

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ
INSTITUTO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

**ESTUDO DO MECANISMO DO NITROFENILETANO NA
PROSTAGLANDINA-ENDOPERÓXIDO SINTASE E
RELAÇÃO ESTRUTURA-PROPRIEDADE DE
NITRODERIVADOS**

Joyce Karen Lima Vale

BELÉM – PA

2011

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ
INSTITUTO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

**ESTUDO DO MECANISMO DO NITROFENILETANO NA
PROSTAGLANDINA-ENDOPERÓXIDO SINTASE E
RELAÇÃO ESTRUTURA-PROPRIEDADE DE
NITRODERIVADOS**

Autor: Joyce Karen Lima Vale

Orientador: Prof. Dr. Rosivaldo dos Santos Borges

Co-orientador: Prof. Dr. Pergentino J. da C. Souza

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, área de concentração: Fármacos e Medicamentos, do Instituto de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Pará, como requisito para a obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas

BELÉM – PA

2011

FOLHA DE APROVAÇÃO

Joyce Karen Lima Vale

Estudo do Mecanismo do Nitrofeniletano na Prostaglandina-Endoperóxido Sintase e Relação Estrutura-Propriedade de Nitroderivados

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, do Instituto de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Pará como requisito final para a obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas.
Área de concentração: Fármacos e Medicamentos

Co-Orientador

Prof^o Dr. Perjentino José da Cunha Souza
Universidade Federal do Pará

Banca Examinadora

Prof^a Dra. Cristiane do Socorro Ferraz Maia (UFPA)

Prof^a Dra. Marciene Ataíde (UFPA)

Aprovado em: 17/08/2011.

AGRADECIMENTOS

Á Deus, pela proteção e por sua infinita bondade e misericórdia que me permitiram trilhar essa jornada.

Á minha família, minha estrutura, meu refúgio, apoio incondicional nos momentos mais difíceis.

Ao meu tio, Mauro Augusto Pinheiro Lima, pelo apoio, incentivo de todas as horas, agradeço por você estar ao meu lado, esta vitória também é sua!

Ao meu Orientador, Dr. Rosivaldo dos Santos Borges, pelos ensinamentos e conhecimentos adquiridos, pelo exemplo de profissional e de caráter, e por ter confiado a mim este trabalho.

Ao meu Co-orientador, Dr. Pergentino José da Cunha Sousa, pela sabedoria, e pelo apoio no momento de decisões difíceis.

Ao meu companheiro, Patrick de Oliveira Pinheiro, por estar ao meu lado, pelo carinho e pelo amor dedicado em todos os momentos.

Aos meus amigos, pelo carinho, força, alegria e tudo o que há de bom em todos vocês!

“A Imaginação é mais importante que o conhecimento” (Albert Einstein).

RESUMO

ESTUDO DO MECANISMO DO NITROFENILETANO NA PROSTAGLANDINA-ENDOPERÓXIDO SINTASE E RELAÇÃO ESTRUTURA-PROPRIEDADE DE NITRODERIVADOS

Estudos anteriores sugerem que o óleo essencial da *Aniba canelilla* contendo altos níveis de 1-nitro-2-feniletano apresenta atividade antinociceptiva, anti-inflamatória e hipotensora. Um estudo teórico de correlação entre estrutura química *versus* atividade biológica do 1-nitro-2-feniletano e a prostaglandina-endoperóxido sintase foi realizado. Além disso, foi feita uma análise conformacional do nitrofeniletano, bem como modificações em sua estrutura química, obtendo-se derivados nitroestirenos e cinamatos, para a posterior avaliação da relação estrutura-propriedade. A análise conformacional do nitrofeniletano foi realizada usando o método DFT/B3LYP com o conjunto de base 6-31G(d) através da variação da torção do ângulo dihedro entre as ligações dos carbonos C₁-C₂ ligadas aos grupos fenila e nitro, com variação de intervalos de 5°, na faixa de 0° a 180°, visando a busca dos confôrmeros de menor energia. O confôrmero de 180° do dihedro O₂N-C₁-C₂-C₆H₅ foi significativamente mais estável e isto pode ser explicado em termos do equilíbrio pela presença de sete geometrias de mais baixas energias. A análise de HOMO e LUMO mostra que os grupamentos fenila e metileno contribuem para a formação deste orbital. O cálculo de energia e determinação de propriedades eletrônicas relacionadas com o mecanismo de interação com a ciclooxigenase demonstrou boa correlação entre os grupos nitro e carboxílico, os quais podem ser classificados como bioisósteros. Os resultados das propriedades físico-químicas calculadas indicam uma maior correlação do nitrofeniletano com o ácido acetilsalicílico, podendo ter seu mecanismo de ação relacionado através de interações com a Arg-120 e Ser-530. Cálculos realizados com a guanidina protonada pelo DFT/B3LYP/6-31G(d,p) para o complexo contendo o grupo carboxilato exibem uma energia de interação mais favorável, com valor de -136,34 kcal/mol, quando comparado com a molécula contendo o grupo nitro, com valor de -12,84 kcal/mol, o que pode explicar a maior efetividade da indometacina, semelhante aos resultados biológicos. Os derivados do nitrofeniletano apresentaram uma relação estrutural com derivados de cinamatos, diferindo nas propriedades redox, o que pode favorecer o desenvolvimento de estruturas protótipo como moléculas bioativas a partir destes esqueletos moleculares.

Palavras-chave: 1-nitro-2-feniletano; PGEs; DFT; relação estrutura-propriedade; nitrocompostos.

ABSTRACT

STUDY OF THE MECHANISM OF NITROPHENYLETHANE IN PROSTAGLANDIN-ENDOPEROXIDE SYNTHASES AND STRUCTURE- PROPERTY RELATIONSHIP OF NITRO DERIVATIVES

Previous studies suggest that the essential oil of Aniba canelilla containing high levels of 1-nitro-2-phenylethane has antinociceptive activity, anti-inflammatory and hypotensive. A theoretical study of correlation between chemical structure versus biological activity of 1-nitro-2-phenylethane and prostaglandin-endoperoxide synthase was performed. In addition, an analysis of the conformational nitrophenylethane as well as changes in their chemical structure resulting in cinnamates and nitrostyrenes derivatives, for further evaluation of structure-property. The conformational analysis was performed using the nitrophenylethane DFT/B3LYP the method with the basis set 6-31G (d) by varying the twist angle between the links of dihedro carbons C1-C2 linked to the phenyl and nitro groups, ranging from 5 ° intervals in the range of 0° to 180° in order to search for the lowest energy conformers. The conformer of the 180° dihedron O2N-C6H5-C1-C2 was significantly more stable and this can be explained in terms of the balance by the presence of seven geometries of lower energies. The HOMO and LUMO analysis shows that the phenyl and methylene groups contribute to the formation of this orbital. The calculation of energy and determination of electronic properties related to the mechanism of interaction with the cyclooxygenase showed a high correlation between nitro and carboxylic groups, which can be classified as bioisosters. The results of physico-chemical calculations show a greater correlation of the nitrophenylethane with acetylsalicylic acid, which may have related to its mechanism of action through interactions with Arg-120 and Ser-530. Calculated with the protonated guanidine by DFT/B3LYP/6-31G (d, p) for the complex containing the carboxylate group exhibit more favorable interaction energy with a value of -136.34 kcal / mol, compared with the molecule containing the nitro group with a value of -12.84 kcal / mol, which may explain the greater effectiveness of indomethacin, similar to biological outcomes. Nitrophenylethane derivatives showed a structural relationship with cinnamates derived from differing in the redox properties, which may favor the development of prototype structures and bioactive molecules from these molecular skeletons.

Keywords: 1-nitro-2-phenylethane; PGEs; DFT; structure-property relationship; nitroderivatives.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Estrutura do 1-nitro-2-feniletano.	1
Figura 2 - Estruturas conformacionais anti e vici do nitrofeniletano.	2
Figura 3 - Estruturas do nitrofeniletano, nitrofenileteno e ácido cinâmico.	2
Figura 4 - Estrutura do 1-nitro-2-feniletano.	4
Figura 5 - Estrutura do nitrofenileteno.	6
Figura 6 - Biossíntese dos derivados do ácido cinâmico (Souza, 2008. adaptado).	10
Figura 7 - Representação das estruturas de COX-1 e COX2 determinada por Cristalografia de Raios-x (SOUZA, 2008).	12
Figura 8 - Conversão do ácido araquidônico pelas ciclooxigenases e suas atividades catalíticas. (Adaptado de KULMACZ et al. 1991).	13
Figura 9 - Estrutura química da nimesulida.	13
Figura 10 - Conjunto de análogos nitroestirenos.	22
Figura 11 - Conjunto de análogos cinamatos.	23
Figura 12 - Energia B3LYP/6-31G(d) das conformações pela rotação sobre os ângulos dihedros entre as ligações do nitrofeniletano em ângulos de 0 a 180°.	24
Figura 13 - Energia B3LYP/6-31G(d) das conformações pela rotação sobre os ângulos dihedros entre as ligações das geometrias mais estáveis do nitrofeniletano 180° C.	25
Figura 14 - Análise gráfica dos coeficientes dos orbitais moleculares de HOMO e LUMO do nitrofeniletano.	26
Figura 15 - Densidade de spin de cátion e anion radical livre.	27
Figura 16 - Mapa do potencial eletrostático do nitrofeniletano e ácido fenilpropiónico.	28
Figura 17 - Análise gráfica dos coeficientes de HOMO e LUMO da indometacina e nitrofeniletano.	29
Figura 18 - Estruturas do nitrofeniletano (1), acetaminofeno (6) e ácido acetilsalicílico (7).	30
Figura 19 - Mecanismo de inibição da produção de prostaglandina.	31
Figura 20 - Modelo simplificado da formação do complexo de carga entre ácido acético e nitrometano com a guanidina.	32

Figura 21 - Complexo de carga guanidina-ácido e guanidina-nitro.....	33
Figura 22 - Modelo simplificado da formação do complexo de carga entre ácido acético e nitrometano com a guanidina protonada.	33
Figura 23 - Complexo de carga guanidina protonada-ácido e guanidina protonada-nitro.	34
Figura 24 - Análise gráfica dos coeficientes dos orbitais moleculares de HOMO e LUMO para o nitrofeniletano e nitrofenileteno.	35
Figura 25 - Estruturas de saída e entrada de elétrons do nitrofeniletano e nitrofenileteno.	36
Figura 26 - Gráficos de HOMO e LUMO de nitroestirenos e cinamatos.....	40

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 - Propriedades físico-químicas do nitrofeniletano, acetaminofeno e ácido acetilsalicílico.....	30
TABELA 2 - Propriedades físico-químicas dos derivados nitroestirenos e cinamatos.....	38

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

MIC	Concentração mínima inibitória
i.v.	Via intravenosa
SAR	Relação Estrutura-Atividade
PP1	Fosfatase do tipo 1
PP2A	Fosfatase do tipo 2 ^a
AMPc	Monofosfato cíclico de 3'5' adenosina
PGs	Prostaglandinas
COXs	Ciclooxigenases
PLA₂	Fosfolipase A ₂
AINES	Agentes Anti-inflamatórios Não-Esteroidais
AChE	Acetilcolinesterase
HTS	<i>High-throughput screening</i>
VS	<i>Virtual screening</i>
IUPAC	<i>International Union of Pure and Applied Chemistry</i>
SBDD	<i>Structure-based drug design</i>
LBDD	<i>Ligand-based drug design</i>
QSAR	<i>Quantitative Structure Relationship</i>
PM₃	Terceira Parametrização
TFD	Teoria do Funcional de Densidade
PI	Potencial de Ionização
PR	Potencial de Redução
ADMET	Absorção, Distribuição, Metabolismo, Excreção e Toxicidade
HOMO	<i>Highest Occupied Molecular Orbital</i>
e.V.	Elétron-Volts
LUMO	<i>Lowest Unoccupied Molecular Orbital</i>
MEPs	Mapa dos potenciais eletrostáticos
NPE	1-Nitro-2-feniletano

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	1
2	REVISÃO DE LITERATURA.....	3
2.1	<i>Aniba canelilla</i>	3
2.2	1-nitro-2-feniletano.....	4
2.3	Nitroestirenos.....	6
2.4	Ácido cinâmico.....	9
2.5	Mecanismo de Inibição da Inflamação por Nitroderivados.....	11
2.6	Planejamento e desenvolvimento de fármacos.....	14
3	OBJETIVOS.....	18
3.1	Geral.....	18
3.2	Específicos.....	18
4	MATERIAL E MÉTODOS.....	19
4.2.	Modelagem Molecular.....	19
4.2.1	Relação Estrutura- Atividade.....	19
4.2.2	Energia dos Orbitais de Fronteira (HOMO E LUMO).....	20
4.2.3	Mapa do Potencial Eletrostático.....	20
4.2.4	Potencial de Ionização (PI).....	21
4.2.5	Conjunto de Análogos do Nitrofeniletano e Nitrofeniletano.....	21
4.2.6	Análise Estatística.....	21
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	24
5.1	Estudo conformacional do Nitrofeniletano.....	24
5.2	Análise Estrutural e Eletrônica do Nitrofeniletano.....	26
5.3	Proposta do mecanismo de ação do nitrofeniletano como antiinflamatório.....	29
5.4	Proposta do tipo de Interação Química do nitrofeniletano e a PGES.....	31
5.5	Relação Estrutural entre o nitrofeniletano e nitrofeniletano.....	34
5.6	Relação Estrutural entre o nitrofeniletano e cinamatos.....	36

6	CONCLUSÃO.....	41
7	REFERÊNCIAS	42

1 INTRODUÇÃO

O nitrofeniletano (1-nitro-2-feniletano) é o principal componente do óleo essencial da *Aniba canelilla* com percentual de até 95% no período chuvoso, e em épocas secas atinge valores diminuídos, em torno de 39% (TAVEIRA et al. 2003).

Estudo realizado por Lima (2008) sugere que o óleo essencial da *Aniba canelilla* contendo altos níveis de nitrofeniletano (1) apresenta atividade antinociceptiva e antiinflamatória, provavelmente, de origem periférica, sendo que, os resultados propõem que os receptores opióides estão envolvidos no efeito antinociceptivo. Além disso, foi também determinado o valor da DL₅₀, que correspondeu a 712 ± 17,39 mg/kg, classificando esta substância como pertencente aos agentes xenobióticos de classe 4 (pouco tóxica). No entanto, os valores das doses efetivas em miligramas deste composto foram dez vezes maiores quando comparados aos antiinflamatórios padrões como indometacina e dexametasona.

O atual interesse no estudo teórico da estrutura desta molécula deve-se as possibilidades de estudar a correlação entre estrutura química *versus* atividade biológica, uma vez que este composto dispõe de alguns pontos de modificação para a geração de compostos com possível ação mais pronunciada e de fácil obtenção (Figura 1).

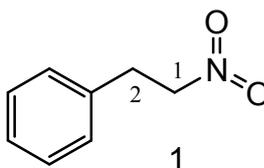


Figura 1 - Estrutura do 1-nitro-2-feniletano.

A análise conformacional foi realizada buscando as conformações de menor e maior energia, seguido pelos cálculos de energia e determinação de propriedades eletrônicas relacionadas com o mecanismo de interação com a prostaglandina-endoperóxido sintase (PGES). O primeiro ponto de modificação são os carbonos sp³, responsáveis pelas diversas conformações deste composto, principalmente as formas *anti* e *vici*, que são consideradas de menor energia. Sendo assim, é

necessária a realização de uma análise conformacional das estruturas *anti* e *vici* do nitrofeniletano, como observado na figura 2.

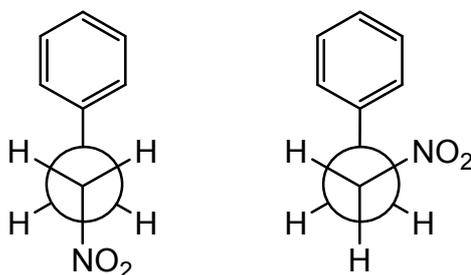


Figura 2 - Estruturas conformacionais anti e vici do nitrofeniletano.

Deve-se ressaltar que o número de conformações de menor energia é um dos fatores responsáveis pela perda de seletividade de um fármaco. As modificações na estrutura molecular geram compostos análogos para estudo da relação estrutura – atividade (SAR), que através de técnicas de modelagem molecular ajudam a identificar os diferentes níveis de contribuição do grupo farmacofórico, fazer previsão sobre a conformação bioativa, propor um modo de reconhecimento molecular pelo alvo, com vistas ao aumento da seletividade, potência, diminuindo a toxicidade e adequação do perfil farmacocinético (WERMUTH, 2003; BARREIRO e FRAGA, 2001).

A partir disso, modificações foram inseridas na estrutura da molécula através da substituição de carbonos sp^3 por sp^2 , promovendo uma restrição conformacional, o que pode favorecer a melhor interação fármaco-receptor. Ao compararmos as duas estruturas, podemos obter moléculas preferencialmente na forma *trans* do nitrofeniletano ou nitro-estireno (**2**) (Figura 3).

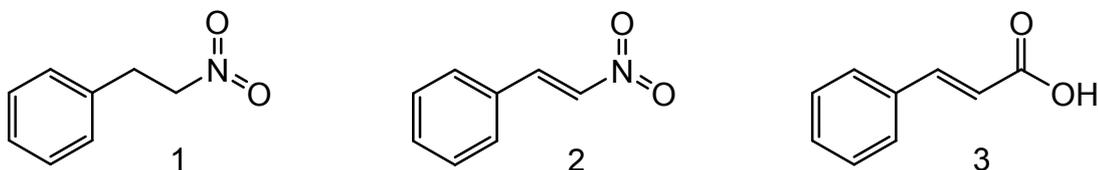


Figura 3 - Estruturas do nitrofeniletano, nitrofeniletano e ácido cinâmico.

Em seguida foi realizada a produção de derivados do nitrofeniletano para os estudos de suas propriedades físico-químicas e estudo das relações estrutura e atividade. Finalmente, a última etapa do trabalho foi comparar as estruturas do

nitrofeniletano e ácido cinâmico, buscando uma correlação molecular e diferenças estruturais e eletrônicas da reatividade entre os grupos carboxilato e nitro.

O estudo teórico da estrutura do 1-nitro-2-feniletano é possível pela disponibilidade de programas computacionais de química e os bancos de dados em rede, que são atualmente, ferramentas fundamentais para a descoberta e planejamento de fármacos. Estas ferramentas permitem uma análise rápida da atividade biológica *versus* propriedades físico-químicas de uma série de moléculas de interesse. Novos agentes terapêuticos podem ser desenvolvidos pela análise de dados teóricos de estrutura-atividade de forma tridimensional, obtidos por técnicas recentes de modelagem molecular (CARVALHO et al. 2003).

