

UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA  
FACULDADE DE CIÊNCIAS DA SAÚDE  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

THAIS DE ARAUJO MARQUES FERREIRA

SÍNTESE E AVALIAÇÃO FARMACOLÓGICA DE NOVOS LIGANTES PPAR  
PLANEJADOS A PARTIR DO CARDANOL

Brasília

2014

THAIS DE ARAUJO MARQUES FERREIRA

SÍNTESE E AVALIAÇÃO FARMACOLÓGICA DE NOVOS LIGANTES PPAR  
PLANEJADOS A PARTIR DO CARDANOL

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Faculdade de Saúde, Universidade de Brasília, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

Orientador: Dr. Luiz Antonio Soares Romeiro

BRASÍLIA

2014

Autorizo a reprodução e divulgação apenas do resumo deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletrônico, para fins de ensino, estudo ou pesquisa, desde que citada a fonte.

### Catálogo da Publicação

Ficha Catalográfica

THAIS DE ARAUJO MARQUES FERREIRA

SÍNTESE E AVALIAÇÃO FARMACOLÓGICA DE NOVOS LIGANTES PPAR  
PLANEJADOS A PARTIR DO CARDANOL

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Faculdade de Ciências da Saúde, Universidade de Brasília, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

Aprovado em 8 de agosto de 2014.

**Banca Examinadora**

---

Prof. Dr. Luiz Antonio Soares Romeiro - Universidade de Brasília – UnB

---

Profa. Dra. Maria Laura Bolognesi - Alma Mater Studiorum Università di  
Bologna – UNIBO

---

Profa. Dra. Marie Togashi - Universidade de Brasília – UnB

---

Profa. Dra. Angélica Amorim Amato - Universidade de Brasília – UnB

*Essa dissertação é dedicada a meus pais, Ana Marta, Ronan e André,  
incentivadores do meu futuro, e a meu irmão Matheus, melhor amigo de todas  
as horas.*

## AGRADECIMENTOS

À Deus, pela constante presença, pelas bênçãos a mim concedidas e pela realização de mais um sonho.

Aos meus pais, Ana Marta, Ronan e André, palavras não são suficientes para expressar minha gratidão por todo o apoio, estímulo e amor incondicional.

A meu irmão, Matheus, pelos momentos de força, descontração e amizade.

Ao Prof. Dr. Luiz Romeiro pela paciência, orientação, discussões teóricas, pelas oportunidades engrandecedoras e por todo o aprendizado. Obrigado por me ajudar a trilhar o caminho da Química Medicinal.

Aos meus amigos do LADETER pelo incentivo, convivência e companheirismo.

Aos meus amigos da universidade e a meus irmãos filhos de outros pais, Lígia, Rodrigo, Thaís, Jordana e Letícia por estarem sempre presentes, pelos momentos de lazer, pelo incentivo e amor transmitidos.

À Prof. Dra. Silvia Alcanfor e Margareth Amaral dos Santos Marques da Central Analítica da Universidade Católica de Brasília (UCB) pela realização dos espectros no Infra-vermelho (IV) e pesagem das amostras.

Ao Prof. Dr. Edilberto Silveira e Msc. Patrícia Nascimento do Centro Nordestino de Aplicação e Uso de Ressonância Magnética Nuclear (CENAUREMN) da Universidade Federal do Ceará pela concessão dos espectros de RMN  $^1\text{H}$  e RMN  $^{13}\text{C}$ .

À Prof. Dra. Carolyn Cummins e Lilia Magomedova do Nuclear Hormone Receptors in Human Health and Disease da Universidade de Toronto (UofT) pela realização dos ensaios farmacológicos.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoas de Nível Superior (Capes) pela concessão de bolsa de estudos.

Ao CNPq (Br, #473389/2009-6 e 490203/2012-4) pelo apoio financeiro.

À banca examinadora por aceitar o convite, e desde já pelas críticas e contribuições no enriquecimento do trabalho.

## RESUMO

FERREIRA, Thais de Araujo Marques Ferreira. **Síntese e Avaliação Farmacológica de Novos Ligantes PPAR Planejados a Partir do Cardanol**. Brasília, 2014. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Faculdade de Ciências da Saúde. Universidade de Brasília, Brasília, 2014.

Os receptores ativados por proliferadores peroxissomais, PPAR $\alpha$  e PPAR $\gamma$ , atuam como fatores de transcrição, regulando processos metabólicos envolvidos na dislipidemia e diabetes. Uma vez que as atuais terapias medicamentosas destinadas a este fim apresentam limitações, a busca por novos ligantes PPAR tem sido alvo de intensas pesquisas. No âmbito de uma linha de pesquisa que visa a utilização de lipídeos fenólicos do LCC no planejamento racional de novos ligantes, descrevemos o planejamento, a síntese e a avaliação farmacológica de novos ligantes PPAR obtidos a partir do cardanol. A estratégia sintética levou à obtenção de dois intermediários e dezenove derivados em rendimentos que variaram de 62% a 99%. Os resultados farmacológicos referentes à ativação de PPAR $\alpha$ , PPAR $\beta/\delta$  e PPAR $\gamma$  evidenciaram a capacidade dos ligantes atuarem como ativadores de transcrição, com EC<sub>50</sub> variando de 0,20  $\mu$ M a 42,70  $\mu$ M. Os ésteres derivados, LDT15 (**24**, EC<sub>50</sub> 3,45  $\mu$ M ) e LDT480 (**32**, 3,90  $\mu$ M), apresentaram melhor perfil transcricional em PPAR $\alpha$  com atividade de agonistas parciais. Considerando a atividade como agonistas totais frente à PPAR $\gamma$  destacaram-se os derivados  $\beta$ -oxácido LDT477 (**34**, EC<sub>50</sub> 14,0  $\mu$ M) e o diéster LDT480 (**32**, 21,0  $\mu$ M). LDT480 (**32**) também foi considerado o composto mais ativo para PPAR $\beta/\delta$ , sendo caracterizado como um “pan-agonista”. Os referidos derivados levaram à expressão de genes relacionados à captação (FABP1 e CD36) e oxidação (FgF1, PDK4 e CPT1) de ácidos graxos em hepatócitos primários, e foram considerados indutores de adipogênese em células 3T3-L1. Estudos em osteoblastos, sobre a cascata inflamatória, bem como na modulação de secretases e avaliação farmacológica *in vivo* dos melhores compostos compreendem às perspectivas deste trabalho para validação do planejamento estrutural visando a obtenção de agonistas duais PPAR $\alpha/\gamma$ .

**Palavras-chave:** Diabetes; PPAR; LCC; Cardanol.

## ABSTRACT

FERREIRA, Thais de Araujo Marques Ferreira. **Synthesis and Pharmacological Evaluation of New PPAR Ligands Designed From Cardanol**. Brasília, 2014. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Faculdade de Ciências da Saúde. Universidade de Brasília, Brasília, 2014.

The peroxisome proliferator activated receptors, PPAR $\alpha$  and PPAR gamma, act as transcription factors, regulating metabolic processes involved in dyslipidemia and diabetes. Once the current drug therapies have limitations, the search for new PPAR ligands has been the subject of intense research. In the scope of a research program aiming to use the CNSL phenolic lipids, we describe the design, synthesis and pharmacological evaluation of novel PPAR ligands obtained from cardanol. The synthetic strategy led to obtaining two intermediate nineteen derivatives in yields ranging from 62% to 99%. The pharmacological results concerning the activation of PPAR $\alpha$ , PPAR $\beta$  /  $\delta$  and PPAR showed the ability of the ligands to acting as activators of transcription, with EC<sub>50</sub> ranging from 0.20  $\mu$ M to 42.70  $\mu$ M. The ester derivatives, LDT15 (**24**, EC<sub>50</sub> 3.45  $\mu$ M) and LDT480 (**32**, EC<sub>50</sub> 3.90  $\mu$ M), showed better PPAR $\alpha$  transcriptional profile with partial agonist activity. Considering the activity as full agonists front PPAR highlights were derived  $\beta$ -oxyacid LDT477 (**34**, EC<sub>50</sub> 14,0  $\mu$ M) and the diester LDT480 (**32**, 21,0  $\mu$ M). LDT480 (**32**) was also considered the most active compound for PPAR $\beta$  /  $\delta$ , being characterized as a "pan-agonist." The derivatives led to the expression of genes related to uptake (FABP1 and CD36) and oxidation (FgF1, PDK4 e CPT1) of fatty acids in primary hepatocytes, and were considered inducers of adipogenesis in 3T3-L1 cells. Studies in osteoblasts on the inflammatory cascade, as well as the modulation of secretases, and *in vivo* pharmacological evaluation of lead compounds are the perspectives of this work to validate the structural design aimed to obtaining dual agonists of PPAR $\alpha$ / $\gamma$ .

**Keywords:** Diabetes; PPAR; CNSL; Cardanol.

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1:</b>	Estrutura molecular do pan-agonista, bezafibrato (1).	22
<b>Figura 2:</b>	Domínios funcionais da estrutura molecular dos Receptores Nucleares, incluindo região amino terminal, DBD, hinge, LBD e região carbóxi-terminal.	23
<b>Figura 3:</b>	Ilustração do mecanismo de ativação da expressão gênica pelo PPAR e seus efeitos regulatórios de transcrição.	24
<b>Figura 4:</b>	Cascata de ativação do receptor de insulina.	26
<b>Figura 5:</b>	Estrutura molecular das tiazolidinadionas, agonistas sintéticos PPAR $\gamma$ .	27
<b>Figura 6:</b>	Estrutura molecular dos compostos constituintes da classe de medicamentos fibratos, agonistas sintéticos PPAR $\alpha$ .	29
<b>Figura 7:</b>	Constituintes do Líquido da Casca da Castanha de Caju: ácidos anacárdicos (9), cardanóis (10), cardóis (11) e metilcardóis (12).	32
<b>Figura 8:</b>	Possibilidades de modificação na estrutura do cardanol (10).	33
<b>Figura 9:</b>	Estrutura molecular de agonistas sintéticos duais PPAR $\alpha/\gamma$ .	34
<b>Figura 10:</b>	Numeração e legendas empregadas no assinalamento de sinais em RMN $^1\text{H}$ e RMN $^{13}\text{C}$ .	45
<b>Figura 11:</b>	Derivados-alvo sintetizados a partir do cardanol monoinsaturado (10)	64
<b>Figura 12:</b>	Atividade transcricional em PPAR $\alpha$ dos compostos da série pentadecila a 50,0 $\mu\text{M}$ em células HEK293. Sendo os veículos, EtOH e DMSO, e o controle positivo, GW7647 a 10,0 nM. Resposta do veículo evidenciada pela linha tracejada.	80
<b>Figura 13:</b>	Estrutura molecular do controle positivo GW7647,	80

	ativador de PPAR $\alpha$ .	
<b>Figura 14:</b>	Atividade luciferase dos compostos LDT15 ( <b>24</b> ), LDT16 ( <b>25</b> ), LDT408 ( <b>26</b> ) e LDT409 ( <b>27</b> ) comparadas através de curva dose-resposta, em relação ao controle GW7647.	81
<b>Figura 15:</b>	Atividade transcricional em PPAR $\alpha$ dos compostos da série octila testados a 50,0 $\mu$ M em células HEK293. Sendo os veículos, EtOH e DMSO, e GW7647 a 10,0 nM como controle positivo. Resposta do veículo evidenciada pela linha tracejada.	82
<b>Figura 16:</b>	Atividade luciferase dos compostos LDT477 ( <b>34</b> ) e LDT480 ( <b>32</b> ) comparadas através de curva dose-resposta, em relação ao controle GW7647.	83
<b>Figura 17:</b>	Atividade transcricional em PPAR $\beta/\delta$ dos compostos da série pentadecila em células HEK293. Sendo os veículos, EtOH e DMSO, e GW0742 a 25,0 nM (controle positivo). Resposta do veículo evidenciada pela linha tracejada.	84
<b>Figura 18:</b>	Atividade transcricional em PPAR $\beta/\delta$ dos compostos da série octila, em células HEK293. Sendo os veículos, EtOH e DMSO, e e GW0742 a 25,0 nM (controle positivo). Resposta do veículo evidenciada pela linha tracejada.	84
<b>Figura 19:</b>	Estrutura molecular do controle positivo GW0742, ativador de PPAR $\beta$ .	85
<b>Figura 20:</b>	Atividade transcricional em PPAR $\gamma$ dos compostos da série pentadecila testados a concentração de 50,0 $\mu$ M em células HEK293. Sendo os veículos, etanol e DMSO, e rosiglitazona ( <b>2</b> ) a 50,0 nM (controle positivo). Resposta do veículo evidenciada pela linha tracejada.	85
<b>Figura 21:</b>	Atividade luciferase dos compostos LDT15 ( <b>24</b> ), LDT16 ( <b>25</b> ) e LDT408 ( <b>26</b> ) comparadas através de curva dose-resposta, em relação ao controle rosiglitazona ( <b>2</b> ).	86

<b>Figura 22:</b>	Atividade transcricional em PPAR $\gamma$ dos compostos da série octila a 50,0 $\mu$ M em células HEK293. Sendo os veículos, EtOH e DMSO, e rosiglitazona a 50,0 nM (controle positivo). Resposta do veículo evidenciada pela linha tracejada.	87
<b>Figura 23:</b>	Atividade luciferase dos compostos LDT477 e LDT480 em PPAR $\gamma$ comparadas através de curva dose-resposta com o controle, rosiglitazona.	88
<b>Figura 24:</b>	Efeito dos derivados LDTs testados a 50,0 $\mu$ M sobre hepatócitos primários, em relação ao controle 50,0 $\mu$ M de WY14643, sendo o veículo EtOH. Avaliação da expressão de genes envolvidos na oxidação de ácidos graxos, FgF1, PDK4 e CPT1, bem como genes responsáveis pela captação de ácidos graxos, FABP1 e CD36.	90
<b>Figura 25:</b>	Efeito dos derivados LDTs a 25,0 $\mu$ M sobre a adipogênese de pré-adipócitos 3T3-L1, em relação ao controle 25,0 $\mu$ M de rosiglitazona (2), sendo os veículos, EtOH e DMSO. Avaliação da expressão de marcadores de adipogênese, Ap2, LPL, CD36 e adiponectina.	93
<b>Figura 26:</b>	Efeito do LDT15, LDT16, LDT408, LDT409, LDT297, LDT477 e LDT481 sobre a adipogênese de pré-adipócitos 3T3-L1. Dois dias após confluência, células 3T3-L1 foram induzidas a se diferenciarem em adipócitos, cultivadas por 8 dias, tratadas com diferentes ligantes ou veículo, DMSO e EtOH. Na sequência, coradas com óleo vermelho O e observadas por microscopia.	95

## LISTA DE ESQUEMAS

<b>Esquema 1:</b>	Planejamento racional de ligantes agonistas PPAR.	39
<b>Esquema 2:</b>	Planejamento sintético dos derivados-alvo.	42

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1:</b>	Condições reacionais, características químicas, rendimentos e ponto de fusão dos derivados da série pentadecila.	72
<b>Tabela 2:</b>	Condições reacionais, características químicas, rendimentos e ponto de fusão dos derivados LDT71, LDT72, LDT80 e LDT482, da série octila.	74
<b>Tabela 3:</b>	Condições reacionais, características químicas, rendimentos e ponto de fusão dos derivados LDT296 (28), LDT297 (29), LDT298 (30), LDT299 (31) e LDT480 (32), da série octila.	77
<b>Tabela 4:</b>	Condições reacionais, características químicas, rendimentos e ponto de fusão dos derivados LDT476 (33), LDT477 (34), LDT478 (35), LDT479 (36) e LDT481 (37), da série octila.	79
<b>Tabela 5:</b>	Valores de EC <sub>50</sub> para os compostos LDT15, LDT16, LDT408 e LDT409, da série pentadecila, e do controle positivo GW7647, no PPAR $\alpha$ .	81
<b>Tabela 6:</b>	Valores de EC <sub>50</sub> para os compostos LDT477 e LDT480 da série octila e do controle positivo GW7647, no PPAR $\alpha$ .	83
<b>Tabela 7:</b>	Valores de EC <sub>50</sub> para os compostos LDT15, LDT16 e LDT408 da série pentadecila e do controle positivo rosiglitazona, no PPAR $\gamma$ .	86
<b>Tabela 8:</b>	Valores de EC <sub>50</sub> para os compostos LDT477 e LDT480 da série octila e do controle positivo rosiglitazona, no PPAR $\gamma$ .	88
<b>Tabela 9:</b>	Perfil de atividade e valores de EC <sub>50</sub> para os derivados-alvo ativos em PPAR.	89
<b>Tabela 10:</b>	Perfil de atividade dos derivados-alvo na expressão de genes em hepatócitos primários.	92

**Tabela 11:** Perfil de atividade dos derivados-alvo na diferenciação de adipócitos. 95

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

$\beta$ A - *Beta* amilóide

AF-1 - Função de ativação 1

AF-2 - Função de ativação 2

AG- Ácidos graxos

ALH – Aceptor de Ligação de Hidrogênio

aP2 - Proteína de ligação de ácidos graxos

ApoE – Apolipoproteína E

Arg288/ R – Arginina 288

CD36 - Grupamento de diferenciação 36

CPT1 - Carnitina palmitoil transferase-1

C-terminal - Carbóxi terminal

d - duplete

DA – Doença de Alzheimer

DBD - Domínio de ligação ao DNA

DCM – Diclorometano

dd – duplo dubleto

DLH – Doador de Ligação de Hidrogênio

DMSO – Dimetilsulfóxido

DNA – Ácido Desoxirribonucleico

FDA - Food and Drug Administration

FABP1 - Proteína de ligação a ácidos graxos-1

Fgf21- Fator de crescimento de fibroblastos-21

GSK3 $\beta$  – Glicogênio sintase-quinase 3 $\beta$

H323- Histidina 323

H449 – Histidina 449

HDL - Lipoproteína de Alta Densidade

EC<sub>50</sub> – Concentração da droga requerida para adquirir 50% do efeito máximo

EtOH - Etanol

IDE - Enzima que Degrada Insulina

IKK - IKB quinase

IRS-1 - Substrato de Receptor de Insulina 1

IRS-2 - Substrato de Receptor de Insulina 2  
IV – Infravermelho  
*J* – Constante de acoplamento  
JNK- c-jun *N*-terminal quinase  
LBD - Domínio de Ligação ao Ligante  
LCC - Líquido da casca da Castanha do Caju  
LDL - Lipoproteína de Baixa Densidade  
LPL - Lipoproteína lipase  
m - múltiplo  
MO - Micro-ondas  
*N*- terminal - Amino terminal  
PDK4 - Piruvato desidrogenase quinase-4  
PPA – Proteína Precursora de Amiloide  
PPAR - Receptor Ativado por Proliferadores Peroxissomais  
PPAR  $\alpha$  - Receptor Ativado por Proliferadores Peroxissomais Alfa  
PPAR  $\beta/\delta$  - Receptor Ativado por Proliferadores Peroxissomais Beta/Delta  
PPAR  $\gamma$  - Receptor Ativado por Proliferadores Peroxissomais Gama  
PPER - Elementos Responsivos ao PPAR  
RMN  $^1\text{H}$  – Ressonância magnética nuclear de hidrogênio 1  
RMN  $^{13}\text{C}$  – Ressonância magnética nuclear de carbono 13  
RN - Receptor Nuclear  
RXR - Receptor retinóide X  
s – simples  
sl – simples largo  
t - triplo  
TG - Triglicérides  
TR - Receptor do hormônio da Tireóide  
TZD – Tiazolidinadionas  
UV – Ultravioleta  
VLDL – Lipoproteína de muito baixa densidade  
Y473 – Tirosina 473

## SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO .....	20
1.1 RECEPTORES ATIVADOS POR PROLIFERADORES PEROXISSOMAIS .....	21
1.2 PPAR: ORGANIZAÇÃO MOLECULAR E MECANISMO DE ATIVAÇÃO... 23	
1.3 PPAR COMO ALVO TERAPÊUTICO .....	25
1.3.1 PPAR no diabetes.....	25
1.3.2 Dislipidemia e Obesidade.....	28
1.3.3 Doença de Alzheimer .....	29
1.4 LIPÍDEOS FENÓLICOS DE <i>Anacardium occidentale</i> .....	31
1.5 NOVOS LIGANTES PPAR .....	33
2 OBJETIVOS .....	37
2.1 OBJETIVO GERAL .....	37
2.1.1 <b>Objetivos Específicos</b> .....	37
3 PLANEJAMENTO ESTRUTURAL .....	39
4 ESTRATÉGIA SINTÉTICA .....	41
5 PARTE EXPERIMENTAL .....	44
5.1 GENERALIDADES, MATERIAIS E MÉTODOS .....	44
5.2 METODOLOGIA SINTÉTICA E CARACTERIZAÇÃO DOS COMPOSTOS .....	46
5.2.1 <b>Obtenção da Mistura de Cardanóis (10) a Partir do LCC Técnico</b> ....	46
5.2.2 <b>Obtenção do Derivado 3-Pentadecilfenol (LDT10, 18)</b> .....	46
5.2.3 <b>Obtenção do Derivado Acetato de 3-Pentadecilfenila (LDT12, 19)</b> ...	47
5.2.4 <b>Obtenção do Derivado 1-Metóxi-3-pentadecilbenzeno (LDT27, 20)</b> ..	48
5.2.5 <b>Obtenção do Derivado 3-(8-Hidróxiocetil)fenol (LDT71, 22)</b> .....	49
5.2.6 <b>Obtenção do Derivado 8-(3-Metóxi-fenil)octan-1-ol (LDT72, 23)</b> .....	50
5.2.7 <b>Obtenção dos Derivados <math>\beta</math>-oxaéster LDT15 (24) e LDT296 (28)</b> .....	51
5.2.8 <b>Obtenção dos Derivados <math>\alpha,\alpha</math>-Dimetilésteres LDT408 (26) e LDT476 (33)</b> .....	53
5.2.9 <b>Síntese dos Derivados Ácidos LDT298 (30), LDT478 (35) e LDT80 (38)</b> .....	55
5.2.10 <b>Síntese dos Derivados <math>\beta</math>-oxácidos LDT16 (25), LDT409 (27), LDT297 (29), LDT299 (31), LDT477 (34) e LDT479 (36)</b> .....	57

5.2.11 <b>Obtenção dos Éster derivados LDT480 (32), LDT481 (37) E LDT482 (39)</b> .....	61
5.3 <b>AVALIAÇÃO FARMACOLÓGICA</b> .....	64
5.3.1 <b>Ensaio de gene repórter – Luciferase:</b> .....	65
5.3.2 <b>Ensaio em hepatócitos primários:</b> .....	65
5.3.3 <b>Ensaio de diferenciação de adipócitos</b> .....	66
6 <b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	69
6.1 <b>SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DOS COMPOSTOS</b> .....	69
6.1.1 <b>Série 3-Pentadecilfenol</b> .....	69
6.1.2 <b>Série 8-(3-hidróxifenil)octan-1-ol</b> .....	72
6.2 <b>AVALIAÇÃO FARMACOLÓGICA</b> .....	79
6.2.1 <b>Ensaio de gene reporter: Luciferase</b> .....	79
6.2.1.1 PPAR $\alpha$ .....	79
6.2.1.2 PPAR $\beta/\delta$ .....	83
6.2.1.3 PPAR $\gamma$ .....	85
6.2.2 <b>Ensaio em hepatócitos primários</b> .....	90
6.2.3 <b>Ensaio de diferenciação de adipócitos</b> .....	92
7 <b>CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS</b> .....	97
8 <b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	100
ANEXOS .....	107

## ***Introdução***

---

## 1.INTRODUÇÃO

---

Os receptores ativados por proliferadores peroxissomais (PPARs), membros da família de Receptores Nucleares (RN), em contato com ligantes são regulados atuando como fatores de transcrição por meio da regulação da expressão de genes. Os PPARs dividem-se em três subtipos PPAR $\alpha$ , PPAR $\beta/\delta$  e PPAR $\gamma$ , os quais possuem distribuição e ações diferentes nos tecidos, especificidade quanto ao ligante, distintas funções fisiológicas, mas que juntos coordenam o metabolismo energético (AMATO, 2008; ANDRADE, 2008; GRYGIEL-GÓRNIAK, 2014; LIBERATO, 2009; LIN, et al., 2009; PIRAT, et al., 2012).

Os fibratos, agonistas sintéticos PPAR $\alpha$ , controlam o metabolismo lipídico, através da redução dos níveis de triglicerídeos e aumento dos níveis de colesterol HDL (CHEN et al., 2014; MANORIA et al., 2013; SAHEBKAR et al., 2014). Por sua vez, as tiazolidinadionas, agonistas PPAR $\gamma$ , agem sensibilizando os receptores celulares à ação da insulina e reduzindo os níveis de glicose no plasma. Embora apresentem efeitos favoráveis, a síntese de novos ligantes com ação mediada por PPAR tem sido alvo de intensas pesquisas, uma vez que essas terapias medicamentosas apresentam limitações, devido a quadros de toxicidade hepática e renal, problemas cardiovasculares, ganho de peso, dentre outros efeitos adversos (AMATO, 2008; ANDRADE, 2008; MANSOUR, 2014).

A combinação dos efeitos anti-lipidêmicos de PPAR $\alpha$  e anti-diabéticos de PPAR $\gamma$  apresenta potencial benefício para o tratamento da síndrome metabólica, diabetes tipo 2, hiperglicemia, dislipidemia aterogênica, e até mesmo em doenças relacionadas ao diabetes, cujo mecanismo permanece obscuro, como na doença de Alzheimer. Diferentes mecanismos demonstram a associação entre diabetes tipo 2 e doença de Alzheimer, seja por resistência quanto à ação da insulina, ou indução da formação de peptídeo  $\beta$  amilóide no cérebro (BORTOLINI et al., 2013; MANSOUR, 2014; NENOV et al., 2014; XU et al., 2014).

No âmbito de uma linha de pesquisas que visa a utilização terapêutica de lipídeos fenólicos não-isoprenoides de *Anacardium occidentale*, este trabalho descreve o planejamento e a síntese de novos ligantes PPAR planejados a partir do cardanol, derivado do líquido da casca de castanha de caju (LCC). A longa cadeia alquílica do cardanol possui características relevantes para o reconhecimento

hidrofóbico por resíduos complementares nos sítios de reconhecimento molecular bem como no desenvolvimento de novas funcionalidades por meio de interconversão de grupos funcionais (RODRIGUES et al., 2006; VASAPOLLO et al., 2011).

## 1.1 RECEPTORES ATIVADOS POR PROLIFERADORES PEROXISSOMIAIS

Membros da família de Receptores Nucleares, os PPARs foram identificados em 1990 com a primeira clonagem em roedores, possuindo um dos maiores sítios de ligação e estando vinculados à regulação de diversos processos metabólicos, como por exemplo, a regulação da homeostase da glicose, e da inflamação, divisão e diferenciação celular e depuração de toxinas (AMATO, 2008; ANDRADE, 2008; LIBERATO, 2009; TAVARES et al., 2007; PIRAT, et al., 2012).

Em humanos, os PPARs dividem-se em três subtipos que possuem distribuição e ações diferentes nos tecidos, especificidade quanto ao ligante, distintas funções fisiológicas, mas que juntos coordenam o metabolismo energético. Neste sentido temos PPAR $\alpha$  ou NR1C1, membro 1 do grupo C da sub-família 1 dos RN, codificado por genes localizados no cromossomo 22; PPAR $\beta/\delta$  ou NR1C2, codificado por genes localizados no cromossomo 6, e PPAR $\gamma$  ou NR1C3, codificado por genes localizados no cromossomo 3 (AMATO, 2008; ANDRADE, 2008; GRYGIEL-GÓRNIK, 2014; LIBERATO, 2009; LIN, et al., 2009; PIRAT, et al., 2012; SAHEBKAR et al., 2014).

Os PPAR $\alpha$  são amplamente expressos em tecidos metabolicamente ativos, como no fígado, tecido adiposo, rins, cérebro, coração e músculo esquelético, e reconhecem ácidos graxos endógenos tanto saturados quanto insaturados. O papel principal dos PPAR $\alpha$  é captar e oxidar ácidos graxos, modulando a cascata inflamatória, além de participar do metabolismo de lipoproteínas, diminuindo triglicerídeos e aumentando c-HDL (colesterol-HDL) (ANDRADE, 2008; GRYGIEL-GÓRNIK, 2014; LIN et al., 2009; WERNER et al. 2014; ZAWARE, 2011). Os fibratos, agonistas sintéticos PPAR $\alpha$ , são utilizados como hipolipemiantes, reduzindo as taxas de colesterol e triglicerídeos na circulação sanguínea (CHEN & YANG, 2014; PIRAT, et al., 2012).

Os PPAR $\gamma$  são encontrados em abundância nos adipócitos, estando presentes em níveis menores no baço, em células endoteliais, musculatura lisa e

macrófagos. Estes atuam na regulação e diferenciação de adipócitos, na homeostase da glicose, no balanço energético, na sensibilização dos receptores a ação da insulina, metabolismo lipídico e na regulação de processos inflamatórios e cardiovasculares (ANDRADE, 2008; GRYGIEL-GÓRNIK, 2014; LIN et al., 2009; PIRAT, et al., 2012).

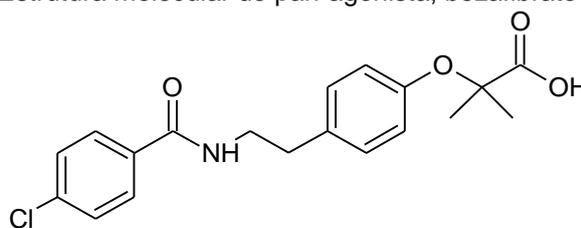
O gene relacionado ao PPAR $\gamma$  dá origem a três isoformas: o PPAR $\gamma$ 1 amplamente expresso no coração, pâncreas, rins, baço, intestino delgado e em uma variedade de tecidos; o PPAR $\gamma$ 2 presente principalmente no tecido adiposo e PPAR $\gamma$ 3 expresso restritamente nos macrófagos e no intestino grosso (GRYGIEL-GÓRNIK, 2014; TAVARES et al., 2007; TYAGI et al., 2011).

O PPAR $\gamma$  possui como ligantes endógenos ácidos graxos poliinsaturados, ácido nitrooleico, o derivado de prostaglandina 15d-PGJ<sub>2</sub>, enquanto as tiazolidinadionas representam os ligantes sintéticos, regulando o metabolismo da glicose e sensibilizando os tecidos insulino-resistentes (CHOI et al., 2011; GRYGIEL-GÓRNIK, 2014; JIA et al., 2014; LIBERATO, 2009).

Por sua vez, os PPAR  $\beta/\delta$ , subtipo menos elucidado, podem ser encontrados na maioria dos tecidos, incluindo tecido adiposo, fígado, rim, intestino, músculo esquelético e coração, e atuam na oxidação de ácidos graxos, regulação do metabolismo de lipídeos e do colesterol, na regulação dos níveis de glicose, proliferação e diferenciação celular e na regulação de processos inflamatórios. Seus ligantes endógenos são ácidos graxos de cadeia longa (AMATO, 2008; ANDRADE, 2008; GRYGIEL-GÓRNIK, 2014; LIN et al., 2009; PIRAT et al., 2012).

O bezafibrato (**1**) (Figura 1), correspondente da classe dos fibratos, é caracterizado com um pan-agonista, tendo a capacidade de ativar os três subtipos, PPAR $\alpha/\beta/\gamma$  (CHEN et al., 2014; GRYGIEL-GÓRNIK, 2014; ZHONG et al., 2011).

**Figura 1:** Estrutura molecular do pan-agonista, bezafibrato (**1**).



Bezafibrato

**Fonte:** Próprio autor.

## 1.2 PPAR: ORGANIZAÇÃO MOLECULAR E MECANISMO DE ATIVAÇÃO

Todos os 48 componentes da família de RN, que compreendem os receptores do hormônio da tireóide (TRs), vitamina D, PPAR e receptor do ácido retinóico (RXR), possuem organização molecular comum, sendo constituídos por um domínio Amino-terminal, um domínio central de ligação com o DNA ou DNA *Binding Domain* (DBD), um domínio curto de conexão denominado dobradiça ou *hinge*, um domínio de ligação ao ligante ou *Ligand Binding Domain* (LBD), e por fim, o domínio Carboxi-terminal (Figura 2) (AMATO, 2008; MANSOUR, 2014; NASCIMENTO, 2009; SPEECKAERT et al., 2014).

**Figura 2:** Domínios funcionais da estrutura molecular dos Receptores Nucleares, incluindo região amino terminal, DBD, hinge, LBD e região carbóxi-terminal.



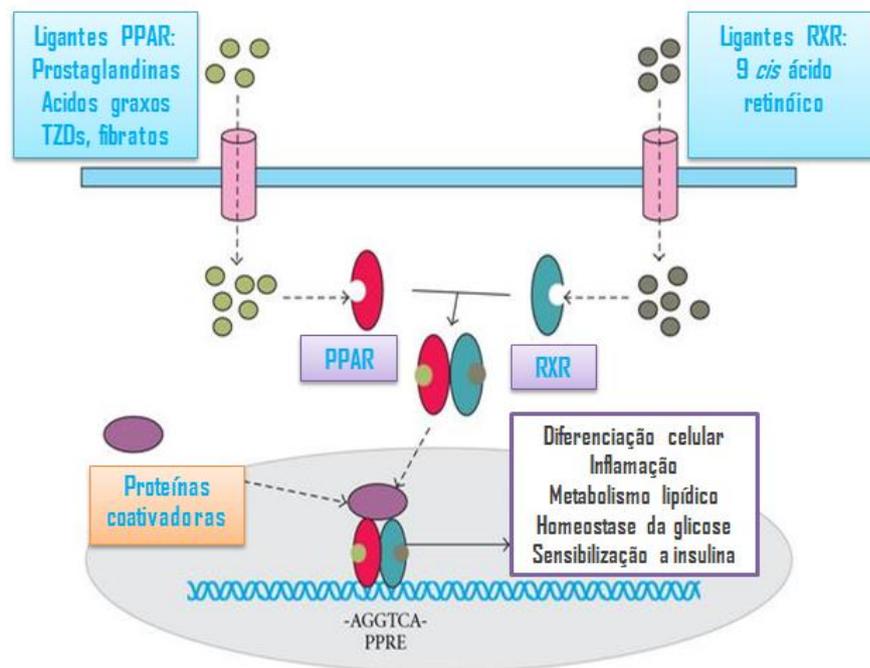
**Fonte:** Próprio autor.

O domínio *N*-terminal é constituído de sequências variadas de aminoácidos, sendo a região menos conservada dos receptores, com função de transativação independente de ligantes, domínio AF1, que permite a interação do receptor com co-ativadores e outros fatores de transcrição. O DBD, região mais conservada do receptor, tem como função principal o reconhecimento de sequências específicas do DNA, chamadas de elementos responsivos ao PPAR (PPER), com sequência hexanucleotídica consenso AGGTCA, e ativação de genes. O *hinge* ou região de dobradiça possui um papel flexível, servindo de elo entre o domínio central e o domínio *C*-terminal. O LBD é responsável pela interação do receptor com o ligante e pela ativação ligante-induzida. Por fim, o domínio AF2 envolvido na interação transcricional com co-ativadores e correpressores (AMATO, 2008; ANDRADE, 2008; LIBERATO, 2009; MANSOUR, 2014; NASCIMENTO, 2009; SPEECKAERT et al., 2014).

A ativação da expressão gênica (Figura 3) pelo PPAR dá-se no momento da interação do ligante agonista com o domínio LBD do PPAR no núcleo celular. Na sequência, ocorre a formação do heterodímero constituído de PPAR e receptor do

ácido 9-*cis*retinóico X, RXR. A expressão do gene alvo é regulada pela ligação do heterodímero PPAR-RXR à extremidade 3' e 5' do elementos responsivos ao PPAR (PPRE) e repetições de sequências consenso AGGTCA separadas por nucleotídeos localizados em sítios regulatórios de cada gene. Os receptores sofrem alteração conformacional, permitindo o desligamento de proteínas co-repressoras e o ancoramento de proteínas co-ativadores, dando início a ativação da maquinaria de transcrição de genes (AMATO, 2008; LIBERATO, 2009; MCMULLEN et al., 2014; NASCIMENTO, 2009; PESSANHA, 2007; PIRAT, et al., 2012).

**Figura 3:** Ilustração do mecanismo de ativação da expressão gênica pelo PPAR e seus efeitos regulatórios de transcrição.



**Fonte:** Adaptado de WAGNER, 2010.

Na forma não ligada, quando o ligante não está interagindo com o PPAR, a transcrição gênica é reprimida. O heterodímero PPAR-RXR conectado aos PPRE encontra-se em sua forma inativa e pode ser visualizado no citoplasma e no núcleo celular, ligado a proteínas co-repressoras, que recrutam desacetilases de histonas responsáveis pela inativação da transcrição gênica. As desacetilases condensam a estrutura da cromatina no local da interação entre o receptor e os PPRE, impedindo a ativação da maquinaria basal. Na interação com o ligante, os receptores sofrem alteração conformacional permitindo o desligamento das proteínas co-repressoras e

o ancoramento de proteínas co-ativadoras com atividade de acetilases de histonas, responsáveis por modificar a estrutura da cromatina, ativando a transcrição gênica (AMATO, 2008; LIBERATO, 2009; NASCIMENTO, 2009).

### 1.3 PPAR COMO ALVO TERAPÊUTICO

#### 1.3.1 PPAR no diabetes

A insulina é um hormônio sintetizado no pâncreas pelas células  $\beta$  das ilhotas de Langerhans. Este hormônio é responsável pela manutenção dos níveis de glicose plasmática por meio da inibição da gliconeogênese no fígado, formação de glicose proveniente de carboidratos, e pela estimulação da captação de glicose pelos tecidos insulino-sensíveis, fígado, tecido adiposo, músculo esquelético e músculo cardíaco. A insulina também controla o metabolismo de lipídeos e proteínas, proliferação celular, divisão celular, dentre outras funções celulares vitais para o pleno funcionamento do organismo (ANDRADE, 2008; CARVALHO-FILHO et al., 2007; GOLAN, 2009; PRAMOJANEE et al., 2014).

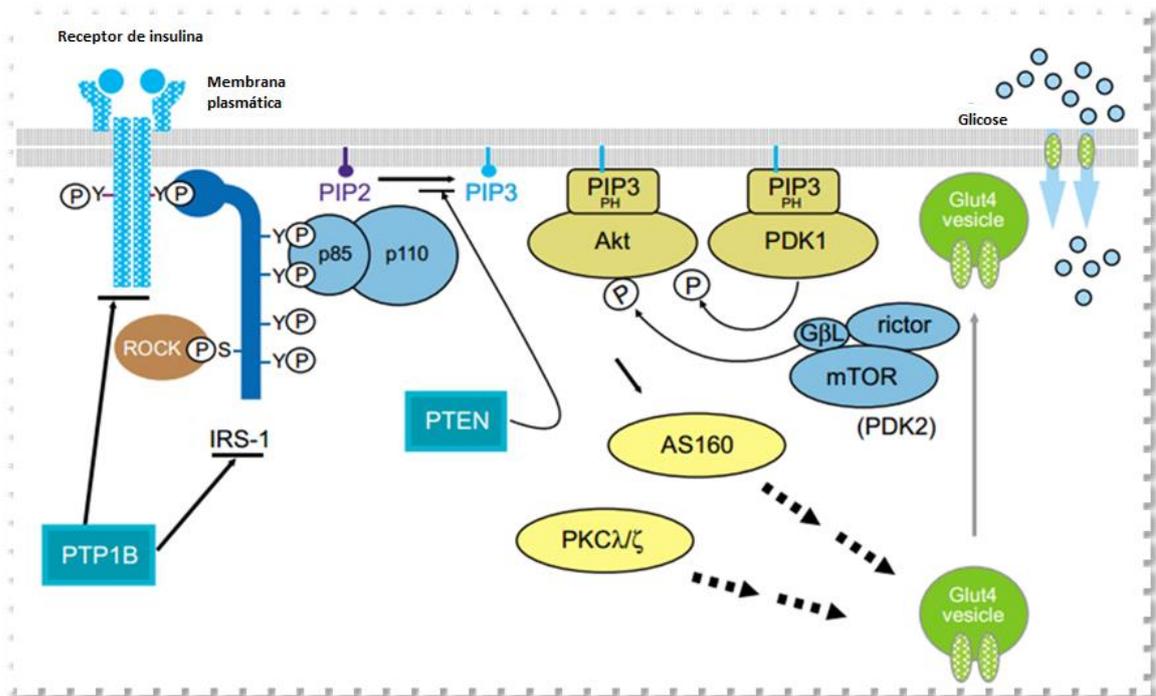
Na presença de metabolismo anormal de lipídeos, carboidratos e/ou proteínas tem-se o diabetes, que pode ser desencadeado pela produção insuficiente ou anormal de insulina pelas células  $\beta$  ou por fatores extrapancreáticos, como a resistência dos receptores celulares à ação da insulina, levando a hiperglicemia sustentada (GOLAN, 2009; MAHENDRA & BISHT, 2011; SANTO et al., 2012).

O receptor de insulina (Figura 4) é composto por duas subunidades  $\alpha$  e duas subunidades  $\beta$ , ligadas por ligações dissulfeto. Para que a atividade intrínseca da insulina ocorra, esta precisa ser reconhecida pela subunidade  $\alpha$  de seu receptor contido na célula alvo, modificando assim a estrutura conformacional da subunidade  $\beta$ , permitindo sua autofosforilação em tirosina quinase. O mecanismo da insulina na via de sinalização requer a fosforilação de resíduos de tirosina em substratos protéicos 1 ou 2 do receptor de insulina (IRS-1 e IRS-2) para que se tenha a ação positiva do hormônio, envolvido em ações metabólicas e no crescimento (CARVALHO-FILHO et al., 2007; GOLAN, 2009; PRAMOJANEE et al., 2014; WAKAYAMA et al., 2014).

Defeitos na via de sinalização da insulina ocasionam intolerância à glicose, implicando em compensação metabólica pelas células  $\beta$ , que aumentam a síntese

de insulina, levando o indivíduo a apresentar hiperinsulinemia permanente. Além do acúmulo de glicose, a elevação de triglicerídeos e ácidos graxos, inflamação crônica e fatores genéticos também resultam em resistência (JOHNSON & OLEFSKY, 2013; SILVA et al., 2010).

**Figura 4:** Cascata de ativação do receptor de insulina.



Fonte: CHOI & KIM, 2010.

A Associação Americana de Diabetes (ADA) classifica o diabetes em quatro tipos com distintas etiologias. O diabetes tipo 1, diabetes tipo 2, diabetes gestacional e “outros tipos de diabetes”, estando incluídos como causa do diabetes, defeitos genéticos nas células  $\beta$  e doenças no pâncreas (DIVINS, 2009).

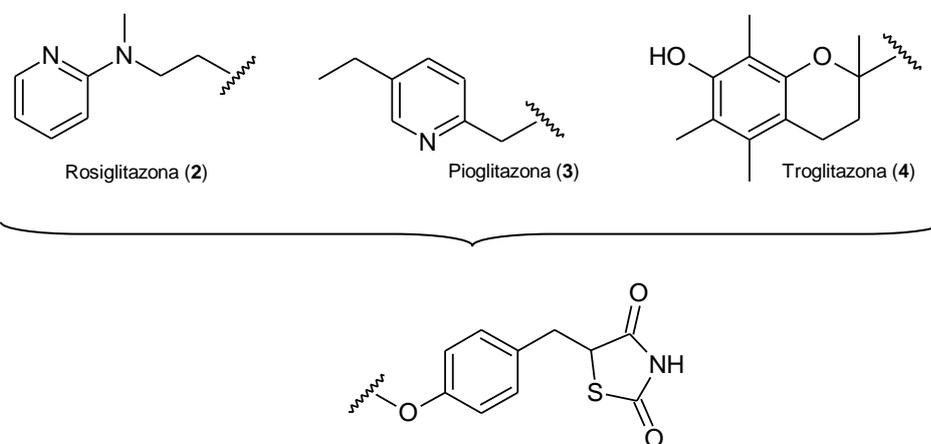
O diabetes tipo 2, que segundo Chen e colaboradores (2014) afeta cerca de 90-95% dos diabéticos, é caracterizado pela redução da utilização da insulina pelo fígado e tecidos periféricos, devido à tolerância dos receptores a ação da insulina, apresentando o indivíduo produção normal, elevada ou deprimida deste hormônio. O indivíduo doente acaba apresentando hiperglicemia persistente, ocasionada pela insuficiência relativa de insulina, e com o avanço da doença podem ser vistos poliúria, perda de peso e complicações secundárias, por exemplo, nefropatias diabéticas, síndrome hiperosmótica, retinopatia, aterosclerose e problemas

cardiovasculares (CHEN; LIN & SHIH, 2014; GOLAN, 2009; MAHENDRA & BISHT, 2011; SANTO et al., 2012).

O diabetes já é considerado uma epidemia mundial, sendo estimado pela Federação Internacional de Diabetes (IDF) que aproximadamente 366 milhões de pessoas no mundo possuíam o diagnóstico de diabetes tipo 2 em 2011, e até 2030, 552 milhões de pessoas serão afetadas por essa desordem metabólica (FREITAS & GARCIA, 2012; MANORIA et al., 2013; PATEL; BUTTERS & ARNETT, 2014).

A ativação de PPAR $\gamma$  aumenta a sensibilidade à insulina, onde há duas hipóteses. Na primeira, a ativação de PPAR $\gamma$  no tecido adiposo reduz a lipólise e aumenta a lipogênese nos adipócitos, através da diminuição dos níveis séricos de ácidos graxos e triglicerídeos, que são transferidos da corrente sanguínea para o tecido adiposo. Considerando a segunda hipótese, genes específicos induzem o metabolismo da glicose e o aumento da sinalização celular (ANDRADE, 2008; GAMA, 2010; TAVARES et al., 2007).

**Figura 5:** Estrutura molecular das tiazolidinadionas, agonistas sintéticos PPAR $\gamma$ .



**Fonte:** Próprio autor.

As tiazolidinadionas (TZD) agem sensibilizando os receptores celulares à ação da insulina e reduzindo os níveis de glicose no plasma através da regulação da transcrição gênica pela interação seletiva com PPAR $\gamma$ . Esta classe de fármacos composta pela rosiglitazona (2), pioglitazona (3) e troglitazona (4) (Figura 5), possui efeito direto nos adipócitos, fígado, macrófagos, músculo esquelético e sistema nervoso central. Embora sejam excelentes antidiabéticos, as TZDS possuem utilização clínica restrita, devido a efeitos adversos severos que incluem retenção de líquidos, ganho ponderal, hemodiluição, perda de massa óssea e falência cardíaca

em 15% dos pacientes (AMATO, 2008; DIVINS, 2009; HAN et al., 2014; JIA et al., 2014; LIBERATO, 2009; PIRAT, et al., 2012).

### 1.3.2 Dislipidemia e Obesidade

Caracterizada por hipertrigliceridemia, redução dos níveis de colesterol HDL e elevação de LDL, a dislipidemia é uma desordem, que juntamente a obesidade, é considerada fator de risco a comorbidades, como aterosclerose, problemas cardiovasculares e diabetes (MANORIA et al., 2013; PADMANABHAN & ARUMUGAM, 2014; SAHEBKAR et al., 2014).

A resistência dos receptores celulares quanto à ação da insulina é considerada a principal e mais comum causa para o desenvolvimento de dislipidemia em pacientes com diabetes tipo 2. Adicionalmente, a dislipidemia é considerada o maior fator de risco para predisposição de diabetes tipo 2, demonstrando que o metabolismo de lipídeos e da glicose estão intimamente interligados (MANORIA et al., 2013; MANSOUR, 2014).

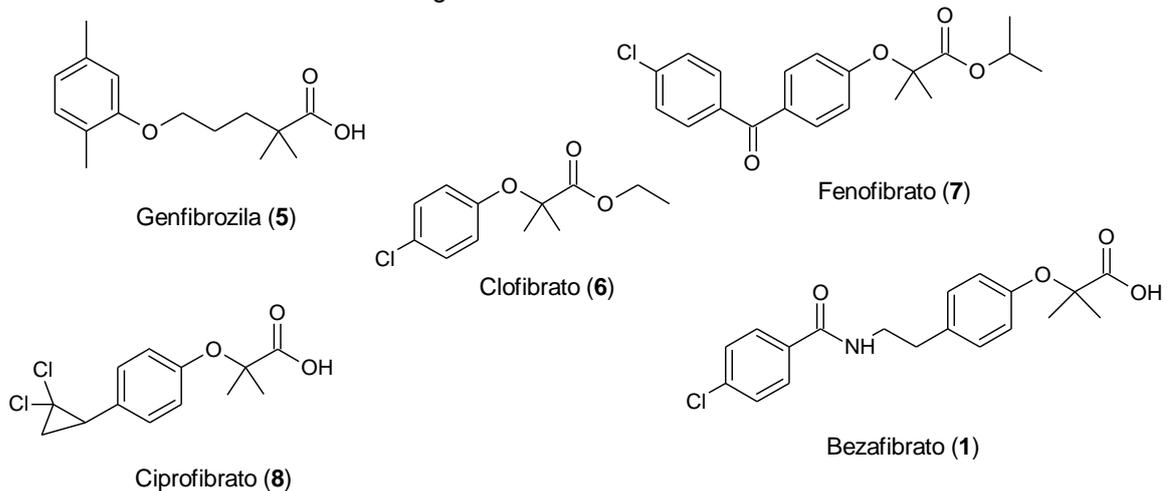
O aumento dos níveis de ácidos graxos na circulação sanguínea proveniente da resistência insulínica nos adipócitos, resulta em defeitos no transporte e na interação intracelular dos AG com proteínas. Tem-se um acúmulo de AG no fígado, que estimula a secreção de VLDL, resultando em hipertrigliceridemia, a anormalidade lipídica inicial da dislipidemia. Por sua vez, o excesso de lipídeos na dislipidemia é responsável por alterar a via de sinalização da insulina, quando o tecido adiposo torna-se incapaz de armazenar toda a quantidade de lipídeos que são armazenados em outros órgãos, como no músculo e no fígado, induzindo insulino-resistência, que ocorre na obesidade. Além do excesso de lipídeos na obesidade, tem-se o aumento de ácidos graxos livres e saturados, que ativam mecanismos pró-inflamatórios, induzindo a ativação de genes envolvidos no mecanismo de resistência à insulina (JOHNSON & OLEFSKY, 2013; MANORIA et al., 2013).

Agonistas PPAR $\gamma$  promovem a redução de ácidos graxos livres no tecido adiposo e no fígado, por estimularem sua deposição, reduzindo lipotoxicidade e inflamação no fígado, ilhotas de Langerhans, rins e macrófagos. A ativação de PPAR $\gamma$  também aumenta a proliferação e diferenciação de adipócitos, onde

adipócitos menores são mais sensíveis à insulina (APRILE et al., 2014; BORTOLINI et al., 2013; HOME, 2011).

Nos últimos 30 anos, os fibratos (Figura 6), agonistas sintéticos PPAR $\alpha$ , compreendem os medicamentos mais utilizados para o tratamento de dislipidemia, controlando o metabolismo lipídico, através da redução dos níveis de TGs e aumento dos níveis de c-HDL. No entanto, o uso dessa classe de medicamentos é limitada, devido a quadros de toxicidade hepática e renal, miopatia e colelitíase, dentre outros efeitos adversos (CHEN et al., 2014; MANORIA et al., 2013; SAHEBKAR et al., 2014).

**Figura 6:** Estrutura molecular dos compostos constituintes da classe de medicamentos fibratos, agonistas sintéticos PPAR $\alpha$ .



**Fonte:** Próprio autor.

### 1.3.3 Doença de Alzheimer

A DA (Doença de Alzheimer) constitui a forma mais comum de demência, com mais de 35,6 milhões de pacientes afetados no mundo. Considerada uma doença neurodegenerativa e idade associada, a DA é caracterizada pelo acúmulo e deposição de placas de peptídeo  $\beta$  amilóide extracelular, formação de emaranhados neurofibrilares, inflamação crônica do cérebro, bem como, por acumulação intraneuronal de proteína tau, resultando em perda da memória progressiva e declínio cognitivo com severa atrofia neuronal (AICARDI, 2013; CHEN & ZHONG, 2013; CORREIA et al., 2012; HIEKE et al., 2010).

De acordo com a hipótese amilóide, a amiloidogênese é um processo complexo que resulta na formação de diferentes espécies amilóides. Oligomêros de peptídeo  $\beta$ A e fibrilas amilóides formadas por espécies hidrofóbicas de  $\beta$ A42, estão relacionadas à patogênese da DA e à toxicidade sináptica. Oligomêros solúveis  $\beta$ A ligam-se às sinapses e ativam vias de sinalização que resultam em hiperfosforilação da proteína tau, estresse oxidativo, perda e deterioração das sinapses (HIEKE et al., 2010; XU et al., 2014).

Diferentes mecanismos demonstram a associação entre diabetes tipo 2 e doença de Alzheimer, seja por resistência quanto a ação da insulina, ou indução da formação de peptídeo  $\beta$  amilóide no cérebro, ocasionado por hiperinsulinemia, ambos apresentando o diabetes tipo 2 como um fator de risco para DA. De acordo com Correia e colaboradores (2012), em estudo realizado pela Mayo Clinic em pacientes com DA, 80% dos pacientes apresentaram quadro de diabetes tipo 2 ou níveis de glicose elevados no sangue (BARTL et al., 2013; CHEN & ZHONG, 2013; CORREIA et al., 2012; NENOV et al., 2014; XU et al., 2014).

Devido as similaridades entre o diabetes tipo 2 e a DA, incluindo epidemiologia, manifestações clínicas, alterações patológicas e mecanismos fisiopatológicos, alguns autores atribuíram o termo “diabetes tipo 3” a resistência insulínica ocasionada no cérebro, refletindo a disfunção ocasionada pela resistência e a deficiência de insulina visualizadas na DA (CHEN & ZHONG, 2013; CORREIA et al., 2012).

A resistência à insulina aumenta a deposição cerebral de proteína tau. Após a fosforilação dos resíduos de tirosina em IRS (Figura 4, Pág. 26), mecanismos intracelulares são sinalizados, ativando a fosfatidilinositol 3-quinase (PI3K), responsável pela ativação de mediadores que regulam os efeitos metabólicos da insulina, sendo um deles, glicogênio sintetase quinase 3 (GSK3). A ativação de GSK-3 $\beta$ , facilita a atividade da  $\beta$ -secretase na formação do peptídeo  $\beta$ -amilóide e induz a hiperfosforilação de proteína tau, resultando em emaranhados neurofibrilares. Por outro mecanismo, a insulina é degradada pela Enzima que Degrada Insulina (IDE), também responsável pela degradação do peptídeo  $\beta$ -amilóide, ou seja, em casos de hiperinsulinemia tem-se a redução da degradação de  $\beta$ -amilóide (BARTL et al., 2013; LEON et al., 2011; PRAMOJANEE et al., 2014; WAKAYAMA et al., 2014).

O maior fator de risco genético para a DA esporádica é a variação alélica na apolipoproteína E (ApoE). Lipoproteína que promove a degradação proteolítica de formas solúveis de peptídeo  $\beta$ -amilóide, e que possui sua expressão transcricional regulada por PPAR $\gamma$ . A administração de agonistas PPAR $\gamma$  reduz a transcrição das variações alélicas de ApoE, resultando em diminuição dos níveis de  $\beta$ -amilóide, além de promover benefícios cognitivos em modelos animais, sendo esse mecanismo dependente da ApoE (CRAMER, et al. 2012).

A DA não apresenta tratamento terapêutico efetivo. Nenov (2014), Xu (2014), Mannelli (2014) e seus colaboradores propuseram PPAR $\gamma$  como um importante alvo terapêutico para o tratamento da DA em pacientes com concomitante desregulação dos níveis de insulina. Já que em modelos animais e em pacientes com DA inicial foram detectados benefícios cognitivos e nas memórias quando tratados com o agonista PPAR $\gamma$  rosiglitazona.

PPAR $\gamma$  possui efeitos anti-inflamatórios e anti-estresse oxidativo por ocasionar o aumento de reguladores mitocondriais, permitindo a modulação da plasticidade sináptica no hipocampo, minimizando a neuroinflamação e contribuindo para a remoção de peptídeo  $\beta$ A. Além disso, PPAR $\gamma$  possui atividade inibitória de  $\gamma$ -secretase. Como relatado anteriormente, a agregação de peptídeo  $\beta$ A42 é responsável pela formação dos oligômeros encontrados na DA. Peptídeo  $\beta$ A42 é um fragmento proteolítico resultante da clivagem sequencial da proteína precursora amilóide (PPA) pelas aspartil proteases,  $\beta$ -secretase e  $\gamma$ -secretase. A inibição de  $\gamma$ -secretase tem sido vista como um dos alvos mais promissores para o tratamento da DA (HIEKE et al., 2010; HIEKE et al., 2011; XU et al., 2014).

#### 1.4 LIPÍDEOS FENÓLICOS DE *Anacardium occidentale*

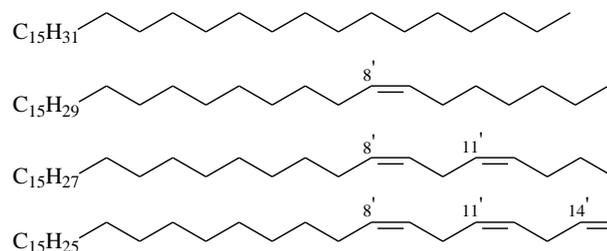
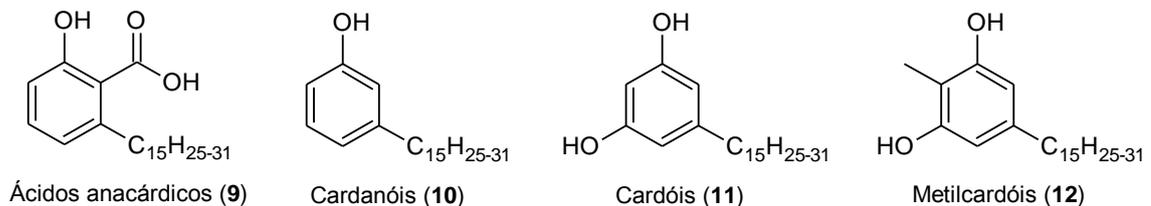
Metabólitos secundários obtidos através de plantas vêm sendo intensamente utilizados para o desenvolvimento de novos fármacos. A presença de um grupo polar, uma região de ligação e uma calda hidrofóbica são três dos elementos essenciais, segundo Grygiel-Górniak (2014), para ativação de PPAR. Elementos esses que podem ser encontrados nos lípidos fenólicos isolados do líquido da casca da castanha de caju (LCC), que apresentam grupo fenólico, cadeia alifática de 15 carbonos e diferentes graus de insaturação, permitindo diversos tipos de

modificação molecular (BALACHANDRAN et al., 2013; RODRIGUES et al., 2006; VASAPOLLO et al., 2011).

O cajueiro, *Anacardium occidentale*, amplamente encontrado por todo o Nordeste brasileiro, tem sido descrito há anos como importante fonte medicinal. A árvore é composta por um pedúnculo floral, pseudofruto, e por um fruto, chamado de castanha de caju. Por sua vez, a casca da castanha de caju compreende o mesocarpo esponjoso alveolado repleto de um líquido escuro, cáustico e inflamável, denominado de líquido da casca da castanha do caju, onde na parte interna da casca está à parte comestível do fruto, a amêndoa (BALACHANDRAN et al., 2013; MAZZETTO & LOMONACO, 2009).

O LCC é obtido durante o beneficiamento das amêndoas, representando 25% do peso da castanha, e é usado para fins medicinais e industriais. Este líquido é rico em lipídeos fenólicos não-isoprenoides (Figura 7) que podem ser extraídos de diversas maneiras por extração com solvente ou obtido a partir do beneficiamento da castanha como LCC técnico (BALACHANDRAN et al., 2013; RODRIGUES et al., 2006; VASAPOLLO et al., 2011).

**Figura 7:** Constituintes do Líquido da Casca da Castanha de Caju: ácidos anacárdicos (9), cardanóis (10), cardóis (11) e metilcardóis (12).



**Fonte:** Próprio autor.

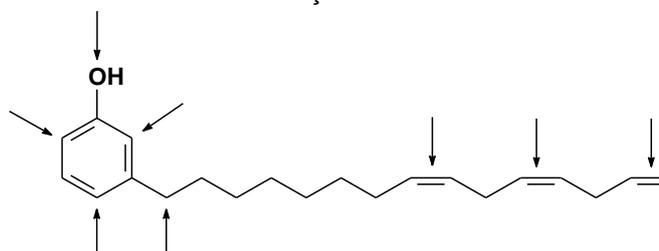
Na extração por solvente as castanhas são fragmentadas em pedaços e adicionadas em aparelho Soxlet, onde há o processo de extração contínua a quente com etanol. O líquido natural obtido contém misturas de ácidos anacárdicos (9) (60-65%), cardanóis (10) (10%), cardóis (11) (15-20%) e traços de metilcardóis (12)

(LADETER, 2010; LIMA et al., 2008; MAZZETTO; LOMONACO, 2009; RODRIGUES et al., 2006).

O LCC técnico é composto principalmente por cardanóis (60-65%), pela descarboxilação dos ácidos anacárdicos submetido a altas temperaturas sendo convertido em cardanóis (**10**), cardóis (**11**) (15-20%), material polimérico (10%), e traços de metilcardóis (**12**) (BALACHANDRAN et al., 2013; MAZZETTO & LOMONACO, 2009; RODRIGUES et al., 2006; VASAPOLLO et al., 2011).

A longa cadeia alquílica do cardanol (**10**) (Figura 8) possui características relevantes para o reconhecimento hidrofóbico por resíduos complementares nos sítios de reconhecimento molecular bem como no desenvolvimento de novas funcionalidades por meio de interconversão de grupos funcionais. O grupo fenol reativo oferece versatilidade sintética, e, por fim, o anel aromático, permite interações  $\pi$ - $\pi$ , tornando o cardanol um importante precursor químico (BALACHANDRAN et al., 2013; RODRIGUES et al., 2006; VASAPOLLO et al., 2011).

**Figura 8:** Possibilidades de modificação na estrutura do cardanol (**10**).



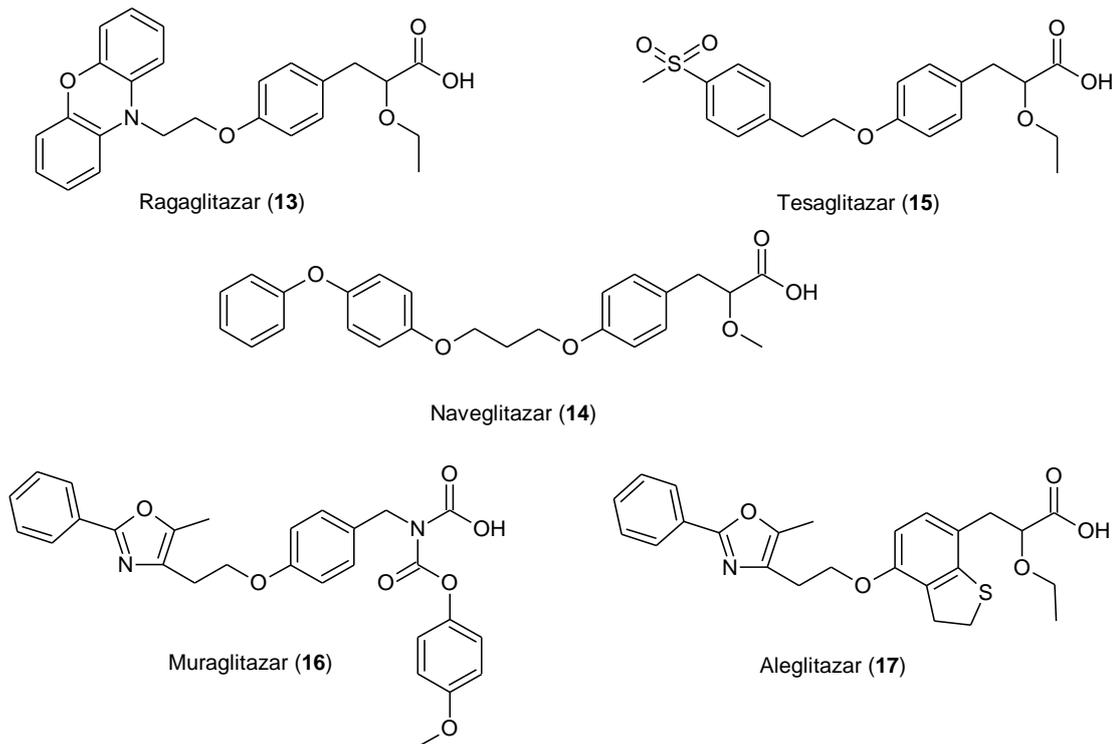
**Fonte:** Próprio autor.

## 1.5 NOVOS LIGANTES PPAR

Desde o surgimento das TZDs vários compostos moduladores seletivos de PPAR $\gamma$  foram criados e registrados no FDA (*Food and Drug Administration*), mas descontinuados por também ocasionarem efeitos desfavoráveis (GILARDI et al., 2014; PIRAT, et al., 2012). Assim como relatado por Amato (2008), acredita-se que agonistas parciais sejam mais seguros e efetivos que os que levam à ativação completa e não seletiva, como no caso das TZDs. Por sua vez Choi e colaboradores (2011) apontam que os efeitos desfavoráveis das TZDs estão relacionados ao agonismo clássico.

Os trabalhos desenvolvidos por Usui (2006), Zaware (2011), Gilardi (2014) e seus colaboradores discutiram sobre a importância de ligantes *duais* PPAR $\alpha$ / $\gamma$  para diminuir a concentração de triglicerídeos e aumentar os níveis de HDL em modelos animais de resistência à insulina. A combinação dos efeitos antilipidêmicos de PPAR $\alpha$  e antidiabéticos de PPAR $\gamma$  apresenta potencial benefício para o tratamento da síndrome metabólica, diabetes tipo 2, hiperglicemia, dislipidemia aterogênica, e até mesmo em doenças relacionadas ao diabetes, cujo mecanismo permanece obscuro, como na doença de Alzheimer. É plausível que agonistas duais apresentem benefício terapêutico em relação aos efeitos adversos observados em compostos agonistas de PPAR $\alpha$  e PPAR $\gamma$ , uma vez que apresentaram atividade parcial (BORTOLINI et al., 2013; MANSOUR, 2014).

