

PRISCILLA SOUZA ALVES

SÍNTESE E AVALIAÇÃO BIOLÓGICA DE NOVOS AGENTES ANTI-  
INFLAMATÓRIOS PLANEJADOS A PARTIR DO ÁCIDO ANACÁRDICO

BRASÍLIA, 2015

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

PRISCILLA SOUZA ALVES

SÍNTESE E AVALIAÇÃO BIOLÓGICA DE NOVOS AGENTES ANTI-  
INFLAMATÓRIOS PLANEJADOS A PARTIR DO ÁCIDO ANACÁRDICO

Dissertação apresentada como requisito parcial para a  
obtenção do Título de Mestre em Ciências da Saúde  
pelo Programa de Pós-Graduação em Ciências da  
Saúde da Universidade de Brasília.

ORIENTADOR: LUIZ ANTONIO SOARES ROMEIRO

BRASÍLIA  
2015

PRISCILLA SOUZA ALVES

SÍNTESE E AVALIAÇÃO BIOLÓGICA DE NOVOS AGENTES ANTI-  
INFLAMATÓRIOS PLANEJADOS A PARTIR DO ÁCIDO ANACÁRDICO

Dissertação apresentada como requisito parcial para a  
obtenção do Título de Mestre em Ciências da Saúde  
pelo Programa de Pós-Graduação em Ciências da  
Saúde da Universidade de Brasília.

Aprovado em 24 de Fevereiro de 2015

Banca Examinadora

**Prof. Dr. Luiz Antonio Soares Romeiro**

Universidade de Brasília – UnB

**Profa. Dra. Kelly Grace Magalhães**

Universidade de Brasília – UnB

**Prof. Dr. Ângelo Henrique de Lira Machado**

Universidade de Brasília – UnB

**Profa. Dra. Angélica Amorim Amato**

Universidade de Brasília – UnB

*Esta dissertação é dedicada aos meus maiores incentivadores: aos meus pais, Luis e Tânia, aos meus irmãos Sarah, Pedro e Patrícia e ao meu namorado Jeovah.*

## AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, por me conduzir até aqui, por fazer acontecer a Sua vontade em minha vida. Aos meus pais Luis Antonio e Tânia e irmãos Sarah, Pedro e Patrícia por me incentivarem em todos os momentos e serem responsáveis pela pessoa que hoje me tornei. A Jeovah pelo imensurável amor, apoio e estímulo.

Ao Prof. Luiz Romeiro pela dedicação para com seus orientandos, pelas oportunidades a nós concedidas e por sempre me inspirar a seguir o caminho de pesquisa no âmbito da Química Medicinal. Aos amigos de bancada Aline, Andressa, Fellipe, Giselle e Thaís por tornarem a caminhada mais agradável e por toda ajuda oferecida na realização desse trabalho.

À Prof. Silvia Alcanfor e Margareth Amaral responsáveis pela Central Analítica da Universidade Católica de Brasília (UCB) pela realização dos espectros no Infravermelho (IV) e pesagem das amostras. Ao Prof. Edilberto Silveira e Dr. 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  $^{13}\text{C}$ .

A Abdellah Allali-Hassani e Prof. Masoud Vedadi do Structural Genomics Consortium (SGC) e à Prof. Dra. Carolyn Cummins e Lilia Magomedova do Nuclear Hormone Receptors in Human Health and Disease da Universidade de Toronto pela realização dos ensaios biológicos.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoas de Nível Superior (Capes) pela concessão de bolsa de estudos e ao CNPq pelo apoio financeiro.

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

## RESUMO

ALVES, Priscilla Souza. **Síntese e Avaliação Biológica de Novos Agentes Anti-inflamatórios Planejados a Partir do Ácido Anacárdico**. Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde) – Faculdade de Saúde. Universidade de Brasília, Brasília, 2015.

A doença de Crohn (DC) é uma doença inflamatória intestinal, cujo processo inflamatório transmural e segmentar pode acometer qualquer parte do trato gastrointestinal. Embora a etiologia da DC ainda não tenha sido completamente estabelecida, a maioria dos estudos converge para a associação de vários fatores, dentre os quais destacam-se a desregulação do sistema imune. Neste contexto, este trabalho descreve o planejamento, a síntese e a avaliação biológica de novos compostos inibidores da atividade de p300 e agonistas PPAR- $\alpha$  e PPAR- $\gamma$  como potencial estratégia multialvo para o tratamento da DC, assim como para o tratamento de outras patologias inflamatórias. A partir do ácido anacárdico, um lipídeo fenólico do líquido da casca da castanha de caju com atividade anti-inflamatória, foram sintetizados 30 derivados-alvo em rendimentos que variaram de 35% a 98%. A avaliação da atividade biológica *in vitro* dos compostos-alvo frente à enzima p300 revelou que os derivados ácidos LDT11 (**16**), LDT13 (**17**) e LDT30 (**20**) foram capazes de inibir mais de 50% da atividade enzimática na concentração de 50  $\mu$ M, apresentando IC<sub>50</sub> de 3,0  $\mu$ M (**16** e **17**) e 10,0  $\mu$ M (**20**). Os estudos preliminares do perfil frente a PPAR- $\alpha$  e PPAR- $\gamma$  foram finalizados para a primeira série. Os valores de EC<sub>50</sub> variaram de 1,5  $\mu$ M a 32,0  $\mu$ M para PPAR- $\alpha$ . e 12,4  $\mu$ M, 12,1  $\mu$ M, respectivamente. Considerando PPAR- $\gamma$ , os derivados LDT11 (**16**) e LDT13 (**17**) mostraram-se equipotentes com EC<sub>50</sub> em torno de 12,0  $\mu$ M. As análises SAR evidenciaram o íon carboxilato e acceptor de ligação de hidrogênio como grupos farmacofórico e moduladores reconhecimento molecular e ativação de ambos PPAR- $\alpha$  e PPAR- $\gamma$ , bem como inibição de p300. O planejamento de novos derivados, a otimização dos rendimentos das reações, bem como a avaliação de todas as séries frente à inibição NF- $\kappa$ B *in vitro* e posteriormente em modelos de colite *in vivo* constituem as perspectivas deste trabalho.

Palavras chave: Doença de Crohn; p300; PPAR; LCC; Ácido Anacárdico

## ABSTRACT

ALVES, Priscilla Souza. Synthesis and Biological Evaluation of New Anti-inflammatory Compounds Designed from Anacardic Acid. Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde) – Faculdade de Saúde. Universidade de Brasília, Brasília, 2015.

Crohn's disease is an inflammatory bowel disease, whose transmural and segmental inflammatory process can affect any part of gastrointestinal tract. Although aetiology is unknown, most studies converge to an interplay of many factors, including a deregulated immune system. In this context, this work describes the design, synthesis and biological evaluation of new p300 inhibitors also PPAR- $\alpha$  and PPAR- $\gamma$  agonists as a multi-target strategy for the treatment of Crohn's disease and also of others inflammatory pathologies. From anacardic acid, an anti-inflammatory phenolic lipid of the cashew nutshell liquid, were synthesized 30 derivatives in yields ranging from 35% to 98%. The *in vitro* evaluation of p300 inhibition profile showed that the acids derivatives LDT11 (**16**), LDT13 (**17**) and LDT30 (**20**) were able to inhibit over than 50% of enzymatic activity at the concentration of 50  $\mu$ M, with  $IC_{50}$  of 3.0  $\mu$ M (**16** and **17**) and 10.0  $\mu$ M (**20**). Preliminary studies about the PPAR activation profile were concluded to the first serie, with  $EC_{50}$  ranging from 1.5-32.0  $\mu$ M to PPAR- $\alpha$ . Considering PPAR- $\gamma$ , LDT11 (**16**) and LDT13 (**17**) also showed potent  $EC_{50}$  around 12.0  $\mu$ M. SAR studies exhibited carboxylate ion and hydrogen bond acceptor as pharmacophoric groups and molecular recognition modulators for PPAR- $\alpha$ /PPAR- $\gamma$  activation and p300 inhibition. This work's perspectives include new derivatives design, reaction yields optimization and the evaluation of NF- $\kappa$ B inhibition *in vitro* and posteriorly *in vivo* colitis models.

Key words: Crohn's disease; p300; PPAR; LCC; Anacardic Acid

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1:</b>	Classificação de Montreal	20
<b>Figura 2:</b>	Sistema imunológico na doença de Crohn	26
<b>Figura 3:</b>	Vias de sinalização do NF- $\kappa$ B	29
<b>Figura 4:</b>	Modulação da expressão gênica por PPAR- $\beta/\delta$	32
<b>Figura 5:</b>	Modulação da expressão gênica por PPAR- $\alpha$ e PPAR- $\gamma$	33
<b>Figura 6:</b>	Inibidores HAT relatados na literatura: naturais – garcinol, curcumina e ácido anacárdico – e sintético – Lys-CoA, análogo do substrato da HAT Acetil-CoA	35
<b>Figura 7:</b>	Principais fármacos utilizados para o tratamento da doença de Crohn	36
<b>Figura 8:</b>	Principais componentes do líquido da casca da castanha de caju	39
<b>Figura 9:</b>	Prováveis mecanismos de ação do ácido anacárdico e seus derivados na inibição de HAT	40
<b>Figura 10:</b>	Principais sítios de reação do ácido anacárdico	41
<b>Figura 11:</b>	Planejamento racional de novos derivados anti-inflamatórios	45
<b>Figura 12:</b>	Numeração e legendas empregadas no assinalamento de sinais em RMN $^1\text{H}$ e RMN $^{13}\text{C}$	51
<b>Figura 13:</b>	Derivados-alvo sintetizados a partir do ácido anacárdico	84
<b>Figura 14:</b>	Atividade inibitória frente à enzima p300 dos compostos da série da série acetóxi, hidróxi e metoxiácidos ou metil ésteres	102
<b>Figura 15:</b>	Derivados LDT10 ( <b>46</b> ), LDT12 ( <b>47</b> ) e LDT27 ( <b>48</b> )	103
<b>Figura 16:</b>	Sítio ativo da p300 com Acetil-CoA	104
<b>Figura 17:</b>	Ancoragem de LDT13 ( <b>17</b> ) no LBD de PPAR- $\alpha$	106
<b>Figura 18:</b>	Ancoragem de LDT11 ( <b>16</b> ) no LBD de PPAR- $\gamma$	107

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1:</b>	Principais diferenças entre doença de Crohn e colite ulcerativa	17
<b>Tabela 2:</b>	Principais deslocamentos químicos de RMN $^1\text{H}$ e RMN $^{13}\text{C}$ e no infravermelho (IV) para a caracterização da série dos derivados 2-acetóxi, hidróxi e metóxiácidos ou metil ésteres	90
<b>Tabela 3:</b>	Principais deslocamentos químicos de RMN $^1\text{H}$ e RMN $^{13}\text{C}$ para a caracterização das 2'-metóxiâmidas	92
<b>Tabela 4:</b>	Principais deslocamentos químicos de RMN $^1\text{H}$ e RMN $^{13}\text{C}$ para a caracterização das 2'-hidroxiamidas	93
<b>Tabela 5:</b>	Principais deslocamentos químicos de RMN $^1\text{H}$ e RMN $^{13}\text{C}$ para a caracterização das 2'-acetóxiâmidas	94
<b>Tabela 6:</b>	Principais deslocamentos químicos de RMN $^1\text{H}$ e RMN $^{13}\text{C}$ para a caracterização dos 2'-metoxiésteres	96
<b>Tabela 7:</b>	Principais deslocamentos químicos de RMN $^1\text{H}$ e RMN $^{13}\text{C}$ para a caracterização dos 2'-hidroxiésteres.	97
<b>Tabela 8:</b>	Principais deslocamentos químicos de RMN $^1\text{H}$ e RMN $^{13}\text{C}$ para a caracterização dos 2'-acetoxiésteres	98
<b>Tabela 9:</b>	Características químicas, rendimentos e ponto de fusão da série acetóxi, hidróxi e metoxiácidos ou metil ésteres	100
<b>Tabela 10:</b>	Características químicas, rendimentos e ponto de fusão dos derivados da série dos derivados amídicos	100
<b>Tabela 11:</b>	Características químicas, rendimentos e ponto de fusão dos derivados da série dos derivados ésteres	101
<b>Tabela 12:</b>	Valores de $\text{IC}_{50}$ para os derivados <b>16-21</b>	103
<b>Tabela 13:</b>	Valores de $\text{EC}_{50}$ para os derivados <b>16-21</b>	107

## LISTA DE ESQUEMAS

- Esquema 1:** Planejamento sintético dos derivados 2-acetóxi, hidróxi e metoxiácidos ou metil ésteres 47
- Esquema 2:** Planejamento sintético dos derivados 2'-acetóxi, hidróxi e metóxiâmidas e ésteres 48

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

5-ASA:	Ácido 5-aminossalicílico
AINE:	Anti-inflamatório não esteroidal
ALH:	Aceptor de ligação de hidrogênio
BAFF:	Fator ativador de células B
CARD15:	Proteína 15 do domínio de recrutamento da caspase
CBP:	<i>CRB-binding protein</i>
CCD:	Cromatografia em camada delgada
CEI:	Célula epitelial intestinal
COX:	Ciclo-oxigenase
C-terminal:	Carbóxi terminal
DBD:	Domínio de ligação ao DNA
DC:	Doença de Crohn
DCM:	Diclorometano
DII:	Doenças inflamatórias intestinais
DMEM:	Dulbecco's modified Eagle's medium
DMF:	Dimetilformamida
DMSO:	Dimetilsufóxido
DNA:	Ácido desoxirribonucleico
EC <sub>50</sub> :	Concentração da droga requerida para adquirir 50% do efeito máximo
FM:	Fórmula molecular
HAT:	Histona acetiltransferase
HDAC:	Histona desacetilase
IC <sub>50</sub> :	Concentração requerida para adquirir 50% do efeito inibitório máximo
IFN- $\gamma$ :	Interferon gama
IKK:	Complexo da kinase I $\kappa$ B
IL:	Interleucina
IV:	Infravermelho
I $\kappa$ B:	<i>Inhibitor of nuclear factor <math>\kappa</math>B</i>
LBD:	Domínio de ligação ao ligante
LCC:	Líquido da casca da castanha de caju
LPS:	Lipopolissacarídeo

LT $\beta$ :	Linfotoxina B
MAP:	<i>Mycobacterium avium paratuberculosis</i>
MDP:	Muramildipeptídeo
MM:	Massa molar
MO:	Micro-ondas
NEMO:	Modificador essencial do NF- $\kappa$ B
NES:	Sequências nucleares de exportação
NF- $\kappa$ B:	Fator de transcrição nuclear kappa B
NIK:	<i>NF-<math>\kappa</math>B inducing kinase</i>
NLR:	Receptores do tipo NOD
NLS:	sequência de localização nuclear
NOD-2:	Domínio de oligomerização nucleotídea 2
N-terminal:	Amino terminal
PCC:	Piridínio Cloro Cromato
PF:	Ponto de fusão
PPAR:	Receptor ativado por proliferador peroxissômico
PPRE:	Elementos responsivos ao PPAR
PRR:	Receptor de reconhecimento de padrão
PSA:	Área de superfície polar
Rf:	Fator de retenção
RHD:	Domínio de homologia Rel
RMN $^{13}\text{C}$ :	Ressonância magnética nuclear de carbono 13
RMN $^1\text{H}$ :	Ressonância magnética nuclear de hidrogênio
RXR:	Receptor X retinóico
SAR:	Relação estrutura-atividade
Ser:	Serina
TAD:	Domínio de ativação transcricional
TEA:	Trietilamina
TGI:	Trato gastrointestinal
Th:	Célula T <i>helper</i>
THF:	Tetraidrofurano
TLR:	Receptor do tipo <i>toll like</i>
TMS:	Tetrametilsilano
TNF- $\alpha$ :	Fator de necrose tumoral alfa

UC: Colite ulcerativa

VCAM-1: *Vascular cell adhesion protein 1*

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	16
1.1 DOENÇAS INFLAMATÓRIAS INTESTINAIS .....	17
1.2 DOENÇA DE CROHN .....	18
1.3 ASPECTOS CLÍNICOS DA DOENÇA DE CROHN .....	19
1.4 ETIOPATOGÊNESE DA DOENÇA DE CROHN .....	21
<b>1.4.1 Fatores genéticos</b> .....	21
<b>1.4.2 Barreira epitelial e tolerância oral</b> .....	22
<b>1.4.3 Fatores ambientais</b> .....	24
<b>1.4.4 Fatores imunológicos</b> .....	25
1.5 ALVOS FARMACOLÓGICOS .....	27
<b>1.5.1 Fator nuclear kappa B</b> .....	27
<b>1.5.2 Receptores ativados por proliferadores peroxissomais</b> .....	30
<b>1.5.3 p300</b> .....	34
1.6 TRATAMENTO DA DOENÇA DE CROHN .....	35
1.7 DERIVADOS DO LCC .....	38
<b>1.7.1 Ácido anacárdico</b> .....	39
<b>2 OBJETIVOS</b> .....	43
2.1 OBJETIVO GERAL .....	43
<b>2.1.1 Objetivos específicos</b> .....	43
<b>3 PLANEJAMENTO ESTRUTURAL</b> .....	45
<b>4 PLANEJAMENTO METODOLÓGICO</b> .....	47
4.1 ESTRATÉGIAS SINTÉTICAS .....	47
<b>5 PARTE EXPERIMENTAL</b> .....	50
5.1 GENERALIDADES, MATERIAIS E MÉTODOS .....	50
5.2 METODOLOGIA SINTÉTICA E CARACTERIZAÇÃO DOS COMPOSTOS .....	52
<b>5.2.1 Extração de LCC</b> .....	52
<b>5.2.2 Obtenção de Ácidos Anacárdicos a Partir do LCC Natural</b> .....	52
<b>5.2.3 Obtenção do Derivado Ácido 2-Hidróxi-6-pentadecilbenzóico (LDT11, 16)</b> .....	53
<b>5.2.4 Obtenção do Derivado Ácido 2-Acetóxi-6-pentadecilbenzóico (LDT13, 17)</b> .....	54

5.2.5 Obtenção do Derivado 2-Metóxi-6-pentadecilbezoato de metila (LDT28, 18) .....	55
5.2.6 Obtenção do Derivado 2-Hidróxi-6-pentadecilbenzoato de metila (LDT29, 19).....	56
5.2.7 Obtenção do Derivado Ácido 2-Metóxi-6-pentadecilbenzóico (LDT30, 20).....	57
5.2.8 Obtenção do Derivado 2-(Acetóxi)-6-pentadecilbenzoato de metila (LDT208, 21) .....	59
5.2.9 Obtenção dos Derivados Amidas e Ésteres: 2'-Metoxissubstituídos .....	60
5.2.10 Obtenção dos Derivados Amidas e Éster LDT659: 2'-Hidroxissubstituídos.....	67
5.2.11 Obtenção dos Derivados 2'-Metoxiésteres via Brometos de Aralquila .....	71
5.2.12 Obtenção dos Derivados 2'-hidróxiésteres LDT661 (35), LDT663 (36) e LDT665 (37).....	74
5.2.13 Obtenção dos Derivados Amidas e Ésteres: 2'-acetoxissubstituídos.....	76
5.2.14 Avaliação biológica frente à enzima p300 .....	84
5.2.15 Avaliação biológica frente a PPAR- $\alpha$ e PPAR- $\gamma$ .....	84
6 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	87
6.1 SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DOS COMPOSTOS.....	87
6.1.1 Série dos Derivados 2-Acetóxi, hidróxi e metoxiácidos ou metil ésteres .....	87
6.1.2 Série dos Derivados Amídicos .....	91
6.1.3 Série dos Derivados Ésteres .....	95
6.2 PARÂMETROS FÍSICO-QUÍMICOS .....	99
6.3 AVALIAÇÃO BIOLÓGICA E RELAÇÕES ESTRUTURA-ATIVIDADE .....	103
6.3.1 p300 .....	103
6.3.2 PPAR .....	106
7 CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS .....	110
8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	113
9 ANEXOS .....	123



## 1 INTRODUÇÃO

---

As Doenças Inflamatórias Intestinais (DII) correspondem a um grupo de condições clínicas que envolvem inflamação idiopática e crônica do intestino. Entre as DII, destacam-se a Doença de Crohn (DC) e a Colite Ulcerativa (UC), as quais se diferem pelos segmentos do trato gastrointestinal (TGI) acometidos, pelas características inflamatórias e pelas conseqüentes complicações [1, 2, 3].

As DII representam um problema de saúde grave devido às suas complicações clínicas de alta severidade, recidivas frequentes e ocorrência de forma crescente em todo mundo, principalmente em jovens [4]. A incidência das DII, particularmente da DC, cresceu aproximadamente 10 vezes no século passado nos Estados Unidos e Europa [1]. A predominância antes relatada de colite ulcerativa tem diminuído, enquanto que a DC tem se tornado mais prevalente [2]. No Brasil, estudos realizados têm demonstrado uma tendência de aumento do número de diagnósticos de DC entre 1998 e 2008 [5].

O tratamento farmacológico existente para DC não modifica o curso da doença, direcionando-se apenas ao controle dos sintomas por meio de terapias anti-inflamatórias. Embora possuam efeitos benéficos, esses medicamentos apresentam vários efeitos adversos, os quais variam de leves a graves, proporcionando a não adesão ao tratamento e a conseqüente evolução da doença [6]. Neste contexto, estima-se que a maior parte dos indivíduos afetados pela doença necessitará de algum procedimento invasivo, demonstrando que ainda hoje a cirurgia desempenha papel importante para o controle da DC [7]. Portanto, se faz urgentemente necessário o desenvolvimento de novos fármacos anti-inflamatórios que sejam eficazes e com baixa toxicidade para o tratamento de DC [8].

O cajueiro (*Annacardium occidentale L.*), amplamente encontrado no Brasil, fornece uma matéria-prima barata e versátil, do ponto de vista químico. O líquido da casca da castanha de caju (LCC) é rico em compostos fenólicos, dentre eles o mais abundante, ácido anacárdico [9, 10]. O ácido anacárdico (1) está relacionado às propriedades antioxidante, antitumoral, gastroprotetora, antimicrobiana e anti-inflamatória [11, 12]. Desse modo, este derivado natural constitui um importante precursor de moléculas com possíveis atividades biológicas relevantes a serem

avaliadas em modelos experimentais *in vitro* e *in vivo* frente a alvos farmacológicos de interesse.

## 1.1 DOENÇAS INFLAMATÓRIAS INTESTINAIS

De acordo com a Organização Mundial de Gastroenterologia, DII representam um grupo de condições que envolvem inflamação intestinal idiopática e crônica, cuja prevalência mundial atinge 396/100.000 habitantes. Esse termo envolve principalmente a doença de Crohn e a colite ulcerativa. Embora já se saiba que fatores ambientais e genéticos desempenhem papel importante para a desregulação imunitária, a patogênese das DII permanece desconhecida [2, 3].

**Tabela 1** – Principais diferenças entre doença de Crohn e colite ulcerativa

<b>Informações</b>	<b>Doença de Crohn</b>	<b>Colite Ulcerativa</b>
<b>Características clínicas</b>	Diarreia acompanhada de dor abdominal e desnutrição; estomatite; manifestações perianais; massa abdominal; obstrução intestinal; sintomas sistêmicos	Diarreia de pouco volume com urgência, sangue nas fezes
<b>Informações endoscópicas e radiológicas</b>	Inflamação transmural descontínua e assimétrica (segmentar); envolvimento principalmente do íleo e cólon do lado direito; aparência Cobblestone; úlcera longitudinal; fissuras profundas	Inflamação colônica superficial e difusa; envolvimento do reto; presença de erosões e úlceras; sangramento
<b>Informações histopatológicas</b>	Inflamação granulomatosa e transmural	Inflamação difusa na mucosa ou submucosa; distorção Crypt
<b>Marcadores sorológicos</b>	Anticorpos anti- <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Anticorpos anticitoplasma de neutrófilos
<b>Diagnóstico diferencial</b>	Tuberculose intestinal, Doença de Behçet, UC, enteropatia por AINEs, síndrome do intestino irritável, doença celíaca	Colite auto-limitada aguda, colite amébrica, DC, câncer de cólon, síndrome do intestino irritável, tuberculose intestinal, enteropatia por AINEs

As doenças inflamatórias intestinais são doenças intermitentes, cujos sintomas variam de leve a grave nas recaídas, podendo desaparecer ou diminuir durante as remissões. O diagnóstico diferencial entre colite ulcerativa e doença de Crohn se baseia no fato de que para cada segmento do TGI envolvido há um sintoma distinto. A presença de sangue nas fezes e muco ocorre principalmente na colite ulcerativa. Diarreia acompanhada de dor e desnutrição, lesões perianais, obstrução intestinal e massa abdominal são características da doença de Crohn, a qual pode ocasionar sintomas extra-intestinais. As DII podem ser confundidas com outras condições clínicas, como por exemplo, colites infecciosas, colite isquêmica e tuberculose intestinal, fazendo-se necessário um diagnóstico diferencial. As características clínicas, informações endoscópicas e radiológicas, informações histopatológicas, marcadores sorológicos e diagnóstico diferencial da doença de Crohn e colite ulcerativa estão dispostos na Tabela 1 [3, 6, 13, 14].

## 1.2 DOENÇA DE CROHN

A DC é uma doença inflamatória transmural e segmentar do trato gastrointestinal. Devido às manifestações extra-intestinais é considerada como uma doença sistêmica, caracterizada pela presença de ulcerações, fístulas, estenoses e granulomas [7, 14, 15, 16].

O primeiro relato da DC se deu em 1612, quando Gullielmus Fabricius Hildenus descreveu um processo de ulceração e fibrose no ceco da autópsia de um garoto com dor sub-hepática. Somente a partir de 1932 é que essa condição clínica seria denominada doença de Crohn. Na ocasião, dois grupos se uniram para publicação de artigo, fornecendo 14 casos de “ileíte terminal”. Antes de 1920, Ginzburg, A. A. Berg e Oppenheimer coletaram 12 casos caracterizados por estenose hipertrófica e ulcerativa no íleo terminal, que terminam abruptamente na válvula ileocecal. Em 1930, Crohn acompanhou 2 jovens irmãos com processos similares (diarreia, febre, dor abdominal e necessidade de ressecção ileocecal). Embora os créditos do artigo tenham sido dados pelos procedimentos cirúrgicos realizados por Berg, a doença de Crohn foi assim denominada porque o nome de Crohn aparece primeiro na lista de autores [6, 15, 17, 18].

A DC tem apresentado tendência de aumento na sua incidência mundial, o que pode estar relacionado com o aprimoramento das técnicas de diagnóstico ou com um aumento real do número de doentes. A prevalência é maior em áreas urbanas e em classes sociais mais altas. Os sintomas iniciam com maior frequência na segunda e terceira décadas de vida. A incidência mundial da DC varia entre 0,1 e 16 novos casos para cada 100.000 habitantes. As áreas com maiores taxas de incidência são a Escandinávia, Grã-Bretanha e a América do Norte, seguidas pelo Oriente Médio, a África do Sul e a Austrália. A incidência da América do Norte varia entre 3,1 e 14,6 novos casos para cada 100.000 habitantes por ano, sendo a maior no Canadá, 15 novos casos para cada 100.000 pessoas por ano [2, 3, 5, 15].

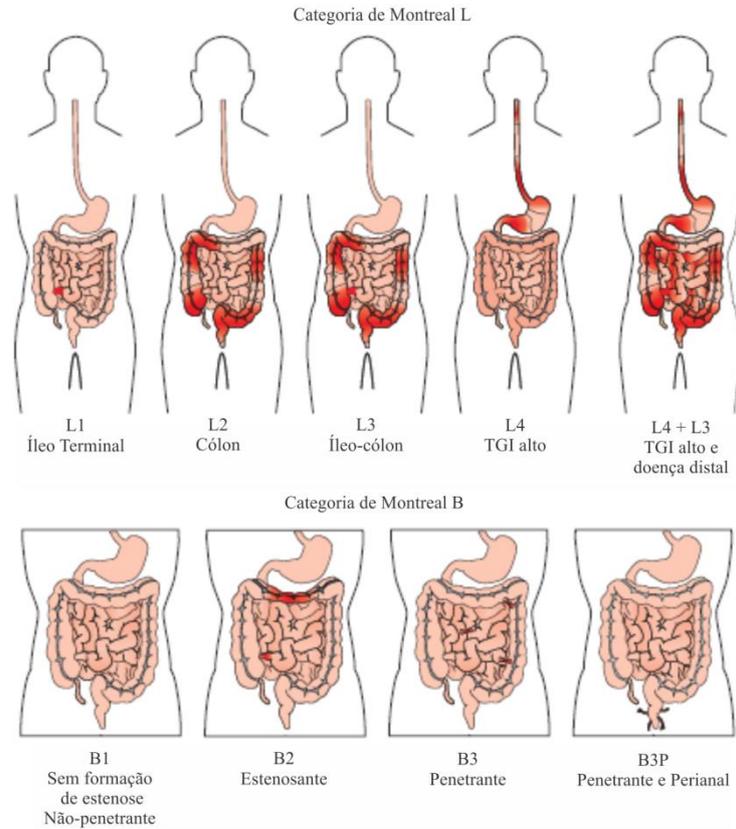
Na América do Sul, há uma tendência crescente do número de casos, com 0,7 de casos novos de DC para cada 100.000 habitantes. Porém, não existem dados epidemiológicos oficiais no Brasil, possivelmente devido às deficiências dos sistemas de registro de dados. Relata-se que houve um aumento de 166% de novos casos do período de 1980-1984 para o período de 1995-1999, no Rio de Janeiro. A incidência na mesma área é de 14,6 casos para cada 100.000 habitantes [2, 4, 19].

Após alguns séculos desde a primeira descrição da doença, a DC tem sido alvo de muitas pesquisas que proporcionaram maior conhecimento acerca dos mecanismos de patogênese. Essas informações permitiram avanços na abordagem terapêutica, essenciais para a melhoria na qualidade de vida dos portadores de DC. No entanto, a etiologia permanece desconhecida e o tratamento pouco eficaz ao longo da vida de remissões e recaídas desses indivíduos, o que contribui para que a DC tenha elevados custos sociais e financeiros [15].

### 1.3 ASPECTOS CLÍNICOS DA DOENÇA DE CROHN

O diagnóstico da DC se baseia na avaliação dos sintomas, na história clínica, no exame físico, em testes laboratoriais e de imagem. Os dados mais determinantes para o diagnóstico de DC na história clínica são diarreia crônica, dor abdominal intensa, perda de peso, febre e manifestações extra-intestinais em indivíduos com idade entre 20 e 30 anos ou 50 e 70 anos. No exame físico, os principais achados são lesões perianais, desnutrição, massa palpável na região abdominal e dor à

palpação. As principais manifestações extra-intestinais compreendem artrite periférica, eritema nodoso e comprometimento ocular [3, 6, 16].



**Figura 1:** Classificação de Montreal

Fonte: Adaptado de BAUMGART & SANDBORN, 2012 [14]

Uma vez que o diagnóstico foi realizado, é necessário identificar o fenótipo da DC, o qual pode ser definido por meio da classificação de Montreal (Figura 1). De acordo com a idade de início, pode ser dividida em A1, quando a idade no momento do diagnóstico for de 16 anos ou menos; A2, quando a idade foi entre 17 e 40 anos; e A3, quando a idade do diagnóstico for acima de 40 anos. Com relação à localização, a DC é subdividida em L1, com o envolvimento somente do íleo terminal; L2, com o envolvimento somente do cólon; L3, com o envolvimento do íleo e do cólon; e L4, com envolvimento do TGI alto (boca, língua, esôfago e duodeno). As classificações L1, L2 e L3 podem estar relacionadas ou não com L4. Por fim, de acordo com o comportamento da doença, existem 3 classificações (B1, não estenosante e não penetrante; B2, estenosante; B3, penetrante) e modificador perianal da doença, quando a doença perianal for concomitante [14, 16, 20].

## 1.4 ETIOPATOGENESE DA DOENÇA DE CROHN

A causa da DC ainda não foi bem estabelecida, porém diversos estudos apontam os fatores genéticos, imunológicos e ambientais como principais agentes dessa condição clínica. A hipótese mais difundida envolve uma resposta imune exacerbada que é desenvolvida em indivíduos geneticamente suscetíveis frente a bactérias entéricas comensais, sendo que fatores ambientais promoveriam o aparecimento da doença ou a sua reativação [6, 15, 16, 21].

### 1.4.1 Fatores genéticos

Muitas são as evidências que corroboram para que o aspecto genético seja considerado importante para o desenvolvimento da DC. Cerca de 20% de indivíduos com DC tem um ou mais parentes com alguma DII e a taxa de concordância entre gêmeos monozigóticos é de 45%. Para a DC, existe um padrão de agregação familiar, no qual parentes de primeiro grau de indivíduos com a doença possuem 5 vezes mais risco de a desenvolverem. Além disso, existe uma concordância no tipo e na localização da doença em indivíduos pertencentes a famílias com mais de um caso [6, 15, 16, 22, 23].

Desde a última década, muitos genes relacionados à DC foram identificados. O gene CARD15 (do inglês, *caspase recruitment domain-containing protein 15*, proteína 15 do domínio de recrutamento da caspase) foi primeiramente relatado em 1996 e também é chamado NOD-2 (do inglês, *nucleotide oligomerization domain 2*, domínio de oligomerização nucleotídea 2). Ele está localizado no cromossomo 16, no locus de suscetibilidade para DC, denominado IBD1 (do inglês *inflammatory bowel disease 1*, Doença Inflamatória Intestinal 1) [6, 15, 16, 21].

Três mutações identificadas na região de CARD15/NOD-2 foram associadas ao risco aumentado de desenvolvimento da DC (SNP8 – R702W, SNP12 – G908R e SNP13 – Leu1007insC). Tais mutações estão presentes em aproximadamente um

terço dos portadores da DC e estão relacionadas com acometimento do íleo distal [6, 15, 16, 21].

Mais de 90% dessas mutações estão localizadas na região responsável pelo reconhecimento bacteriano. O CARD15/NOD-2 codifica uma proteína de mesmo nome, que é um receptor de reconhecimento padrão citoplasmático do sistema imune inato. A região rica em repetições de leucina da CARD15/NOD-2 se liga a muramildipeptídeo (MDP), encontrado na parede celular de grande parte das bactérias, resultando em ativação do fator de transcrição nuclear kappa B (NF-κB) e na consequente cascata inflamatória. A CARD15/NOD-2 também é responsável pela expressão de defensinas, que representam importante sistema de defesa da imunidade inata [6, 15, 16, 21].

Os polimorfismos SNP8, SNP12 e SNP13 promovem falha na ligação com MDP, a qual proporciona aumento ou perda na função de CARD15/NOD-2. Nesse contexto, o aumento da função origina a ativação exagerada de NF-κB e o consequente aumento de produção de citocinas pró-inflamatórias. Já no caso de perda da função de CARD15/NOD-2, a baixa produção de defensinas e de citocinas (IL1 e IL8) leva à maior suscetibilidade para infecções bacterianas, que poderá provocar uma resposta inflamatória exagerada [6, 15, 24].

Outras mutações em genes específicos também são descritas como importantes fatores relacionados à DC. Mutações no receptor ativado por proliferadores peroxissomais gama (PPAR-γ) foram associadas a ileíte espontânea em modelos de camundongo. Em adição, polimorfismos evidenciados no TLR4 (do inglês, *toll-like receptor*) estão relacionados com o desenvolvimento de DII em populações caucasianas e tendem a originar a forma mais severa da doença [6, 15, 21, 25].

#### **1.4.2 Barreira epitelial e tolerância oral**

A primeira linha de defesa do sistema imune da mucosa é a barreira epitelial, formada por uma única camada de células epiteliais polarizadas cobertas por um biofilme de muco, o qual é secretado pelas células caliceformes. Esta barreira é

constituída ainda pelas *tight junctions*, imunoglobulina A e defensinas. As células epiteliais intestinais (CEI) impedem a exposição direta dos antígenos bacterianos comensais ao tecido folicular. Em situações normais, mecanismos de reparo são acionados quando há qualquer lesão da mucosa [14, 15].

Existem evidências de que o aumento da permeabilidade da barreira epitelial está relacionado à patogênese da DC. Indivíduos com DC possuem expressão diminuída do gene MUC1, sugerindo que a produção de muco é insuficiente. Além disso, alterações nas proteínas das *tight junctions* são visualizadas na DC e são responsáveis pelo aumento da permeabilidade da barreira epitelial. As *tight junctions* podem ainda ser alteradas por fatores inflamatórios como o IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$  e IL-13, o que sugere que um estímulo inflamatório primário possa levar a esse desequilíbrio [14, 15].

Mutações de genes como CARD15/NOD-2 também estão relacionadas a falhas na barreira epitelial e no reconhecimento da microbiota. Como já mencionado, polimorfismos desse gene diminuem a secreção de defensinas, muco e imunoglobulinas. Do mesmo modo, mutações observadas no gene TLR4 (receptor do tipo *toll like*) estão relacionadas ao comprometimento da integridade da barreira epitelial e na consequente susceptibilidade à DC. TLRs são normalmente expressos nas CEI, em quantidades diferentes: maiores de TLR3 e TLR5 e menores de TLR2 e TLR4. Entretanto, na DC, o TLR3 está diminuído e o TLR4 está significativamente aumentado. Sabe-se que TLR2 e TLR4 são potenciais mediadores da sinalização inflamatória contra antígenos bacterianos, por meio da ativação de NF- $\kappa$ B e expressão de citocinas em monócitos. Portanto, o que se vê na DC é uma resposta exagerada à microbiota intestinal [6, 15, 25].

Neste contexto, relatos sugerem que as bactérias possuem importante papel na etiologia da DC. A perda do equilíbrio entre as bactérias comensais e as bactérias patogênicas possivelmente ocasiona estímulo ao sistema imunológico. O aumento da expressão de TLR4 – que promove o aumento de resposta imune contra antígenos de bactérias comensais – está intimamente ligado à perda da tolerância a estas bactérias. Relatos apontam a diminuição da diversidade das bactérias comensais como uma das possíveis causas da DC [1, 6, 14, 15, 21].

Em situação normal, a microbiota intestinal constitui uma barreira de defesa e exerce importantes funções como síntese de aminoácidos e vitaminas, indução de PPAR- $\gamma$ , indução e manutenção de células reguladoras, manutenção da integridade

do epitélio intestinal por meio da interação com TLR. Ainda assim, tais bactérias podem ser responsáveis pelo surgimento da DC, desde que o indivíduo tenha predisposição genética num contexto de desregulação imunitária [6, 15].

Outra hipótese etiológica da DC constitui a infecção persistente por microrganismo específico. A *Mycobacterium avium* paratuberculosis (MAP) é um possível agente etiológico por estar associada a colite bovina. Além disso, anticorpos anti-MAP estão presentes em indivíduos com DC e fármacos antimicobacterianos promoveram melhora do quadro da doença. No entanto, não há consenso se a MAP pode iniciar a DC em indivíduos geneticamente predispostos ou se apenas coloniza a mucosa ulcerada. Outros microrganismos foram associados à doença, tais como *Escherichia coli* aderente-invasiva, *Listeria monocytogenes* e *Yersinia enterocolitica*, porém, estas relações não foram confirmadas [1, 15].

### 1.4.3 Fatores ambientais

Determinados fatores ambientais estão relacionados com o aparecimento da DC ou a sua reativação, por meio de mecanismos ainda não elucidados. De uma maneira geral, eles afetam a integridade da barreira da mucosa, alteram a resposta imune ou afetam o microambiente luminal. Os fatores descritos mais relevantes são tabagismo, dieta, infecção e uso de anti-inflamatórios não esteroidais (AINEs) [6, 21].

O uso de tabaco aumenta em até 4 vezes o risco de desenvolver doença de Crohn, bem como o risco de complicações como estenoses e fístulas e as chances de surtos. Nos indivíduos que fumam, a prevalência da doença localizada no íleo é maior que no cólon. No entanto, ainda que o tabaco esteja relacionado com a localização da doença, ele não define diretamente o seu comportamento. O tabaco afeta os fatores imunológicos, tendo em vista que a nicotina reduz a capacidade de fagocitose dos macrófagos, a produção de anticorpos e a permeabilidade intestinal [6, 15, 21, 22].

Não existem evidências experimentais que justifiquem a influência da dieta na patogênese da DC. No entanto, sugere-se que falhas na permeabilidade das células da mucosa levem à absorção de antígenos provenientes da dieta, o que condiciona

a perpetuação do processo inflamatório. O uso de AINEs está associado ao aumento da probabilidade de desenvolvimento de novo surto em indivíduos com remissão clínica. Assim como em casos de infecção, o uso de AINEs proporciona a quebra da barreira da mucosa e ativa resposta imunológica inata [6, 15, 21].

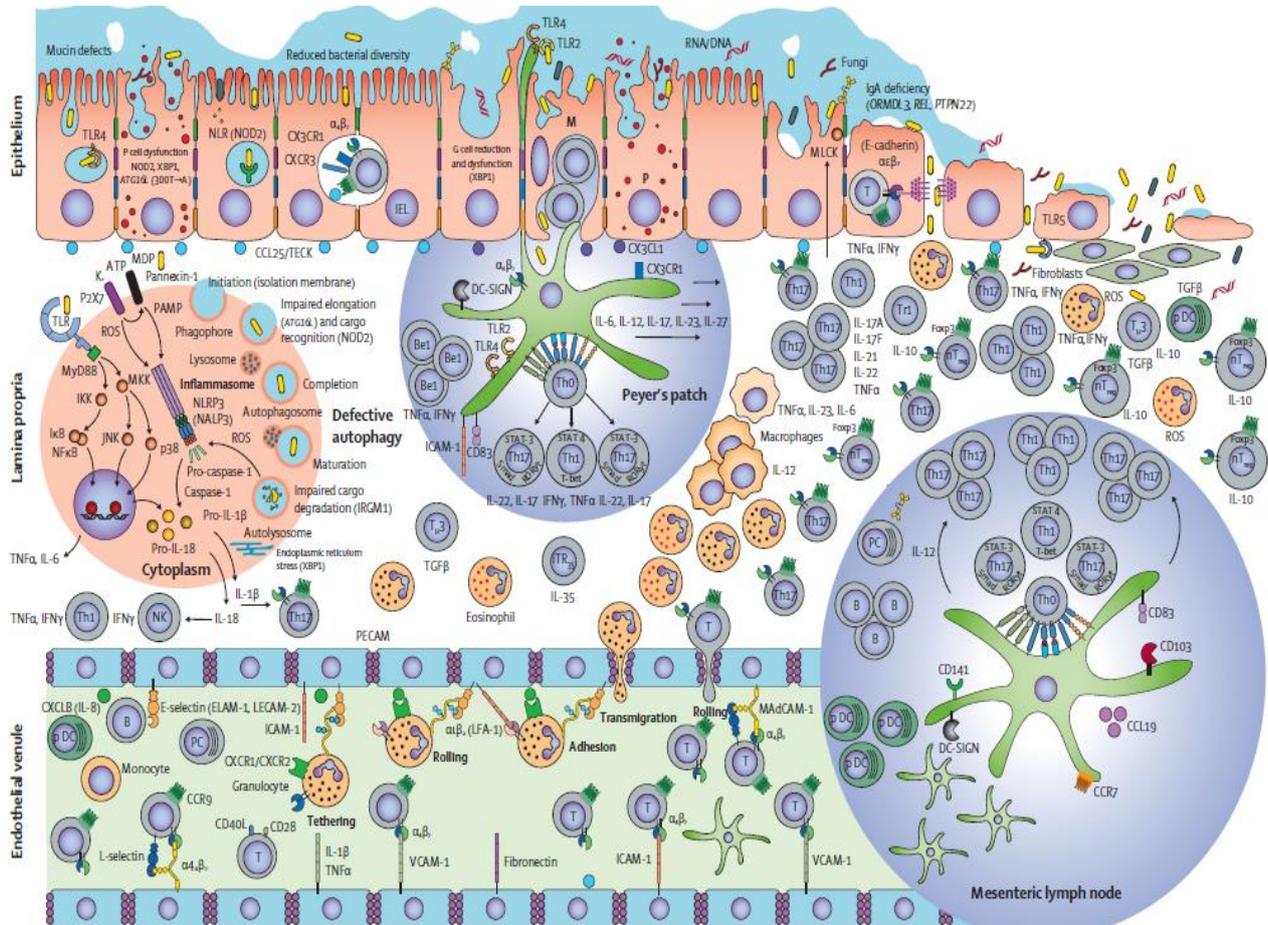
Portanto, tais aspectos ambientais estão relacionados com a DC, mas nenhum é capaz de originar a doença de forma isolada, fazendo-se necessária a presença de outros fatores, tais como genéticos e imunológicos [15].

#### **1.4.4 Fatores imunológicos**

Em resposta a um conjunto de estímulos não totalmente elucidados, a cascata inflamatória é ativada de forma excessiva, promovendo respostas agressivas ao indivíduo com DC. Não se sabe ainda se a atividade do sistema imune aumentada é resposta de uma falha na mucosa ou se essa resposta imune é primariamente desregulada. No entanto, evidencia-se o fato de que a quebra da barreira da mucosa por agentes infecciosos promove uma contínua exposição a antígenos da microbiota e da dieta, que levam ao desencadeamento da cascata inflamatória [1, 6, 16, 22].

Na DC, estão predominantemente presentes processos mediados por Th1 e Th17. As moléculas de adesão, como a ICAM-1 e integrinas, estão aumentadas, o que promove maior migração de leucócitos para o local de inflamação. As células dendríticas e os macrófagos também estão aumentados, além de expressarem TLR2 e TLR4 de forma exacerbada. Os macrófagos ativados produzem TNF- $\alpha$  (fator de necrose tumoral  $\alpha$ ) e IL-12, que induzem à resposta Th1 de linfócitos T CD4+ e liberam grandes quantidades de IL-2, TNF- $\alpha$  e INF- $\gamma$ . Nas lesões crônicas, o INF- $\gamma$  estimula os macrófagos, que em seguida estimula a produção de TNF- $\alpha$ . O TNF- $\alpha$  está aumentado no soro, fezes e mucosa intestinal dos indivíduos com DC, o que pode estar relacionado ao desequilíbrio entre secreção e inibição. O NF- $\kappa$ B, também aumentado na DC, leva à expressão de IL-1, IL-6, IL-8, IL-12, IL-23, TNF- $\alpha$ , moléculas de adesão e moléculas co-estimuladores (CD40, CD80, CD86) [1, 6, 15, 16, 22].

Todos esses eventos proporcionam uma reação inflamatória em cadeia e de forma exacerbada, característica da DC (Figura 2). Assim, os fatores imunológicos constituem um dos principais alvos farmacológicos da DC [14, 21].



**Figura 2:** Sistema imunológico na doença de Crohn. Na DC, alterações nas *tight junctions* e redução na produção de mucina promovem uma maior exposição da lâmina própria aos antígenos luminais. As células de Paneth (P) que carregam a variante 300T→A do gene de autofagia ATG16L1, associada à indivíduos com DC, possuem menos grânulos, além de dismórficos e funcionalmente prejudicados, originando redução dos mecanismos de defesa contra patógenos. Os materiais microbianos e antígenos da dieta são reconhecidos por TLRs e NLR, o que leva a uma maior ativação do sistema imune. O sistema imune adaptativo, cujas funções na DC são de perpetuar e mediar a inflamação, é caracterizado por desequilíbrio entre as células T efetoras, predominantemente Th1 e Th17, por meio de secreção de INF- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ , IL-17 e IL-22. NF- $\kappa$ B ativado promove expressão de ICAM-1, IL-1, IL-6, IL-8, IL-12, IL-23 e TNF- $\alpha$ .

Fonte: BAUMGART & SANDBORN, 2012 [14]

## 1.5 ALVOS FARMACOLÓGICOS

No âmbito dos fatores relacionados à etiologia da DC, esforços têm sido convergidos para a obtenção de fármacos que melhorem a qualidade de vida e tratem as complicações da doença. Em face das descobertas acerca da etiologia da doença, um padrão de tratamento multialvo tem sido reconhecido como principal estratégia [15, 26].