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 *Aniba canelilla*

Aniba canelilla (H.B.K.), popularmente conhecida como "casca-preciosa", é uma espécie histórica e importante da região Amazônica. Em 1540 a *Aniba canelilla* foi confundida com árvores de canela (*Cinnamomum zeylanicum* Blume) durante a viagem de Pizzaro e Orellana dos Andes à Amazônia e em 1880 durante a expedição de Humboldt e Bonpland na busca para encontrar a "famosa canela" do rio Orinoco (TAVEIRA et al. 2003). Ela pertence a família das Lauraceae, e é uma árvore endêmica da América do Sul. Suas cascas têm sido usadas em infusões para tratar tosse, como antiespasmódico e estimulante para o Sistema Nervoso Central (LIMA et al. 2004). Além disso, observou-se que o óleo da casca da madeira, provoca um efeito relaxante sobre o músculo liso intestinal em ratos o que corroboraria o uso da planta para desordens gastrointestinais (SOUSA et al. 2003).

Os compostos identificados no óleo essencial de *A. canelilla* foram o nitrofeniletano e o metileugenol (GOTTLIEB e MAGALHÃES, 1960; MORAIS et al. 1972; OGER et al. 1994; TAVEIRA et al. 2003). O nitrofeniletano também é encontrado no óleo essencial de *Ocotea pretiosa* (GOTTLIEB e MAGALHÃES, 1959).

O teor percentual dos compostos majoritários encontrados no óleo essencial da *A. canelilla* depende do solo e do período sazonal na Amazônia. Em períodos chuvosos, o nitrofeniletano alcançou valores próximos de 95%, enquanto que o metileugenol permaneceu abaixo de 18%. No entanto, em épocas secas, o nitrofeniletano chegou a 39%, enquanto que o metileugenol chegou a cerca de 45% na composição do óleo essencial analisado (TAVEIRA et al. 2003).

Estudos recentes mostraram que folhas e os galhos finos da *Aniba canelilla* também apresentaram altos índices de nitrofeniletano, 71,2% e 68,2%, respectivamente (LIMA et al. 2004).

2.2 1-nitro-2-feniletano

O nitrofeniletano (figura 4) é o único nitro derivado odorífero que se conhece, e é responsável pelo cheiro de canela das cascas da *Aniba canelilla* (GOTTLIEB e MAGALHÃES, 1960). A biogênese do 1-nitro-2-feniletano envolve a oxidação da fenilalanina seguido por descarboxilação espontânea (GOTTLIEB et al. 1960).

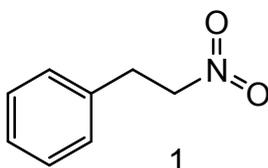


Figura 4 - Estrutura do 1-nitro-2-feniletano.

Raramente os nitroderivados são encontrados em plantas superiores, o nitrofeniletano é o primeiro composto orgânico isolado de plantas que possui um grupo nitro como única função heteroatômica. Outros nitroderivados naturais foram descritos, mas são muito raros em plantas superiores, aparentemente, somente o ácido 3-nitropropiónico e os ácidos aristolóquicos I e II foram encontrados (CASTILLO et al. 1993; LOPES, 2001).

As propriedades fungistáticas do nitrofeniletano foram avaliadas contra várias cepas de fungos patogênicos humanos, tais como: *Candida albicans*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis* e *Aspergillus fumigatus*. O nitrofeniletano mostrou alta toxicidade contra leveduras, especialmente *C. albicans* (MIC: 170 µg / ml), mas

cepas de *A. fumigatus* mostraram-se mais resistentes (MIC: 1500 µg / ml), no mesmo ensaio. A dose letal DL₅₀ determinada foi superior a 800mg/kg em camundongos após 24, 48 e 72 h (OGER et al. 1994).

Em estudos posteriores, a avaliação da toxicidade aguda (DL₅₀) do nitrofeniletano foi realizada em camundongos machos que receberam doses de 500, 600, 750 e 1000 mg/kg por via oral e apresentaram, durante um período de 72 horas, um percentual de morte de 0, 20, 70 e 100%, respectivamente. Sendo assim, obteve-se, um valor da DL₅₀ igual a 712 ± 17,39 mg/kg (LIMA, 2008), classificando a substância como pertencente aos agentes xenobióticos de classe 4 (pouco tóxica) (OECD, 2001).

Estudos realizados por Lima (2008), demonstraram que de acordo com os testes empregados para modelos de nocicepção, testes de contorção abdominal e formalina, o nitrofeniletano inibiu a resposta na segunda fase, que é relacionada com a ação de mediadores inflamatórios nos tecidos periféricos como as prostaglandinas, serotoninas, histaminas e bradicininas (FRANCO et al. 2001; OLIVEIRA et al. 2008), sugerindo que este composto exerce seus efeitos antinociceptivos relacionados com mecanismos periféricos. Além disso, os resultados propõem que receptores opióides estão envolvidos no seu efeito antinociceptivo (LIMA et al. 2009).

O nitrofeniletano apresentou atividade anti-edematogênica e atividade antiinflamatória nos modelos de edema de pata, dermatite em orelha de camundongos e migração celular. Estes resultados sugerem que a ação antiinflamatória desse composto possa ocorrer através de uma interferência na síntese e/ou liberação das bradicininas, prostaglandinas, histamina e serotonina, ou por agir sobre esses receptores envolvidos na resposta inflamatória; entretanto são necessários outros estudos para elucidar estas hipóteses (LIMA, 2008).

Em 2005, Lahloo e col. (2005) demonstraram que o tratamento por via intravenosa (i.v.) com o óleo essencial de *Aniba canelilla* causou resposta hipotensora. Mas, estudos recentes, para a investigação dos mecanismos subjacentes às respostas cardiovasculares, demonstraram que em ratos normotensos, o nitrofeniletano (1-10 mg / kg, i.v.) provocou efeito hipotensor e bradicardia dose-dependente, que foram caracterizadas em duas fases. Na primeira fase, a bradicardia e o reflexo depressor é iniciado em fibras pulmonares ao invés de

fibras cardíaco-vagais aferentes, e na segunda fase, os dados, *in vitro*, sugerem que a resposta hipotensora do nitrofeniletano, resulta, pelo menos em parte, de um efeito vasodilatador direto sobre o músculo liso periférico (SIQUEIRA et al. 2010).

Observa-se que o nitrofeniletano apresenta propriedades fungistática, anti-inflamatória, antinociceptiva e hipotensora. A partir do nitrofeniletano, foi inserida uma modificação da estrutura da molécula, dupla ligação na cadeia lateral, dando origem ao derivado nitrofenileteno, que está contido em uma classe de compostos chamados nitroestirenos. Logo, os derivados obtidos serão pertencentes à classe dos nitroestirenos.

2.3 Nitroestirenos

Nos últimos anos, os nitroestirenos (Figura 5), a exemplo do nitrofenileteno (2), têm mostrado uma série de importantes atividades biológicas. Estes compostos possuem um grupo NO₂ elétron-retirador, sendo que em seu estado fundamental mostrou-se predominante para a configuração *E* (*trans*), do grupo nitro e fenil em relação à ligação dupla da cadeia de carbono (CALHEIROS et al. 2004).

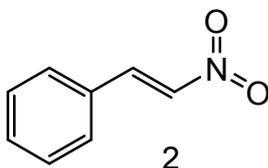


Figura 5 - Estrutura do nitrofeniletano.

Esses compostos também têm sido descritos como potentes inibidores seletivos da telomerase humana (KIM et al. 2003), potentes inibidores enzimáticos das proteínas tirosina fosfatases (PTPs) (PARK e PEI, 2004), proteínas fosfatases de subtipo 2A (PP2A) (FATHI et al. 2000), bem como, inibidores de células de câncer humano (CARTER et al. 2002).

A análise da atividade de derivados nitroestirenos contra a ação da telomerase foi realizada por Kim e col. (2003). A atividade da telomerase é expressa na maioria dos tipos de células cancerosas, mas não em células somáticas normais (KIM et al. 1994). E assim, dos derivados testados, o 3-(3,5-diclorofenoxi)-nitroestireno exibiu o mais potente efeito tóxico, cerca de 50 %, com

aproximadamente 0,4 μM , além de não inibir DNA e RNA polimerases, incluindo transcriptase reversa retroviral, contituindo-se então, em uma nova classe de estruturas inibidoras da telomerase.

Adutos de ácido ascórbico com compostos carbonílicos α,β -insaturados, como os derivados nitroestirenos, foram avaliados por interagirem com a proteína fosfatase de subtipo 1 (PP1), e também por afetar a atividade de PP2A. Boe et al (1991) demonstraram que a inibição prolongada das PP1 e PPA2, resultou na morte celular por apoptose em várias células tumorais. O Aduto *p*-cloro-3-nitroestireno inibiu a atividade de PPA2 de forma tão eficaz quanto as toxinas naturais, o ácido acadaico e a vinblastina, além de ser um forte indutor de apoptose, com valor de CL_{50} inferior a 10 μM (FATHI et al. 2000).

Alguns derivados nitroestirenos mostraram ação anticancerígena e pró-apoptótica, onde a estrutura farmacofórica do β -nitroestireno foi identificada como responsável por esta atividade (KAAP et al. 2003). Dore e col. (1975) examinaram o mecanismo de ação dos β -nitroestirenos, mostrando que a molécula deve conter um anel aromático policíclico ou heterocíclico aromáticos como o furano ou indol, um grupamento etila com dupla ligação e um grupo NO_2 , para que apresentem atividade antitumoral *in vitro*. Estes dados foram confirmados por Kaap e col. 2003 através de análise da relação estrutura-atividade, onde o grupo nitro foi essencial na posição β e não poderia ser substituído por um grupo carboxila.

Os derivados do nitroestireno também apresentaram potente inibição sobre tirosina quinase e um largo espectro de ação anti-agregante plaquetária (WANG et al. 2007). As enzimas tirosinas quinases são um alvo potencial para o desenvolvimento de drogas anti-plaquetárias, devido sua importância na regulação e ativação plaquetária. Inibidores da tirosina quinase têm demonstrado limitações no que se refere à potência, especificidade e permeabilidade celular (OZAKI et al. 1993; BISHOP et al. 1990). No entanto, derivados nitroestirenos não causaram efeitos diretos sobre outras vias mostrando a especificidade do composto (WANG et al. 2007).

A fração nitroestireno foi identificada como a estrutura essencial para a indução de apoptose (WANG et al. 2006). O estudo mostra que o composto químico 3,4-metilenodioxo-nitroestireno, exibiu um efeito inibidor potente e de amplo espectro

sobre a agregação plaquetária humana causada por vários estimuladores, sem afetar diretamente outras vias de sinalização necessária para ativação plaquetária. Este composto promoveu a desagregação das plaquetas, indicando sua capacidade de inverter os processos da glicoproteína (GP)IIb/ IIIa e assim, tem o potencial de acelerar a trombólise. A ligação do fibrinogênio com (GP)IIb/ IIIa é a via final comum da agregação plaquetária e tornou-se uma meta bem sucedida para a terapia antiplaquetária (LEVY-TOLEDANO, 1999).

Um estudo sobre as relações estruturais entre a citotoxicidade e atividade antitumoral foi realizado utilizando-se 29 compostos, principalmente β -nitroestirenos, mostraram a importância do grupo nitrovinil para a atividade (MONTAGNIER, 1971). Estudos mostram que o comportamento destes tipos de compostos é determinado principalmente pelos efeitos eletrônicos. Além disso, as ligações por pontes de hidrogênio intramoleculares, são conhecidas como estruturas relevantes para a estabilidade desses sistemas (MILHAZES et al. 2006).

A atividade antimicrobiana de derivados β -nitroestirenos mostrou que os derivados substituídos pentaclorados foram eficazes apenas contra *Staphylococcus aureus*, e os derivados pentabromados foram inativos. Os compostos não apresentaram qualquer atividade contra *Proteus vulgaris* e *Pseudomonas aeruginosa*. Enquanto que os β -nitroestirenos com anel substituído na posição 3, apresentaram boa atividade contra os microrganismos testados. A atividade contra o *Proteus* e *Pseudomonas* é de particular importância. No entanto, uma das limitações com o composto mais ativo, *m*-acetoxi- β -nitroestireno, foi sua baixa capacidade de solubilização em solventes orgânicos (WORTHEN et al. 1970).

Outros derivados nitroestirenos apresentaram atividade antimicrobiana e antifúngica contra cepas de bactérias gram-positivas (*Staphylococcus aureus* e *Enterococcus faecalis*) e gram-negativas (*Escherichia coli* e *Pseudomonas aeruginosa*) e efetividade contra isolados clínicos suscetíveis a todos os antibióticos, como *Salmonella baumannii*, *typhimurium* e *Acinetobacter*. Isso foi observado particularmente para o 3-hidroxi-4-metoxi- β -metil- β -nitroestireno que apresentou atividade contra as bactérias gram-positivas, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis* e *Enterococcus faecium* (MILHAZES et al. 2006). Além disso, o nitrofenileno (2) demonstrou uma atividade antifúngica potencial contra diferentes

tipos de *Candida*, onde os valores das zonas de inibição encontrados são comparáveis ao de alguns antimicrobianos utilizados comercialmente, como o fluconazol (BEZERRA et al. 2008). Em geral, os nitroestirenos mostraram-se mais eficazes contra gram-positivas do que gram-negativos (BRIAN et al. 1946; WORTHEN et al. 1970; SCHALES et al. 1952).

Estudos realizados por Villar e col. (2008) demonstraram que os compostos com menores valores do orbital molecular ocupado de maior energia (HOMO) e polarizabilidade, apresentaram maior capacidade de inibição da Fosfolipase A₂ (PLA₂), sugerindo a formação de um complexo de transferência de cargas entre os derivados nitroestirenos e a PLA₂. Os compostos mais ativos foram o 1-nitro-2-((*E*)-2-nitrovinil)-benzeno, 1-nitro-3-((*E*)-2-nitrovinil)-benzeno e 1-nitro-4-((*E*)-2-nitrovinil)-benzeno, que apresentam baixos valores de HOMO. Estes resultados são um dos principais motivadores do atual interesse pelo estudo teórico, para determinação de propriedades eletrônicas responsáveis pelas propriedades de nitroderivados. Além disso, pretende-se verificar também qual a contribuição do grupo nitro para a propriedade observada, e assim, a substituição do grupo nitro por um grupo carboxílico resultou na estrutura do ácido cinâmico, pertencente à classe dos cinamatos, que também deram origem ao grupo derivados do nitrofeniletano que serão estudados, os derivados cinamatos.

2.4 Ácido cinâmico

Os derivados do ácido cinâmico são originados através do metabolismo secundário dos vegetais pela via do ácido chiquímico. A fenilalanina elimina uma molécula de amônia, pela ação da fenilalanina amônia-liase originando o ácido cinâmico, também denominado de ácido 3-fenil-2-propenóico (SANTOS, 2004; FILHO, 2008). A estrutura da molécula do ácido cinâmico é geralmente encontrada na forma *trans* (LIU et al. 1995). É um ácido graxo aromático de ocorrência natural, pertencente ao grupo das auxinas, hormônios vegetais responsáveis pela regulação do crescimento e diferenciação celular, sendo que alguns dos seus derivados atuam de forma eficaz e de extrema importância na defesa da planta contra o ataque de insetos e microorganismos (THIMANN, 1969; NIERO, 2010), além de demonstrar

eficácia como agente terapêutico antifúngico e anti-microbiano (EKMEKCIOGLU et al. 1998).

A atividade antitumoral do ácido cinâmico em cultura de câncer de cólon *in vitro* apresentou efeito antiproliferativo na dose de 8,0 mM. Além disso, os níveis de monofosfato cíclico de 3'5' adenosina (AMPc) intracelular foram reduzidos significativamente após 1 h de tratamento, sugerindo que o ácido cinâmico induz seus efeitos sobre a atividade enzimática, em parte, por modulação da via de sinalização do AMPc (EKMEKCIOGLU et al. 1998).

Os derivados de ácidos cinâmicos são representados principalmente pelos ácidos cafeico, ferúlico, sinapínico e *p*-cumárico (LAFAY e GIL-IZQUIERDO, 2008) (Figura 6) e podem ser encontrados em inúmeros produtos de origem vegetal como maçã, café, cereais e cítricos (CLIFFORD, 1999).

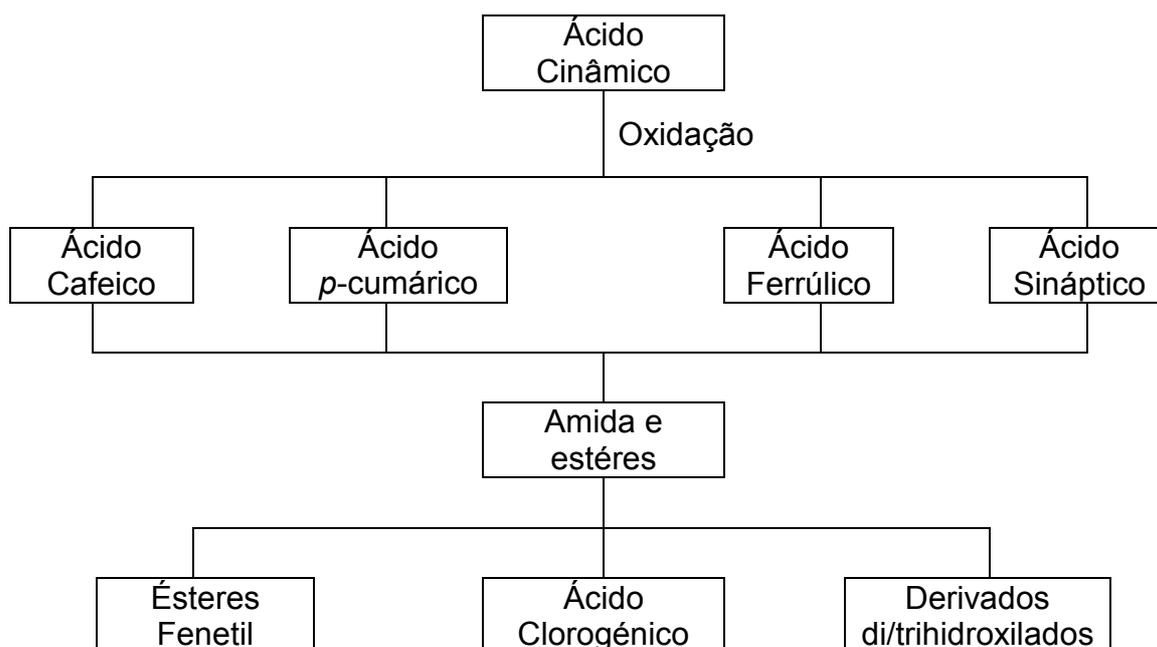


Figura 6 - Biossíntese dos derivados do ácido cinâmico (Souza, 2008. adaptado).

