



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

ROBERTO BARBOSA DE MORAIS

**Planejamento, Síntese, Avaliação das Propriedades Teóricas de *orto*-
Regioisômeros Substituídos do Paracetamol**

BELÉM – PARÁ
2018

ROBERTO BARBOSA DE MORAIS

**Planejamento, Síntese, Avaliação das Propriedades Teóricas de *orto-*
Regioisômeros Substituídos do Paracetamol**

Defesa de 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 título de Mestre em Química Medicinal e Modelagem Molecular.

Orientador: Rosivaldo dos Santos Borges

Data da Defesa ____/____/____.

BANCA EXAMINADORA:

Rosivaldo dos Santos Borges – UFPA/PPGQMMM – Orientador

Carlos Augusto Lima Barros – UEFA/PPGQMMM Membro Interno

Dielly Catrina Favacho Lopes – ICS/UFPA Membro Externo

Anderson Manoel Herculano – UFPA/PPGQMMM Membro (Suplente)

BELÉM – PARÁ
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)**

D278p de Moraes, Roberto Barbosa.
Planejamento, Síntese, Avaliação das Propriedades Teóricas de orto-Regioisômeros
Substituídos do Paracetamol / Roberto Barbosa de Moraes, . — 2018.
60 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. Toxicidade. 2. Metabolismo. 3. Modelagem molecular. 4. Modificação molecular. I. Título.

CDD 615.19

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho a todos que, diretamente ou indiretamente estiveram envolvidos neste processo, em especial minha Mãe, Maria das Graças, e ao meu Pai, Raimundo, que sempre fizeram o possível e o impossível, e a todos os meus irmãos pelo apoio que foi de vital importância para a conclusão do mesmo.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus pela minha vida, e por até aqui ter me sustentado de pé, e por se fazer presente em todos os momentos da minha caminhada, e por colocar boas pessoas e oportunidades na minha vida, e por me proteger e me dar forças pra vencer todos os obstáculos.

Aos meus pais, Maria das Graças Morais e Raimundo Barbosa de Morais, pelo amor incondicional, pelos ensinamentos para a vida, e principalmente pelos sacrifícios feitos pra que eu chegasse até aqui.

As minhas irmãs, Francisca, Maria, Geane, Nazaré, que sempre me apoiaram diretamente e os demais irmãos e familiares que apoiaram indiretamente.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Rosivaldo Borges, por me acolher em seu laboratório, pela ótima orientação, pelos conhecimentos repassados, pelos sábios conselhos e sobre tudo pela paciência.

Aos meus pastores, pelo apoio incondicional, pelos sábios conselhos, por muitas vezes acalmar meu coração com palavras de consolo.

Aos amigos e colegas do laboratório, de forma especial, Sayuri Ota, Fernanda Menezes, Ivanete Palheta e Paulo Panarra, pelas resenhas, pelas risadas, por todo aprendizado e troca de experiência.

Ao núcleo de estudos e seleção de moléculas bioativas (NESBio), pela infraestrutura cedida para execução deste trabalho.

A UFPA, e ao programa de pós-graduação em química medicinal modelagem molecular (PPGQMMM).

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pelo apoio financeiro.

Aos membros da banca.

Meu Muito Obrigado!

EPIGRAFE

Não está na natureza das coisas qualquer homem fazer uma descoberta súbita e violenta, a ciência vai passo a passo, e cada homem depende do trabalho de seus antecessores.

(Ernest Rutherford)

RESUMO

O paracetamol é um analgésico e antitérmico clinicamente comprovado, que promove analgesia pela elevação do limiar da dor e antipirese através de ação no centro hipotalâmico que regula a temperatura. Atualmente, o paracetamol é um dos medicamentos que está disponível em todos os países do mundo e pode ser adquirido sem prescrição médica. Além disso, é considerado um dos fármacos mais utilizado no mundo, pois, é de baixo custo e de fácil acesso, e pode ser usado a partir do nascimento a idade adulta. Tal como os anti-inflamatórios não esteroides (AINEs) o paracetamol é capaz de inibir a síntese de prostaglandinas a partir do ácido araquidônico sob condições específicas por inibição da ciclooxigenase (COX). Mesmo sendo considerado seguro em doses terapêuticas, o paracetamol tem uma toxicidade atribuída à um de seus intermediários metabólico chamado *N*-acetil-*p* imina-benzoquinona (NAPQI), produzido através de enzimas presentes no citocromo P450 (CYP2E1). Dessa forma o objetivo deste presente trabalho é planejar, sintetizar e avaliar possíveis atividades antinociceptiva e antipirética de análogos do paracetamol, ortacetamol e seus derivados visando obter um derivado menos tóxico. Os cálculos de propriedades eletrônicas tais como orbital molecular ocupado de maior energia (HOMO), orbital molecular desocupado de menor energia (LUMO), potencial de ionização (PI), energia de dissociação da ligação fenólica (EDL_{OH}) e densidades de spin, foram realizados usando os pacotes Gaussview e Gaussian 2009. Os resultados dos valores de EDL_{OH} e os respectivos valores de energia de dissociação da ligação amídica (EDL_{NH}), entre outros parâmetros eletrônicos observados mostraram que a mudança da hidroxila para a posição *orto* aumenta a estabilidade da molécula possivelmente por uma quelação definida por uma ligação de hidrogênio da amida com o radical fenoxil. Diante desses resultados é possível que os compostos de menores energia de EDL_{NH} possa ser menos tóxico já que pode dificultar a ação da CYP na oxidação para formar intermediários tóxicos. Um derivado clorado foi proposto e sintetizado e está em fase de avaliação biológica. O ortacetamol teve ação antioxidante mais potente que o paracetamol e suas propriedades experimentais estão de acordo com os valores teóricos. Concluimos então que, o ortcetamol pode ser um potencial candidato bioativo mais seguro que o paracetamol.

Palavras-chave: Toxicidade, metabolismo, modelagem molecular, modificação molecular.

ABSTRACT

Paracetamol is a clinically proven analgesic and antipyretic, which promotes analgesia by elevating the pain threshold and antipyretic through action in the hypothalamic center that regulates the temperature. Currently paracetamol is one of the medicines that is available in all the countries of the world in places related to health and can be acquired without prescription. Considered one of the most widely used drugs in the world as it is cheap and easy to access, it can also be used from birth to the elderly. Like non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) paracetamol is able to inhibit the synthesis of prostaglandins from arachidonic acid under specific conditions by inhibiting cyclooxygenase (COX). Although it is considered safe at therapeutic doses, Paracetamol has a toxicity attributed to one of its metabolic intermediates called N-acetyl-p-imine-benzoquinone (NAPQI), produced through enzymes present in cytochrome P450 (CYP2E1). Thus, the objective of this present work is to plan, synthesize and evaluate possible antinociceptive and antipyretic activities of paracetamol analogues, orthacetamol and its derivatives in order to obtain a less toxic derivative. The calculations of electronic properties such as higher energy occupied molecular orbital (HOMO), lower energy unoccupied molecular orbital (LUMO), ionization potential (PI), phenolic bond dissociation energy (BDE_{OH}) and spin densities were performed using the Gaussview and Gaussian 2009 packages. The values of the average values of BDE_{NH} , among others, are those that are observed with the quality of a heating cycle for the high speed with the possibility of a chelation defined by a hydrogen bond of the amide with the phenoxy radical. Given the results it is possible that BDE_{NH} energy compounds may be less potent than hindering the action of CYP on oxidation to form toxic intermediates. A proposed chlorinated derivative was proposed and synthesized. It is in biological evaluation phase. Orthacetamol was more potent antioxidant than paracetamol. Experimental results are in agreement with theoretical values. We conclude that orthacetamol may be a potentially safer bioactive candidate than paracetamol.

Keywords: Toxicity, Metabolism, Molecular modeling, Molecular modification.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	13
2. OBJETIVOS	15
2.1 OBJETIVO GERAL	15
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	15
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	16
3.1 PARACETAMOL	16
3.2 FARMACOCINÉTICA E FARMACODINÂMICA DO PARACETAMOL	17
3.3 TOXICIDADE DO PARACETAMOL	19
3.4 MECANISMO DE AÇÃO DO PARACETAMOL	21
3.5 MODELAGEM MOLECULAR DE FÁRMACOS	23
3.6 MODIFICAÇÃO MOLECULAR	24
3.7 DERIVADOS DO PARACETAMOL.....	24
3.7.1. Derivados Homólogos do Paracetamol Monometilados e Dimetilados.....	25
3.7.2. Derivados da Associação do Paracetamol e Salicilatos	27
3.7.3. Derivados Regioisômeros.....	28
4. JUSTIFICATIVA	29
5. METODOLOGIA.....	30
5.1 PLANEJAMENTO	30
5.2 AVALIAÇÃO ANTIOXIDANTE.....	32
6. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	32
6.1 MECANISMO REDOX DE TOXICIDADE	32
6.2 MECANISMO DE TOXICIDADE POR DERIVADOS HIDROXILADOS	34
6.3 PLANEJAMENTO DE DERIVADOS POR BLOQUEIO DO METABOLISMO ...	40
6.4 SÍNTESE DE DERIVADOS DO ORTACETAMOL	46
6.5 AVALIAÇÃO ANTIOXIDANTE.....	47
7. CONCLUSÃO	50
REFERÊNCIAS.....	51
ANEXOS	57

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Paracetamol e seu análogo regioisomero ortacetamol.....	14
Figura 2: Fármacos precursores do paracetamol.....	16
Figura 3: Metabolismo do paracetamol (PAR), difosfato de uridina galactose (UDP-GA), glutationa transferase (GSH), N-acetil-p imina-benzoquinona (NAPQI) citocromo p450 (CP45), adaptado (Shinoda, et al 2007).....	18
Figura 4: Rota metabólica do NAPQI, metabólito tóxico do Paracetamol e p-amiofenol.....	19
Figura 5: Glutationa neutraliza o metabólito toxico.....	20
Figura 6: Mecanismo de ação do paracetamol inibindo a síntese de prostaglandina.....	21
Figura 7: Metabólito da conjugação do p-aminofenol e ácido araquidônico.....	22
Figura 8: Derivados monometilados do paracetamol.....	25
Figura 9: Derivados dimetilados do paracetamol.....	26
Figura 10: Derivados de salicilatos a partir da associação com paracetamol.....	27
Figura 11: Estrutura química do ortobenzamol e ortacetamol regioizomero do paracetamol..	28
Figura 12: Paracetamol e seus derivados regioisômeros.....	30
Figura 13: Energias de dissociação da ligação fenólica e amídica do paracetamol e ortacetamol.....	33
Figura 14: Densidade de spin do cátion radical (CR) e semiquinona (SQ) para o paracetamol.	35
Figura 15: Densidade de spin do cátion radical (CR) e semiquinona (SQ) para o ortacetamol.	36
Figura 16: Contribuição de HOMO para o paracetamol e ortacetamol.....	36
Figura 17: Contribuição de LUMO para o paracetamol e ortacetamol.....	37
Figura 18: Reações de hidroxilação do paracetamol.....	38
Figura 19: Reações de hidroxilação do ortacetamol.....	38
Figura 20: Derivados do ortacetamol propostos para o estudo teórico.....	40
Figura 21: Geometria molecular otimizadas.....	43
Figura 22: MEPs mapa de potencial eletrostáticos.....	44
Figura 23: Síntese dos derivados do ortacetamol.....	46
Figura 24: VPD comparativo entre paracetamol e ortacetamol.....	47
Figura 25: VPD comparativo entre paracetamol e ortacetamol.....	48
Figura 26: VPD para o paracetamol. Varredura para potenciais mais positivos.....	59

LISTA DE TABELA

Tabela 1: Propriedades teóricas dos derivados hidroxilados do paracetamol e ortacetamol...	39
Tabela 2: Propriedades teóricas dos derivados do ortacetamol 5-substituídos.....	41
Tabela3: Propriedades teóricas de solubilidade para derivados do ortacetamol 5-substituídos.....	45
Tabela 4. Propriedades físicas dos derivados do ortacetamol 5-substituídos.....	46

LISTA DE ABREVIATURAS

5-HT	Receptor serotoninérgicos 5-hidroxitriptamina
AA	Ácido Araquidônico
ADME	Absorção distribuição metabolização e excreção
AINEs	anti-inflamatórios não esteroides
ClogP	Coefficiente do logaritmo de partição
COX	Ciclooxigenase
CYP	Citocromo P450
DFT	Teoria do Densidade Funcional (<i>Density Functional Theory</i>)
DPPH	2,2-difenil-1-picril-hidrazil
EDL	Dissociação da ligação fenólica
FAAH	<i>Fatty acid amide hydrolase</i>
GSH	Glutationa
HF	Método de aproximação para determinação de função de onda (Hartree-Fock)
HOMO	Mais alto orbital molecular ocupado
LogP	Logaritmo do coeficiente de partição octanol/água
LUMO	Mais baixo orbital molecular desocupado
MEP	Mapa de potencial eletrostático
NAPQI	N-acetil- <i>p</i> imina-benzoquinona
NMDA	N-metil-D-aspartato
PGG	Prostaglandina G
PGHS	Prostaglandina H sintetase

PI	Potencial de Ionização
POX	Peroxidase
RMN	Ressonância Magnética nuclear
SNC	Sistema Nervoso Central
TRPV	<i>Receptor de Potencial</i> Transitório do tipo Vanilóide
VPD	Voltametria de pulso diferencial

1. INTRODUÇÃO

O paracetamol ou acetaminofeno é o fármaco com propriedades analgésica e antipirética mais utilizado no mundo. Possui baixa ação anti-inflamatória, possui também um espectro de ação semelhante ao dos AINEs. Atualmente, o paracetamol é um dos medicamentos que está disponível em todos os países do mundo e pode ser adquirido sem prescrição médica. Considerado um dos fármacos mais utilizado no mundo, pois, é de baixo custo e de fácil acesso, além disso pode ser usado em todas as fases da vida (GRAHAM et al., 2013).

O paracetamol é um analgésico e antitérmico clinicamente comprovado, que promove analgesia pela elevação do limiar da dor e antipirese através de ação no centro hipotalâmico que regula a temperatura (ARONOFF & NEILSON 2001). Seu efeito tem início 15 a 30 minutos após a administração oral e permanece por um período de 4 a 6 horas. O paracetamol é um analgésico de ação central, não pertencente aos grupos dos opiáceos e salicilatos (JOZWIAK-BEBENISTA & NOWAK, 2014).

Apesar de ser utilizado na clínica médica a mais de um século, estudos indicam que, em doses terapêuticas, o paracetamol é considerado seguro. No entanto, em sobredosagem esse fármaco pode causar efeitos hepatotóxicos, podendo causar lesões hepatotóxicas devido a um metabólito gerado ao ser metabolizado no fígado (XU et al., 2008). Nas últimas décadas estudos relacionaram o uso da aspirina à síndrome de Reye, doença que acomete o cérebro e o fígado, ocorre em crianças e está relacionada ao uso de salicilatos. Dessa forma o paracetamol passou a ser o medicamento de primeira escolha para crianças e grávidas com sintomas de dores.

A glutatona é a enzima responsável pela neutralização do potencial tóxico do paracetamol, como as crianças normalmente apresentam altos estoques de glutatona era esperado que estas fossem menos vulneráveis ao paracetamol, entretanto estados de febre prolongada, diarreia, vômitos, ou subnutrição baixam os níveis de glutatona o que torna as crianças tão suscetíveis quanto os adultos (HURTADO-GONZALEZ et al., 2018).

Embora apresente toxicidade, o paracetamol pode ser considerado seguro em doses terapêuticas, em uma quantidade de 4g ao dia por paciente, mas a falta de informação da população no geral, e outros problemas como a depleção dos níveis de glutatona e uma ativação exacerbada da CYP, há ainda uma grande quantidade de fármacos que possuem paracetamol na sua composição pode facilmente levar a um quadro de hepatotoxicidade.

A intoxicação por paracetamol é um problema clínico importante, pois é responsável por 50% das intoxicações no Reino Unido e 10% nos EUA Somente no Reino Unido, isso resulta em 82.000 a 90.000 apresentações hospitalares por ano (BATEMAN, et al., 2014; MOWRY et al., 2015).

A toxicidade geralmente se divide em duas categorias: overdose intencional e overdose não intencional. Há relatos de casos raros de toxicidade após a dosagem dentro da faixa terapêutica, embora haja um debate sobre se esta última categoria realmente existe. De fato, um artigo de revisão concluiu que, em ensaios prospectivos, doses terapêuticas de paracetamol não causam toxicidade, e observa que somente em estudos retrospectivos ocorre toxicidade terapêutica e isso provavelmente se deve aos vieses inerentes à análise retrospectiva (DART et al., 2007).

Cerca de 150–250 mortes ocorrem diretamente devido ao envenenamento por paracetamol a cada ano no Reino Unido e estas geralmente ocorrem em pacientes que se apresentaram tardiamente ao hospital, tomaram uma dose excessiva, aqueles que provocaram sua overdose, ou que tomaram uma overdose não intencional (CRAIG et al 2011).

Partindo deste contexto, o presente projeto tem como objetivo desenvolver análogos do paracetamol na tentativa de conseguir um derivado menos tóxico e com um maior potencial terapêutico. Mostramos, portanto, o primeiro desenho de fármacos de análogos de paracetamol usando cálculos de energias de dissociação de ligações na seleção para a síntese e avaliação biológica de novos derivados.

Nosso objetivo é contribuir para um melhor entendimento das características mecanísticas desses processos e delineamento de fármacos de análogos do acetaminofeno com menor hepatotoxicidade e melhor atividade analgésica. O método de modificação molecular utilizado é o regioisomerismo, alterando a posição da hidroxila do paracetamol (PAC), modificando a hidroxila da posição *para* para a posição *orto*, gerando o ortacetamol (OAC) (Figura 1).

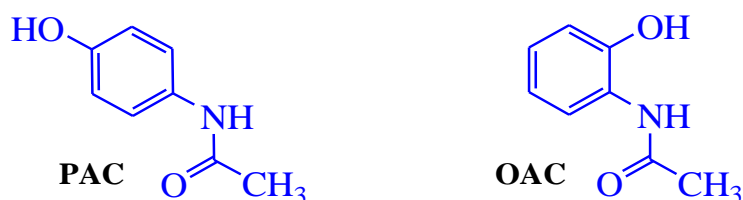


Figura 1:Paracetamol e seu análogo regioisômero ortacetamol.

2. OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Planejar, sintetizar e avaliar as propriedades físico-químicas teóricas de regioisômeros do paracetamol e seus derivados análogos como analgésicos, antipirético e anti-inflamatório.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Realizar o estudo do mecanismo de toxicidade do ortacetamol.
- Realizar o estudo do metabolismo do ortacetamol.
- Planejar síntese de derivados do ortacetamol.
- Realizar a síntese de isômeros do ortacetamol.
- Identificar e caracterizar as propriedades físico-química de isômeros do ortacetamol.
- Avaliar a toxicidade de isômeros do ortacetamol, comparando com o paracetamol.
- Estabelecer a relação estrutura química e atividade biológica.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 PARACETAMOL

O paracetamol é um composto de pequena massa molecular, pode ser considerado um ácido extremamente fraco com o pK de 9.7 a solubilidade de 1g da substância em água são: 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. Ele é estável à temperatura, luz, umidade e em pH entre 4 e 7 a 25°C. Ele e outros compostos relacionados podem ser determinados e caracterizados por diversos métodos de análises. Tem como característica química um fenol, e como todos os fenóis pode ser facilmente oxidado e essa oxidação está diretamente relacionada à toxicidade também ao seu mecanismo de ação (INDEX MERCK, 2013).

Em 1895, verificou-se que este composto estava presente na urina de pacientes que recebiam a fenacetina (FNT) e acetanilida (ACA), indicando que o paracetamol era um metabólito destes compostos (Figura 2). Somente em 1948, entretanto, foi que Brodie e Axelrod constataram que paracetamol era o maior metabólito da fenacetina e da acetanilida (BRODIE & AXELROD, 1948). O paracetamol passou a ser utilizado pela medicina por volta de 1956 na Inglaterra e nos Estados Unidos, parecendo apresentar tais propriedades antipiréticas e analgésicas e logo se tornou extremamente popular, agora é recomendado em todas as diretrizes de definição de cuidados de saúde como analgésico de primeira linha para adultos e crianças com dor leve a moderada (CHOI et al., 2018).

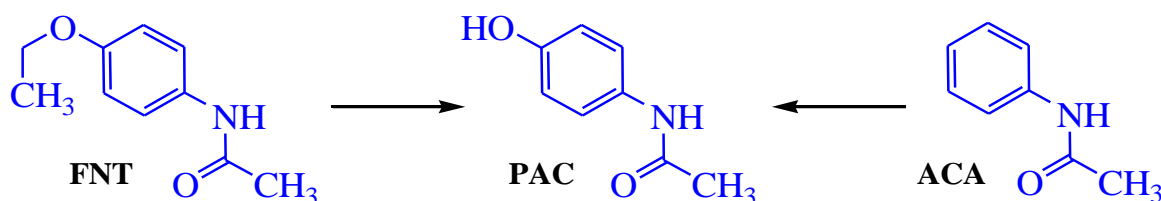


Figura 2: Fármacos precursores do paracetamol.

3.2 FARMACOCINÉTICA E FARMACODINÂMICA DO PARACETAMOL

Considerado ter uma boa absorção o paracetamol é absorvido de forma rápida e quase que total pelo intestino delgado quando vazio. Ao contrário da absorção gástrica, que é quase insignificante, porém a taxa de absorção diminui quando administrado com alimentos (STILLINGS et al., 2000).

A administração do paracetamol pode ser por via oral, retal ou intravenosa. O mesmo pode ser comercializado em forma de comprimidos de liberação imediata, comprimidos de liberação prolongada, comprimidos efervescentes, xaropes, supositórios e ainda preparações para administração intravenosa (GRAHAM et al., 2013).

Uma vez no ambiente básico do duodeno, o paracetamol atravessa rapidamente a mucosa e entra na corrente sanguínea. O paracetamol apresenta uma baixa ligação às proteínas plasmáticas (10 a 25%), uma característica fundamental que o diferencia de outros analgésicos e antipiréticos, como o ibuprofeno (CHOU et al., 2013).

Os mecanismos do efeito analgésico do paracetamol diferem dos AINEs. Várias linhas de evidência indicam que, além da inibição da COX, o sistema de controle da dor descendente e serotoninérgico também está associado à analgesia com paracetamol. A farmacocinética consiste no estudo, em função do tempo, dos processos de absorção, distribuição, metabolização e excreção (ADME) que um fármaco sofre, a partir do momento que é administrado até chegar ao seu local de ação (SANAKA et al., 1998).

É indiscutível a eficácia do paracetamol como analgésico para dores leves e moderadas também como antipirético. Poucos medicamentos se assemelham ao paracetamol em termos de eficácia e segurança. Ácido acetilsalicílico e ibuprofeno demonstraram a mesma tolerabilidade e uma similaridade de eficiência antitérmica (WAHBA, 2004).

Assim como os anti-inflamatórios não-esteroides (AINEs), e diferente dos analgésicos opioides, o paracetamol não provoca alterações no humor, podendo ser livre de dependência e tolerância, podendo ser usado de forma isolada ou em combinação com outros analgésicos para tratamento de dor crônica. Apesar da sua menor eficácia do que os AINEs, o paracetamol é amplamente recomendado como analgésico primeira escolha em dores leves e moderadas devido à sua melhor tolerância (NIKLES et al., 2005).

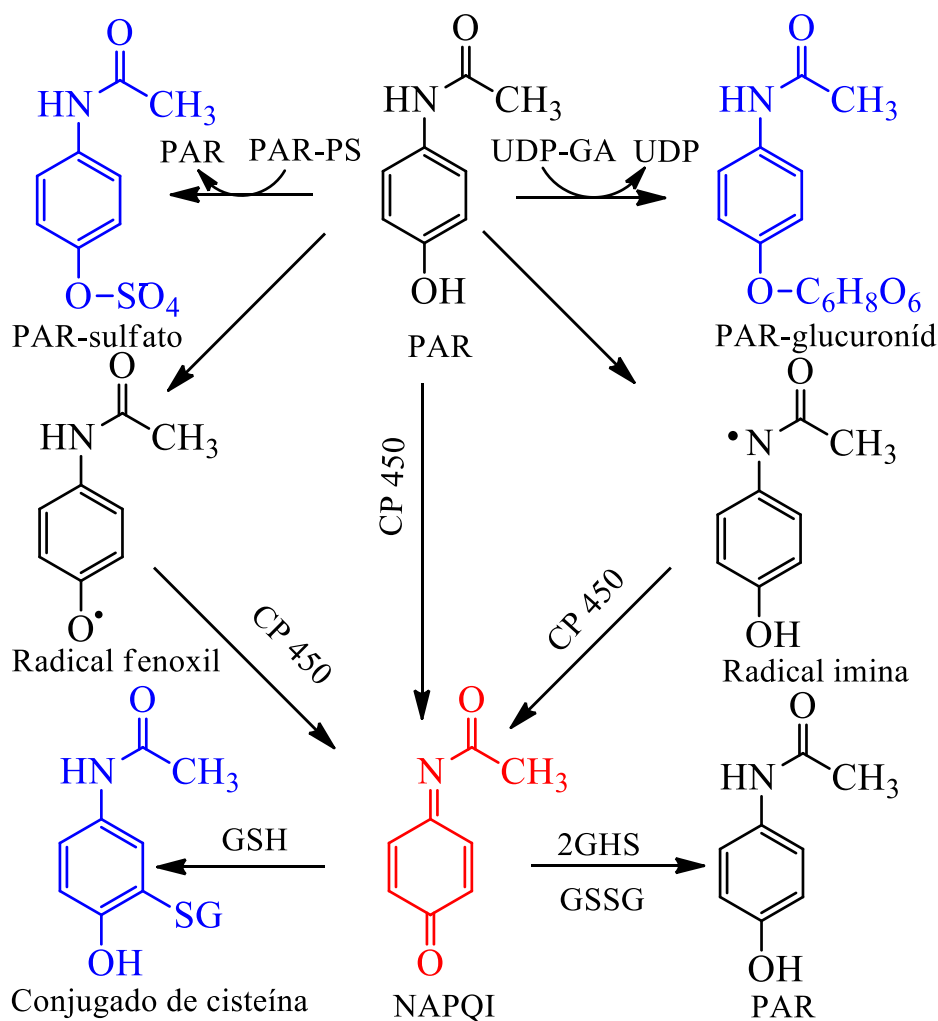


Figura 3: Metabolismo do paracetamol (PAR), difosfato de uridina galactose (UDP-GA), glutationa transferase (GSH), N-acetil-p imina-benzoquinona (NAPQI) citocromo p450 (CP45), adaptado (Shinoda, et al 2007).

Os picos plasmáticos do paracetamol podem ser atingidos entre 40-60 minutos após a administração, sendo considerado com uma boa absorção através do trato digestivo. Cerca de 90 % da quantidade absorvida sofre biotransformação hepática, por três mecanismos distintos: a conjugação com o ácido glicurônico por meio da ação da glicuroniltransferase (40-60 %); sulfatação, reação mediada pela ação da sulfotransferase (20-46 %) e a via oxidativa, que ocorre em menor grau, normalmente de 5-15% (Figura 3), por ação das enzimas do citocromo P450 (CYP2E1) (BERTOLIN et al., 2006; LANCASTER, et al., 2015).

3.3 TOXICIDADE DO PARACETAMOL

Mesmo sendo considerado seguro em doses terapêuticas, o paracetamol tem uma toxicidade que é atribuída à um de seus intermediários metabólico chamado N-acetil-*p* imina-benzoquinona (NAPQI) (Figura 4). Produzido através de enzimas presentes no citocromo P450 (CYPE21) por duas vias metabólica, onde parte da substância sofre inicialmente uma desacetilação e, em seguida, ambas sofrem oxidação, formando o produto NAPQI. Outras isoformas do CYP importantes no metabolismo do paracetamol têm sido mostrados ser a CYP2E1, CYP1A2, CYP3A4 e CYP2D6 (DONG, et al., 2000).

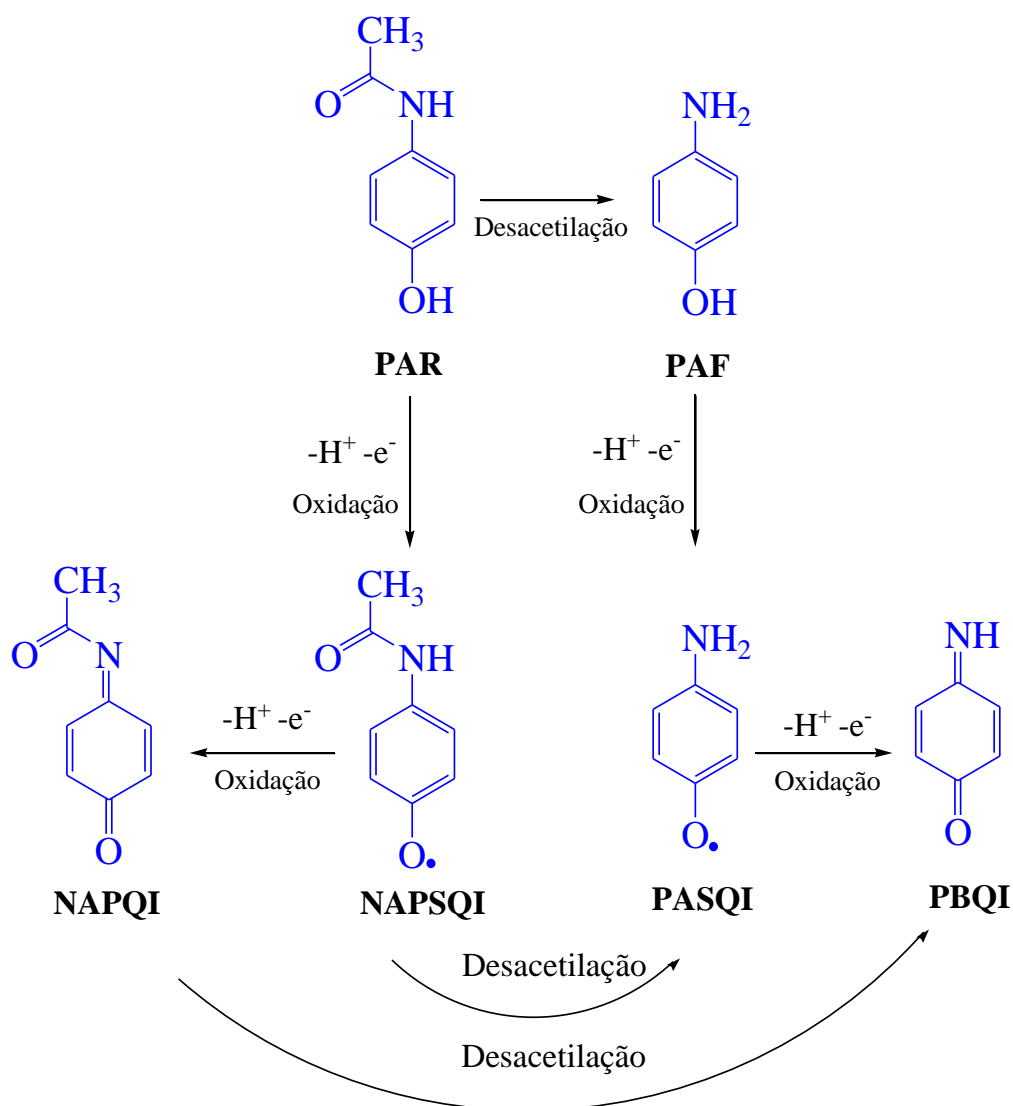


Figura 4: Rota metabólica do NAPQI, metabólito tóxico do Paracetamol e p-amiofenol.

É bem estabelecido que até 10% do paracetamol é metabolizado em NAPQI, porém enzimas como a glutatona (GSH), desempenham um papel importante para desintoxicar essa porcentagem tóxica do paracetamol onde o NAPQI forma um conjugado com a glutatona formando um composto não tóxico de cisteína que é excretado na urina (Figura 5) (CAPARROTTA, et al., 2018).

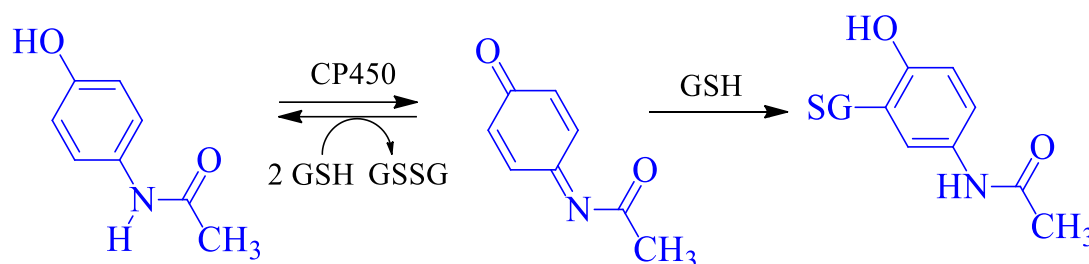


Figura 5: Glutaciona neutraliza o metabolito toxico.

A hepatotoxicidade do paracetamol parece ocorrer por uma sequência complexa de eventos no hepatócito. Esses eventos incluem o metabolismo do CYP para o metabólito reativo NAPQI, que depende da glutatona por uma reação de conjugação e se liga covalentemente a proteínas, podendo no caso de perda de glutatona, causar um aumento na resposta ao estresse oxidativo, e esse aumento do estresse oxidativo, possivelmente associado a alterações no metabolismo do cálcio (HINSON, et al 2010). As prováveis vias de reação da NAPQI são a formação de adutos com proteínas, oxidação de sulfidrilas de proteínas, ligação covalente com DNA em órgãos como fígado e rins, rompendo a homeostase celular (TIRMENSTEIN & NELSON, 1990).

Deste modo, em ratos, camundongos e humanos, uma overdose de paracetamol pode resultar em severa necrose hepática centrolobular. Porém, a necrose tubular renal também foi observada. Embora a falência renal aguda seja incomum, altas doses podem levar a falência hepática fulminante. Além disso, a necrose epitelial pulmonar de células não ciliadas bronquiolar e adutos covalentes com proteínas foram observados em pulmões de ratos (WELLS et al 1995).

3.4 MECANISMO DE AÇÃO DO PARACETAMOL

Tal como os anti-inflamatórios não esteroides (AINEs) o paracetamol é capaz de inibir a síntese de prostaglandinas a partir do ácido araquidônico sob condições específicas (baixa concentração de peróxidos em células isoladas) por inibição da ciclooxigenase (COX) (ANDERSON, 2008).

Nesta via, a enzima prostaglandina H sintetase (PGHS, ou COX) promove a transformação do ácido araquidônico (AA) em prostaglandina G2 (PGG₂), pela COX, e posteriormente em prostaglandina H2 (PGH₂), pela peroxidase (POX). A COX é dependente da POX, pois necessita de um radical de tirosina-385 (Tyr385*) que, por sua vez, requer a presença do radical cátion ferro-protoporfirina IX (Fe⁴⁺=OPP^{•+}), que se forma na POX. O paracetamol, sendo um fenol, é um potente agente redutor, atuando como co-substrato redutor na reação que forma o Fe⁴⁺=OPP^{•+}, diminuindo a sua disponibilidade ao nível da COX e, assim, diminuindo a ação desta enzima (Figura 6) (ANDERSON, 2008).

Segundo Graham (2013), a COX-2 é a principal isoenzima da COX envolvida na síntese de prostaglandinas quando as concentrações de ácido araquidônico são baixas. Quando a concentração de ácido araquidônico é elevada, a síntese de prostaglandinas é mediada pela COX-1, ou seja, o paracetamol pode ser um inibidor seletivo da COX-2. Contudo, o paracetamol também pode inibir a COX-1 se os níveis de peróxidos forem reduzidos.

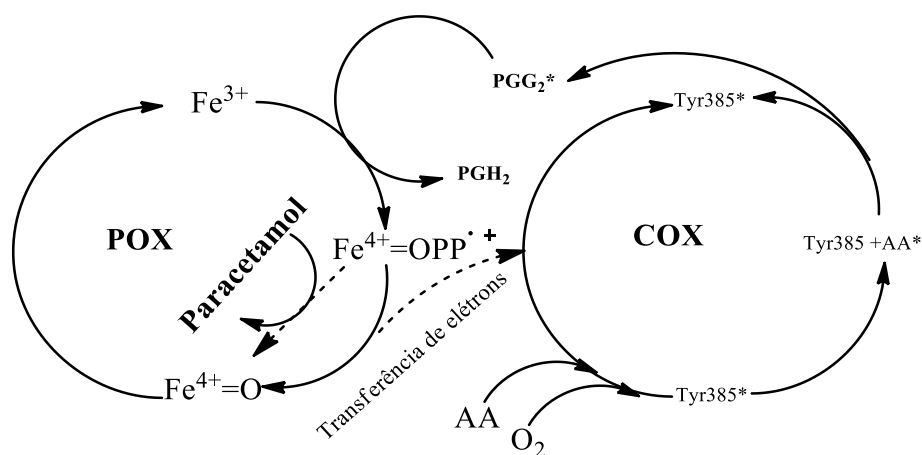


Figura 6: Mecanismo de ação do paracetamol inibindo a síntese de prostaglandina (Adaptado Anderson, 2008).