**Figura 9:** Estrutura molecular de agonistas sintéticos duais PPAR $\alpha$ / $\gamma$ .



**Fonte:** Próprio autor.

Compostos agonistas duplos PPAR $\alpha$ / $\gamma$  (Figura 9) foram desenvolvidos, mas não foram aprovados pelo FDA devido aos mesmos efeitos adversos das TZDs. Ragaglitazar (13) e naveglitazar (14) contribuíram para o aumento dos casos de câncer na bexiga e hiperplasia. Por sua vez, tesaglitazar (15) apresentou riscos de toxicidade hepática e renal, enquanto muraglitazar (16) elevou o risco

cardiovascular, durante o uso clínico, e desta forma foram descontinuados (GILARDI et al., 2014; GRYGIEL-GÓRNIK, 2014; PIRAT, et al., 2012; SILVA et al., 2010; WERNER et al. 2014). No entanto, aleglitazar (**17**), atualmente em estudos de fase III, demonstrou efeitos benéficos no metabolismo lipídico e na redução dos níveis de glicose plasmática, mas segundo Sahebkar e colaboradores (2014), os estudos foram interrompidos devido a presença de fraturas ósseas, problemas cardíacos e gastrointestinais.

O diabetes tipo 2 e suas complicações secundárias configuram-se como problemas de saúde pública. O desenvolvimento de fármacos anti-diabéticos buscando a melhora da resistência insulínica, assim como da hiperlipidemia é necessário. As vantagens terapêuticas de agonistas duais PPAR $\alpha$ / $\gamma$  merecem destaque, apesar dos agonistas tesaglitazar e muraglitazar terem sido descontinuados (PARK et al., 2013). Há mais de 40 anos, fármacos com ação mediada por PPAR vêm sendo utilizados para o controle glicêmico e na homeostase de lípidos. A partir das informações sobre os mecanismos de ação ora estabelecidos, a segurança terapêutica destas classes de fármacos pode ser modificada (BORTOLINI et al., 2013; GILARDI et al., 2014).

Desta maneira, a síntese de novos ligantes com ação mediada por PPAR tem sido alvo de intensas pesquisas, uma vez que as atuais terapias medicamentosas apresentam limitações. Em adição, o desenvolvimento de novos ligantes é essencial visando maior conhecimento a respeito do papel fisiológico destes receptores, seus mecanismos e características farmacodinâmicas (AMATO, 2008; ANDRADE, 2008; CHEN & YANG, 2014; CHOI et al., 2011).

## ***Objetivos***

---

## 2.OBJETIVOS

---

### 2.1 OBJETIVO GERAL

No âmbito de uma linha de pesquisa que visa o desenvolvimento de novos ligantes com ação mediada por PPAR, o presente estudo teve como objetivo a síntese e avaliação farmacológica de novos ligantes duais PPAR $\alpha$ / $\gamma$ , planejados a partir da mistura de cardanóis (**10**).

#### 2.1.1 Objetivos Específicos

Compreendem os objetivos específicos:

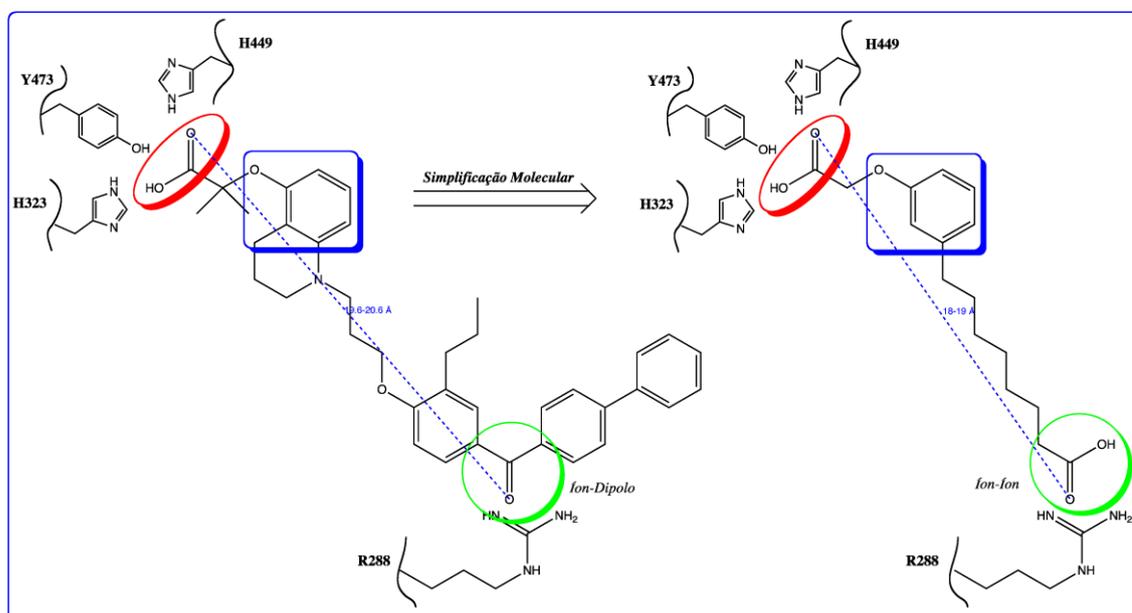
- A síntese e a caracterização dos intermediários e produtos finais;
- A avaliação do perfil farmacológico dos compostos-alvo quanto à ativação transcricional do PPAR em modelos experimentais *in vitro*;
- A avaliação do perfil farmacológico dos compostos-alvo quanto à expressão de genes envolvidos na captação e oxidação de ácidos graxos;
- A avaliação do perfil farmacológico dos compostos-alvo quanto à expressão de genes envolvidos na diferenciação de adipócitos.



### 3. PLANEJAMENTO ESTRUTURAL

Os derivados-alvo foram planejados a partir da simplificação molecular do composto líder desenvolvido por Lin e colaboradores (2009), de forma a gerar novos padrões moleculares com arcabouço estrutural complementar aos resíduos de aminoácidos dos receptores PPAR $\alpha/\gamma$  (Esquema 1). Neste sentido, foram planejados dois padrões moleculares: i. no qual há presença da subunidade alfa-ariloxicarboxilica visando interação com a tríade de aminoácidos H449, Y473 e H323, bem como modulação da subunidade pentadecila; ii. onde a cadeia lateral dos derivados planejados contém oito grupos metilenos, comprimento em torno de 19 Å, apresentando maior flexibilidade conformacional que o derivado proposto por Lin e colaboradores, bem como a substituição da arilcetona terminal por ácido carboxílico, visando interação íon-íon com o resíduo Arg288.

**Esquema 1:** Planejamento racional de ligantes agonistas PPAR.



Fonte: Próprio autor.



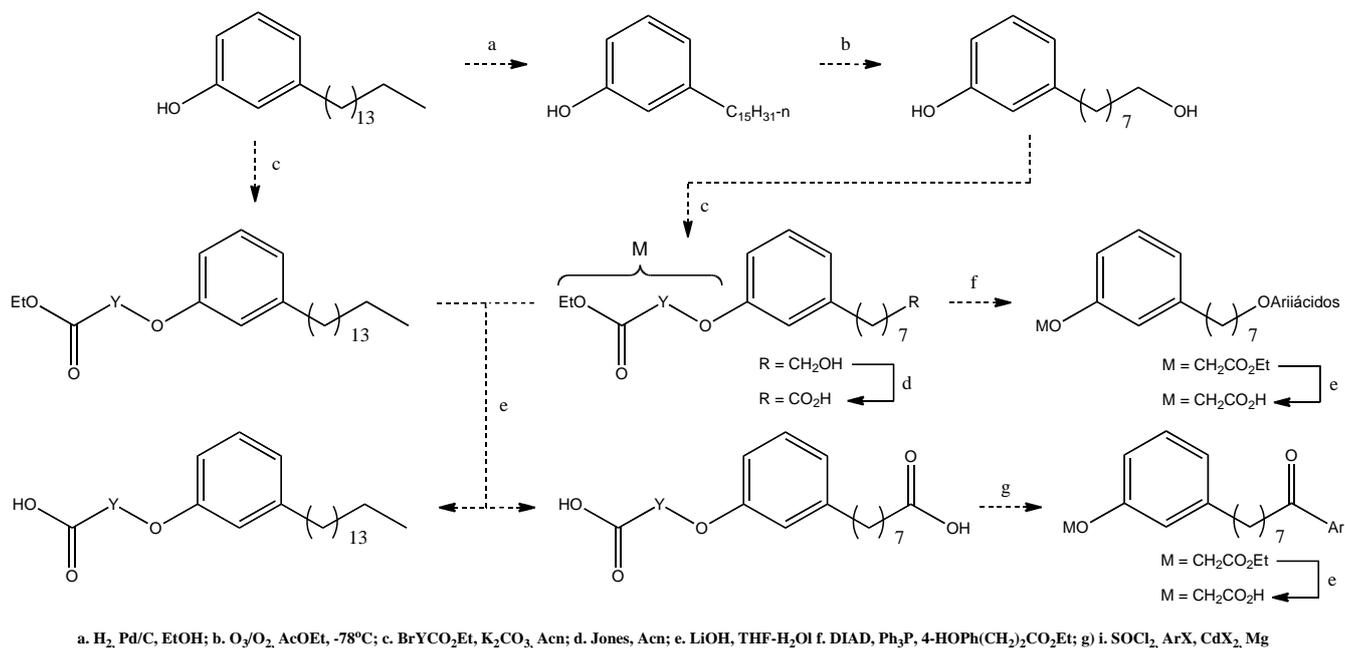
## 4. ESTRATÉGIA SINTÉTICA

---

A rota sintética para a obtenção dos derivados-alvo compreendeu a exploração de procedimentos sintéticos clássicos de interconversão de grupos funcionais, por exemplo, *O*-alquilação, ozonólise, adição nucleofílica, oxidação, hidrólise alcalina e condensação com reagentes contendo hidrogênios ativados, sob condições experimentais à temperatura ambiente, sob refluxo e radiação micro-ondas.

Neste sentido, o planejamento sintético iniciaria com a hidrogenação catalítica do cardanol monoinsaturado utilizando Pd/C em etanol visando o derivado saturado LDT10 (**18**). Em seguida LDT10 (**18**) seria submetido a reações de metilação com iodeto de metila na presença de K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> para obtenção do derivado LDT27 (**20**), e acetilação com anidrido acético e ácido fosfórico em forno MO visando a obtenção do derivado LDT12 (**19**). Por fim, reação de *O*-alquilação com o 2-haloéster correspondente na presença de K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> em acetona forneceria os derivados betaoxaésteres. Os ésteres-derivados seriam submetidos à hidrólise alcalina com hidróxido de lítio conduzindo aos respectivos ácidos carboxílicos, finalizando a série 1.

Na série 2, a mistura de cardanóis (**10**) seria acetilada e submetida à ozonólise em banho acetona/gelo seco e o intermediário ozonídeo secundário, não isolado, seria reduzido com hidreto metálico, levando ao derivado dihidroxilado LDT71 (**22**). Por sua vez, o LDT71 (**22**) seria submetido à reação de metilação na presença de iodeto de metila, conduzido ao derivado metilado (**23**), seguido de oxidação com reagente de Jones, e posteriormente reação de esterificação com iodeto de etila, originando o derivado. Para outros derivados, LDT71 (**22**) seria submetido à reação de *O*-alquilação regioespecífica com os 2-haloésteres na presença de K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> em acetona, sob refluxo, levando aos derivados betaoxaésteres. Estes serão submetidos à reação de oxidação aos carbometóxiácidos correspondentes, os quais sob hidrólise com hidróxido alcalino fornecirão os derivados diácidos. Por sua vez, os carbometóxiácidos também serão submetidos à reação de esterificação com iodeto de etila, fornecendo os derivados diésteres, finalizando a série. O planejamento para ambas as séries está delineado no Esquema 2.

**Esquema 2:** Planejamento sintético dos derivados-alvo.

**Fonte:** Próprio autor.

A caracterização das estruturas de intermediários e produtos finais dar-se a partir da obtenção e análise de espectros de ressonância magnética nuclear de hidrogênio e carbono-13, realizados no Centro Nordestino de Aplicação e Uso da Ressonância Magnética Nuclear (CENAUREMN) da Universidade Federal do Ceará; e espectros no infravermelho realizados na Central Analítica da Universidade Católica de Brasília.

A avaliação da atividade farmacológica seria realizada a partir de ensaio de gene repórter, mensurada em unidades relativas a luciferase, estudo em hepatócitos primários e estudo de diferenciação de adipócitos em colaboração com a Universidade de Toronto.

***Parte Experimental***

---

## 5. PARTE EXPERIMENTAL

---

### 5.1 GENERALIDADES, MATERIAIS E MÉTODOS

O planejamento e a síntese dos derivados-alvo foram realizados na Universidade Católica de Brasília no Laboratório de Desenvolvimento de Estratégias Terapêuticas (LADETER).

Os reagentes e solventes químicos utilizados neste trabalho foram adquiridos das indústrias Sigma-Aldrich® (EUA) e Tedia® (EUA). Os solventes acetonitrila (MeCN), anidrido acético e diclorometano (DCM) foram previamente secos com hidreto de cálcio e destilados antes do uso.

As reações de substituição nucleofílica ( $S_N2$ ) foram realizadas em forno micro-ondas doméstico Brastemp® modelo BMK38ABHNA JetDefrost com capacidade de 38 L e potência de 900 W.

As reações e purificações foram monitoradas por meio de cromatografia em camada delgada (ccd), utilizando cromatofolhas (5,0 x 1,5 cm) de sílica Kieselgel 60 F254 em alumínio com espessura de 0,25 mm (SILICYCLE®) e visualizadas através de lâmpada de UV (254-366 nm), que permitiu o cálculo do fator de retenção (RF). Para a purificação dos compostos foi utilizada cromatografia em coluna com gel de sílica G60 (70-230 mesh) SILICYCLE®.

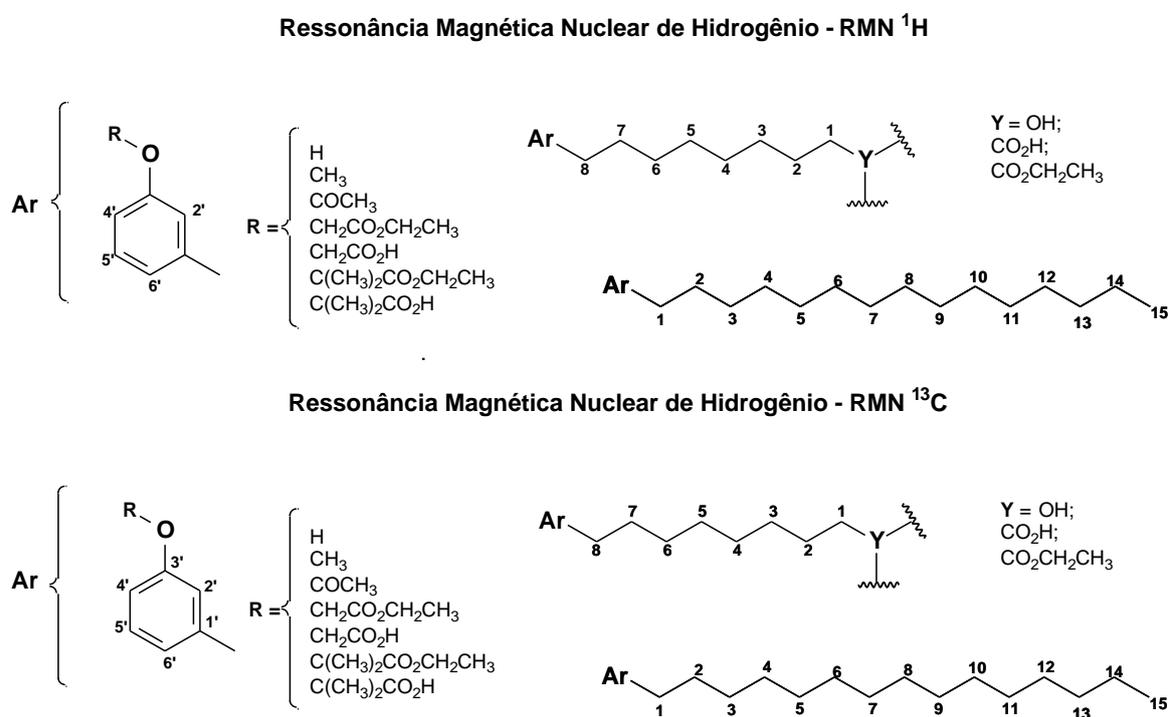
Os solventes foram evaporados à pressão reduzida utilizando evaporador rotatório Tecnal® TE-211, conectado a sistema de vácuo com pressão variando entre 10 e 0,1 mmHg.

Os espectros na região do infravermelho (IV) foram obtidos em Espectrofotômetro Perkin Elmer modelo Spectrum BX, empregando pastilhas de brometo de potássio (KBr) ou na forma de filme líquido em placa de cloreto de sódio (NaCl) da Central Analítica da Universidade Católica de Brasília – UCB. Os valores para as absorções ( $v_{máx}$ ) são referidos em números de ondas utilizando como unidade o centímetro recíproco ( $cm^{-1}$ ).

As análises por ressonância magnética nuclear de hidrogênio (RMN  $^1H$ ) e carbono-13 (RMN  $^{13}C$ ) foram realizadas no Centro Nordestino de Aplicação e Uso da Ressonância Magnética Nuclear (CENAUREMN) da Universidade Federal do Ceará (Figura 10), e os espectros obtidos a 300 MHz e 75 MHz ou a 500 MHz e 125 MHz

respectivamente, verificados em aparelho Bruker Avance DRX300 e DRX500. Para a realização dos testes, as amostras foram solubilizadas em  $\text{CDCl}_3$ , tendo tetrametilsilano (TMS) como referência interna. Os valores de deslocamento químico ( $\delta$ ) são referidos em parte por milhão (ppm) em relação ao TMS e as constantes de acoplamento (J) em Hertz (Hz). As áreas dos sinais foram obtidas por integração eletrônica e suas multiplicidades descritas como: simpleto (s); simpleto largo (sl); duplete (d); duplo duplete (dd); tripleto (t) e multiplete (m).

**Figura 10:** Numeração e legendas empregadas no assinalamento de sinais em RMN  $^1\text{H}$  e RMN  $^{13}\text{C}$ .

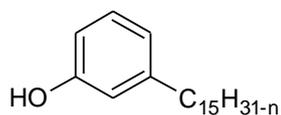


**Fonte:** Próprio autor.

A avaliação da ação farmacológica dos compostos foi realizada na Universidade de Toronto, por meio de ensaio de gene repórter, em que se visualizou a capacidade de emissão de luz luciferase, indicativa da indução da transcrição gênica mediada por PPAR, ensaio em hepatócitos primários e ensaio de diferenciação de adipócitos, determinando a atividade dos possíveis ligantes agonistas de PPAR na captação e oxidação de ácidos graxos, bem como na adipogênese.

## 5.2 METODOLOGIA SINTÉTICA E CARACTERIZAÇÃO DOS COMPOSTOS

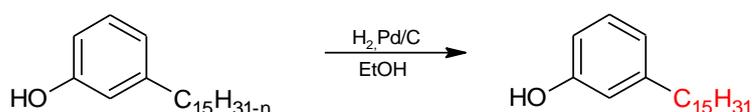
### 5.2.1 Obtenção da Mistura de Cardanóis (10) a Partir do LCC Técnico



$$n = 2$$

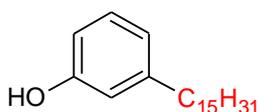
O cardanol monoinsaturado (**10**) ( $MM = 302,494 \text{ g mol}^{-1}$ ) foi purificada a partir de destilado do LCC técnico fornecido pela RESIBRAS, por meio de coluna cromatográfica em gel de sílica, eluída com mistura de hexanos, em rendimento de 90% em relação à massa total aplicada.

### 5.2.2 Obtenção do Derivado 3-Pentadecilfenol (LDT10, 18)



Em um frasco de hidrogenação foram adicionados 10,00 g de cardanol monoinsaturado (**10**) (33,058 mmol) e etanol (30,0 mL). À solução foram adicionados 0,22 g de catalisador paládio (Pd/C) e a mistura submetida à hidrogenação catalítica sob pressão de 60 psi em reator Paar, à temperatura ambiente durante 3 horas. A mistura foi filtrada em funil sinterizado, para retirada do catalisador, e o solvente foi evaporado à pressão reduzida. Após purificação em coluna cromatográfica eluída com mistura hexano/diclorometano (1:1), o derivado saturado, LDT 10 (**18**), foi fornecido.

#### 3-Pentadecilfenol (LDT10, 18)



Sólido branco

Rendimento (90%)

R<sub>f</sub>: 0,35 (DCM<sub>50%</sub>:Hex<sub>50%</sub>)

Ponto de fusão: 44-45°C

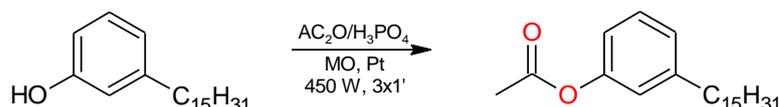
Fórmula molecular: C<sub>21</sub>H<sub>36</sub>O

IV (KBr)  $\nu_{\text{máx}} \text{ cm}^{-1}$ : 3337 ( $\nu_{\text{OH}}$ ); 2916 ( $\nu_{\text{as CH}_2}$ ); 2848 ( $\nu_{\text{s CH}_2}$ ); 1592, 1458 ( $\nu_{\text{C=C}}$ ).

RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  0,92 (t,  $J = 6,8$ , 3H, 15); 1,29-1,33 (m, 24H, 3-14); 1,60-1,62 (m, 2H, 2); 2,58 (t,  $J = 7,5$  Hz, 2H, 1); 6,68 (d,  $J = 9,9$  Hz, 2H, 2' e 4'); 6,78 (d,  $J = 7,4$  Hz, 1H, 6'); 7,16 (t,  $J = 7,8$  Hz, 1H, 5').

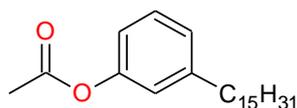
RMN  $^{13}\text{C}$  (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  14,3 ( $\underline{\text{C}}\text{H}_3$ , 15); 22,9 ( $\underline{\text{C}}\text{H}_2$ , 14); 29,6-29,9 ( $\underline{\text{C}}\text{H}_2$ , 3-12); 31,5 ( $\underline{\text{C}}\text{H}_2$ , 2); 32,2 ( $\underline{\text{C}}\text{H}_2$ , 13); 36,0 ( $\underline{\text{C}}\text{H}_2$ , 1); 112,7 ( $\text{Ar}\underline{\text{C}}\text{H}$ , 2'); 115,6 ( $\text{Ar}\underline{\text{C}}\text{H}$ , 4'); 121,2 ( $\text{Ar}\underline{\text{C}}\text{H}$ , 6'); 129,6 ( $\text{Ar}\underline{\text{C}}\text{H}$ , 5'); 145,2 ( $\text{Ar}\underline{\text{C}}$ , 1'); 155,6 ( $\text{Ar}\underline{\text{C}}\text{O}$ , 3').

### 5.2.3 Obtenção do Derivado Acetato de 3-Pentadecilfenila (LDT12, 19)



Em um erlenmeyer (100,0 mL) foram adicionados 2,00 g (6,568 mmol) de cardanol saturado (**18**), 1,22 mL de anidrido acético (13,0 mmol) e ácido fosfórico (2 gotas). A mistura foi submetida à reação de acetilação em forno micro-ondas doméstico, à potência de 450 W, durante 3 minutos (3 x 1'). Em seguida, a mistura foi extraída com acetato de etila (3 x 10,0 mL) e as frações orgânicas reunidas foram lavadas com solução salina saturada (10,0 mL) e seca sob sulfato de sódio anidro. Após evaporação do solvente à pressão reduzida, a mistura foi purificada por cromatografia em coluna contendo sílica em gel, eluída com mistura de hexano e diclorometano, fornecendo o acetato de cardanolila (LDT12, **19**).

#### Acetato de 3-Pentadecilfenila (LDT12, **19**)



Sólido branco

Rendimento (91%)

Rf: 0,70 ( $\text{DCM}_{50\%}:\text{Hex}_{50\%}$ )

Ponto de fusão: 46-48°C

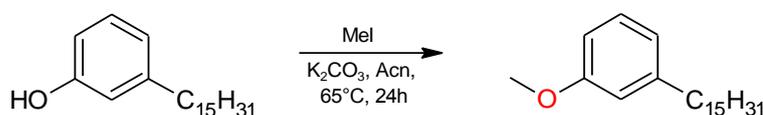
Fórmula molecular:  $\text{C}_{23}\text{H}_{38}\text{O}_2$

IV (KBr)  $\nu_{\text{máx}} \text{ cm}^{-1}$ : 2917 ( $\nu_{\text{CH}_3}$ ); 2850 ( $\nu_{\text{CH}_2}$ ); 1630 ( $\nu_{\text{C=O}}$ ); 1364, 1325, 1308 ( $\nu_{\text{C=C}}$ ); 1165 ( $\nu_{\text{CH}_3}$ ); 1148 ( $\nu_{\text{C-O}}$ ).

RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  0,89 (t,  $J = 6,8$  Hz, 3H, 15); 1,26-1,31 (m, 27H, 3-14); 1,59-1,64 (m, 2H, 2); 2,60 (m, 5H,  $\text{ArOCOC}\underline{\text{H}}_3$ , e 1); 6,72 (d,  $J = 8,1$  Hz, 1H, 4'); 6,79 (s, 1H, 2'); 7,63 (d, 1H,  $J = 8,1$  Hz, 5').

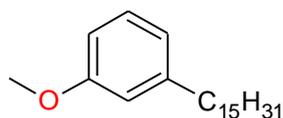
RMN  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  14,3 ( $\underline{\text{C}}\text{H}_3$ , 15); 22,9 ( $\underline{\text{C}}\text{H}_2$ , 14); 26,6 ( $\text{ArOCOC}\underline{\text{H}}_3$ ); 29,4-29,9 ( $\underline{\text{C}}\text{H}_2$ , 3-12); 30,8 ( $\underline{\text{C}}\text{H}_2$ , 2); 32,1 ( $\underline{\text{C}}\text{H}_2$ , 13); 36,4 ( $\underline{\text{C}}\text{H}_2$ , 1); 118,0 ( $\text{Ar}\underline{\text{C}}\text{H}$ , 4'); 119,7 ( $\text{Ar}\underline{\text{C}}\text{H}$ , 6'); 130,8 ( $\text{Ar}\underline{\text{C}}\text{H}$ , 5'); 153,2 ( $\text{Ar}\underline{\text{C}}$ , 1'); 162,8 ( $\text{Ar}\underline{\text{C}}\text{O}$ , 3'); 204,0 ( $\text{ArOCOC}\underline{\text{H}}_3$ ).

#### 5.2.4 Obtenção do Derivado 1-Metóxi-3-pentadecilbenzeno (LDT27, 20)



A um balão (100,0 mL) foram adicionados 1,00 g de LDT10 (**18**) (3,283 mmol), 0,90 g de carbonato de potássio (6,567 mmol), 0,52 mL de iodeto de metila (8,209 mmol) e acetona (25,0 mL). O sistema reacional foi submetido a refluxo, sob agitação magnética, por 24 horas. Na sequência, a acetona foi evaporada à pressão reduzida, o resíduo extraído com éter (3 x 10,0 mL) e as frações orgânicas reunidas lavadas com solução de ácido clorídrico 10% (30,0 mL), solução salina saturada (30,0 mL) e seca sob sulfato de sódio anidro. O solvente foi evaporado à pressão reduzida e o resíduo purificado em coluna de gel de sílica eluída com mistura hexano-diclorometano (1:1), fornecendo o derivado LDT27 (**20**).

#### 1-Metóxi-3-pentadecilbenzeno (LDT27, 20)



Líquido incolor

Rendimento (78%)

$R_f$ : 0,95 (DCM)

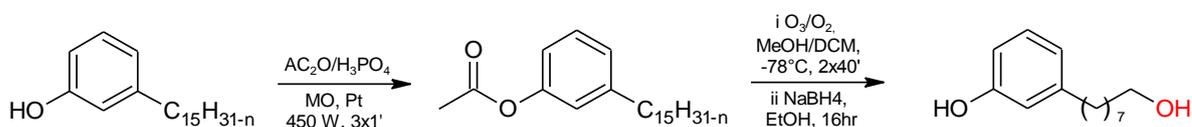
Fórmula molecular:  $\text{C}_{23}\text{H}_{41}\text{O}$

IV (KBr)  $\nu_{\text{máx}}$   $\text{cm}^{-1}$ : 2923 ( $\nu_s$   $\text{CH}_2$ ); 2852 ( $\nu_s$   $\text{CH}_2$ ); 1601, 1584, 1488, 1465 ( $\nu$   $\text{C}=\text{C}$ ), 1259 ( $\nu_s$   $\text{ArC-O-CH}_3$ ), 1047 ( $\nu_s$   $\text{C-O}$ ).

RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  0,91 (t,  $J = 6,5$ , 3H, 15); 1,28-1,32 (m, 24H, 3-14); 1,60-1,65 (m, 2H, 2); 2,60 (t,  $J = 7,8$  Hz, 2H, 1); 3,82 (sl, 3H,  $\text{ArOCH}_3$ ); 6,77 (m, 3H, 2', 4' e 6'); 7,22 (m, 1H, 5').

RMN  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  14,3 ( $\text{CH}_3$ , 15); 22,9 ( $\text{CH}_2$ , 14); 29,6-29,9 ( $\text{CH}_2$ , 3-12); 31,6 ( $\text{CH}_2$ , 2); 32,2 ( $\text{CH}_2$ , 13); 36,3 ( $\text{CH}_2$ , 1); 55,3 ( $\text{ArOCH}_3$ ); 111,0 ( $\text{ArCH}$ , 4'); 114,4 ( $\text{ArCH}$ , 2'); 121,0 ( $\text{ArCH}$ , 6'); 129,3 ( $\text{ArCH}$ , 5'); 144,8 ( $\text{ArC}$ , 1'); 159,8 ( $\text{ArCO}$ , 3').

### 5.2.5 Obtenção do Derivado 3-(8-Hidróxiocetil)fenol (LDT71, 22)

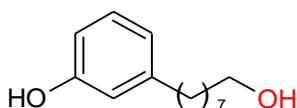


Em um erlenmeyer (125,0 mL) foram adicionados 12,00 g de cardanol monoinsaturado (**10**) (39,406 mmol), anidrido acético destilado (12,0 mL) e ácido fosfórico (12 gotas). A mistura foi submetida à reação de acetilação em forno de micro-ondas doméstico, à potência de 450 W, durante 3 mim (3 x 1'). Na sequência, o resíduo foi extraído com acetato de etila (3 x 15,0 mL) e as frações orgânicas reunidas lavadas com solução de bicarbonato de sódio 5% (20,0 mL), solução de ácido clorídrico 10% (20,0 mL), solução salina saturada (20,0 mL) e seca sob sulfato de sódio anidro. Após evaporação do solvente à pressão reduzida, a mistura reacional foi purificada por cromatografia em coluna de gel de sílica, eluída com diclorometano, fornecendo o composto desejado em rendimento de 73%.

Em um balão para ozonólise (250,0 mL) foram adicionados 10,00 g de cardanol monoacetilado (**21**) (33,058 mmol), diclorometano (20,0 mL) e metanol (20,0 mL). O balão foi adaptado ao ozonizador com fluxo de ozônio por 80 minutos, sob banho de gelo seco/acetona. Na sequência, o ozonídeo secundário, de coloração alaranjada e aspecto translúcido, foi submetido à redução com borohidreto de sódio, onde foram utilizados dois béqueres de 600,0 mL, nos quais foram acrescentados 5,00 g do intermediário ozonídeo (14,427 mmol), 60,0 mL de metanol e 5,90 g de hidreto de boro e sódio (158,704 mmol), sob banho de gelo seco/acetona. Ao final da adição do hidreto de boro e sódio a reação permaneceu seis horas, sob agitação magnética. Em seguida, a mistura foi acidificada com ácido

clorídrico concentrado a pH 3,0 e o resíduo extraído com acetato de etila (3 x 30,0 mL) e as frações orgânicas reunidas lavadas com solução salina saturada (30,0 mL) e seca sob sulfato de sódio. Após a evaporação do solvente, o produto foi purificado em coluna com gel de sílica, eluída com diclorometano, clorofórmio e posteriormente, clorofórmio e etanol, levando ao derivado dihidroxilado (LDT71, **22**).

### 3-(8-Hidróxiocetil)fenol (LDT71, **22**)



Líquido Incolor

Rendimento (79%)

Rf: 0,33 (CLF: EtOH 30%)

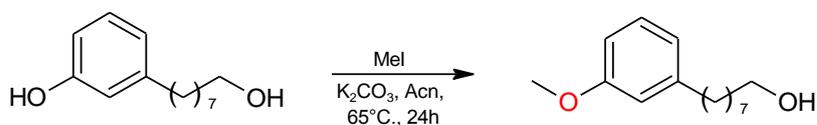
Fórmula molecular: C<sub>14</sub>H<sub>22</sub>O<sub>2</sub>

IV (KBr)  $\nu_{\text{máx}} \text{ cm}^{-1}$ : 3351 ( $\nu_{\text{OH}}$ ); 2929 ( $\nu_{\text{as CH}_2}$ ); 2855 ( $\nu_{\text{s CH}_2}$ ); 1589, 1456 ( $\nu_{\text{C=C}}$ ).

RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  1,30 (s, 8H, 3-6); 1,53-1,59 (m, 4H, 2 e 7); 2,54 (t,  $J = 7,6$  Hz, 2H, 8); 3,66 (t,  $J = 6,6$  Hz, 2H, 8); 6,65 (dd,  $J = 8,1$  Hz,  $J = 2,5$  Hz, 1H, 4'); 6,67 (sl, 1H, 2'); 6,71 (d,  $J = 7,6$  Hz, 1H, 6'); 7,19 (dd,  $J = 7,8$  Hz, 1H, 5').

RMN <sup>13</sup>C (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  25,8 ( $\underline{\text{C}}\text{H}_2$ , 6); 29,2 ( $\underline{\text{C}}\text{H}_2$ , 5); 29,4 ( $\underline{\text{C}}\text{H}_2$ , 4); 29,5 ( $\underline{\text{C}}\text{H}_2$ , 3); 31,3 ( $\underline{\text{C}}\text{H}_2$ , 2); 32,7 ( $\underline{\text{C}}\text{H}_2$ , 7); 35,9 ( $\underline{\text{C}}\text{H}_2$ , 1); 63,2 ( $\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{OH}$ , 8); 112,8 (Ar $\underline{\text{C}}\text{H}$ , 4'); 115,6 (Ar $\underline{\text{C}}\text{H}$ , 2'); 120,8 (Ar $\underline{\text{C}}\text{H}$ , 6'); 129,5 (Ar $\underline{\text{C}}\text{H}$ , 5'); 144,9 (Ar $\underline{\text{C}}$ , 1'); 156,0 (Ar $\underline{\text{C}}\text{O}$ , 3').

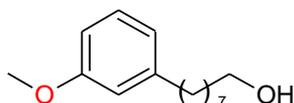
### 5.2.6 Obtenção do Derivado 8-(3-Metóxiifenil)octan-1-ol (LDT72, **23**)



Em um balão (100,0 mL) foram adicionados 1,00 g de LDT71 (**22**) (3,782 mmol), 1,04 g de carbonato de potássio (7,565 mmol), 0,60 mL de iodeto de metila (9,456 mmol) e acetona (25,0 mL). A mistura foi submetida a refluxo sob agitação magnética, durante 24 horas. Na sequência, a acetona foi evaporada à pressão reduzida, e o resíduo extraído com acetato de etila (3 x 10,0 mL). As frações orgânicas reunidas foram lavadas com solução de ácido clorídrico 10% (30,0 mL), solução salina saturada (30,0 mL) e seca sob sulfato de sódio anidro. O solvente foi

evaporado à pressão reduzida e o resíduo purificado em coluna de gel de sílica eluída com mistura hexano-diclorometano (1:1), originando o derivado LDT72 (**23**).

#### 8-(3-Metóxfenil)octan-1-ol (LDT72, **23**)



Líquido incolor

Rendimento (80%)

Rf: 0,40 (DCM)

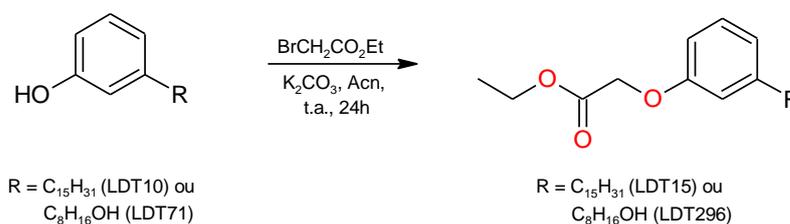
Fórmula Molecular: C<sub>15</sub>H<sub>24</sub>O<sub>2</sub>

IV (KBr)  $\nu_{\text{máx}} \text{ cm}^{-1}$ : 3351 ( $\nu_{\text{OH}}$ ); 2929 ( $\nu_{\text{as CH}_2}$ ); 1602, 1464, 1260, 1051 ( $\nu_{\text{C=C}}$ ), 776 ( $\nu_{\text{as ArC-O-CH}_3}$ ), 695 ( $\nu_{\text{s C-O}}$ ).

RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  1,33 (m, 8H, 3-6); 1,54-1,58 (m, 2H, 7); 1,60-1,63 (m, 2H, 2); 2,59 (t,  $J = 6,0$  Hz, 2H, 1); 3,64 (t,  $J = 6,0$  Hz, 2H, 8); 3,81 (s, 3H, ArOCH<sub>3</sub>); 6,72-6,79 (m, 3H, 2',4' e 6'); 7,18-7,21 (m, 1H, 5').

RMN <sup>13</sup>C (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  25,9 (CH<sub>2</sub>, 5); 29,6 (CH<sub>2</sub>, 5); 29,4 (CH<sub>2</sub>, 4); 29,5 (CH<sub>2</sub>, 3); 31,5 (CH<sub>2</sub>, 2); 32,9 (CH<sub>2</sub>, 7); 36,2 (CH<sub>2</sub>, 1); 55,3 (ArOCH<sub>3</sub>); 63,2 (CH<sub>2</sub>, 8); 110,9 (ArCH, 2'); 114,4 (ArCH, 4'); 121,1 (ArCH, 6'); 129,3 (ArCH, 5'); 144,7 (ArC, 1'); 159,7 (ArCO, 3').

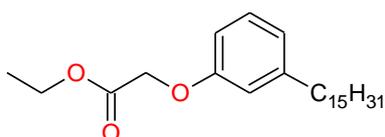
#### 5.2.7 Obtenção dos Derivados $\beta$ -oxaéster LDT15 (**24**) e LDT296 (**28**).



A um balão (125,0 mL) foram adicionados os fenóis **18** (1,36 g; 4,485 mmol) ou **22** (1,00 g; 4,497 mmol), carbonato de potássio (2,00 eq) e acetona (50,0 mL). A mistura permaneceu sob agitação magnética durante 60 minutos, e então, foi adicionado 2-bromoacetato de etila (1,25 eq). A reação prosseguiu sob agitação magnética, à temperatura ambiente por 24 horas. Após redução do volume de solvente à pressão reduzida, a mistura foi extraída com acetato de etila (2 x 30,0

mL) e as frações orgânicas reunidas foram lavadas com solução de ácido clorídrico 10% (30,0 mL), solução salina saturada (20,0 mL) e seca sob sulfato de sódio anidro. O solvente foi evaporado a pressão reduzida e os resíduos purificados em coluna de gel de sílica, eluída com mistura clorofórmio-diclorometano (2:1), originando os éster-derivados LDT15 (**24**) e LDT296 (**28**).

#### 2-(3-Pentadecilfenóxi)acetato de etila (LDT15, **24**)



Sólido branco

Rendimento (90%)

Rf: 0,5 (Hex: AcOEt 40%)

Ponto de fusão: 30-31°C

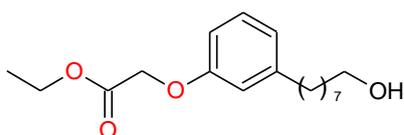
Fórmula molecular: C<sub>25</sub>H<sub>42</sub>O<sub>3</sub>

IV (KBr)  $\nu_{\text{máx}} \text{ cm}^{-1}$ : 2918 ( $\nu_{\text{s}} \text{ CH}_2$ ); 2850 ( $\nu_{\text{s}} \text{ CH}_2$ ); 1753 ( $\nu_{\text{C=O}}$ ); 1612, 1586, 1490, 1466 ( $\nu_{\text{C=C}}$ ), 1242 ( $\nu_{\text{as O-C(O)-C}}$ ); 1096 ( $\nu_{\text{s C-O-C}}$ ).

RMN <sup>1</sup>H (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  0,89 (t,  $J = 6,8$  Hz, 3H, 15); 1,27-1,29 (m, 24H, 3-14); 1,31 (t,  $J = 7,0$  Hz, 3H, ArOCH<sub>2</sub>CO<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>); 1,57-1,62 (m, 2H, 2); 2,58 (t,  $J = 7,5$  Hz, 2H, 1); 4,28 (q,  $J = 7,0$  Hz, 2H, ArOCH<sub>2</sub>CO<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>); 4,61 (s, 2H, ArOCH<sub>2</sub>CO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>); 6,71 (dd,  $J = 8,1$  Hz,  $J = 2,5$  Hz, 1H, 4'); 6,76 (sl, 1H, 2'); 6,81 (d,  $J = 7,6$  Hz, 1H, 6'); 7,19 (dd,  $J = 7,8$  Hz, 1H, 5').

RMN <sup>13</sup>C (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  14,3 (ArOCH<sub>2</sub>CO<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>); 14,4 (CH<sub>3</sub>, 15); 22,9 (CH<sub>2</sub>, 14); 29,5-29,9 (CH<sub>2</sub>, 3-12); 31,5 (CH<sub>2</sub>, 2); 32,1 (CH<sub>2</sub>, 13); 36,2 (CH<sub>2</sub>, 1); 61,5 (ArOCH<sub>2</sub>CO<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>); 65,6 (ArOCH<sub>2</sub>CO<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>); 111,6 (ArCH, 4'); 115,3 (ArCH, 2'); 122,1 (ArCH, 6'); 129,4 (ArCH, 5'); 145,0 (ArC, 1'); 158,0 (ArCO, 3'); 169,3 (ArOCH<sub>2</sub>CO<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>).

#### 2-(3-(8-Hidróxiocetil)fenóxi)acetato de etila (LDT296, **28**)



Líquido amarelo

Rendimento (62%)

Rf: 0,55 (CLF:EtOH 40%)

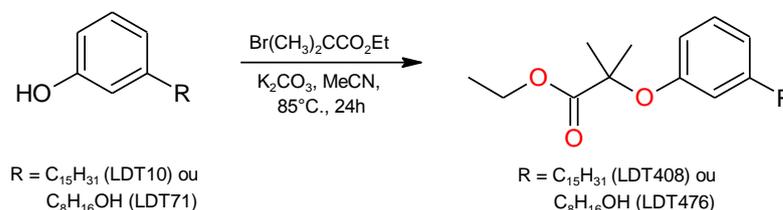
Fórmula molecular: C<sub>18</sub>H<sub>28</sub>O<sub>4</sub>

IV (KBr)  $\nu_{\text{máx}} \text{ cm}^{-1}$ : 3421 ( $\nu_{\text{OH}}$ ); 2929 ( $\nu_{\text{as CH}_2}$ ); 2855 ( $\nu_{\text{s CH}_2}$ ); 1761 ( $\nu_{\text{C=O}}$ ); 1596, 1458, ( $\nu_{\text{C=C}}$ ), 1205 ( $\nu_{\text{as O-C(O)-C}}$ ); 1093 ( $\nu_{\text{s C-O-C}}$ ).

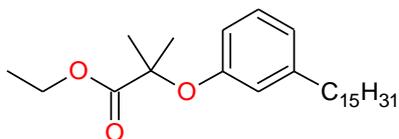
RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  1,27-1,32 (m, 3H,  $\text{ArOCH}_2\text{CO}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$ ; 8H, 3-6); 1,53-1,59 (m, 4H, 2 e 7); 2,57 (t,  $J = 7,5$  Hz, 2H, 8); 3,63 (t,  $J = 6,6$  Hz, 2H, 1); 4,27 (q,  $J = 7,1$  Hz, 2H,  $\text{ArOCH}_2\text{CO}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$ ); 4,61 (s, 2H,  $\text{ArOCH}_2\text{CO}_2\text{CH}_3$ ); 6,71 (dd,  $J = 8,1$  Hz,  $J = 2,5$  Hz, 1H, 4'); 6,76 (sl, 1H, 2'); 6,81 (d,  $J = 7,6$  Hz, 1H, 6'); 7,19 (dd,  $J = 7,8$  Hz, 1H, 5').

RMN  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  14,3 ( $\text{ArOCH}_2\text{CO}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$ ); 25,9 ( $\text{CH}_2$ , 3); 29,3 ( $\text{CH}_2$ , 6); 29,5 ( $\text{CH}_2$ , 5); 29,6 ( $\text{CH}_2$ , 4); 31,4 ( $\text{CH}_2$ , 7); 33,0 ( $\text{CH}_2$ , 2); 36,1 ( $\text{CH}_2$ , 8); 61,5 ( $\text{ArOCH}_2\text{CO}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$ ); 63,2 ( $\text{CH}_2\text{OH}$ , 1); 65,7 ( $\text{ArOCH}_2\text{CO}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$ ); 111,6 ( $\text{ArCH}$ , 4'); 115,3 ( $\text{ArCH}$ , 2'); 122,1 ( $\text{ArCH}$ , 6'); 129,4 ( $\text{ArCH}$ , 5'); 144,9 ( $\text{ArC}$ , 1'); 158,1 ( $\text{ArCO}$ , 3'); 169,3 ( $\text{ArOCH}_2\text{CO}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$ ).

### 5.2.8 Obtenção dos Derivados $\alpha,\alpha$ -Dimetilésteres LDT408 (26) e LDT476 (33).



A um balão (125,0 mL) foram adicionados os fenóis **18** (0,90 g; 2,968 mmol) ou **22** (1,20 g; 5,397 mmol), carbonato de potássio (2,00 eq), iodeto de potássio (1,00 eq) e acetonitrila (6,0 mL). A mistura permaneceu sob agitação magnética durante 60 minutos, e então, foi adicionado  $\alpha$ -bromoisobutirato de etila (3,00 eq). A reação prosseguiu sob agitação magnética, em refluxo à 85°C por 24 horas. Após redução do volume de solvente à pressão reduzida, a mistura foi extraída com éter (2 x 25,0 mL) e as frações orgânicas reunidas foram lavadas com solução de ácido clorídrico 10% (30,0 mL), solução salina saturada (20,0 mL) e seca sob sulfato de sódio. O solvente foi evaporado à pressão reduzida e os resíduos purificados em coluna de gel de sílica eluída com mistura diclorometano-clorofórmio (1:1), fornecendo os derivados LDT408 (**26**) e LDT476 (**33**).

2-Metil-2-(3-Pentadecilfenóxi)Propanoato de etila (LDT408, **26**)

Líquido amarelo

Rendimento (92%)

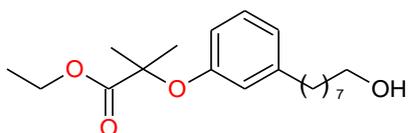
Rf: 0,75 (CLF:EtOH 40%)

Fórmula molecular: C<sub>27</sub>H<sub>46</sub>O<sub>3</sub>

IV (KBr)  $\nu_{\text{máx}} \text{ cm}^{-1}$ : 2925 ( $\nu_{\text{s}} \text{ CH}_2$ ); 2854 ( $\nu_{\text{s}} \text{ CH}_2$ ); 1735 ( $\nu_{\text{C=O}}$ ); 1602, 1466 ( $\nu_{\text{C=C}}$ ), 1142 ( $\nu_{\text{as}} \text{ O-C(O)-C}$ ); 1025 ( $\nu_{\text{s}} \text{ C-O-C}$ ).

RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  0,89 (t,  $J = 6,4 \text{ Hz}$  3H, 15); 1,23-1,27 (m, 27H, ArOC(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CO<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>, 3-14); 1,56-1,60 (m, 8H, ArOC(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CO<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub> e 2); 2,55 (t,  $J = 7,7 \text{ Hz}$ , 2H, 1); 4,24 (q,  $J = 7,1 \text{ Hz}$ , 2H, ArOC(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CO<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>); 6,65 (dd,  $J = 8,0 \text{ Hz}$ ,  $J = 1,7 \text{ Hz}$ , 1H, 4'); 6,70 (d,  $J = 1,5 \text{ Hz}$ , 1H, 2'); 6,81 (d,  $J = 7,5 \text{ Hz}$ , 1H, 6'); 7,13 (dd,  $J = 7,8 \text{ Hz}$ , 1H, 5').

RMN <sup>13</sup>C (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  14,3 (ArOC(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CO<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>); 14,3 (CH<sub>3</sub>, 15); 22,9 (Ar/CH<sub>2</sub>, 14); 25,6 (ArOC(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CO<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>); 29,5-29,9 (CH<sub>2</sub>, 3-12); 31,5 (CH<sub>2</sub>, 2); 32,1 (CH<sub>2</sub>, 13); 36,1 (CH<sub>2</sub>, 1); 61,5 (ArOC(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CO<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>); 79,1 (ArOC(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CO<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>); 116,3 (ArCH, 4'); 119,6 (ArCH, 2'); 122,5 (ArCH, 6'); 128,9 (ArCH, 5'); 144,7 (ArC, 1'); 155,6 (ArCO, 3'); 174,6 (ArOC(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CO<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>).

2-(3-(8-Hidróxiocetil)fenóxi)-2-metilpropanoato de etila (LDT476, **33**)

Líquido Incolor

Rendimento (65%)

Rf: 0,88 (CLF:EtOH 40%)

Fórmula Molecular: C<sub>20</sub>H<sub>32</sub>O<sub>4</sub>

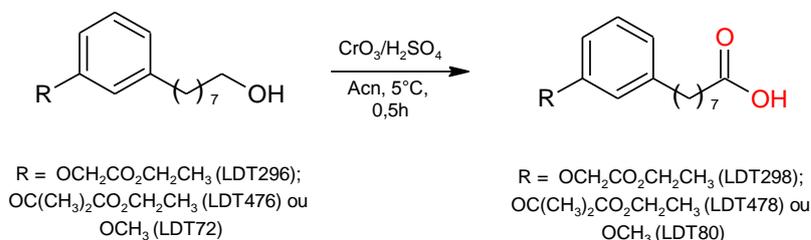
IV (KBr)  $\nu_{\text{máx}} \text{ cm}^{-1}$ : 3421 ( $\nu_{\text{OH}}$ ); 2929 ( $\nu_{\text{as}} \text{ CH}_2$ ); 2855 ( $\nu_{\text{s}} \text{ CH}_2$ ); 1734 ( $\nu_{\text{C=O}}$ ); 1602, 1583, 1485, 1466 ( $\nu_{\text{C=C}}$ ), 1179 ( $\nu_{\text{as}} \text{ O-C(O)-C}$ ); 1023 ( $\nu_{\text{s}} \text{ C-O-C}$ ).

RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  1,21-1,29 (m, 4H, ArOC(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CO<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>; 9H, 2-6); 1,42-1,52 (m, 11H, ArOC(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CO<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>, 7); 2,53 (t,  $J = 7,5 \text{ Hz}$ , 2H, 8); 3,61 (t,  $J = 6,6 \text{ Hz}$ , 2H, 1); 4,22 (q,  $J = 7,1 \text{ Hz}$ , 2H, ArOC(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CO<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>); 6,62 (dd,  $J = 8,1$

Hz,  $J = 2,4$  Hz, 1H, 4'); 6,67 (sl, 1H, 2'); 6,79 (d,  $J = 7,5$  Hz, 1H, 6'); 7,10 (dd,  $J = 7,8$  Hz, 1H, 5').

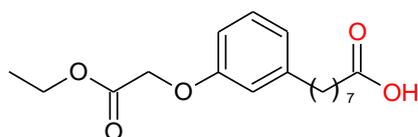
RMN  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  14,2 ( $\text{ArOC}(\text{CH}_3)_2\text{CO}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$ ); 25,5 ( $\text{ArOC}(\text{CH}_3)_2\text{CO}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$ ); 25,8 ( $\text{CH}_2$ , 3); 29,2 ( $\text{CH}_2$ , 6); 29,4 ( $\text{CH}_2$ , 5); 29,5 ( $\text{CH}_2$ , 4); 31,3 ( $\text{CH}_2$ , 7); 32,9 ( $\text{CH}_2$ , 2); 36,0 ( $\text{CH}_2$ , 8); 61,5 ( $\text{ArOC}(\text{CH}_3)_2\text{CO}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$ ); 63,0 ( $\text{CH}_2\text{OH}$ , 1); 79,1 ( $\text{ArOC}(\text{CH}_3)_2\text{CO}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$ ); 116,3 ( $\text{ArCH}$ , 4'); 119,5 ( $\text{ArCH}$ , 2'); 122,4 ( $\text{ArCH}$ , 6'); 128,9 ( $\text{ArCH}$ , 5'); 144,3 ( $\text{ArC}$ , 1'); 155,5 ( $\text{ArCO}$ , 3'); 174,6 ( $\text{ArOC}(\text{CH}_3)_2\text{CO}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$ ).

### 5.2.9 Síntese dos Derivados Ácidos LDT298 (30), LDT478 (35) e LDT80 (38).



Em um balão (50,0 mL) foram adicionados os hidroxiésteres **28** (0,46 g; 1,491 mmol) ou **33** (0,60 g; 1,783 mmol) ou **23** (0,50 g; 2,115 mmol) e acetona (20,0 mL). Sob banho de gelo, foi adicionado, gota a gota, reagente de Jones até permanência de coloração castanha por cinco minutos, indicando o fim da reação. O excesso do reagente de Jones foi desativado pela adição de álcool isopropílico (1,0 mL) e a mistura extraída com clorofórmio (2 x 10,0 mL). As frações reunidas foram lavadas com solução salina saturada (10,0 mL) e seca sob sulfato de sódio anidro. Após evaporação do solvente à pressão reduzida, os resíduos foram purificados em coluna de gel sílica eluída com diclorometano e posteriormente, diclorometano e clorofórmio, levando aos derivado-avlos.

#### Ácido 8-(3-[2-Etóxi-2-oxoetóxi]fenil)octanóico (LDT298, **30**)



Líquido Incolor

Rendimento (83%)

R<sub>f</sub>: 0,55 (CLF:EtOH 40%)

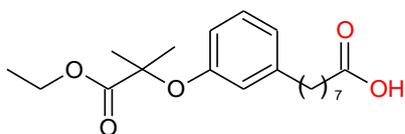
Fórmula molecular:  $\text{C}_{18}\text{H}_{26}\text{O}_5$

IV (KBr)  $\nu_{\text{máx}} \text{ cm}^{-1}$ : 2930 ( $\nu_{\text{as}} \text{ CH}_2$ ); 2857 ( $\nu_{\text{s}} \text{ CH}_2$ ); 1760 ( $\nu_{\text{C=O}}$ ); 1735 ( $\nu_{\text{C=O}}$ ); 1603, 1457 ( $\nu_{\text{C=C}}$ ), 1204 ( $\nu_{\text{as}} \text{ O-C(O)-OH}$ ); 1093 ( $\nu_{\text{s}} \text{ C-O-C}$ ).

RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  1,27-1,33 (m, 9H,  $\text{ArOCH}_2\text{CO}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$ , 4-6); 1,60-1,62 (m, 4H, 3 e 7); 2,34 (t,  $J = 7,5$  Hz, 2H, 2); 2,57 (t,  $J = 7,6$  Hz, 2H, 8); 4,28 (q,  $J = 7,1$  Hz, 2H,  $\text{ArOCH}_2\text{CO}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$ ); 4,61 (s, 2H,  $\text{ArOCH}_2\text{CO}_2\text{CH}_3$ ); 6,72 (dd,  $J = 8,1$  Hz,  $J = 2,0$  Hz, 1 H, 4'); 6,75 (sl, 1 H, 2'); 6,77 (dl,  $J = 7,5$  Hz, 1H, 6'); 7,19 (t,  $J = 7,8$  Hz, 1H, 5').

RMN  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  14,3 ( $\text{ArOCH}_2\text{CO}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$ ); 24,8 ( $\text{CH}_2$ , 3); 29,1 ( $\text{CH}_2$ , 5); 29,2 ( $\text{CH}_2$ , 4); 29,2 ( $\text{CH}_2$ , 6); 31,3 ( $\text{CH}_2$ , 7); 34,2 ( $\text{CH}_2$ , 2); 36,0 ( $\text{CH}_2$ , 8); 61,5 ( $\text{ArOCH}_2\text{CO}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$ ); 65,6 ( $\text{ArOCH}_2\text{CO}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$ ); 111,7 ( $\text{ArCH}$ , 4'); 115,3 ( $\text{ArCH}$ , 2'); 122,1 ( $\text{ArCH}$ , 6'); 129,4 ( $\text{ArCH}$ , 5'); 144,8 ( $\text{ArC}$ , 1'); 158,0 ( $\text{ArCO}$ , 3'); 169,3 ( $\text{ArOCH}_2\text{CO}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$ ); 179,9 ( $\text{COOH}$ , 1).

Ácido 8-(3-((1-Etóxi-2-metil-1-oxopropan-2-il)óxi)fenil)octanóico (LDT478, **35**)



Líquido incolor

Rendimento (80%)

Rf: 0,68 (CLF:EtOH 40%)

Fórmula Molecular:  $\text{C}_{20}\text{H}_{30}\text{O}_5$

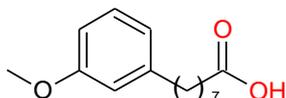
IV (KBr)  $\nu_{\text{máx}} \text{ cm}^{-1}$ : 2931 ( $\nu_{\text{as}} \text{ CH}_2$ ); 2856 ( $\nu_{\text{s}} \text{ CH}_2$ ); 1734 ( $\nu_{\text{C=O}}$ ); 1709 ( $\nu_{\text{C=O}}$ ); 1602, 1458 ( $\nu_{\text{C=C}}$ ), 1142 ( $\nu_{\text{as}} \text{ O-C(O)-OH}$ ); 1024 ( $\nu_{\text{s}} \text{ C-O-C}$ ).

RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  1,25 (t,  $J = 7,1$  Hz, 3H,  $\text{ArOC}(\text{CH}_3)_2\text{CO}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$ ); 1,32 (m, 6H, 4-6); 1,55-1,64 (m, 11H,  $\text{ArOC}(\text{CH}_3)_2\text{CO}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$ , 3 e 7); 2,34 (t,  $J = 7,5$  Hz, 2H, 2); 2,53 (t,  $J = 7,6$  Hz, 2H, 8); 4,23 (q,  $J = 7,1$  Hz, 2H,  $\text{ArOC}(\text{CH}_3)_2\text{CO}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$ ); 6,63 (dd,  $J = 6,0$  Hz,  $J = 1,9$  Hz, 1 H, 4'); 6,68 (sl, 1 H, 2'); 6,80 (dl,  $J = 7,6$  Hz, 1H, 6'); 7,12 (t,  $J = 7,8$  Hz, 1H, 5').

RMN  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  14,2 ( $\text{ArOC}(\text{CH}_3)_2\text{CO}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$ ); 24,8 ( $\text{ArOC}(\text{CH}_3)_2\text{CO}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$ ); 25,6 ( $\text{CH}_2$ , 3); 29,1 ( $\text{CH}_2$ , 4); 29,2 ( $\text{CH}_2$ , 6); 31,3 ( $\text{CH}_2$ , 7); 34,2 ( $\text{CH}_2$ , 2); 36,0 ( $\text{CH}_2$ , 8); 61,5 ( $\text{ArOC}(\text{CH}_3)_2\text{CO}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$ ); 79,1 ( $\text{ArOC}(\text{CH}_3)_2\text{CO}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$ ); 116,3 ( $\text{ArCH}$ , 4'); 119,5 ( $\text{ArCH}$ , 2'); 122,4 ( $\text{ArCH}$ , 6');

128,9 (ArCH, 5'); 144,3 (ArC, 1'); 155,5 (ArCO, 3'); 174,6 (ArOC(CH<sub>3</sub>)2CO<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>); 180,0 (COOH, 1).

#### Ácido 8-(3-Metóxfenil)octanóico (LDT80, **38**)



Sólido branco

Rendimento (96%)

Rf: 0,68 (CLF: EtOH 30%)

Ponto de fusão: 46-48°C

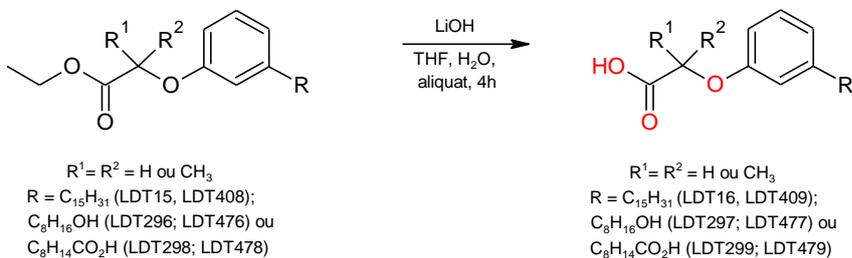
Fórmula Molecular: C<sub>15</sub>H<sub>22</sub>O<sub>3</sub>

IV (KBr)  $\nu_{\text{máx}} \text{ cm}^{-1}$ : 2927 ( $\nu_{\text{as}} \text{ CH}_2$ ); 1708 ( $\nu_{\text{C=O}}$ ); 1595, 1459 ( $\nu_{\text{C=C}}$ ); 1272 ( $\nu_{\text{as}} \text{ ArC-O-CH}_3$ ), 1038 ( $\nu_{\text{as}} \text{ O-C(O)-OH}$ ).

RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 1,21-1,33 (m, 9H, ArOCH<sub>3</sub>; 4-6); 1,60-1,62 (m, 4H, 3 e 7); 2,30-2,36 (m, 2H, 2); 2,57 (t,  $J = 7,7 \text{ Hz}$ , 2H, 8); 6,71-6,73 (m, 1H, 4'); 6,76 (d,  $J = 7,7 \text{ Hz}$ , 1H, 2'); 7,16-7,20 (m, 1H, 5').

RMN <sup>13</sup>C (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  18,4 (CH<sub>2</sub>, 3); 22,6 (CH<sub>2</sub>, 4); 24,9 (CH<sub>2</sub>, 6); 29,2 (CH<sub>2</sub>, 5); 31,3 (CH<sub>2</sub>, 7); 34,1 (CH<sub>2</sub>, 2); 36,2 (CH<sub>2</sub>, 8); 55,3 (ArOCH<sub>3</sub>); 111,0 (ArCH, 4'); 114,4 (ArCH, 2'); 121,0 (ArCH, 6'); 129,3 (ArCH, 5'); 144,6 (ArC, 1'); 159,7 (ArCO, 3'); 179,0 (COOH, 1).

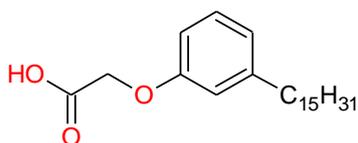
#### 5.2.10 Síntese dos Derivados $\beta$ -oxácidos LDT16 (**25**), LDT409 (**27**), LDT297 (**29**), LDT299 (**31**), LDT477 (**34**) e LDT479 (**36**).



A um balão (50,0 mL) foram individualmente adicionados os derivados **24** (0,25 g; 0,640 mmol) ou **26** (0,50 g; 1,194 mmol) ou **28** (0,20 g; 0,648 mmol) ou **30** (0,22 g; 0,678 mmol) ou **33** (0,30 g; 0,891 mmol) ou **35** (0,26 g; 0,821 mmol), hidróxido de lítio (4,00 eq), solubilizados em água destilada (2,0 mL), catalisador de

transferência de fase Aliquat® (3 gotas) e tetraidrofurano (4,0 mL). O sistema reacional foi colocado sob agitação magnética por quatro horas. Para os derivados dimetilados, o sistema reacional foi colocado sob agitação magnética em refluxo à 80°C, por 4 horas. Na sequência, a mistura foi acidificada com ácido clorídrico concentrado até pH 1,0 e extraída com acetato de etila (3 x 10,0 mL). As frações orgânicas reunidas foram lavadas com solução salina saturada (10,0 mL) e seca com sulfato de sódio anidro. O solvente foi evaporado à pressão reduzida e os produtos obtidos foram purificados em coluna de gel de sílica, eluída com diclorometano, fornecendo os derivados-alvo.

#### Ácido 2-(3-Pentadecilfenóxi)acético (LDT16, **25**)



Sólido branco

Rendimento (90%)

R<sub>f</sub>: 0,58 (Hex: AcOEt 40%)

Ponto de fusão: 77-79°C

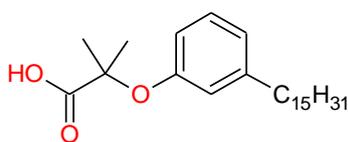
Fórmula molecular: C<sub>23</sub>H<sub>38</sub>O<sub>3</sub>

IV (KBr)  $\nu_{\text{máx}} \text{ cm}^{-1}$ : 2956 ( $\nu_{\text{as}} \text{ CH}_2$ ); 2849 ( $\nu_{\text{s}} \text{ CH}_2$ ); 1733 ( $\nu_{\text{C=O}}$ ); 1611, 1577, 1470, 1458 ( $\nu_{\text{C=C}}$ ), 1273 ( $\nu_{\text{as}} \text{ O-C(O)-H}$ ).

RMN <sup>1</sup>H (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 0,89 (t,  $J = 6,4$  Hz, 3H, 15); 1,29-1,32 (m, 24H, 3-14); 1,61-1,60 (m, 2H, 2); 2,57 (t,  $J = 7,5$  Hz, 2H, 1); 4,66 (s, 2H, ArOCH<sub>2</sub>CO<sub>2</sub>H); 6,71 (dd,  $J = 8,1$  Hz,  $J = 2,5$  Hz, 1H, 4'); 6,77 (sl, 1H, 2'); 6,83 (d,  $J = 7,6$  Hz, 1H, 6'); 7,19 (dd,  $J = 7,8$  Hz, 1H, 5').