Estudos realizados por Santos (2009) demonstraram que os derivados do ácido cinâmico apresentam atividade antioxidante e inibição da enzima acetilcolinesterase (AChE). Além disso, derivados fenólicos como o ácido 3,4-hidrocinâmico possui um efeito citotóxico significativo contra várias linhagens de células tumorais (KAMPA et al. 2004; LEE et al. 2003).

2.5 Mecanismo de Inibição da Inflamação por Nitroderivados

Os agentes antiinflamatórios não esteroidais (AINEs) se tornaram as drogas mais largamente prescritas e usadas mundialmente desde que, o químico alemão, em 1893, Felix Hoffman motivou a Bayer a produzir o ácido acetilsalicílico, que foi patenteado como a Aspirina. Estima-se que, somente nos Estados Unidos, aproximadamente 50 milhões de pessoas aplicam em torno de 5 a 10 bilhões de dólares por ano no consumo destas drogas (CARVALHO et al. 2004), e em 1995, sua comercialização alcançava a cifra de 2,2 bilhões de dólares, com 73 milhões de prescrições anuais em todo o mundo (SIMON et al. 1995).

John Vane et al (1971), estudando o mecanismo de ação da atividade antiinflamatória da aspirina, demonstraram que as principais ações dos AINES eram efetuadas através da inibição a produção de prostaglandinas (PGs) mediada pela oxidação do ácido araquidônico pelas ciclooxigenases (COXs) de ácidos graxos, ou seja, uma provável competição com o sítio ativo das COXs (VANE et al. 1971; RANG, 2001).

A PLA₂ catalisa a hidrólise dos fosfolipídeos que compõem as membranas celulares liberando ácidos graxos, como o ácido araquidônico, e fosfolipídeos (KUDO e MURAKAMI, 2002; VILLAR et al. 2008). A inibição da PLA₂ pode impedir a excessiva produção de prostaglandinas e leucotrienos, desde a formação do ácido araquidônico (YEDGAR et al, 2000; BALSINDE et al. 2002).

O nitrofeniletano apresentou inibição de PLA₂ no teste de eritema induzido por óleo de cróton, demonstrando, deste modo, que este constituinte possa inibir PLA₂, o que indiretamente interfere com o processo de geração de prostaglandinas (BATE et al. 2004; LIMA, 2008).

Em 1976, A Prostaglandina Endoperóxido Sintetase (COX) ou Prostaglandina Sintetase foi isolada, e em 1988, esta enzima chave que catalisa a biossíntese de prostaglandinas foi clonada. Em 1991, um gene que codificava uma segunda isoforma da enzima foi identificado e denominado então de ciclooxigenase-2 (COX-2), sendo que as duas isoformas, COX-1 e COX-2, possuem estruturas protéicas similares e catalisam a mesma reação (CROFFORD, 1997; VANE et al. 1998; KULKARNI et al. 2000).

As ciclooxigenases (COXs) possuem características fisiológicas bem definidas. A constitucional ou fisiológica (COX-1), agindo como citoprotetora gástrica e mantenedora da homeostase renal e plaquetária. A indutiva ou inflamatória (COX-2), surge apenas em situação de trauma tissular ou inflamação (JUNIOR et al. 2007). As duas isoformas intituladas COX-1 e COX-2 são enzimas de membrana, contendo o grupo heme que existem como homodímero. As isoformas são estruturalmente semelhantes; ambas isoformas possuem um canal hidrofóbico longo no qual se ancoram o ácido araquidônico ou outros substratos de ácidos graxos para que a reação de oxigenação possa prosseguir (RANG et al. 2001) (Figura 7).



Figura 7 - Representação das estruturas de COX-1 e COX2 determinada por Cristalografia de Raios-x (SOUZA, 2008).

As COXs são enzimas bifuncionais, possuindo duas atividades catalíticas distintas. A primeira refere-se à etapa dioxigenase, quando a enzima incorpora duas moléculas de oxigênio à cadeia araquidônica em C11 e C15, dando origem ao intermediário endoperóxido altamente instável, o hidroperóxido-endoperóxido (PGG₂) com um grupo hidroperoxi em C15. A segunda função da enzima é atribuída à etapa peroxidase, no momento em que a enzima faz a conversão a álcool hidróxido-endoperóxido (PGH₂) com um grupo hidroxila em C15, que pode, então, ser convertido em outros prostanóides por distintas enzimas, como redutases, isomerases, sintases, conforme o tipo celular considerado (RANG, 2001), como mostra a figura 8.

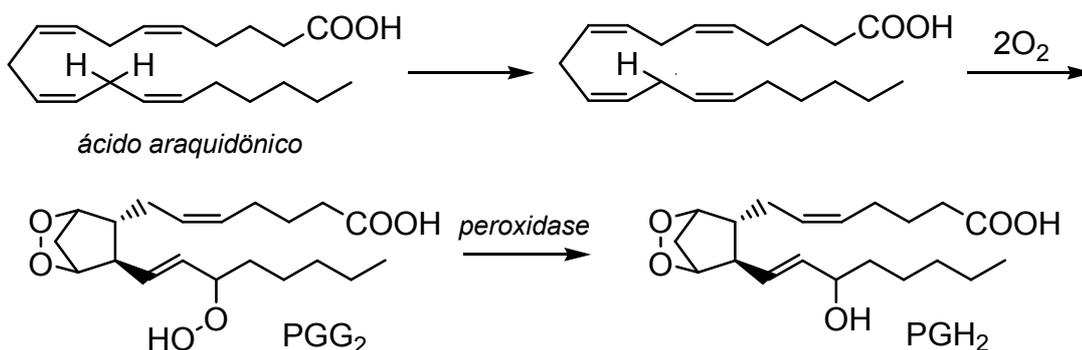


Figura 8 - Conversão do ácido araquidônico pelas ciclooxigenases e suas atividades catalíticas. (Adaptado de KULMACZ et al. 1991).

A nimesulida (**4**) (Figura 9) é um AINE que pertence à classe das sulfonânidas com efeitos antiinflamatório, antipirético e analgésico. É um inibidor seletivo da ciclooxigenase, inibindo preferencialmente a COX-2, *in vitro* e *in vivo*, com mínima atividade sobre a COX-1. Além disso, foi demonstrado que a nimesulida possui outras propriedades relacionadas ao mecanismo de inflamação. É capaz de inibir a liberação de histamina dos basófilos e mastócitos humanos e inibir a atividade da histamina (FARMAEY, 1997).

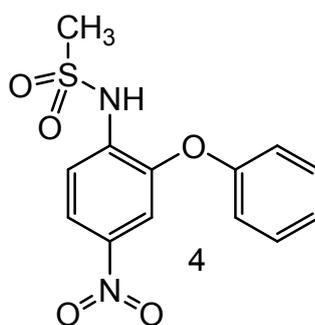


Figura 9 - Estrutura química da nimesulida.

Em geral, os AINES são inibidores competitivos reversíveis. No entanto, existem diferenças no que se refere a sua evolução temporal. A inibição da COX-1 por estes fármacos é normalmente rápida, mas a inibição da COX-2 costuma ser irreversível e é mais dependente do tempo (RANG, 2001).

O bloqueio das COXs pelos AINES ocorre quando os mesmos entram no canal hidrofóbico, formando pontes de hidrogênio com um resíduo de arginina na posição 120, impedindo, deste modo, que os ácidos graxos do substrato entrem no domínio catalítico. A estrutura deste canal na COX-2 possui uma única alteração de aminoácido (isoleucina por valina na posição 523) o que resulta num bolsão lateral volumoso que não é encontrado na COX-1. Logo, isto é importante para compreender porque alguns fármacos são mais seletivos para a isoforma COX-2, especialmente aqueles com grupos laterais volumosos. A aspirina, no entanto, é considerada uma exceção porque entra no sítio ativo da COX-1 e acetila uma serina na posição 530, inativando-a irreversivelmente (RANG et al. 2001).

2.6 Planejamento e desenvolvimento de fármacos

O processo de descoberta e desenvolvimento de novos fármacos, além de ser bastante complexo, é fundamentado na integração de várias áreas estratégicas: inovação, tecnologia, gerenciamento e investimento em pesquisa e desenvolvimento. A estratégia do planejamento racional de fármacos, através do estudo dos processos evolutivos de reconhecimento molecular em sistemas biológicos, assume elevada importância, pois, constituem as bases fundamentais para a potência, afinidade e seletividade dos fármacos por seus receptores-alvos (BARREIRO e FRAGA, 2001; GUIDO e ANDRICOPULO, 2008).

A descoberta e desenvolvimento de fármacos é um processo dividido em duas grandes fases: I - pré-clínica (descoberta ou pesquisa básica) e II - clínica (desenvolvimento) (KUHN et al. 2006). As etapas de identificação, otimização e estudos de relação estrutura-atividade de moléculas concentram-se na fase pré-clínica. A química medicinal é o ponto de intersecção entre planejamento e otimização de novas moléculas com atividade biológica.

A partir da química medicinal é possível explorar o espaço químico delineando o trabalho investigativo na identificação, seleção e otimização de moléculas aptas a interagir de forma eficaz, com alta afinidade e seletividade em relação ao alvo molecular (GUIDO e ANDRICOPULO, 2008).

O planejamento de fármacos pode ser realizado através de técnicas de triagens biológicas automatizadas em larga escala (HTS, do inglês, *high-throughput screening*) e triagem virtual (VS, do inglês, *virtual screening*), bem como estudos realizados através da modelagem molecular.

A modelagem molecular é aplicada no planejamento de fármacos, consistindo na geração, manipulação ou representação de estruturas moleculares e cálculo das propriedades físico-químicas associadas. A investigação das estruturas e das propriedades moleculares pelo uso de química computacional e técnicas de visualização gráfica, visa fornecer uma representação tridimensional, sob um dado conjunto de circunstâncias, segundo a *International Union of Pure and Applied Chemistry* (IUPAC).

Os objetivos da modelagem molecular, de forma mais específica, podem proporcionar a visualização tridimensional e realizar a análise conformacional de fármacos; analisar o tamanho e o formato do grupo farmacofórico; verificar a importância da natureza e o grau de substituição de grupos funcionais; relacionar a estrutura e as propriedades físicas de uma mesma série de fármacos; observar os aspectos estereoquímicos dos fármacos e sua relação com atividade biológica, bem como prever os mecanismos moleculares envolvidos na ação dos fármacos (CARVALHO et al. 2003).

As técnicas de modelagem molecular dividem-se em: planejamento baseado na estrutura do receptor (SBDD, do inglês, *structure-based drug design*); planejamento baseado na estrutura do ligante (LBDD, do inglês, *ligand-based drug design*) bem como o estudo das relações quantitativas entre a estrutura e atividade (QSAR, do inglês, *quantitative-structure relationships*).

O planejamento baseado na estrutura do receptor é uma técnica fundamentada no conhecimento do arranjo topológico de alvos moleculares e utiliza informações em 3D da macromolécula estudada, que são adquiridas através da análise de estruturas obtidas de cristalografia de raios X, estudos de ressonância magnética nuclear (RMN) ou modelagem por homologia. As estruturas encontram-se depositadas em bases de dados públicas, sendo as principais PDB, InterPro, ExPASy e Relibase GUIDO e ANDRICOPULO, (2008). onde podem ser acessadas livremente. Um dos principais métodos utilizados em SBDD é a Docagem molecular

(do inglês, molecular docking) ou simplesmente docagem, que consiste em prever a conformação bioativa de uma micromolécula (ligante) no sítio de uma macromolécula seguida de avaliação e classificação do modo de ligação proposto (MOITESSIER, 2008).

O planejamento de fármacos baseado na estrutura do ligante é realizado através de análises comparativas de moléculas bioativas e podem ser classificadas principalmente por: I – Busca por similaridade, que identificam e classificam compostos como similares ou diferentes relacionados a um ligante (WILLETT, 2006); II – Farmacóforos, que envolvem a identificação de padrões farmacofóricos comuns entre um conjunto de moléculas bioativas e a utilização deste padrão para a busca de novas moléculas que atendam aos requisitos estabelecidos pelo modelo (MASON, 2001); III – Métodos de QSAR, que buscam identificar e quantificar as relações existentes entre a estrutura química e atividade biológica através de descritores moleculares especializados (KUBINIY, 1993).

A integração de técnicas experimentais e computacionais assumiu grande importância no processo de planejamento de fármacos. Isto pode ser observado nos resultados obtidos através do planejamento racional e desenvolvimento de fármacos.

Estratégias de otimização de medicamentos foi utilizada para o agente antifúngico Tioconazol ®, que com o intuito de aumentar a solubilidade e polaridade do medicamento administrado por via tópica, modificações na estrutura química do composto foram inseridas através introdução de substituinte polar (OH) e substituição de anéis heterocíclicos (imidazol e tiofeno) por sistemas polares (anel triazol) e deram origem ao fármaco fluconazol ®, que apresentou maior solubilidade e atividade contra infecções, administrado por via oral (PATRICK, 2001).

Em outros estudos, moléculas inibidoras de Aurora quinases foram testadas. Sabe-se que a amplificação e super expressão do gene Aurora A foi observada em diversas linhagens de células tumorais, sugerindo que a mesma estaria relacionada à transformação oncogênica (Nowakowski, 2001). A anilinoquinazolina foi testada e apresentou excelentes níveis de inibição de Aurora A, e a partir de estudos de relação estrutura-atividade (SAR) e modificações na estrutura química da

anilinoquinazolina, obteve-se compostos com ação mais pronunciada, melhor solubilidade e potência aceitável (MORTLOCK, 2005).

Estudos mostram que a Amodiaquina (AQ) é um antimalárico 4-aminoquinolínico efetivo contra muitas cepas cloroquina-resistentes de *Plasmodium falciparum*. No entanto, o uso clínico de AQ é restrito devido ao risco de agranulocitose e hepatotoxicidade (LARREY et al. 1986). A amodiaquina sofre extensiva ativação para um metabólito quinoneimina eletrofílico, a amodiaquina quinoneimina (AQQ) detectada in vivo em ratos e in vitro em microsomas hepáticos. Modificações na estrutura da AQ deram origem a uma série de análogos, com o protótipo, isoquina (IQ), emergindo como um regioisômero da AQ que não forma metabólitos quinoneiminas tóxicos por simples oxidação, e exibe potência contra parasitas resistentes a cloroquina *in vitro* (WILLIAMS, 2006).

Em outros estudos, o paracetamol foi analisado. O Paracetamol, acetaminofeno, é um dos maiores causadores de necrose hepática. A partir da ingestão de doses tóxicas de paracetamol, o mesmo sofre bioativação dando origem a um metabólito tóxico, o *N*-acetil-*p*-benzoquinonaimina (NAPQI), causando depleção em glutatona hepáticas (GSH), ligando-se covalentemente às proteínas celulares, resultando em reações de estresse oxidativo, disfunção mitocondrial e danos ao ácido desoxirribonucleico (DNA) (DAVIS et al. 1974; WILLIAMS, 2006). Estudos de modelagem molecular foram realizados através do planejamento e desenvolvimento de fármacos, com o intuito de se obter um derivado com menor toxicidade e potencia aceitável. A partir desse estudo, um derivado foi obtido, o ortobenzamol. O ortobenzamol constitui-se em um novo fármaco, que apresenta forte atividade analgésica quando comparado ao seu análogo, o paracetamol (QUEIROZ, 2009).

3 OBJETIVOS

3.1 Geral

Estudar o mecanismo do nitrofeniletano na prostaglandina-endoperóxido sintase e avaliar a relação estrutura-atividade do nitrofeniletano e derivados.

3.2 Específicos

- Estudar os aspectos conformacionais e geométricos do nitrofeniletano usando cálculos de química quântica;
- Realizar a análise estrutural e eletrônica do nitrofeniletano;
- Analisar as possíveis diferenças ou analogias eletrônicas envolvidas no mecanismo de ação do nitrofeniletano, usando os valores e gráficos dos orbitais moleculares de fronteira, potencial de ionização, densidade de spin e mapa do potencial eletrostático, comparadas ao ácido acetilsalicílico e acetaminofeno;
- Propor um mecanismo de interação química do nitrofeniletano e a prostaglandina endoperóxido sintase;
- Avaliar a relação estrutural entre o nitrofeniletano e o nitrofeniletano;
- Propor novos derivados do nitrofeniletano;
- Avaliar a relação estrutural entre o nitrofeniletano e cinamatos.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Desenho e geometria molecular

A otimização da geometria e obtenção de parâmetros teóricos foi realizada através do método semi-empírico PM3 (Terceira Parametrização). Sendo que, as geometrias obtidas pelo método PM3 foram otimizadas pelo método da Teoria do Funcional de Densidade (TFD) usando o conjunto de base 6-31 G* (HEHRE, 1986). Somente as conformações mais estáveis para as moléculas estudadas foram utilizadas. Os descritores moleculares utilizado neste estudo foram: potencial de ionização (PI) das moléculas neutras e ionizadas, Potencial de redução (PR) e densidades de spin. Nesta etapa, os cálculos foram realizados utilizando os programas computacionais Gaussview e Gaussian 2005 (ALVES et al. 2006). Os cálculos de teoria do funcional de densidade (TFD) (PARR et al. 1989) foram empregados nos estudos de mecanismo de reação e potencial de ionização.

4.2. Modelagem Molecular

4.2.1 Relação Estrutura- Atividade

A modelagem molecular possibilita o cálculo das propriedades físico-químicas das moléculas estudadas. As propriedades físico-químicas calculadas podem determinar possíveis sítios ou formas de interação com os receptores biológicos e fatores que afetam as propriedades de ADMET (absorção, distribuição, metabolismo, excreção e toxicidade), dentre as quais o estudo será baseado nos valores do Orbital Molecular Ocupado de Maior Energia e do Orbital molecular Desocupado de Menor Energia, para avaliação da nucleofilicidade ou eletrofilicidade das moléculas (STEWART, 1989). Estes cálculos foram realizados utilizando os programas computacionais Hyperchem 7.5 (2002) e ChemOffice (2005). De posse destas informações pode-se fazer uma previsão qualitativa e quantitativa da relação que possa existir entre o nitrofeniletano, nitrofeniletano e derivados do ácido cinâmicos.

4.2.2 Energia dos Orbitais de Fronteira (HOMO E LUMO)

A Energia do Orbital Molecular Ocupado de Maior Energia, HOMO (do inglês, *Highest Occupied Molecular Orbital*) está relacionado com o potencial de ionização de uma molécula e com sua reatividade como nucleófilo (SANT'ANNA, 2002). O HOMO é o orbital ligante (ocupado) de maior energia, e está diretamente relacionado com a capacidade de doar elétrons, podendo ser utilizado para caracterizar o composto como nucleófilo. (KOROLKOVAS, 1982). Valores maiores indicam maior nucleofilicidade e valores menores indicam uma menor nucleofilicidade. Enquanto que a Energia do Orbital Molecular Desocupado de Menor Energia, LUMO (do inglês, *Highest Occupied Molecular Orbital*) representa a afinidade eletrônica de uma molécula ou a sua reatividade como eletrófilo (SANT'ANNA, 2002). O LUMO é o orbital antiligante (desocupado) de mais baixa energia, diretamente relacionado com a capacidade de receber elétrons, indicando a possibilidade de reagir como um eletrófilo sendo que maior ou menor eletrofilicidade está relacionada com o maior ou menor valor em módulo, respectivamente (KOROLKOVAS, 1982).

