = \text{H}$ ;**

**(61)  $R_1 = \text{CO}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$ .**

Uma mistura da amina **58** (1,5mmol),  $\text{K}_2\text{CO}_3$  (4,5mmol) e do epóxido apropriado (**53**, **54** e **55**) em etanol absoluto foi (20mL) agitada por 72 horas. Com o término da reação, o sólido resultante foi removido, resultando uma solução límpida. A concentração do filtrado proveu a obtenção do produto bruto, o qual foi convertido em cloridrato.

**7.2.8.1 4-[3-{[4-(benzilóxi)-3-metóxi-benzil]amino}-2-hidróxi-propóxi]3-metóxi-benzonitrila (59)**



**Rendimento:** 53%

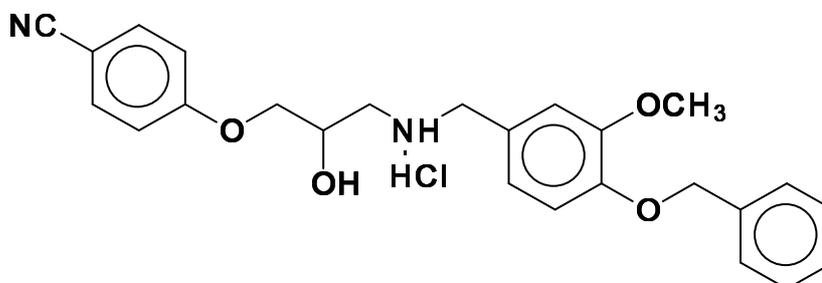
**P.F.:** 137-138 °C

**RMN <sup>1</sup>H** (300MHz, DMSO-D<sub>6</sub>): ppm, δ: 1) 2,91 (1H, m), 2) 3,04 (1H, m), 3) 3,75 (3H, s), 4) 3,77 (3H, s), 5) 4,04 (4H, m), 6) 4,27 (4H, m), 7) 5,08 (2H, s), 8) 5,89 (1H, –NH), 9) 7,02 (3H, m), 9) 7,36 (5H, m), 10) 9,20 (2H, –OH e –NH).

**RMN <sup>13</sup>C** (75MHz, DMSO-D<sub>6</sub>): ppm, δ: 1) 48,59, 2) 50,09, 3) 55,66, 4) 56,00, 5) 64,70, 6) 69,82, 7) 70,59, 8) 103,08, 9) 113,10, 10) 113,35, 11) 114,16, 12) 114,77, 13) 119,31, 14) 122,91, 15) 124,20, 16) 126,41, 17) 127,89, 18) 128,00, 19) 128,54, 20) 137,02, 21) 148,18, 22) 148,96, 23) 149,05, 24) 151,79.

**IV** (ν<sub>máx</sub>, KBr) cm<sup>-1</sup>: 3392, 3288, 3084, 2950, 2925, 2227, 1596, 1581, 1519.

**7.2.8.2 Cloridrato de 4-[3-{[4-(benzilóxi)-3-metóxi-benzil]amino}-2-hidróxi-propóxi]benzonitrila (60)**



**Rendimento:** 76%

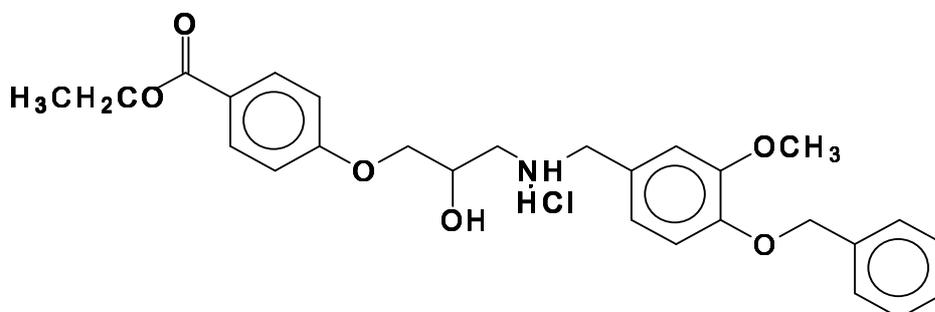
**P.F.:** 192-193 °C

**RMN <sup>1</sup>H** (300MHz, DMSO-D<sub>6</sub>): ppm, δ: 1) 2,91 (1H, m), 2) 3,06 (1H, m), 3) 3,79 (3H, s), 4) 4,08 (4H, m), 5) 4,27 (4H, m), 6) 5,09 (2H, s), 7) 5,84 (1H, -NH), 8) 7,07 (5H, m), 9) 7,39 (5H, m), 10) 7,74 (2H, m).

**RMN <sup>13</sup>C** (75MHz, DMSO-D<sub>6</sub>): ppm, δ: 1) 48,43, 2) 50,07, 3) 55,64, 4) 64,70, 5) 69,77, 6) 70,12, 7) 103,09, 8) 113,08, 9) 114,13, 10) 115,68, 11) 119,17, 12) 122,85, 13) 124,18, 14) 127,84, 15) 127,94, 16) 128,49, 17) 134,27, 18) 136,98, 19) 148,13, 20) 148,92, 21) 161,78.