### 1.5.1 Fator nuclear kappa B

O fator nuclear kappa B é um importante fator de transcrição que está associado a processos inflamatórios. O termo NF- $\kappa$ B pode ser utilizado para se referir à superfamília, à subfamília ou ao heterodímero p50-RelA, o qual é o principal dímero NF- $\kappa$ B em várias células. Nos mamíferos, a família NF- $\kappa$ B de proteínas é composta por duas sub-famílias: as proteínas “NF- $\kappa$ B” e as proteínas “Rel”, que compartilham domínio altamente conservado na região *N*-terminal, chamado domínio de homologia Rel (do inglês, *Rel homology domain*, RHD). O RHD é formado por cerca de 300 aminoácidos e é responsável pela dimerização, ligação ao DNA e interação com I $\kappa$ Bs. A subfamília Rel é constituída por c-Rel, RelB e RelA (também conhecida como p65). A subfamília NF- $\kappa$ B é composta por p50/p105 (também conhecida como NF- $\kappa$ B1) e p52/p100 (também conhecida como NF- $\kappa$ B2) [27-29].

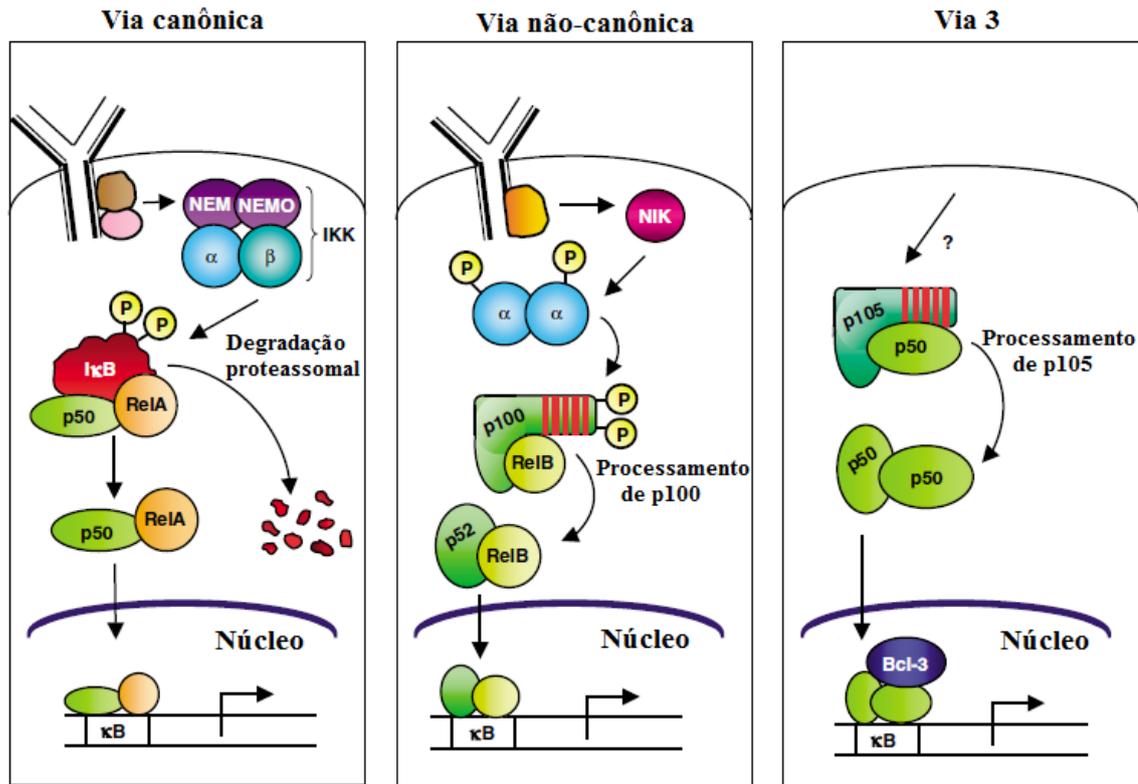
As duas subfamílias se diferenciam pela estrutura e função da região *C*-terminal. As proteínas Rel possuem domínio de transativação, chamado domínio de ativação transcricional (do inglês *transcriptional activation domain* – TAD), que é responsável pela regulação positiva da transcrição. Já os membros da subfamília NF- $\kappa$ B contêm múltiplas cópias de anquirina em seu longo domínio *C*-terminal. Neste caso, essa região atua inibindo essas proteínas [27, 28].

No citoplasma de células sem estímulo, os cinco membros da família NF- $\kappa$ B estão na forma de homo ou heterodímeros ligados a proteínas da família I $\kappa$ B – composta por I $\kappa$ B $\alpha$ , I $\kappa$ B $\beta$ , I $\kappa$ B $\epsilon$ , I $\kappa$ B $\gamma$ , Bcl-3 – e os precursores p105 e p100. Tal

ligação impede que o complexo seja translocado ao núcleo, mantendo o NF- $\kappa$ B em estado inativo. As proteínas I $\kappa$ Bs possuem resíduos de serina que servem como sítios de fosforilação, sinalizando a proteína para ubiquitinação e consequente degradação; são compostas por cinco a sete repetições de anquirina, formando um cilindro alongado que se liga ao RHD dos dímeros de NF- $\kappa$ B. Estruturas cristalográficas de I $\kappa$ B $\alpha$  e I $\kappa$ B $\beta$  ligadas a dímeros p65/p50 ou p65/c-Rel mostraram que quando ligadas a dímeros NF- $\kappa$ B, as proteínas I $\kappa$ B ocultam apenas a sequência de localização nuclear (do inglês *nuclear localization sequence* – NLS) do p65, enquanto que a NLS da p50 permanece acessível. Este NLS – livre em p50 juntamente com as sequências nucleares de exportação (do inglês, *nuclear export sequences* – NES) presentes na I $\kappa$ B $\alpha$  e p65 – resulta em um constante “vai-e-vem” dos complexos I $\kappa$ B $\alpha$ /NF- $\kappa$ B entre o núcleo e o citoplasma, embora o estado estável seja no citosol. Essa variação de localização é alterada pela degradação de I $\kappa$ B $\alpha$ , já que esta remove a contribuição das NES do I $\kappa$ B e expõe o NLS oculto do p65, resultando na localização predominantemente no núcleo do NF- $\kappa$ B [27, 29, 30].

São descritas duas vias de sinalização do NF- $\kappa$ B que levam à sua ativação: a via canônica (ou clássica) e a não-canônica (ou alternativa) (Figura 3). Por meio de estímulo de fatores pró-inflamatórios, tal como TNF- $\alpha$ , a via canônica leva à ativação da subunidade  $\beta$  do complexo da cinase I $\kappa$ B (IKK), que fosforila os resíduos de serina da região C-terminal das proteínas I $\kappa$ B. Na via canônica, IKK $\beta$  é necessária e suficiente para fosforilação de resíduos de serina em I $\kappa$ B $\alpha$  (Ser32 e Ser36) e I $\kappa$ B $\beta$  (Ser19 e Ser23). Já o papel da IKK $\alpha$  ainda não é claro, embora existam relatos da regulação de expressão de genes no núcleo por meio da modificação do estado de fosforilação das histonas [28-30].

Na via não-canônica, a IKK $\alpha$  é ativada em resposta a um subconjunto de indutores incluindo LPS, CD40, linfotóxina B (LT $\beta$ ) e fator ativador de células B da superfamília do TNF- $\alpha$  (do inglês *B-cell activating factor* – BAFF), o que então leva à fosforilação de p100. A via alternativa depende somente da subunidade IKK $\alpha$ , que atua fosforilando p100 e culmina no seu processamento à p52. Nessa via, a ligação ao receptor leva à ativação da NIK (do inglês *NF- $\kappa$ B inducing kinase*), que promove a fosforilação e ativação do complexo IKK $\alpha$ , que por sua vez fosforila serinas adjacentes à repetição de anquirina no domínio C-terminal da p100, e leva à sua proteólise parcial e liberação do complexo p52/RelB [27-30].



**Figura 3:** Vias de sinalização do NF-κB

Fonte: Adaptado de GILMORE, T.D., 2006 [28]

O complexo IKK é constituído pelas subunidades IKKα (também conhecida como IKK1), IKKβ (também conhecida como IKK2) e várias cópias do modificador essencial do NF-κB (do inglês *NF-κB essential modifier* – NEMO), regulador também conhecido como IKKγ [27, 29].

Em ambas as vias, as IκBs fosforiladas podem ser reconhecidas pela maquinaria da ubiquitina ligase e, por conseguinte, sofrerem poliubiquitinação e degradação, ou ainda serem processadas, no caso da p100, pelo proteassomo. Então, os dímeros de NF-κB livres são translocados para o núcleo, onde se ligarão a sequências específicas no promotor ou regiões acentuadoras dos genes-alvo. Uma vez ativado, o NF-κB pode ser regulado negativamente por meio de mecanismos de *feedback* em que o IκBα recém-sintetizado se liga ao NF-κB nuclear e o exporta para o citosol [29, 30].

Existem muitos relatos de que a via de sinalização de transcrição do NF-κB desempenha importante papel na resposta inflamatória nas CEI. Nas últimas décadas, muitos esforços foram direcionados para o desenvolvimento e aplicação de novas terapias contra inflamação. Compostos baseados em esteroides, pequenas

moléculas e metabólitos secundários de plantas compõem grupo de promissores inibidores NF- $\kappa$ B. No entanto, provavelmente a inibição específica de NF- $\kappa$ B seria insuficiente para o tratamento de determinadas doenças multifatoriais, tais como as DII. Ainda assim, o NF- $\kappa$ B como alvo terapêutico pode ser bem sucedido por meio do conhecimento dos diferentes mecanismos que regulam sua cascata de sinalização [29, 30].

### 1.5.2 Receptores ativados por proliferadores peroxissomais

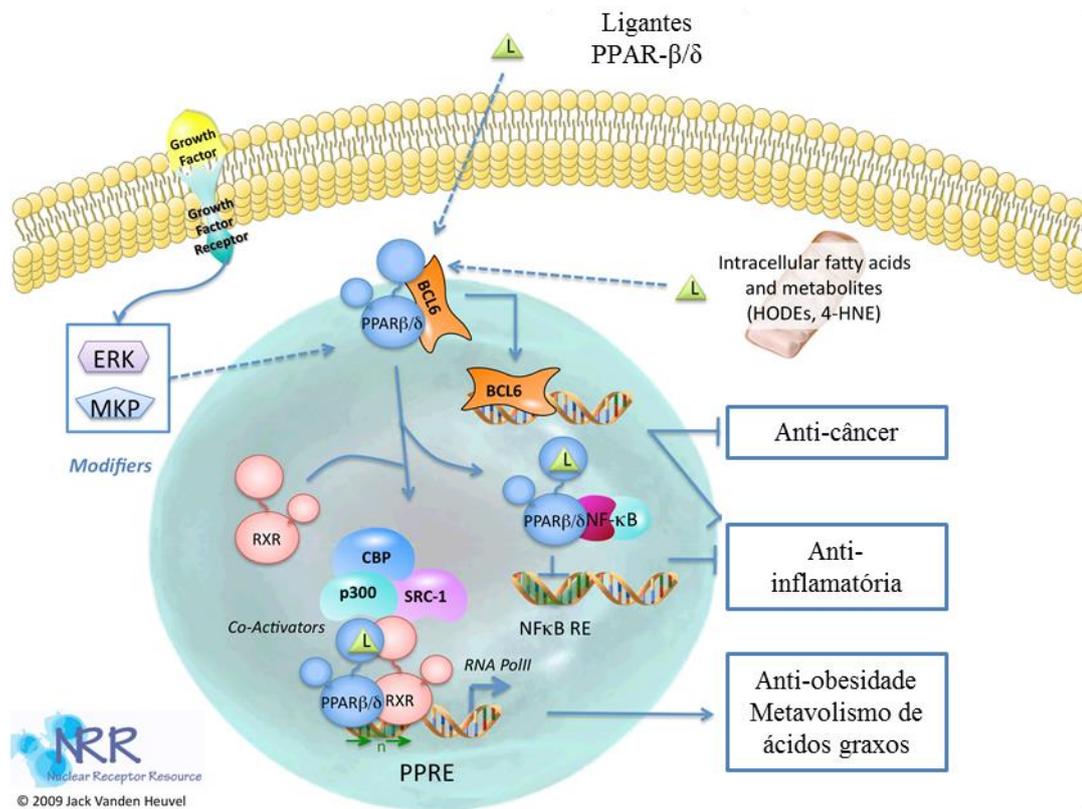
Os receptores ativados por proliferadores peroxissomais (PPAR) são receptores nucleares que, em contato com ligantes, atuam como fatores de transcrição, regulando a transcrição de genes. PPARs modulam a expressão de genes por meio da transativação, da repressão basal e da transrepressão da transcrição. Possuem organização estrutural semelhante aos outros membros da superfamília de receptores nucleares, formados por uma região *N*-terminal, um domínio de ligação ao DNA (do inglês, *DNA Binding Domain* - DBD), uma região de conexão denominada dobradiça ou *hinge*, um domínio de ligação ao ligante (do inglês, *Ligand Binding Domain* – LBD) e um domínio *C*-terminal [41-43, 57, 59, 60].

Na transativação dependente de ligante, ao interagir com o ligante por meio do LBD, o PPAR localizado no citosol sofre fosforilação e o complexo PPAR-ligante é translocado para o núcleo, onde forma um heterodímero com o receptor X retinóico (RXR). Em seguida, o heterodímero PPAR-RXR se liga a sequências específicas de DNA denominadas elementos responsivos ao PPAR (PPREs). Os receptores sofrem alteração conformacional devido à interação com o ligante agonista, o que permite a dissociação com correpressores e o recrutamento de coativadores, proporcionando ativação da transcrição de determinados genes regulados pelo PPAR ativado. Histonas acetiltransferase (HATs) coativam PPAR por meio de acetilação de histonas, que promove uma modificação na estrutura da cromatina essencial para o início da transcrição. Os PPARs também podem regular a transcrição negativamente. A repressão basal não necessita de ligante e envolve ligação do PPAR aos PPREs e o recrutamento de proteínas correpressoras, tais como HDACs. Já a transrepressão não envolve ligação direta dos PPARs aos

PPREs, tal como acontece com a inibição da atividade de NF- $\kappa$ B, na qual há interação direta entre PPAR e esse fator nuclear [57, 59-63].

Os PPARs incluem os isotipos PPAR-  $\alpha$ , PPAR- $\beta/\delta$  e PPAR- $\gamma$ , distribuídos em diferentes tecidos e com diferentes funções. O isotipo PPAR- $\alpha$  está relacionado com a regulação da oxidação de ácidos graxos, sendo considerado fator chave no metabolismo lipídico. Sabe-se que esse isotipo interage com a HAT p300 aumentando atividade transcricional ligante-dependente. É amplamente encontrado em tecidos com taxas elevadas de catabolismo de ácidos graxos como rim, fígado, coração, intestino e tecido adiposo marrom. PPAR- $\alpha$  também é encontrado em células endoteliais, células musculares lisas e macrófagos da parede vascular. Desempenha papel anti-inflamatório nessas células, inibindo produção de marcadores inflamatórios como VCAM-1, IL-6, endotelina 1 e fator tecidual. Em adição, atividade agonista PPAR- $\alpha$  está relacionada ao controle de inflamação hepática, controle da resposta inflamatória frente a LPS, bem como possui papel protetor em DII e aterosclerose. Foi demonstrado que ativação de PPAR- $\alpha$  interfere na ligação de NF- $\kappa$ B com DNA, por meio de interação direta com p65 e indução de expressão de I $\kappa$ B $\alpha$  [43, 59, 61, 63, 64].

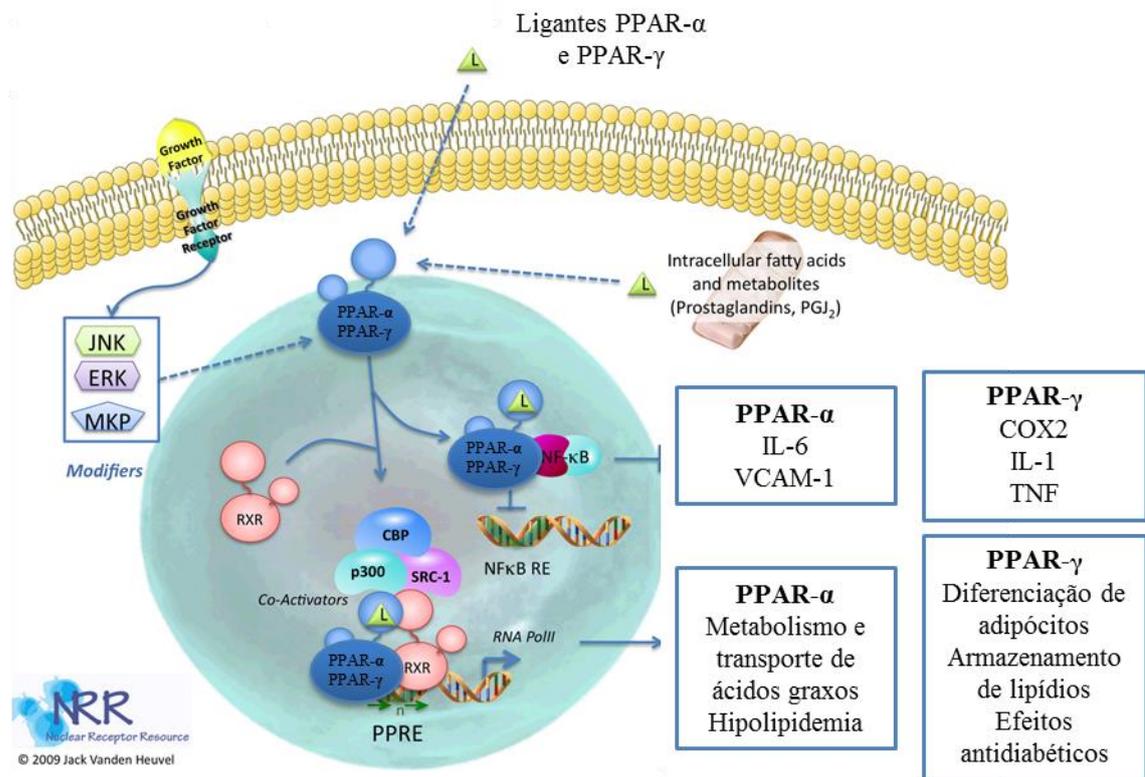
O isotipo PPAR- $\beta/\delta$  possui distribuição tecidual ampla e por essa razão possui diversas funções fisiológicas, embora seja mais concentrado em células epiteliais. Ativação de PPAR- $\beta/\delta$  leva à inibição da resposta inflamatória frente a LPS, por meio de inibição de COX e TNF- $\alpha$ . Foi demonstrado que a ativação desse isotipo está relacionada à atenuação de toxicidade hepática quimicamente induzida em modelos de rato por meio de interação direta com NF- $\kappa$ B. Além disso, PPAR- $\beta/\delta$  parece limitar repostas inflamatórias de Th1 por meio do controle da homeostase de linfócitos e da produção de IFN- $\gamma$ . Em modelos de colite induzida em camundongos, PPAR- $\beta/\delta$  teve papel protetor contra DII por meio de mecanismo ligante-independente. No entanto, as funções de PPAR- $\beta/\delta$  ainda não foram completamente elucidadas, bem como seu papel na inflamação. A Figura 4 ilustra os mecanismos de ativação do isotipo PPAR- $\beta/\delta$  e seus efeitos regulatórios de transcrição [59, 61, 63, 65, 66].



**Figura 4:** Modulação da expressão gênica por PPAR- $\beta/\delta$

Fonte: Adaptado de Nuclear Receptor Resource, 2009 [67]

O isotipo PPAR- $\gamma$  possui importantes funções no metabolismo e na regulação de processos inflamatórios. Gelman e colaboradores descreveram ligação direta com p300 por meio de interação com os domínios *N*-terminal e *C*-terminal, de forma ligante-dependente e independente. Sua expressão é alta no epitélio intestinal e é proveniente da sinalização dependente de receptores de reconhecimento de padrões (PRRs) da microbiota intestinal e da regulação transcricional direta por meio de metabólitos bacterianos. PPAR- $\gamma$  regula negativamente a sinalização de NF- $\kappa$ B em p65 e I $\kappa$ B. É proposto que um iniba o outro, resultando na consequente exportação para o citoplasma. Vários relatos demonstram o envolvimento do PPAR- $\gamma$  com DII. Agonistas PPAR- $\gamma$  foram eficientes no tratamento de DII em modelos de camundongo, além de terem sido associados ao bloqueio na produção de quimiocinas por meio da inibição de NF- $\kappa$ B dependente de I $\kappa$ B $\alpha$ . Tais efeitos protetores parecem ser mediados principalmente pelas CEI. A Figura 5 ilustra os mecanismos de ativação dos isotipos PPAR- $\alpha$  e PPAR- $\gamma$  e seus efeitos regulatórios de transcrição [21, 29, 42, 63, 64].



**Figura 5:** Modulação da expressão gênica por PPAR-α e PPAR-γ

Fonte: Adaptado de Nuclear Receptor Resource, 2009 [67]

Embora a expressão de PPAR-γ esteja normal em indivíduos com DC, esses relatos sugerem que sua ativação constitui uma boa estratégia no manejo da DC, bem como a ativação de PPAR-α e PPAR-β/δ. Adicionalmente, a busca de novos agonistas PPARs é uma estratégia promissora para o tratamento da inflamação [21, 29, 42].

### 1.5.3 p300

Modulação epigenética é definida como alteração de regiões cromossômicas para registrar, sinalizar ou perpetuar estados de atividade alterados. Tais modificações representam importantes contribuições para a regulação da transcrição de genes. São descritas diversas modificações em histonas, incluindo acetilação, metilação, fosforilação e ubiquitinação, as quais promovem ou removem sinais de recrutamento para proteínas envolvidas na atividade transcricional, bem como

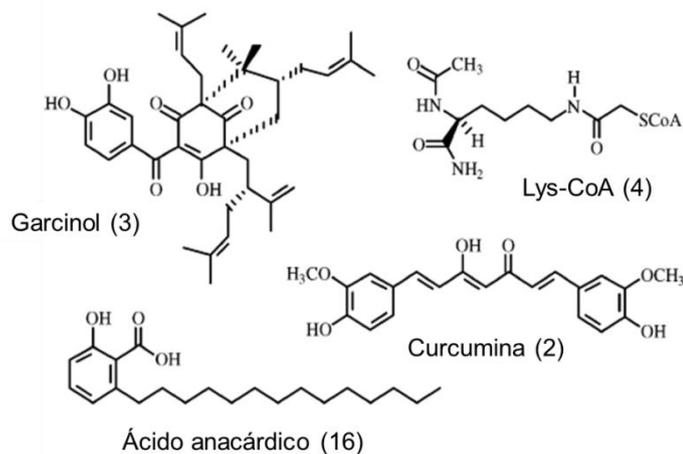
proporcionam mudanças na estrutura da cromatina e conseqüentemente nas interações histonas-DNA [31-34].

Histona acetiltransferases (HATs) são proteínas coativadoras que, juntamente com histona desacetilases (HDACs), modulam a transcrição de genes, de forma que a acetilação está relacionada com a ativação da transcrição e a desacetilação está relacionada com a repressão da transcrição. As HATs são compostas pelas subfamílias GNAT (GCN5 e PCAF), CBP/p300 e MYST (Tip60, MOZ, Sas2 e Ybf2/Sas3), as quais são agrupadas de acordo com a similaridade estrutural e agem acetilando resíduos de lisina na parte central de histonas por meio da transferência do grupo acetil de acetilcoenzima A (Acetil-CoA). CBP (do inglês *CREB binding protein*) e p300 são proteínas parálogas e amplamente expressas com atividade intrínseca de HAT. Ambas tem papel importante na coativação de fatores de transcrição, incluindo os receptores nucleares [27, 35-37].

Sabe-se que modificações pós-translacionais possuem importante papel na regulação de diferentes funções de NF- $\kappa$ B. Recentemente, foi demonstrado que acetilações nos resíduos de lisina 218 e 221 da subunidade p65 de NF- $\kappa$ B aumentam a afinidade de ligação do complexo de NF- $\kappa$ B ao DNA e prejudicam a ligação do NF- $\kappa$ B com I $\kappa$ B $\alpha$  promovendo o aumento da duração da ação de NF- $\kappa$ B. Especificamente, acetilação na lisina 310 é necessária para a atividade transcrricional completa de p65, mas não afeta a ligação com DNA ou sua ligação com I $\kappa$ B $\alpha$ . Em contraste, a acetilação das lisinas 122 e 123 por p300 reduz a ligação de NF- $\kappa$ B ao DNA e facilita a ligação com I $\kappa$ B $\alpha$ , promovendo a exportação de NF- $\kappa$ B para o citoplasma. Por sua vez, a ação da p300 em resíduos de lisina 431, 440 e 441 em p50 aumenta sua ligação ao DNA, o que promove a ativação transcrricional por NF- $\kappa$ B. A acetilação de cofatores envolvidos na regulação de transativação também modula suas interações com as subunidades de NF- $\kappa$ B. Paralelamente, p300/CBP também age como coativador de PPARs, sendo importantes no processo de transativação dependente de ligante, no qual modificam a estrutura da cromatina e facilitam a montagem da maquinaria transcrricional. Em adição, a atividade anti-inflamatória de PPARs está associada à competição entre NF- $\kappa$ B e PPARs pela quantidade limitada de coativadores [36, 63].

Existem evidências do aumento no padrão de acetilações – em função da expressão elevada de p300 – na DC. Recentemente, inibidores HAT foram descritos com propriedades anti-inflamatórias, o que induz a especulação de que ambas as

atividades estão diretamente relacionadas. No entanto, é necessário destacar que a inibição de HAT pode influenciar outros alvos, promovendo atividades que não são de interesse. Compostos cinâmicos planejados a partir do inibidor HAT natural curcumina (2), cujos anéis aromáticos possuíam átomos de bromo ou uma subunidade salicílica, foram descritos como potenciais inibidores HAT. Diversos estudos nesse contexto conduzem à conclusão de que os inibidores HAT, tais como os naturais garcinol (3), ácido anacárdico (1) e curcumina (2) e o sintético Lys-CoA, são (4) caracterizados pela presença de uma porção salicílica, um anel catecol e uma subunidade cinâmica, os quais provavelmente estão relacionados à atividade (Figura 4) [34, 36, 38-40].



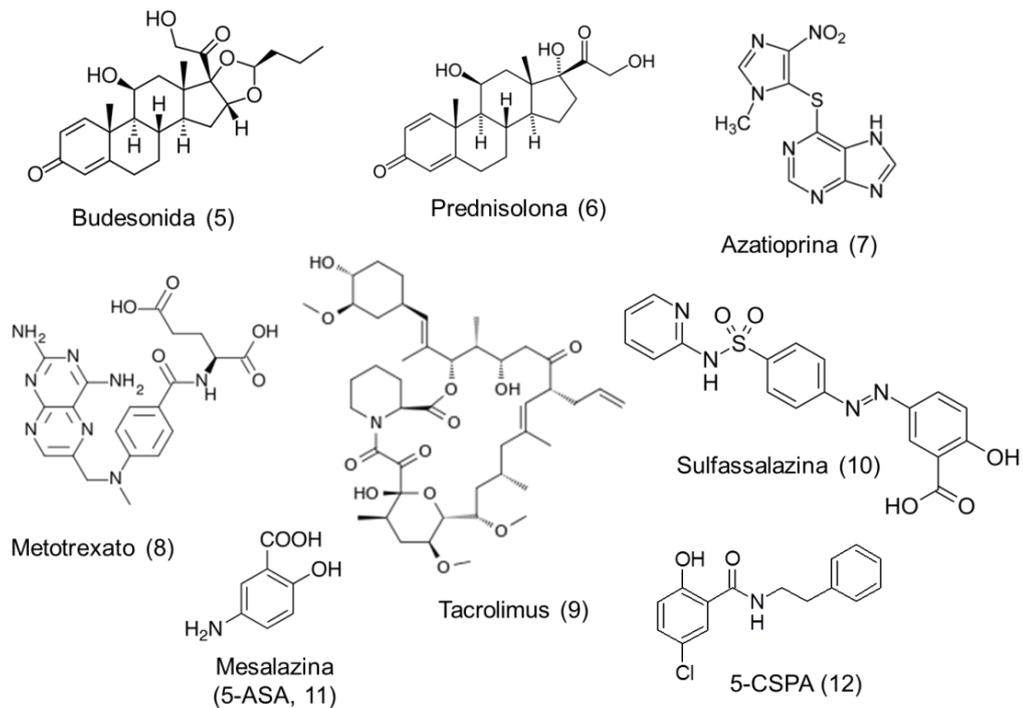
**Figura 6:** Inibidores HAT relacionados na literatura: naturais – garcinol, curcumina e ácido anacárdico – e sintético – Lys-CoA, análogo do substrato da HAT Acetil-CoA  
Fonte: Adaptado de Costi et al, 2006 [38]

Em suma, o desenvolvimento de inibidores HAT seletivos à regulação negativa de NF- $\kappa$ B constitui um desafio na busca de novos fármacos para o tratamento da DC, bem como de outras patologias de cunho inflamatório.

## 1.6 TRATAMENTO DA DOENÇA DE CROHN

O tratamento atualmente disponível da DC atua no controle dos sintomas e das complicações, bem como na indução e manutenção da remissão da doença, o que promove melhoria na qualidade de vida. Entre as opções de fármacos, a

escolha se baseia principalmente na severidade de na localização da doença. Os medicamentos utilizados são anti-inflamatórios, corticoides, imunomoduladores e antimicrobianos (Figura 5) [6, 15, 16].



**Figura 7:** Principais fármacos utilizados para o tratamento da doença de Crohn e inibidor NF-κB 5-CSPA

Fonte: Próprio autor

Os corticoides são efetivos na remissão da DC ativa, proporcionando supressão da inflamação e rápido alívio dos sintomas em 70-80% dos casos. Atuam reduzindo a produção de ácido araquidônico, leucotrienos, prostaglandinas, citocinas inflamatórias e NF-κB. No entanto, o uso de corticoides não está associado à manutenção da remissão, além do fato de que não é recomendado o seu uso a longo prazo devido aos efeitos adversos que apresenta (hiperglicemia, osteoporose, retardo no crescimento de crianças, aumento do risco de infecções). Entre os corticoides, a prescrição da Budesonida (5) é direcionada ao tratamento do cólon direito e íleo, enquanto a Prednisolona (6) é utilizada preferencialmente em indivíduos com doença íleo-cecal [3, 6, 15, 16, 26].

Os imunomoduladores agem reduzindo a inflamação por meio da supressão da resposta imunológica. As mais utilizadas são azatioprina (7), metotrexato (8) e tacrolimus (9). Estes agentes são capazes de manter a remissão da DC e é o

primeiro tratamento no caso de fístulas. Os efeitos adversos incluem náusea, vômito, pancreatite, infecção e toxicidade hepática [3, 6, 15, 16].

A terapia biológica com anticorpos monoclonais constitui uma estratégia terapêutica de eficácia demonstrada em vários estudos. O infliximab é um anticorpo anti-TNF $\alpha$  utilizado nos tratamentos de DC fistulizante e nos casos de indução e remissão de indivíduos com DC moderada a grave – não responsivos aos imunossupressores e corticoides. A escolha desses agentes depende da acessibilidade, via de administração, preferência do paciente e custo. Os efeitos adversos são náuseas dor de cabeça, febre, risco de infecções graves e reativação de infecções latentes [3, 6, 15, 16].

Antimicrobianos são comumente utilizados para o tratamento da DC. No entanto, existem poucas evidências de que eles sejam efetivos de forma geral na DC. São úteis no tratamento de complicações da doença, tais como fístulas, massa inflamatória, crescimento bacteriano no ambiente de estenose e doença perianal [3, 6, 15, 16].

Os aminossalicilatos são anti-inflamatórios utilizados para DC com acometimento do cólon. Não possuem função na manutenção da remissão da doença e possuem efeitos adversos, como dor de cabeça, náusea e diarreia. Os principais representantes são a sulfassalazina (**10**) e a mesalazina (**11**), cujo composto ativo é o ácido 5-aminosalicílico (5-ASA, **11**). O 5-ASA age inibindo a ciclooxigenase, a lipoxigenase, as células B e citocinas inflamatórias. Existem muitos relatos que associam a sua atividade anti-inflamatória à ativação PPAR- $\gamma$ . **11** é um funcional ligante PPAR- $\gamma$ , cuja ligação leva à sua ativação e possui grande especificidade aos expressos por células epiteliais, em detrimento de outros ligantes PPAR- $\gamma$  que possuem efeito sistêmico. O 5-ASA mesmo quando administrado de forma oral tem maior concentração no íleo terminal e cólon. Quando **11** atravessa a barreira intestinal, sua maior parte sofre *N*-acetilação, o que proporciona a não ativação de PPAR- $\gamma$  em outras partes do organismo [3, 6, 15, 16, 26, 36, 44].

O papel da dieta no tratamento da DC ainda é pouco compreendido, no entanto recomenda-se a baixa ingestão de fibras. Uma dieta líquida pode reduzir sintomas de obstrução. Em adição, um maior cuidado com a saúde mental e a atenção a outras co-morbidades são imprescindíveis para o bom estado do indivíduo com DC [3, 16].

Alguns autores consideram que o tratamento da DC se contrapõe aos muitos efeitos adversos que origina, o que leva a não adesão terapêutica. Em adição, cerca de 70-75% necessitam de cirurgia para o alívio dos sintomas e complicações que a farmacoterapia não foi capaz de controlar. A cirurgia não é curativa e a DC reaparece dentro de 5 anos. Portanto, ainda há grande necessidade de desenvolvimento de novos fármacos que combatam a doença refratária, que ajudem a melhorar a qualidade de vida e que não apresentem efeitos adversos tão desconfortáveis [3, 6, 15, 26, 41].

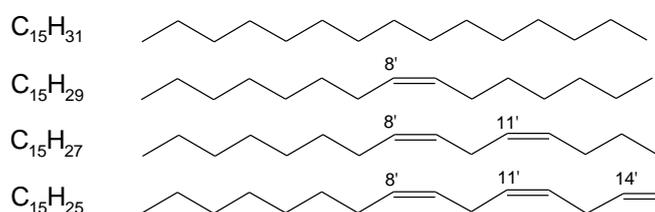
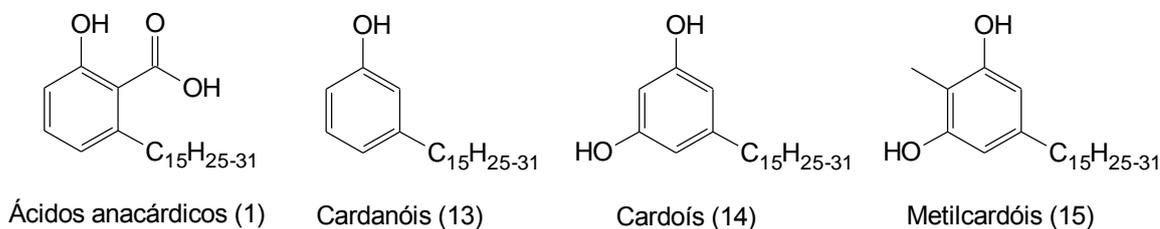
Estudos recentes desenvolvidos por Kim e colaboradores (2012) demonstraram que o derivado salicílico 5-clorofenetilamida (**12**) foi mais efetivo que 5-ASA (**11**) em modelos experimentais de colite induzida pelo ácido 2,4,6-trinitrobenzenossulfônico (TNBS). Em ensaios com luciferase, **12** inibiu a atividade NF-κB com IC<sub>50</sub> 15 μM [50].

## 1.7 DERIVADOS DO LCC

Plantas medicinais são importantes fontes de compostos que podem ser usados como alternativas a fármacos no tratamento de várias desordens. De acordo com a Organização Mundial da Saúde, mais de 80% da população dos países em desenvolvimento depende principalmente de plantas medicinais para assistência médica básica. Neste contexto, a casca do fruto do cajueiro (*Anacardium occidentale*), popularmente conhecido como castanha de caju é repleta de um líquido escuro, cáustico e inflamável, denominado líquido da casca da castanha de caju (LCC) [9, 10].

O LCC constitui um subproduto do agronegócio de baixo valor agregado. É rico em lipídeos fenólicos não-isoprenoides (Figura 6), sendo classificado como natural ou técnico de acordo com as técnicas de extração empregadas. O LCC natural pode ser obtido por extração à frio com solvente e é composto de misturas de ácidos anacárdicos (**1**) (71-82%), cardanóis (**13**) (2-9%), cardóis (**14**) (13-20%) e traços de metilcardóis (**15**). Já o LCC técnico é obtido por processo termo-mecânico, submetido a temperaturas de 185-195 °C, o que causa a descarboxilação do ácido

anacárdico (**1**), que se converte em cardanol (**13**), tornando-se o componente majoritário [9, 45].



**Figura 8:** Principais componentes do líquido da casca da castanha de caju

Fonte: Próprio autor

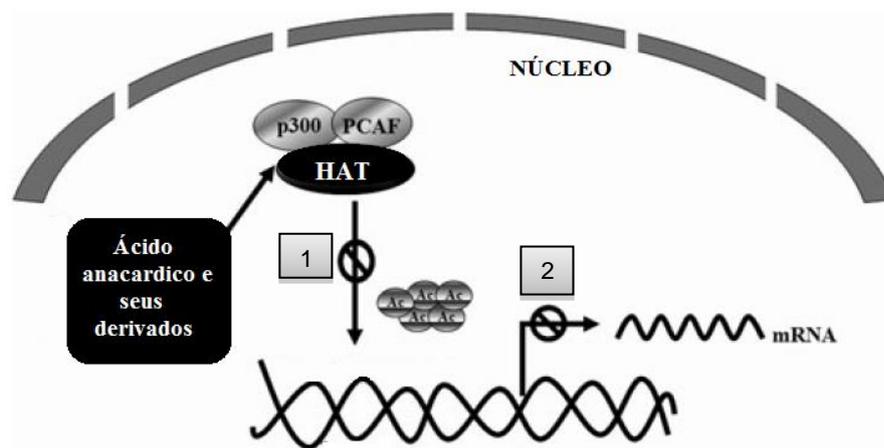
### 1.7.1 Ácido anacárdico

Os ácidos anacárdicos (**1**) constituem uma mistura de ácidos salicílicos que apresentam, na posição 6 do núcleo aromático, uma cadeia alquílica de 15 carbonos de diferentes graus de insaturação. **1** possui várias propriedades farmacológicas já descritas, tais como atividade antitumoral, gastroprotetora, antimicrobiana, antioxidante e anti-inflamatória [10, 12].

Particularmente, o ácido anacárdico saturado (**16**) foi capaz de inibir acetilação de p65 e suprimir a indução e a constitutiva ativação de NF-κB, com consequente redução da expressão de genes NF-κB-dependente. Embora o ácido anacárdico não afete diretamente a transcrição de DNA, a transcrição HAT-dependente é fortemente inibida. O ácido anacárdico suprimiu NF-κB ativado por carcinógenos, fatores de crescimento e estímulos inflamatórios por meio de inibição da ativação de IKK, fosforilação e degradação de IκBα, fosforilação de p65 e expressão gênica dependente de NF-κB. Foi demonstrado também que **16**

potencializa a apoptose induzida por TNF e agentes quimioterápicos, adquirindo potencial atividade anticâncer [10, 12, 36].

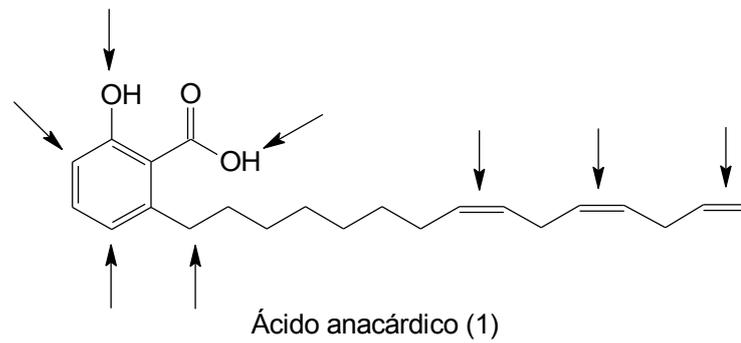
A atividade anti-inflamatória do ácido anacárdico deve-se à regulação negativa de p300 (Figura 7), sendo que este e seus derivados interrompem não competitivamente a atividade de p300 e pCAF. Neste contexto, análogos do ácido anacárdico foram testados visando à comparação do perfil de inibição e seletividade quanto às diferentes HATs, concluindo que compostos com cadeia alifática flexível e hidrofóbica, bem como a subunidade salicílica possuem maior potencial na habilidade de inibir HAT. Em contrapartida, foi descrito um derivado amídico do ácido anacárdico que foi capaz de ativar p300 [10, 12, 33, 34, 36].



**Figura 9:** Prováveis mecanismos de ação do ácido anacárdico e seus derivados na inibição de HAT

Fonte: Adaptado de HEMSHEKHAR et al, 2011 [10]

O ácido anacárdico constitui uma matéria-prima versátil, permitindo inúmeras modificações químicas (Figura 8). A presença da cadeia alquílica hidrofóbica com diferentes graus de insaturação, bem como a subunidade aromática e salicílica conferem natureza dualística a esse componente do LCC. Na cadeia alquílica hidrogenada, reações de substituição ou eliminação no carbono benzílico podem ser realizadas; a cadeia alquênica, por sua vez, está sujeita a clivagem oxidativa ou a redução das duplas ligações por meio de reações de hidrogenação [46-48].



**Figura 10:** Principais sítios de reação do ácido anacárdico (1)

Fonte: Próprio autor

Portanto, o ácido anacárdico é um bióforo natural que desempenha papel multi-terapêutico e cujas propriedades podem ser moduladas por meio de modificações químicas, constituindo assim uma matéria prima de interesse no âmbito da linha de pesquisa que visa à realização de estudos estrutura-atividade e a obtenção de novos agentes terapêuticos [46-49].

## ***OBJETIVOS***

---

## 2 OBJETIVOS

---

### 2.1 OBJETIVO GERAL

O presente estudo objetiva a obtenção racional de novos agentes terapêuticos planejados a partir do ácido anacárdico para o tratamento da doença de Crohn, no âmbito de uma linha de pesquisa que visa o desenvolvimento de ligantes anti-inflamatórios por meio da estratégia de ligantes multialvo dirigidos.

#### 2.1.1 Objetivos específicos

Compreendem os objetivos específicos:

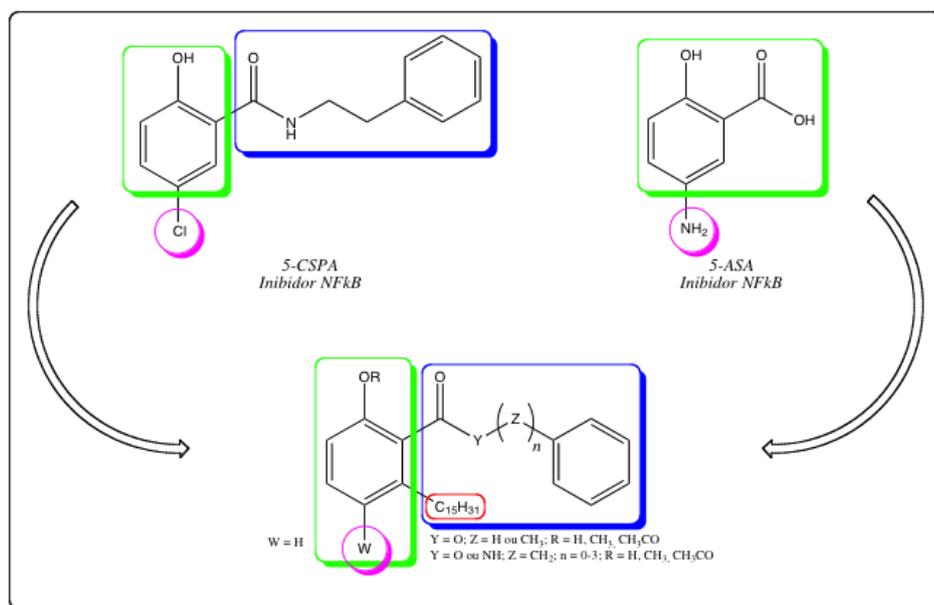
- A síntese e a caracterização dos produtos finais.
- A avaliação biológica *in vitro* frente à enzima p300.
- A avaliação biológica *in vitro* frente a PPAR- $\alpha$ /PPAR- $\gamma$ .
- Estabelecimento de relações estrutura-atividade.

***Planejamento Estrutural***

---

### 3 PLANEJAMENTO ESTRUTURAL

Os compostos-alvo foram planejados a partir da similaridade estrutural entre os inibidores NF- $\kappa$ B 5-ASA (**11**) e 5-CSPA (**12**) [50], de forma a gerar novos padrões moleculares a partir do ácido anacárdico saturado com arcabouço estrutural complementar aos alvos moleculares (Figura 11).



**Figura 11:** Planejamento racional de novos derivados anti-inflamatórios

Fonte: Próprio autor

A primeira série está relacionada a variações em R, hidroxila, metoxila e acetoxila visando a obtenção de derivados ácidos carboxílicos e metil ésteres.

A segunda série está relacionada à fenetilamida 5-CSPA (**12**) e compreende a obtenção de aril e aralquilamidas secundárias com variação entre o número de carbonos metileno ( $n = 0-3$ ) entre os grupos carbamóila e fenila. Os análogos ésteres bioisómeros – que compreendem a terceira série – visam compreender a relevância do grupo amida quanto à participação da subunidade NH como doadores de ligação de hidrogênio. Adicionalmente, as variações na hidroxila fenólica planejadas para a primeira série serão empregadas nas demais séries visando avaliar a contribuição desta subunidade na modulação do perfil desejado.

## ***Planejamento Metodológico***

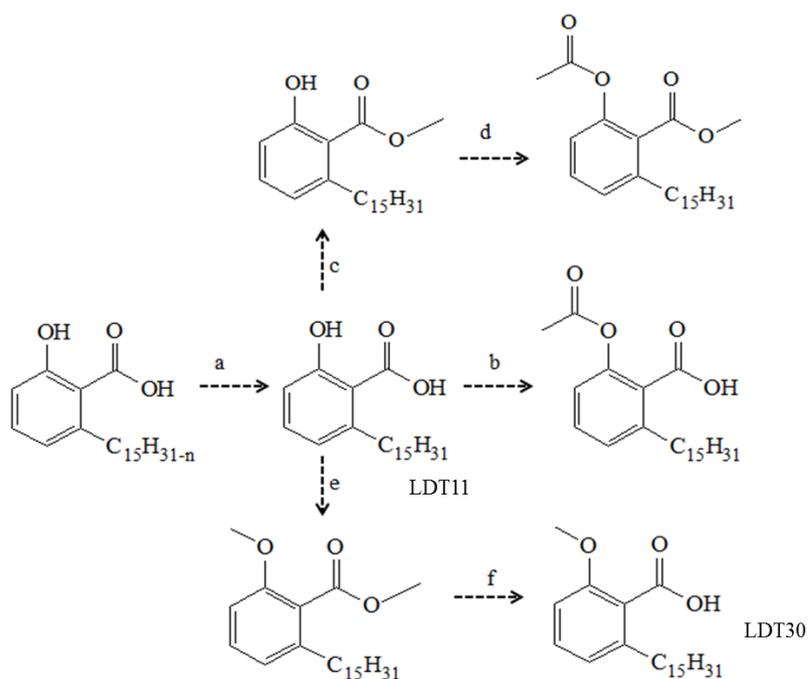
---

## 4 PLANEJAMENTO METODOLÓGICO

### 4.1 ESTRATÉGIAS SINTÉTICAS

A rota sintética foi estruturada com base em metodologias sintéticas clássicas, sob condições experimentais variáveis (à temperatura ambiente, sob refluxo e radiação micro-ondas), desenvolvidas no Laboratório de Desenvolvimento de Estratégias Terapêuticas (LADETER) e adequações da literatura.

A primeira série de compostos foi planejada a partir da obtenção do ácido anacárdico saturado (LDT11) por meio de hidrogenação catalítica da mistura de ácidos anacárdicos. A síntese de derivados acetóxi, hidróxi e metoxiácidos bem como seus correspondentes metilésteres foi desenhada a partir do derivado ácido LDT11 por meio de reações de acetilação, alquilação e esterificação. A obtenção do derivado 2'-metoxiácido (LDT30) foi planejada pela metodologia descrita por Chandregowda e colaboradores [46]. (Esquema 1).



