

APLICAÇÃO DO MÉTODO DE TOPLISS PARA A ANÁLISE DA CORRELAÇÃO ENTRE ESTRUTURA QUÍMICA E ATIVIDADE FARMACOLÓGICA DE DERIVADOS DA XANTOXILINA

Valdir Cechinel Filho, Ricardo J. Nunes, Rosendo A. Yunes
Departamento de Química - Universidade Federal de Santa Catarina - SC

João B. Calixto
Departamento de Farmacologia - Universidade Federal de Santa Catarina - SC

Recebido em 9/9/92; cópia revisada em 14/12/92

2-(X-Benzoyloxy)-4,6-dimethoxyacetophenones (X = 4-H, 4-F, 4-NO₂, 4-CH₃, 4-Cl, 3,4-Me₂) were obtained by reaction between the antispasmodic compound 2-hydroxy-4,6-dimethoxyacetophenone with p-substituted benzyl bromides in the presence of sodium hydroxide. The experimentally determined order of potency of the antispasmodic activities of these compounds were compared with the projected order for various parameters suggested by Topliss and gave the same rank order with π -2 σ and π -3 σ showing that electron donor and hydrophobic substituents are the best to increase the activity.

Keywords: xanthoxylines; SAR; Topliss method.

INTRODUÇÃO

2-Hidróxi-4,6-dimetoxiacetofenona, conhecida como xantoxilina pode ser obtida com alto rendimento (0,25%) a partir das folhas e ramos jovens da *Sebastiania schottiana* (euphorbiaceae)¹, planta abundante na região sul do país, conhecida como "quebra-pedra" e usada popularmente para o tratamento de afecções renais.

Os extratos brutos da *Sebastiania schottiana* apresentaram atividade antiespasmódica em preparações de útero de rato e fêlo de cobaia². Recentemente foi relatado³ que a xantoxilina mostrou-se efetiva em inibir as respostas contráteis induzidas por vários agonistas ou por estimulação elétrica em preparações de músculos liso e cardíaco isolados. A xantoxilina inibiu as contrações da bexiga em forma não competitiva e não seletiva e foi potente inibidor das contrações espontâneas do músculo liso circular do ureter de cão. Esses resultados analisados em conjunto reforçam a indicação popular desta planta para o tratamento de afecções renais.

Como o efeito da xantoxilina é, de forma geral, de potência relativamente baixa, além de não apresentar seletividade por agonista e/ou tecidos, vários derivados foram preparados por modificação de algumas funções da molécula (grupo carbonila, grupo hidroxila, etc) e suas atividades antiespasmódicas analisadas inicialmente no fêlo isolado de cobaia contraído pela acetilcolina⁴.

No presente estudo, realiza-se uma análise preliminar da correlação entre a estrutura molecular de compostos derivados pela substituição do hidrogênio da hidroxila da xantoxilina pelo grupo benzila e benzilas substituídos, com as respectivas atividades antiespasmódicas *in vitro*.

PARTE EXPERIMENTAL

1) Isolamento da xantoxilina

A *Sebastiania schottiana* Muell. Arg. foi coletada no município de Apiúna, SC e as folhas, flores e ramos jovens foram fragmentados e submetidos à dessecação a 40° C em estufa. O material foi pesado e colocado em maceração com metanol comercial à temperatura ambiente durante 15 dias e

após concentração em evaporador rotatório, foi obtido o extrato metanólico bruto, que foi extraído em éter de petróleo e concentrado, obtendo-se o extrato de éter de petróleo. Este extrato foi submetido a um fracionamento através de uma coluna contendo Sílica-gel 60 (70-230 mesh) eluída com éter de petróleo. As primeiras frações foram desprezadas até o aparecimento da xantoxilina, que cristalizou em solução, dando um rendimento de 0,25%.