**IV** (ν<sub>máx</sub>, KBr) cm<sup>-1</sup>: 3215, 3038-2888, 2392, 2227, 1606, 1509.

**7.2.8.3 Cloridrato de 4-[3-{[4-(benzilóxi)-3-metóxi-benzil]amino}-2-hidróxi-propóxi]benzoato de etila (61)**



**Rendimento:** 43%

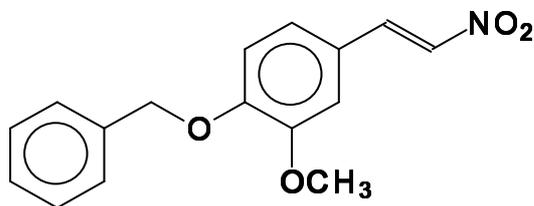
**P.F.:** 184-185 °C

**RMN <sup>1</sup>H** (300MHz, DMSO-D<sub>6</sub>): ppm, δ: 1) 1,29 (3H, t), 2) 2,91 (1H, m), 3) 3,06 (1H, m), 4) 3,79 (3H, s), 5) 4,05 (2H, d), 6) 4,10 (1H, s), 7) 4,28 (3H, q), 8) 5,09 (2H, s), 9) 5,84 (1H, -NH), 10) 7,03 (5H, m), 11) 7,37 (5H, m), 12) 7,90 (2H, m).

**RMN <sup>13</sup>C** (75MHz, DMSO-D<sub>6</sub>): ppm, δ: 1) 14,27, 2) 48,51, 3) 50,06, 4) 55,63, 5) 60,42, 6) 64,76, 7) 69,77, 8) 69,95, 9) 113,07, 10) 114,14, 11) 114,56, 12) 122,37, 13) 122,86, 14) 124,18, 15) 127,83, 16) 127,94, 17) 128,47, 18) 131,22, 19) 136,98, 20) 148,12, 21) 148,92, 22) 162,118, 23) 165,40.

**IV** (ν<sub>máx</sub>, KBr) cm<sup>-1</sup>: 3210, 3033-2912, 2295, 1701, 1607.

### 7.2.9 Preparação do 1-(benzilóxi)-2-metóxi-4-[(E)-2-nitro-etênil]benzeno (62)



Uma mistura de 2,42g (10,0 mmol) de vanilina benzilada, 8mL (146,8 mmol) de nitro metano e 0,6g (7,9 mmol) de acetato de amônio, em 6mL (104,7 mmol) de ácido acético, foi agitada, sob refluxo, por 2 horas. Ao final do tempo reacional, foram adicionados 10mL de água destilada gelada. O sólido amarelo formado foi filtrado, lavado com água destilada gelada, sendo, em seguida, seco e armazenado em vidro âmbar.

**Recristalização:** acetona e água destilada, 2:1.

**Rendimento:** 98%

**P.F.:** 124-125°C (lit. 124-125°C, POUYSÉGU, AVELLAN e QUIDEAU, 2002)

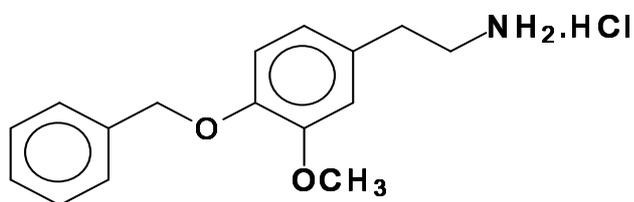
**RMN <sup>1</sup>H** (200MHz, CDCl<sub>3</sub>): ppm, δ: 1) 3,93 (3H, s), 2) 5,22 (2H, s), 3) 6,69 (3H, m), 4) 7,27 (6H, m), 5) 7,91 (1H, d).

**RMN <sup>13</sup>C** (50MHz, CDCl<sub>3</sub>): ppm, δ: 1) 56,11, 2) 70,88, 3) 110,91, 4) 113,51, 5) 123,11, 6) 124,37, 7) 127,25, 8) 128,22, 9) 128,72, 10) 135,27, 11) 136,12, 12) 139,30, 13) 15,07, 14) 151,96.

**IV** (ν<sub>máx</sub>, KBr) cm<sup>-1</sup>: 3105, 3046, 3001, 2979, 2946, 2000-1860, 1712, 1627, 1596.

### 7.2.10 Preparação do cloridrato da 2-[4-(benzilóxi)-3-metóxi-fenil]etanamina

(63)



Uma solução do nitroestireno benzilado em 25mL de THF seco foi gotejada em uma suspensão composta de 1g (26,32 mmol) de  $\text{LiAlH}_4$  em 25mL de THF seco. A mistura reacional foi agitada por 4 horas, à temperatura ambiente. Ao final do tempo reacional, a mistura resultante foi resfriada a  $0^\circ\text{C}$  e o restante de  $\text{LiAlH}_4$  degradado com uma solução de  $\text{NaOH}$  a 30%. Posteriormente, com a adição de 50mL de acetato de etila, a mistura foi agitada por mais 30 minutos. A fase orgânica foi então filtrada e seca com  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anidro, obtendo um óleo amarelo pálido. Este mesmo óleo foi dissolvido em uma mistura de éter etílico e metanol, onde se borbulhou ácido clorídrico. O precipitado branco formado foi filtrado e seco.