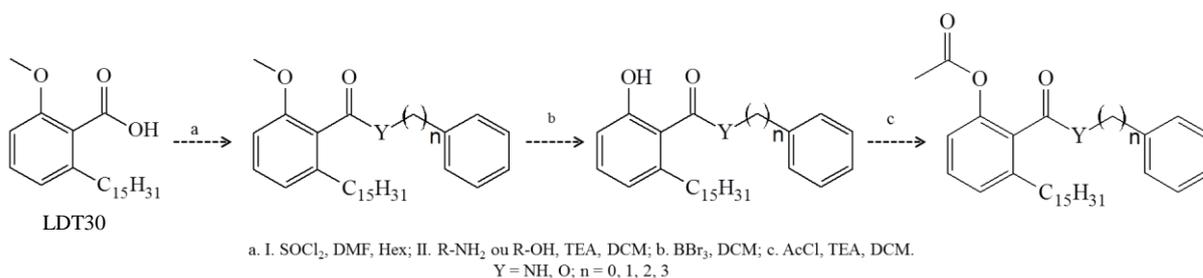
a.  $H_2$ , Pd/C, EtOH; b.  $Ac_2O$ ,  $H_3PO_4$ , MO; c.  $H_2SO_4$ , MeOH; d. AcCl, TEA, DCM; e.  $CH_3I$ ,  $K_2CO_3$ , Acn; f. t-BuOK, DMSO

**Esquema 1:** Planejamento sintético dos derivados 2-acetóxi, hidróxi e metóxiácidos ou metilésteres

Fonte: Próprio autor

A estratégia sintética para a obtenção das amidas e ésteres foi planejada a partir da conversão do ácido LDT30 em seu cloreto de ácido correspondente seguido de reações de condensação com as aminas, álcoois e fenol selecionados, conforme realizado por Chandregowda e colaboradores [46].

Para a série dos derivados 2'-hidroxiamídico e 2'-hidroxiésteres foi planejada a reação de *O*-desmetilação com  $\text{BBr}_3$ . Por fim, a reação dos hidróxiderivados com cloreto de acetila forneceria a série dos derivados acetilados (Esquema 2).



**Esquema 2:** Planejamento sintético dos derivados 2'-acetóxi, hidróxi e metóxi amidas e ésteres

Fonte: Próprio autor

***Parte Experimental***

---

## 5 PARTE EXPERIMENTAL

---

### 5.1 GENERALIDADES, MATERIAIS E MÉTODOS

Os procedimentos experimentais em Síntese Orgânica foram realizados no Laboratório de Desenvolvimento de Estratégias Terapêuticas (LADETER) da Universidade Católica de Brasília (UCB), no período entre janeiro de 2013 e dezembro de 2014.

Os reagentes e solventes químicos utilizados neste trabalho foram adquiridos das indústrias Sigma-Aldrich<sup>®</sup> (EUA) e Tedia<sup>®</sup> (EUA). Trietilamina (TEA) e diclorometano (DCM) foram previamente secos com hidreto de cálcio e destilados antes do uso.

As reações foram realizadas sob agitação magnética, à temperatura ambiente ou em aquecimento. Para as reações realizadas sob radiação micro-ondas foi utilizado micro-ondas doméstico Brastemp<sup>®</sup>, modelo BMK38ABHNA JetDeFrost com capacidade de 38 L e potência de 900 W sem agitação magnética. A reação de hidrogenação foi realizada em aparelho da série 3910 da Parr Instrument Company<sup>®</sup>.

As reações foram monitoradas por cromatografia em camada delgada (CCD) por meio de cromatofolhas (5,0 x 1,5 cm) de alumínio de Kieselgel 60 F254 com espessura de 0,25 mm (SILICYCLE<sup>®</sup>) e reveladas em de lâmpada de UV (254-366 nm), o que permitiu o cálculo do fator de retenção (Rf) de cada substância. Para a purificação dos compostos, utilizou-se cromatografia em coluna de sílica gel G60 (70-230 mesh) SILICYCLE<sup>®</sup>. O método de recristalização também foi utilizado para purificação de alguns derivados. Os pontos de fusão, não corrigidos, foram determinados em aparelho MQAPF-302.

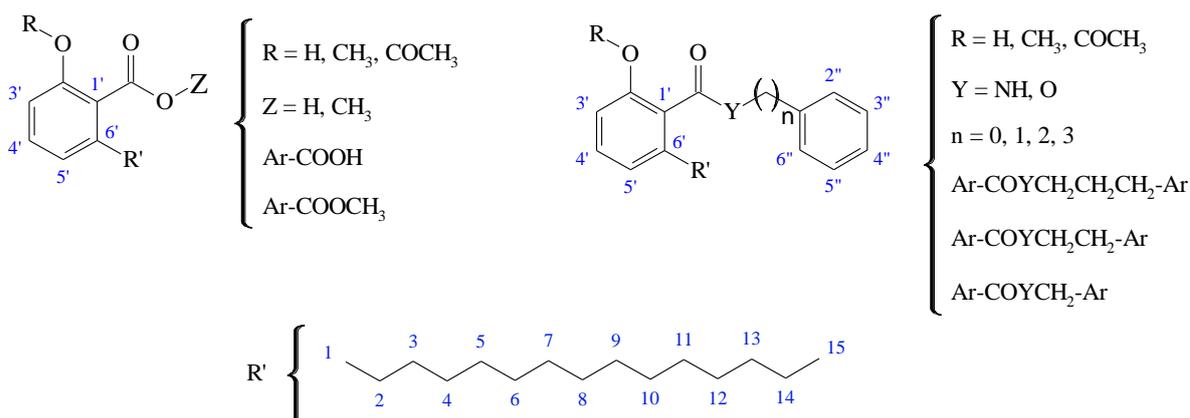
A evaporação dos solventes foi realizada em evaporador rotatório Tecnal<sup>®</sup> TE-211, à pressão reduzida, variando entre 10 e 0,1 mmHg, e em temperaturas entre 40 e 60 °C.

Os espectros de ressonância magnética nuclear de hidrogênio (<sup>1</sup>H RMN – 300 MHz ou 500 MHz) e carbono-13 (<sup>13</sup>C RMN – 75 MHz ou 125 MHz) foram obtidos em aparelho Bruker Avance DRX300 e DRX500 do Centro Nordestino de Aplicação da Ressonância Magnética Nuclear (CENAUREMN) da Universidade Federal do Ceará

(UFC), utilizando 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); sinal largo (sl); duplete (d); tripleto (t); quarteto (q); quinteto (qi) e multiplete (m).

Os espectros na região do infravermelho (IV) foram realizados na Central Analítica da UCB e foram obtidos por espectrofotômetro Perkin Elmer Spectrum BX, utilizando pastilhas de brometo de potássio (KBr) ou na forma de filme líquido em placa de cloreto de sódio (NaCl). Os valores para as absorções ( $\nu_{\text{máx}}$ ) são referidos em números de ondas, utilizando como unidade o centímetro recíproco ( $\text{cm}^{-1}$ ).

As estruturas gerais foram padronizadas para facilitar análise dos espectros, como mostradas na Figura 12.



**Figura 12:** Numeração e legendas empregadas no assinalamento de sinais em RMN  $^1\text{H}$  e RMN  $^{13}\text{C}$

Fonte: Próprio autor

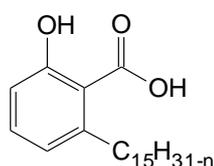
A avaliação biológica frente à p300 foi realizada pelo grupo do Prof. Masoud Vedadi do Structural Genomics Consortium (SGC) da Universidade de Toronto por meio de ensaio baseado em radioatividade, em que se avaliou a atividade da enzima na presença dos compostos testados por meio da transferência do grupo acetil de  $^3\text{H}$ -AcetilCoa para a histona H3. Para avaliação biológica frente a PPAR- $\alpha$  e PPAR- $\gamma$ , o ensaio de gene repórter foi realizado no Nuclear Hormone Receptors in Human Health and Disease Laboratory coordenado pela Dra. Carolyn Cummins da Faculdade de Farmácia Leslie Dan da Universidade de Toronto, a fim de visualizar a capacidade de emissão de luz luciferase, indicativa da indução da transcrição gênica do receptor.

## 5.2 METODOLOGIA SINTÉTICA E CARACTERIZAÇÃO DOS COMPOSTOS

### 5.2.1 Extração de LCC

Ao sistema de extração Soxhlet foram adicionadas 150,00 g de casca da castanha de caju e etanol absoluto (400,0 mL). O sistema foi mantido em aquecimento em manta por 4 horas. Em seguida, o balão coletor foi trocado e uma nova extração realizada nas mesmas condições. Em ambos os casos, o solvente foi evaporado à pressão reduzida, fornecendo 60,00 g de LCC natural, como um líquido marrom, em rendimento de 40% em relação à massa de casca de castanhas.

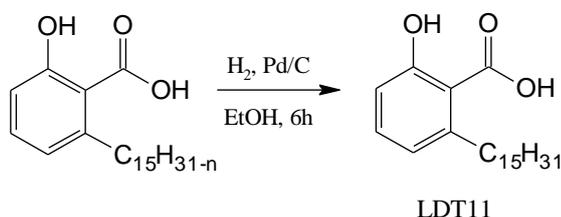
### 5.2.2 Obtenção de Ácidos Anacárdicos a Partir do LCC Natural



$$n = 0, 2, 4 \text{ ou } 6$$

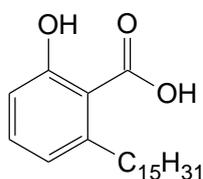
Em um balão (50 mL) foram adicionados 30,00 g de LCC natural (~ 86,08 mmol), 15,00 g de  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  (202,45 mmol) em mistura de metanol (180,0 mL) e água (30,0 mL). O sistema reacional permaneceu em agitação e refluxo por 3 horas. Em seguida, a mistura foi resfriada à temperatura ambiente e filtrada. O sólido obtido foi lavado com acetato de etila para a remoção dos outros componentes do LCC. Os sais de cálcio formados foram tratados com solução de HCl 50% até pH 1,0 visando a liberação da mistura de ácidos anacárdicos, os quais foram extraídos com acetato de etila (3 x 50,0 mL). As fases orgânicas reunidas foram lavadas com solução saturada de cloreto de sódio e secas em sulfato de sódio anidro. Após remoção do solvente à pressão reduzida, a mistura foi purificada em coluna cromatográfica de gel de sílica, eluída em mistura de hexano e acetato de etila 20%, fornecendo a mistura de ácidos anacárdicos (**1**) em rendimento de 70%.

### 5.2.3 Obtenção do Derivado Ácido 2-Hidróxi-6-pentadecilbenzóico (LDT11, 16)



Em frasco de hidrogenação foram adicionados 5,00 g da mistura de ácidos anacárdicos (~ 14,35 mmol), 0,20 g de catalisador paládio-carvão a 10% (Pd/C) e etanol (50,0 mL). O sistema foi submetido à pressão de 60 psi em reator Paar, à temperatura ambiente por 6 horas. Em seguida, a mistura foi filtrada em funil sinterizado e o solvente removido à pressão reduzida. O resíduo foi recristalizado em hexano, fornecendo 3,50 g do ácido 2-hidróxi-6-pentadecilbenzóico (LDT11, 16).

#### Derivado Ácido 2-hidróxi-6-pentadecilbenzóico (LDT11, 16)



Sólido branco

Rendimento 70%

R<sub>f</sub>: 0,48 (Hex<sub>80%</sub>:AcOEt<sub>20%</sub>)

Ponto de fusão: 81-84°C

Fórmula molecular: C<sub>22</sub>H<sub>36</sub>O<sub>3</sub>

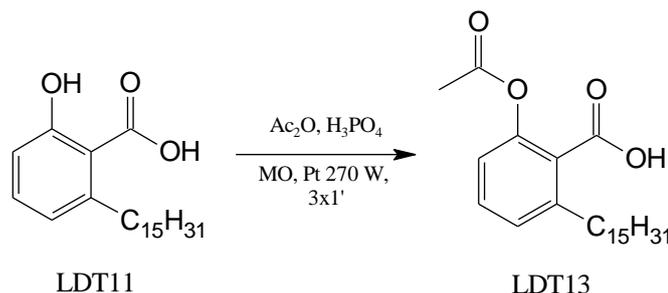
Massa Molar: 348,519 g/mol

IV (KBr)  $\nu_{\text{máx}}$  cm<sup>-1</sup>: 3326 ( $\nu_{\text{OH}}$ ); 2954 ( $\nu_{\text{asCH}_3}$ ); 2920 ( $\nu_{\text{asCH}_2}$ ); 2850 ( $\nu_{\text{SCH}_2}$ ); 1610 ( $\nu_{\text{C=O}}$ ); 1560, 1542, 1498 e 1466 ( $\nu_{\text{C=C}}$ ); 1287 ( $\nu_{\text{asC-O}}$ ); 1086 ( $\nu_{\text{Sc-O}}$ ).

RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  0,89 (t,  $J = 6,5$  Hz, 3H, 15); 1,26 (sl, 24H, 3-14); 1,57-1,62 (m, 2H, 2); 3,00 (t,  $J = 7,7$  Hz, 2H, 1); 6,79 (d,  $J = 7,4$  Hz, 1H, 3'); 6,89 (d,  $J = 8,0$  Hz, 1H, 5'); 7,37 (t,  $J = 7,9$  Hz, 1H, 4'); 10,79 (s, 1H, ArOH).

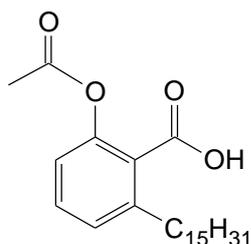
RMN <sup>13</sup>C (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  14,3 ( $\underline{\text{C}}\text{H}_3$ , 15); 22,9 ( $\underline{\text{C}}\text{H}_2$ , 14); 29,6-30,0 ( $\underline{\text{C}}\text{H}_2$ , 3-12); 32,1 ( $\underline{\text{C}}\text{H}_2$ , 2); 32,2 ( $\underline{\text{C}}\text{H}_2$ , 13); 36,7 ( $\underline{\text{C}}\text{H}_2$ , 1); 110,6 (Ar $\underline{\text{C}}$ , 1'); 116,1 (Ar $\underline{\text{C}}\text{H}$ , 3'); 123,0 (Ar $\underline{\text{C}}\text{H}$ , 5'); 135,6 (Ar $\underline{\text{C}}\text{H}$ , 4'); 148,1 (Ar $\underline{\text{C}}$ , 6'); 163,8 (Ar $\underline{\text{C}}$ , 2'); 176,5 (Ar $\underline{\text{C}}\text{OOH}$ ).

### 5.2.4 Obtenção do Derivado Ácido 2-Acetóxi-6-pentadecilbenzóico (LDT13, 17)



Em erlenmeyer (50 mL) foram adicionados 3,00 g do derivado LDT11 (**16**) (8,61 mmol), ácido fosfórico (6 gotas) e 3,24 mL de anidrido acético (34,43 mmol). A mistura foi submetida à radiação micro-ondas por 3 minutos (3 x 1') em potência de 30% (270 W). Em seguida, a mistura foi solubilizada em acetato de etila (20,0 mL) e lavada com soluções de bicarbonato de sódio 5% (3 x 20,0 mL), HCl 10% (20,0 mL), saturada de cloreto de sódio (20,0 mL), e seca com sulfato de sódio. Após o solvente ser removido à pressão reduzida, o resíduo foi purificado em coluna cromatográfica de gel de sílica, eluída em mistura de hexano e acetato de etila em diferentes concentrações (5-50%), fornecendo 2,55 g do derivado ácido 2-acetóxi-6-pentadecilbenzóico (LDT13, **17**).

### Derivado Ácido 2-Acetóxi-6-pentadecilbenzóico (LDT13, 17)



Sólido branco

Rendimento 76%

R<sub>f</sub>: 0,20 (Hex<sub>80%</sub>:AcOEt<sub>20%</sub>)

Ponto de fusão: 65-69°C

Fórmula molecular: C<sub>24</sub>H<sub>38</sub>O<sub>4</sub>

Massa Molar: 390,556 g/mol

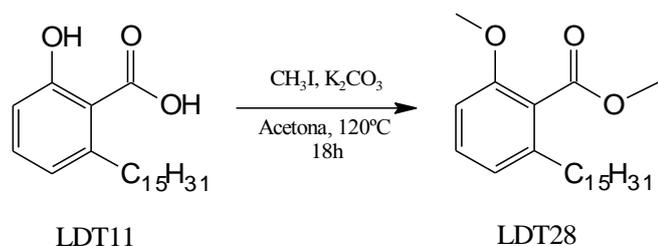
IV (KBr)  $\nu_{\text{máx}}$  cm<sup>-1</sup>: 2922 ( $\nu_{\text{asCH}_2}$ ); 2850 ( $\nu_{\text{SCH}_2}$ ); 1763 ( $\nu_{\text{C=O}}$ ); 1701 ( $\nu_{\text{C=O}}$ ); 1465 ( $\nu_{\text{C=C}}$ ); 1369 ( $\nu_{\text{CH}_3}$ ); 1221 ( $\nu_{\text{asC-O}}$ ).

RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  0,89 (t, *J* = 6,6 Hz, 3H, 15); 1,26-1,31 (m, 24H, 3-14); 1,60-1,67 (m, 2H, 2); 2,30 (s, 3H, ArOCOCH<sub>3</sub>); 2,81 (t, *J* = 7,8 Hz, 2H, 1); 7,01 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H, 3'); 7,17 (d, *J* = 7,5 Hz, 1H, 5'); 7,41 (t, *J* = 7,9 Hz, 1H, 4').

RMN <sup>13</sup>C (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  14,3 (CH<sub>3</sub>, 15); 21,0 (ArOCOCH<sub>3</sub>); 22,9 (CH<sub>2</sub>, 14); 29,5-29,9 (CH<sub>2</sub>, 3-12); 31,6 (CH<sub>2</sub>, 2); 32,1 (CH<sub>2</sub>, 13); 34,1 (CH<sub>2</sub>, 1); 120,8 (ArCH, 3'); 125,0

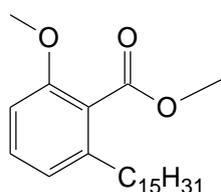
(ArC, 1'); 127,7 (ArCH, 5'); 131,5 (ArCH, 4'); 143,8 (ArC, 6'); 148,8 (ArC, 2'); 169,6 (ArOCOCH<sub>3</sub>); 172,1 (ArCOOH).

### 5.2.5 Obtenção do Derivado 2-Metóxi-6-pentadecilbezoato de metila (LDT28, 18)



Em um balão (100 mL) foram adicionados 2,00 g do derivado LDT11 (**16**) (5,74 mmol), 2,38 g de carbonato de potássio (17,22 mmol) e acetona (50,0 mL). A mistura permaneceu sob agitação magnética por 20 minutos e a ela foram adicionados 1,49 mL de iodeto de metila (22,95 mmol). Em seguida, o sistema reacional foi mantido sob agitação vigorosa, em banho de óleo à 120°C, com resfriamento do condensador em circulador a -8°C, por 18 horas. Após esse período, o solvente foi evaporado à pressão reduzida e ao resíduo foram adicionados éter etílico (30,0 mL) e água destilada para a solubilização do carbonato de potássio. Após separação de fases, a fase aquosa foi retirada, a fase orgânica foi lavada com soluções de HCl 10% (2 x 15,0 mL) e concentrada de cloreto de sódio (20,0 mL), e então seca com sulfato de sódio. Após o solvente ser removido à pressão reduzida, a mistura foi purificada em coluna cromatográfica de gel de sílica, eluída em diferentes concentrações de mistura hexano-acetato de etila (5-35%), fornecendo 2,09 g do derivado 2-metóxi-6-pentadecilbezoato de metila (LDT28, **18**).

### Derivado 2-Metóxi-6-pentadecilbezoato de metila (LDT28, 18)



Sólido branco

Rendimento 97%

R<sub>f</sub>: 0,40 (Hex<sub>90%</sub>:AcOEt<sub>10%</sub>)

Ponto de fusão: 32-33°C

Fórmula molecular: C<sub>24</sub>H<sub>40</sub>O<sub>3</sub>

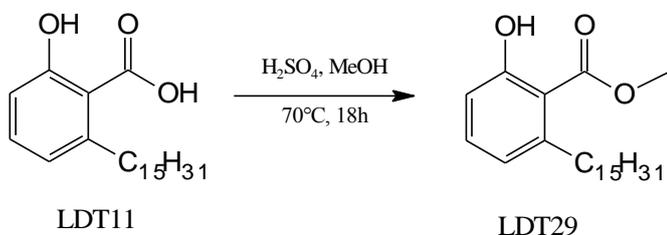
Massa Molar: 376,573 g/mol

IV (KBr)  $\nu_{\text{máx}} \text{ cm}^{-1}$ : 2918 ( $\nu_{\text{asCH}_2}$ ); 2850 ( $\nu_{\text{SCH}_2}$ ); 1733 ( $\nu_{\text{C=O}}$ ); 1586, 1466 ( $\nu_{\text{C=C}}$ ); 1266 ( $\nu_{\text{asC-O}}$ ).

RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  0,89 (t,  $J = 6,3$  Hz, 3H, 15); 1,26 (m, 24H, 3-14); 1,53-1,61 (m, 2H, 2); 2,55 (t,  $J = 7,8$  Hz, 2H, 1); 3,82 (s, 3H,  $\text{ArOCH}_3$ ); 3,91 (s, 3H,  $\text{ArCOOCH}_3$ ); 6,76 (d,  $J = 8,3$  Hz, 1H, 3'); 6,82 (d,  $J = 7,6$  Hz, 1H, 5'); 7,27 (t,  $J = 7,9$  Hz, 1H, 4').

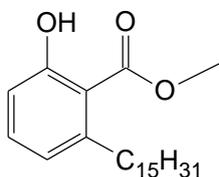
RMN  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  14,2 ( $\underline{\text{C}}\text{H}_3$ , 15); 22,8 ( $\underline{\text{C}}\text{H}_2$ , 14) 29,5-29,8 ( $\underline{\text{C}}\text{H}_2$ , 3-12); 31,3 ( $\underline{\text{C}}\text{H}_2$ , 2); 32,1 ( $\underline{\text{C}}\text{H}_2$ , 13); 33,6 ( $\underline{\text{C}}\text{H}_2$ , 1); 52,2 ( $\text{ArCOO}\underline{\text{C}}\text{H}_3$ ); 56,0 ( $\text{ArO}\underline{\text{C}}\text{H}_3$ ); 108,5 ( $\text{Ar}\underline{\text{C}}\text{H}$ , 3'); 121,7 ( $\text{Ar}\underline{\text{C}}\text{H}$ , 5'); 123,7 ( $\text{Ar}\underline{\text{C}}$ , 1'); 130,4 ( $\text{Ar}\underline{\text{C}}\text{H}$ , 4'); 141,6 ( $\text{Ar}\underline{\text{C}}$ , 6'); 156,4 ( $\text{Ar}\underline{\text{C}}$ , 2'); 169,1 ( $\text{Ar}\underline{\text{C}}\text{OOCH}_3$ ).

### 5.2.6 Obtenção do Derivado 2-Hidróxi-6-pentadecilbenzoato de metila (LDT29, 19)



Em um balão (100 mL) foram adicionados 0,20 g de LDT11 (**16**) (0,57 mmol), 1,50 mL de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  e metanol (8,0 mL). O sistema reacional permaneceu em agitação e refluxo por 18 horas. Em seguida, a mistura foi extraída com diclorometano (3 x 10,0 mL) e a fase orgânica lavada com solução saturada de cloreto de sódio (10,0 mL) e seca com sulfato de sódio. Após o solvente ser removido sob pressão reduzida, a mistura foi purificada em coluna cromatográfica de gel de sílica, eluída com mistura de hexano e acetato de etila (5-55%), fornecendo 0,18 g do derivado 2-hidróxi-6-pentadecilbenzoato de metila (LDT29, **19**).

### Derivado 2-Hidróxi-6-pentadecilbenzoato de metila



Sólido branco

Rendimento 86%

R<sub>f</sub>: 0,60 (Hex<sub>80%</sub>:AcOEt<sub>20%</sub>)

Ponto de fusão: 37-40°C

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

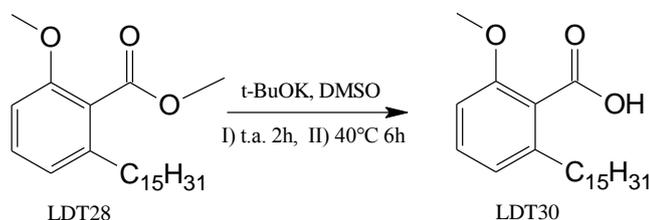
Massa Molar: 362,546 g/mol

IV (KBr)  $\nu_{\text{máx}} \text{ cm}^{-1}$ : 3433 ( $\nu_{\text{OH}}$ ); 2917 ( $\nu_{\text{asCH}_2}$ ); 2851 ( $\nu_{\text{SCH}_2}$ ); 1663 ( $\nu_{\text{C=O}}$ ); 1451 ( $\nu_{\text{C=C}}$ ); 1250, 1203 ( $\nu_{\text{asC-O}}$ ).

RMN <sup>1</sup>H (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  0,89 (t,  $J = 6,8$  Hz, 3H, 15); 1,27-1,32 (m, 29H, 3-14); 1,51-1,55 (m, 2H, 2); 2,89 (t,  $J = 7,8$  Hz, 2H, 1), 3,96 (s, 1H, ArCOOCH<sub>3</sub>); 6,73 (d,  $J = 7,3$  Hz, 1H, 3'); 6,84 (d,  $J = 8,1$  Hz, 1H, 5'); 7,27-7,31 (m, 1H, 4'); 11,06 (s, 1H, ArOH).

RMN <sup>13</sup>C (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  14,2 (CH<sub>3</sub>, 15); 22,9 (CH<sub>2</sub>, 14); 29,5-30,1 (CH<sub>2</sub>, 3-12); 32,1 (CH<sub>2</sub>, 2); 32,3 (CH<sub>2</sub>, 13); 36,8 (CH<sub>2</sub>, 1); 52,3 (ArCOOCH<sub>3</sub>); 112,0 (ArC, 1'); 115,8 (ArCH, 3'); 122,6 (ArCH, 5'); 134,3 (ArCH, 4'); 146,4 (ArC, 6'); 162,8 (ArC, 2'); 172,1 (ArCOOCH<sub>3</sub>).

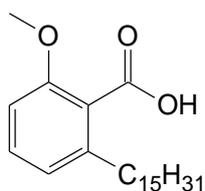
### 5.2.7 Obtenção do Derivado Ácido 2-Metóxi-6-pentadecilbenzóico (LDT30, 20)



Em um balão (100 mL) foram adicionados 4,00 g do derivado LDT28 (**18**) (10,62 mmol), 1,29 g de tert-butóxido de potássio (10,62 mmol) e DMSO (20,0 mL) e foi mantido sob agitação à temperatura ambiente por 2 horas. Em seguida, foi

submetido ao aquecimento de 40°C em banho de óleo por 16 horas. A mistura foi extraída com acetato de etila (3 x 15,0 mL) e a fase orgânica lavada com água destilada (20,0 mL) e acidificada a pH 2,0 com solução de HCl 10%. Finalmente, a fase orgânica foi lavada com solução saturada de cloreto de sódio (20,0 mL), seca com sulfato de sódio e o solvente evaporado à pressão reduzida. O resíduo foi purificado em coluna cromatográfica de gel de sílica, eluída em diferentes concentrações de hexano e acetato de etila (5-50%), fornecendo 3,77 g do derivado ácido 2-metóxi-6-pentadecilbenzóico (LDT30, **20**).

### Derivado Ácido 2-Metóxi-6-pentadecilbenzóico (LDT30, **20**)



Sólido branco

Rendimento 98%

R<sub>f</sub>: 0,28 (Hex<sub>80%</sub>:AcOEt<sub>20%</sub>)

Ponto de fusão: 74-77°C

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

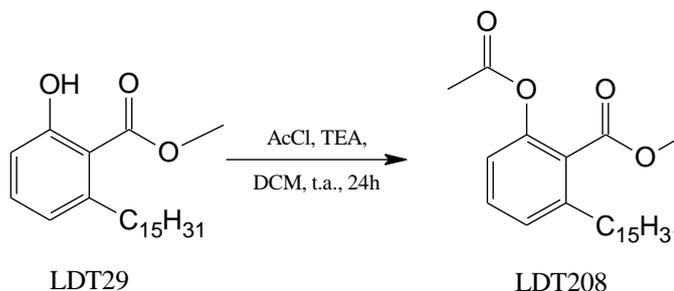
Massa Molar: 362,546 g/mol

IV (KBr)  $\nu_{\text{máx}} \text{ cm}^{-1}$ : 3365 ( $\nu_{\text{OH}}$ ); 2954 ( $\nu_{\text{asCH}_3}$ ); 2920 ( $\nu_{\text{asCH}_2}$ ); 2848 ( $\nu_{\text{sCH}_2}$ ); 1715 ( $\nu_{\text{C=O}}$ ); 1585, 1473, 1460, 1437 ( $\nu_{\text{C=C}}$ ); 1316 ( $\nu_{\text{CH}_3}$ ); 1266 ( $\nu_{\text{asC-O}}$ );

RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  0,89 (t,  $J = 6,6$  Hz, 3H, 15); 1,26-1,33 (m, 24H, 3-14); 1,60-1,67 (m, 2H, 2); 2,73 (t,  $J = 7,8$  Hz, 2H, 1); 3,89 (s, 3H, ArOCH<sub>3</sub>); 6,81 (d,  $J = 8,2$  Hz, 1H, 3'); 6,88 (d,  $J = 7,6$  Hz, 1H, 5'); 7,27-7,34 (m, 1H, 4').

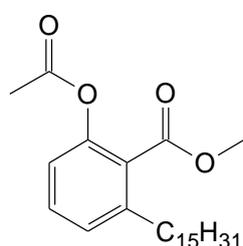
RMN <sup>13</sup>C (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  14,3 (CH<sub>3</sub>, 15); 22,9 (CH<sub>2</sub>, 14); 29,5-29,9 (CH<sub>2</sub>, 3-12); 31,5 (CH<sub>2</sub>, 2); 32,1 (CH<sub>2</sub>, 13); 33,9 (CH<sub>2</sub>, 1); 56,2 (ArOCH<sub>3</sub>); 108,8 (ArCH, 3'); 122,2 (ArC, 1'); 122,3 (ArCH, 5'); 131,0 (ArCH, 4'); 142,7 (ArC, 6'); 156,8 (ArC, 2'); 173,0 (ArCOOH).

### 5.2.8 Obtenção do Derivado 2-(Acetóxi)-6-pentadecilbenzoato de metila (LDT208, 21)



Em um balão (25 mL) foram adicionados 0,20 g do derivado LDT29 (**19**) (0,55 mmol), 0,23 mL de TEA (1,67 mmol) e 0,06 mL cloreto de acetila, em diclorometano seco (6,0 mL). A mistura permaneceu sob agitação à temperatura ambiente por 24 horas. Em seguida, foi lavada com água destilada e extraída com acetato de etila (3 x 10,0 mL). As fases orgânicas reunidas foram lavadas com soluções de bicarbonato de sódio 5% (3 x 10,0 mL), HCl 10% (2 x 10,0 mL) e saturada de cloreto de sódio (10,0 mL). Após de secagem em sulfato de sódio e remoção do solvente à pressão reduzida, o resíduo foi purificado em coluna cromatográfica de gel de sílica, eluída em mistura de hexano e acetato de etila em diferentes concentrações (5-50%), fornecendo 0,13 g do derivado 2-(acetóxi)-6-pentadecilbenzoato de metila (LDT208, **21**).

#### Derivado 2-(Acetóxi)-6-pentadecilbenzoato de metila (LDT208, 21)



Sólido branco

Rendimento 58%

R<sub>f</sub>: 0,44 (Hex<sub>80%</sub>:AcOEt<sub>20%</sub>)

Ponto de fusão: 30-35°C

Fórmula molecular: C<sub>25</sub>H<sub>40</sub>O<sub>4</sub>

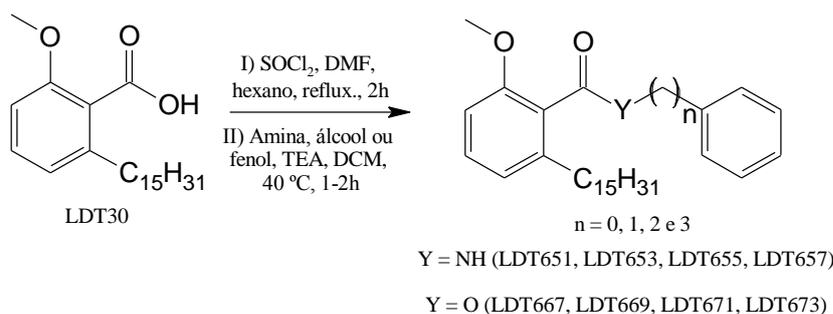
Massa Molar: 404,583 g/mol

IV (KBr)  $\nu_{\text{máx}} \text{ cm}^{-1}$ : 2916 ( $\nu_{\text{asCH}_2}$ ); 2850 ( $\nu_{\text{SCH}_2}$ ); 1731 ( $\nu_{\text{C=O}}$ ); 1473 ( $\nu_{\text{C=C}}$ ); 1368 ( $\nu_{\text{CH}_3}$ ); 1246 ( $\nu_{\text{asC-O}}$ );

RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  0,89 (t,  $J = 6,3$  Hz, 3H, 15); 1,26 (m, 24H, 3-14); 1,55-1,58 (m, 2H, 2); 2,26 (s, 3H,  $\text{ArOCOC}\underline{\text{H}}_3$ ); 2,67 (t,  $J = 7,8$  Hz, 2H, 1); 3,87 (s, 3H,  $\text{ArCOOC}\underline{\text{H}}_3$ ); 6,97 (d,  $J = 8,0$  Hz, 1H, 3'); 7,12 (d,  $J = 7,6$  Hz, 1H, 5'); 7,35 (t,  $J = 7,9$  Hz, 1H, 4').

RMN  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  14,2 ( $\underline{\text{C}}\text{H}_3$ , 15); 20,9 ( $\text{ArOCOC}\underline{\text{H}}_3$ ); 22,8 ( $\underline{\text{C}}\text{H}_2$ , 14); 29,5-29,8 ( $\underline{\text{C}}\text{H}_2$ , 3-12); 31,5 ( $\underline{\text{C}}\text{H}_2$ , 2); 32,1 ( $\underline{\text{C}}\text{H}_2$ , 13); 34,9 ( $\underline{\text{C}}\text{H}_2$ , 1); 52,3 ( $\text{ArCOOC}\underline{\text{H}}_3$ ); 120,4 ( $\text{Ar}\underline{\text{C}}\text{H}$ , 3'); 126,3 ( $\text{Ar}\underline{\text{C}}$ , 1'); 127,3 ( $\text{Ar}\underline{\text{C}}\text{H}$ , 5'); 130,7 ( $\text{Ar}\underline{\text{C}}\text{H}$ , 4'); 143,0 ( $\text{Ar}\underline{\text{C}}$ , 6'); 148,3 ( $\text{Ar}\underline{\text{C}}$ , 2'); 167,3 ( $\text{ArOC}\underline{\text{O}}\text{CH}_3$ ); 169,2 ( $\text{Ar}\underline{\text{C}}\text{OOCH}_3$ ).

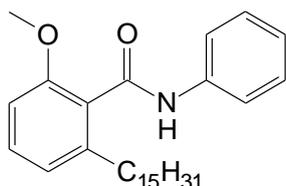
### 5.2.9 Obtenção dos Derivados Amidas e Ésteres: 2'-Metoxissubstituídos



Em um balão (25 mL) foram adicionados 0,20 g do derivado LDT30 (**20**) (0,55 mmol), 1,50 mL de  $\text{SOCl}_2$  (17,31 mmol), DMF (1 gota) e hexano (10,0 mL). O sistema reacional permaneceu em agitação, à temperatura de refluxo por 2 horas. Em seguida, o excesso de  $\text{SOCl}_2$  e hexano foram destilados. O cloreto de ácido formado foi então diluído em diclorometano seco (5,0 mL) e lentamente adicionado a um balão (25,0 mL) contendo a amina, ou fenol, ou álcool correspondente (2,00 eqv.), 0,15 mL de TEA (1,10 mmol) e diclorometano (5,0 mL). A mistura permaneceu sob agitação, à temperatura de 40 °C, por 1 a 2 horas. Após esse período, a mistura foi extraída com acetato de etila (3 x 10,0 mL) e as fases orgânicas reunidas lavadas com soluções de bicarbonato de sódio 5% (20,0 mL), HCl 10% (20,0 mL), saturada de cloreto de sódio (10,0 mL), e seca com sulfato de sódio. Após evaporação do solvente à pressão reduzida, os derivados foram purificados em coluna

cromatográfica de gel de sílica, eluída em mistura de hexano e acetato de etila em diferentes concentrações, fornecendo os derivados correspondentes.

### Derivado *N*-Fenil-2-metóxi-6-pentadecilbenzilamida (LDT651, 22)



Sólido branco

Rendimento 76%

R<sub>f</sub>: 0,33 (Hex<sub>80%</sub>:AcOEt<sub>20%</sub>)

Ponto de fusão: 78-85°C

Fórmula molecular: C<sub>29</sub>H<sub>43</sub>NO<sub>2</sub>

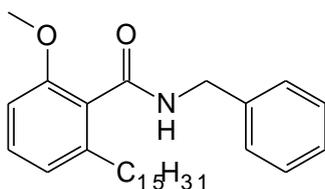
Massa Molar: 437,657 g/mol

IV (KBr)  $\nu_{\text{máx}} \text{ cm}^{-1}$ : 3276 ( $\nu_{\text{NH}}$ ); 3069 ( $\nu_{\text{=CH}}$ ); 2919 ( $\nu_{\text{asCH}_2}$ ); 2850 ( $\nu_{\text{sCH}_2}$ ); 1653 ( $\nu_{\text{C=O}}$ ); 1604, 1583, 1551, 1534, 1490, 1470, 1438 ( $\nu_{\text{C=C}}$ ); 1264 ( $\nu_{\text{asC-O}}$ ).

RMN <sup>1</sup>H (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  0,90 (t,  $J = 6,8$  Hz, 3H, 15); 1,23-1,33 (m, 24H, 3-14); 1,61-1,67 (m, 2H, 2); 2,71 (t,  $J = 7,8$  Hz, 2H, 1); 3,83 (s, 3H, ArOCH<sub>3</sub>); 6,79 (d,  $J = 8,2$  Hz, 1H, 3'); 6,89 (d,  $J = 7,6$  Hz, 1H, 5'); 7,15 (t,  $J = 7,3$  Hz, 1H, 4''); 7,30 (t,  $J = 8,0$  Hz, 1H, 4'); 7,37 (t,  $J = 7,8$  Hz, 2H, 2'' e 6''); 7,51 (s, 1H, ArCONHAr); 7,63 (d,  $J = 7,7$  Hz, 2H, 3'' e 5'').

RMN <sup>13</sup>C (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  14,3 (CH<sub>3</sub>, 15); 22,8 (CH<sub>2</sub>, 14); 29,5-29,8 (CH<sub>2</sub>, 3-12); 31,6 (CH<sub>2</sub>, 2); 32,1 (CH<sub>2</sub>, 13); 33,3 (CH<sub>2</sub>, 1); 56,0 (ArOCH<sub>3</sub>); 108,6 (ArCH, 3'); 120,0 (ArCH, 5'); 122,1 (ArCH, 4''); 124,4 (ArCH, 2'' e 6''); 126,6 (ArC, 1'); 129,2 (ArCH, 3'' e 5''); 130,3 (ArCH, 4'); 138,3 (ArC, 1''); 142,5 (ArC, 6'); 156,2 (ArC, 2'); 166,2 (ArCONHAr).

### Derivado *N*-Benzil-2-metóxi-6-pentadecilbenzilamida (LDT653, 23)



Sólido branco

Rendimento 77%

R<sub>f</sub>: 0,21 (Hex<sub>80%</sub>:AcOEt<sub>20%</sub>)

Ponto de fusão: 90-99°C

Fórmula molecular: C<sub>30</sub>H<sub>45</sub>NO<sub>2</sub>

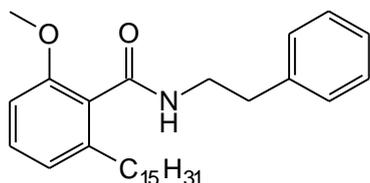
Massa Molar: 451,684 g/mol

IV (KBr)  $\nu_{\text{máx}} \text{ cm}^{-1}$ : 3289 ( $\nu_{\text{NH}}$ ); 3062 ( $\nu_{\text{=CH}}$ ); 2919 ( $\nu_{\text{asCH}_2}$ ); 2849 ( $\nu_{\text{SCH}_2}$ ); 1634 ( $\nu_{\text{C=O}}$ ); 1596, 1581, 1533, 1495, 1469, 1454 ( $\nu_{\text{C=C}}$ ); 1258 ( $\nu_{\text{asC-O}}$ ).

RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  0,89 (t,  $J = 6,4$  Hz, 3H, 15); 1,27 (s, 24H, 3-14); 1,56-1,60 (m, 2H, 2); 2,63 (t,  $J = 7,9$  Hz, 2H, 1); 3,81 (s, 3H,  $\text{ArOCH}_3$ ); 4,67 (d,  $J = 5,7$  Hz, 2H,  $\text{ArCONHCH}_2\text{Ar}$ ); 6,01 (t,  $J = 5,3$  Hz, 1H,  $\text{ArCONHCH}_2\text{Ar}$ ); 6,74 (d,  $J = 8,2$  Hz, 1H, 3'); 6,83 (d,  $J = 7,6$  Hz, 1H, 5'); 7,21-7,41 (m, 6H, 4', 2'', 3'', 4'', 5'' e 6'').

RMN  $^{13}\text{C}$  (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  14,3 ( $\text{CH}_3$ , 15); 22,9 ( $\text{CH}_2$ , 14); 29,5-29,9 ( $\text{CH}_2$ , 3-12); 31,8 ( $\text{CH}_2$ , 2); 32,1 ( $\text{CH}_2$ , 13); 33,4 ( $\text{CH}_2$ , 1); 44,0 ( $\text{ArCONHCH}_2\text{Ar}$ ); 55,9 ( $\text{ArOCH}_3$ ); 108,5 ( $\text{ArCH}$ , 3'); 121,9 ( $\text{ArCH}$ , 5'), 126,5 ( $\text{ArC}$ , 1'); 127,6 ( $\text{ArCH}$ , 4''); 128,1 ( $\text{ArCH}$ , 2'' e 6''); 128,8 ( $\text{ArCH}$ , 3'' e 5''); 130,0 ( $\text{ArCH}$ , 4'); 138,5 ( $\text{ArC}$ , 1''); 142,3 ( $\text{ArC}$ , 6'); 156,2 ( $\text{ArC}$ , 2'); 168,1 ( $\text{ArCONHCH}_2\text{Ar}$ ).

#### Derivado *N*-(2-Fenetil)-2-metóxi-6-pentadecilbenzilamida (LDT655, 24)



Sólido branco

Rendimento 71%

$R_f$ : 0,22 ( $\text{Hex}_{80\%}:\text{AcOEt}_{20\%}$ )

Ponto de fusão: 53-56°C

Fórmula molecular:  $\text{C}_{31}\text{H}_{47}\text{NO}_2$

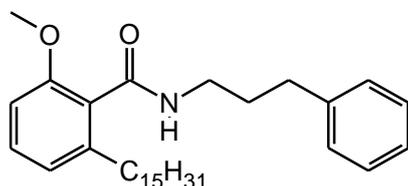
Massa Molar: 465,710 g/mol

IV (KBr)  $\nu_{\text{máx}} \text{ cm}^{-1}$ : 3434 ( $\nu_{\text{NH}}$ ); 3060 ( $\nu_{\text{=CH}}$ ); 2918 ( $\nu_{\text{asCH}_2}$ ); 2850 ( $\nu_{\text{SCH}_2}$ ); 1735 ( $\nu_{\text{C=O}}$ ); 1599, 1583, 1497, 1534, 1470 ( $\nu_{\text{C=C}}$ ); 1267 ( $\nu_{\text{asC-O}}$ ).

RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  0,89 (t,  $J = 6,5$  Hz, 3H, 15); 1,27 (m, 24H, 3-14); 1,54-1,57 (m, 2H, 2); 2,57 (t,  $J = 7,9$  Hz, 2H, 1); 2,94 (t,  $J = 6,8$  Hz, 3H,  $\text{ArCONHCH}_2\text{CH}_2\text{Ar}$ ); 3,70-3,85 (m, 5H,  $\text{ArOCH}_3$ ,  $\text{ArCONHCH}_2\text{CH}_2\text{Ar}$ ); 5,79 (t,  $J = 5,4$  Hz, 1H,  $\text{ArCONHCH}_2\text{CH}_2\text{Ar}$ ); 6,71 (d,  $J = 8,3$  Hz, 1H, 3'); 6,81 (d,  $J = 7,6$  Hz, 1H, 5'); 7,19-7,33 (m, 6H, 4', 2'', 3'', 4'', 5'' e 6'').

RMN  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  14,2 ( $\underline{\text{C}}\text{H}_3$ , 15); 22,8 ( $\underline{\text{C}}\text{H}_2$ , 14); 29,5-29,8 ( $\underline{\text{C}}\text{H}_2$ , 3-12); 31,6 ( $\underline{\text{C}}\text{H}_2$ , 2); 32,1 ( $\underline{\text{C}}\text{H}_2$ , 13); 33,2 ( $\underline{\text{C}}\text{H}_2$ , 1); 35,8 ( $\text{ArCONHCH}_2\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{Ar}$ ); 40,8 ( $\text{ArCONH}\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{CH}_2\text{Ar}$ ); 55,7 ( $\text{ArO}\underline{\text{C}}\text{H}_3$ ); 108,3 ( $\text{Ar}\underline{\text{C}}\text{H}$ , 3'); 121,8 ( $\text{Ar}\underline{\text{C}}$ , 1' e  $\text{Ar}\underline{\text{C}}\text{H}$ , 5'); 126,6 ( $\text{Ar}\underline{\text{C}}\text{H}$ , 4''); 128,7 ( $\text{Ar}\underline{\text{C}}\text{H}$ , 2'' e 6''); 128,9 ( $\text{Ar}\underline{\text{C}}\text{H}$ , 3'' e 5''); 129,8 ( $\text{Ar}\underline{\text{C}}\text{H}$ , 4'); 139,1 ( $\text{Ar}\underline{\text{C}}$ , 1''); 142,1 ( $\text{Ar}\underline{\text{C}}$ , 6'); 156,1 ( $\text{Ar}\underline{\text{C}}$ , 2'); 168,2 ( $\text{Ar}\underline{\text{C}}\text{ONHCH}_2\text{CH}_2\text{Ar}$ ).

### Derivado *N*-(3-Fenilpropil)-2-metóxi-6-pentadecilbenzilamida (LDT657, 25)



Sólido branco

Rendimento 96%

$R_f$ : 0,24 ( $\text{Hex}_{80\%}:\text{AcOEt}_{20\%}$ )

Ponto de fusão: 60-67°C

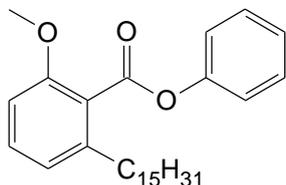
Fórmula molecular:  $\text{C}_{32}\text{H}_{49}\text{NO}_2$

Massa Molar: 479,737 g/mol

IV (KBr)  $\nu_{\text{máx}} \text{ cm}^{-1}$ : 3278 ( $\nu_{\text{NH}}$ ); 3085 ( $\nu_{=\text{CH}}$ ); 2918 ( $\nu_{\text{asCH}_2}$ ); 2848 ( $\nu_{\text{sCH}_2}$ ); 1636 ( $\nu_{\text{C}=\text{O}}$ ); 1595, 1585, 1550, 1534, 1497, 1469 ( $\nu_{\text{C}=\text{C}}$ ); 1264 ( $\nu_{\text{asC-O}}$ ).

RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  0,89 (t,  $J = 6,5$  Hz, 3H, 15); 1,26 (sl, 24H, 3-14); 1,55-1,60 (m, 2H, 2); 1,95 (qi,  $J = 7,7$  Hz, 2H,  $\text{ArCONHCH}_2\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{CH}_2\text{Ar}$ ); 2,62 (t,  $J = 7,8$  Hz, 2H,  $\text{ArCONHCH}_2\text{CH}_2\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{Ar}$ ); 2,73 (t,  $J = 7,7$  Hz, 2H, 1); 3,49 (q,  $J = 6,5$  Hz, 2H,  $\text{ArCONH}\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Ar}$ ); 3,79 (s, 3H,  $\text{ArO}\underline{\text{C}}\text{H}_3$ ); 5,79 (t,  $J = 5,7$  Hz, 1H,  $\text{ArCONH}\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Ar}$ ); 6,74 (d,  $J = 8,2$  Hz, 1H, 3'); 6,83 (d,  $J = 7,6$  Hz, 1H, 5'); 7,19-7,32 (m, 6H, 4', 2'', 3'', 4'', 5'' e 6'').

