

AVANÇOS QUÍMICOS NO PLANEJAMENTO E DESENVOLVIMENTO DE DERIVADOS DO PARACETAMOL

Rosivaldo S. Borges^{a,b,*}, Ana Carolina S. P. S. Jesus^a, Laice F. Cardoso^a, Clícia L. Neri^a, Roberto B. Morais^{b,#}, Valéria A. Barros^b e Albérico B. F. da Silva^c

^aFaculdade de Farmácia, Instituto de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Pará, 66033-100 Belém – PA, Brasil

^bInstituto de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Pará, 66033-100 Belém – PA, Brasil

^cDepartamento de Química e Física Molecular, Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, 13560-970 São Carlos – SP, Brasil

Recebido em 23/10/2017; aceito em 20/08/2018; publicado na web em 03/09/2018

CHEMICAL ADVANCES ON DESIGN AND DEVELOPMENT OF PARACETAMOL DERIVATIVES. Acetaminophen or paracetamol is a widely used analgesic and antipyretic drug and appears to be safe if used at normal therapeutic doses, but in large doses produce liver and / or kidney damage in humans and experimental animals. Prostaglandin endoperoxide synthase (PGES) and cytochrome P-450 are the key enzymes in humans as they are responsible for the analgesic and toxicity effects of paracetamol, respectively. At present, the development of new derivatives still has few impacts on clinical applications of safe compounds. Thus, in this work are discussed, a series of approaches on the design and development of acetaminophen derivatives. Some efforts were realized in our own research group.

Keywords: paracetamol; acetaminophen; derivatives; toxicity; design.

INTRODUÇÃO

Aspectos gerais

O paracetamol **1**, acetaminofen ou *N*-acetil-*p*-aminofenol (PAR), mostrado na Figura 1, foi introduzido na terapêutica depois de uma descoberta acidental da acetanilida, ao mesmo tempo em que os salicilatos eram descobertos. Ele é utilizado como medicamento desde 1878 até hoje em muitos países como analgésico e antipirético, em apresentações farmacêuticas como único princípio ativo ou em associação, no alívio de sintomas relacionados a processos inflamatórios dolorosos, dores crônicas e odontológicas, sendo ainda bastante difundido em pediatria.¹ É extensamente usado e livremente comercializado na maioria dos países. No Reino Unido, aproximadamente 3,2 milhões de tabletes de PAR são consumidos todo ano, perfazendo uma média de 55 tabletes por pessoa.²

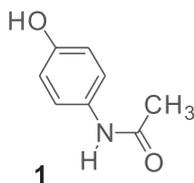


Figura 1. Fórmula estrutural do paracetamol

Como agente analgésico e antipirético, o PAR tem provado eficácia clínica no alívio temporário de dores leves a moderadas associadas a resfriado comum, dor de cabeça, dor de dente, dores musculares, dor nas costas, dores leves de artrite, cólicas menstruais e redução da febre, sendo eficazes em bebês, crianças e adultos.³

O PAR demonstrou inibir a ação de agentes pirogênicos no centro regulador de calor no cérebro por bloqueio da formação e liberação de prostaglandinas no sistema nervoso central, uma vez que a febre ocorre quando a enzima prostaglandina endoperoxidase sintase (PGES)

elevada atua na área pré-óptica do hipotálamo anterior, resultando em diminuição da perda de calor e aumento do ganho de calor.³⁻⁶

Apesar de todos os efeitos benéficos, este composto demonstrou alta toxicidade independente da dose e concentração plasmática alcançada, mas principalmente pela reatividade dos produtos de biotransformação, que podem atuar como intermediários de reação. De fato, estes compostos são formados pelo metabolismo oxidativo, em que o PAR é metabolizado através de um sistema enzimático oxidativo de função mista, contendo citocromo P-450 (CP450) formando os intermediários do tipo semiquinona e quinona imina, denominados *N*-acetil-*p*-benzosemiquinona imina (NAPSQI) e *N*-acetil-*p*-benzoquinona imina (NAPQI), respectivamente.⁵

Estrutura e propriedades

O PAR se apresenta como um pó branco e cristalino, com fórmula molecular $C_8H_9NO_2$, peso molecular igual a 151,16 g mol⁻¹ e pKa a 25 °C é 9,51. A solubilidade de 1 g da substância em água é 70 mL a 25 °C e 20 mL a 100 °C, 10 mL em álcool etílico, 50 mL em clorofórmio, 40 mL em glicerina, mas é fracamente solúvel em éter etílico. O composto estável entre pH 4 e 7 a 25 °C, sendo estável também à temperatura, luz e umidade.¹ Ele e outros compostos relacionados podem ser determinados e caracterizados por diversos métodos de análises.⁷⁻¹⁴

Biotransformação do paracetamol

As possíveis rotas de biotransformação do PAR são mostradas na Figura 2. Embora um intermediário radicalar, a NAPSQI **2** tenha sido proposto,¹⁵⁻¹⁷ acredita-se que a formação de NAPQI **3**, um intermediário eletrofílico reativo, é o principal responsável pela toxicidade observada pelo uso do PAR.^{18,19}

A absorção de doses terapêuticas baixas de PAR é normalmente completa, a biodisponibilidade sistêmica no meio plasmático e meia-vida é mais ou menos 75% em 1,5 a 2,5 horas, respectivamente.²⁰ Os metabólitos urinários identificados e discutidos em vários artigos de revisão do PAR (**1**)²¹ são principalmente metabolizados por

*e-mail: rosborg@ufpa.br

#Programa de Pós-Graduação em Química Medicinal e Modelagem Molecular.

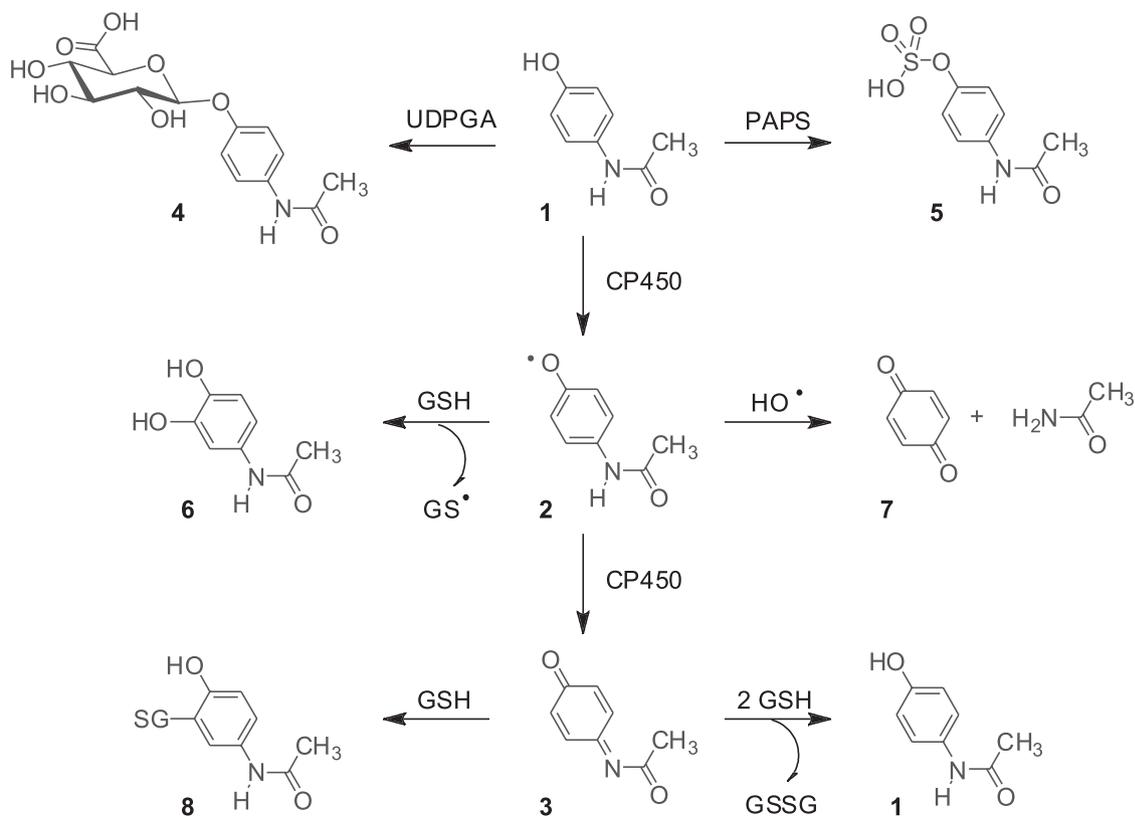


Figura 2. Vias de biotransformação do paracetamol

glucuronidação e sulfatação, constituindo-se nas principais vias de metabolização. Estes importantes conjugados, PAR-glucuronídeo (4) e PAR-sulfato (5), são considerados mais solúveis em água que o composto original, sendo eliminados principalmente pela via urinária (ambos) e um pouco pela via biliar (PAR-Gluc). Aproximadamente 30 e 55% do PAR administrado são excretados na urina nestas formas.²² Além desses, um derivado não tóxico catecólico, o 3-hidroxiacetamol (6) também é formado.²³⁻²⁵ Enquanto que outro possível derivado, formado pela eliminação da acetamida, o *p*-benzoquinona (7) é considerado tóxico também, como um reagente eletrofílico.²⁶