**Recristalização:** etanol 95% e acetato de etila, 2:1

**Rendimento:** 75%

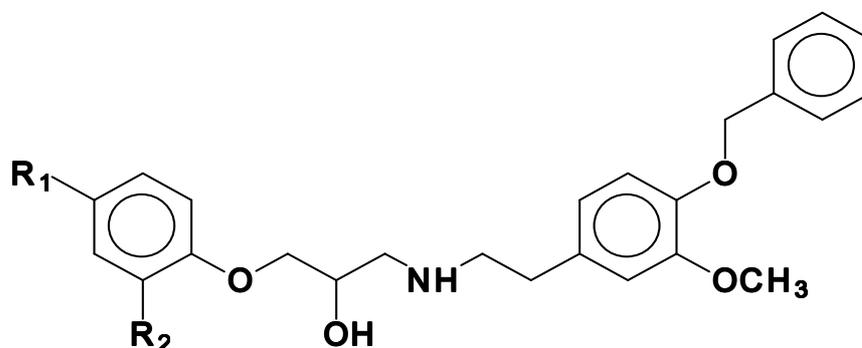
**P.F.:** 173-174  $^\circ\text{C}$

**RMN  $^1\text{H}$**  (300MHz,  $\text{DMSO-D}_6$ ):  $\delta$ , ppm: 1) 2,828 (2H, m), 2) 2,965 (2H, m), 3) 3,773 (3H, s), 4) 5,039 (2H, s), 5) 6,746 (iH, dd), 6) 6,891 (2H, dd), 7) 7,344 (5H, m), 8) 8,114 (3H,  $\text{NH}_3^+$ ).

**RMN <sup>13</sup>C** (75MHz, DMSO-D<sub>6</sub>): δ, ppm: 1) 32,564, 2) ,3) 69,938 4) 69,938, 5) 112,784, 6) 113,763, 7) 120,533, 8) 127,787, 9) 127,856, 10) 128,448, 11) 130,292, 12) 137,289, 13) 146,577.

**IV** (ν<sub>máx</sub>, KBr) cm<sup>-1</sup>: 3066-2874, 2749, 2916, 1625, 1518.

### 7.2.11 Abertura dos epóxidos 53, 54 e 55 com a amina 63



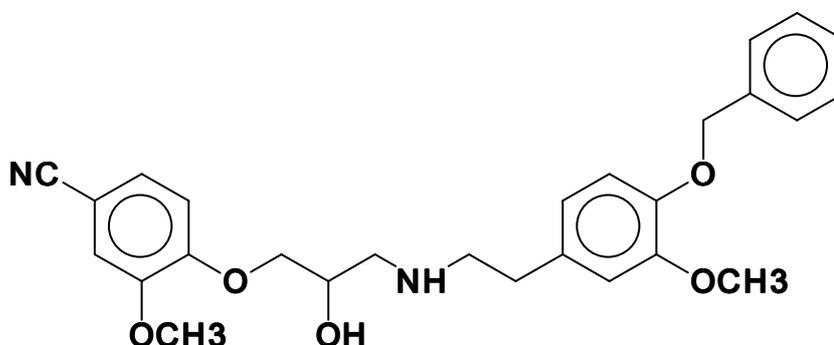
(64) R<sub>1</sub>= CN, R<sub>2</sub>= OCH<sub>3</sub>;

(65) R<sub>1</sub>= CN, R<sub>2</sub>= H;

(66) R<sub>1</sub>= CO<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>, R<sub>2</sub>= H.

Uma mistura da amina **63** (1,5 mmol), K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (4,5 mmol) e do epóxido apropriado (**53**, **54** e **55**) em etanol absoluto foi (20mL) agitada por 72 horas, sob temperatura ambiente. Com o término da reação, o sólido resultante foi removido, resultando em uma solução límpida. A concentração do filtrado proveu a obtenção do produto bruto, o qual foi convertido em cloridrato.

**7.2.11.1 4-[3-(2-[4-(benzilóxi)-3-metóxi-fenil]etil)amino)-2-hidróxi-propóxi]-3-metóxi-benzonitrila (64)**



**Rendimento:** 57%

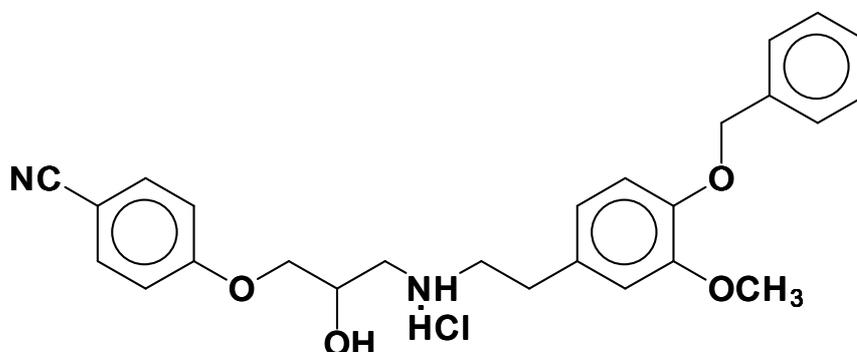
**P.F.:** 137-138 °C .

**RMN <sup>1</sup>H** (300MHz, DMSO-D<sub>6</sub>): ppm, δ: 1) 2,48 (6H, m), 2) 3,72 (3H, s), 3) 3,78 (3H, s), 4) 3,94 (4H, m), 5) 5,00 (2H, s), 9) 6,86 (6H, m), 9) 7,36 (5H, m).