Os valores de HOMO e LUMO são expressos em elétron-volts (eV). Estes parâmetros estão relacionados com as regiões em que a estrutura química do fármaco pode ser atraída por pontos específicos do receptor biológico como regiões ricas ou deficientes em elétrons, representando um importante parâmetro que contribui para uma maior compreensão das características de um candidato a ligante em um conjunto de moléculas em estudo (KOROLKOVAS, 1982).

4.2.3 Mapa do Potencial Eletrostático

As superfícies dos mapas dos potenciais eletrostáticos moleculares (MEPs) foram extraídas usando o Gaussian (2005), aplicado às geometria otimizadas de todas as moléculas. Esta superfície tem valores numéricos classificados por cores que fornecem uma medida do tamanho total da molécula assim como a posição de potenciais eletrostáticos negativos ou positivos. As regiões de potencial eletrostático positivo indicam o excesso de carga positiva, conduzindo a repulsão da provável

carga positiva de outra molécula, enquanto que as regiões de potencial negativo indicam as áreas de excesso de carga negativa, conduzindo à atração da carga positiva. A visualização de todos os resultados dos cálculos quânticos foi executada com o pacote computacional Molekel 4.2 (2002). Os mapas foram montados no programa Paint da Microsoft.

4.2.4 Potencial de Ionização (Pi)

O potencial de ionização foi calculado a partir das energias de retirada de um elétron. O cálculo do potencial de ionização foi realizado pela diferença entre a energia da molécula neutra e o respectivo cátion radical (Equação 1).

$$PI = [EMH^{+\bullet}] - [EMH] \quad (\text{Eq. 1})$$

4.2.5 Conjunto de Análogos do Nitrofeniletano e Nitrofeniletano

Os derivados nitrofeniletanos foram denominados de N1-N18, enquanto que os cinamatos foram denominados de C1-C18, como mostrados nas figuras 10 e 11.

Observa-se que as estruturas farmacofóricas dos derivados nitrofeniletanos e cinamatos foram mantidas e as inserções dos grupamentos são as mesmas para ambos análogos.

4.2.6 Análise Estatística

Os valores obtidos para as propriedades físico-químicas para os derivados foram analisados através do programa Bioestat 5.0. 0 (AYRES et al. 2007). Os testes estatísticos aplicados para as amostras relacionadas foram o Teste *t* e o Qui-quadrado em derivados nitroestirenos (figura 10), página 22; e derivados cinamatos (figura 11), página 23;

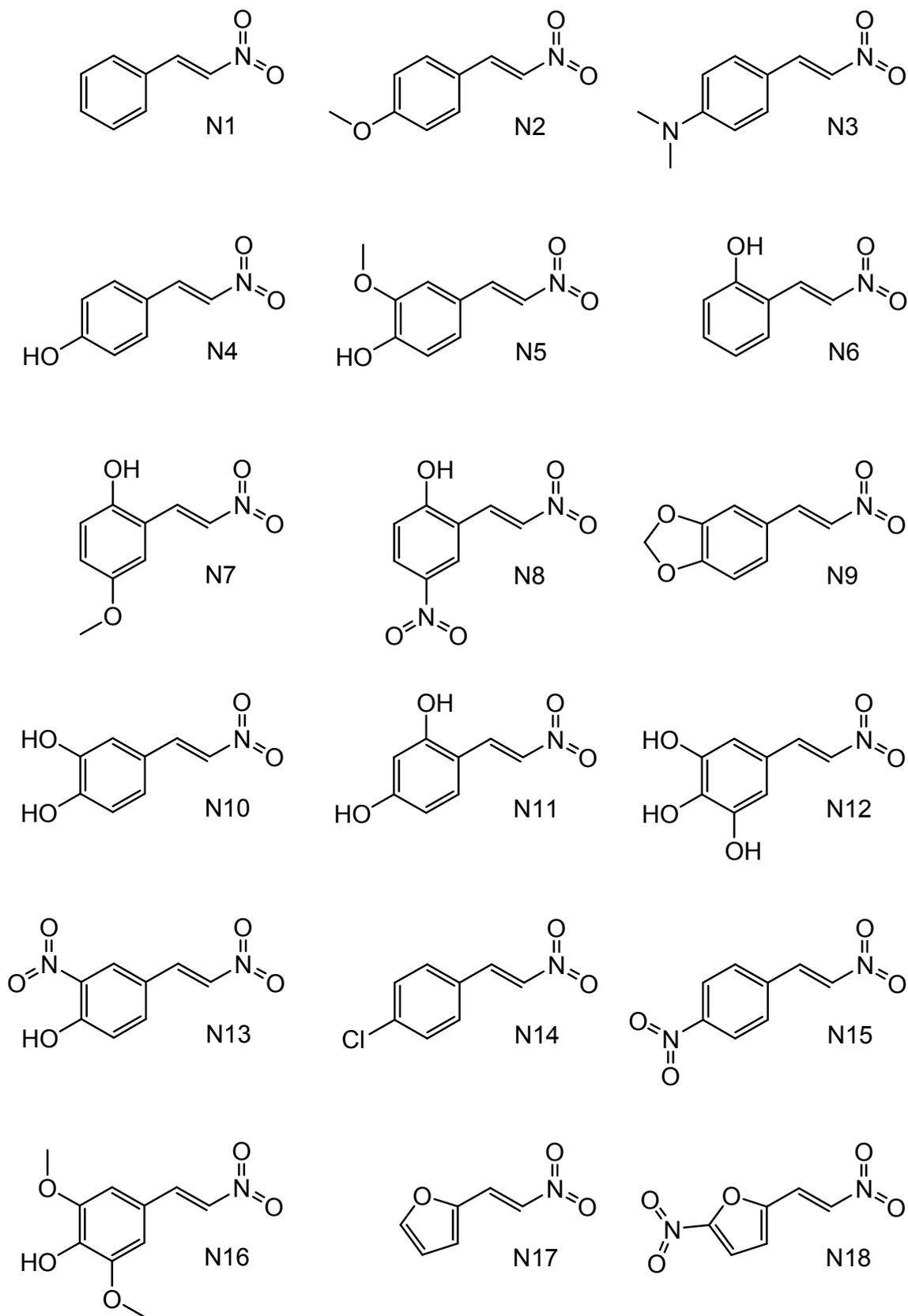


Figura 10 - Conjunto de análogos nitroestirenos.

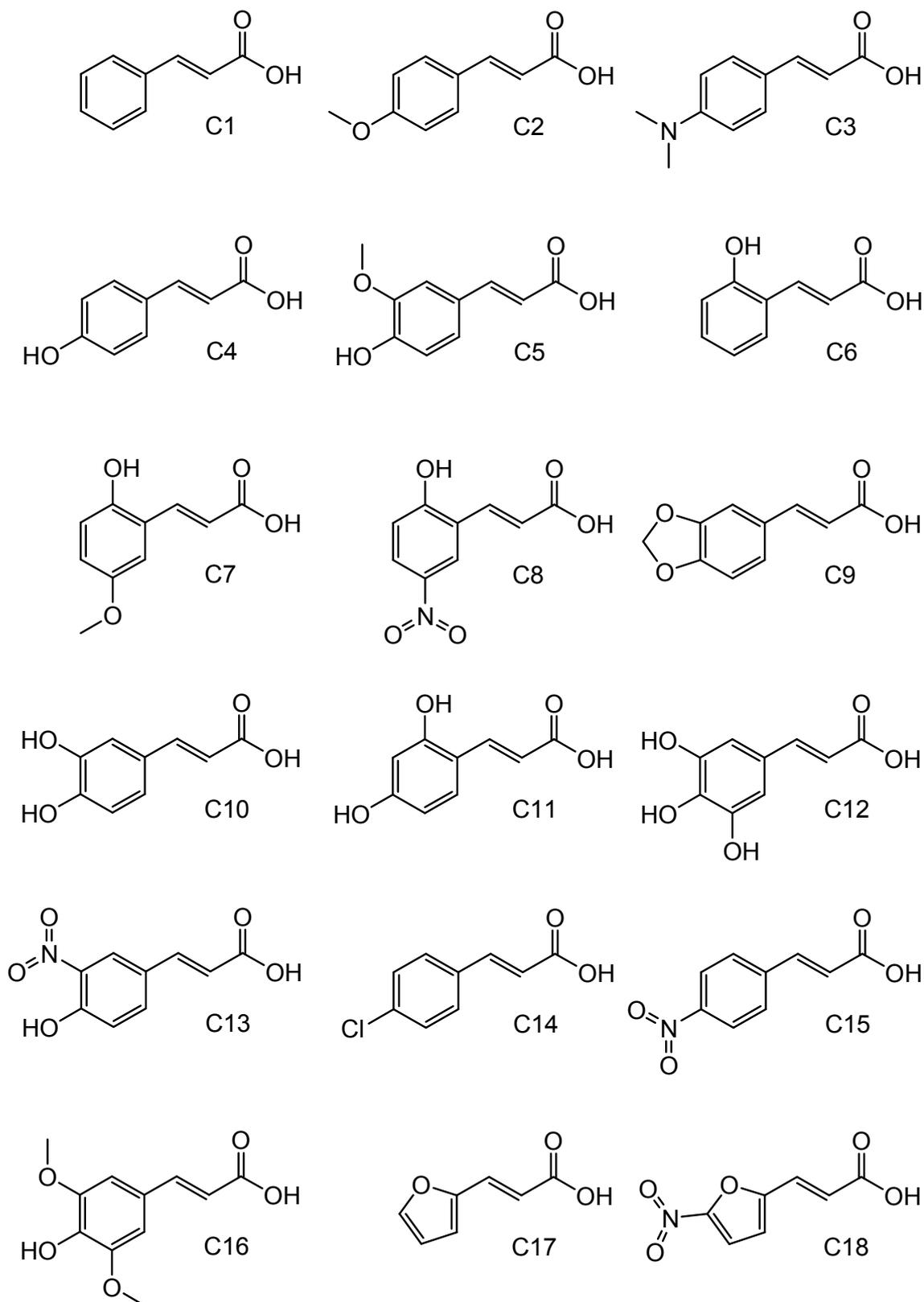


Figura 11 - Conjunto de análogos cinamatos.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Estudo conformacional do Nitrofeniletano

A análise conformacional do nitrofeniletano (NPE) foi realizada usando o método DFT/B3LYP com o conjunto de base 6-31G(d) (HEHRE, 1986) através da variação da torção do ângulo diedro entre as ligações dos carbonos C_1 - C_2 ligadas aos grupos fenila e nitro, onde os graus de flexibilidade foram analisados com variação de intervalos de 5° , na faixa de 0° a 180° , visando a busca dos conformêros de menor energia.

O NPE é uma molécula que pode adotar diferentes conformações, principalmente pela variação dos ângulos diedro em torno das ligações $O_2N-C_1-C_2-C_6H_5$ com rotações em torno da ligação C_1-C_2 (Figura 12). As conformações de menor energia não foram encontradas com valores maiores que 20 kcal/mol para os conformeros mais estáveis. O arranjo *s-trans* relacionado ao conformêro com ângulo de 180° do diedro $O_2N-C_1-C_2-C_6H_5$ foi significativamente menos estável, com valores de 19,38 kcal/mol, comparado com seu oposto *s-cis* ($O_2N-C_1-C_2-C_6H_5$ ângulo 0°).

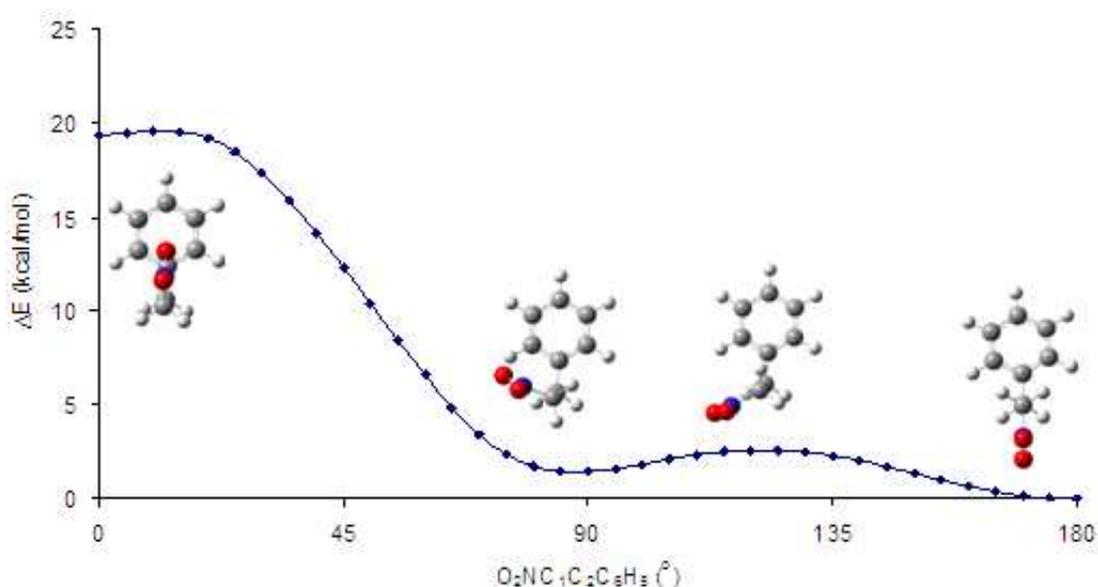


Figura 12 - Energia B3LYP/6-31G(d) das conformações pela rotação sobre os ângulos diedros entre as ligações do nitrofeniletano em ângulos de 0 a 180° .

Os resultados da mecânica quântica obtidos estão de acordo com a estrutura proposta. Vale a pena ressaltar que o anel aromático do NPE é coplanar à fracção nitro. A coplanaridade é um fator importante para contribuição da atividade do composto, isto é observado em estudos de derivados do paracetamol, onde a coplanaridade do grupo acetamida com o anel fenila é importante na capacidade de inibição da PGES por análogos do acetaminofeno (BARNARD et al. 1993; BESSEMS et al. 1995). O isomerismo rotacional neste tipo de molécula contendo anel aromático, etileno, e grupos nitro é influenciado por vários fatores, principalmente por efeitos estéricos, dipolar, mesoméricos e hiperconjugativos, do que as interações de ligações de hidrogênio.

A rotação da ligação C_1-C_2 converte também para outros conformêros, tais como 90° e 120° . A diferença de energia da geometria 120° e 90° comparado ao conformêro 180° mais estável é na ordem de 1,4 e 2,6 kcal/mol, respectivamente. Além disso, a maior estabilização da conformação 180° pode ser explicada em termos do equilíbrio pelos os seguintes fatores: a interação de estabilização, devido a presença de sete geometrias das mais baixas energias nos ângulos diedro em torno do $ON-C_1-C_2$ e da ligação $N-C_1$ (Figura 13) e ligações de hidrogênio, que são favoráveis em particular para estas molécula.

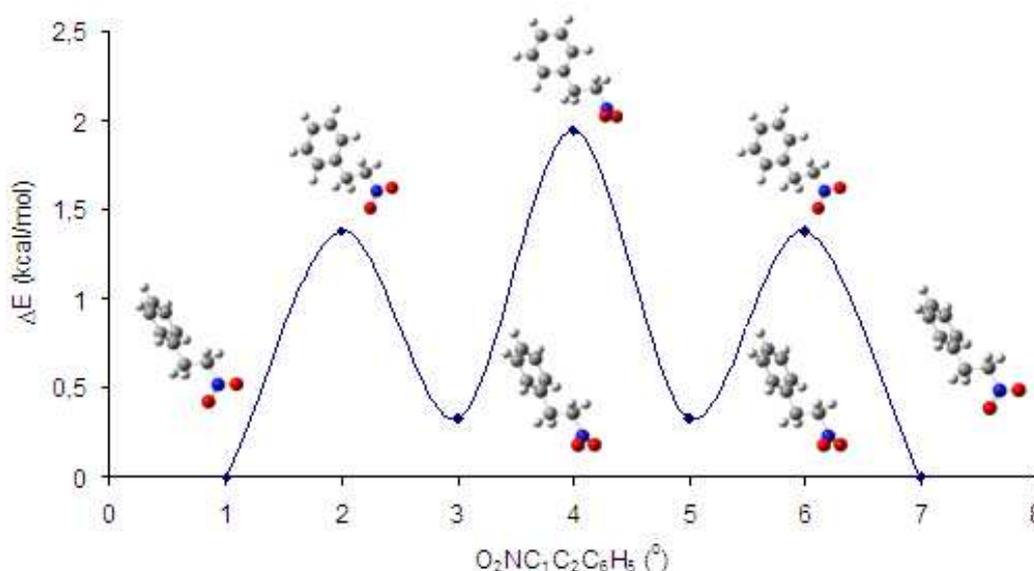


Figura 13 - Energia B3LYP/6-31G(d) das conformações pela rotação sobre os ângulos diedros entre as ligações das geometrias mais estáveis do nitrofeniletano 180° C.

As conformações calculadas e obtidas que apresentam menor valor de energia são consideradas aquelas de maior estabilidade no ambiente estudado (PAULA, 2007). Um fator energeticamente desfavorável são os impedimentos estéricos entre todos os átomos de hidrogênio dos metilenos. Portanto, essa molécula possui várias conformações de mais baixas energias. Este aspecto é importante no mecanismo de ação devido às muitas formas de interação.

5.2 Análise Estrutural e Eletrônica do Nitrofeniletano

A partir da análise estrutural e eletrônica é possível determinar as regiões envolvidas em interações eletrostáticas e em mecanismos de transferência de carga entre os compostos estudados e receptores biológicos (MONASTÉRIOS et al. 2005). Os mapas de HOMO (orbital molecular ocupado de mais alta energia) e LUMO (orbital molecular desocupado de mais baixa energia) indicam as regiões nucleofílicas e eletrofílicas, respectivamente. As estruturas gráficas dos coeficientes dos orbitais moleculares estão apresentadas na figura 14.

A análise de HOMO e LUMO mostram que os grupamentos fenila e metileno contribuem para a formação deste orbital. Portanto, o comportamento redox desta molécula relacionado a doação ou abstração de elétrons estão relacionados com estas regiões, os quais são responsáveis pela estabilização do elétron desemparelhado.