Novas informações relativas ao mecanismo de ação do paracetamol foram fornecidas pela identificação de mais uma isoforma da COX, a COX-3 (um produto de processamento

do *splice* alternativo da COX-1), que existe predominantemente no SNC (Sistema Nervoso Central) de algumas espécies. O paracetamol, bem como outros fármacos com propriedades semelhantes (antipirina e dipirona), mostrou ser inibidor seletivo desta enzima (CHANDRASEKHARAN et al., 2002).

Na ocorrência de febre, os pirogênicos endógenos produzidos pelos leucócitos provocam um aumento de prostaglandinas E₂ no líquido cefalorraquidiano. O paracetamol reduz a febre, bloqueando a formação e a liberação de prostaglandinas no sistema nervoso central, e inibe a ação de pirogênicos endógenos nos receptores *N*-metil-*D*-aspartato (NMDA) do hipotálamo, resultando em vasodilatação periférica, sudorese e dissipação de calor (ANDERSON et al., 1998).

O efeito analgésico é mediado pela ativação das vias serotoninérgicas. Ainda existe um debate sobre o seu principal local de ação ser a partir da inibição da síntese de prostaglandinas ou através de um metabólito que influencia os receptores canabinóides CB1. Neste caso, o paracetamol sofre desacetilação, formando *p*-aminofenol no fígado. No cérebro e na medula espinhal, o *p*-aminofenol é conjugado com o ácido araquidônico, formando *N*-araquidonoilfenolamina (AM404) a partir da amida hidrolase de ácido graxo (FAAH) (Figura 7). Este canabinóide endógeno é um agonista dos receptores TRPV1 (*Receptor de Potencial Transitório Vanilóide do tipo 1*) e um inibidor da captação celular de anandamida. A sua presença conduz ao aumento dos níveis endógenos de canabinóides, aumentando a atividade dos receptores serotoninérgicos (5-HT) que inibem a transmissão de estímulos nocivos, produzindo antinocicepção e analgesia (ANDERSON, 2008; BERTOLINI et al., 2006).

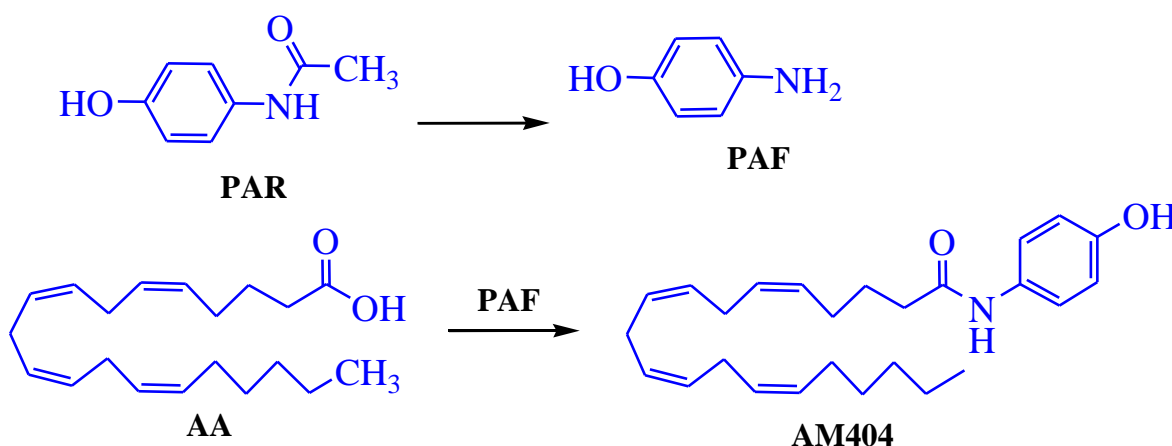


Figura 7: Metabólito da conjugação do *p*-aminofenol e ácido araquidônico.

3.5 MODELAGEM MOLECULAR DE FÁRMACOS

A capacidade de predição do metabolismo de um possível candidato a fármaco para que chegue ao mercado com mais segurança pode ser otimizada pelo uso de métodos teóricos, como ADME (Absorção, Distribuição, Metabolismo e Excreção). Os cálculos teóricos baseados em métodos DFT (*Density Functional Theory*) surgiram como alternativas ao *ab initio*, tradicional cálculo no estudo da estrutura e reatividade de sistemas químicos (ALVES et al., 2006). Assim, com HF (Hartree-Fock), método de aproximação para determinação de função de onda e energia, em cálculos de mecânica molecular baseados em métodos semiempíricos, que têm aplicação limitada a sistemas que contêm elementos para os quais foram desenvolvidos parâmetros correspondentes.

Uma vez conhecida a estrutura do receptor eleito como alvo terapêutico adequado para o tratamento de uma patologia pode-se planejar uma molécula capaz de interagir eficazmente com este receptor. Esta estratégia de planejamento, geralmente emprega técnicas de química computacional, em que a modelagem molecular é ferramenta extremamente útil. A modelagem molecular consiste em uma técnica empregada para se estudar as características estruturais e propriedades físico-químicas de uma substância, empregando recursos da química computacional acopladas a interfaces gráficas (BARREIRO, FRAGA, 2001).

O avanço da química computacional tem sido de grande importância no planejamento e desenvolvimento de novos fármacos, com isso a química medicinal tem avançado se utilizando desses métodos para a inovação de síntese e modificação molecular de moléculas bioativas e sua relação estrutura atividade. Dentro deste contexto, está o avanço da biologia molecular que possibilita a descoberta de novos alvos farmacológicos contribuindo para o desenvolvimento de novos fármacos (PANCOTE, 2009; BARREIRO et al 2002). Assim a química medicinal possui vários métodos eficientes para otimizar e potencializar o perfil farmacológico de substâncias, levando ao planejamento e síntese de substâncias cada vez mais ativas, com biodisponibilidade satisfatória, melhorando a toxicidade indesejada e o metabolismo adequado ao seu emprego terapêutico (KOROLKOLVAS, 1988).

A crescente necessidade por substâncias inovadoras para determinadas doenças e no melhoramento de fármacos, tais como diminuir ou eliminar toxicidade e potencializar a ação de fármacos, a modelagem molecular tem ocupado um lugar de destaque na química medicinal.

Modelagem molecular é a investigação das estruturas e das propriedades moleculares usando a química computacional e as técnicas de visualização gráfica, visando fornecer uma representação tridimensional, sob um dado conjunto de circunstâncias (SANT'ANNA, 2002).

3.6 MODIFICAÇÃO MOLECULAR

Considerando que a modificação molecular consiste em tornar uma substância química bem determinada e conhecida como modelo ou protótipo, é usado estes modelos para planejar novos compostos que sejam homólogos ou análogos estruturais. Para isso existem vários métodos de modificação molecular como: simplificação molecular; dissociação de sistemas anelares fundidos; dissociação de grupos benzênicos em sistemas anelares; latenciação molecular e síntese de series homologas. (WERMUTH, 2003).

A síntese de séries homólogas, diferencia as moléculas da série homóloga somente pela introdução de um grupo. Quando a inserção do grupo se dá em uma cadeia, origina homólogo linear e quando ocorre em um sistema cíclico, origina homólogo cíclico. No entanto, pode haver variações neste processo, como a inserção de um grupamento, originando homólogo ramificado (WARD et al., 1992).

3.7 DERIVADOS DO PARACETAMOL

Desde que se tem ciência de que o paracetamol pode ser tóxico em doses acima do considerado normal ou até mesmo por algum problema da enzima glutatona transferase que é responsável por eliminar o metabólito tóxico, vários estudos têm se intensificado para tentar desenvolver um análogo do paracetamol que tenha as mesmas características farmacológicas, porém, menos tóxico. (DUFTY, et al., 2001).

Embora todos esses esforços, resultaram em pouco sucesso na obtenção de um novo composto mais seguro para o mercado farmacêutico. Esses estudos têm contribuído para a melhor compreensão da estrutura química e atividade do paracetamol, assim como para o seu

mecanismo de ação e de toxicidade que podem contribuir para o desenvolvimento de novos fármacos (DINIZ, et al., 2004).

3.7.1. Derivados Homólogos do Paracetamol Monometilados e Dimetilados

Alguns derivados monometilados do paracetamol foram estudados por Nelson et al 1986 (Figura 8), nos quais esperavam modificar a conjugação do grupo acetyl com o anel benzênico e impedir ou dificultar a oxidação pelas enzimas do Citocromo P450. No entanto, os seus achados mostraram uma diminuição, tanto na atividade analgésica, quanto no potencial citotóxico, quando comparados ao paracetamol na dose de 750 mg/kg, demonstrando que estas atividades podem estar diretamente relacionadas a oxidação (NELSON, et al., 1991).

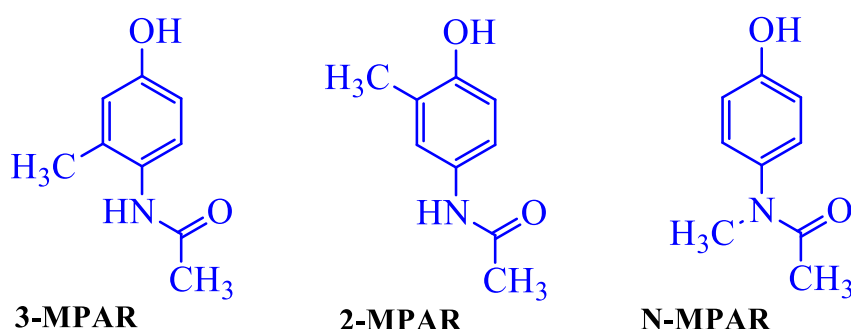


Figura 8: Derivados monometilados do paracetamol.

Os resultados mostraram que estas duas atividades são dependentes da formação do intermediário NAPQI. Quimicamente, o N-metil não pode formar o intermediário quionona-imina, o que explicaria sua baixa atividade, enquanto que os derivados 2 e 3-metil modificam a reatividade de suas formas quinona-imida, quando comparados com o paracetamol, sendo que no composto 2-metil, um dos locais de reação de adição de nucleófilos, ao sistema quinona-imina, está impedido.

Considerando que a atividade anti-inflamatória ocorre pela oxidação do ácido araquidônico e o metabolismo do paracetamol para a formação do intermediário tóxico NAPQI é uma reação de oxidação, as propriedades anti-oxidante desses derivados foram avaliadas para

explicar sua capacidade de formar o intermediário reativo NAPQI, através de voltametria cíclica em condições diferentes de pH, aproximando do sistema biológico. Os resultados do potencial de oxidação mostraram uma boa relação com a potência citotóxica e atividade analgésica, exceto para o composto 2-metilparacetamol (NELSON, et al., 1991).

Para os compostos dimetilados, o mecanismo de toxicidade do intermediário tóxico quinona-imina foi realizado através do estudo da reatividade dos derivados na forma quinona-imina reagindo com nucleófilos (Figura 9). Os compostos 2,6-dimetil-paracetamol (2,6-DMP) e 3,5-dimetil-paracetamol (3,5-DMP) foram oxidados com tetraacetato de chumbo para formar *N*-acetil-2,6-dimetil-*p*-benzoquinona iminas (2,6-DM-PBQI) e *N*-acetil-3,5-dimetil-*p*-benzoquinona iminas (3,5-DMPBQI), respectivamente (FERNANDO, et al., 1980).

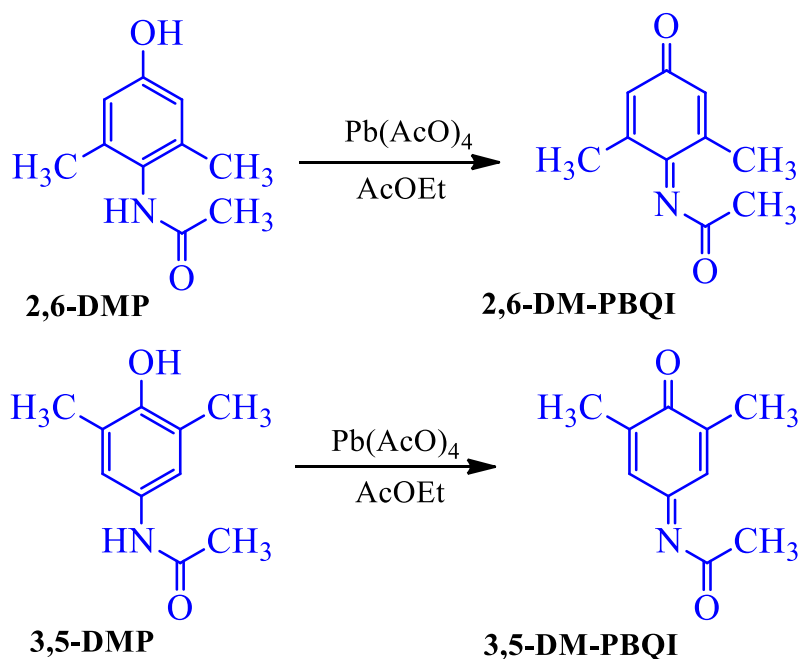


Figura 9: Derivados dimetilados do paracetamol.

A reação do composto *N*-acetil-2,6-dimetil-*p*-benzoquinona imina com ácido clorídrico 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 (Figura 9).

No entanto, o composto *N*-acetil-3,5-dimetil-*p*-benzoquinona iminas reagiu com água e anilina também na posição C1, produzindo os compostos dimetil-*p*-benzoquinona e 3,5-

dimetil-N-fenil-p-benzoquinona imina, enquanto que o etanotiol reagiu no carbono C3 formando o composto 3,5-dimetil-2-tioetil-4-hidroxiacetanilida. Como os resultados não estão de acordo com a proposição original, é provável que as condições para as reações sejam diferentes ou não foram encontradas ou realmente a reatividade molecular de NAPQI no carbono carbonílico é maior que no carbono do alceno (CALDER, 1981).

3.7.2. Derivados da Associação do Paracetamol e Salicilatos

Borges 2007, desenvolveu derivados de salicilatos como antioxidantes através de uma associação molecular do paracetamol e ácido salicílico (Figura 10). Sabendo que o ácido salicílico é um anti-inflamatório da classe dos AINEs, associou o ao grupo farmacofórico do paracetamol. Três derivados desta associação entre *p*-aminofenol e salicilatos foram sintetizados e sua atividade antioxidante avaliada e comparada com o Trolox e com seus precursores.

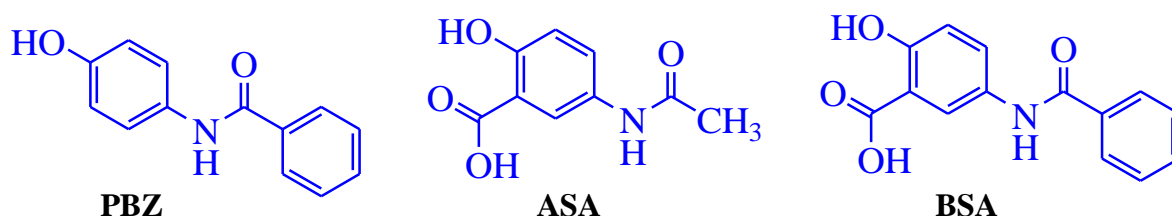


Figura 10: Derivados de salicilatos em associação com paracetamol.

A rota 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 (PBZ), ácido 5-acetilamido-2-hidroxibenzóico (ASA) eo ácido 5-benzamido-2-hidroxibenzóico (BSA), respectivamente, com rendimento 80-90%. Os dados de RMN de H^1 e C^{13} foram usados para determinar a estrutura dos produtos derivados da reação (BORGES, et al., 2011).

O estudo teórico do metabolismo do ácido salicílico usando cálculos de química quântica pela teoria da densidade funcional de 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 que a geração regioseletiva do ácido 2,5-dihidroxibenzóico pelo CYP450 e ácido 2,3-dihidroxibenzóico e catecol como derivados da reação seqüestrantes da atividade antioxidante.

Além disso, as atividades antioxidantes dos compostos foram comparadas com o potencial de ionização e o HOMO (orbital molecular de mais alta energia ocupado), calculados usando métodos DFT, para explorar a relação estrutura-atividade. Todos os cálculos foram executados usando os pacotes computacionais Gaussian 09, Hyperchem 7.5 (BORGES, et al., 2013).

3.7.3. Derivados Regioisômeros

Dando continuidade aos estudos de análogos do paracetamol do nosso grupo, Queiroz et al 2012, avaliou a toxicidade de análogos regioisômeros ortobenzamol e ortacetamol (OAC), em modelos *in vitro* e *in vivo*. O ortobenzamol (OBZ) demonstrou se que o mesmo apresenta maior segurança quando comparado ao paracetamol (Figura 11). Os resultados obtidos atribuem ao ortobenzamol ausência de neurotoxicidade, menor potencial hepatotóxico e hematotóxico e, ausência de nefrotoxicidade nas doses testadas.

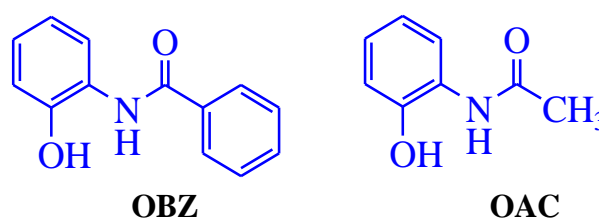


Figura 11: Estrutura química do ortobenzamol e ortacetamol regioisômeros do paracetamol.

O planejamento molecular realizado foi baseado na estrutura do ligante usando métodos de química quântica no nível DFT para regioisômeros do paracetamol como candidatos a fármacos analgésicos. Os descritores moleculares HOMO, PI (potencial de ionização), 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*-acetil-benzoquinona

imina através da abstração de elétron ou hidrogênio, as quais são responsáveis pela toxicidade do paracetamol.