**RMN <sup>13</sup>C** (75MHz, DMSO-D<sub>6</sub>): ppm, δ: 1) 36,18, 2) 51,92, 3) 52,90, 4) 56,20, 5) 56,63, 6) 68,62, 7) 70,78 , 8) 72,27 , 9) 100,39, 10) 103,25, 11) 113,58, 12) 113,88, 13) 114,55 14) 115,35, 15) 119,95, 16) 121,05, 17) 127,04, 18) 128,36, 19) 129,02, 20) 134,17, 21) 138,06, 22) 146,69, 23) 149,67, 24) 149,75, 25) 152,99.

**IV** (ν<sub>máx</sub>, KBr) cm<sup>-1</sup>: 3390, 3279, 3082, 2941, 2916, 2225, 1599, 1516.

**7.2.11.2 Cloridrato de 4-[3-({2-[4-(benzilóxi)-3-metóxi-fenil]etil}amino)-2-hidróxi-propóxi]benzonitrila (65)**

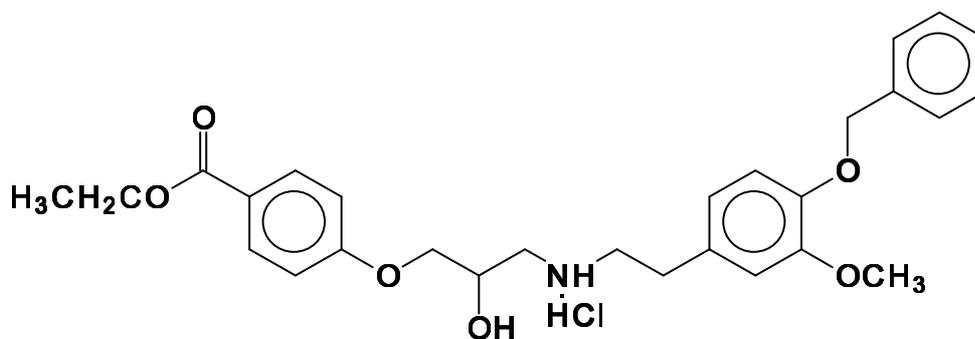


**Rendimento:** 21%

**P.F.:** 197-198 °C

**IV** ( $\nu_{\text{máx}}$ , KBr)  $\text{cm}^{-1}$ : 3283, 3088-2918, 2872, 2835, 2224, 1602, 1514.

**7.2.11.3 Cloridrato de 4-[3-({2-[4-(benzilóxi)-3-metóxi-fenil]etil}amino)-2-hidróxi-propóxi]benzoato de etila (66)**



**Rendimento:** 75%

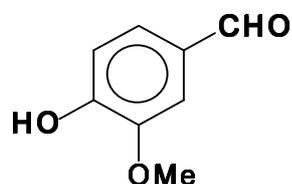
**P.F.:** 187-188 °C

**RMN <sup>1</sup>H** (300MHz, DMSO-D<sub>6</sub>): ppm, δ: 1) 1,29 (3H, t), 2) 3,06 (6H, m), 3) 3,77 (3H, s), 5) 4,06 (2H, d), 6) 4,28 (4H, q), 7) 5,04 (2H, s), 8) 5,94 (1H, -NH), 9) 6,90 (5H, m), 10) 7,39 (5H, m), 11) 7,92 (2H, m).

**RMN <sup>13</sup>C** (75MHz, DMSO-D<sub>6</sub>): ppm, δ: 1) 14,28, 2) 31,02, 3) 48,37, 4) 49,43, 5) 55,57, 6) 60,44, 7) 64,77, 8) 69,94, 9) 70,02, 10) 112,74, 11) 113,80, 12) 114,58, 12) 120,51, 13) 122,41, 14) 127,79, 15) 127,86, 16) 128,45, 17) 130,13, 18) 131,26, 19) 137,26, 20) 146,60, 21) 149,20, 22) 162,15, 23) 165,42.

**IV** (ν<sub>máx</sub>, KBr) cm<sup>-1</sup>: 3268, 2957, 2837, 2808, 1717, 1607, 1515.

### 7.2.12 Desproteção do Grupo Fenólico de 56



1 mmol (0,242g) da vanilina benzilada foi adicionado, a temperatura ambiente, em uma mistura de 0,007g (0,068 mmol) de Pd/C em 10mL de metanol. Após a adição do substrato, o recipiente contendo o mistura reacional foi tampado com um septo de borracha. A adição do H<sub>2</sub> (armazenado em um balão de borracha), no meio reacional, foi feita por intermédio de uma agulha. A formação do produto desejado (vanilina) foi evidenciada por cromatografia em camada fina, após 2 horas de reação.

## 8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ARDOUDI, S. A.; TSIMIDOU, M. Z.; VAFIADIS, A. P.; BAKALBASSIS, E. G. **Structure-DPPH scavenging activity relationships: parallel study of catechol and guaicol acid derivatives.** *J. Agric. Food Chem.* 2006; v.54, p.5763-5768.

AUGSTEIN, J.; COX, D. A.; HAM, A. L.; LEEMING, P. R.; SNAREY, M.  **$\beta$ -Adrenoceptor blocking agents. 1. cardioselective 1-aryloxy-3-(aryloxyalkylamino)propan-2-ols.** *J. Med. Chem.* 1973; v.16, n.11, p.1245-1251.