No entanto, em vários animais de laboratório, uma pequena parte de PAR é provavelmente metabolizada via um terceiro caminho, isto é, a oxidação pelo sistema microsomal CP450, enzima contendo uma oxidase de função mista, para formar a NAPQI (3). Um aduto de NAPQI e glutatona via adição 1,4 de Michael e o correspondente conjugado de cisteína e mercapturato (8) são os produtos ácidos formados, encontrados na urina humana depois da ingestão de PAR.²⁷ Embora uma reação de oxidação secundária de hidroxilação do PAR, a formação do 3-hidroxiacetamol (6) provavelmente aconteça também no homem por ter sido encontrado na urina de pacientes envenenados com altas doses de PAR.²⁸ Além disso, em animais e provavelmente em humanos, foi demonstrado que as enzimas com atividade peroxidase, como prostaglandina sintase e mieloperoxidase, talvez tenham também a habilidade de catalisar o metabolismo oxidativo do PAR.²⁰

Mecanismos de hepatotoxicidade

Após a ingestão de doses alta de PAR, o principal evento é a hepatotoxicidade centrolobular dependente do sistema CP450 no homem e em animais de laboratório, que pode ser mensurada pelo aumento dos níveis de alanina aminotransferase (ALT) plasmática.^{5,23,24,29} Em doses normais de PAR (1), na maioria das espécies, inclusive no homem, uma quantidade pequena de intermediários reativos NAPQI (3) é formada. Na presença de glutatona reduzida (GSH), por exemplo, em hepatócitos isolados de rato, a NAPQI pode ser reduzida de volta para PAR ou ligada covalentemente com GSH para formar conjugados 3-glutaciona-S-il-paracetamol (8), mostrada na Figura 3, (PAR-SG)^{30,31} sem efeitos adversos significantes. No entanto, após uma sobredose ou quando o sistema microsomal P-450 está aumentado (indução enzimática), os níveis de GSH hepático são diminuídos mais extensivamente e pode não mais compensar uma produção aumentada de NAPQI, o que tem sido evidenciado especialmente através da relação em que a depleção mitocondrial de GSH está diretamente correlacionada com a toxicidade hepática.³²

As vias mais prováveis de reação da NAPQI são a formação de adutos com proteínas,⁵ oxidação de sulfidril de proteínas,³³ ligação covalente com DNA em órgãos como fígado e rins,³⁴ rompendo a homeostase celular. Deste modo, em ratos, camundongos e humanos, uma overdose de PAR pode resultar em severa necrose hepática

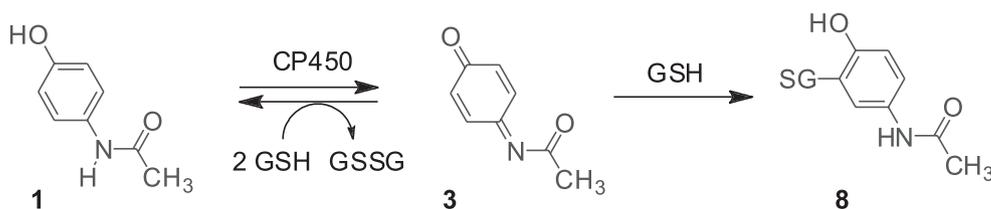


Figura 3. Principais metabólitos oxidados do paracetamol

centrolobular.³⁵ Porém, a necrose tubular renal também foi observada.³⁶ Embora a falência renal aguda seja incomum, altas doses podem levar a falência hepática fulminante.³⁷ Além disso, a necrose epitelial pulmonar de células não ciliadas bronquiolar³⁸ e adutos covalentes com proteínas foram observados em pulmões de ratos.³⁹⁻⁴¹

Os efeitos danosos agudos foram encontrados no sangue, principalmente nas plaquetas, após a ingestão de grandes quantidades de PAR.⁴² Além disso, a exposição de humanos ao uso terapêutico crônico de PAR, em longo prazo está correlacionada com o aumento do risco de doença renal crônica.⁴³

Várias condições fisiopatológicas podem ocasionar um desequilíbrio entre a produção e a proteção contra radicais livres de oxigênio. Este desequilíbrio é chamado estresse oxidativo,⁴⁴ o qual está frequentemente aumentado quando ocorre uma redução da defesa antioxidante ou aumento dos oxidantes endógenos e exógenos. Os mecanismos de iniciação do estresse oxidativo podem ser mediados por espécies reativas de oxigênio ou pela ação oxidante direta de um metabólito reativo, como na hepatotoxicidade induzida pelo PAR. Isso pode ser demonstrado na alteração da relação de NADPH / NADP⁺,⁴⁵ GSH / GSSG⁴⁶ e ProtSH / ProtSSProt.¹⁸

Os fenômenos posteriores decorrem do fato da capacidade da NAPQI oxidar grupos tiólico de cisteína presentes no GSH ou proteínas tiólicas, produzindo ligações dissulfeto GSSG.⁴⁷ O aumento da oxidação de grupos tiol das proteínas tem sido mostrado em hepatócitos, o qual representa um importante parâmetro na toxicidade mediada por PAR.⁴⁸ A oxidação de GSH por NAPQI pode acontecer via diversos mecanismos, como propostos por vários autores para NAPQI e seus homólogos metilados.⁴⁹⁻⁵¹

A administração contínua de etanol em ratos, levando a uma provável indução enzimática de CYP2E1, mostrou um aumento da ligação com proteína em aproximadamente 97% nos microsomas hepáticos, mas a conjugação com cisteína de apenas 33%.⁵²

Outras enzimas podem ser relevantes no processo de ativação do PAR, dentre estas as peroxidases se destacam, incluindo mieloperoxidase, cloroperoxidase e lactoperoxidase,⁵³⁻⁵⁵ bem como a função peroxidase da PGES.⁵⁶⁻⁵⁹ Nos glóbulos brancos, por exemplo, as mieloperoxidases se mostraram bioativadoras de uma grande variedade de fármacos. Em outros tecidos com baixa atividade de P450, a PGES pode ser também responsável pela bioativação, tal como nos rins, onde a toxicidade do PAR pode ser resultante da ativação por esta via enzimática.⁶⁰

A *p*-benzoquinona (**6**) foi recentemente apontada como responsável pela interação com proteínas microtubulares *in vitro*, podendo levar à interferência no funcionamento do aparelho mitótico celular, causando a separação anormal dos cromossomos e indução de aneuploidia.²⁶ De fato, a aneuploidia é considerada um evento crítico no processo de transformação da célula neoplásica.⁶¹ Além disso, uma proteína nuclear arilada foi observada após a administração de PAR,⁶² concluindo-se que o PAR pode induzir o rompimento da lâmina nuclear. Além disso, o PAR extingue o radical tirosil em uma subunidade da enzima ribonucleotídeo redutase, diminuindo a velocidade da polimerização do DNA que é necessária para preencher lacunas nas fitas de DNA.^{34,63}

Inibição farmacológica da ciclooxigenase

A inibição da ciclooxigenase (COX) pelo PAR pode estar relacionada com a sua capacidade de reagir com o radical tirosil presente na PGES.⁶⁴ A PGES apresenta duas atividades distintas. A primeira é a atividade ciclooxigenase, que catalisa a oxigenação do ácido araquidônico (AA) para seu endoperóxido-hidroperóxido (ROOH; PGG₂).²⁰ A outra atividade é peroxidase ou hidroperoxidase, que catalisa a redução do PGH₂ para a endoperóxido-alcólico (ROH; PGH₂),^{64,65,30} como demonstrado na Figura 4.

A ação terapêutica do PAR pode estar baseada tanto na inibição da atividade COX quanto na função peroxidase da PGES, uma vez que ambas previnem as prostaglandinas de serem formadas e, desse modo, reduz a temperatura corporal até níveis mais normais de febre (atividade antipirética) e melhora a sensação de dor (atividade analgésica).^{3,56,66,67}

Entretanto, embora a atividade de peroxidase seja só um aspecto de PGES, diversos grupos têm estudado as possíveis relações de estrutura-atividade entre os potenciais de oxidação, a coplanaridade da cadeia lateral da *N*-acetil, etc., relacionados com peroxidases específicas. Assim, diversos derivados do PAR foram sintetizados e avaliados, mas nenhum deles apresentou maior segurança ou eficácia,^{15,23,56,57,68-71} sendo essa a motivação de nosso grupo na continuidade da pesquisa. Até o momento, poucos grupos no Brasil realizaram alguma estratégia de modificação molecular para derivados do paracetamol ou outros compostos relacionados.⁷²⁻⁷⁷ Associações moleculares por métodos de hibridação ou modificações no sistema aromático não foram consideradas nesta revisão.^{78,79}

MODIFICAÇÕES ESTRUTURAIS DO PARACETAMOL

Homólogos dimetilados

O mecanismo de toxicidade do sistema quinona-imina foi realizado através do estudo da reatividade dos derivados dimetilados na forma quinona-imina reagindo com nucleófilos.^{80,81} Os compostos 2,6-dimetil-PAR (**9**) (Figura 5) e 3,5-dimetil-PAR (**10**) (Figura 6) foram oxidados com tetracetato de chumbo para formar *N*-acetil-2,6-dimetil-*p*-benzoquinona iminas e *N*-acetil-3,5-dimetil-*p*-benzoquinona iminas, respectivamente. A reação do composto **11** com HCl formou 3-cloro-2,6-dimetil-4-hidroxi-acetanilida, enquanto que as reações com anilina, etanotiol e etanol formaram os adutos tetraédricos, através da adição ao carbono da imina, em oposição aos produtos de adição esperados da quinona-imina, como um reagente eletrofílico via adição de Michael, enquanto que a reação com água formou derivado dimetil-*p*-benzoquinona.

