



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ
INSTITUTO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA MEDICINAL E MODELAGEM
MOLECULAR

FERNANDA MENEZES COSTA

**PLANEJAMENTO E SÍNTESE DE NOVOS DERIVADOS DA
ASSOCIAÇÃO MOLECULAR BENZONIDAZOL E METRONIDAZOL**

BELÉM - PA
2018

FERNANDA MENEZES COSTA

**PLANEJAMENTO E SÍNTESE DE NOVOS DERIVADOS DA
ASSOCIAÇÃO MOLECULAR BENZONIDAZOL E METRONIDAZOL**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química Medicinal e Modelagem Molecular da Universidade Federal do Pará, como requisito parcial para obtenção do Grau de Mestre em Química Medicinal e Modelagem Molecular.
Orientador: Prof. Dr. Rosivaldo dos Santos Borges.

Data da Defesa ____/____/____.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Rosivaldo dos Santos Borges – UFPA/PPGQMMM – Orientador

Prof. Dr. Carlos Augusto Lima Barros – UFPA/PPGQMMM – Membro Interno

Prof. Dr. Carlos Alberto Montanari – USP/IQSC – Membro Externo

Prof. Dr. Anderson Bentes de Lima – UEPA/PPGQMMM – Suplente

BELÉM - PA

2018

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP) de acordo com ISBD Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal do Pará
Gerada automaticamente pelo módulo Ficat, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

C837p Costa, Fernanda Menezes.
Planejamento e síntese de novos derivados da associação molecular benzonidazol e metronidazol / Fernanda Menezes Costa. — 2018.
62 f. : il. color.

Orientador(a): Prof. Dr. Rosivaldo dos Santos Borges
Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação em Química Medicinal e Modelagem Molecular, Instituto de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Pará, Belém, 2018.

1. benzonidazol. 2. *Trypanosoma cruzi*. 3. modelagem molecular. 4. associação molecular. I. Título.

CDD 615.19

Para Júlio Santa Brígida Costa

AGRADECIMENTOS

A Deus por tornar tudo isso possível na minha vida.

Ao meu orientador Prof. Dr. Rosivaldo dos Santos Borges, pela paciência, compreensão, atenção e bom humor ao longo desses dois anos. Agradeço pelos ensinamentos, por compartilhar seus conhecimentos, experiência, sabedoria, por acreditar em mim e pela oportunidade de executar este projeto.

Às bancas examinadoras de qualificação e defesa por todas as contribuições e sugestões. Agradeço por compartilharem suas experiências e conhecimentos.

Ao Programa de Pós-Graduação em Química Medicinal e Modelagem Molecular e à Universidade Federal do Pará.

À FAPESPA pelo apoio financeiro durante toda a execução do projeto.

Ao NESBio e Laboratório de Química Farmacêutica e Medicinal (LQFMed) pelo suporte técnico e espaço para a realização de todas as etapas do projeto.

Aos amigos Sayuri Ota, Roberto Moraes e Dayane Dantas e colegas de laboratório pelo apoio, parceria, contribuições e companhia. Ao Paulo Panarra pela amizade e parceria na vida acadêmica e pessoal.

À minha família que sonha comigo todos os meus sonhos, onde encontro conforto todos os dias, amor incondicional e apoio em tudo que faço. Agradeço meus pais Celia Menezes e João Costa, minha avó Deusarina Menezes e minhas irmãs Flávia Menezes e Vitória Menezes. Em especial à Flávia por me fazer acreditar no meu potencial, por todas as conversas, conselhos, palavras de incentivo e por ser meu maior exemplo.

RESUMO

A Doença de Chagas é causada pelo protozoário *Trypanosoma cruzi*, ainda possui altos índices de contágio nos dias atuais, sobretudo, na região Amazônica. Após a contaminação, o ciclo infectivo da doença possui duas fases: aguda e crônica. A fase aguda é, na maioria dos casos, assintomática e tratada com maior eficiência, no entanto, a fase crônica é sintomática e não possui tratamento comprovadamente eficiente. Para tratar a doença, existe apenas um medicamento disponível, o genérico benzonidazol ou Rochagan[®], distribuído gratuitamente, que deve ser administrado por 60 dias, aproximadamente. Entretanto, o benzonidazol possui baixa eficiência, conseguindo ser eficaz apenas na fase aguda (assintomática). Além disso, o medicamento costuma causar efeitos colaterais graves nos pacientes clínicos, ocasionando muitas vezes rejeição ao tratamento. A modelagem molecular tem se tornado uma importante ferramenta no planejamento de novos fármacos, utilizando o método DFT para avaliar o potencial de novas potentes moléculas. Nesse sentido, o principal objetivo deste trabalho foi planejar novos derivados utilizando modificações moleculares do benzonidazol e metronidazol para a alteração de sua capacidade redox. Com essa finalidade, foi realizado um estudo teórico de dois derivados do benzonidazol, utilizando associação molecular e o aumento da cadeia. A partir do estudo teórico, esta associação molecular entre o benzonidazol e o metronidazol, pode desenvolver novos derivados menos tóxicos que o benzonidazol. Os dois derivados planejados foram sintetizados em laboratório utilizando as metodologias clássicas de substituição eletrofílica e nucleofílica, esterificação, alquilação e nitração. De acordo com seus valores de HOMO, LUMO, potencial de ionização e afinidade eletrônica, foi possível observar que os compostos nibendazol 1 e nibendazol 2 têm uma capacidade redox inferior quando comparados ao benzonidazol. Os valores de GAP mostraram os derivados são menos reativos que o benzonidazol. Com os gráficos de HOMO e LUMO, mostram que os anéis nitroimidazólicos possuem alta capacidade elétron-retiradora, assim como o grupo benzila possui alta capacidade elétron-doadora. Estas propriedades mudam de acordo com a posição do grupo metil ou do átomo de nitrogênio no anel azólico dos compostos derivados.

Palavras-chave: benzonidazol, *Trypanosoma cruzi*, modelagem molecular, associação molecular.

ABSTRACT

Chagas disease is caused by protozoan *Trypanosoma cruzi*, still has high contagion rates in present days, especially in the Amazon region. After contamination, the infective cycle of Chagas disease has two phases: acute and chronic. The acute phase is, in majority of cases, asymptomatic and efficiently treated, however the chronic phase is symptomatic and has proved not efficient treatment. There is only one available medicine, the generic benznidazole or Rochagan[®], distributed free of charge, and it must be administered for 60 days, approximately. However, benznidazole has low efficiency, being effective only on acute phase (asymptomatic). Besides that, the medicine use to cause severe side effects in clinical patients, producing in many times the treatment rejection. The molecular modeling has become an important tool on new drugs design, using the DFT method to evaluate of the new potent molecules. Thereby, the main goal of this work was to design new derivatives by using molecular modifications of benznidazole and metronidazole aiming to reduce their redox capacity. With this purpose, a theoretical study was performed of two benznidazole derivatives through molecular association and chain increase. From the theoretical study, this molecular association between benznidazole and metronidazole molecules can develop a less toxic new derivative of than benznidazole. Both designed derivatives were synthesized on laboratory using the classics methodologies of electrophilic and nucleophilic substitution, esterification, alkylation and nitration. According to their HOMO, LUMO, ionization potential, and electron affinity values, it was possible observe that the nibendazole 1 and nibendazole 2 compounds have a lower redox capacity when compared to benznidazole. The GAP values showed that the derivatives are less reactive than benznidazole. The HOMO and LUMO graphics, showed that the nitroimidazoles rings have high electron-withdrawing capacity as well as benzyl group has high electron-donating capacity. These properties change in accordance to methyl moiety or nitrogen positions on azolic ring of derivatives compounds.

Keywords: benznidazole, *Trypanosoma cruzi*, molecular modeling, molecular association.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	13
2. OBJETIVOS	15
2.1. OBJETIVO GERAL.....	15
2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	15
3. REVISÃO DE LITERATURA	16
3.1. DOENÇA DE CHAGAS.....	16
3.2. <i>TRYPANOSOMA CRUZI</i>	16
3.3. TRATAMENTO	17
3.4. BENZONIDAZOL.....	19
3.5. MECANISMO DE AÇÃO.....	19
3.6. MECANISMO DE TOXICIDADE.....	20
3.7. METRONIDAZOL	20
3.8. COMPOSTOS TESTADOS PARA <i>T. CRUZI</i>	20
3.9. MODELAGEM MOLECULAR	25
4. PROCEDIMENTOS METODOLÓGICOS	27
4.1. ESTUDOS TEÓRICOS	27
4.1.1. Energia dos Orbitais de Fronteira (HOMO e LUMO)	27
4.1.2. Potencial de ionização (PI).....	27
4.1.3. Afinidade eletrônica (AE)	28
4.1.4. Mapas de Potencial Eletrostático Molecular (MEPs).....	28
4.2. PLANEJAMENTO DE DERIVADO DA ASSOCIAÇÃO MOLECULAR	28
4.3. SÍNTESE DOS DERIVADOS	31
5. RESULTADOS E DISCUSSÕES	33
5.1. ESTUDO DO MECANISMO REDOX DE ANÁLOGOS NITROAZÓLICOS	33
5.2. SÍNTESE DOS DERIVADOS DA ASSOCIAÇÃO MOLECULAR.....	34
5.2.1. Síntese do cloroacetato de metila	35
5.2.2. Síntese do metabólito éster do metronidazol oxidado	36
5.2.3. Síntese do nibendazol.....	37
5.2.4. Síntese do derivado do nibendazol.....	37
5.3. ESTRUTURA E PROPRIEDADE DO NIBENDAZOL	38
6. CONCLUSÃO	44
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	45
ANEXO	52

LISTA DE ABREVIATURAS

AE	Afinidade eletrônica
BZN	Benzonidazol
CPSase	Carbamoil-fosfato-sintetase
DC	Doença de Chagas
DFT	Teoria do funcional da densidade
DHO	Dihidrorotato
DHODH	Dihidrorotato desidrogenase
eV	Elétron-volt
FMN	Flavina mononucleotídeo
FMNH₂	Flavina mononucleotídeo reduzido
HOMO	Orbital molecular ocupado de maior energia
LUMO	Orbital molecular desocupado de menor energia
MEP	Mapa de potencial eletrostático
MT2ME	(2-metil-5-nitroimidazol-1-il)-acetato de metila
MTZ	Metronidazol
NBZ	Nibendazol
NFT	Nifurtimox
ORO	Orotato
PI	Potencial de ionização
PM3	Terceira parametrização
RMN	Ressonância magnética nuclear
ROS	Espécies reativas de oxigênio
SN₂	Substituição nucleofílica de segunda ordem

LISTA DE ESQUEMAS

Esquema 1: Mecanismo de ação do benzonidazol.....	20
Esquema 2: Mecanismo de ação da DHODH no sítio catalítico.....	29
Esquema 3: Estratégia de planejamento molecular dos compostos NBZ.....	31
Esquema 4: Estratégia de síntese molecular do nibendazol (NBZ) e derivado.....	32
Esquema 5: Etapas para a síntese do nibendazol (NBZ).....	35
Esquema 6: Reação de síntese do cloroacetato de metila.....	35
Esquema 7: Etapa 1 da reação de síntese do nibendazol.....	36
Esquema 8: Etapa 2 da reação de síntese do nibendazol.....	37
Esquema 9: Etapa 2 da reação de síntese do derivado do nibendazol.....	37

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Derivados nitroazólicos.....	13
Figura 2: Ciclo de vida do <i>Trypanosoma cruzi</i>	17
Figura 3: Sítio ativo da DHODH do parasito (A) e humana (B).....	30
Figura 4: Derivados do nitroimidazólicos simplificados.....	33
Figura 5: Estrutura otimizada dos compostos estudados.....	39
Figura 6: Gráficos de HOMO para os compostos estudados.....	41
Figura 7: Gráficos de LUMO para os compostos estudados.....	42
Figura 8: Mapas de potencial eletrostático para os compostos estudados.....	43

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Informações gerais sobre o nifurtimox e benzonidazol.....	18
Tabela 2: Compostos testados para <i>T. cruzi</i> em diferentes estágios.....	22
Tabela 3: Propriedades teóricas dos derivados nitroimidazólicos simplificados....	34
Tabela 4: Propriedades teóricas dos compostos estudados.....	40

1. INTRODUÇÃO

Dentre os derivados nitroazólicos, o benzonidazol e metronidazol (**Figura 1**) se destacam por suas propriedades antiprotozoárias, além de serem diferentes quanto ao mecanismo, potência e seletividade. Ambos possuem o anel imidazol em suas moléculas que, ao ser metabolizado pelo organismo humano (CHELESKI et al., 2011), gera certa toxicidade em graus diferentes, dificultando o tratamento de pacientes.

No entanto, o anel nitroimidazólico do metronidazol possui uma vantagem sobre o do benzonidazol, que seria a presença do grupo metila. Este grupo é responsável por alterar as propriedades de forma significativa (SCHÖNHERR & CERNAK, 2013; DUAN et al., 2014), o que pode explicar o fato de que este medicamento é bem mais tolerável para os pacientes, ao contrário do benzonidazol que causa efeitos colaterais mais agressivos. Outras diferenças significativas são as posições dos nitrogênios e sua relação com o grupo nitro, que influenciam no efeito eletrônico, fazendo com que cada estrutura se comporte de maneira diferente em seus respectivos mecanismos de ação (JUNG et al., 2014).

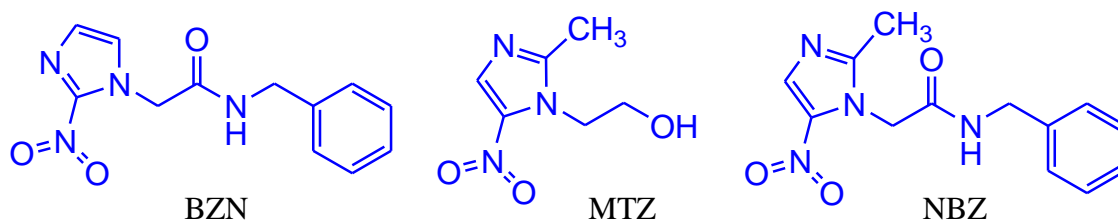


Figura 1 – Derivados nitroazólicos.

Com o auxílio da modelagem molecular, é possível compreender qual grupo da molécula é responsável pela atividade biológica e qual grupo é responsável pela toxicidade do fármaco. Através de modificações moleculares e/ou associações moleculares, pode-se tentar alterar efeitos indesejáveis de moléculas de fármacos e, por esse motivo, os estudos de modelagem molecular têm sido tão importantes para a química medicinal (CARVALHO et al., 2003).

O benzonidazol possui, como outros medicamentos, efeitos colaterais, dentre os mais comuns hipersensibilidade, como dermatite com erupção cutânea, edema periorbital ou generalizado, febre, dores musculares e articulares, depressão da medula óssea, incluindo, agranulocitose, entre outros (BARBOSA, et al., 2008; DIAS et al., 2009).

Seu principal uso é no tratamento da Doença de Chagas (DC), que segundo o portal do Ministério da Saúde, é classificada como uma antroponose causada pelo protozoário flagelado *Trypanosoma cruzi*. Em pacientes com a doença, observam-se duas

fases clínicas: uma aguda, que pode ou não ser identificada, podendo evoluir para uma fase crônica caso não seja tratada com medicação específica e adequada. Neste caso, a medicação utilizada é o benzonidazol, durante 60 dias (COURA & PEREIRA, 2011; CUNHA et al., 2011). Este medicamento é distribuído gratuitamente pelo SUS e é o único usado com essa finalidade desde 1970 (BARBOSA et al., 2008).

Atualmente, diversas pesquisas vêm sendo realizadas com o objetivo de encontrar um novo fármaco capaz de substituir o benzonidazol ou, buscam uma forma de diminuir seus efeitos tóxicos, utilizando os estudos de modelagem molecular. No entanto, até o momento, ainda não foi possível resolver essa problemática (SOUZA JÚNIOR, 2008).

O metronidazol (MTZ) é um antibiótico de amplo espectro, podendo ser usado, principalmente, como antibacteriano e antiprotozoário. Seus efeitos colaterais são brandos e variam de acordo com cada indivíduo (SILVA et al., 2011). Por esse motivo, neste trabalho, foi realizado um estudo teórico da associação molecular entre benzonidazol e metronidazol, buscando minimizar os efeitos indesejáveis do tratamento da Doença de Chagas e aumentar a atividade tripanomicida da molécula.

2. OBJETIVOS

2.1. OBJETIVO GERAL

Planejar, estudar e sintetizar novos derivados a partir de modificações moleculares no benzonidazol e metronidazol para a alteração de sua capacidade redox.

2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Propor novos derivados através da associação molecular e modificação do comportamento eletrônico do anel nitroimidazol;
- Realizar estudos teóricos a partir da associação molecular entre o benzonidazol e o metronidazol;
- Realizar estudos de modelagem molecular e de reatividade química em moléculas derivadas do benzonidazol;
- Estudar o mecanismo redox de derivados nitroimidazol usando modelagem molecular;
- Sintetizar os derivados planejados;
- Avaliar os parâmetros teóricos dos derivados planejados.

3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1. DOENÇA DE CHAGAS

Os sintomas da doença de Chagas mais comuns observados em pacientes sintomáticos são: febre, cefaleia, mialgia, dispneia, miocardite, pericardite, edema nos membros inferiores, edema de face, dor abdominal, entre outros sintomas não tão comuns (PINTO et al., 2008).

A doença de Chagas pode apresentar duas fases: aguda e crônica. A fase aguda pode ser sintomática ou assintomática. Quando os sintomas estão presentes, a situação corresponde aos casos clássicos, detectados em crianças pequenas que desenvolvem uma inflamação nos olhos, na forma de conjuntivite, edema palpebral unilateral e adenopatia pré-auricular. O caso assintomático pode ocorrer em qualquer idade, o indivíduo infectado geralmente tem febre passageira leve. Na fase aguda, o parasito está disseminado pelo organismo do indivíduo infectado, podendo ser facilmente diagnosticado através de um exame de sangue (COURA & CASTRO, 2002).

O medicamento é de extrema importância, sobretudo, para pessoas que vivem em regiões com maior incidência da Doença de Chagas. Nos últimos anos, a ocorrência de Doença de Chagas aguda tem sido observada em diferentes estados, em especial na região da Amazônia Legal, principalmente, em decorrência da transmissão oral (PONTES et al., 2010).

3.2. *TRYPANOSOMA CRUZI*

O ciclo evolutivo do *T. cruzi* possui três formas evolutivas diferentes: tripomastigota, epimastigota e amastigota (**Figura 2**). As etapas evolutivas existem para estabelecer uma adaptação necessária para seu desenvolvimento nos dois hospedeiros: o triatomíneo hematófago e o hospedeiro vertebrado (BRENER, 1997; BRAGA, 2012).

Quando ocorre a picada do triatomíneo portador do protozoário em vertebrados, os tripomastigotas, estágio contagioso, são liberados pelas fezes, passando à corrente sanguínea do hospedeiro. Além disso, o estágio tripomastigota é o único presente nos dois ciclos do protozoário no hospedeiro vertebrado e inseto. Na corrente sanguínea, os tripomastigotas passam ao estágio amastigota, momento em que ocorre sua multiplicação no hospedeiro vertebrado. Esta multiplicação ocorre por meio de reprodução assexuada nos tecidos do hospedeiro e, posteriormente, se transformarão em tripomastigotas novamente

para circularem na corrente sanguínea (ANDRADE & ANDREWS, 2005; BRAGA, 2012; LEITE et al., 2013).

