

- A.G. McInnes, J.A. Walter, J.L.C. Wright e L.C. Vining in *<sup>13</sup>C NMR Biosynthetic*, edited by G.C. Levy, chapter 3, vol. II, John Wiley and Sons, New York (1976).
- <sup>14</sup> R. Pinchin, L.M.U. Mayer e A.C. Pinto, *Phytochemistry*, 17, 1671 (1978).
- <sup>15</sup> M.L. Patitucci, Tese de Mestrado, NPPN-UFRJ (1983).
- <sup>16</sup> A.C. Pinto, E.M. Peixoto, N.G.M. Fiorani, *Phytochemistry*, 23, 1293 (1984).
- <sup>17</sup> D.H.T. Zocher, C.C. Lopes, W.R. da Silva, R. Pinchin e A. C. Pinto, *Ciência e Cultura* (Supl.) 31, 391 (1979).
- <sup>18</sup> E.M. Peixoto, Tese de Mestrado, NPPN-UFRJ (1981).
- <sup>19</sup> L.M.M. Valente, Tese de Mestrado, NPPN-UFRJ (1982).
- <sup>20</sup> D.F. Ewing, *Org. Magn. Res.*, 12, 499 (1979).
- <sup>21</sup> A.B. Oliveira, M.L.M. Fernandes, O.R. Gottlieb, E.W. Hagaman e E. Wenkert, *Phytochemistry*, 13, 1199 (1974).
- <sup>22</sup> a) J. Hine, "Structural Effects on Equilibria in Organic Chemistry", John Wiley and Sons, Inc. p. 98 (1975); b) *ibid* p. 91; c) *ibid* p. 258.
- <sup>23</sup> S.F. Fonseca, E.A. Rúveda e J.D. Mc Chesney, *Phytochemistry*, 19, 1527 (1980).
- <sup>24</sup> A.C. Pinto e A. Kelecom, resultados não publicados.

## ARTIGO

### DERIVADOS FLAVONÓIDES INDUTORES DA BENZO(A) PIRENO HIDROXILASE. PARTE I: RELAÇÕES QUANTITATIVAS ENTRE A ESTRUTURA QUÍMICA E A ATIVIDADE BIOLÓGICA

Sebastião José de Melo\*, Suely Lins Galdino\*, Ivan da Rocha Pitta\*,  
Marcília Andrade Campos\*\* e Andrejus Korolkovas\*\*\*

\* Departamento de Antibióticos da Universidade Federal de Pernambuco – Recife-PE – Brasil

\*\* Departamento de Estatística da Universidade Federal de Pernambuco – Recife-PE – Brasil

\*\*\* Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo, Caixa Postal 30.786  
São Paulo-SP – Brasil

Recebido em 03/01/84

#### 1. INTRODUÇÃO

Uma das características do sistema enzimático da benzo(a) pireno hidroxilase é o aumento de sua atividade induzida pela administração de compostos orgânicos apropriados. Diversos grupos de compostos são citados na literatura como indutores desta enzima. Entre eles, hidrocarbonetos policíclicos, fenotiazinas, fenilbenzotiazóis e alguns derivados flavonóides<sup>1</sup>, inclusive isolados de plantas<sup>2,3</sup>.

A atividade biológica dos compostos químicos pode ser melhor entendida levando em consideração as interações moleculares e os parâmetros físico-químicos, os quais podem ser agrupados em quatro famílias: parâmetros de solubilidade, estéricos, eletrônicos empíricos e eletrônicos semi-empíricos. No sentido de correlacionar a atividade biológica com a estrutura química das substâncias empregam-se, entre outros, os modelos matemáticos e os de química quântica. Os modelos matemáticos utilizam-se de parâmetros físico-químicos, pois os processos biológicos apresentam, em última análise, natureza físico-química. Estes modelos levam em consideração principalmente os efeitos eletrônicos, estéricos e hidrofóbicos dos grupos substituintes introduzidos na molécula matriz.

Com o desenvolvimento do modelo de Hansch<sup>4</sup> tornou-se possível formular hipóteses de relação estrutura-atividade em termos quantitativos. Destas relações quantitativas é possível elucidar a influência das propriedades físico-

químicas sobre a atividade biológica dos compostos químicos.