Entretanto, o composto **12** reagiu com água e anilina, levando à substituição do carbono da imina, gerando 2,6-dimetil-*p*-benzoquinona e 3,5-dimetil-*N*-fenil-*p*-benzoquinona-imina, enquanto que o etanotiol formou o composto 3,5-dimetil-2-tioetil-4-hidroxi-acetanilida, através de reação de Michael. Estes resultados diferem muito do esperado e proposto na literatura, deixando algumas dúvidas, se não foram encontradas as condições reacionais ou se a reatividade molecular da NAPQI pode ser alterada pelo efeito estereo-eletrônico das duas metilas.

A hepatotoxicidade e a nefrotoxicidade foram avaliadas através do grau de necrose celular usando ratos e camundongos. As doses foram administradas pelas vias intraperitoneal (IP) e intragástrica (IG). Os compostos **3** e **5** substituídos apresentaram maior toxicidade em doses crescentes, seguido pelos derivados **2** e **6** substituídos, comparados ao paracetamol (**1**) e o *N*-metil-paracetamol (**15**).⁸¹

Homólogos metilados

Derivados monometilados do PAR propostos por Nelson *et al*⁴⁹ mostraram uma diminuição, tanto da atividade analgésica, quanto do potencial citotóxico, quando comparados ao paracetamol **1** e ao 3-metilparacetamol **13**, demonstrando que estas atividades estão diretamente relacionadas, sendo observado também que o composto 2-metilparacetamol **14** possui atividade muito menor e que o *N*-metilparacetamol **15** é praticamente inativo, observados pelos valores de dose efetiva (DE₅₀) na Figura 7 e na Tabela 1. A toxicidade está de acordo com a prova de função hepática, medida pelos níveis de transaminase.⁷⁰

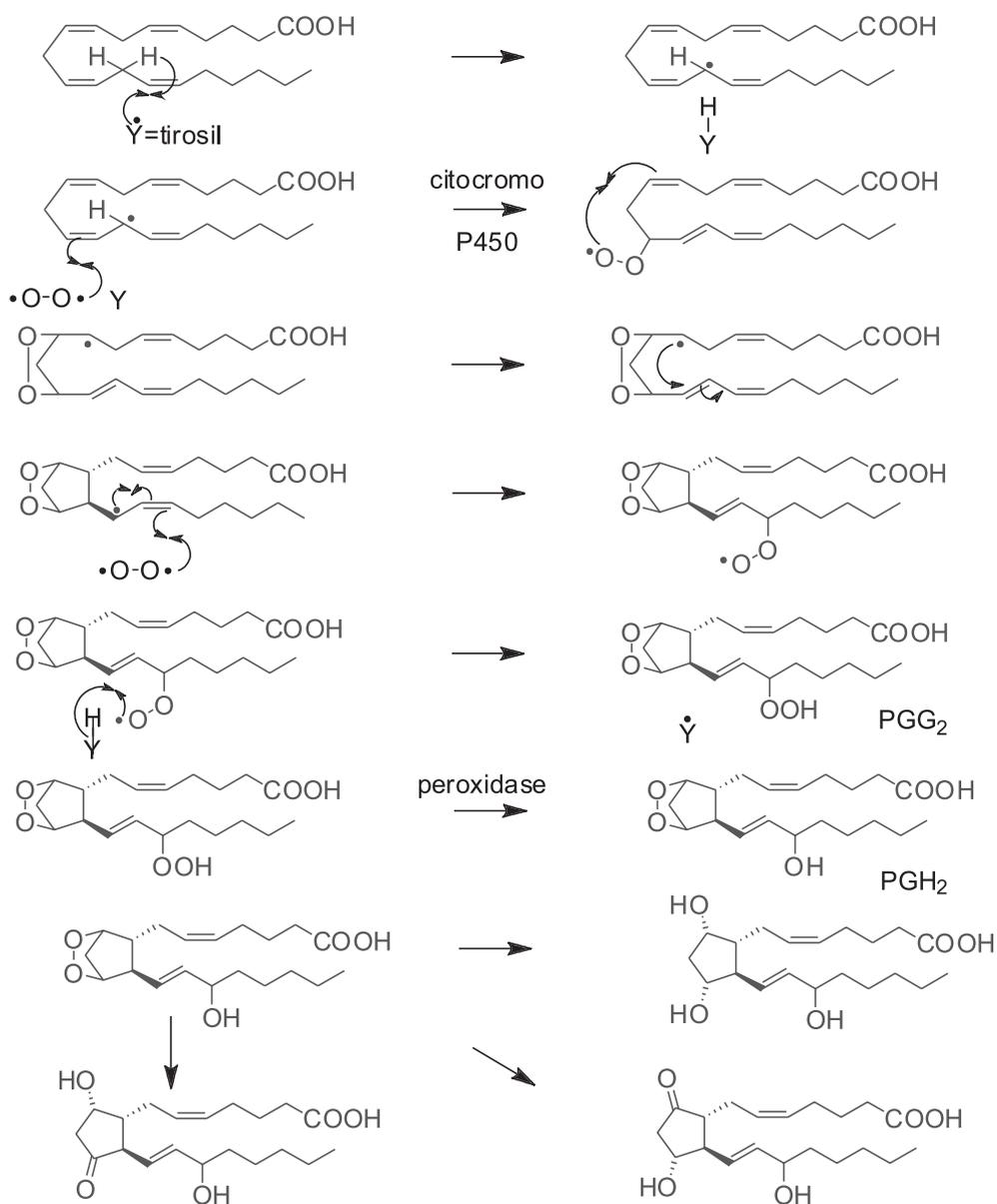


Figura 4. Formação das prostaglandinas via reação de peroxidação do ácido araquidônico

Estes resultados mostram que estas duas atividades podem ser dependentes da formação do intermediário *p*-benzoquinona-imina (NAPQI). De fato, sem uma reação de *N*-desmetilação no derivado *N*-metil (15), ele não pode formar o intermediário tipo quinona-imina, o que explicaria sua baixa atividade. Todavia, os derivados 3-metil (13) e 2-metil (14) devem formar quinona-imina, mas a posição do grupamento metila pode diferir a reatividade química desses compostos quando comparados com o PAR. Adicionalmente, os resultados de necrose celular apresentados na Tabela 2 confirmam que para compostos dimetilados administrados seja pela via intraperitoneal (IP) ou intragástrica (IG), o derivado substituído na posição 2,6 (9) apresenta menor citotoxicidade quando comparado ao seu isômero posicional 3,5 (10) e o PAR (1), devido a algum tipo de impedimento estérico durante o processo de metabolismo para a formação de derivados NAPQI.

Além disso, a capacidade redox pode explicar a capacidade de formar o intermediário reativo NAPQI e a atividade analgésica dos derivados, usando voltametria cíclica em diferentes condições de pH. Os valores demonstraram uma relação direta da potência citotóxica e atividade analgésica com o potencial de oxidação, sendo que os mais baixos valores são mais ativos, expostos na Tabela 3. No entanto,

eles não explicam a diferença na toxicidade, reafirmando assim a importância do efeito estérico na produção de quinona-iminas.