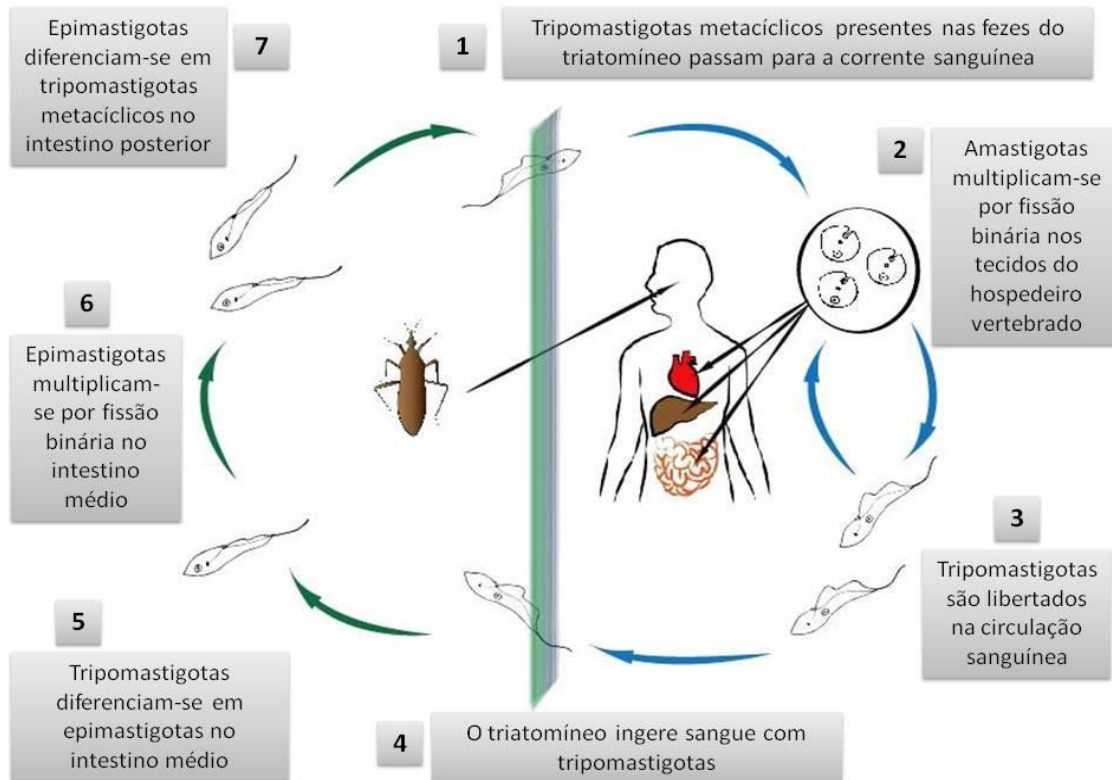


Figura 2 – Ciclo de vida do *Trypanosoma cruzi*. Fonte: CUNHA et al., 2011.

Quando o triatomíneo ingere sangue do hospedeiro vertebrado, ele recebe os tripomastigotas presentes. Ao chegarem ao intestino médio do triatomíneo, diferenciam-se em epimastigotas, estágio em que ocorre a multiplicação do protozoário no intestino médio do triatomíneo. Esta multiplicação também ocorre por meio de reprodução assexuada para depois retornarem ao estágio tripomastigota no intestino posterior. Em seguida, estes são liberados nas fezes do triatomíneo, contagiando o hospedeiro vertebrado e, assim, reiniciando seu ciclo de vida (ANDRADE & ANDREWS, 2005; BRAGA, 2012; LEITE et al., 2013).

3.3. TRATAMENTO

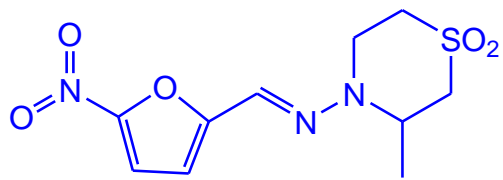
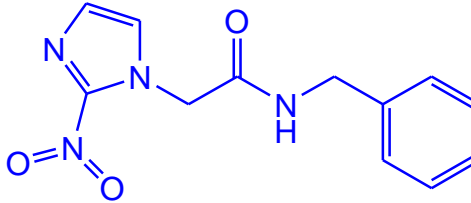
Durante o período de 1936 a 1960, diversas avaliações biológicas de inúmeras substâncias químicas, extratos e misturas de componentes, foram realizadas na tentativa de encontrar um tratamento eficaz para a doença. No entanto, os resultados encontrados eram controversos e pouco significativos (DIAS et al., 2009).

Em 1961, os estudos evoluíram e mostraram que a nitrofurazona havia apresentado bons resultados e que poderia, talvez, se tornar uma alternativa de quimioterápico. Além da nitrofurazona, mais de 20 quimioterápicos e 30 antibióticos demonstraram certa eficácia contra o *T. cruzi* e foram relatados em estudos na década de 1960 (DIAS et al., 2009).

A partir de testes realizados em camundongos, a dose diária de nitrofurazona era de 100 mg kg⁻¹ durante 50 dias em média, com eficácia de 95% na fase crônica. Porém, após testes em indivíduos com casos agudos da doença, foram relatados bons resultados inicialmente e depois de certo tempo, metade voltou a manifestar a presença do parasito circulante (DIAS et al., 2009). Dessa forma, a busca por um tratamento mais viável ainda não havia cessado.

No período entre a metade da década de 1960 e início dos anos 70, surgiram dois compostos que se mostravam promissores para tratar a doença de maneira efetiva: nifurtimox e benzonidazol (**Tabela 1**). Os melhores resultados foram observados na fase aguda da doença com o uso de nifurtimox na dose de 8-10 mg kg⁻¹ e de benzonidazol na dose de 5-7,5 mg kg⁻¹, durante um período de 60 a 90 dias. Entretanto, ambos apresentaram entre 50 e 70% de cura na fase aguda, enquanto que na fase crônica os valores foram inferiores a 20% (DIAS et al., 2009).

Tabela 1 – Informações gerais sobre o nifurtimox e benzonidazol.

		
1965	Descoberta	1972
Via oral	Administração	Via oral
Intolerância digestiva e manifestações neuropsíquicas	Efeitos colaterais	Erupção cutânea e distúrbios gastrointestinais moderados
Baixa	Eficácia	Média
Fase aguda somente	Atuação	Fase aguda, principalmente

Atualmente, somente o benzonidazol é usado e distribuído para tratar a doença, por ser o mais eficaz e mais seguro, quando comparado ao nifurtimox (MEIRA, 2014).

3.4. BENZONIDAZOL

O N-benzil-2-nitroimidazol-1-acetamida ou benzonidazol é um medicamento que é comercializado pela Roche, com o nome Rochagan[®]. Ele foi lançado em 1980, sendo atualmente utilizado em diversos tratamentos no Brasil. Sua molécula possui a função amida, um grupo fenil e um grupo nitro ligado a um anel imidazólico. Sua absorção por via digestiva é rápida além de ser praticamente total. As concentrações plasmáticas máximas são alcançadas dentro do intervalo entre 2 e 4 horas. Possui tempo de meia-vida de eliminação plasmática de aproximadamente 12 horas (BEM, 2001; BARBOSA et al., 2008; COURA & PEREIRA, 2011).

Os efeitos colaterais do benzonidazol podem causar desconforto e/ou reações diferenciadas em cada paciente. No entanto, costumam ocasionar o abandono do tratamento, demonstrando a gravidade destes efeitos relatados. Este é um fator preocupante, levando em consideração que o benzonidazol é o único medicamento usado no tratamento, desde 1970.

3.5. MECANISMO DE AÇÃO

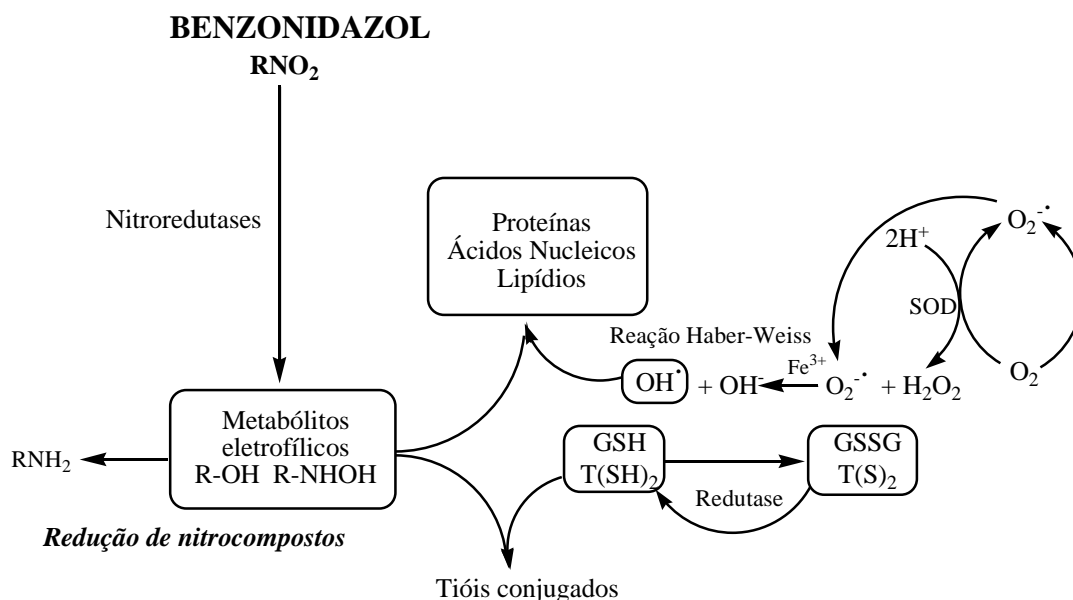
O mecanismo de ação de nitrocompostos ainda não é completamente conhecido, levando em conta que podem variar de acordo com as particularidades estruturais de cada molécula (PAULA et al., 2009).

Uma das possibilidades de mecanismo dos nitrocompostos é por meio da redução *in vivo* do grupo nitro, ou seja, uma biorredução. A redução do grupo nitro pode ser responsável pela bioatividade da molécula. Por esse motivo, o processo de biorredução tem sido o principal alvo na tentativa de melhorar a eficácia da atividade biológica dos nitrocompostos de modo geral (PAULA et al., 2009).

O grupo nitro (NO₂) do fármaco é reduzido a um grupo amino (NH₂), por enzimas do tipo nitroreduases no protozoário, com a formação de diversos intermediários radicais livres que induzem o estresse oxidativo e a produção de metabólitos eletrofílicos (**Esquema 1**).

Estes metabólitos são responsáveis pelo principal mecanismo de ação do BZN, pois se ligam covalentemente à macromoléculas do parasito, como DNA, citocromo P450, lipídios e proteínas, dessa maneira, causando sua morte (FAUNDEZ et al., 2005; MAYA et al., 2007; DIAS et al., 2009; PAULA et al., 2009; URBINA, 2010; RODRIGUES et al., 2014).

Além disso, a ação terapêutica está relacionada à produção de nitro radicais aniônicos e espécies reativas de oxigênio (ROS), que podem causar a inibição de enzimas, como a tripanotiona redutase, ou podem interagir com o substrato da enzima, ocasionando a toxicidade contra o parasito (BEM, 2001; ANDRADE, 2013; DIAS et al., 2009).



Esquema 1 – Mecanismo de ação do benzonidazol. Fonte: MAYA et al., 2007 (Adaptado).

3.6. MECANISMO DE TOXICIDADE

Nitroimidazóis como o BZN, podem induzir o ciclo redox, o que pode explicar o efeito tóxico causado pelo fármaco. Isso ocorre através da produção do ânion radical superóxido e, em seguida, radicais hidroxil (MAYA et al., 2003). Quando ocorre a redução enzimática deste composto, metabólitos reativos que foram produzidos se ligam covalentemente à proteína. Esta ligação covalente é efetivamente impedida pela glutatona e cisteína reduzidas (MORENO & DOCAMPO, 1985).

3.7. METRONIDAZOL

O metronidazol é um derivado nitroimidazol com propriedades antibióticas de amplo espectro e pode auxiliar no tratamento de diversos tipos de infecções, atuando como antibacteriano ou antiprotozoário, sendo potente e de grande importância (WINKEL et al., 2001). Dentre as doenças que podem ser tratadas com MTZ, estão giardíase, amebíase, tricomoniase, vaginites por *Gardnerella vaginalis*. Não é indicado que seja administrado

com álcool, pois pode causar reações adversas graves, tais como rubor, taquicardia, psicose, confusão, podendo também levar à morte (VENTURINI et al., 2014).

O MTZ, bem como o BZN, precisa ser metabolizado para ser ativo. Sua ativação se dá através elétrons gerados por enzimas encontradas no hidrogenossomo, uma organela do parasito com funções mitocondriais. Essas enzimas participam da via metabólica que converte piruvato a acetil CoA e CO₂ (CAMPOS, 2007).

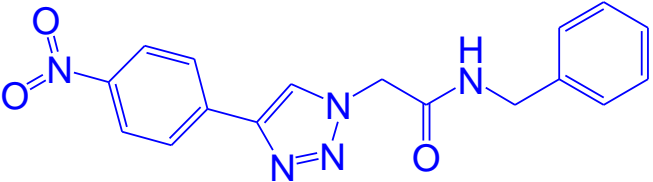
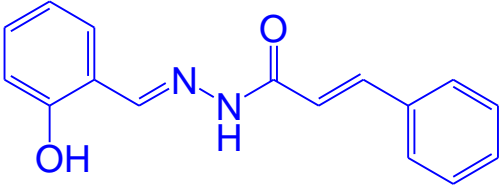
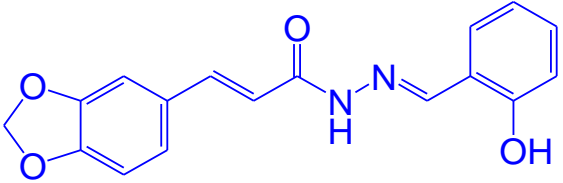
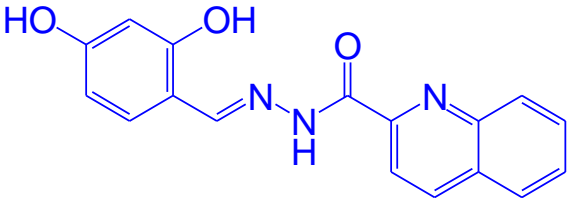
A oxidação das cadeias laterais alifáticas do MTZ em humanos é sua principal via metabólica. Tanto o composto como os seus produtos de oxidação também podem ser conjugados com o ácido glucurônico. O MTZ é metabolizado pelo fígado humano através da família de enzimas do citocromo P450. É administrado como um pró-fármaco inerte que é ativado intracelularmente sob condições anaeróbicas pela redução de seu grupo nitro. Isso gera um derivado tóxico ativo, que causa quebras na molécula do DNA de fita simples ou dupla. Em certos protozoários anaeróbios, a ativação de MTZ envolve um baixo processo de potencial redox intracelular que resulta na redução do grupo 5-nitro que forma os radicais tóxicos transitórios (UPCROFT et al., 2006; SILVA et al., 2011).

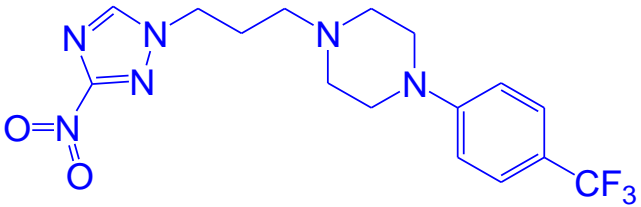
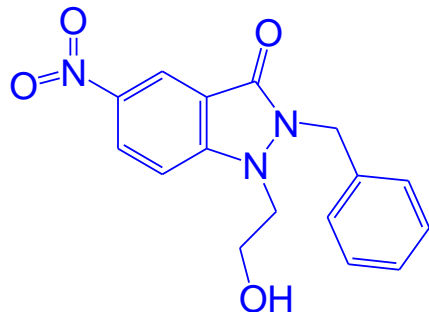
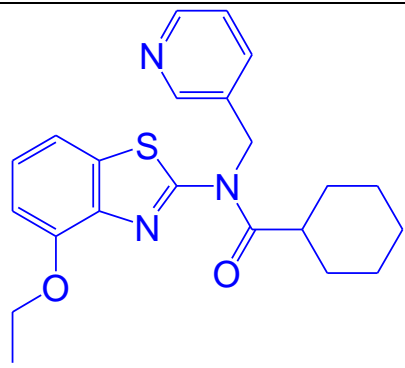
3.8. COMPOSTOS TESTADOS PARA *T. CRUZI*

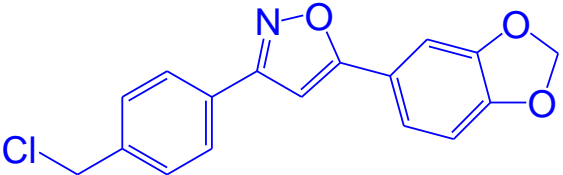
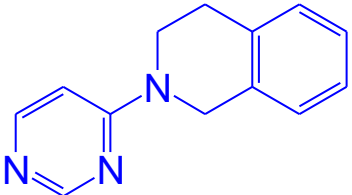
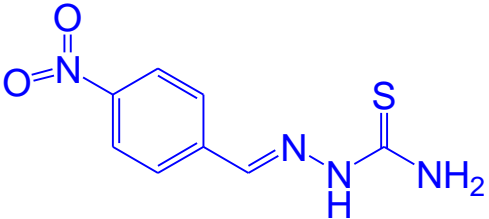
Atualmente, há uma grande quantidade de pesquisas voltadas para o estudo de moléculas que podem demonstrar um potencial tripanomicida maior que o BZN, sem ocasionar tantos efeitos tóxicos quanto o medicamento.

A **Tabela 2** apresenta dados importantes de pesquisas nos últimos dez anos sobre alguns compostos utilizados em testes biológicos para o *T. cruzi*, com os valores de CI₅₀ (concentração inibitória), IS (índice de seletividade) e em qual estágio do parasito os testes foram realizados. É possível observar que os valores de IS variam bastante. Isto está relacionado com a extensão das cadeias e com grupos específicos que foram adicionados em cada composto.

Tabela 2 – Compostos testados para *T. cruzi* em diferentes estágios.

Composto	CI ₅₀ (µM)*	Estágio do parasito	IS**	Referência
	7	Tripomastigotas	114,3	ANDRADE et al., 2015.
	5,9	Tripomastigotas	71	CARVALHO et al., 2012.
	6,6	Amastigotas		
	5,6	Tripomastigotas	50	CARVALHO et al., 2012.
	4,6	Amastigotas	11,6	COA et al., 2015.

 <chem>O=[N+]([O-])c1ncn(c1)CCCN2CCN(C2)c3ccc(C(F)(F)F)cc3</chem>	0,04	Amastigotas	1320	PAPADOPOULOU et al., 2011.
 <chem>Oc1nc2c(nc1=O)c3ccc([N+](=O)[O-])cc3n2Cc4ccccc4</chem>	0,60	Amastigotas	>166,7	FONSECA-BERZAL et al., 2016.
 <chem>CCOC1=CC=C2C(=N1)SC2N(Cc3ccncc3)C(=O)C4CCCCC4</chem>	0,16	Amastigotas	>200	KAISER et al., 2015.

	1,13	Amastigotas	160,9	ROSA et al., 2017.
	3,1	Tripomastigotas	128	BRAGA et al., 2017.
	1,43	Tripomastigotas	26,2	BRITTA et al., 2015.

*CI₅₀ - Concentração inibitória: concentração do composto que reduz em 50% o crescimento do parasito.

**IS - Índice de seletividade: quantidade de composto que é ativo contra o patógeno, mas não é tóxico para a célula hospedeira. É calculado pela razão entre a concentração citotóxica (CC₅₀) para células e o CI₅₀ para parasitos.