RMN <sup>13</sup>C (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  14,3 (CH<sub>3</sub>, 15); 22,9 (CH<sub>2</sub>, 14); 29,2-29,8 (CH<sub>2</sub>, 2-12); 31,8 (CH<sub>2</sub>, 2); 32,1 (CH<sub>2</sub>, 13); 36,2 (CH<sub>2</sub>, 1); 65,1 (ArOCH<sub>2</sub>CO<sub>2</sub>H); 111,6 (ArCH, 4'); 115,3 (ArCH, 2'); 122,4 (ArCH, 6'); 129,5 (ArCH, 5'); 145,2 (ArC, 1'); 157,7 (ArCO, 3'); 173,2 (ArOCH<sub>2</sub>CO<sub>2</sub>H).

#### Ácido 2-Metil-2-(3-pentadecilfenóxi)propanóico (LDT409, **27**)



Sólido Branco

Rendimento (90%)

R<sub>f</sub>: 0,66 (CLF:EtOH 40%)

Ponto de fusão: 46-48°C

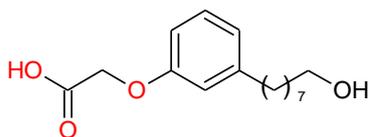
Fórmula molecular: C<sub>25</sub>H<sub>42</sub>O<sub>3</sub>

IV (KBr)  $\nu_{\text{máx}} \text{ cm}^{-1}$ : 2920 ( $\nu_{\text{as}} \text{ CH}_2$ ); 2850 ( $\nu_{\text{s}} \text{ CH}_2$ ); 1702 ( $\nu_{\text{C=O}}$ ); 1611, 1583, 1488, 1469 ( $\nu_{\text{C=C}}$ ), 1166 ( $\nu_{\text{as}} \text{ O-C(O)-H}$ ).

RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): 0,90 (t,  $J = 6,4$  Hz, 3H, 15); 1,27 (m, 24H,  $\text{CH}_2$ , 3-14); 1,62 (m, 8H,  $\text{ArOC}(\text{CH}_3)_2\text{CO}_2\text{H}$  e 2); 2,57 (t,  $J = 7,7$  Hz, 2H, 1); 6,73-6,77 (m, 1H, 4'); 6,70 (sl, 1H, 2'); 6,89 (d,  $J = 7,6$  Hz, 1H, 6'); 7,17 (t,  $J = 7,8$  Hz, 1H, 5').

RMN  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  14,3 ( $\text{CH}_3$ , 15); 22,9 ( $\text{CH}_2$ , 14); 25,3 ( $\text{ArOC}(\text{CH}_3)_2\text{CO}_2\text{H}$ ); 29,5-29,9 ( $\text{CH}_2$ , 3-13); 31,5 ( $\text{CH}_2$ , 2); 32,1 ( $\text{CH}_2$ , 13); 36,0 ( $\text{CH}_2$ , 1); 79,6 ( $\text{ArOC}(\text{CH}_3)_2\text{CO}_2\text{H}$ ); 117,6 ( $\text{ArCH}$ , 4'); 121,0 ( $\text{ArCH}$ , 2'); 123,6 ( $\text{ArCH}$ , 6'); 129,1 ( $\text{ArCH}$ , 5'); 144,8 ( $\text{ArC}$ , 1'); 154,7 ( $\text{ArCO}$ , 3'); 179,2 ( $\text{ArOC}(\text{CH}_3)_2\text{CO}_2\text{H}$ ).

#### Ácido 2-(3-(8-Hidróxictil)fenóxi)acético (LDT297, **29**)



Sólido Branco

Rendimento (78%)

R<sub>f</sub>: 0,33 (CLF:EtOH 40%)

Ponto de fusão: 85-87°C

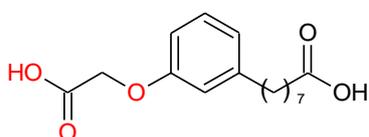
Fórmula molecular:  $\text{C}_{16}\text{H}_{24}\text{O}_4$

IV (KBr)  $\nu_{\text{máx}} \text{ cm}^{-1}$ : 3462 ( $\nu_{\text{OH}}$ ); 2918 ( $\nu_{\text{as}} \text{ CH}_2$ ); 2852 ( $\nu_{\text{s}} \text{ CH}_2$ ); 1740 ( $\nu_{\text{C=O}}$ ); 1612, 1585, 1492, 1458 ( $\nu_{\text{C=C}}$ ), 1227 ( $\nu_{\text{as}} \text{ O-C(O)-OH}$ ); 1094 ( $\nu_{\text{s}} \text{ C-O-C}$ ).

RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz, MeOD):  $\delta$  1,32 (m, 8H, 3-6); 1,50 (m, 2H, 2); 1,52 (m, 2H, 7); 2,56 (t,  $J = 7,5$  Hz, 2H, 8); 3,53 (t,  $J = 6,5$  Hz, 2H, 1); 4,59 (s, 2H,  $\text{ArOCH}_2\text{CO}_2\text{H}$ ); 6,71 (d,  $J = 7,8$  Hz, 1H, 4'); 6,75 (sl, 1H, 2'); 6,78 (d,  $J = 7,8$  Hz, 1H, 6'); 7,15 (dd,  $J = 7,8$  Hz, 1H, 5').

RMN  $^{13}\text{C}$  (125 MHz, MeOD):  $\delta$  27,0 ( $\text{CH}_2$ , 3); 30,4 ( $\text{CH}_2$ , 6); 30,6 ( $\text{CH}_2$ , 4); 30,7 ( $\text{CH}_2$ , 5); 32,6 ( $\text{CH}_2$ , 7); 33,7 ( $\text{CH}_2$ , 2); 37,0 ( $\text{CH}_2$ , 8); 63,1 ( $\text{CH}_2\text{OH}$ , 1); 65,9 ( $\text{ArOCH}_2\text{CO}_2\text{H}$ ); 112,7 ( $\text{ArCH}$ , 4'); 116,0 ( $\text{ArCH}$ , 2'); 122,8 ( $\text{ArCH}$ , 6'); 130,4 ( $\text{ArCH}$ , 5'); 145,8 ( $\text{ArC}$ , 1'); 159,5 ( $\text{ArCO}$ , 3'); 172,9 ( $\text{ArOCH}_2\text{CO}_2\text{H}$ ).

#### Ácido 8-(3-Carboximetóxilfenil)octanóico (LDT299, **31**)



Sólido Branco

Rendimento (95%)

R<sub>f</sub>: 0,35 (CLF:EtOH 40%)

Ponto de fusão: 99-101°C

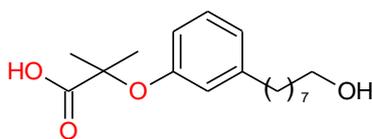
Fórmula molecular:  $\text{C}_{18}\text{H}_{26}\text{O}_5$

IV (KBr)  $\nu_{\text{máx}} \text{ cm}^{-1}$ : 2926 ( $\nu_{\text{as}} \text{ CH}_2$ ); 2853 ( $\nu_{\text{s}} \text{ CH}_2$ ); 1735 ( $\nu_{\text{C=O}}$ ); 1707 ( $\nu_{\text{C=O}}$ ); 1611, 1578, 1458, 1421 ( $\nu_{\text{C=C}}$ ), 1272 ( $\nu_{\text{as}} \text{ O-C(O)-OH}$ ); 1099 ( $\nu_{\text{s}} \text{ C-O-C}$ ).

RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz, MeOD):  $\delta$  1,32 (m, 6H, 4-6); 1,58-1,59 (m, 4H, 3 e 7); 2,26 (t,  $J = 7,5$  Hz, 2H, 2); 3,56 (t,  $J = 7,5$  Hz, 2H, 8); 4,61 (s, 2H,  $\text{ArOCH}_2\text{CO}_2\text{H}$ ); 6,71 (d,  $J = 8,1$  Hz, 1 H, 6'); 6,75 (sl, 1H, 2'); 6,78 (d,  $J = 7,5$  Hz, 1H, 6'); 7,15 (t,  $J = 7,8$  Hz, 1H, 5').

RMN  $^{13}\text{C}$  (125 MHz, MeOD):  $\delta$  26,1 ( $\underline{\text{C}}\text{H}_2$ , 3); 30,3 ( $\underline{\text{C}}\text{H}_2$ , 6); 30,6 ( $\underline{\text{C}}\text{H}_2$ , 4); 30,7 ( $\underline{\text{C}}\text{H}_2$ , 5); 32,5 ( $\underline{\text{C}}\text{H}_2$ , 7); 33,7 ( $\underline{\text{C}}\text{H}_2$ , 2); 37,0 ( $\underline{\text{C}}\text{H}_2$ , 8); 65,9 ( $\text{ArO}\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{CO}_2\text{H}$ ); 112,8 ( $\text{Ar}\underline{\text{C}}\text{H}$ , 4'); 116,0 ( $\text{Ar}\underline{\text{C}}\text{H}$ , 2'); 122,8 ( $\text{Ar}\underline{\text{C}}\text{H}$ , 6'); 130,4 ( $\text{Ar}\underline{\text{C}}\text{H}$ , 5'); 145,8 ( $\text{Ar}\underline{\text{C}}$ , 1'); 159,5 ( $\text{Ar}\underline{\text{C}}\text{O}$ , 3'); 172,9 ( $\text{ArOCH}_2\underline{\text{C}}\text{O}_2\text{H}$ ); 177,8 ( $\underline{\text{C}}\text{OOH}$ , 1).

Ácido 2-[3-(8-Hidróxiocetil)fenóxi]-2-metilpropanóico (LDT477, **34**)



Líquido Incolor

Rendimento (99%)

Rf: 0,51 (CLF:EtOH 40%)

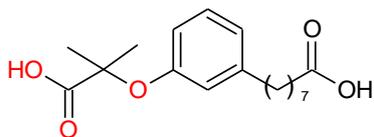
Fórmula Molecular:  $\text{C}_{18}\text{H}_{28}\text{O}_4$

IV (KBr)  $\nu_{\text{máx}} \text{ cm}^{-1}$ : 2928 ( $\nu_{\text{as}} \text{ CH}_2$ ); 2856 ( $\nu_{\text{s}} \text{ CH}_2$ ); 1719 ( $\nu_{\text{C=O}}$ ); 1603, 1485, 1466 ( $\nu_{\text{C=C}}$ ), 1152 ( $\nu_{\text{as}} \text{ O-C(O)-OH}$ ); 1010 ( $\nu_{\text{s}} \text{ C-O-C}$ ).

RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  1,24-1,30 (m, 11H, 2-6); 1,60-1,65 (m, 12H,  $\text{ArOC}(\underline{\text{C}}\text{H}_3)_2\text{CO}_2\text{H}$ , 7); 2,54 (t,  $J = 8,0$  Hz, 2H, 8); 3,60-3,66 (m, 2H, 1); 6,69 (dd,  $J = 8,0$  Hz,  $J = 2,3$  Hz, 1H, 4'); 6,75 (sl, 1H, 2'); 6,85 (d,  $J = 7,6$  Hz, 1H, 6'); 7,15 (d,  $J = 4,6$  Hz, 1H, 5').

RMN  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  25,4 ( $\text{ArOC}(\underline{\text{C}}\text{H}_3)_2\text{CO}_2\text{H}$ ); 25,9 ( $\underline{\text{C}}\text{H}_2$ , 3); 29,3 ( $\underline{\text{C}}\text{H}_2$ , 6); 29,4 ( $\underline{\text{C}}\text{H}_2$ , 4); 29,6 ( $\underline{\text{C}}\text{H}_2$ , 5); 31,4 ( $\underline{\text{C}}\text{H}_2$ , 7); 32,6 ( $\underline{\text{C}}\text{H}_2$ , 2); 36,0 ( $\underline{\text{C}}\text{H}_2$ , 8); 63,1 ( $\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{OH}$ , 1); 79,4 ( $\text{ArOC}(\underline{\text{C}}\text{H}_3)_2\text{CO}_2\text{H}$ ); 117,4 ( $\text{Ar}\underline{\text{C}}\text{H}$ , 4'); 120,6 ( $\text{Ar}\underline{\text{C}}\text{H}$ , 2'); 123,2 ( $\text{Ar}\underline{\text{C}}\text{H}$ , 6'); 129,1 ( $\text{Ar}\underline{\text{C}}\text{H}$ , 5'); 144,5 ( $\text{Ar}\underline{\text{C}}$ , 1'); 155,6 ( $\text{Ar}\underline{\text{C}}\text{O}$ , 3'); 177,8 ( $\text{ArOC}(\underline{\text{C}}\text{H}_3)_2\underline{\text{C}}\text{O}_2\text{H}$ ).

Ácido 8-{3-[2-Carbóxiopropan-2-il]oxi]fenil}octanóico (LDT479, **36**)



Líquido Amarelo

Rendimento (82%)

Rf: 0,88 (CLF:EtOH 40%)

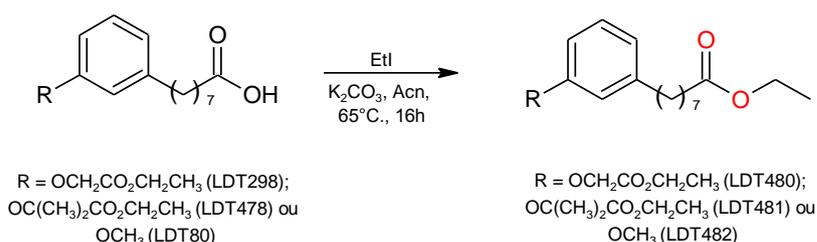
Fórmula Molecular: C<sub>18</sub>H<sub>26</sub>O<sub>5</sub>

IV (KBr)  $\nu_{\text{máx}}$  cm<sup>-1</sup>: 2931 ( $\nu_{\text{as}}$  CH<sub>2</sub>); 2856 ( $\nu_{\text{s}}$  CH<sub>2</sub>); 1710 ( $\nu_{\text{C=O}}$ ); 1604, 1584, 1485, 1466 ( $\nu_{\text{C=C}}$ ), 1154 ( $\nu_{\text{as}}$  O-C(O)-OH); 1009 ( $\nu_{\text{s}}$  C-O-C).

RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  1,23-1,28 (m, 6H, 4-6); 1,59-1,61 (m, 10H, ArOC(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CO<sub>2</sub>H, 3, 7); 2,35 (t,  $J = 7,3$  Hz, 2H, 2); 2,55 (t,  $J = 7,6$  Hz, 2H, 8); 6,74 (d,  $J = 7,2$  Hz, 1 H, 6'); 6,85 (s, 1H, 2'); 7,16 (d,  $J = 7,6$  Hz, 1H, 6'); 7,18 (d,  $J = 7,8$  Hz, 1H, 5').

RMN <sup>13</sup>C (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  24,8 (ArOC(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CO<sub>2</sub>H); 25,3 (CH<sub>2</sub>, 3); 28,7 (CH<sub>2</sub>, 5); 28,9 (CH<sub>2</sub>, 4); 28,9 (CH<sub>2</sub>, 6); 31,2 (CH<sub>2</sub>, 7); 34,2 (CH<sub>2</sub>, 2); 35,9 (CH<sub>2</sub>, 8); 79,3 (ArOC(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CO<sub>2</sub>H); 117,6 (ArCH, 4'); 120,3 (ArCH, 2'); 123,3 (ArCH, 6'); 129,1 (ArCH, 5'); 144,5 (ArC, 1'); 154,9 (ArCO, 3'); 179,5 (ArOC(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CO<sub>2</sub>H); 180,5 (COOH, 1).

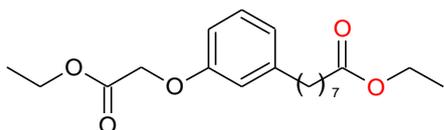
5.2.11 Obtenção dos Éster Derivados LDT480 (32), LDT481 (37) E LDT482 (39).



Em um balão (50,0 mL) foram individualmente adicionados os ácidos **30** (0,10 g; 0,310 mmol) ou **35** (0,17 g; 0,485 mmol) ou **38** (0,10 g; 0,399 mmol), carbonato de potássio (2,00 eq) e acetona (10,0 mL). A mistura permaneceu sob agitação magnética durante 20 minutos, e então, foram acrescentados 2,00 eq de iodeto de etila. A reação permaneceu sob refluxo à 65°C por mais 16 horas. Após redução do volume do solvente à pressão reduzida, a mistura foi extraída com acetato de etila (3 x 10,0 mL) e as fases orgânicas reunidas lavadas com solução de ácido clorídrico

10% (20,0 mL), solução salina saturada (10,0 mL) e seca com sulfato de sódio anidro. O solvente foi evaporado à pressão reduzida e os produtos obtidos foram purificados em coluna de gel de sílica, eluída com diclorometano, clorofórmio e posteriormente clorofórmio e etanol, fornecendo os derivados éster.

8-(3-(2-Etóxi-2-oxoetóxi)fenil)octanoato de Etila (LDT480, **32**)



Líquido Incolor

Rendimento (98%)

Rf: 0,88 (CLF:EtOH 40%)

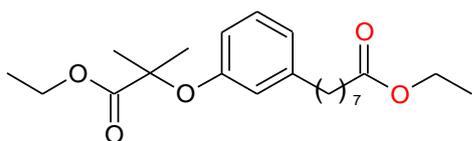
Fórmula Molecular: C<sub>20</sub>H<sub>30</sub>O<sub>5</sub>

IV (KBr)  $\nu_{\text{máx}} \text{ cm}^{-1}$ : 2931 ( $\nu_{\text{as}} \text{ CH}_2$ ); 2856 ( $\nu_{\text{s}} \text{ CH}_2$ ); 1762 ( $\nu_{\text{C=O}}$ ); 1735 ( $\nu_{\text{C=O}}$ ); 1603, 1586, 1486, 1448 ( $\nu_{\text{C=C}}$ ), 1201 ( $\nu_{\text{as}} \text{ O-C(O)-O-C}$ ); 1094 ( $\nu_{\text{s}} \text{ C-O-C}$ ).

RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  1,22-1,31 (m, 12H, ArOCH<sub>2</sub>CO<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>, Ar/CO<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>, 4-6); 1,58-1,63 (m, 4H, 3 e 7); 2,27 (t,  $J = 7,5$  Hz, 2H, 2); 2,56 (t,  $J = 7,7$  Hz, 2H, 8); 4,11 (q,  $J = 7,1$  Hz, 2H, ArOCH<sub>2</sub>CO<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>); 4,26 (q,  $J = 7,1$  Hz, 2H, Ar/CO<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>); 4,60 (s, 2H, ArOCH<sub>2</sub>CO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>); 6,69 (dd,  $J = 6,5$  Hz,  $J = 2,3$  Hz, 1 H, 4'); 6,74 (sl, 1 H, 2'); 6,80 (dl,  $J = 7,6$  Hz, 1H, 6'); 7,17 (t,  $J = 7,8$  Hz, 1H, 5').

RMN <sup>13</sup>C (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  14,3 (ArOCH<sub>2</sub>CO<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>); 14,4 (Ar/CO<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>); 25,1 (CH<sub>2</sub>, 3); 29,2 (CH<sub>2</sub>, 5); 29,2 (CH<sub>2</sub>, 4); 29,2 (CH<sub>2</sub>, 6); 31,3 (CH<sub>2</sub>, 7); 34,5 (CH<sub>2</sub>, 2); 36,0 (CH<sub>2</sub>, 8); 60,3 (CO<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>); 61,4 (ArOCH<sub>2</sub>CO<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>); 65,6 (ArOCH<sub>2</sub>CO<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>); 111,6 (ArCH, 4'); 115,2 (ArCH, 2'); 122,1 (ArCH, 6'); 129,4 (ArCH, 5'); 144,8 (ArC, 1'); 158,0 (ArCO, 3'); 169,2 (ArOCH<sub>2</sub>CO<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>); 174,0 (CO<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>).

8-(3-((1-Etóxi-2-metil-1-oxopropan-2-il)óxi)fenil)octanoato de etila (LDT481, **37**)



Sólido Branco

Rendimento (79%)

Rf: 0,83 (CLF:EtOH 40%)

Ponto de fusão: 39-42°C

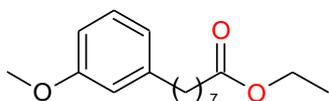
Fórmula Molecular: C<sub>22</sub>H<sub>34</sub>O<sub>5</sub>

IV (KBr)  $\nu_{\text{máx}} \text{ cm}^{-1}$ : 2926 ( $\nu_{\text{as}} \text{ CH}_2$ ); 2856 ( $\nu_{\text{s}} \text{ CH}_2$ ); 1710 ( $\nu_{\text{C=O}}$ ); 1600, 1527, 1493, 1468 ( $\nu_{\text{C=C}}$ ), 1272 ( $\nu_{\text{as}} \text{ O-C(O)-O-C}$ ); 1193 ( $\nu_{\text{s}} \text{ C-O-C}$ ).

RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  1,22-1,30 (m, 12H,  $\text{ArOC}(\text{CH}_3)_2\text{CO}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$ ,  $\text{Ar}/\text{CO}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$ , 4-6); 1,58 (m, 11H,  $\text{ArOC}(\text{CH}_3)_2\text{CO}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$ , 3 e 7); 2,27 (t,  $J = 7,5$  Hz, 2H, 2); 2,53 (t,  $J = 7,6$  Hz, 2H, 8); 4,11 (q,  $J = 7,1$  Hz, 2H,  $\text{ArOCH}_2\text{CO}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$ ); 4,22 (q,  $J = 7,1$  Hz, 2H,  $\text{CO}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$ ); 6,63 (dd,  $J = 6,1$  Hz,  $J = 2,0$  Hz, 1 H, 4'); 6,67 (sl, 1 H, 2'); 6,79 (dl,  $J = 7,6$  Hz, 1H, 6'); 7,11 (t,  $J = 7,8$  Hz, 1H, 5').

RMN  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  14,2 ( $\text{ArOC}(\text{CH}_3)_2\text{CO}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$ ); 14,4 ( $\text{Ar}/\text{CO}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$ ); 25,1 ( $\text{CH}_2$ , 3); 29,2 ( $\text{CH}_2$ , 5); 29,2 ( $\text{CH}_2$ , 4); 29,3 ( $\text{CH}_2$ , 6); 31,4 ( $\text{CH}_2$ , 7); 34,5 ( $\text{CH}_2$ , 2); 36,0 ( $\text{CH}_2$ , 8); 60,3 ( $\text{CO}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$ ); 61,5 ( $\text{ArOC}(\text{CH}_3)_2\text{CO}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$ ); 79,1 ( $\text{ArOC}(\text{CH}_3)_2\text{CO}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$ ); 116,2 ( $\text{ArCH}$ , 4'); 119,5 ( $\text{ArCH}$ , 2'); 122,4 ( $\text{ArCH}$ , 6'); 128,9 ( $\text{ArCH}$ , 5'); 144,3 ( $\text{ArC}$ , 1'); 155,6 ( $\text{ArCO}$ , 3'); 174,0 ( $\text{ArOC}(\text{CH}_3)_2\text{CO}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$ ); 174,6 ( $\text{CO}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$ ).

#### 8-(3-Metóxiifenil)octanoato de etila (LDT482, **39**)



Líquido Incolor

Rendimento (90%)

Rf: 0,91 (CLF: EtOH 30%)

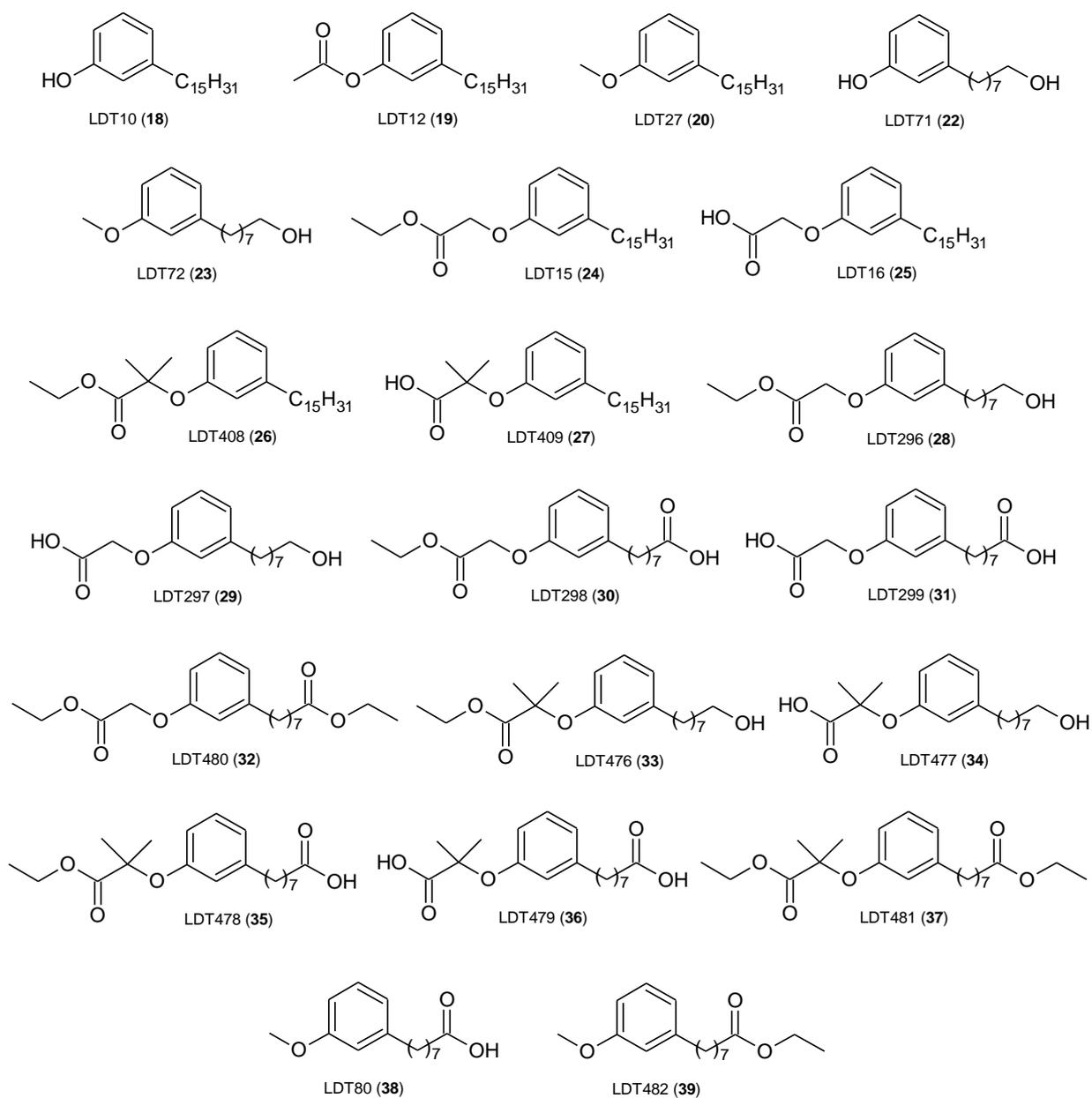
Fórmula Molecular:  $\text{C}_{17}\text{H}_{26}\text{O}_3$

IV (KBr)  $\nu_{\text{máx}} \text{ cm}^{-1}$ : 2931 ( $\nu_{\text{as}} \text{ CH}_2$ ); 1735 ( $\nu_{\text{C=O}}$ ); 1599, 1463 ( $\nu_{\text{C=C}}$ ); 1261 ( $\nu_{\text{as}} \text{ ArC-O-CH}_3$ ), 1166 ( $\nu_{\text{s}} \text{ C-O-C}$ ).

RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  1,26 (t,  $J = 7,1$  Hz, 3H,  $\text{CO}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$ ); 1,28-1,34 (m, 6H, 4-6); 1,63-1,66 (m, 4H, 3 e 7); 2,29 (t,  $J = 7,5$  Hz, 2H, 2); 2,58 (t,  $J = 7,7$  Hz, 2H, 8); 3,80 (s, 3H,  $\text{ArOCH}_3$ ); 4,13 (q,  $J = 7,1$  Hz, 2H,  $\text{CO}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$ ); 6,73 (dd,  $J = 10,5$  Hz,  $J = 2,3$  Hz, 1 H, 4'); 6,75 (sl, 1 H, 2'); 6,79 (dl,  $J = 7,6$  Hz, 1H, 6'); 7,17 (t,  $J = 7,8$  Hz, 1H, 5').

RMN  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  14,4 ( $\text{CO}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$ ); 25,0 ( $\text{CH}_2$ , 3); 25,1 ( $\text{CH}_2$ , 4); 29,2 ( $\text{CH}_2$ , 5); 29,3 ( $\text{CH}_2$ , 6); 31,5 ( $\text{CH}_2$ , 7); 34,5 ( $\text{CH}_2$ , 2); 36,2 ( $\text{CH}_2$ , 8); 55,3 ( $\text{ArOCH}_3$ ); 60,3 ( $\text{CO}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$ ); 111,0 ( $\text{ArCH}$ , 4'); 114,4 ( $\text{ArCH}$ , 2'); 121,0 ( $\text{ArCH}$ , 6'); 129,3 ( $\text{ArCH}$ , 5'); 144,6 ( $\text{ArC}$ , 1'); 159,8 ( $\text{ArCO}$ , 3'); 174,0 ( $\text{CO}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$ ).

**Figura 11:** Derivados-alvo sintetizados a partir do cardanol monoinsaturado (10)



Fonte: Próprio autor.

### 5.3 AVALIAÇÃO FARMACOLÓGICA

Uma vez sintetizados e caracterizados por métodos espectroscópicos, todos os derivados e produtos finais (18 - 39) foram submetidos a ensaios farmacológicos de gene repórter, em hepatócitos primários e na diferenciação de adipócitos.

### 5.3.1 Ensaio de gene repórter – Luciferase:

O ensaio de gene repórter é um método amplamente utilizado para se estudar a expressão de genes, atividade de receptores celulares, permitindo avaliar o efeito de uma sequência sobre o nível de transcrição do gene regulado. Dentre os genes repórter amplamente utilizados encontra-se a luciferase. Na presença de ATP, magnésio e oxigênio e mediante a ação da enzima luciferase presente no lisado celular, ocorre uma reação de oxidação do substrato luminescente luciferina, em oxiluciferina, com emissão de um flash de luz, mensurada por um luminômetro que fornece resultados em unidades relativas a atividade luciferase. A emissão total de luz é proporcional a atividade luciferase do composto (LIN & BARBOSA, 2002).

Células HEK293 foram transfectadas usando fosfato de cálcio, em meio de cultura contendo 10% de carvão tratado com soro fetal bovino, em placa de 96 poços. Para os ensaios de gene repórter foram utilizados os plasmídeos de expressão GAL4-hPPAR $\alpha$ , GAL4-hPPAR $\beta/\delta$  e GAL4-hPPAR $\gamma$ . A quantidade total de DNA de plasmídeo (150 ng/poço) incluiu, 50 ng de reporter de luciferase, 20 ng pCMX- $\beta$ -galactosidase, 15 ng de GAL4-domínio de ligação ao ligante (LBD) da proteína de fusão do receptor, e pGEM para preenchimento do plasmídeo. Os compostos para teste foram adicionados a 50  $\mu$ M no mesmo meio de 6 a 8 horas pós-transfecção. Para PPAR $\alpha$ , foi utilizado como controle 10,0 nM de GW7647, por sua vez, em PPAR $\beta/\delta$  o controle utilizado foi 25,0 nM GW0742, por fim, em PPAR $\gamma$  utilizou-se 50 nM de rosiglitazona. As células foram colhidas 14 a 16 horas mais tarde e ensaiadas para a atividade de luciferase e  $\beta$ -galactosidase, sendo os valores da luciferase normalizados para a eficiência da transfecção utilizando  $\beta$ -galactosidase e expressos como unidades relativas de luciferase (RLU). Todos os experimentos foram realizados em triplicata e repetidos por pelo menos três vezes. Ao final, curva dose resposta foi confeccionada por meio do programa GraphPad Prism 6 através dos valores de EC<sub>50</sub> obtidos para cada composto.

### 5.3.2 Ensaio em hepatócitos primários:

Classicamente, a ativação do PPAR $\alpha$  conduz a uma cascata de expressão de genes envolvidos no aumento da captação intracelular de ácidos graxos e na oxidação de AG no fígado. Neste sentido, a ativação de PPAR $\alpha$  no fígado aumenta

a expressão do grupamento de diferenciação 36 (CD36), uma proteína transportadora de ácidos graxos, e da proteína de ligação a ácidos graxos-1 (FABP1), contribuindo para a captação de ácidos graxos. Piruvato desidrogenase quinase-4 (PDK4), proteína carnitina palmitoil transferase (CPT1) e fator de crescimento de fibroblastos-21 (Fgf21), um hormônio relacionado à sensibilização a insulina e redução de ganho de peso, também são genes envolvidos na oxidação de AG induzidos por PPAR $\alpha$ . Para análise do efeitos regulatórios dos derivados LDTs sobre genes envolvidos na regulação de ácidos graxos, ensaio em hepatócitos primários de camundongos foi realizado.

Hepatócitos primários de camundongos foram isolados por perfusão de colagenase, as células foram cultivadas em placas revestidas com colagênio de tipo I, em concentração de  $0,5 \times 10^{-6}$  células por poço, durante 2 horas em meio contendo 10% de carvão tratado com soro fetal bovino, penicilina/estreptomicina e 10 nM de insulina. Em seguida, foi adicionado meio de cultura M199, contendo 5% de carvão tratado com soro fetal bovino, penicilina/estreptomicina, e 1 nM de insulina. Tratamentos com os ligantes, a 50  $\mu$ M, foram realizados no dia seguinte, em meio M199 sem soro fetal bovino. As células foram colhidas 6 horas mais tarde, para a extração de RNA e realização de qPCR para análise da expressão de genes: CD36, FABP1, PDK4, CPT1 e Fgf21.

### 5.3.3 Ensaio de diferenciação de adipócitos

3T3-L1 é uma linhagem celular utilizada como modelo *in vitro* para a diferenciação de adipócitos. Adipogênese é o processo de diferenciação de células precursoras em adipócitos. Dentre os PPAR, PPAR $\gamma$  é o maior regulador de adipogênese, por ser amplamente expresso no tecido adiposo e regular genes transcricionais e marcadores da diferenciação de adipócitos, incluindo, proteína de ligação de ácidos graxos (aP2), lipoproteína lipase (LPL), a qual hidrolisa triglicerídeos circulantes, e CD36, transportador de ácidos graxos. Adipócitos maduros secretam proteínas, conhecidas como adiponectina, resistina e leptina, que modulam várias funções no metabolismo de lípideos e da glicose (APRILE et al., 2014; DAVE et al., 2012; HUANG et al., 2014; PADMANABHAN & ARUMUGAM, 2014).

Células 3T3-L1 foram cultivadas em placas de 24 poços para cultura de células, mantidas em meio Dulbecco modificado por Eagle suplementado com 10% de soro fetal de vitelo, até sua confluência. Dois dias depois, a diferenciação de adipócitos foi induzida pelo tratamento das células com meio de diferenciação celular contendo 100µg/mL de isobutilmetilxantina, 1µM de dexametasona e 5 µg/mL de insulina. Com o início da diferenciação, as células foram tratadas com 25 µM do ligante, do controle positivo, rosiglitazona, ou do veículo. Em todo o período de cultivo, totalizando 8 dias, as células foram submetidas a tratamento com ligantes ou com o veículo. A adipogênese foi avaliada pela expressão de proteínas adipocitárias, aP2, LPL, CD36 e adiponectina, por meio de qPCR e pela coloração com o corante de lipídeos neutros óleo vermelho O dos melhores compostos.

---

## ***Resultados e Discussão***

---

## 6. RESULTADOS E DISCUSSÃO

---

### 6.1 SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DOS COMPOSTOS

O planejamento sintético visou a obtenção dos derivados-alvo compreendeu a exploração de procedimentos sintéticos clássicos de interconversão de grupos funcionais, por exemplo, O-alkilação, hidrogenação, ozonólise, oxidação e hidrólise alcalina, em condições experimentais à temperatura ambiente, sob refluxo e radiação micro-ondas.

#### 6.1.1 Série 3-Pentadecilfenol

A síntese dos derivados planejados a partir do cardanol saturado, LDT10 (**18**), (série Pentadecilfenol) foi iniciada a partir da hidrogenação catalítica do cardanol monoinsaturado, levando ao derivado saturado **18** como um sólido branco em rendimento de 90%. Além da mudança de estado físico e ponto de fusão compatível com a literatura (44-45°C), o cardanol saturado foi caracterizado por CCD com uma única mancha (Rf 0,35 DCM<sub>50%</sub>:Hex<sub>50%</sub>). A análise espectroscópica para o derivado saturado **18** foram identificados sinais característicos em 0,92 ppm e 14,3 ppm em seu espectro de RMN <sup>1</sup>H (s, CDCl<sub>3</sub>; 300 MHz; Anexo 1, Pág. 108) e RMN <sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>; 125 MHz; Anexo 2, Pág. 109), respectivamente, referente ao grupo metila. Os sinais na região de aromáticos entre 6,68 ppm e 7,16 ppm em RMN <sup>1</sup>H reforçam a presença do anel aromático, assim como os sinais entre 1,29 ppm e 1,60 ppm estão relacionados à cadeia alquílica saturada. A presença de absorção intensa em 3337 cm<sup>-1</sup> no infravermelho (Anexo 3, Pág. 110), referente à deformação do grupo hidroxila (ν<sub>OH</sub>) corroborou a caracterização do derivado LDT10.

De posse do referido derivado **18**, este foi submetido à reação de acetilação com anidrido acético utilizando catálise de ácido fosfórico, sob radiação micro-ondas em forno doméstico. Após purificação em coluna cromatográfica eluída com mistura hexano/diclorometano, foi obtido o derivado acetilado LDT12 (**19**), como um sólido branco, caracterizado em CCD como uma única mancha (Rf 0,70 DCM<sub>50%</sub>:Hex<sub>50%</sub>), em rendimento de 91%. Este composto apresentou em seu espectro de RMN <sup>1</sup>H (s, CDCl<sub>3</sub>; 300 MHz; Anexo 4, Pág. 111) simpleto em 2,60 ppm referente aos

hidrogênios da metila do grupo acetila. Por sua vez, o carbono carbonílico foi evidenciado por sinal em 204,0 ppm em RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ ; 75 MHz; Anexo 5, Pág. 112). A presença de absorção intensa em  $1630\text{ cm}^{-1}$  no infravermelho (Anexo 6, Pág. 113), referente à deformação da carbonila conjugada ( $\nu_{\text{C}=\text{O}}$ ), contribuiu, adicionalmente, para caracterizar o referido derivado.

Na sequência, o LDT10 (**18**) foi submetido à reação de metilação com iodeto de metila na presença de carbonato de potássio em acetona, sob refluxo, conduzindo ao derivado metilado LDT27 (**20**). Houve mudança do estado físico, obtendo-se um líquido incolor em rendimento de 78%, caracterizado como uma única mancha em CCD ( $R_f$  0,95 DCM). Na análise espectroscópica, o derivado apresentou deslocamentos químicos pertinentes ao grupo metoxila como um simpleto em 3,82 ppm, em seu espectro de RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ ; 300 MHz; Anexo 7, Pág. 114), o qual foi confirmado pelo assinalamento em 55,3 ppm em seu espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ ; 75 MHz; Anexo 8, Pág. 115). A presença de absorção intensa em  $1047\text{ cm}^{-1}$  no infravermelho (Anexo 9, Pág. 116), referente à deformação axial simétrica CO, corroborou para caracterização do derivado metoxilado.

Partindo novamente de LDT10 (**18**), este foi submetido à reação de O-alquilação com 2-bromacetato de etila na presença de carbonato de potássio em acetona, à temperatura ambiente, levando ao derivado beta-oxaéster LDT15 (**24**), obtido como um sólido branco, caracterizado em CCD como uma única mancha ( $R_f$  0,5 Hex: AcOEt 40%), em rendimento de 90%. Este composto apresentou sinal característicos para hidrogênios alfa-metilênicos à carbonila do grupo éster como um simpleto em 4,28 ppm, em seu espectro de RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ ; 500 MHz; Anexo 10, Pág. 117), a qual foi confirmada pelo assinalamento em 65,6 ppm em seu espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ ; 125 MHz; Anexo 11, Pág. 118), enquanto que o sinal relativo ao carbono carbonílico foi evidenciado em 169,3 ppm. A subunidade etila do grupo carbetóxi foi caracterizada em RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ ; 500 MHz) pela presença de tripleto em 1,31 ppm (7,0 Hz) e quarteto em 4,28 ppm (7,0 Hz), referentes à metila e ao metileno, corroborados pelos respectivos deslocamentos químicos em 14,3 ppm e 61,5 ppm em RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ ; 125 MHz). A presença de absorções intensas em  $1753\text{ cm}^{-1}$  e em  $1096\text{ cm}^{-1}$  no infravermelho (Anexo 12, Pág. 119), referentes à deformação da carbonila ( $\nu_{\text{C}=\text{O}}$ ) e deformação axial assimétrica C-O-C, contribuíram, adicionalmente para caracterização do éster derivado.

Uma vez obtido o derivado LDT15 (**24**), a próxima etapa da rota sintética planejada consistiu na hidrólise do grupo éster com hidróxido de lítio em mistura de THF/água na presença de catalisador de transferência de fase Aliquat®, visando homogeneizar a mistura reacional. Após 4 horas de reação e purificação foi obtido o ácido carboxílico correspondente, LDT16 (**25**), com um sólido branco em rendimento de 90% e caracterizado como uma única mancha em CCD (Rf 0,58 Hex: AcOEt 40%). O derivado apresentou deslocamentos químicos pertinentes à unidade alfa-metilênica ao ácido em 4,66 ppm RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ ; 500 MHz; Anexo **13**, Pág. 120) e 65,1 ppm RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ ; 125 MHz; Anexo **14**, Pág. 121). Adicionalmente, a conversão foi confirmada pela presença de sinal em 173,2 ppm, relativo ao carbono carbonílico no espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$ , e a ausência dos sinais em 4,28 ppm em RMN  $^1\text{H}$  e 61,5 ppm em RMN  $^{13}\text{C}$ , referentes ao grupo etoxila. A análise do espectro no infravermelho (Anexo **15**, Pág. 122) apresentou deslocamento da absorção intensa em  $1733\text{ cm}^{-1}$  referente ao grupo carbonila do beta-oxácido, caracterizando o derivado LDT16 (**25**).

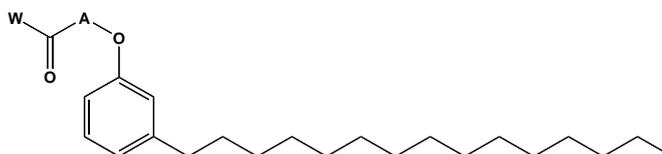
Para a síntese dos análogos dos derivados LDT15 e LDT16, o fenol LDT10 (**18**) foi submetido à reação de O-alkilação com  $\alpha$ -bromoisobutirato de etila na presença de carbonato de potássio e iodeto de potássio em acetonitrila, sob refluxo, levando ao derivado beta-oxaéster LDT408 (**26**), obtido como um líquido amarelo em rendimento de 92% e caracterizado em CCD como uma única mancha (Rf 0,75 CLF:EtOH 40%). Os grupos metila da subunidade alfa-carbonila foram caracterizados por RMN  $^{13}\text{C}$  pelo deslocamento em 25,6 ppm bem como seu carbono terciário em 79,1 ppm. Os sinais referentes a esta subunidade no espectro de hidrogênio foram identificados na faixa de 1,56-1,60 ppm juntamente com os hidrogênios do carbono 2. **26** ainda apresentou sinais característicos para a subunidade etila do grupo carbetóxi caracterizada em RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ ; 300 MHz; Anexo **16**, Pág. 123) pela presença quarteto em 4,24 ppm (7,1 Hz), referente ao metileno, corroborado pelo respectivo deslocamento químico em 61,5 ppm em RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ ; 75 MHz; Anexo **17**, Pág. 124). O grupo carbonila foi identificado por sinal em 174,6 ppm. A presença de absorções intensas em  $1735\text{ cm}^{-1}$  e em  $1025\text{ cm}^{-1}$  no infravermelho (Anexo **18**, Pág. 125), referentes à deformação da carbonila ( $\nu_{\text{C=O}}$ ) e deformação axial assimétrica C-O-C, corroboraram para caracterização do derivado.

De posse do derivado LDT408 (**26**), finalizando a série pentadecila, este, foi submetido à reação de hidrólise do grupo éster com hidróxido de lítio. Após 4 horas

de reação, sob refluxo à 80°C, e purificação, o ácido carboxílico correspondente foi obtido, LDT409 (**27**), em rendimento de 90%, como um sólido branco e caracterizado com uma única mancha em CCD (Rf 0,66 CLF:EtOH 40%). O derivado apresentou deslocamento químico em 179,2 ppm relativo ao carbono carbonílico no espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ ; 75 MHz; Anexo **20**, Pág. 127) e a ausência dos sinais em 4,24 ppm (s, RMN  $^1\text{H}$ ,  $\text{CDCl}_3$ ; 300 MHz; Anexo **19**, Pág. 126) e 61,5 ppm RMN  $^{13}\text{C}$ , referentes ao grupo metileno da etoxila. A análise do espectro no infravermelho (Anexo **21**, Pág. 128) apresenta deslocamento da absorção intensa em  $1702\text{ cm}^{-1}$  referente ao grupo carbonila do beta-oxácido, caracterizando o derivado LDT409 (**20**).

Um resumo das condições reacionais, características químicas, rendimentos e ponto de fusão dos derivados da série pentadecila, LDT10 (**18**), LDT12 (**19**), LDT27 (**20**), LDT15 (**24**), LDT16 (**25**), LDT408 (**26**) e LDT409 (**27**), estão ilustrados na Tabela 1.

**Tabela 1:** Condições reacionais, características químicas, rendimentos e ponto de fusão dos derivados da série pentadecila.



Composto	A	W	Rend. (%)	p.f. (°C)
LDT10 ( <b>18</b> )	H	--	90	44-45
LDT12 ( <b>19</b> )	$\text{CH}_3\text{CO}$	--	91	46-48
LDT27 ( <b>20</b> )	$\text{CH}_3$	--	78	--*
LDT15 ( <b>24</b> )	$\text{CH}_2$	OEt	90	30-31
LDT16 ( <b>25</b> )	$\text{CH}_2$	H	90	77-79
LDT408 ( <b>26</b> )	$\text{C}(\text{CH}_3)_2$	OEt	92	--*
LDT409 ( <b>27</b> )	$\text{C}(\text{CH}_3)_2$	H	90	46-48

\* Obtido como um líquido

Fonte: Próprio autor.

### 6.1.2 Série 8-(3-Hidróxifenil)octan-1-ol

Considerando a série octila, esta foi planejada a partir do derivado 3-(8-hidróxiocetil)fenol (LDT71, **22**), o qual pode ser obtido a partir da reação de ozonólise

da mistura de cardanóis (**10**). Neste sentido, o cardanol monoinsaturado (**13**) foi submetido à reação de acetilação com anidrido acético catalisado por gotas de ácido fosfórico, utilizando forno de radiação micro-ondas doméstico. Após purificação, foi obtido acetilcardanol monoinsaturado (**21**) em rendimento de 73%. **21** foi submetido à reação de ozonólise em aparelho gerador de ozônio com fluxo contínuo de 5 g/mL por um período de 80 minutos, utilizando banho de gelo seco/acetona (~ - 70°C), visando evitar a formação de produtos laterais em face do alto poder oxidante do ozônio. O consumo do material de partida foi avaliado por CCD e ao término da reação foi adicionado o agente redutor NaBH<sub>4</sub>, visando a redução do intermediário ozonídeo bem como do grupo acetato ao respectivo diidróxiderivado LDT71 (**22**) em rendimento de 79%, caracterizado como uma única mancha em CCD (Rf 0,33 CLF:EtOH 30%). Na análise espectroscópica, **22** apresentou tripleto característico referente ao metileno adjacente ao grupo hidroxila em 3,66 ppm (t, RMN <sup>1</sup>H, CDCl<sub>3</sub>; 300 MHz; Anexo **22**, Pág. 129), corroborado pelo sinal em 63,2 ppm (RMN <sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>; 75 MHz; Anexo **23**, Pág. 130). Os sinais na região de aromáticos entre 6,65 ppm e 7,19 ppm em RMN <sup>1</sup>H reforçam a presença do anel aromático, assim como os sinais entre 1,30 ppm e 2,54 ppm estão relacionados aos carbonos 1 a 7 da cadeia alquílica. A presença de absorção intensa em 3351 cm<sup>-1</sup> no infravermelho (Anexo **24**, Pág. 131), referente à deformação (ν<sub>OH</sub>) contribui para caracterização do derivado dihidroxilado LDT71 (**22**).

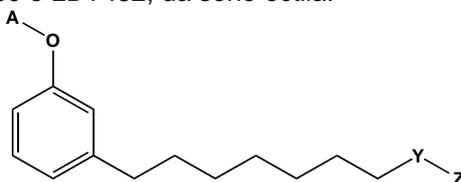
De posse do LDT71 (**22**), este foi submetido à reação de metilação com iodeto de metila na presença de carbonato de potássio em acetona, à 65°C por 24 horas, conduzindo ao derivado metilado LDT72 (**23**), obtido de forma regioespecífica como líquido incolor em rendimento de 80% e caracterizado como uma única mancha em CCD (Rf 0,40 DCM). **23** apresentou sinais característicos para hidrogênios da unidade metilênica como um simpleto em 3,81 ppm em seu espectro de RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>; 300 MHz; Anexo **25**, Pág. 132), a qual foi confirmada pelo assinalamento em 55,3 ppm em seu espectro de RMN <sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>; 75 MHz; Anexo **26**, Pág. 133). A presença das absorções intensas em 776 cm<sup>-1</sup> e em 695 cm<sup>-1</sup> no espectro no infravermelho (Anexo **27**, Pág. 134), referente a deformação axial assimétrica (ν<sub>COCH<sub>3</sub></sub>) e a deformação simétrica (ν<sub>C-O</sub>), corroboraram a caracterização do derivado LDT72 (**23**).

Na sequência, o derivado metilado LDT72 (**23**) foi submetido à reação de oxidação com reagente de Jones em acetona, sob banho de gelo, conduzindo ao derivado ácido LDT80 (**38**), obtido como um sólido branco em rendimento de 96% e caracterizado em CCD (Rf 0,68 CLF:EtOH 30%). A caracterização de **38**, por meio dos espectros RMN  $^1\text{H}$  (Anexo **28**, Pág. 135) RMN  $^{13}\text{C}$  (Anexo **29**, Pág. 136), revelou a ausência dos sinais em 3,64 ppm e 63, 2 ppm correspondente ao metileno C8, com evidência de sinal em 179,0 ppm relativo ao carbono carboxílico no espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ ; 75 MHz). Dados do espectro no infravermelho (Anexo **30**, Pág. 137) apresentaram deslocamento de absorção intensa em  $1708\text{ cm}^{-1}$  referente ao grupo carbonila, corroborando a estrutura do derivado LDT80 (**38**).

Por sua vez, o derivado LDT80 (**38**) foi submetido à reação de esterificação com iodeto de etila na presença de carbonato de potássio em acetona, sob refluxo, conduzindo ao derivado éster LDT482 (**39**), em rendimento de 90%, como um líquido, caracterizado em CCD pela presença de uma única mancha (Rf 0,91 CLF:EtOH 30%). A presença de sinal característico pertinente ao grupo etoxila em 4,13 ppm (RMN  $^1\text{H}$ ,  $\text{CDCl}_3$ ; 300 MHz; Anexo **31**, Pág. 138) e em 60,3 ppm em seu espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ ; 75 MHz; Anexo **32**, Pág. 139) contribuíram à caracterização do derivado. Adicionalmente, a análise do espectro no infravermelho (Anexo **33**, Pág. 140) com a presença de deslocamento de absorção intensa em  $1735\text{ cm}^{-1}$  referente ao estiramento da carbonila do grupo éster.

Um resumo dos procedimentos para obtenção dos derivados LDT71 (**22**), LDT72 (**23**), LDT80 (**38**) e LDT482 (**39**), estão ilustrados na Tabela 2.

**Tabela 2:** Condições reacionais, características químicas, rendimentos e ponto de fusão dos derivados LDT71, LDT72, LDT80 e LDT482, da série octila.



Composto	A	Y	Z	Rend. (%)	p.f. (°C)
LDT71 ( <b>22</b> )	H	CH <sub>2</sub>	OH	79	--*
LDT72 ( <b>23</b> )	CH <sub>3</sub>	CH <sub>2</sub>	OH	80	--*
LDT80 ( <b>38</b> )	CH <sub>3</sub>	CO	OH	96	46-48
LDT482 ( <b>39</b> )	CH <sub>3</sub>	CO	Oet	90	--*

\* Obtido como um líquido

Fonte: Próprio autor.

Partindo de LDT71 (**22**), este foi submetido a nova reação de O-alkilação regioespecífica, uma vez que o ataque preferencial ocorre na hidroxila ativada pelo anel, com 2-bromacetato de etila na presença de carbonato de potássio em acetona, à temperatura ambiente, levando ao derivado beta-oxaéster LDT296 (**28**), obtido como um líquido em rendimento de 62%, caracterizado em CCD como uma única mancha (Rf 0,55 CLF:EtOH 40%). Este composto apresentou sinais característicos para hidrogênios da unidade metilênica alfa-carbonila como um simpleto em 4,61 ppm em seu espectro de RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ ; 300 MHz; Anexo **34**, Pág. 141), a qual foi confirmada pelo assinalamento em 65,7 ppm em seu espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ ; 75 MHz; Anexo **35**, Pág. 142), enquanto que o sinal relativo ao carbono carbonílico de éster foi evidenciado em 169,3 ppm. O grupo etoxila foi evidenciado como tripleto em 1,31 ppm e quarteto 4,28 ppm e seus respectivos sinais no espectro de carbono 13 em 14,3 ppm e 61,5 ppm. A presença das absorções intensas em  $1761\text{ cm}^{-1}$  e em  $1205\text{ cm}^{-1}$  no espectro no infravermelho (Anexo **36**, Pág. 143) referentes aos estiramentos do grupo éster corroboram a caracterização do derivado LDT296 (**28**).

De posse do derivado LDT296 (**28**), este foi submetido à reação de hidrólise do grupo éster com hidróxido de lítio em mistura de THF/água na presença de catalisador de transferência de fase Aliquat<sup>®</sup>. Após 4 horas, foi obtido o ácido carboxílico correspondente (LDT297, **29**), em rendimento de 78%, na forma de um sólido branco e caracterizado em CCD como uma única mancha (Rf 0,33 CLF:EtOH 40%). O derivado apresentou deslocamentos químicos pertinentes ao metileno alfa à ao ácido carboxílico em 4,59 ppm (RMN  $^1\text{H}$ , MeOD; 500 MHz; Anexo **37**, Pág. 144) e 65,9 ppm RMN  $^{13}\text{C}$  (MeOD; 75 MHz; Anexo **38**, Pág. 145), confirmando a manutenção da estrutura após hidrólise, bem como a presença de sinal em 172,9 ppm relativo ao carbono carboxílico no espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$ . A ausência dos sinais em 4,27 ppm (s, RMN  $^1\text{H}$ ) e 61,5 ppm RMN  $^{13}\text{C}$  (MeOD; 125 MHz), referentes ao grupo etoxila corroboram a caracterização do derivado LDT297. A análise do espectro no infravermelho (Anexo **39**, Pág. 146) apresenta deslocamento da absorção intensa em  $1740\text{ cm}^{-1}$  referente ao grupo carbonila do beta-oxácido, caracterizando o derivado LDT297 (**29**).

Prosseguindo com o planejamento sintético, o éster-derivado LDT296 (**28**) foi submetido à reação de oxidação com reagente de Jones em acetona, sob banho de gelo, levando ao carbometóxiácido LDT298 (**30**) em rendimento de 83%, obtido como um líquido incolor e caracterizado em CCD como uma única mancha (Rf 0,55

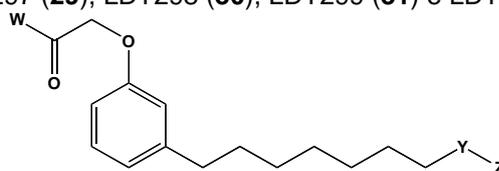
CLF:EtOH 40%). A caracterização de **30** por RMN, revelou a ausência dos sinais correspondentes ao grupo metileno no carbono 8, em 3,66 ppm e em 63,2 ppm (Anexo **40**, Pág. 147), onde foi identificado o sinal em 179,8 ppm relativo ao carbono carboxílico no espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (Anexo **41**, Pág. 148). Dados do espectro no infravermelho (Anexo **42**, Pág. 149) apresenta deslocamentos da absorções intensas em  $1735\text{ cm}^{-1}$  e  $1760\text{ cm}^{-1}$  referentes aos grupos carbonilas do 3-carbetóxiácido corroborando a estrutura do derivado LDT298 (**30**).

O ácido LDT298 (**30**) foi submetido ao mesmo protocolo de hidrólise realizado para os derivados LDT15, LDT408 e LDT296, originando o diácido LDT299 (**31**) na forma de um sólido branco em rendimento de 95%, caracterizado como uma única mancha em CCD (Rf 0,35% CLF:EtOH 40%). O diácido foi caracterizado por RMN pela presença de simpleto em 4,61 ppm confirmado pelo sinal em 65,9 ppm referente ao metileno alfa. A ausência dos sinais em 4,28 ppm (q, RMN  $^1\text{H}$ ; Anexo **43**, Pág. 150) e 61,5 ppm RMN  $^{13}\text{C}$  (MeOD; 125 MHz; Anexo **44**, Pág. 151), referentes ao grupo etoxila bem como a presença de dois sinais em 172,9 ppm e 177,8 ppm confirmam a presença de duas carboxilas na caracterização do derivado LDT299. O espectro no infravermelho (Anexo **45**, Pág. 152) revelou absorções características às deformações dos grupos carbonila em  $1735\text{ cm}^{-1}$  e  $1707\text{ cm}^{-1}$ , caracterizando o diácido LDT299 (**31**).

De maneira a obter-se o derivado diéster, o composto LDT298 (**30**) foi submetido à reação de esterificação com iodeto de etila na presença de carbonato de potássio em acetona, por duas horas à  $65^\circ\text{C}$ , fornecendo LDT480 (**32**) na forma de um líquido incolor em rendimento de 98%, caracterizado em CCD como uma única mancha (Rf 0,88 CLF:EtOH 40%). O derivado apresentou deslocamentos químicos pertinentes aos metilenos dos grupos etoxila em 4,11 e 4,26 ppm (RMN  $^1\text{H}$ ,  $\text{CDCl}_3$ ; 300 MHz; Anexo **46**, Pág. 153) e em 60,3 e 61,4 ppm em seu espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ ; 75 MHz; Anexo **47**, Pág. 154). Análise do espectro no infravermelho (Anexo **48**, Pág. 155) apresenta deslocamentos de absorção intensa em  $1762$  e  $1735\text{ cm}^{-1}$  referentes aos estiramentos dos grupos ésteres, caracterizando o derivado LDT480 (**32**).

Um resumo das condições reacionais e características químicas dos derivados LDT296 (**28**), LDT297 (**29**), LDT298 (**30**), LDT299 (**31**) E LDT480 (**32**) estão ilustrados na Tabela **3**.

**Tabela 3:** Condições reacionais, características químicas, rendimentos e ponto de fusão dos derivados LDT296 (**28**), LDT297 (**29**), LDT298 (**30**), LDT299 (**31**) e LDT480 (**32**), da série octila.



Composto	W	Y	Z	Rend. (%)	p.f. (°C)
LDT296 ( <b>28</b> )	OEt	CH <sub>2</sub>	OH	62	--*
LDT297 ( <b>29</b> )	OH	CH <sub>2</sub>	OH	78	85-87
LDT298 ( <b>30</b> )	OEt	CO	OH	83	--*
LDT299 ( <b>31</b> )	OH	CO	OH	95	99-101
LDT480 ( <b>32</b> )	OEt	CO	OEt	98	--*

\* Obtido como um líquido

Fonte: Próprio autor.

Dando início aos derivados com a presença do grupo *gem*-dimetil no carbono alfacarbonilados, o LDT71 (**22**) foi submetido ao mesmo protocolo de *O*-alquilação regioespecífica, seguindo metodologia para obtenção do LDT296 (**28**), utilizando como reagente  $\alpha$ -bromoisobutirato de etila. O derivado éster LDT476 (**33**) foi obtido como um líquido incolor em rendimento de 90% e caracterizado como uma única mancha em CCD ( $R_f$  0,88 CLF:EtOH 40%). Na análise espectroscópica as metilas geminadas foram caracterizadas pelos sinais em RMN de carbono 13 em 25,5 ppm, onde o carbono terciário alfa à carbonila foi identificado em 79,1 ppm no mesmo espectro. Adicionalmente, os deslocamentos químicos pertinentes ao metileno do grupo etoxila em 4,22 ppm (RMN <sup>1</sup>H; Anexo 49, Pág. 155) e em 61,5 ppm (RMN <sup>13</sup>C; Anexo 50, Pág. 157) confirmam a presença do éster. O carbono carbonílico foi assinalado por presença de sinal característico em 174,6 ppm em seu espectro de RMN <sup>13</sup>C. Adicionalmente, a presença de banda de absorção em 1734 cm<sup>-1</sup> (Anexo 51, Pág. 158) referente a carbonila, corroborou para caracterização do LDT476 (**33**).

Assim como na rota sintética empregada para a série metileno não substituída empregando LDT296 (**28**), LDT476 (**33**) foi submetido à reação de hidrólise do grupo éster com hidróxido de lítio, originando o derivado ácido LDT477 (**34**), na forma de um líquido incolor em rendimento de 99% e caracterizado em CCD como uma única mancha ( $R_f$  0,51 CLF:EtOH 40%). **34** foi caracterizado pela manutenção do carbono alfa contendo as *gem*-metilas, o qual foi confirmado por presença de sinal em 79,4 ppm em seu espectro de RMN <sup>13</sup>C (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>; Anexo 53, Pág. 160), bem como

pela presença de sinal em 177,8 ppm relativo ao carbono carboxílico no espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$ . A ausência dos sinais em 4,22 ppm (RMN  $^1\text{H}$ ; Anexo 52, Pág. 159) e 61,5 ppm RMN  $^{13}\text{C}$ , referentes ao metileno do grupo etoxila corroboram a caracterização do derivado LDT477 (**34**). A Análise do espectro no infravermelho (Anexo 54, Pág. 161) apresenta deslocamento da absorção intensa em  $1719\text{ cm}^{-1}$  referente ao grupo carbonila do beta-oxácido, caracterizando o derivado LDT477.

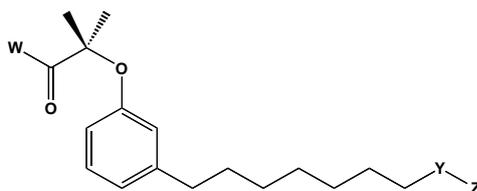
Dando prosseguimento, o éster-derivado LDT476 (**33**) foi submetido à reação de oxidação com reagente de Jones levando ao carbometoxiácido LDT478 (**35**), obtido como um líquido incolor em rendimento de 80%, caracterizado como uma única mancha em CCD (Rf 0,68 CLF:EtOH 40%). A caracterização do derivado por meio de espectro RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ; Anexo 55, Pág. 162), revelou a ausência de sinal correspondente ao metileno em C8 com deslocamento químico em 3,60 ppm e em 63,1 ppm RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ ; 75 MHz; Anexo 56, Pág. 163). Adicionalmente, a presença de sinal em 180,0 ppm relativo ao carbono carboxílico no espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ , identifica o novo grupo funcional. Dados do espectro no infravermelho (Anexo 57, Pág. 164) apresentam deslocamentos da absorções intensas em  $1734\text{ cm}^{-1}$  e  $1709\text{ cm}^{-1}$  referentes aos grupos carbonilas do LDT478, corroborando a caracterização do composto **35**.

Por sua vez, o ácido LDT478 (**35**) foi submetido ao protocolo de hidrólise, originando o diácido LDT479 (**36**), na forma de um líquido amarelo em rendimento de 82%, evidenciado como uma única mancha em CCD (Rf 0,88 CLF:EtOH 40%). **36** foi caracterizado pela presença dos sinais em 180,5 ppm e 179,5 ppm RMN de carbono 13 pertinentes aos grupos carboxílicos. A ausência dos sinais em 4,23 ppm (RMN  $^1\text{H}$ ,  $\text{CDCl}_3$ ; 300 MHz; Anexo 58, Pág. 165) e 61,5 ppm RMN  $^{13}\text{C}$  (Anexo 59, Pág. 166) referentes ao grupo metileno do grupo etoxila corroboram a caracterização do derivado LDT479 (**36**). O espectro no infravermelho (Anexo 60, Pág. 167) revelou absorção característica às deformações dos grupos carbonila em  $1710\text{ cm}^{-1}$ , caracterizando o diácido LDT479.

Por fim, o composto LDT478 (**35**) foi submetido à reação de esterificação com iodeto de etila, fornecendo o diéster LDT481 (**37**) em rendimento de 79%, na forma de sólido branco e caracterizado em CCD como uma única mancha (Rf 0,83 CLF:EtOH 40%). O derivado apresentou deslocamentos químicos pertinentes aos grupos etoxila em 4,11 e 4,22 ppm (RMN  $^1\text{H}$ ,  $\text{CDCl}_3$ ; 300 MHz; Anexo 61, Pág. 168) bem como sinais em 60,3 e 61,5 ppm em seu espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ ; 75 MHz;

Anexo 62, Pág. 169). A análise do espectro no infravermelho (Anexo 63, Pág. 170) apresenta deslocamento de absorção intensa em  $1710\text{ cm}^{-1}$  referente aos estiramentos dos grupos ésteres, caracterizando o derivado 37. Um resumo das condições reacionais e características químicas dos derivados LDT476 (33), LDT477 (34), LDT478 (35), LDT479 (36) e LDT481 (37) estão ilustrados na Tabela 4.

**Tabela 4:** Condições reacionais, características químicas, rendimentos e ponto de fusão dos derivados LDT476 (33), LDT477 (34), LDT478 (35), LDT479 (36) e LDT481 (37), da série octila.