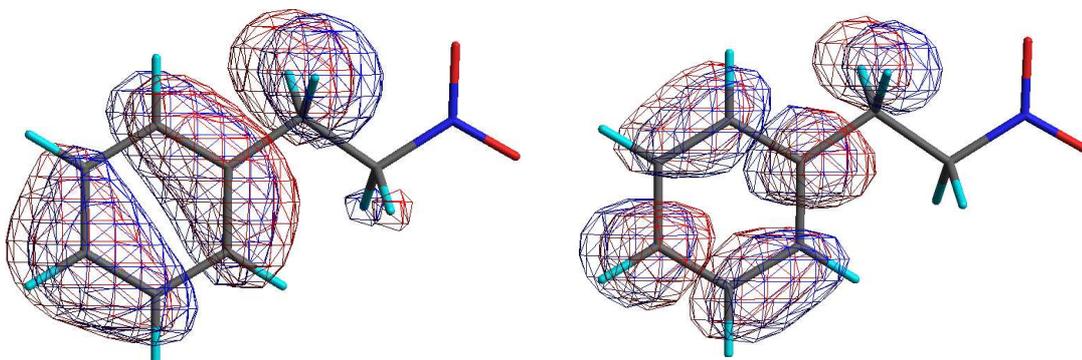


Figura 14 - Análise gráfica dos coeficientes dos orbitais moleculares de HOMO e LUMO do nitrofeniletano.

A ausência de contribuição no grupo nitro explica em parte a baixa toxicidade deste tipo de composto, descrito por Lima (2008), uma vez que a presença do grupo nitro está relacionada com a toxicidade de outras moléculas (KOROLKOVAS, 2008).

O nitrofeniletano apresentou baixo valor do HOMO, $-9,87$ eV, podendo ser classificado como um nucleófilo fraco, pois, maiores valores de HOMO estão relacionados a uma maior nucleofilicidade do composto. Ao contrário, o valor de LUMO de $-0,07$ eV demonstra a relevância do grupo nitro como grupo elétron retirador. Portanto, o nitrofeniletano comporta-se como um melhor eletrófilo com boa capacidade de aceitação de elétrons e o potencial de redução do grupo nitro está possivelmente relacionado com a atividade biológica de nitrocompostos (PAULA et al. 2009).

De fato, os resultados de densidade de spin sugerem a transferência de elétrons por doação ou aceitação, onde o cátion radical livre é estabilizado na porção fenilica, enquanto que o anion radical livre na porção nitro, demonstrando o caráter elétron-doador e acceptor destes grupos, respectivamente, como mostra a figura 15.

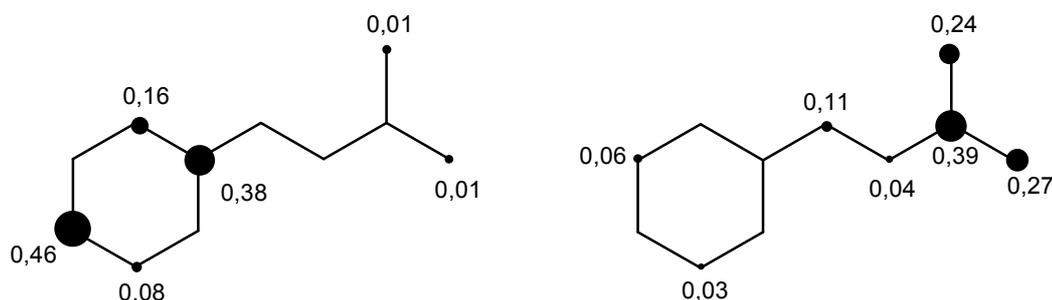


Figura 15 - Densidade de spin de cátion e anion radical livre.

O mapa do potencial eletrostático (MPE) é uma propriedade eletrônica muito utilizada possibilita o entendimento de interações moleculares entre sítios ricos e/ou pobres em elétrons com o receptor biológico (BHATTACHARIEE et al. 2000). O mapa do potencial eletrostático do nitrofeniletano foi obtido do confômero de menor energia.

O perfil tridimensional do MPE do nitrofeniletano demonstra que a posição do potencial eletronegativo encontra-se no grupamento nitro, logo esta região configura-se como uma região provável ao ataque eletrofílico (PAULA et al. 2009).

A avaliação das propriedades estruturais e eletrônicas da fenila, molécula de etileno ou nitro e sua influência sobre a reatividade dos receptores é parte do presente estudo. Dados consideráveis apóiam a hipótese da interação da Serina, arginina e tirosil no mecanismo de inibição das PGEs (KULMACS et al. 1991; ROTH et al. 1975). Outros estudos sobre AINES têm mostrado que esses compostos apresentam atividade anti-inflamatória, pelo mesmo mecanismo molecular (SILVA et al. 2011).

Os MEPs tridimensionais sobrepostos sobre a densidade de elétrons totais auxiliam o entendimento das interações entre as moléculas. As isosuperfícies do MEP tridimensional podem fornecer uma explicação para a interpretação das reações (SILVA et al. 2011). Os MEPs sobrepostos sobre a densidade de elétrons totais do nitrofeniletano (1) e ácido fenilpropênico (5) exibiram boa correlação, e um perfil com valores de potencial que variam de -0.096 para 0.120 kcal/mol (Figura 16).

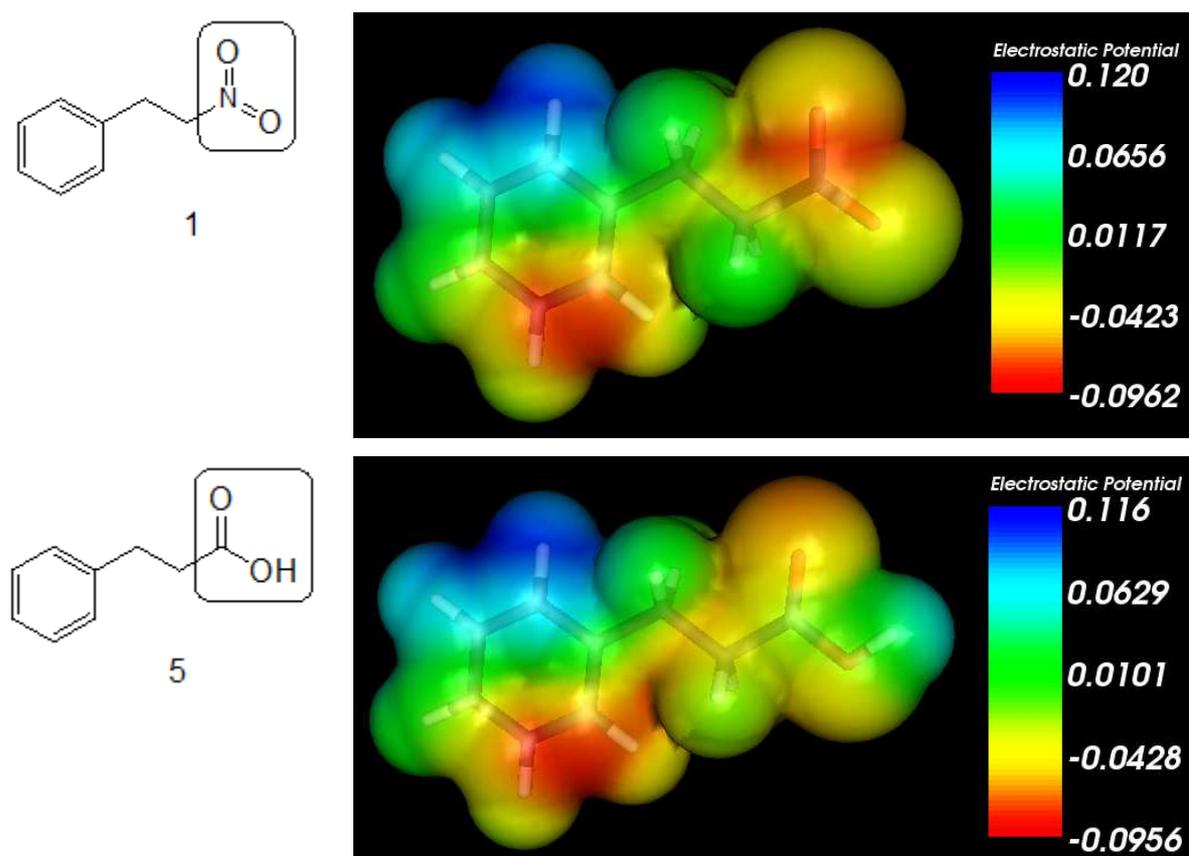


Figura 16 - Mapa do potencial eletrostático do nitrofeniletano e ácido fenilpropênico.

O potencial negativo é localizado na posição ocupada pelos átomos de carbono da fenila e oxigênios do sistema nitro ou carboxila, com o potencial mais negativo encontrado na área circundante representado pela cor vermelha e amarela. Enquanto que os valores positivos representados pela cor azul e verde, estão localizados sobre os átomos de hidrogênio. Os resultados encontrados podem estar relacionados com bioisostérico entre as frações nitro e carboxila.

5.3 Proposta do mecanismo de ação do nitrofeniletano como antiinflamatório

Estudo realizado por Lima (2008) mostrou que a indometacina (6) foi mais efetiva que o nitrofeniletano. Estes compostos demonstraram boa correlação eletrônica de grupos bioisostéricos, pois os grupos nitro e carboxílico não tem participação na formação dos orbitais tanto o HOMO quanto o LUMO (Figura 17).

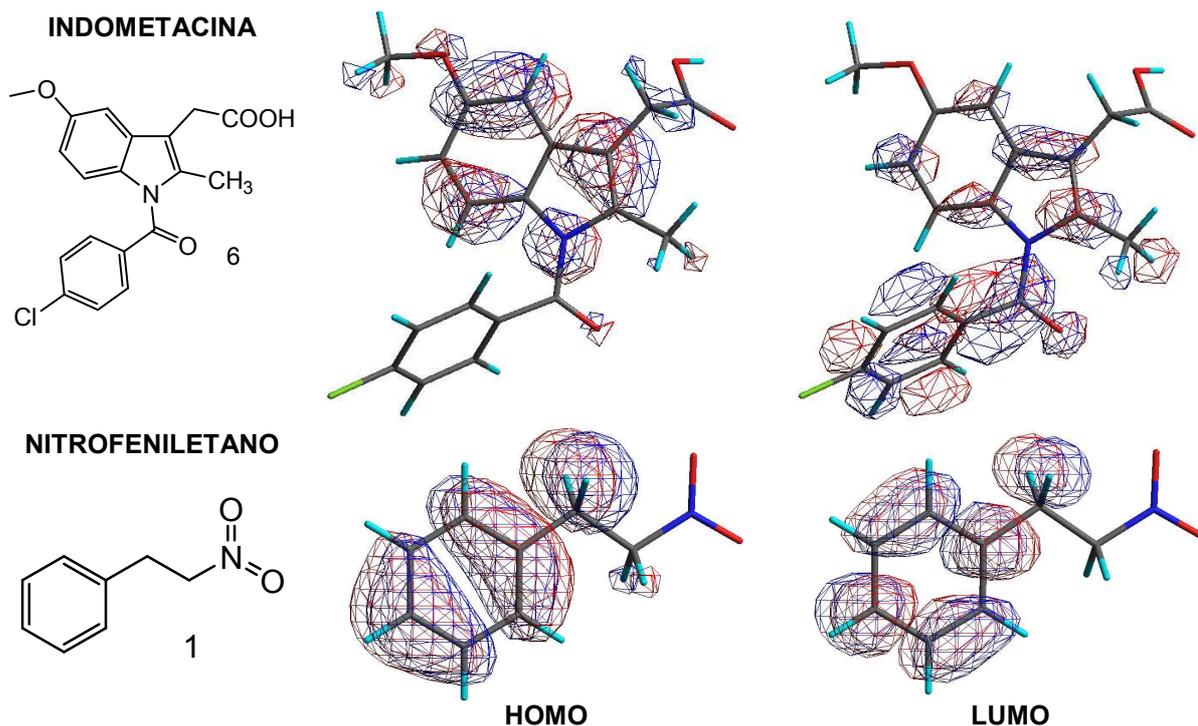


Figura 17 - Análise gráfica dos coeficientes de HOMO e LUMO da indometacina e nitrofeniletano.

Uma vez que os mecanismos de ação do paracetamol (6) e aspirina (7) na prostaglandina endoperóxido sintase (PGES) são conhecidos pela inibição do tirosil

385 (KULMACS et al. 1991) e acetilação da serina 530 (ROTH et al. 1975), respectivamente, estes fármacos foram comparados com o nitrofeniletano.

Os valores das propriedades físico-químicas, do nitrofeniletano (1), acetaminofeno (6) e ácido acetilsalicílico (7) (figura 18), obtidas a partir dos valores de HOMO, LUMO, potencial de ionização (PI) e potencial de redução (PR), descritos na tabela 1, foram utilizados para a comparação do possível mecanismo de ação do nitrofeniletano.

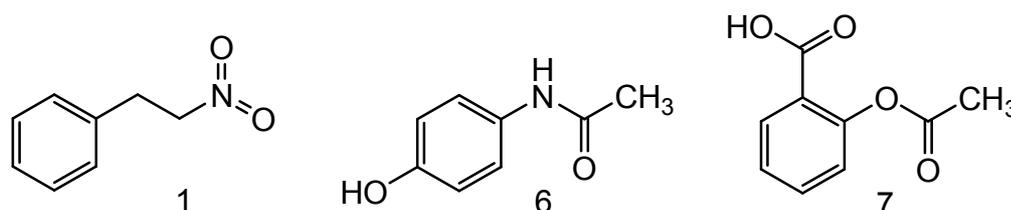


Figura 18 - Estruturas do nitrofeniletano (1), acetaminofeno (6) e ácido acetilsalicílico (7).

TABELA 1 - Propriedades físico-químicas do nitrofeniletano, acetaminofeno e ácido acetilsalicílico.

Compostos	HOMO (eV)	LUMO (eV)	PI (kcal/mol)	PR (kcal/mol)
Nitrofeniletano	-7,14	-2,40	206,49	-14,98
Acetaminofeno	-5,82	-0,59	177,47	16,35
AAS	-7,08	-1,89	206,63	-3,79

Os resultados das propriedades físico-químicas calculadas indicam uma maior semelhança do nitrofeniletano (1) com o ácido acetilsalicílico (7), uma vez que o potencial de ionização do nitrofeniletano (NPE) é igual ao do ácido acetilsalicílico (AAS), os quais são significativamente superiores ao PI do acetaminofeno com $p > 0,05$. O NPE e AAS apresentaram os menores valores de HOMO e maiores valores de LUMO. Ademais, o valor do potencial de redução indica que o NPE é semelhante à aspirina, ambos negativos, enquanto que o valor do acetaminofeno é positivo, de forma que o nitrofeniletano apresenta propriedades eletrônicas semelhantes a aspirina, podendo ter seu mecanismo de ação relacionado a interação com a Ser-530.

5.4 Proposta do tipo de Interação Química do nitrofeniletano e a PGES

O mecanismo de inibição da produção de prostaglandina começa pela fixação do ácido araquidônico pela porção carboxílica com uma arginina presente na posição 120 no sitio ativo da PGES formando um complexo de carga, seguido pela retirada de um átomo de hidrogênio, onde um grupo tirosil da posição 385 é o responsável pela etapa inicial de oxidação do ácido araquidônico. Estudos demonstraram que o radical tirosil presente na COX na posição 385 (Tir-385) funciona como um abstrator ou doador de hidrogênio radical e pode ser bloqueado por derivados fenólicos, inibindo a etapa inicial de síntese de prostaglandinas (KULMACZ et al. 1991). Os grupos oxidados peróxido ou álcool endoperóxido cíclico PGH_2 formados são estabilizados pela interação com a serina da posição 530 (ROTH, 1975), como mostrado na figura 19.

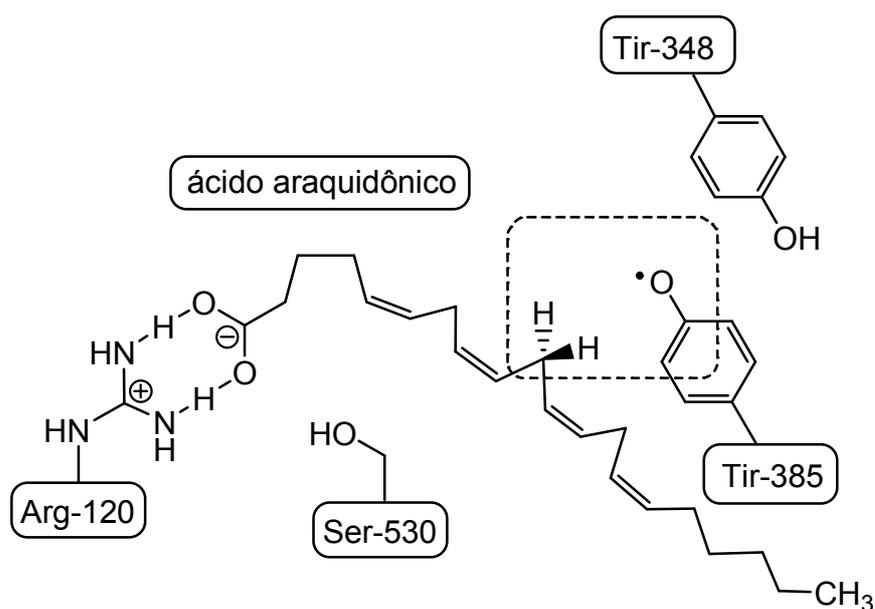


Figura 19 - Mecanismo de inibição da produção de prostaglandina.

O mecanismo de interação proposto com a Serina 530 é corroborado por estudos realizados por Roth (1975) onde o mesmo demonstrou a interação do ácido acetilsalicílico com o resíduo de Serina. O ácido acetil-salicílico acetila seletivamente

o grupo hidroxila de um resíduo de Serina (Ser 530), entre os 70 aminoácidos terminais da cadeia da enzima PGES, sendo que a acetilação conduz à inibição irreversível da função COX (ROTH, 1975). Além disso, a acetilação pelo AAS adiciona um substituinte volumoso na hidroxila da Ser 530, que inibe o acoplamento do ácido araquidônico (DE WITT, 1990).

Uma vez que dois destes mecanismos foram investigados, faltava apenas investigar a interação com a Arg-120, com a conseqüente formação do complexo de carga entre o ácido carboxílico (araquidônico) e a guanidina (arginina). Para tanto, foi utilizado um modelo simplificado da reação entre o ácido acético ou nitrometano com guanidina, com a conseqüente formação do complexo de carga, como descrito na figura 20.