BALLINI, R.; FIORINI, D.; PALMIERI, A. **Highly convenient, one-pot synthesis of nitriles from aldehydes using  $\text{NH}_2\text{OH}/\text{NaI}/\text{MeCN}$  system.** *Synlett.* 2003; n.12, p.1841-1843.

BARREIROS, A. L. B. S. , DAVID, J. M.; DAVID, J. P. **Estresse oxidativo: relação entre geração de espécies relativas e defesa do organismo.** *Quím. Nova.* 2006; v.29, n.1, p.113-126.

BARTLOUNI, M. **Hipótese oxidativa da aterosclerose e emprego dos antioxidantes na doença arterial coronária.** *Arq. Bras. Cardiol.* 1997; v.68, n.1, p.55-62.

BATRA, S.; SABNIS, Y. A.; ROSENTHAL, P. J.; AVERY M. A. **Structure-based approach to falcipain-2 inhibitors: synthesis and biological evaluation of 1,6,7-trisubstituted dihydroisoquinolines and isoquinolines.** *Bioorg. Med. Chem.* 2003; v.11, p.2293-2299.

BORDWELL, F. G.; CHENG, J-P. **Substituent effects on the stabilities of phenoxy radicals and the acidities of phenoxy radical cations.** *J. Am. Chem. Soc.* 1991; v.113, p.1736-1743.

BRINCK, T.; HAERBELIEN, M.; JONSSON, M. **A computational analysis of substituent effects on the O-H bond dissociation energy in phenols: polar versus radical effects.** *J. Am. Chem. Soc.* 1997; v.119, p.4239-4244.

BRIZZI, A.; BRIZZI, V.; VATOLI, M. **Synthesis and in vivo pharmacological activity of oxypropanol analogs of labetalol.** *Il Farmaco.* 2005; v.60, p.105-111.

BRUCKNER, H. **Advanced organic chemistry**. San Diego: *Harcourt Science*. 2002; cap.2, p.43 e 49.

CHAKRABORTI, A. K.; KAUR, G. **One-pot synthesis of nitriles from aldehydes under microwave irradiation: influence of the medium and mode of microwave irradiation on product formation**. *Tetrahedron*. v.55, p.13265-13268.

CHANDRA, A. K.; UCHIMARU, T. **The O-H bond dissociation energies of substituted phenols and proton affinities of substituted phenoxide ions: a DFT study**. *Int. J. Mol. Sci.* 2002; v.3, p.407-422.

CHEN, W.; GUO, P.; SONG, J.; CAO, W. BIAN, J. **The ortho hydroxyl-amino group: another choice for synthesizing novel antioxidants**. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2006; v.16, p.3582-3585.

CHENG, Z.; YUANZONG, J. R.; CHANG, W.; CHEN, Z. **Establishment of a quantitative structure-activity relationship model for evaluating and predicting the protective potentials of phenolic antioxidants on lipid peroxidation**. *J. Pharm. Sci.* 2003; v.92, n.3, p.475-484.

CHUNG, M-I.; HAN, F-W.; LIN, H-C.; LIOU, S-S.; HUANG, P-L.; KO, H-H.; CHANG, Y-L; KANG, J-J.; TENG, C-M.; LIN, C-N. **Synthesis, antiplatelet and vasorelaxing effects of monooxygenated flavones and flavonoxypropanolamines**. *J. Pharm. Pharmacol.* 2001; v.53, p.1601-1609.

COHUET, G.; STRIJKER-BOUDIER, H. **Mechanism of target organ damage caused by hypertension: therapeutic potential**. *Pharmacol. Ther.* 2006; v.111, p.81-98.

CONSOLIM-COLOMBO, F. M.; IRIGOYEN, M. C.; KRIEGER, E. M. **Sistema nervoso simpático e hipertensão arterial sistêmica**. *Rev. Bras. Hipertens.* 2005; v.8, n.1, p.11-13.

CROWTHER, A. F.; SMITH, L. H.  **$\beta$ -ADRENERGIC BLOCKING AGENTS. II. propranolol and related 3-amino-1-naphthoxy-2-propanols**. *J. Med. Chem.* 1968; v.11, p.1009-1013.

FERREIRA, A. L. A.; MATSUBARA, L. S. **Radicais livres: conceitos, doenças relacionadas, sistema de defesa e estresse oxidativo**. *Rev. Ass. Méd. Brasil.* 1997; v.43, n.1, p.61-68.

FERREIRA, M. M. C.; MONTANARI, C. A.; GAUDIO, A. C. **Seleção de variáveis em QSAR.** *Quím. Nova.* 2002; v.25, n.3, p.439-448.

FERRONI, P.; BASSILI, S.; PAOLETTI, V.; DAVI, G. **Endothelial dysfunction and oxidative stress in arterial hypertension.** *Nutr. Metab. Cardiovasc. Dis.* 2006; v.16, p.222-233.

FUNDACIÓN FAVALORO, ARGENTINA. **¿Cómo y por qué afecta al corazón?**. Disponível na internet via [www.fundacionfavaloro.org](http://www.fundacionfavaloro.org), arquivo consultado em 2007.

GAIRAUD, C. B.; LAPPIN, G. **The synthesis of  $\omega$ -nitostyrenes.** *J. Org. Chem.* 1953; v.18, p.1-3.

GALLE, J.; HANSEN-HAGGE, T.; WANNER, C.; SEIBOLD, S. **Review: impact of low density lipoprotein on vascular cells.** *Atherosclerosis.* 2006; v.185, p.219-226.