Composto	W	Y	Z	Rend. (%)	p.f. (°C)
LDT476 (33)	OEt	CH <sub>2</sub>	OH	65	--*
LDT477 (34)	OH	CH <sub>2</sub>	OH	99	--*
LDT478 (35)	OEt	CO	OH	80	--*
LDT479 (36)	OH	CO	OH	82	--*
LDT481 (37)	OEt	CO	OEt	79	39-42

\* Obtido como um líquido

Fonte: Próprio autor.

## 6.2 AVALIAÇÃO FARMACOLÓGICA

### 6.2.1 Ensaio de gene repórter: Luciferase

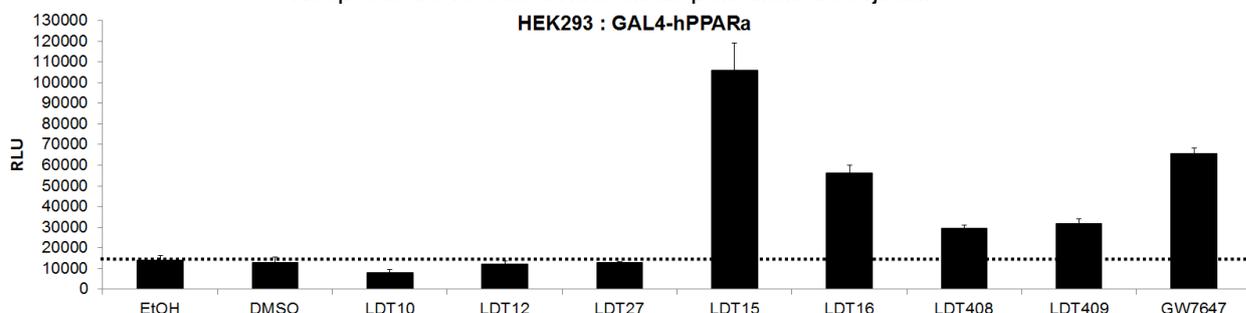
Uma vez sintetizados e caracterizados por métodos espectroscópicos, os derivados foram submetidos a ensaio farmacológico de gene repórter em células do rim embrionário humano HEK293 e avaliados quanto à atividade luciferase, em diferentes concentrações, para PPAR $\alpha$ , PPAR $\beta/\delta$  e PPAR $\gamma$ . Os ensaios foram realizados no Nuclear Hormone Receptors in Human Health and Disease da Universidade de Toronto.

#### 6.2.1.1 PPAR $\alpha$

Inicialmente, os compostos foram avaliados quanto a atividade agonista em PPAR $\alpha$  a  $50,0\text{ }\mu\text{M}$  por meio de ensaio com GAL4-hPPAR $\alpha$ , utilizando como controle

GW7647 à 10,0 nM, sendo os veículos etanol (EtOH) e dimetilsulfóxido (DMSO) (Figura 12).

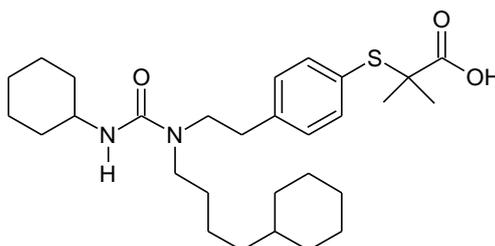
**Figura 12:** Atividade transcricional em PPAR $\alpha$  dos compostos da série pentadecila a 50,0  $\mu$ M em células HEK293. Sendo os veículos, EtOH e DMSO, e o controle positivo, GW7647 a 10,0 nM. Resposta do veículo evidenciada pela linha tracejada.



Fonte: Próprio autor.

Na série pentadecila os resultados demonstraram que os derivados LDT15 (24) e LDT16 (25) obtiveram respectivos perfis superior e similar ao controle GW7647 (Figura 13), induzindo a atividade transcricional do receptor. Por sua vez, LDT408 (26) e o LDT409 (27) foram considerados ativadores fracos com atividade de transcrição em PPAR $\alpha$  duas vezes acima do veículo.

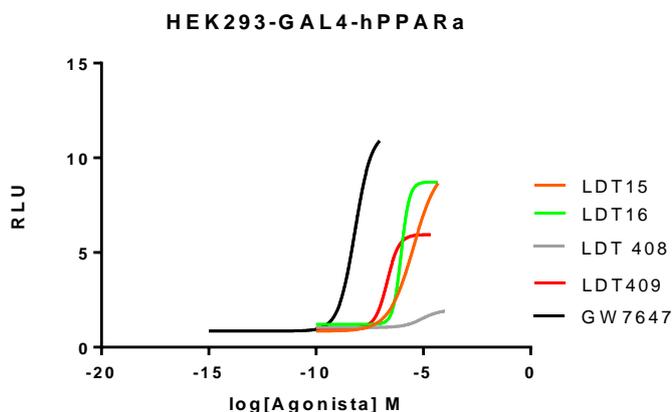
**Figura 13:** Estrutura molecular do controle positivo GW7647, ativador de PPAR $\alpha$ .



Fonte: Próprio autor.

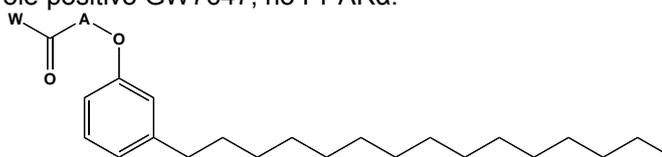
Os derivados LDT15 (24), LDT16 (25), LDT408 (26) e LDT409 (27) demonstraram atividade transcricional no receptor alfa, e desta maneira, foram submetidos a nova avaliação em diferentes concentrações, 10,0 nM a 100,0  $\mu$ M, para determinação da potência individual e confecção da curva dose-resposta (Figura 14).

**Figura 14:** Atividade luciferase dos compostos LDT15 (**24**), LDT16 (**25**), LDT408 (**26**) e LDT409 (**27**) comparadas através de curva dose-resposta, em relação ao controle GW7647.



Os valores de  $EC_{50}$  variaram de 0,20  $\mu\text{M}$  a 8,91  $\mu\text{M}$  (Tabela 5) e todos os derivados demonstraram atividade parcial quando comparados ao agonista total GW7647 ( $EC_{50}$  6,50 nM) (Figura 14). LDT15 (**24**) ativou PPAR $\alpha$  de forma parcial, com  $EC_{50}$  3,45  $\mu\text{M}$ , sendo considerado o composto mais ativo neste ensaio. Apesar do perfil agonista demonstrado pelo LDT16 (**25**), este revelou-se tóxico as células, que se tornaram pequenas e murchas.

**Tabela 5:** Valores de  $EC_{50}$  para os compostos LDT15, LDT16, LDT408 e LDT409, da série pentadecila, e do controle positivo GW7647, no PPAR $\alpha$ .



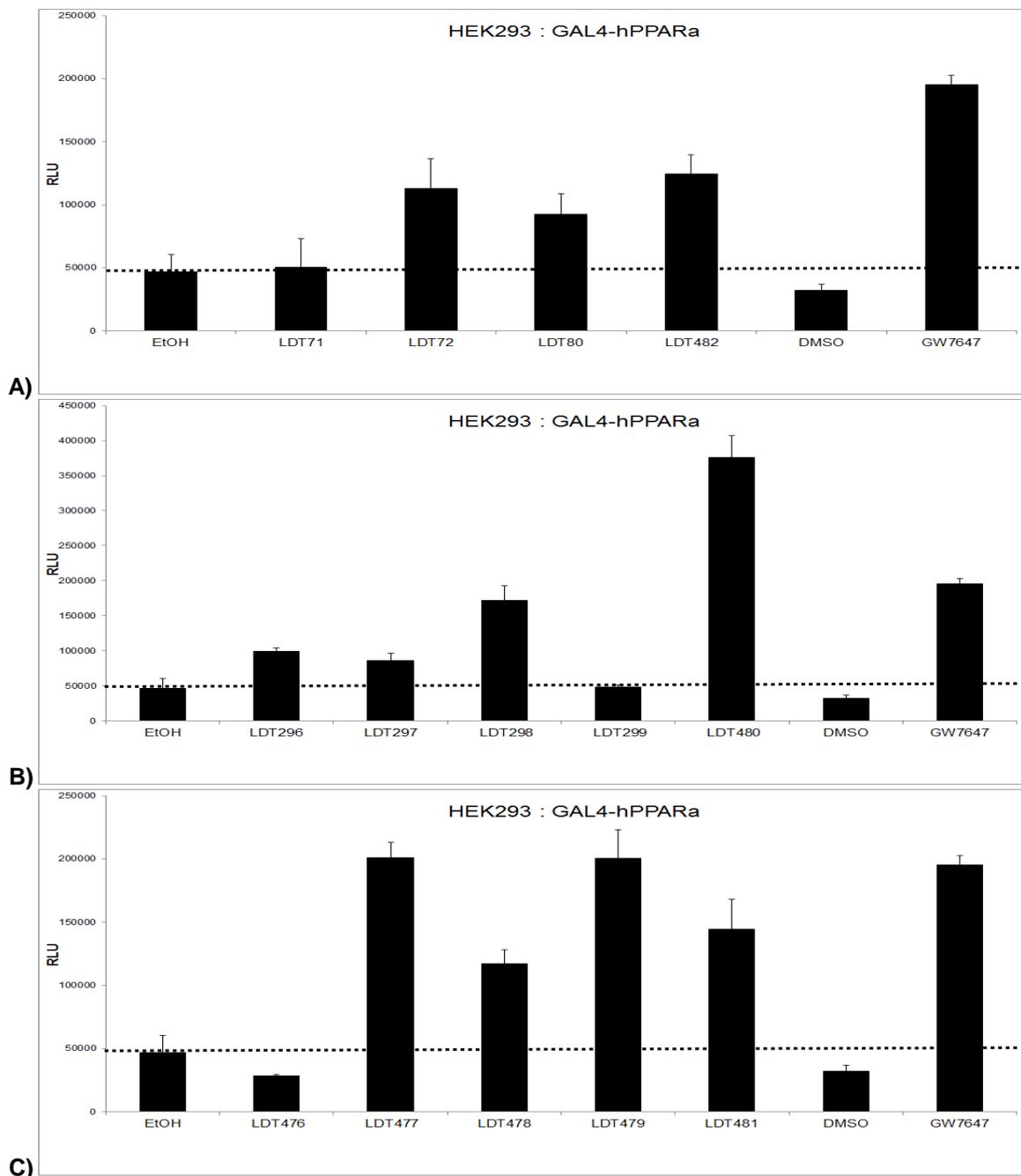
Composto	A	W	$EC_{50}$
LDT15 ( <b>24</b> )	CH <sub>2</sub>	OEt	3,45 $\mu\text{M}$
LDT16 ( <b>25</b> )	CH <sub>2</sub>	OH	0,93 $\mu\text{M}$
LDT408 ( <b>26</b> )	C(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	Oet	8,91 $\mu\text{M}$
LDT409 ( <b>27</b> )	C(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	OH	0,20 $\mu\text{M}$
<b>GW7647</b>	--	--	6,50 nM

**Fonte:** Próprio autor.

Na série octila (Figura 15), para a identificação dos compostos agonistas, os derivados-alvo foram avaliados quanto à atividade luciferase em GAL4-hPPAR $\alpha$  a 50,0  $\mu\text{M}$ . Tanto o LDT72 (**23**), quanto o LDT482 (**39**) foram ativos frente ao receptor  $\alpha$ , com atividade de transcrição duas vezes acima do veículo utilizado (Figura 15 A). LDT296 (**28**) demonstrou atividade de transcrição no receptor  $\alpha$ , duas vezes acima

do veículo e LDT298 (**30**) foi ativo três vezes acima do veículo etanol. Por sua vez, LDT480 (**32**) foi considerado o melhor ativador da série B com atividade de transcrição superior a do controle GW7647 (Figura **15 B**). Por fim, com exceção de LDT476 (**33**), todos os compostos da serie C demonstraram perfil de ativação em PPAR $\alpha$  quando testados a 50,0  $\mu$ M (Figura **15 C**). Em destaque, LDT477 (**34**) e LDT480 (**32**) foram considerados os compostos mais ativos nesse ensaio.

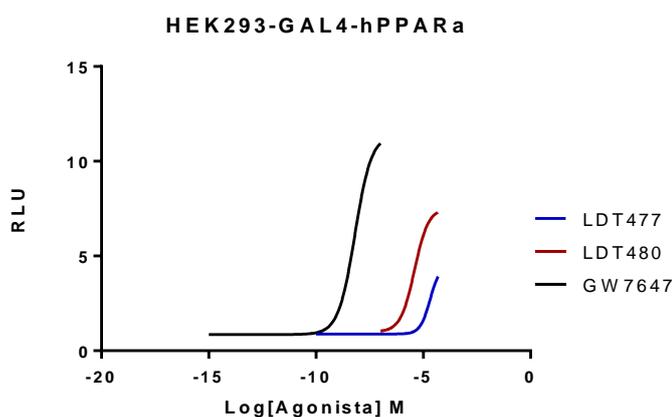
**Figura 15:** Atividade transcricional em PPAR $\alpha$  dos compostos da série octila testados a 50,0  $\mu$ M em células HEK293. Sendo os veículos, EtOH e DMSO, e GW7647 a 10,0 nM como controle positivo. Resposta do veículo evidenciada pela linha tracejada.



Fonte: Próprio autor.

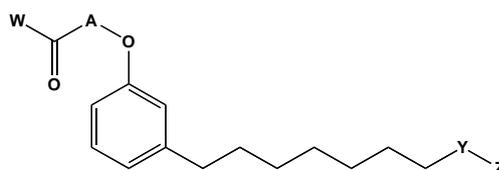
Para determinar a potência individual dos compostos mais ativos em PPAR $\alpha$ , LDT477 (**34**) e LDT480 (**32**), análise de curva dose-resposta foi realizada (Figura 16).

**Figura 16:** Atividade luciferase dos compostos LDT477 (**34**) e LDT480 (**32**) comparadas através de curva dose-resposta, em relação ao controle GW7647.



Quando comparados ao agonista total GW7647, **34** e **32** demonstraram atividade parcial, com valores de EC<sub>50</sub> de 20,0  $\mu$ M e 3,9  $\mu$ M, respectivamente (Tabela 6).

**Tabela 6:** Valores de EC<sub>50</sub> para os compostos LDT477 e LDT480 da série octila e do controle positivo GW7647, no PPAR $\alpha$ .



Composto	A	W	Y	Z	EC <sub>50</sub>
LDT477 ( <b>34</b> )	C(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	OH	CH <sub>2</sub>	OH	20,7 $\mu$ M
LDT480 ( <b>32</b> )	CH <sub>2</sub>	OEt	CO	OEt	3,90 $\mu$ M
GW7647	--	--	--	--	6,50 nM

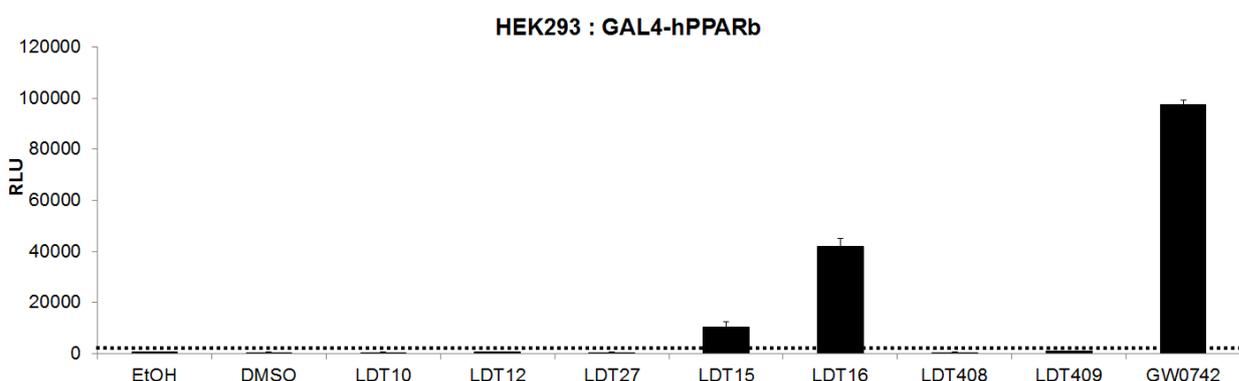
Fonte: Próprio autor.

### 6.2.1.2 PPAR $\beta/\delta$

Para o receptor  $\beta/\delta$  (Figura 17), os compostos da série pentadecila foram testados a 50,0  $\mu$ M, tendo como controle GW0742 a 25,0 nM, utilizando como veículos, EtOH e DMSO. O derivado LDT15 (**24**) foi considerado fraco ativador do

receptor  $\beta$ , e apesar da indução da transcrição mediada pelo LDT16 (**25**), este se mantém tóxico para as células.

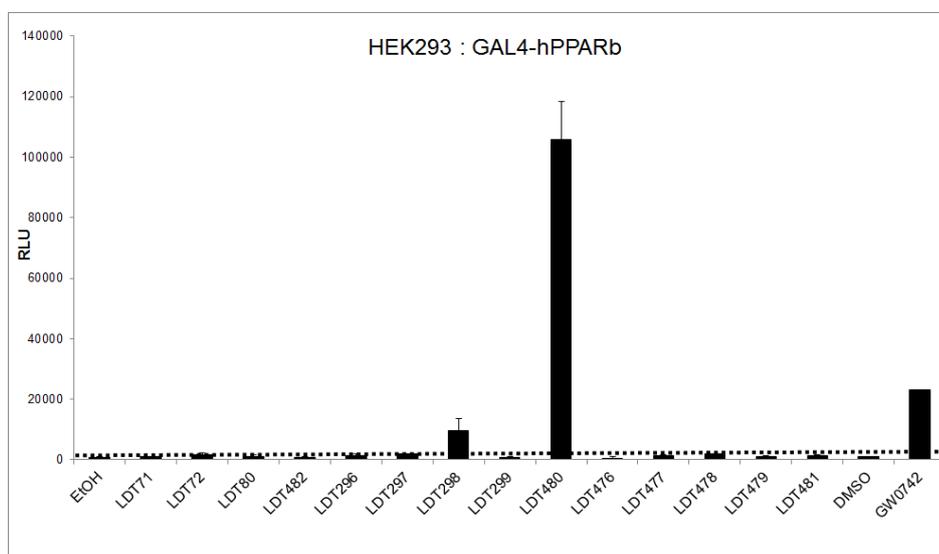
**Figura 17:** Atividade transcricional em PPAR $\beta/\delta$  dos compostos da série pentadecila em células HEK293. Sendo os veículos, EtOH e DMSO, e GW0742 a 25,0 nM (controle positivo). Resposta do veículo evidenciada pela linha tracejada.



Fonte: Próprio autor.

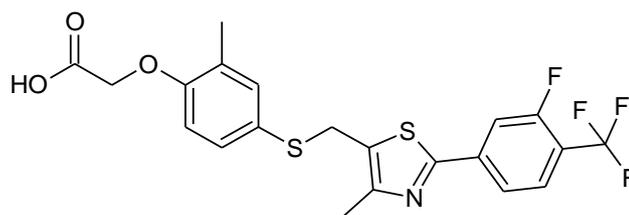
Na série octila (Figura **18**), o derivado LDT298 (**30**) demonstrou atividade transcricional no receptor  $\beta/\delta$  a 50,0  $\mu$ M, duas vezes acima da atividade demonstrada pelo veículo etanol. Por sua vez, o diéster LDT480 (**32**) obteve perfil de ativação superior ao controle positivo (GW0742, 25,0 nM) (Figura **19**).

**Figura 18:** Atividade transcricional em PPAR $\beta/\delta$  dos compostos da série octila, em células HEK293. Sendo os veículos, EtOH e DMSO, e e GW0742 a 25,0 nM (controle positivo). Resposta do veículo evidenciada pela linha tracejada.



Fonte: Próprio autor.

**Figura 19:** Estrutura molecular do controle positivo GW0742, ativador de PPAR $\beta$ .

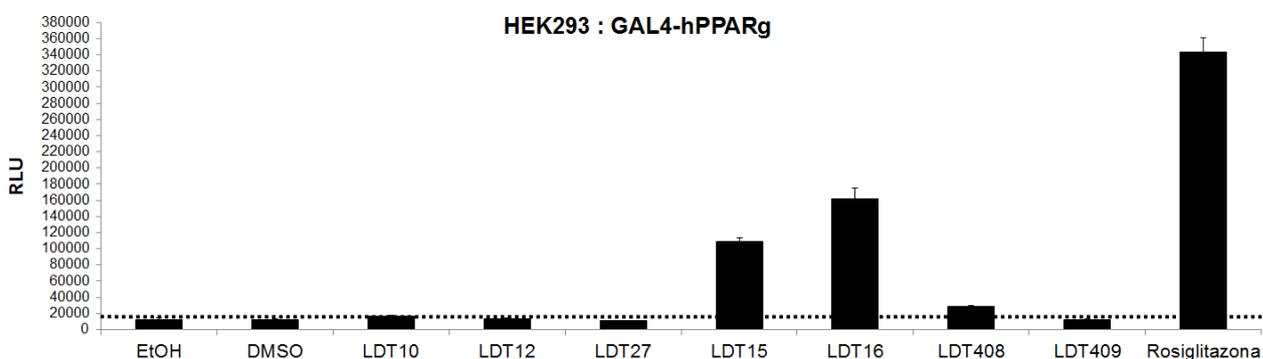


**Fonte:** Próprio autor.

### 6.2.1.3 PPAR $\gamma$

Inicialmente, os compostos foram avaliados quanto à atividade agonista em PPAR $\gamma$  a 50,0  $\mu$ M por meio de ensaio com GAL4-PPAR $\gamma$ , utilizando como controle o agonista tiazolidinadiônico rosiglitazona (**2**) a 50,0 nM, sendo os veículos EtOH e DMSO (Figura 20).

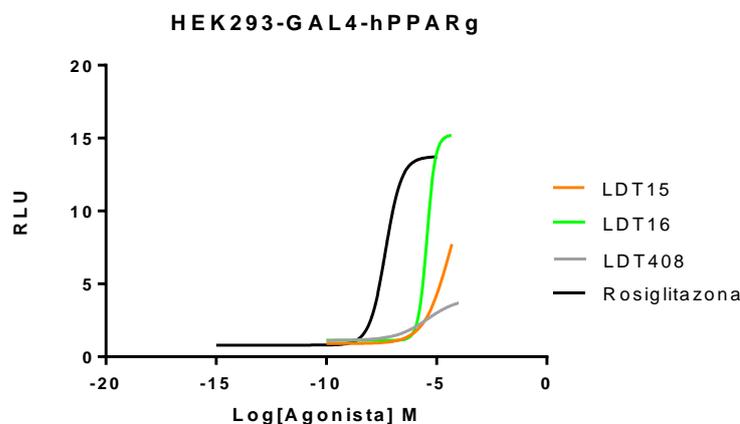
**Figura 20:** Atividade transcricional em PPAR $\gamma$  dos compostos da série pentadecila testados a concentração de 50,0  $\mu$ M em células HEK293. Sendo os veículos, etanol e DMSO, e rosiglitazona (**2**) a 50,0 nM (controle positivo). Resposta do veículo evidenciada pela linha tracejada.



**Fonte:** Próprio autor.

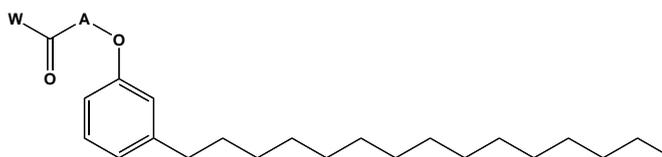
Na série pentadecila (Figura 20), os resultados demonstraram que os derivados LDT15 (**24**) e LDT16 (**25**) foram ativadores de transcrição no receptor  $\gamma$  em relação ao veículo etanol e ao controle. Por sua vez, LDT408 (**26**) foi considerado fraco ativador com perfil de ativação duas vezes acima do veículo, evidenciado pela linha tracejada. Para determinação das potências individuais dos compostos ativadores de PPAR $\gamma$ , os derivados LDT15 (**24**), LDT16 (**25**) e LDT408 (**26**) foram submetidos a nova avaliação em diferentes concentrações, 10,0 nM a 100,0  $\mu$ M, e curva dose-resposta foi confeccionada (Figura 21).

**Figura 21:** Atividade luciferase dos compostos LDT15 (**24**), LDT16 (**25**) e LDT408 (**26**) comparadas através de curva dose-resposta, em relação ao controle rosigitazona (**2**).



O LDT15 (**24**) ativou PPAR $\gamma$  de forma concentração dependente, com EC<sub>50</sub> 42,0  $\mu$ M (Tabela 7), caracterizando-o como um agonista parcial (Figura 21) em contraste com a ativação do receptor pelo controle agonista, rosigitazona, com EC<sub>50</sub> 48,0 nM. Apesar do perfil agonista total com EC<sub>50</sub> 3,65  $\mu$ M, LDT16 (**25**) revelou-se tóxico às células. Por fim, o LDT408 (**26**) demonstrou atividade parcial no receptor  $\gamma$ .

**Tabela 7:** Valores de EC<sub>50</sub> para os compostos LDT15, LDT16 e LDT408 da série pentadecila e do controle positivo rosigitazona, no PPAR $\gamma$ .



Composto	A	W	EC <sub>50</sub>
LDT15 ( <b>24</b> )	CH <sub>2</sub>	OEt	42,7 $\mu$ M
LDT16 ( <b>25</b> )	CH <sub>2</sub>	OH	3,65 $\mu$ M
LDT408 ( <b>26</b> )	C(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	OEt	0,60 $\mu$ M
Rosigitazona ( <b>2</b> )	--	--	48,7 nM

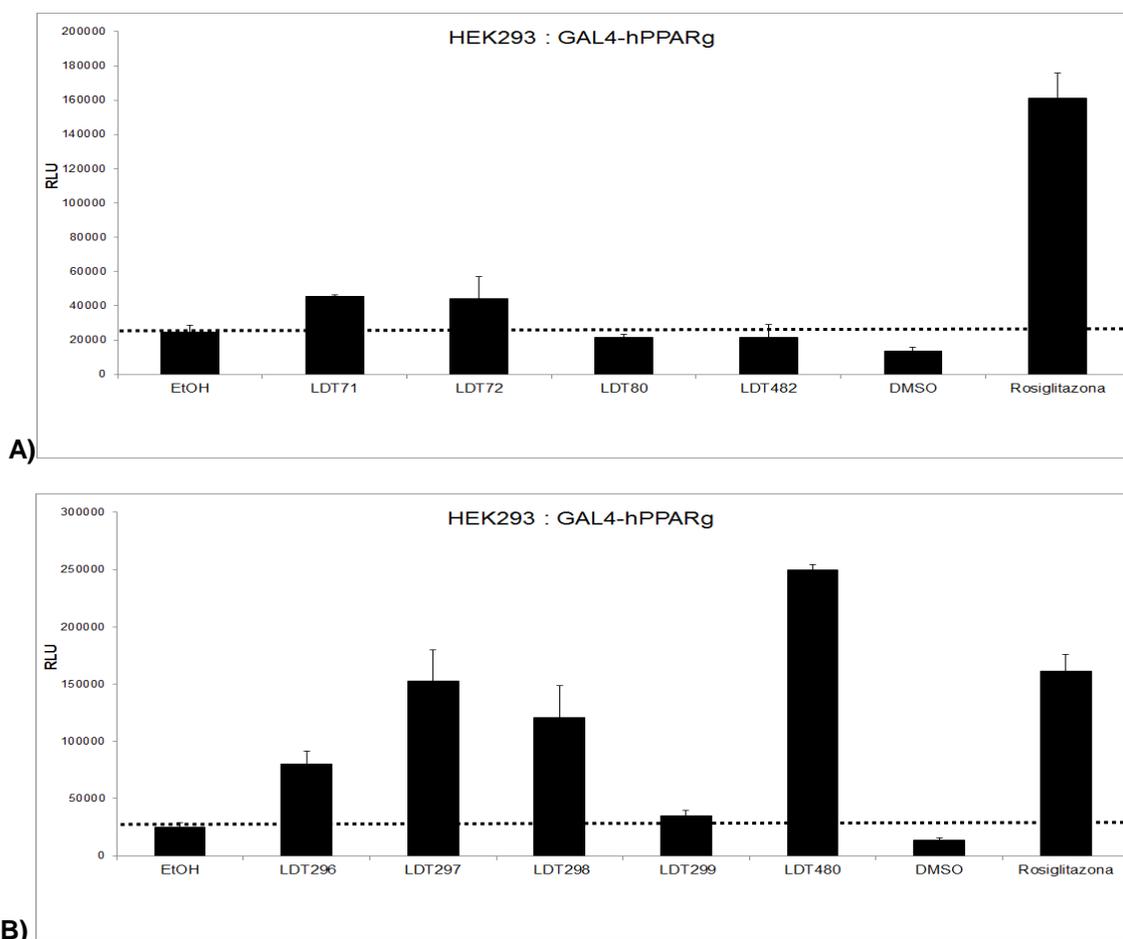
**Fonte:** Próprio autor.

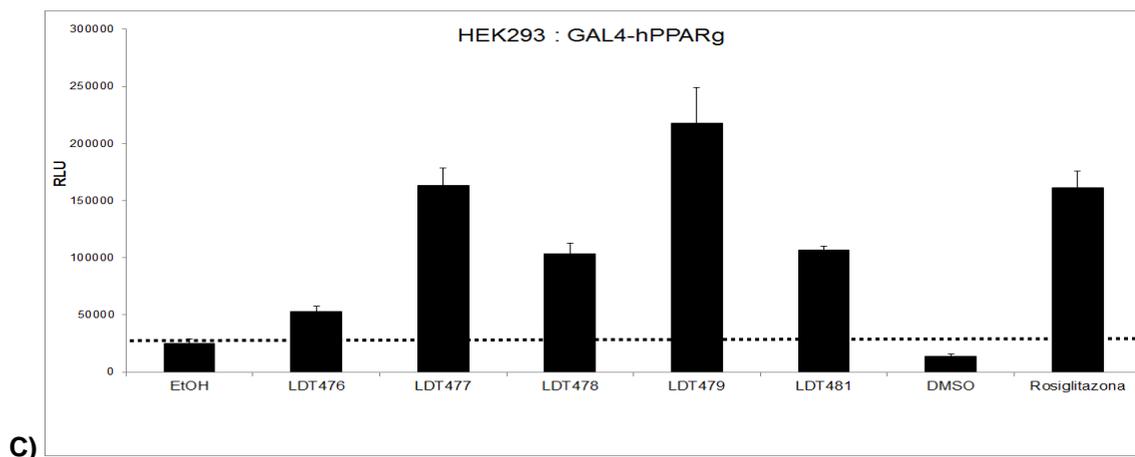
No planejamento estrutural, acreditava-se que a introdução do grupo ácido carboxílico poderia levar ao aumento da potência dos compostos por interações polares com a tríade catalítica e com o aminoácido arginina 288. A introdução do grupo ácido nos derivados LDT16 (**25**) e LDT409 (**27**), quando comparados aos ésteres LDT15 (**24**) e LDT408 (**26**), acarretou em diminuição da atividade nos

receptores. No entanto, para os derivados LDT297 (**29**), LDT477 (**34**) e LDT479 (**36**) aumentou significativamente a ativação de PPAR $\gamma$ .

Para a série octila, dentre os compostos avaliados á 50,0  $\mu$ M (Figura **22**), LDT296 (**28**), LDT297 (**29**) e o LDT298 (**30**) demonstraram atividade de transcrição em PPAR $\gamma$  duas vezes acima do veículo utilizado, por sua vez, LDT480 (**32**), obteve perfil de ativação superior ao controle rosigitazona (Figura **22 B**). Bem como os derivados LDT477 (**34**), LDT478 (**35**), LDT479 (**36**) e LDT481 (**37**) foram considerados ativadores de transcrição no receptor  $\gamma$  (Figura **22 C**).

**Figura 22:** Atividade transcional em PPAR $\gamma$  dos compostos da série octila a 50,0  $\mu$ M em células HEK293. Sendo os veículos, EtOH e DMSO, e rosigitazona a 50,0 nM (controle positivo). Resposta do veículo evidenciada pela linha tracejada.

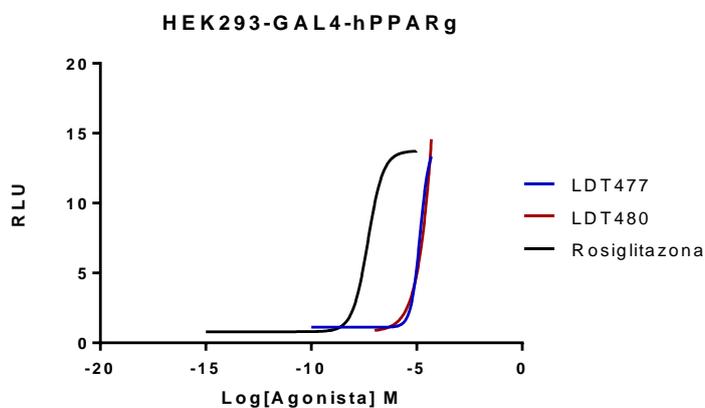




Fonte: Próprio autor.

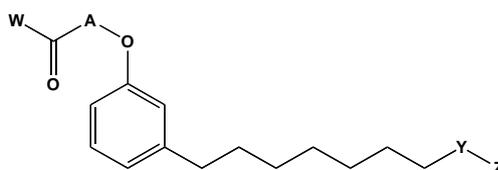
LDT477 (**34**) e o LDT480 (**32**) foram considerados como os mais ativos em PPAR $\gamma$  e para determinação de suas potências individuais, análise de curva dose-resposta foi realizada (Figura **23**). Quando comparados ao controle rosiglitazona (**2**), **34** e **32** demonstraram atividade de agonistas totais, com valores de EC<sub>50</sub> de 14,0  $\mu$ M e 21,0  $\mu$ M, respectivamente (Tabela **8**).

**Figura 23:** Atividade luciferase dos compostos LDT477 e LDT480 em PPAR $\gamma$  comparadas através de curva dose-resposta com o controle, rosiglitazona.



Fonte: Próprio autor.

**Tabela 8:** Valores de EC<sub>50</sub> para os compostos LDT477 e LDT480 da série octila e do controle positivo rosiglitazona, no PPAR $\gamma$ .



Composto	A	W	Y	Z	EC <sub>50</sub>
LDT477 ( <b>34</b> )	C(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	OH	CH <sub>2</sub>	OH	14,4 $\mu$ M
LDT480 ( <b>32</b> )	CH <sub>2</sub>	OEt	CO	OEt	21,1 $\mu$ M
Rosiglitazona ( <b>2</b> )	--	--	--	--	48,7 nM

De modo geral, os derivados LDT15 (**24**), LDT16 (**25**), LDT408 (**26**), LDT409 (**27**), LDT480 (**32**) e LDT477 (**34**) apresentaram ativação de transcrição de PPAR $\alpha$  (Tabela 9). Na série pentadecila, o derivado éster LDT15 (**24**), com grupo aceptor de ligação de hidrogênio, foi considerado o composto mais ativo, com atividade de agonista parcial quando comparado ao controle GW7647. Por sua vez, o diéster LDT480 (**32**) foi o maior indutor de transcrição de PPAR $\alpha$  na série octila, apresentando perfil de agonista parcial. A ativação de transcrição de PPAR $\beta/\delta$  foi mediada após tratamento com os derivados LDT15 (**24**) e LDT298 (**30**), os quais apresentaram fraca atividade agonista. No entanto, os compostos LDT16 (**25**) e LDT480 (**32**) obtiveram bom perfil de ativação quando comparados aos veículos e ao controle GW0742. Por fim, a transcrição de PPAR $\gamma$  foi induzida pelos derivados LDT15 (**24**), LDT16 (**25**), LDT480 (**32**) e LDT 477 (**34**). Entre os os compostos da série octila destacaram-se LDT480 (**32**) e LDT477 (**34**) com atividade de agonistas totais quando comparados ao controle rosiglitazona.

**Tabela 9:** Perfil de atividade e valores de EC<sub>50</sub> para os derivados-alvo ativos em PPAR.

Composto	PPAR $\alpha$ (EC <sub>50</sub> )	PPAR $\beta$ (EC <sub>50</sub> )	PPAR $\gamma$ (EC <sub>50</sub> )	Composto	PPAR $\alpha$ (EC <sub>50</sub> )	PPAR $\beta$ (EC <sub>50</sub> )	PPAR $\gamma$ (EC <sub>50</sub> )
LDT10 ( <b>18</b> )		**		LDT298 ( <b>30</b> )		*	
LDT12 ( <b>19</b> )		**		LDT299 ( <b>31</b> )		**	
LDT27 ( <b>20</b> )		**		LDT480 ( <b>32</b> )	3,90 $\mu$ M	*	21,1 $\mu$ M
LDT71 ( <b>22</b> )		**		LDT476 ( <b>33</b> )		**	
LDT72 ( <b>23</b> )		*		LDT477 ( <b>34</b> )	20,7 $\mu$ M	**	14,4 $\mu$ M
LDT15 ( <b>24</b> )	3,45 $\mu$ M	*	42,7 $\mu$ M	LDT478 ( <b>35</b> )	*	**	*
LDT16 ( <b>25</b> )	0,93 $\mu$ M	*	3,65 $\mu$ M	LDT479 ( <b>36</b> )	*	**	*
LDT408 ( <b>26</b> )	8,91 $\mu$ M	**	0,60 M	LDT481 ( <b>37</b> )	*	**	*
LDT409 ( <b>27</b> )	0,20 $\mu$ M	**	**	LDT80 ( <b>38</b> )	*	**	**
LDT296 ( <b>28</b> )	*	**	*	LDT482 ( <b>39</b> )	*	**	**
LDT297 ( <b>29</b> )	*	**	*				

\* Avaliação farmacológica em andamento.

\*\* Sem atividade farmacológica em PPAR.

Fonte: Próprio autor.

Desta maneira, o derivado LDT480 (**32**) foi considerado um “pan-agonista”, uma vez que obteve a capacidade de induzir a transcrição de ambos os subtipos de PPAR: PPAR $\alpha$ , PPAR $\beta/\delta$  e PPAR $\gamma$ . No entanto, apesar do bom perfil de ativação demonstrado pelo LDT16 (**25**) induzindo a transcrição de ambos os subtipos, este

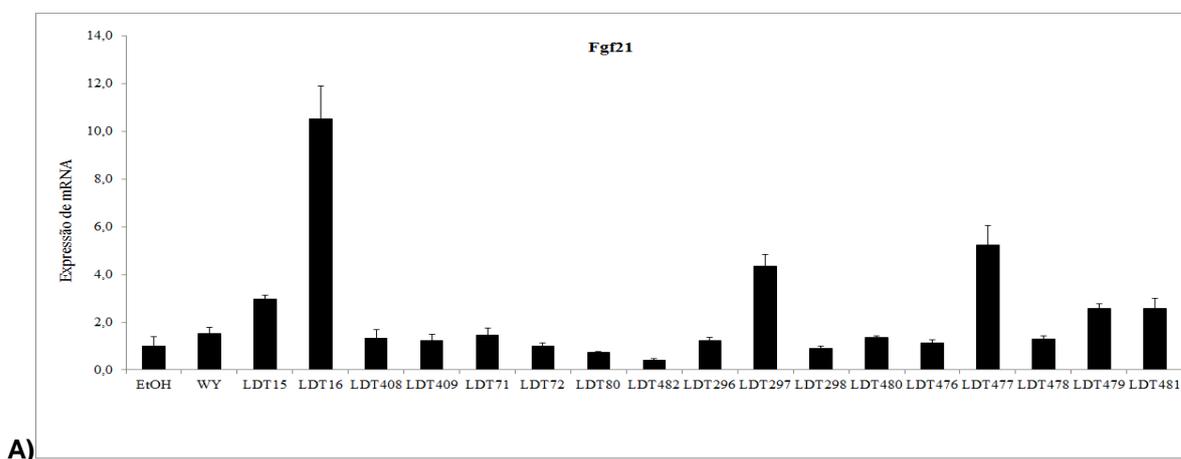
alterou morfológicamente as células, que se tornaram pequenas e murchas, sendo necessário estudos complementares de citotoxicidade.

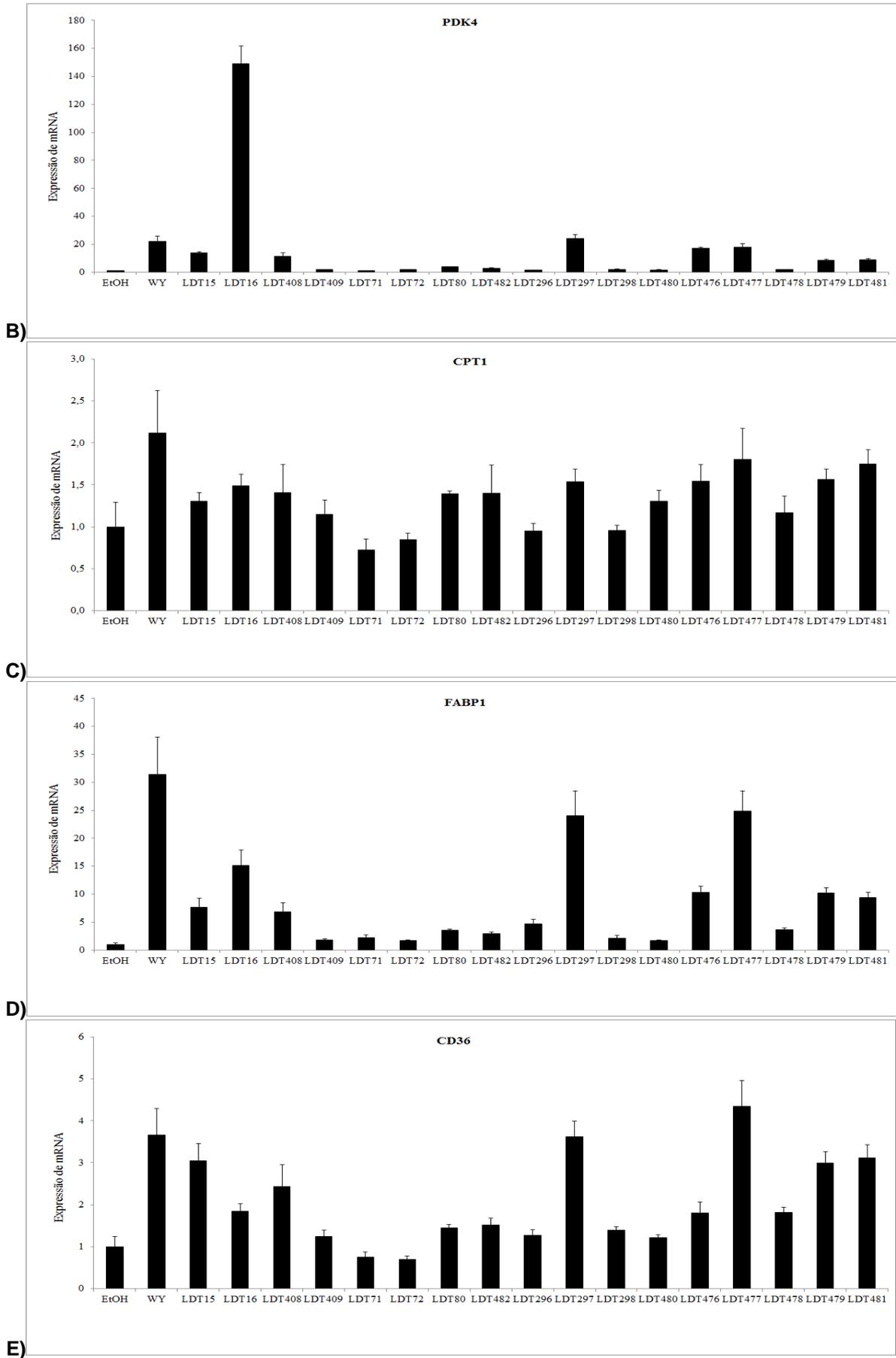
### 6.2.2 Ensaio em hepatócitos primários

Tratamento de hepatócitos primários com 50,0  $\mu\text{M}$  dos compostos LDT15 (24), LDT16 (25), LDT297 (29), LDT477 (34), LDT479 (36) e LDT481 (37) resultou na supra-regulação da expressão de Fgf21 (Figura 24 A), hormônio com potentes propriedades anti-diabéticas por promover a sensibilização à insulina e oxidação de ácidos graxos. A expressão de CPT-1 (Figura 24 B), uma enzima limitadora de velocidade na  $\beta$ -oxidação, também foi aumentada após o tratamento com a maioria dos ligantes quando comparado ao veículo e ao controle 50,0  $\mu\text{M}$  de WY14643, com exceção dos derivados LDT71 (22), LDT72 (23), LDT296 (28) e LDT298 (30). A expressão de PDK4 (Figura 24 C), enzima que permite a utilização preferencial de ácidos graxos como fonte de energia, ao invés da glicose, foi supra-regulada pelos derivados LDT15 (24), LDT16 (25), LDT408 (26), LDT297 (29), LDT476 (33), LDT477 (34), LDT479 (36) e LDT481 (37).

Por fim, o tratamento com LDT15, LDT16, LDT408, LDT297, LDT476, LDT477, LDT479 e LDT481 aumentou significativamente a expressão de genes importantes, envolvidos na captação de ácidos graxos, FABP1 e CD36 (Figura 24 D e E).

**Figura 24:** Efeito dos derivados LDTs testados a 50,0  $\mu\text{M}$  sobre hepatócitos primários, em relação ao controle 50,0  $\mu\text{M}$  de WY14643, sendo o veículo EtOH. Avaliação da expressão de genes envolvidos na oxidação de ácidos graxos, Fgf1, PDK4 e CPT1, bem como genes responsáveis pela captação de ácidos graxos, FABP1 e CD36.





Fonte: Próprio autor.

Apesar da atividade agonista parcial demonstrada pelos derivados nos ensaios de gene repórter no PPAR $\alpha$ , quando comparados ao controle GW7647, nos hepatócitos primários foi vista eficácia similar ao controle WY14643, na ativação de genes alvo do receptor  $\alpha$ . Novamente, LDT16 (25) se destacou por sua atividade agonista total em PPAR $\alpha$ , mas este se manteve tóxico às células.

Os resultados em hepatócitos primários sugerem a capacidade dos compostos, LDT15 (24), LDT16 (25), LDT408 (26), LDT409 (27), LDT297 (29), LDT476 (33), LDT477 (34), LDT479 (36) e LDT481 (37), em promover a oxidação e captação de ácidos graxos no fígado, reduzindo as taxas de lipídeos circulantes. Estes são efeitos benéficos de agonistas PPAR $\alpha$ , usados para corrigir distúrbios metabólicos, como na dislipidemia e no diabetes tipo 2 (Tabela 10).

**Tabela 10:** Perfil de atividade dos derivados-alvo na expressão de genes em hepatócitos primários.

Composto	Atividade	Composto	Atividade
LDT71 (22)	**	LDT480 (32)	**
LDT72 (23)	**	LDT476 (33)	Ativo
LDT15 (24)	Ativo	LDT477 (34)	Ativo
LDT16 (25)	Ativo	LDT478 (35)	**
LDT408 (26)	Ativo	LDT479 (36)	Ativo
LDT409 (27)	Ativo	LDT481 (37)	Ativo
LDT296 (28)	**	LDT80 (38)	**
LDT297 (29)	Ativo	LDT482 (39)	**
LDT298 (30)	**		

\*\* Sem atividade farmacológica.

Fonte: Próprio autor.

### 6.2.3 Ensaio de diferenciação de adipócitos

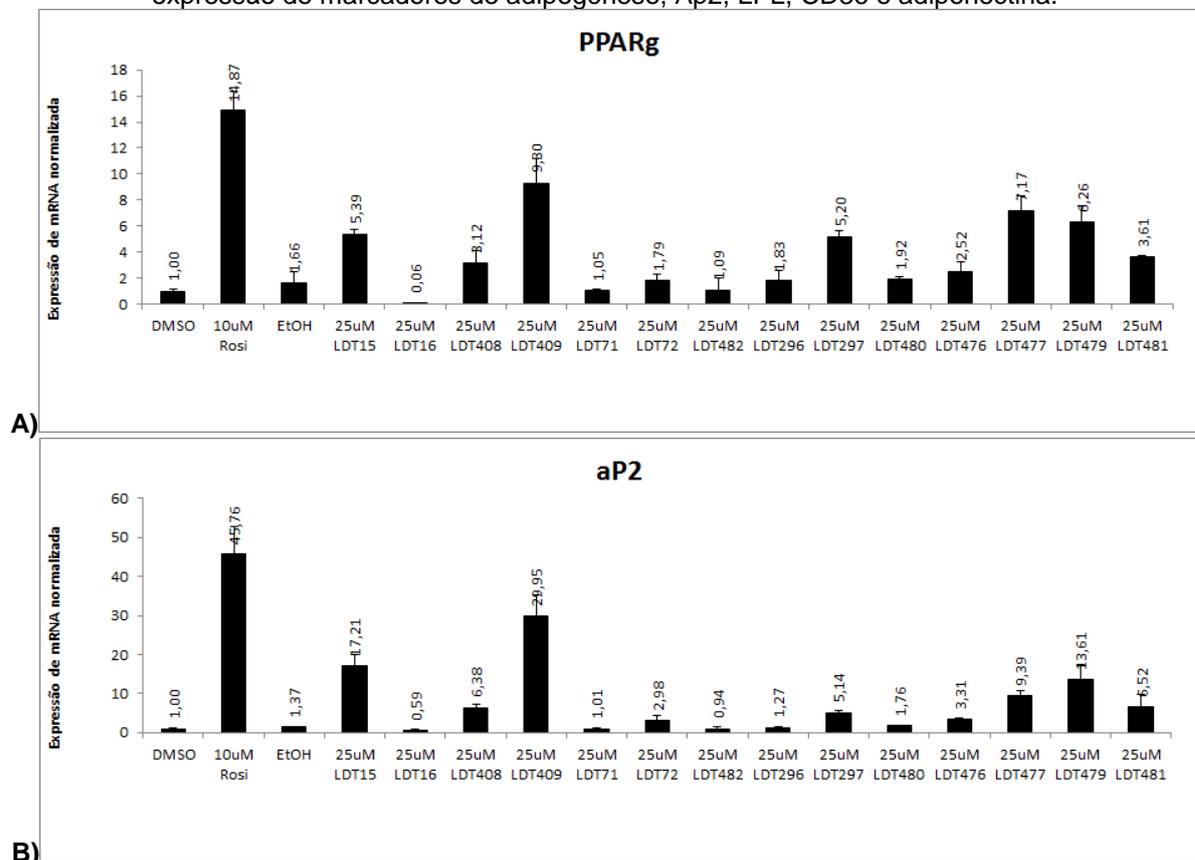
Na sequência, visando acessar a capacidade dos derivados-alvo sob a ativação do PPAR $\gamma$ , foi realizado o ensaio de diferenciação de adipócitos utilizando pré-adipócitos provenientes do camundongo *Swiss*, 3T3 linhagem 1.

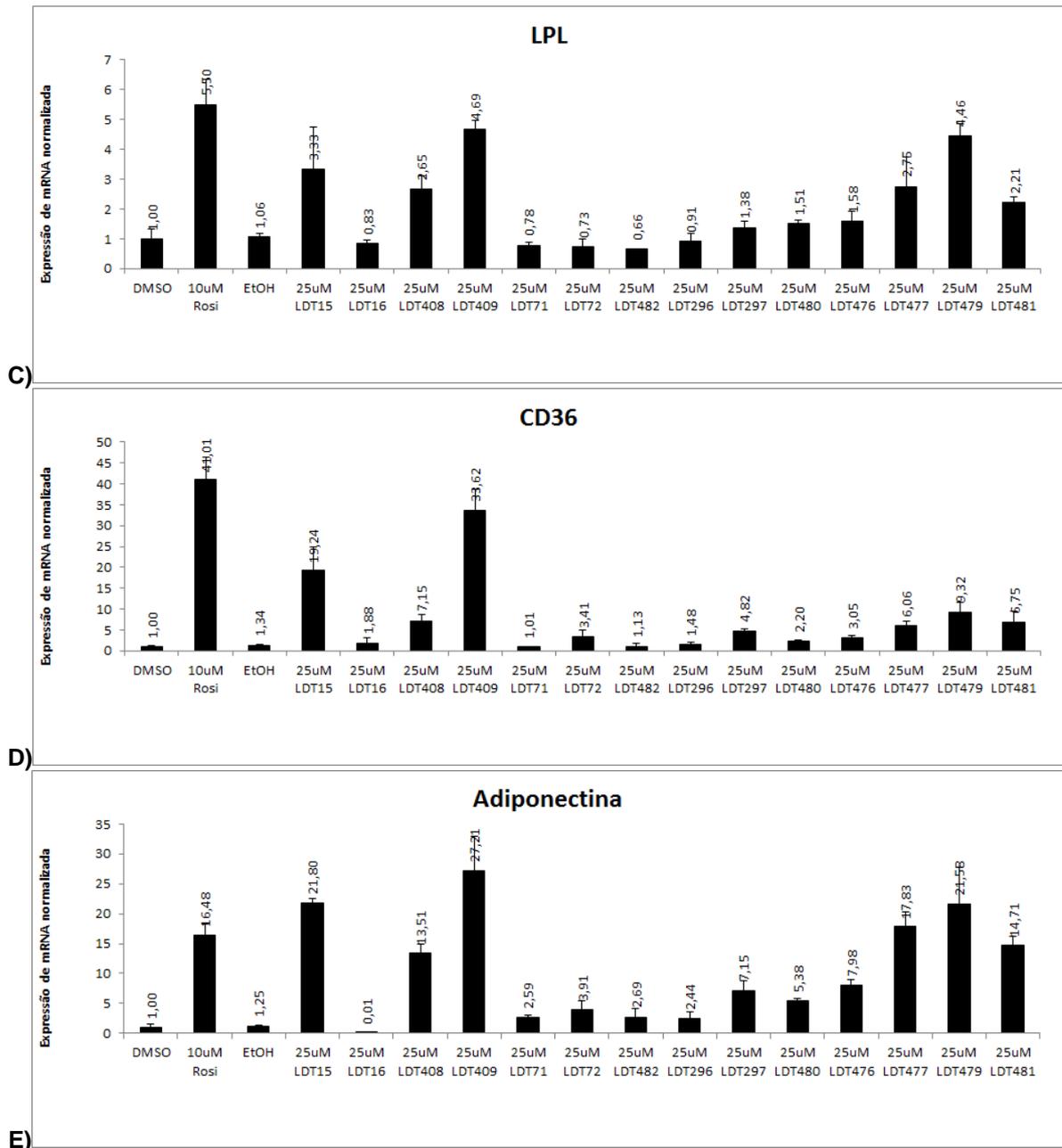
Células 3T3-L1 foram cultivadas e com o início da diferenciação, as células foram tratadas com 25,0  $\mu$ M do ligante, do controle positivo, rosiglitazona, ou dos veículos, etanol e DMSO. As células 3T3-L1 foram lisadas para a avaliação da expressão de marcadores de adipogênese, Ap2, LPL e CD36, e expressão de adiponectina, um hormônio secretado pelos adipócitos maduros responsável por aumentar a sensibilidade em relação a insulina, estimular a captação de glicose pelo

músculo e minimizar a gliconeogênese no fígado. A expressão das proteínas desses marcadores adipogênicos foi mensurada por qPCR (Figura 24), por meio de expressão de RNA.

Tratamento dos pré-adipócitos 3T3-L1 com 25,0  $\mu$ M dos derivados-alvo resultou na regulação de PPAR $\gamma$  (Figura 25 A), receptor importante na diferenciação de adipócitos. Na série pentadecila, LDT15 (24), LDT408 (26) e LDT409 (27) aumentaram a expressão dos marcadores de diferenciação de adipócitos, indicando a indução da adipogênese (Figura 25 B, C e D). A expressão de adiponectina (Figura 25 E) foi induzida em um grau superior à rosiglitazona por LDT15 (24) e LDT409 (27). Por sua vez, LDT408 também aumentou significativamente a expressão de adiponectina quando comparado ao veículo. Considerando a série octila, o tratamento com LDT297 (29), LDT477 (34), LDT479 (36) e LDT481 (37) induziu adipogênese nas células 3T3-L1, resultando em aumento dos marcadores adipogênicos (Figura 25 B, 25 C e 25 D). A expressão de adiponectina também foi aumentada pelo tratamento com os mesmos ligantes (Figura 25 E).

**Figura 25:** Efeito dos derivados LDTs a 25,0  $\mu$ M sobre a adipogênese de pré-adipócitos 3T3-L1, em relação ao controle 25,0  $\mu$ M de rosiglitazona (2), sendo os veículos, EtOH e DMSO. Avaliação da expressão de marcadores de adipogênese, Ap2, LPL, CD36 e adiponectina.

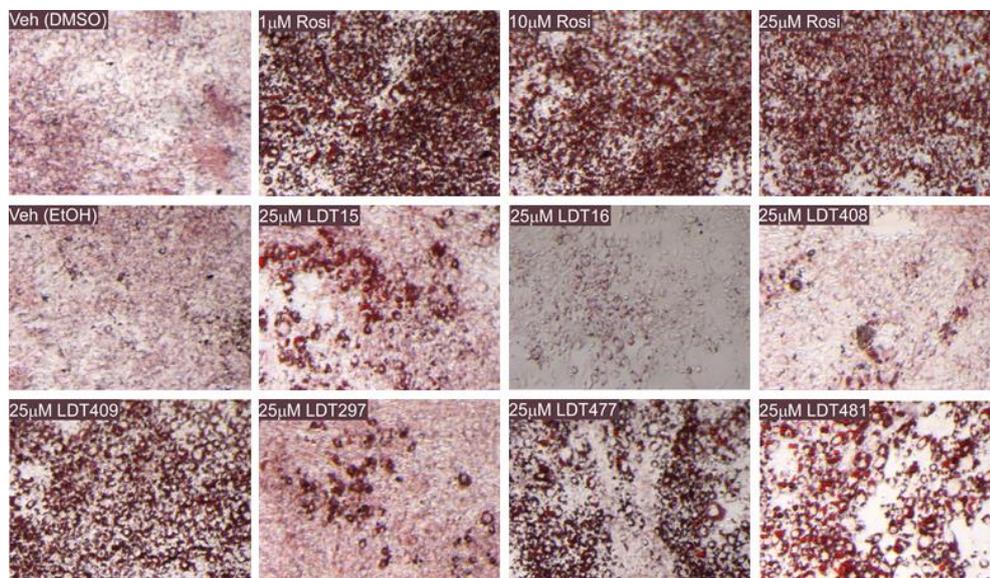




Fonte: Próprio autor.

A avaliação da diferenciação de adipócitos com o corante de lipídeos óleo vermelho O (Figura 26) demonstrou que os derivados LDT409 (27), LDT477 (34) e LDT481 (37) induzem o acúmulo intracelular de lipídeos de forma comparável à rosiglitazona. Os derivados LDT15 (24) e LDT297 (28) são capazes de induzir a adipogênese em menor grau quando comparado ao controle, com células adipócitas maiores. Por sua vez, os compostos LDT16 (25) e LDT408 (26) induziram menor acúmulo intracelular de lipídeos, em relação as células 3T3-L1 tratadas com rosiglitazona.

**Figura 26:** Efeito do LDT15, LDT16, LDT408, LDT409, LDT297, LDT477 e LDT481 sobre a adipogênese de pré-adipócitos 3T3-L1. Dois dias após confluência, células 3T3-L1 foram induzidas a se diferenciarem em adipócitos, cultivadas por 8 dias, tratadas com diferentes ligantes ou veículo, DMSO e EtOH. Na sequência, coradas com óleo vermelho O e observadas por microscopia.



Fonte: MAGOMEDOVA, Lília.

As TZDs, agonistas PPAR $\gamma$ , induzem o aumento excessivo da diferenciação de adipócitos nas células 3T3-L1, aumentando a acumulação de lipídeos e ocasionando ganho ponderal. De maneira geral, o efeito benéfico da ativação da diferenciação de adipócitos mediada por PPAR $\gamma$  foi encontrado mostrando potente aumento nos níveis de marcadores adipocitários, bem como de adiponectina, após tratamento com os derivados LDT15 (24), LDT408 (26), LDT409 (27), LDT297 (29), LDT477 (34), LDT479 (36) e LDT481 (37), com taxa global de diferenciação de adipócitos inferior a da rosiglitazona, o que espera-se ser benéfico terapêuticamente, uma vez que haverá sensibilização a insulina, sem o ganho de peso indesejável ocasionado pelas TZDs (Tabela 11).

**Tabela 11:** Perfil de atividade dos derivados-alvo na diferenciação de adipócitos.

Composto	Atividade	Composto	Atividade
LDT71 (22)	**	LDT297 (29)	Ativo
LDT72 (23)	**	LDT480 (32)	**
LDT15 (24)	Ativo	LDT476 (33)	**
LDT16 (25)	**	LDT477 (34)	Ativo
LDT408 (26)	Ativo	LDT479 (36)	Ativo
LDT409 (27)	Ativo	LDT481 (37)	Ativo
LDT296 (28)	**	LDT482 (39)	**

\*\* Sem atividade farmacológica. Fonte: Próprio autor.

## ***Conclusões e Perspectivas***

---

## 7. CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS

---

A metodologia sintética mostrou-se eficaz para a obtenção dos derivados-alvo, tendo o cardanol monoinsaturado como material de partida. Neste contexto, foram sintetizados 21 compostos, sendo 2 intermediários-chave, LDT10, **18** (90%) e LDT71, **22** (79%) e os compostos finais em rendimentos globais que variaram de 62% a 99%. A metodologia sintética empregada na obtenção dos compostos-alvos mostrou-se linear ao utilizar reações clássicas: acetilação, metilação, O-alkilação, hidrogenação catalítica, ozonólise, redução com hidretos metálicos, oxidação e hidrólise alcalina por meio de aquecimento convencional ou radiação micro-ondas. A utilização de métodos simples e eficientes para a obtenção das moléculas-alvo capazes de atuar sobre alvos biológicos está de acordo com os paradigmas e conceitos em Química Medicinal. A caracterização estrutural dos intermediários e compostos-alvo se deu por meio de métodos espectroscópicos de análise IV, RMN  $^1\text{H}$  e RMN  $^{13}\text{C}$ .

A avaliação farmacológica por meio de ensaio de gene repórter, ensaio em hepatócitos primários e sob a diferenciação de adipócitos, foi capaz de evidenciar a atividade dos compostos sintetizados pela determinação da capacidade de ativar a transcrição dos receptores e pelo cálculo de  $\text{EC}_{50}$  frente aos controles utilizados, bem como pela capacidade de alterar a expressão de genes.

Assim, os melhores ligantes desenvolvidos para PPAR $\alpha$  foram os compostos com a presença do grupo éster, acceptor de ligação de hidrogênio, LDT15 (**24**) e LDT480 (**32**), com  $\text{EC}_{50}$  de 3,45  $\mu\text{M}$  e 3,90  $\mu\text{M}$ , respectivamente, configurando-os como agonistas parciais em relação a ativação da transcrição pelo controle GW7647 com  $\text{EC}_{50}$  de 6,50 nM. Já para PPAR $\gamma$ , o derivado ácido LDT477 (**34**) e o diéster LDT480 (**32**) foram os compostos mais ativos com  $\text{EC}_{50}$  de 14,0  $\mu\text{M}$  e 21,0  $\mu\text{M}$ , respectivamente, caracterizando os como agonistas totais em relação ao controle rosiglitazona, com  $\text{EC}_{50}$  de 48,0 nM. Os referidos derivados foram capazes de aumentar a expressão de genes envolvidos na promoção da captação e na oxidação de ácidos graxos, assim como induzir a diferenciação de adipócitos.

Os resultados preliminares permitiram a validação do planejamento estrutural revelando a capacidade desses compostos em atuarem sobre PPAR $\alpha$  e PPAR $\gamma$ ,

fornecendo fundamentações para otimização molecular na busca de ligantes com melhor perfil.

Neste sentido, otimização dos rendimentos das reações, avaliação dos novos ligantes por ensaio de competição, estudos de modelagem molecular, ensaio de citotoxicidade, ensaios farmacológicos em osteoblastos, na cascata inflamatória, na modulação de secretases, bem como avaliação farmacológica *in vivo* dos melhores ligantes, constituem perspectivas do trabalho na validação do planejamento estrutural, bem como no estabelecimento da relação estrutura-atividade química de um possível agonista dual PPAR $\alpha$ / $\gamma$ .

## ***Referências Bibliográficas***

---

## 8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

---

AMATO, Angélica Amorim. **Investigação da atividade farmacológica de Benzilideno- e Acridinilideno- Tiazolidinadionas e de Isoflavonas nos receptores alfa, beta/delta e gama ativados por Proliferadores Peroxissomais.** 2008. Tese (Doutorado) - Departamento de Pós Graduação em Ciências da Saúde, Universidade de Brasília, Brasília, 2008.

AICARDI, Giorgio. New Hope from an Old Drug: Fighting Alzheimer's Disease with the Cancer Drug Bexarotene (Targretin)? **Mary Ann Liebert, Inc. publishers**, vol. 16, n. 6. Itália, 2013.

ANDRADE, Karine Figueiredo de. **Síntese e avaliação farmacológica de derivados fenóxi-acetoacetatos em receptores ativados por proliferadores peroxissomais e em receptores de hormônio tireoidiano.** 2008. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Ciências da Saúde, Universidade de Brasília, Brasília, 2008.

APRILE, M. et al. PPARG in Human Adipogenesis: Differential Contribution of Canonical Transcripts and Dominant Negative Isoforms. **Hindawi Publishing Corporation**, vol. 2014, n. ID 537865. Itália, mar. 2014.

BALACHANDRAN, Vijai Shankar et al. Recent advances in cardanol chemistry in a nutshell: from a nut to nanomaterials. **Chemical Society Reviews**, vol. 42, n. 2. Nova York, jan. 2013.

BARTL, Jasmin et al. Alzheimer's disease and type 2 diabetes: Two diseases, one common link? **The World Journal of Biological Psychiatry**, vol. 2013, n. 14. Alemanha, 2013.

BORTOLINI, Michele et al. Examining the safety of PPAR agonists - current trends and future prospects. **Informa Healthcare**, vol. 12, n. 1. Suíça, 2013.