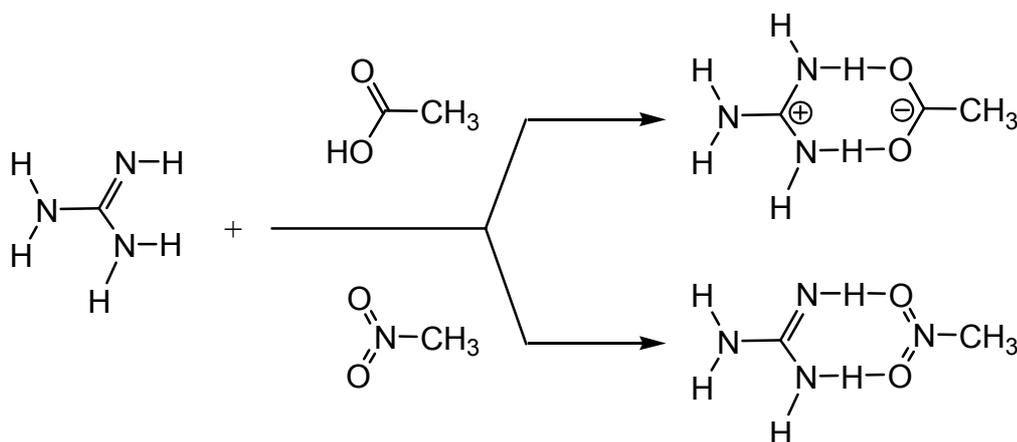


Figura 20 - Modelo simplificado da formação do complexo de carga entre ácido acético e nitrometano com a guanidina.

Os resultados usando os cálculos DFT/B3LYP/6-31G(d,p) demonstram que a molécula contendo o grupo carboxilado possui uma energia de interação mais favorável, com valor de -9,11 kcal/mol (exotérmica), comparado com a molécula contendo o grupo nitro, com valor de 3,86 kcal/mol (endotérmica). Os resultados mostram também que o complexo guanidina-ácido apresenta maior simetria molecular, com valores de interação O-H na ordem de 1,40 e 1,53 Å, enquanto que o grupo nitro apresenta interação de O-H na ordem de 2,24 e 2,49 Å (Figura 21).

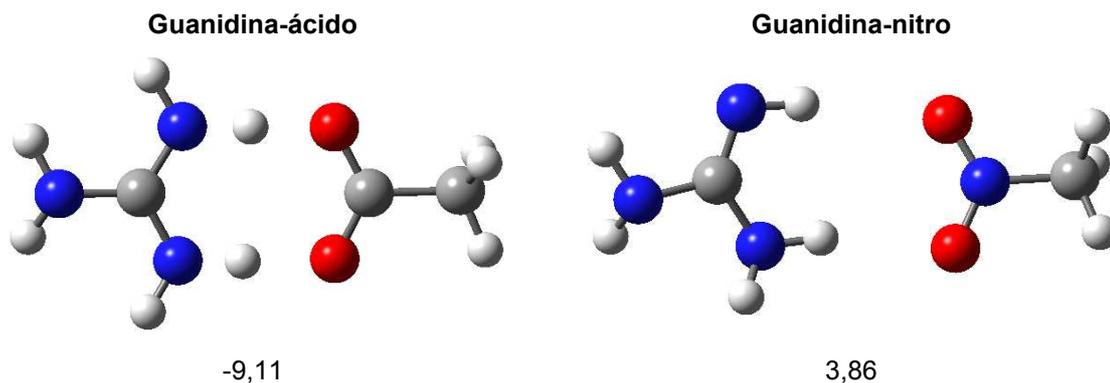


Figura 21 - Complexo de carga guanidina-ácido e guanidina-nitro.

Estes dados demonstram que o nitrofeniletano pode apresentar um mecanismo pela formação de um complexo de carga com a Arg-120 da PGES, e ao mesmo tempo explicam também a maior efetividade da indometacina através da possível maior interação com o grupo carboxilato.

Outra possível possibilidade de mecanismo é pela reação com a arginina (Arg-120) protonada com o anion carboxílico (acetato) e a guanidina protonada (figura 22), pois, fármacos em sua maioria, são ácidos ou bases fracas, e quando presentes em solução se apresentam em situação de equilíbrio entre a forma não ionizada e a forma ionizada molecular (TAVARES, 2004; BARREIRO e FRAGA, 2001). Logo, necessita-se o cálculo para a determinação das interações das moléculas do complexo com as estruturas protonadas.

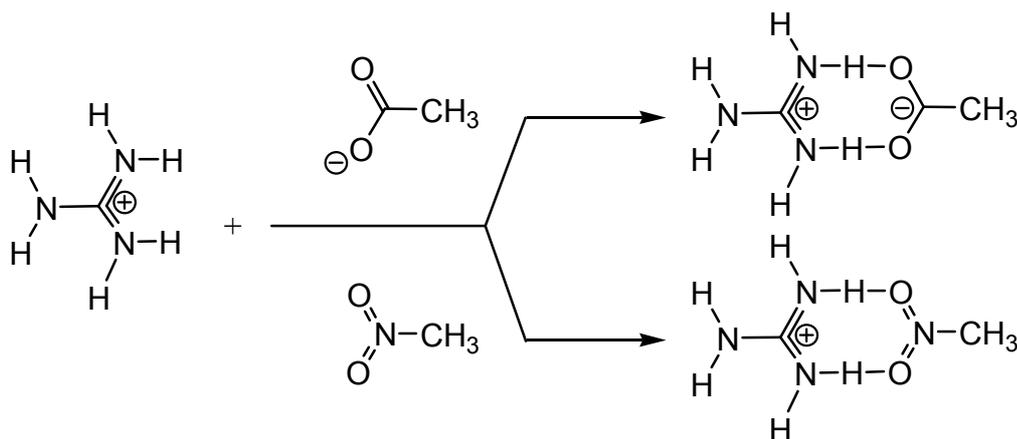


Figura 22 - Modelo simplificado da formação do complexo de carga entre ácido acético e nitrometano com a guanidina protonada.

Os resultados de cálculos da guanidina protonada pelo DFT/B3LYP/6-31G(d,p) demonstram que o complexo contendo o grupo carboxilato possui uma energia de interação mais favorável, com valor de -136,34 kcal/mol, comparado com a molécula contendo o grupo nitro, com valor de -12,84 kcal/mol. O complexo guanidina-ácido apresenta maior simetria molecular, com maiores valores de interação O-H na ordem de 1,95 e 1,95 Å (Figura 23).

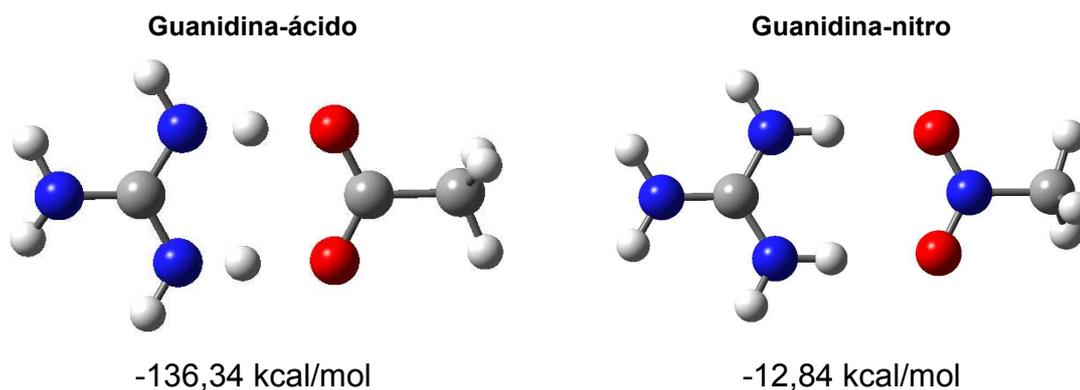


Figura 23 - Complexo de carga guanidina protonada-ácido e guanidina protonada-nitro.

Os valores de interação demonstram um valor de mais de 10 vezes do ácido comparado ao nitroderivado, valores estes aproximados para a efetividade de inibição para os dois compostos nos resultados biológicos, onde a indometacina demonstrou ser mais efetiva nesta mesma proporção (LIMA, 2008).

5.5 Relação Estrutural entre o nitrofeniletano e nitrofenileteno

As estruturas eletrônicas do nitrofeniletano e nitrofenileteno estão representadas pelos gráficos de HOMO e LUMO (Figura 24), onde a restrição conformacional nos carbonos sp³ é responsável por mudanças nas propriedades dos compostos analisados.

A cadeia lateral ligada ao nitrofeniletano é formada por carbonos sp³, com isso, os hidrogênios α da cadeia são mais ácidos e conseqüentemente mais facilmente retirados. O gráfico de HOMO demonstra as regiões ricas em elétrons. A análise do orbital molecular ocupado de mais alta energia mostra que o grupamento fenila e os carbonos da cadeia lateral contribuem para a formação deste orbital,

sendo que as regiões mais favoráveis para a estabilização da carga negativa são as posições *orto* e *para* em relação a cadeia lateral nitrovinil.

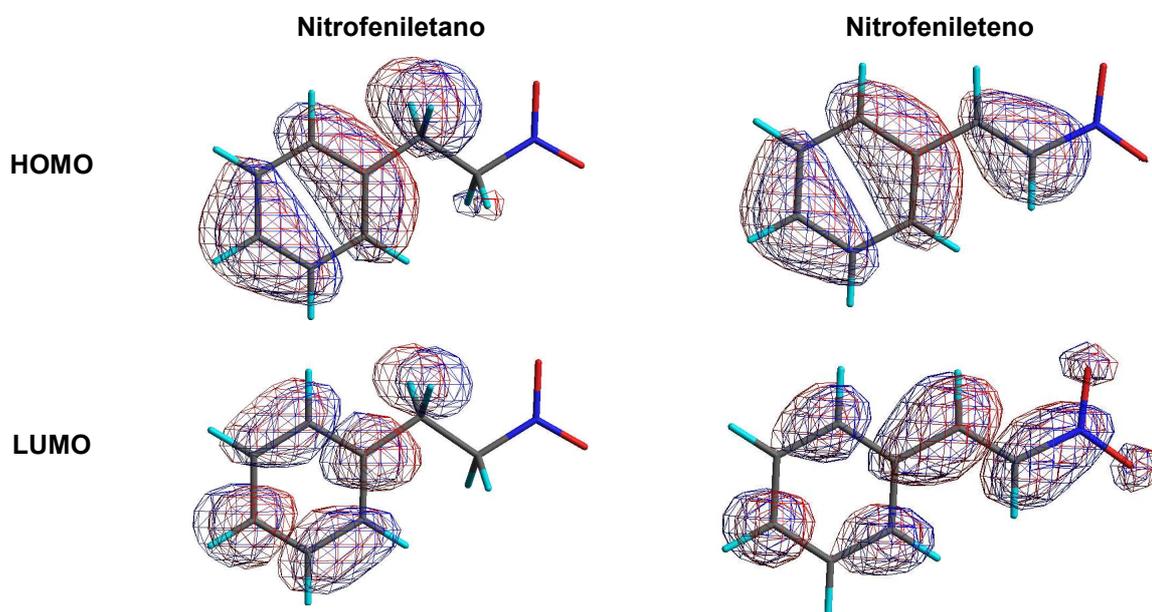


Figura 24 - Análise gráfica dos coeficientes dos orbitais moleculares de HOMO e LUMO para o nitrofeniletano e nitrofenileteno.

A análise do orbital molecular desocupado de mais baixa energia mostra grande contribuição do grupamento fenila, e maior contribuição e do carbono sp^3 ligado à fenila que o ligado ao grupo nitro. Dessa, forma as regiões favoráveis para a estabilização da carga negativa encontra-se em posições *meta* em relação à fenila. A participação do sistema de conjugação de elétrons, que confere maior estabilidade pela deslocalização de elétrons π (CALHEIROS et al. 2004), como observado no nitrofenileteno, pode ser um indicativo do aumento de toxicidade por um aumento de sua capacidade redox.

O nitrofenileteno possui uma cadeia lateral formada por carbonos sp^2 , pois consiste em uma ligação π e uma σ com sobreposição dos orbitais, diminuindo a distância entre as ligações. O sistema de deslocalização de elétrons e grupo nitro fortemente retirador de elétrons atuam sobre a cadeia lateral composta de carbonos sp^2 e a fenila facilitando o fenômeno de ressonância (KOROLKOVAS, 1988).

Estes resultados são suportados pelos resultados da densidade de spin, onde o sistema π é determinante para a estabilização tanto do cátion (esquerda), quanto

do anion (direita) radical livre do nitrofeniletano (acima) e nitroestireno (abaixo), como mostrado na figura 25. De fato, os valores de contribuição da densidade de spin mostram que o sistema ressonante apresenta maior numero de estruturas de ressonância com maior participação do grupo fenila e alceno e menor participação do grupo nitro.

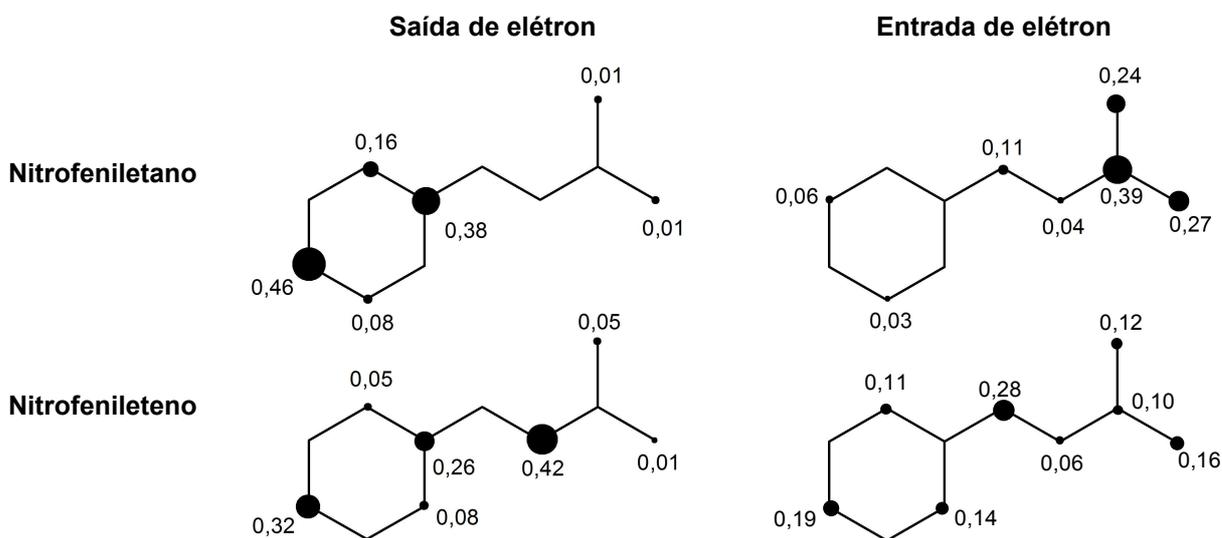


Figura 25 - Estruturas de saída e entrada de elétrons do nitrofeniletano e nitrofeniletano.

5.6 Relação Estrutural entre o nitrofeniletano e cinamatos

O comportamento eletrônico dos derivados cinamatos como análogos do nitrofeniletano foi determinado pela possibilidade da ocorrência de pontes de hidrogênios. Esta distribuição evidencia a maior contribuição do sistema π de elétrons, com o efeito de ressonância. O padrão de similaridade na distribuição dos orbitais encontrados nas moléculas analisadas pode ser explicado pelo fato de serem consideradas como bioisósteros.

Apesar da similaridade na distribuição de orbitais, observa-se que a partir da análise as propriedades físico-químicas dos compostos analisados, os valores dos potenciais de ionização dos derivados cinamatos foram menores quando comparados aos potenciais de ionização dos nitroestirenos e os valores dos potenciais de redução dos derivados nitroestirenos foram maiores quando comparados aos derivados cinamatos.

Analisando a tabela 2, observa-se que houve diferença significativa nas quatro propriedades considerando os 18 compostos analisados, com valores de $p=0,0392$ para a análise dos orbitais de HOMO entre os 18 derivados cinamatos e nitroestirenos; $p<0,0001$, para análise comparativa dos orbitais de LUMO; $p=0,0048$, com a avaliação dos potenciais de ionização nitroestirenos e cinamatos e $p<0,0001$ para a análise comparativa entre os derivados estudados nas propriedades do potencial de redução.

Desta forma, os derivados de nitrofeniletano apresentam melhores propriedades como elétron-aceptores ou eletrófilos, enquanto que os derivados cinamatos apresentam melhores propriedades elétron-doadoras ou nucleófilos. Estes resultados podem ser confirmados tanto pelos valores de LUMO e HOMO, além dos valores de potencial de redução e potencial de oxidação, respectivamente. Além disso, outros derivados, tanto nitroestireno quanto cinamatos, também apresentaram bons valores de potenciais de ionização como apresentado na tabela 2.

De maneira geral, a inserção de grupamentos doadores de elétrons provocou um aumento dos valores de HOMO e uma diminuição no potencial de ionização dos compostos estudados. Isto é evidenciado pelos valores destas propriedades para as moléculas 3 e 16. Ao contrario, os grupos retiradores de elétrons aumentaram os valores de LUMO e do potencial de redução dos derivados analisados, sendo observados particularmente para as moléculas 8, 15 e 18.

Estes resultados podem ser confirmados pela análise grafica dos orbitais moleculares, pois a distribuição do orbital de HOMO para derivados nitroestirenos e cinamatos demonstram que a inserção de grupamentos doadores de elétrons por indução e por ressonância exibe uma maior participação na formação do orbital, contribuindo efetivamente para o aumento dos coeficientes das regiões nucleofílicas das moléculas. Além disso, o grupo carboxilato tem maior contribuição do que o grupo nitro. Estas representações são mostradas na figura 26 (página 39 e 40).