Análogos fluorados

A hepatotoxicidade e ação analgésica de seis análogos fluorados do paracetamol, compostos de **16-21**, mostrados na Figura 8, foram avaliadas em ratos. Apesar da baixa atividade analgésica dos demais compostos, o candidato **20** foi 3,5 vezes mais ativo com menor potencial tóxico que o paracetamol. O potencial de oxidação dos compostos **19** e **20** foram os mais altos. Após o estudo da relação estrutura e atividade nenhum destes compostos avançou para a fase clínica.⁶⁸

Homólogos mono e dialquilados

A toxicidade de derivados 3-monoalquil e 3,5-dialquil foi relacionada ao coeficiente de partição óleo/água (Log P), um parâmetro de solubilidade, sendo observado que os derivados contendo os substituintes volumosos, com maior valor de Log P, diminuem tanto a oxidação quanto a reatividade da aceto-imida-*p*-benzoquinona,

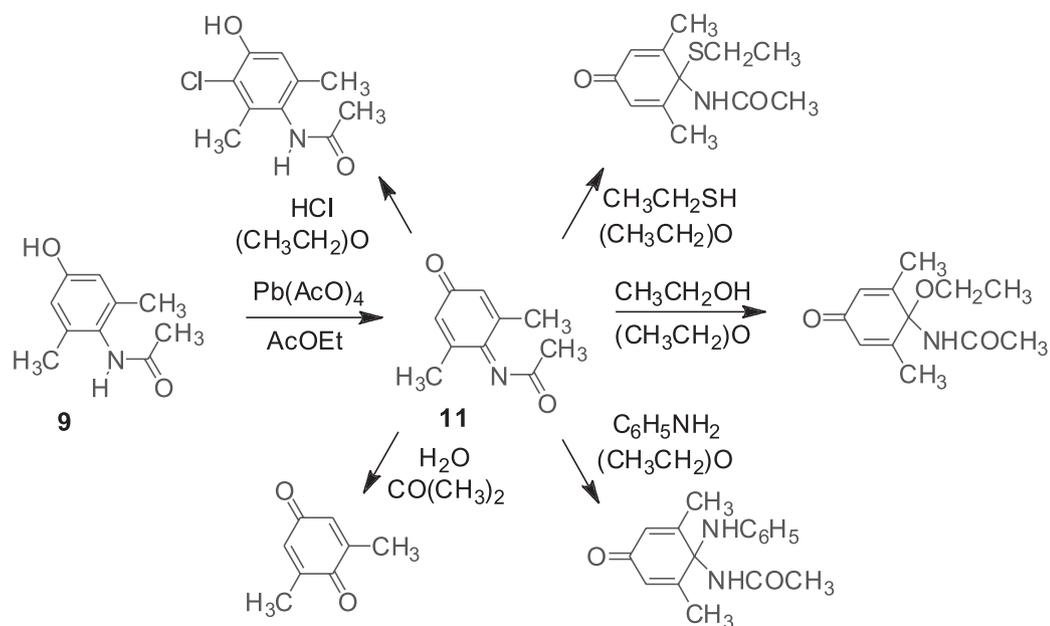


Figura 5. Reatividade do intermediário quinona-imina dimetilado 11 com nucleófilos

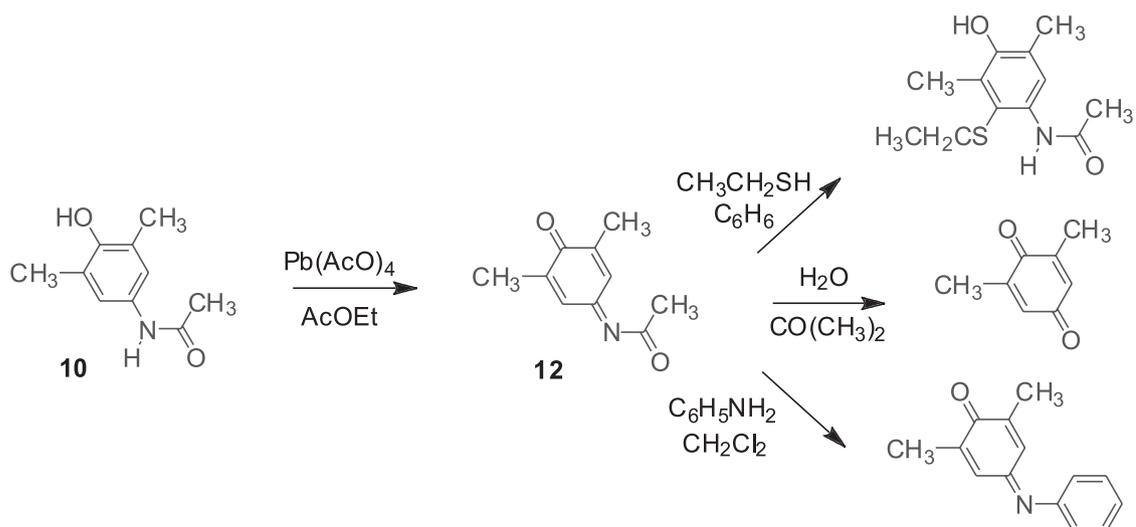


Figura 6. Reatividade do intermediário quinona-imina dimetilado 12 com nucleófilos

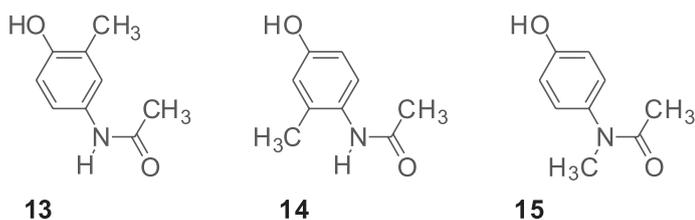


Figura 7. Derivados monometilados do paracetamol

Tabela 1. Atividade e toxicidade dos derivados monometilados do paracetamol

Compostos	Atividade Analgésica DE 50 mg kg ⁻¹	Dose mG kg ⁻¹	Necrose Hepática μM GSH/g liver	ALT plasma em 24 h μmol L ⁻¹ mL ⁻¹
1	84,3 (27-108)	750	3,25 ± 0,25	4030 ± 501
13	177,1 (138-195)	750	0,80 ± 0,25	690 ± 189
14	94,6 (77-116)	750	2,75 ± 0,25	3251 ± 905
15	> 200	1000	0	32 ± 8

Tabela 2. Hepatotoxicidade e a nefrototoxicidade de derivados dimetilados

Compostos	Concentração (mmol L ⁻¹)	Necrose Celular			
		Ratos		Camundongos	
		(IP)	(IG)	(IP)	(IG)
1	2	+	0	+++	++
	5	-	+	-	+++
	10	-	+++	-	+++
9	2	-	0	-	0
	5	-	0	-	0
	10	-	+	-	0
10	2	-	+	-	++
	5	-	++	-	+++
	10	-	++	-	+++
15	2	0	-	0	-

Tabela 3. Propriedades redox de derivados alquilados do paracetamol

Compostos	Variação do Potencial de Redox (V) em condições de pH					
	0	3	6	7,4	9	12
1	0,72	0,61	0,46	0,39	0,33	0,22
13	0,67	0,53	0,43	0,36	0,38	0,10
14	0,75	0,63	0,54	0,45	0,39	0,26
15	0,84	0,78	0,74	0,68	0,63	0,53

mostrando que esta propriedade pode ser controlada pela lipofilicidade e efeitos estéricos,⁸²⁻⁸⁴ exemplificados na Tabela 4. As substituições na posição 3-alquil mostrou potência similar ao paracetamol, 2-alquil foram menos potentes e 3,5-dialquil apresentaram a mesma potência analgésica e menor toxicidade, comparando os níveis de transaminase entre os grupos, tratados e controle, enquanto que a *N*-alquilação destituiu a molécula tanto da toxicidade quanto da atividade analgésica.³¹

A diferença na toxicidade destes compostos parece estar relacionada tanto pela produção de adutos quanto pela depleção dos níveis de glutathione reduzida, sendo que os monossustituídos apresentam os dois mecanismos, enquanto que os dissustituídos apresentam apenas o mecanismo de redução,³¹ como mostra a Figura 9.

Análogos estruturais

Outro conjunto de derivados do paracetamol foi avaliado, sendo que as modificações ocorreram nas posições 3 e 5, através da introdução de grupos alquílicos, halogenetos, oxigenados e sulfetos, a seguir na Tabela 5. Os compostos mostraram significativa mudança nas propriedades eletrônicas, mostrando uma redução do potencial de oxidação (POx) quando R₁ e R₂ são grupos elétron-doadores (EDG) e elevação deste valor quando estes grupos são elétron-retiradores (EWG). Os valores do POx mostraram boa correlação com atividade biológica (IC₅₀) e toxicidade medida pelos níveis da atividade da enzima hepática lactato desidrogenase (LDH), sendo que os compostos com EDG foram mais ativos e menos tóxicos.

Substituições de grupos elétron doadores (-CH₃, -OCH₃ e -SCH₃) nas posições 3,5 decrescem o potencial de ionização, aumentam a inibição da ciclo-oxigenase e diminuem a toxicidade, enquanto que com grupos elétron atraentes (-F, -Cl, -Br e -I) diminuem a atividade biológica, mas reduzem a toxicidade discretamente.⁶⁹ Bessems e colaboradores¹⁵ estudaram este grupo de compostos pelo método *ab initio* e demonstraram que a saída do hidrogênio ligado ao grupo

fenol é muito mais favorecida do que o a saída do hidrogênio ligado ao nitrogênio do grupo amida em 125 kJ mol⁻¹, sendo confirmada experimentalmente por meio do espectro de ESR (Espectro de Ressonância de Spin). Estes valores foram confirmados pelo método DFT.^{85,86}

Derivados acil-éter-alquílico

Derivados com substituições duplas foram concebidas visando desenvolver moléculas com atividade anti-inflamatória, uma vez que o paracetamol não possui essa propriedade terapêutica. A síntese foi baseada na estrutura química do paracetamol, tendo em vista a elevada gastrototoxicidade da aspirina. As alterações nas funções acetamida e fenol, gerando os derivados acil-éter ilustrados na Figura 10. Os compostos exibiram maiores atividades analgésicas e anti-inflamatórias quando comparados com a aspirina. Adicionalmente, das treze combinações, onze demonstraram possuir atividade analgésica 2-10 vezes comparado à potência da aspirina **47**. Além disso, todas as combinações mostraram baixíssima gastrototoxicidade quando comparadas à aspirina,⁸⁷ resultados mostrados na Tabela 6.