2) Síntese dos compostos

a) Procedimento experimental

A 2-hidróxi-4,6-dimetoxiacetofenona (0,2 g/1,02 mmols) foi adicionada a uma solução contendo 2,0 ml de metanol e hidróxido de sódio (0,041 g/1,05 mmols). 10,0 ml de N,N-dimetilformamida foi adicionado à mistura com agitação durante 5 minutos e posteriormente o brometo de X-benzila (1,05 mmols) (X=4-H, F, NO₂, CH₃, Cl, 3,4-Me₂) foi lentamente adicionado, sendo a mistura aquecida a 90°C durante 2 horas. Após adição de 50 ml e extração com clorofórmio, o produto pôde ser purificado por recristalização (etanol) no caso X=4-NO₂, ou por cromatografia em camada preparativa (X=4-H, F, CH₃, Cl e 3,4-Me₂), dando rendimentos que variam de 40 a 80%.

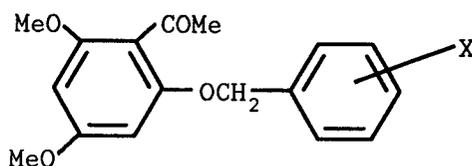
Os aspectos de ¹H-RMN foram obtidos utilizando-se um espectrômetro Varian XL 100, tendo como padrão interno TMS. Os espectros no infravermelho foram medidos com um espectrofotômetro Perkin Elmer 720 (KBr).

b) Caracterização dos compostos

2-hidróxi-4,6-dimetoxiacetofenona: Pf= 81°C; IV: 3460 (O-H); 3000-2900 (C-H); 1615 (C=O); 1600-1400 (C=C, Ar) cm⁻¹. ¹H-RMN (CDCl₃) δ : 14,03 (s, 1H, OH), 6,06 (d, J= 2,5 Hz, 1H, 2H Ar-H.), 5,92 (d, J=2,5 Hz, 1H), 3,82 (s, 3H, CH₃O), 3,05 (s, 3H, CH₃O), 2,60 (s, 3H, CH₃CO).

2-p-benzilóxi-4,6-dimetoxiacetofenona: Pf= 64°C; R= 80%; IV: 3000-2800 (C-H); 1690 (C=O); 1600-1400 (C=C, Ar) cm⁻¹. ¹H-RMN (CDCl₃) δ : 7,20 (s, 5H, Ar-H), 6,05 (d, J=2,5 Hz,

Tabela 1. Ordem de Potência de Derivados da Xantoxilina.



X	log ₁ /C	2π-π ²	2π-σ	π+σ	π-σ	π-2σ	π-3σ	-σ	π
4-Me	5,74	0,81	1,29	0,39	0,73	0,90	1,07	0,17	0,56
3,4-Me ₂	5,61	1,00	2,28	0,69	1,29	1,59	1,89	0,30	0,99
4-OMe	5,23	-0,04	0,23	-0,29	0,25	0,52	0,79	0,27	-0,02
4-Cl	4,99	0,92	1,19	0,94	0,48	0,25	0,02	0,23	0,71
4-H	4,94	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
4-F	4,63	0,16	0,22	0,20	0,08	0,02	-0,04	-0,06	0,14
4-NO ₂	3,15	-0,48	-1,34	0,50	-1,06	-1,84	-2,62	-0,78	-0,28

C = CI₅₀(μM)

Obs.: A xantoxilina (composto referência) apresentou CI₅₀ = 47 μM.

1H, 2H Ar-H), 5,93 (d, J=2,5 Hz, 1H), 4,8 (s, 2H, CH₂); 3,72 (s, 3H, OCH₃), 3,70 (s, 3H, OCH₃), 2,3 (s, 3H, CH₃CO).

2-p-flúor-benzilóxi-4,6-dimetoxiacetofenona: Pf= 58°C; R= 47%; IV: 3000-2800 (C-H), 1700 (C=O), 1600-1400 (C=C, Ar) cm⁻¹. ¹H-RMN (CDCl₃) δ: 7,30-6,80 (m, 4H, Ar-H); 5,98 (d, J=2,5 Hz, 1H, 2H Ar-H), 5,90 (d, J=2,5 Hz, 1H, Ar-H), 4,8 (s, 2H, CH₂), 3,80 (s, 3H, OCH₃), 3,78 (s, 3H, OCH₃), 2,4 (s, 3H, CH₃CO).