RMN  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  14,3 ( $\underline{\text{C}}\text{H}_3$ , 15); 22,8 ( $\underline{\text{C}}\text{H}_2$ , 14); 29,5-29,8 ( $\underline{\text{C}}\text{H}_2$ , 3-12); 31,5 ( $\text{ArCONHCH}_2\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{CH}_2\text{Ar}$ ); 31,7 ( $\underline{\text{C}}\text{H}_2$ , 2); 32,1 ( $\underline{\text{C}}\text{H}_2$ , 13); 33,3 ( $\text{ArCONHCH}_2\text{CH}_2\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{Ar}$ ); 33,3 ( $\underline{\text{C}}\text{H}_2$ , 1); 39,4 ( $\text{ArCONH}\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Ar}$ ); 55,8 ( $\text{ArO}\underline{\text{C}}\text{H}_3$ ); 108,4 ( $\text{Ar}\underline{\text{C}}\text{H}$ , 3'); 121,9 ( $\text{Ar}\underline{\text{C}}\text{H}$ , 5'); 126,1 ( $\text{Ar}\underline{\text{C}}\text{H}$ , 4''); 126,7 ( $\text{Ar}\underline{\text{C}}$ , 1'); 128,5 ( $\text{Ar}\underline{\text{C}}\text{H}$ , 2'' e 6''); 128,6 ( $\text{Ar}\underline{\text{C}}\text{H}$ , 3'' e 5''); 129,9 ( $\text{Ar}\underline{\text{C}}\text{H}$ , 4'); 141,7 ( $\text{Ar}\underline{\text{C}}$ , 1''); 142,1 ( $\text{Ar}\underline{\text{C}}$ , 6'); 156,1 ( $\text{Ar}\underline{\text{C}}$ , 2'); 168,2 ( $\text{Ar}\underline{\text{C}}\text{ONHCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Ar}$ ).

**Derivado 2-Metóxi-6-pentadecilbenzoato de fenila (LDT667, 26)**

Sólido branco

Rendimento 59%

R<sub>f</sub>: 0,55 (Hex<sub>80%</sub>:AcOEt<sub>20%</sub>)

Ponto de fusão: 34-38°C

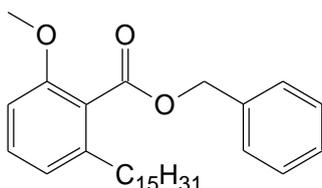
Fórmula molecular: C<sub>29</sub>H<sub>42</sub>O<sub>3</sub>

Massa Molar: 438,642 g/mol

IV (KBr)  $\nu_{\text{máx}} \text{ cm}^{-1}$ : 2919 ( $\nu_{\text{asCH}_2}$ ); 2851 ( $\nu_{\text{SCH}_2}$ ); 1746 ( $\nu_{\text{C=O}}$ ); 1587, 1490, 1473, 1458 ( $\nu_{\text{C=C}}$ ); 1279 ( $\nu_{\text{asC-O}}$ ).

RMN <sup>1</sup>H (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  0,90 (t,  $J = 6,8$  Hz, 3H, 15); 1,26 (m, 24H, 3-14); 1,37-1,39 (m, 2H, 12); 1,66-1,72 (m, 2H, 2); 2,73 (t,  $J = 7,8$  Hz, 2H, 1); 3,90 (s, 3H, ArOCH<sub>3</sub>); 6,83 (d,  $J = 8,2$  Hz, 1H, 3'); 6,89 (d,  $J = 7,6$  Hz, 1H, 5'); 7,25-7,30 (m, 3H, 2'', 4'' e 6''); 7,34 (t,  $J = 8,0$  Hz, 1H, 4'); 7,45 (t,  $J = 7,8$  Hz, 2H, 3'' e 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); 29,5-29,9 (CH<sub>2</sub>, 3-12); 31,5 (CH<sub>2</sub>, 2); 32,1 (CH<sub>2</sub>, 13); 33,7 (CH<sub>2</sub>, 1); 56,2 (ArOCH<sub>3</sub>); 108,7 (ArCH, 3'); 121,8 (ArCH, 5'); 121,9 (ArCH, 4''); 123,0 (ArC, 1'); 126,1 (ArCH, 2'' e 6''); 129,3 (ArCH, 3'' e 5''); 130,9 (ArCH, 4'); 141,8 (ArC, 1''); 151,1 (ArC, 6'); 156,8 (ArC, 2'); 167,1 (ArCOOAr).

**Derivado 2-Metóxi-6-pentadecilbenzoato de benzila (LDT669, 27)**

Sólido branco

Rendimento 34%

R<sub>f</sub>: 0,54 (Hex<sub>80%</sub>:AcOEt<sub>20%</sub>)

Ponto de fusão: 35-38°C

Fórmula molecular: C<sub>30</sub>H<sub>44</sub>O<sub>3</sub>

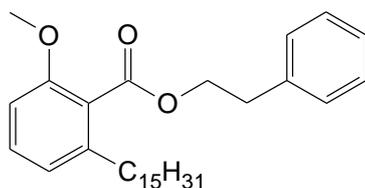
Massa Molar: 452,669 g/mol

IV (KBr)  $\nu_{\text{máx}} \text{ cm}^{-1}$ : 3065 ( $\nu_{\text{=CH}}$ ); 2917 ( $\nu_{\text{asCH}_2}$ ); 2849 ( $\nu_{\text{SCH}_2}$ ); 1729 ( $\nu_{\text{C=O}}$ ); 1599, 1585, 1507, 1497, 1471, 1458 ( $\nu_{\text{C=C}}$ ); 1269 ( $\nu_{\text{asC-O}}$ ).

RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  0,91 (t,  $J = 6,6$  Hz, 3H, 15); 1,29 (s, 24H, 3-14); 1,49-1,54 (m, 2H, 12); 2,50 (t,  $J = 7,9$  Hz, 2H, 1); 3,81 (s, 3H,  $\text{ArOCH}_3$ ); 5,39 (s, 2H,  $\text{ArCOOCH}_2\text{Ar}$ ); 6,76 (d,  $J = 8,3$  Hz, 1H, 3'); 6,81 (d,  $J = 7,6$  Hz, 1H, 5'); 7,27 (t,  $J = 8,0$  Hz, 1H, 4"); 7,34-7,41 (m, 3H, 2", 6", 4'); 7,46-7,48 (m, 2H, 3" e 5").

RMN  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  14,3 ( $\text{CH}_3$ , 15); 22,8 ( $\text{CH}_2$ , 14); 29,5-29,9 ( $\text{CH}_2$ , 3-12); 31,4 ( $\text{CH}_2$ , 2); 32,1 ( $\text{CH}_2$ , 13); 33,6 ( $\text{CH}_2$ , 1); 55,9 ( $\text{ArOCH}_3$ ); 67,0 ( $\text{ArCOOCH}_2\text{Ar}$ ); 108,6 ( $\text{ArCH}$ , 3'); 121,7 ( $\text{ArCH}$ , 5'); 123,6 ( $\text{ArC}$ , 1'); 128,5 ( $\text{ArCH}$ , 4"); 128,6 ( $\text{ArCH}$ , 2" e 6"); 128,8 ( $\text{ArCH}$ , 3" e 5"); 130,4 ( $\text{ArCH}$ , 4'); 136,0 ( $\text{ArC}$ , 1"); 141,6 ( $\text{ArC}$ , 6'); 156,5 ( $\text{ArC}$ , 2'); 168,4 ( $\text{ArCOOCH}_2\text{Ar}$ ).

#### Derivado 2-Metóxi-6-pentadecilbenzoato de 2-fenetila (LDT671, 28)



Sólido branco

Rendimento 69%

R<sub>f</sub>: 0,58 (Hex<sub>80%</sub>:AcOEt<sub>20%</sub>)

Ponto de fusão: 28-32°C

Fórmula molecular:  $\text{C}_{31}\text{H}_{46}\text{O}_3$

Massa Molar: 466,695 g/mol

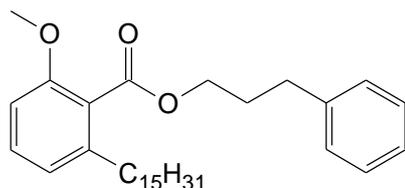
IV (KBr)  $\nu_{\text{máx}}$   $\text{cm}^{-1}$ : 3026 ( $\nu_{\text{CH}}$ ); 2922 ( $\nu_{\text{asCH}_2}$ ); 2848 ( $\nu_{\text{SCH}_2}$ ); 1733 ( $\nu_{\text{C=O}}$ ); 1580, 1497, 1468, 1458 ( $\nu_{\text{C=C}}$ ); 1271 ( $\nu_{\text{asC-O}}$ ).

RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  0,90 (t,  $J = 6,6$  Hz, 3H, 15); 1,26 (m, 24H, 3-14); 1,52-1,54 (m, 2H, 12); 2,48 (t,  $J = 7,8$  Hz, 2H, 1); 3,08 (t,  $J = 7,1$  Hz, 2H,  $\text{ArCOOCH}_2\text{CH}_2\text{Ar}$ ); 3,79 (s, 3H,  $\text{ArOCH}_3$ ); 4,56 (t,  $J = 7,1$  Hz, 2H,  $\text{ArCOOCH}_2\text{CH}_2\text{Ar}$ ); 6,76 (d,  $J = 8,2$  Hz, 1H, 3'); 6,81 (d,  $J = 7,6$  Hz, 1H, 5'); 7,24-7,32 (m, 6H, 4', 2", 3", 4", 5" e 6").

RMN  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  14,3 ( $\text{CH}_3$ , 15); 22,9 ( $\text{CH}_2$ , 14); 29,5-29,9 ( $\text{CH}_2$ , 3-12); 31,3 ( $\text{CH}_2$ , 2); 32,1 ( $\text{CH}_2$ , 13); 33,5 ( $\text{CH}_2$ , 1); 35,2 ( $\text{ArCOOCH}_2\text{CH}_2\text{Ar}$ ); 56,0 ( $\text{ArOCH}_3$ ); 65,7 ( $\text{ArCOOCH}_2\text{CH}_2\text{Ar}$ ); 108,5 ( $\text{ArCH}$ , 3'); 121,6 ( $\text{ArCH}$ , 5'); 123,8 ( $\text{ArC}$ , 1'); 126,7

(ArCH, 4''); 128,6 (ArCH, 2'' e 6''); 129,1 (ArCH, 3'' e 5''); 130,3 (ArCH, 4'); 138,0 (ArC, 1''); 141,5 (ArC, 6'); 156,5 (ArC, 2'); 168,6 (ArCOOCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>Ar).

### Derivado 2-Metóxi-6-pentadecilbenzoato de 3-fenilpropila (LDT673, 29)



Sólido branco

Rendimento 27%

R<sub>f</sub>: 0,62 (Hex<sub>80%</sub>:AcOEt<sub>20%</sub>)

Ponto de fusão: 31-34°C

Fórmula molecular: C<sub>32</sub>H<sub>48</sub>O<sub>3</sub>

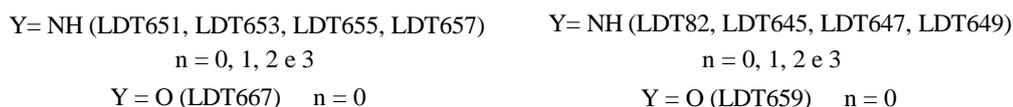
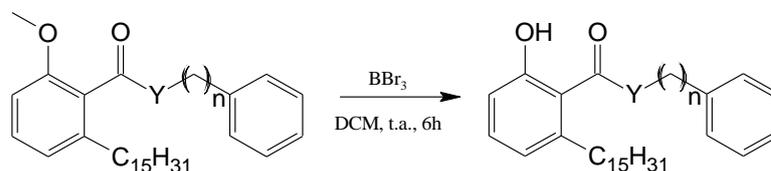
Massa Molar: 480,722 g/mol

IV (KBr)  $\nu_{\text{máx}}$  cm<sup>-1</sup>: 3029 ( $\nu_{\text{=CH}}$ ); 2917 ( $\nu_{\text{asCH}_2}$ ); 2850 ( $\nu_{\text{SCH}_2}$ ); 1735 ( $\nu_{\text{C=O}}$ ); 1599, 1583, 1507, 1497, 1470 ( $\nu_{\text{C=C}}$ ); 1267 ( $\nu_{\text{asC-O}}$ ).

RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  0,88-0,92 (m, 3H, 15); 1,26-1,27 (m, 24H, 3-14); 1,59-1,64 (m, 2H, 12); 2,04-2,11 (m, 2H, ArCOOCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>Ar); 2,59 (t,  $J = 7,8$  Hz, 2H, 2H, 1); 2,79 (t,  $J = 7,6$  Hz, 2H, ArCOOCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>Ar); 3,84 (s, 3H, ArOCH<sub>3</sub>); 4,35-4,39 (m, 2H, ArCOOCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>Ar); 6,79 (d,  $J = 8,3$  Hz, 1H, 3'); 6,85 (d,  $J = 7,7$  Hz, 1H, 5'); 7,19-7,33 (m, 6H, 2'', 3'', 4'', 5'', 6'' e 4').

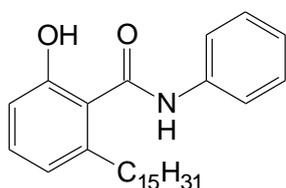
RMN <sup>13</sup>C (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  14,3 (CH<sub>3</sub>, 15); 22,9 (CH<sub>2</sub>, 14); 29,5-29,9 (CH<sub>2</sub>, 3-12); 30,5 (ArCOOCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>Ar); 31,5 (CH<sub>2</sub>, 2); 32,1 (CH<sub>2</sub>, 13); 32,3 (ArCOOCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>Ar); 33,7 (CH<sub>2</sub>, 1); 56,0 (ArOCH<sub>3</sub>); 64,5 (ArCOOCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>Ar); 108,6 (ArCH, 3'); 121,7 (ArCH, 5'); 124,0 (ArC, 1'); 126,2 (ArCH, 4''); 128,6 (ArCH, 2'' e 6''); 128,6 (ArCH, 3'' e 5''); 130,3 (ArCH, 4'); 141,4 (ArC, 6' e ArC, 1''); 156,5 (ArC, 2'); 168,7 (ArCOOCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>Ar).

### 5.2.10 Obtenção dos Derivados Amidas e Éster LDT659: 2'-Hidroxissubstituídos



Em um balão (25 mL) foram adicionados 0,20 g dos derivados amidas e éster 2'-metoxilados, solução de BBr<sub>3</sub> 1M (4,00 eqv.) e diclorometano seco (4,0 mL), sob atmosfera de nitrogênio. O sistema reacional permaneceu sob agitação magnética à temperatura ambiente por 6 horas. Em seguida, a mistura foi vertida em béquer com gelo e extraída com acetato de etila (3 x 10,0 mL). A fração orgânica foi lavada com solução concentrada de cloreto de sódio (10,0 mL), seca com sulfato de sódio e o solvente evaporado à pressão reduzida. Os resíduos foram purificados em coluna de gel de sílica com mistura de hexano e acetato de etila em diferentes concentrações, fornecendo os derivados.

#### Derivado *N*-Fenil-2-hidróxi-6-pentadecilbenzilamida (LDT82, 30)



Sólido branco

Rendimento 80%

R<sub>f</sub>: 0,28 (Hex<sub>80%</sub>:AcOEt<sub>20%</sub>)

Ponto de fusão: 71-74°C

Fórmula molecular: C<sub>28</sub>H<sub>41</sub>NO<sub>2</sub>

Massa Molar: 423,631 g/mol

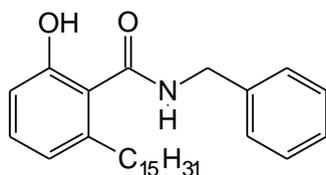
IV (KBr)  $\nu_{\text{máx}}$  cm<sup>-1</sup>: 3284 ( $\nu_{\text{NH}}$ ); 3143 ( $\nu_{\text{OH}}$ ); 2920 ( $\nu_{\text{asCH}_2}$ ); 2851 ( $\nu_{\text{SCH}_2}$ ); 1595 ( $\nu_{\text{C=O}}$ ); 1559, 1443 ( $\nu_{\text{C=C}}$ ).

RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  0,90 (t, *J* = 6,6 Hz, 3H, 15); 1,24-1,32 (m, 24H, 3-14); 1,64-1,74 (m, 2H, 2); 2,85 (t, *J* = 7,8 Hz, 2H, 1); 6,82 (t, *J* = 7,0 Hz, 2H, 3' e 5'); 7,18-

7,28 (m, 2H, 4' e 4"); 7,40 (t,  $J = 7,8$  Hz, 2H, 3" e 5"); 7,57 (d,  $J = 7,8$  Hz, 2H, 2" e 6"); 7,67 (s, ArCONHAr); 9,10 (sl, ArOH)

RMN  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  14,3 ( $\text{CH}_3$ , 15); 22,9 ( $\text{CH}_2$ , 14); 29,5-29,8 ( $\text{CH}_2$ , 3-12); 29,8 ( $\text{CH}_2$ , 2); 32,1 ( $\text{CH}_2$ , 13); 34,7 ( $\text{CH}_2$ , 1); 115,4 (ArCH, 3'); 120,0 (ArC, 1'); 120,7 (ArCH, 5'); 122,1 (ArCH, 4"); 125,4 (ArCH, 2" e 6"); 129,4 (ArCH, 3" e 5"); 132,2 (ArCH, 4'); 137,2 (ArC, 1"); 140,8 (ArC, 6'); 158,0 (ArC, 2'); 168,3 (ArCONHAr).

### Derivado *N*-Benzil-2-hidróxi-6-pentadecilbenzilamida (LDT645, 31)



Sólido branco

Rendimento 77%

R<sub>f</sub>: 0,25 (Hex<sub>80%</sub>:AcOEt<sub>20%</sub>)

Ponto de fusão: 85-87°C

Fórmula molecular:  $\text{C}_{29}\text{H}_{43}\text{NO}_2$

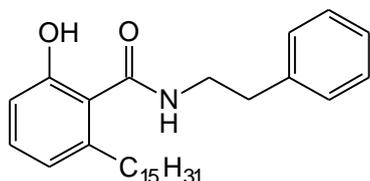
Massa Molar: 437,657 g/mol

IV (KBr)  $\nu_{\text{máx}}$   $\text{cm}^{-1}$ : 3405 ( $\nu_{\text{NH}}$ ); 3152 ( $\nu_{=\text{CH}}$ ); 2917 ( $\nu_{\text{asCH}_2}$ ); 2849 ( $\nu_{\text{sCH}_2}$ ); 1609 ( $\nu_{\text{C=O}}$ ); 1533, 1466 ( $\nu_{\text{C=C}}$ ).

RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  0,90 (t,  $J = 6,6$  Hz, 3H, 15); 1,20-1,32 (m, 24H, 3-14); 1,53 (m, 2H, 2); 2,69 (t,  $J = 8,0$  Hz, 2H, 1); 4,67 (d,  $J = 5,5$  Hz, 2H, ArCONHCH<sub>2</sub>Ar); 6,01 (t,  $J = 4,9$  Hz, 1H, ArCONHCH<sub>2</sub>Ar); 6,71 (d,  $J = 7,5$  Hz, 1H, 3'); 6,81 (d,  $J = 7,9$  Hz, 1H, 5'); 7,20 (t,  $J = 7,8$  Hz, 1H, 4'); 7,30-7,37 (m, 5H, 2", 3", 4", 5" e 6"); 9,79 (sl, ArOH).

RMN  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  14,3 ( $\text{CH}_3$ , 15); 22,8 ( $\text{CH}_2$ , 14); 29,5-29,9 ( $\text{CH}_2$ , 3-12); 32,1 ( $\text{CH}_2$ , 2); 32,2 ( $\text{CH}_2$ , 13); 34,8 ( $\text{CH}_2$ , 1); 44,4 (ArCONHCH<sub>2</sub>Ar); 115,3 (ArCH, 3'); 118,8 (ArC, 1'), 121,8 (ArCH, 5'); 128,1 (ArCH, 4"); 128,2 (ArCH, 2" e 6"); 129,1 (ArCH, 3" e 5"); 132,0 (ArCH, 4'); 137,4 (ArC, 1"); 140,8 (ArC, 6'); 158,5 (ArC, 2'); 169,9 (ArCONHCH<sub>2</sub>Ar).

**Derivado *N*-(2-Fenetil)-2-hidróxi-6-pentadecilbenzilamida (LDT647, 32)**



Sólido branco

Rendimento 98%

R<sub>f</sub>: 0,24 (Hex<sub>80%</sub>:AcOEt<sub>20%</sub>)

Ponto de fusão: 72-75°C

Fórmula molecular: C<sub>30</sub>H<sub>45</sub>NO<sub>2</sub>

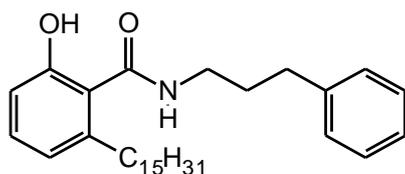
Massa Molar: 451,684 g/mol

IV (KBr)  $\nu_{\text{máx}} \text{ cm}^{-1}$ : 3429 ( $\nu_{\text{NH}}$ ); 3326 ( $\nu_{\text{OH}}$ ); 2954 ( $\nu_{\text{CH}}$ ); 2920 ( $\nu_{\text{asCH}_2}$ ); 2850 ( $\nu_{\text{sCH}_2}$ ); 1610 ( $\nu_{\text{C=O}}$ ); 1560, 1542, 1498, 1466 ( $\nu_{\text{C=C}}$ ).

RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  0,90 (t,  $J = 6,6$  Hz, 3H, 15); 1,23-1,29 (m, 24H, 3-14); 1,42-1,52 (m, 2H, 2); 2,56 (t,  $J = 7,9$  Hz, 2H, 1); 2,95 (t,  $J = 6,8$  Hz, 2H, ArCONHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>Ar); 3,78 (q,  $J = 6,4$  Hz, 2H, ArCONHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>Ar); 6,02 (t,  $J = 5,2$  Hz, 1H, ArCONHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>Ar); 6,69 (d,  $J = 7,5$  Hz, 1H, 3'); 6,79 (d,  $J = 7,5$  Hz, 1H 5'); 7,18 (t,  $J = 7,9$  Hz, 1H, 4'); 7,23-7,27 (m, 3H, 2", 4" e 6"); 7,31-7,36 (m, 2H, 3" e 5"), 9,86 (sl, ArOH)

RMN <sup>13</sup>C (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  14,3 (CH<sub>3</sub>, 15); 22,8 (CH<sub>2</sub>, 14); 29,5-29,9 (CH<sub>2</sub>, 3-12); 31,7 (CH<sub>2</sub>, 2); 32,1 (CH<sub>2</sub>, 13); 34,4 (CH<sub>2</sub>, 1); 35,4 (ArCONHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>Ar); 41,1 (ArCONHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>Ar); 115,2 (ArCH, 3'); 118,9 (ArC, 1'), 121,6 (ArCH, 5'); 127,0 (ArCH, 4"); 128,8 (ArCH, 2" e 6"); 129,0 (ArCH, 3" e 5"); 131,9 (ArCH, 4'); 138,5 (ArC, 1"); 140,6 (ArC, 6'); 158,5 (ArC, 2'); 170,2 (ArCONHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>Ar).

**Derivado *N*-(3-Fenilpropil)-2-hidróxi-6-pentadecilbenzilamida (LDT649, 33)**



Sólido branco

Rendimento 97%

R<sub>f</sub>: 0,28 (Hex<sub>80%</sub>:AcOEt<sub>20%</sub>)

Ponto de fusão: 59-65°C

Fórmula molecular: C<sub>31</sub>H<sub>47</sub>NO<sub>2</sub>

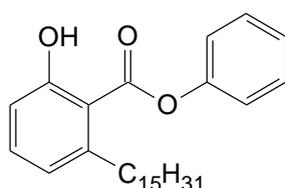
Massa Molar: 465,710 g/mol

IV (KBr)  $\nu_{\text{máx}} \text{ cm}^{-1}$ : 3288 ( $\nu_{\text{NH}}$ ); 3062 ( $\nu_{\text{=CH}}$ ); 2954 ( $\nu_{\text{asCH}_3}$ ); 2922 ( $\nu_{\text{asCH}_2}$ ); 2851 ( $\nu_{\text{SCH}_2}$ ); 1637 ( $\nu_{\text{C=O}}$ ); 1583, 1560, 1471, 1457 ( $\nu_{\text{C=C}}$ ).

RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  0,90 (t,  $J = 6,6$  Hz, 3H, 15); 1,27 (s, 24H, 3-14); 1,56-1,66 (m, 2H, 2); 1,96 (qi,  $J = 7,5$  Hz, 2H,  $\text{ArCONHCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Ar}$ ); 2,73 (m, 4H,  $\text{CH}_2$ , 1 e  $\text{ArCONHCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Ar}$ ); 3,50 (q,  $J = 6,6$  Hz, 2H,  $\text{ArCONHCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Ar}$ ); 6,06 (t,  $J = 5,7$  Hz, 1H,  $\text{ArCONHCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Ar}$ ); 6,73 (d,  $J = 7,5$  Hz, 1H, 3'); 6,79 (d,  $J = 7,5$  Hz, 1H, 5'); 7,17-7,22 (m, 4H, 4', 2", 4" e 6"); 7,27-7,32 (m, 2H, 3" e 5"); 9,66 (sl,  $\text{ArOH}$ ).

RMN  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  14,3 ( $\text{CH}_3$ , 15); 22,8 ( $\text{CH}_2$ , 14); 29,5-29,8 ( $\text{CH}_2$ , 3-12); 31,2 ( $\text{ArCONHCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Ar}$ ); 32,0 ( $\text{CH}_2$ , 2); 32,1 ( $\text{CH}_2$ , 13); 33,5 ( $\text{ArCONHCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Ar}$ ); 34,6 ( $\text{CH}_2$ , 1); 39,8 ( $\text{ArCONHCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Ar}$ ); 115,2 ( $\text{ArCH}$ , 3'); 119,4 ( $\text{ArC}$ , 1'), 121,7 ( $\text{ArCH}$ , 5'); 126,3 ( $\text{ArCH}$ , 4"); 128,5 ( $\text{ArCH}$ , 2" e 6"); 128,7 ( $\text{ArCH}$ , 3" e 5"); 131,8 ( $\text{ArCH}$ , 4'); 140,6 ( $\text{ArC}$ , 1"); 141,2 ( $\text{ArC}$ , 6'); 158,1 ( $\text{ArC}$ , 2'); 170,1 ( $\text{ArCONHCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Ar}$ ).

### Derivado 2-Metóxi-6-pentadecilbenzoato de fenila (LDT659, 34)



Sólido branco

Rendimento 55%

$R_f$ : 0,61 ( $\text{Hex}_{80\%}:\text{AcOEt}_{20\%}$ )

Ponto de fusão: 35-38°C

Fórmula molecular:  $\text{C}_{28}\text{H}_{40}\text{O}_3$

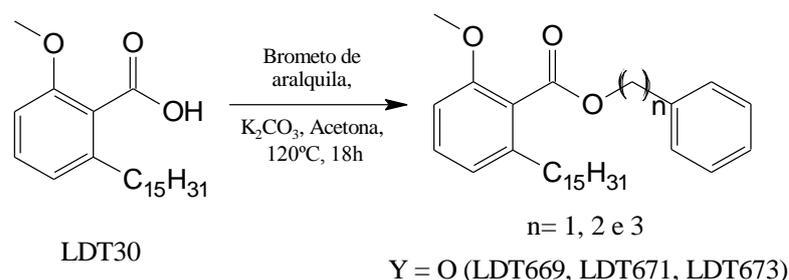
Massa Molar: 424,615 g/mol

IV (KBr)  $\nu_{\text{máx}} \text{ cm}^{-1}$ : 3445 ( $\nu_{\text{OH}}$ ); 2924 ( $\nu_{\text{asCH}_2}$ ); 1688 ( $\nu_{\text{C=O}}$ ); 1525 ( $\nu_{\text{C=C}}$ ).

RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  0,90 (m, 3H, 15); 1,23-1,36 (m, 24H, 3-14); 1,70 (m, 2H, 12); 3,07 (t,  $J = 7,5$  Hz, 2H, 1); 6,83 (d,  $J = 7,1$  Hz, 1H, 3'); 6,92 (d,  $J = 7,9$  Hz, 1H, 5'); 7,21-7,26 (m, 2H, 4' e 4"); 7,34-7,40 (m, 2H, 2" e 6"); 7,47-7,50 (m, 2H, 3" e 5"); 10,92 (s,  $\text{ArOH}$ ).

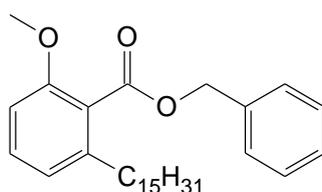
RMN  $^{13}\text{C}$  (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  14,3 ( $\text{CH}_3$ , 15); 22,9 ( $\text{CH}_2$ , 14); 29,5-30,0 ( $\text{CH}_2$ , 3-12); 32,1 ( $\text{CH}_2$ , 2); 32,7 ( $\text{CH}_2$ , 13); 37,1 ( $\text{CH}_2$ , 1); 111,4 ( $\text{ArC}$ , 1'); 116,1 ( $\text{ArCH}$ , 3'); 121,8 ( $\text{ArCH}$ , 5'); 123,0 ( $\text{ArCH}$ , 4''); 126,6 ( $\text{ArCH}$ , 2'' e 6''); 129,9 ( $\text{ArCH}$ , 3'' e 5''); 135,1 ( $\text{ArCH}$ , 4'); 146,8 ( $\text{ArC}$ , 1''); 150,1 ( $\text{ArC}$ , 6'); 163,5 ( $\text{ArC}$ , 2'); 170,5 ( $\text{ArCOOAr}$ ).

### 5.2.11 Obtenção dos Derivados 2'-Metoxiésteres via Brometos de Aralquila



Em um balão (25 mL) foram adicionados 0,20 g do derivado LDT30 (**20**) (0,57 mmol), carbonato de potássio (2,00 eqv), brometo de aralquila correspondente (3,00 eqv) e acetona (8,0 mL). A mistura permaneceu sob agitação, à temperatura de 120°C, por 18 horas. Em seguida, o solvente foi evaporado à pressão reduzida e o resíduo extraído com acetato de etila (3 x 10,0 mL). As frações orgânicas reunidas foram lavadas com soluções de HCl 10% (2 x 10,0 mL), saturada de cloreto de sódio (10,0 mL) e secas com sulfato de sódio. Após o solvente ser removido à pressão reduzida, a mistura foi purificada em coluna cromatográfica de gel de sílica, eluída em diferentes concentrações de hexano e acetato de etila, fornecendo os derivados.

#### Derivado 2-Metóxi-6-pentadecilbenzoato de benzila (LDT669, 27)



Sólido branco

Rendimento 64%

$R_f$ : 0,54 (Hex<sub>80%</sub>:AcOEt<sub>20%</sub>)

Ponto de fusão: 35-38°C

Fórmula molecular:  $\text{C}_{30}\text{H}_{44}\text{O}_3$

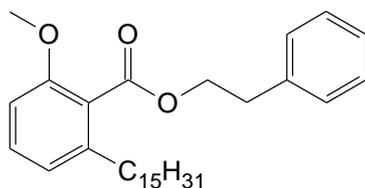
Massa Molar: 452,669 g/mol

IV (KBr)  $\nu_{\text{máx}} \text{ cm}^{-1}$ : 3065 ( $\nu_{\text{=CH}}$ ); 2917 ( $\nu_{\text{asCH}_2}$ ); 2849 ( $\nu_{\text{SCH}_2}$ ); 1729 ( $\nu_{\text{C=O}}$ ); 1599, 1585, 1507, 1497, 1471, 1458 ( $\nu_{\text{C=C}}$ ); 1269 ( $\nu_{\text{asC-O}}$ ).

RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  0,91 (t,  $J = 6,6$  Hz, 3H, 15); 1,29 (s, 24H, 3-14); 1,49-1,54 (m, 2H, 12); 2,50 (t,  $J = 7,9$  Hz, 2H, 1); 3,81 (s, 3H,  $\text{ArOCH}_3$ ); 5,39 (s, 2H,  $\text{ArCOOCH}_2\text{Ar}$ ); 6,76 (d,  $J = 8,3$  Hz, 1H, 3'); 6,81 (d,  $J = 7,6$  Hz, 1H, 5'); 7,27 (t,  $J = 8,0$  Hz, 1H, 4''); 7,34-7,41 (m, 3H, 2'', 6'', 4'); 7,46-7,48 (m, 2H, 3'' e 5'').

RMN  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  14,3 ( $\text{CH}_3$ , 15); 22,8 ( $\text{CH}_2$ , 14); 29,5-29,9 ( $\text{CH}_2$ , 3-12); 31,4 ( $\text{CH}_2$ , 2); 32,1 ( $\text{CH}_2$ , 13); 33,6 ( $\text{CH}_2$ , 1); 55,9 ( $\text{ArOCH}_3$ ); 67,0 ( $\text{ArCOOCH}_2\text{Ar}$ ); 108,6 ( $\text{ArCH}$ , 3'); 121,7 ( $\text{ArCH}$ , 5'); 123,6 ( $\text{ArC}$ , 1'); 128,5 ( $\text{ArCH}$ , 4''); 128,6 ( $\text{ArCH}$ , 2'' e 6''); 128,8 ( $\text{ArCH}$ , 3'' e 5''); 130,4 ( $\text{ArCH}$ , 4'); 136,0 ( $\text{ArC}$ , 1''); 141,6 ( $\text{ArC}$ , 6'); 156,5 ( $\text{ArC}$ , 2'); 168,4 ( $\text{ArCOOCH}_2\text{Ar}$ ).

### Derivado 2-Metóxi-6-pentadecilbenzoato de 2-fenetila (LDT671, 28)



Sólido branco

Rendimento 57%

$R_f$ : 0,58 ( $\text{Hex}_{80\%}:\text{AcOEt}_{20\%}$ )

Ponto de fusão: 28-32°C

Fórmula molecular:  $\text{C}_{31}\text{H}_{46}\text{O}_3$

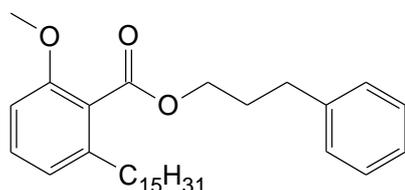
Massa Molar: 466,695 g/mol

IV (KBr)  $\nu_{\text{máx}} \text{ cm}^{-1}$ : 3026 ( $\nu_{\text{=CH}}$ ); 2922 ( $\nu_{\text{asCH}_2}$ ); 2848 ( $\nu_{\text{SCH}_2}$ ); 1733 ( $\nu_{\text{C=O}}$ ); 1580, 1497, 1468, 1458 ( $\nu_{\text{C=C}}$ ); 1271 ( $\nu_{\text{asC-O}}$ ).

RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  0,90 (t,  $J = 6,6$  Hz, 3H, 15); 1,26 (m, 24H, 3-14); 1,52-1,54 (m, 2H, 12); 2,48 (t,  $J = 7,8$  Hz, 2H, 1); 3,08 (t,  $J = 7,1$  Hz, 2H,  $\text{ArCOOCH}_2\text{CH}_2\text{Ar}$ ); 3,79 (s, 3H,  $\text{ArOCH}_3$ ); 4,56 (t,  $J = 7,1$  Hz, 2H,  $\text{ArCOOCH}_2\text{CH}_2\text{Ar}$ ); 6,76 (d,  $J = 8,2$  Hz, 1H, 3'); 6,81 (d,  $J = 7,6$  Hz, 1H, 5'); 7,24-7,32 (m, 6H, 4', 2'', 3'', 4'', 5'' e 6'').

RMN  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  14,3 ( $\text{CH}_3$ , 15); 22,9 ( $\text{CH}_2$ , 14); 29,5-29,9 ( $\text{CH}_2$ , 3-12); 31,3 ( $\text{CH}_2$ , 2); 32,1 ( $\text{CH}_2$ , 13); 33,5 ( $\text{CH}_2$ , 1); 35,2 ( $\text{ArCOOCH}_2\text{CH}_2\text{Ar}$ ); 56,0 ( $\text{ArOCH}_3$ ); 65,7 ( $\text{ArCOOCH}_2\text{CH}_2\text{Ar}$ ); 108,5 ( $\text{ArCH}$ , 3'); 121,6 ( $\text{ArCH}$ , 5'); 123,8 ( $\text{ArC}$ , 1'); 126,7 ( $\text{ArCH}$ , 4''); 128,6 ( $\text{ArCH}$ , 2'' e 6''); 129,1 ( $\text{ArCH}$ , 3'' e 5''); 130,3 ( $\text{ArCH}$ , 4'); 138,0 ( $\text{ArC}$ , 1''); 141,5 ( $\text{ArC}$ , 6'); 156,5 ( $\text{ArC}$ , 2'); 168,6 ( $\text{ArCOOCH}_2\text{CH}_2\text{Ar}$ ).

### Derivado 2-Metóxi-6-pentadecilbenzoato de 3-fenilpropila (LDT673, 29)



Sólido branco

Rendimento 35%

$R_f$ : 0,62 ( $\text{Hex}_{80\%}:\text{AcOEt}_{20\%}$ )

Ponto de fusão: 31-34°C

Fórmula molecular:  $\text{C}_{32}\text{H}_{48}\text{O}_3$

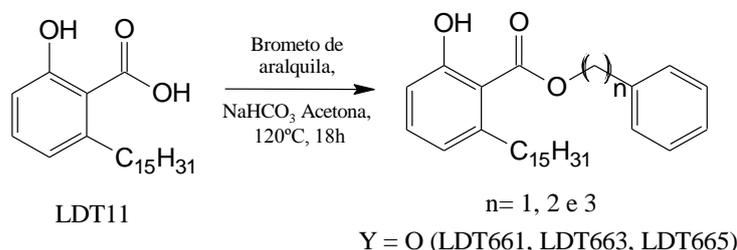
Massa Molar: 480,722 g/mol

IV (KBr)  $\nu_{\text{máx}} \text{ cm}^{-1}$ : 3029 ( $\nu_{\text{CH}}$ ); 2917 ( $\nu_{\text{asCH}_2}$ ); 2850 ( $\nu_{\text{SCH}_2}$ ); 1735 ( $\nu_{\text{C=O}}$ ); 1599, 1583, 1507, 1497, 1470 ( $\nu_{\text{C=C}}$ ); 1267 ( $\nu_{\text{asC-O}}$ ).

RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  0,88-0,92 (m, 3H, 15); 1,26-1,27 (m, 24H, 3-14); 1,59-1,64 (m, 2H, 12); 2,04-2,11 (m, 2H,  $\text{ArCOOCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Ar}$ ); 2,59 (t,  $J = 7,8$  Hz, 2H, 2H, 1); 2,79 (t,  $J = 7,6$  Hz, 2H,  $\text{ArCOOCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Ar}$ ); 3,84 (s, 3H,  $\text{ArOCH}_3$ ); 4,35-4,39 (m, 2H,  $\text{ArCOOCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Ar}$ ); 6,79 (d,  $J = 8,3$  Hz, 1H, 3'); 6,85 (d,  $J = 7,7$  Hz, 1H, 5'); 7,19-7,33 (m, 6H, 2'', 3'', 4'', 5'', 6'' e 4').

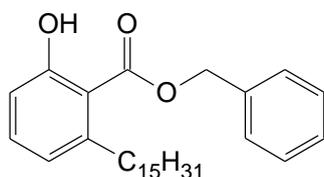
RMN  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  14,3 ( $\text{CH}_3$ , 15); 22,9 ( $\text{CH}_2$ , 14); 29,5-29,9 ( $\text{CH}_2$ , 3-12); 30,5 ( $\text{ArCOOCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Ar}$ ); 31,5 ( $\text{CH}_2$ , 2); 32,1 ( $\text{CH}_2$ , 13); 32,3 ( $\text{ArCOOCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Ar}$ ); 33,7 ( $\text{CH}_2$ , 1); 56,0 ( $\text{ArOCH}_3$ ); 64,5 ( $\text{ArCOOCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Ar}$ ); 108,6 ( $\text{ArCH}$ , 3'); 121,7 ( $\text{ArCH}$ , 5'); 124,0 ( $\text{ArC}$ , 1'); 126,2 ( $\text{ArCH}$ , 4''); 128,6 ( $\text{ArCH}$ , 2'' e 6''); 128,6 ( $\text{ArCH}$ , 3'' e 5''); 130,3 ( $\text{ArCH}$ , 4'); 138,0 ( $\text{ArC}$ , 1''); 141,4 ( $\text{ArC}$ , 6'); 156,5 ( $\text{ArC}$ , 2'); 168,7 ( $\text{ArCOOCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Ar}$ ).

### 5.2.12 Obtenção dos Derivados 2'-hidróxiésteres LDT661 (35), LDT663 (36) e LDT665 (37)



Em um balão (25 mL) foram adicionados 0,20 g do derivado LDT11 (**16**) (0,57 mmol), bicarbonato de sódio (2,00 eqv), brometo de aralquila correspondente (3,00 eqv.) e acetona (8,0 mL). A mistura permaneceu sob agitação, à temperatura de 120°C, por 18 horas. Em seguida, o solvente foi evaporado à pressão reduzida e o resíduo extraído com acetato de etila (3 x 10,0 mL). As frações orgânicas reunidas foram lavadas com soluções de HCl 10% (2 x 10,0 mL), saturada de cloreto de sódio (10,0 mL) e seca com sulfato de sódio. Após o solvente ser evaporado à pressão reduzida, a mistura foi purificada em coluna cromatográfica de gel de sílica, eluída em diferentes concentrações de hexano e acetato de etila, fornecendo os derivados.

#### Derivado 2-Hidróxi-6-pentadecilbenzoato de benzila (LDT661, 35)



Sólido branco

Rendimento 60%

R<sub>f</sub>: 0,65 (Hex<sub>80%</sub>:AcOEt<sub>20%</sub>)

Ponto de fusão: 29-36°C

Fórmula molecular: C<sub>29</sub>H<sub>42</sub>O<sub>3</sub>

Massa Molar: 438,642 g/mol

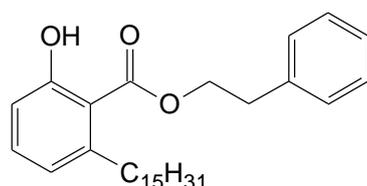
IV (KBr)  $\nu_{\text{máx}} \text{ cm}^{-1}$ : 3447 ( $\nu_{\text{OH}}$ ); 2924 ( $\nu_{\text{asCH}_2}$ ); 2853 ( $\nu_{\text{sCH}_2}$ ); 1661 ( $\nu_{\text{C=O}}$ ); 1455 ( $\nu_{\text{C=C}}$ ); 1248 ( $\nu_{\text{asC-O}}$ ).

RMN <sup>1</sup>H (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  0,91 (m, 3H, 15); 1,10-1,42 (m, 26H, 2-14); 2,82-2,84 (m, 2H, 1); 5,40 (s, 2H, ArCOOCH<sub>2</sub>Ar); 6,70 (d,  $J = 7,1 \text{ Hz}$ , 1H, 3'); 6,85 (d,  $J = 8,1$

Hz, 1H, 5'); 7,29 (t,  $J = 7,8$  Hz, 1H, 4''); 7,40-7,41 (m, 3H, 2'', 6'', 4'); 7,45 (m, 2H, 3'' e 5''); 11,20 (s, ArOH).

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); 29,5-30,0 ( $\underline{\text{C}}\text{H}_2$ , 3-12); 32,1 ( $\underline{\text{C}}\text{H}_2$ , 2); 32,6 ( $\underline{\text{C}}\text{H}_2$ , 13); 36,9 ( $\underline{\text{C}}\text{H}_2$ , 1); 67,0 ( $\text{ArCOO}\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{Ar}$ ); 112,0 ( $\text{Ar}\underline{\text{C}}$ , 1'); 115,8 ( $\text{Ar}\underline{\text{C}}\text{H}$ , 3'); 122,6 ( $\text{Ar}\underline{\text{C}}\text{H}$ , 5'); 128,9 ( $\text{Ar}\underline{\text{C}}\text{H}$ , 2'' e 6''); 129,2 ( $\text{Ar}\underline{\text{C}}\text{H}$ , 3'' e 5''); 134,4 ( $\text{Ar}\underline{\text{C}}\text{H}$ , 4'); 135,0 ( $\text{Ar}\underline{\text{C}}$ , 1''); 146,5 ( $\text{Ar}\underline{\text{C}}$ , 6'); 162,9 ( $\text{Ar}\underline{\text{C}}$ , 2'); 171,6 ( $\text{Ar}\underline{\text{C}}\text{OOCH}_2\text{Ar}$ ).

### Derivado 2-Hidróxi-6-pentadecilbenzoato de 2-fenetila (LDT663, 36)



Sólido branco

Rendimento 71%

$R_f$ : 0,64 ( $\text{Hex}_{80\%}:\text{AcOEt}_{20\%}$ )

Ponto de fusão: 25-27°C

Fórmula molecular:  $\text{C}_{30}\text{H}_{44}\text{O}_3$

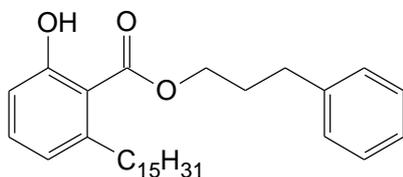
Massa Molar: 452,669 g/mol

IV (KBr)  $\nu_{\text{máx}} \text{ cm}^{-1}$ : 3446 ( $\nu_{\text{OH}}$ ); 2923 ( $\nu_{\text{asCH}_2}$ ); 2852 ( $\nu_{\text{sCH}_2}$ ); 1660 ( $\nu_{\text{C=O}}$ ); 1576, 1497, 1449 ( $\nu_{\text{C=C}}$ ); 1248 ( $\nu_{\text{asC-O}}$ ).

RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  0,91 (t,  $J = 6,6$  Hz, 3H, 15); 1,28 (s, 24H, 3-14); 1,49 (sl, 2H, 2); 2,83 (t,  $J = 7,6$  Hz, 2H, 1); 3,13 (t,  $J = 7,0$  Hz, 2H,  $\text{ArCOOCH}_2\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{Ar}$ ); 4,63 (t,  $J = 7,1$  Hz, 2H,  $\text{ArCOOCH}_2\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{CH}_2\text{Ar}$ ); 6,72 (d,  $J = 7,0$  Hz, 1H, 3'); 6,85 (d,  $J = 7,6$  Hz, 1H, 5'); 7,28-7,29 (m, 4H, 4', 2'', 4'' e 6''); 7,33-7,35 (m, 2H, 3'' e 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); 29,5-30,0 ( $\underline{\text{C}}\text{H}_2$ , 3-12); 32,1 ( $\underline{\text{C}}\text{H}_2$ , 2); 32,2 ( $\underline{\text{C}}\text{H}_2$ , 13); 35,1 ( $\underline{\text{C}}\text{H}_2$ , 1); 36,6 ( $\text{ArCOOCH}_2\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{Ar}$ ); 66,2 ( $\text{ArCOOCH}_2\text{CH}_2\text{Ar}$ ); 112,1 ( $\text{Ar}\underline{\text{C}}$ , 1'); 115,8 ( $\text{Ar}\underline{\text{C}}\text{H}$ , 3'); 122,5 ( $\text{Ar}\underline{\text{C}}\text{H}$ , 5'); 127,0 ( $\text{Ar}\underline{\text{C}}\text{H}$ , 4''); 128,9 ( $\text{Ar}\underline{\text{C}}\text{H}$ , 2'' e 6''); 128,9 ( $\text{Ar}\underline{\text{C}}\text{H}$ , 3'' e 5''); 134,3 ( $\text{Ar}\underline{\text{C}}\text{H}$ , 4'); 137,3 ( $\text{Ar}\underline{\text{C}}$ , 1''); 146,4 ( $\text{Ar}\underline{\text{C}}$ , 6'); 162,8 ( $\text{Ar}\underline{\text{C}}$ , 2'); 171,6 ( $\text{Ar}\underline{\text{C}}\text{OOCH}_2\text{CH}_2\text{Ar}$ ).