GANNETT, P. M.; NAGEL, D. L.; REILLY, P. J.; LAWSON, T.; SHARPE, J.; TOTH, B. **The capsaicinoids: their separation, synthesis, and mutagenicity.** *J. Org. Chem.* 1988; v.53, p.1064-1071.

GAUDIO, A. C.; ZANDONADE, E. **Proposição, validação e análise de modelos que correlacionam estrutura química e atividade biológica.** *Quím. Nova.* 2001; v.24, n.5, 658-671.

GOODMAN & GILMAN. **As bases farmacológicas da terapêutica.** São Paulo: *Mc Graw Hill.* 2005; ed.10<sup>o</sup>, cap.33, p.657-678.

GREENE, T. W.; WUTS, P. G. M. **Protective groups in organic synthesis.** New York: *John Wiley & Sons, Inc.* 1999; ed.3<sup>o</sup>, cap.3, p.265-271.

HALGREN, T. A. **Merck molecular field. I. Basis, form, scope, parametrization, and performance of MMFF94.** *J. Comput. Chem.* 1996; v.17, n.5-6, p.490-519.

HANSCH, C.; LEO, A.; HOEKMAN, D. **Exploring QSAR: hydrophobic, electronic, and steric constants.** Washington: *American Chemical Society.* 1995; p.3-193.

HOEFLE, M. L., HASTINGS, S. G.; MEYER, R. F.; COREY, R. M.; HOLMES, A.; STRATTON, C. D. **Cardioselective  $\beta$ -adrenergic blocking agents. 1. 1-[(3, 4-dimethoxyphenethyl)amino]-3-aryloxy-2-propanols.** *J. Med. Chem.* 1975; v.18, n.2, p.148-152.

HUANG, Y-C.; WU, B-N.; YEH, J-L.; CHEN, S-J.; LIANG, J-C.; LO, Y-C.; CHEN I-J. **A new aspect of view in synthesizing new type  $\beta$ -adrenoceptor blockers with ancillary antioxidant activities.** *Bioorg. Med. Chem.* 2001; v.9, p.1739-1746.

IRIGOYEN, M. C.; KRIEGER, E. M.; CONSOLIM-COLOMBO. **Controle fisiológico da pressão arterial pelo sistema nervoso.** *Rev.Bras. Hipertens.* 2005; v.8, n.1, p.6-10.

JINDAL, D. P.; COUMAR, M. S.; NANDAKUMAR, K.; BODHANKAR, L. S.; PUROHIT, P. G.; MAHADIK, K. R.; BRUNI, G.; COLLAVOLI, E.; MASSARELLI, P. **Synthesis,  $\beta$ -adrenergic blocking activity and  $\beta$ -receptor binding affinities of 1-substituted-3-(2-isopropyl-5-methyl-phenoxy)-propan-2-ol oxalates.** *Il Farmaco.* 2003; v.58, p.557-562.

JURSIC, B. S. **Ab initio and hybrid density functional theory studies of forward and reverse barriers for  $C_2H_4 + H \rightarrow C_2H_5$  reaction.** *J. Chem. Soc.: Perkin Trans. 2.* 1997; p.637-641.

KAISER, E.; COLESCOTT, R. L., BOSSINGER, C. D.; COOK, P. I. **Color test for detection of free terminal amino groups in the solid phase synthesis of peptides.** *Anal. Biochem.* 1970; v.34, p.595.

KAGA, H.; MIURA, M.; ORIOTO, K. **A facile procedure for synthesis of capsaicin.** *J. Org. Chem.* 1989; v.54, p.3477-3478.

KALIORA, A. C.; DEDOUSSIS, G. V. Z.; SCHMIDT, H. **Review: dietary antioxidants in preventing atherogenesis.** *Atherosclerosis.* 2006; v.187, p.1-17.

KATZUNG, B. G. **Farmacologia clínica e básica.** Rio de Janeiro: Guanabara koogan. 2003; 8° ed., Cap.11, 12, 13, p.137-192.

KEANY JR, J. F. **Review; atherosclerosis: from lesion formation to plaque activation and endothelial dysfunction.** *Mol. Aspects Med.* 2000; v.21, p.99-166.

KLEIN, E.; LUKES, V. **DFT/B3LYP study of O-H bond dissociation enthalpies of *para* and *meta* substituted phenols: correlation with phenolic C-O bond length.** *TEOCHEM: J. Mol. Struct.* 2006; v.767, p.43-50.

KLEIN, E.; LUKES, V. **Study of gas-phase O-H bond dissociation enthalpies and ionization potentials of substituted phenols – applicability of *ab initio* and DFT/B3LYP methods: correlation with phenolic C-O bond length.** *Chem. Phys.* 2006; v.330, p.515-525.

KLEIN, E.; LUKES, V.; CIBULKOVÁ, Z. POLOVKOVÁ, J. **Study of N-H, O-H, S-H bond dissociation enthalpies and ionization potentials of substituted anilines, phenols and thiophenols.** *TEOCHEM: J. Mol Struct.* 2006; v.758, p.149-159.