O estudo da relação entre estrutura química e atividade biológica usando cálculos quânticos no nível DFT/B3LYP/6-31G(d) mostrou boa correlação entre o potencial de ionização e os resultados biológicos, indicando a importância do caráter doador de elétrons dos derivados acil-éter do paracetamol. Além disso, o aumento das propriedades estéricas, tais como volume e superfície molecular, decrescem a atividade anti-inflamatória em modelos *in vivo*.⁸⁸

Nitroderivados do paracetamol

Nosso grupo desenvolveu um eficiente protocolo para a síntese de nitroderivados do paracetamol (Figura 11). Os derivados 3-nitro- e 3,5-dinitro-paracetamol foram preparados através de reação de nitratação regioselectiva. As estruturas dos compostos nitrados foram confirmadas por ressonância magnética nuclear de hidrogênio e carbono e comparadas com o paracetamol. A substituição ocorre seletivamente na posição *ortho* ao grupo fenol com altos rendimentos. A reação usando a mistura HNO₃ e H₂SO₄ na proporção (1:5) em ácido acético produziu o composto 3-nitro-paracetamol como produto majoritário, enquanto que a reação do HNO₃ em ácido acético produziu o 3,5-dinitro-paracetamol como produto principal. Os compostos apresentaram um aumento de sua acidez na seguinte ordem: paracetamol < 3-nitro-paracetamol < 3,5-dinitro-paracetamol, devido ao efeito retirador de elétrons do grupo nitro. Os resultados mostraram que a presença de grupos fortemente elétron-retiradores, além de modificar os efeitos eletrônicos, contribuíam também para o aumento da solubilidade aquosa, sendo os primeiros derivados hidrossolúveis do paracetamol.⁸⁹ As avaliações antioxidantes e analgésicas estão sendo realizados atualmente.

Associação molecular *p*-aminofenol e salicilatos

Em um esforço para desenvolver derivados de salicilatos como antioxidantes, nosso grupo utilizou o farmacóforo antioxidante do paracetamol **1** em uma associação molecular com o ácido salicílico **50**, que pertencem a classe dos anti-inflamatórios não esteróides, bem como pela substituição do grupo acetamida por benzamida. Três derivados desta associação entre *p*-aminofenol e salicilatos foram sintetizados e sua atividade antioxidante avaliada e comparada com seus genitores e o trolox. A estratégia sintética geral empregada para preparar os compostos alvos foi baseada na acilação ou benzoilação do *p*-aminofenol ou ácido 5-amino-salicílico com cloreto do benzoíla ou anidrido acético, formando o *p*-benzamidafenol **51**, ácido 5-acetilamido-2-hidroxibenzóico **52** e ácido 5-benzamido-2-hidroxibenzóico

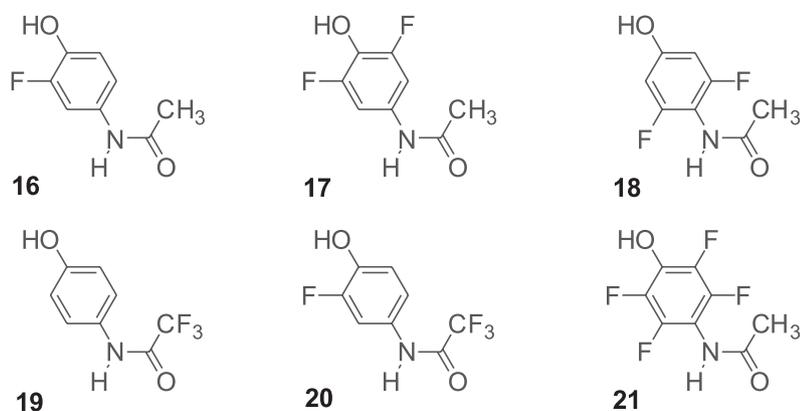


Figura 8. Derivados fluorados do paracetamol

Tabela 4. Atividade comparativa dos derivados 3-alkil e 3,5 dialquilados do paracetamol

Compostos	R	R	Hepatotoxicidade (ALT Um ml ⁻¹)		Log P
			Controle %	Tratados %	
1	H	H	28 ± 6	60 ± 6	0,311
13	CH ₃	H	20 ± 7	54 ± 4	0,793
22	CH ₂ CH ₃	H	–	–	1,306
23	CH(CH ₃) ₂	H	–	–	1,707
24	C(CH ₃) ₃	H	–	–	2,357
10	CH ₃	CH ₃	14 ± 4	17 ± 3	1,108
25	CH ₂ CH ₃	CH ₂ CH ₃	–	–	1,870
26	CH(CH ₃) ₂	CH(CH ₃) ₂	–	–	2,671
27	C(CH ₃) ₃	C(CH ₃) ₃	11 ± 4	15 ± 2	3,180

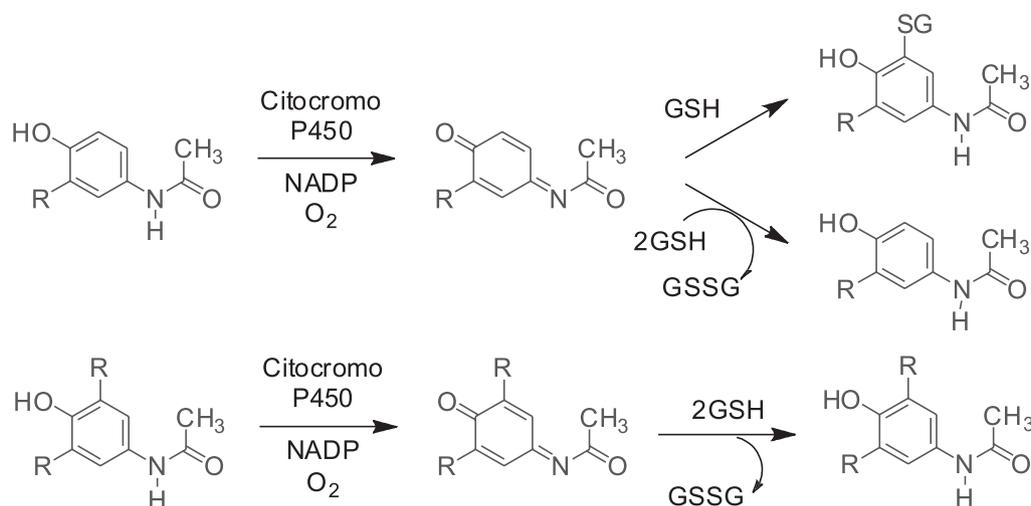


Figura 9. Mecanismos de redução de mono e dissustituídos análogos

53, respectivamente, com rendimento 80-90% (Figura 12). Os dados de RMN de H¹ e C¹³ foram usados para determinar a estrutura dos produtos derivados da reação.⁹⁰

Foi realizado estudo teórico do metabolismo do ácido salicílico usando cálculos de química quântica pela teoria do funcional

de densidade no nível B3LYP, com a base 6-31G*, empregada para obter a energia, o potencial de ionização e a distribuição da densidade de spin do ácido salicílico comparando com seus derivados, fenol e ácido benzóico. Os resultados confirmam a geração regioseletiva do ácido 2,5-dihidroxibenzoico pelo CP450 e ácido

Tabela 5. Propriedades de análogos 3,5 dissustituídos do paracetamol

Compostos	R ₁	R ₂	POx (V)	IC ₅₀ (mM)	LDH (%)
1	H	H	0,28	0,35 ± 0,08	50,6 ± 2,8
10	CH ₃	CH ₃	0,21	0,16 ± 0,00	15,0 ± 0,9
28	OCH ₃	OCH ₃	0,12	0,20	12,4 ± 0,5
29	SCH ₃	SCH ₃	0,12	0,14 ± 0,03	14,5 ± 1,2
17	F	F	0,32	1,14 ± 0,07	42,3 ± 0,9
30	Cl	Cl	0,34	0,56 ± 0,13	36,0 ± 3,5
31	Br	Br	0,32	0,48 ± 0,07	26,1 ± 3,2
32	I	I	–	1,11 ± 0,16	14,7 ± 1,4
Branco			–	–	8,2 ± 1,0