3.9. MODELAGEM MOLECULAR

A modelagem molecular utiliza métodos de simulação computacional a fim de investigar estruturas químicas, propriedades moleculares e características físico-químicas e comportamentais de moléculas, sendo uma das principais ferramentas aplicadas no planejamento de fármacos, pois fornece informações determinantes para o estudo do comportamento de moléculas (CARVALHO et al., 2003).

O planejamento de fármacos através de programas computacionais contribui para o estudo das interações químicas entre ligante e receptor, para a exploração dos fatores estruturais que estão relacionados ao efeito biológico. Os mecanismos de ação molecular dos fármacos envolvem várias áreas específicas, principalmente, química orgânica, bioquímica, biologia molecular e farmacologia, sendo fundamentais nesta área (CARVALHO et al., 2003).

Os métodos de cálculos computacionais são bastante variados, são diferenciados pelos níveis de teoria e como são implantados. Estes métodos podem ser classificados como mecânica molecular, *Ab initio* (HEHRE et al., 1986; PEREIRA, 2008), semi-empíricos (THIEL, 2003) e teoria do funcional da densidade (DFT) (PARR & YANG, 1989; SCHWINGENSCHLOGL & SCHUSTER, 2012).

O DFT (*Density Functional Theory*) é um dos métodos mais utilizados na aplicação da mecânica quântica, onde pode-se obter informações como energia dos orbitais de fronteira, propriedades termodinâmicas, cargas elétricas dos átomos, momento dipolar e energia de solvatação (PARR & YANG, 1989; ELSTNER; FRAUENHEIM & SUHAI, 2003). A desvantagem do método DFT está na natureza aproximada da energia de troca e de correlação. Para tentar resolver esse problema vários esquemas têm sido desenvolvidos para obter formas aproximadas do funcional para esta energia, visando inclusive desenvolver funcionais mais precisos para áreas específicas. Dentre os funcionais desenvolvidos com essa finalidade, estão LDA (*Local Density Approximation*), GGA (*Generalized Gradient Approximation*), mPWPW91, B3LYP, MPW1K, PBE1PBE, BLYP, BP91, e PBE (ATKINS; FRIEDMAN, 2005).

De todos os métodos híbridos de DFT, o funcional B3LYP é o mais utilizado. É mais frequentemente combinado com o conjunto de base 6-31G(d), apresentando consistentemente bons resultados. Desde meados dos anos 90, no entanto, a potência do computador aumentou em mais de uma ordem de grandeza, tornando necessário o uso de

um método mais preciso e avançado. Por esse motivo, o conjunto de bases 6-31G(d) evoluiu para 6-311+G(d, p), resultando em maior precisão para os resultados do estudo (ANDERSSON & UVDAL, 2005).

O B3LYP é um funcional híbrido, que contém em sua formulação, funcionais GGA de troca e correlação e que inclui uma contribuição vinda do método de Hartree-Fock, método aproximativo para determinar parâmetros eletrônicos. Foi desenvolvido por Becke (indicado pela letra B), e um termo de correlação desenvolvido por Lee, Yang e Parr (indicados pelas letras L, Y e P, respectivamente) e ainda possui três parâmetros empíricos escolhidos para otimizar sua performance (indicado pelo número 3) (PEREIRA, 2008).

4. PROCEDIMENTOS METODOLÓGICOS

O método adotado foi o de planejamento racional de fármacos aliado com os estudos de modelagem molecular, onde dois pontos foram levados em consideração: 1) o bioisosterismo de anéis sobre o sistema nitroimidazólico (BARREIRO & FRAGA, 2001) e 2) a associação molecular entre o benzonidazol e outros derivados com baixa toxicidade (BORGES, 2007), visando reduzir seus efeitos adversos.

4.1. ESTUDOS TEÓRICOS

Para os estudos teóricos foi adotado o método semi-empírico PM3, onde as geometrias foram otimizadas pelo método DFT usando o nível B3LYP/6-31+G(d,p) e onde foram obtidos os parâmetros eletrônicos (HEHRE et al., 1986), métodos teóricos para caracterização de parâmetros moleculares não eletrônicos e métodos estatísticos para classificação dos parâmetros moleculares responsáveis pela atividade biológica estudada usando pacotes computacionais como Chem Draw Ultra 7.0 (2005), Hyper Chem 8.0 (2007) e Gaussian 09 (FRISCH et al., 2013).

4.1.1. Energia dos Orbitais de Fronteira (HOMO e LUMO)

O HOMO é um parâmetro relacionado com a capacidade doadora de elétrons que caracteriza o composto como nucleofílico, é o orbital molecular ocupado de maior energia. A maior ou menor nucleofilicidade estão relacionadas com o maior ou menor valor em módulo, respectivamente. Enquanto que o LUMO está relacionado com a capacidade aceptora de elétrons que caracteriza um eletrófilo, é o orbital molecular desocupado de mais baixa energia, logo, baixos valores de LUMO indicam maior eletrofilicidade (BORGES, 2007). Os valores de HOMO e LUMO avaliam a estrutura química de uma substância, que por possuir regiões ricas ou deficientes em elétrons podem reagir como radicais livres. É um parâmetro que contribui para a maior compreensão da reatividade química.

4.1.2. Potencial de ionização (PI)

O potencial de ionização (PI) de um átomo ou molécula é a energia necessária para remover um elétron de sua estrutura atômica ou molecular (BELEZA FILHO, 2014). O PI é calculado pela diferença de energia da molécula neutra (EM^0) e seu respectivo cátion radical (EM^{*+}), como mostra a Equação 1.

$$PI = [EM^{*+}] - [EM^0] \text{ (Eq. 1)}$$

4.1.3. Afinidade eletrônica (AE)

A afinidade eletrônica (AE) de um átomo ou molécula representa a facilidade de aceitar um elétron em sua estrutura atômica ou molecular. A AE pode ser calculada pela diferença de energia da molécula neutra (EM^0) e seu respectivo ânion radical ($EM^{\cdot-}$), como mostra a Equação 2.

$$AE = [EM^{\cdot-}] - [EM^0] \text{ (Eq. 2)}$$

4.1.4. Mapas de Potencial Eletrostático Molecular (MEPs)

Os mapas de potenciais eletrostáticos são representados por valores numéricos classificados por cores que fornecem uma medida 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 de possível carga oposta de outra molécula, enquanto que as regiões de potencial negativo indicam as áreas de excesso de carga negativa, conduzindo a atração da carga oposta (BELEZA FILHO, 2014).

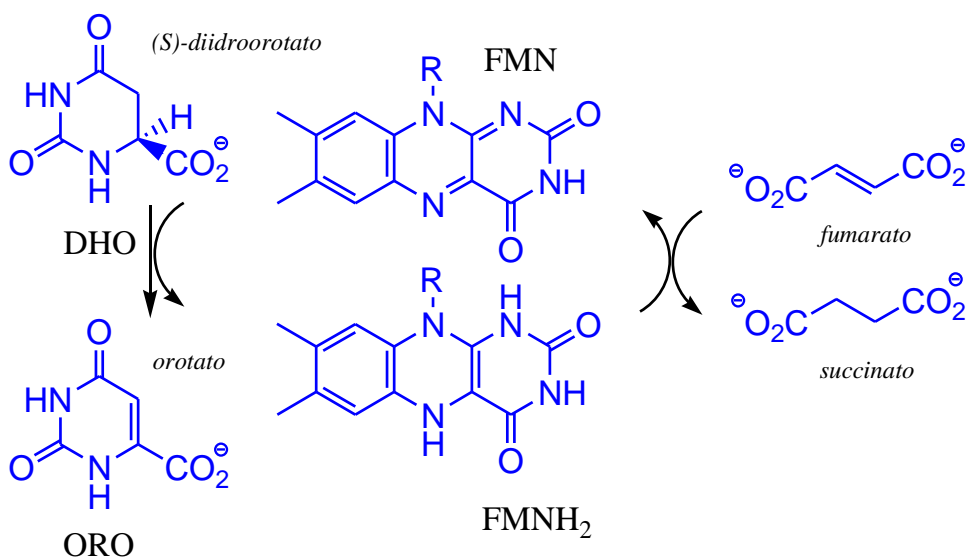
4.2. PLANEJAMENTO DE DERIVADO DA ASSOCIAÇÃO MOLECULAR

Os derivados foram planejados visando alterar a capacidade redox presente na molécula do benzonidazol. Para isso, foi necessário identificar a região toxicofórica (responsável pela toxicidade) e a região farmacofórica (responsável pela atividade antiprotozoária). Estudos anteriores identificam o anel nitroimidazol como a região toxicofórica, especificamente com o grupo nitro entre os dois átomos de nitrogênio do anel, sendo este anel metabolizado pelo organismo humano, produzindo ânion radicais superóxido e, em seguida, radicais hidroxil (MAYA et al., 2003). Uma vez que o anel nitroimidazol do BZN foi identificado como região toxicofórica, os derivados foram planejados a partir de modificações nesta porção molecular.

Uma segunda questão que deve ser levada em conta no processo de planejamento e desenvolvimento de novos fármacos é a escolha do alvo enzimático adequado. A diidroorotato desidrogenase (DHODH) é uma enzima que participa da síntese das pirimidinas, compostos essenciais para a síntese de DNA e RNA. Essa via é composta por seis enzimas: carbamoil-fosfato-sintetase (CPSase), aspartato-transcarbamoilase, diidroorotase, diidroorotato desidrogenase, orotatofosforibosil transferase e orotodilato descarboxilase (NELSON & COX, 2014).

O sítio catalítico das DHODHs é dependente do grupo prostético Flavina Mononucleotídeo (FMN), dessa forma estas enzimas são classificadas como flavoproteínas. O FMN é derivado da riboflavina, e o seu sistema anelar de isoaloxazina é parte essencial do seu aspecto mecanístico em reações de oxirredução em sistemas biológicos, e neste caso, novamente na síntese dos nucleotídeos de pirimidinas, sendo essencial para manutenção da vida do parasito (PINHEIRO, 2012; JONES & STADTMAN, 1980).

No **Esquema 2**, a enzima DHODH promove uma reação catalítica correspondente à única etapa de oxidação-redução na síntese de nucleotídeos de pirimidina (JONES & STADTMAN, 1980). A DHODH utiliza na primeira etapa da reação o cofator, o mononucleotídeo de flavina (FMN), para promover a oxidação do substrato dihidroorotato (DHO) a orotato (ORO) onde o FMN é reduzido a FMNH₂. A segunda etapa da reação ocorre quando o FMNH₂ é convertido a FMN, com o auxílio de um segundo substrato, um agente oxidante/aceptor de elétrons, que difere de acordo com a localização celular da DHODH (JENSEN & BJÖRNBERG, 1998; YOSHINO et al., 2015).



Esquema 2 - Mecanismo de ação da DHODH no sítio catalítico.

Analisando as características estruturais do sítio ativo de DHODH do parasito (A) e humano (B) na **Figura 3**, observa-se a região S1 e S1' definida como a região do sítio ativo para DHODH do parasito e humano, respectivamente, além de identificar também uma região de S2 no parasito. Esta região encontra-se como uma extensão da região S1, e se mostra como possível cavidade para acomodação de ligantes. O que poderia nos permitir a

inserção de ligantes com cadeias mais extensas e potencial seletividade, visto que a mesma não é identificada na enzima humana (CHELESKI et al., 2011).

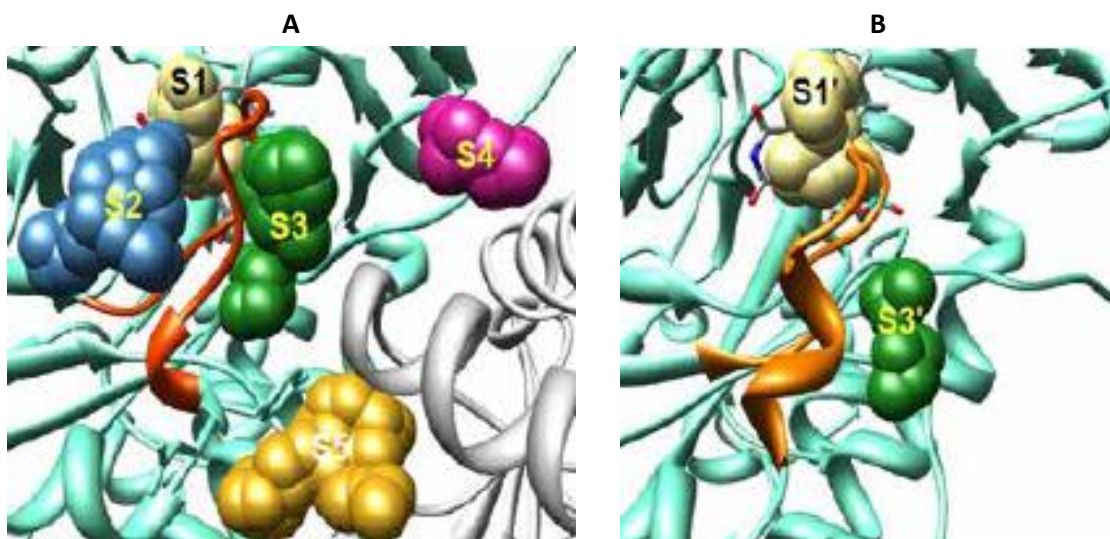


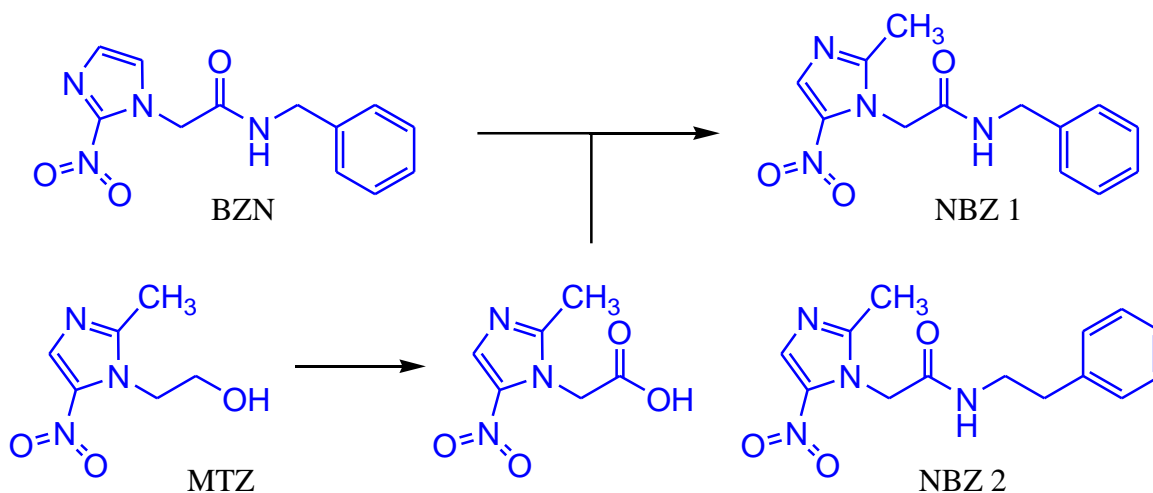
Figura 3 - Sítio ativo da DHODH do parasito (A) e humana (B).

Assim, nosso primeiro derivado planejado foi denominado nibendazol (NBZ). Ele foi obtido através da associação molecular entre o benzonidazol e o metronidazol. O anel 2-nitroimidazol do benzonidazol foi substituído pelo anel 5-nitroimidazol do metronidazol, pois o posicionamento do anel na molécula do BZN é bastante reativo com o grupo nitro entre os dois átomos de nitrogênio, levando em consideração que o grupo nitro é retirador de elétrons (OLENDER; ZWAWIAK & ZAPRUTKO, 2018).

No caso do metronidazol, existe um grupo metila entre os átomos de nitrogênio, tornando esta estrutura mais estável e menos reativa. Sabendo que o grupo metila é doador de elétrons, o NBZ foi planejado com o objetivo de reduzir os efeitos tóxicos da molécula, sem prejudicar a atividade antiparasitária, pois o MTZ é um medicamento seguro e também atua contra parasitos, assim como o BZN (VENTURINI et al., 2014).

Nossa estratégia de planejamento foi associar o grupo benzilamida do benzonidazol (BZN) ao fragmento molecular de metabolismo do metronidazol (MTZ) por oxidação, de modo que o novo composto apresenta como diferença estrutural as posições dos átomos de nitrogênio em relação ao grupo nitro no anel azólico mais a introdução de uma metila doadora de elétrons em direção ao grupo nitro.

Um segundo derivado foi obtido com estrutura semelhante ao primeiro, porém, com o aumento da cadeia usando o grupo metileno entre a amida e a fenila, visando ampliar a interação com a região S2 da DHODH (**Esquema 3**).

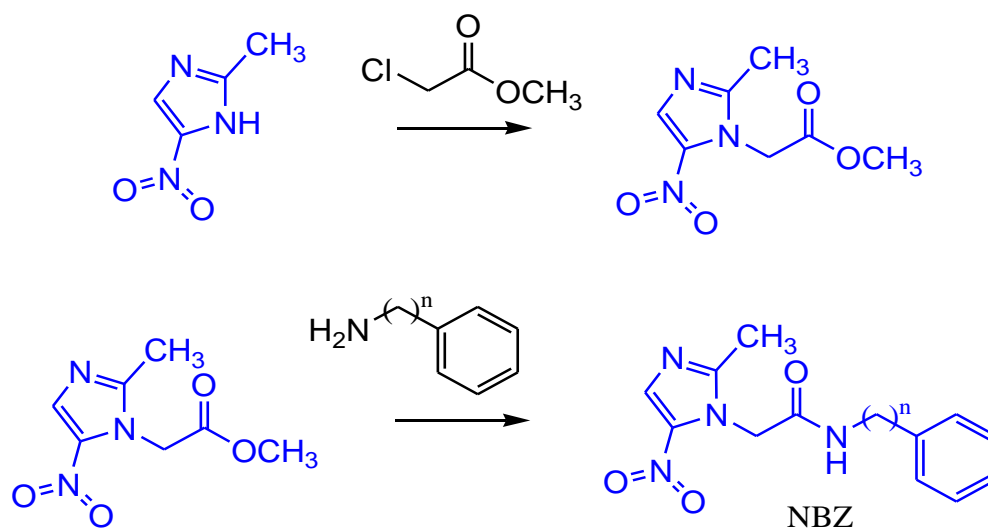


Esquema 3 – Estratégia de planejamento molecular dos compostos NBZ.

4.3. SÍNTESE DOS DERIVADOS

Os novos derivados foram obtidos através de reações clássicas, tais como substituição eletrofílica e nucleofílica, esterificação, alquilação e nitração (PATANI & LAVOIE, 1996). Todas as sínteses foram realizadas no Laboratório de Inovação Terapêutica do Núcleo de Estudos e Seleção de Moléculas Bioativas da Universidade Federal do Pará (NESBio/UFPA).

Segundo o **Esquema 4**, os derivados do nibendazol (NBZ) foram produzidos a partir das reações entre o 2-metil-5-nitroimidazol e a benzilamina ou feniletilamina tendo o cloroacetato de metila entre os dois, em duas etapas de reação de substituição nucleofílica de segunda ordem (S_N^2) e amidação entre éster e amina.



Esquema 4 – Estratégia de síntese molecular dos derivados nibendazol (NBZ).

5. RESULTADOS E DISCUSSÕES

5.1. ESTUDO DO MECANISMO REDOX DE ANÁLOGOS NITROAZÓLICOS

Os nitroazóis constituem uma importante classe heterocíclica na química medicinal. São moléculas cujo mecanismo de ação ocorre após ativação por redução e ainda são estudados frequentemente como candidatos a medicamentos, sendo desenvolvidos para tratar câncer e vários tipos de infecções causadas por bactérias anaeróbicas. Dentre os fármacos já conhecidos, estão metronidazol, tinidazol e o nimorazol (JUNG et al., 2014).