#### 2. MATERIAL E MÉTODOS

Neste trabalho utilizaram-se os derivados flavonóides que se encontram na tabela 1. Suas atividades no fígado (At<sub>1</sub>) e pulmão (At<sub>2</sub>) de ratos foram determinadas experimentalmente por Wattenberg e colaboradores<sup>1</sup>. Estão expressas aqui pelo logaritmo do inverso da atividade e em unidades por mg de peso úmido de tecido (log 1/C). Cada unidade por mg corresponde à formação de 100 µg de benzo(a) pireno hidroxilase por minuto.

##### 2.1 Determinação dos parâmetros hidrofóbicos

Determinou-se o coeficiente de partição (log P) dos derivados flavonóides utilizando o método de fragmentação de Hansch<sup>5</sup>, sendo o log P expresso pela constante  $\pi$  de hidrofobicidade.

Outra propriedade aditiva-constitutiva utilizada foi o paracoro (Pr) introduzido por McGowan<sup>6,7</sup>, relacionado com o volume molar e as forças de van der Waals. As contribuições atômicas e estruturais utilizadas neste trabalho para o cálculo do paracoro podem ser encontradas em McGowan<sup>6</sup> e em Perry e Chilton<sup>8</sup>.

Foram também determinados os índices de conectividade molecular dos flavonóides referentes ao termo  $X^V$ <sup>9</sup>.

TABELA 1

Valores experimentais das atividades no fígado e no pulmão para os derivados flavonóides<sup>1</sup>

Nº	Compostos	At <sub>1</sub> exp. log 1/C	At <sub>2</sub> exp. (log 1/C).10
I	flavona	1,681	1,152
II	4'-bromoflavona	2,167	1,553
III	4'-fluorflavona	1,813	1,272
IV	$\beta$ -naftoflavona	2,258	1,573
V	3,3',4',5,7-pentametoxiflavona	1,591	1,124
VI	3,3',4',5,7-pentaidroxiflavona	0,903	0,568
VII	5,6,7,8,4'-pentametoxiflavona	1,681	1,173
VIII	5,6,7,8,3',4'-hexametoxiflavona	1,881	1,204
IX	flavonona	0,903	0,875
X	4'-bromoflavonona	1,653	1,204
XI	3',5,7-triidroxi-4'-metoxiflavonona	1,079	0,531
XIII	2'-hidroxi-4-bromobenzalacetofenona	1,146	0,708
XIV	2'-metoxibenzalacetofenona	1,568	0,968

## 2.2 Determinação dos parâmetros quânticos obtidos pela técnica $\omega$

Os parâmetros quânticos foram determinados pela técnica  $\omega$  (ômega). Nesta técnica<sup>10,11</sup> obtém-se primeiramente a distribuição de carga sobre os átomos, de acordo com o método de orbital molecular aproximado de Hückel (HMO - Hückel Molecular Orbital). Esta distribuição de carga é em seguida utilizada para calcular os novos valores da integral de Coulomb. Os valores das constantes semi-empíricas  $h$  e  $k$  usados na determinação da integral de Coulomb podem ser encontrados em Foerzle e Martin<sup>12</sup>.

Os resultados da integral de Coulomb obtidos são usados novamente para recalculas as novas distribuições de carga, e o processo continua até se tornar autoconsistente.

## 3. RESULTADOS

Na tabela 2 estão relacionados os valores dos coeficientes de partição dos derivados estudados, a constante  $\pi$  determinada em relação à flavona (I) não substituída, assim como os valores dos parâmetros (Pr) e os índices de conectividade molecular ( $\chi^V$ ).

TABELA 2

Parâmetros hidrófobos calculados para os derivados flavonóides

Nº	Composto	log P	$\Pi$	Pr	$\chi^V$
I	flavona	3,907	0,000	489,4	6,887
II	4'-bromoflavona	4,767	0,860	543,0	7,245
III	4'-fluorflavona	4,047	0,140	499,5	6,141
IV	$\beta$ -naftoflavona	5,067	1,160	595,8	7,882
V	3,3',4',5,7-pentametoxiflavona	4,123	0,216	789,4	8,892
VI	3,3',4',5,7-pentaidroxiflavona	2,591	-1,316	562,4	6,874
VII	5,6,7,8,4'-pentametoxiflavona	4,071	0,164	789,4	8,819
VIII	5,6,7,8,3',4'-hexametoxiflavona	4,978	1,071	846,4	9,222
IX	flavonona	3,400	-0,507	501,2	6,353
X	4'-bromoflavonona	4,261	0,354	554,8	7,365
XI	3',5,7-triidroxi-4'-metoxiflavonona	2,387	-1,520	585,0	7,121
XII	benzalacetofenona	3,080	-0,826	499,4	6,637
XIII	4-bromobenzalacetofenona	3,318	-0,589	567,6	7,649
XIV	2'-metoxibenzalacetofenona	3,316	-0,591	559,4	7,040