KUBO, A.; SAITO, N.; KAWAKAMI, N.; MATSUYAMA, Y.; MIWA, T. **A Facile Synthesis of 1,2,3,4-tetrahydroisoquinolines through cyclization of *O,N*-acetals.** *Synthesis.* 1987; p.824-826

LEOPOLDINI, M.; MARINO, T.; RUSSO, N.; TOSCANO, M. **Antioxidant properties of phenolic compounds: H-atom versus electron transfer mechanism.** *J. Phys./Chem. A.* 2004; v.108, n.22, p.4816-4922.

LESSA, I. **Doenças crônicas não-transmissíveis no Brasil: um desafio para a complexa tarefa da vigilância.** *Ciênc. Saúde Coletiva.* 2004; v.4, n.9, p.931-943.

LI, J. J.; CHEN, J. L. **Inflammation may be a bridge connecting hypertension and atherosclerosis.** *Med. Hypothesis.* 2005; v.64, p.925-929.

LIANG, J-C.; YEH, J-L.; WANG, C-S.; LIOU, S-F; TSAI, C-H.; CHEN, I-J. **The new generation dihydropyridine type calcium blockers, bearing 4-phenyl oxypropanolamine, display  $\alpha$ -/ $\beta$ -adrenoceptor antagonist and long-acting antihypertensive activities.** *Bioorg. Med. Chem.* 2002; v.10, p.719-730.

MAIN, B. G.; TUCKER, H. **The role of organic chemistry in drug research.** *Medicinal Chemistry.* New York: Academic press inc. 1993; 2<sup>o</sup> ed., cap.10, p.187-208.

MARCHIOLI, R. **Antioxidant vitamins and prevention of cardiovascular disease: laboratory, epidemiological and clinical trial data.** *Pharmacol. Res.* 1999; v.40, n.3, p.227-238.

MCNULTY, J.; STEERE J. A.; WOLF, S. **The ultrasound promoted knoevenagel condensation of aromatic aldehydes.** *Tetrahedron Lett.* 1998; v.39, p.8013-8016.

MINISTÉRIO DA SAÚDE, BRASIL. **Relação entre as doenças cardiovasculares e as causas de morte na população brasileira.** Disponível na internet via [www.ministeriodasaude.gov](http://www.ministeriodasaude.gov), arquivo consultado em 2007.

MOREIRA, L. B. **Álcool e hipertensão arterial.** *Rev.Bras.Hipertens.* 2005; v.8, n.1, p.19-21.

MORISCO, C.; ZEBROWSKI, D.; CONDORELLI, G.; TSICHLIS, P.; STEPHEN F. VATNER, S. F.; SADOSHIMA, J. **The Akt-glycogen synthase kinase 3 $\beta$  pathway regulates transcription of atrial natriuretic factor induced by  $\beta$ -Adrenergic receptor stimulation in cardiac myocytes.** *J. Biol. Chem.* 2000; v.275, n.19, p.14466–14475.

MUTHUKRISHNAN, M.; GARUD, D. R.; JOSHI, R. R.; JOSHI, R. A. **Concise synthesis of  $\beta$ -blockers (s)-metoprolol and (s)-betaxolol using hydrolytic kinetic resolution.** *Tetrahedron.* 2007; v. 63, p.1872-1876.

NAGAMOTO, T.; KOIKE, K. **Minireview: recent advances in structure, binding sites with ligands and pharmacological function of  $\beta$ -adrenoceptors obtained by molecular biology and molecular modeling.** *Life Sci.* 2000; v.66, n.25, p.2419-2426.

NENADIS, N.; WANG, L-F.; TSIMIDOU, M. Z.; ZHANG, H-Y. **Radical scavenging potential of phenolic compounds encountered in *o. europea* products as indicated by calculation of bound dissociation enthalpy and ionization potential values.** *J. Agric. Food Chem.* 2005; v.53, p.295-299.

NETO, M. A.; RASCADO, R. R.; BENDHACK, L. M. **Receptores  $\beta$ -adrenérgicos no sistema cardiovascular.** *Simpósio Brasileiro de Fisiologia Cardiovascular.* 2006; v. 39, p. 3-12.

PAVIA, D. L.; LAMPMAN, G. M.; KRIZ, G. S. **Introduction to spectroscopy: a guide for students of organic chemistry.** Orlando: *Saunders College Publishing.* 1996; 2° ed, cap.2, 3, 4, 5, p.14-266.

PETROW, V.; STHEPHENSON, O. **Aryloxypropane derivates: part I. the synthesis of 1-*p*-chloro- and 1-*p*-nitrophenoxy-3-dichloroacetoamidopropan-2-ol.** *J. Pharm. Pharmacol.* 1953; p.359-369.

POUYSÉGU, L.; AVELLAN, A-V.; QUIDEAU, S. **Iodine(III)-mediated generation of nitrogen-tethered orthoquinol acetates for construction of oxygenated indole, quinoline, and phenanthridine alkaloid motifs.** *J. Org. Chem.* 2002; v.67, p.3425-3436.

RAMIREZ, F. A.; BURGUER, A. **The reduction of phenolic  $\beta$ -nitrostyrenes by lithium aluminum hydride.** *J. Am. Chem. Soc.* 1950; v.17, p.2781-2782.

REZMANN-VITTI, L. A.; LOUIS, S. N. S.; NERO, T. L.; JACKMAN, G. P.; LAKOVIDIS, D.; MACHIDA, C. A.; LOUIS, W. J. **Agonist binding and activation of rat  $\beta_1$ -Adrenergic receptor: role of Trp<sup>134(3,28)</sup>, Ser<sup>190(4.57)</sup> e Tyr<sup>356(7.43)</sup>.** *Biochem. Pharmacol.* 2004; v.68, p.675-688.