### Derivado 2-Hidróxi-6-pentadecilbenzoato de 3-fenilpropila (LDT665, 37)



Sólido branco

Rendimento 77%

R<sub>f</sub>: 0,64 (Hex<sub>80%</sub>:AcOEt<sub>20%</sub>)

Ponto de fusão: 35-38°C

Fórmula molecular: C<sub>31</sub>H<sub>46</sub>O<sub>3</sub>

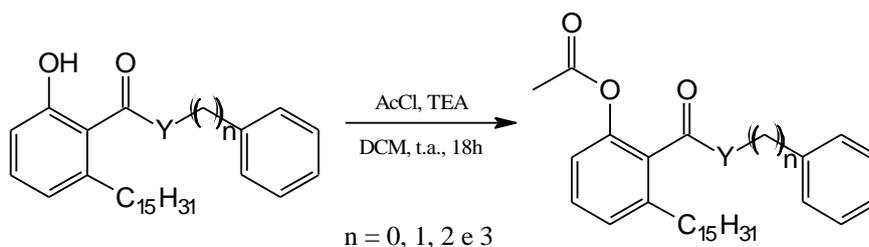
Massa Molar: 466,695 g/mol

IV (KBr)  $\nu_{\text{máx}} \text{ cm}^{-1}$ : 3424 ( $\nu_{\text{OH}}$ ); 2951 ( $\nu_{\text{asCH}_2}$ ); 2918 ( $\nu_{\text{sCH}_2}$ ); 2850 ( $\nu_{\text{SCH}_2}$ ); 1661 ( $\nu_{\text{C=O}}$ ); 1450 ( $\nu_{\text{C=C}}$ ); 1247 ( $\nu_{\text{asC-O}}$ ).

RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  0,91 (t,  $J = 6,6$  Hz, 3H, 15); 1,28-1,33 (m, 24H, 3-14); 1,60 (q,  $J = 7,5$  Hz, 2H, 2); 2,11-2,20 (m, 2H, ArCOOCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>Ar); 2,81 (t,  $J = 7,6$  Hz, 2H, 2H, 1); 2,96 (t,  $J = 7,7$  Hz, 2H, ArCOOCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>Ar); 4,42 (t,  $J = 6,6$  Hz, 2H, ArCOOCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>Ar); 6,74-6,76 (m, 1H, 3'); 6,85-6,88 (m, 1H, 5'); 7,21-7,26 (m, 3H, 2", 4" e 6"); 7,29-7,35 (m, 3H, 3", 5" e 4'); 11,24 (s, ArOH).

RMN <sup>13</sup>C (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  14,3 (CH<sub>3</sub>, 15); 22,9 (CH<sub>2</sub>, 14); 29,5-30,1 (CH<sub>2</sub>, 3-12); 30,3 (ArCOOCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>Ar); 32,1 (CH<sub>2</sub>, 2); 32,4 (CH<sub>2</sub>, 13); 32,6 (ArCOOCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>Ar); 36,8 (CH<sub>2</sub>, 1); 65,3 (ArCOOCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>Ar); 112,2 (ArC, 1'); 115,8 (ArCH, 3'); 122,5 (ArCH, 5'); 126,4 (ArCH, 4"); 128,5 (ArCH, 2" e 6"); 128,7 (ArCH, 3" e 5"); 134,3 (ArCH, 4'); 140,9 (ArC, 1"); 146,2 (ArC, 6'); 162,9 (ArC, 2'); 171,9 (ArCOOCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>Ar).

#### 5.2.13 Obtenção dos Derivados Amidas e Ésteres: 2'-acetoxissubstituídos



Y = NH (LDT82, LDT645, LDT647, LDT649)

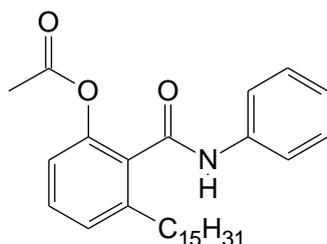
Y = O (LDT659, LDT661, LDT663, LDT665)

Y = NH (LDT675, LDT677, LDT679, LDT681)

Y = O (LDT683, LDT685, LDT687, LDT689)

Em um balão (25 mL) foram adicionados 0,20 g do derivado hidroxilado, TEA (2,5 eqv.), cloreto de acetila (1,5 eqv.) e diclorometano seco (6,0 mL). O sistema reacional permaneceu sob agitação magnética à temperatura ambiente por 18 horas. Após esse período, a mistura foi extraída com acetato de etila (3 x 10,0 mL), e a fase orgânica reunida lavada com soluções de bicarbonato de sódio 5% (3 x 10,0 mL), solução de HCl 10% (2 x 10,0 mL), saturada de cloreto de sódio (10,0 mL), e seca com sulfato de sódio. Após remoção do solvente à pressão reduzida, o resíduo foi purificado em coluna cromatográfica de gel de sílica, eluída em mistura de hexano e acetato de etila em diferentes concentrações, fornecendo os derivados.

### Derivado Acetato de 3-Pentadecil-2-(fenilcarbamoil)fenila (LDT675, 38)



Sólido branco

Rendimento 75%

R<sub>f</sub>: 0,33 (Hex<sub>80%</sub>:AcOEt<sub>20%</sub>)

Ponto de fusão: 44-47°C

Fórmula molecular: C<sub>30</sub>H<sub>43</sub>NO<sub>3</sub>

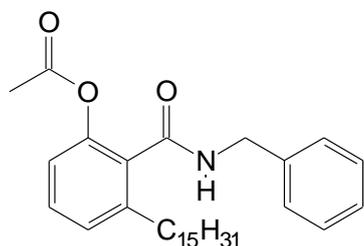
Massa Molar: 465,667 g/mol

IV (KBr)  $\nu_{\text{máx}}$  cm<sup>-1</sup>: 3255 ( $\nu_{\text{NH}}$ ); 2958 ( $\nu_{\text{asCH}_2}$ ); 2919 ( $\nu_{\text{asCH}_2}$ ); 2848 ( $\nu_{\text{sCH}_2}$ ); 1761 ( $\nu_{\text{C=O}}$ ); 1528, 1499 ( $\nu_{\text{C=C}}$ ); 1214 ( $\nu_{\text{asC-O}}$ ).

RMN <sup>1</sup>H (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  0,89 (t,  $J = 6,8$  Hz, 3H, 15); 1,22-1,33 (m, 24H, 3-14); 1,64-1,68 (m, 2H, 2); 2,22 (s, 3H, ArOCOCH<sub>3</sub>); 2,73 (t,  $J = 7,9$  Hz, 2H, 1); 6,95 (d,  $J = 8,1$  Hz, 1H, 3'); 7,17-7,20 (m, 2H, 5' e 4''); 7,37 (t,  $J = 7,8$  Hz, 3H, 2'', 6'' e 4'); 7,50 (s, 1H, ArCONHAr); 7,57 (d,  $J = 8,0$  Hz, 2H, 3'' e 5'').

RMN <sup>13</sup>C (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  14,3 (CH<sub>3</sub>, 15); 21,1 (ArOCOCH<sub>3</sub>); 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); 33,2 (CH<sub>2</sub>, 1); 119,9 (ArCH, 3'); 120,2 (ArCH, 5'); 124,9 (ArCH, 4''); 127,6 (ArCH, 2'' e 6''); 129,4 (ArCH, 3'' e 5''); 130,4 (ArCH, 4'); 130,8 (ArC, 1'); 137,6 (ArC, 1''); 142,6 (ArC, 6'); 147,1 (ArCH, 2'); 164,7 (ArOCOCH<sub>3</sub>); 171,1 (ArCONHAr).

### Derivado Acetato de 2-(Benzilcarbamoil)-3-pentadecilfenila (LDT677, 39)



Sólido branco

Rendimento 85%

R<sub>f</sub>: 0,28 (Hex<sub>80%</sub>:AcOEt<sub>20%</sub>)

Ponto de fusão: 73-76°C

Fórmula molecular: C<sub>31</sub>H<sub>45</sub>NO<sub>3</sub>

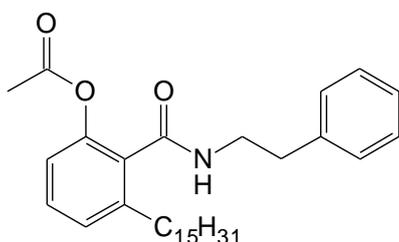
Massa Molar: 479,694 g/mol

IV (KBr)  $\nu_{\text{máx}} \text{ cm}^{-1}$ : 3395 ( $\nu_{\text{NH}}$ ); 2956 ( $\nu_{\text{asCH}_3}$ ); 2918 ( $\nu_{\text{asCH}_2}$ ); 2850 ( $\nu_{\text{sCH}_2}$ ); 1768 ( $\nu_{\text{C=O}}$ ); 1527, 1458, ( $\nu_{\text{C=C}}$ ); 1208 ( $\nu_{\text{asC-O}}$ ).

RMN <sup>1</sup>H (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  0,89 (m, 3H, 15); 1,26 (m, 24H, 3-14); 1,56-1,62 (m, 2H, 2); 1,98-1,99 (m, 3H, ArOCOCH<sub>3</sub>); 2,63-2,66 (m, 2H, 1); 4,57-4,58 (m, 2H, ArCONHCH<sub>2</sub>Ar); 6,14 (sl, ArCONHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>Ar); 6,87 (d,  $J = 8,0$  Hz, 1H, 3'); 7,12 (d,  $J = 7,6$  Hz, 1H, 5'); 7,27-7,30 (m, 3H, 2" e 6"); 7,35-7,36 (m, 4H, 4', 3", 4" e 5").

RMN <sup>13</sup>C (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  14,3 (CH<sub>3</sub>, 15); 20,7 (ArOCOCH<sub>3</sub>); 22,9 (CH<sub>2</sub>, 14); 29,5-29,9 (CH<sub>2</sub>, 3-12); 31,6 (CH<sub>2</sub>, 2); 32,1 (CH<sub>2</sub>, 13); 33,3 (CH<sub>2</sub>, 1); 43,9 (ArCONHCH<sub>2</sub>Ar); 120,0 (ArCH, 3'); 127,3 (ArCH, 5'), 127,8 (ArCH, 4"); 128,4 (ArCH, 2" e 6"); 129,0 (ArCH, 3" e 5"); 130,0 (ArCH, 4'); 130,5 (ArC, 1'); 138,3 (ArC, 1"); 142,3 (ArC, 6'); 147,1 (ArC, 2'); 166,5 (ArOCOCH<sub>3</sub>); 170,7 (ArCONHCH<sub>2</sub>Ar).

### Derivado Acetato de 2-(Fenetilcarbamoil)-3-pentadecilfenila (LDT679, 40)



Sólido branco

Rendimento 73%

R<sub>f</sub>: 0,36 (Hex<sub>80%</sub>:AcOEt<sub>20%</sub>)

Ponto de fusão: 53-65°C

Fórmula molecular: C<sub>32</sub>H<sub>47</sub>NO<sub>3</sub>

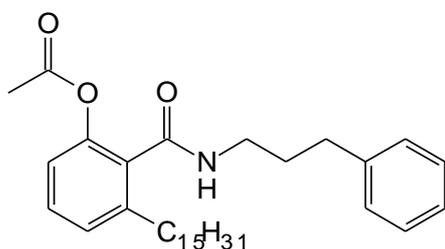
Massa Molar: 493,720 g/mol

IV (KBr)  $\nu_{\text{máx}} \text{ cm}^{-1}$ : 3287 ( $\nu_{\text{NH}}$ ); 2921 ( $\nu_{\text{asCH}_2}$ ); 2851 ( $\nu_{\text{sCH}_2}$ ); 1767 ( $\nu_{\text{C=O}}$ ); 1640 ( $\nu_{\text{C=O}}$ ); 1549, 1458 ( $\nu_{\text{C=C}}$ ); 1193 ( $\nu_{\text{asC-O}}$ ).

RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  0,89 (t,  $J = 6,9$  Hz, 3H, 15); 1,26-1,20 (m, 24H, 3-14); 1,55-1,58 (m, 2H, 2); 2,21 (s, 3H,  $\text{ArOCOCH}_3$ ); 2,58 (t,  $J = 7,9$  Hz, 2H, 1); 2,89 (t,  $J = 7,2$  Hz, 2H,  $\text{ArCONHCH}_2\text{CH}_2\text{Ar}$ ); 3,69 (q,  $J = 6,7$  Hz, 2H,  $\text{ArCONHCH}_2\text{CH}_2\text{Ar}$ ); 5,82 (t,  $J = 5,7$  Hz, 1H,  $\text{ArCONHCH}_2\text{CH}_2\text{Ar}$ ); 6,88 (d,  $J = 8,1$  Hz, 1H, 3'); 7,11 (d,  $J = 7,7$  Hz, 1H, 5'); 7,23-7,25 (m, 3H, 4', 2" e 6"); 7,30-7,33 (m, 3H, 3", 4" e 5").

RMN  $^{13}\text{C}$  (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  14,3 ( $\text{CH}_3$ , 15); 21,0 ( $\text{ArOCOCH}_3$ ); 22,8 ( $\text{CH}_2$ , 14); 29,5-29,8 ( $\text{CH}_2$ , 3-12); 31,5 ( $\text{CH}_2$ , 2); 32,1 ( $\text{CH}_2$ , 13); 33,1 ( $\text{CH}_2$ , 1); 35,9 ( $\text{ArCONHCH}_2\text{CH}_2\text{Ar}$ ); 40,9 ( $\text{ArCONHCH}_2\text{CH}_2\text{Ar}$ ); 120,0 ( $\text{ArCH}$ , 3'); 126,8 ( $\text{ArCH}$ , 5'); 127,2 ( $\text{ArCH}$ , 4"); 128,7 ( $\text{ArCH}$ , 2" e 6"); 128,9 ( $\text{ArCH}$ , 3" e 5"); 129,9 ( $\text{ArCH}$ , 4'); 130,8 ( $\text{ArC}$ , 1'); 138,5 ( $\text{ArC}$ , 1"); 142,1 ( $\text{ArC}$ , 6'); 147,1 ( $\text{ArC}$ , 2'); 166,7 ( $\text{ArOCOCH}_3$ ); 170,5 ( $\text{ArCONHCH}_2\text{CH}_2\text{Ar}$ ).

#### Derivado Acetato de 2-(3-fenilpropilcarbamoil)-3-pentadecilfenila (LDT681, 41)



Sólido branco

Rendimento 80%

R<sub>f</sub>: 0,36 (Hex<sub>80%</sub>:AcOEt<sub>20%</sub>)

Ponto de fusão: 61-66°C

Fórmula molecular:  $\text{C}_{33}\text{H}_{49}\text{NO}_3$

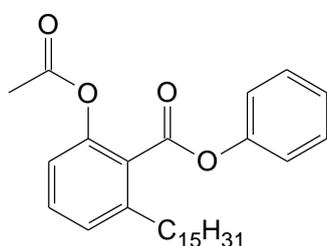
Massa Molar: 507,747 g/mol

IV (KBr)  $\nu_{\text{máx}}$   $\text{cm}^{-1}$ : 3273 ( $\nu_{\text{NH}}$ ); 2920 ( $\nu_{\text{asCH}_2}$ ); 2848 ( $\nu_{\text{SCH}_2}$ ); 1645 ( $\nu_{\text{C=O}}$ ); 1542, 1458 ( $\nu_{\text{C=C}}$ ); 1211 ( $\nu_{\text{asC-O}}$ ).

RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  0,90 (t,  $J = 7,5$  Hz, 3H, 15); 1,27 (s, 24H, 3-14); 1,57-1,64 (m, 2H, 2); 1,90 (qi,  $J = 8,2$  Hz, 2H,  $\text{ArCONHCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Ar}$ ); 2,25 (s, 3H,  $\text{ArOCOCH}_3$ ); 2,62-2,73 (m, 4H, 1 e  $\text{ArCONHCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Ar}$ ); 3,44 (q,  $J = 6,0$  Hz, 2H,  $\text{ArCONHCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Ar}$ ); 5,85 (t,  $J = 6,0$  Hz, 1H,  $\text{ArCONHCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Ar}$ ); 6,90 (d,  $J = 6,0$  Hz, 1H, 3'); 7,13 (d,  $J = 9,0$  Hz, 1H, 5'); 7,19-7,23 (m, 3H, 4', 2" e 6"); 7,28-7,34 (m, 3H, 3", 4" e 5").

RMN  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  14,2 ( $\text{CH}_3$ , 15); 21,1 ( $\text{ArOCOCH}_3$ ); 22,8 ( $\text{CH}_2$ , 14); 29,5-29,8 ( $\text{CH}_2$ , 3-12); 31,5 ( $\text{ArCONHCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Ar}$ ); 31,6 ( $\text{CH}_2$ , 2); 32,1 ( $\text{CH}_2$ , 13); 33,2 ( $\text{ArCONHCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Ar}$ ); 33,3 ( $\text{CH}_2$ , 1); 39,4 ( $\text{ArCONHCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Ar}$ ); 120,0 ( $\text{ArCH}$ , 3'); 126,2 ( $\text{ArCH}$ , 5'), 127,2 ( $\text{ArCH}$ , 4"); 128,5 ( $\text{ArCH}$ , 2" e 6"); 128,6 ( $\text{ArCH}$ , 3" e 5"); 129,9 ( $\text{ArCH}$ , 4'); 130,9 ( $\text{ArC}$ , 1'); 141,2 ( $\text{ArC}$ , 1"); 142,1 ( $\text{ArC}$ , 6'); 147,1 ( $\text{ArC}$ , 2'); 166,7 ( $\text{ArOCOCH}_3$ ); 170,5 ( $\text{ArCONHCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Ar}$ ).

### Derivado 2-(Acetóxi)-6-pentadecilbenzoato de fenila (LDT683, 42)



Sólido branco

Rendimento 76%

$R_f$ : 0,48 ( $\text{Hex}_{80\%}:\text{AcOEt}_{20\%}$ )

Ponto de fusão: 48-52°C

Fórmula molecular:  $\text{C}_{30}\text{H}_{42}\text{O}_4$

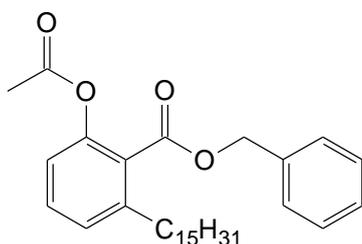
Massa Molar: 466,652 g/mol

IV (KBr)  $\nu_{\text{máx}} \text{ cm}^{-1}$ : 2954 ( $\nu_{\text{asCH}_2}$ ); 2921 ( $\nu_{\text{asCH}_2}$ ); 2848 ( $\nu_{\text{SCH}_2}$ ); 1763 ( $\nu_{\text{C=O}}$ ); 1589, 1468 ( $\nu_{\text{C=C}}$ ); 1212 ( $\nu_{\text{asC-O}}$ ).

RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  0,89 (t,  $J = 6,8$  Hz, 3H, 15); 1,25-1,39 (m, 24H, 3-14); 1,67-1,70 (qi,  $J = 7,7$  Hz, 2H, 2); 2,29 (s, 3H,  $\text{ArOCOCH}_3$ ); 2,83 (t,  $J = 7,9$  Hz, 2H, 1); 7,06 (d,  $J = 8,1$  Hz, 1H, 3'); 7,21 (m, 3H, 5' e 2" e 6"); 7,30 (m, 1H, 4'); 7,42-7,47 (m, 3H, 3", 4" e 5").

RMN  $^{13}\text{C}$  (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  14,3 ( $\text{CH}_3$ , 15); 21,1 ( $\text{ArOCOCH}_3$ ); 22,9 ( $\text{CH}_2$ , 14); 29,5-29,9 ( $\text{CH}_2$ , 3-12); 31,7 ( $\text{CH}_2$ , 2); 32,1 ( $\text{CH}_2$ , 13); 34,1 ( $\text{CH}_2$ , 1); 120,6 ( $\text{ArCH}$ , 3'); 121,5 ( $\text{ArCH}$ , 5'); 125,5 ( $\text{ArC}$ , 1'); 126,3 ( $\text{ArCH}$ , 4"); 127,6 ( $\text{ArCH}$ , 2" e 6"); 129,8 ( $\text{ArCH}$ , 3" e 5"); 131,3 ( $\text{ArCH}$ , 4'); 143,5 ( $\text{ArC}$ , 1"); 148,6 ( $\text{ArC}$ , 6'); 150,7 ( $\text{ArC}$ , 2'); 165,3 ( $\text{ArOCOCH}_3$ ); 169,3 ( $\text{ArCOOAr}$ ).

### Derivado 2-(Acetóxi)-6-pentadecilbenzoato de benzila (LDT685, 43)



Sólido branco

Rendimento 88%

R<sub>f</sub>: 0,34 (Hex<sub>90%</sub>:AcOEt<sub>10%</sub>)

Ponto de fusão: 37-43°C

Fórmula molecular: C<sub>31</sub>H<sub>44</sub>O<sub>4</sub>

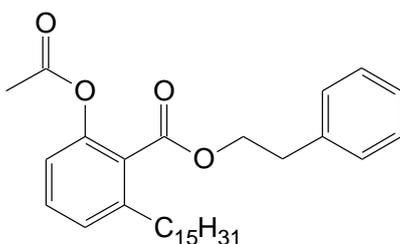
Massa Molar: 480,679 g/mol

IV (KBr)  $\nu_{\text{máx}} \text{ cm}^{-1}$ : 2915 ( $\nu_{\text{asCH}_2}$ ); 2850 ( $\nu_{\text{SCH}_2}$ ); 1727 ( $\nu_{\text{C=O}}$ ); 1580, 1472 ( $\nu_{\text{C=C}}$ ); 1269 ( $\nu_{\text{asC-O}}$ ).

RMN <sup>1</sup>H (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  0,89 (m, 3H, 15); 1,23-1,27 (m, 24H, 3-14); 1,51-1,52 (m, 2H, 12); 1,99 (s, 3H, ArOCOCH<sub>3</sub>); 2,61-2,65 (m, 2H, 1); 5,35 (s, 2H, ArCOOCH<sub>2</sub>Ar); 6,96 (d,  $J = 8,1$  Hz, 1H, 3'); 7,11 (d,  $J = 7,6$  Hz, 1H, 5'); 7,33-7,41 (m, 4H, 4', 2'', 4'' e 6''); 7,45-7,46 (m, 2H, 3'' e 5'');

RMN <sup>13</sup>C (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  14,3 (CH<sub>3</sub>, 15); 20,7 (ArOCOCH<sub>3</sub>); 22,9 (CH<sub>2</sub>, 14); 29,5-29,9 (CH<sub>2</sub>, 3-12); 31,6 (CH<sub>2</sub>, 2); 32,1 (CH<sub>2</sub>, 13); 33,9 (CH<sub>2</sub>, 1); 67,2 (ArCOOCH<sub>2</sub>Ar); 120,4 (ArCH, 3'); 126,3 (ArC, 1'); 127,3 (ArCH, 5'); 128,7 (ArCH, 4'') e 128,8 (ArCH, 2'' e 6''); 129,0 (ArCH, 3'' e 5''); 130,6 (ArCH, 4'); 135,6 (ArC, 1''); 143,0 (ArC, 6'); 148,1 (ArC, 2') 166,7 (ArOCOCH<sub>3</sub>); 169,2 (ArCOOCH<sub>2</sub>Ar).

### Derivado 2-(Acetóxi)-6-pentadecilbenzoato de 2-fenetila (LDT687, 44)



Sólido branco

Rendimento 77%

R<sub>f</sub>: 0,50 (Hex<sub>80%</sub>:AcOEt<sub>20%</sub>)

Ponto de fusão: 25-28°C

Fórmula molecular: C<sub>32</sub>H<sub>46</sub>O<sub>4</sub>

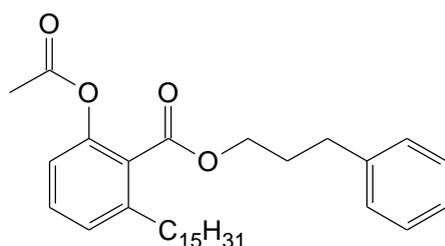
Massa Molar: 494,705 g/mol

IV (KBr)  $\nu_{\text{máx}} \text{ cm}^{-1}$ : 2921 ( $\nu_{\text{asCH}_2}$ ); 2851 ( $\nu_{\text{SCH}_2}$ ); 1762 ( $\nu_{\text{C=O}}$ ); 1726 ( $\nu_{\text{C=O}}$ ); 1458 ( $\nu_{\text{C=C}}$ ); 1270 ( $\nu_{\text{asC-O}}$ ).

RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  0,90 (t,  $J = 6,6$  Hz, 3H, 15); 1,26-1,32 (s, 29H, 3-14); 1,51-1,54 (m, 2H, 12); 2,17 (s, 3H,  $\text{ArOCOCH}_3$ ); 2,60 (t,  $J = 7,8$  Hz, 2H, 1); 3,05 (t,  $J = 7,1$  Hz, 2H,  $\text{ArCOOCH}_2\text{CH}_2\text{Ar}$ ); 4,52 (t,  $J = 7,2$  Hz, 2H,  $\text{ArCOOCH}_2\text{CH}_2\text{Ar}$ ); 6,98 (d,  $J = 8,0$  Hz, 1H, 3'); 7,11 (d,  $J = 7,5$  Hz, 1H, 5'); 7,25-7,38 (m, 6H, 4', 2'', 3'', 4'', 5'' e 6'').

RMN  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  14,3 ( $\text{CH}_3$ , 15); 20,9 ( $\text{ArOCOCH}_3$ ); 22,9 ( $\text{CH}_2$ , 14); 29,5-29,9 ( $\text{CH}_2$ , 3-12); 31,4 ( $\text{CH}_2$ , 2); 32,1 ( $\text{CH}_2$ , 13); 33,8 ( $\text{CH}_2$ , 1); 35,2 ( $\text{ArCOOCH}_2\text{CH}_2\text{Ar}$ ); 66,1 ( $\text{ArCOOCH}_2\text{CH}_2\text{Ar}$ ); 120,4 ( $\text{ArCH}$ , 3'); 126,5 ( $\text{ArC}$ , 1'); 126,9 ( $\text{ArCH}$ , 5'); 127,2 ( $\text{ArCH}$ , 4''); 128,8 ( $\text{ArCH}$ , 2'' e 6''); 129,1 ( $\text{ArCH}$ , 3'' e 5''); 130,6 ( $\text{ArCH}$ , 4'); 137,6 ( $\text{ArC}$ , 1''); 142,8 ( $\text{ArC}$ , 6'); 148,1 ( $\text{ArC}$ , 2'); 166,9 ( $\text{ArOCOCH}_3$ ); 169,1 ( $\text{ArCOOCH}_2\text{CH}_2\text{Ar}$ ).

#### Derivado 2-(Acetóxi)-6-pentadecilbenzoato de 3-fenilpropila (LDT689, 45)



Líquido transparente

Rendimento 61%

$R_f$ : 0,50 ( $\text{Hex}_{80\%}:\text{AcOEt}_{20\%}$ )

Fórmula molecular:  $\text{C}_{33}\text{H}_{48}\text{O}_4$

Massa Molar: 508,732 g/mol

IV (KBr)  $\nu_{\text{máx}} \text{ cm}^{-1}$ : 3028 ( $\nu_{\text{=CH}}$ ); 2924 ( $\nu_{\text{asCH}_2}$ ); 2854 ( $\nu_{\text{SCH}_2}$ ); 1731 ( $\nu_{\text{C=O}}$ ); 1456 ( $\nu_{\text{C=C}}$ ); 1269 ( $\nu_{\text{asC-O}}$ ).

RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  0,89 (t,  $J = 7,5$  Hz, 3H,  $\text{CH}_3$ , 15); 1,26-1,27 (m, 29H,  $\text{CH}_2$ , 3-14); 1,56-1,66 (m, 2H, 12); 2,06 (qi,  $J = 7,1$  Hz, 2H,  $\text{ArCOOCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Ar}$ ); 2,25 (s, 3H,  $\text{ArOCOCH}_3$ ); 2,66-2,78 (m, 4H, 1,  $\text{ArCOOCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Ar}$ ); 4,33 (t,  $J = 6,5$  Hz, 2H,  $\text{ArCOOCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Ar}$ ); 6,99 (d,  $J = 8,0$  Hz, 1H, 3'); 7,14 (d,  $J = 7,6$  Hz, 1H, 5'); 7,19-7,23 (m, 3H, 2'', 4'' e 6''); 7,27-7,30 (m, 2H, 3'' e 5''); 7,34-7,39 (m, 1H, 4').

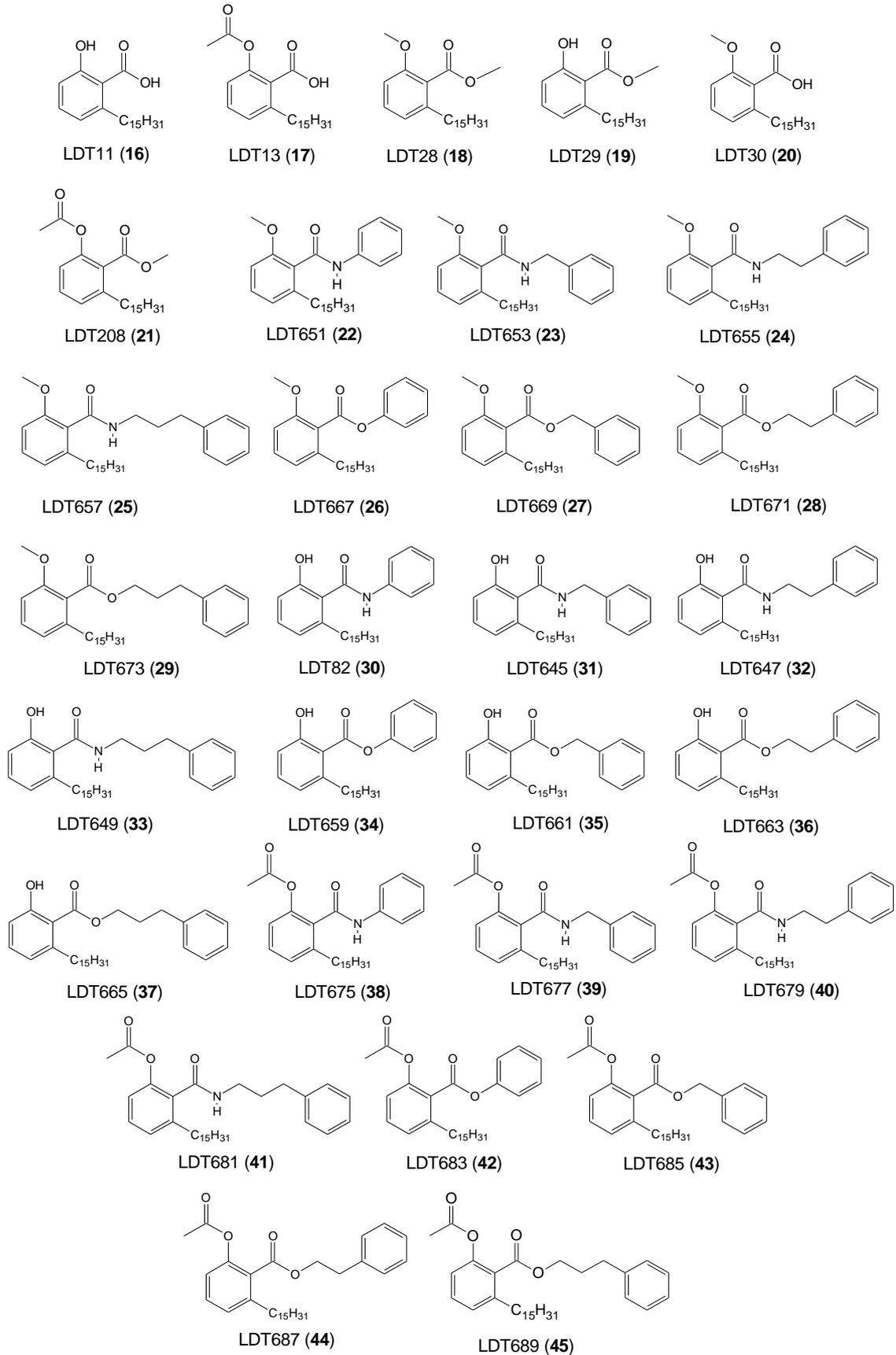
RMN  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  14,3 ( $\underline{\text{C}}\text{H}_3$ , 15); 21,0 ( $\text{ArOCOC}\underline{\text{H}}_3$ ) 22,9 ( $\underline{\text{C}}\text{H}_2$ , 14); 29,5-29,8 ( $\underline{\text{C}}\text{H}_2$ , 3-12); 30,5 ( $\text{ArCOOCH}_2\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{CH}_2\text{Ar}$ ); 31,6 ( $\underline{\text{C}}\text{H}_2$ , 2); 32,1 ( $\underline{\text{C}}\text{H}_2$ , 13); 32,3 ( $\text{ArCOOCH}_2\text{CH}_2\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{Ar}$ ); 34,0 ( $\underline{\text{C}}\text{H}_2$ , 1); 64,9 ( $\text{ArCOO}\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Ar}$ ); 120,4 ( $\text{Ar}\underline{\text{C}}\text{H}$ , 3'); 126,3 ( $\text{Ar}\underline{\text{C}}\text{H}$ , 5'); 126,7 ( $\text{Ar}\underline{\text{C}}$ , 1'); 127,3 ( $\text{Ar}\underline{\text{C}}\text{H}$ , 4''); 128,6 ( $\text{Ar}\underline{\text{C}}\text{H}$ , 2'' e 6''); 128,7 ( $\text{Ar}\underline{\text{C}}\text{H}$ , 3'' e 5''); 130,6 ( $\text{Ar}\underline{\text{C}}\text{H}$ , 4'); 141,1 ( $\text{Ar}\underline{\text{C}}$ , 1''); 142,7 ( $\text{Ar}\underline{\text{C}}$ , 6'); 148,2 ( $\text{Ar}\underline{\text{C}}$ , 2'); 167,0 ( $\text{ArOCOC}\underline{\text{H}}_3$ ); 169,1 ( $\text{Ar}\underline{\text{C}}\text{OOCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Ar}$ ).

#### 5.2.14 Avaliação biológica frente à enzima p300

Os procedimentos de síntese, purificação e caracterização foram realizados de acordo com os protocolos do SGC [68]. Os compostos foram testados em três diferentes concentrações (10, 30 e 100  $\mu\text{M}$ ) e o ensaio foi baseado em radioatividade. O ensaio de avaliação da inibição enzimática da histona acetiltransferase p300 foi realizado com 10 nM de p300, 2  $\mu\text{M}$  da histona H3 (1-25) e 2,5  $\mu\text{M}$   $^3\text{H}$ -AcetylCoA em 50 mM de HEPES pH 7,5, 0,2 mM de EDTA e 0,01% de Triton, com 90 minutos de incubação à temperatura ambiente.

#### 5.2.15 Avaliação biológica frente a PPAR- $\alpha$ e PPAR- $\gamma$

As células do rim embrionário humano HEK293 foram mantidas em DMEM suplementado com 10% de soro fetal bovino. A transfecção foi realizada com 10% de soro fetal bovino tratado com carvão ativo utilizando fosfato de cálcio em 96 poços. O plasmídeo (150 ng por poço) incluiu 50 ng do repórter UAS-luc, 20 ng de  $\beta$ -galactosidase, 15 ng do receptor nuclear (GAL4-hPPAR $\alpha$  e GAL4-hPPAR $\gamma$ ) e pGEM. Os compostos foram acrescentados após 6-8 horas da transfecção. As células foram testadas após 14-16 horas quanto à atividade de luciferase e  $\beta$ -galactosidase.



**Figura 13:** Derivados-alvo sintetizados a partir do ácido anacárdico

Fonte: Próprio autor

## ***Resultados e Discussão***

---

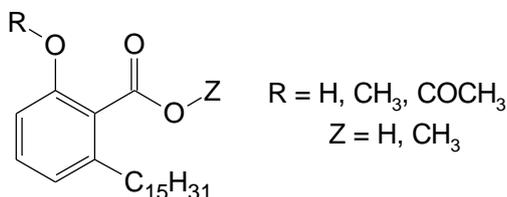
## 6 RESULTADOS E DISCUSSÃO

---

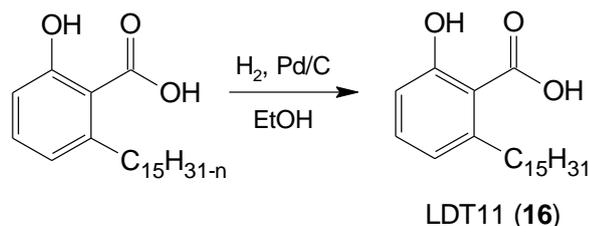
### 6.1 SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DOS COMPOSTOS

As rotas sintéticas para obtenção dos derivados-alvo se basearam em metodologias sintéticas clássicas, em condições experimentais que variaram de acordo com a necessidade do experimento (à temperatura ambiente, sob refluxo e radiação micro-ondas). Os compostos foram caracterizados por meio de espectros na região do infravermelho (IV), bem como espectros de RMN  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ . As características físico-químicas PSA, logS, logP, logD e pKa foram calculadas no programa Percepta/ACD Labs, versão 2014.

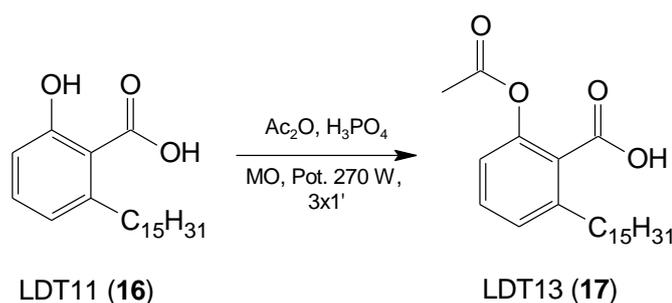
#### 6.1.1 Série dos Derivados 2-Acetóxi, hidróxi e metoxiácidos ou metil ésteres



A mistura de ácidos anacárdicos (**1**) foi obtida por meio de extração a partir do LCC natural, segundo metodologia de quelação com hidróxido de cálcio [39, 42], em rendimento de 70% como um óleo castanho claro. Embora não tenha sido submetida à caracterização por métodos espectroscópicos, a mistura foi caracterizada por CCD apresentando única mancha azulada com Rf 0,48 (Hex:AcOEt 20%). A metodologia se mostrou eficiente e limpa: eficiente devido à habilidade da subunidade salicílica – exclusiva dos ácidos anacárdicos dentre os compostos do LCC – de formar quelatos com íons metálicos divalentes; e limpa em detrimento da técnica anteriormente realizada, a qual se baseava na precipitação com hidróxido de chumbo.

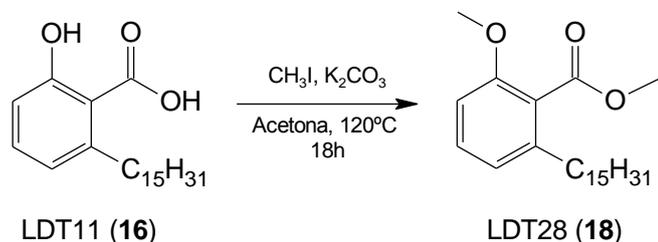


A síntese dos derivados da série se deu a partir da hidrogenação catalítica da mistura de ácidos anacárdicos. Após purificação por recristalização em hexano, o derivado saturado LDT11 (**16**) foi obtido em rendimento de 70%, como um sólido branco floculoso. **16** foi caracterizado por meio da mudança de estado físico e ponto de fusão compatível com a literatura (81-84°C). Na análise espectroscópica por RMN os sinais característicos de **16** foram evidenciados por deslocamentos químicos referente ao grupo metila em 0,89 ppm (RMN  $^1\text{H}$ , Anexo 2, pág. 124) e 14,3 ppm (RMN  $^{13}\text{C}$ , Anexo 3, pág. 124). Os sinais entre 6,89 e 7,37 ppm no espectro de RMN  $^1\text{H}$  demonstram a presença do anel aromático, corroborado pelos deslocamentos químicos entre 110,6 a 163,8 ppm no espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ . A cadeia alquílica está relacionada aos sinais entre 1,26 a 3,00 ppm nos espectros de hidrogênio; e 22,9 a 36,7 ppm nos espectros de carbono-13. O grupo carboxila foi identificado por deslocamento químico em 176,5 ppm (RMN  $^{13}\text{C}$ ) e pela presença de absorção em  $1610\text{ cm}^{-1}$  no Infravermelho. A absorção em  $3326\text{ cm}^{-1}$  no espectro no IV (Anexo 1, pág. 123) foi atribuída às hidroxilas do fenol e do ácido carboxílico corroborou para a caracterização do derivado LDT11.



O derivado **16** foi submetido à reação de acetilação com anidrido acético e ácido fosfórico como catalisador sob radiação micro-ondas em forno doméstico. Após purificação em coluna de gel de sílica eluída em mistura de hexano e acetato de etila em diferentes concentrações, LDT13 (**17**) foi obtido como sólido branco, caracterizado em CCD como uma única mancha com  $R_f$  0,20 (Hex: AcOEt 20%) em rendimento de 76%. A presença do grupo acetila foi evidenciada pelos sinais em 2,30 ppm (metila) e 169,6 ppm (carbonila) nos espectros de RMN  $^1\text{H}$  (Anexo 5, pág.

127) e RMN  $^{13}\text{C}$  (Anexo 6, pág. 128). Dois assinalamentos em  $1763\text{ cm}^{-1}$  e  $1701\text{ cm}^{-1}$  em seu espectro no infravermelho (Anexo 4, pág. 126) demonstram a presença de duas carbonilas referentes aos grupos acetila e carboxila, o que contribuiu para a caracterização do derivado **17**.

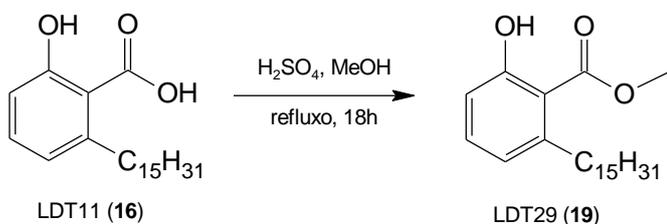


A partir de LDT11 também foi obtido o derivado LDT28 (**18**), por meio da reação de dimetilação com iodeto de metila e carbonato de potássio em acetona, à temperatura de  $120^\circ\text{C}$  e resfriamento do condensador em circulador a  $-8^\circ\text{C}$ . O LDT28 foi purificado em coluna cromatográfica eluída em diferentes concentrações de hexano/acetato de etila e obtido em rendimento de 97%, como um sólido branco de baixo ponto de fusão ( $32\text{-}33^\circ\text{C}$ ) e  $R_f$  0,40 (Hex:AcOEt 10%). Na análise espectroscópica, **18** apresentou deslocamentos químicos como simpletos em 3,82 ppm e 3,91 ppm no espectro de RMN  $^1\text{H}$  (Anexo 8, pág. 130) evidenciam a presença das metilas (metoxila e éster metílico), a qual foi confirmada pelos sinais em 52,2 ppm e 56,0 ppm do espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (Anexo 9, pág. 131). O espectro na região do infravermelho (Anexo 7, pág. 129) apresentou banda em  $1732\text{ cm}^{-1}$  referente ao estiramento do grupo carbometoxila, o que corroborou para a caracterização do éster metílico LDT28.

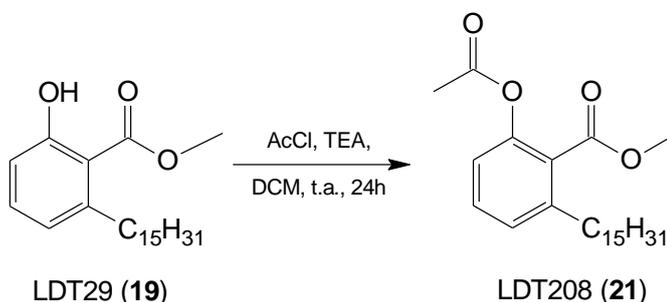


De posse do derivado LDT28 (**18**), este foi submetido à reação de hidrólise, na presença de tert-butoxido de potássio e DMSO, sob aquecimento de  $40^\circ\text{C}$  em banho de óleo por 18 horas [46]. O derivado LDT30 (**20**) foi purificado em coluna cromatográfica de gel de sílica e obtido como um sólido branco em rendimento de 98%. A conversão reacional de **18** para **20** foi evidenciada na mudança de  $R_f$  (0,28 Hex:AcOEt 20%) em CCD e ponto de fusão ( $74\text{-}77^\circ\text{C}$ ). O grupo funcional ácido carboxílico foi evidenciado pela ausência de sinais correspondentes à metila do

éster em 3,91 ppm e 52,2 ppm em seus espectros de RMN  $^1\text{H}$  (Anexo 11, pág. 133) e RMN  $^{13}\text{C}$  (Anexo 12, pág. 134). Adicionalmente, o espectro na região do infravermelho (Anexo 10, pág. 132) apresentou sinal em  $3265\text{ cm}^{-1}$  e  $1715\text{ cm}^{-1}$  referentes ao grupo hidroxila e carboxila da subunidade ácida, o que contribuiu para a caracterização do composto **20**.



Partindo novamente do derivado LDT11 (**16**), este foi submetido à reação de esterificação por meio de catálise ácida com ácido sulfúrico, em metanol, sob refluxo. Após purificação em coluna cromatográfica, o derivado LDT29 (**19**) foi obtido em rendimento de 86%, como um sólido branco com ponto de fusão entre 37 e 40°C. Foi caracterizado em CCD como uma única mancha ( $R_f$  0,60 Hex:AcOEt 20%). Este composto apresentou em seus espectros de RMN  $^1\text{H}$  (Anexo 14, pág. 136) e RMN  $^{13}\text{C}$  (Anexo 15, pág. 137) sinais em 3,96 ppm e 52,3 ppm, respectivamente, característicos para a metila do éster. Na avaliação do seu espectro no infravermelho (Anexo 13, pág. 135), a presença de assinalamentos em  $1250\text{ cm}^{-1}$  e  $1203\text{ cm}^{-1}$  referentes ao estiramento C-O, e em  $1663\text{ cm}^{-1}$  referente à carbonila. A hidroxila fenólica de **19** foi caracterizada como simpleto em 11,13 ppm em RMN  $^1\text{H}$ , característico de ligação de hidrogênio intramolecular e absorção em  $3433\text{ cm}^{-1}$  no infravermelho.



De posse do derivado LDT29 (**19**), este foi submetido à reação de acetilação com cloreto de acetila, na presença de TEA, à temperatura ambiente. Após 24 horas de reação e seguinte purificação, o derivado LDT208 (**21**) foi obtido em rendimento de 58% como um sólido branco. Na análise espectroscópica, o composto apresentou deslocamentos referentes à metila do grupo acetila em 2,26 ppm e 20,9

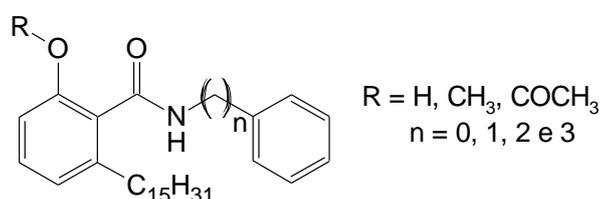
ppm em seus espectros de RMN  $^1\text{H}$  (Anexo 17, pág. 139) e RMN  $^{13}\text{C}$  (Anexo 18, pág. 140). O grupo acetil foi confirmado pela presença de sinal em 167,3 ppm no espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  correspondente à carbonila. A presença das bandas em  $1731\text{ cm}^{-1}$ ,  $1368\text{ cm}^{-1}$  e  $1246\text{ cm}^{-1}$  no espectro no infravermelho (Anexo 16, pág. 138), correspondentes à carbonila, à metila e ao estiramento C-O, corrobora a caracterização do derivado 21.

O resumo dos principais sinais que caracterizaram os compostos LDT11(16), LDT13 (17), LDT28 (18), LDT29 (19), LDT30 (20) e LDT208 (21) em seus espectros de RMN  $^1\text{H}$  e RMN  $^{13}\text{C}$  estão dispostos na Tabela 2.