TABELA 3  
Parâmetros quânticos determinados pela técnica

Composto	$\Sigma S_r^E$	$\Sigma S_r^N$	HOMO	LUMO	$\Sigma  Q_r $
I	14,817	13,826	0,566	0,582	0,794
II	17,717	12,983	0,430	-0,679	0,405
III	16,904	13,069	0,434	-0,668	0,435
IV	18,655	17,678	0,549	-0,552	0,808
V	27,364	12,338	0,337	-0,711	1,354
VI	23,818	12,350	0,431	-0,710	1,350
VII	26,983	12,591	0,418	-0,645	1,334
VIII	29,317	12,346	0,413	-0,658	1,422
XII	12,925	14,928	0,687	-0,474	0,488
XIII	15,763	14,534	0,668	-0,488	0,651
XIV	15,953	14,601	0,686	-0,482	0,641

Na tabela 3 encontram-se os índices quânticos, tais como somatório de densidade de carga formal em valores absolutos ( $\Sigma |Q_r|$ ), somatórios das superdeslocalizabilidades nucleofílica ( $\Sigma S_r^N$ ) e eletrofílica ( $\Sigma S_r^E$ ) e as energias dos orbitais moleculares ocupado mais alto (HOMO = Highest Occupied Molecular Orbital) e desocupado mais baixo (LUMO = Lowest Unoccupied Molecular Orbital).

As análises de regressão simples e múltipla entre as atividades no fígado e no pulmão e os demais parâmetros físico-químicos calculados, em limite de confiança não inferior a 95%, forneceram as equações de regressão expressas no Quadro I, em que  $r$  é o coeficiente de correlação,  $s$  o desvio padrão e  $F$  o teste de Snedecor. Nestas equações os valores entre parênteses representam os intervalos de confiança a 95%.

As equações de regressão foram determinadas para 11 compostos quando são incluídos parâmetros obtidos pela técnica  $\omega$  e para 14 compostos quando não se utilizaram estes parâmetros quânticos.

A matriz dos quadrados dos coeficientes de correlação figura no Quadro II, em que se pode observar o grau de in-

QUADRO I  
Equações de regressão

- I.  $At_1 = 0,450 (\pm 0,150) \Pi + 1,597$   
 $n = 14; r = 0,88; s = 0,209; F_{12}^1 = 41,957; \alpha < 0,001$
- II.  $At_1 = 0,480 (\pm 0,177) \Pi - 0,053 (\pm 0,150) \chi^V + 1,993$   
 $n = 14; r = 0,89; s = 0,213; F_{11}^2 = 20,420; \alpha < 0,001$
- III.  $At_1 = 0,465 (\pm 0,114) \Pi - 0,281 (\pm 0,225) \Sigma |Q_r| + 1,882$   
 $n = 11; r = 0,96; s = 0,125; F_8^2 = 47,013; \alpha < 0,001$
- IV.  $At_2 = 0,368 (\pm 0,085) \Pi + 1,086$   
 $n = 14; r = 0,94; s = 0,117; F_{12}^1 = 88,277; \alpha < 0,001$
- V.  $At_2 = 0,372 (\pm 0,106) \Pi - 0,184 (\pm 0,209) \Sigma |Q_r| + 1,251$   
 $n = 11; r = 0,94; s = 0,116; F_8^2 = 33,992; \alpha < 0,001$
- VI.  $At_2 = 0,413 (\pm 0,080) \Pi - 0,081 (\pm 0,067) \chi^V + 1,690$   
 $n = 14; r = 0,96; s = 0,096; F_{11}^2 = 69,634; \alpha < 0,001$

QUADRO II  
Matriz dos quadrados dos coeficientes de correlação

	$\Sigma S_r^E$	$\Sigma S_r^N$	HOMO	LUMO	$\Sigma  Q_r $	$\chi^V$	Pr	$\Pi$
$\Sigma S_r^E$	1,000	0,580	0,307	0,858	0,890	0,378	0,429	0,156
$\Sigma S_r^N$		1,000	0,862	0,767	0,395	0,038	0,019	0,100
HOMO			1,000	0,480	0,184	0,002	0,002	0,021
LUMO				1,000	0,640	0,102	0,120	0,127
$\Sigma  Q_r $					1,000	0,423	0,501	0,062
$\chi^V$						1,000	0,625	0,228
Pr							1,000	0,150
$\Pi$								1,000