O mecanismo envolvido não está completamente compreendido, mas os resultados sugeriram que os receptores opióides poderiam estar envolvidos na ação antinociceptiva observada para o composto testado (QUEIROZ, et al., 2012).

Neste presente trabalho estudaremos o derivado ortacetamol estudos recentes demonstraram que um análogo com a hidroxila na posição meta dificultou a oxidação química, essa transformação na molécula com a hidroxila na posição meta se mostrou ser significativa somente na presença de oxidante forte. Nesse trabalho propomos análogos com uma modificação do ortacetamol, colocando radicais doadores e receptores de elétrons na tentativa de proteger a hidroxila da oxidação.

4. JUSTIFICATIVA

Dessa forma, dando prosseguimento ao desenvolvimento e melhoramento de fármacos anti-inflamatórios e analgésicos, foi proposto a síntese de análogos ao paracetamol com o objetivo de diminuir ou eliminar a toxicidade, partindo do pressuposto que um medicamento deve ser eficaz e tolerável, ou seja, sem efeitos colaterais graves.

A carência de fármacos adequados para muitas patologias, bem como a necessidade do aprimoramento dos já existentes, torna necessária a busca e o desenvolvimento de novas substâncias, para obtenção de protótipos com maior potencial terapêutico e com menor toxicidade.

Devido à toxicidade do paracetamol, tem se motivado a estudos para buscar e desenvolver novos análogos com menos toxicidade mantendo sua atividade terapêutica (MADRIGAL-SANTILLÁN et al., 2014). Assim, para obter um fármaco com menos toxicidade e com atividade terapêutica foi proposto mudanças na estrutura química do paracetamol utilizando técnicas de regioisomerismo a partir de estudos prévios de Borges et al 2007.

Mesmo sendo considerado seguro em doses normais há o risco de hepatotoxicidade relacionada à excessiva ativação do sistema citocromo P450 ou pela depleção dos níveis de glutathione do hepatócito ou pela sobre dose relacionada à extensas variedades de medicamentos

que incluem o paracetamol em sua fórmula, sendo necessário o desenvolvimento de derivados mais seguros do paracetamol.

5. METODOLOGIA

5.1 PLANEJAMENTO

Através de estudos anteriores do nosso grupo a partir do paracetamol por estudo de planejamento racional de fármacos obtiveram a seguintes moléculas que foram denominadas de ortacetamol e ortobenzamol. A partir de estudos prévios dessas moléculas, propomos derivados do ortacetamol (2), através de técnicas de regioisomerismo, colocando radical doador de prótons (CH_3) e (OCH_3), receptor de prótons (NO_2), e doador e receptor de prótons (Cl) e (F), na posição meta em relação ao grupamento amina (Figura 12).

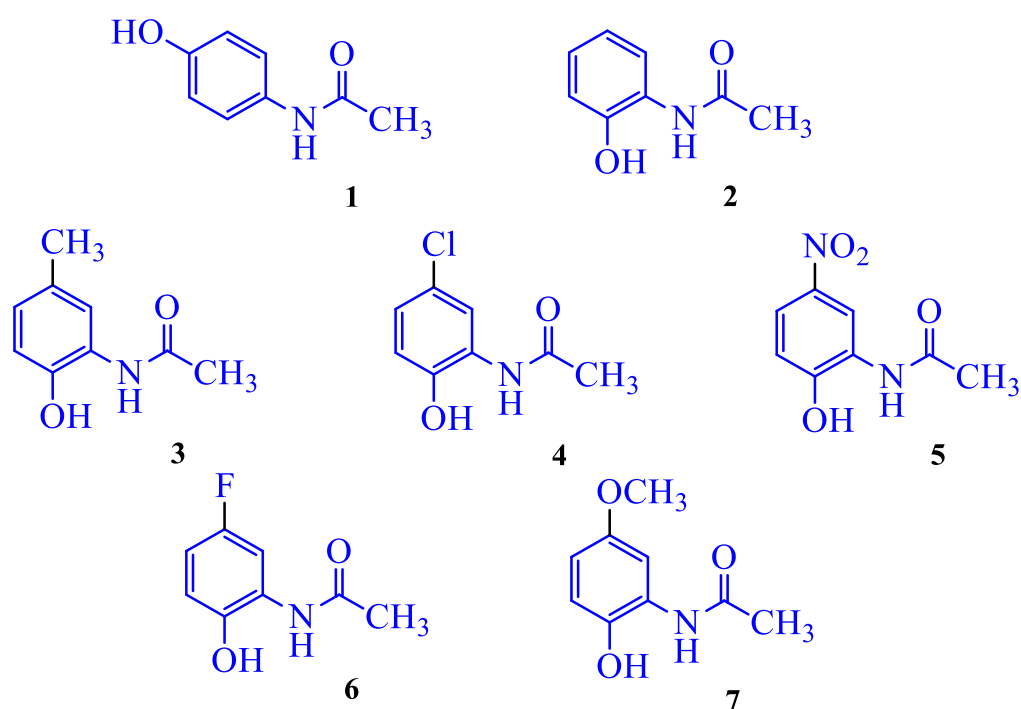


Figura 12: Paracetamol e seus derivados regioisômeros.

As novas estruturas foram submetidas à análise conformacional pelo método semi-empírico PM3 (Terceira Parametrização) empregado na otimização de geometria, para obtenção de estruturas de menor energia e mais estáveis, e parâmetros teóricos relevantes para o estudo da relação entre estrutura e atividade molecular. Os cálculos de propriedades eletrônicas, tais como, orbital molecular ocupado de maior energia (HOMO), parâmetro relacionado com a capacidade doadora de elétrons que caracteriza compostos como nucleofílico; orbital molecular desocupado de menor energia (LUMO), está relacionado com a capacidade aceptora de elétrons que caracteriza um eletrófilo; potencial de ionização (PI) de uma molécula que é a energia necessária para remover um elétron da sua estrutura atômica. O PI pode ser calculado pela diferença de energia da molécula neutra (EM^0) e seu respectivo cátion radical (EM^{+}), segundo a Equação 1.

$$PI = [EM^{+}] - [EM^0] \quad (1)$$

Densidades de spin, foi realizado usando os pacotes Gaussview e Gaussian 2009 (FRISCH et al., 2004), usando teoria da densidade funcional (TDF), no nível B3LYP (PARR et al. 1989) com o conjunto de base 6-31+ G** (HEHRE, 1986). Foi calculado a energia de dissociação de ligação fenólica (EDL_{OH}) e a energia de dissociação do grupo acilamida (EDL_{NH}).

As energias de dissociação de ligação do grupo fenol ou da formação de N-acetil-p-benzosemiquinonaimina (NAPSQI) foram calculadas como as diferenças de energia entre uma molécula neutra e o respectivo radical semiquinona mais hidrogênio, conforme definido na Equação 1.

$$EDL_{OH} = (E_{CH_3CONHC_6H_4O^+} + E_{H\cdot}) - E_{CH_3CONHC_6H_4OH} \quad (2)$$

As energias de dissociação de ligação do grupo acilamida ou N-acetil-p-benzoquinona imina (NAPQI) foram calculadas como as diferenças de energia entre uma molécula NAPSQI e o respectivo radical NAPQI mais hidrogênio, que pode ser escrito como Equação 3.

$$EDL_{NH} = (E_{CH_3CONHC_6H_4O} + E_{H\cdot}) - E_{CH_3CONHC_6H_4O\cdot} \quad (3)$$

Os derivados selecionados através dos estudos teóricos foram sintetizados utilizando metodologia clássica conhecida com acilação simples como descrita na página 46 (figura 23).

5.2 AVALIAÇÃO ANTIOXIDANTE

Todos os experimentos foram realizados em tampão PBS 0,1 mol L⁻¹ pH 7,0 utilizando uma célula eletroquímica de compartimento único contendo três eletrodos, um eletrodo de referência de Ag/AgCl/KCl 3,0 mol L⁻¹, uma folha de Pt de 0,5 cm² como contra eletrodos e um eletrodo de trabalho de carbono vítreo com 0,07 cm² de área geométrica. A estrutura química de uma substância é determinante na sua atividade eletroquímica, portanto a (Figura 11) mostra a estrutura química de ambos os compostos estudados neste texto.

Os experimentos de voltametria de pulso diferencial foram desenvolvidos no Laboratório de Química Analítica do Instituto de Química de São Carlos da Universidade de São Paulo (USP-SC) em colaboração com o Doutor Marcelo Luiz Calegari e Prof. Dr. Albérico Borges Ferreira da Silva.

6. RESULTADOS E DISCUSSÃO

6.1 MECANISMO REDOX DE TOXICIDADE

A toxicidade induzida por fármacos pode ocorrer por meio de alguns mecanismos bioquímicos, dentre os quais a transferência de elétrons ou hidrogênios, com formação de intermediários do tipo cátion radical livre ou semiquinona, com desregulação no sistema de defesa antioxidante (LOWN, et al., 1982, WALLACE, 2003).

Cálculos das energias de dissociação de ligação fenólica e amídica (ED_{LOH} e ED_{LNH}) são realizados pela diferença entre a energia da semiquinona mais o hidrogênio radical, menos a energia de sua molécula neutra. Essas reações estão relacionadas a formação de dois intermediários reativos, o primeiro radicalar, a *N*-acetil-*p*-benzosemiquinona imina (NAPSQI) e seu orto-isômero (NAOSQI), enquanto que o segundo é um composto eletrofilíco conhecido como *N*-acetil-*p*-benzoquinona imina (NAPQI) e isômero. Seus valores estão relacionados com

a estabilidade química de cátions radicais ou semiquinonas. Neste trabalho foram calculados a energia de dissociação fenólica para o derivado do paracetamol **1**, ortacetamol **2** (Figura 13).

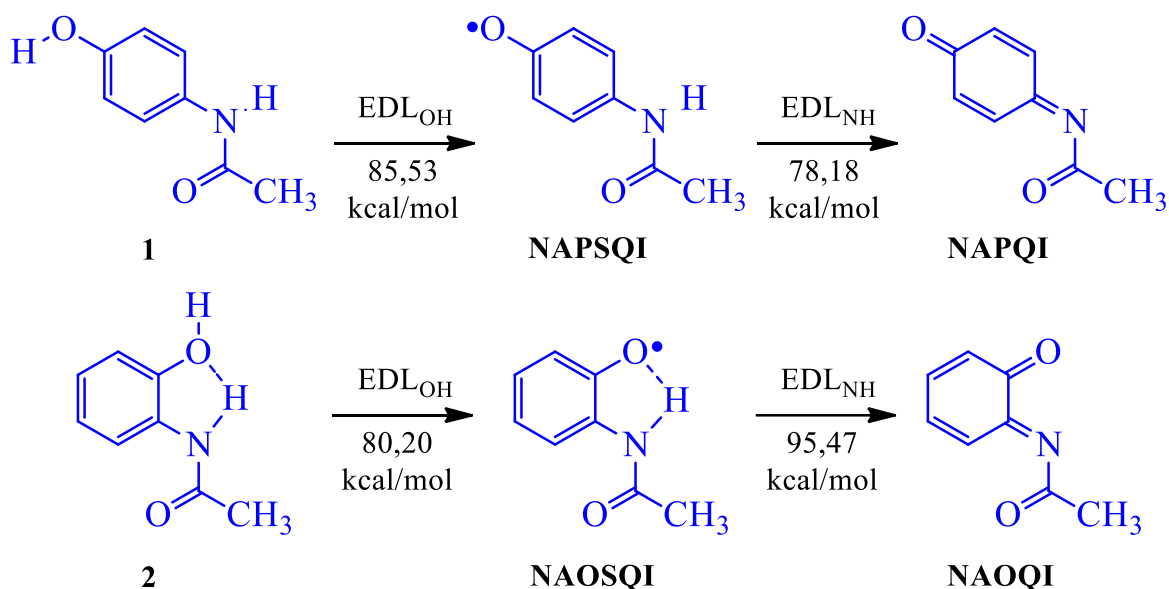


Figura13: Energias de dissociação da ligação fenólica e amídica do paracetamol e ortacetamol

Os valores de EDL_{OH} calculados representam a facilidade ou dificuldade de doação de hidrogênio para formar intermediários semiquinonas na primeira etapa da reação de oxidação. Para o paracetamol a abstração do hidrogênio fenólico por reação tirosil pode estar relacionada com o mecanismo de ação pela inibição da prostaglandina (KULMACZ, et al., 1991).

De acordo a com estes valores de EDL_{OH} , o paracetamol mostrou um valor de 85,53 kcal/mol quando comparado ao valor do ortacetamol 80 kcal/mol, com uma diferença de 5,33 kcal/mol superior para o paracetamol. Isso significa que este regioisômero pode ser tão ou mais ativo que o paracetamol (NAM, et al., 2010).

Além disso, esse resultado mostra que o novo derivado é mais reativo que o paracetamol, com maior facilidade em doar um hidrogênio para formar uma semiquinona e que a ponte de hidrogênio entre o grupo amida e fenol na posição *orto* (N-H...OH) confere maior estabilidade para a forma semiquinona, e estão de acordo aos obtidos por Queiroz et al. (2012). Deve ser destacado que esta etapa pertence tanto ao mecanismo de toxicidade quanto ao de atividade farmacológica no sítio ativo da prostaglandina endoperóxido sintase (PGES), para a

ação analgésica, anti-inflamatória e anti-agregante plaquetária (DINIZ et al., 2004; ALVEZ et al., 2006; QUEIROZ et al., 2012).

A segunda etapa de reação bioquímica é exclusiva do metabolismo de acetamidafenóis como paracetamol e ortacetamol, sendo uma reação de oxidação do hidrogênio da amina, que ocorre via citocromo P450, por exemplo. Os cálculos da dissociação de ligação amida (EDL_{NH}) mostrou maior facilidade desta vez para o paracetamol podemos prever a facilidade da doação do hidrogênio da semiquinona (NASPQI) para formar quinona (NAPQI), essa segunda etapa a abstração do segundo hidrogenio é o mecanismo proposto para a toxicidade do paracetamol (VAN DE STRAAT, et al., 1986).

Os resultados mostraram um valor de EDL_{NH} menor para o paracetamol de 78,18 kcal/mol quando comparado ao ortacetamol, 95,47 kcal/mol. Assim, o valor de EDL_{NH} para o paracetamol foi 17,28 kcal/mol mais favorável que para o ortacetamol, indicando que a mudança da hidroxila para a posição *orto* pode aumentar a estabilidade metabólica da molécula possivelmente por um mecanismo do tipo quelação, definido pela ligação de hidrogênio da amida com o radical fenoxil. Diante desses resultados é possível que os compostos de maiores energias de EDL_{NH} possam ser menos tóxicos já que pode dificultar a ação a CYP na oxidação para formar intermediários tóxicos do tipo eletrofilico.

Uma análise estrutural mostra que diferente do paracetamol, o ortacetamol possui dois hidrogênios, o fenol, denominado de *exo* mais reativo, e o proveniente do grupo amida, denominado de *endo*, menos reativo. O mecanismo de reação destes dois grupos pode ser avaliado por meio de ensaios de atividade antioxidante usando um radical livre como o 2,2-difenil-1-picril-hidrazil (DPPH).

A avaliação antioxidante pelo método de DPPH para a formação das formas semiquinona-imina e quinona-imina foi incluída para comparação com os resultados teóricos. Dessa forma, pensamos em propor derivados do ortacetamol com o intuito de aumentar essa estabilidade e propor um derivado mais seguro.

6.2 MECANISMO DE TOXICIDADE POR DERIVADOS HIDROXILADOS

Durante o processo de metabolismo (RANG, et al., 2004) ou em reações de fenóis em meios reacionais contendo radical hidroxil (HO), as reações de hidroxilação podem ocorrer

facilmente (AGUIAR, et al., 2007). Alguns compostos podem ser mais reativos que outros, e dentre os fatores que governam estas reações, a reatividade química do cátion radical livre ou semiquinona, que são formados durante a reação de abstração de elétron ou hidrogênio, respectivamente, as contribuições da densidade de spin para o elétron desemparelhado têm mostrado bons resultados.

De fato, a densidade de spin é um parâmetro importante para caracterização da estabilidade de radicais livres, considerando que a energia de um radical livre pode ser diminuída se os elétrons desemparelhados forem deslocados através do sistema conjugado após a retirada de um átomo hidrogênio (BORGES, et al., 2012).

As distribuições de densidade de spin para o paracetamol (Figura 14) mostraram uma simetria nas posições 2,6 e 3,5 para o cátion radical (CR), enquanto que para a semiquinona (SQ) a contribuição foi mais significativa, especialmente para as posições fenoxil (0,40), 3 e 5 (0,27 e 0,28) e na posição 1 (0,33), indicando que os principais produtos de C-oxidação serão o 3-hidroxi-paracetamol e a hidroquinona (DINIZ, et al., 2004).

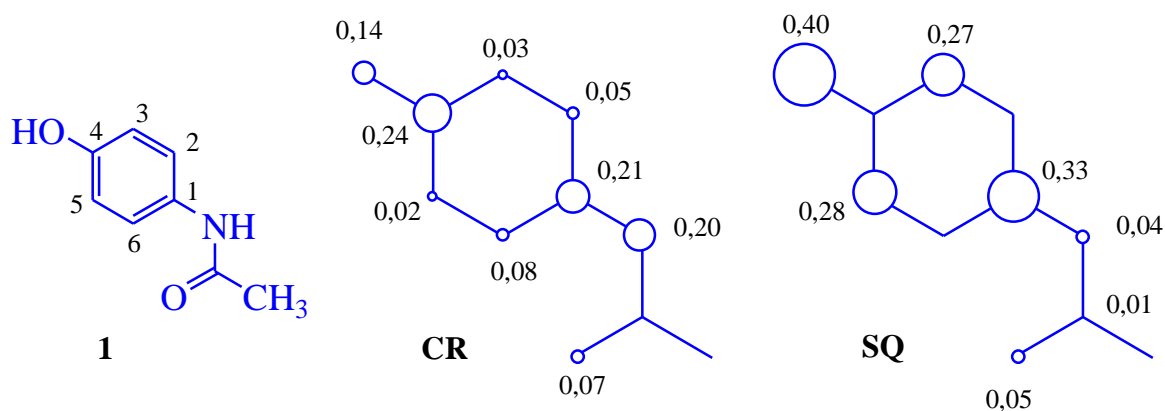


Figura 14: Densidade de spin do cátion radical (CR) e semiquinona (SQ) para o paracetamol.