CARVALHO-FILHO, Marco A. De et al. Cross-Talk das Vias de Sinalização de Insulina e Angiotensina II: Implicações com a Associação Entre Diabetes Mellitus e Hipertensão Arterial e Doença Cardiovascular. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, vol. 51, n. 2. São Paulo, mar. 2007.

CHEN, Wei et al. Novel PPAR Pan Agonist, ZBH Ameliorates Hyperlipidemia and Insulin Resistance in High Fat Diet Induced Hyperlipidemic Hamster. **Plos One**, vol. 9, n. 4. China, abril 2014.

CHEN, Mei-hsing; LIN, Cheng-hsiu & SHIH, Chun-ching. Antidiabetic and Antihyperlipidemic Effects of Clitocybe nuda on Glucose Transporter 4 and AMP-Activated Protein Kinase Phosphorylation in High-Fat-Fed Mice. **Hindawi Publishing**

**Corporation: Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, vol. 2014. Taiwan, jan. 2014.

CHEN, Lihong & YANG, Guangrui. PPARs Integrate the Mammalian Clock and Energy Metabolism. **Hindawi Publishing Corporation: PPAR Research**, vol. 2014. Estados Unidos, fev. 2014.

CHEN, Zhichun & ZHONG, Chunjiu. Decoding Alzheimer's disease from perturbed cerebral glucose metabolism: Implications for diagnostic and therapeutic strategies. **Elsevier: Progress in Neurobiology**, vol. 2013, n.108. China, jul. 2013.

CHOI, Jang Hyun et al. Antidiabetic actions of a non-agonist PPAR $\gamma$  ligand blocking Cdk5-mediated phosphorylation. **Nature**, vol. 477, n. 81. Boston, set. 2011.

CHOI, Kangduk & KIM, Young-Bum. Molecular Mechanism of Insulin Resistance in Obesity and Type 2 Diabetes. **The Korean Journal of Internal Medicine**. Vol. 25, n. 2, 2010.

CORREIA, Sónia C. et al. Insulin signaling, glucose metabolism and mitochondria: Major players in Alzheimer's disease and diabetes interrelation. **Elsevier: Brain Research**, vol. 1441. Portugal, mar. 2012.

CRAMER, Paige E. et al. ApoE-Directed Therapeutics Rapidly Clear  $\beta$ -Amyloid and Reverse Deficits in AD Mouse Models. **Science**, vol. 335, n. 1503. Nova York, mar. 2012.

DAVE, Sandeep et al. Inhibition of Adipogenesis and Induction of Apoptosis and Lipolysis by Stem Bromelain in 3T3-L1 Adipocytes. **Plos One**, vol. 7, n. 1. India, jan. 2012.

DIVINS, Maria Josep. Información de mercado: Antidiabéticos orales. **Farmacia Profesional**, vol. 23, n. 6, dez. 2009.

**Diretrizes da Sociedade Brasileira de Diabetes**- [3.ed.]. – Itapevi, São Paulo, 2009.

FREITAS, Lúcia Rolim Santana De & GARCIA, Leila Posenato. Evolução da prevalência do diabetes e deste associado à hipertensão arterial no Brasil: análise da Pesquisa Nacional por Amostra de Domicílios, 1998, 2003 e 2008. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**: Revista do Sistema Único de Saúde do Brasil, vol. 21, n. 1, mar. 2012.

GAMA, Ricardo Ribeiro. **Efeitos de quimioprevenção dos ligantes do PPAR- $\gamma$  e dos ácidos graxos poliinsaturados ômega-3 no processo de carcinogênese da via aerodigestiva superior induzida pelo uso de 4-nitroquinolina-1-óxido em**

**camundongos Swiss**. 2010. Tese (Doutorado) – Universidade de São Paulo, São Paulo, 2010.

GILARDI, Federica et al. LT175 is a novel PPAR $\alpha$ / $\gamma$  ligand with potent insulin sensitizing effects and reduced adipogenic properties. **The American Society For Biochemistry And Molecular Biology**, vol. 10, n. 1074. Itália, jan. 2014.

GOLAN, David E.; ARAÚJO, Cláudia L. C. (Trad.); VOEUX, Patrícia L. (Trad). **Princípios de farmacologia: a base fisiopatológica da farmacoterapia**. 2<sup>a</sup>. ed. Rio de Janeiro, RJ: Guanabara Koogan, 2009.

GRYGIEL-GÓRNIAK, Bogna. Peroxisome proliferator-activated receptors and their ligands: nutritional and clinical implications – a review. **Nutrition Journal**, vol. 17, n. 13. Polônia, fev. 2014.

HAN, Joo-Hui et al. The Effects of Propionate and Valerate on Insulin Responsiveness for Glucose Uptake in 3T3-L1 Adipocytes and C2C12 Myotubes via G Protein-Coupled Receptor 41. **Plos One**, vol. 9, n. 4. Korea, abril 2014.

HUANG, Chi-Chang et al. Effect of Black Soybean Koji Extract on Glucose Utilization and Adipocyte Differentiation in 3T3-L1 Cells. **International Journal of Molecular Sciences**, vol. 15, n. 5. Taiwan, maio 2014.

HIEKE, Martina et al. Design, Synthesis, and Biological Evaluation of a Novel Class of  $\gamma$ -secretase Modulators with PPAR $\gamma$  Activity. **Journal of Medicinal Chemistry Article**, vol. 2010, n. 53. Alemanha, mar. 2010.

HIEKE, Martina et al. SAR studies of acidic dual  $\gamma$ -secretase/PPAR $\gamma$  modulators. **Elsevier: Bioorganic & Medicinal Chemistry**, vol. 2011, n. 19. Alemanha, ago. 2011.

HOME, Philip. Safety of PPAR Agonists. **Diabetes Care**, vol. 34, n. 2. Reino Unido, maio 2011.

**International Diabetes Federation**, 2014. Disponível em: <<http://www.idf.org/metabolic-syndrome>>. Acesso em: 19 abr. 2014.

JIA, Zhanjun et al. New Insights into the PPAR $\gamma$  Agonists for the Treatment of Diabetic Nephropathy. **Hindawi Publishing Corporation**, vol. 2014. China, jan. 2014.

JOHNSON, Andrew M.F. & OLEFSKY, Jerrold M. The Origins and Drivers of Insulin Resistance. **Cell**, vol. 152, n. 4. Califórnia, fev. 2013.

LADETER, Manual de procedimentos experimentais do Laboratório de Desenvolvimento de Estratégias Terapêuticas, Universidade Católica de Brasília, Brasília, 2010.

LEÓN, Rafael; GARCIA, Antonio G. & MARCO-CONTELLES, José. Recent Advances in the Multitarget-Directed Ligands Approach for the Treatment of Alzheimer's Disease. **Medicinal Research Reviews**, vol. 33, n. 1. Reino Unido, jan. 2013.

LIBERATO, Marcelo Vizoná. **Ácidos graxos de cadeia média como ligantes da proteína PPAR $\gamma$** . 2009. Dissertação (Mestrado) - Departamento de Instituto de Física de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2009.

LIMA, S.G. De et al. Effects of immature cashew nut-shell liquid (*Anacardium occidentale*) against oxidative damage in *Saccharomyces cerevisiae* and inhibition of acetylcholinesterase activity. **Genetics And Molecular Research**, vol. 7, n. 3. Piauí, set. 2008.

LIN, Chia-Hui et al. Design and Structural Analysis of Novel Pharmacophores for Potent and Selective Peroxisome Proliferator-activated Receptor  $\gamma$  Agonists. **Journal of Medicinal Chemistry**, vol. 52, n. 8, fev. 2009.

LIN, Chin Jia & BARBOSA, Angela Silva. Técnicas de Análise da Regulação da Transcrição Gênica e suas Aplicações na Endocrinologia Molecular. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, vol. 46, n. 4. São Paulo, ago. 2002.

MAHENDRA, Poonam & BISHT, Shradha. Diagnostic criteria in different population for diabetes mellitus. **Journal Of Pharmacy Research**, vol. 4, n. 4. India, mar. 2011.

MANNELLI, Lorenzo di Cesare et al. PPAR- $\gamma$  Impairment Alters Peroxisome Functionality in Primary Astrocyte Cell Cultures. **Hindawi Publishing Corporation**, v. 2014, ID 546453. Itália, mar. 2014.

MANORIA, P.C. et al. The nuances of atherogenic dyslipidemia in diabetes: Focus on triglycerides and current management strategies. **Elsevier: Indian Heart Journal**, vol. 65, n. 6. India, dez. 2013.

MANSOUR, Mahmoud. Chapter Seven – The Roles of Peroxisome Proliferator Activated Receptors in the Metabolic Syndrome. **Elsevier: Progress in Molecular Biology and Translational Science**, vol. 121. Alabama, 2014.

MAZZETTO, Selma Elaine & LOMONACO, Diego. Óleo da castanha de caju: oportunidades e desafios no contexto do desenvolvimento e sustentabilidade industrial. **Química Nova**, vol. 32, n. 3. Fortaleza, abr. 2009.

MCMULLEN, Patrick D. et al. A map of the PPAR $\alpha$  transcription regulatory network for primary human hepatocytes. **Elsevier: Chemico-Biological Interactions**, n. 209. Estados Unidos, 2014.

NASCIMENTO, A.S. **Interação dos receptores nucleares com seus ligantes: Estudos estruturais do receptor de hormônio tireoidiano, do receptor de mineralocorticóide e do receptor ativado por proliferadores peroxissomais.** 2009. Tese (Doutorado) – Instituto de Física de São Carlos, São Carlos, 2009.

NENOV, Miroslav N. et al. Cognitive Enhancing Treatment with a PPAR $\gamma$  Agonist Normalizes Dentate Granule Cell Presynaptic Function in Tg2576 APP Mice. **The Journal of Neuroscience**, vol. 3, n. 34. Texas, jan. 2014.

PADMANABHAN, Monika & ARUMUGAM, Geetha. Effect of Persea americana (avocado) fruit extract on the level of expression of adiponectin and PPAR- $\gamma$  in rats subjected to experimental hyperlipidemia and obesity. **De Gruyter**, vol. 2014, n. ID 101515. India, 2014.

PARK, Min Hi et al. Potent Anti-Diabetic Effects of MHY908, a Newly Synthesized PPAR $\alpha/\gamma$  Dual Agonist in db/db Mice. **Plos One**, vol. 8, n. 11. India, nov. 2013.

PATEL, Jessal J.; BUTTERS, Oliver R. & ARNETT, Timothy R. PPAR agonists stimulate adipogenesis at the expense of osteoblast differentiation while inhibiting osteoclast formation and activity. **Cell biochemistry and function**, vol. 2014. Londres, jan. 2014.

PESSANHA, Rutnéia de Paula. **Mecanismo de Ação do Receptor do Hormônio Tireoideano Beta 1: Caracterização Molecular e Funcional da Região de Drobadiça e Influência do Receptor do Ácido 9-*cis* Retinóico.** 2007. Tese (Doutorado) – Universidade de Brasília, Brasília, 2007.

PIRAT, Céline et al. Targeting Peroxisome Proliferator-Activated Receptors (PPARs): Development of Modulators. **Journal of Medicinal Chemistry**. França, 2012.

PRAMOJANEE, Sakarat T. et al. Possible roles of insulin signaling in osteoblasts. **Endocrine Research**, Tailândia, mar. 2014.

RODRIGUES, Francisco Helder A. et al. Antioxidant Activity of Cashew Nut Shell Liquid (CNSL) Derivatives on the Thermal Oxidation of Synthetic cis-1,4-Polyisoprene. **Journal Of The Brazilian Chemical Society**, vol. 17, n. 2. Fortaleza, 2006.

SAHEBKAR, Amirhossein; CHEW, Gerard T; WATTS, Gerald F. New peroxisome proliferatoractivated receptor agonists: potential treatments for atherogenic

dyslipidemia and non-alcoholic fatty liver disease. **Informa Healthcare: Expert Opinion on Pharmacotherapy**, vol. 4, n. 15. Austrália, 2014.

SANTO, Michelle Brandão do Espírito et al. Adesão dos portadores de diabetes mellitus ao tratamento farmacológico e não farmacológico na atenção primária à saúde. **Enfermagem Revista**, vol. 15, n. 1. Minas Gerais, abr. 2012.

SILVA, Carla; LOPES, Zélia & SOARES, J. A. Freire. Terapêutica não insulínica da Diabetes Mellitus: mais valias ... **Revista da Sociedade Portuguesa de Medicina Interna**, vol. 17, n. 2. Padre Américo, jun. 2010.

SPEECKAERT, Marijn M. et al. Peroxisome proliferator-activated receptor agonists in a battle against the aging kidney. **Elsevier: Ageing Research Reviews**, vol. 2014, n. 14. Belgium, fev. 2014.

TAVARES, Vladimir; HIRATA, Mario Hiroyuki & HIRATA, Rosario D. Crespo. Receptor Ativado por Proliferadores de Peroxissoma Gama (PPAR $\gamma$ ): Estudo Molecular na Homeostase da Glicose, Metabolismo de Lipídeos e Abordagem Terapêutica. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, vol. 51, n. 4. São Paulo, fev. 2007.

TYAGI, Sandeep et al. The peroxisome proliferator-activated receptor: A family of nuclear receptors role in various diseases. **Journal of Advanced Pharmaceutical Technology & Research**, vol. 2, n. 4. India, dez. 2011.

USUI, Shinya et al. Identification of novel PPAR $\alpha$  ligands by the structural modification of a PPAR $\gamma$  ligand. **Science Direct: Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, vol. 16, n. 12. Japão, abr. 2006.

VASAPOLLO, Giuseppe; MELE, Giuseppe & SOLE, Roberta Del. Cardanol- Based Materials as Natural Precursors for Olefin Metathesis. **Journal Molecules**, vol. 16, n. 8. Itália, ago. 2011.

XU, Shujun et al. Rosiglitazone Prevents Amyloid- $\beta$  Oligomer-Induced Impairment of Synapse Formation and Plasticity via Increasing Dendrite and Spine Mitochondrial Number. **Journal of Alzheimer's disease**, vol. 2014, n. 39. China, 2014.

WAGNER, Eric R. et al. Therapeutic Implications of PPAR $\gamma$  in Human Osteosarcoma. **Hindawi Publishing Corporation: PPAR Research**, vol. 2010, nov. 2009.

WAKAYAMA, Sayori et al. Lipopolysaccharide impairs insulin sensitivity via activation of phosphoinositide 3-kinase in adipocytes. **Informa Healthcare: Immunopharmacology and Immunotoxicology**. Japão, fev. 2014.

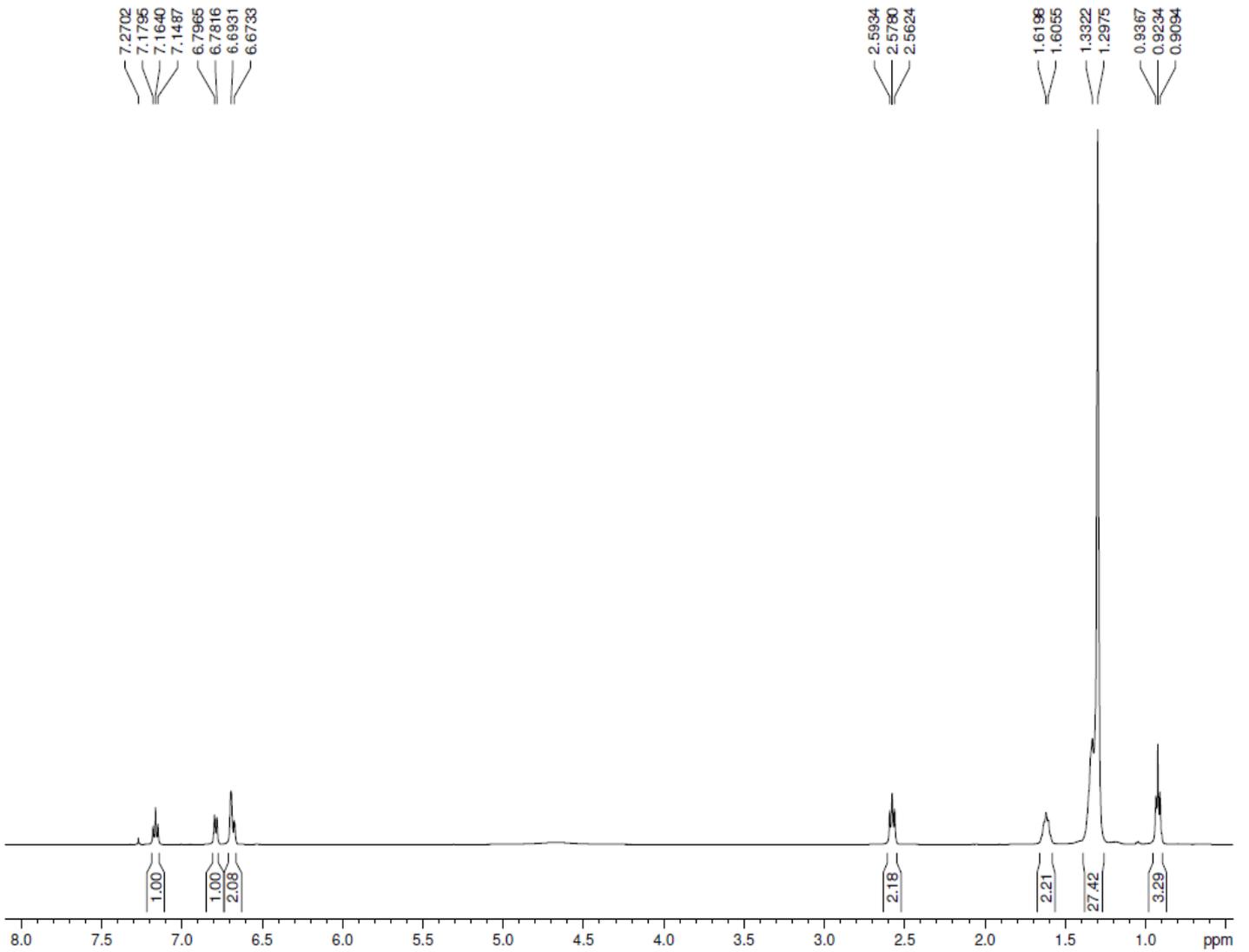
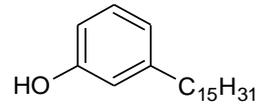
WERNER C. M. et al. The dual PPAR- $\alpha/\gamma$  agonist aleglitazar increases number and function of endothelial progenitor cells: implications for vascular function and atherogenesis. **British Journal of Pharmacology**, doi: 10.1111/bph.12608. Alemanha, jan. 2014.

ZAWARE, Pandurang et al. Modulation of PPAR subtype selectivity. Part 2: Transforming PPAR $\alpha/c$  dual agonist into a selective PPAR agonist through bioisosteric modification. **Science Direct: Journal Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, vol. 21, n. 2. India, jan. 2011.

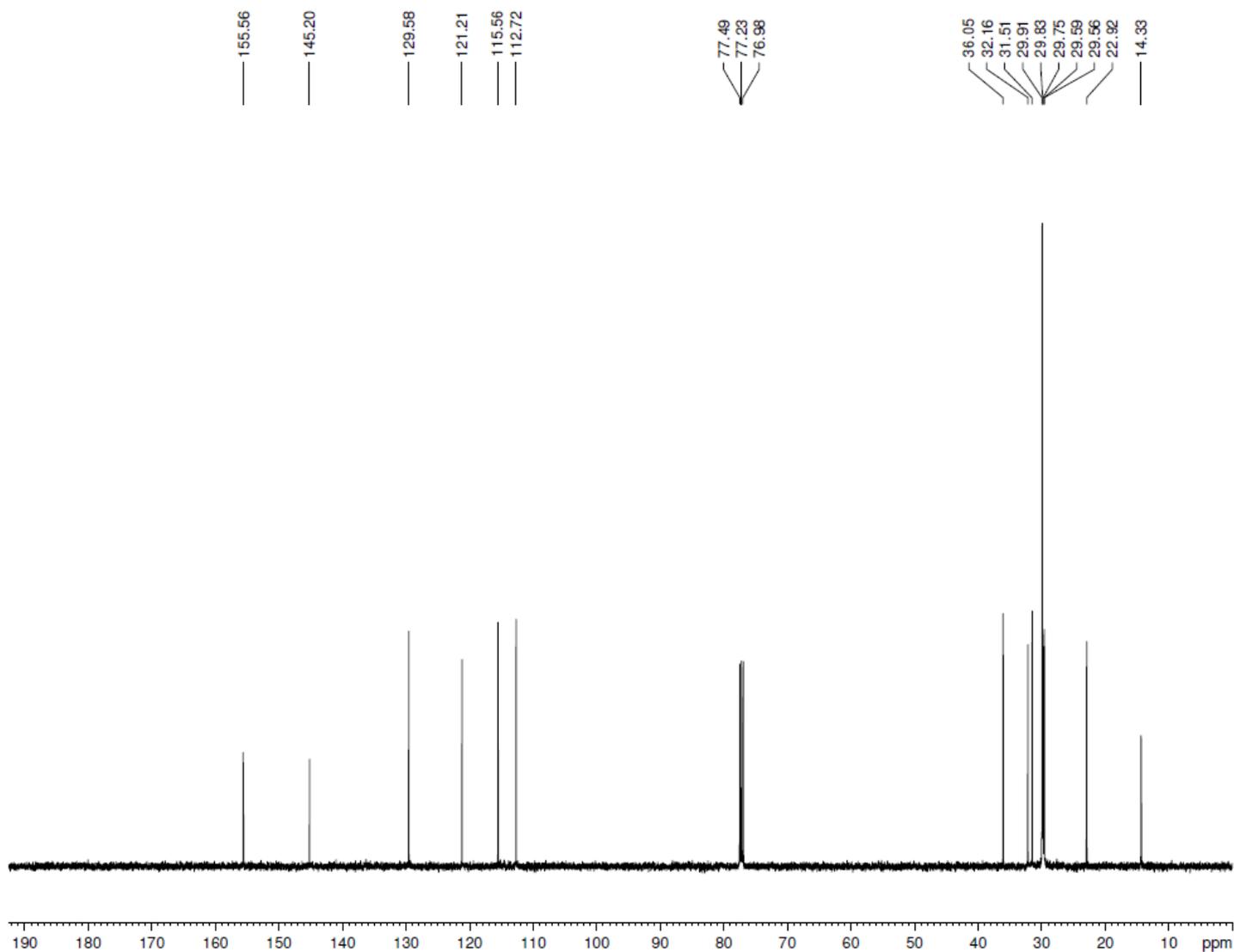
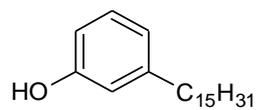
ZHONG, Xing et al. Bezafibrate enhances proliferation and differentiation of osteoblastic MC3T3-E1 cells via AMPK and eNOS activation. **Nature: Acta Pharmacologica Sinica**, China, v. 32, abr. 2011.

# **ANEXOS**

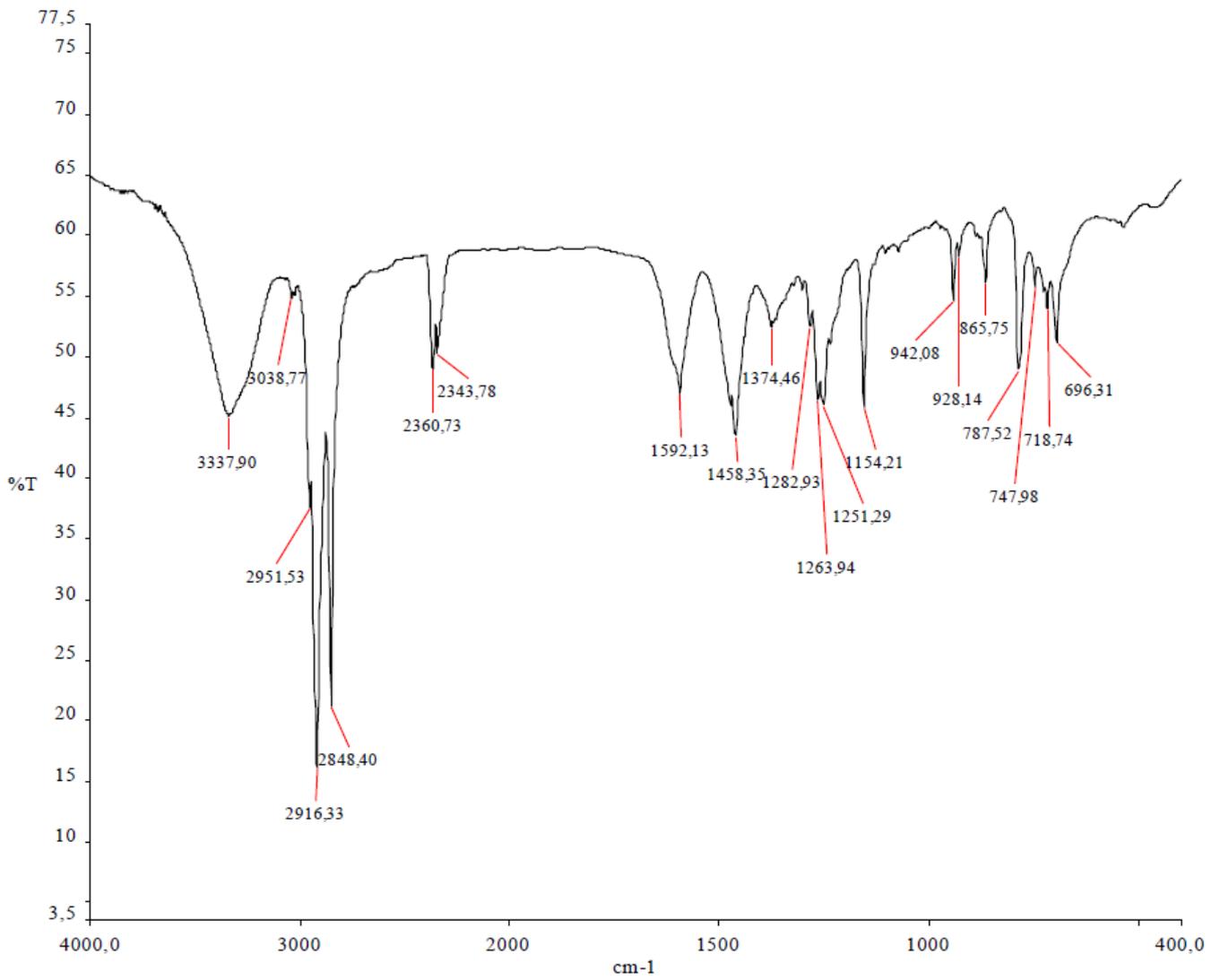
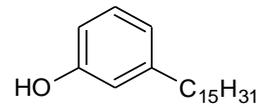
**ANEXO 1** – Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  
3-Pentadecilfenol (LDT10, **18**)



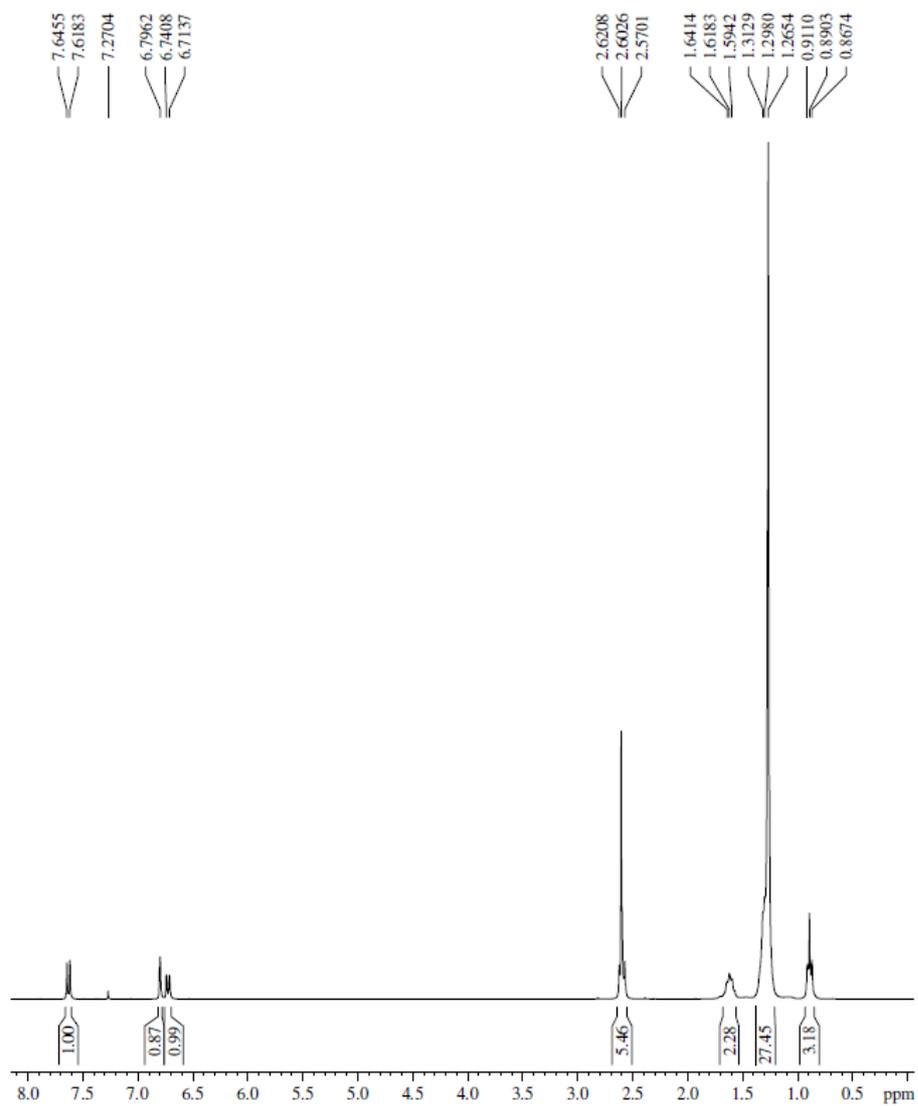
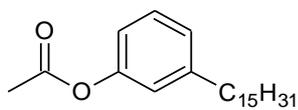
**ANEXO 2 – Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  
3-Pentadecilfenol (LDT10, **18**)**



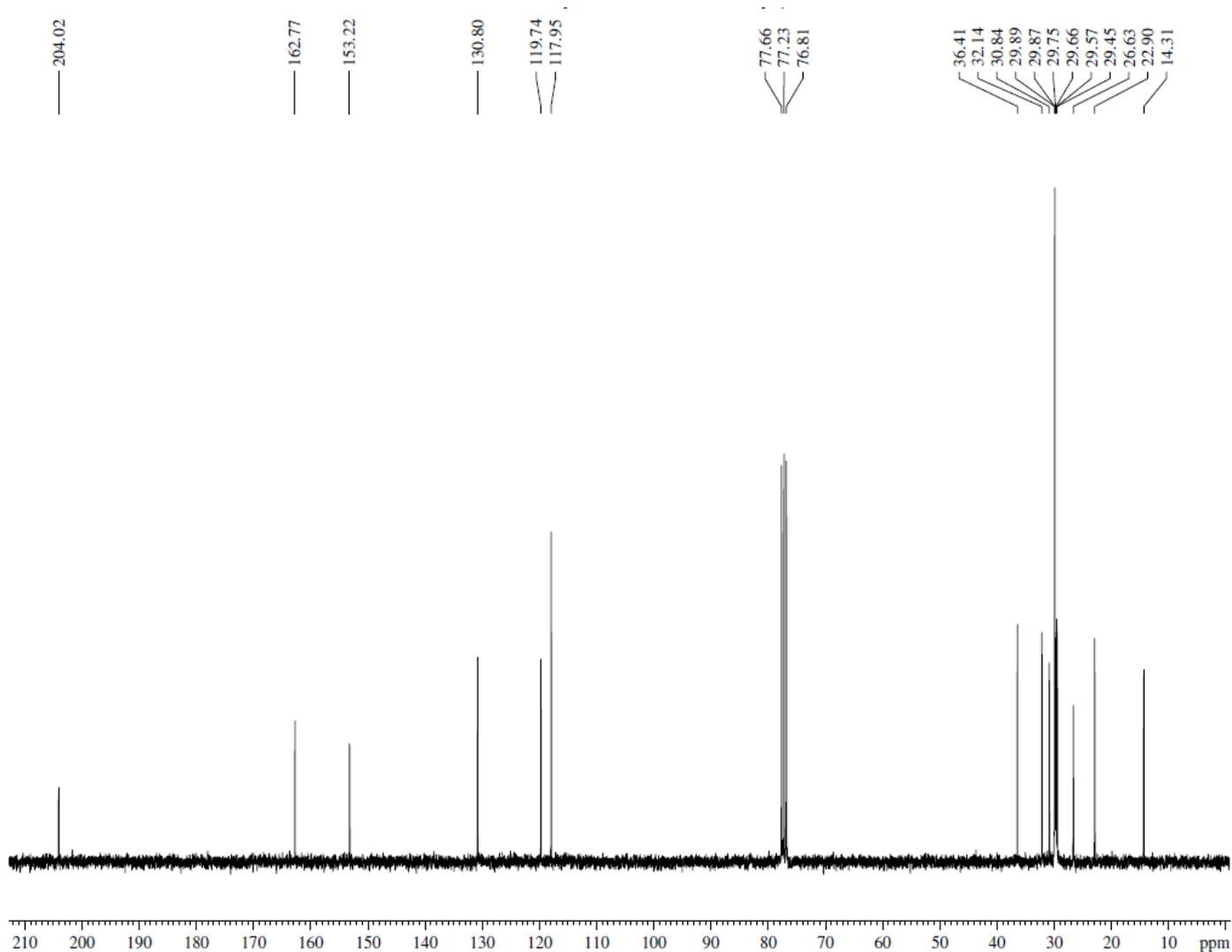
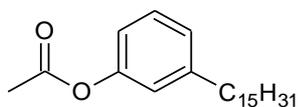
**ANEXO 3 – Espectro no infravermelho ( $\text{cm}^{-1}$ , KBr):**  
**3-Pentadecilfenol (LDT10, 18)**



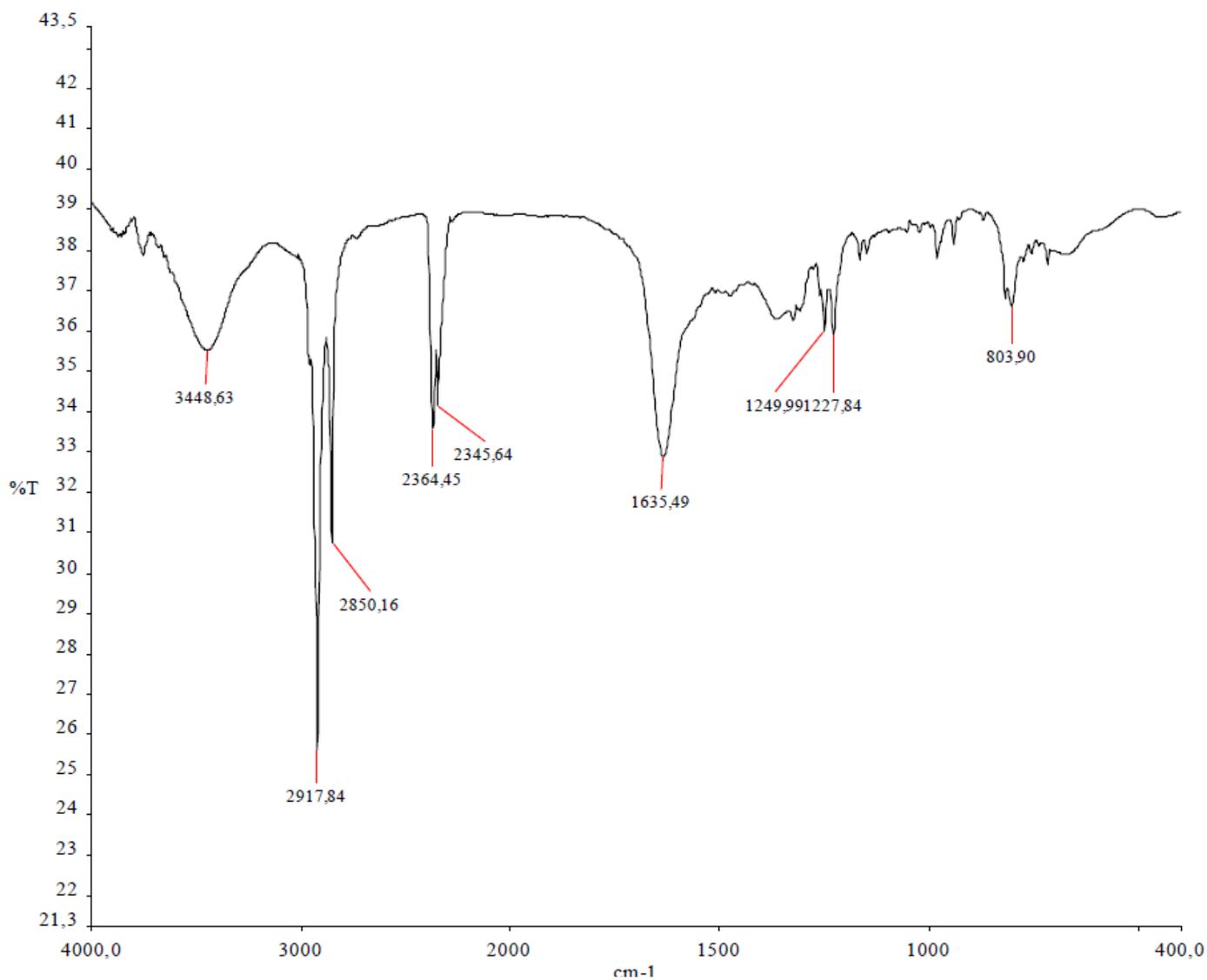
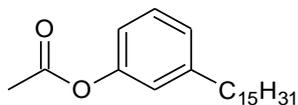
**ANEXO 4** – Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  
Acetato de 3-Pentadecilfenila (LDT12, **19**)



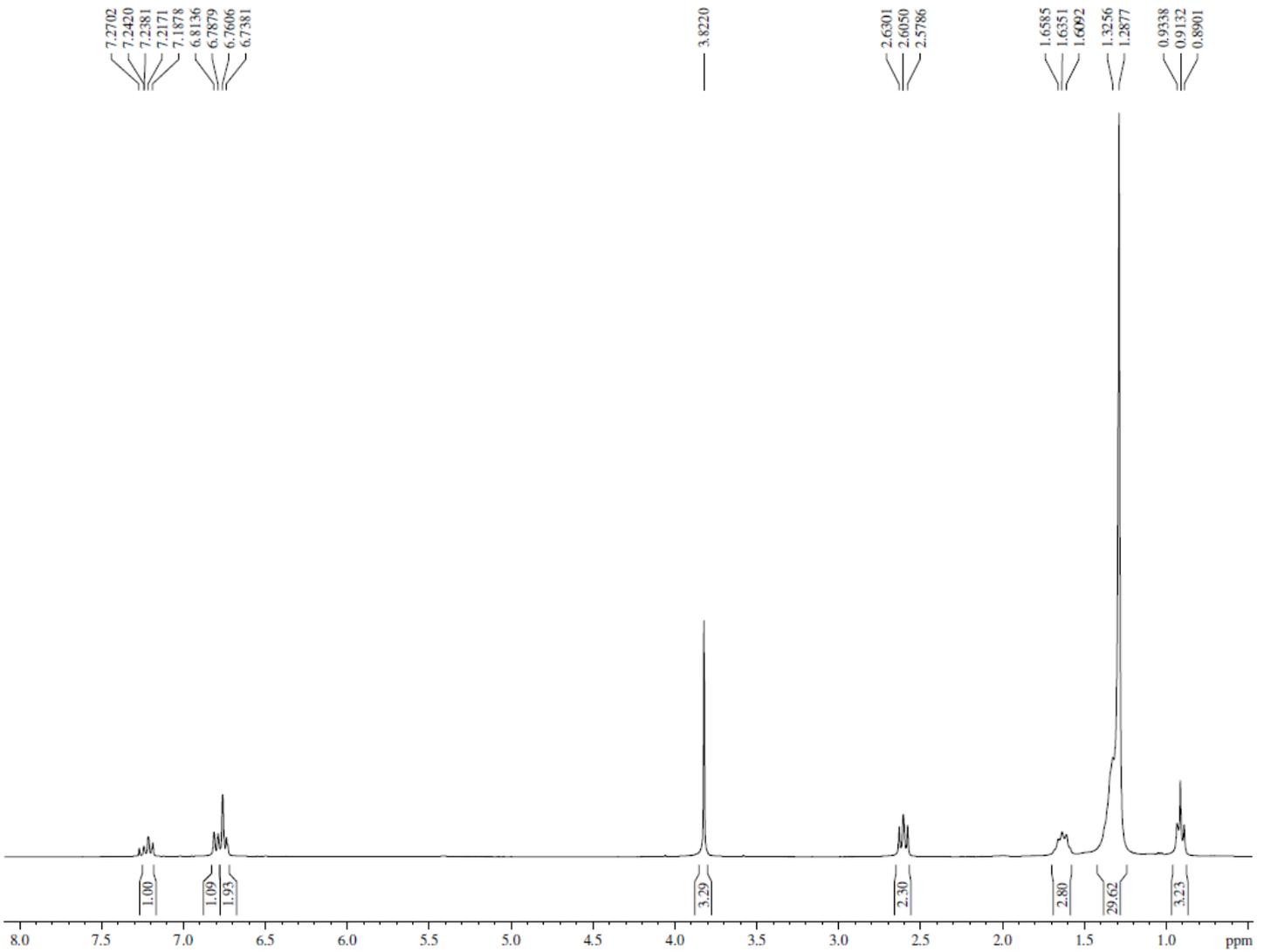
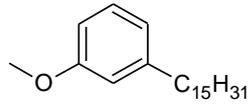
**ANEXO 5 – Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  
Acetato de 3-Pentadecilfenila (LDT12, **19**)**



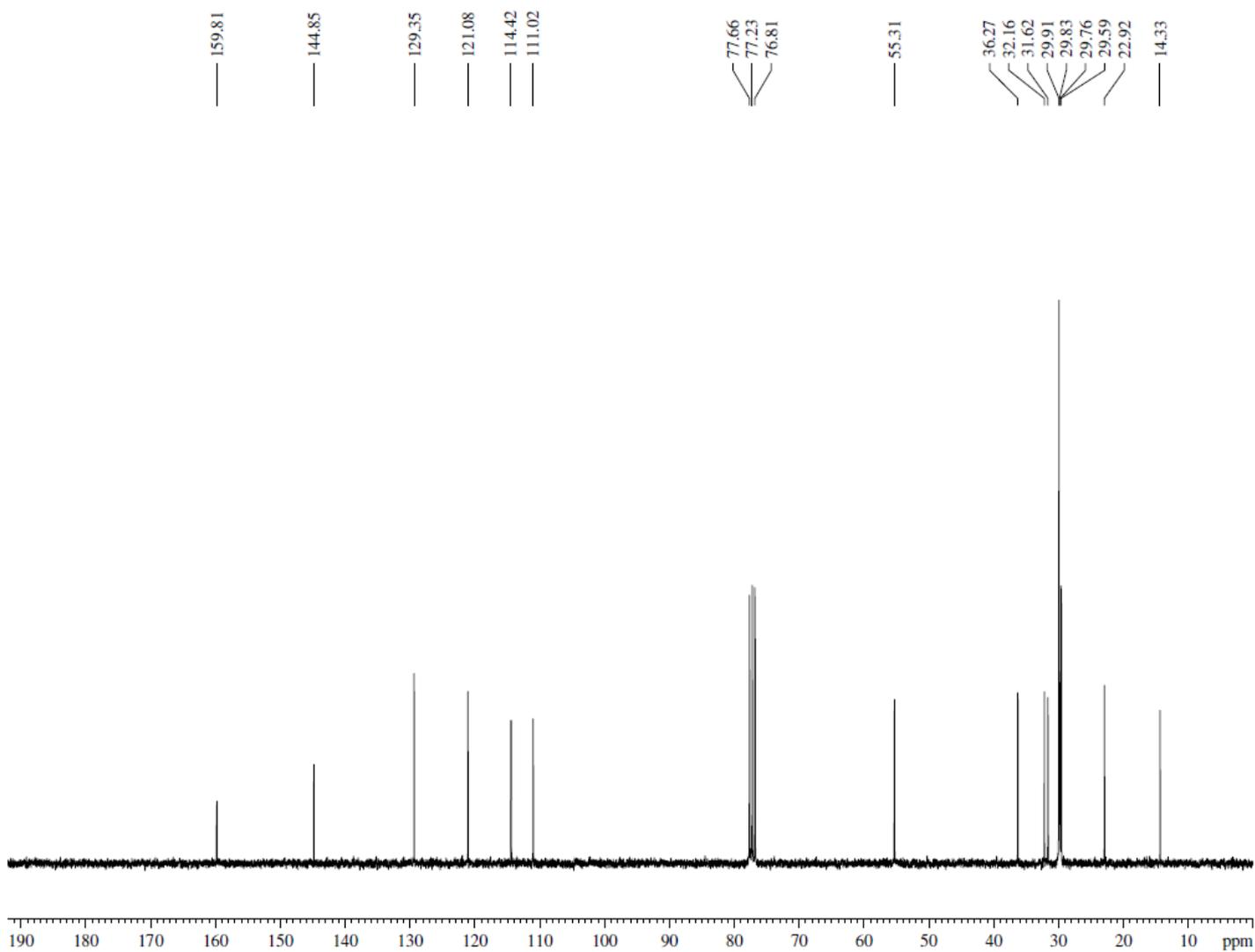
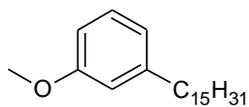
**ANEXO 6 – Espectro no infravermelho (cm<sup>-1</sup>, KBr):  
Acetato de 3-Pentadecilfenila (LDT12, **19**)**



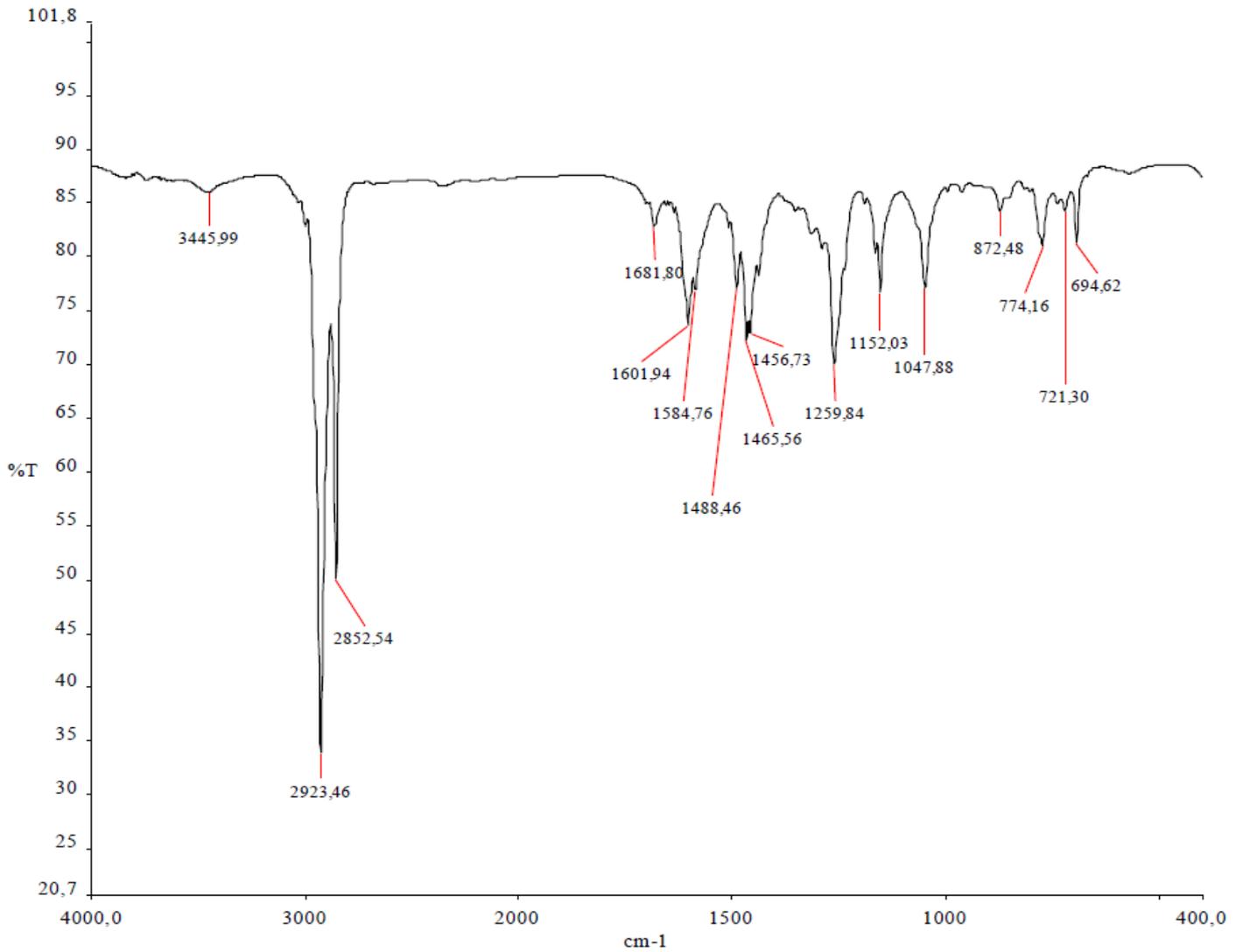
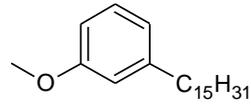
**ANEXO 7 – Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  
1-Metóxi-3-pentadecilbenzeno (LDT27, **20**)**



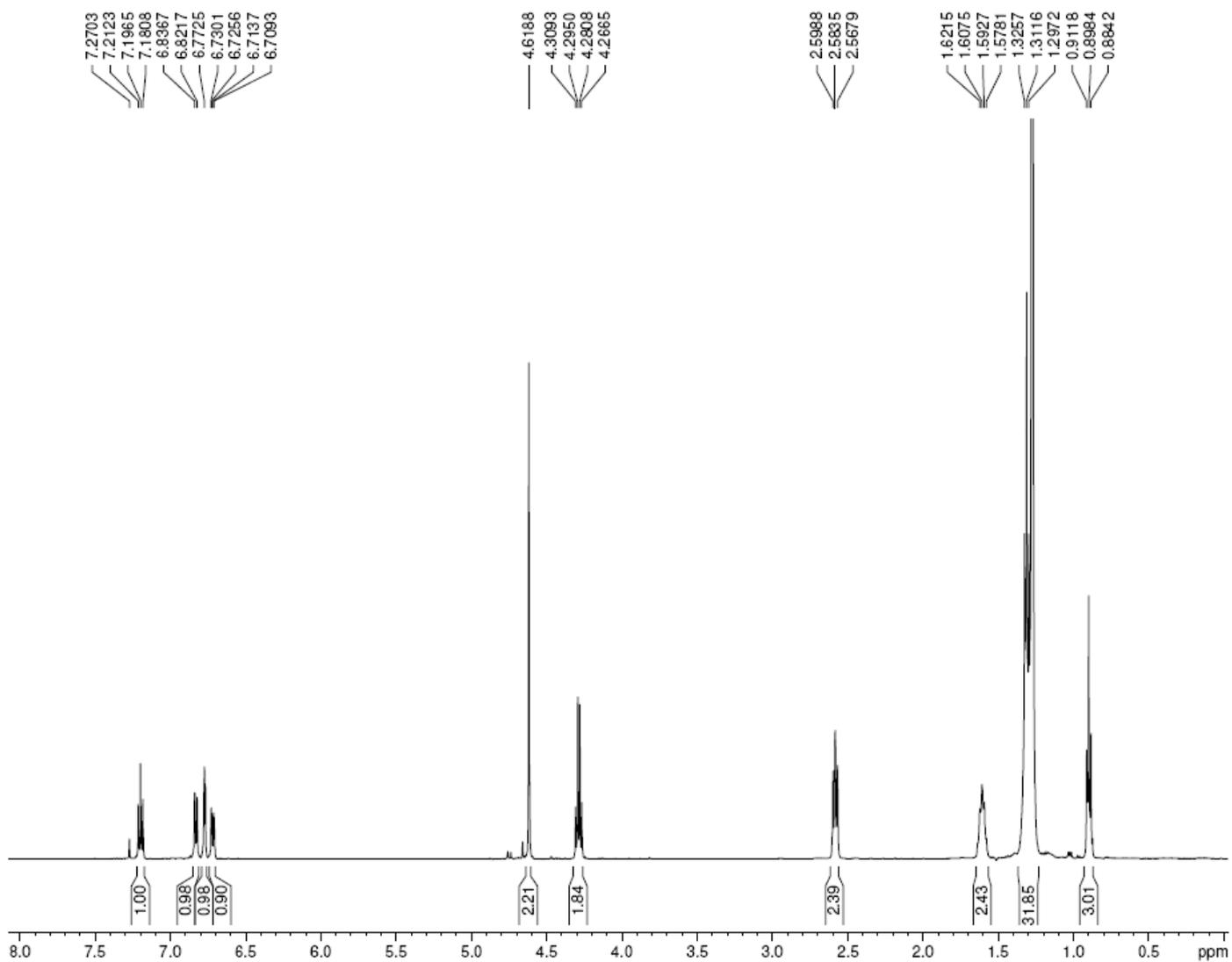
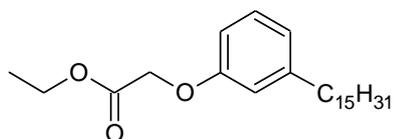
**ANEXO 8 – Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  
1-Metóxi-3-pentadecilbenzeno (LDT27, **20**)**



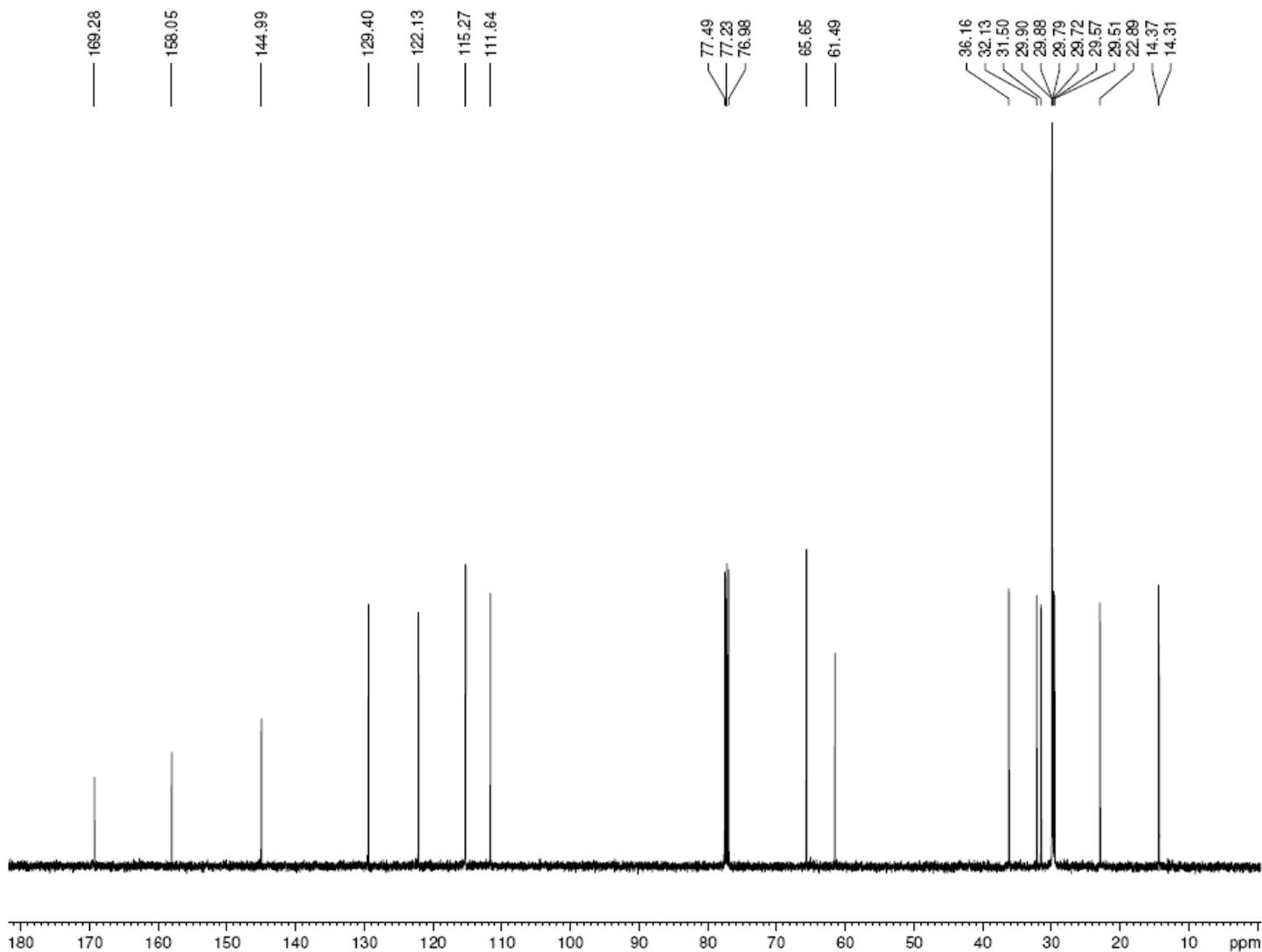
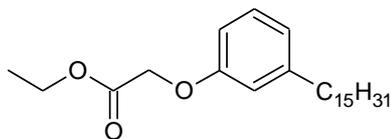
**ANEXO 9 – Espectro no infravermelho ( $\text{cm}^{-1}$ , KBr):**  
**1-Metóxi-3-pentadecilbenzeno (LDT27, 20)**



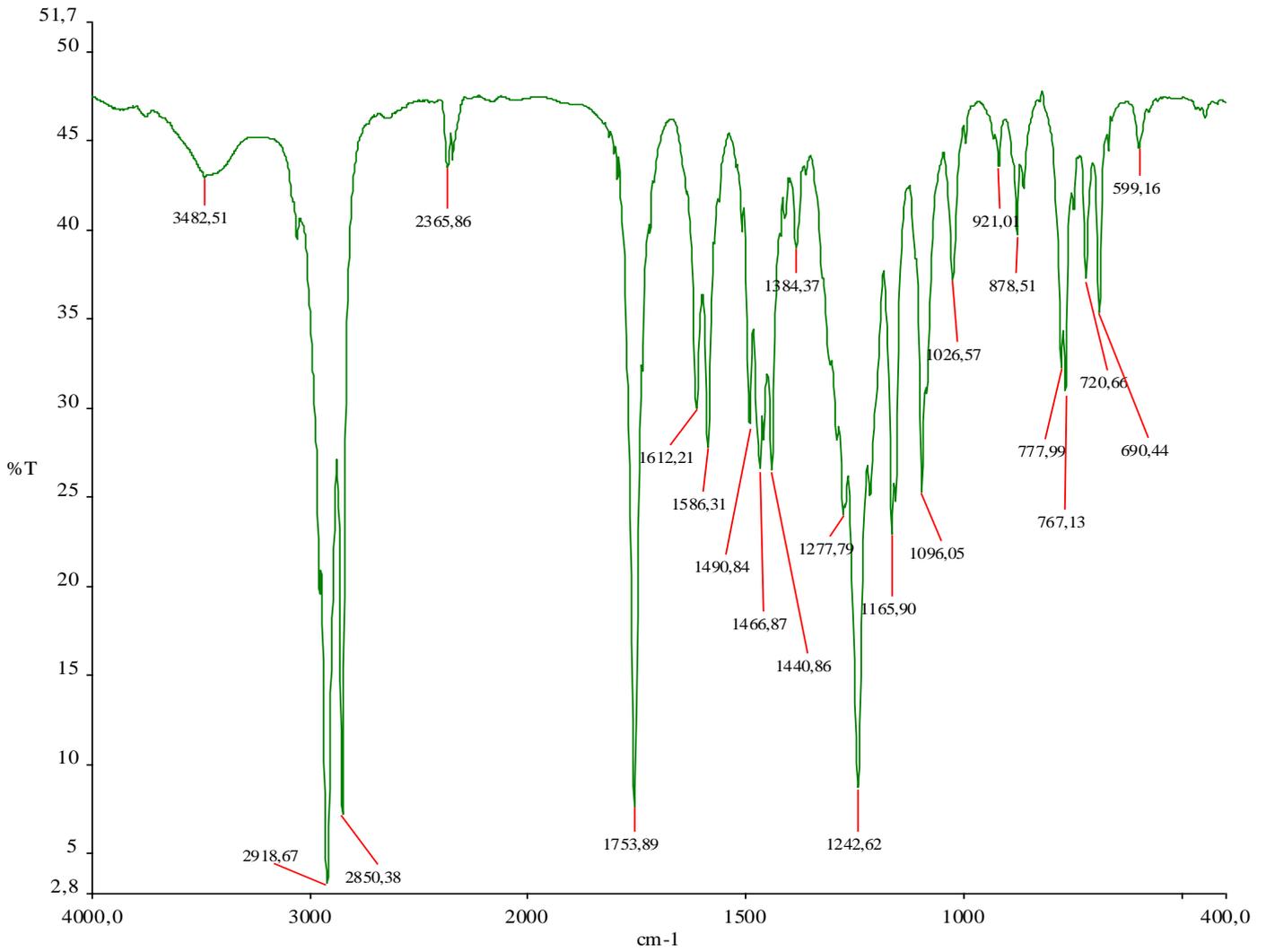
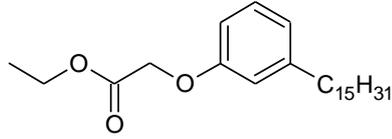
**ANEXO 10** – Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  
2-(3-Pentadecilfenóxi)acetato de etila (LDT15, **24**)



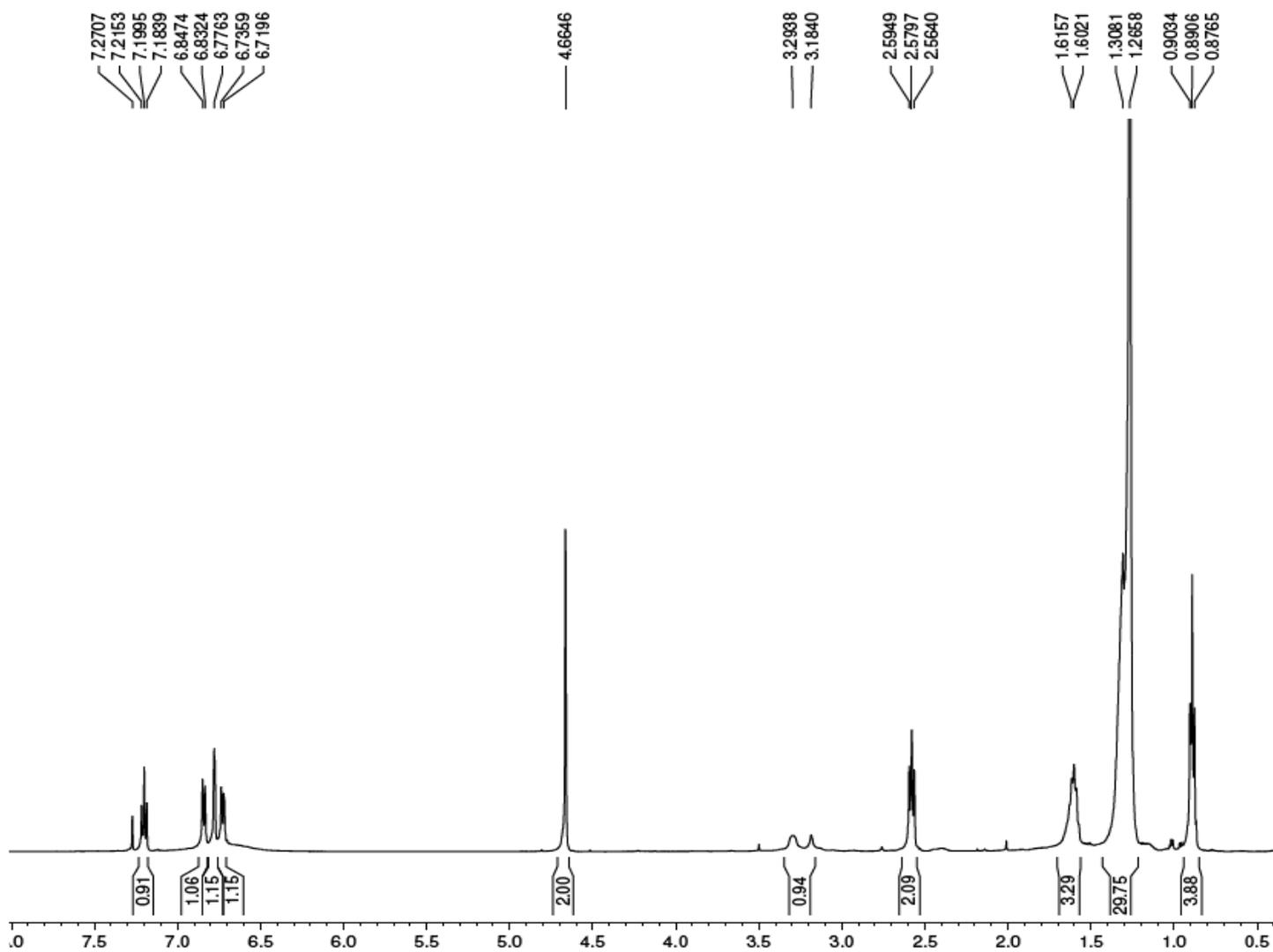
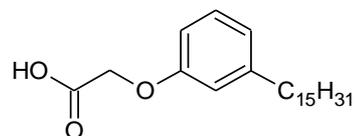
**ANEXO 11** – Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  
2-(3-Pentadecilfenóxi)acetato de etila (LDT15, **24**)