Além disso, o grupo nitro vem sendo adicionado nessas estruturas nitroazólicas por diferentes métodos de nitração e em diferentes posições, cujas atividades são definidas apenas no momento dos testes farmacológicos. Assim, a forma estrutural e a posição dos átomos de nitrogênio na estrutura azólica, podem alterar significativamente suas propriedades através da reação de redução, onde o nitrogênio é reduzido a ânion nitro radical quimicamente instável. De fato, a ampla gama de aplicações dessas moléculas sugere que os fármacos nitro têm grande importância para quimioterapia, mas com reações adversas significativas (JUNG et al., 2014; OLENDER; ZWAWIAK & ZAPRUTKO, 2018).

Neste trabalho, uma estrutura simplificada do benzonidazol e seus análogos (D1-D3) foram avaliados quanto a sua propriedade redox (**Figura 4**) e em seguida comparadas com dois regioisômeros do metronidazol (D4 e D5). Os compostos tiveram suas geometrias otimizadas utilizando o método semi-empírico PM3 e DFT/B3LYP/6-31-G(d,p), empregados para a obtenção dos parâmetros moleculares e eletrônicos usando softwares computacionais como Chem Draw, Hyper Chem e Gaussian 09.

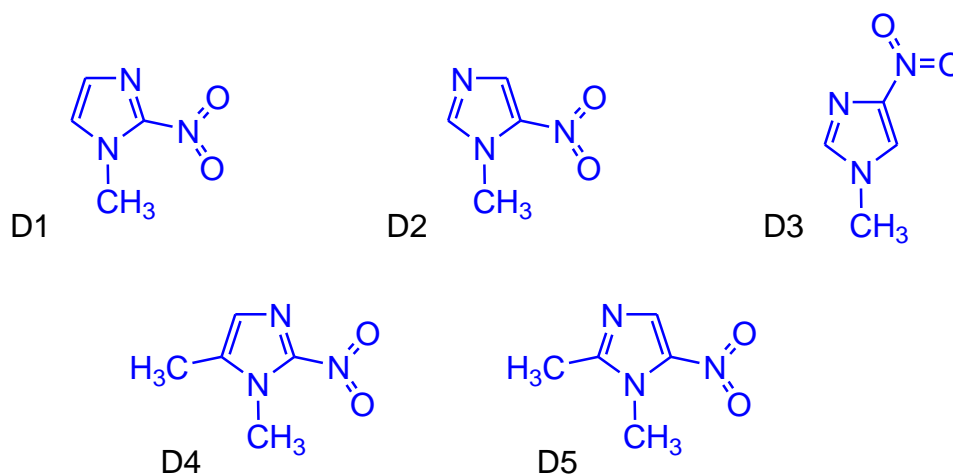


Figura 4 – Derivados do nitroimidazólicos simplificados.

Os resultados teóricos (**Tabela 3**) mostraram que a molécula D4 possui o menor valor de Potencial de Ionização (PI) e o segundo maior valor de Afinidade Eletrônica (AE), portanto, teoricamente, este derivado possui uma capacidade redox intermediária quando comparado com os demais compostos. Assim, a diferença entre a molécula D4 da D1 é apenas a presença do grupo metil, que por ser doador de elétrons, que pode ajudar na alteração biológica com redução também da sua toxicidade (PONTES et al., 2010).

Tabela 3 - Propriedades teóricas dos derivados nitroimidazólicos simplificados.

Compostos	HOMO (eV)	LUMO (eV)	GAP (eV)	PI (Kcal/mol)	AE (Kcal/mol)
D1	-7,11	-2,38	-4,72	216,10	-0,94
D2	-7,26	-2,42	-4,84	219,24	-2,10
D3	-7,14	-1,93	-5,21	216,37	9,94
D4	-6,80	-2,25	-4,55	205,79	0,04
D5	-6,93	-2,27	-4,66	209,06	-0,59

O mesmo ocorre com os valores dos orbitais de fronteira, pois é observado que D4 possui o maior valor de HOMO e menor valor de GAP, confirmando que este derivado apresenta a melhor capacidade redox (PONTES et al., 2010; BORGES et al., 2015). A introdução do grupo metila altera consideravelmente estes parâmetros e pode se tornar uma importante alternativa de modificação molecular do benzonidazol.

O grupo nitro é um grupo funcional químico contendo dois átomos de oxigênio que estão ligados a um átomo de nitrogênio, que conecta o grupo ao resto da molécula. Na sua estrutura química é observado que de acordo com a posição do átomo de nitrogênio pode se caracterizar em alta deficiência de carga negativa, que embora não altere o PI pode alterar a AE como no caso dos compostos D1 (-0,94 Kcal/mol) e D2 (-2,10 Kcal/mol).

O derivado D3 apresentou o segundo maior valor de PI e o maior valor de AE, indicando que este composto possui alta capacidade redox, demonstrando facilidade para doar e receber elétrons. O que é possível comprovar ao observar seus valores para HOMO e LUMO (-7,14 eV e -1,93 eV, respectivamente).

Portanto, em um anel aromático, ele possui um forte efeito de retirada de elétrons que desativa o anel, por efeito de ressonância de elétrons dentro da estrutura cíclica e esse efeito pode ser ampliado pelo grupo nitro. Assim, essa pode ser uma das razões pelo qual o

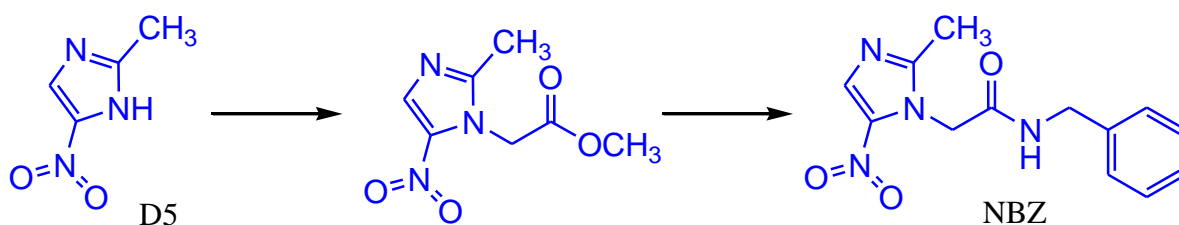
grupo nitroazólico do benzonidazol seja o responsável por sua toxicidade (OLENDER; ZWAWIAK & ZAPRUTKO, 2018).

A partir dos resultados obtidos neste trabalho, é possível concluir que a presença do grupo metil pode ser determinante para a redução da toxicidade das moléculas derivadas. O efeito deste grupo ficou evidente ao comparar D1 (BZN) com D5 (MTZ), por apresentar os menores valores de média e desvio padrão entre os dois compostos para a AE. Portanto, nosso estudo de propriedade redox selecionou o núcleo nitroazólico D5 para a síntese.

5.2. SÍNTESE DOS DERIVADOS DA ASSOCIAÇÃO MOLECULAR

As moléculas planejadas foram sintetizadas de acordo com as metodologias clássicas por reações de substituições eletrofílica e nucleofílica, esterificação, alquilação e nitração (PATANI & LAVOIE, 1996).

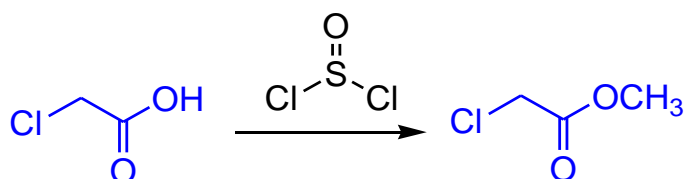
O primeiro composto foi obtido em três etapas com bom rendimento, segundo o **Esquema 5**. O primeiro composto é um éster metílico do metabólito carboxilado do metronidazol, que é obtido através da reação entre o 2-metil-5-nitroimidazol e o cloroacetato de metila. Em seguida este composto reage com a benzilamina para produzir o nibendazol (NBZ).



Esquema 5 – Etapas para a síntese do nibendazol (NBZ).

5.2.1. Síntese do cloroacetato de metila

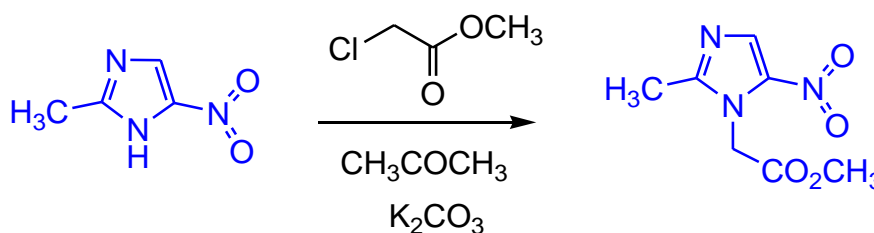
O cloroacetato de metila é um produto controlado pelo Ministério do Exército e tivemos de produzi-lo em laboratório, através da reação do ácido cloroacético com cloreto de tionila, seguido pela reação com metanol para a geração do éster (**Esquema 6**).



Esquema 6 – Reação de síntese do cloroacetato de metila.

5.2.2. Síntese do metabólito éster do metronidazol oxidado

O derivado no metabolismo oxidativo do metronidazol na forma de éster, denominado (2-metil-5-nitroimidazol-1-il)-acetato de metila (MT2ME) foi obtido segundo o **Esquema 7**, pela reação entre o 2-metil-4-nitroimidazol com o cloroacetato de metila, obtido da reação anterior, dissolvidos em acetona e usando carbonato de potássio como catalisador. A reação foi obtida com alto rendimento. O produto obtido é um sólido com ponto de fusão de 141-143°C (139-140°C MIRZAEI et al., 2008).



Esquema 7 – Etapa 1 da reação de síntese do nibendazol.

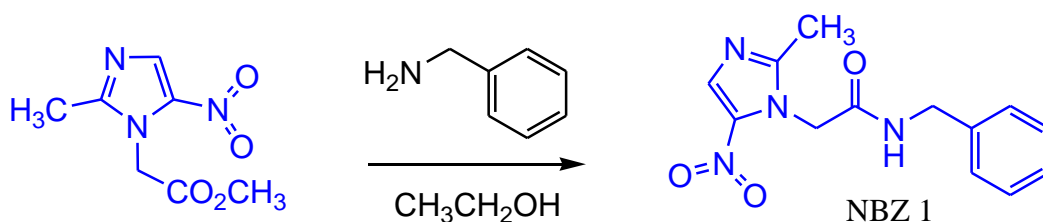
O espectro de RMN ^1H (500 MHz; acetona-D₆) do intermediário MT2ME mostra um sinal em 2.29 ppm referente aos três hidrogênios do grupo metila (H-8) ligado ao éster, um sinal em 3.73 ppm referente aos três hidrogênios do grupo metila (H-9) ligado ao anel nitroimidazólico, um sinal em 5.07 ppm referente aos dois hidrogênios do grupo metileno (H-6) e um sinal em 8.26 ppm referente ao hidrogênio aromático H-1.

O espectro de RMN ^{13}C (125 MHz; acetona-D₆) do intermediário MT2ME mostra um sinal em 12.83 ppm referente ao carbono do grupo metila (C-8) ligado ao éster, um sinal em 40.48 ppm referente ao carbono aromático C-3, um sinal em 47.95 ppm referente ao carbono do grupo metileno C-6, um sinal em 53.12 ppm referente ao carbono do grupo metila (C-9) ligado ao anel nitroimidazólico, um sinal em 123.50 ppm referente ao carbono aromático hidrogenado C-1, um sinal em 146.35 ppm referente ao carbono aromático ligado ao grupo nitro C-5 e um sinal em 168.31 ppm referente ao carbono da carbonila C-7.

O espectro DEPT (acetona-D₆) mostra apenas os sinais dos carbonos hidrogenados na estrutura das moléculas. O espectro DEPT obtido para a estrutura do intermediário MT2ME mostra quatro sinais, onde o deslocamento δ 12.83 representa o carbono do grupo metila C-8 ligado ao éster, o deslocamento δ 47.95 representa o carbono do grupo metileno C-6, o δ 53.12 representa o carbono do grupo metila (C-9) ligado ao anel nitroimidazólico e o sinal em δ 123.50 representa o carbono aromático hidrogenado C-1.

5.2.3. Síntese do nibendazol

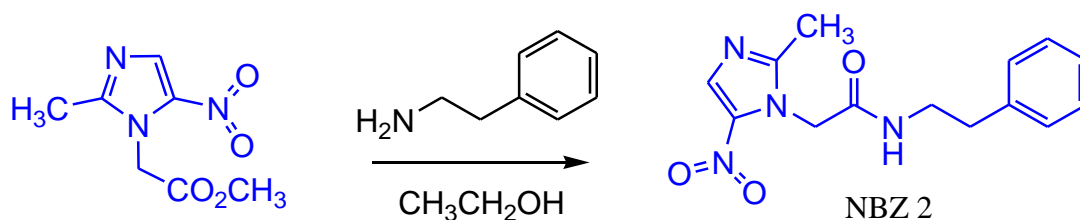
O derivado da associação molecular entre o benzonidazol e metronidazol foi obtido como descrito no **Esquema 8**, pela reação de amidação entre a parte éster do (2-metil-5-nitroimidazol-1-il)-acetato de metila e a porção amina da benzilamina, apenas com aquecimento e agitação magnética. A reação foi obtida com o rendimento de 57,49%. O produto obtido é um sólido com ponto de fusão de 216,6-217,3°C (ainda não possuem informações sobre o ponto de fusão desta molécula na literatura).



Esquema 8 – Etapa 2 da reação de síntese do nibendazol.

5.2.4. Síntese do derivado do nibendazol

O segundo derivado da associação molecular entre o benzonidazol e metronidazol foi obtido como descrito no **Esquema 9**, do mesmo modo que o nibendazol foi obtido, diferenciando apenas na reação de amidação entre a parte éster do (2-metil-5-nitroimidazol-1-il)-acetato de metila e a porção amina da feniletilamina. A reação foi obtida com o rendimento de 61,46%. O produto obtido é um sólido com ponto de fusão de 239-240,2°C (ainda não possuem informações sobre o ponto de fusão desta molécula na literatura).



Esquema 9 – Etapa 2 da reação de síntese do derivado do nibendazol.

O espectro de RMN ^1H (500 MHz; acetona- D_6) do derivado NBZ2 mostra um sinal em 2.17 ppm referente aos dois hidrogênios do grupo metileno ligado à amida H-9, um sinal em 2.48 ppm referente aos dois hidrogênios do grupo metileno ligado ao anel aromático H-10, um sinal em 2.72 ppm referente aos dois hidrogênios do grupo metileno ligado ao anel nitroimidazólico H-6, um sinal em 3.36 ppm referente aos três hidrogênios do

grupo metila H-17, um sinal em 4.69 ppm referente ao hidrogênio da amida H-8, um sinal em 7.18 ppm referente aos hidrogênios aromáticos H-12 e H-13, um sinal em 7.20 ppm referente aos hidrogênios aromáticos H-14 e H-16, um sinal em 8.21 ppm referente ao hidrogênio aromático do anel nitroimidazólico H-2 e um sinal em 8.36 ppm referente ao hidrogênio aromático H-15.

O espectro de RMN ^{13}C (125 MHz; acetona-D6) do derivado NBZ2 mostra um sinal em 12.89 ppm referente ao carbono do grupo metila C-17, um sinal em 35.36 ppm referente ao carbono do grupo metileno ligado ao anel aromático C-10, um sinal em 40.75 ppm referente ao carbono do grupo metileno ligado à amida C-9, um sinal em 49.20 ppm referente ao carbono do grupo metileno ligado ao anel nitroimidazólico C-6, um sinal em 123.84 ppm referente ao carbono hidrogenado aromático do anel nitroimidazólico C-2, um sinal em 126.61 ppm referente ao carbono ligado à metila C-5, um sinal em 128.77 ppm referente aos carbonos aromáticos C-12 e C-13, um sinal em 129.10 ppm referente aos carbonos aromáticos C-14 e C-16, um sinal em 139.57 ppm referente ao carbono ligado ao grupo nitro C-3, um sinal em 145.45 ppm referente ao carbono aromático C-11, um sinal em 146.19 ppm referente ao carbono aromático C-15 e um sinal em 165.78 ppm referente ao carbono da carbonila na posição C-7.

O espectro DEPT obtido para a estrutura do derivado NBZ2 mostra oito sinais, onde o deslocamento δ 12.89 representa o grupo metila C-17, os deslocamentos δ 35.35, δ 40.75 e δ 49.19 representam os carbonos dos três grupos metileno C-10, C-9 e C-6, respectivamente. O deslocamento δ 123.84 representa o carbono aromático hidrogenado do anel nitroimidazólico C-2, o δ 126.60 representa o carbono C-5 ligado ao grupo metila, os sinais em δ 128.77 e δ 129.10 representam os carbonos aromáticos simétricos C-12 e C-13 e C-14 e C-16, respectivamente.

5.3. ESTRUTURA E PROPRIEDADE DO NIBENDAZOL

As propriedades estruturais e eletrônicas dos derivados denominados nibendazol (NBZ1 e NBZ2) foram comparadas com o benzonidazol (BZN e MTZ) e metronidazol usando os cálculos DFT/B3LYP/6-31+G(d,p).

As estruturas para os quatro compostos com a conformação de menor energia estão mostradas na **Figura 5**.

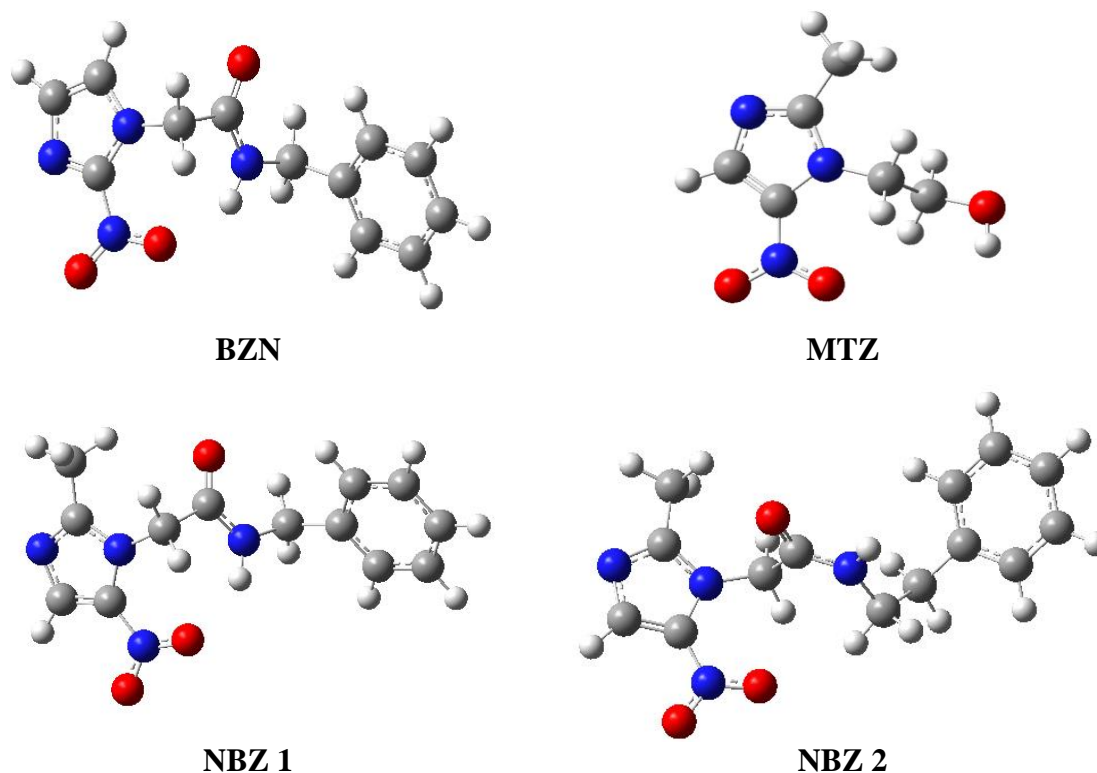


Figura 5 – Estrutura otimizada dos compostos estudados.