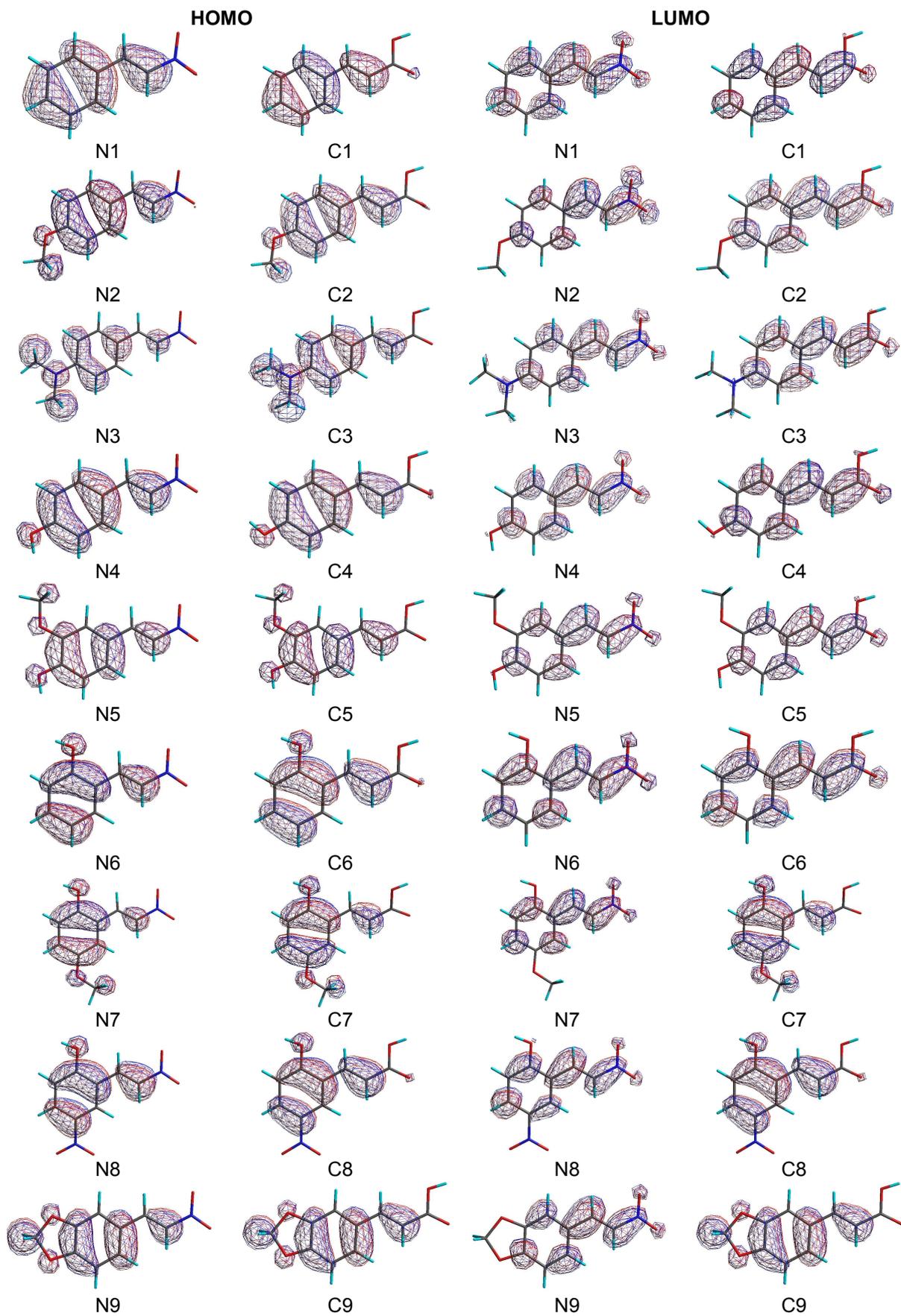
A mesma tendência foi observada para a estrutura de LUMO, pois estes orbitais apresentam uma semelhança estrutural com pequenas variações nos coeficientes (figura 26).

TABELA 2 - Propriedades físico-químicas dos derivados nitroestirenos e cinamatos.

	Nitroestirenos				Cinamatos			
	HOMO	LUMO	PI	PR	HOMO	LUMO	PI	PR
1	-6,94	-2,63	203,31	-22,19	-6,45	-1,82	187,65	-6,42
2	-6,30	-2,40	186,06	-18,47	-5,91	-1,62	172,39	-3,12
3	-5,57	-2,12	166,11	-13,20	-5,22	-1,35	155,81	1,93
4	-6,41	-2,45	190,33	-18,64	-6,00	-1,66	176,27	-3,04
5	-6,02	-2,40	179,65	-23,17	-5,65	-1,59	166,23	-2,83
6	-6,51	-2,47	193,15	-19,47	-6,08	-1,71	178,42	-4,37
7	-5,99	-2,45	179,78	-20,16	-5,66	-1,73	166,84	-5,75
8	-7,22	-2,95	207,41	-32,69	-6,79	-2,45	192,91	-20,99
9	-6,11	-2,50	182,34	-20,68	-5,74	-1,70	169,66	-5,17
10	-6,13	-2,47	183,54	-23,71	-5,78	-1,65	170,57	-3,52
11	-6,24	-2,30	185,31	-15,87	-5,81	-1,52	170,27	-0,51
12	-6,04	-2,49	181,01	-23,88	-5,68	-1,71	167,63	-5,34
13	-7,08	-2,92	204,20	-49,19	-6,65	-2,46	189,06	-21,75
14	-6,97	-2,81	201,83	-27,86	-6,55	-2,07	187,94	-13,15
15	-7,68	-3,47	218,42	-46,52	-7,21	-3,00	203,43	-35,56
16	-5,84	-2,37	174,00	-18,72	-5,50	-1,60	161,28	-3,68
17	-6,56	-2,65	197,46	-19,12	-6,06	-1,82	181,56	-3,85
18	-7,44	-3,61	211,35	-48,22	-6,96	-3,08	199,26	-36,12

HOMO $p=0,0392$; LUMO, $p<0,0001$; PI, $p=0,0048$; PR, $p<0,0001$. PI; PR.

Os resultados deste estudo demonstram que o grupo carboxilato pode substituir o grupo nitro, tais como variações no potencial redox, aumento de polaridade e melhor capacidade elétron-doadora, atuando desta forma como um bioisómero do grupo nitro.



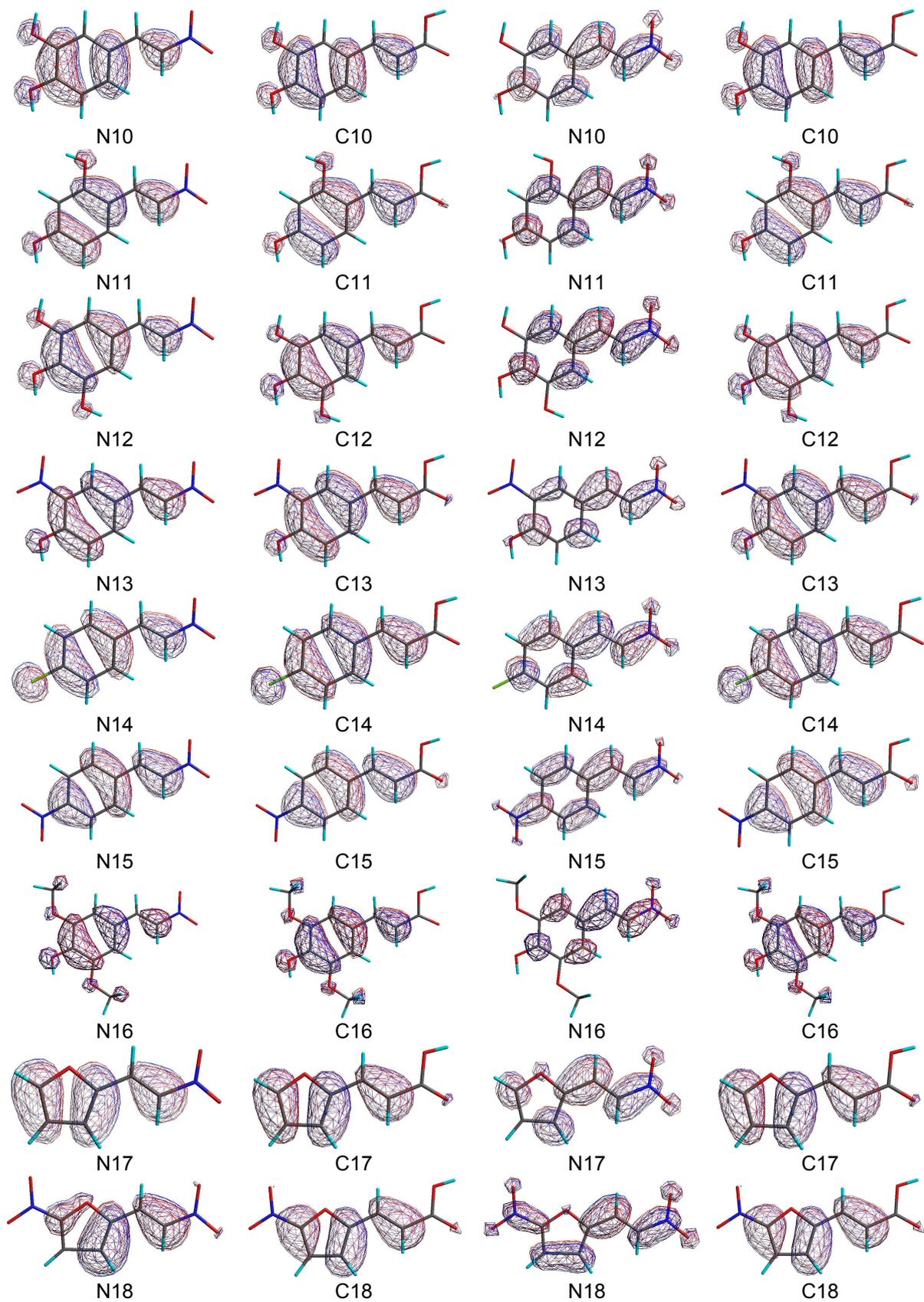


Figura 26 - Gráficos de HOMO e LUMO de nitroestirenos e cinamatos.

6 CONCLUSÃO

O nitrofeniletano apresenta três conjuntos de estruturas conformacionais de menor energia e apenas um conjunto de estruturas conformacionais de mais alta energia.

A geometria favorecida do nitrofeniletano é a forma anti (*trans*).

A análise da estrutura eletrônica do nitrofeniletano relacionada aos orbitais de fronteira HOMO e LUMO indica que o grupo nitro pode não estar relacionado com reações redox, explicando sua classificação como um composto de baixa toxicidade.

Os prováveis mecanismos de interação do nitrofeniletano com a prostaglandina endoperóxido sintase são as interações com a Arg-120, primeiramente e a Ser-530, secundariamente.

Os resultados demonstram uma relação bioisotérica entre a porção nitro da molécula do nitrofeniletano com o grupo carboxilato, com menor afinidade comprovada pela maior efetividade de fármacos ácidos como a indometacina.

A relação estrutural entre o nitrofeniletano e o nitrofeniletano são baixas, devido ao aumento de estruturas de conjugação entre os grupos fenila e nitro, podendo comprometer com a atividade e toxicidade já descritas deste composto.

Os derivados do nitrofeniletano apresentaram uma relação estrutural com derivados de cinamatos, diferindo nas propriedades redox, o que pode favorecer o desenvolvimento de estruturas protótipo como moléculas bioativas a partir destes esqueletos moleculares.

7 REFERÊNCIAS

- AL-SEREITIA, M.R.; ABU-AMERB, K.M.; SENA, P. **Pharmacology of rosemary (*Rosmarinus officinalis* Linn) and its therapeutic potentials**. Indian Journal of Experimental Biology, v. 37, p. 124-131, 1999.
- ALVES, C. N.; BORGES, R. S.; DA SILVA, A. B. F.; **Density Functional Theory Study of Metabolic Derivatives of the Oxidation of Paracetamol**. Journal of Quantum Chemistry, v.106, p. 2617-2623, 2006.
- ARROIO, A.; HONORIO, K. M.; WEBER, K. C.; HOMEN-De-MELLO, P.; Da SILVA, A. B. F. **The teaching of Quantum Chemistry and the computer from the perspective projects**. Quimica Nova, São Paulo, v. 28(2), p. 360-363, 2005.
- AYOUBI, S. A. E.; TEXIER-BOULLET, F.; HAMELIN J. Minute synthesis of electrophilic alkenes under microwave irradiation. **Synthesis**, p. 258-260, 1994.
- AYRES M., JR. M. AYRES, D.L. AYRES, E A.A. SANTOS-DOS-SANTOS. 2007. **Bioestat 5.0** – Aplicações. Estatísticas nas áreas das ciências biomédicas. Universidade Federal do Pará.
- BALLINI, R.; CASTAGNANI, R.; PETRINI, M. **Chemoselective synthesis of functionalized conjugated nitroalkenes**. Journal of Organic Chemistry, v. 57(7): 2160-2162, 1992.
- BALSINDE, J.; WINSTEAD, M.V.; DENNIS, E.A. **Phospholipase A2 regulation of Arachidonic acid mobilization**. FEBS Lett., v.531: 2–6, 2002.
- BARREIRO, E. J.; FRAGA, C. A. M. Química medicinal. In: **As bases moleculares da ação dos Fármacos**; Artmed Editora: Porto Alegre, 2001.
- BARNARD, S.; STORR, R. C.; O'NEILL, P. M.; PARK, B. K. **The effect of fluorine substitution on the physicochemical properties and the analgesic activity of paracetamol**. J. Pharm. Pharmac. v. 45: 736-744, 1993.

BATE, C.; REID, S.; WILLIAMS, A. **Phospholipase A2 inhibitors or platelet activating factor antagonists prevent prion replication.** The Journal of Biological Chemistry, v. 279, p. 36405-36411, 2004.

BESSEMS, J. G. M.; GAISSER, H. D.; TE KOPPELE, J.M.; VAN BENNEKOM, W.P.; COMMANDEUR, J.N.M.; VERMEULEN, N.P.E. **3,5-Disubstituted analogues of paracetamol. Synthesis, analgesic activity and cytotoxicity.** Chem. Biol. Inter. v. 98, p. 237-250, 1995.

BHATTACHARIYA, A.; MUKHOPADHYAY, R.; PAKRASHY, C. S. **Sodium Borohydride Reduction of Nitrostyrenes by Reverse Addition: A Simple and Efficient Method for the Large-Scale Preparation of Phenylnitroethanes.** Synthesis, v.(9): 886-887, 1985.

BISHOP, W. R.; PETRIN, J.; WANG, L.; RAMESH, U.; DOLL, R. J. **Inhibition of protein kinase C by the tyrosine kinase inhibitor erbstatin.** Biochem. Pharmacol., v. 40:2129–2135, 1990.

BRIAN, P.W.; GROVE, J.F.; MCGOWAN, J.C. **Fungistatic activity of ethylenic and acetylenic compounds.** Nature, 158(4024): 876 p., 1946.

BØE, R.; GJERTSEN, B. T.; VINTERMYR, O. K.; HOUGE, G; LANOTTE, M.; DØSKELAND, S. O. **The protein phosphatase inhibitor okadaic acid induces morphological changes typical of apoptosis in mammalian cells.** v. 195, n.1, p. 237-246, 1991.

BORGES, F. **β -Nitrostyrene derivatives as potential antibacterial agents: a structure–property–activity relationship study.** Bioorg. Med. Chem. 2006, 14:4078–4088 p.

BROŽIĆ, P.; GOLOB, B.; GOMBOC, N.; RIŽNER, T. L.; GOBEC, S. **Cinnamic acids as new inhibitors of 17 α -hydroxysteroid dehydrogenase type 5 (AKR1C3).** Molecular and Cellular Endocrinology, v. 248, p. 233–235, 2006.

CALHEIROS, R.; MILHAZES, N.; BORGES F.; MARQUESA, M.P.M. **b-Nitrostyrene derivatives – a conformational study by combined Raman spectroscopy and ab initio MO calculations.** Journal of Molecular Structure, v.692, p. 91–106, 2004.

CARVALHO, I.; PUPO, M.T.; BORGES A.D.L.; BERNARDES, L.S.C. **Introdução a modelagem molecular de fármacos no curso experimental de química farmacêutica.** Quím. Nova, v. 26(3), 2003.

CARTER, K. C.; FINNON, Y. S.; DAEID, N. N.; ROBSON, D. C.; WADDELL, R. **The effect of nitrostyrene on cell proliferation and macrophage immune responses.** Immunopharmacol Immunotoxicol, v. 24:187–197, 2002.

CASTILLO, C.; VALENCIA, I. ; REYES, G.; HONG, E. **Análisis de las propiedades anti-hipertensivas del ácido-3-nitropropionico: um compuesto proveniente de plantas del género Astragalus / Antihypertensive properties of 3-nitropropionic acid: a compound derived from the astragalus plant.** Arch. Inst. Cardiol. Méx, v. 63: p. 11-16, 1993.

CLIFFORD, M. N. **Chlorogenic acids and other cinnamates – nature, occurrence and dietary burden.** J. Sci. Food Agric., v. 79: p. 362-372, 1999.

CROFFORD, L.J. **COX-1 and COX-2 tissue expression: implications and predictions.** J Rheumatol, v. 24: p. 15-19, 1997.

DANIEL, C.; GALDI, N.; MONTEFUSCO, T.; GUERRA, G. **Syndiotactic Polystyrene Clathrates with Polar Guest Molecules.** Chemistry of Materials, v. 19(13): 3302-3308, 2007.

DAVIS, D. C.; POTTER, W. Z.; ET AL. **Species differences in hepatic glutathione depletion, covalent binding and hepatic necrosis after acetaminophen.** Lide Sci., v. 14(11): 2099-2109, 1974.

DE WITT, D.L.; EL-HARITH, E.A.; KRAEMER, S.A.; ANDREWS, M.J.; YAO, E.F.; ARMSTRONG, R.L. **The aspirin and heme-binding sites or ovine and murine prostaglandin endoperoxide synthases.** J. Biol. Chem. v. 265, p. 5192-5198, 1990.

DORE, J. C.; VIEL, C. **Antitumoral chemotherapy cytotoxic and antitumoral activity of β -nitrostyrenes and nitrovinyl derivatives.** Farmaco Edizione Scientifica, v. 30(2): 81-109, 1975.

EKMEKCIOGLU, C.; FEYERTAG, J.; MARKTL, W. **Cinnamic acid inhibits proliferation and modulates brush border membrane enzyme activities in Caco-2 cells.** Cancer Letters, v. 128, p. 137–144, 1998.

ESTRELLA, E. **Plantas Medicinales Amazonicas: Realidad y Perspectivas.** GEF/PNUD, 1995.

FAMAHEY, J. P. **In vitro and in vivo pharmacological evidence of selective cyclooxygenase-2 inhibition by nimesulide: an overview.** Inflamm. Res., v. 46, p. 437-46, 1997.

FATHI, A.R.; KRAUTHEIM, A.; KAAP, S.; EGER, K.; STEINFELDER, H.J.; **Michael adducts of ascorbic acid as inhibitors of protein phosphatase 2A and inducers of apoptosis.** Bioorg. Med. Chem. Lett. v.10, p. 1605–1608, 2000.

FILHO, E. S. C. **Prospecção Molecular de genes codificadores de enzimas da via de fenilpropanóides em *Dipteryxodorata* (Aubl) Willd e *Eclipta Alba* (L.) Hassk.** Ribeirão Preto – SP, 2008.

FLUKINGER, P.; LUTHI, H. P.; PORTMANN, S.; WEBER, J. **MOLEKEL 4.2.** Center for Scientific Computing. Manno, Switzerland, 2002.

GOTTLIEB, O.R., MAGALHÃES, M.T., **Occurrence of 1-nitro-2-phenylethane in *Ocotea pretiosa* and *Aniba canelilla*.** J.Org.Chem., v. 24, p. 2070, 1959.