REZMANN-VITTI, L. A.; NERO, T. L.; JACKMAN, G. P.; MACHIDA, C. A.; LOUIS, W. J.; LOUIS, S. N. S. **Role of Tyr<sup>356(7.43)</sup> and Ser<sup>190(4.57)</sup> in antagonist binding in the rat  $\beta_1$ -Adrenergic receptor.** *J. Med. Chem.* 2006; v. 49, p.3467-3477.

RITTER, D. M. **Preparation of vanillic acid amide from vanillonitrile.** *J. Am. Chem. Soc.* 1946; v.68, p.2738-2739.

SILVESTEIN, R. M.; WEBSTER F. X. **Identificação espectrométrica de compostos orgânicos.** Rio de Janeiro: LTC-Livros Técnicos e Científicos Editora S.A. 2000; 6ªed., cap.3, 4, 5, 6, p.67-257.

SHARGI, H.; SARVARI, M. H. **A direct synthesis of nitriles and amides from aldehydes using dry or wet alumina in solvent free condition.** *Tetrahedron.* 2002; v.58, p.10323-10328.

SMITH, D. A.; WATERBEEMD, H. V.; WALKER, D. K.; MANNHOLD, R.; KUBINYI, TIMMERMAN. **Pharmacokinetics and metabolism in drug design.** Wiley-VCH Verlag GmbH. 2001; p.1-13.

SOBRATTE, M. A.; NEERGHEEN, V. S.; LUXIMON-RAMMA, A.; ARUOMA, O. I.; BAHORUN, T. **Phenolics as potential antioxidant therapeutic agents: Mechanism and actions.** *Mutat. Res.* 2005; v. 579, p. 200-213.

SRIVASTAVA, S.; BHANDARI, K.; SHANKAR, G.; SINGH, H. K.; SAXENA, A. K. **Synthesis, anorexigenic activity and QSAR of substituted aryloxypropanolamines.** *Med. Chem. Res.* 2004; v.13, n.8/9, p.631-642.

STEWART, J. J. P. **Optimization of parameters for semiempirical methods I.** *Method. J. Comput. Chem.* v.10, p.209-220.

TANAKA, N.; TAMAI, T.; MUKAIYAMA, H.; HIRABAYASHI, A.; MURANAKA, H.; AKAHANE, S.; MIYATA, H.; AKAHANE, M. **Discovery of novel n-phenylglycine derivatives as potent and selective adrenoceptor agonists for treatment of frequent urination and urinary incontinence.** *J. Med. Chem.* 2001; v.44, p.1436-1445.

TRIOLA, M. F. **Introdução à estatística.** Rio de Janeiro: LTC – Livros Técnicos e Científicos Editora S.A. 1998; ed.7<sup>o</sup>, p.358-363.

TULUKDAR, S.; HSU, J-L.; CHOU, T-C. FANG, J-M. **Direct transformation of aldehydes to nitriles using iodine in ammonia water.** *Tetrahedron Lett.* 2001; v.42, p.1103–1105

THE LUNDBECK INSTITUTE. **A collection of downloadable CNS images for teaching, presentations and other purposes.** Disponível na internet via [www.cns.forum.com](http://www.cns.forum.com), arquivo consultado em 2007.

XIAO, R-P.; ZHU, W.; ZHENG, M.; CAO, C.; ZHANG, Y.; LAKATTA, E. G.; HAN, Q. **Subtype-specific  $\alpha_1$ -and  $\beta$ -adrenoceptor signaling in the heart.** *Trends Pharmacol. Sci.* 2006; v. 27, n. 6, p. 330-337.

WARREN, J. H.; JIANGUO, Y.; KLUZINGER, P. E.; LOU, L. **A brief guide to molecular mechanics and quantum chemical calculations.** Irvine: *Wavefunction, Inc.* 1998; cap.2, p.15-33.

WANG, E-C.; LIN, G-J. **A new one pot method for the conversion of aldehydes into nitriles using hydroxyamine and phthalic anhydride.** *Tetrahedron Lett.* 1998; p.4047-4050.

WANG, C.; WANG, S. **The rapid synthesis of  $\beta$ -nitrostyrenes under microwave irradiation without solvent.** *Synth. Commun.* 2002; v. 32, n.22, p.3481-3486.

WRIGHT, J. S.; JOHNSON, E. R.; DILABIO, G. A. **Predicting the activity of phenolic antioxidants: theoretical method, analysis of substituent effects, and application to major families of antioxidants.** *J. Am. Soc.* 2001; v.123, p.1173-1183.

# Livros Grátis

( <http://www.livrosgratis.com.br> )

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)  
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)  
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)  
[Baixar livros de Matemática](#)  
[Baixar livros de Medicina](#)  
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)  
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)  
[Baixar livros de Meteorologia](#)  
[Baixar Monografias e TCC](#)  
[Baixar livros Multidisciplinar](#)  
[Baixar livros de Música](#)  
[Baixar livros de Psicologia](#)  
[Baixar livros de Química](#)  
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)  
[Baixar livros de Serviço Social](#)  
[Baixar livros de Sociologia](#)  
[Baixar livros de Teologia](#)  
[Baixar livros de Trabalho](#)  
[Baixar livros de Turismo](#)