A associação molecular mostrou uma excelente relação estrutural entre o benzonidazol, nibendazol e seu derivado. Dos quatro compostos estudados, três apresentam uma ponte de hidrogênio intramolecular, cujas distâncias de ligação entre amida e nitro (N-H---O=N) observada para o BZN foi de 3,73571 Å, o NBZ 1 apresentou um valor de 3.66344 Å, enquanto que o NBZ 2 apresentou 4.34787 Å.

As propriedades eletrônicas teóricas foram obtidas a partir dos cálculos dos orbitais de fronteira HOMO e LUMO, assim como os valores de GAP da transição eletrônica entre HOMO e LUMO. Essas propriedades foram complementadas pelo cálculo das propriedades redox usando o potencial de ionização e a afinidade eletrônica.

A capacidade redox dos compostos estudados foi predita usando a energia dos orbitais moleculares de fronteira orbital molecular ocupado de mais alta energia (HOMO), orbital molecular desocupado de mais baixa energia (LUMO), a reatividade dos compostos foi determinada pela diferença entre os valores de LUMO e HOMO (GAP), a capacidade doadora de elétrons ou hidrogênio foram determinadas pelo potencial de ionização (PI) e a capacidade de aceitação de elétrons foi determinada pela afinidade eletrônica (AE). Estes valores são mostrados na **Tabela 4**.

Tabela 4 - Propriedades teóricas dos compostos estudados.

Compostos	HOMO (eV)	LUMO (eV)	GAP (eV)	PI (Kcal/mol)	AE (Kcal/mol)
BZN	-7,05	-3,25	3,80	195,80	-39,88
MTZ	-7,35	-2,92	4,44	207,45	-34,52
NBZ 1	-7,03	-3,13	3,90	193,82	-37,45
NBZ 2	-7,14	-2,80	4,34	193,43	-32,19

Os valores obtidos para estas propriedades eletrônicas usando DFT/B3LYP/6-31+G(d,p) para os compostos NBZ 1 e NBZ 2 mostraram valores intermediários entre o benzonidazol (BZN) e metronidazol (MTZ) para todas as propriedades.

Os resultados dos cálculos de propriedades teóricas realizados para as moléculas do benzonidazol, metronidazol, nibendazol 1 e nibendazol 2, mostram que o NBZ 1 e NBZ 2 possuem maiores valores de GAP (3,90 eV e 4,34 eV, respectivamente), quando comparado ao BZN (3,80 eV). Isto demonstra que estes derivados têm reatividade inferior ao BZN, porém maior que MTZ (4,44 eV). Provavelmente, isto ocorre devido à associação molecular realizada para gerar NBZ 1 e NBZ 2.

Quanto aos valores de HOMO, as moléculas BZN e NBZ 1 têm valores muito próximos, -7,05 eV e -7,03 eV, respectivamente. No entanto, de acordo com os valores de HOMO e LUMO (-7,14 eV e -2,80 eV, respectivamente) obtidos para NBZ 2, é possível observar que este composto possui alta capacidade de doar elétrons, pois possui o segundo maior valor de HOMO e o maior valor de LUMO, indicando baixa capacidade de aceitação de elétrons.

A energia dos orbitais de fronteira HOMO e LUMO são parâmetros importantes da estrutura eletrônica molecular para estudar a transferência de elétrons. A molécula que tem o maior valor de HOMO possui maior capacidade de doar elétrons. No entanto, o menor valor de LUMO implica que a molécula é um bom aceptor de elétrons (BORGES et al., 2014; BORGES et al., 2015a; BORGES et al., 2015b; CARVALHO et al., 2017).

O potencial de ionização (PI) representa a facilidade para uma doação de elétrons de um composto, neste caso, os derivados do BZN. A doação de elétrons é um importante parâmetro para avaliar mecanismos de toxicidade e capacidade redox de compostos. Portanto, moléculas com menor PI são melhores doadores de elétrons (BORGES et al., 2014; BORGES et al., 2015a; BORGES et al., 2015b; CARVALHO et al., 2017). Os

derivados NBZ 1 e NBZ 2 apresentaram os menores valores de PI (193, 82 Kcal mol⁻¹ e 193,43 Kcal mol⁻¹, respectivamente) dentre os compostos analisados.

A afinidade eletrônica (AE) representa a facilidade de aceção de elétrons dos derivados do BZN. Este parâmetro também auxilia na avaliação de mecanismos de toxicidade e capacidade redox de compostos. Portanto, moléculas com baixa AE são melhoresceptoras de elétrons (BORGES et al., 2014; CARVALHO et al., 2017). Quanto aos valores de AE, os derivados NBZ 1 e NBZ 2 apresentaram maiores valores (-37,45 Kcal mol⁻¹ e -32,19 Kcal mol⁻¹, respectivamente), em relação ao BZN (-39,88 Kcal mol⁻¹).

Nossos resultados mostram que o benzonidazol (BZN) apresenta uma capacidade redox maior que o metronidazol (MTZ), enquanto que o nibendazol 1 (NBZ 1) e o nibendazol 2 (NBZ 2) apresentam uma capacidade intermediária entre esses dois compostos.

De acordo com os gráficos de HOMO para os compostos benzonidazol (BZN), metronidazol (MTZ), nibendazol 1 (NBZ 1) e nibendazol 2 (NBZ 2) mostrados na **Figura 6** é possível observar os grupos que participam na formação das regiões nucleofílicas, isto é, doadoras de elétrons, podemos concluir que o sistema nitroimidazol das moléculas possuem caráter nucleofílico superior ao anel benzeno, sendo responsáveis pela capacidade doadora de elétrons em uma reação ou interação intermolecular (BORGES et al., 2014; BORGES et al., 2015a).

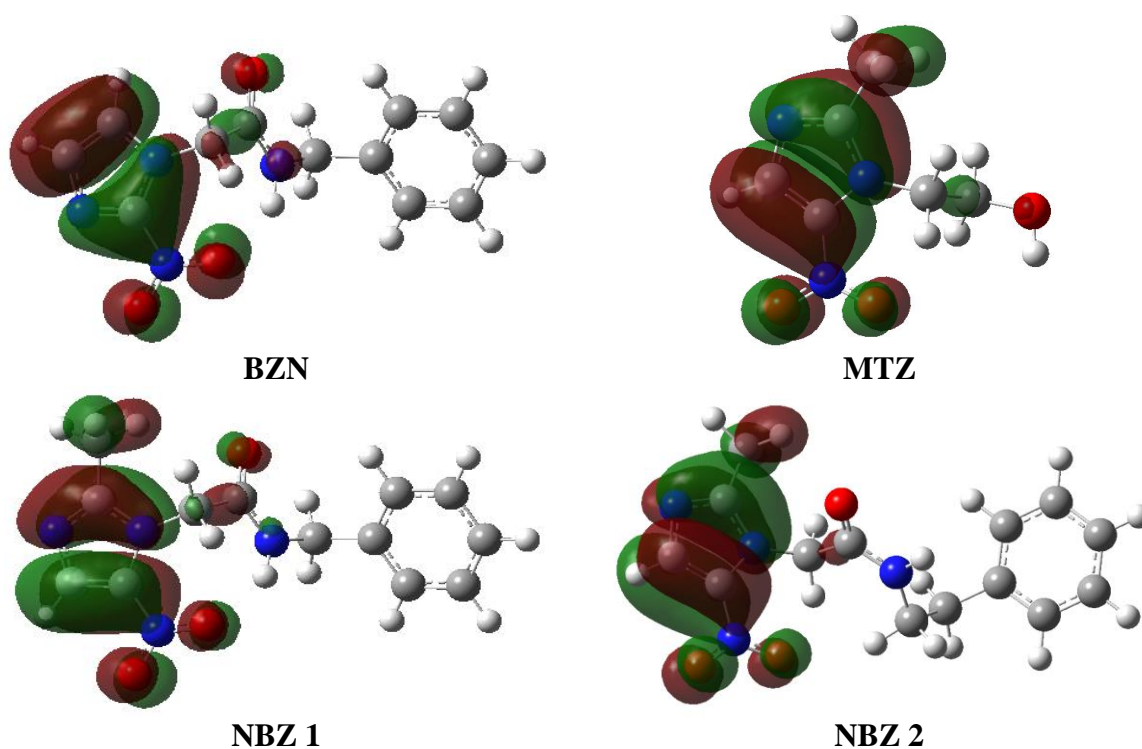


Figura 6 – Gráficos de HOMO para os compostos estudados.

Esse efeito é ampliado pela presença do grupamento metila. No caso do BZN, o caráter nucleofílico se concentra, exclusivamente, no anel nitroimidazol e na amida da molécula. Nos casos de MTZ, NBZ 1 e NBZ 2, o gráfico mostra que o grupo metila também se destaca como região doadora de elétrons junto com seus anéis nitroimidazol.

Na **Figura 7** é possível observar os gráficos de LUMO para os compostos benzonidazol (BZN), metronidazol (MTZ), nibendazol 1 (NBZ 1) e nibendazol 2 (NBZ 2), onde pode-se concluir que os grupos benzila das moléculas possuem caráter eletrofílico, sendo responsáveis pela aceção elétrons em uma reação (BORGES et al., 2014; BORGES et al., 2015a).

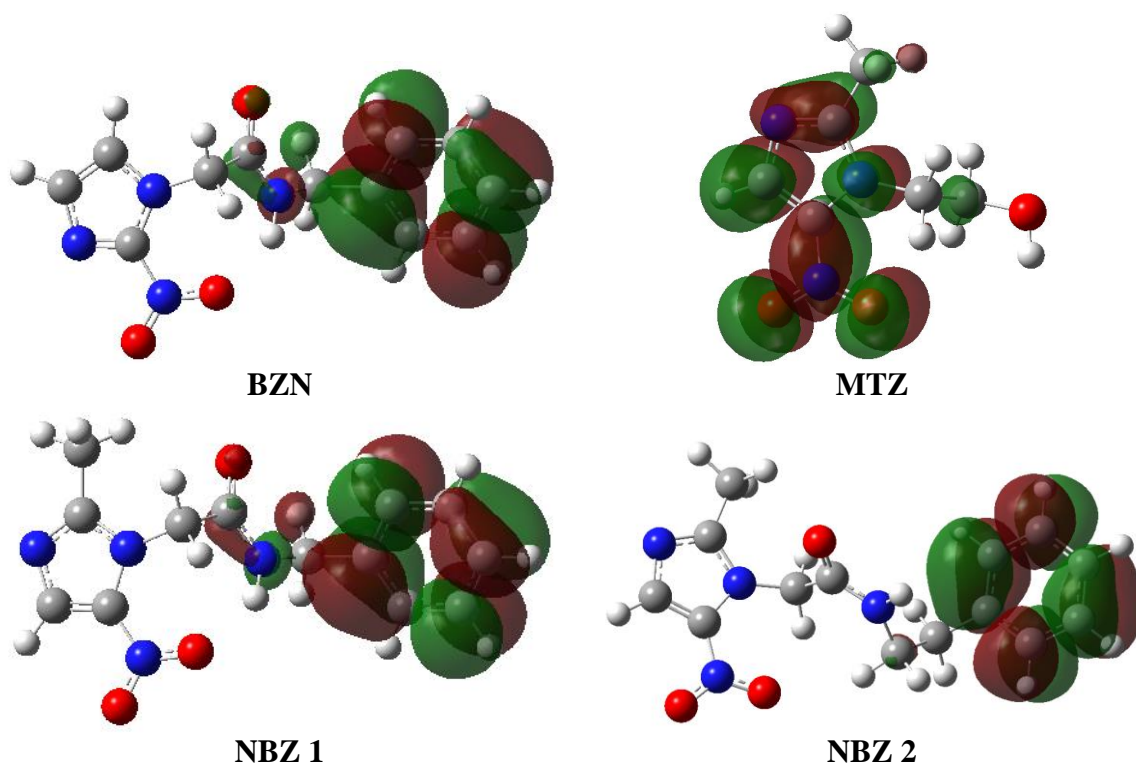


Figura 7 – Gráficos de LUMO para os compostos estudados.

Nos casos do BZN, NBZ 1 e NBZ 2, o caráter eletrofílico se concentra no grupo benzila. No caso de MTZ, o gráfico mostra que o comportamento da molécula é semelhante ao do gráfico de HOMO, porém de maneira mais distribuída pelo anel nitroimidazol, que se destaca como região aceptora de elétrons, sem participação significativa do grupo metila.

Os mapas de potencial eletrostático (MEPs) estão apresentados na **Figura 8**, mostrando as regiões eletrofílica e nucleofílica dos compostos. O potencial eletrostático é

uma propriedade física determinada através de métodos computacionais, assim como os demais parâmetros (BORGES et al., 2015a).

Pode-se observar nas imagens que para BZN, NBZ 1 e NBZ 2, o potencial negativo (nas cores laranja e amarelo) se concentra nas regiões onde estão localizados os átomos de oxigênio e nitrogênio, no anel nitroimidazol e no átomo de oxigênio da carbonila, mostrando a propriedade aceptora de elétrons dessas áreas. No caso de MTZ, o mesmo ocorre no anel nitroimidazol e no átomo de oxigênio da hidroxila.

É possível também, perceber que para os três compostos, o potencial positivo (na cor azul) encontra-se nas regiões onde estão localizados os grupos benzila de BZN, NBZ 1 e NBZ 2 e fica mais concentrado próximo aos anéis nitroimidazol, demonstrando a propriedade doadora de elétrons dessas áreas das moléculas.

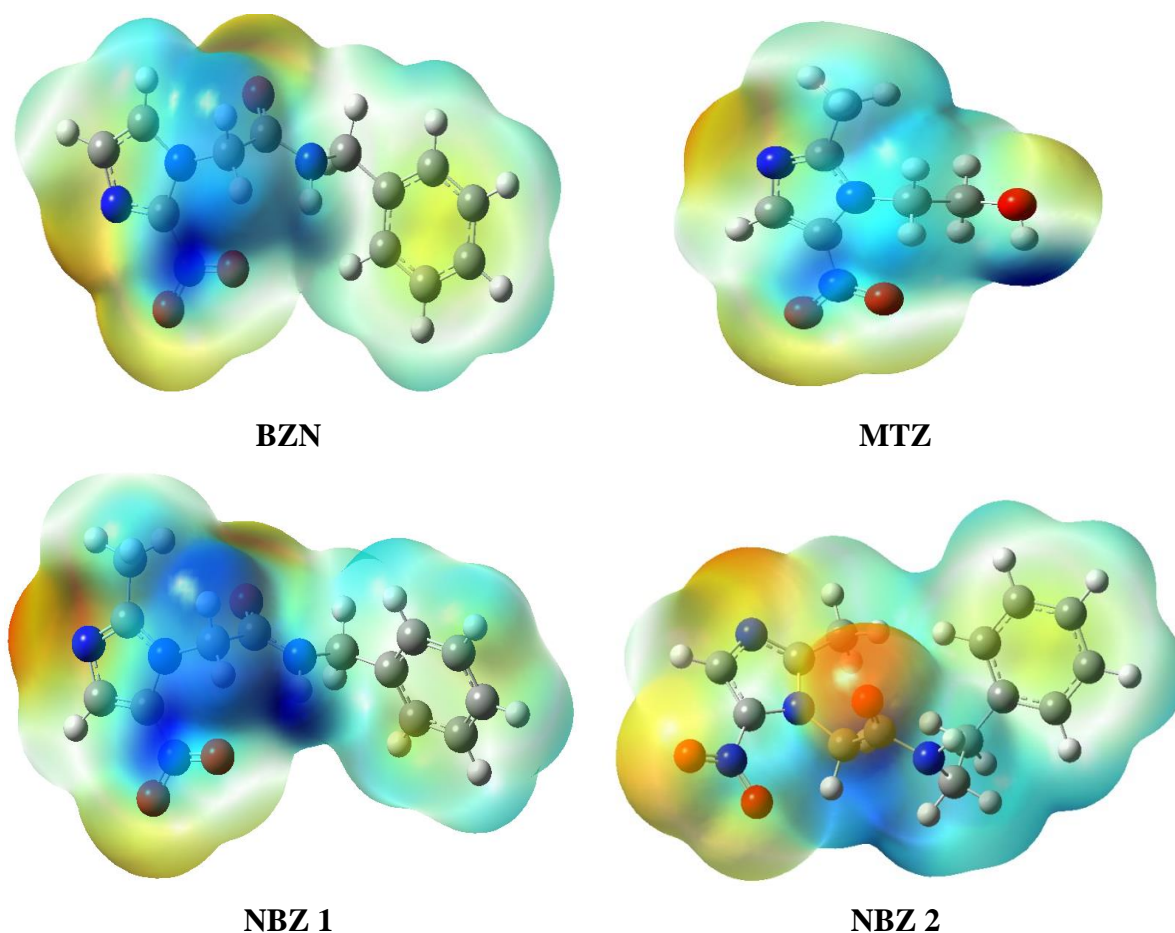


Figura 8 – Mapas de potencial eletrostático para os compostos estudados.

6. CONCLUSÃO

Os resultados das propriedades teóricas calculadas para os compostos nibendazol 1 e nibendazol 2, mostraram que estas moléculas possuem maior capacidade para doar elétrons que o benzonidazol, quando observamos os valores de HOMO e LUMO obtidos. Ao analisar os valores de GAP, foi possível concluir que os derivados planejados são menos reativos que o benzonidazol, por terem apresentado maiores valores, comparados ao medicamento.

Para o potencial de ionização e afinidade eletrônica, pode-se concluir que os compostos derivados têm capacidade redox inferior à do benzonidazol, apresentando menores valores para o potencial de ionização e maiores valores para a afinidade eletrônica, quando comparados ao benzonidazol.

Nos gráficos de HOMO e LUMO, é possível observar que a região com maior capacidade para doar elétrons é o anel nitroimidazólico e a região com maior capacidade de aceitação de elétrons é no grupo benzila no benzonidazol e nos dois derivados nibendazol. Já no metronidazol, a porção com maior capacidade doadora é o anel imidazólico, enquanto que a porção com maior capacidade aceptora é no grupo nitro ligado ao anel.

A partir dos mapas de potencial eletrostático, observa-se que o potencial negativo se concentra nas porções onde estão localizados os átomos de oxigênio e nitrogênio e o potencial positivo se concentra nas regiões de extensão das cadeias carbônicas, em todos os compostos estudados.

Os derivados planejados foram sintetizados com bons rendimentos, Laboratório de Inovação Terapêutica do Núcleo de Estudos e Seleção de Moléculas Bioativas da Universidade Federal do Pará (NESBio/UFGPA). Com os resultados obtidos, observa-se que o benzonidazol apresenta uma capacidade redox maior que o metronidazol, enquanto que o nibendazol 1 e o nibendazol 2 apresentam uma capacidade intermediária entre esses dois compostos, havendo a necessidade de realizar testes biológicos de toxicidade posteriormente para obter resultados práticos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANDERSSON, M. P.; UVDAL, P. New scale factors for harmonic vibrational frequencies using the B3LYP Density Functional Method with the triple- ζ basis set 6-311+G(d,p). **J. Phys. Chem.**, 2937-2941, 2005.

ANDRADE, L. O.; ANDREWS, N. W. The *Trypanosoma cruzi*-host-cell interplay: location, invasion, retention. **Nature Reviews Microbiology**, 1-5, 2005.

ANDRADE, M. C. Avaliação da resposta eletrocardiográfica e sorológica ao tratamento com benzonidazol em pacientes na fase crônica da Doença de Chagas. Dissertação (Mestrado em Patologia). Universidade Federal do Ceará. Fortaleza, 2013.