_____. ***. Essential oil of the bark and wood of *Aniba canelilla*.** Perf.Essent. Oil Rec. v.51, p. 69–70, 1960.

_____. ***. Physiological varieties of *Ocotea pretiosa*.** II Perfumer & Essential Oil Record, v.51, p. 18–21, 1960.

GUARDABAXO, N. S.; FERREIRA, F. P.; DEL LAMA, M. P. F. M.; NAAL, R. M. Z. G. **Estudo do potencial antialérgico de derivados do ácido cinâmico**. Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, USP, SP.

GUIDO, R. V. C.; ANDRICOPULO, A. D. **Modelagem molecular de fármacos**. Revista Processos químicos, v. 4, p. 24-36, 2008.

HEHRE, W.J.; RADOM, L.; SCHLEYER, P.V.R.; POPLE, J.A. **Ab Initio Molecular Orbital Theory**, Wiley: New York, 1986.

JÚNIOR, J.O.L.; SERRANO, S.C.; TEODORO, A.L.; DANA, B.A. **Os antiinflamatórios não hormonais**. Prática hospitalar, v.51, p.173-178, 2007.

KAAP, S.; QUENTIN, I.; TAMIRU, D.; SHAHEEN, M.; EGER, K.; STEINFELDER, H. J. **Structure activity analysis of the pro-apoptotic, antitumor effect of nitrostyrene adducts and related Compounds**. Biochem. Pharmacol., v.65, p. 603-610, 2003.

KAMPA, M. et al. **Antiproliferative and apoptotic effects of selective phenolic acids on T47D human breast cancer cells: potential mechanism of action**. Breast Cancer Res., v. 6, n. 2, p. 63-74, 2004.

KATZUNG, B. G. **Farmacologia Básica e Clínica**. Guanabara Koogan: Rio de Janeiro, 2001.

KIM, N.W; PIATYSZEK, M.A.; PROWSE, K.R.; HARLEY, C.B; WEST, M.D.; HO, P.L.C.; COVIELLO, G.M.; WRIGHT, W.E.; WEINRICH, S.L.; SHAY, J.W. **Specific association of human telomerase activity with immortal cells and cancer**. Science (Wash DC) v. 266, p. 2011–2015, 1994.

KOROLKOVAS, A.; FRANÇA, F. F. A. C.; **Dicionário Terapêutico** Guanabara 2007/2008, 14^a ed., Guanabara Koogan: Rio de Janeiro, v.10, p. 23-27, 2007.

KOROLKOVAS, A.; BURCKHALTER, J. H.; **Química Farmacêutica**, Guanabara Koogan: Rio de Janeiro, v.65, p. 544-545, 1988.

KUBINIY, H. **QSAR: Hansch Analysis and Related Approaches**, 1 ed., VHC, Weinheim, Germany, p. 1-75, 1993.

KUDO, I; MURAKAMI, M. **Phospholipase A2 enzymes**. Prostag.Lipid.Mediat. v. 68-69, p. 3-58, 2002.

KULKARNI, S. K.; JAIN, N. K.; SINGH, A. **Cyclooxygenase isoenzymes and new therapeutic potential for selective COX-2 inhibitors**. Methods Find. Exp. Clin. Pharmacol., v.22, p. 291-298, 2000.

KULMACZ, R.J.; PALMER, G.; TSAI, A.L. **Prostaglandin H synthase: perturbation of the tyrosyl radical as a probe of anticyclooxygenase agents**. Molecular Pharmacology., p. 833–837, 1991.

LAFAY S; GIL-IZQUIERDO. **A Bioavailability of phenolic acids**. Phytochem. Rev., v.7, p. 301-11, 2008.

LAHLOU, S.; MAGALHÃES, P. J. C.; SIQUEIRA, R. J. B.; FIGUEIREDO, A. F.; INTERAMINENSE, L. F. L., MAIA, J. G. S., SOUSA, P. J. C. **Cardiovascular effects of the essential oil of Aniba canelilla bark in normotensive rats**. J. Cardiovasc. Pharmacol., v.46, p. 412–421, 2005.

LEE, Y.J.; KUO, H. C.; CHU, C. Y.; WANG, C. J.; LIN, W. C.; TSENG, T. H. et al. **Involvement of tumor suppressor protein p53 and p38 MAPK in caffeic acid phenethyl ester-induced apoptosis of C6 glioma cells**. Biochem. Pharmacol., v.66, p. 2281-2289, 2003.

LEVY-TOLEDANO, S. **Platelet signal transduction pathways: could we organize them into a 'hierarchy'?** Haemostasis, v. 29, p. 4–15, 1999.

LIMA, A. B. DE; SANTANA, M. B.; CARDOSO, A.S.; SILVA, J. K. DA; MAIA, J. G. S.; CARVALHO, J. C. T.; SOUSA, P. J. C. **Antinociceptive activity of 1-nitro-2-phenylethane, the main component of Aniba canelilla essential oil**. Phytomedicine, v.16, p. 555–559, 2009.

LIMA, A. B. **Avaliação toxicológica, antinociceptiva e antiinflamatória do 1-nitro-2-feniletano, principal constituinte do óleo essencial de Aniba canelilla**.

Dissertação de mestrado, Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal do Pará, Belém. 2008.

LIMA, M. da P.; SILVA, T. M.; SILVA, J. D.; ZOGHBI, M. G.; ANDRADE, E. A. **Essential oil composition of leaf and fine stem of *Aniba canelilla* (Kunth) Mez from Manaus**, Brazil, *Acta Amazônica*, v.34(2): 329 – 330, 2004.

LIMA, L. M & BARREIRO, E. J. Bioisosterism: **A Useful Strategy for Molecular Modification and Drug Design**. *Current Medicinal Chemistry*, v.12, p. 23-49, 2005.

MATHIEU, J. & WEILL-RAYNAL, J. **Formation of C-C Bonds**, Vol. II, Geoge Thieme, Stuttgart, p. 576-577, 1975.

LARREY, D.; CASTOT, A.; **Amodiaquine-induced hepatitis. A report of seven cases**. *Ann. Intern. Med.*, 104(6): 801 – 803, 1986.

LOPES, L. M. X.; NASCIMENTO, I. R.; SILVA, T. **Phytochemistry of the Aristolochiaceae family**. In: *Research Advances in Phytochemistry*, ed.Kerala: Global Research Network, v.2, p. 19-108, 2001.

MAYA, J. D.; CASSELS, B. K.; ITURRIAGA-VÁSQUEZ, P.; FERREIRA, J.; FAÚNDEZ, M.; GALANTI, N.; FERREIRA, A.; MORELLO, A. **Mode of action of natural and synthetic drugs against *Trypanosoma cruzi* and their interaction with the mammalian host**. *Comp. Biochem. Phys., Part A*, v.146(4): 601-620, 2007.

MILHAZES, N.; CALHEIROS, R.; MARQUES, M.P.M.; GARRIDO, J.; CORDEIRO, M.N.D.S.; RODRIGUES, C.; QUINTERA, S.; NOVAIS, C.; PEIXE, L.; BORGES, F. **b-Nitrostyrene derivatives as potential antibacterial agents: A structure–property–activity relationship study**. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, v.14, p. 4078–4088, 2006.

MONASTÉRIOS, M.; ESCORCHE, M.; AVERDAÑO, M. **Conformational analysis, electronic properties and molecular electrostatic potential of nitrofurans derivatives with antibacterial activity**. *J. Mol. Struct.*, Amsterdam, 748: p. 49 – 55, 2005.

MONTAGNIER, L.; BISAGNI, E.; BOURZAT, J. D.; GRUEST, J.; MARQUET, J. P.; PEPIN, J. J.; RIVALLE, C. **Cytotoxicity and antitumor activity of β - nitrostyrenes**. *Chimica Therapeutica* , v.6(3): 186-91, 1971.

MORAIS, A. A.; REZENDE, C. M. A. M.; VON BÜLLOW, M. V.; MOURÃO, J. C.; GOTTLIEB, O. R.; MARX, M. C.; ROCHA, A. I. DA; MAGALHÃES, M. T. **Óleos essenciais do gênero *Aniba***. *Acta Amazonica* ,v.2, p. 41, 1972.

MORTLOCK, A. A.; KEEN, N. J.; JUNG, F. H.; HERON, N. M.; FOOTE, K. M.; WILKINSON, R. W; GREEN, S. **Progress in the development of selective inhibitors of Aurora Kinases**. *Curr. Top Med. Chem.*, v.5(8): 807-21, 2005.

NASCENTE, L. C. **Síntese e Avaliação Citotóxica de Nitroderivados Planejados a partir do safrol**. Instituto de Química (Dissertação). Universidade de Brasília, 2009.

NIERO, E. L. O. **Efeitos de ácido cinâmico sobre melanócitos e células derivadas de melanoma humanos: Avaliação do seu potencial antitumoral e de proteção contra danos celulares causados por radiação ultravioleta**. 2010. Tese (Biologia celular) – Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo.

NOWAKOWSKI, J.; CRONIN, C. N.; MCREE, D. E.; KNUTH, M. W.; NELSON C. G.; PAVLETICH, N. P.; ROGERS, J.; SANG, B. C.; SCHEIBE, D. N.; SWANSON, R. V.; THOMPSON, D. A. **Structures of the Cancer-Related Aurora-A, Fak, and EphA2 Protein Kinases from Nanovolume Crystallography**. *Structure*. 2002 10(12):1659-67.

OECD – **Organization of Economic Co-operation and development**. In: The Revised Up-and-Down Procedure: A Test Method for Determining the Acute Oral Toxicity of Chemicals. NIH Publication. Nº 02-4501, p. I-4, 2001 CD-ROM 1-2.

OGER, J.-M., RICHOMME, P., GUINAUDEAU, H., BOUCHARA, J.P., FOURNET, A. ***Aniba canelilla* (H.B.K.) Mez essential oil: analysis of chemical constituents, fungistatic properties**. *J. Essent. Oil Res.*,v. 6, p. 493–497, 1994.

OLIVEIRA, C. Z. **Caracterização funcional e estrutural de inibidores de fosfolipases A₂ isolados do plasma de serpente *Bothrops jararacuçu*.** Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo. (2009).

OZAKI, Y.; YATOMI, Y.; JINNAI, Y.; KUME, S. **Effects of genistein, a tyrosine kinase inhibitor, on platelet functions. Genistein attenuates thrombin-induced Ca₂ mobilization in human platelets by affecting polyphosphoinositide turnover.** *Biochem Pharmacol.*, v. 46:395–403, 1993..

PARK, J.; PEI, D. **Trans-b-nitrostyrene derivatives as slow-binding inhibitors of protein tyrosine phosphatases.** *Biochemistry*, , v. 43, p. 15014–15021, p. 2004.

PAULA, F. R.; SERRANO, S. H. P.; TAVARES, L. C. **Aspectos mecanísticos da bioatividade e toxicidade de nitrocompostos.** *Quim. Nova*, Vol. 32(4): 1013-1020, 2009.

PAULA, F. R. Tese Doutorado. Universidade de São Paulo, Brasil, 2007.

PATRICK, G. L. **An Introduction to Medicinal Chemistry**, Oxford, Oxford University Press, 2001.

PIMENTEL, A.A.M.P. (Ed.). *Cultivo de Plantas Medicinais na Amazônia*. FCAP, Belém, 1994.

QUEIROZ, L. M. D. de. **Planejamento, Síntese e Avaliação das Atividades Antinociceptiva e Anti-Inflamatória do Ortobenzamol, análogo do Paracetamol.** PROF. DR. PERGENTINO JOSÉ DA CUNHA SOUSA.

RANG, H. P.; DALE, M. M.; RITTER, J. M. **Farmacologia**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 2001, Cap. 13, p. 189-204 p.

RAO, T. V.; RAVISHANKAR, L.; TRIVEDI, G. K. **Cycloaddition of citral dienamines to β -nitrostyrenes: a stereochemical consideration.** *Journal of Chemistry, Section B: Organic Chemistry Including Medicinal Chemistry*, v. 29B (3): 207-214, 1990.

ROTH, G.J.; MAJERUS, P.W. **The mechanism of the effect of Aspirin on human platelets: 1 Acetylation of a particulate fraction protein.** J. Clin. Invest. v.56: 624–632, 1975.

ROZENSKI, J.; RAUNTER, C.J.; VERPLANKEN, H. **Quantitative structure-activity relationships for antimicrobial nitro heterocyclic drugs.** Quant. Struct.-Act. Relat., v. 14: 134-141, 1995.

SANT'ANNA, C. M. R. **Glossário de Termos usados no Planejamento de Fármacos (RECOMENDAÇÕES DA IUPAC PARA 1997).** Quim. Nova, vl. 25, No. 3, 505-512, 2002.

SANTOS, R. I. D. **Metabolismo básico e origem dos metabólitos secundários.** Farmacognosia da planta ao medicamento. In: SIMÕES, C. M. O. et al. (Orgs.). 5. ed. Porto Alegre: Editoras da UFRGS; Florianópolis: Editora da UFSC, 2004. Cap 16, p. 537 – 557 p.

SANTOS, S. I. P. **Estudos de Actividade Inibidora de Acetilcolinesterase e Actividade Antioxidante por derivados de Colina de Acidos Cafeico, Cinamico e Rosmarinico. Metabolismo in vitro destes compostos.** Mestrado em Bioquímica (Area de especializacao: Bioquímica Médica. Faculdade de Ciências, Departamento de Química e Bioquímica. Universidade de Lisboa (2009).

SCHALES, O.; GRAEFE, H.A. **Arylnitroalkenes : A New Group of Antibacterial Agents.** J. Am. Chem. Soc., v. 74: 4486-4490, 1952.

STEWART, J.J.P. **In Semiempirical Molecular Orbitals Methods,** New York, 1990.

TAVARES, L. C. **Qsar: A abordagem de hansch,** quím. Nova, São Paulo, vol. 27, n. 4, p. 631-639, 2004.

SIMON, L. S. **Actions and toxicity of nonsteroidal anti-inflammatory drugs.** Curr Opin Rheumatol, [S.l.], v. 7(3): 159-166, 2005.

SIQUEIRA, R. J. B. de; MACEDO, F. I. B.; INTERAMINENSE, L. F. L.; DUARTE, G. P.; MAGALHÃES, P. J. C.; BRITO, T. S.; SILVA, J. K. R.; MAIA, J. G. S.; SOUSA, P. J. C.; CARDOSO, J. H. L.; LAHLOU, S. **1-Nitro-2-phenylethane, the main**

constituent of the essential oil of *Aniba canelilla*, elicits a vago-vagal bradycardiac and depressor reflex in normotensive rats. European Journal of Pharmacology, 638: 90–98, 2010.

SOUSA, P.J.C.; MAIA, J.G.S.; FONTES JUNIOR, E.A.; SANTOS, A.M.S. **Volatile compounds and antispasmodic activity of the stem bark oil of *Aniba canelilla*.** XII Congresso Ítalo-Latino-Americano de Etnomedicina, Rio de Janeiro. 2003.

SOUZA, J. B. A. S. P. **Actividade biológica de derivados do ácido cafeico: Efeito antioxidante e anti-inflamatório.** Mestrado em controle de qualidade. Faculdade de Farmácia da Universidade do Porto, 2008.

TAVEIRA, F.S.N.; LIMA, W.N. de; ANDRADE, E.H.A; MAIA, J.G.S. **Seasonal essential oil variation of *Aniba canelilla*.** Biochemical Systematics and Ecology, 2003, 31: 69-75 p.

THAKUR, M.; THAKUR, A.; BALASUBRAMANIAN, K. **QSAR and SAR Studies on the Reduction of Some Aromatic nitro compounds by Xanthine Oxidase.** J. Chem. Inf. Model., Washington, v. 46, p. 103-110, 2006.

THIMANN, K. V. **The auxins.** IN: WILKINS, M. B. **Physiology of plant growth and development.** McGraw-Hill, London, 2-45 p. 1969,

VANE J. R.; BAKHLE, Y. S.; BOTTING, R. M. **Cyclooxygenase 1 and 2.** Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol., 38:97-120, 1998.

VIEIRA, L. S. **Manual da Medicina Popular: A Fitoterapia da Amazônia,** 1991.

VILLAR, J.A.F.P.; LIMA, F.T.D;VEBER, C.L.; OLIVEIRA, A.R.M;CALGAROTTO, A.K; MARANGONI, S.; DA SILVA, S.L. **Synthesis and evaluation of nitrostyrene derivative compounds.** Toxicon, v.51: 1467– 1478, 2008.

VIODÉ, C.; BETTACHE, N.; CENAS, N.; KRAUTH-SIEGEL, R. L.; CHAUVIÉRE, G.; BAKALARA, N.; PÉRIÉ, J. Biochem. Pharm., v. 57, 549 p., 1998.

WARMUTH, M.K.; LIAO, J.; RATSCH, G.; MATHIESON, M.; PUTTA, S.; LEMMEN, C. **Active Learning with Support Vector Machines in the Drug Discovery Process.** J. Chem. Inf. Comput. Sci., v. 43, p. 667 – 673, 2003.

WERMUTH, C. G.; **The Practice of Medicinal Chemistry**, 2nd ed., Academic Press: London, 2003, p. 29.

WANG, W. Y.; WU, Y. C.; WU, C.C. **Prevention of platelet glycoprotein IIb/IIIa activation by 3,4-methylenedioxybeta-nitrostyrene, a novel tyrosine kinase inhibitor.** Mol Pharmacol. 70:1380–1389. 2006.

WANG, W.Y.; HSIEH, P.W.; WU, Y.C.; WU, C.C. **Synthesis and pharmacological evaluation of novel β -nitrostyrene derivatives as tyrosine kinase inhibitors with potent antiplatelet activity.** Biochemical Pharmacology, Vol.74, Issue 4, Pg 601-611, 15 August 2007.

WILLIAMS, D. P. **Toxicophores: Investigations in drug safety.** Toxicology, v.226, p. 1-11, 2006.

WILLETT, P. **Similarity-based virtual screening using 2D fingerprints.** Drug Discov Today, v.11, p.1046-1053, 2006.

WORRALL, D. E.; COHEN, L. **p-Dimethylamino derivatives of nitrostyrene.** Journal of the American Chemical Society, v.66, p. 842, 1944.

WORTHEN, L.R.; BOND, H.W. **Antimicrobial activity of some β -nitrostyrenes.** Dep. of Pharm. Chem. and Pharmacognosy Univ. of Rhode Island, Kingston, RI, USA, .Journal of Pharmaceutical Sciences, v.59(8): 1185-1186, 1970.

YEDGAR, S.; LICHTENBERG, D.; SCHNITZER, E. **Inhibition of phospholipase A2 as a therapeutic target.** Biochim. Biophys. Acta, ,v.1488:182–187, 2000.