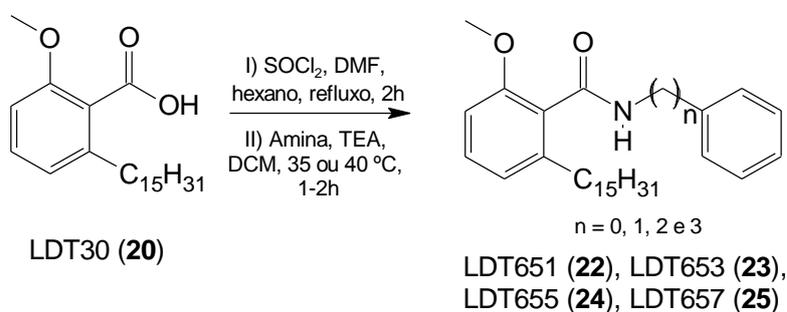
**Tabela 2** – Principais deslocamentos químicos de RMN  $^1\text{H}$  e RMN  $^{13}\text{C}$  e no infravermelho (IV) para a caracterização da série dos derivados 2-acetóxi, hidróxi e metoxiácidos ou metilésteres

RMN	Grupos	RMN $^1\text{H}$ / RMN $^{13}\text{C}$ (ppm, $\text{CDCl}_3$ )					
		LDT11 (16)	LDT13 (17)	LDT28 (18)	LDT29 (19)	LDT30 (20)	LDT208 (21)
$^1\text{H}$		6,89-7,37	7,01-7,41	6,76-7,27	6,73-7,31	6,81-7,34	6,97-7,35
$^{13}\text{C}$	Ar	110,6- 163,8	120,8- 148,8	108,5- 156,4	112,0- 162,8	108,8- 156,8	120,4- 148,3
$^1\text{H}$	$\text{C}_{15}\text{H}_{31}$	0,89-3,00	0,89-2,81	0,89-2,55	0,89-2,89	0,89-2,73	0,89-2,67
$^{13}\text{C}$	(1-15)	14,3-36,7	14,3-34,1	14,2-33,6	14,2-36,8	14,3-33,9	14,2-34,9
$^1\text{H}$	$\text{ArCOOH}$ /	--	--	--	--	--	--
$^{13}\text{C}$	$\text{ArCOOCH}_3$	176,5	172,1	169,1	172,1	173,0	169,2
$^1\text{H}$	$\text{ArCOOCH}_3$	--	--	3,91	3,96	--	3,87
$^{13}\text{C}$	$\text{ArCOOCH}_3$	--	--	52,2	52,3	--	52,3
$^1\text{H}$	$\text{ArOCH}_3$	--	--	3,82	--	3,89	--
$^{13}\text{C}$	$\text{ArOCH}_3$	--	--	56,0	--	56,2	--
$^1\text{H}$	$\text{ArOCOCH}_3$	--	2,30	--	--	--	2,26
$^{13}\text{C}$	$\text{ArOCOCH}_3$	--	21,0	--	--	--	20,9

### 6.1.2 Série dos Derivados Amídicos



Os estudos iniciais visando a síntese das 2'-hidróxiamidas foi realizado utilizando benzotriazol de acordo com a referência **51**. Os testes com o derivado LDT11 (**16**) apresentaram conversão incompleta, formação de misturas complexas de difícil purificação e baixos rendimentos. Em seguida, foi adaptada a metodologia de formação do anidrido misto com cloreto de mesila visando síntese de 2'-metóxiâmidas a partir do derivado LDT30. A nova estratégia apresentou as mesmas características de complexidade e baixos rendimentos. Finalmente, a síntese das 2'-metóxiâmidas foi realizada de forma bem-sucedida por meio da formação do intermediário cloreto de ácido.

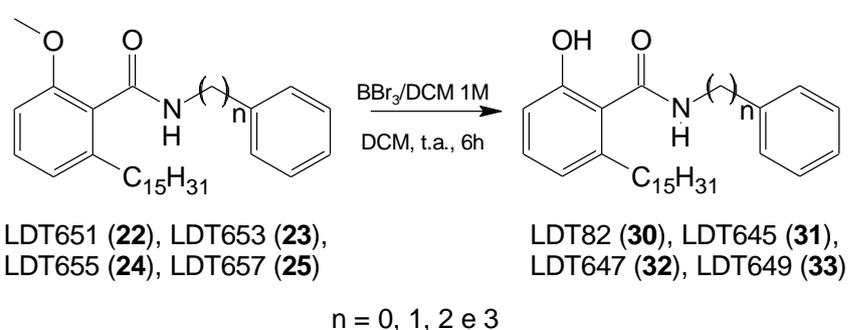


A síntese da série das amidas se deu a partir da reação do LDT30 (**20**) com  $\text{SOCl}_2$  e DMF para a formação do cloreto de ácido intermediário, segundo metodologia realizada por Chandregowda et al [46]. Em seguida, este reagiu com a amina correspondente para formação das 2'-metóxiâmidas (LDT651, LDT653, LDT655 e LDT657), que variaram quanto ao número de espaçadores metilênicos entre o grupo funcional e o anel aromático (0, 1, 2 ou 3, respectivamente). As amidas-alvo foram obtidas em rendimentos que variaram de 71% a 96% como sólidos brancos. Em CCD, cada composto se apresentou como única mancha com Rfs muito próximos entre si. Esses compostos foram caracterizados por assinalamentos característicos referentes à metoxila, aos anéis aromáticos e aos espaçadores. Nos espectros de RMN  $^1\text{H}$  (Anexos **20**, **23**, **26** e **29**, págs. 142, 145, 148 e 151), os grupos metoxila foram evidenciados pelos sinais entre 3,70 e 3,83 ppm, os anéis aromáticos entre 6,74 e 7,63 ppm e os grupos metilenos – nas aralquilamidas – entre 1,95 e 4,67 ppm. Nos espectros de RMN  $^{13}\text{C}$  (Anexo **21**, **24**, **27** e **30**, págs. 143, 146, 149 e 152), tais subunidades foram confirmadas pelos assinalamentos entre 55,7 e 56,0 ppm, 108,3 e 156,2 ppm e 31,5 e 44,0 ppm, respectivamente. Os espectros no infravermelho (Anexos **19**, **22**, **25** e **28**, págs. 141,

144, 147 e 150) apresentaram absorções entre  $3276\text{ cm}^{-1}$  e  $3434\text{ cm}^{-1}$  relativas à amida secundária, o que contribuiu adicionalmente para a caracterização das 2'-metóxiâmidas (**22-25**). Um resumo dos principais sinais que caracterizam as amidas-alvo está ilustrado na Tabela 3.

**Tabela 3** – Principais deslocamentos químicos de RMN  $^1\text{H}$  e RMN  $^{13}\text{C}$  para a caracterização das 2'-metóxiâmidas

RMN	Grupos	RMN $^1\text{H}$ / RMN $^{13}\text{C}$ (ppm, $\text{CDCl}_3$ )			
		LDT651 ( <b>22</b> )	LDT653 ( <b>23</b> )	LDT655 ( <b>24</b> )	LDT657 ( <b>25</b> )
$^1\text{H}$	Ar''	7,15-7,63	7,21-7,41	7,19-7,33	7,19-7,32
$^{13}\text{C}$		122,1-138,3	127,6-138,5	126,6-139,1	126,1-141,7
$^1\text{H}$	ArOCH <sub>3</sub>	3,83	3,81	3,70-3,85 (m)	3,79
$^{13}\text{C}$		56,0	55,9	55,7	55,8
$^1\text{H}$	ArCONHAr	7,51	6,01	5,79	5,79
$^{13}\text{C}$		--	--	--	--
$^1\text{H}$	ArCONH(CH <sub>2</sub> ) <sub>n</sub> Ar	--	4,67	2,94 / 5,79	1,95 / 2,62 / 3,49
$^{13}\text{C}$		--	44,0	35,8 / 40,8	31,5 / 33,3 / 39,4

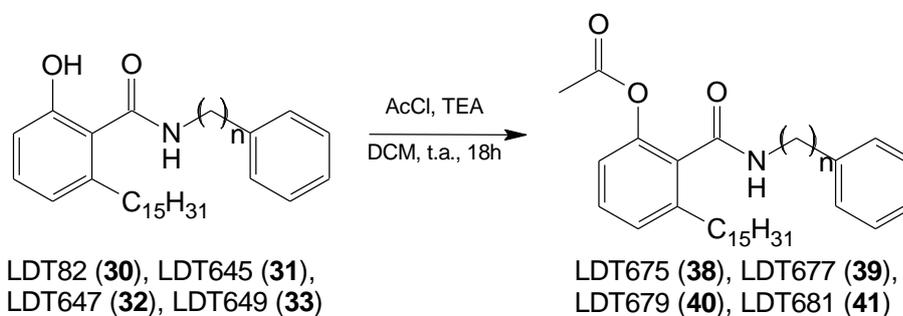


A partir das 2'-metóxiâmidas foi realizada a reação de O-desmetilação na presença de  $\text{BBr}_3$  à temperatura ambiente, por 6 horas. As respectivas 2'-hidróxiâmidas (LDT82, LDT645, LDT647 e LDT649) foram obtidas em rendimentos que variaram de 77% a 98% como sólidos brancos de diferentes pontos de fusão. A conversão reacional foi confirmada em CCD por meio da diminuição de Rf (0,24-0,28 Hex: AcOEt 20%) e revelação com  $\text{FeCl}_3$ , o qual permite a identificação de fenóis. Na análise espectroscópica, a desmetilação foi evidenciada pela ausência de sinais referentes ao grupo metoxila entre 3,70 e 3,83 ppm em RMN  $^1\text{H}$  (Anexos **32**, **35**, **38** e **41**, págs. 154, 157, 160 e 163) e 55,7 e 56,0 ppm em RMN  $^{13}\text{C}$  (Anexos **33**, **36**, **39** e **42**, págs. 155, 158, 161 e 164). Adicionalmente, o grupo hidroxila foi evidenciado

por sinal largo entre 9,10 e 9,86 ppm em RMN  $^1\text{H}$ . Absorções no IV (Anexos **31**, **34**, **37** e **40**, págs. 153, 156, 159 e 162) entre 3482 e 3405  $\text{cm}^{-1}$  referentes ao grupo hidroxila; e 3387 e 3143  $\text{cm}^{-1}$  referentes às ligação NH, corroboram para a caracterização desses compostos. Um resumo dos principais sinais que caracterizam as 2'-hidroxamidas (**30-33**) está ilustrado na Tabela 4.

**Tabela 4** – Principais deslocamentos químicos de RMN  $^1\text{H}$  e RMN  $^{13}\text{C}$  para a caracterização das 2'-hidroxamidas

RMN	Grupos	RMN $^1\text{H}$ / RMN $^{13}\text{C}$ (ppm, $\text{CDCl}_3$ )			
		LDT82 ( <b>30</b> )	LDT645 ( <b>31</b> )	LDT647 ( <b>32</b> )	LDT649 ( <b>33</b> )
$^1\text{H}$	Ar''	7,40-7,57	7,30-7,37	7,23-7,36	7,17-7,32
$^{13}\text{C}$		122,1-137,2	128,1-137,4	127,0-138,5	126,3-140,6
$^1\text{H}$	ArCONHAr	7,67	6,01	6,02	6,06
$^{13}\text{C}$		--	--	--	--
$^1\text{H}$	ArCONH(CH $_2$ ) $_n$ Ar	--	4,67	2,95 / 3,78	1,96 / 2,73 / 3,50
$^{13}\text{C}$		--	44,4	35,4 / 41,1	31,2 / 33,5 / 39,8



$$n = 0, 1, 2 \text{ e } 3$$

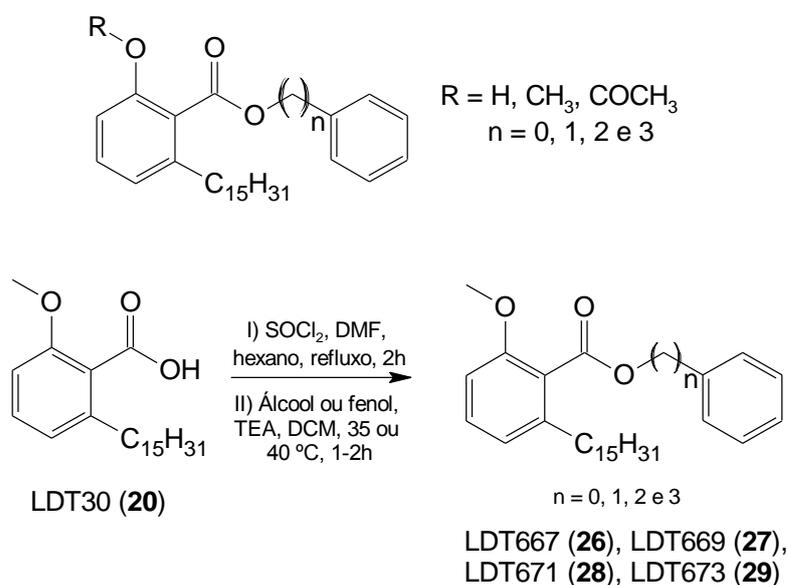
De posse das 2'-hidroxamidas, estas foram submetidas à reação de acetilação com cloreto de acetila e TEA, à temperatura ambiente por 18 horas. Após purificação, os derivados LDT675 (**38**), LDT677 (**39**), LDT679 (**40**) e LDT681 (**41**) foram obtidos em rendimentos 75-85% como sólidos brancos. Estes compostos foram caracterizados pela presença de sinais referentes aos grupos acetila, evidenciados como simpletos entre 2,21 e 2,25 ppm em RMN  $^1\text{H}$  (Anexos **44**, **47**, **50** e **53**, págs. 166, 169, 172 e 175) e sinais entre 21,0 e 21,1 ppm em RMN  $^{13}\text{C}$  (Anexos **45**, **48**, **51** e **54**, págs. 167, 170, 173 e 176) referentes ao grupo metila do acetato. Adicionalmente, os grupos carbonila do éster foram evidenciados por sinais

em RMN de carbono-13 pelos sinais entre 164,7 a 166,7 ppm bem como pelas absorções em 1645-1768  $\text{cm}^{-1}$  nos espectros no infravermelho (Anexos **43**, **46**, **49** e **52**, Págs. 165, 168, 171 e 174), o que contribuiu para a caracterização das 2'-acetoxiamidas. Um resumo dos principais sinais que caracterizam as amidas-alvo está ilustrado na Tabela 5.

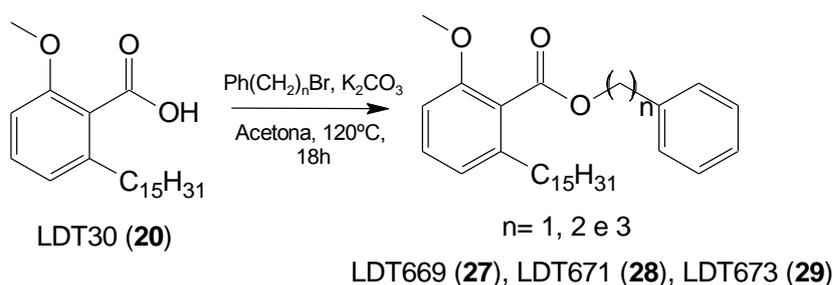
**Tabela 5** – Principais deslocamentos químicos de RMN  $^1\text{H}$  e RMN  $^{13}\text{C}$  para a caracterização das 2'-acetoxiamidas

RMN	Grupos	RMN $^1\text{H}$ / RMN $^{13}\text{C}$ (ppm, $\text{CDCl}_3$ )			
		LDT675 (38)	LDT677 (39)	LDT679 (40)	LDT681 (41)
$^1\text{H}$	Ar''	7,17-7,57	7,27-7,36	7,23-7,33	7,19-7,34
$^{13}\text{C}$		124,9-137,6	127,8-138,3	127,2-138,5	127,2-141,2
$^1\text{H}$	ArOCOCH <sub>3</sub>	2,22	1,98-1,99 (m)	2,21	2,25
$^{13}\text{C}$		21,1	20,7	21,0	21,1
$^1\text{H}$	ArCONHAr	7,50	6,14	5,82	5,85
$^{13}\text{C}$		--	--	--	--
$^1\text{H}$	ArCONH(CH <sub>2</sub> ) <sub>n</sub> Ar	--	4,57-4,58 (m)	2,89 / 3,69	1,90 / 2,62-2,73 (m) / 3,44
$^{13}\text{C}$		--	43,9	35,9 / 40,9	31,5 / 33,2 / 39,4

### 6.1.3 Série dos Derivados Ésteres



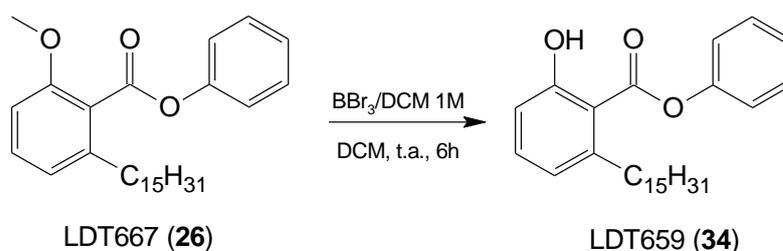
Do mesmo modo, a síntese da série dos ésteres também teve início com a reação do LDT30 (**20**) na presença de  $\text{SOCl}_2$  e DMF para obtenção do intermediário cloreto de ácido. Na sequência, este reagiu com o fenol e os álcoois benzílico, fenetílico e 3-fenilpropílico para obtenção dos 2'-metoxiésteres. LDT667 (**26**), LDT669 (**27**), LDT671 (**28**) e LDT673 (**29**) foram obtidos em rendimentos que variaram entre 27% e 69% como sólidos brancos de baixos pontos de fusão (28-38°C).



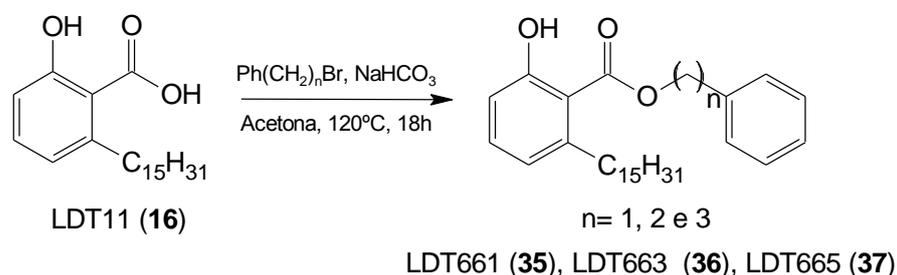
Tendo em vista a difícil purificação, em coluna cromatográfica, desses compostos, bem como os baixos rendimentos, uma nova metodologia foi investigada quanto a eficiência e a facilidade de purificação. Desse modo, **20** foi submetido a reação com brometos de aralquila (brometo de benzila, bromoetilbenzeno e bromopropilbenzeno) na presença de carbonato de potássio para a obtenção dos derivados **27**, **28** e **29**. Estes foram facilmente purificados e obtidos em melhores rendimentos para **27** e **29**. Em adição, esta última metodologia, embora não possa ser empregada para a síntese de **26**, se mostrou mais simples, com apenas uma etapa de reação. Os derivados 2'-metoxiésteres foram caracterizados por sinais correspondentes à metoxila, aos anéis aromáticos e aos espaçadores metilênicos. Em seus respectivos espectros de RMN  $^1\text{H}$  (Anexos **56**, **59**, **62** e **65**, págs. 178, 181, 184 e 187) e RMN  $^{13}\text{C}$  (Anexos **57**, **60**, **63** e **66**, págs. 179, 182, 185 e 188), os grupos metila foram evidenciados entre 3,79-3,90 ppm e 55,9-56,2 ppm; os anéis aromáticos entre 6,76-7,48 ppm e 108,5-156,8 ppm; e os grupos metilenos espaçadores entre 2,04-5,39 ppm e 30,5-67,0 ppm. Os espectros no infravermelho (Anexos **55**, **58**, **61** e **64**, págs. 177, 180, 183 e 186) apresentaram sinais em 1729-1746  $\text{cm}^{-1}$  correspondentes à carbonila dos ésteres, que contribuíram adicionalmente para a caracterização dos ésteres-alvo. Um resumo dos principais sinais que caracterizam os 2'-metoxiésteres está ilustrado na Tabela **6**.

**Tabela 6** – Principais deslocamentos químicos de RMN  $^1\text{H}$  e RMN  $^{13}\text{C}$  para a caracterização dos 2'-metoxiésteres

RMN	Grupos	RMN $^1\text{H}$ / RMN $^{13}\text{C}$ (ppm, $\text{CDCl}_3$ )			
		LDT667 (26)	LDT669 (27)	LDT671 (28)	LDT673 (29)
$^1\text{H}$	Ar''	7,25-7,45	7,27-7,48	7,24-7,32	7,19-7,33
$^{13}\text{C}$		121,9-141,8	128,5-136,0	126,7-138,0	126,2-141,4
$^1\text{H}$	ArOCH <sub>3</sub>	3,90	3,81	3,79	3,84
$^{13}\text{C}$		56,2	55,9	56,0	56,0
$^1\text{H}$	ArCOOAr	--	--	--	--
$^{13}\text{C}$		167,1	168,4	168,6	168,7
$^1\text{H}$	ArCOO(CH <sub>2</sub> ) <sub>n</sub> Ar	--	5,39	3,08 / 4,56	2,04-2,11 (m) / 2,79 / 4,35-4,49 (m)
$^{13}\text{C}$		--	67,0	35,2 / 65,7	30,5 / 32,3 / 64,5



A síntese dos 2'-hidroxiésteres se deu por meio de duas metodologias. Para a síntese do derivado LDT659 (34), o LDT667 foi submetido ao mesmo protocolo de desmetilação realizado para a síntese da série das hidróxiamidas, sendo obtido em rendimento de 55% como um sólido branco.

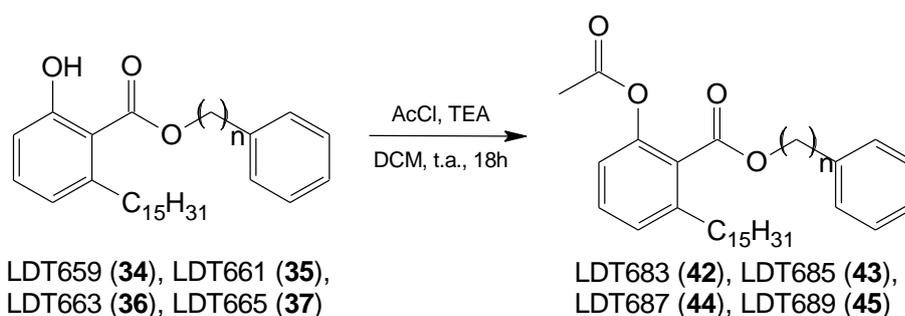


O LDT661 (35), LDT663 (36) e LDT665 (37) foram sintetizados a partir da reação do derivado LDT11 (16) com os respectivos brometos de araquila (brometo de benzila, bromoetilbenzeno e bromopropilbenzeno) na presença de bicarbonato de sódio e foram obtidos em rendimentos de 60% a 77% como sólidos brancos. Na

análise espectroscópica, a desmetilação de **34** foi evidenciada pela ausência dos sinais em 3,90 ppm e 56,2 ppm nos espectros de RMN  $^1\text{H}$  (Anexos **68**, **71**, **74** e **77**, pág. 190, 193, 196 e 199) e RMN  $^{13}\text{C}$  (Anexos **69**, **72**, **75** e **78**, pág. 191, 194, 197 e 200), respectivamente. Os compostos **35**, **36** e **37** foram caracterizados pela presença dos sinais em RMN  $^1\text{H}$  (Anexos **71**, **74** e **77**, pág. 193, 196 e 199) entre 2,11-5,40 ppm e 6,70-7,45 ppm referentes aos grupos metilenos espaçadores e anéis aromáticos, confirmados pelos sinais entre 30,3-67,0 ppm e 112,0-162,9 ppm nos espectros de RMN  $^{13}\text{C}$  (Anexos **72**, **75** e **78**, pág. 194, 197 e 200). Adicionalmente, o grupo hidroxila foi evidenciado como simpleto entre 10,92 e 11,24 ppm em RMN  $^1\text{H}$ , característico de ligação de hidrogênio intramolecular. As absorções em 3424-3447  $\text{cm}^{-1}$  (Anexos **67**, **70**, **73** e **76**, págs. 189, 192, 195 e 198) referentes à hidroxila fenólica, corroboraram para a caracterização desses compostos. Um resumo dos principais sinais que caracterizam os 2'-hidroxiésteres está ilustrado na Tabela 7.

**Tabela 7** – Principais deslocamentos químicos de RMN  $^1\text{H}$  e RMN  $^{13}\text{C}$  para a caracterização dos 2'-hidroxiésteres

RMN	Grupos	RMN $^1\text{H}$ / RMN $^{13}\text{C}$ (ppm, $\text{CDCl}_3$ )			
		LDT659 ( <b>34</b> )	LDT661 ( <b>35</b> )	LDT663 ( <b>36</b> )	LDT665 ( <b>37</b> )
$^1\text{H}$	Ar''	7,21-7,50	7,97-7,45	7,28-7,35	7,21-7,35
$^{13}\text{C}$		123,0-146,8	128,9-135,0	127,0-137,3	126,4-140,9
$^1\text{H}$	ArCOOAr	--	--	--	--
$^{13}\text{C}$		170,5	171,6	171,6	171,9
$^1\text{H}$	ArCOO(CH $_2$ ) $_n$ Ar	--	5,40	3,13 / 4,63	2,11-2,20 (m) / 2,96 / 4,42
$^{13}\text{C}$		--	67,0	36,6 / 66,2	30,3 / 32,6 / 65,3



$n = 0, 1, 2 \text{ e } 3$

De posse dos ésteres **34-37**, estes foram submetidos ao mesmo protocolo de acetilação realizado para a síntese das 2'-acetilamidas. Os derivados LDT683 (**42**), LDT685 (**43**), LDT687 (**44**) e LDT689 (**45**) foram obtidos em rendimentos que variaram de 61% a 88% como sólidos brancos com baixos pontos de fusão (**42, 43 e 44**) ou líquido incolor (**45**). A conversão reacional foi confirmada em CCD por meio da diminuição de R<sub>f</sub> (0,34-0,50 Hex: AcOEt 20%). Na análise espectroscópica, a metila do grupo acetila foi evidenciada pelos sinais entre 1,99-2,29 ppm e 20,7-21,0 nos espectros de RMN <sup>1</sup>H (Anexos **80, 83, 86 e 89**, págs. 202, 205, 208 e 211) e RMN <sup>13</sup>C (Anexos **81, 84, 87 e 90**, págs. 203, 206, 209 e 2012), respectivamente. Adicionalmente, os espectros no infravermelho (Anexos **79, 82, 85 e 88**, págs. 201, 204, 207 e 210) apresentaram absorções em 1727-1763 cm<sup>-1</sup> correspondentes às carbonilas, que corroboraram para a caracterização dos diésteres-alvo. Um resumo dos principais sinais que caracterizam os 2'-acetoxiésteres está ilustrado na Tabela 8.

**Tabela 8** – Principais deslocamentos químicos de RMN <sup>1</sup>H e RMN <sup>13</sup>C para a caracterização dos 2'-acetoxiésteres

RMN	Grupos	RMN <sup>1</sup> H / RMN <sup>13</sup> C (ppm, CDCl <sub>3</sub> )			
		LDT683 ( <b>42</b> )	LDT685 ( <b>43</b> )	LDT687 ( <b>44</b> )	LDT689 ( <b>45</b> )
<sup>1</sup> H	Ar''	7,21-7,47	7,33-7,46	7,25-7,38	7,19-7,30
<sup>13</sup> C		126,3-143,5	128,7-135,6	127,2-137,6	127,3-141,1
<sup>1</sup> H	ArOCOCH <sub>3</sub>	2,29	1,99	2,17	2,25
<sup>13</sup> C		21,1	20,7	20,9	21,0
<sup>1</sup> H	ArCOOAr	--	--	--	--
<sup>13</sup> C		169,3	169,2	169,1	169,1
<sup>1</sup> H	ArCOO(CH <sub>2</sub> ) <sub>n</sub> Ar	--	5,35	3,05 / 4,52	2,06 / 2,66-2,78 (m) / 4,33
<sup>13</sup> C		--	67,2	35,2 / 66,1	30,5 / 32,3 / 64,9

## 6.2 PARÂMETROS FÍSICO-QUÍMICOS

Os aspectos físico-químicos dos derivados foram obtidos com o auxílio do programa Percepta/ACD labs. Sabe-se que as propriedades físico-químicas de um composto são capazes de modificar seu perfil de atividade biológica. As principais

são coeficiente de partição ( $\log P$ ) e o coeficiente de ionização ácida ( $pK_a$ ). O coeficiente de partição ( $\log P$ ) expressa a lipofilicidade relativa de uma substância, propriedade amplamente relacionada a atividade biológica. O  $\log P$  pode ser determinado por meio da partição de um composto entre uma fase aquosa e outra orgânica num determinado pH onde as moléculas encontram-se na forma neutra. Para compostos ionizáveis, a partição é modificada em função de um pH específico, denominada coeficiente de distribuição ( $\log D$ ). O  $\log D$  calculado em pH 7,4 é considerado um indicador de comportamento do composto na biofase aquosa (plasma). O  $pK_a$ , por sua vez, expressa o percentual relativo das espécies na sua forma ácida e de sua base conjugada de cada molécula. A importância do  $pK_a$  na absorção está na sua relação com a lipofilicidade, de forma que as espécies não-ionizadas atravessam membranas mais facilmente, por serem mais lipofílicas [51, 52, 53].

A área de superfície polar (PSA) de uma molécula corresponde ao somatório da superfície de todos os seus átomos polares, principalmente oxigênio e nitrogênio. Este parâmetro possui correlação com a absorção intestinal humana e penetração pela barreira hemato-encefálica [52, 53].

O  $\log S$  corresponde ao logaritmo de solubilidade em água de compostos orgânicos, no qual  $S$  é a concentração do composto em mol/L. Moléculas polares estão associadas a valores de  $\log S$  acima de -1 e, conseqüentemente, possui baixa permeabilidade de membrana na ausência de transporte ativo. É necessário que um fármaco possua polaridade razoável, solubilidade aquosa e lipofilicidade necessária para atravessar membranas [53, 55].

As características físico-químicas  $\log P$ ,  $\log D$ ,  $\log S$ ,  $pK_a$  e PSA – calculadas no programa Percepta/ACD Labs – bem como fórmula molecular, massa molar, rendimentos, fatores de retenção e pontos de fusão dos compostos-alvo estão resumidos nas Tabelas **9**, **10** e **11**.

**Tabela 9** – Características químicas, rendimentos e ponto de fusão da série acetóxi, hidróxi e metoxiácidos ou metilésteres

Derivado	R	Z	Rf	MM (g/mol)	FM	Rend. (%)	PF (°C)	LogP	LogD (pH 7,4)	LogS (pH 7,4)	pKa	PSA (Å <sup>2</sup> )
LDT11	H	H	0,48 (Hex <sub>80%</sub> :AcOEt <sub>20%</sub> )	348,519	C <sub>22</sub> H <sub>36</sub> O <sub>3</sub>	70	81-84	9,96	6,48	-5,62	3,1	57,53
LDT13	COCH <sub>3</sub>	H	0,20 (Hex <sub>80%</sub> :AcOEt <sub>20%</sub> )	390,556	C <sub>24</sub> H <sub>38</sub> O <sub>4</sub>	76	65-69	9,09	6,26	-5,08	3,5	63,60
LDT28	CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	0,40 (Hex <sub>90%</sub> :AcOEt <sub>10%</sub> )	376,573	C <sub>24</sub> H <sub>40</sub> O <sub>3</sub>	97	32-33	9,94	*	-8,65	**	35,53
LDT29	H	CH <sub>3</sub>	0,60 (Hex <sub>80%</sub> :AcOEt <sub>20%</sub> )	362,546	C <sub>23</sub> H <sub>38</sub> O <sub>3</sub>	86	37-40	10,13	*	-8,72	9,9	46,53
LDT30	CH <sub>3</sub>	H	0,28 (Hex <sub>80%</sub> :AcOEt <sub>20%</sub> )	362,546	C <sub>23</sub> H <sub>38</sub> O <sub>3</sub>	98	74-77	9,39	6,57	-5,63	4,1	46,53
LDT208	COCH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	0,44 (Hex <sub>80%</sub> :AcOEt <sub>20%</sub> )	404,583	C <sub>25</sub> H <sub>40</sub> O <sub>4</sub>	58	30-35	9,37	*	-8,28	**	52,60

\* Não calculado; \*\* Não possui

**Tabela 10** – Características químicas, rendimentos e ponto de fusão dos derivados da série dos derivados amídicos

Derivado	R	n	Rf	MM (g/mol)	FM	Rend. (%)	PF (°C)	LogP	LogS (pH 7,4)	pKa	PSA (Å <sup>2</sup> )
LDT651	CH <sub>3</sub>	0	0,33 (Hex <sub>80%</sub> :AcOEt <sub>20%</sub> )	437,657	C <sub>29</sub> H <sub>43</sub> NO <sub>2</sub>	76	78-85	10,25	-9,47	13,7	38,33
LDT563	CH <sub>3</sub>	1	0,21 (Hex <sub>80%</sub> :AcOEt <sub>20%</sub> )	451,684	C <sub>30</sub> H <sub>45</sub> NO <sub>2</sub>	77	90-99	10,66	-9,45	15,0	38,33
LDT655	CH <sub>3</sub>	2	0,22 (Hex <sub>80%</sub> :AcOEt <sub>20%</sub> )	465,710	C <sub>31</sub> H <sub>47</sub> NO <sub>2</sub>	71	53-56	10,59	-9,97	14,7	38,33
LDT657	CH <sub>3</sub>	3	0,24 (Hex <sub>80%</sub> :AcOEt <sub>20%</sub> )	479,737	C <sub>32</sub> H <sub>49</sub> NO <sub>2</sub>	96	60-67	11,20	-9,99	14,9	38,33
LDT82	OH	0	0,28 (Hex <sub>80%</sub> :AcOEt <sub>20%</sub> )	423,631	C <sub>28</sub> H <sub>41</sub> NO <sub>2</sub>	80	71-74	11,17	-9,09	7,2	49,33
LDT645	OH	1	0,25 (Hex <sub>80%</sub> :AcOEt <sub>20%</sub> )	437,657	C <sub>29</sub> H <sub>43</sub> NO <sub>2</sub>	77	85-87	11,19	-9,41	8,5	49,33
LDT647	OH	2	0,24 (Hex <sub>80%</sub> :AcOEt <sub>20%</sub> )	451,684	C <sub>30</sub> H <sub>45</sub> NO <sub>2</sub>	98	72-75	11,11	-9,67	8,4	49,33
LDT649	OH	3	0,28 (Hex <sub>80%</sub> :AcOEt <sub>20%</sub> )	465,710	C <sub>31</sub> H <sub>47</sub> NO <sub>2</sub>	97	59-65	11,72	-9,84	8,5	49,33
LDT675	COCH <sub>3</sub>	0	0,33 (Hex <sub>80%</sub> :AcOEt <sub>20%</sub> )	465,667	C <sub>30</sub> H <sub>43</sub> NO <sub>3</sub>	75	44-47	9,67	-9,44	13,4	55,40
LDT677	COCH <sub>3</sub>	1	0,33 (Hex <sub>80%</sub> :AcOEt <sub>20%</sub> )	479,694	C <sub>31</sub> H <sub>45</sub> NO <sub>3</sub>	85	73-76	10,00	-9,45	14,8	55,40
LDT679	COCH <sub>3</sub>	2	0,36 (Hex <sub>80%</sub> :AcOEt <sub>20%</sub> )	493,720	C <sub>32</sub> H <sub>47</sub> NO <sub>3</sub>	73	53-65	9,93	-9,72	14,5	55,40
LDT681	COCH <sub>3</sub>	3	0,36 (Hex <sub>80%</sub> :AcOEt <sub>20%</sub> )	507,747	C <sub>33</sub> H <sub>49</sub> NO <sub>3</sub>	80	61-66	10,53	-9,94	14,7	55,40

**Tabela 11** – Características químicas, rendimentos e ponto de fusão dos derivados da série dos derivados ésteres

Derivado	R	n	Rf	MM (g/mol)	FM	Rend. (%)	PF (°C)	LogP	LogS (pH 7,4)	pKa	PSA (Å <sup>2</sup> )
LDT667	CH <sub>3</sub>	0	0,55 (Hex <sub>80%</sub> :AcOEt <sub>20%</sub> )	438,642	C <sub>29</sub> H <sub>42</sub> O <sub>3</sub>	59	34-38	11,22	-9,63	***	35,53
LDT669	CH <sub>3</sub>	1	0,54 (Hex <sub>80%</sub> :AcOEt <sub>20%</sub> )	452,669	C <sub>30</sub> H <sub>44</sub> O <sub>3</sub>	64*	35-38	11,71	-9,74	***	35,53
LDT671	CH <sub>3</sub>	2	0,58 (Hex <sub>80%</sub> :AcOEt <sub>20%</sub> )	466,695	C <sub>31</sub> H <sub>46</sub> O <sub>3</sub>	69*	28-32	11,96	-10,00	***	35,53
LDT673	CH <sub>3</sub>	3	0,62 (Hex <sub>80%</sub> :AcOEt <sub>20%</sub> )	480,722	C <sub>32</sub> H <sub>48</sub> O <sub>3</sub>	35*	31-34	12,54	-10,30	***	35,53
LDT659	OH	0	0,61 (Hex <sub>80%</sub> :AcOEt <sub>20%</sub> )	424,615	C <sub>28</sub> H <sub>40</sub> O <sub>3</sub>	55	35-38	11,45	-9,64	8,8	46,53
LDT661	OH	1	0,65 (Hex <sub>80%</sub> :AcOEt <sub>20%</sub> )	438,642	C <sub>29</sub> H <sub>42</sub> O <sub>3</sub>	60	29-36	11,91	-9,67	8,1	46,53
LDT663	OH	2	0,64 (Hex <sub>80%</sub> :AcOEt <sub>20%</sub> )	452,669	C <sub>30</sub> H <sub>44</sub> O <sub>3</sub>	71	25-27	12,16	-9,95	8,0	46,53
LDT665	OH	3	0,64 (Hex <sub>80%</sub> :AcOEt <sub>20%</sub> )	466,695	C <sub>31</sub> H <sub>46</sub> O <sub>3</sub>	77	35-38	12,74	-9,96	8,1	46,53
LDT683	COCH <sub>3</sub>	0	0,48 (Hex <sub>80%</sub> :AcOEt <sub>20%</sub> )	466,652	C <sub>30</sub> H <sub>42</sub> O <sub>4</sub>	76	48-52	10,78	-9,60	***	52,60
LDT685	COCH <sub>3</sub>	1	0,34 (Hex <sub>90%</sub> :AcOEt <sub>10%</sub> )	480,679	C <sub>31</sub> H <sub>44</sub> O <sub>4</sub>	88	37-43	11,14	-9,81	***	52,60
LDT687	COCH <sub>3</sub>	2	0,50 (Hex <sub>80%</sub> :AcOEt <sub>20%</sub> )	494,705	C <sub>32</sub> H <sub>46</sub> O <sub>4</sub>	77	25-28	11,39	-10,10	***	52,60
LDT689	COCH <sub>3</sub>	3	0,50 (Hex <sub>80%</sub> :AcOEt <sub>20%</sub> )	508,732	C <sub>33</sub> H <sub>48</sub> O <sub>4</sub>	61	**	11,97	-10,30	***	52,60

\* Melhores rendimentos; \*\* Obtido como líquido; \*\*\* Não possui

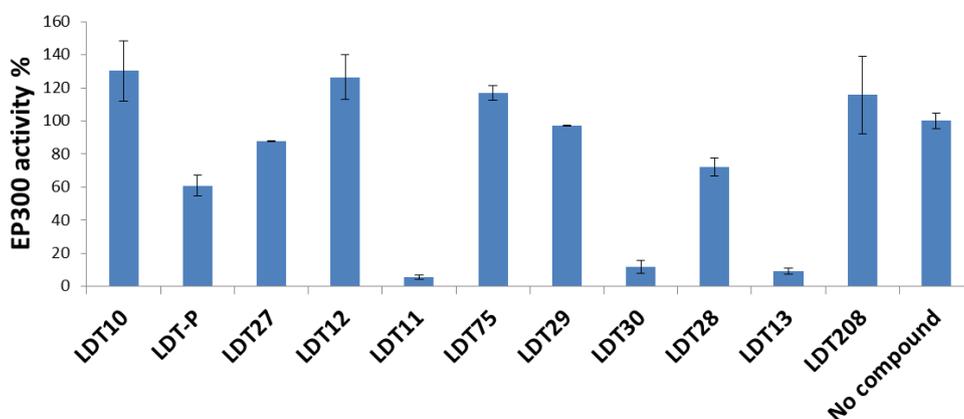
### 6.3 AVALIAÇÃO BIOLÓGICA E RELAÇÕES ESTRUTURA-ATIVIDADE

Uma vez sintetizados e caracterizados por métodos espectroscópicos, os derivados foram avaliados *in vitro* frente aos alvos de interesse p300 e PPAR- $\alpha$ /PPAR- $\gamma$ .

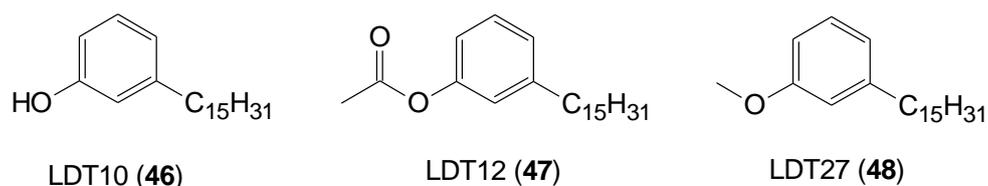
#### 6.3.1 p300

A avaliação do perfil inibitório dos derivados-alvo frente à enzima p300 foi realizada pelo grupo do Prof. Masoud Vedadi do Structural Genomics Consortium (SGC) da Universidade de Toronto. Os derivados-alvo das três séries foram avaliados frente à enzima p300 nas concentrações de 10, 30 e 100  $\mu$ m. Os derivados ácidos LDT11 (**16**), LDT13 (**17**), e LDT30 (**20**) foram avaliados em 3 experimentos e foram capazes de inibir 50% da atividade de p300 nas concentrações de 50  $\mu$ m e 100  $\mu$ m.

No ensaio realizado para a primeira série à concentração de 50  $\mu$ m, LDT11 (**16**), LDT13 (**17**), e LDT30 (**20**) apresentaram elevada atividade inibitória da enzima p300 em torno de 95%, 91% e 88%, respectivamente. Por sua vez, os derivados ésteres LDT28 (**18**) e LDT29 (**19**) inibiram a p300 com respectivos percentuais de 12% e 3%, enquanto LDT208 (**21**) aumentou a atividade de p300 em 16% (Figura 14).



**Figura 14:** Atividade inibitória frente à enzima p300 dos compostos da série da série acetóxi, hidróxi e metoxiácidos ou metilésteres testados a 50  $\mu$ M



**Figura 15:** Derivados LDT10 (46), LDT12 (47) e LDT27 (48)

Fonte: Próprio autor

No segundo experimento, somente LDT13 (17) apresentou perfil inibitório com  $IC_{50}$  13,0  $\mu$ M. Em nova avaliação a 100  $\mu$ M, os ácidos LDT11 (16), LDT13 (17), e LDT30 (20) inibiram a p300 em mais de 50% e tiveram suas  $IC_{50}$  determinadas (Tabela 12).

**Tabela 12** - Valores de  $IC_{50}$  para os derivados 16-21

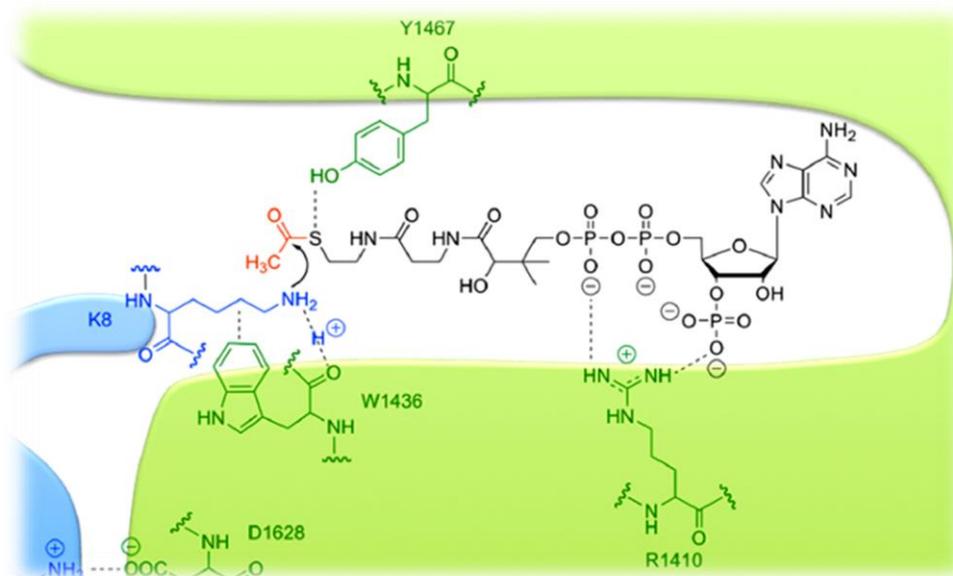
Derivado	% Inibição p300 <sup>a</sup>	$IC_{50}$ ( $\mu$ M) <sup>a</sup>	$IC_{50}$ ( $\mu$ M) <sup>b</sup>	$IC_{50}$ ( $\mu$ M) <sup>c</sup>	LogP	LogD (pH 7,4)	LogS (pH 7,4)	pKa	PSA ( $\text{\AA}^2$ )
LDT11 (16)	95	3,0	--	21,0	9,96	6,48	-5,62	3,1	53,3
LDT13 (17)	91	3,0	13,0	20,0	9,09	6,26	-5,08	3,5	63,6
LDT30 (20)	88	10,0	--	15,0	9,39	6,57	-5,63	4,1	35,5
LDT28 (18)	12	--	--	--	9,94	--	-8,65	--	46,5
LDT29 (19)	3	--	--	--	10,13	--	-8,72	9,9	46,5
LDT208 (21)	-16	--	--	--	9,37	--	-8,28	--	52,6

a. 50  $\mu$ M; b. 1,5 a 100  $\mu$ M; c. 100  $\mu$ M

Em todos os experimentos foi reportada a baixa solubilidade dos compostos nas condições empregadas, o que não permite o estabelecimento de relações estrutura-atividade de forma precisa e detalhada. De acordo com os dados teóricos, os derivados ativos apresentaram LogS (pH 7,4) entre -5,63 e -5,08; enquanto os valores deste parâmetro para os ésteres-derivados variaram entre -8,72 e -8,28. A diferença entre os dados demonstra a maior solubilidade dos derivados ácidos em cerca de 1200 vezes.

Os dados teóricos de pKa para os derivados ácidos LDT11 (16), LDT13 (17), e LDT30 (20) revelam que estas espécies estão como íons carboxilato em pH 7,4 utilizado nos experimentos. Desta forma, esta subunidade pode ser reconhecida pelo resíduo de arginina 1410 (R1410) da p300 – responsável pelo reconhecimento de íons fosfato da Acetil-CoA – por interações do tipo íon-íon ou íon-dipolo (Figura 16). Uma vez que os ésteres não apresentam esta

característica iônica, o grupo carboxilato é considerado como farmacofórico para esta classe de compostos.



**Figura 16:** Sítio ativo da p300 com Acetil-CoA

Fonte: Adaptado de DANCY & COLE, 2015 [56]

Adicionalmente, a hidroxila fenólica – considerando sua ligação de hidrogênio intramolecular com a carbonila no sistema salicílico – e seus derivados metoxila e acetila podem atuar como aceptores de ligação de hidrogênio (ALH) quando do reconhecimento pela p300 por meio de interações íon-dipolo e dipolo-dipolo com o resíduo R1410.

Considerando o parâmetro PSA (Tabela 12), os dados revelam a inexistência de relações lineares com o perfil de atividade encontrado.

Os compostos das séries 2 e 3 (amidas e ésteres) foram inativos ou apresentaram percentual de inibição máximo de 30% na concentração de 100  $\mu$ M. Estes dados reforçam a subunidade carboxila como farmacofórica, uma vez que estes derivados não apresentam grupos ionizáveis em pH 7,4.

Adicionalmente, a baixa solubilidade destes compostos – LogS variando entre -9,99 e -9,09 para as amidas e -10,30 e -9,63 para os ésteres – e os altos valores de LogP – entre 9,67 e 11,72 para as amidas e 10,78 e 12,74 para os ésteres – indicam que estes compostos interagirão preferencialmente com regiões hidrofóbicas da enzima. Já para os derivados LDT11 (16), LDT13 (17), e LDT30 (20), a presença do íon carboxilato modula o perfil de hidrofobicidade

destes compostos, os quais apresentando LogD na faixa entre 6,26 e 6,57, são, pelo menos, mil vezes menos hidrofóbicos.