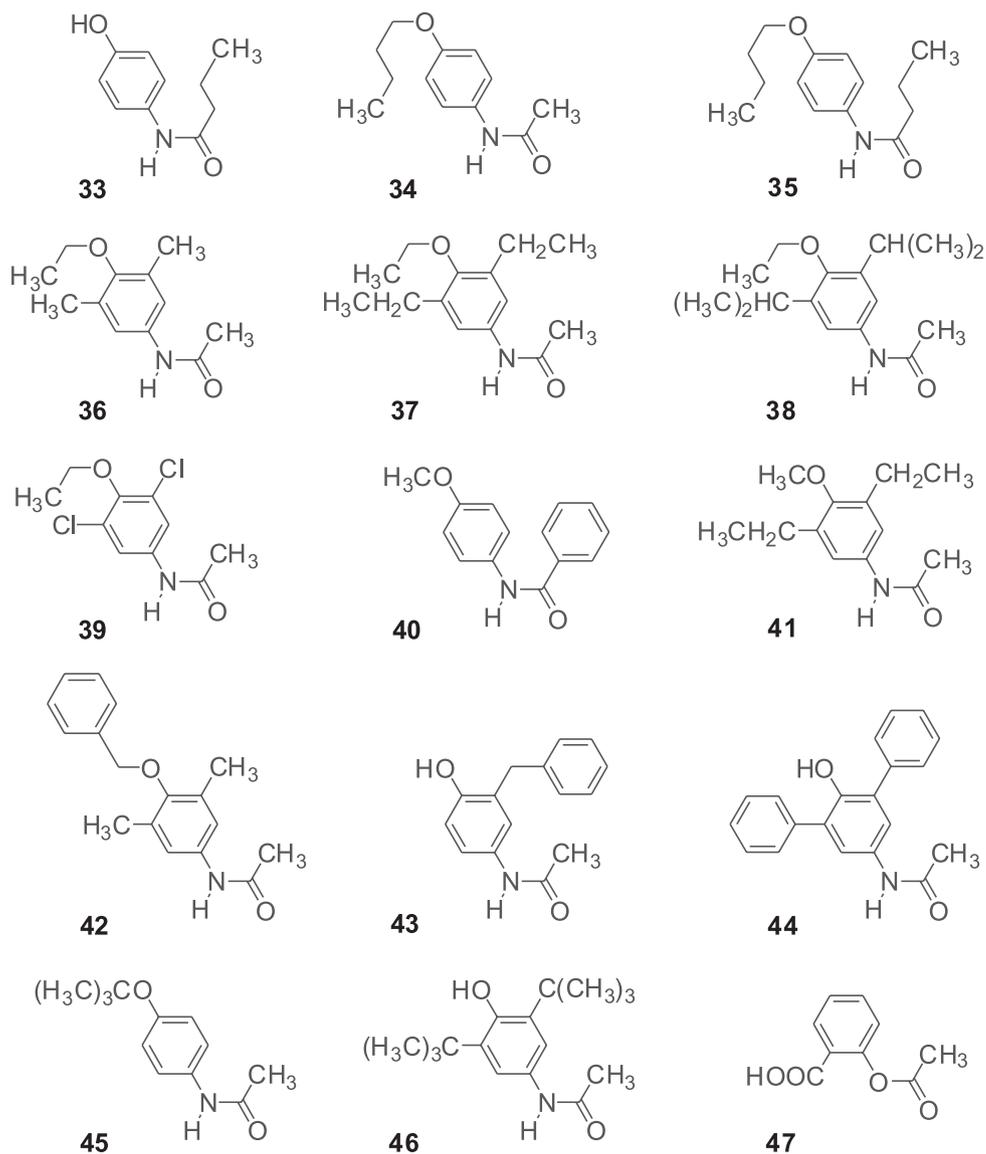
**Figura 10.** Paracetamol e derivados acil-éter-alquílicos

Tabela 6. Efeito analgésico, anti-inflamatório e gastrotóxico de derivados acil-éter

Compostos	Atividade Analgésica ED 50 (mol kg ⁻¹)	Antiinflamatório ED 30 (mol kg ⁻¹)	Gastrotóxidade
33	2,4 × 10 ⁻⁴	Inativo	1,4
34	3,5 × 10 ⁻⁴	3,6 × 10 ⁻⁴	1,2
35	2,1 × 10 ⁻⁴	Inativo	1,7
36	1,9 × 10 ⁻⁴	1,16 × 10 ⁻⁴	1,2
37	5,1 × 10 ⁻⁴	1,7 × 10 ⁻⁴	1,6
38	4,2 × 10 ⁻⁴	1,9 × 10 ⁻⁴	2,3
39	1,1 × 10 ⁻⁴	3,3 × 10 ⁻⁴	2,1
40	3,9 × 10 ⁻⁴	Inativo	1,1
41	3,7 × 10 ⁻⁴	4,0 × 10 ⁻⁴	1,8
42	Inativo	Inativo	1,3
43	1,4 × 10 ⁻⁴	3,3 × 10 ⁻⁴	1,3
44	–	–	1,5
45	2,4 × 10 ⁻⁴	3,8 × 10 ⁻⁴	–
46	4,9 × 10 ⁻⁵	2,1 × 10 ⁻⁴	2,6
47	9,4 × 10 ⁻⁴	1,1 × 10 ⁻³	9,5

2,3-dihidroxibenzóico e catecol como derivados da reação seqüestrantes da atividade antioxidante.⁹¹

Além disso, as atividades antioxidantes dos compostos foram comparadas com o potencial de ionização e o HOMO, calculados usando métodos TDF, para explorar a relação estrutura-atividade. Todos os cálculos foram executados usando os pacotes computacionais Gaussian 03, Hyperchem 7.5 e ChemOffice 2005. A atividade antioxidante foi determinada pela medida da inibição dos níveis de TBARS na peroxidação lipídica em eritrócitos humanos iniciadas por Fe²⁺ e ácido ascórbico, peróxido de hidrogênio e AAPH. Suas atividades seqüestrante de radicais livres foram avaliadas também, usando um radical livre estável, 1,1-difenil-2-picrilhidrazil (DPPH). O

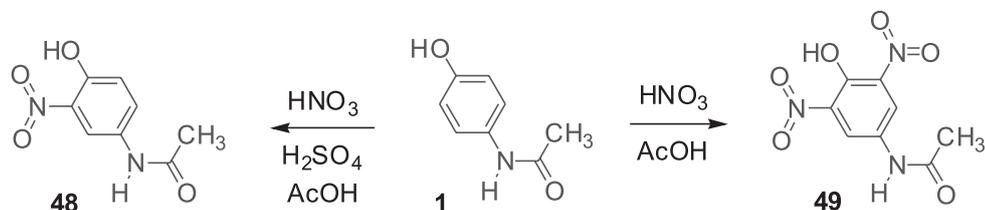
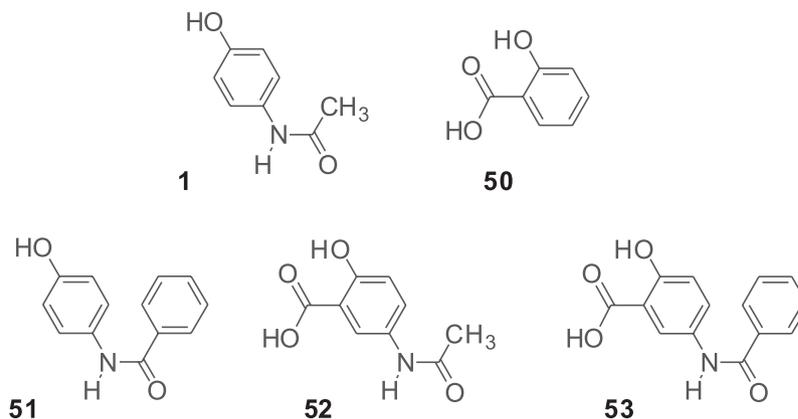
composto substituído pelo grupamento benzofila (51) exibiu uma inibição mais potente do que o paracetamol, enquanto que os derivados da associação molecular (52 e 53) exibiram uma inibição mais potente do que o ácido salicílico. Os parâmetros moleculares relacionados à distribuição de eletrônica e estrutural, tais como potencial de ionização (PI) e orbital molecular ocupado de mais alta energia (HOMO), apresentaram uma boa correlação com a ação antioxidante.⁹²

Nos modelos de nocicepção e inflamação o composto 52 apresentou inibição significativa e dose-dependente com as doses utilizadas (10, 5 e 2,5 mg kg⁻¹) nos testes de contorção abdominal e formalina na fase 2, edema de pata e de orelha, bem como ausência de mortes na toxicidade oral aguda com as doses máximas permitidas para esse teste (2000 e 5000 mg kg⁻¹). Esse composto apresenta atividade antinociceptiva de origem inflamatória, sem envolvimento de receptores opióides, atividade anti-inflamatória e antiedematogênica, classificado como agente xenobióticos de baixa toxicidade. Este efeito pode ser devido à presença do grupo carboxilato polar, que altera as propriedades de ADMETox (absorção, distribuição, metabolismo, excreção e toxicidade) do paracetamol.⁹³

Regioisômeros

Outro planejamento molecular realizado por nosso grupo foi baseado na estrutura do ligante usando métodos de química quântica no nível DFT para regioisômeros do paracetamol como candidatos a fármacos analgésicos (Figura 13). Os descritores moleculares HOMO, PI, energia de dissociação da ligação fenólica (EDL_{OH}) e distribuição da densidade de spin foram relacionados com a reatividade química do radical tirosil, um grupo reativo presente no sítio ativo da ciclo-oxigenase, bem como pela formação de moléculas do tipo *N*-acetilbenzoquinona imina através da abstração de elétron ou hidrogênio, as quais são responsáveis pela toxicidade do paracetamol.⁹⁴