Enquanto que, para o ortacetamol, a posição 4 está mais ativada no CR, enquanto que para a SQ as posições mais ativadas em ordem crescente de reatividade seriam as posições 3 < 1 < 5, com valores de 0,21, 0,28 e 0,33, respectivamente, sendo este composto mais reativo que o paracetamol para produção de derivados hidroxilados (Figura 15).

Estes resultados mostram que os carbonos das posições *orto* e *para* do anel fenólico dos dois derivados tem uma maior participação na estabilização da carga radicalar, sendo, porém, potencialmente mais reativo. Além disso, a forma semiquinona pode ser mais reativa que o cátion radical.

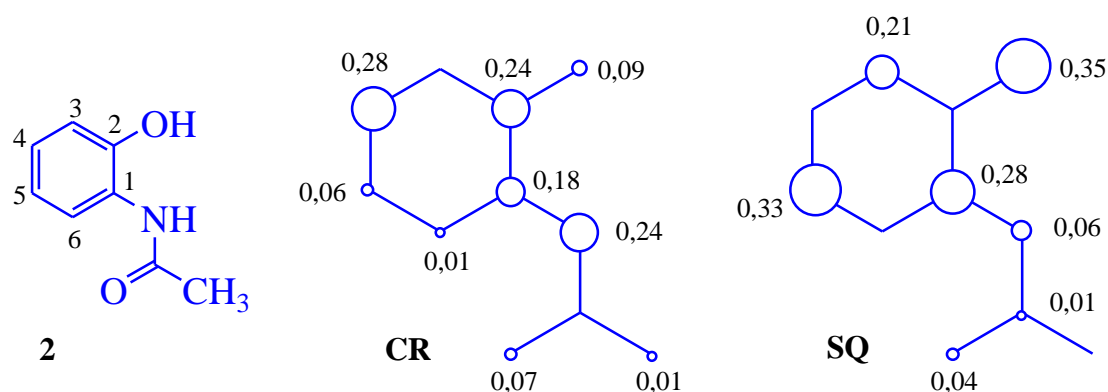


Figura 15: Densidade de spin do cátion radical (CR) e semiquinona (SQ) para o ortacetamol.

Os resultados de reatividade química são completamente diferentes para as formas neutras dessas moléculas, que se destacam por um centro de simetria molecular. De fato, a disposição de HOMO pode nos indicar parâmetros eletrônicos que estão diretamente relacionados com a capacidade de doar elétrons, e a análise gráfica dos orbitais moleculares nos mostram as regiões ricas em elétrons (Figura 16).

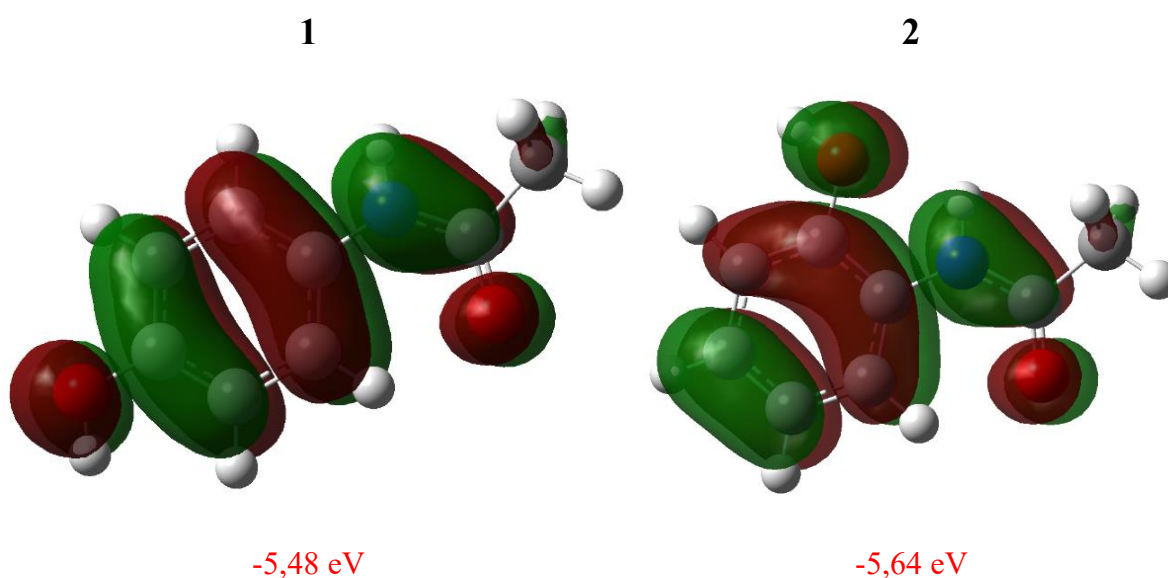


Figura 16: Contribuição de HOMO para o paracetamol e ortacetamol.

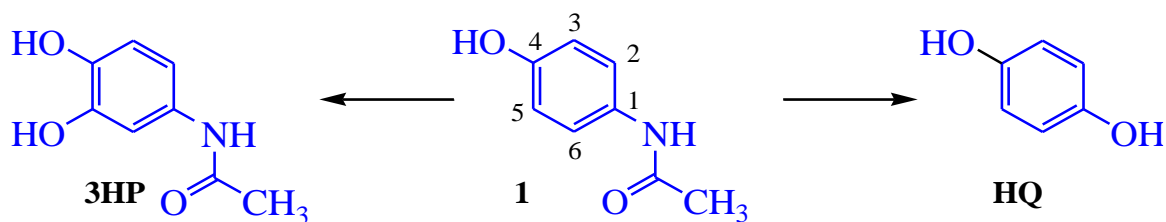


Figura 18: Reações de hidroxilação do paracetamol.

O ortacetamol por sua vez, possui a capacidade de formar teoricamente um número maior de compostos C-hidroxilados dentre os quais o 2,3-dihidroxi-acetanilida (2a), 2,4-dihidroxi-acetanilida (2b), 2,5-dihidroxi-acetanilida (2c) e catecol (CAT) (Figura 19).

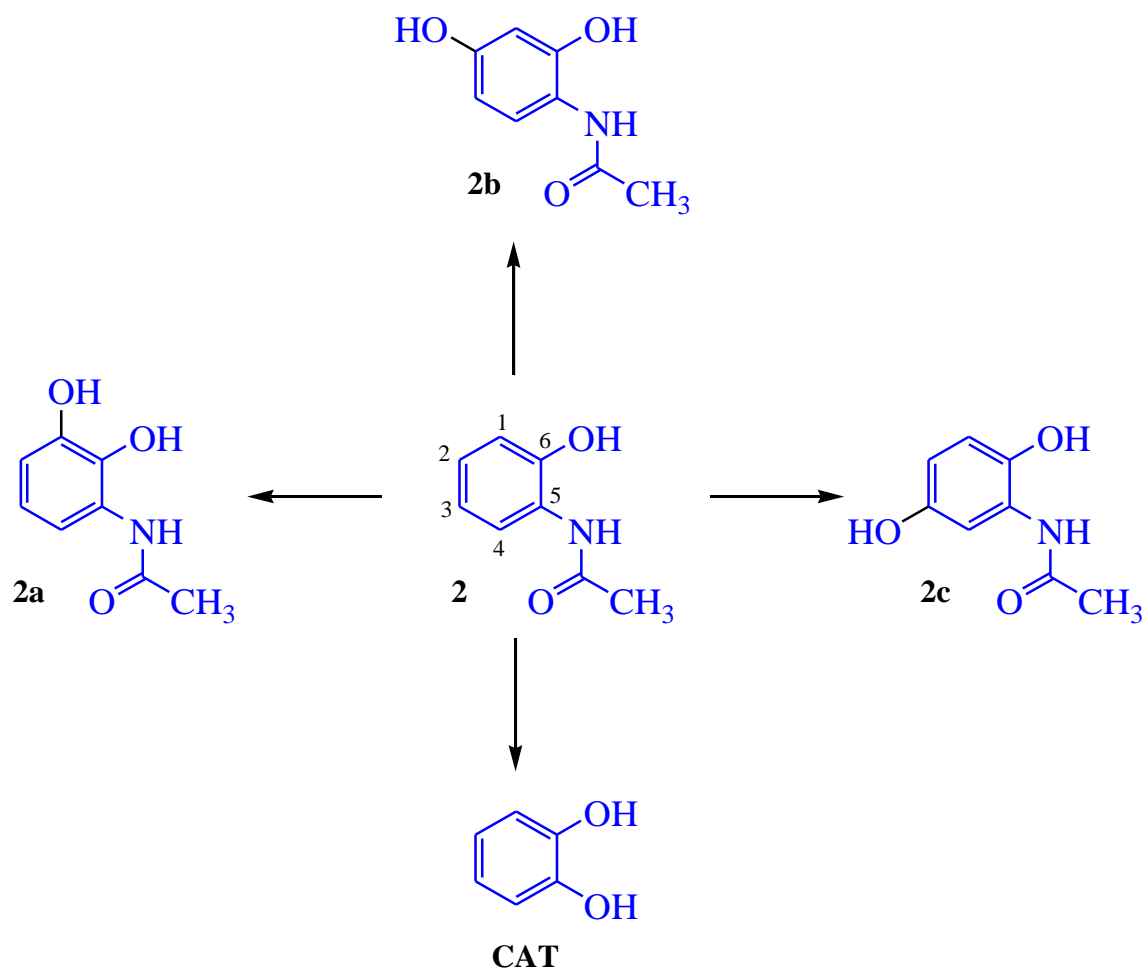


Figura 19: Reações de hidroxilação do ortacetamol.

Estes compostos hidroxilados podem produzir efeitos tóxicos e reações adversas por meio de mecanismo redox. Suas capacidades são comparadas com os compostos iniciais e comparadas entre si usando os valores de orbital molecular de fronteira e potencial de ionização. Estes valores são mostrados na Tabela 1.

De acordo com estes valores, podemos observar que HOMO e PI quando comparados entre si e entre seus compostos iniciais não há diferença significativa. Como o valor de HOMO e PI estão diretamente relacionados com a capacidade de doar elétrons, e a capacidade doadora de elétrons caracteriza o composto como nucleofílico, a nucleofilicidade é relativamente próxima tanto para os derivados do paracetamol quanto para os compostos derivados do ortacetamol.

Tabela 1. Propriedades teóricas dos derivados hidroxilados do paracetamol e ortacetamol.

Compostos	HOMO (eV)	LUMO (eV)	GAP (eV)	PI (kcal/mol)
1	-5,48	-0,08	5,40	165,21
3HP	-5,38	-0,07	5,31	162,12
HQ	-5,41	-0,08	5,33	169,46
2	-5,64	-0,20	5,44	169,10
2a	-5,59	-0,11	5,48	167,52
2b	-5,29	-0,003	5,29	159,74
2c	-5,31	-0,28	5,03	160,94
CAT	-5,63	0,20	5,83	174,99

Apenas PI apresentou um aumento nos valores para o (CAT), e uma diminuição para composto (2b). Já o LUMO que está relacionado com a capacidade de receber elétrons e GAP com a estabilidade do composto, as diferenças mais significativas foram para o (CAT) e para composto (2c). Assim, podemos observar que os compostos hidroxilados formados a partir do

ortacetamol tem uma maior variação entre doadores e receptores de elétrons em possíveis reações por mecanismo redox.

6.3 PLANEJAMENTO DE DERIVADOS POR BLOQUEIO DO METABOLISMO

O planejamento é realizado usando métodos avançados de modelagem molecular que conseguem prever propriedades como: reatividade, solubilidade, entre outros comportamentos moleculares, que são de grande relevância para obter a relação estrutura química e atividade biológica molecular.

Os derivados do ortacetamol foram pensados de forma que proteja a hidroxilação, colocando grupos de diferentes características (Figura 20). Estudos teóricos mostram que a biotransformação de compostos fenólicos pode ser compreendida através da densidade de spin é o potencial de oxidação, formando os derivados hidroxilados.

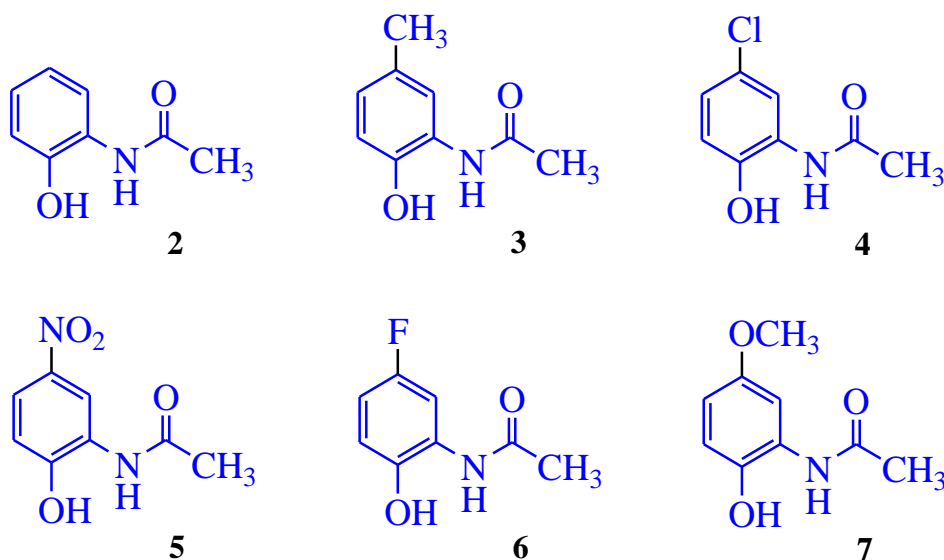


Figura 20: Derivados do ortacetamol propostos para o estudo teórico.

O grupo hidroxila fenólica apresenta maior influência na reatividade química, potencial de ionização e distribuição de spin, em relação a carbonila. Usando a teoria do

funcional da densidade (TFD), com o funcional B3LYP e a base 6-31G (d p), onde foram calculados HOMO e LUMO o potencial de ionização (PI) e a densidade de spin e as respectivas energias de dissociação de ligação EDL_{OH} e EDL_{NH} Tabela 2.

De acordo com estes valores e disposição dos orbitais de HOMO e LUMO e GAP é possível prever teoricamente quais compostos são mais promissores, através das diferenças nos valores obtidos e as regiões dos orbitais, bem como dos grupos funcionais envolvidos na capacidade nucleofílica (Tabela 2).

Tabela 2. Propriedades teóricas dos derivados do ortacetamol 5-substituídos.

Compostos	HOMO (eV)	LUMO (eV)	GAP (eV)	PI (kcal/mol)	EDL_{OH} (kcal/mol)	EDL_{NH} (kcal/mol)
1	-5,48	-0,08	5,40	165,21	85,53	78,18
2	-5,64	-0,20	5,44	169,10	80,20	95,47
3	-5,53	-0,15	5,37	165,32	78,86	91,02
4	-5,85	-0,53	5,31	172,02	79,57	92,80
5	-6,35	-2,11	4,24	183,62	83,16	94,12
6	-5,31	-0,18	5,13	159,34	75,86	94,29
7	-5,73	-0,45	5,27	171,01	78,53	92,62

O potencial de ionização (PI) é a energia necessária para a retirada de um elétron ou doação de um elétron em uma reação redox de uma molécula, podendo assim esses valores teóricos representarem possíveis interação com enzimas antioxidantes. Observamos apenas o composto 6 com valores menores que o ortacetamol e o paracetamol, que teoricamente seria o composto menos reativo da Tabela 2.

Bem com a EDL_{OH} que também indica a reatividade teórica de um composto é importante reportar que todos os compostos tiveram valores de EDL_{OH} menores quando comparado ao paracetamol indicando que mantiveram a característica do composto inicial de ser mais reativo, logo quando comparado os valores de EDL_{NH} que é a energia necessária para a retirada do segundo hidrogênio e a formação do intermediário reativo NAPQI, todos os

valores foram maiores quando comparado ao paracetamol logo todos os valores foram menores quando comparada ao ortacetamol (Tabela 2).

A otimizações da geometria das moléculas foram realizadas usando método DFT devido ao seu excelente compromisso entre o tempo computacional e a descrição da correlação eletrônica (Figura 21). Os cálculos foram realizados utilizando o método B3LYP/6-31G(d,p) com o pacote do software molecular Gaussian 09 e visualizadas com pacote Gaussview 06. Os resultados indicam uma possível conformação da estrutura de menor energia de formação, o mínimo global na superfície de energia, onde a importância de encontrar a conformação que corresponde ao mínimo global se deve por esta ser o candidato mais provável de ser formada. Além disso, os resultados indicam um efeito de ressonância no grupamento amida, exceto no composto 5, onde possivelmente há uma carga negativa maior no oxigênio da carbonila.

Resultados estes importantes para o estudo de estrutura química e atividade biológica, considerando que as moléculas devem ter um certo grau de similaridade, permitindo assim, que as moléculas tenham possivelmente o mesmo mecanismo de interação química entre fármaco e receptor, onde nestes resultados podemos observar uma certa homologia nas estruturas propostas quando comparadas com o protótipo o paracetamol (1), apesar de que, outras propriedades possam variar, principalmente aquelas relacionadas com parâmetros farmacocinéticos e farmacodinâmicos.

Observamos todas as geometrias moleculares otimizadas de todos os grupos (Figura 21), mostrando todas as ressonâncias em posições específicas para cada grupo de compostos com seus respectivos radicais.

Portanto, para uma maior avaliação do potencial molecular desses derivados foi calculado a carga de densidade total, mapa de potencial eletrostáticos (MEPs) (Figura 22). O mapa de potencial eletrostático foi gerado no Gaussview. Nos mostrando perfis energéticos diferentes para cada grupo, todos com perfis mais eletronegativos na região da hidroxila quando na posição *orto* diferenciando os mesmo quando a hidroxila na posição *para*. Isso pode está relacionada com a solubilidade dessas moléculas, pois, podemos observar uma diminuição na solubilidade nos compostos em que a hidroxila está na posição *orto*.