ANDRADE, P.; GALO, O. A.; CARVALHO, M. R.; LOPES, C. D.; CARNEIRO, Z. A.; COSTA, R. S.; MELO, E. B.; SILVA, J. S.; CARVALHO, I. 1,2,3-Triazole-based analogue of benznidazole displays remarkable activity against *Trypanosoma cruzi*. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, 1-12, 2015.

ATKINS, P.; FRIEDMAN, R. Molecular Quantum Mechanics. 4th edition. New York: Oxford University Press Inc., 2005.

BARBOSA, V. S. A.; HOLANDA, C. M. C. X.; SILVA, R. P.; OLIVEIRA, D. P.; SILVA JÚNIOR, M. F.; OLIVEIRA, E. H.; SPYRIDES, M. H. C.; MEDEIROS, A. C. Effect of tripanosomicide benznidazole (Rochagan®) on the biodistribution of sodium pertechnetate ($\text{Na}^{99\text{m}}\text{TcO}_4$) in Wistar rats. **Braz. Arch. Biol. Technol.**, 175-180, 2008.

BARREIRO, E.J.; FRAGA, C.A.M. Química Medicinal: As Bases Moleculares da Ação dos Fármacos, 1ª Ed. Art-Med Ltda, Porto Alegre, 2001.

BELEZA FILHO, R. F. G. P. Síntese, capacidade antioxidante e estudo comparativo entre fenilhidrazonas e chalconas como derivados do paracetamol. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas). Universidade Federal do Pará. Belém, 2014.

BEM, A. F. Avaliação da expressão do citocromo P4501A1 hepático e das defesas antioxidantes em ratos tratados com benzonidazol. Dissertação (Mestrado em Farmácia, Fármaco Medicamentos e Análises Clínicas). Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis, 2001.

BORGES, R. S.; CARNEIRO, A. S.; BARROS, T. G.; BARROS, C. A. L.; CHAVES NETO, A. M. J.; DA SILVA, A. B. F. Understanding the cytotoxicity or cytoprotective effects of biological and synthetic quinone derivatives by redox mechanism. **J. Mol. Model.**, 2540-2548, 2014.

BORGES, R. S.; OLIVEIRA, J. P.; MATOS, R. F.; CHAVES NETO, A. M. J.; CARNEIRO, A. S.; MONTEIRO, M. C. Involvement of electron and hydrogen transfers

through redox metabolism on activity and toxicity of the nimesulide. **J. Mol. Model.**, 165-170, 2015a.

BORGES, R. S.; NAGURNIAK, G. R.; QUEIROZ, L. M. D.; MAIA, C. S. F.; BARROS, C. A. L.; ORESTES, E.; DA SILVA, A. B. F. Structure and toxicity of clozapine and olanzapine on agranulocytosis. **Med. Chem. Res.**, 1-7, 2015b.

BORGES, R. S. Planejamento, síntese e avaliação antioxidante de inibidores fenólicos da PGES derivados da associação *p*-aminofenol e salicilatos. Tese (Doutorado em Ciências). Universidade Federal do Pará. Belém, 2007.

BRAGA, S. F. P.; MARTINS, L. C.; SILVA, E. B.; SALES JUNIOR, P. A.; MURTA, S. M. F.; ROMANHA, A. J.; SOH, W. T.; BRANDSTETTER, H.; FERREIRA, R. S.; OLIVEIRA, R. B. Synthesis and biological evaluation of potential inhibitors of the cysteine proteases cruzain and rhodesain designed by molecular simplification. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, 1-12, 2017.

BRAGA, S. F. P. Síntese de inibidores potenciais da tripanotona redutase: base para o desenvolvimento de novos fármacos para tratamento da Doença de Chagas e Leishmaniose. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas). Universidade Federal de Minas Gerais. Belo Horizonte, 2012.

BRENER, Z. *Trypanosoma cruzi*: morfologia e ciclo evolutivo. In: DIAS, J.C.P. & COURA, J.R. (eds) Clínica e terapêutica da doença de Chagas: uma abordagem prática para o clínico geral. Rio de Janeiro: Fiocruz, 25-31, 1997.

BRITTA, E. A.; SCARIOT, D. B.; FALZIROLLI, H.; SILVA, C. C.; UEDANAKAMURA, T.; DIAS FILHO, B. P.; BORSALI, R.; NAKAMURA, C. V. 4-Nitrobenzaldehyde thiosemicarbazone: a new compound derived from S-(-)-limonene that induces mitochondrial alterations in epimastigotes and trypomastigotes of *Trypanosoma cruzi*. **Parasitology**, 978-988, 2015.

CAMPOS, F. M. F. Caracterização do gene que codifica a enzima álcool desidrogenase (TcADH) e associação da sua baixa expressão com o fenótipo de resistência *in vitro* do *Trypanosoma cruzi* ao benzonidazol. Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde). Fundação Oswaldo Cruz – Instituto René Rachou. Belo Horizonte, 2007.

CARVALHO, E. S.; BRÍGIDA, S. A. S.; QUEIROZ, A. N.; SILVA, J. R.; SILVA, O. P. P.; BARROS, C. A. L.; BORGES, R. S. Edaravone toxicity can be related to redox properties of their oxidized derivatives. **Chemical Data Collections**, 1-12, 2017.

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. **Quim. Nova**, 428-438, 2003.

CARVALHO, S. A.; FEITOSA, L. O.; SOARES, M.; COSTA, T. E. M. M.; HENRIQUES, M. G.; SALOMÃO, K.; CASTRO, S. L.; KAISER, M.; BRUN, R.; WARDELL, J. L.; WARDELL, S. M. S. V.; TROSSINI, G. H. G.; ANDRICOPULO, A. D.; SILVA, E. F.; FRAGA, C. A. M. Design and synthesis of new (E)-cinnamic N-acylhydrazones as potent antitrypanosomal agents. **European Journal of Medicinal Chemistry**, 512-521, 2012.

CHELESKI, J.; FREITAS, R. F.; WIGGERS, H. J.; ROCHA, J. R.; ARAÚJO, A. P. U.; MONTANARI, C. A. Expression, purification and kinetic characterization of His-tagged glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase from *Trypanosoma cruzi*. *Protein Expression and Purification*, 190–196, 2011.

CHEMOFFICE, **Manual**. CambridgeSoft Corporation, 2005.

COA, J. C.; WILSON, C. L.; WILSON, C. G.; CARDA, M.; OSPINA, V.; MUÑOZ, J. A.; VÉLEZ, I. D.; ROBLEDO, S. M. Synthesis, leishmanicidal, trypanocidal and cytotoxic activity of quinoline-hydrazone hybrids. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 746-753, 2015.

COURA, J. R.; CASTRO, S. L. A Critical Review on Chagas Disease Chemotherapy. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz - RJ**, 3-24, 2002.

COURA, J. R.; PEREIRA, J. B. Chronic phase of Chagas disease: why should it be treated? A comprehensive review. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz - RJ**, 641-645, 2011.

CUNHA, L. C.; ALVES, L. D. S.; SANTANA, L. C. L. R.; NUNES, G. B. L.; ROLIM NETO, P. J. A própolis no combate a tripanossomatídeos de importância médica: uma perspectiva terapêutica para Doença de Chagas e Leishmaniose. **Revista de Patologia Tropical**, 105-124, 2011.

DIAS, L. C.; DESSOY, M. A.; SILVA, J. J. N.; THIEMANN, O. H.; OLIVA, G.; ANDRICOPULO, A. D. Quimioterapia da Doença de Chagas: estado da arte e perspectivas no desenvolvimento de novos fármacos. **Quim. Nova**, 2444-2457, 2009.

DUAN, Y. T.; WANG, Z. C.; SANG, Y. L.; TAO, X. X.; TERAIIYA, S. B.; WANG, P. F.; WEN, Q.; ZHOU, X. J.; DING, L.; YANG, Y. H.; ZHU, H. L. Design and synthesis of 2-styryl of 5-Nitroimidazole derivatives and antimicrobial activities as FabH inhibitors. **European Journal of Medicinal Chemistry**, 387-396, 2014.

ELSTNER, M.; FRAUENHEIM, T.; SUHAI, S. An approximate DFT method for QM/MM simulations of biological structures and processes. **Journal of Molecular Structure**, 29–41, 2003.

FAUNDEZ, M.; PINO, L.; LETELIER, P.; ORTIZ, C.; LÓPEZ, R.; SEGUEL, C.; FERREIRA, J.; PAVANI, M.; MORELLO, A.; MAYA, J. D. Buthionine Sulfoximine Increases the Toxicity of Nifurtimox and Benznidazole to *Trypanosoma cruzi*. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, 126–130, 2005.

FONSECA-BERZAL, C.; IBÁÑEZ-ESCRIBANO, A.; REVIRIEGO, F.; CUMELLA, J.; MORALES, P.; JAGEROVIC, N.; NOGAL-RUIZ, J. J.; ESCARIO, J. A.; SILVA, P. B.; SOEIRO, M. N. C.; GÓMEZ-BARRIO, A.; ARÁN, V. J. Antichagasic and trichomonacidal activity of 1-substituted 2-benzyl-5-nitroindazolin-3-ones and 3-alkoxy-2-benzyl-5-nitro-2H-indazoles. **European Journal of Medicinal Chemistry**, 295-310, 2016.

FRISCH, M. J.; TRUCKS, G. W.; SCHLEGEL, H. B.; SCUSERIA, G. E.; ROBB, M. A.; CHEESEMAN, J. R.; SCALMANI, G.; BARONE, V.; PETERSSON, G. A.; NAKATSUJI, H.; LI, X.; CARICATO, M.; MARENICH, A.; BLOINO, J.; JANESKO, B. G.; GOMPERS, R.; MENNUCCI, B.; HRATCHIAN, H. P.; ORTIZ, J. V.; IZMAYLOV, F.; SONNENBERG, J. L.; WILLIAMS-YOUNG, D.; DING, F.; LIPPARINI, F.; EGIDI, F.; GOINGS, J.; PENG, B.; PETRONE, A.; HENDERSON, T.; RANASINGHE, D.; ZAKRZEWSKI, V. G.; GAO, J.; REGA, N.; ZHENG, G.; LIANG, W.; HADA, M.; EHARA, M.; TOYOTA, K.; FUKUDA, R.; HASEGAWA, J.; ISHIDA, M.; NAKAJIMA, T.; HONDA, Y.; KITAO, O.; NAKAI, H.; VREVEN, T.; THROSSELL, K.; MONTGOMERY, J. A.; PERALTA JUNIOR, J. E.; OGLIANO, F.; BEARPARK, M.; HEYD, J. J.; BROTHERS, E.; KUDIN, K. N.; STAROVEROV, N.; KEITH, T.; KOBAYASHI, R.; NORMAND, J.; RAGHAVACHARI, K.; RENDELL, A.; BURANT, J. C.; IYENGAR, S. S.; TOMASI, J.; COSSI, M.; MILLAM, J. M.; KLENE, M.; ADAMO, C.; CAMMI, R.; OCHTERSKI, J. W.; MARTIN, R. L.; MOROKUMA, K.; FARKAS, O.; FORESMAN, J. B.; FOX, D. J. **Gaussian 09**, Gaussian, Inc., Wallingford, CT, 2013.

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

HYPERCHEM, release 8.0 professional, Hypercube, Inc. Gainesville, Florida, USA, 2007.

JENSEN, K. F.; BJÖRNBERG, O. Evolutionary and functional families of dihydroorotate dehydrogenases. **Paths To Pyrimidines**, 20–28, 1998.

JONES, J. B.; STADTMAN, T. C. Reconstitution of a formate-NADP⁺ oxidoreductase from formate dehydrogenase and a 5-Deazaflavin-linked NADP⁺ reductase isolated from *Methanococcus vannielii*. **The Journal of Biological Chemistry**, 1049-1053, 1980.

JUNG, H.; BAE, S.; JANG, H. L.; JOO, J. M. C–H arylation of nitroimidazoles and nitropyrazoles guided by the electronic effect of the nitro group. **Bull. Korean Chem. Soc.**, 3009-3014, 2014.

KAISER, M.; MAES, L.; TADOORI, L. P.; SPANGENBERG, T.; IOSET, J. R. Repurposing of the open access malaria box for kinetoplastid diseases identifies novel active scaffolds against trypanosomatids. **Journal of Biomolecular Screening**, 1–12, 2015.

LEITE, N. F.; SOUZA, C. E. S.; ALBUQUERQUE, R. S.; BRITO, D. I. V.; LAVOR, A. K. L. S.; ALENCAR, L. B. B.; TINTINO, S. R.; FERREIRA, J. V. A.; FIGUEREDO, F. G.; LIMA, L. F.; CUNHA, F. A. B.; PINHO, A. I.; COUTINHO, H. D. M. Atividade

antiparasitária *in vitro* e citotóxica de cariofileno e eugenol contra *Trypanosoma cruzi* e *Leishmania brasiliensis*. **Revista Cubana de Plantas Medicinales**, 522- 528, 2013.

MAYA, J. D.; BOLLO, S.; VERGARA, L. J. N.; SQUELLA, J. A.; REPETTO, Y.; MORELLO, A.; PÉRIÉ, J.; CHAUVIÈRE, G. *Trypanosoma cruzi*: effect and mode of action of nitroimidazole and nitrofurán derivatives. **Biochemical Pharmacology**, 999–1006, 2003.

MAYA, J. D.; CASSELS, B. K.; VÁSQUEZ, P. I.; 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. **Comparative Biochemistry and Physiology**, 601–620, 2007.

MEIRA, C. S. Investigação da atividade anti-*Trypanosoma cruzi* de esteroides isolados de plantas e derivados sintéticos. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia). Universidade Estadual de Feira de Santana. Feira de Santana, 2014.

MIRZAEI, J.; AMINI, M.; PIRELAHI, H.; SHAFIEE, A. Convenient syntheses of 5-[(2-methyl-5-nitro-1*H*-imidazol-1-yl)methyl]-1,3,4-oxadiazole-2(3*H*)thione and N-substituted 2-amino-5-[(2-methyl-5-nitro-1*H*-imidazol-1-yl)methyl]-1,3,4-thiadiazoles. **J. Heterocyclic Chem.**, 921-924, 2008.

MORENO, S. N. J.; DOCAMPO, R. Mechanism of toxicity of nitro compounds used in the chemotherapy of trichomoniasis. **Environmental Health Perspectives**, 199-208, 1985.

NELSON, D. L.; COX, M. M. Princípios de bioquímica de Lehninger. Artmed: Porto Alegre, 2014.

NGUYEN, H. M.; SINGH, V.; PRESSLY, B.; JENKINS, D. P.; WULFF, H.; YAROVY, V. Y. Structural insights into the atomistic mechanisms of action of small molecule inhibitors targeting the KCa3.1 channel pore. **Molecular Pharmacology**, 1-48, 2017.

OLENDER, D.; ZWAWIAK, J.; ZAPRUTKO, L. Multidirectional efficacy of biologically active nitro compounds included in medicines. **Pharmaceuticals**, 1-29, 2018.

PAPADOPOULOU, M. V.; TRUNZ, B. B.; BLOOMER, W. D.; MCKENZIE, C.; WILKINSON, S. R.; PRASITTICHA, C.; BRUN, R.; KAISER, M.; TORREELE, E. Novel 3-nitro-1*H*-1,2,4-triazole-based aliphatic and aromatic amines as anti-chagasic agents. **J. Med. Chem.**, 8214–8223, 2011.

PARR, R. G.; YANG, W. Density Functional Theory of Atoms and Molecules. Oxford University Press: New York, 1989.

PATANI, G. A.; LAVOIE, E. J. Bioisosterism: A rational approach in drug design **Chem. Rev.**, 3147-3176, 1996.

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

PEREIRA, A. M. Estudo *Ab-initio* e DFT das nitrosaminas. Dissertação (Mestrado em Química). Universidade Federal da Paraíba. João Pessoa, 2008.

PINHEIRO, M. P. Planejamento de inibidores das enzimas diidroorotato desidrogenase de *Trypanosoma cruzi* e *Leishmania major*. Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas). Universidade de São Paulo. Ribeirão Preto, 2012.

PINTO, A. Y. N.; VALENTE, S. A.; VALENTE, V. C.; FERREIRA JUNIOR, A. G.; COURA, J. R. Fase aguda da doença de Chagas na Amazônia brasileira. Estudo de 233 casos do Pará, Amapá e Maranhão observados entre 1988 e 2005. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, 602-614, 41, 2008.

PONTES, V. M. O.; SOUZA JÚNIOR, A. S.; CRUZ, F. M. T.; COELHO, H. L. L.; DIAS, A. T. N.; COELHO, I. C. B.; OLIVEIRA, M. F. Reações adversas em pacientes com doença de Chagas tratados com benzonidazol, no Estado do Ceará. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, 182-187, 2010.

RODRIGUES, J. H. S.; NAKAMURA, T. U.; CORRÊA, A. G.; SANGI, D. P.; NAKAMURA, C. V. A Quinoxaline Derivative as a Potent Chemotherapeutic agent, alone or in combination with benznidazole, against *Trypanosoma cruzi*. **Plos One**, 1-12, 2014.

ROSA, R.; MORAES, M. H.; ZIMMERMANN, L. A.; SCHENKEL, E. P.; STEINDEL, M.; BERNARDES, L. S. C. Design and synthesis of a new series of 3,5-disubstituted isoxazoles active against *Trypanosoma cruzi* and *Leishmania amazonenses*. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 25-35, 2017.

SCHÖNHERR, H.; CERNAK, T. Profound methyl effects in drug discovery and a call for new C-H methylation reactions. **Angew. Chem. Int. Ed.**, 2-14, 2013.

SCHWINGENSCHLOGL, U.; SCHUSTER, C. Doping and defects in YBa₂Cu₃O₇: Results from hybrid density functional theory. **Applied Physics Letters**, 1-4, 2012.

SILVA, B. H. S.; MENDES, A. P. S.; VALE, J. K. L.; MAIA, C. S. F.; FONTES JÚNIOR, E. A.; SILVA, M. V. S.; MONTEIRO, M. C.; BORGES, R. S. An electronic study for metronidazole metabolism. **Journal of Computational and Theoretical Nanoscience**, 1274-1277, 2011.

SOUZA JÚNIOR, A. S. Avaliação de problemas relacionados a medicamentos e qualidade de vida em pacientes chagásicos usuários de benzonidazol. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas). Universidade Federal do Ceará. Fortaleza, 2008.

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

THIEL, W. Semiempirical quantum-chemical methods in computational chemistry. In: C. D. et al. (Ed.); Theory and Applications of Computational Chemistry: The First Forty Years, 559–580, 2005.

UPCROFT, J. A.; DUNN, L. A.; WRIGHT, J. M.; BENAKLI, K.; UPCROFT, P.; VANELLE, P. 5-Nitroimidazole Drugs effective against metronidazole-resistant *Trichomonas vaginalis* and *Giardia duodenalis*. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, 344–347, 2006.

URBINA, J. A. Specific chemotherapy of Chagas disease: Relevance, current limitations and new approaches. **Acta Tropica**, 55–68, 115, 2010.

VALE, J. K. L.; LIMA, A. B.; PINHEIRO, B. G.; CARDOSO, A. S.; SILVA, J. K. R.; MAIA, J. G. S.; SOUSA, G. E. P.; SILVA, A. B. F.; SOUSA, P. J. C.; BORGES, R. S. Evaluation and theoretical study on the anti-inflammatory mechanism of 1-nitro-2-phenylethane. **Planta Med.**, 628-633, 2013.