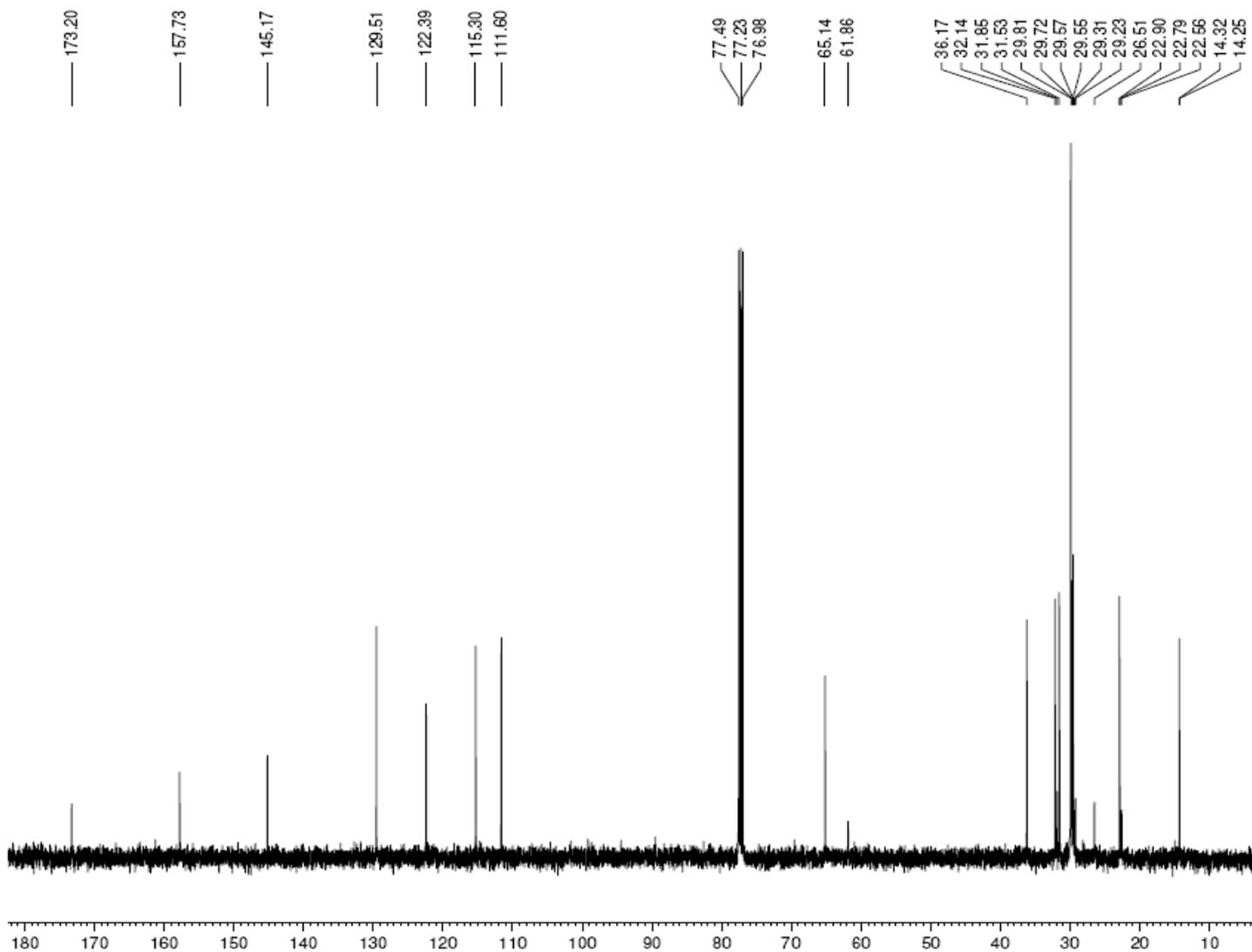
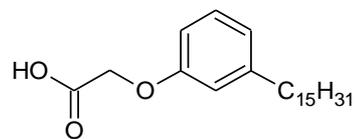
**ANEXO 12 – Espectro no infravermelho (cm<sup>-1</sup>, KBr):  
2-(3-Pentadecilfenóxi)acetato de etila (LDT15, **24**)**



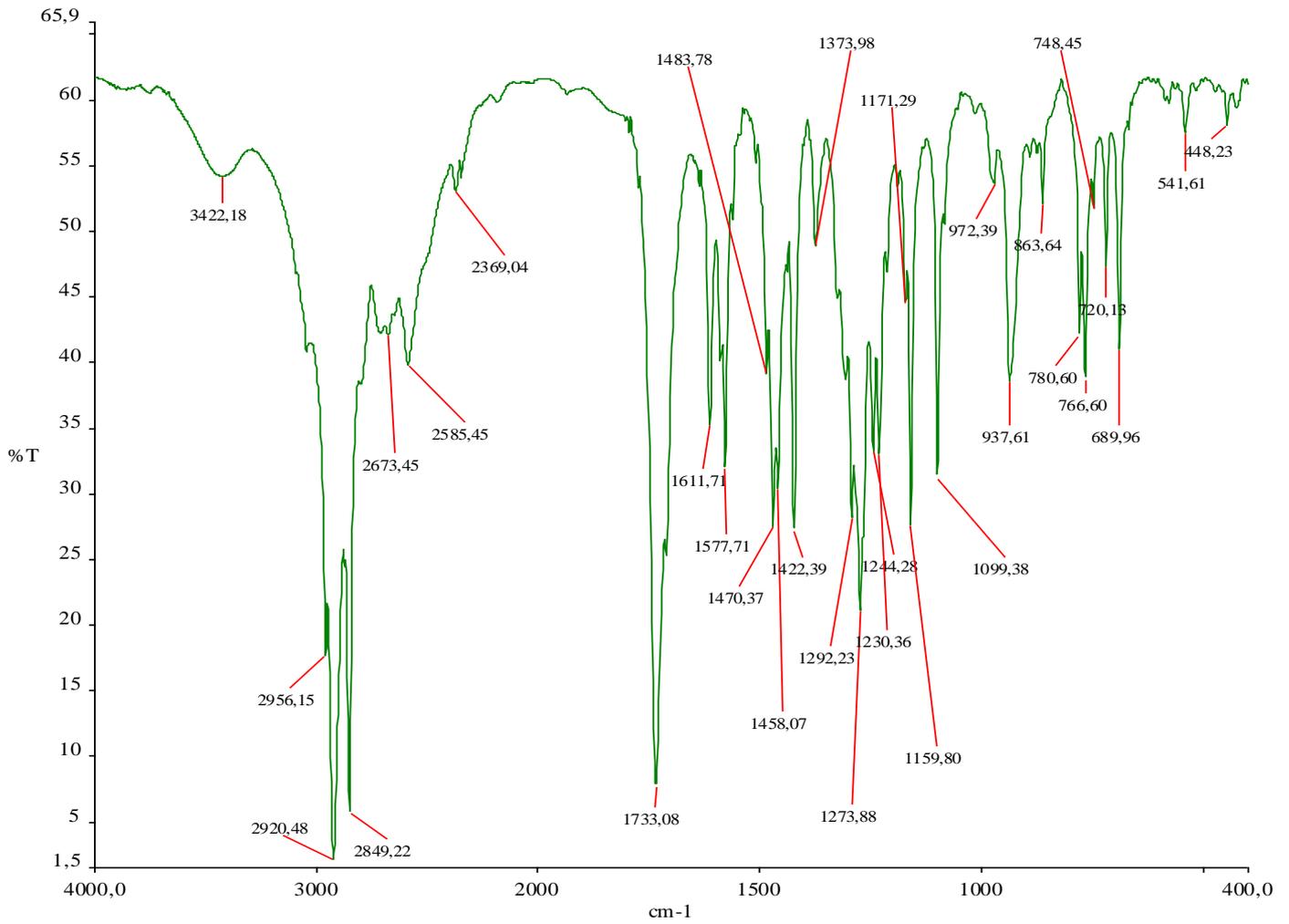
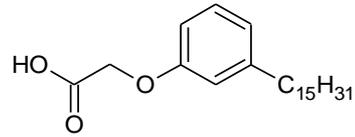
**ANEXO 13** – Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  
Ácido 2-(3-Pentadecilfenóxi)acético (LDT16, **25**)



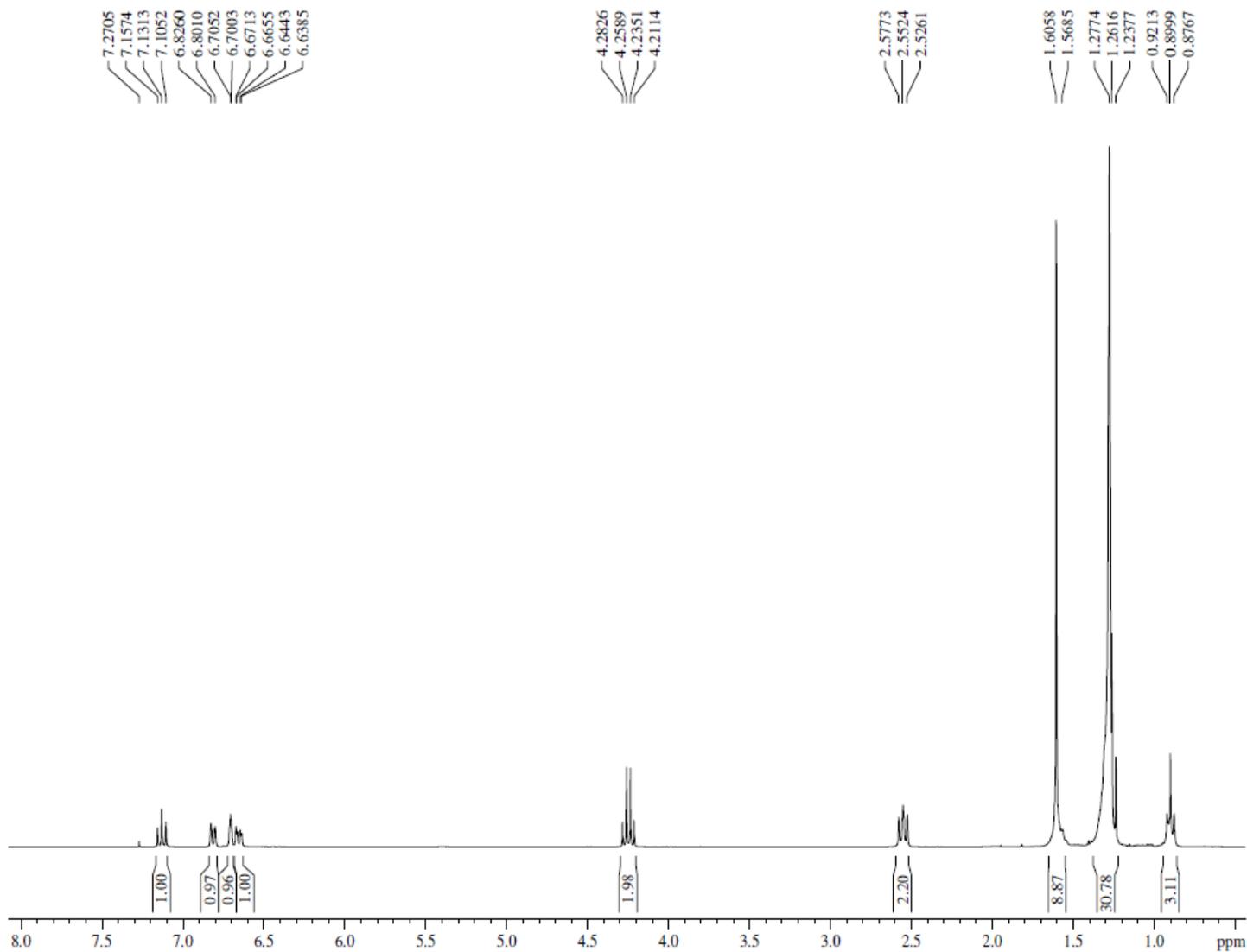
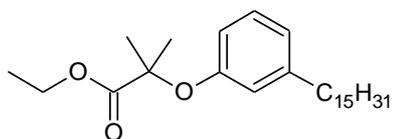
**ANEXO 14** – Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  
Ácido 2-(3-Pentadecilfenóxi)acético (LDT16, **25**)



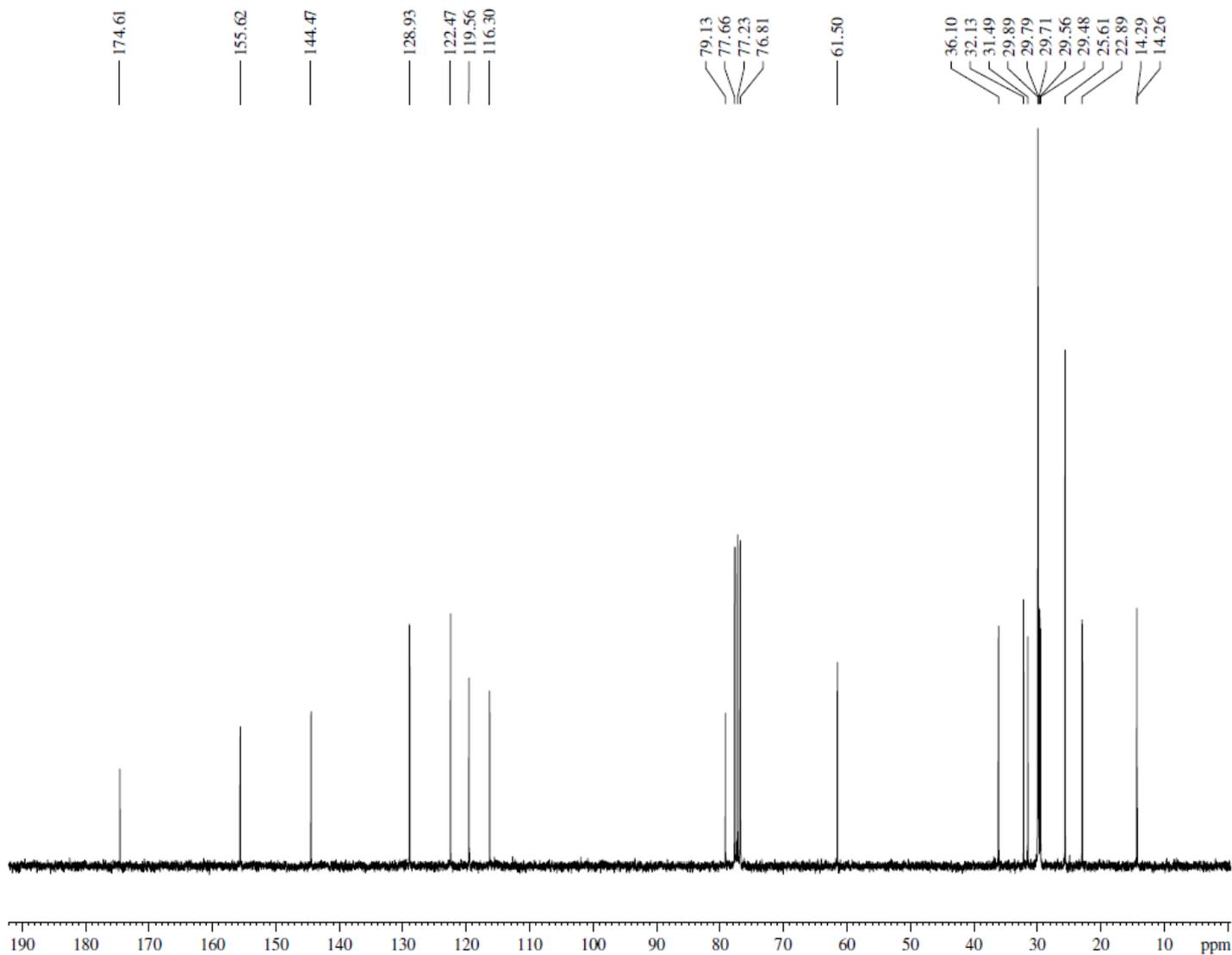
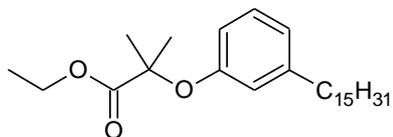
**ANEXO 15 – Espectro no infravermelho (cm<sup>-1</sup>, KBr):  
Ácido 2-(3-Pentadecilfenóxi)acético (LDT16, 25)**



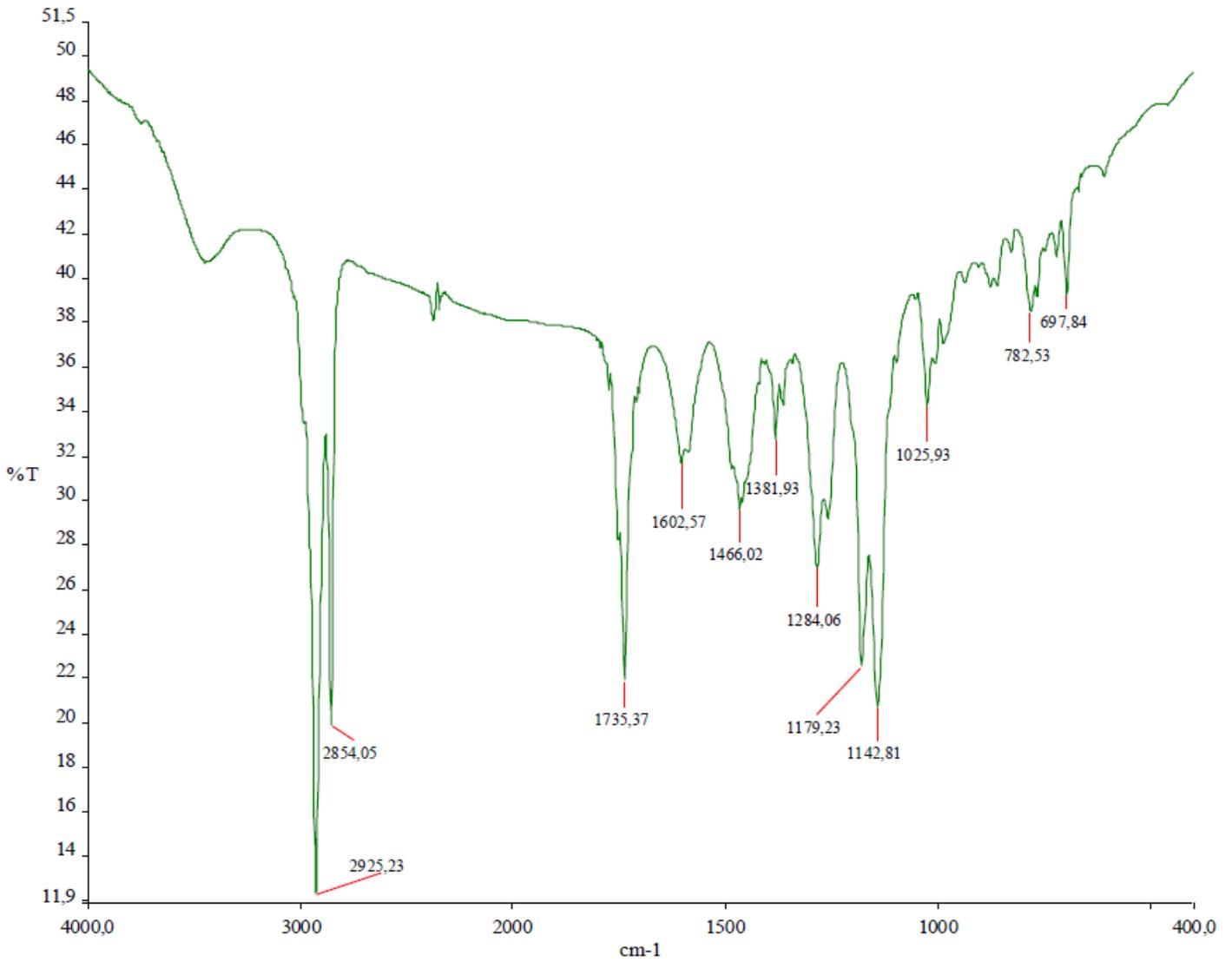
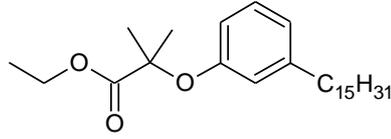
**ANEXO 16** – Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  
2-Metil-2-(3-Pentadecilfenóxi)Propanoato de etila (LDT408, **26**)



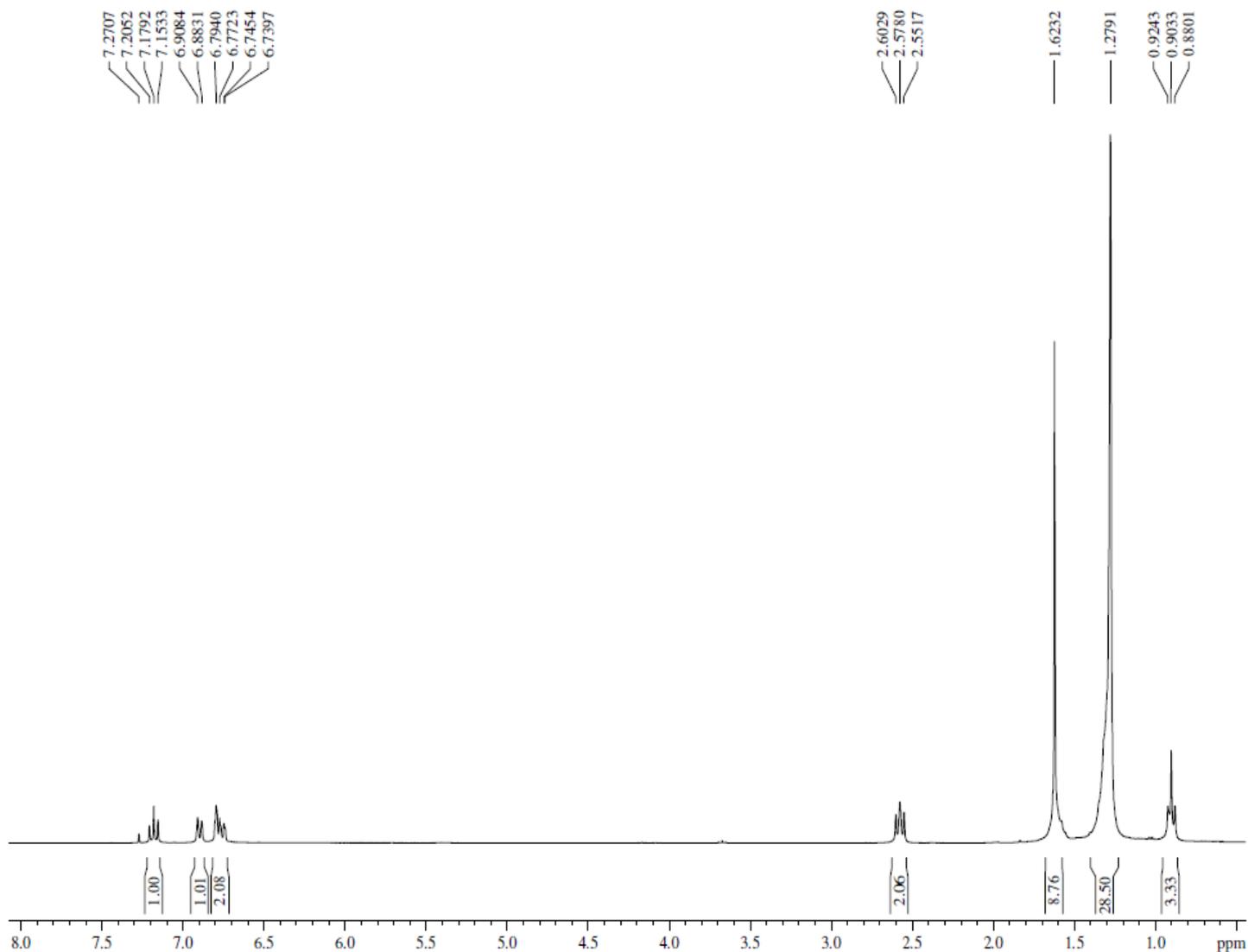
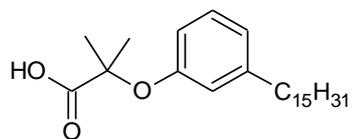
**ANEXO 17 – Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  
2-Metil-2-(3-Pentadecilfenóxi)Propanoato de etila (LDT408, **26**)**



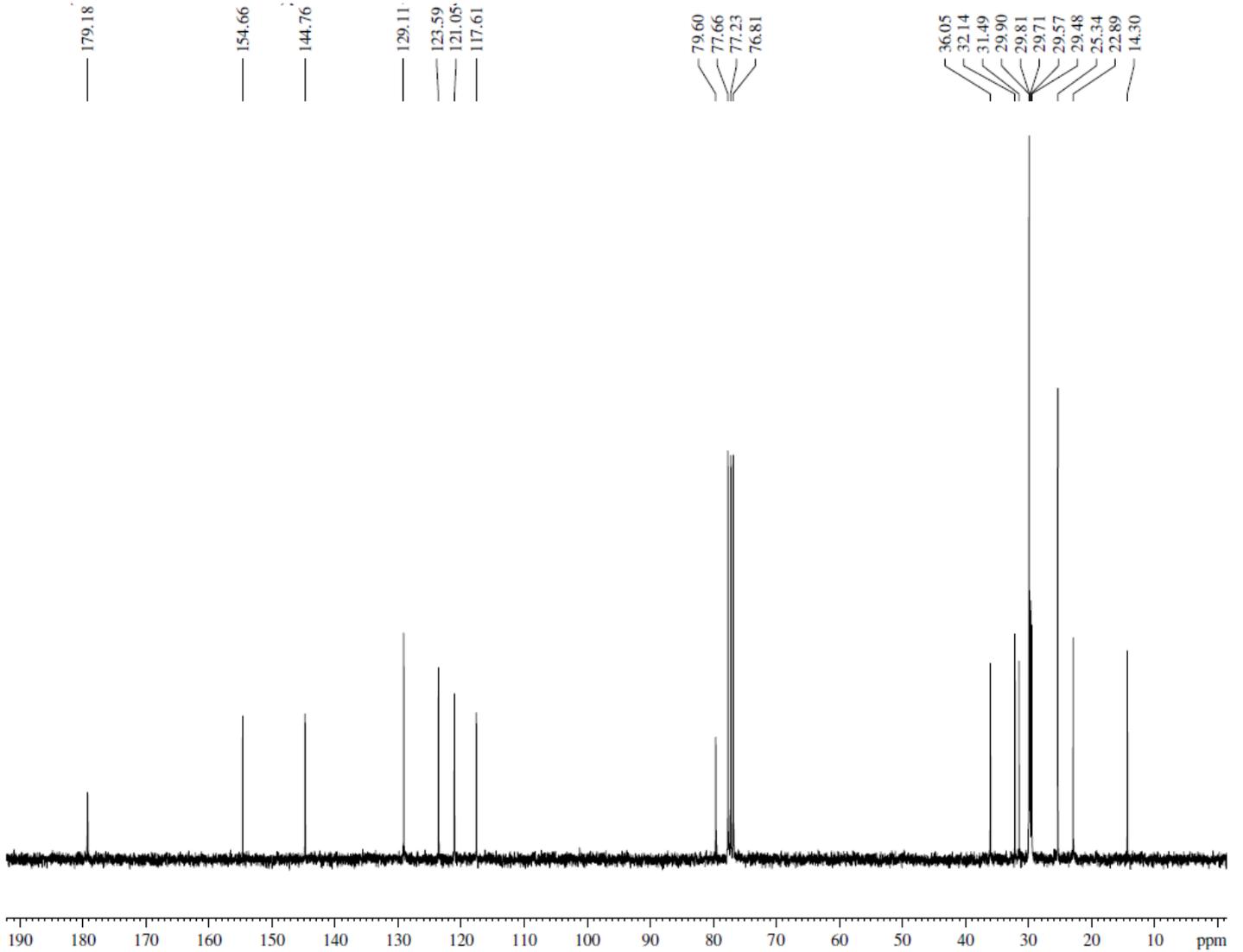
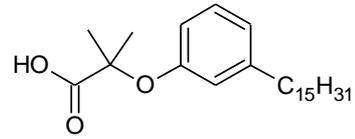
**ANEXO 18** – Espectro no infravermelho ( $\text{cm}^{-1}$ , KBr):  
2-Metil-2-(3-Pentadecilfenóxi)Propanoato de etila (LDT408, **26**)



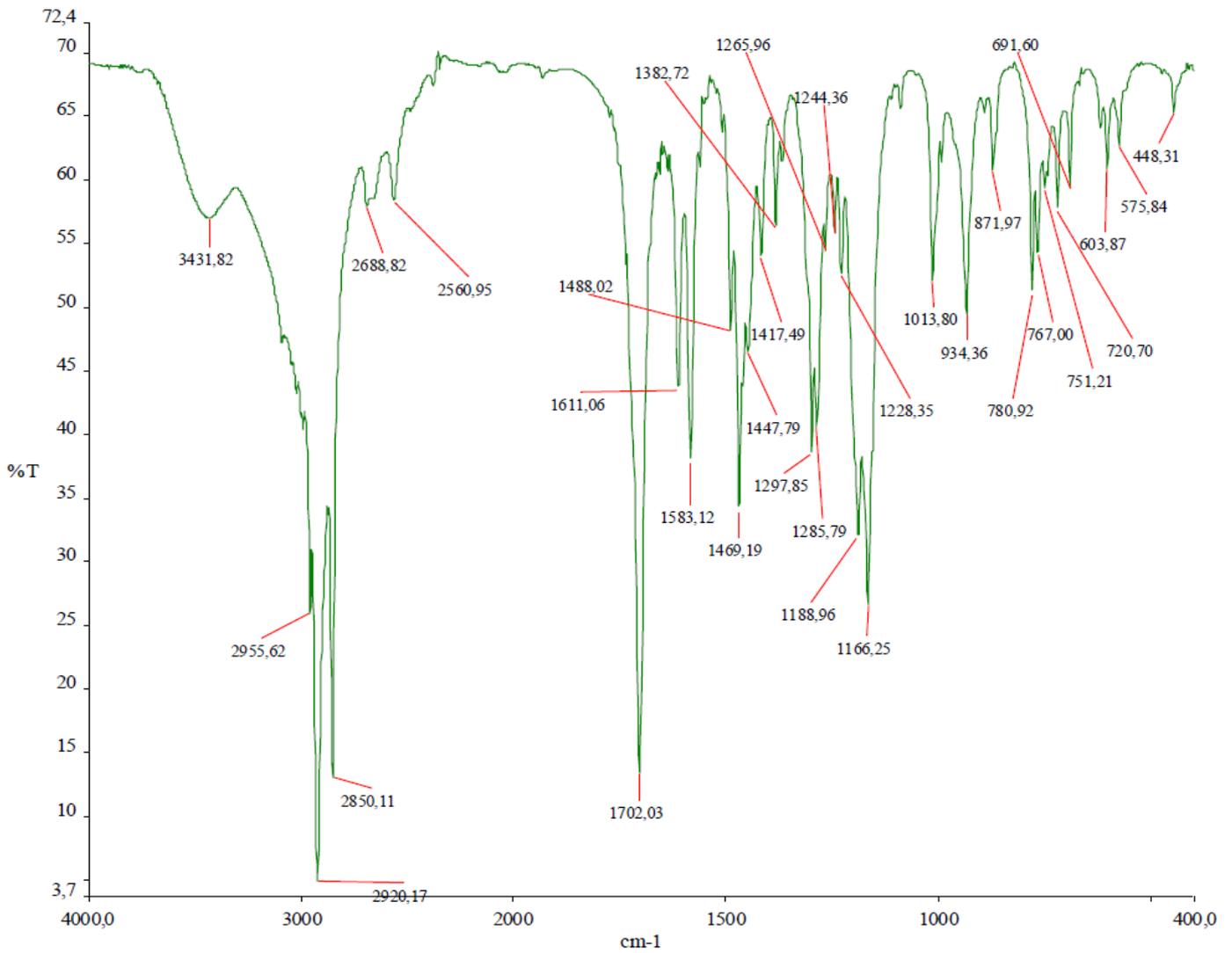
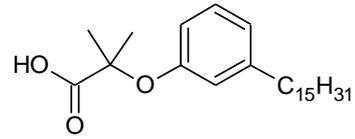
**ANEXO 19** – Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  
Ácido 2-Metil-2-(3-Pentadecilfenóxi)propanóico (**LDT409**, **27**)



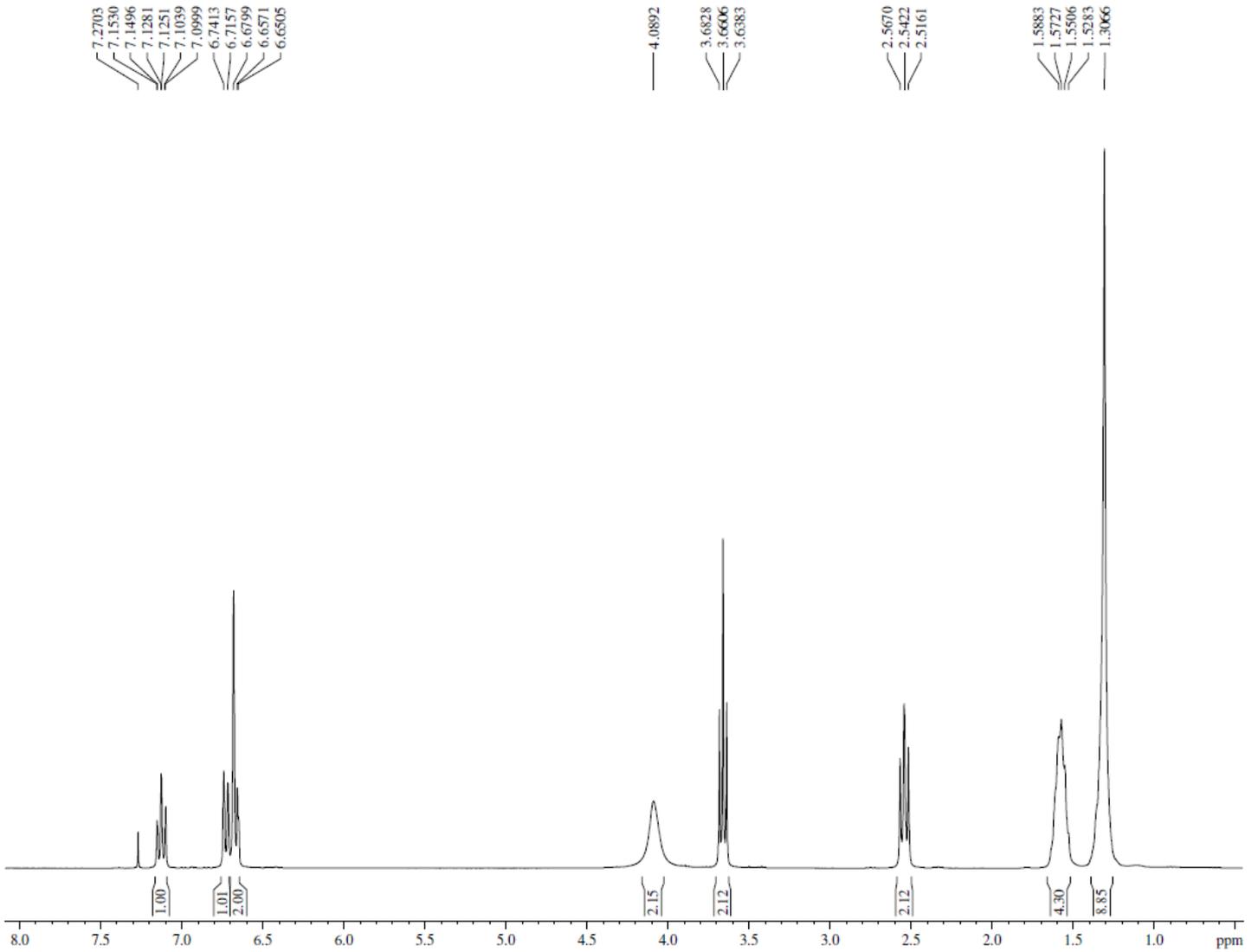
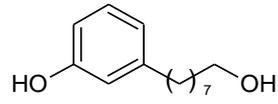
**ANEXO 20** – Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  
Ácido 2-Metil-2-(3-Pentadecilfenóxi)propanóico (**LDT409**, **27**)



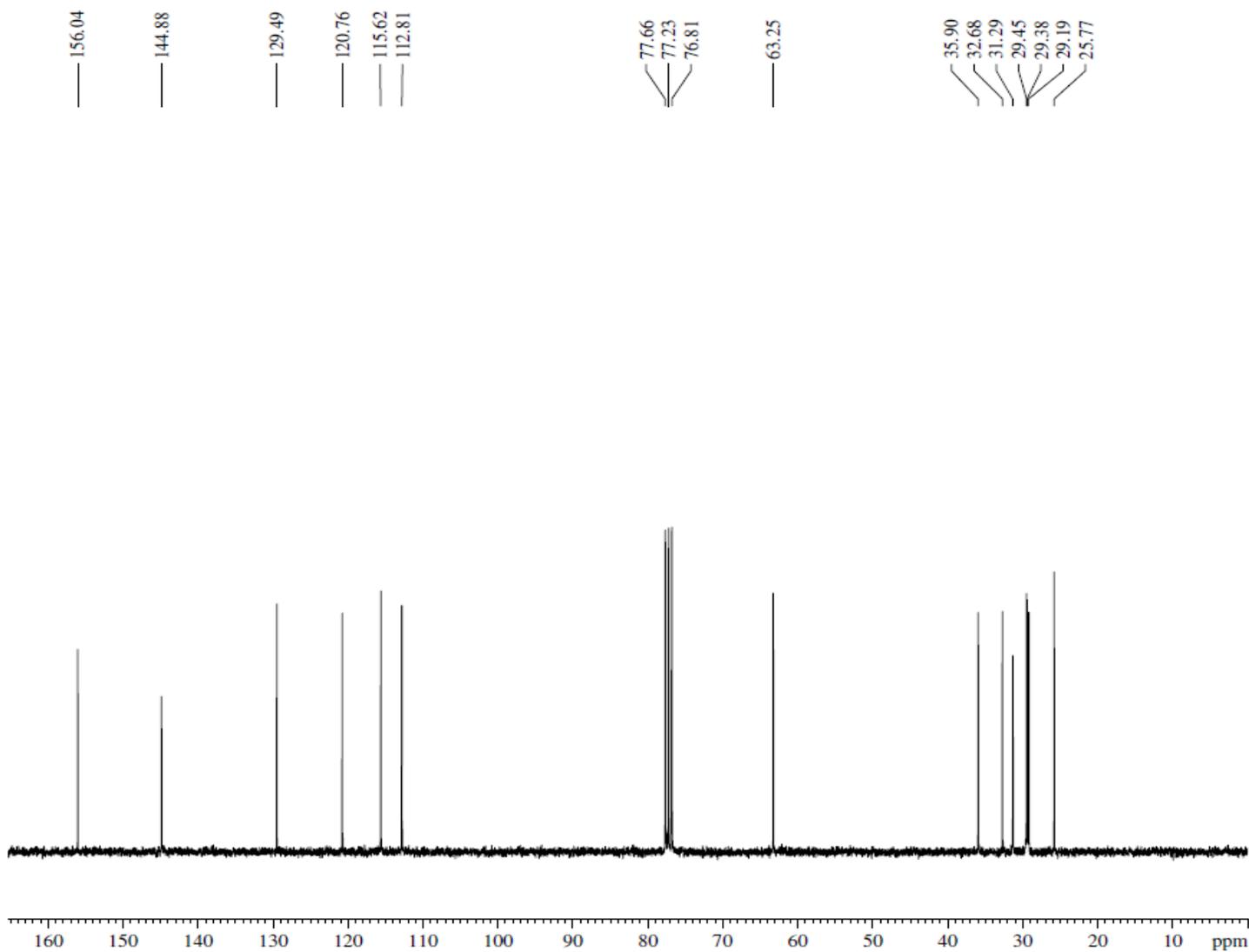
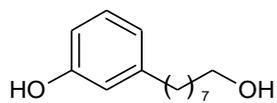
**ANEXO 21** – Espectro no infravermelho ( $\text{cm}^{-1}$ , KBr):  
 Ácido 2-Metil-2-(3-Pentadecilfenóxi)propanóico (LDT409, **27**)



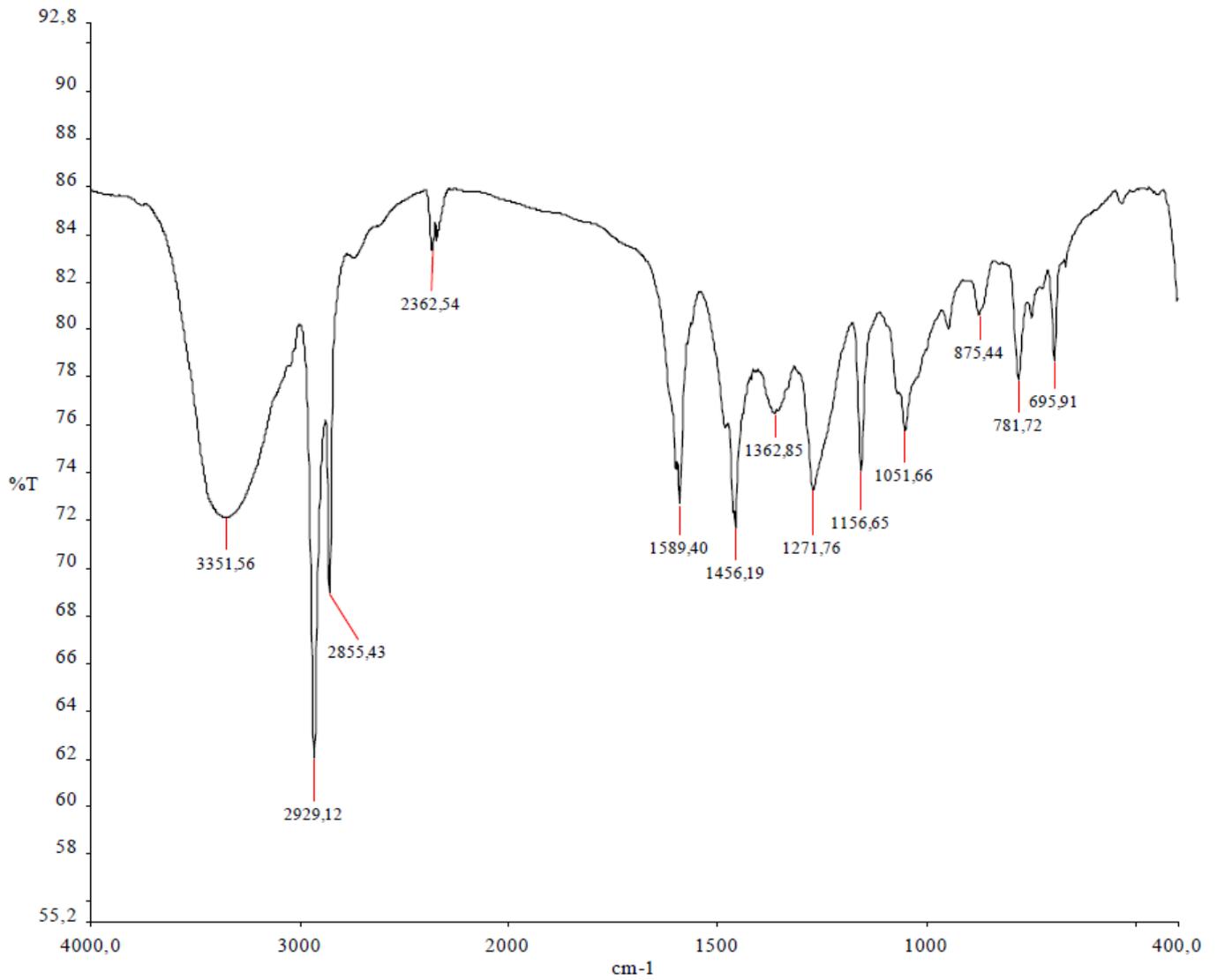
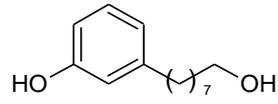
**ANEXO 22** – Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  
3-(8-Hidróxiocetil)fenol (LDT71, **22**)



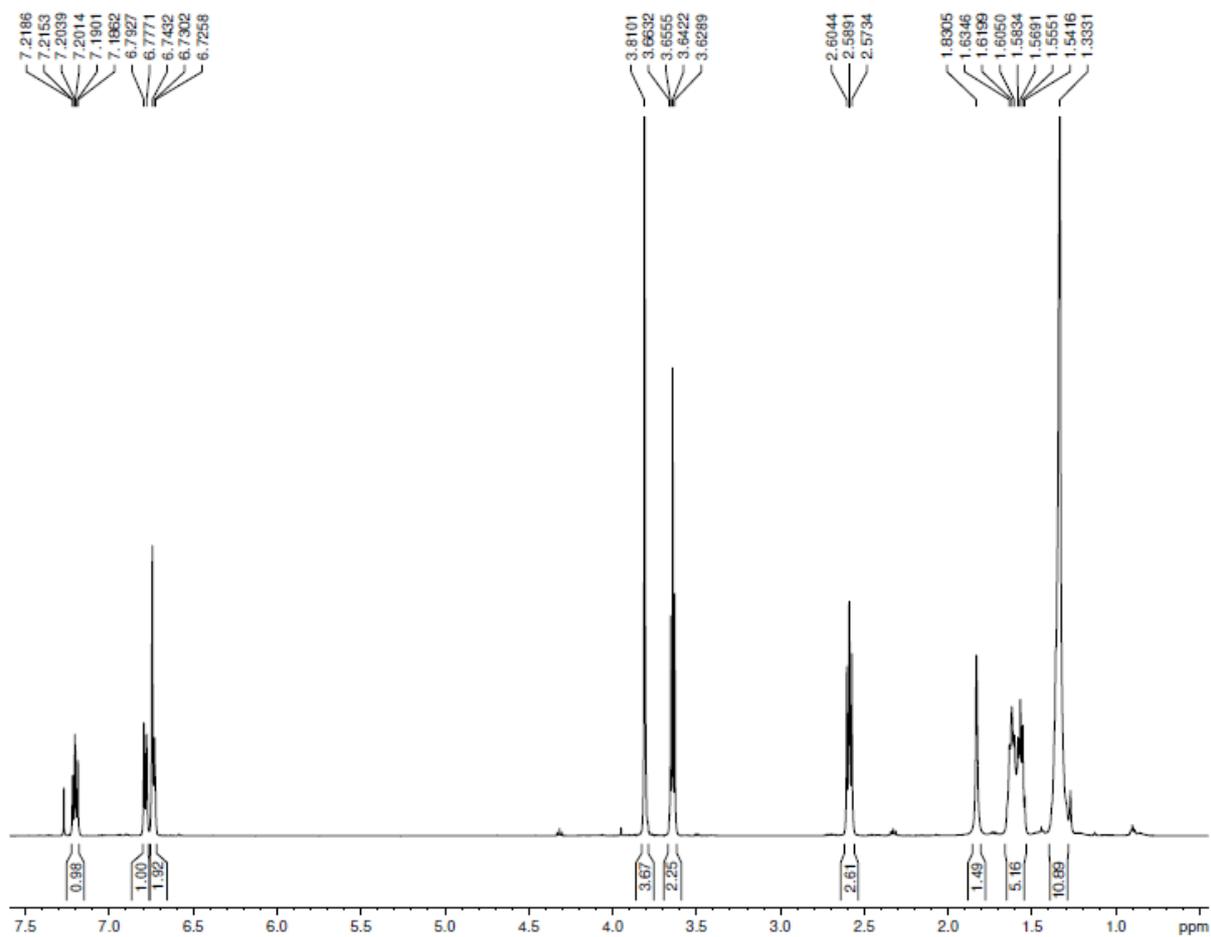
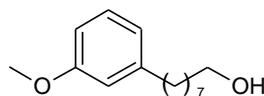
**ANEXO 23** – Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  
3-(8-Hidróxiocetil)fenol (LDT71, **22**)



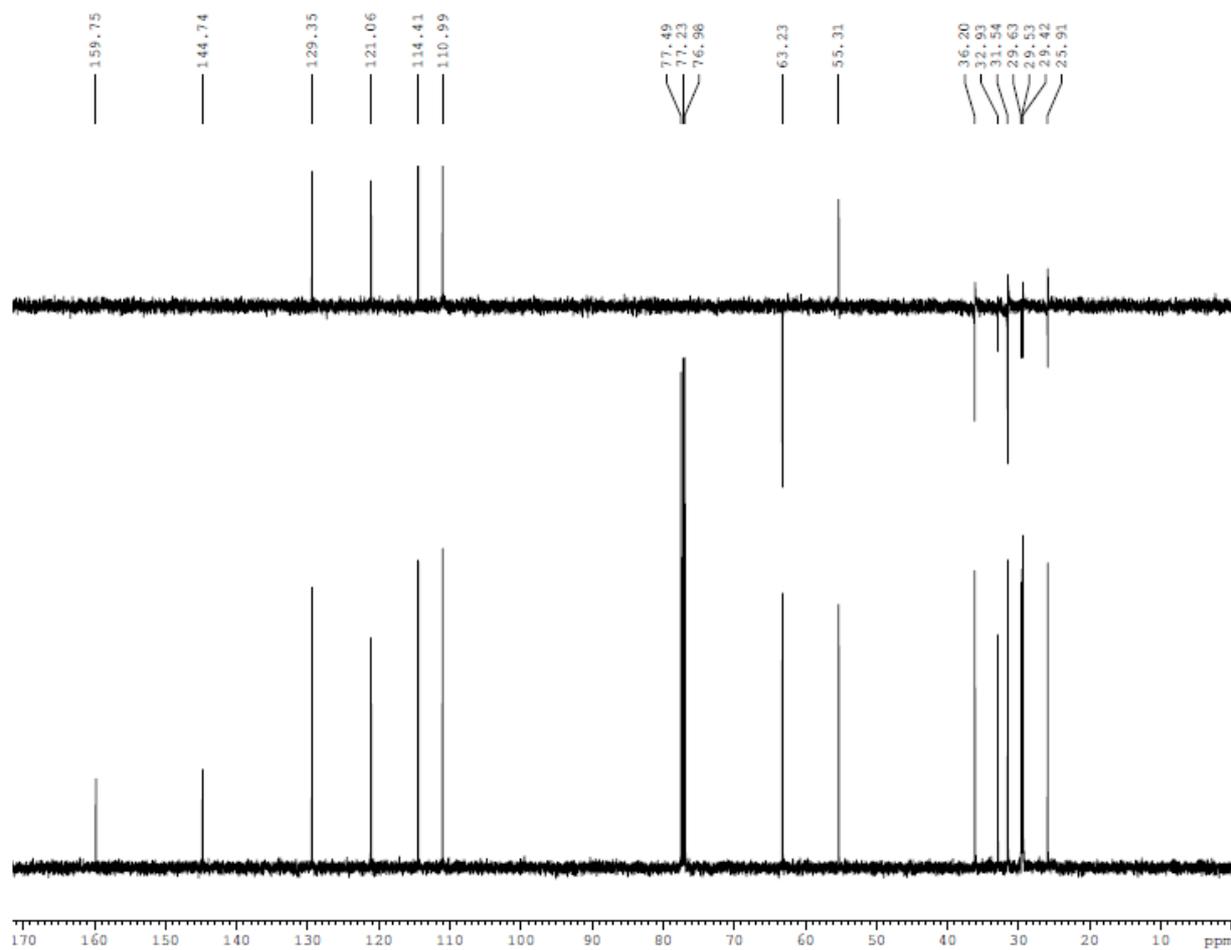
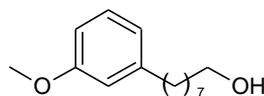
**ANEXO 24** – Espectro no infravermelho ( $\text{cm}^{-1}$ , KBr):  
3-(8-Hidróxiocetil)fenol (LDT71, **22**)



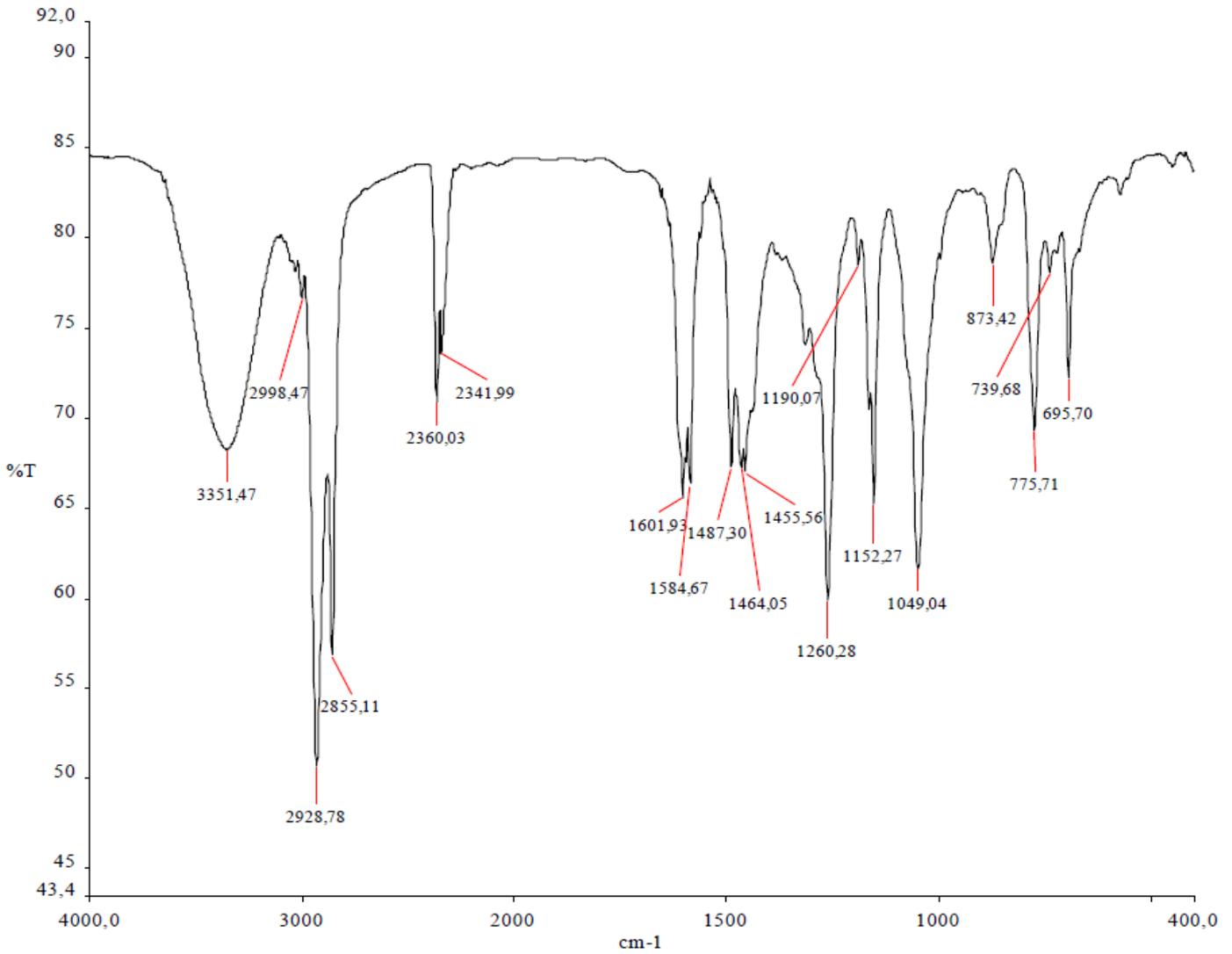
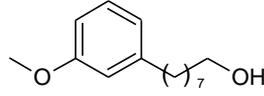
**ANEXO 25** – Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  
8-(3-Metóxiifenil)octan-1-ol (**LDT72**, **23**)



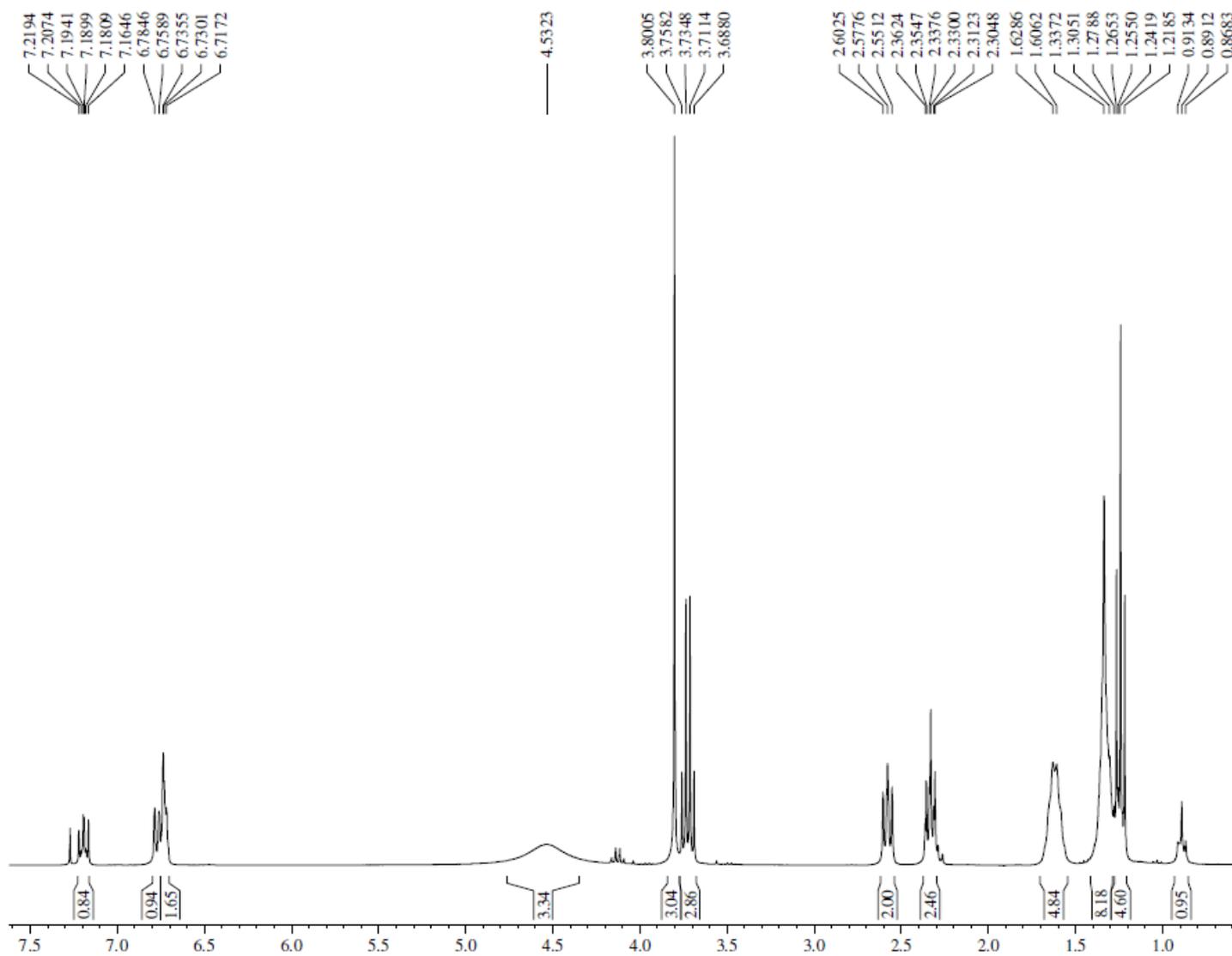
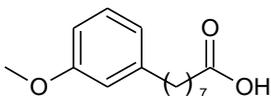
**ANEXO 26** – Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  
8-(3-Metóxiifenil)octan-1-ol (**LDT72**, **23**)



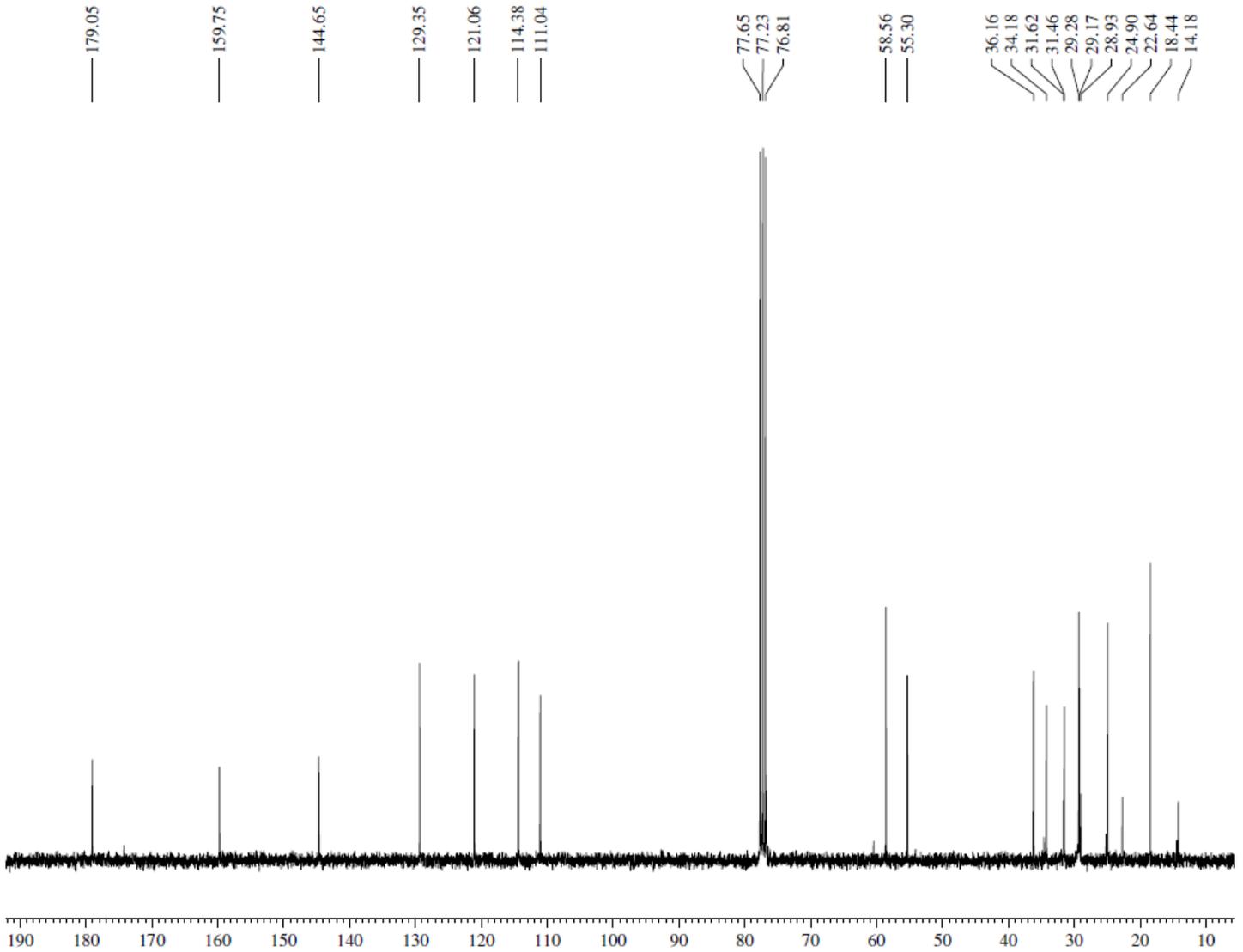
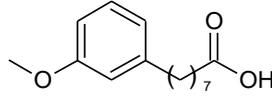
**ANEXO 27** – Espectro no infravermelho ( $\text{cm}^{-1}$ , KBr):  
8-(3-Metóxiifenil)octan-1-ol (LDT72, **23**)



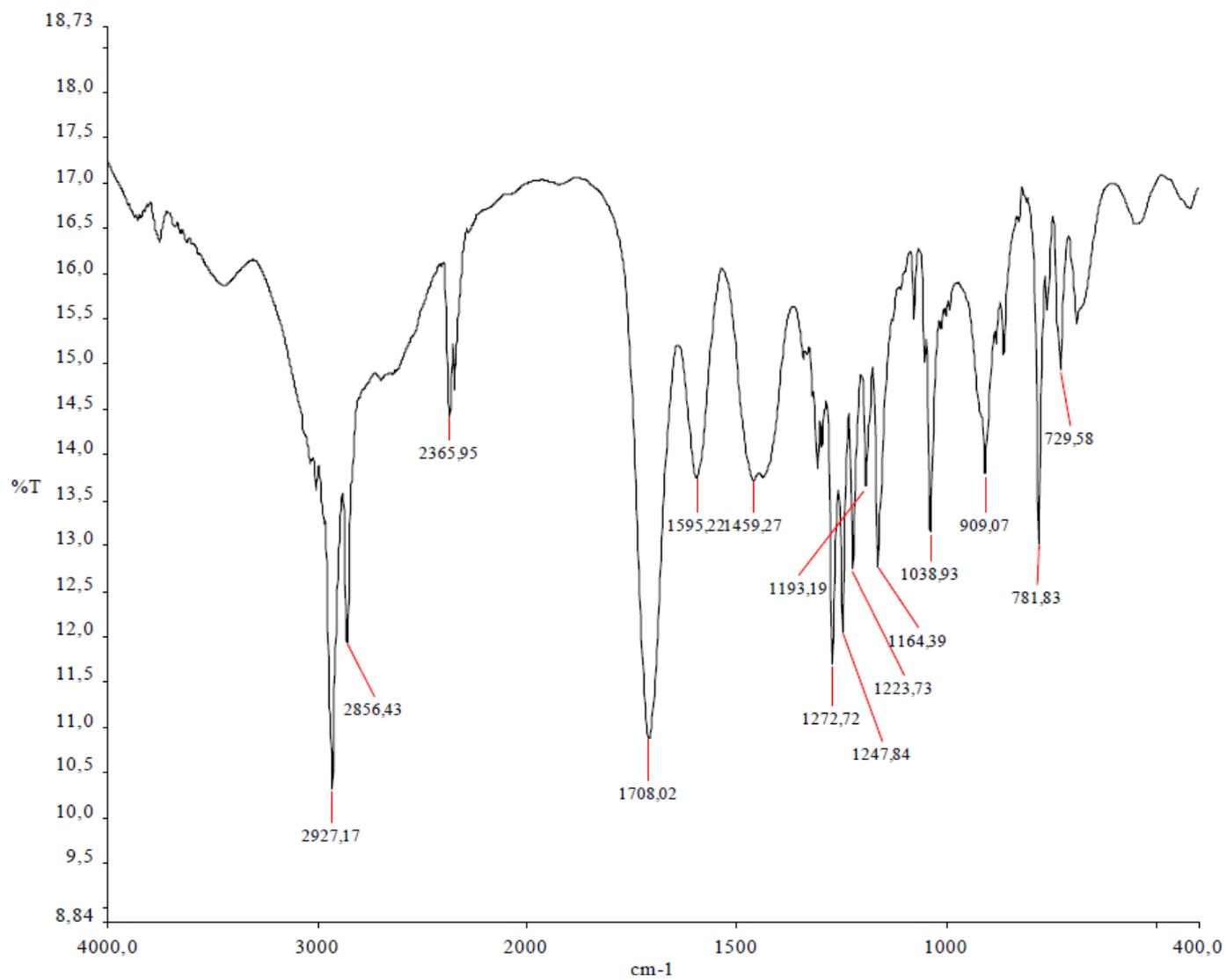
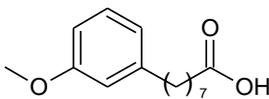
**ANEXO 28** – Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  
Ácido 8-(3-Metóxfenil)octanóico (**LDT80**, **38**)