2-p-nitro-benzilóxi-4,6-dimetoxiacetofenona: Pf= 158-160°C; R= 65%; IV: 3100-2700 (C-H), 1695 (C=O), 1600-1400 (C=C, Ar) cm⁻¹. ¹H-RMN (CDCl₃) δ: 8,10-7,40 (m, 4H, Ar-H), 6,02 (d, J=2,5 Hz, 1H, 2H, arom.), 5,98 (d, J=2,5 Hz, 1H), 5,1 (s, 2H, CH₂), 3,75 (s, 3H, OCH₃), 3,72 (s, 3H, OCH₃), 2,3 (s, 3H, CH₃CO).

2-p-metil-benzilóxi-4,6-dimetoxiacetofenona: R= 40%; IV: 3000 (C-H), 1680 (C=O), 1600 (C=C, Ar) cm⁻¹. ¹H-RMN (CDCl₃) δ: 7,40 (s, 4H, Ar-H), 6,2 (d, J= 2,5 Hz, 1H, 2H, Ar-H), 6,05 (d, J=2,5 Hz, 1H), 5,0 (s, 2H, CH₂), 3,81 (s, 3H, OCH₃), 3,79 (s, 3H, OCH₃), 2,5 (s, 3H, CH₃CO), 1,2 (s, 3H, CH₃).

2-p-Cloro-benzilóxi-4,6-dimetoxiacetofenona: Pf= 89°C, R= 52%. IV: 3000-2800 (C-H); 1700 (C=O), 1600 (C=C, Ar). ¹H-RMN (CDCl₃) δ: 7,55 (s, 4H, Ar-H), 6,30 (d, J=2,5 Hz, 2H, Ar-H), 6,15 (d, J=2,5 Hz, 1H, Ar-H), 5,3 (s, 2H, CH₂), 3,82 (s, 3H, OCH₃), 3,80 (s, 3H, OCH₃), 2,30 (s, 3H, CH₃CO).

2-(3,4-Dimetil)-benzilóxi-4,6-dimetoxiacetofenona: R= 51%; IV: 3000 (C-H), 1685 (C=O), 1600 (C=C, Ar) cm⁻¹. ¹H-RMN (CDCl₃) δ: 7,35-7,10 (m, 3H, Ar-H), 6,30 (d, J=2,5 Hz, 1H, 2H, Ar-H), 6,20 (d, J=2,5 Hz, 1H, Ar-H), 5,00 (s, 2H, CH₂), 3,82 (s, 3H, OCH₃), 3,80 (s, 3H, OCH₃), 2,35 (s, 3H, CH₃CO), 2,20 (s, 3H, CH₃), 2,10 (s, 3H, CH₃).

2-(p-metóxi)-benzilóxi-4,6-dimetoxiacetofenona: R= 55%; IV: 3000(C-H), 1690 (C=O), 1600 (C=C, Ar) cm⁻¹. ¹H-RMN (CDCl₃) δ: 7,35 (s, 4H, Ar-H), 6,15 (d, J=2,5 Hz, 1H, Ar-H), 6,00 (d, J=2,5 Hz, 1H, Ar-H), 5,20 (s, 2H, CH₂), 3,83 (s, 3H, OCH₃), 3,80 (s, 3H, OCH₃), 3,75 (s, 3H, OCH₃), 2,35 (s, 3H, COCH₃).

3) Análise Farmacológica

Cobaias de ambos os sexos (350-500g) foram sacrificadas e fragmentos de fígado foram isolados. Preparações com cerca de 15 a 20 mm de comprimento foram montadas em solução de Tyrodes a 37°C e oxigenadas com ar sob tensão de 1 g. Após o equilíbrio das preparações durante 30 minutos, foram constituídas curvas concentração resposta cumulativas à acetilcolina na ausência ou na presença de diversas concentrações dos derivados, incubados 20 minutos antes. Apenas um composto foi testado em cada tecido. Experimentos controles foram realizados usando os solventes próprios para diluir os compostos (etanol ou DMSO). Quando possível, foi calculada a CI₅₀ (concentração de cada composto necessária para inibir as respostas à acetilcolina em 50%).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A interação de um fármaco ou molécula com um sistema biológico envolve a consideração de efeitos de substituintes que podem dar uma importante contribuição independente e aditiva. Topliss^{5,6} tem indicado que o método de correlação entre estrutura e atividade desenvolvido por Hansch⁷ conseguiu uma aproximação mais racional para a otimização da síntese de fármacos. Quando esta otimização é procurada pela incorporação de diferentes substituintes no anel benzênico, Topliss sugere um método não estatístico, denominado manual, para aplicar o método de Hansch. O método manual consiste na análise dos resultados de cinco compostos, que devem ser sintetizados com os substituintes no anel aromático: H, 4-Cl, 3,4-Cl₂, 4-CH₃ e 4-OCH₃.