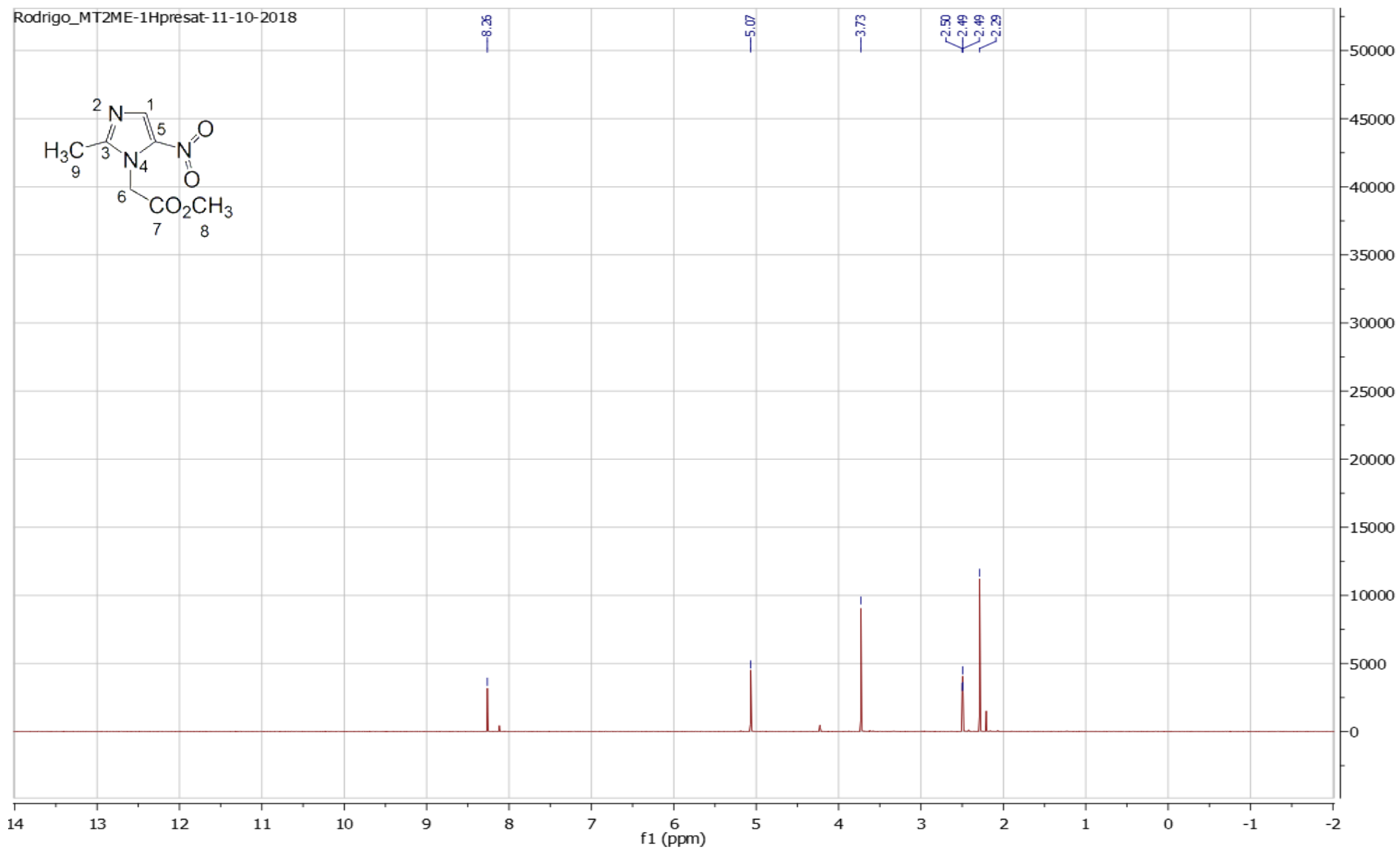
VENTURINI, C. D.; ENGROFF, P.; ELY, L. S.; TASCA, T.; DE CARLI, G. A. Interações entre antiparasitários e alimentos. **Rev. Ciênc. Farm. Básica Apl.**, 17-23, 2014.

WINKEL, E. G.; WINKELHOFF, A. J. V.; TIMMERMAN, M. F.; VELDEN, U. V. D.; WEIJDEN, G. A. V. D. Amoxicillin plus metronidazole in the treatment of adult periodontitis patients. **J. Clin. Periodontol.**, 296–305, 2001.

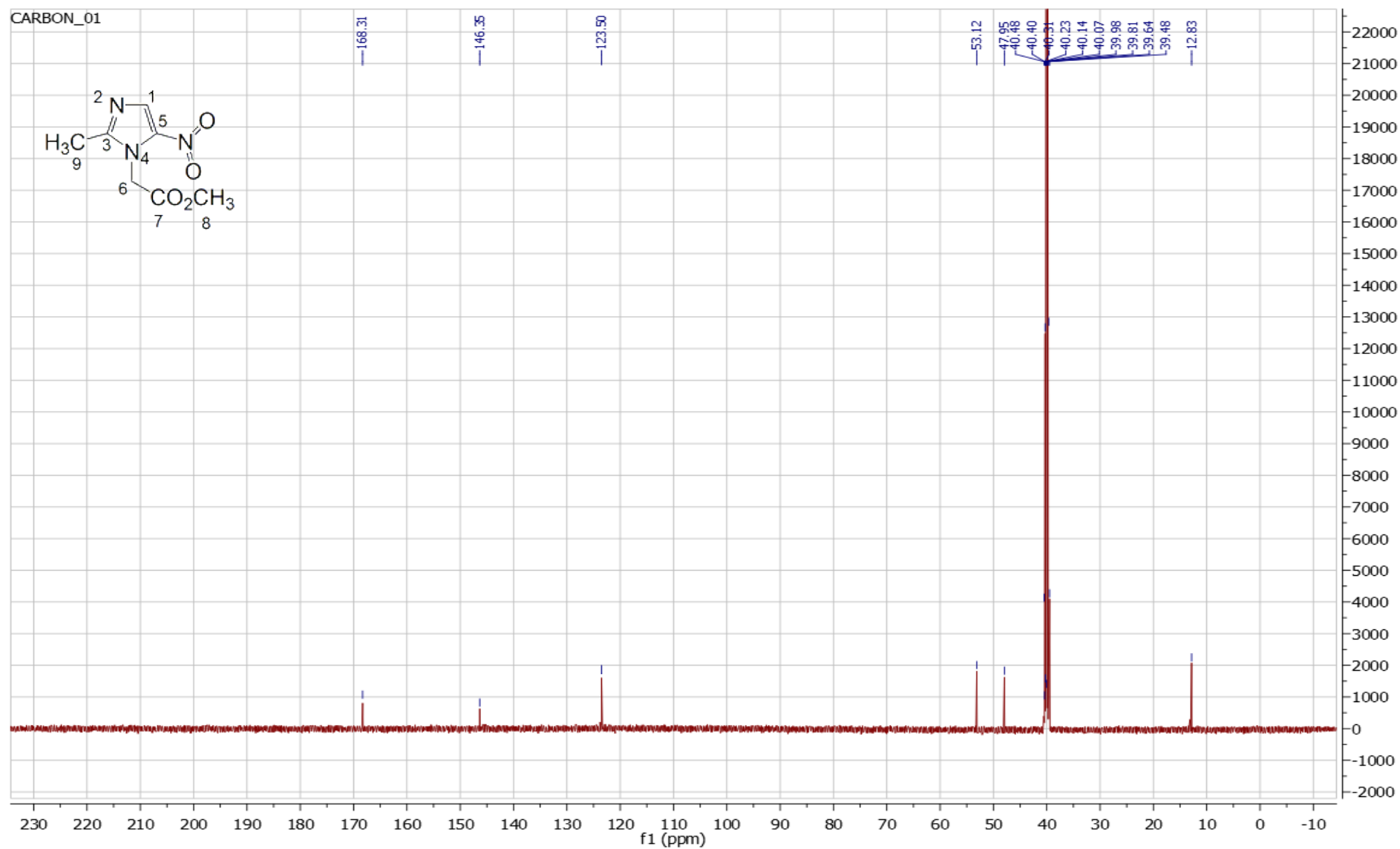
YOSHINO, R.; YASUO, N.; INAOKA, D. K.; HAGIWARA, Y.; OHNO, K.; ORITA, M.; INOUE, M.; SHIBA, T.; HARADA, S.; HONMA, T.; BALOGUN, E. O.; ROCHA, J. R.; MONTANARI, C. A.; KITA, K.; SEKIJIMA, M. Pharmacophore modeling for anti-chagas drug design using the fragment molecular orbital method. **Plos One**, 1-15, 2015.

<http://portalsaude.saude.gov.br/index.php/o-ministerio/principal/secretarias/svs/doenca-de-chagas>. Acesso em 25 de Jun. 2018.

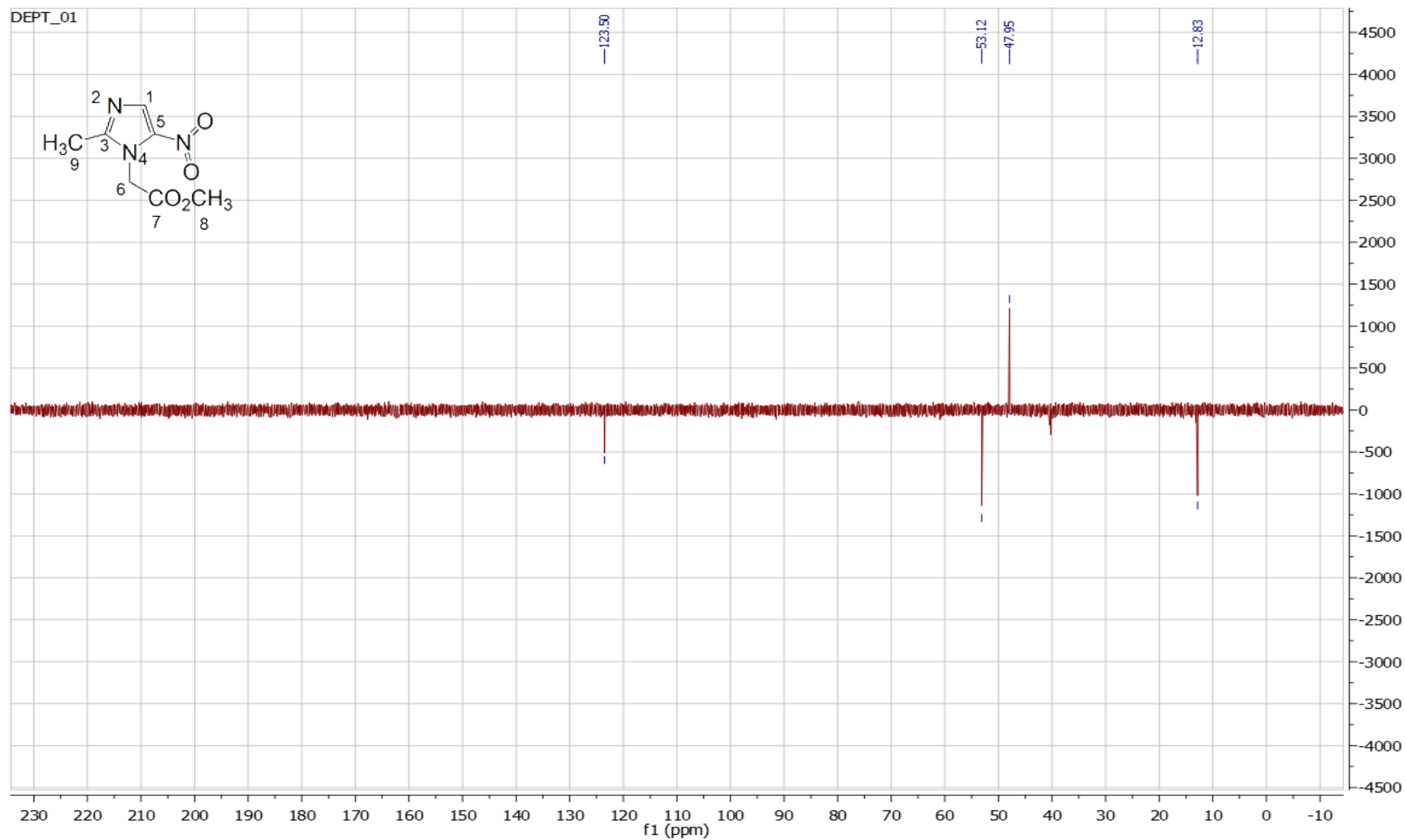
ANEXO



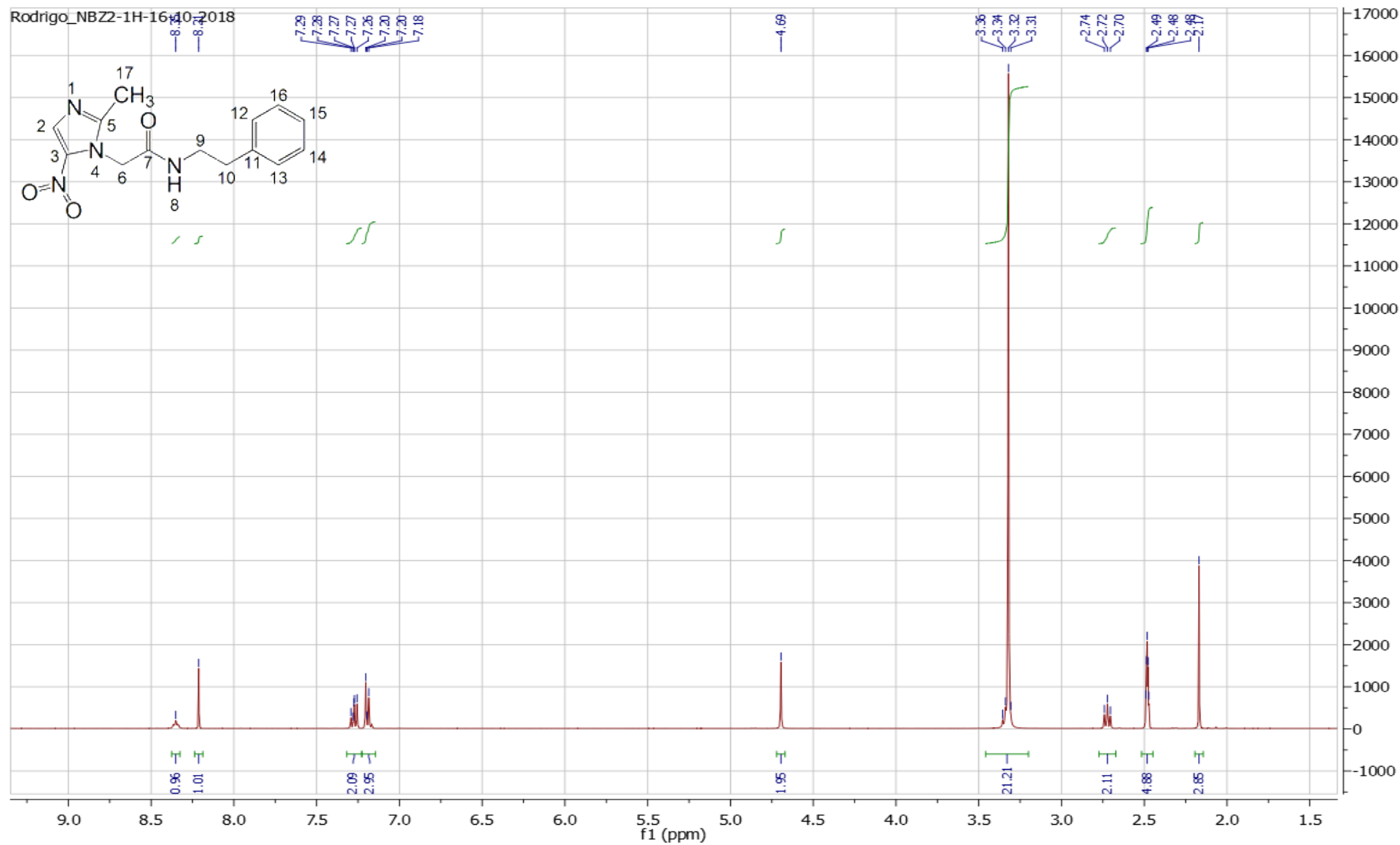
Espectro de RMN ^1H (500 MHz; acetona- D_6) do intermediário MT2ME.