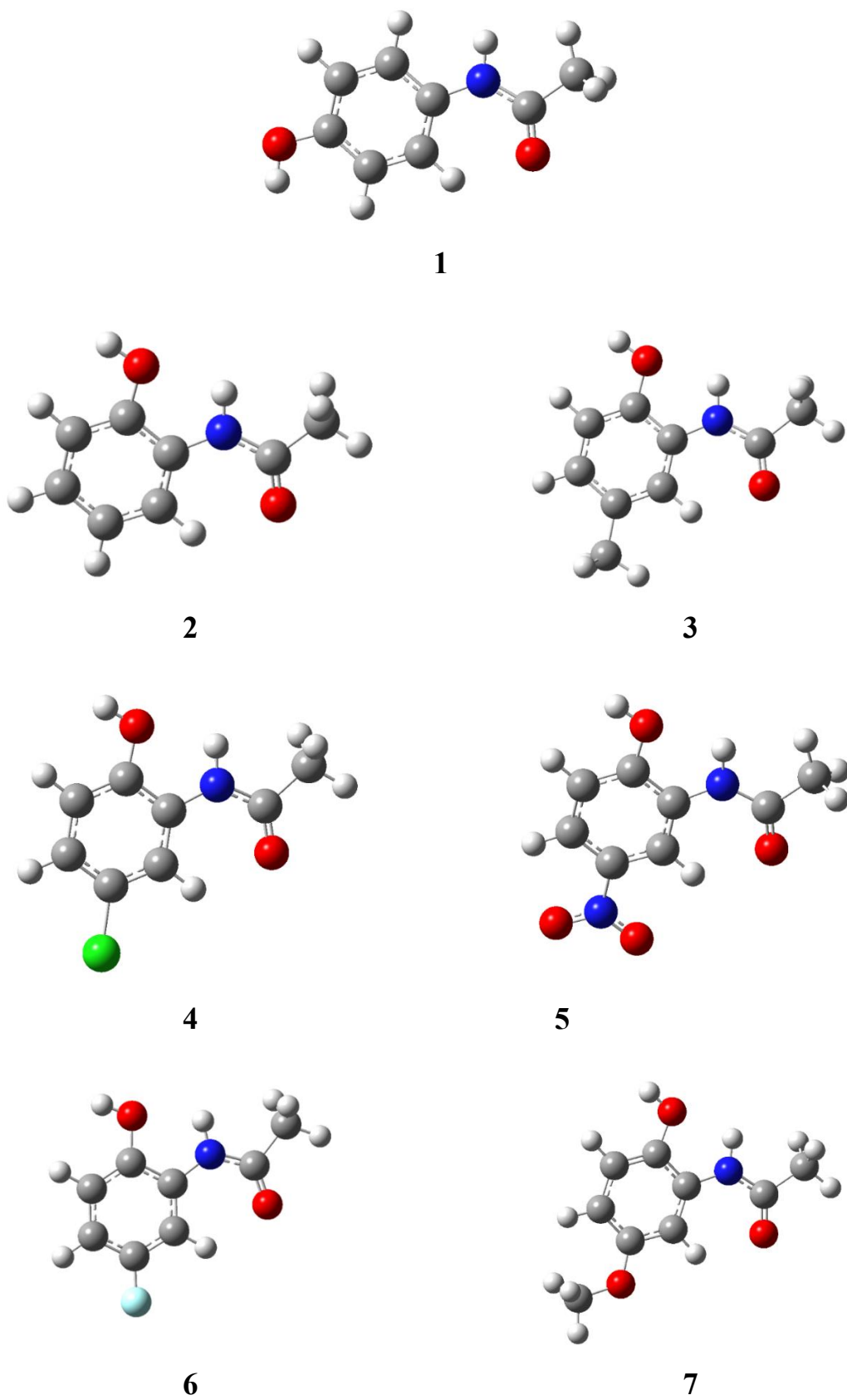


Figura 21: Geometria molecular otimizadas.

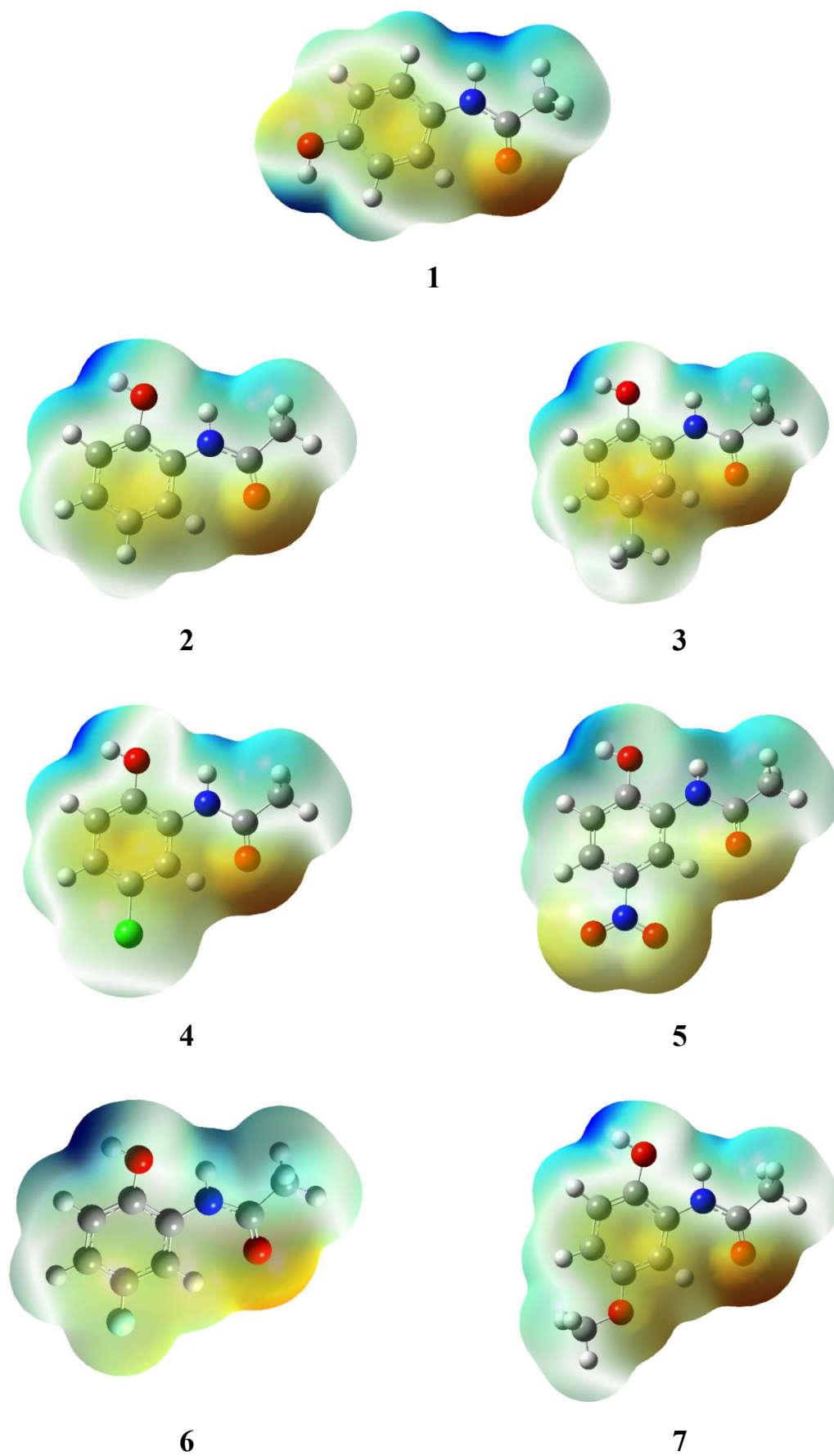


Figura 22: MEPs mapa de potencial eletrostáticos.

Foi calculado o potencial de cargas para o ortacetamol (2) e para os outros 5 derivados e comparados com o paracetamol (1). Uma distribuição de cargas diferentes do paracetamol foi observada, mostrando a influência dos grupos de diferentes características em suas respectivas distribuições de cargas. De igual modo, os derivados do ortacetamol mostraram maior lipofilicidade que o paracetamol (Tabela 3).

Tabela 3. Propriedades teóricas de solubilidade para derivados do ortacetamol 5-substituídos.

Compostos	LogP	CLogP	EH (kcal/mol)
1	0,59	0,49	-10,63
2	0,59	0,74	-8,40
3	1,06	1,25	-7,11
4	1,11	1,81	-7,97
5	0,56	1,27	-12,87
6	0,73	1,24	-8,04
7	0,34	0,87	-9,45

Com base nas características teóricas dos derivados do ortacetamol, escolhemos um para testes biológicos dentre eles o que apresentou melhores resultados foi o composto **4** com o radical cloro, por ser um radical halogênio, portanto, mais volumoso e que por impedimento histérico dificultaria o mecanismo de hidroxilação, um dos mecanismos de toxicidade do paracetamol e ortacetamol.

Além disso, este compostos apresentou os melhores valores de logaritmo de partição (LogP), coeficiente do logaritmo de partição (ClogP) e energia de hidratação (EH), onde os maiores valores de LogP (1,11) e ClogP (1,81) indicando sua maior lipofilicidade, assim como os menores valores de EH (7,97 kcal/mol), representando a menor energia liberada em contato com o solvente aquoso, diretamente relacionado com a lipossolubilidade (Tabela 3).

6.4 SÍNTESE DE DERIVADOS DO ORTACETAMOL

Os derivados do ortacetamol foram obtidos por acilação que é uma reação que resulta na introdução de um grupo acila no composto orgânico de acordo com cada radical desejado, utilizando anidrido acético que possui uma velocidade de reação ideal para acetilação em soluções aquosas (Figura 23).

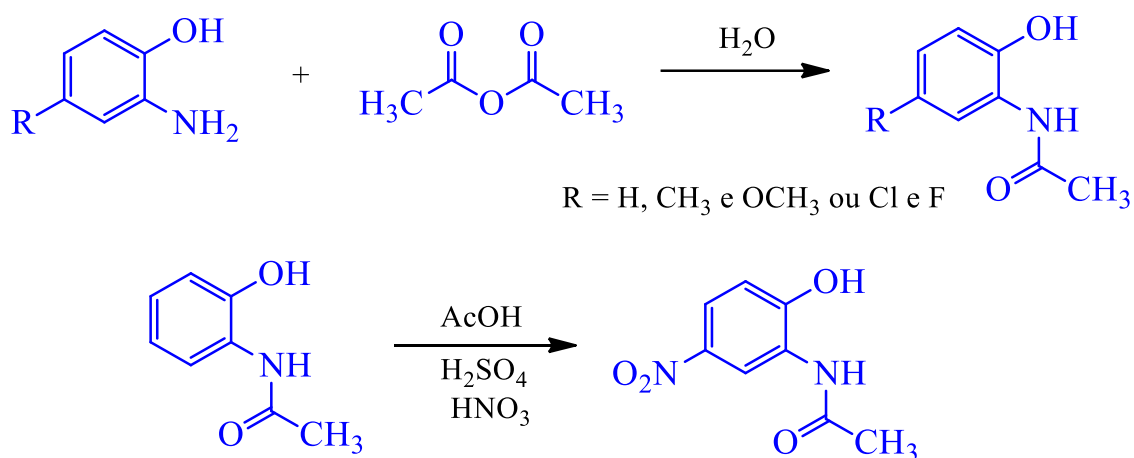


Figura 23: Síntese dos derivados do ortacetamol.

As reações ocorreram em temperatura média de 75°C em constante agitação, usando água como solvente. Os compostos apresentaram excelentes rendimentos, acima 90%. A identificação foi feita pela determinação do ponto de fusão. A espectroscopia de ressonância magnética nuclear de hidrogênio e carbono (RMN H e C) foi usada na caracterização da molécula 4 (ANEXO).

Tabela 4. Propriedades físicas dos derivados do ortacetamol 5-substituídos.

Compostos	Rendimento (%)	p.f. (°C)	p.f. (°C) Literatura	Referencias
2	96	208-209	208-209	Thopate, at al, (2011)
3	92	168-164	168-164	Raiford & Woolfolk, (1994)
4	96	183-184	183-184	Burckhalter, at al, (1948)
5	76	176-182	176-182	Ingold & Ingold, (1926)

6.5 AVALIAÇÃO ANTIOXIDANTE

A capacidade antioxidante do ortacetamol foi comparada ao paracetamol empregando voltametria de pulso diferencial realizados em tampão PBS 0,1 mol L⁻¹ pH 7,0 usando célula eletroquímica de compartimento único contendo três eletrodos.

A Figura 24 mostra que os compostos 1 e 2 são regioisômeros e seus comportamentos eletroquímicos são distintos. Este fato foi, observado nos perfis voltamétricos usando voltametria de pulso diferencial (VPD), através da oxidação dos grupos hidroxila (EDL_{OH}) e amida (EDL_{NH}), sendo observado um processo de oxidação para esse grupo em potenciais mais negativos com valor experimental de 0.48 V para ortacetamol (1) e 0.50 V para o paracetamol (2), indicando maior capacidade antioxidante e de doação de elétron ou hidrogênio do ortacetamol sobre o paracetamol, o que está de acordo com os valores das EDL_{OH}.

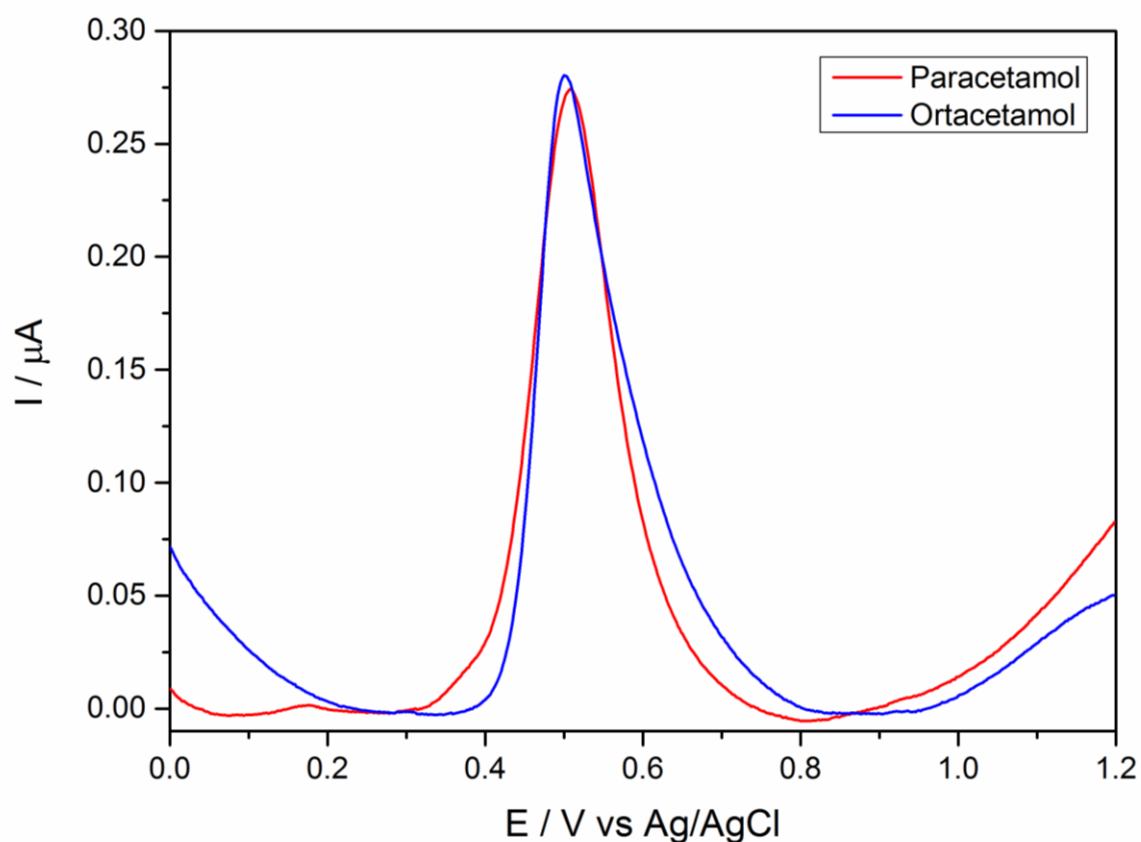


Figura 24: VPD comparativo entre paracetamol e ortacetamol.

Ao compararmos os perfis voltamétricos do ortacetamol (1), derivado do paracetamol (2), mostra que a oxidação dos grupos (EDL_{OH}) e amida (EDL_{NH}) em processo de oxidação em potenciais mais negativos de 0.49, 0.53 e 0.62 V (Figura 25), para o ortacetamol e 0.39, 0.50 e 0.56 V (Figura 26) para o paracetamol, indicando que para o ortacetamol, os valores para o grupo EDL_{NH} são superiores ao paracetamol.

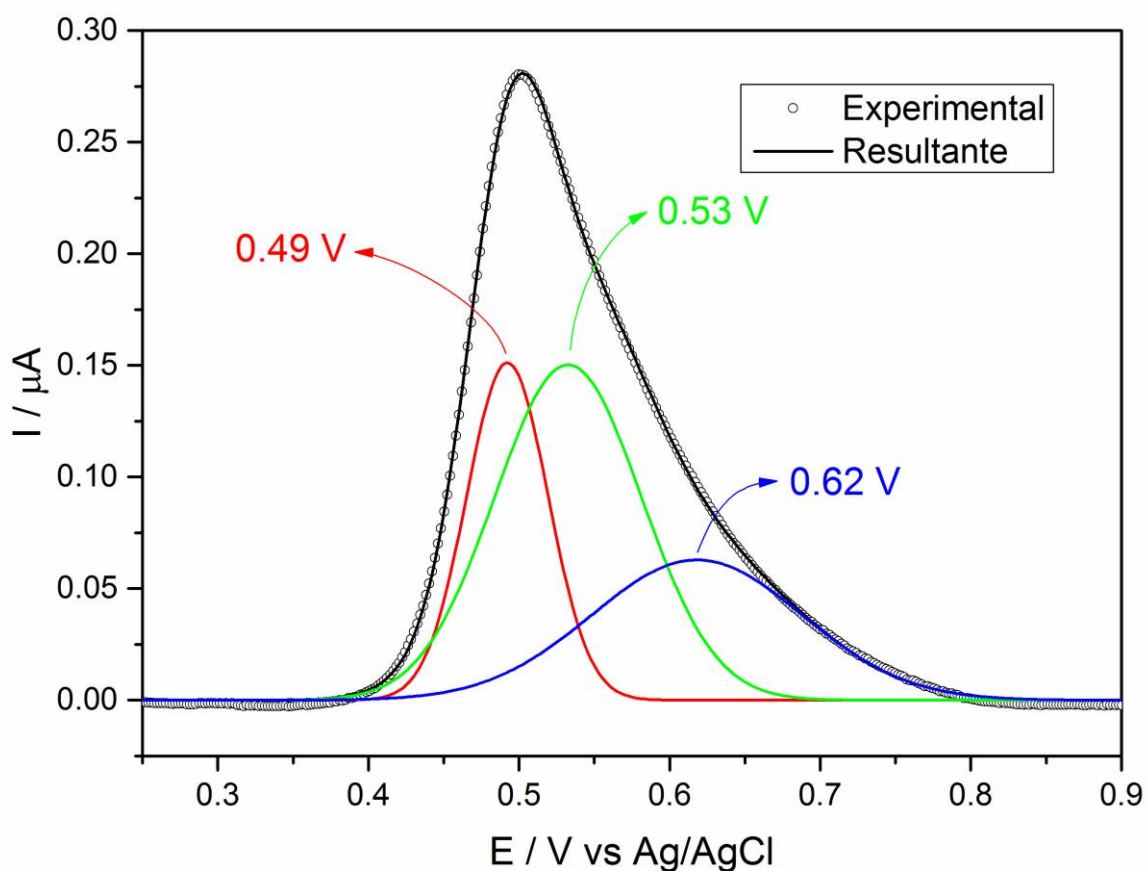


Figura 25: VPD comparativo entre paracetamol e ortacetamol.