**TABELA 4**  
**Atividades calculadas no fígado e no pulmão e suas**  
**diferenças em relação às atividades experimentais**

Composto	Eq. III $n = 11$		Eq. VI $n = 14$	
	At <sub>1</sub> calc.	At <sub>1</sub> calc. - At <sub>1</sub> exp.	At <sub>2</sub> calc.	At <sub>2</sub> calc. - At <sub>2</sub> exp.
I	1,659	0,022	1,173	0,021
II	2,168	0,001	1,458	0,103
III	1,825	0,012	1,251	0,021
IV	2,194	0,064	1,531	0,042
V	1,602	0,011	1,059	0,065
VI	0,890	0,013	0,590	0,022
VII	1,583	0,098	1,044	0,129
VIII	1,981	0,100	1,385	0,181
IX	—	—	0,967	0,092
X	—	—	1,240	0,036
XI	—	—	0,485	0,046
XII	1,439	0,024	0,882	0,097
XIII	1,425	0,279	0,828	0,120
XIV	1,427	0,141	0,876	0,168

terdependência entre os parâmetros quando se utilizaram os 14 flavonóides.

Na tabela 4 encontram-se os valores das atividades dos derivados flavonóides determinados teoricamente pela equação III para a atividade no fígado e pela equação VI para a atividade no pulmão, como também a diferença destas atividades com as determinadas experimentalmente<sup>1</sup>.

#### 4. DISCUSSÃO E CONCLUSÃO

Na equação I pode-se observar que aproximadamente 77% da variância da atividade no fígado é explicada pela constante  $\pi$  de hidrofobicidade. Pela equação III, a variância é de aproximadamente 92%, sendo, portanto, 15% explicados pela densidade de carga formal.

Quando se correlacionou a atividade no pulmão com a constante  $\pi$  de hidrofobicidade, a variância da atividade biológica foi em torno de 88%.

Na tentativa de obter melhor equação de regressão foi introduzida a conectividade molecular de valência; a atividade anticancerígena no pulmão passou a ser explicada em 92%.

Os demais parâmetros físico-químicos estudados não apresentaram boas correlações com a atividade biológica. Nesta atividade predomina a lipofilia.

Prevê-se que um aumento do caráter lipofílico e, conseqüentemente, da atividade pode ser conseguido pela introdução de, por exemplo, um átomo de cloro. Desta forma, um derivado como a 4'-cloro- $\beta$ -naftoflavona deverá resultar

em composto com poder indutor enzimático superior aos demais flavonóides em estudo.

#### Referências

- 1 L.W. Wattenberg; M.A. Page, J.L. Leong, *Cancer Res.*, **28**, 934 (1968).
- 2 J.F. Mélo, et al., *Rev. Inst. Antibióti.*, **14**, 39 (1974).
- 3 G. Delle Monache, et al., *Gazz. Chim. Ital.*, **104**, 861 (1974).
- 4 C. Hansch, T. Fujita, *J. Amer. Chem. Soc.*, **86**, 1616 (1964).
- 5 C. Hansch e A.J. Leo, *Substituent constants for correlation analysis in chemistry and biology*. New York, Wiley, 1979.
- 6 J.C. McGowan, *Rec. Trav. Chim. Pays-Bas*, **75**, 193 (1956).
- 7 J.C. McGowan, *Nature (London)*, **200**, 1317 (1963).
- 8 R.H. Perry, e C. H. Chilton, *Chemical engineers' handbook*. 5th ed., New York, McGraw-Hill, 1973, p. 3226-50.
- 9 L.B. Kier, e L.H. Hall, *Molecular connectivity in chemistry and drug research*. New York, Academic, 1976, p. 64.
- 10 A. Korolkovas, *Rev. Farm. Bioquím. Univ. São Paulo*, **8**, 261 (1970).
- 11 A.J. Streitwieser, *Molecular orbital theory for organic chemists*. New York, Wiley, 1967.
- 12 E.C. Foernzler, e A.N. Martin, *J. Pharm. Sci.*, **56**, 608 (1967).