Os resultados mostraram a molécula ortobenzamol (56) como a mais promissora. Esse composto foi sintetizado, avaliado em modelos de nocicepção como contorção abdominal, edema de pata e placa quente, e os resultados confirmaram a predição do estudo teórico. Todos os resultados biológicos sugerem uma atividade antinociceptiva mediada por receptores opióides. De fato, os resultados mostraram

**Figura 11.** Paracetamol e seus nitroderivados**Figura 12.** Derivados da associação molecular

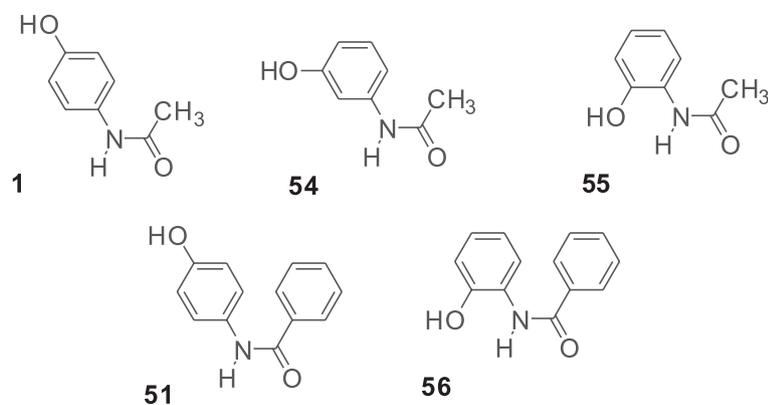


Figura 13. Regioisômeros do paracetamol

que no tempo de 90 e 120 min, o novo composto teve um efeito comparável à morfina, usada como droga padrão para este teste.⁹⁵

CONSIDERAÇÕES FINAIS E PERSPECTIVAS

Uma detalhada revisão do paracetamol e seus mecanismos farmacológicos sobre a enzima prostaglandina endoperóxido sintase, e toxicológicos, mediados pelo sistema de oxidação mista citocromo P-450, foi apresentada. Os estudos envolvendo derivados mono- e di-alquilados, halogenados, análogos heteroatômicos, amida e éter foram propostos visando ampliar a atividade e reduzir a toxicidade. Estes compostos modificaram os aspectos eletrônicos, conformacionais, a solubilidade e a reatividade, alterando as concentrações dos candidatos nas biofases e o modo de interação no sítio ativo, descrevendo as relações entre estrutura e atividade. Adicionalmente, os derivados propostos por nosso grupo de pesquisa, tais como os nitroderivados, derivados da associação paracetamol e salicilatos, e regioisômeros avaliados até o momento mostraram um perfil diferenciado, especialmente na modificação das propriedades de ADMETox.

Novos esforços estão sendo realizados visando o desenvolvimento de novos derivados mais seguros do paracetamol e com melhor perfil terapêutico, em nosso grupo de pesquisa, o Núcleo de Estudos e Seleção de Moléculas Bioativas – NESBio/UFPA, em parceria com o grupo de Química Quântica do Instituto de Química de São Carlos da Universidade de São Paulo.^{86,88,92,94-96}

REFERÊNCIAS

1. *The Merck Index*. 9th ed., Rahway, 1976.
2. Jones, A. L.; *J. Toxicol. Clin. Toxicol.* **1998**, *36*, 277.
3. Flower, R. J.; Vane, J. R.; *Nature* **1972**, *240*, 410.
4. Lister, C. F.; McLean, A. E.; *Toxicology* **1997**, *116*, 49.
5. Nelson, S. D.; *Drug Met. Rev.* **1995**, *27*, 147.
6. Stoyanovsky, D. A.; Cederbaum, A. L.; *Toxicol. Lett.* **1999**, *106*, 23.
7. Salles, M. O.; Araujo, W. R.; Paixão, T. R. L. C.; *J. Braz. Chem. Soc.* **2016**, *27*, 54.
8. Santos, A. M.; Vicentini, F. C.; Deroco, P. B.; Rocha-Filho, R. C.; Fatibello-Filho, O.; *J. Braz. Chem. Soc.* **2015**, *26*, 2159.
9. De Oliveira, R.; Pissetti, F. L.; Lucho, A. M. S.; *Quim. Nova* **2016**, *39*, 146.
10. Ruela, A. L. M.; Araújo M. B.; Pereira G. R.; *Quim. Nova* **2009**, *32*, 165.
11. França, M. D.; Santos, L. M.; Silva, T. A.; Borges, K. A.; Silva, V. M.; Patrocínio, A. O. T.; Trovó, A. G.; Machado, A. E. H.; *J. Braz. Chem. Soc.* **2016**, *27*, 1094.
12. Gandhi, S. V.; Ranher, S. S.; Deshpande, P. B.; Shah, D. K.; *J. Braz. Chem. Soc.* **2011**, *22*, 1068.
13. Moreira, T. S.; Cid, Y. P.; Pierre, M. B. R.; de Sousa, V. P.; Kummerle, A. E.; Fraga, C. A. M.; *Quim. Nova* **2009**, *32*, 1324.
14. De Oliveira, R. G.; Alencar-Filho, E. B.; Vasconcellos, M. L. A. A.; *Quim. Nova* **2014**, *37*, 69.
15. Bessems, J. G. M.; De Groot, M. J.; Baede, E. J.; Te Koppele, J. M.; Vermeulen, N. P. E.; *Xenobiotica* **1998**, *28*, 855.
16. De Vries, J.; *Biochem. Pharmacol.* **1981**, *30*, 399.
17. Hinson, J. A.; Roberts, D. W.; Benson, R. W.; Dalhoff, K.; Loft, S.; Poulsen, H. E.; *Lancet* **1990**, *335*, 732.
18. Albano, E.; Rundgren, M.; Harvison, P. J.; Nelson, S. D.; Moldeus, P.; *Mol. Pharmacol.* **1985**, *28*, 306.
19. Van De Straat, R.; Vromans, R. M.; Bosman, P.; De Vries, J.; Vermeulen, N. P. E.; *Chem.-Biol. Interact.* **1988**, *64*, 267.
20. Bessems, J. G. M.; Vermeulen, N. P. E.; *Crit. Rev. Toxicol.* **2001**, *31*, 55.
21. Thomas, S. H. L.; *Pharmacol. Ther.* **1993**, *60*, 91.
22. Tone, Y.; Kawamata, K.; Murakami, T.; Higashi, Y.; Yata, N.; *J. Pharmacobio-Dyn.* **1990**, *13*, 327.
23. Harvison, P. J.; Guengerich, F. P.; Rashed, M. S.; Nelson, S. D.; *Chem. Res. Toxicol.* **1988**, *64*, 47.
24. Hinson, J. A.; Pohl, L. R.; Monks, T. J.; Gillette, J. R.; Guengerich, F. P.; *Drug Metab. Dispos.* **1980**, *24*, 289.
25. Forte, A. J.; Wilson, J. M.; Slattery, J. T.; Nelson, S. D.; *Drug Metab. Dispos.* **1984**, *12*, 484.
26. Pfeiffer, E.; Metzler, M.; *Chem.-Biol. Interact.* **1996**, *102*, 37.
27. Prescott, L. F.; *Br. J. Clin. Pharmacol.* **1980**, *10*, 291S.
28. Knox J. H.; Jurand J.; *J. Chromatogr.* **1977**, *142*, 651.
29. Blazka, M. E.; Wilmer, J. L.; Holladay, S. D.; Wilson, R. E.; Luster, M. I.; *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **1995**, *133*, 43.
30. Moldéus, P.; Andersson, B.; Rahimtula, A.; Berggren, M.; *Biochem. Pharmacol.* **1982**, *31*, 1363.
31. Van De Straat, R.; De Vries, J.; Kulkens, T.; Debets, A. J.; Vermeulen, N. P. E.; *Biochem. Pharmacol.* **1986**, *35*, 3693.
32. Vendemiaie, G.; Grattagliano, I.; Altomare, E.; Turturro, N.; Guerrieri, F.; *Biochem. Pharmacol.* **1996**, *52*, 1147.
33. Tirmenstein, M. A.; Nelson, S. D.; *J. Biol. Chem.* **1990**, *265*, 3059.
34. Hongslo, J. K.; Smith, C. V.; Brunborg, G.; Soderlund, E. J.; Holme J. A.; *Mutagenesis* **1994**, *9*, 93.
35. Vermeulen, N. P. E.; Bessems, J. G. M.; Van De Straat, R.; *Drug Metab. Rev.* **1992**, *24*, 367.
36. Emeigh Hart, S. G.; Wyand, D. S.; Khairallah, E. A.; Cohen, S. D.; *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **1996**, *136*, 161.
37. Eguia, L.; Materson, B. J.; *Pharmacotherapy* **1997**, *17*, 363.
38. Jeffery, E. H.; Haschek, W. M.; *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **1988**, *93*, 452.
39. Bartolone, J. B.; Beierschmitt, W. P.; Birge, R. B.; Hart, S. G.; Wyand, S.; Cohen, S. D.; Khairallah, E. A.; *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **1989**, *99*, 240.
40. Lubek, B. M.; Avaria, M.; Basu, P. K.; Wells, P. G.; *Fundam. Appl. Toxicol.* **1988**, *10*, 596.