Os resultados de voltametria de pulso diferencial (VPD) quando comparados com os valores obtidos pelos cálculos teóricos para as energias de dissociação da ligação fenólica (EDL_{OH}) e amídica (EDL_{NH}), mostram boa correlação entre os métodos de predição e os valores experimentais, indicando que a estratégia de modificação molecular usando o

regioisomerismo seguido pelo bloqueio do metabolismo na posição 5, pode funcionar no processo de desenvolvimento de fármacos mais seguros derivados do paracetamol.

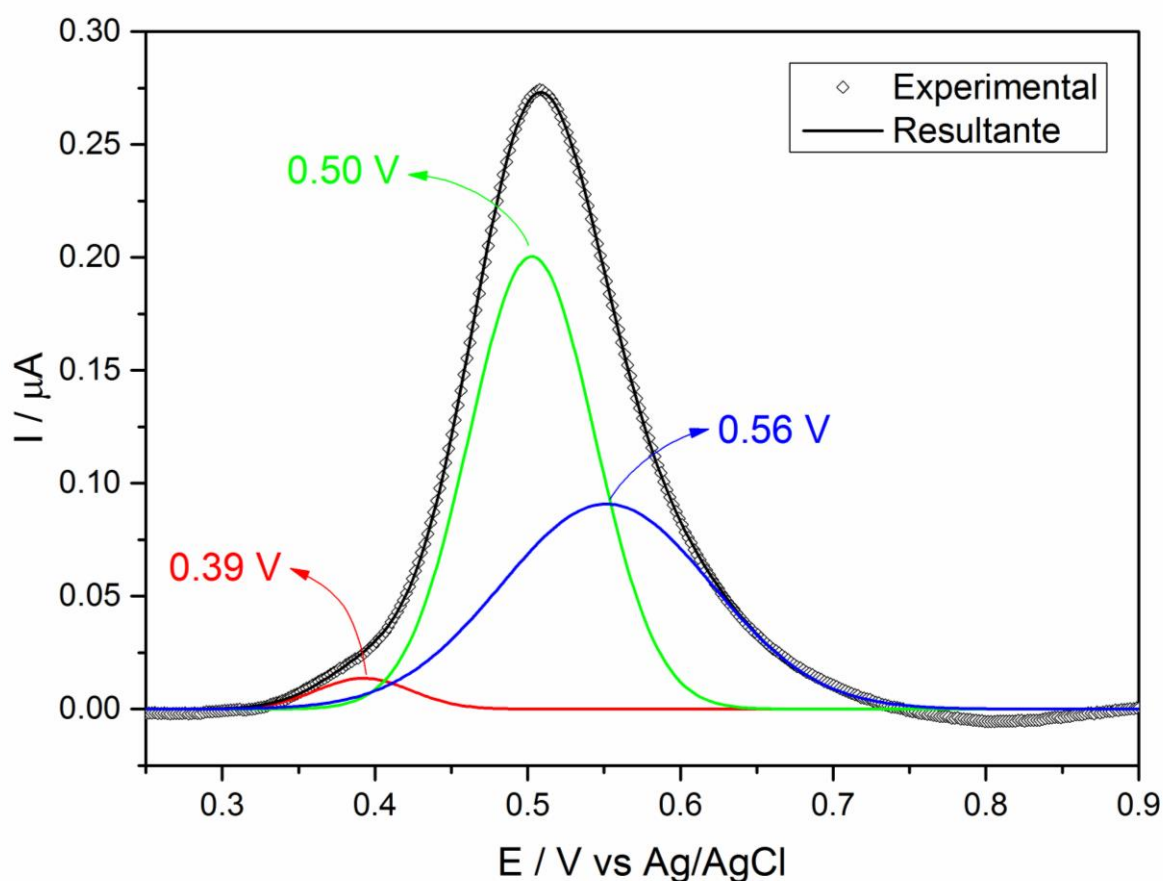


Figura 26: VPD para o paracetamol. Varredura para potenciais mais positivos.

O composto denominado cloramínofen (4) foi avaliado em colaboração com a Profa. Dra. Dielly Catrina Favacho Lopes do Laboratório de Neuropatologia Experimental do Hospital Universitário João de Barros Barreto, mostrando que sua capacidade de causar toxicidade, foi menor quando comparado com o paracetamol. Os resultados estão em fase de finalização para publicação.

7. CONCLUSÃO

Um estudo teórico e experimental para o desenvolvimento de derivados seguros do paracetamol foi executado com sucesso usando diversos métodos de modelagem molecular e modificação estrutural. Os resultados teóricos obtidos neste trabalho permitem concluir que os valores e propriedades obtidos para o ortacetamol, quando comparados com o metabolismo teórico do paracetamol, uma diferença significativa foi observada. Os cálculos mostraram valores menores de energia de dissociação de ligação fenólica (EDL_{OH}) e maiores valores de energia de dissociação de ligação amídica (EDL_{NH}) para o ortacetamol e derivados. Os valores de EDL_{OH} e EDL_{NH} foram relacionados com a atividade biológica e toxicidade, respectivamente. As contribuições de densidade de spin foram capazes de prever a produção de derivados hidroxilados do ortacetamol, que possuem maior potencial tóxico que o paracetamol. Um derivado substituído por um cloro na posição 5, como inibidor do metabolismo por hidroxilação foi proposto e sintetizado para os testes biológicos. Este derivado mostrou maior lipossolubilidade e melhores propriedades que o paracetamol para os valores de EDL_{OH} e EDL_{NH} . As diferenças entre os regioisômeros foram muito favoráveis com maior efeito antioxidante do ortacetamol comparado ao paracetamol, usando o método de voltametria de pulso diferencial. Os resultados indicam que o composto clorado pode ser um potencial candidato bioativo mais seguro que o paracetamol.

REFERÊNCIAS

- AGUIAR, A., FERRAZ, A., CONTRERAS, D., RODRÍGUEZ, J. Mechanism and applications of the fenton reaction assisted by iron-reducing phenolic compounds. *Química Nova*. v. 30, p., 623-628, 2007.
- ALVES, C. N.; BORGES, R. S.; SILVA, A. B. F. D. A. Density Functional Theory Study of Metabolic Derivatives of the Oxidation of Paracetamol. Wiley InterScience. v. 106, p. 2617–2623, 2006.
- ANDERSON, B.J., Paracetamol (Acetaminophen): mechanisms of action. *Paediatr Anaesth*. v. 18, p. 915-921. 2008.
- ANDERSON, B.J.; HOLFORD, N.H.G.; WOOLLARD, G.A.; CHAN, P.L.S. Paracetamol plasma and cerebrospinal fluid pharmacokinetics in children. *Br J Clin Pharmacol*, v. 46, p. 237-43. 1998.
- ARONOFF, D. M.; NEILSON, E. G. Antipyretics: Mechanisms of Action and Clinical Use in Fever Suppression. *The American Journal of Medicine*. v. 111, p. 304-315 2001.
- BARREIRO, E. J.; FRAGA, C. A. M. *Química Medicinal. As bases moleculares da ação dos fármacos*. Porto Alegre: Artmed, 2001.
- BARREIRO, E. J.; FRAGA, C. A. M.; MIRANDA, A. L. P.; RODRIGUES C. R. A química medicinal de N-acilidrazonas: novos compostos-protótipos de fármacos analgésicos, anti-inflamatórios e anti-trombóticos. *Química Nova*, v. 25, p. 129-148, 2002.
- BATEMAN, D. N.; CARROLL, R.; PETTIE, J.; YAMAMOTO, T.; ELAMIN, M.E.M.O.; COYLE, L.; PEART; DOW, M.; CRANFIELD, J. K.R.; HOOK, C.; SANDILANDS E. A.; VEIRIAIAH, A.; WEBB, D.; GRAY, A.; DARGAN, P. I.; WOOD, D. M.; THOMAS S. H. L.; DEAR J. W.; & EDDLESTON, M. Effect of the UK's revised paracetamol poisoning management guidelines on admissions, adverse reactions and costs of treatment. *British Journal of Clinical Pharmacology*. v. 78, p. 610–618 2014.
- BERTOLINI, A.; FERRARI, A.; OTTANI, A.; GUERZONI S.; TACCHI R.; LEONE S.; Paracetamol: New Vistas of an Old Drug. *CNS Drug Reviews*, v. 12, p.250-275, 2006.
- BERTOLINI, A.; FERRARI, A.; OTTANI, A.; GUERZONI, S.; TACCHI, R.; LEONE, S. Paracetamol: New Vistas of an Old Drug. Blackwell Publishing Inc., v. 12, p. 250–275. 2006.
- BLOIS, M.S. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature*. 181: 1199-1200, 1958.
- 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. Design and Evaluation of 4-Aminophenol and Salicylate Derivatives as Free-Radical Scavenger. *Chem. Biol. Drug Des*. v. 81, p. 414-419, 2013.
- BORGES, R. S. Planejamento, síntese e avaliação antioxidante de inibidores fenólicos da pges derivados da associação p-aminofenol e salicilatos. *Doutorado em Biologia Celular*. Universidade Federal do Pará. 2007.

BORGES, R. S.; QUEIROZ, A. N.; MENDES, A. P. S.; ARAÚJO, S. C. Density Functional Theory (DFT) Study of Edaravone Derivatives as Antioxidants. *International Journal of Molecular Sciences* v 13, p. 7594–7606, 2012.

BORGES, R.S.; MENDES, A.P.S.; SILVA, B.H.S.; ALVES, C.N.; NASCIMENTO, J. L.M. A theoretical study of salicylate oxidation for ADME prediction. *Med. Chem. Res.*, v. 20, p. 269-273, 2011.

BRODIE, B.B.; AXELROD, J. The fate of acetanilide in man. *The Journal of pharmacology and experimental therapeutics.*, v. 94, p. 29-38. 1948.

BURCKHALTER J. H., TENDICK F. H., JONES E. M., JONES P. A., HOLCOMB W. F., AND RAWLINS A. L. Aminoalkylphenols as Antimalarials. II.1 (Heterocyclic-amino)- α -amino-o-cresols. *The Synthesis of Camoquin2 Journal of the American Chemical Society.* v. 70 n. 4, p. 1363-1373, 1948.

CALDER, I.C., HART, S.J., HEALEY, K. & HAM, K.N. *N*-hydroxyacetaminophen: A postulated toxic metabolite of acetaminophen. *J. Med. Chem.* 24, p. 988–993, 1981.

CAPARROTTA, T. M.; ANTOINE, D. J.; DEAR, J. W.; ANTOINE, D. J. Are some people at increased risk of paracetamol-induced liver injury? A critical review of the literature. *European Journal of Clinical Pharmacology.* v. 74, p. 147–160, 2018

CHANDRASEKHARAN, N. V.; HU DAI; ROOS, K.L.T.; EVANSON, N.K.; TOMSIK, J.; ELTON, T.S.; SIMMONS, D.L. COX-3, a cyclooxygenase-1 variant inhibited by acetaminophen and other analgesic/antipyretic drugs: cloning, structure, and expression. *Proc Natl Acad Sci U S A.* v. ,99, p. 13926-13931. 2002.

CHOI, S. J.; MOON, S.; CHOI, U. Y.; CHUN Y. H.; LEE J. H.; RHIM J. W.; LEE J.; KIM H. M. & D. C. JEONG. The antipyretic efficacy and safety of propacetamol compared with dexibuprofen in febrile children: a multicenter, phase 3 clinical trial. *BMC Pediatrics.*, p. 1–7, 2018.

CHOU, Y.C; LIN, S.Y.; CHEN, T.J.; CHIANG, S.C.; JENG, M.J.; CHOU, L.F.; Dosing variability in prescriptions of acetaminophen to children: comparisons between pediatricians, family physicians and otolaryngologists. *BMC Pediatrcs.* v, 13 p, 1471-2431 2013.

CRAIG, D. G. N.; BATES, C. M.; DAVIDSON, J. S.; MARTIN, K. G.; HAYES P. C. & SIMPSON, K. J. Staggered overdose pattern and delay to hospital presentation are associated with adverse outcomes following paracetamol- induced hepatotoxicity *British Journal Clinical Pharmacology* v. 73 p. 285–294, 2011.

DART, R. C.; PH, D.; BAILEY, E. Does Therapeutic Use of Acetaminophen Cause Acute Liver Failure?, *Pharmacotherapy* v. 27, n. 9, p. 1219–1230, 2007.

DINIZ, J. E. M., BORGES, R. S., NAHUM, C. N. A DFT study for paracetamol and 3,5-disubstituted analogues. *J Mol Struct (TheoChem).* v.673, p.93-97, 2004.

DONG, H., HAINING, R. L., THUMMEL K. E., RETTIE, A. E. & NELSON, S. D. Involvement of Human Cytochrome P450 2D6 in the Bioactivation of Acetaminophen Drug Metabolism and Disposition. v. 28 p. 1397-1400, 2000.

DONG, H.; HAINING, R.L.; THUMMEL, K.E.; RETTIE, A.E.; NELSON, S.D. Involvement of Human Cytochrome P450 2D6 in the Bioactivation of Acetaminophen. *Drug Metabolism and Disposition*. v. 28 p. 1397-1400. 2000.

DUFFY, J.R.; DEARDEN, J.C.; ROSTRON, C. Design, synthesis and biological testing of a novel series of anti-inflammatory drugs. *Pharm. & Pharmacol.* v.53, p.1505-1514, 2001.

FERNANDO, C.R., CALDER, I.C. & HAM, K.N. Studies on the mechanism of toxicity of acetaminophen. Synthesis and reactions of N-acetyl-2,6-dimethyl- and Nacetyl - 3,5-dimethyl-p-benzoquinone imines. *J. Med. Chem.* 23, p.1153-1158, 1980.

FORTE, A. J., WILSON, J. M., SLATTERY, J. T. & NELSON, S. D. The formation and toxicity of catechol metabolites of acetaminophen in mice. *Drug Metabolism and Disposition*. v. 12, p. 484-491, 1984.

FRISCH, M. J., TRUCKS, G. W., SCHLEGEL, H. B., SCUSERIA, G. E., ROBB, M. A., CHEESEMAN, J. R., & NAKATSUJI, H. Gaussian 09 Revision D. 01. Gaussian Inc. Wallingford CT. 2009.

GRAHAM, G.G.; DAVIES, M.J.; DAY, R.O.; MOHAMUDALLY, A.; SCOTT, K.F. The modern pharmacology of paracetamol: therapeutic actions, mechanism of action metabolism, toxicity and recent pharmacological findings. *Inflammopharmacology*, v. 21, p. 201-32. 2013.

HINSON, J. A.; ROBERTS, D. W.; JAMES, L. P. Mechanisms of Acetaminophen-Induced Liver Necrosis. *Handbook of experimental pharmacology*. v. 196 p. 369-405. 2010

HURTADO-GONZALEZ, P.; ANDERSON, R. A.; MACDONALD, J.; et al. Effects of Exposure to Acetaminophen and Ibuprofen on Fetal Germ Cell Development in Both Sexes in Rodent and Human Using Multiple Experimental System, p. 1-17, 2016.

JOZWIAK-BEBENISTA, M.; NOWAK, J. Z. Paracetamol: Mechanism of action, applications and safety concern. *Acta Poloniae Pharmaceutica - Drug Research*, v. 71, n. 1, p. 11-23, 2014.

KOROLKOVAS, A. *Essentials of Medicinal Chemistry*. 2. ed. New York: Wiley, 1988.

KULMACZ, R. J., PALMER, G., TSAI, A. L. Prostaglandin H synthases: perturbation of the tyrosyl radical as a probe of anticyclooxygenases agents. *Molecular Pharmacology*. v. 40, p. 833 - 837, 1991.

LANCASTER, E.M.; HIATT, J.R.; ZARRINPAR, A. Acetaminophen hepatotoxicity: an updated review. *Archives of toxicology*. v. 89, P.193-199, 2015.

LOWN, J. W., CHEN, H.-H., & PLAMBECK J. A., ACTON, E. M. Further studies on the generation of reactive oxygen species from activated anthracyclines and the relationship to cytotoxic action and cardiotoxic effects. *Biochemrcal Pharmncdogy*, v. 31, p. 575-581, 1982.

MADRIGAL-SANTILLÁN, E.; MADRIGAL-BUJAI DAR, E.; ÁLVAREZ-GONZÁLEZ, I.; et al. Review of natural products with hepatoprotective effects. v. 20, n. 40, p. 14787-14804, 2014.

MOWRY, J. B.; SPYKER, D. A.; JR, L. R. C.; MCMILLAN N.; & FORD, M. 2013 Annual Report of the American Association of Poison Control Centers National Poison Data System (NPDS): 31st Annual Report 2013Annual Report of the American Association of Poison Control Centers National Poison Data System (NPDS): 31st Annual Report., v. 3650, 2015.

NAM, T.; NARA, S. J.; ZAGOL-IKAPITTE, I.; COOPER, T., VALGIMIGLI, L., OATES, J. A., PORTER, N. A., BOUTAUD, O. & PRATT D. A. Pyridine and pyrimidine analogs of acetaminophen as inhibitors of lipid peroxidation and cyclooxygenase and lipoxygenase catalysis. *Org Biomol Chem.* v. 7, p. 5103–5112, 2010.