### 6.3.2 PPAR

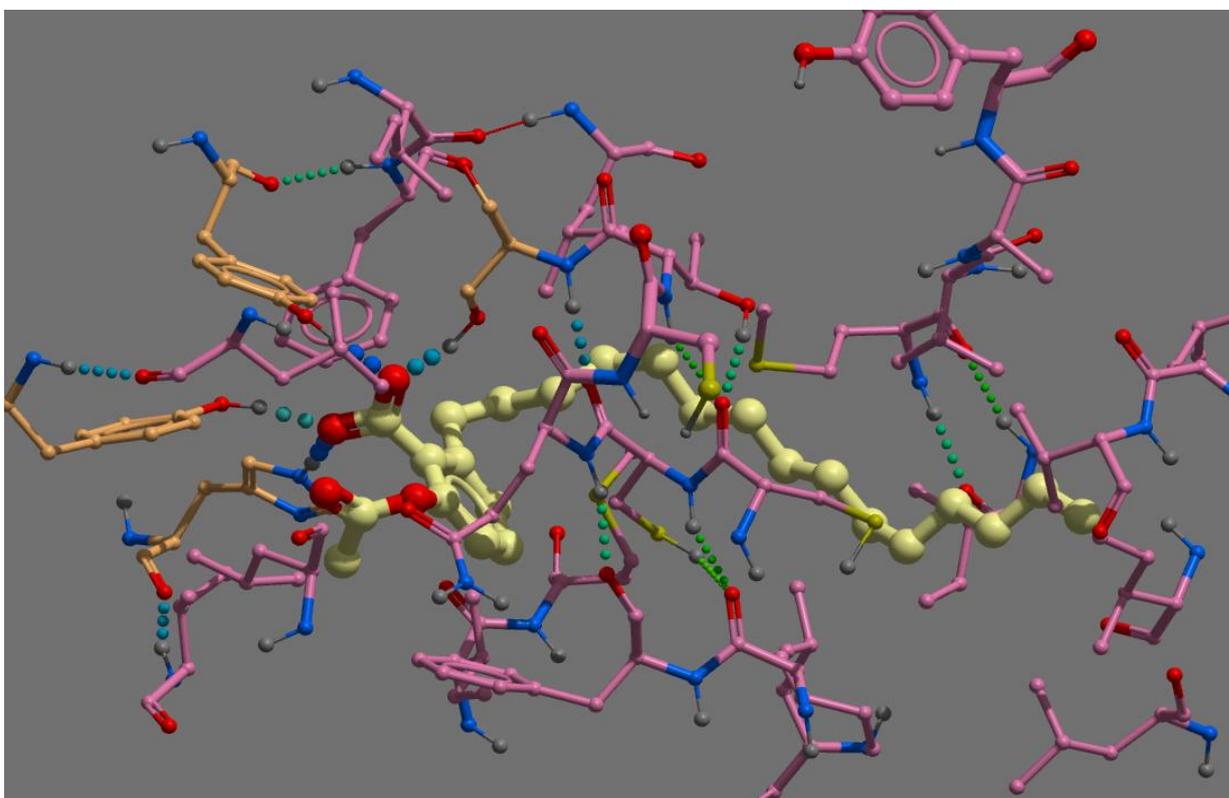
A avaliação da atividade biológica preliminar frente a PPAR – finalizada apenas para a primeira série – foi realizada por Lília Magomedova no Nuclear Hormone Receptors in Human Health and Disease Laboratory coordenado pela Dra. Carolyn Cummins da Faculdade de Farmácia Leslie Dan da Universidade de Toronto.

O ensaio de gene repórter e avaliação da atividade luciferase em diferentes concentrações para PPAR- $\alpha$  e PPAR- $\gamma$  realizado para a primeira série – derivados **16** a **21** – revelou que os derivados ácidos LDT11 (**16**), LDT13 (**17**), e LDT30 (**20**) apresentam perfil agonista parcial frente a PPAR- $\alpha$  quando comparados ao agonista pleno GW590735, com valores de EC<sub>50</sub> variando entre 1,5 a 32,0  $\mu$ M. Os dados demonstram que o ácido carboxílico – na forma de carboxilato – é farmacofórico para o reconhecimento molecular e ativação do receptor PPAR- $\alpha$  por meio de interações íon-íon e íon-dipolo. Esta afirmação é reforçada pelos resultados obtidos por Ferreira em sua Dissertação de Mestrado [57], na qual cardanol saturado (LDT10, **46**) e seus acetil- (LDT12, **47**) e metóxi- (LDT27, **48**) derivados – respectivos análogos LDT11 (**16**), LDT13 (**17**), e LDT30 (**20**) sem o grupo carboxila – não apresentaram atividade para PPAR- $\alpha$  (Figura 15).

Os dados ainda revelam a modulação do perfil PPAR- $\alpha$  em função do padrão de substituição na hidroxila fenólica, em que os grupos hidroxila, acetila e metoxila podem atuar com ALH. O perfil de atividade apresentado por LDT13 (**17**) sugere que a presença dos grupos carboxilato (iônico) e acetila (ALH) distantes 3,72 Å e 3,78 Å do centróide do anel aromático (dados não publicados) são relevantes para o reconhecimento pelo receptor PPAR- $\alpha$ .

De acordo com os estudos de ancoramento molecular (*molecular docking*) desenvolvidos por Poda, Bhattacharyya e Uehling para estes compostos (58, em publicação), LDT13 (**17**) é reconhecido pelo sítio ativo do

receptor PPAR- $\alpha$  por meio de interações com os resíduos de serina 280, tirosinas 314 e 464 e histidina 440 no bolsão polar no domínio de ligação do ligante (LBD), com adicional interação pi-pi stacking com a fenilalanina 273 no mesmo LBD (Figura 17).



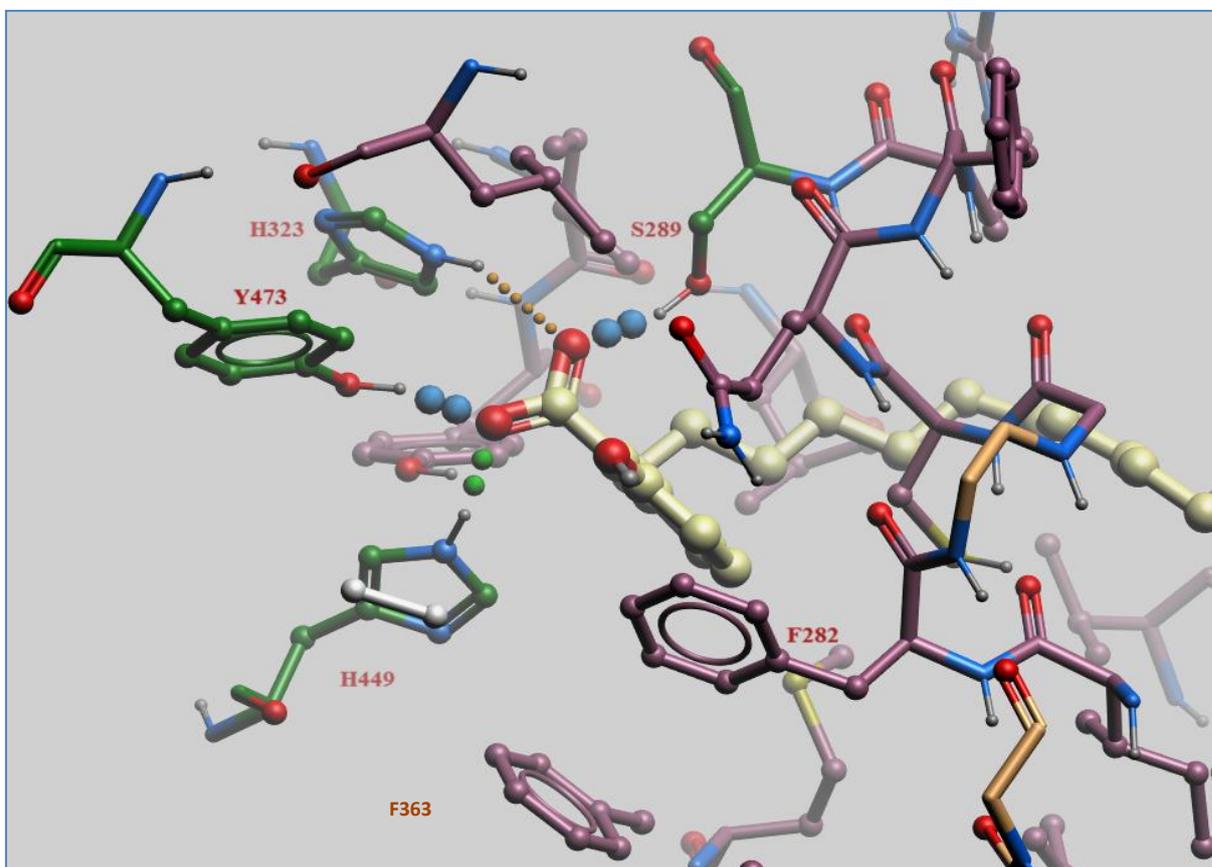
**Figura 17:** Ancoragem de LDT13 (17) no LBD de PPAR- $\alpha$

Fonte: Poda, Bhattacharyya e Uehling (em publicação), 2015 [58]

Considerando o perfil de atividade frente ao receptor PPAR- $\gamma$ , apenas os derivados LDT11 (16), LDT13 (17) ativaram parcialmente o receptor com  $EC_{50}$  em torno de 12,0  $\mu$ M. Estes dados sugerem que a inatividade de LDT30 (20) pode estar relacionada à redução da área de superfície polar para 35,5  $\text{\AA}^2$  pela presença do grupo metoxila, encontrada na faixa de 53,3 a 63,6  $\text{\AA}^2$  nos derivados ativos. Adicionalmente, a presença do grupo metoxila – por meio do efeito *orto* e inexistência de grupo ALH acessível – pode influenciar na adoção de conformação inapropriada ao reconhecimento pelo receptor.

Estudos de ancoragem molecular (*molecular docking*) desenvolvidos por Poda, Bhattacharyya e Uehling para os compostos ativos em PPAR- $\gamma$  (em publicação) sugerem que LDT11 (16) é reconhecido pelo sítio ativo do receptor

PPAR- $\gamma$  por meio de interações com os resíduos de serina 289, tirosina 473 e histidinas 323 e 449 no bolsão polar no domínio de ligação do ligante (DLL), com interações pi-pi stacking com as fenilalanina 282 e 363 no mesmo DLL (Figura 18).



**Figura 18:** Ancoragem de LDT11 (16) no LBD de PPAR- $\gamma$

Fonte: Poda, Bhattacharyya e Uehling (em publicação), 2015 [58]

Os valores de  $EC_{50}$  para ambos PPAR- $\alpha$  e PPAR- $\gamma$  e propriedades físico-químicas teóricas estão dispostos na Tabela 13.

**Tabela 13 –** Valores de  $EC_{50}$  para os derivados 16-21

Derivado	$EC_{50}$ ( $\mu M$ )		LogP	LogD (pH 7,4)	LogS (pH 7,4)	pKa	PSA ( $\text{\AA}^2$ )
	PPAR- $\alpha$	PPAR- $\gamma$					
LDT11 (16)	9,1	12,4	9,96	6,48	-5,62	3,1	53,3
LDT13 (17)	1,5	12,1	9,09	6,26	-5,08	3,5	63,6
LDT30 (20)	32,0	--	9,39	6,57	-5,63	4,1	35,5
LDT28 (18)	--	--	9,94	--	-8,65	--	46,5
LDT29 (19)	--	--	10,13	--	-8,72	9,9	46,5
LDT208 (21)	--	--	9,37	--	-8,28	--	52,6

## ***Conclusões e Perspectivas***

---

## 7 CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS

Como visto, a DC apresenta-se como uma doença multifatorial de etiologia desconhecida, cuja eficácia do tratamento a longo prazo ainda é precária. Na última década, vários estudos na área da Química Medicinal têm utilizado a estratégia de ligantes multialvo-dirigidos no planejamento de moléculas capazes de atuarem simultaneamente em alvos moleculares convergentes ao tratamento de patologias complexas – como a Doença de Crohn – a qual foi empregada neste trabalho. Neste contexto, foram sintetizados 30 derivados-alvo planejados a partir do ácido anacárdico utilizando reações clássicas *i.e.* acetilação, alquilação, hidrogenação catalítica e hidrólise por meio de aquecimento convencional ou radiação micro-ondas, em rendimentos que variaram de 35% a 98%, cujas estruturas foram confirmadas por métodos espectroscópicos de análise de RMN  $^1\text{H}$  e RMN  $^{13}\text{C}$  e no IV.

A avaliação da atividade biológica *in vitro* dos compostos-alvo frente à enzima p300 revelou que os derivados ácidos LDT11 (**16**), LDT13 (**17**) e LDT30 (**20**) foram capazes de inibir mais de 50% da atividade enzimática na concentração de 50  $\mu\text{M}$ , e apresentaram  $\text{IC}_{50}$  de 3,0  $\mu\text{M}$  (**16** e **17**) e 10,0  $\mu\text{M}$  (**20**). A baixa solubilidade dos demais compostos avaliados foi reportada nas condições experimentais empregadas e pode estar associada a ausência de atividade em p300. As relações estrutura-atividade (SAR) – baseadas nos dados físico-químicos teóricos de  $\log S$ ,  $\log P$  e  $\log D$  – revelaram a importância da polaridade para o reconhecimento da enzima, sendo os derivados LDT11 (**16**), LDT13 (**17**) e LDT30 (**20**) pelos menos mil vezes menos hidrofóbicos que os compostos inativos. As possíveis interações com o sítio ativo da p300 foram relacionadas ao íon carboxilato e ALH presentes nos 2'-hidroxiderivados e seus substituintes – como respectivos grupo farmacofórico e moduladores da atividade inibitória – os quais podem interagir com o resíduo R1410 da p300 por meio de interações íon-íon, íon-dipolo e dipolo-dipolo.

Os estudos preliminares do perfil frente a PPAR- $\alpha$  e PPAR- $\gamma$  foram finalizados para a primeira série, em que os derivados ácidos LDT11 (**16**),

LDT13(**17**) e LDT30 (**20**) foram identificados como agonistas parciais para ambos receptores em relação aos agonistas plenos GW590735 e rosiglitazona. Os valores de  $EC_{50}$  foram determinados para os derivados **16**, **17** e **20** e variaram entre 1,5 a 32,0  $\mu$ M. Considerando PPAR- $\gamma$ , os derivados LDT11 (**16**) e LDT13 (**17**) mostraram-se equipotentes com  $EC_{50}$  em torno de 12,0  $\mu$ M. As análises SAR evidenciaram as mesmas relações de relevância observadas para p300 – íon carboxilato e ALH como grupos farmacofórico e moduladores – para o reconhecimento molecular e ativação de ambos PPAR- $\alpha$  e PPAR- $\gamma$ . Os estudos ainda sugeriram que a inatividade de LDT30 frente à PPAR- $\gamma$  pode estar relacionada à redução da área de superfície polar para 35,5  $\text{\AA}^2$  bem como a aspectos conformacionais influenciados pelo grupo metoxila (efeito *orto*) durante o reconhecimento pelo receptor. Estudos de ancoragem molecular revelaram que LDT13 (**17**) é reconhecido no DLL de PPAR- $\alpha$  por meio de interações com os resíduos de serina 280, tirosinas 314 e 464 e histidina 440 no bolsão polar no domínio de ligação do ligante (DLL), com adicional interação pi-pi stacking com a fenilalanina 273. Da mesma forma, esses estudos sugerem que LDT11 (**16**) é reconhecido pelo sítio ativo do receptor PPAR- $\gamma$  por meio de interações com os resíduos de serina 289, tirosina 473 e histidinas 323 e 449 no bolsão polar no DLL, com interações pi-pi stacking com as fenilalanina 282 e 363 no mesmo DLL.

Os resultados preliminares revelaram que derivados LDT11 (**16**) e LDT13 (**17**) atuam como inibidores da enzima p300 e agonistas parciais duais frente PPAR- $\alpha$  e PPAR- $\gamma$ , sendo considerados ligantes multialvo. O derivado LDT30 (**20**) foi identificado como ligante dual, capaz de inibir p300 ( $IC_{50}$  10,0-15,0  $\mu$ M) e ativar PPAR- $\alpha$  (32,0  $\mu$ M) com perfis semelhantes para os alvos estudados. Além disso, este estudo fornece informações úteis para a otimização molecular na busca de ligantes com melhor perfil de atividade.

Faz-se necessária a avaliação dos derivados ativos quanto à modulação da atividade NF- $\kappa$ B, como importante alvo terapêutico na DC em face da atividade exacerbada na doença, para confirmação de nossos pressupostos teóricos para ligantes multialvo. Vale destacar que, ainda que inativos nos ensaios *in vitro*, as amidas e ésteres análogos ao 5-CSPA deverão ser avaliados em modelos experimentais *in vivo* para confirmação do planejamento como anti-inflamatórios. Desse modo, otimização dos rendimentos das

reações, a avaliação de todas as séries frente à inibição NF- $\kappa$ B *in vitro* e posteriormente em modelos de colite *in vivo* e o planejamento de novos derivados constituem as perspectivas deste trabalho.

## ***Referências Bibliográficas***

---

## 8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] Braun J, Wei B. Body Traffic: Ecology, Genetics, and Immunity in Inflammatory Bowel Disease. *Annu Rev Pathol Mech Dis*. 2007; 2:401-429.
- [2] Lakatos PL. Recent trends in the epidemiology of inflammatory bowel diseases: Up or down? *World J Gastroenterol*. 2006; 12(38): 6102-6108.
- [3] World Gastroenterology Organisation. Inflammatory bowel disease: a global perspective. *WGO Global Guidelines*. 2009.
- [4] Souza MHL, Troncon LEA, Rodrigues CM, Viana CFG, Onofre PHC, Monteiro RA, Passos ADC, Martinelli ALC, Meneghelli UG. Evolução da ocorrência (1980-1999) da doença de Crohn e da retocolite ulcerativa idiopática e análise das suas características clínicas em um hospital universitário do sudeste do Brasil. *Arq Gastroenterol*. 2002; 39 (2): 98-105.
- [5] Schoffen JPF, Prado IMM. Aspectos epidemiológicos e etiológicos da doença de Crohn. *Rev Saúde e Pesquisa*. 2011; 4 (1): 73-80.
- [6] Santos SC. Doença de Crohn: Uma abordagem geral [monografia]. Curitiba (PR): Universidade Federal do Paraná; 2011.
- [7] Kotze PG, Araújo SEA. Tratamento cirúrgico da doença de Crohn. Cury D, Moss A, organizadores. *Doenças inflamatórias intestinais: reto colite ulcerativa e Doença de Crohn*. 2011; 171-186.
- [8] Hsiang CY, Lo HY, Huang HC, Li CC, Wu SL, Ho TY. Ginger extract and zingerone ameliorated trinitrobenzene sulphonic acid-induced colitis in mice via modulation of nuclear factor- $\kappa$ B activity and interleukin-1 $\beta$  signaling pathway. *Food Chemistry*. 2013; 12: 170-177.

[9] Mazzeto SE, Lomonaco D. Óleo da castanha de cajú: oportunidades e desafios no contexto do desenvolvimento e sustentabilidade industrial. *Quim Nova*. 2009; 32 (3): 732-741.

[10] Hemshekhar M, Santhosh MS, Kemparaju K, Girish KS. Emerging roles of anacardic acid and its derivatives: a pharmacological overview. *Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology*. 2011; 110: 122-132.

[11] Trevisan MTS, Pfundstein B, Haubner R, et al. Characterization of alkyl phenols in cashew (*Anacardium occidentale*) products and assay of their antioxidant capacity. *Food and Chem Tox*. 2006; 44: 188-197.

[12] Sung B, Pandey MK, Ahn KS, Yi T, Chaturvedi MM, Liu M, Aggarwal BB. Anacardic acid (6-nonadecyl salicylic acid), an inhibitor of histone acetyltransferase, suppresses expression of nuclear factor- $\kappa$ B – regulated gene products involved in cell survival, proliferation, invasion and inflammation through inhibition of the inhibitory subunit of nuclear factor- $\kappa$ B $\alpha$  kinase, leading to potentiation of apoptosis. *Blood*. 2008; 111(10): 4880-4891.

[13] Raposo FAQ. Doença Inflamatória Intestinal [dissertação]. Covilhã (PT): Universidade da Beira Interior, Faculdade de Ciências da Saúde; 2008.

[14] Baumgart DC, Sandborn WJ. Crohn's disease. *The Lancet*. 2012; 380 (9853): 1590-1605.

[15] Ribeiro ICT. Doença de Crohn: Etiologia, Patogénese e suas implicações na terapêutica [dissertação]. Covilhã (PT): Universidade da Beira Interior, Faculdade de Ciências da Saúde; 2009.

[16] Hart AL, Ng SC. Crohn's disease. *Medicine*. 2011; 39 (4): 229-236.

[17] Kirsner JB. The historical basis of the idiopathic inflammatory bowel diseases. *Inflammatory Bowel Diseases*. 1995; 1(1): 2-26.

[18] Crohn BB, Ginzburg L, Oppenheimer GD. Regional ileitis: a pathologic and clinical entity. JAMA. 1932; 99: 1323-9.

[19] Economou M, Zambeli E, Michopoulos S. Incidence and prevalence of Crohn's disease and its etiological influences. Annals of Gastroenterology. 2009; 22(3): 158-167.

[20] Silverberg MS, Satsangi J, Ahmad T, Arnott I, Bernstein CN, Brant SR et al. Toward an integrated clinical, molecular and serological classification of inflammatory bowel disease: Report of a Working Party of the 2005 Montreal World Congress of Gastroenterology. Can J Gastroenterol. 2005;19 (A): 5A-35A.

[21] Sartor RB. Mechanisms of Disease: pathogenesis of Crohn's disease and ulcerative colitis. Nature Clinical Practice Gastroenterology & Hepatology. 2006; 3(7): 390-407.

[22] Jewell DP. Crohn's disease. Medicine. 2007; 35 (5): 283-289.

[23] Shanahan F. Crohn's disease. The Lancet. 2002; 359: 62-69.

[24] Shih DQ, Targan SR. Immunopathogenesis of inflammatory bowel disease. World J Gastroenterol. 2008; 14(3):390-400.

[25] Cario E, Podolsky DK. Differential Alteration in Intestinal Epithelial Cell Expression of Toll-Like Receptor 3 (TLR3) and TLR4 in Inflammatory Bowel Disease. Infection and Immunity. 2000; 68(12): 7010-7017.

[26] Cheifetz AS. Management of Active Crohn Disease. JAMA. 2013; 309(20): 2150-2158.

- [27] Mendonça DCS. Supressão da resposta do HIF-1 $\alpha$  pelo NF- $\kappa$ B via competição pela ligação com a coativador transcricional p300 [tese]. Brasília: Universidade Católica de Brasília, Ciências Genômicas e Biotecnologia. 2010.
- [28] Gilmore TD. Introduction to NF- $\kappa$ B: players, pathways, perspectives. *Oncogene*. 2006; 25: 6680-6684.
- [29] Hayden MS, Ghosh S. Signaling to NF- $\kappa$ B. *Genes & Development*. 2004; 18: 2195-2224.
- [30] Ivanenkov YA, Balakin KV, Lavrovsky Y. Small Molecule Inhibitors of NF- $\kappa$ B and JAK/STAT Signal Transduction Pathways as Promising Anti-Inflammatory Therapeutics. *Mini-Reviews in Medicinal Chemistry*. 2011; 11: 55-78.
- [31] Souto JA, Conte MR, Alvarez R, Nebbioso A, Carafa V, Altucci L, Lera AR. Synthesis of Benzamides Related to Anacardic Acid and Their Histone Acetyltransferase (HAT) Inhibitory Activities. *ChemMedChem*. 2008; 3 (9): 1435-1442.
- [32] Portela A, Esteller M. Epigenetic modifications and human disease. *Nature Biotechnology*. 2010; 28(10): 1057-1068.
- [33] Wu J. Development of Inhibitors and Assay Methods for Histone Acetyltransferases [dissertação]. Estados Unidos: Georgia State University. 2011.
- [34] Dekker FJ, Haisma HJ. Histone acetyl transferases as emerging drug targets. *Drug Discovery Today*. 2009; 14(19/20): 942-948.
- [35] Devipriya B, Paramenwari AR, Rajalkshmi, Palvannan T, Kumaradhas P. Exploring the binding affinities of p300 enzyme activators CTPB and CTB using docking method. *Indian Jour Biochem & Bioph*. 2010; 47: 364-369.

- [36] Ghizzoni M, Haisma HJ, Maarsingh H, Dekker FJ. Histone acetyltransferases are crucial regulators in NF- $\kappa$ B mediated inflammation. *Drug Discovery Today*. 2011; 0(0): 1-8.
- [37] Jin Q, Yu L, Wang L, Zhang Z, Kasper LH, Lee J, Wang C et al. Distinct roles of GCN5/PCAF-mediated H3K9ac and CBP/p300-mediated H3K18/27ac in nuclear receptor transactivation. *The EMBO Journal*. 2011; 30(2): 249-262.
- [38] Costi R, Santo RD, Artico M, Miele G, Valentini P, Novellino E, Cereseto A. Cinnamoyl Compounds as Simple Molecules that inhibit p300 Histone Acetyltransferase. *J Med Chem*. 2007; 50: 1973-1977.
- [39] Monteleone G, Blanco GDV, Monteleone I, Fina D, Caruso R, Gioia V, Ballerini S, Federici G et al. Post-transcriptional Regulation of Smad7 in the Gut of Patients With Inflammatory Bowel Disease. *Gastroenterology*. 2005; 129(5): 1420-1429.
- [40] Tsaprouni LG, Ito K, Powell JJ, Adcock IM, Pouchard N. Differential patterns of histone acetylation in inflammatory bowel diseases. *Journal of Inflammation*. 2011; 8(1): 1-12.
- [41] Desreumaux P, Ghosh S. Review article: mode of action and delivery of 5-aminosalicylic acid – new evidence. *Aliment Pharmacol Ther*. 2006; 24(1): 2-9.
- [42] Kaser A, Zeissig S, Blumberg RS. Inflammatory Bowel Disease. *Annu. Rev. Immunol*. 2010; 28: 573-621.
- [43] Monsalve FA, Pyarasani RD, Delgado-Lopez F, Carrasco RM. Peroxisome proliferator-activated receptor target for treatment of metabolic diseases. *Mediators of Inflammation*. 2013; 2013: 18 pages.
- [44] Desreumaux P. Understanding the Mechanism of 5-ASA in Treating Colonic Inflammation. *Gastroenterology & Hepatology*. 2008; 4 (5): 319-320.

[45] Balachandran, VS, Jadhav SR, Vemula PK, John G. Recent advances in cardanol chemistry in a nutshell: from a nut to nanomaterials. *Chem Soc Rev.* 2013; 42(2): 427-438.

[46] Chandregowda V, Kush A, Reddy GC. Synthesis of benzamide derivatives of anacardic acid and their cytotoxic activity. *European Journal of Medicinal Chemistry.* 2009; 44: 2711–2719.

[47] Logrado, LPL, Santos, CO, Romeiro, LAS, et al. Synthesis and cytotoxicity screening of substituted isobenzofuranones designed from anacardic acids. *Eur J Med Chem.* 2010; 45:3480-89.

[48] Swamy, BN, Suma, TK, Rao, GV, et al. Synthesis of isonicotinoylhydrazones from anacardic acid and their in vitro activity against *Mycobacterium smegmatis*. *Eur J of Med Chem.* 2007; 42:420-24.

[49] Vempati RK, Alapati SR, Reddy NS, Naresh VV, Dubey PK. Synthesis of novel Quinoline Carboxylic acids from Anacardic acid. *Der Pharma Chemica.* 2012; 4 (1): 248-254.

[50] Kim J, Kang S, Hong S, Yum S, Kim YM, Jung Y. Structure-activity relationship of salicylic acid derivatives on inhibition of TNF- $\alpha$  dependent NF- $\kappa$ B activity: Implication on anti-inflammatory effect of N-(5-chlorosalicyloyl) phenethylamine against experimental colitis. *European Journal of Medicinal Chemistry.* 2012; 48: 36-44.

[51] Carvalho AS, Feitosa LO, Soares M, Costa TEMM, Henriques MG, Salomão K, Castro SL, et al. Design and synthesis of new (E)-cinnamic N-acylhydrazones as potent antitrypanosomal agents. *Eur Jour Med Chem.* 2012; 54: 512-521

[52] Barreiro EJ, Manssour CA. *Química Medicinal: As bases moleculares da ação dos fármacos.* 2ª edição. Porto Alegre: Artmed, 2008.

[53] Smith DA, Waterbeemd H, Walker DK. Pharmacokinetics and Metabolism in Drug Design. 2ª edição. Weinheim: Willey-VCH Verlag GmbH & Co, 2006.

[54] Ertl P, Rohde B, Selzer P. Fast calculation of molecular polar surface area as a sum of fragment based contributions and its application to the prediction of drug transport properties. J. Med. Chem. 2000; 43: 3714-3717.

[55] Peixoto EP. Previsão da solubilidade de fármacos orgânicos em água, baseado na relação quantitativa entre estrutura molecular in silico [Dissertação]. Anápolis: Universidade Estadual de Goiás, Unidade Universitária de Ciências Exatas e Tecnológicas, Pró-reitoria de Pesquisa e Pós-graduação em Ciências Moleculares; 2010.

[56] Dancy BM, Cole PA. Protein Lysine Acetylation by p300/CBP. Chem Rev. No prelo, 2015.

[57] Ferreira TAM. Síntese e Avaliação Farmacológica de Novos Ligantes PPAR Planejados a Partir do Cardanol [Dissertação]. Brasília: Universidade de Brasília, Faculdade de Saúde, Ciências Farmacêuticas; 2014.

[58] Poda, Bhattacharyya e Uehling (Em publicação) 2015.

[59] Amato AA. Investigação da atividade farmacológica de benzilideno- e acrilideno- tiazolidinedionas e de isoflavonas nos receptores alfa, beta/delta e gama ativados por proliferadores peroxissomais [Tese]. Brasília: Universidade de Brasília, Ciências da Saúde; 2008.

[60] Michalik L, Wahli W. PPARs Mediate Lipid Signaling in Inflammation and Cancer. PPAR Research. 2008; 2008: 15 pags.

[61] Shan W, Nicol CJ, Ito S, Bility MT, Kennett MJ, Ward et al. Peroxisome proliferator-activated receptor-beta/delta protects against chemically induced liver toxicity in mice. Hepatology. 2008; 47, 225-235.

[62] McMullen PD, Bhattacharya S, Woods CG, Sun B, Yarborough K, Ross SM, et al. A map of the PPAR $\alpha$  transcription regulatory network for primary human hepatocytes. *Chemico-Biol Inter*. 2014; 209: 14–24.

[63] Ricote M, Glass CK. PPARs and molecular mechanisms of transrepression. *Biochim Biophys Acta*. 2007; 1771(8): 926–935.

[64] Gelman L, Zhou G, Fajas L, Raspé E, Fruchart J, Auwerx J. p300 Interacts with the N- and C-terminal Part of PPAR $\gamma$ 2 in a Ligand-independent and -dependent Manner, Respectively. *Journ of Biol Chem*. 1999; 274 (12): 7681-7688.

[65] Zhao F, Drohomysrecky P, Dunn S. Peroxisome proliferator-activated receptor delta (PPAR $\delta$ ) limits Th1 inflammation through effects on interferon (IFN)- $\gamma$  transcription and lymphocyte homeostasis (IRM7P. 480). *Jour of Immunol*. 2014; 192 (1): 126-5.

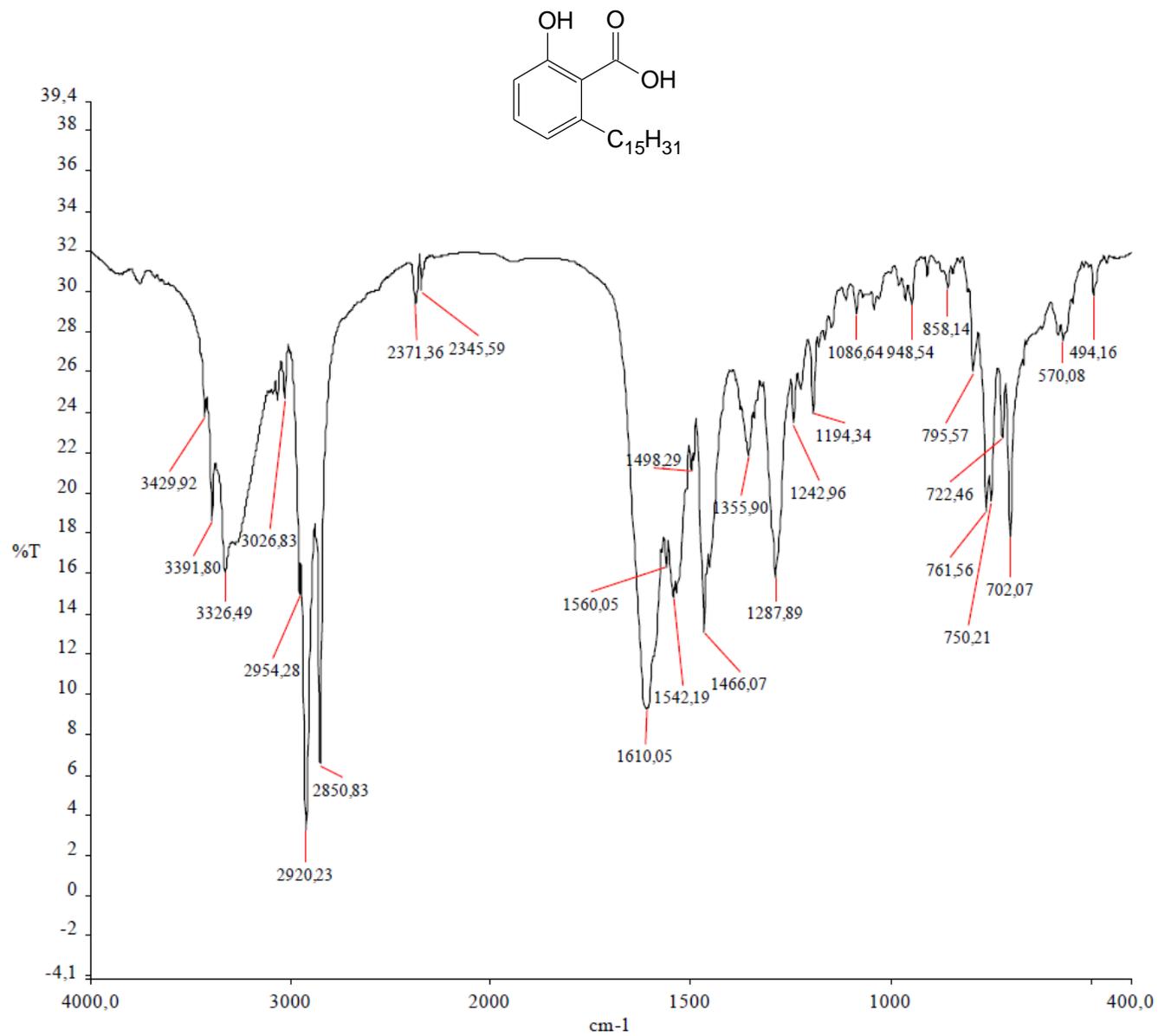
[66] Hollingshead HE, Morimura K, Adachi M, Kennett MJ, Billin AN, Wilson TM, et al. PPAR $\beta/\delta$  Protects Against Experimental Colitis Through a Ligand-Independent Mechanism. *Dig Dis Sci*. 2007; 52: 2912-2919.

[67] Nuclear Receptor Resource. Drawings [internet]. Disponível em: <http://nrresource.org/drawings/>.

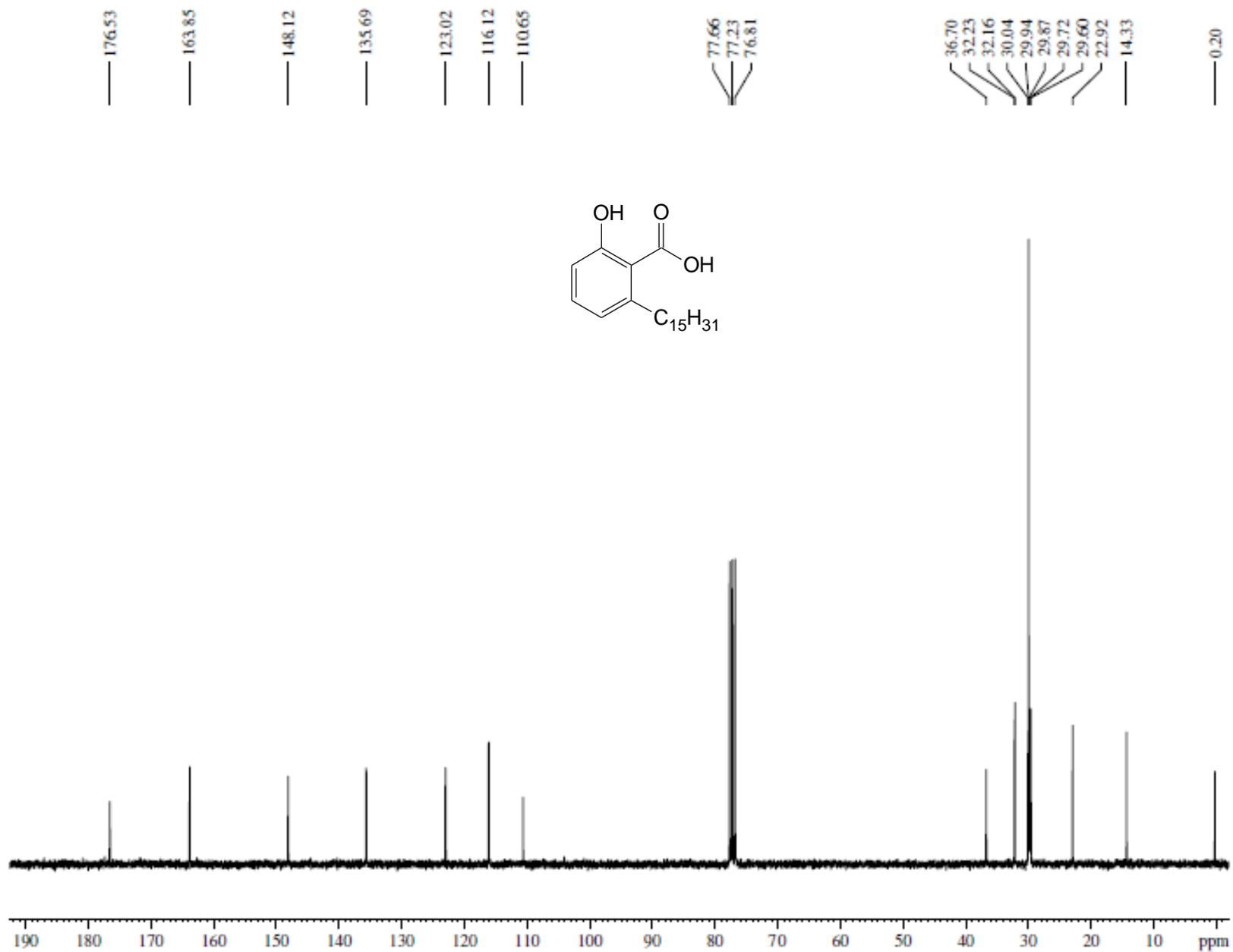
[68] SGC. Human E1A binding protein p300 (bromodomain) [internet]. Toronto: University of Toronto. Disponível em: <http://www.thesgc.org/structures/3i3j>.

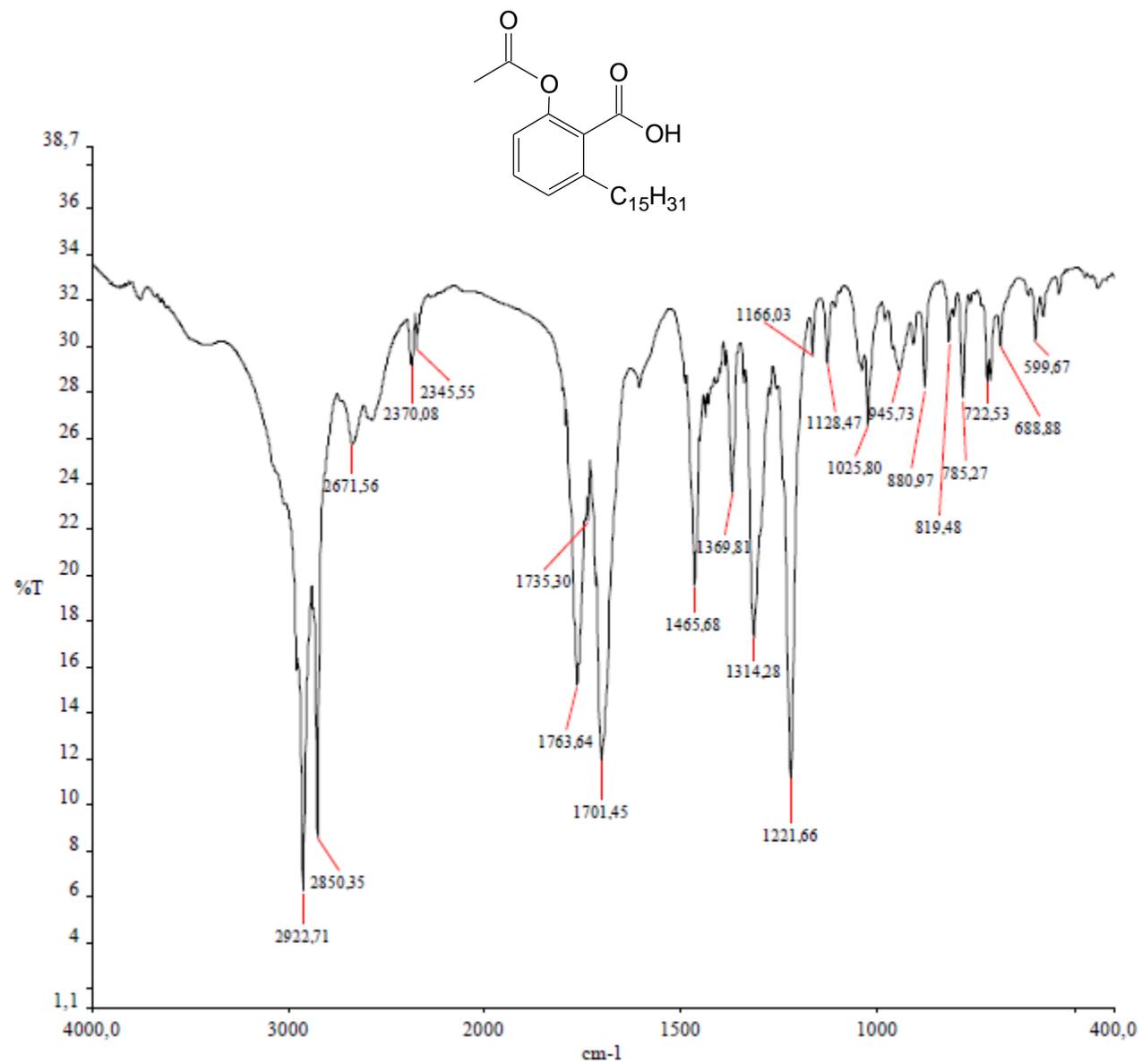
***Anexos***

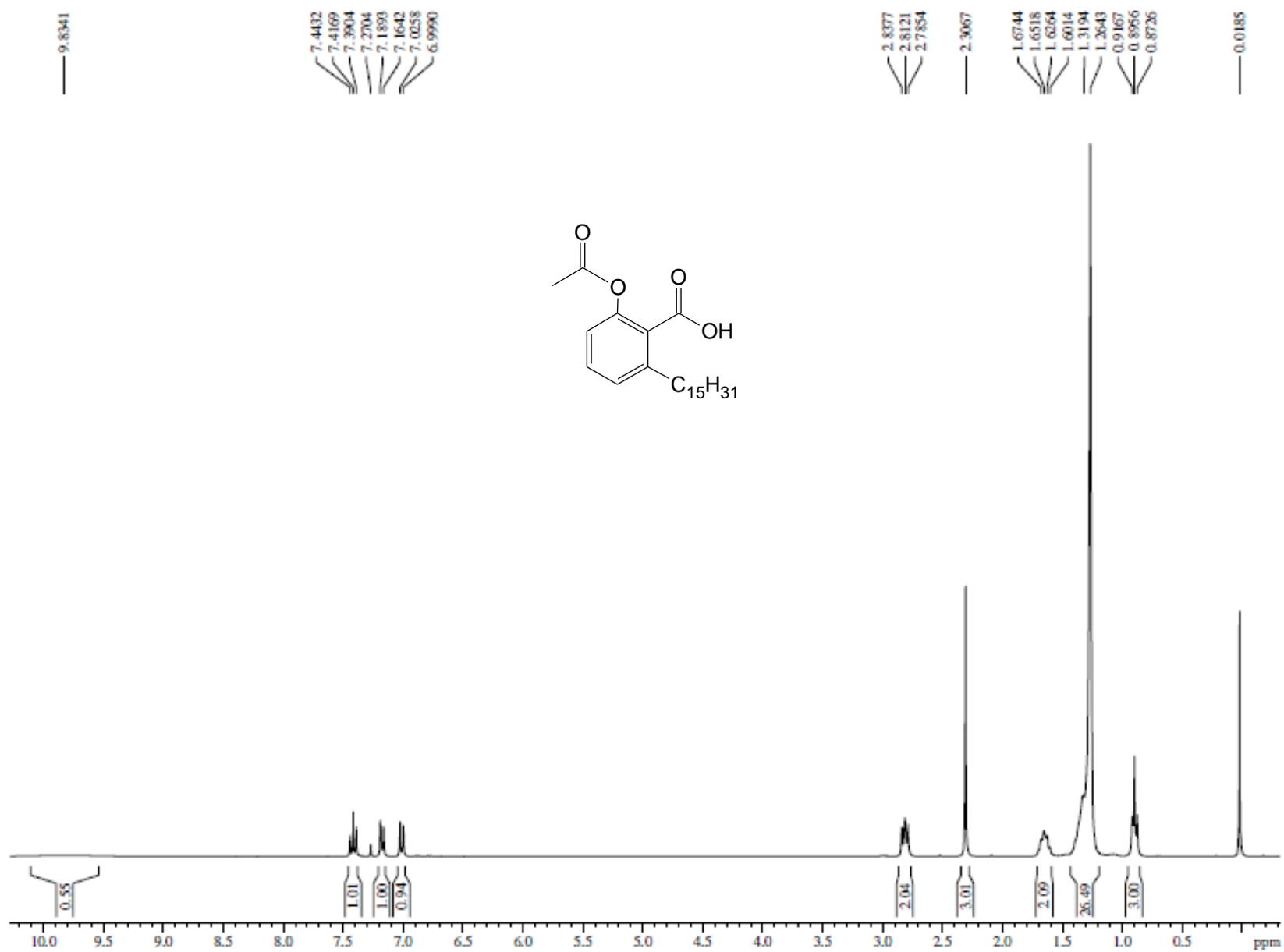
---

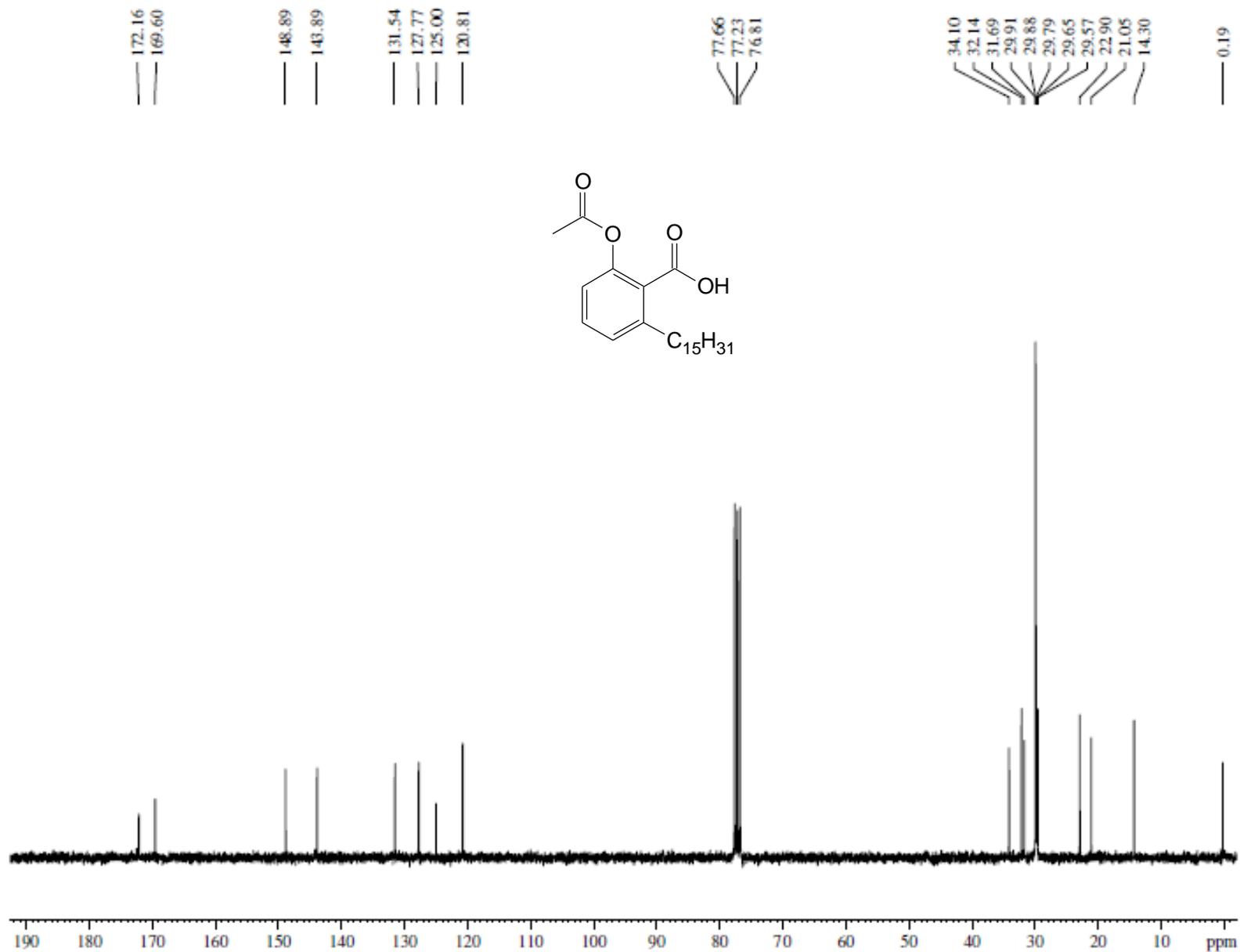
ANEXO 1 – ESPECTRO NO INFRAVERMELHO ( $\nu$   $\text{cm}^{-1}$ , KBr) – LDT11 (16)