41. Wells, P. G.; Wilson, B.; Winn, L. M.; Lubek B. M.; *Can. J. Physiol. Pharmacol.* **1995**, 73, 1123.
42. Fischereeder, M.; Jaffe, J. P.; *Am. J. Hematol.* **1994**, 45, 258.
43. Sandler, D. P.; Smith, J. C.; Weinberg, C. R.; Buckalew, V. M. Jr.; Dennis, V. W.; Blythe, W. B.; Burgess, W. P.; *N. Engl. J. Med.* **1989**, 320, 1238.
44. Sies, H.; *Angew Chem., Int. Ed. Engl.* **1986**, 25, 1058.
45. Keller, R. J.; Hinson, J. A.; *Drug Metab. Dispos.* **1991**, 19, 184.
46. Subrahmanyam, V. V.; McGirr, L. G.; O'Brien, P. J.; *Chem.-Biol. Interact.* **1987**, 61, 45.
47. Birge, R. B.; Bartolone, J. B.; Cohen, S. D.; Khairallah, E. A.; Smolin, L. A.; *Biochem. Pharmacol.* **1991**, 42, 197.
48. Adamson, G.M.; Harman, A. W.; *Biochem. Pharmacol.* **1993**, 38, 2289.
49. Nelson, S. D.; Tirmenstein, M. A.; Rashed, M. S.; Myers, T. G.; *Adv. Exp. Med. Biol.* **1991**, 283, 579.
50. Novak, M.; Pelecanou, M.; Pollack, L.; *J. Am. Chem. Soc.* **1986**, 108, 112.
51. Zhou, L. X.; Erickson, R. R.; Holtzman, J. L.; *Biochim. Biophys. Acta* **1997**, 1335, 153.
52. Nelson, S.; Dahlin, E. A.; *Mol. Pharmacol.* **1981**, 20, 195.
53. Potter, D. W.; Miller, D. W.; Hinson, J. A.; *Mol. Pharmacol.* **1986**, 29, 155.
54. Potter, W. Z.; Davis, D. C.; Mitchell, J. R., Jollow, D. J., Gillette, J. R.; Brodie, B. B.; *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **1973**, 187, 203.
55. Harvison, P. J.; Egan, R. W.; Gale, P. H.; Nelson, S. D.; *Adv. Exp. Med. Biol.* **1986**, 197, 739.
56. Eszter, H.; Vereczkey, L.; Monostory, K.; *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **2002**, 291, 1089.
57. Potter, D. W.; Hinson, J. A.; *J. Biol. Chem.* **1987**, 262, 974.
58. Eling, T. E.; Curtis, J. F.; *Pharmacol. Ther.* **1992**, 53, 261.
59. Pirmohamed, M.; Madden, S.; Park, B. K.; *Clin. Pharmacokinet.* **1996**, 31, 215.
60. Eastmond, D. A.; *Toxicol. Lett.* **1993**, 67, 105.
61. Khairallah, E. A.; Bruno, M. K.; Hong, M.; Cohen, S. D.; *Toxicologist* **1995**, 15.
62. Hoivik, D.J.; Manautou, J. E.; Tveit, A.; Mankowski, D. C.; Khairallah, E. A.; Cohen, S. D.; *Fundam. Appl. Toxicol.* **1996**, 32, 79.
63. Kulmacz, R. J.; Palmer, G.; Tsai, A. L.; *Mol. Pharmacol.* **1991**, 40, 833.
64. Kulmacz, R. J.; Pendleton, R. B.; Lands, W. E. M.; *J. Biol. Chem.* **1994**, 269, 5527.
65. Malmberg, A. B.; Yaksh, T. L.; *Science* **1992**, 257, 1276.
66. Mattamal, M. B.; Zenser, T. V.; Brown, W. B.; Herman, C. A.; Davis, B. B.; *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **1979**, 210, 405.
67. Barnard, S.; Storr, R. C.; O'Neill, P. M.; Park, B. K.; *J. Pharm. Pharmacol.* **1993**, 45, 736.
68. Bessems, J. G. M.; Gaisser, H. D.; Te Koppele, J. M.; Van Bennekom, W. P.; Commandeur, J. N. M.; Vermeulen, N. P. E.; *Chem.-Biol. Interact.* **1995**, 98, 237.
69. Harvison, P. J.; Forte, A. J.; Nelson, S. D.; *J. Med. Chem.* **1986**, 1, 1737.
70. Park, B. K.; Kitteringham, N. R.; *Drug Metab. Rev.* **1994**, 26, 605.
71. Araújo, C. R. M.; Leite Filho, C. A.; Santos, V. L. A.; Maia, G. L. A.; Gonsalves, A. A.; *Quím. Nova* **2015**, 38, 868.
72. Kankanala, K.; Reddy, V. R.; Mukkanti, K.; Pal, S.; *J. Braz. Chem. Soc.* **2010**, 21, 1060.
73. Pericherla, S.; Mareddy, J.; Geetha, R. D. P.; Gollapudi, P. V.; Pal, S.; *J. Braz. Chem. Soc.* **2007**, 18, 384.
74. Jayaselli, J.; Cheemala, J. M. S.; Geetha Rani, D. P.; Pal, S.; *J. Braz. Chem. Soc.* **2008**, 19, 509.
75. Baptistella, L. H. B.; Giacomini, R. A.; Imamura, P. M.; *Quím. Nova* **2003**, 26, 284.
76. Sangi, D. P.; *Quím. Nova* **2016**, 39, 995.
77. Nam, T. G.; Nara, S. J.; Zagol-Ikapitte, I.; Cooper, T.; Valgimigli, L.; Oates, J. A.; Porter, N. A.; Boutaud, O.; Pratt, D. A.; *Org. Biomol. Chem.* **2009**, 7, 5103.
78. Fresno, N.; Pérez-Fernández, R.; Goicoechea, C.; Alkorta, I.; Fernández-Carvajal, A.; de la Torre-Martínez, R.; *PLoS One* **2014**, 9, e113841.
79. Fernando, C.R.; Calder, I.C.; Ham, K. N.; *J. Med. Chem.* **1980**, 23, 1153.
80. Calder, I. C.; Hart, S. J.; Healey, K.; Ham, K. N.; *J. Med. Chem.* **1981**, 24, 988.
81. Van De Straat, R.; De Vries, J.; Groot, E. J.; Zijl, R.; Vermeulen, N. P.; *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **1987**, 89, 183.
82. Van De Straat, R.; De Vries, J.; Vermeulen, N. P.; *Biochem. Pharmacol.* **1987**, 36, 613.
83. Van De Straat, R.; De Vries, J.; De Boer, H. J. R.; Vromans, R. M.; Vermeulen, N. P.; *Xenobiotica* **1987**, 17, 1.
84. Diniz, J. E. M.; Borges, R. S.; Alves, C. N.; *J. Struc. Mol. (THEOCHEM)* **2003**, 673, 93.
85. Alves, C. N.; Borges, R. S. & Da Silva, A. B. F.; *Int. J. Quant. Chem.* **2006**, 106, 2617.
86. Duffy, J. R.; Dearden, J. C.; Rostron, C.; *Pharm. Pharmacol.* **2001**, 53, 1505.
87. Silva, J. R.; Queiroz, L. M. D.; Queiroz, A. N.; Souza, P. J. C.; Borges, R. S.; *J. Comput. Theor. Nanosci.* **2011**, 8, 670.
88. Costa W. S.; Gurrão E. P. C.; *Trabalho de Conclusão de Curso*, Universidade Federal do Pará, Brasil, 2004.
89. Borges, R. S.; *Tese de Doutorado*, Universidade Federal do Pará, Brasil, 2007.
90. Borges, R. S.; Mendes, A. P. S.; Silva, B. H. S.; Alves, C. N.; Nascimento, J. L. M.; *Med. Chem. Res.* **2011**, 20, 269.
91. Borges, R. S.; Pereira, G. A. N.; Vale, J. K. L.; França, L. C. S.; Monteiro, M. C.; Alves, C. N.; Da Silva, A. B. F. *Chem. Biol. Drug Des.* **2013**, 81, 419.
92. Queiroz, L. M. D.; *Dissertação de Mestrado*, Universidade Federal do Pará, Brasil, 2010.
93. Queiroz, L. M. D.; Rocha, J. R.; Leitão, A.; Montanari, C. A.; Da Silva, A. B. F.; Sousa, P. J. C.; Borges, R. S.; *Chem. Biol. Drug Des.* **2012**, 80, 99.
94. Borges, R. S.; Barros, T. G.; Pereira, G. A. N.; Batista, J.; Beleza Filho, R. F. G. P.; Veiga, A. A. S.; Hamoy, M.; Mello, V. J.; Da Silva, A. B. F.; Barros, C. A. L.; *Pharmacol. Pharm.* **2014**, 5, 1185.
95. Al-Mustafa, Z. H., Al-Ali, A. K., Qaw, F. S.; Abdul-Cader, Z.; *Toxicology* **1997**, 121, 223.
96. Bergman, K.; Muller, L.; Teigen S. W.; *Mutat. Res.* **1996**, 349, 263.