NIKLES, C. J.; YELLAND, M.; MAR, C. DEL; WILKINSON, D. The Role of Paracetamol in Chronic Pain: An Evidence-Based Approach. *American Journal of Therapeutics*, v. 91, p. 80–91, 2005.

PANCOTE, C. G. Planejamento, síntese e avaliação biológica de derivados pirrólicos com potencial atividade antiinflamatória. 2009. 121 f. Tese (Programa de Pós-Graduação em Fármaco e Medicamentos), Universidade de São Paulo, São Paulo.

RANG, H. P. VOEUX, P. L. & MOREIRA, A. J. M. S. *Farmacologia*. [trad.] 5ª Edição. Rio de Janeiro: Elsevier, 2004.

RAIFORD L. C. and WOOLFOLK C. M. Steric hindrance in the migration of acyl from nitrogen to oxygen *Journal of the American Chemical Society*, v. 46 n. 10, p. 2246-2255 **1924**.

SANAKA, M.; KUYAMA, Y.; YAMANAKA, M.; Guide for judicious use of the paracetamol absorption technique in a study of gastric emptying rate of liquids. *Journal Gastroenterol*, V. 33, p. 785-91 1998.

SANT'ANNA, C. M. R. Glossário de termos usados no planejamento de fármacos (recomendações da IUPAC para 1997). *Química Nova*, v. 25, p. 505-512, 2002.

STILLINGS, M.; HAVLIK, I.; CHETTY, M.; CLINTON, C.; SCHALL, R.; MOODLEY, I.; MUIR, N.; LITTLE, S. Comparison of the pharmacokinetic profiles of soluble aspirin and solid paracetamol tablets in fed and fasted volunteers. *Current Medical Research and Opinion*. v.16, p. 115–124, 2000.

THE MERCK INDEX: An Encyclopedia of Chemicals, Drugs, and Biologicals. Editado por Maryadele J. O'Neil, Royal Society of Chemistry (Great Britain), 15 ed., 2013.

TIRMENSTEIN, M. A.; NELSON, S.D.; Acetaminophen-induced Oxidation of Protein Thiols. *The Journal of Biological Chemistry*. v. 265, n. 6, p. 3059–3065, 1990.

VAN DE STRAAT, R., DE VRIES, J., KULKENS, T., DEBETS, A. J. J., VERMULEN, N. P. E. Paracetamol, 3-monalkyl and 3,5-dialkyl derivatives comparison of their microsomal cytochrome P-450 dependent oxidation and toxicity in freshly isolated hepatocytes. *Biochem Pharmacol*. V. 35, p. 3693-3699, 1986.

WAHBA, H. The Antipyretic Effect of Ibuprofen and Acetaminophen in Children. *Pharmacotherapy*. v. p. 5–9, 2004.

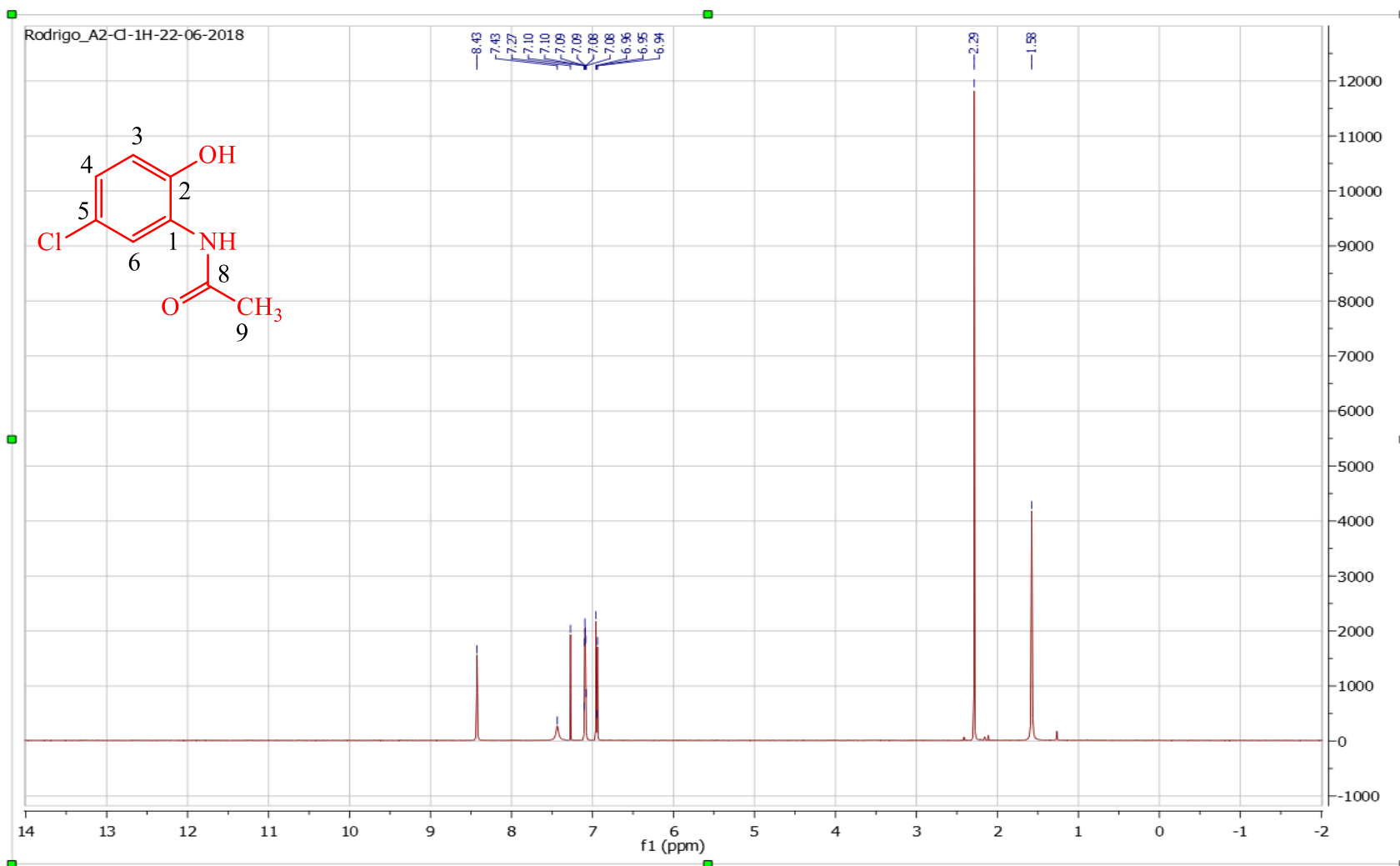
WALLACE, K. B. Doxorubicin-Induced Cardiac Mitochondrionopathy. v. 93, p. 105–115, 2003.

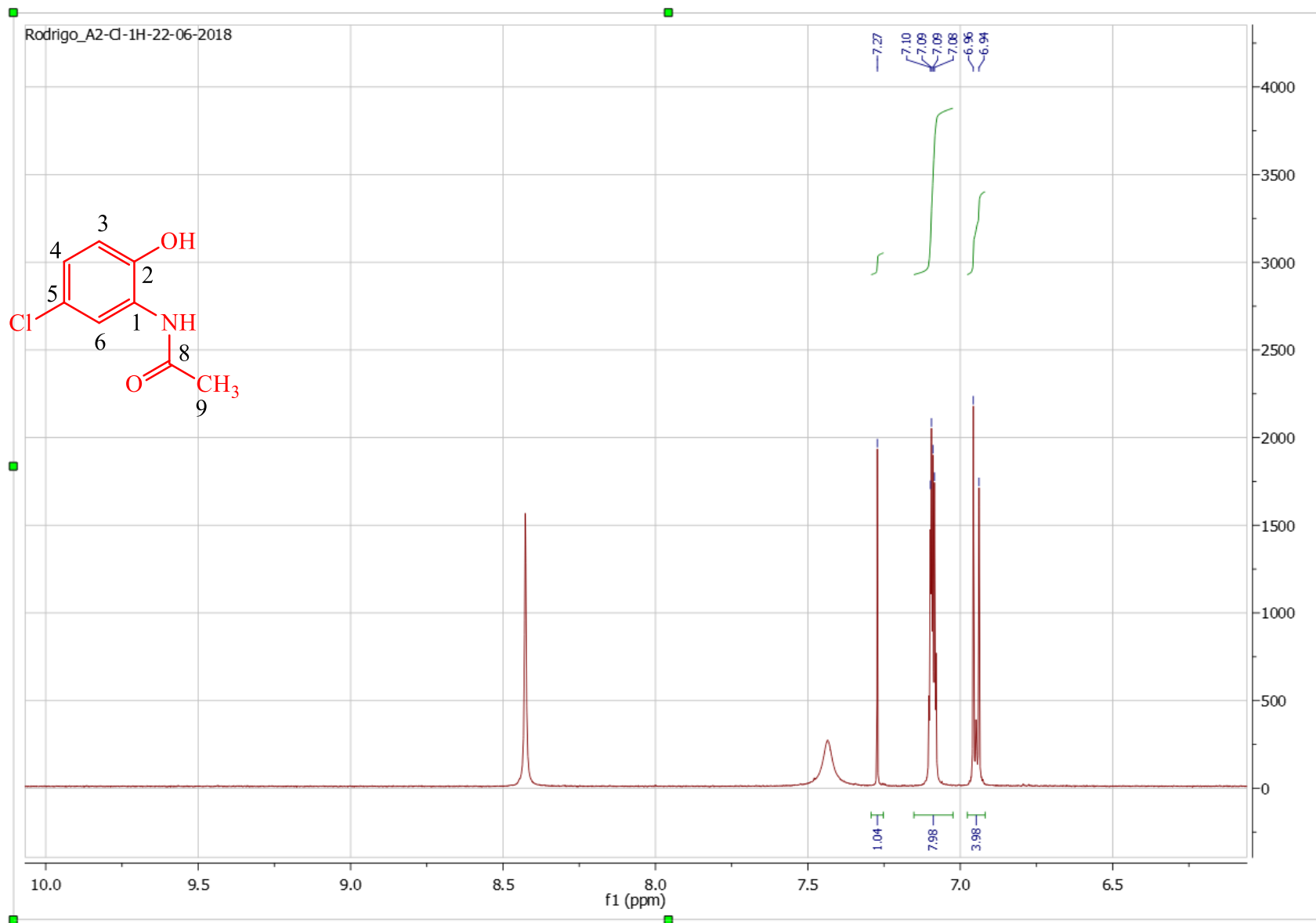
WELLS P.G., WILSON B., WINN L.M. & LUBEK B.M. In vivo murine studies on the biochemical mechanism of acetaminophen cataractogenicity. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*. p. 1123–1129, 1995.

XU, J. J.; HENDRIKS, B. S.; ZHAO, J.; GRAAF, D. DE. Multiple effects of acetaminophen and p38 inhibitors: Towards pathway toxicology. v. 582, p. 1276–1282, 2008.

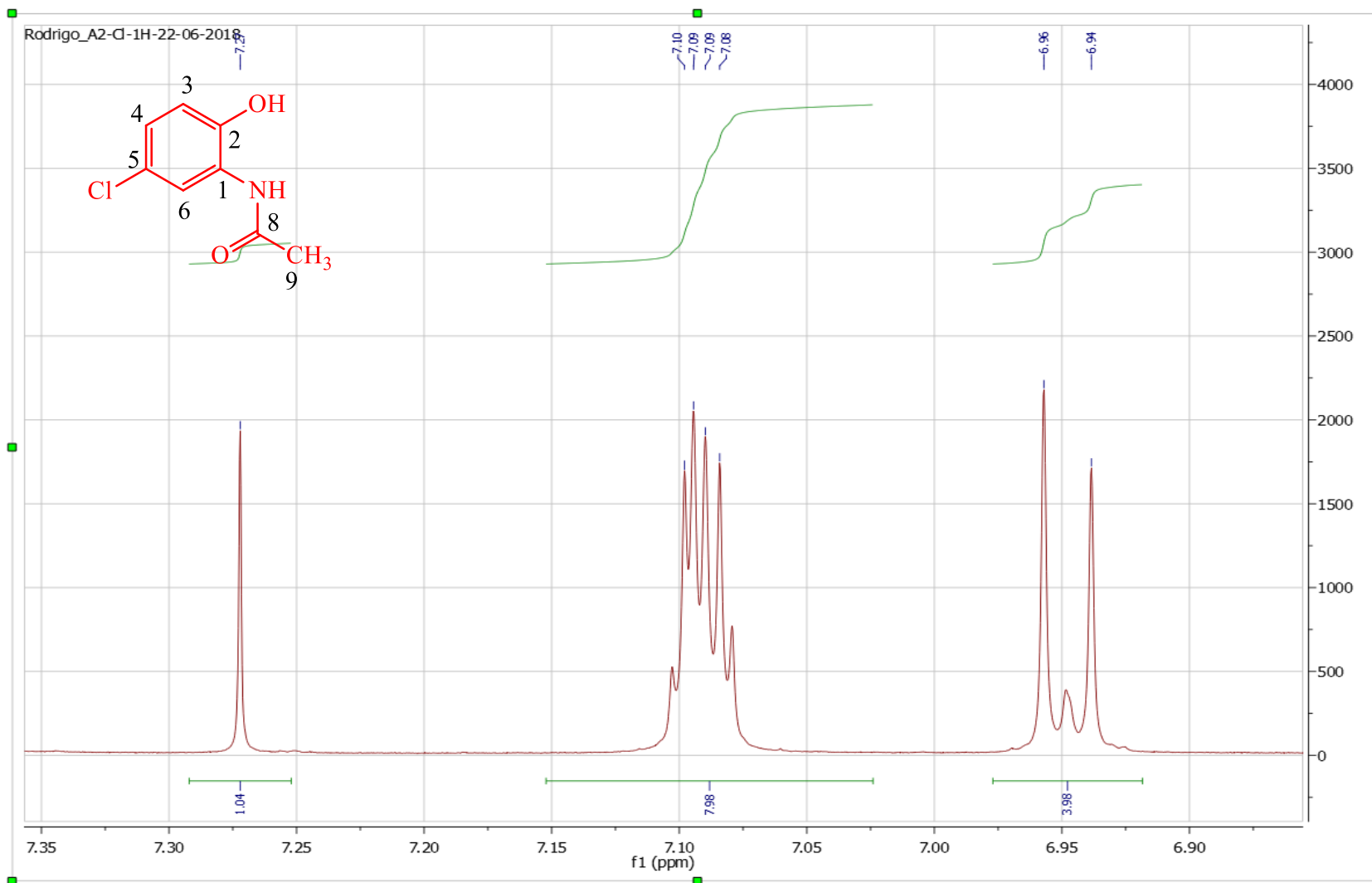
ANEXOS

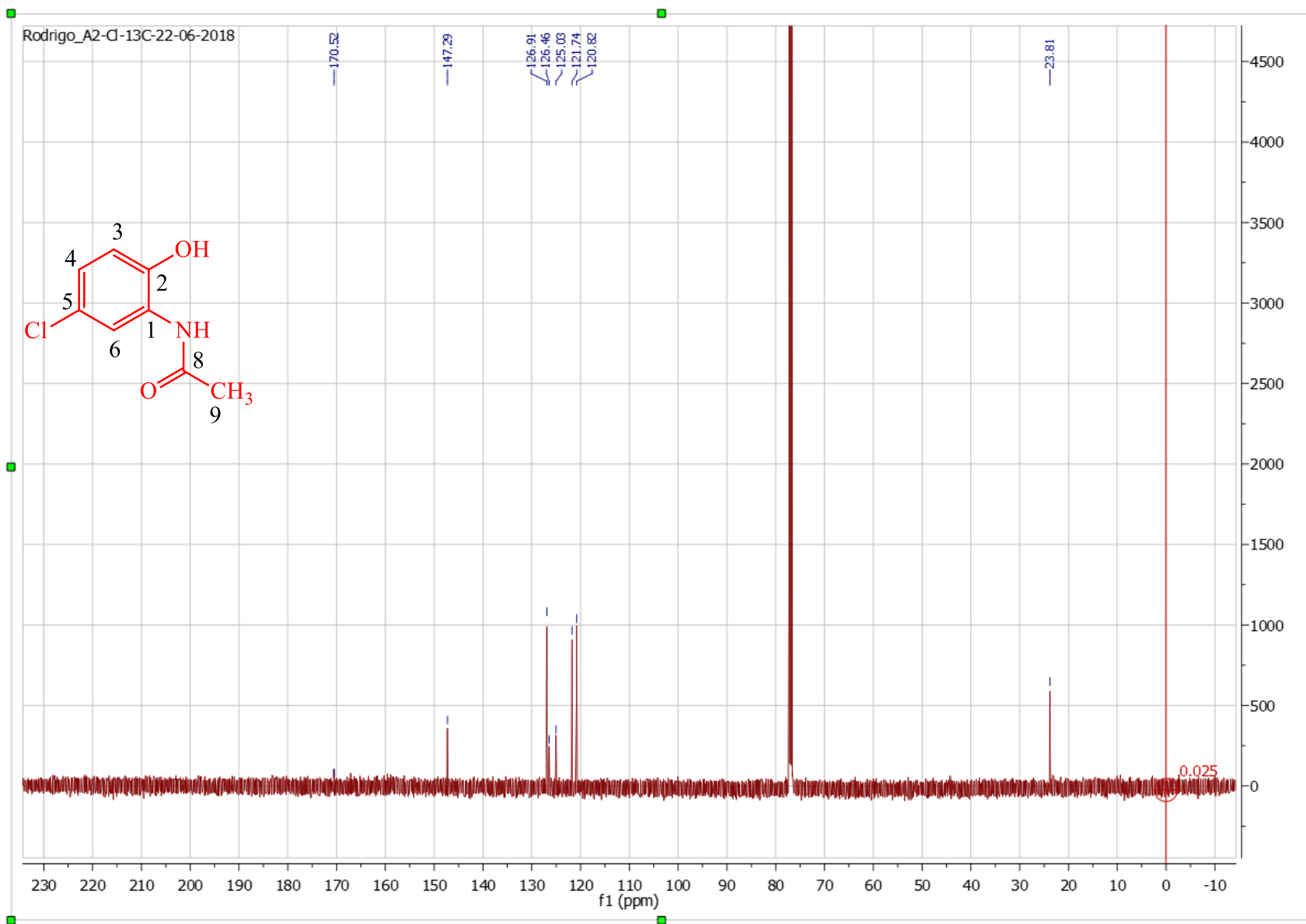
RMN H S4





RMN C S4





RMN DEPT S4