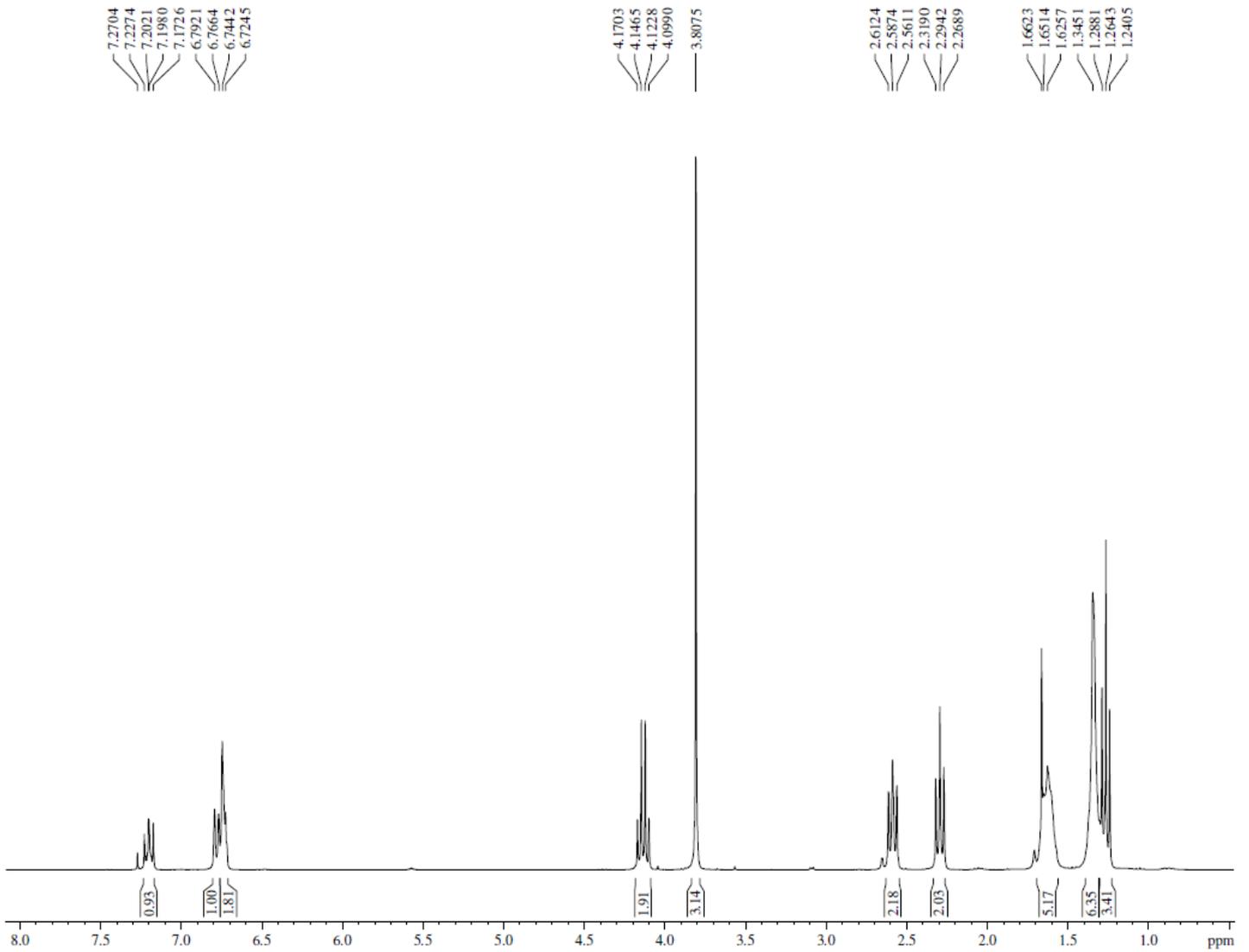
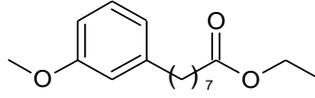
**ANEXO 29** – Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  
Ácido 8-(3-Metóxi)fenil)octanóico (**LDT80**, **38**)



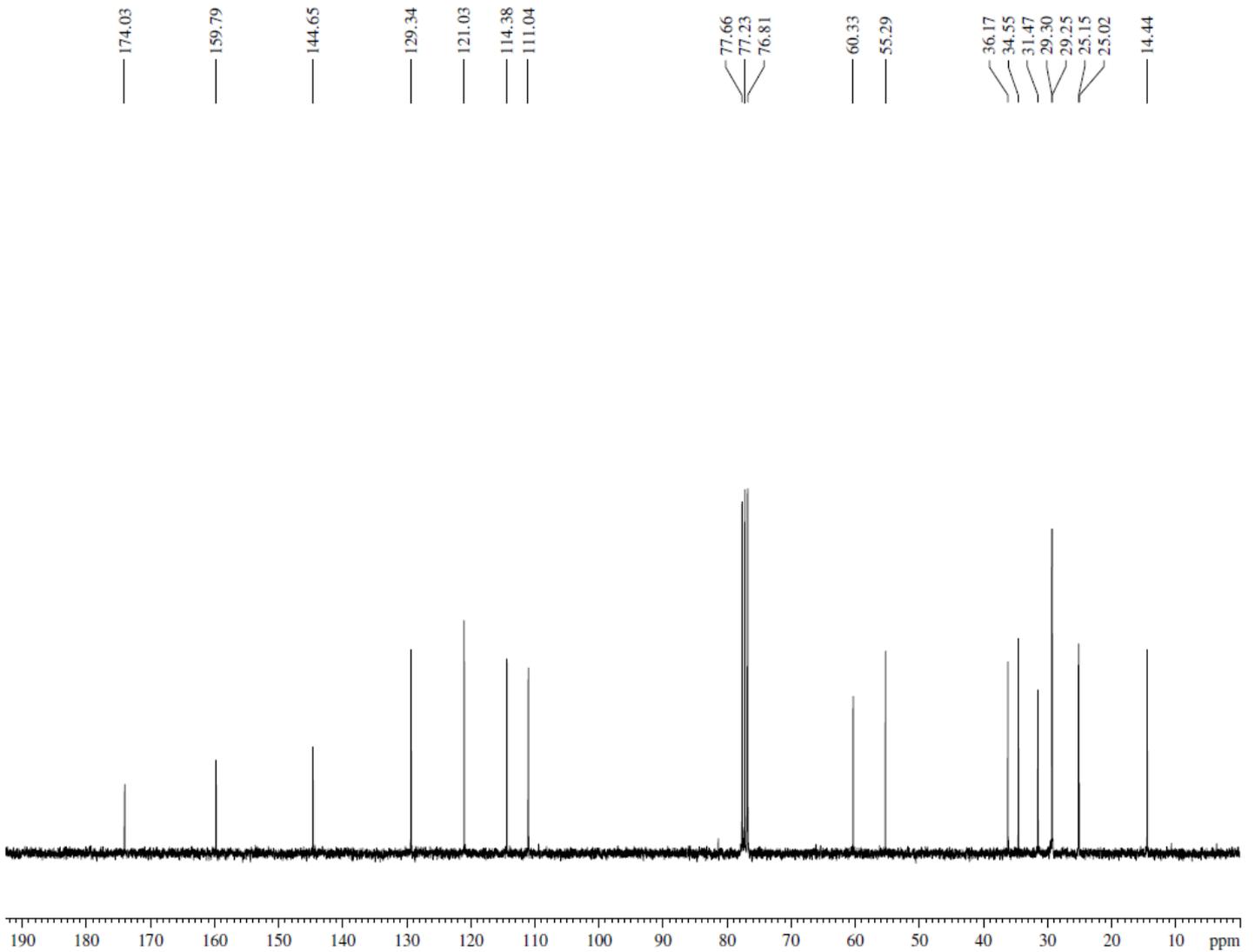
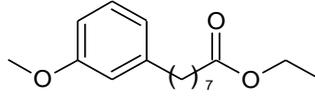
**ANEXO 30** – Espectro no infravermelho ( $\text{cm}^{-1}$ , KBr):  
Ácido 8-(3-Metóxfenil)octanóico (**LDT80, 38**)



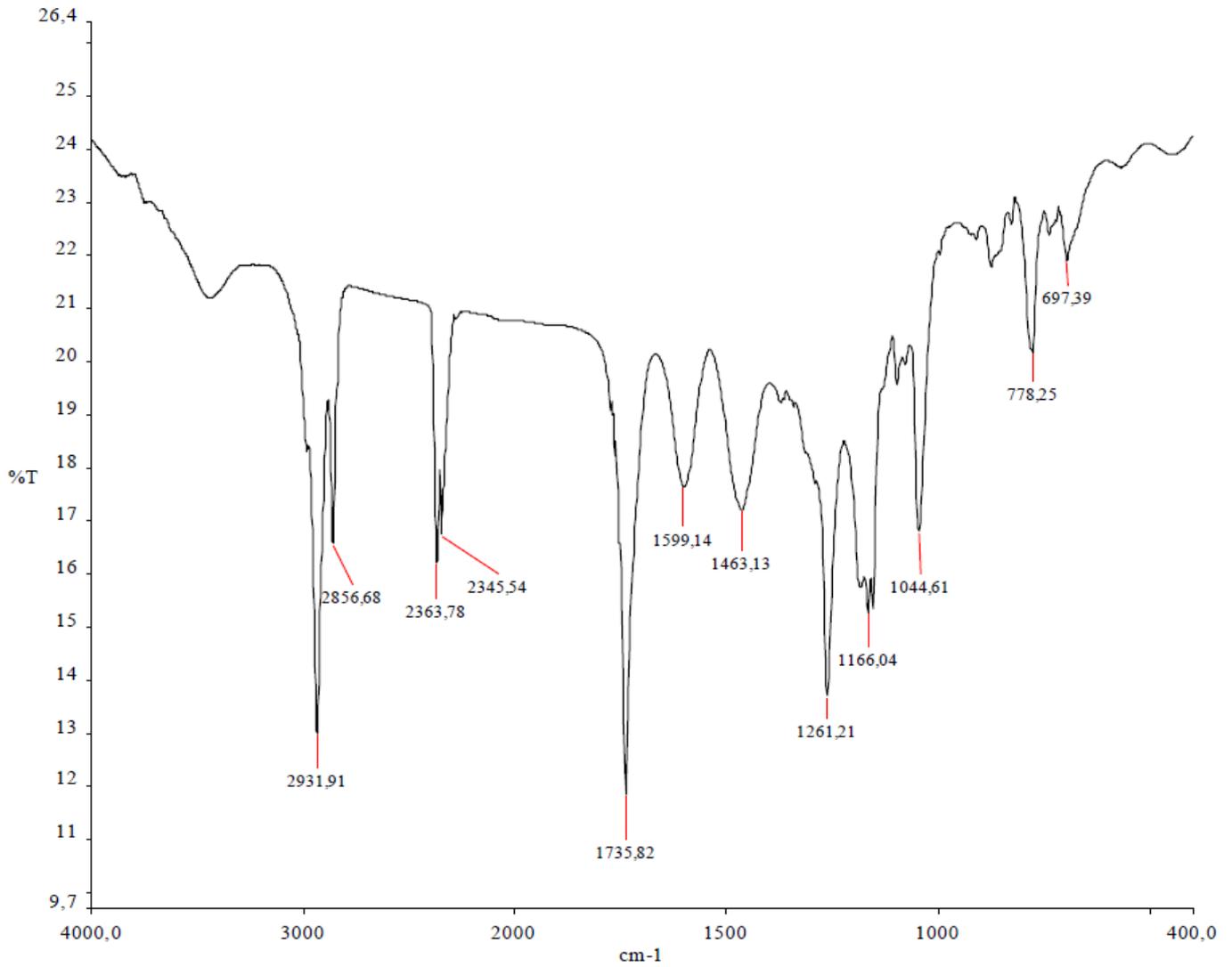
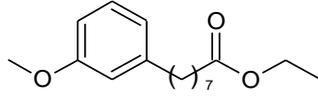
**ANEXO 31** – Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  
8-(3-Metóxiifenil)octanoato de etila (LDT482, **39**)



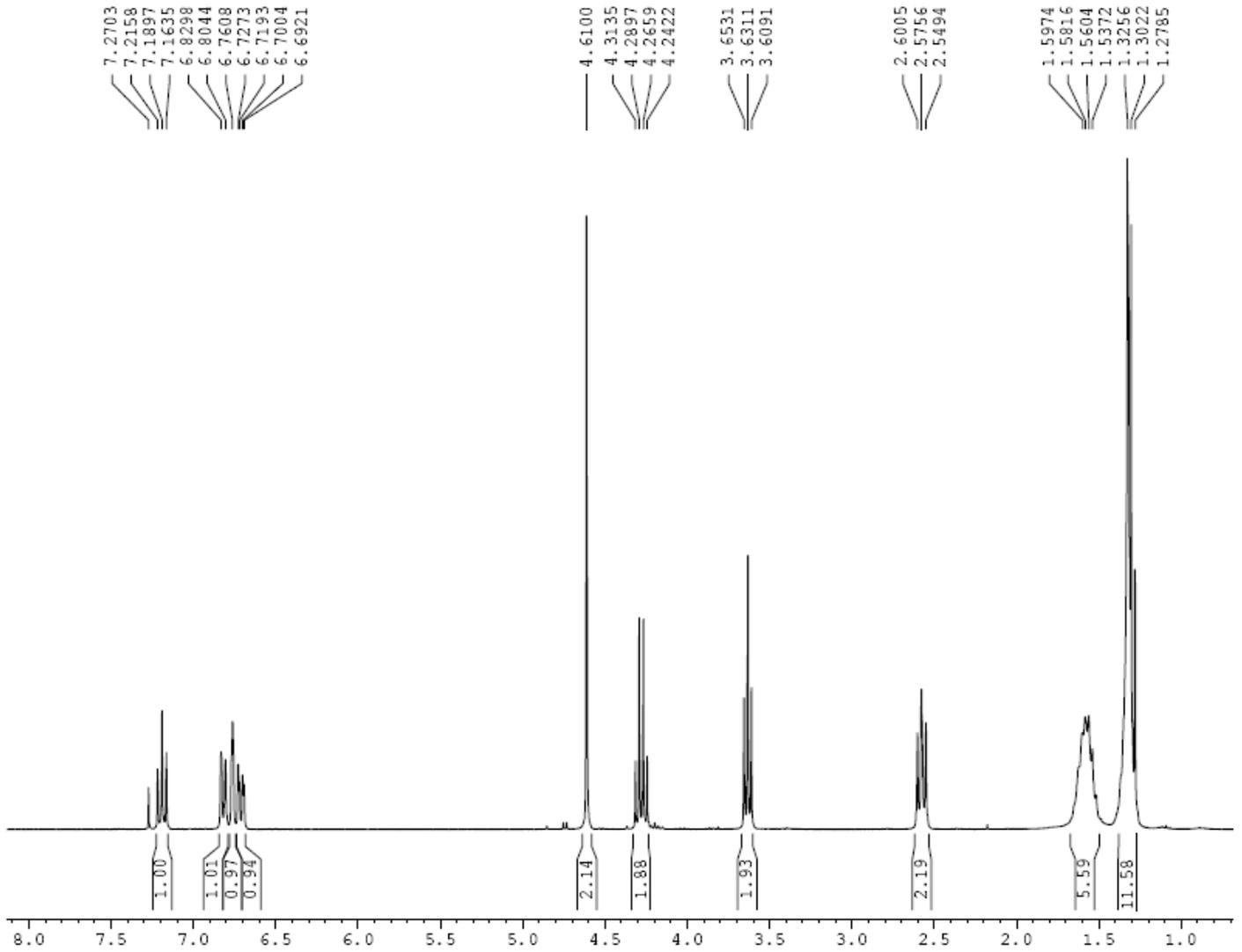
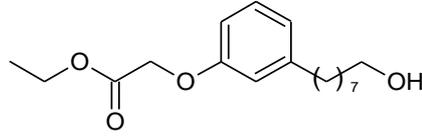
**ANEXO 32** – Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  
8-(3-Metóxiifenil)octanoato de etila (LDT482, **39**)



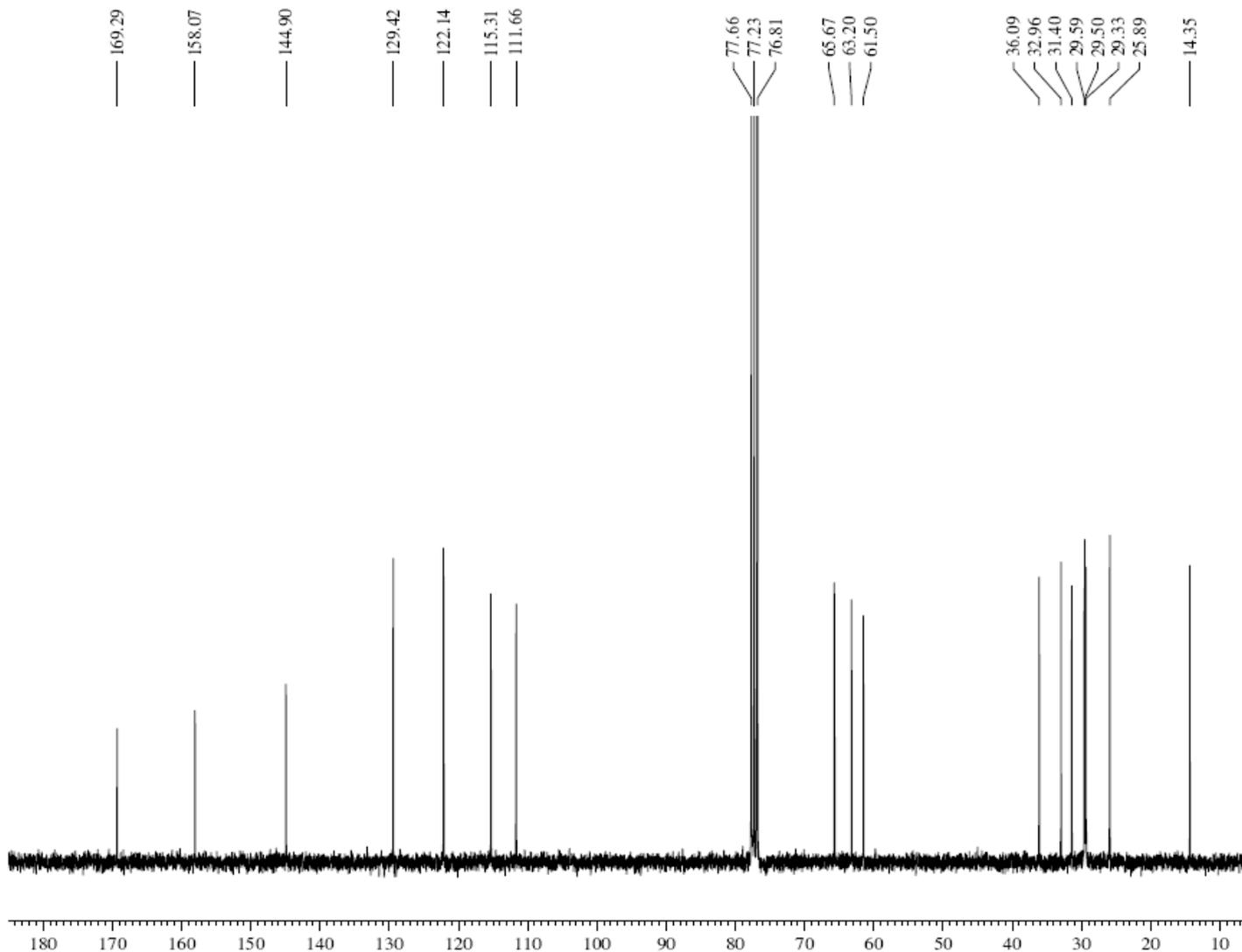
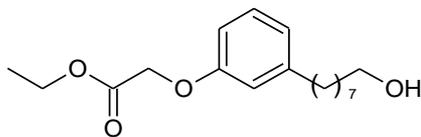
**ANEXO 33** – Espectro no infravermelho ( $\text{cm}^{-1}$ , KBr):  
8-(3-Metóxiifenil)octanoato de etila (LDT482, **39**)



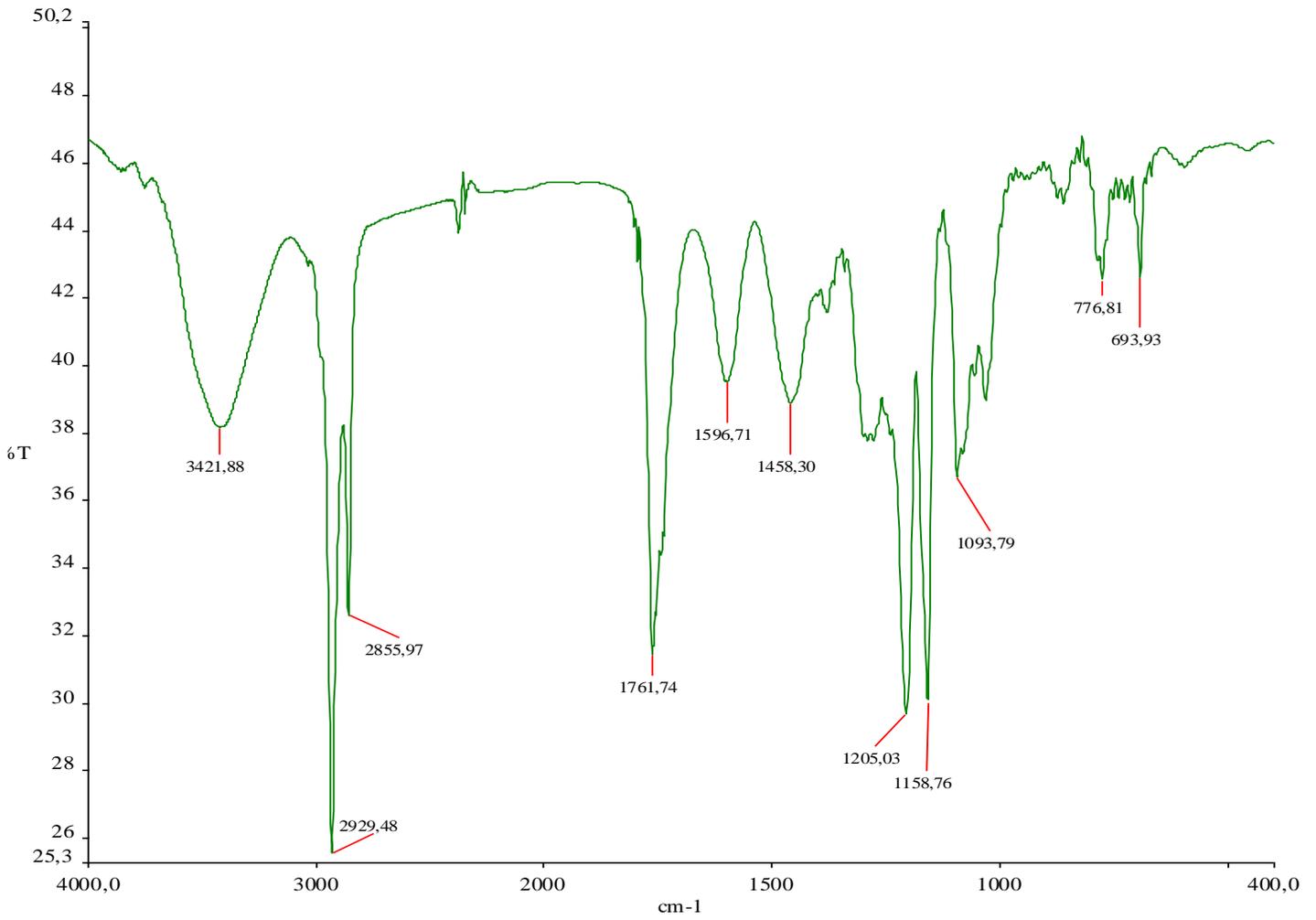
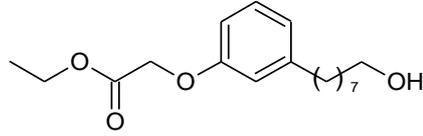
**ANEXO 34** – Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  
2-(3-(8-Hidróxiocetil)fenóxi)acetato de etila (**LDT296**, **28**)



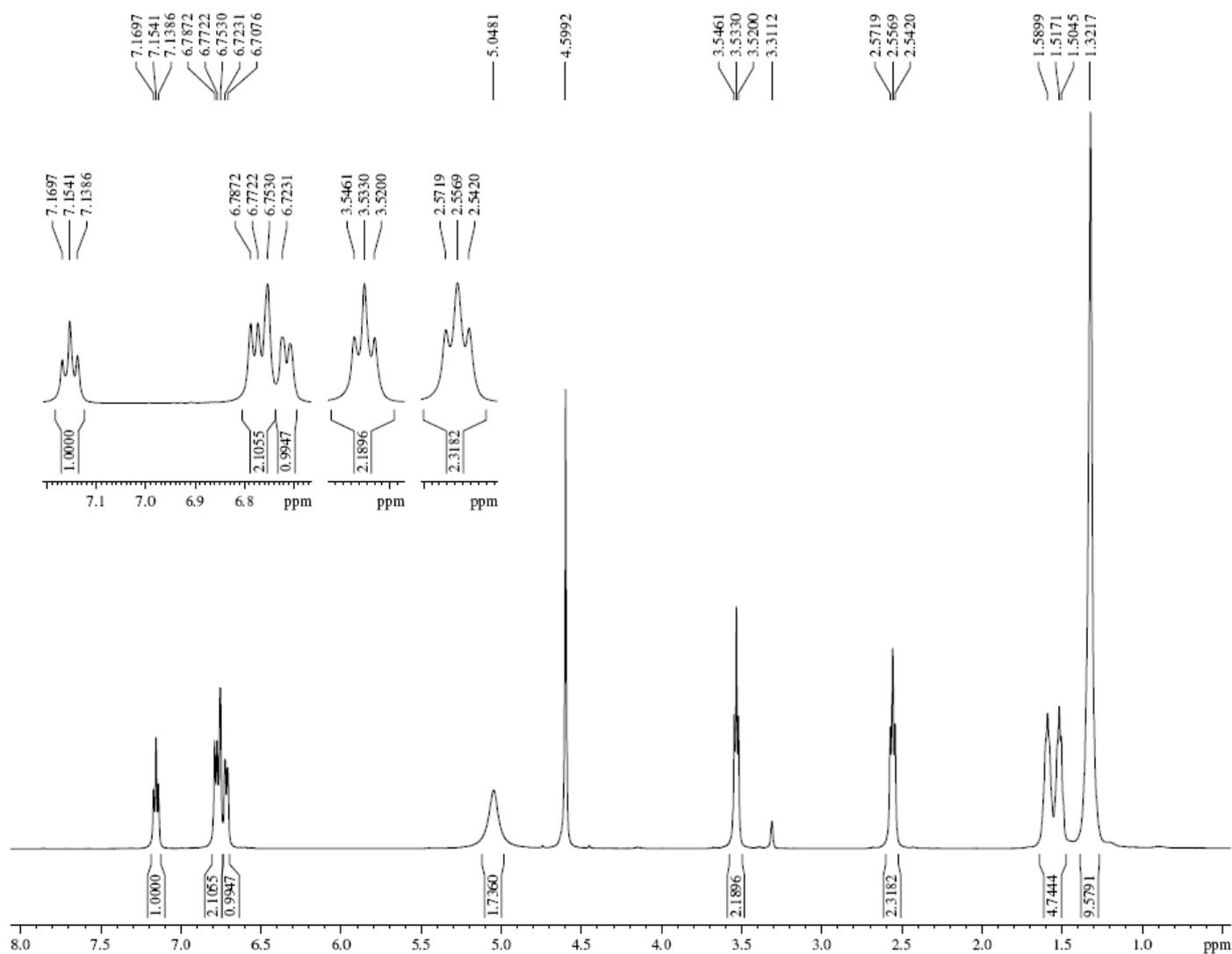
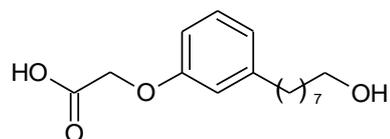
**ANEXO 35** – Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  
2-(3-(8-Hidróxiocetil)fenóxi)acetato de etila (**LDT296**, **28**)



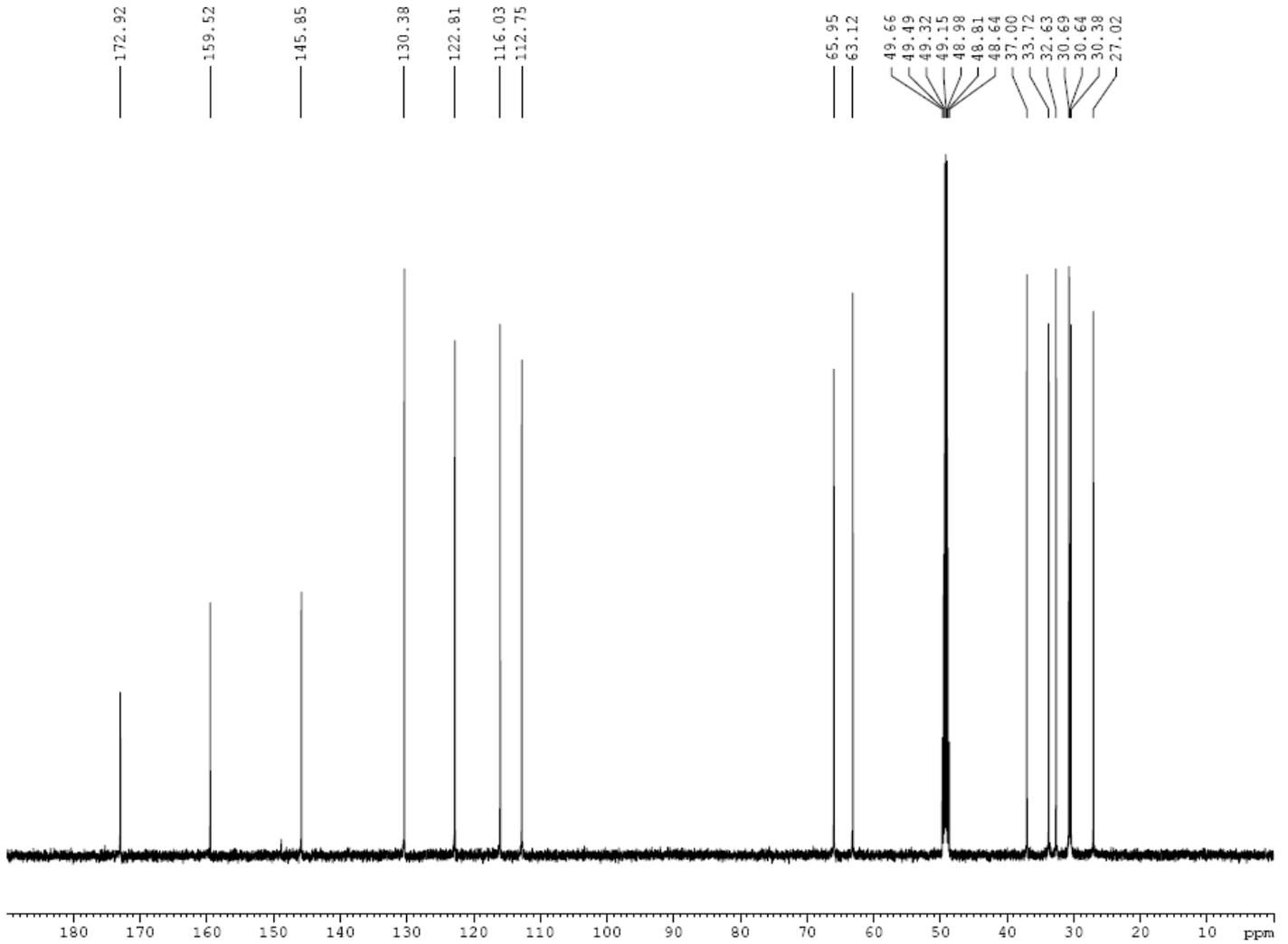
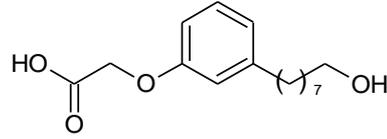
**ANEXO 36** – Espectro no infravermelho ( $\text{cm}^{-1}$ , KBr):  
2-(3-(8-Hidróxiocetil)fenóxi)acetato de etila (**LDT296, 28**)



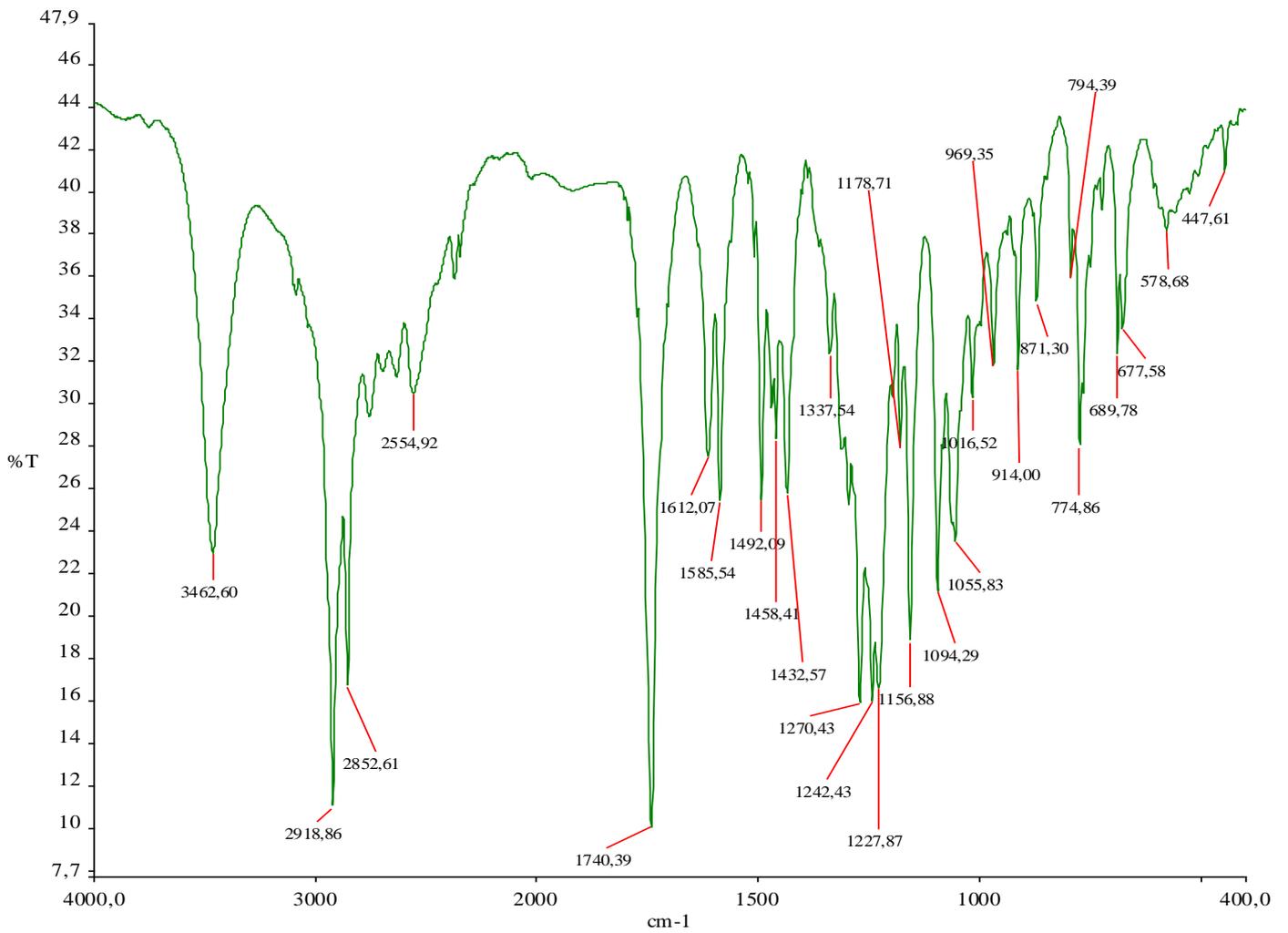
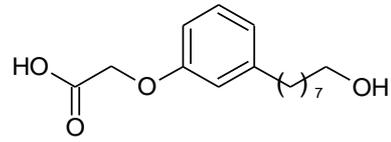
**ANEXO 37 – Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz, MeOD):**  
**Ácido 2-(3-(8-Hidróxicetil)fenóxi)acético (LDT297, **29**)**



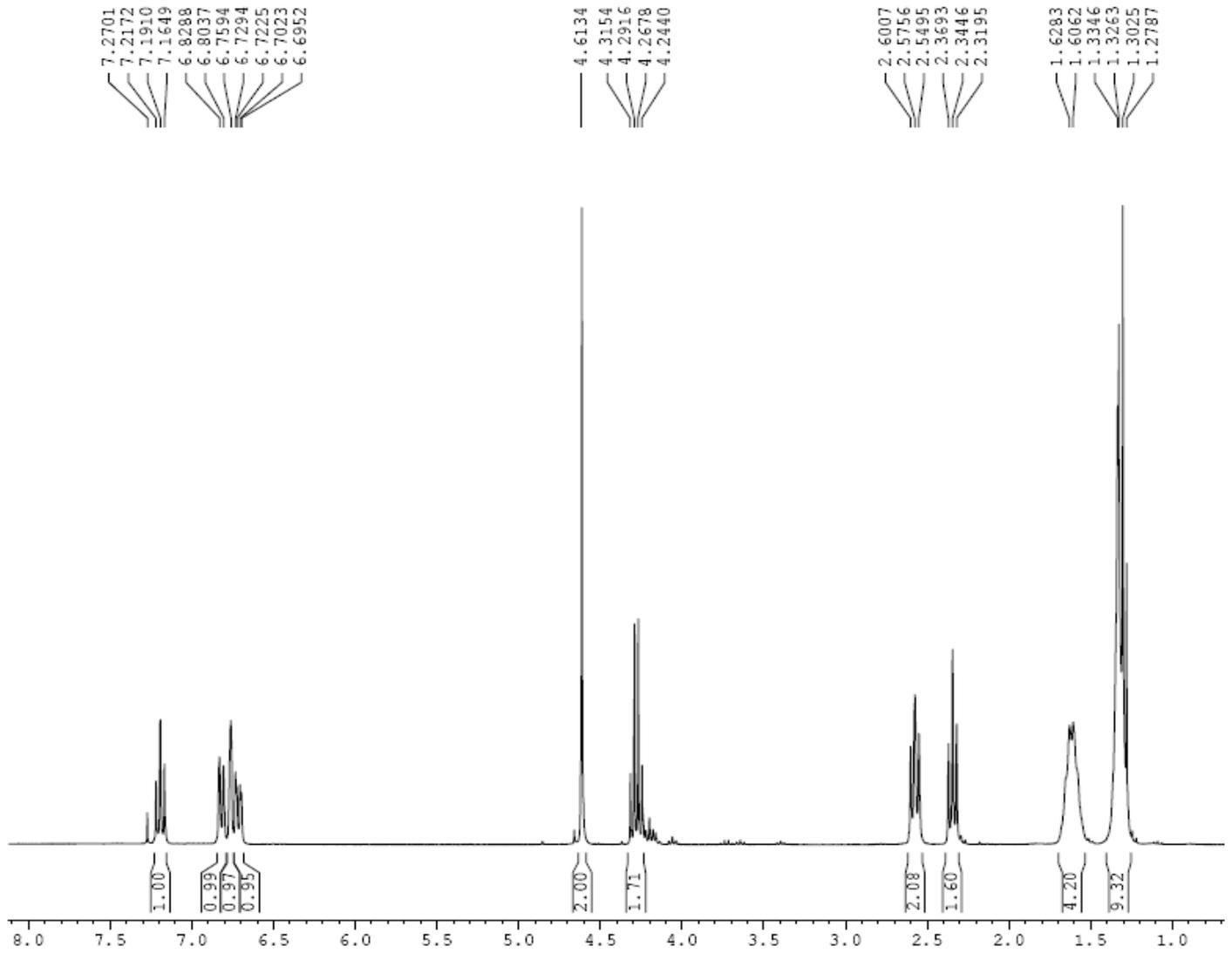
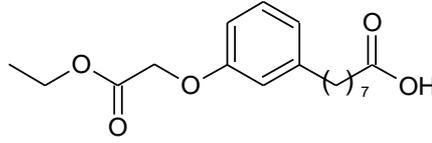
**ANEXO 38** – Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (125 MHz, MeOD):  
Ácido 2-(3-(8-Hidróxictil)fenóxi)acético (LDT297, **29**)



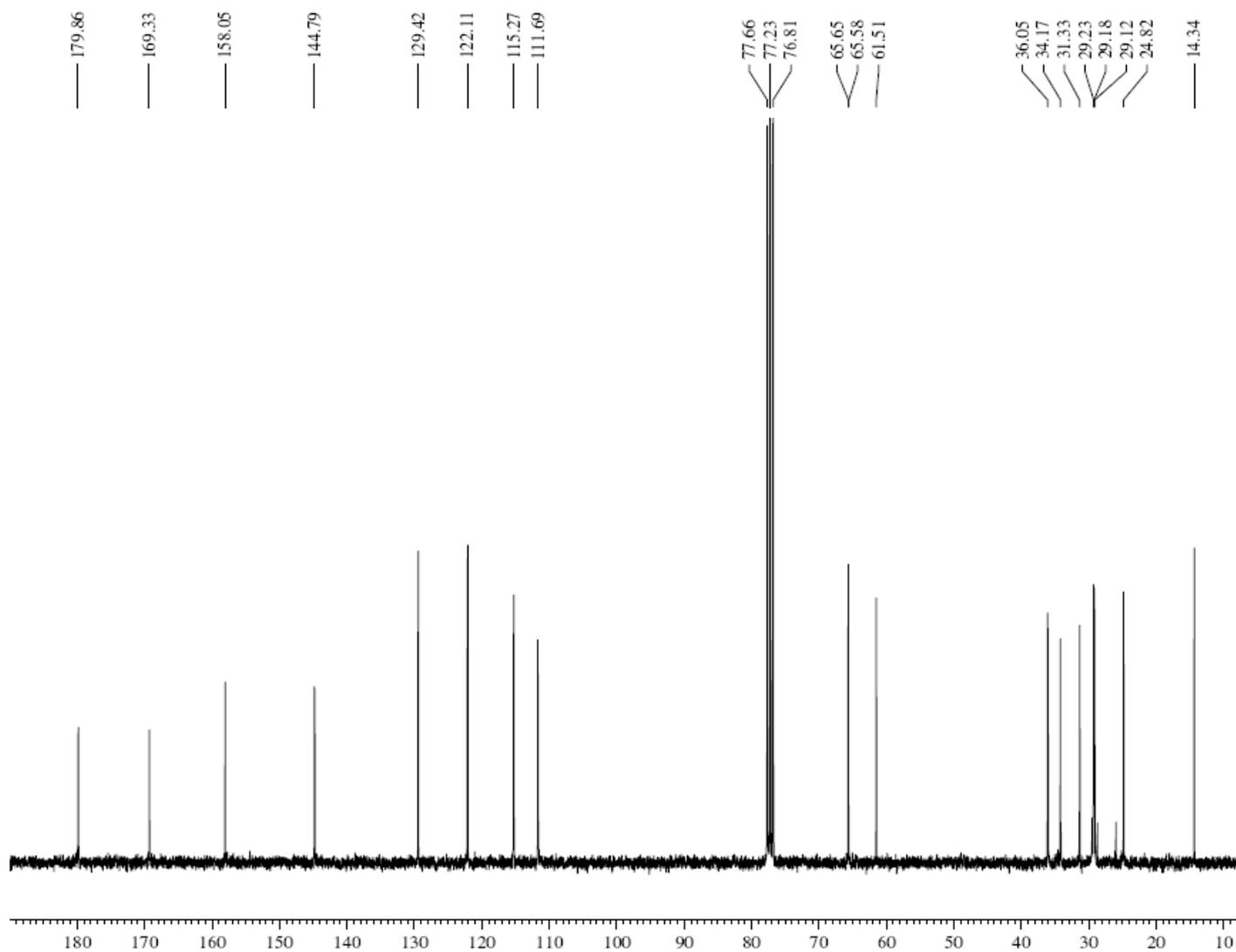
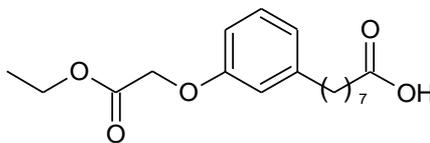
**ANEXO 39** – Espectro no infravermelho ( $\text{cm}^{-1}$ , KBr):  
 Ácido 2-(3-(8-Hidróxictil)fenóxi)acético (LDT297, **29**)



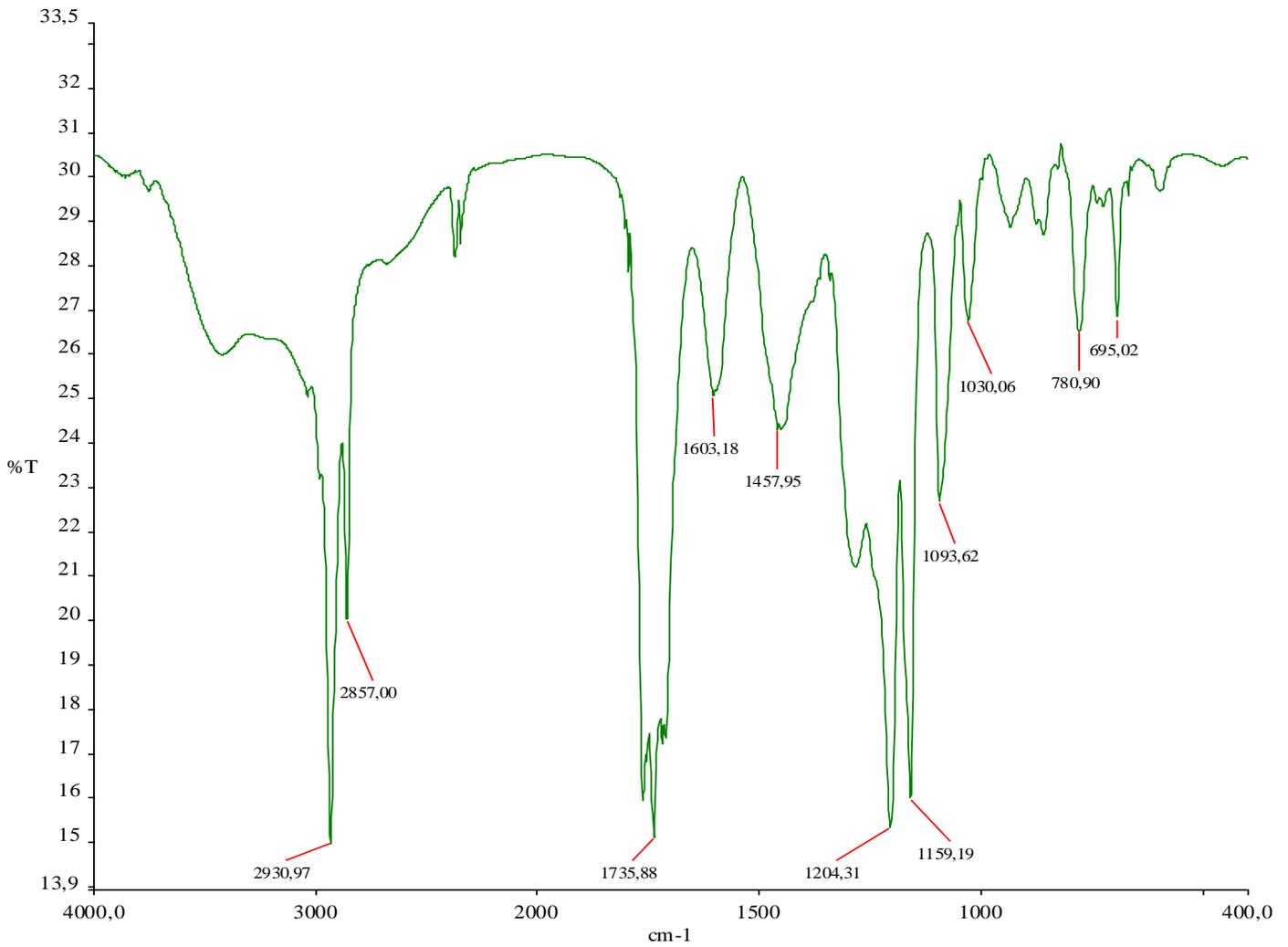
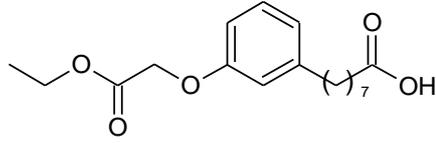
**ANEXO 40** – Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  
 Ácido 8-(3-Carboetoximetóxfenil)octanóico (LDT298, **30**)



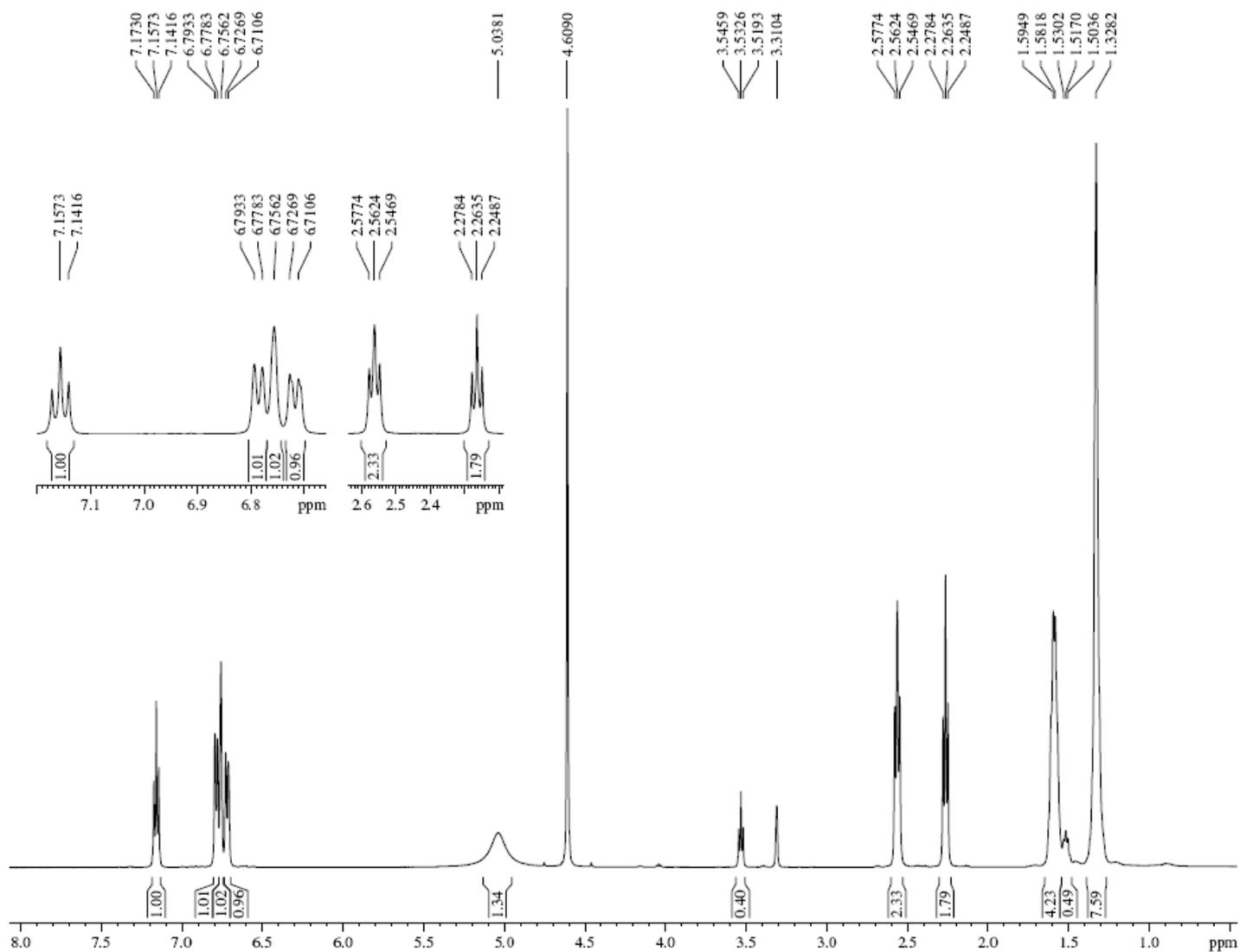
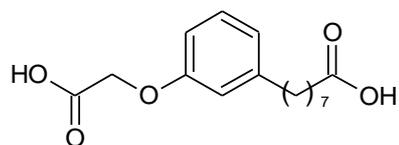
**ANEXO 41** – Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  
Ácido 8-(3-Carboetoximetóxfenil)octanóico (**LDT298**, **30**)



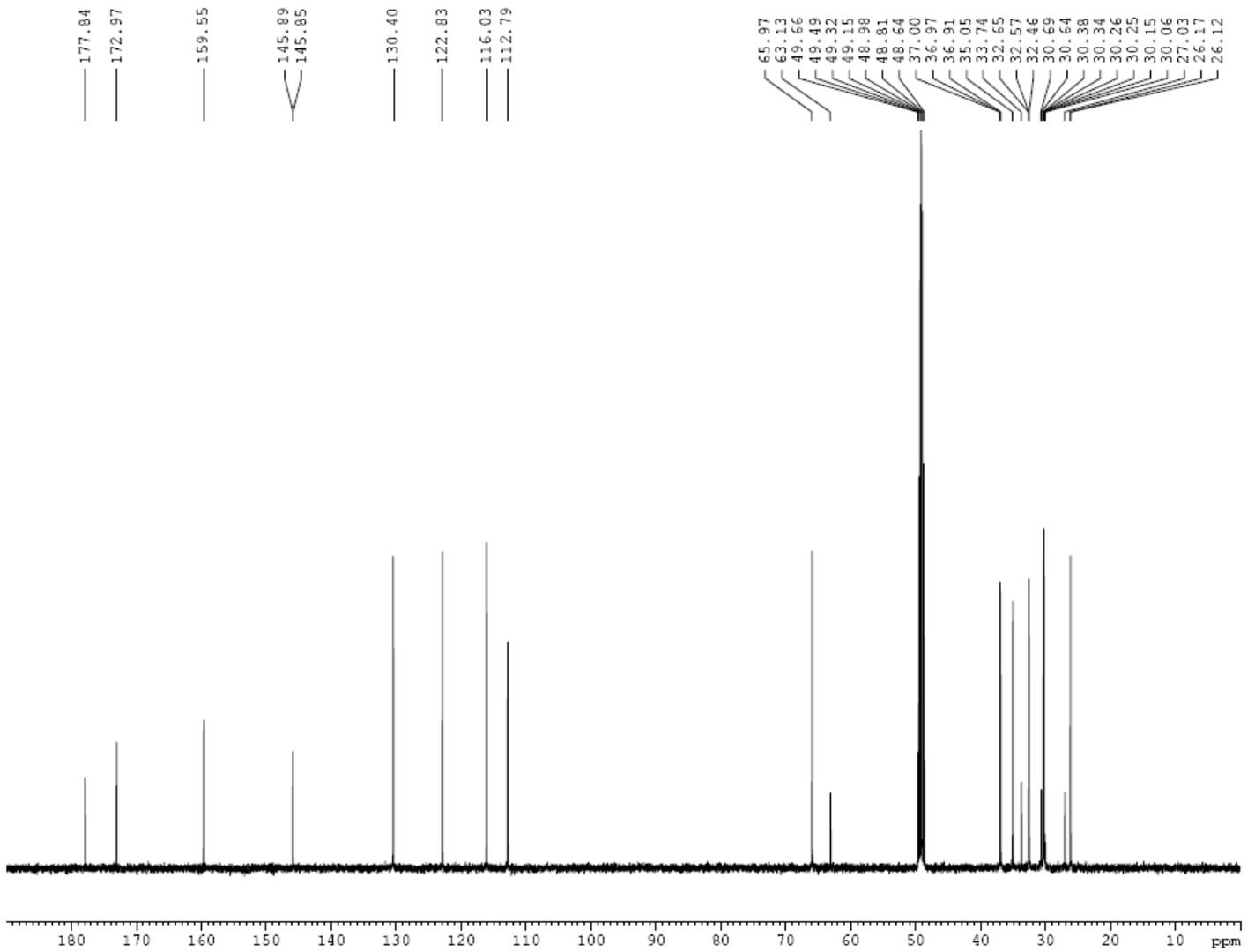
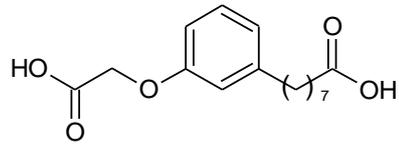
**ANEXO 42 – Espectro no infravermelho ( $\text{cm}^{-1}$ , KBr):  
Ácido 8-(3-Carboetoximetóxfenil)octanóico (LDT298, **30**)**



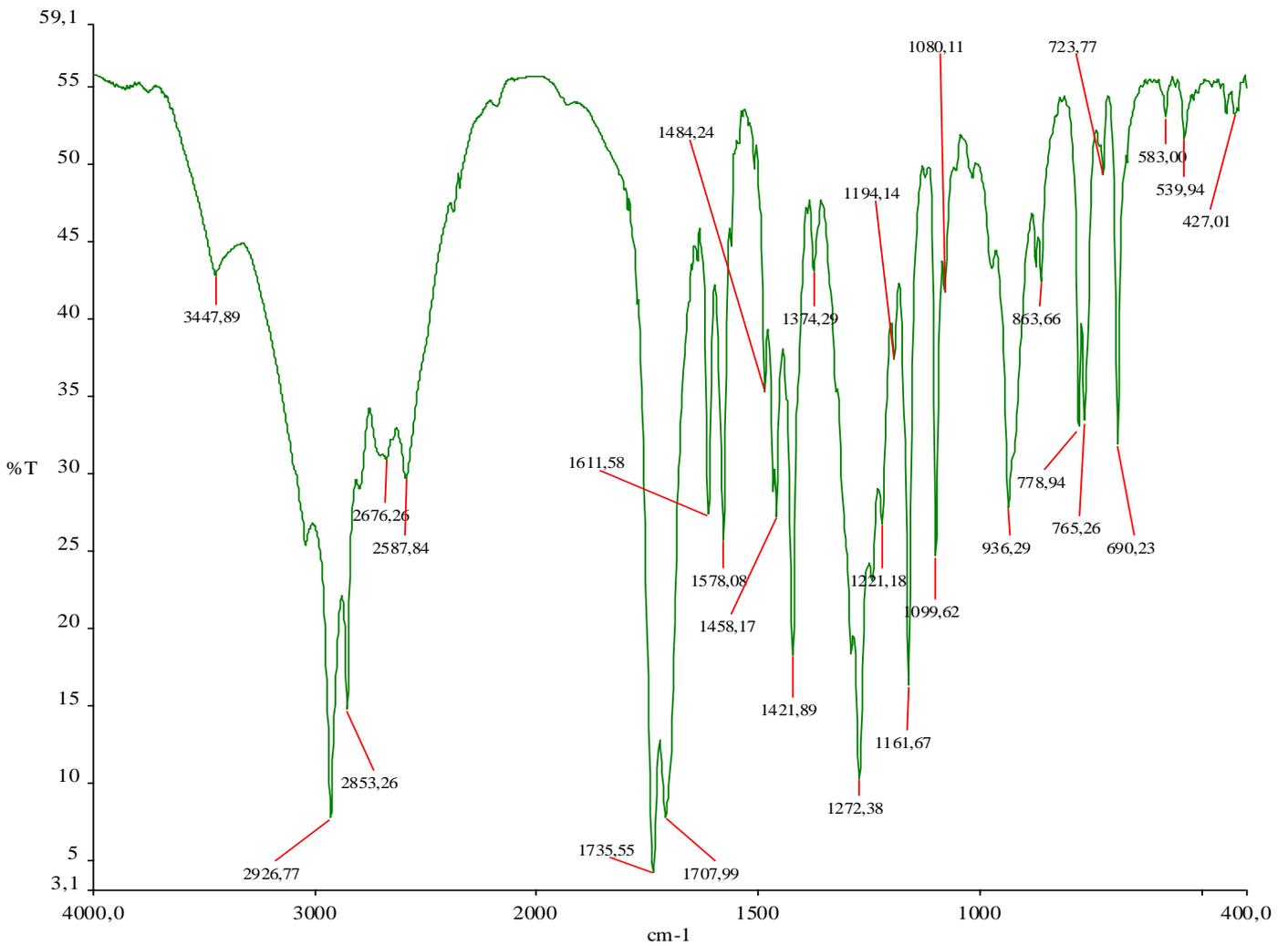
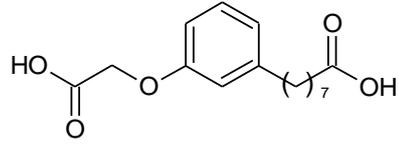
**ANEXO 43** – Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz, MeOD):  
 Ácido 8-(3-Carboximetóxifenil)octanóico (LDT299, **31**)



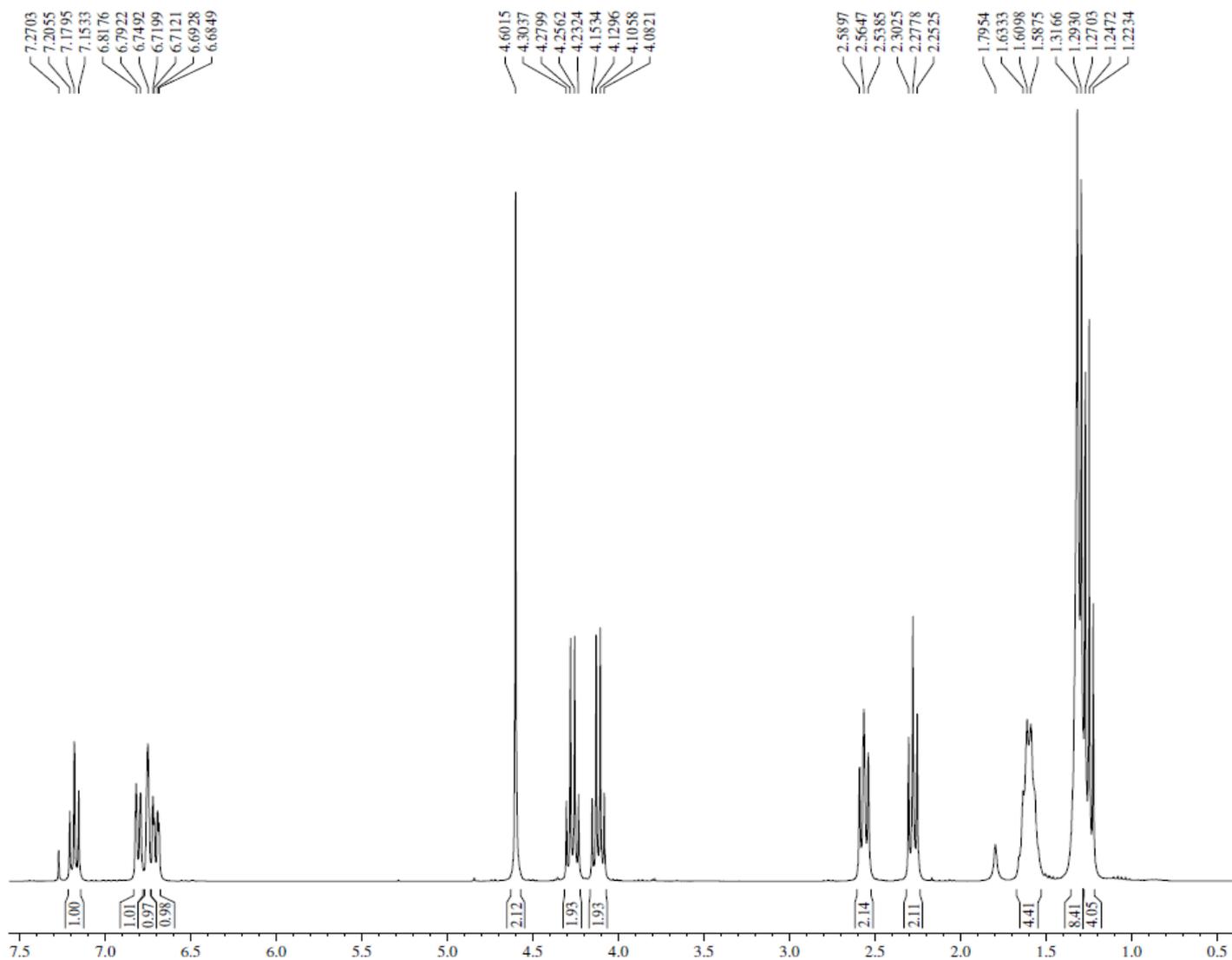
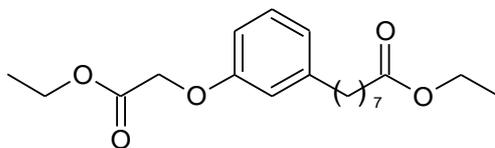
**ANEXO 44** – Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (125 MHz, MeOD):  
Ácido 8-(3-Carboximetóxilfenil)octanóico (LDT299, **31**)