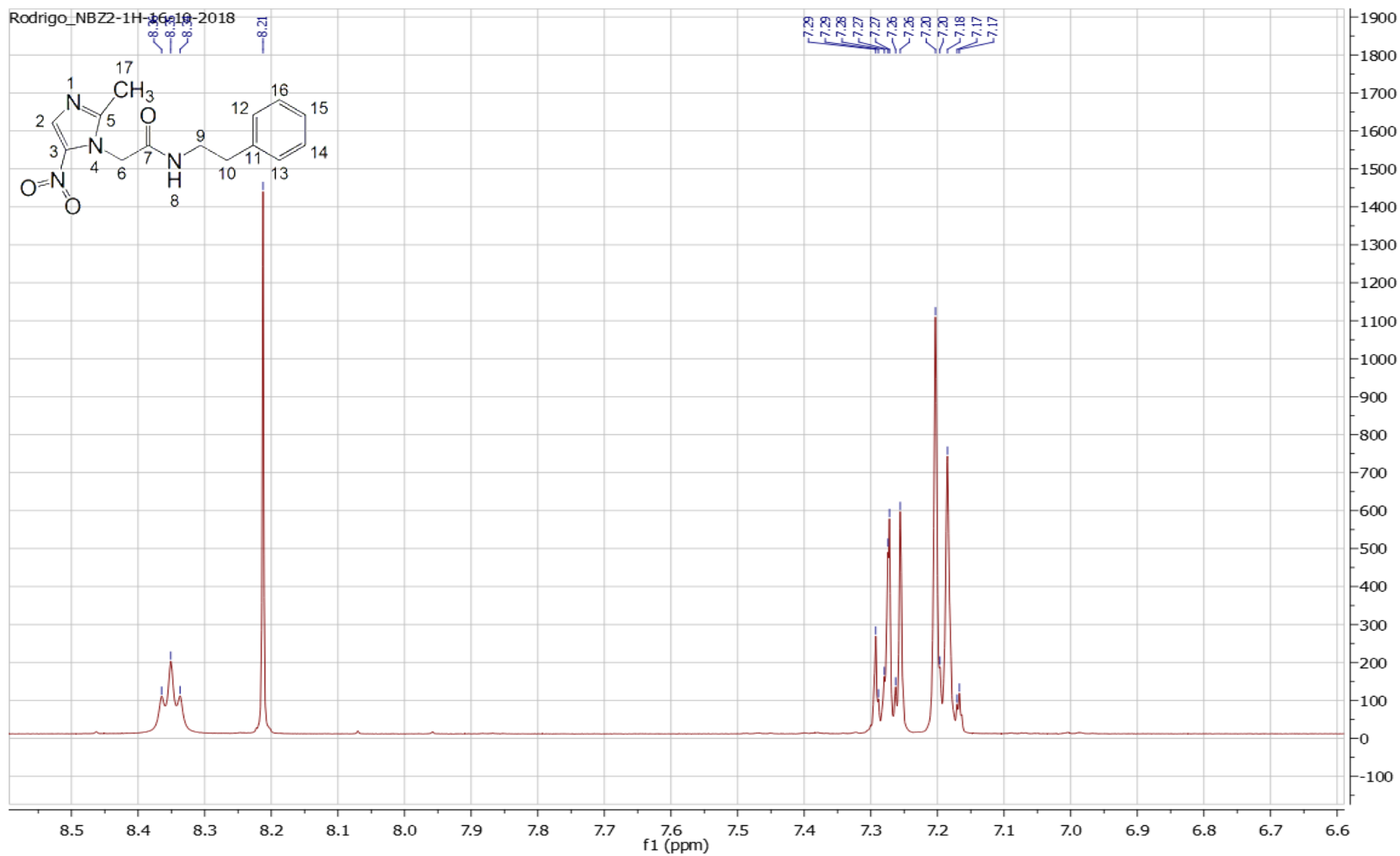


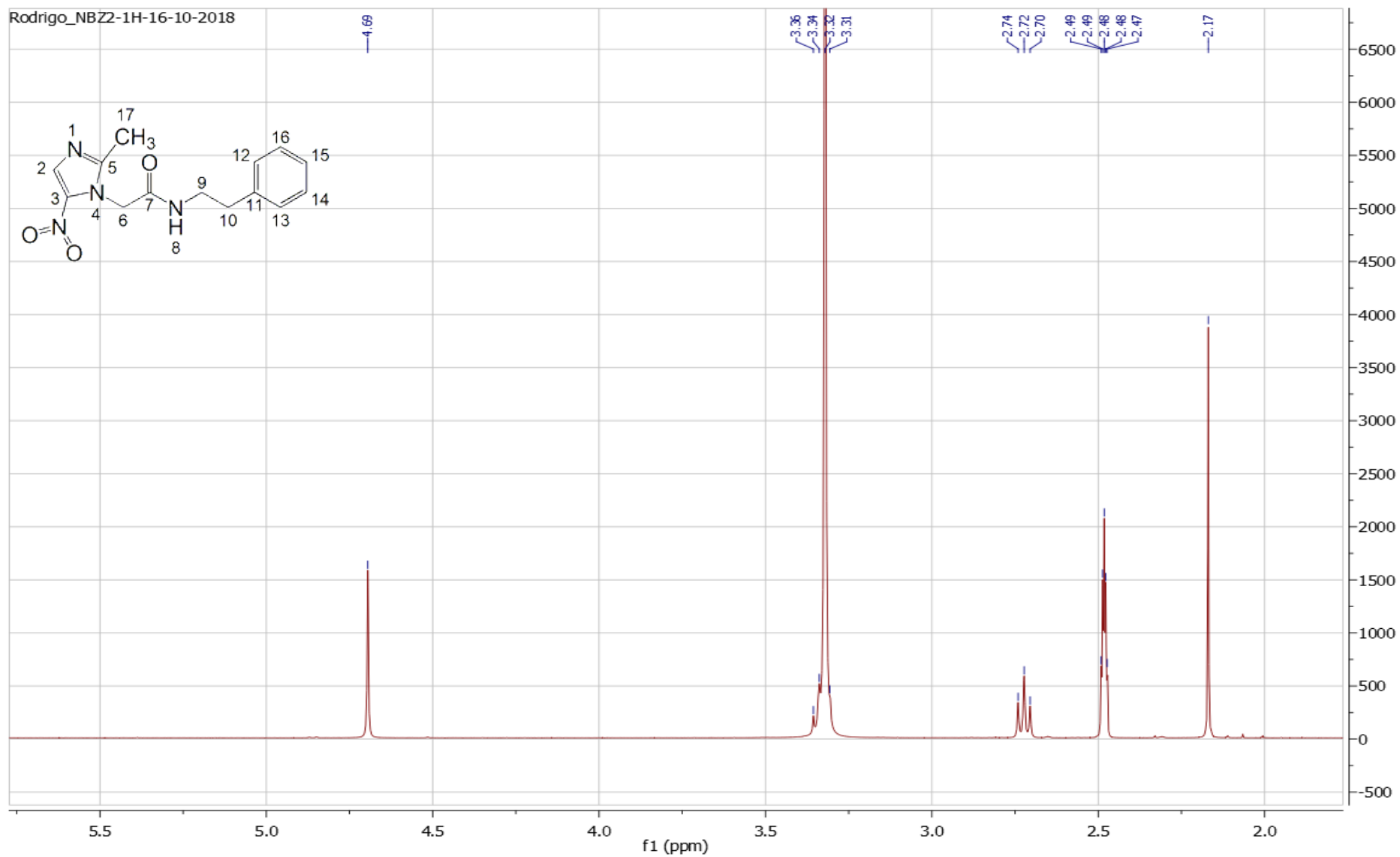
Espectro de RMN ^{13}C (125 MHz; acetona-D6) do intermediário MT2ME.



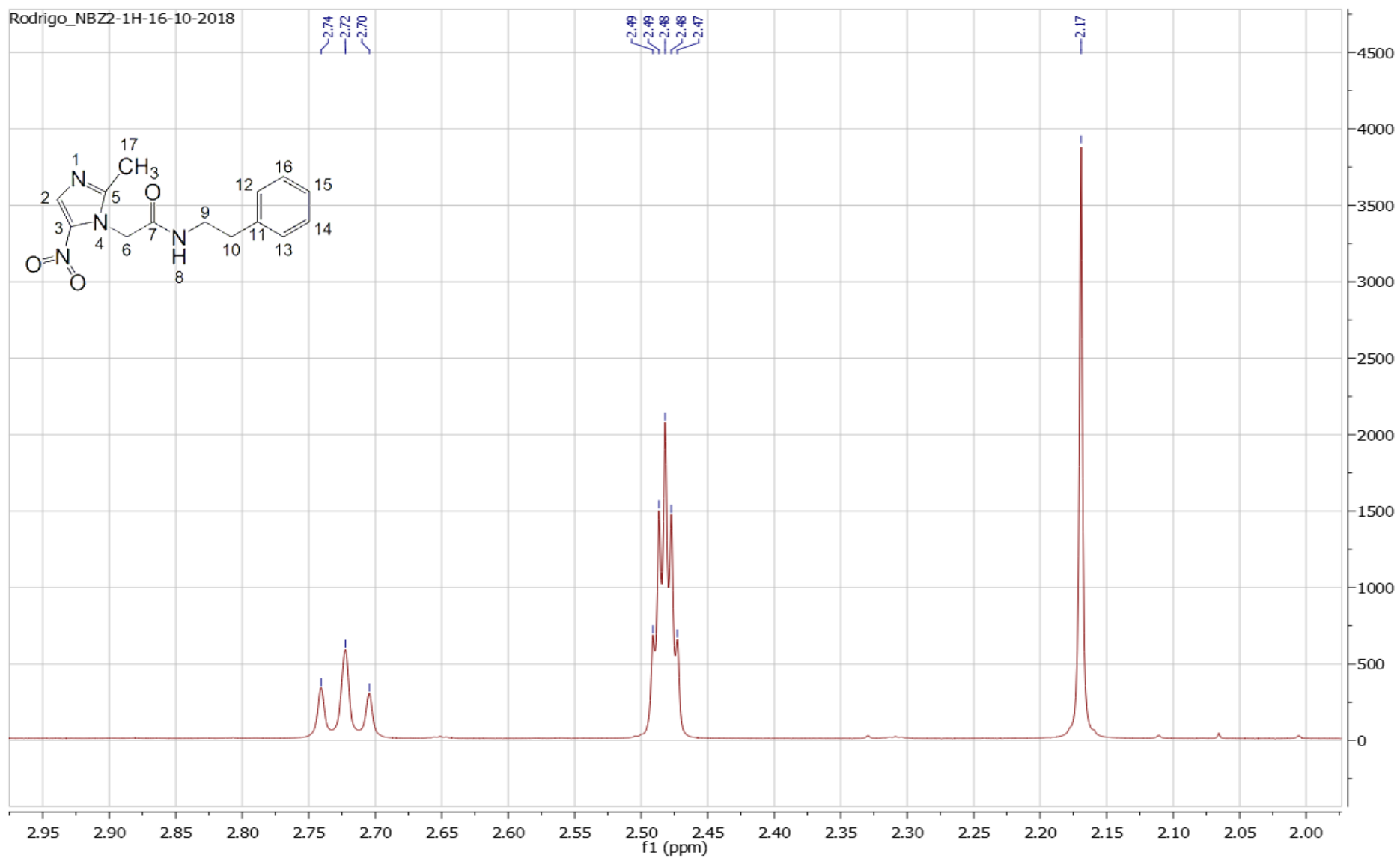
Espectro DEPT (acetona-D6) do intermediário MT2ME.

Espectro de RMN ^1H (500 MHz; acetona-D6) do derivado NBZ2.

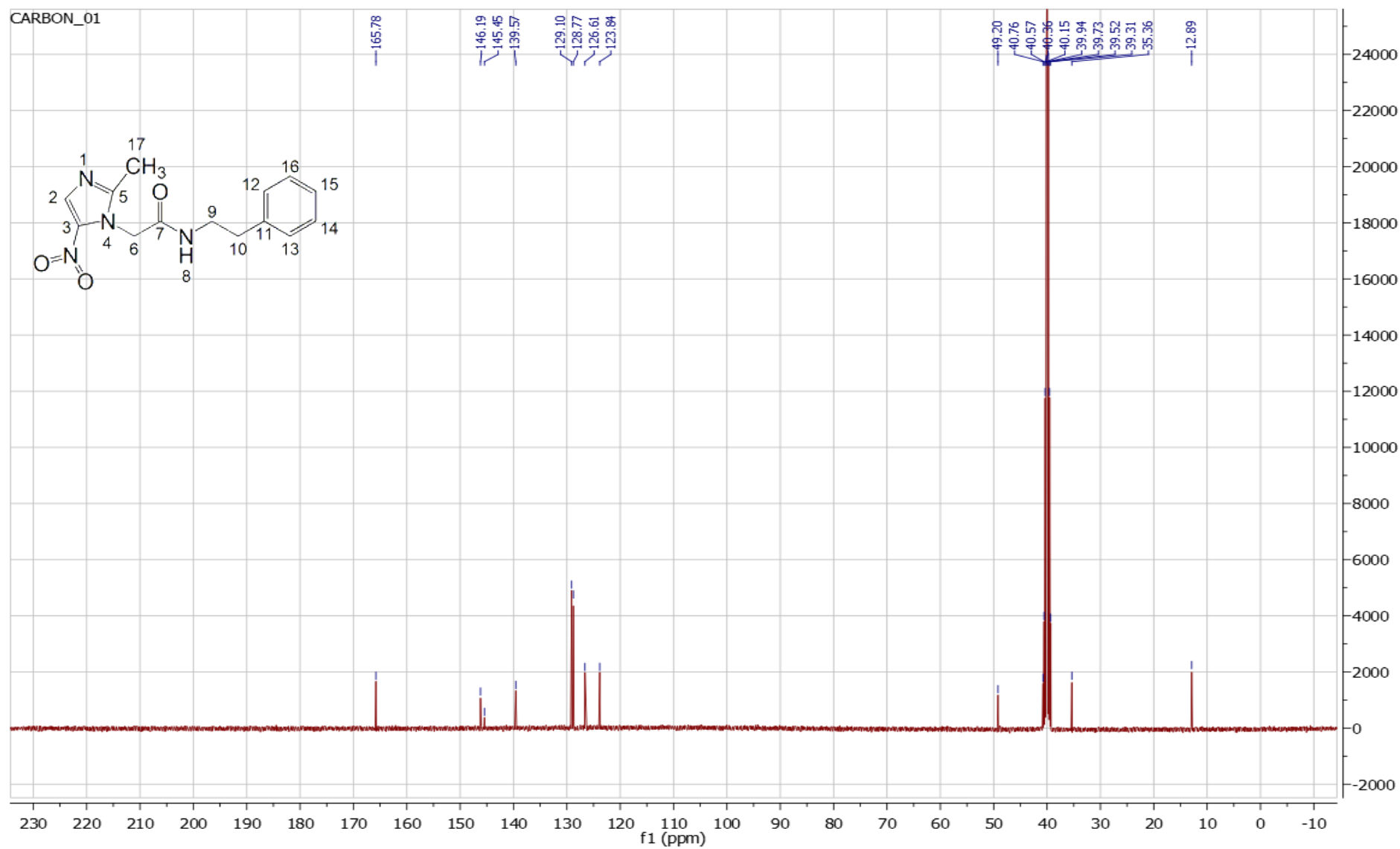




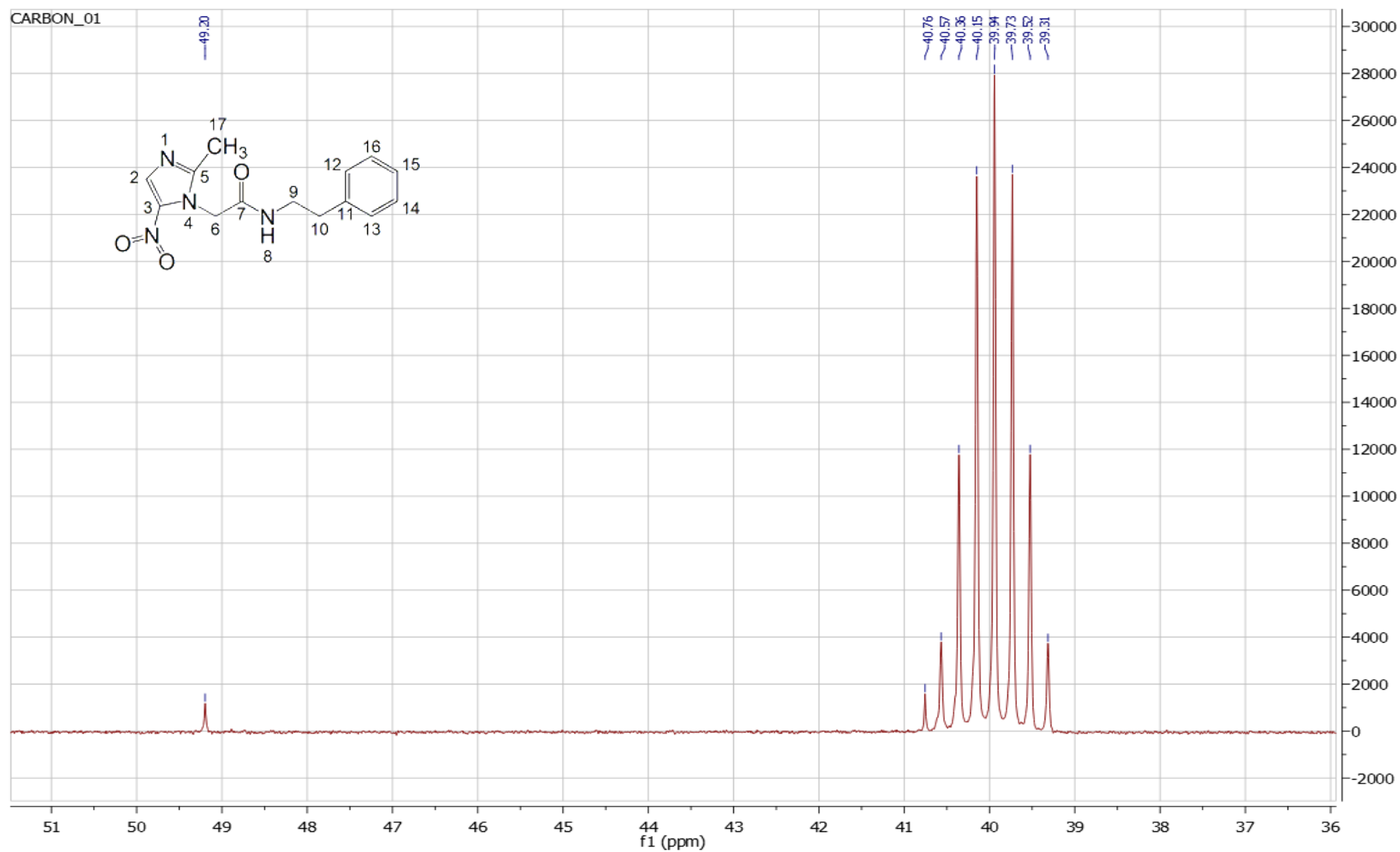
Espectro de RMN ¹H (500 MHz; acetona-D₆) do derivado NBZ2 (destaque para a cadeia alifática).



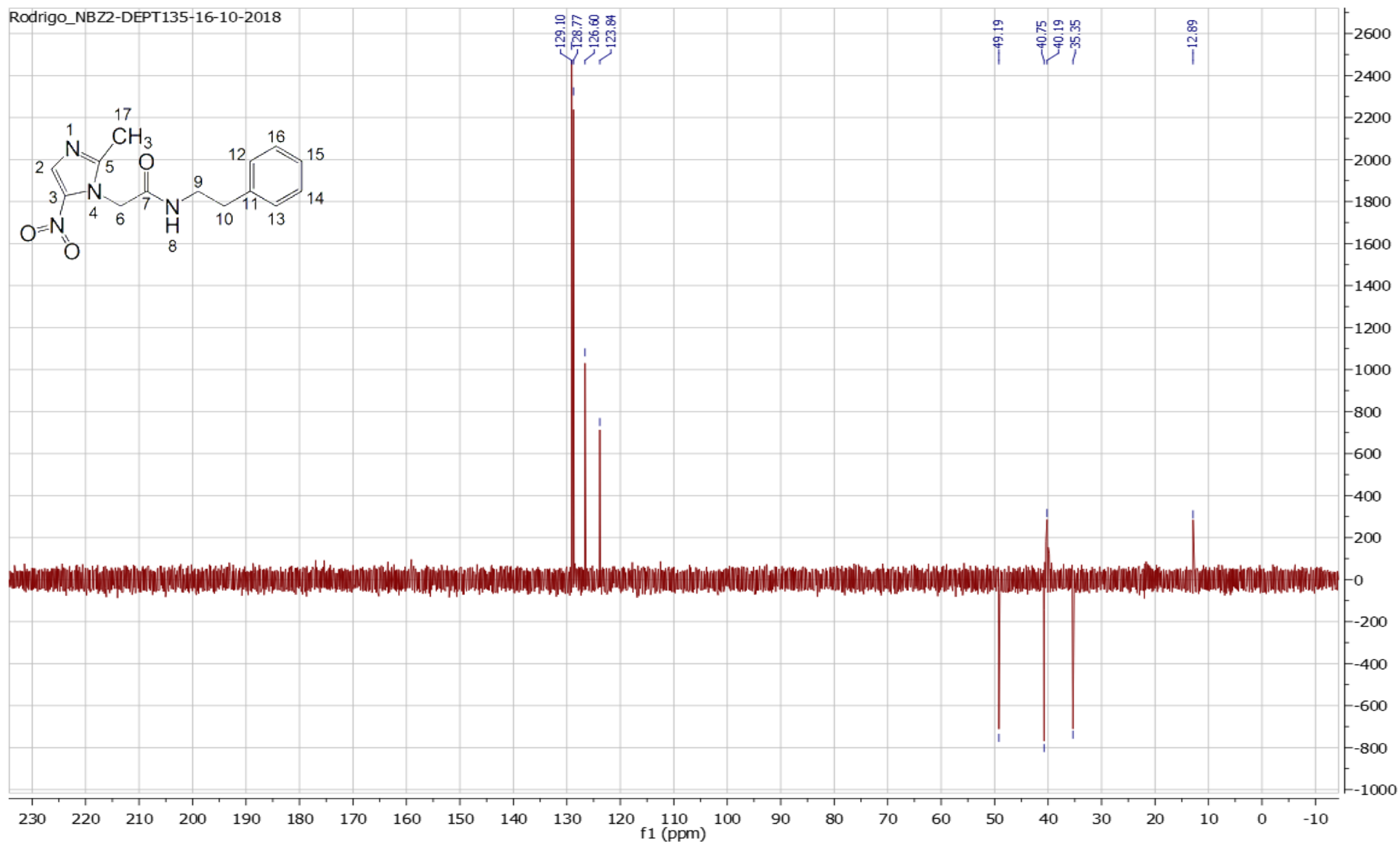
Espectro de RMN ^1H (500 MHz; acetona- D_6) do derivado NBZ2 (destaque para a cadeia alifática).



Espectro de RMN ^{13}C (125 MHz; acetona-D6) do derivado NBZ2.



Espectro de RMN ¹³C (125 MHz; acetona-D₆) do derivado NBZ2 (destaque para os grupos metila da cadeia alifática).



Espectro DEPT (acetona-D6) do derivado NBZ2