Neste trabalho, considerando 4 substituintes: H, 4-Cl, 4-CH₃ e 4-OCH₃, a ordem de potência dos compostos correspondentes (Tabela 1) coincide com os correspondentes para π-3σ e π-2σ. O composto 3,4-(CH₃)₂ substituído que segundo a ordem de Topliss deveria dar um valor de atividade maior do que o 4-CH₃ apresenta um valor ligeiramente menor que pode ser atribuído às incertezas próprias dos métodos biológicos. No entanto, os compostos 4-NO₂ e 4-F substituídos, dão como esperado, valores muito menores.

Os parâmetros π-2σ e π-3σ de Topliss demonstram que tanto os efeitos eletrônicos como os hidrofóbicos dos substituintes causam mudanças na atividade dos compostos sendo

os efeitos eletrônicos mais importantes e determinantes da atividade. De acordo com o método de Topliss os substituintes a serem testados quando há uma boa correlação da ordem de atividade com π -2 σ e π -3 σ : 4-NEt₂, 4-NMe₂, 4-NH₂, 4-OH, 4-Oi-Pr, 3-Me e 4-OMe, ou seja, substituintes fundamentalmente doadores de elétrons e que, em geral, aumentam a hidrofobicidade da molécula.

Pode-se observar também que os três substituintes do outro anel aromático (xantoxilina) apresentam estas mesmas propriedades. É interessante salientar que quando foi introduzido um átomo de bromo na posição 3 deste anel a atividade em relação à xantoxilina aumentou muito pouco e que a acetofenona mostrou-se inativa⁸. Portanto, é evidente que os substituintes neste anel participam de forma importante no efeito farmacológico e que fundamentalmente os doadores de elétrons aumentam este efeito.

Em conclusão, os resultados indicam que: i) a atividade farmacológica dos compostos em estudo, com exceção do 4-nitro derivado, é várias vezes maior do que a atividade da xantoxilina (26 vezes no caso do 4-metil derivado); ii) a atividade conseguida está na ordem micromolar e é possível aumentar a mesma para uma ordem nanomolar o que seria uma potência excelente; iii) a continuidade destes estudos poderá propiciar o surgimento de análogos não somente com maior atividade farmacológica, mas talvez, também, com seletividade tecidual.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao PADCT, CAPES, CNPq e FINEP pelo suporte financeiro.

REFERÊNCIAS

1. Miguel, O. G., Componentes químicos da *Sebastiania schottiana* Muell. Arg., Tese de Mestrado, UFSC, Florianópolis, 1987.
2. Calixto, J. B., Miguel, O. G., Yunes, R. A. e Rae, G. A., *Planta Medica* (1986) **52**, 444.
3. Calixto, J. B., Miguel, O. G., Yunes, R. A. e Rae, G. A., *Planta Medica* (1990) **56**, 31.
4. Cechinel Filho, V., Yunes, R. A., Nunes, R. J. e Calixto, J. B., XIX Congresso Latino Americano de Química, Buenos Aires, Argentina, p. 572 (1990).
5. Topliss, J. G., *J. Med. Chem.* (1972) **15**, 1006.
6. Topliss, J. G., *J. Med. Chem.* (1977) **20**, 463.
7. Hansch, C., *Drug Design I*, Ed. E. J. Arkens, Academic Press, EUA, 1971.
8. Cechinel Filho, V., Modificação da estrutura molecular da xantoxilina e estudo da atividade farmacológica dos derivados. Tese de Mestrado, UFSC, Florianópolis, 1991.