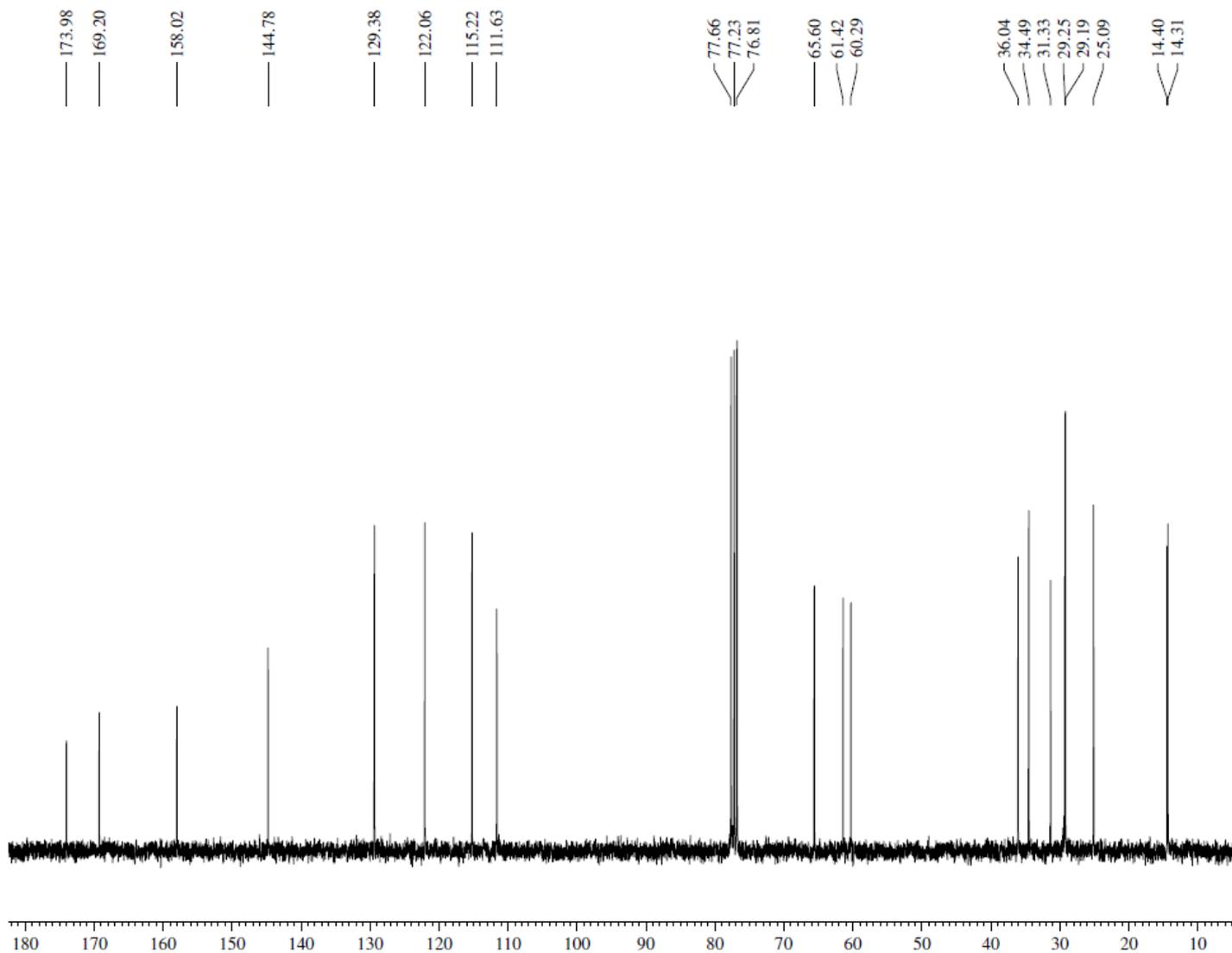
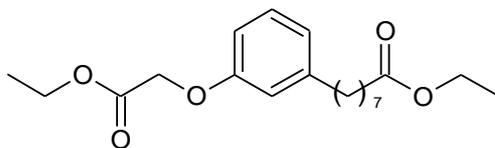
**ANEXO 45 – Espectro no infravermelho (cm<sup>-1</sup>, KBr):  
Ácido 8-(3-Carboximetóxilfenil)octanóico (LDT299, 31)**



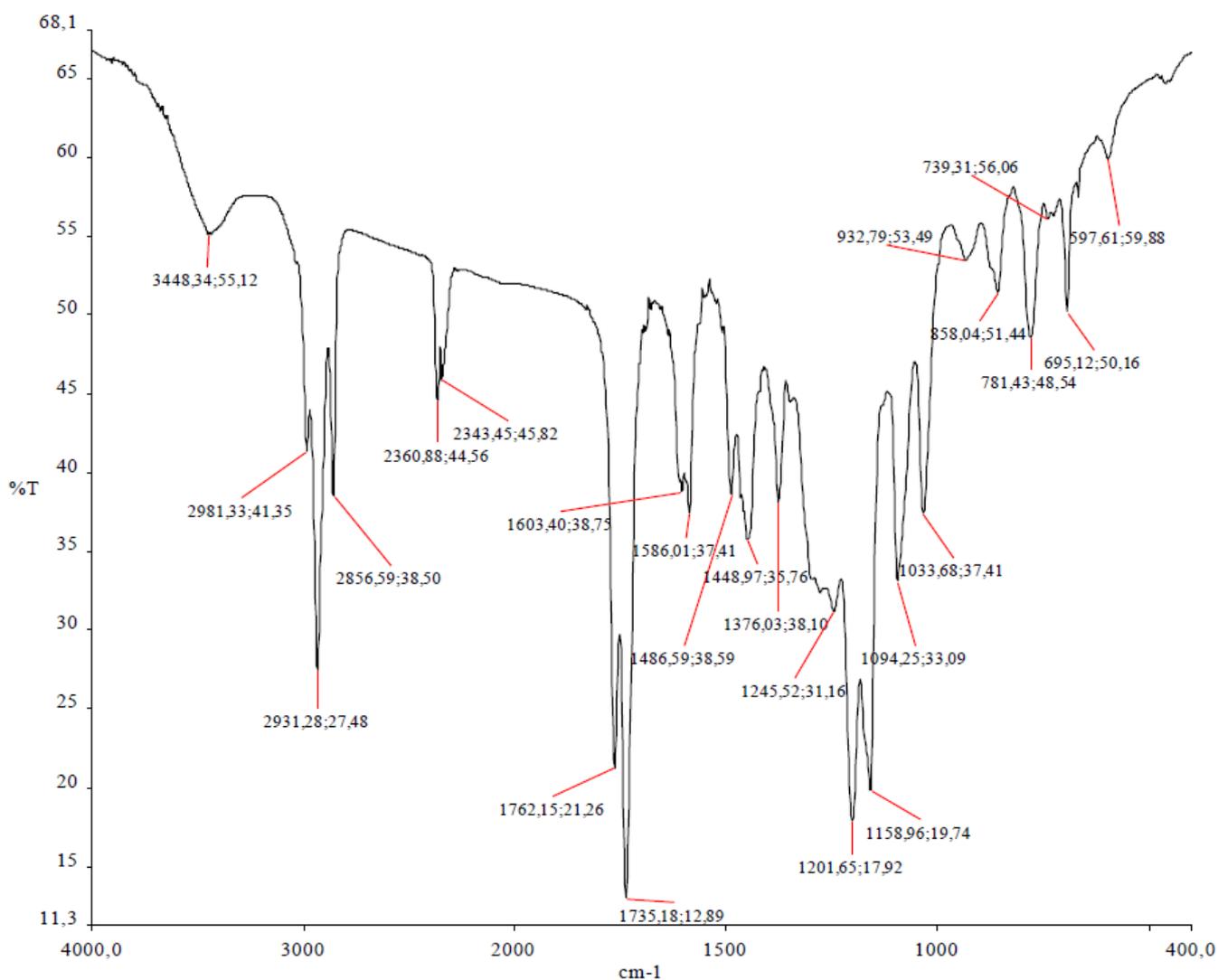
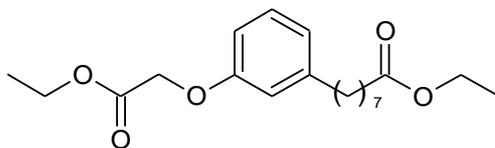
**ANEXO 46** – Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  
8-(3-(2-Etóxi-2-oxoetóxi)fenil)octanoato de etila (**LDT480**, **32**)



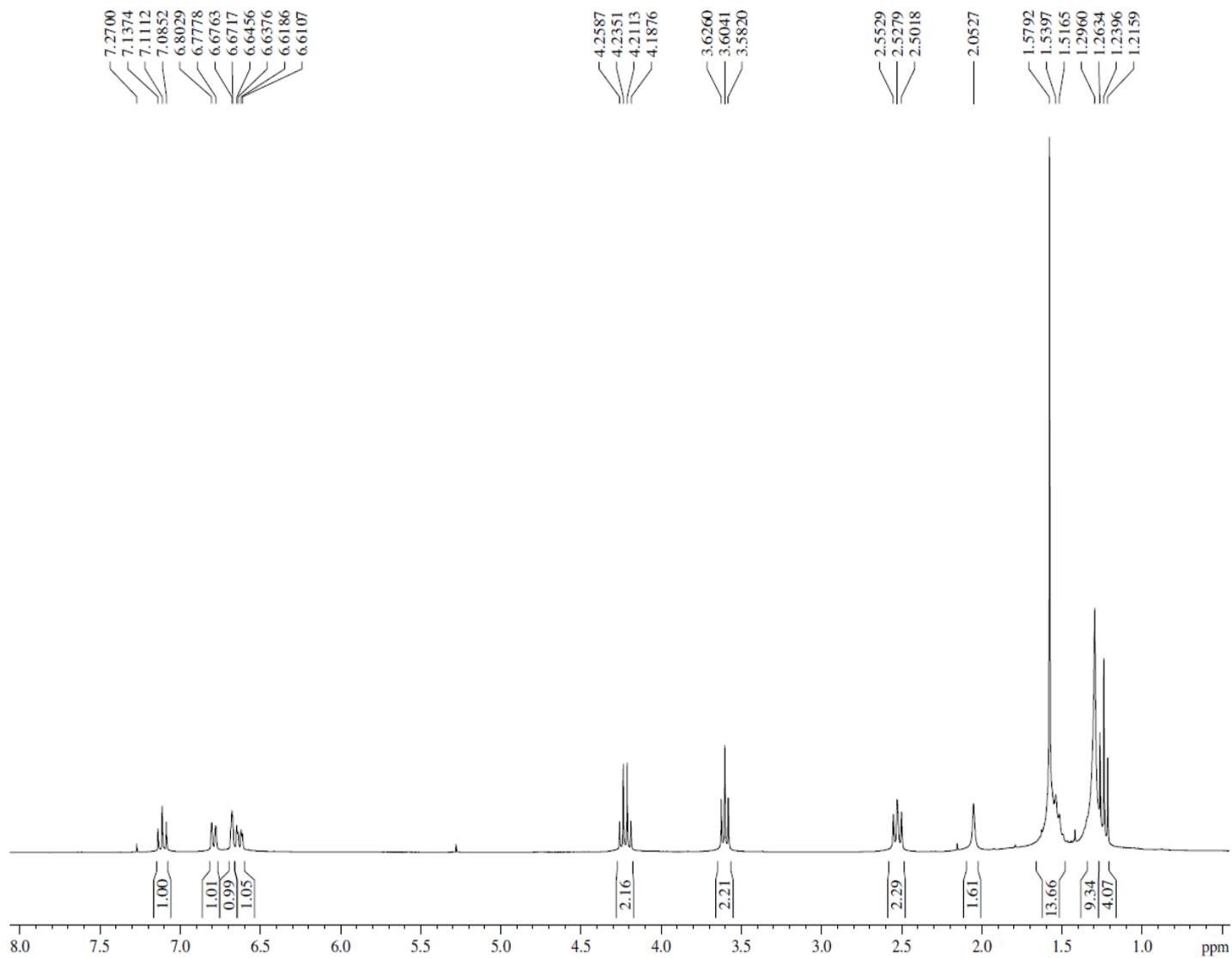
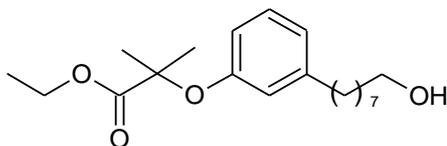
**ANEXO 47** – Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  
8-(3-(2-Etóxi-2-oxoetóxi)fenil)octanoato de etila (LDT480, **32**)



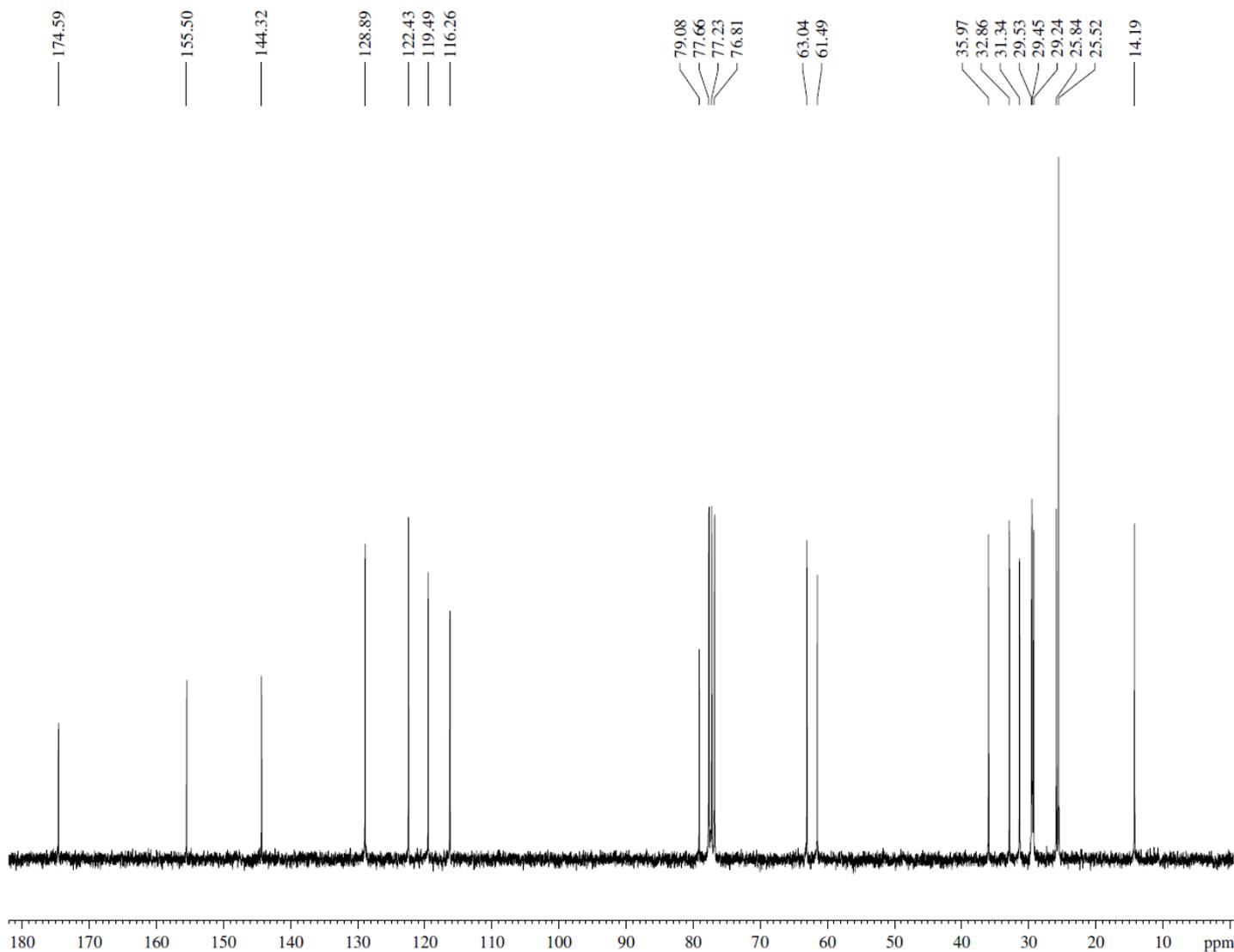
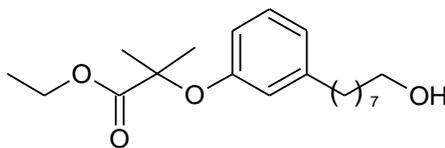
**ANEXO 48** – Espectro no infravermelho ( $\text{cm}^{-1}$ , KBr):  
8-(3-(2-Etóxi-2-oxoetóxi)fenil)octanoato de etila (**LDT480, 32**)



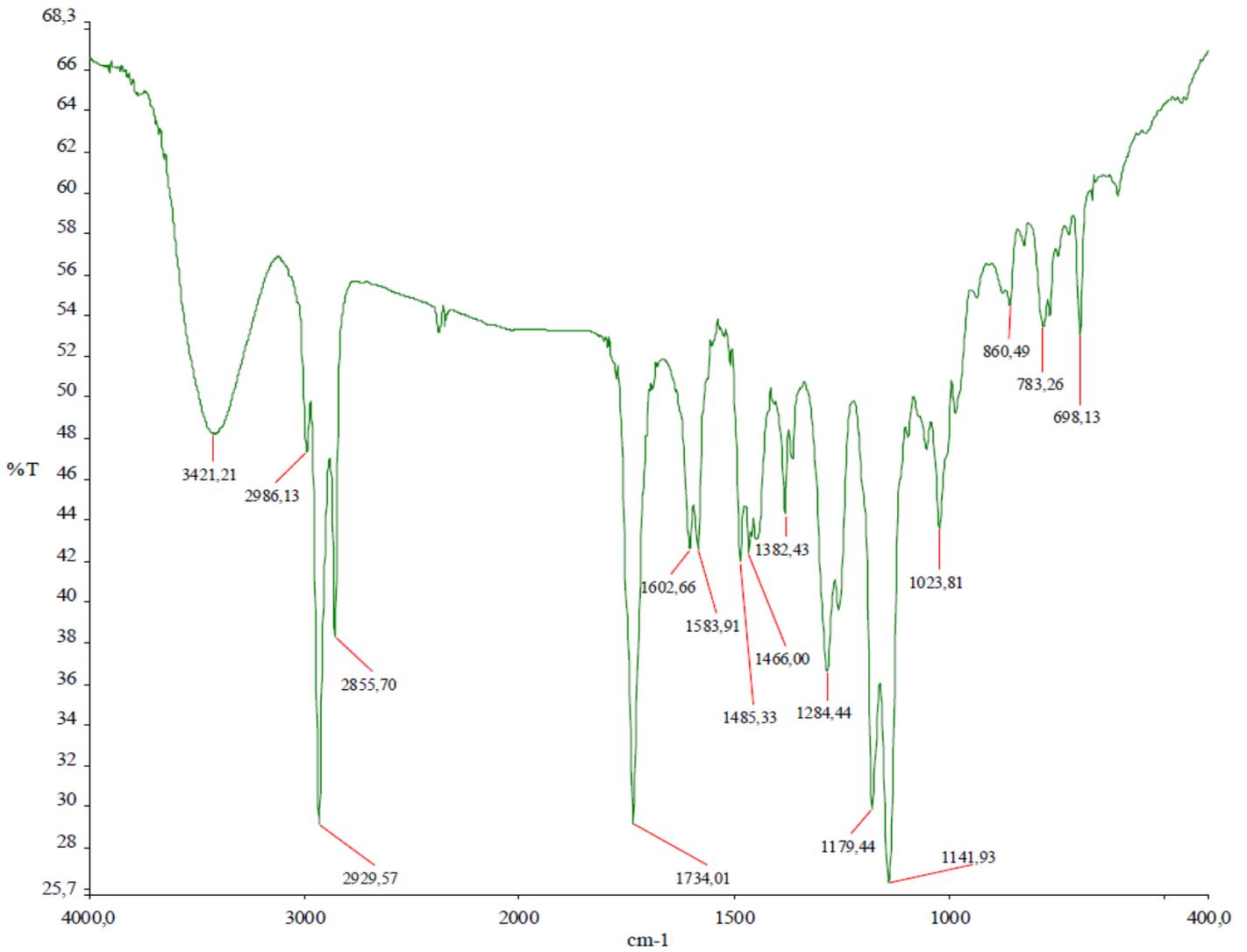
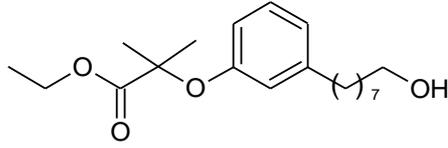
**ANEXO 49** – Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  
2-(3-(8-Hidróxiocetil)fenóxi)-2-metilpropanoato de etila (LDT476, **33**)



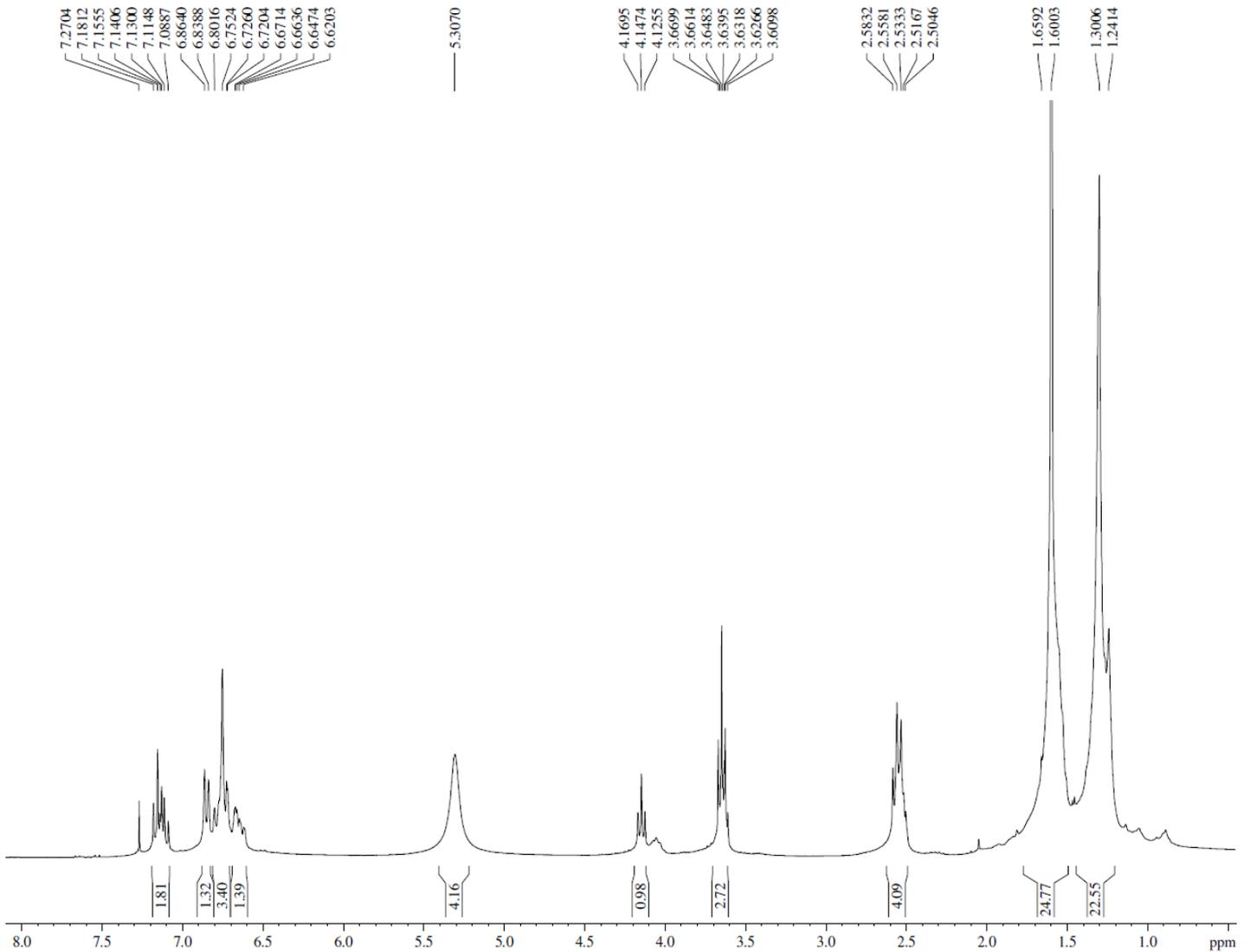
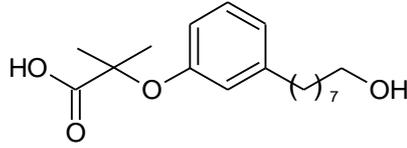
**ANEXO 50** – Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  
2-(3-(8-Hidróxiocetil)fenóxi)-2-metilpropanoato de etila (LDT476, **33**)



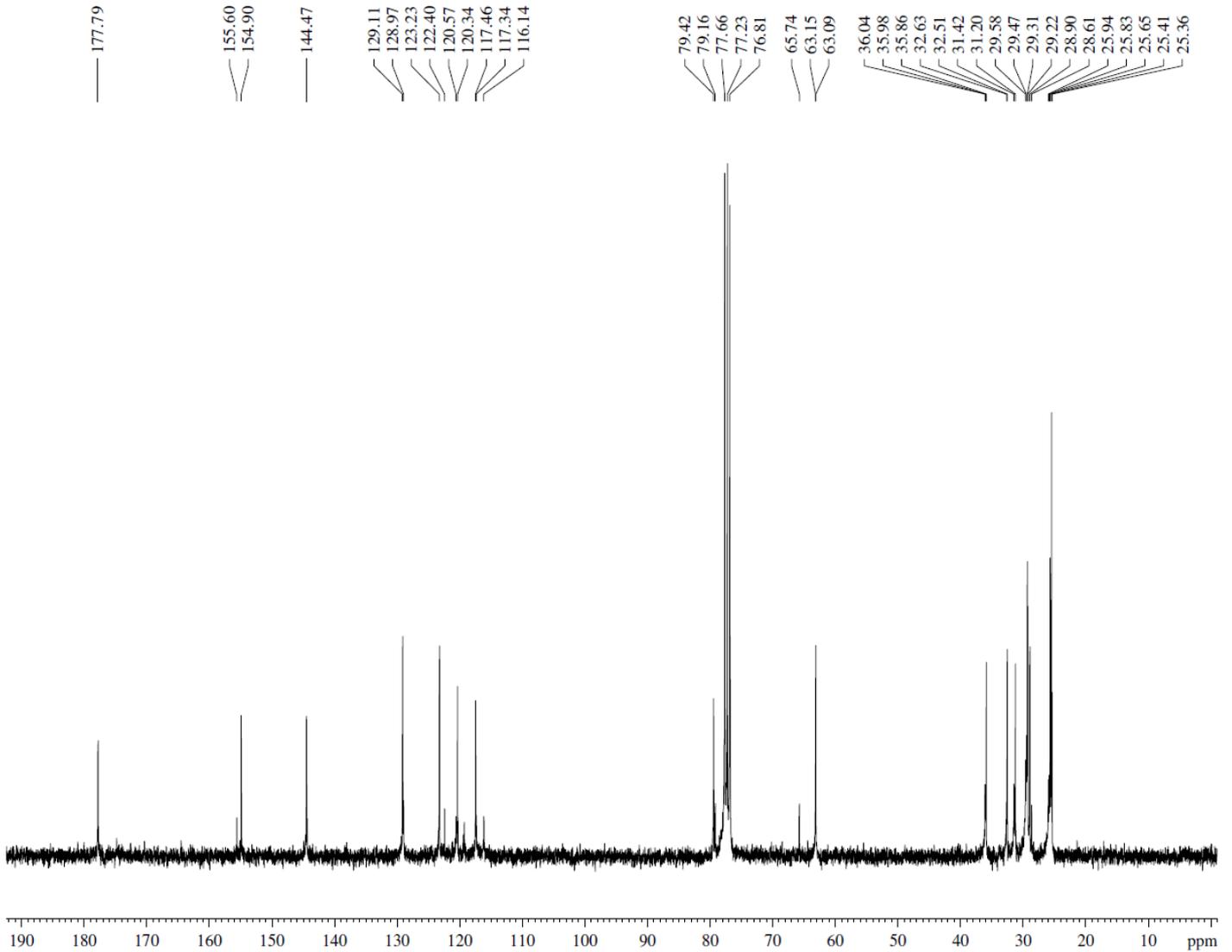
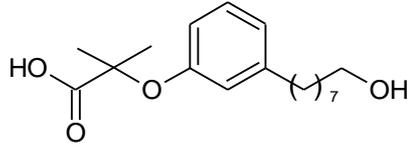
**ANEXO 51** – Espectro no infravermelho ( $\text{cm}^{-1}$ , KBr):  
2-(3-(8-Hidróxiocetil)fenóxi)-2-metilpropanoato de etila (LDT476, **33**)



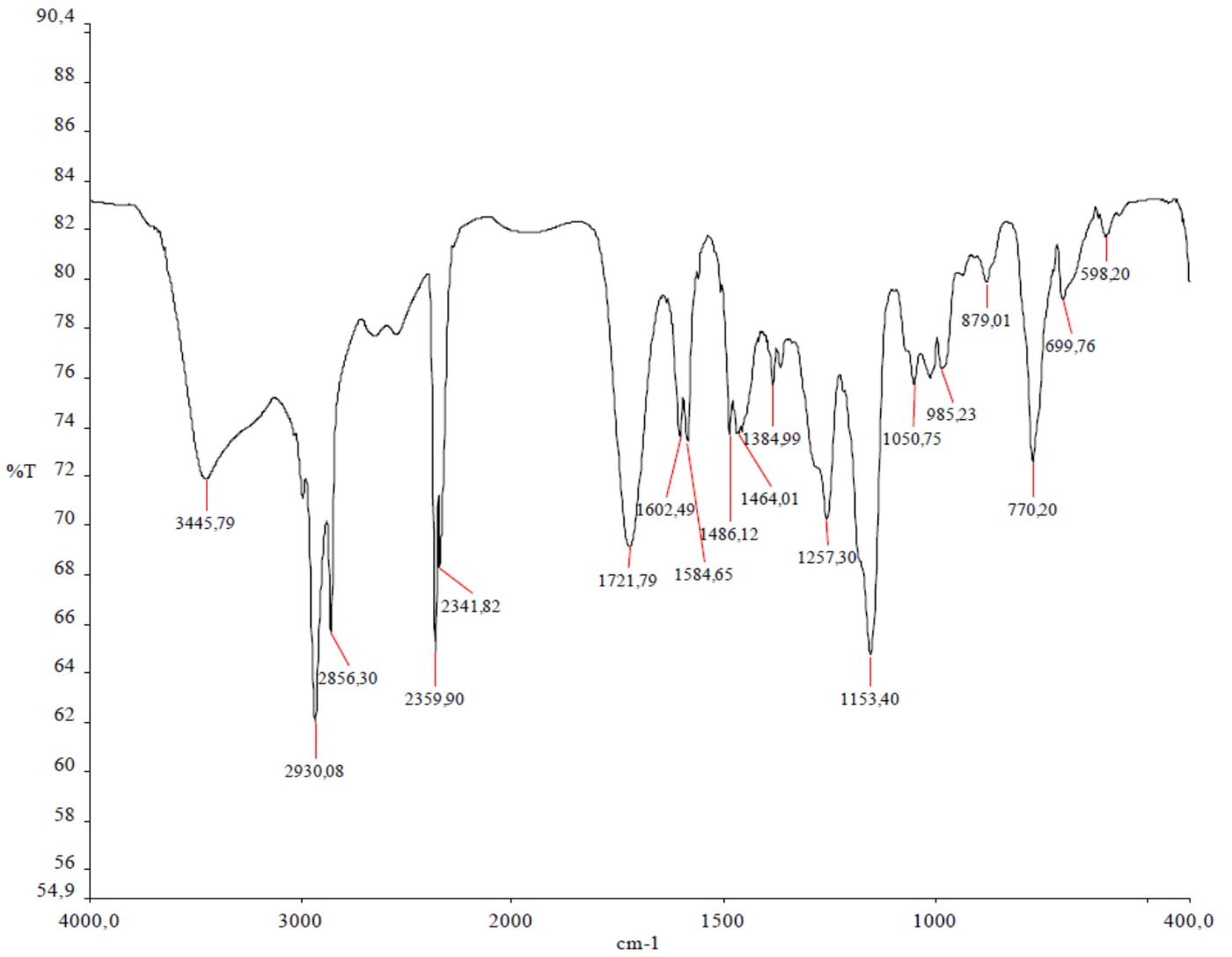
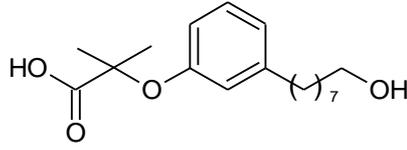
**ANEXO 52** – Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  
 Ácido 2-[3-(8-Hidróxiocil)fenóxi]-2-metilpropanóico (LDT477, **34**)



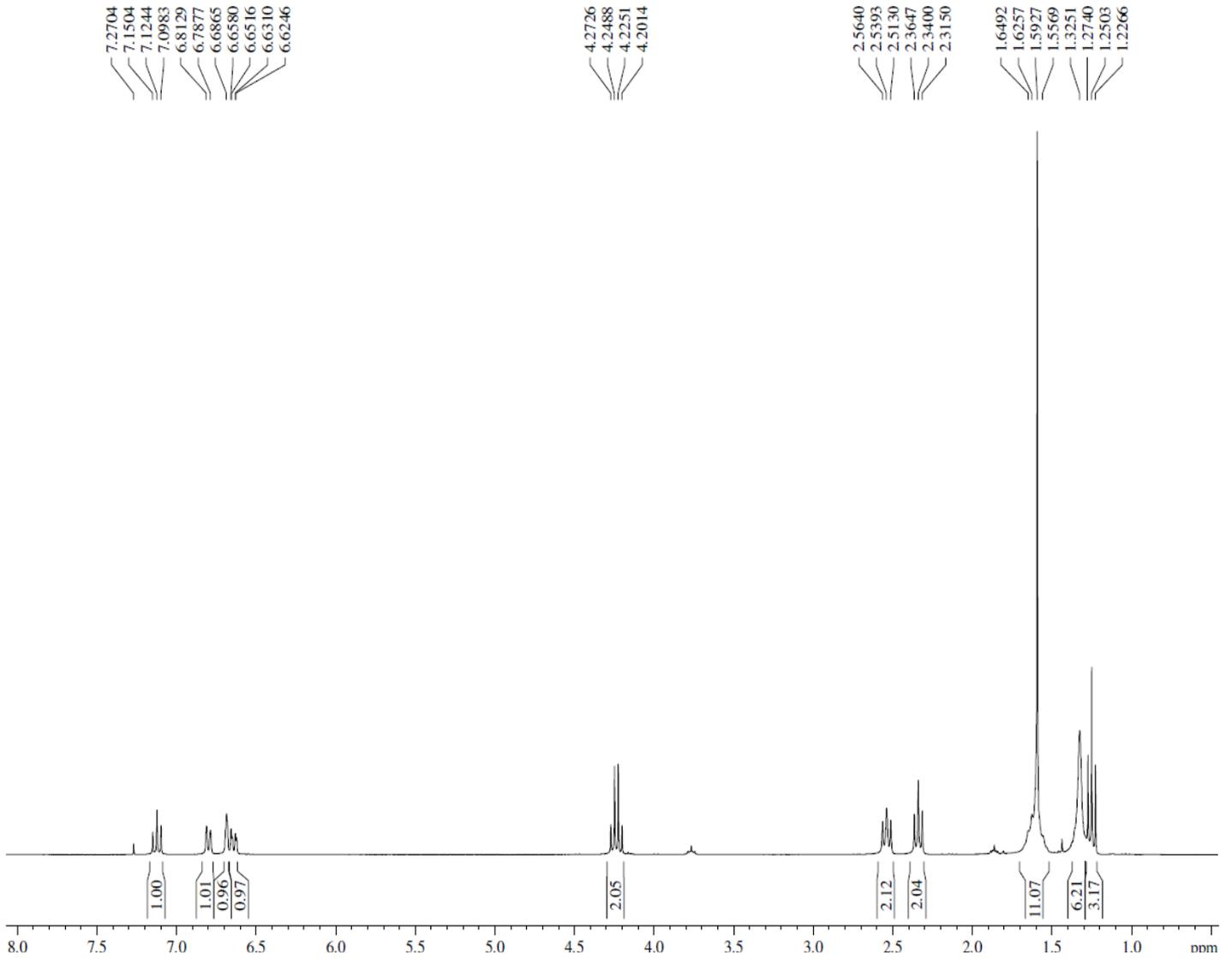
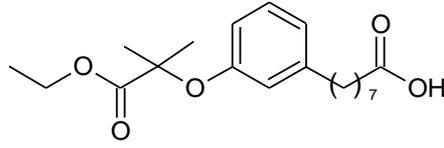
**ANEXO 53** – Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  
 Ácido 2-[3-(8-Hidróxiocil)fenóxi]-2-metilpropanóico (LDT477, **34**)



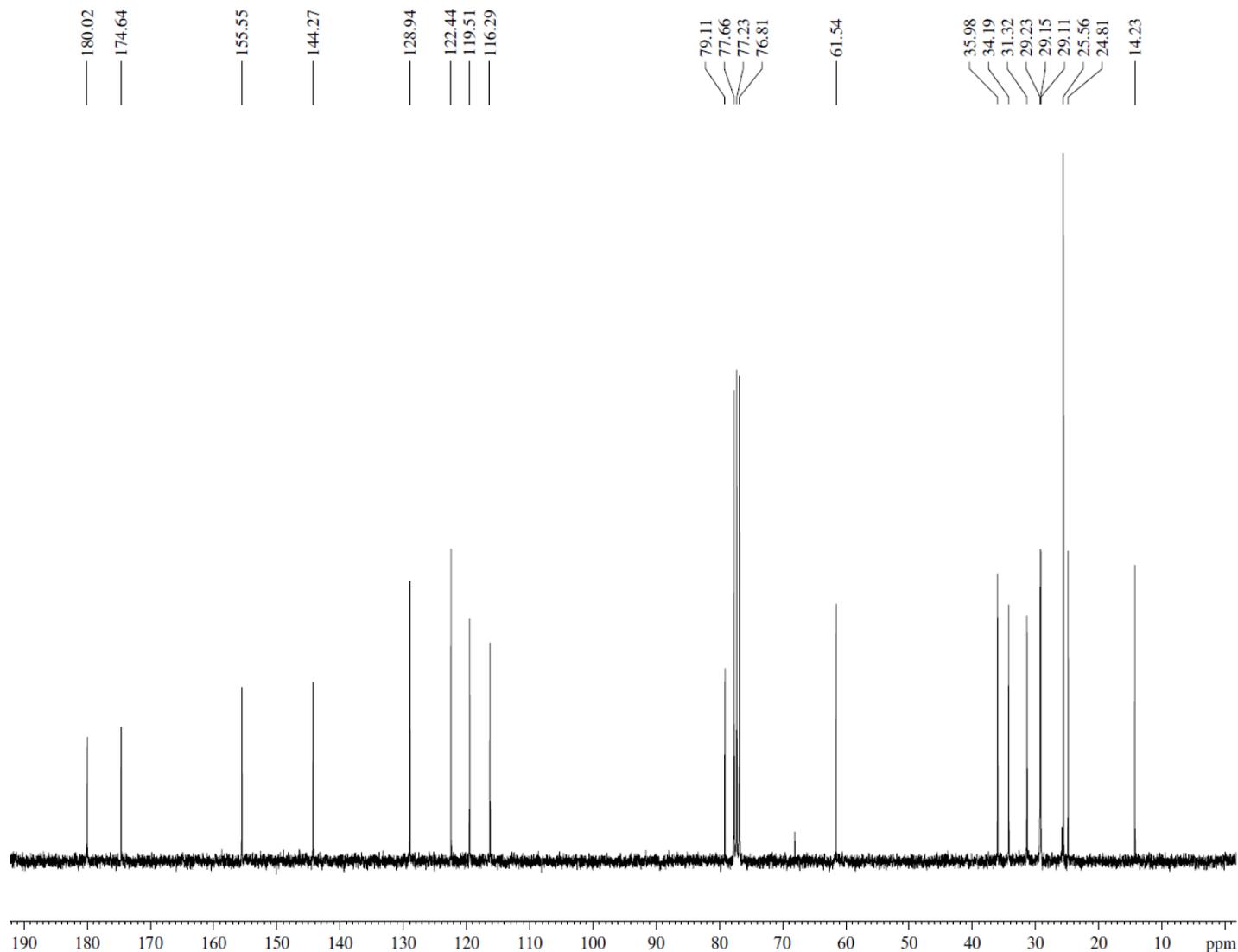
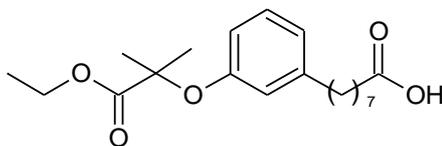
**ANEXO 54** – Espectro no infravermelho ( $\text{cm}^{-1}$ , KBr):  
Ácido 2-[3-(8-Hidróxiocetil)fenóxi]-2-metilpropanóico (LDT477, **34**)



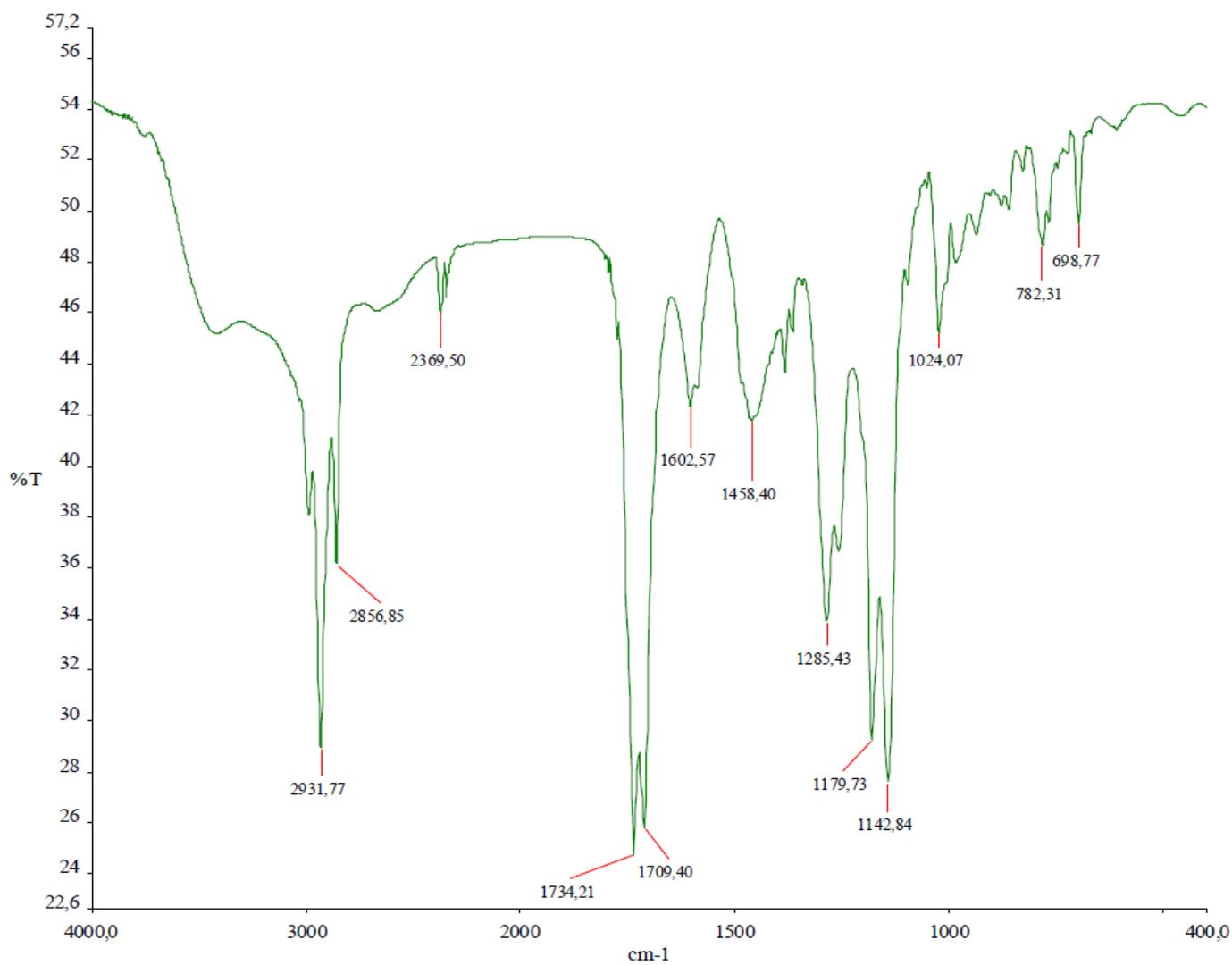
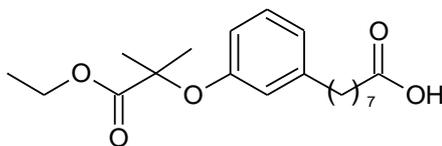
**ANEXO 55** – Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  
 Ácido 8-(3-((1-Etóxi-2-metil-1-oxopropan-2-il)óxi)fenil)octanóico (**LDT478**, **35**)



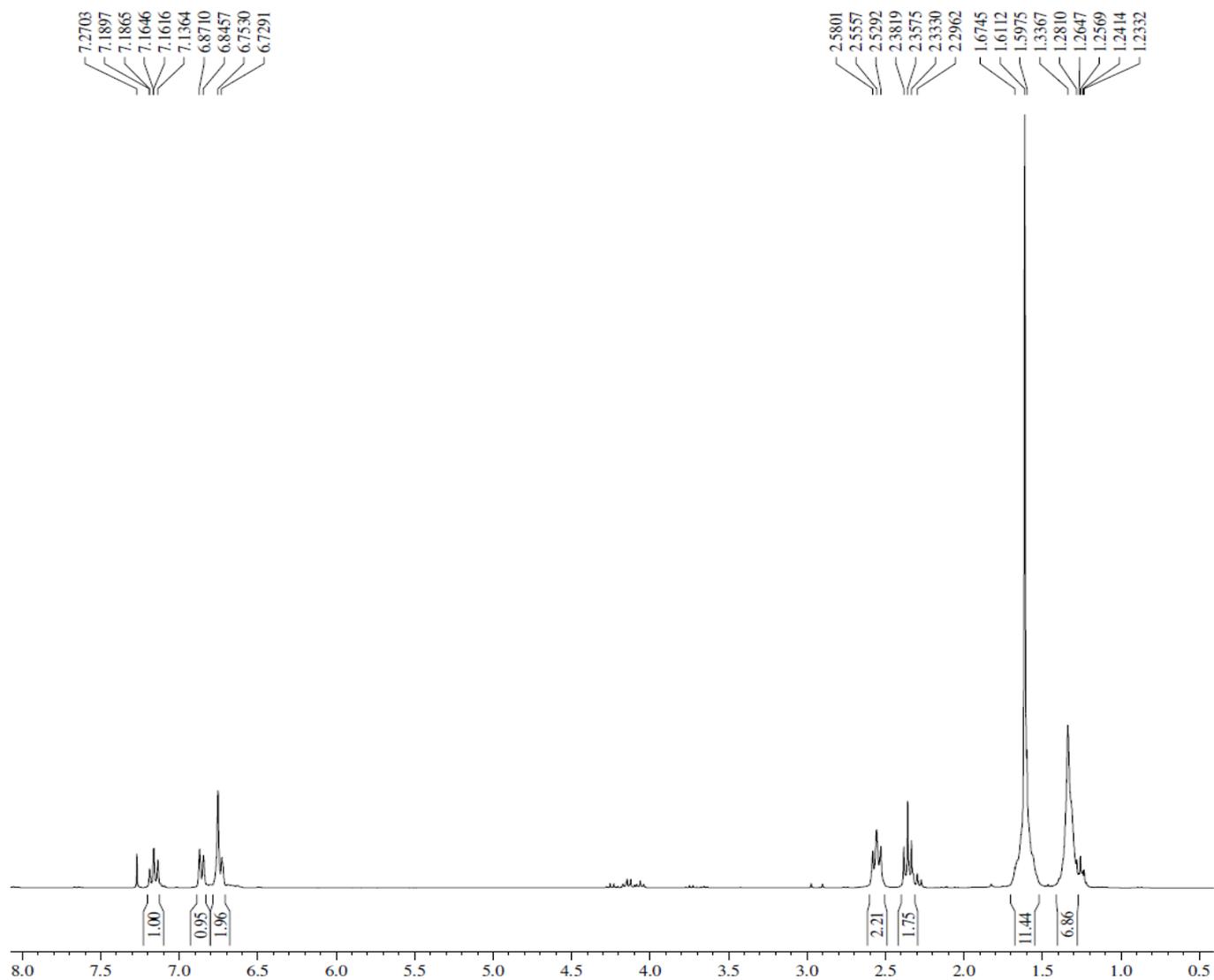
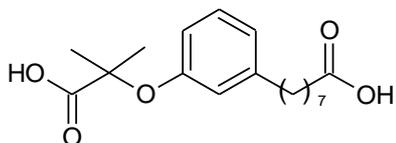
**ANEXO 56** – Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  
Ácido 8-(3-((1-Etóxi-2-metil-1-oxopropan-2-il)óxi)fenil)octanóico (LDT478, **35**)



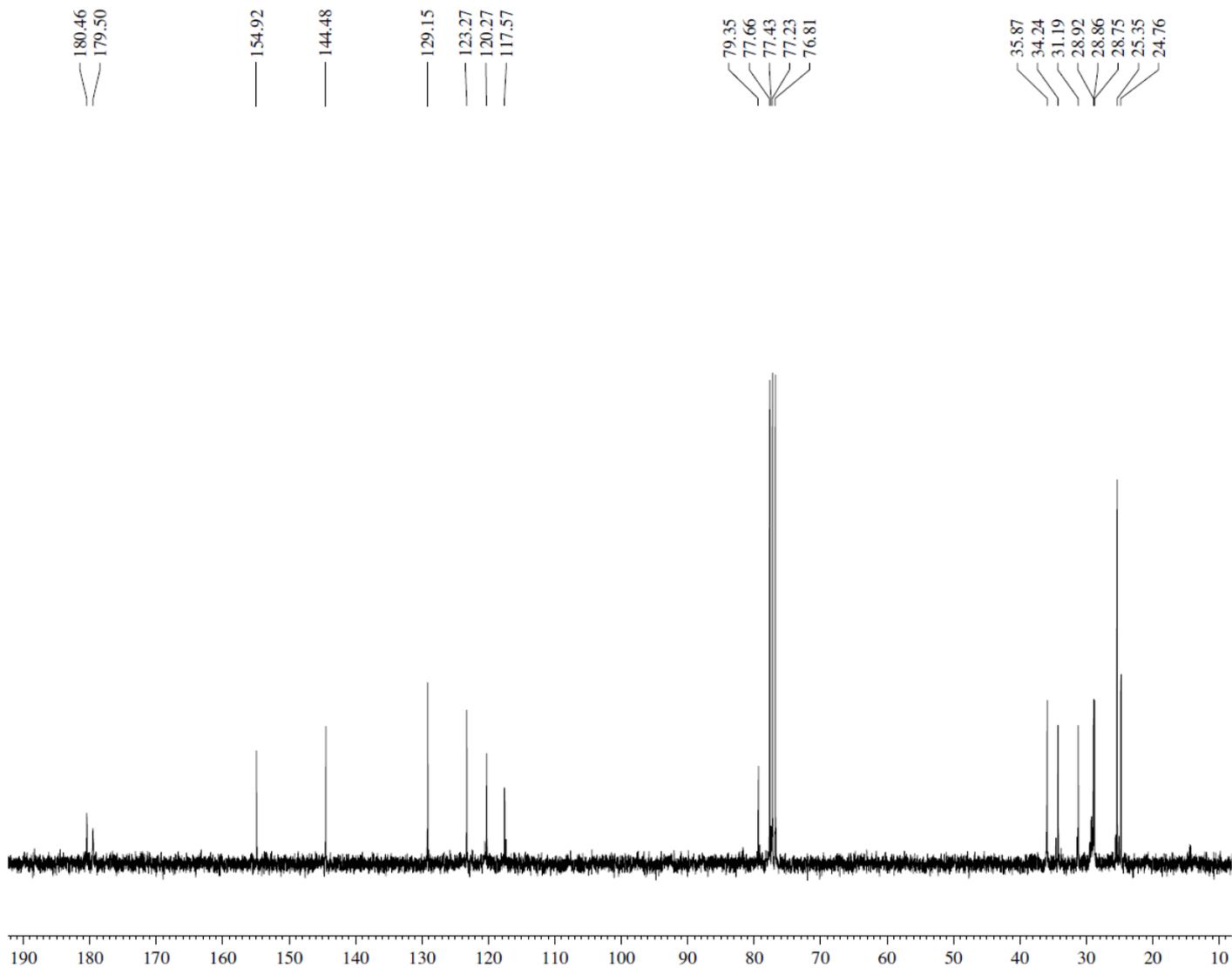
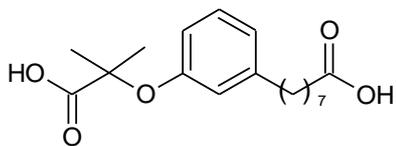
**ANEXO 57 – Espectro no infravermelho (cm<sup>-1</sup>, KBr):**  
**Ácido 8-(3-((1-Etóxi-2-metil-1-oxopropan-2-il)óxi)fenil)octanóico (LDT478, 35)**



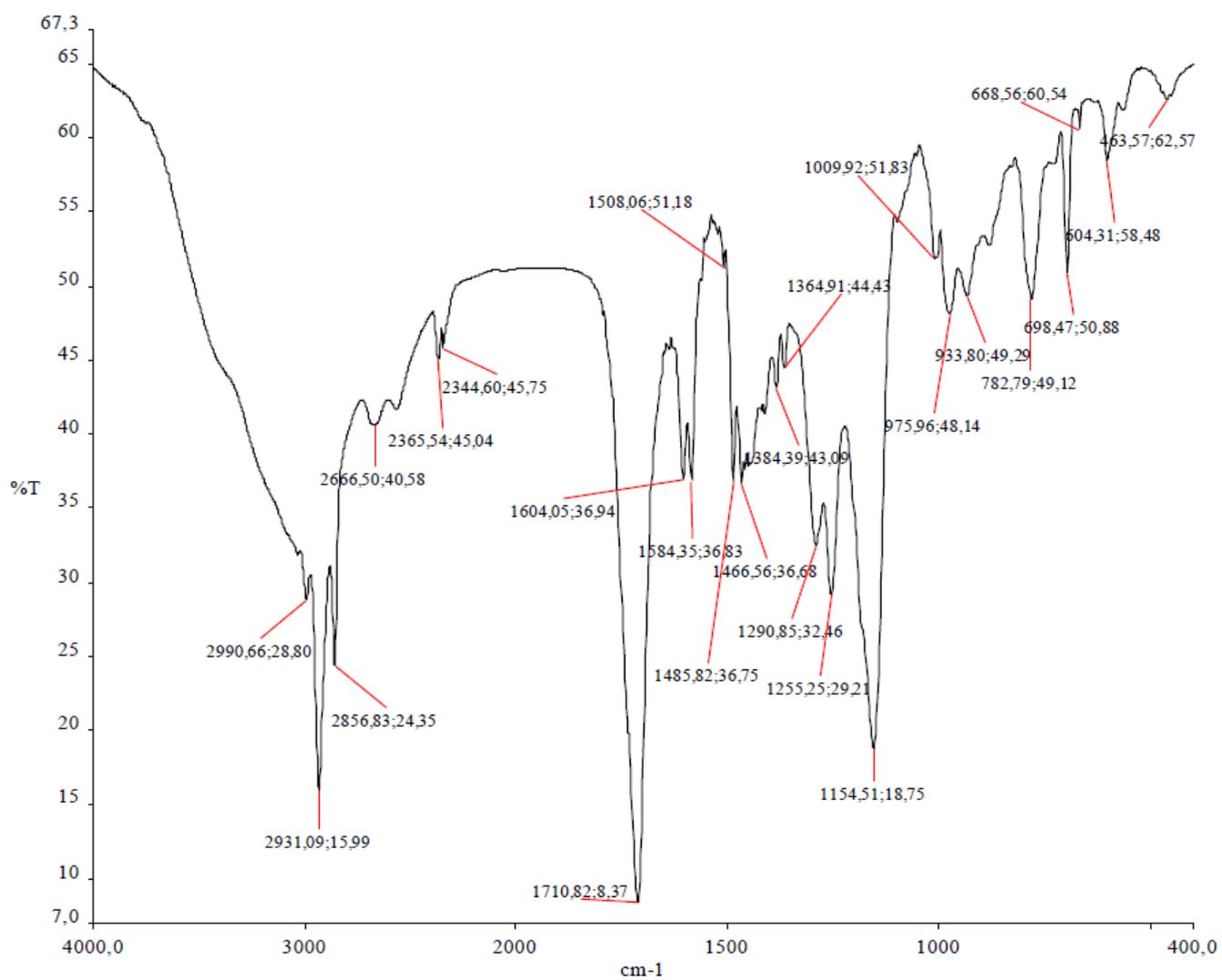
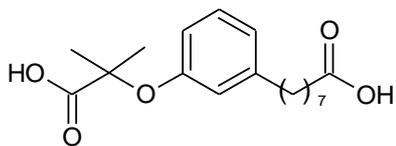
**ANEXO 58** – Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  
Ácido 8-{3-[2-Carbóxiopropan-2-il]oxi}fenil}octanóico (**LDT479**, **36**)



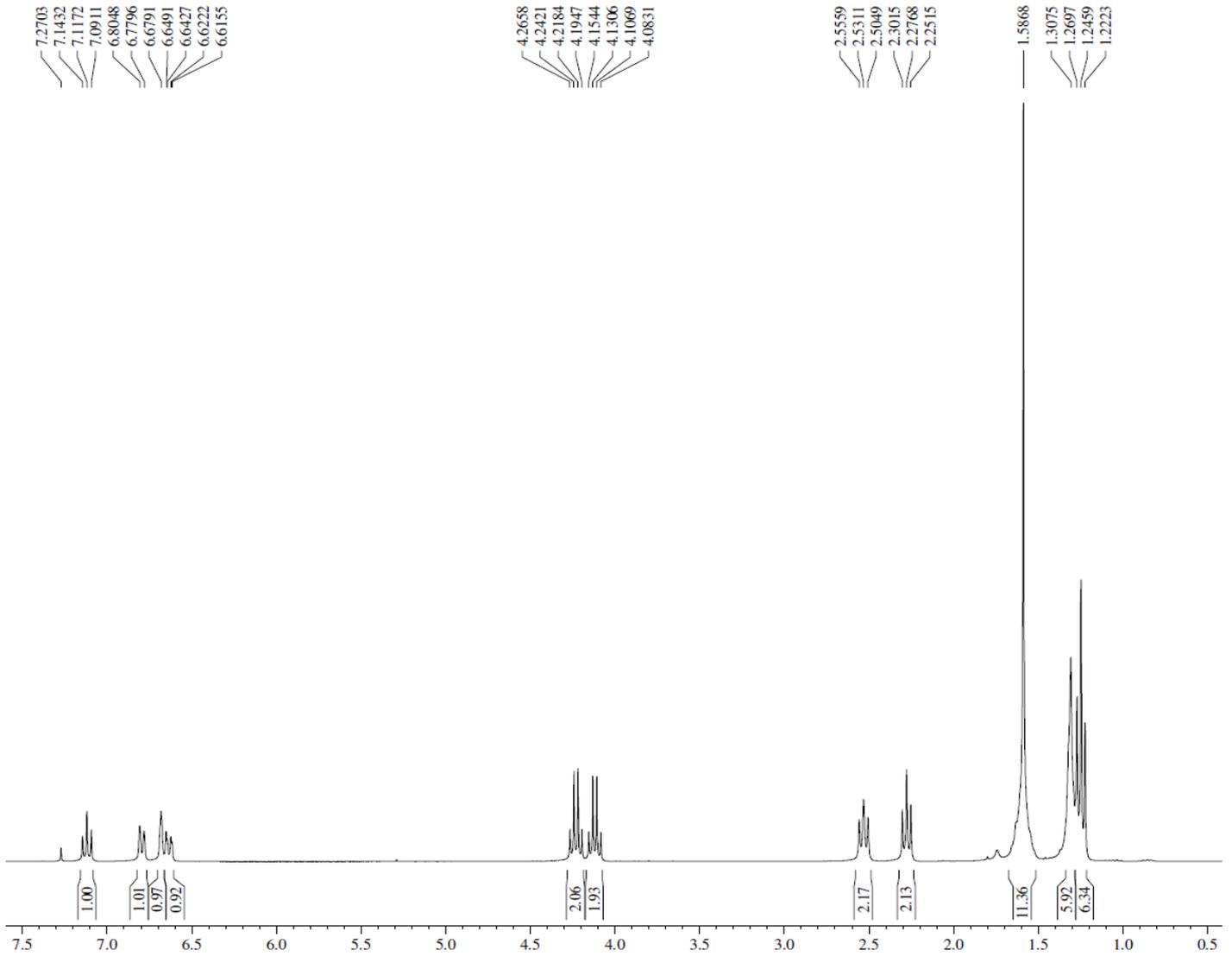
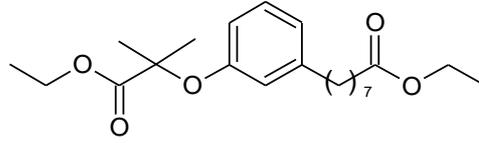
**ANEXO 59** – Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  
Ácido 8-{3-[2-Carbóxiopropan-2-il]oxi}fenil}octanóico (**LDT479**, **36**)



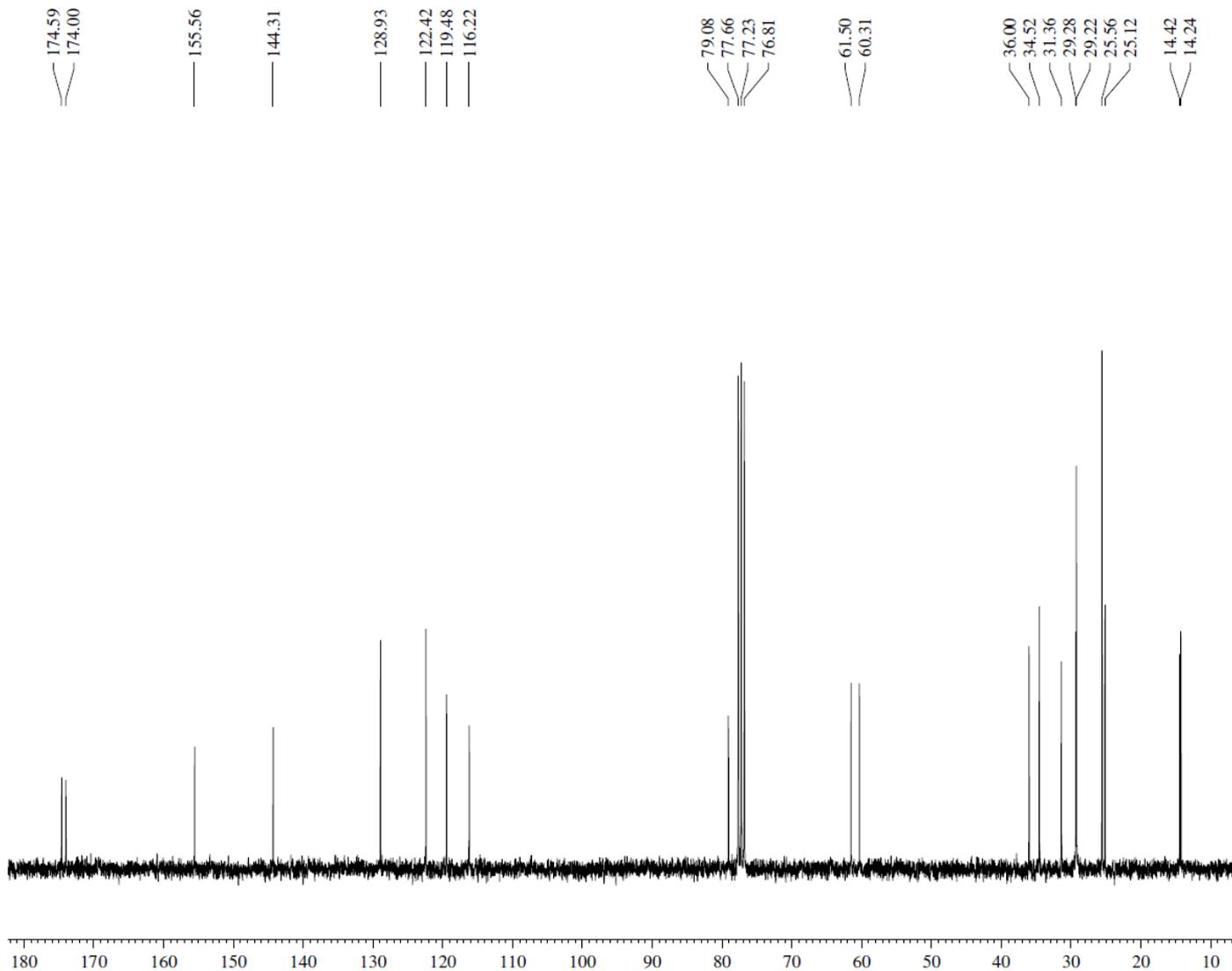
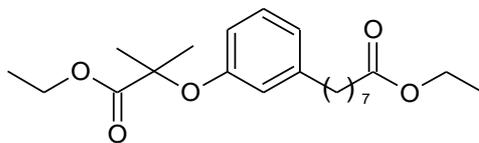
**ANEXO 60** – Espectro no infravermelho ( $\text{cm}^{-1}$ , KBr):  
 Ácido 8-{3-[2-Carbóxiopropan-2-il]oxi}fenil}octanóico (**LDT479, 36**)



**ANEXO 61** – Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  
8-(3-((1-Etóxi-2-metil-1-oxopropan-2-il)óxi)fenil)octanoato de etila (LDT481, **37**)



**ANEXO 62** – Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  
8-(3-((1-Etóxi-2-metil-1-oxopropan-2-il)óxi)fenil)octanoato de etila (LDT481, **37**)



**ANEXO 63 – Espectro no infravermelho (cm<sup>-1</sup>, KBr):**  
**8-(3-((1-Etóxi-2-metil-1-oxopropan-2-il)óxi)fenil)octanoato de etila (LDT481, 37)**