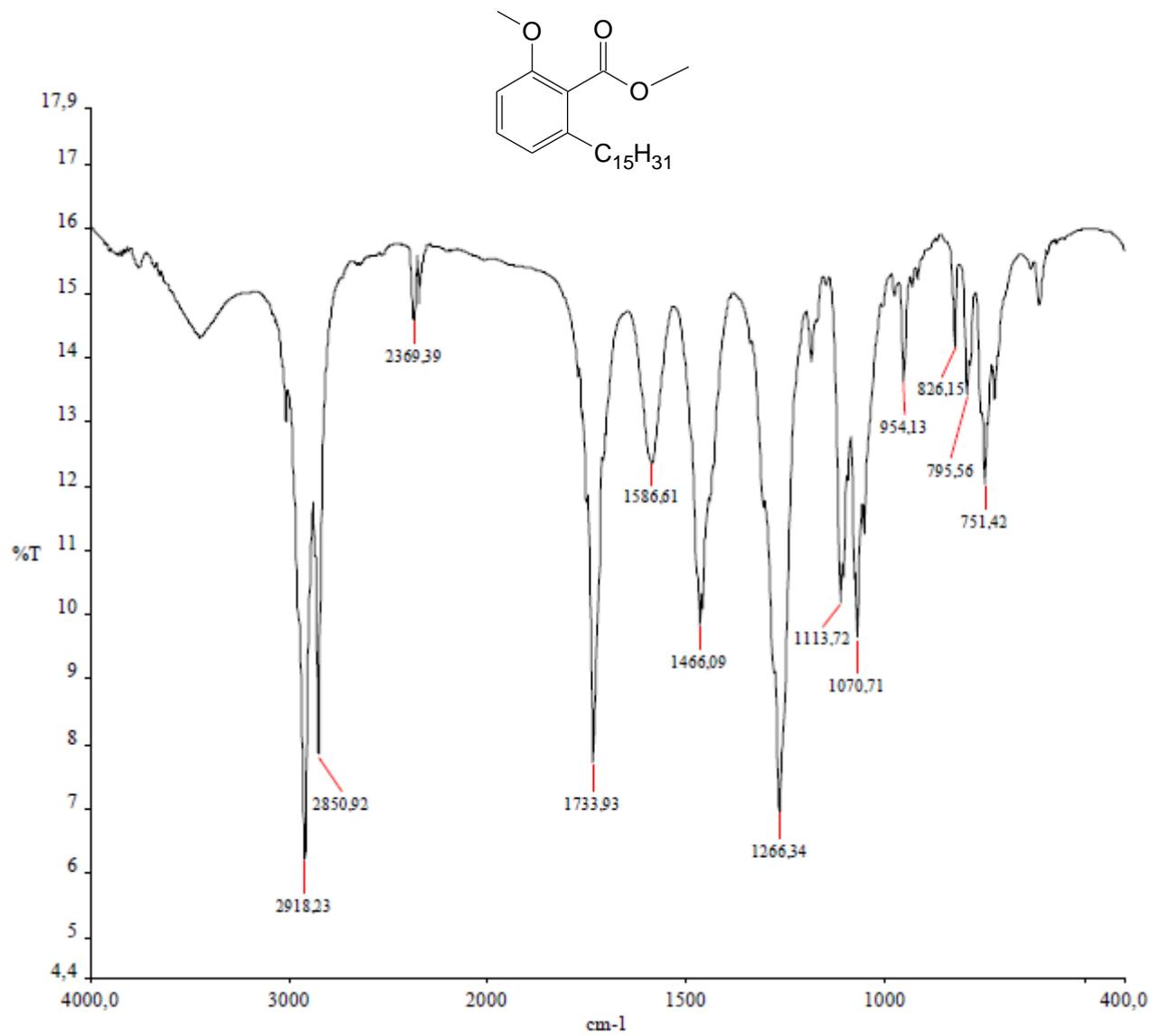
ANEXO 2 – ESPECTRO DE RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) – LDT11 (16)

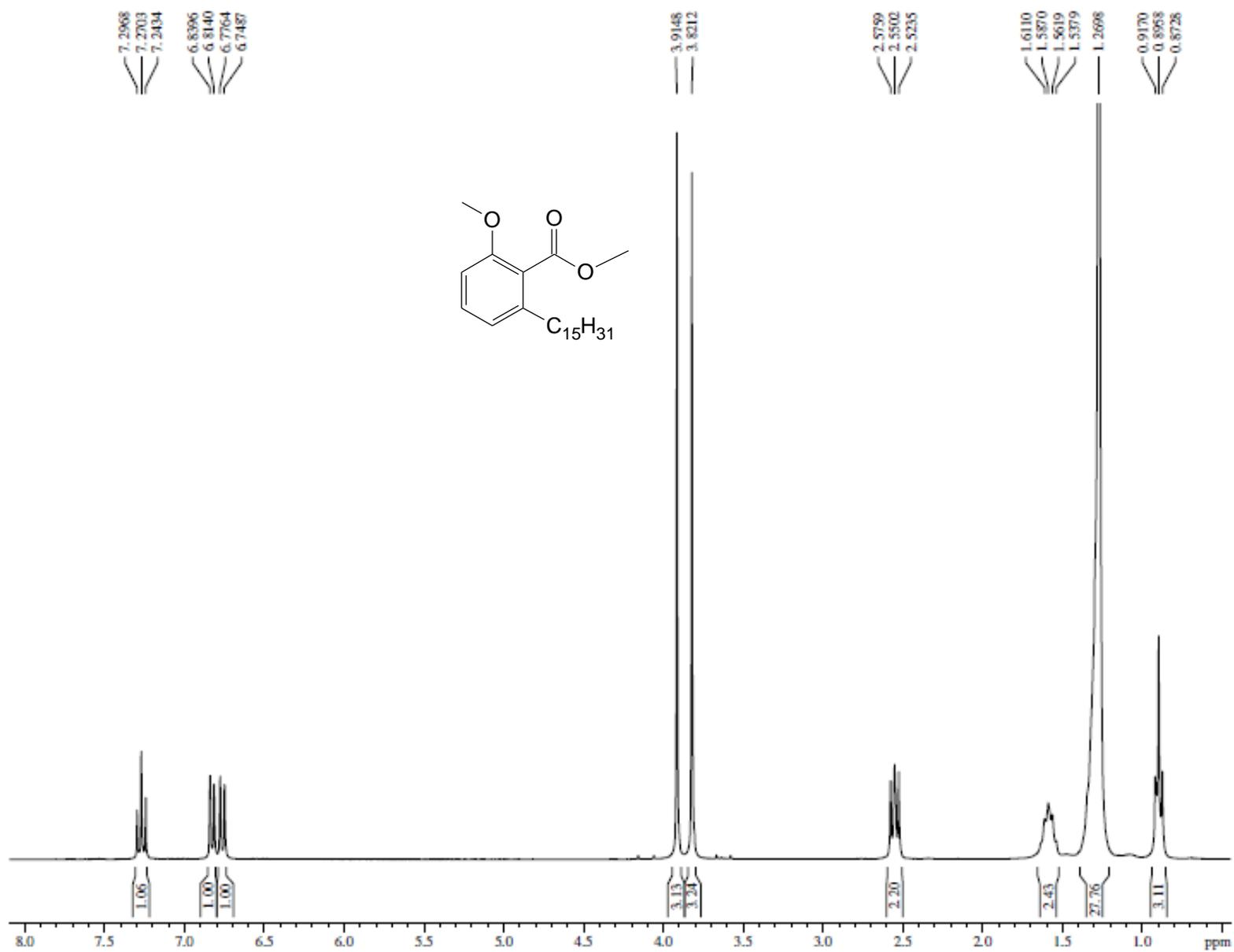
ANEXO 3 – ESPECTRO DE RMN  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) – LDT11 (16)

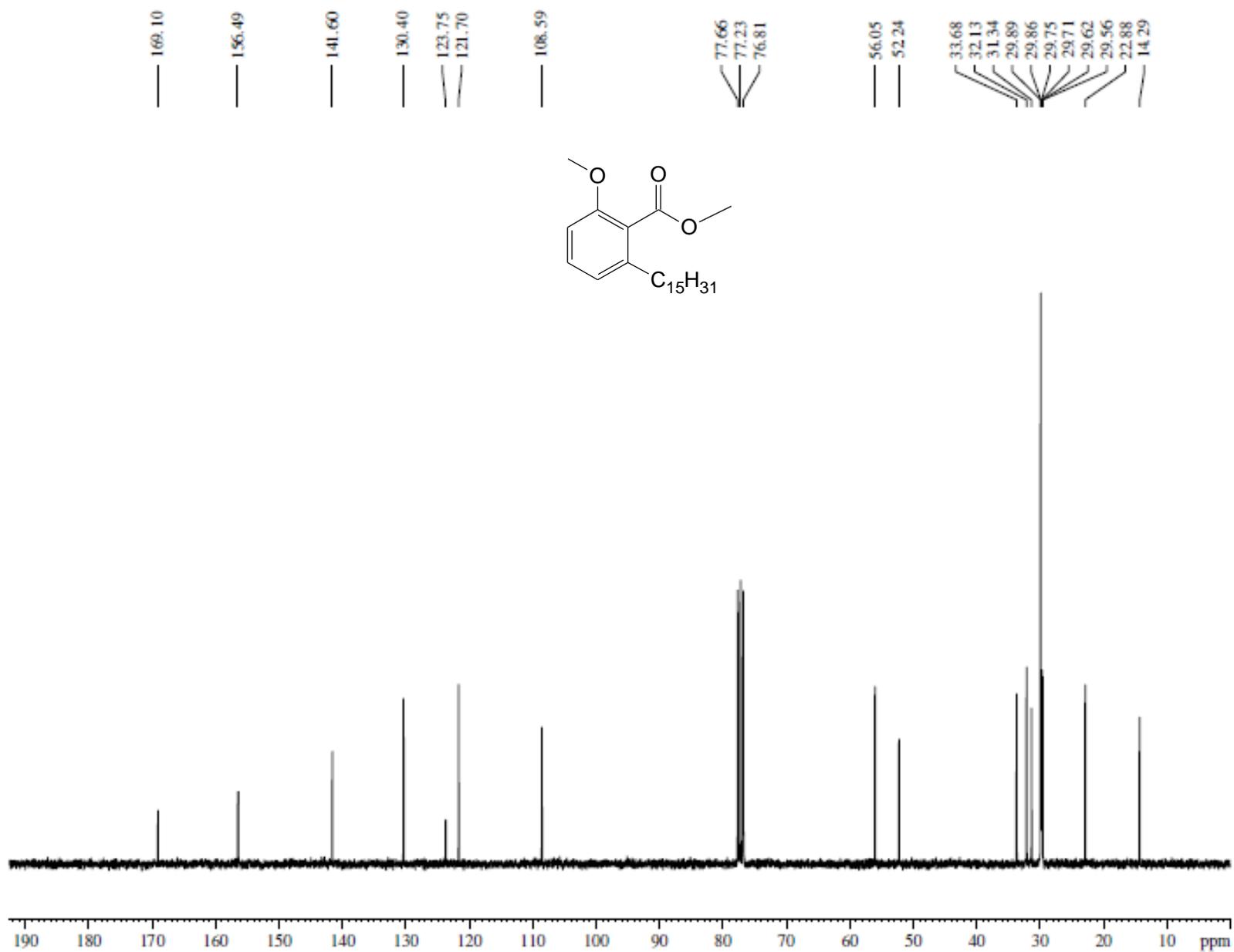
ANEXO 4 – ESPECTRO NO INFRAVERMELHO ( $\nu$   $\text{cm}^{-1}$ , KBr) – LDT13 (17)

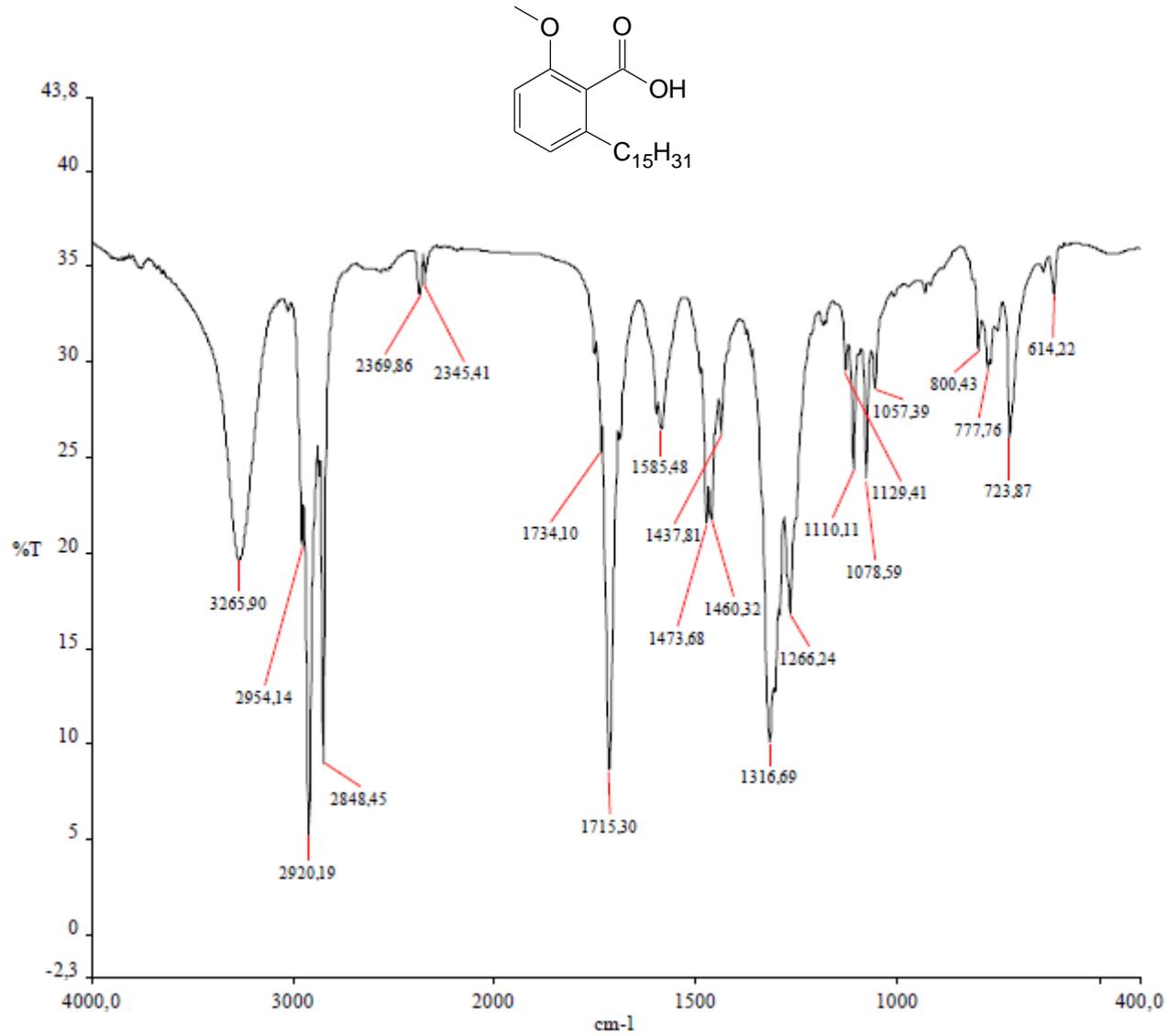
ANEXO 5 – ESPECTRO DE RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) – LDT13 (17)

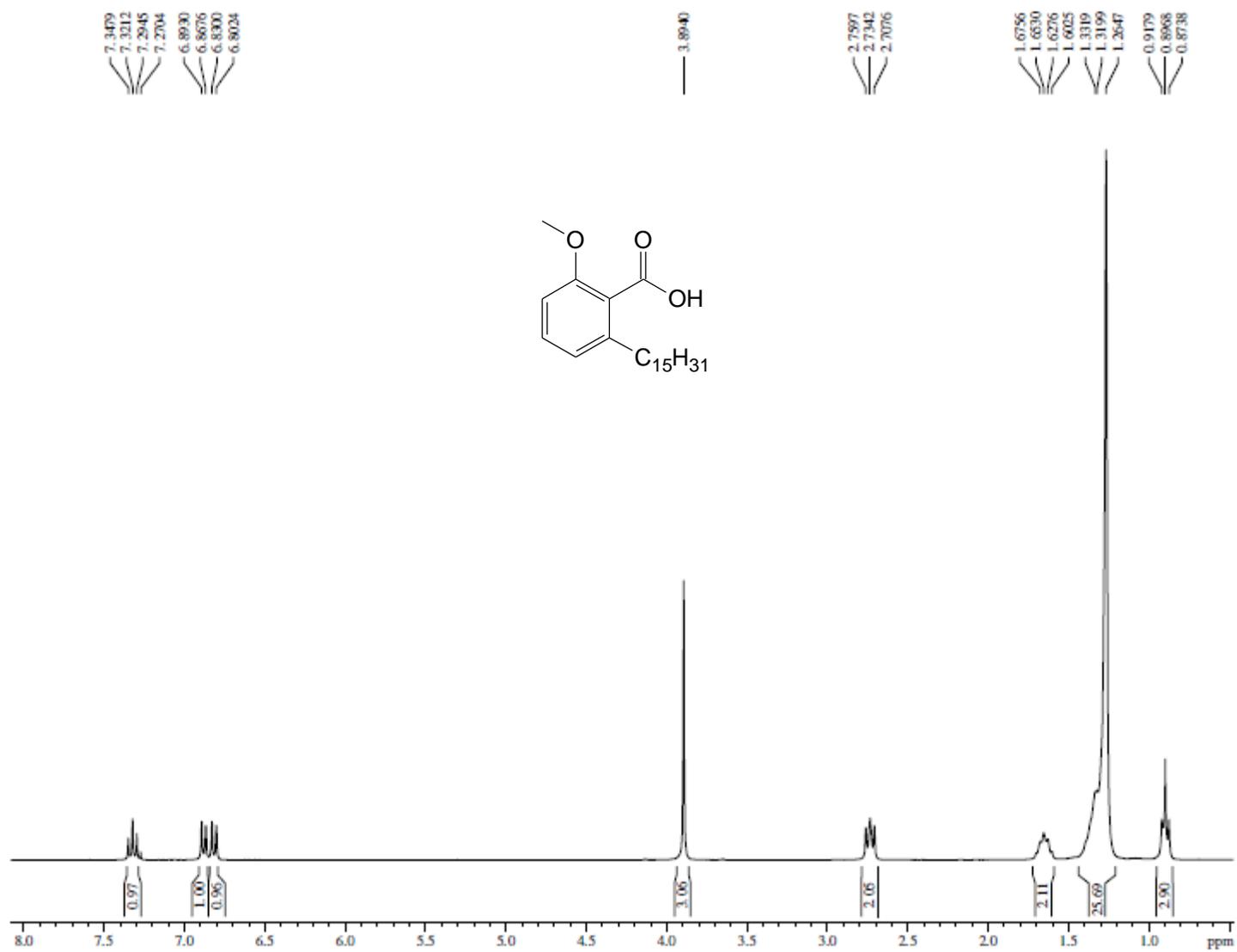
ANEXO 6 – ESPECTRO RMN  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) – LDT13 (17)

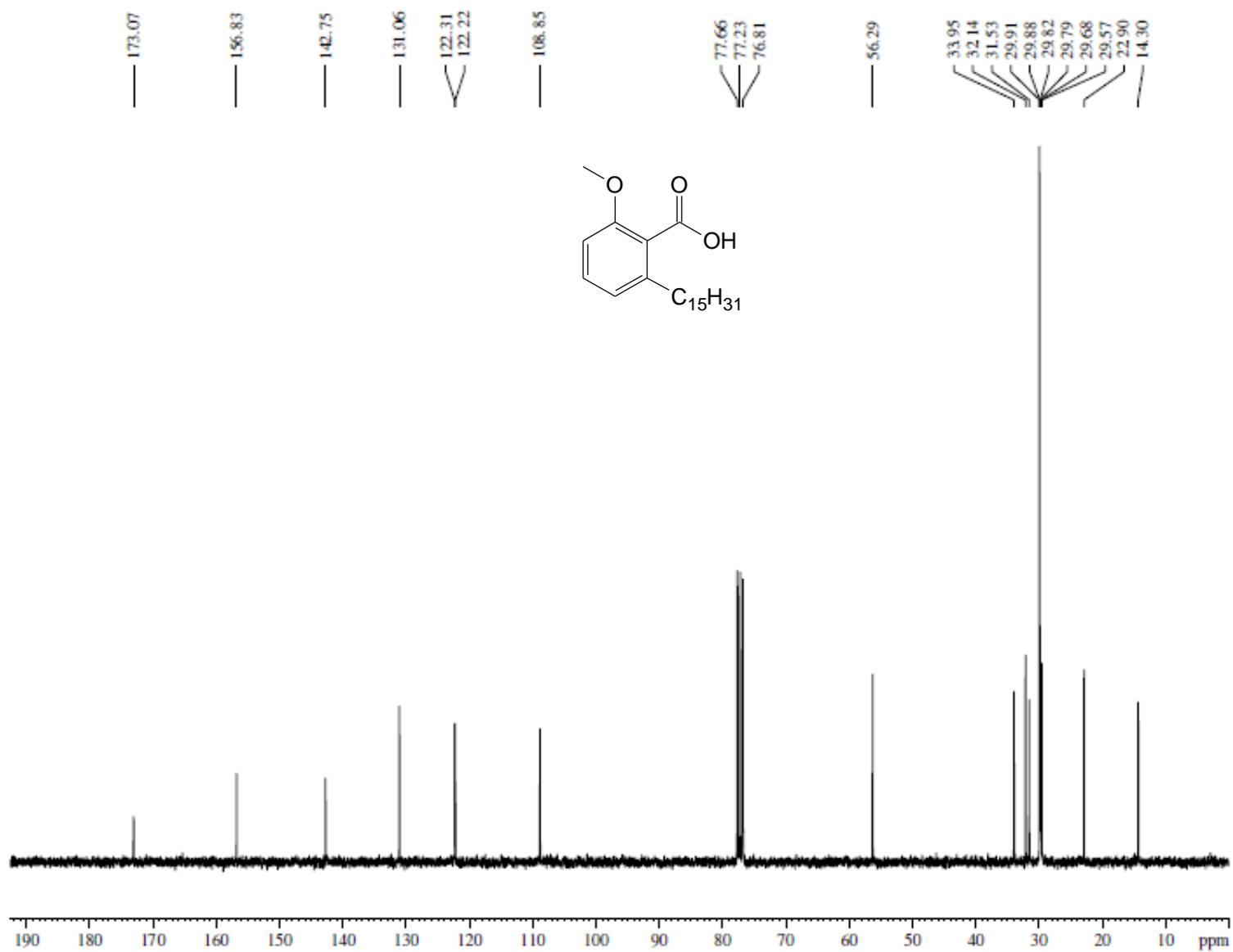
ANEXO 7 – ESPECTRO NO INFRAVERMELHO ( $\nu$   $\text{cm}^{-1}$ , KBr) – LDT28 (18)

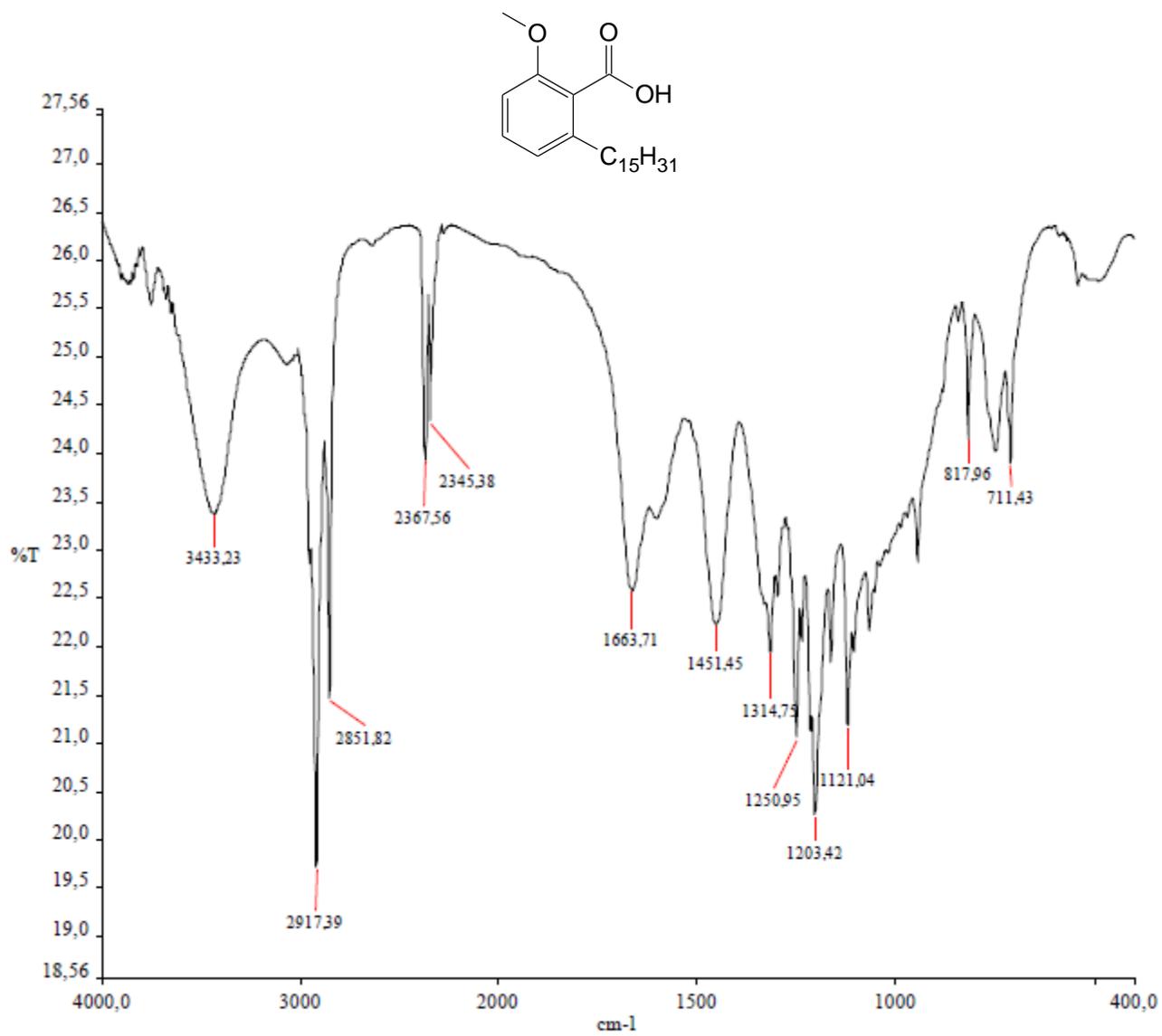
ANEXO 8 – ESPECTRO DE RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) – LDT28 (18)

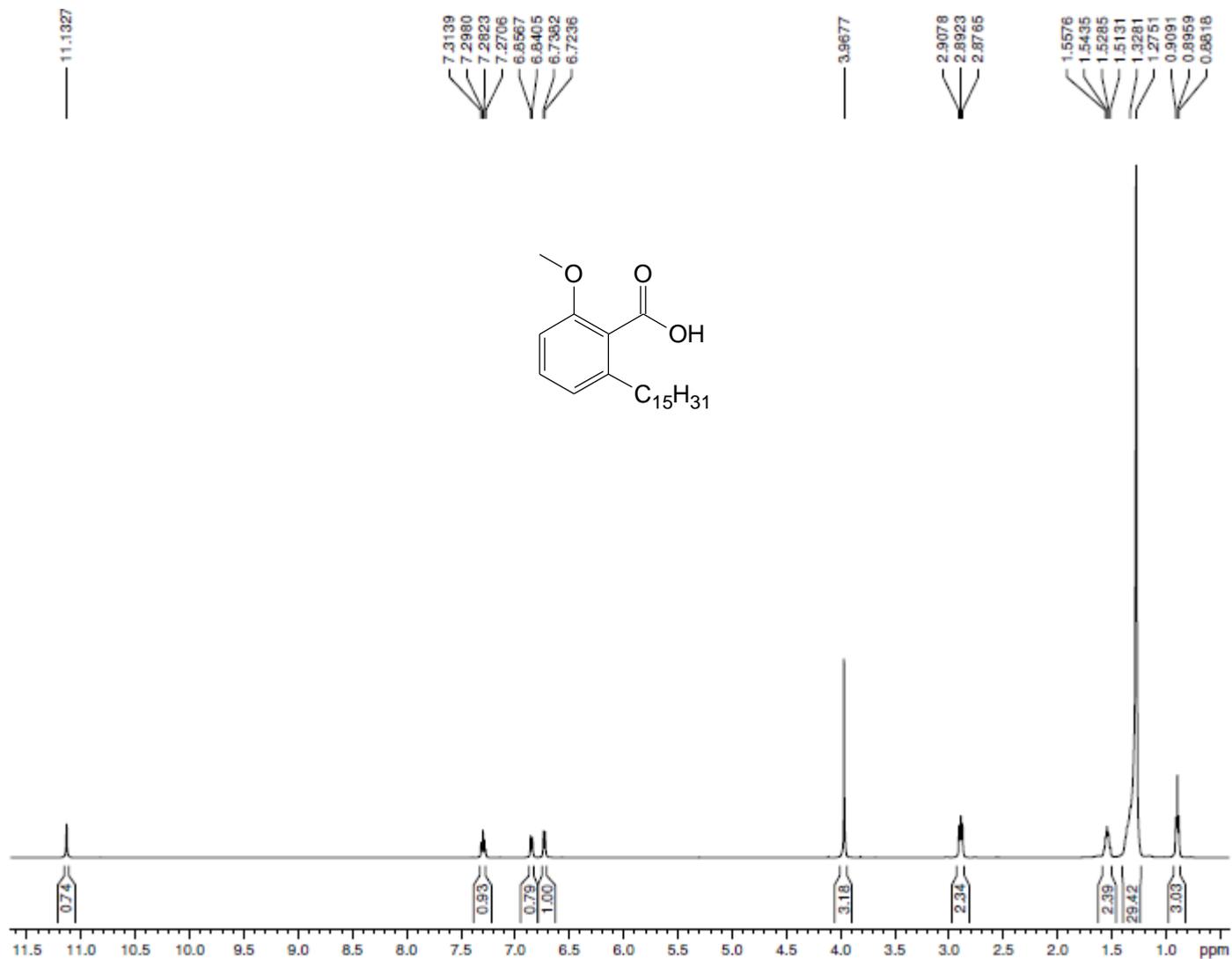
ANEXO 9 – ESPECTRO RMN  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) – LDT28 (18)

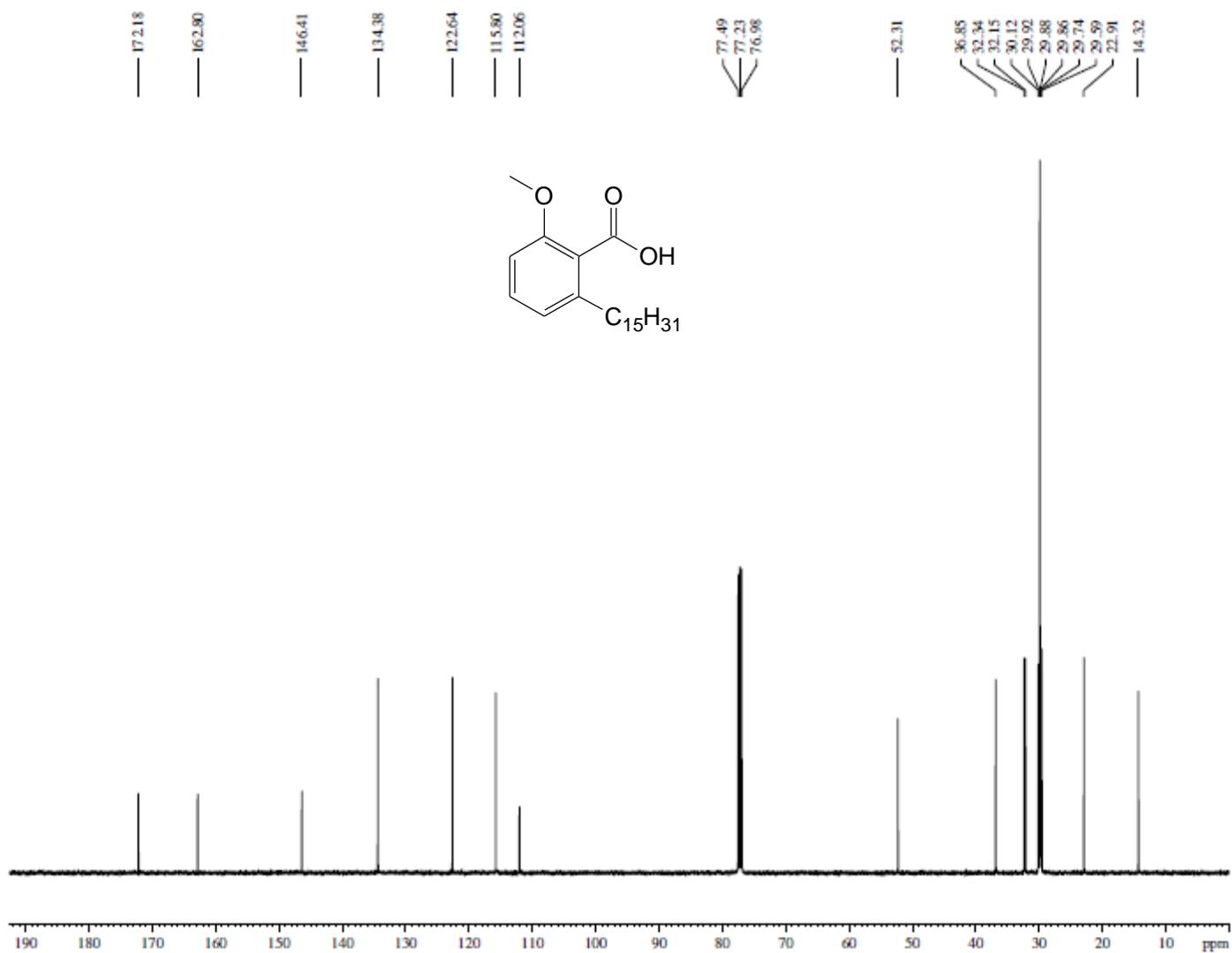
ANEXO 10 – ESPECTRO NO INFRAVERMELHO ( $\nu$   $\text{cm}^{-1}$ , KBr) – LDT30 (20)

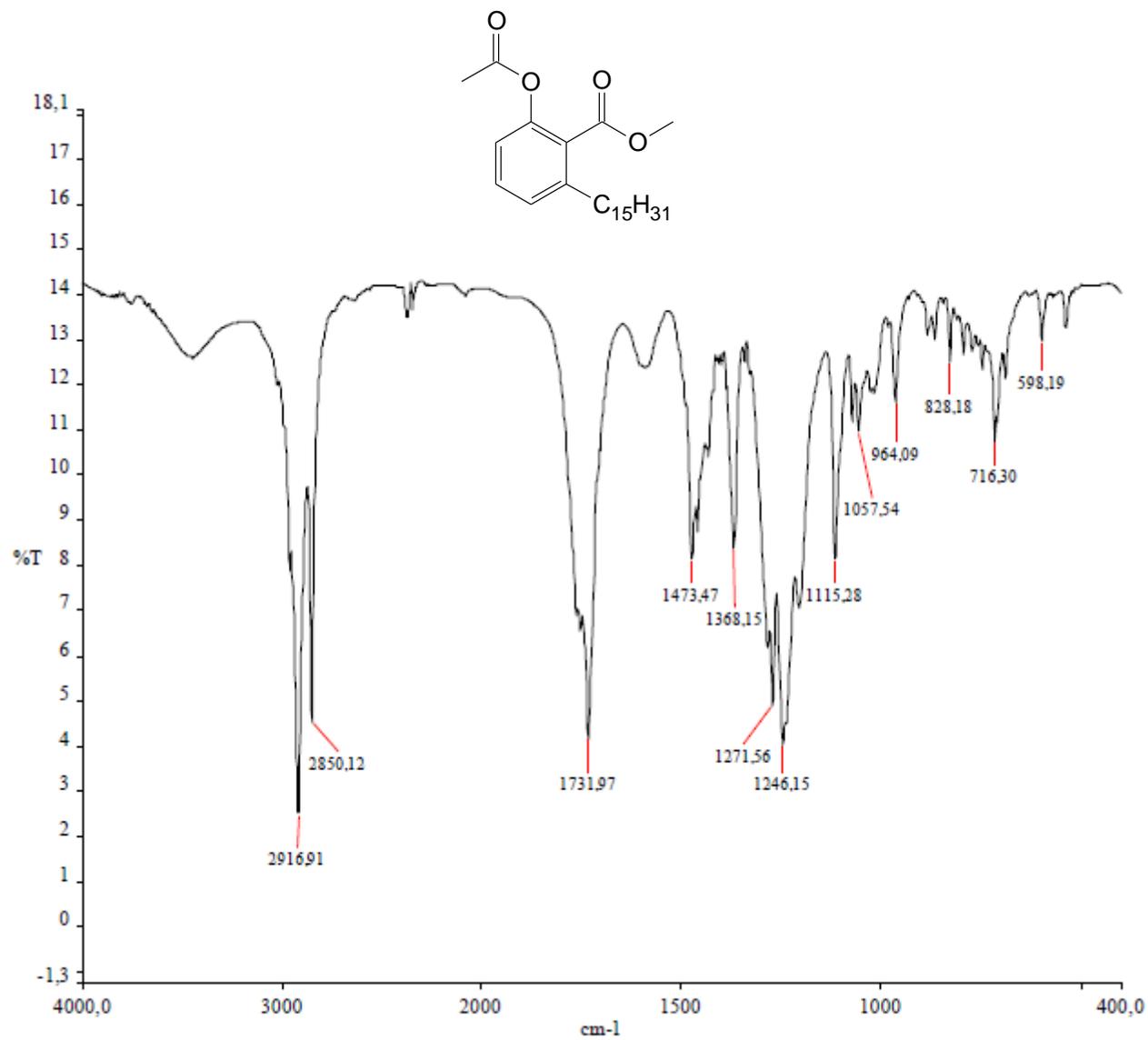
ANEXO 11 – ESPECTRO DE RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) – LDT30 (20)

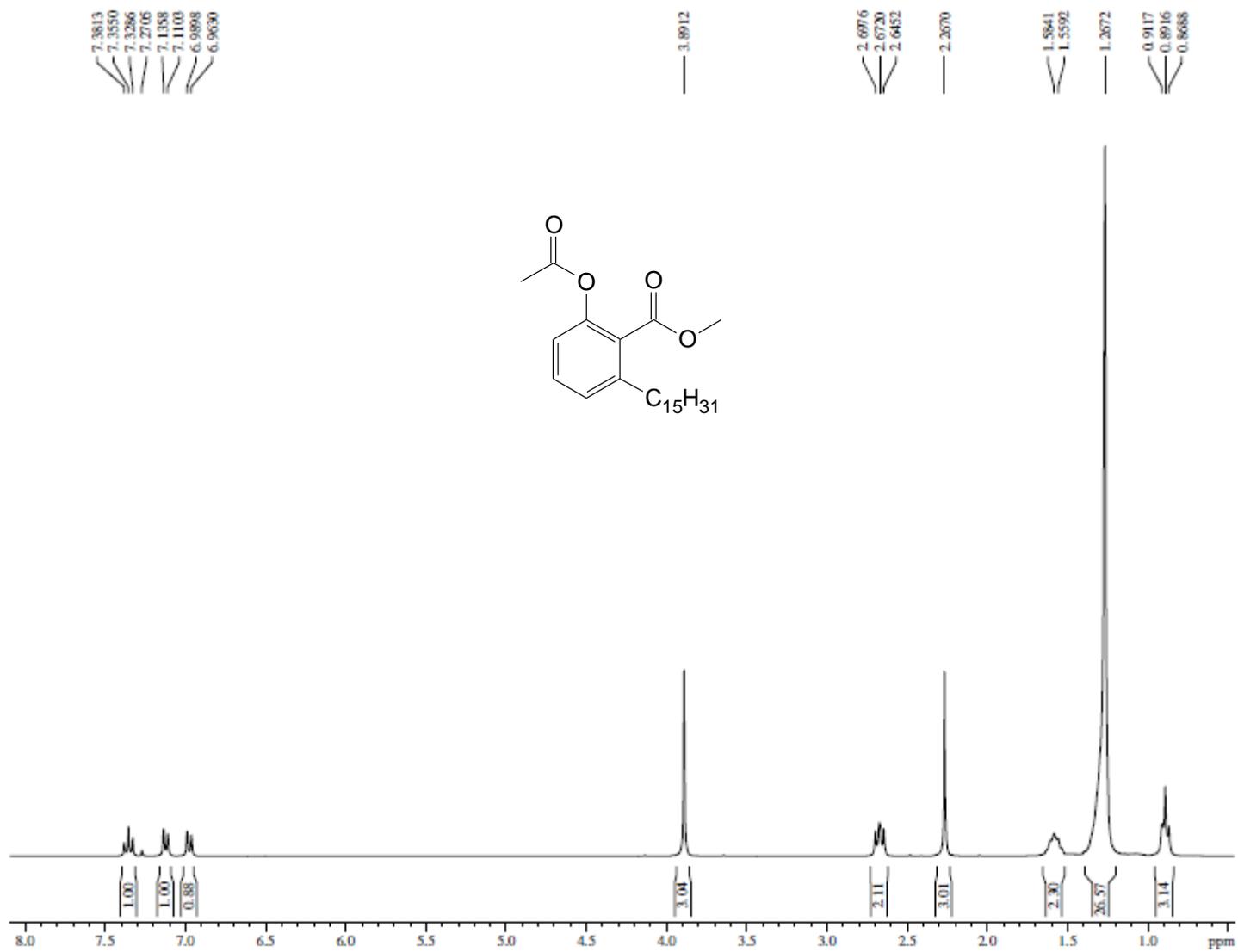
ANEXO 12 – ESPECTRO RMN  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) – LDT30 (20)

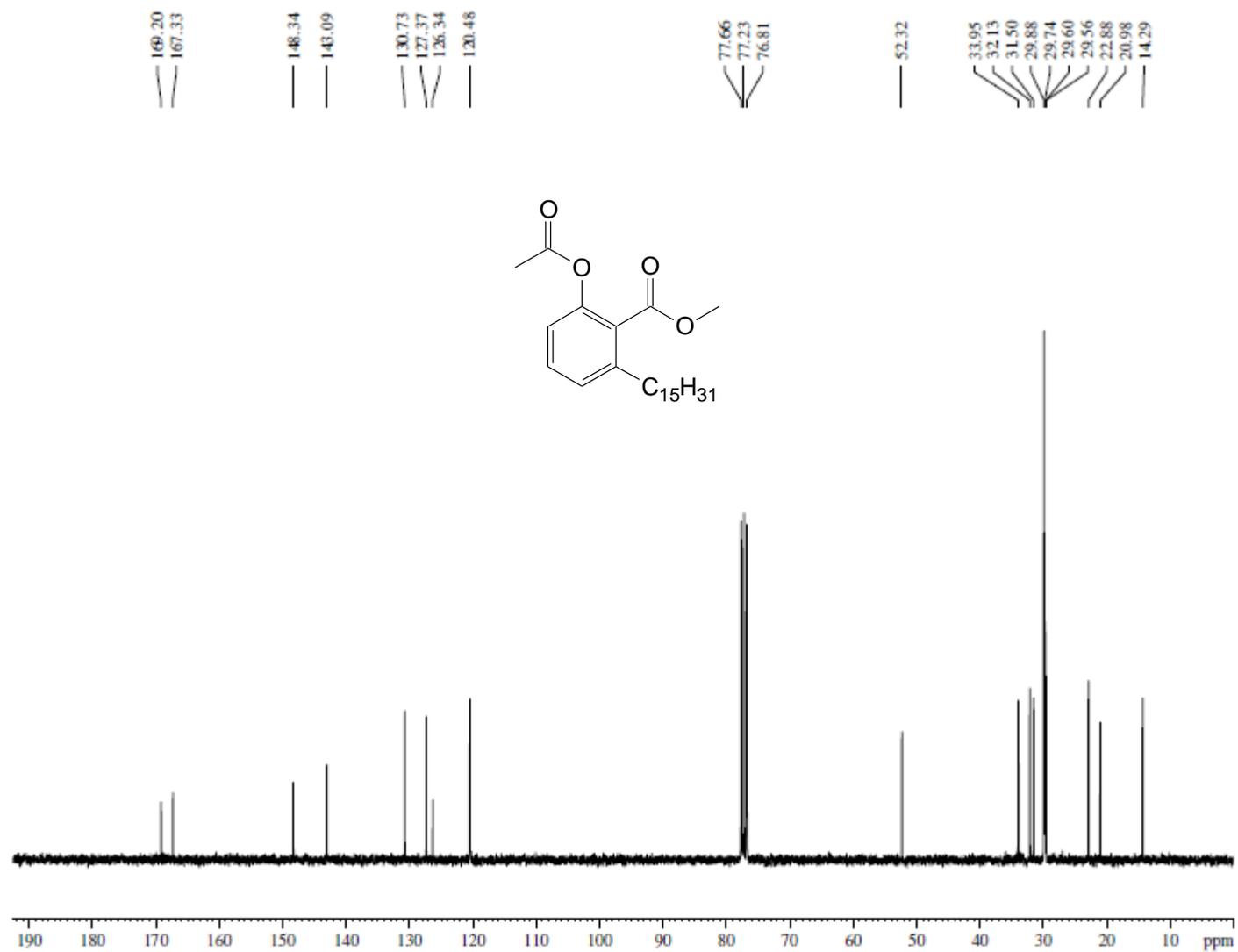
ANEXO 13 – ESPECTRO NO INFRAVERMELHO ( $\nu$   $\text{cm}^{-1}$ , KBr) – LDT29 (19)

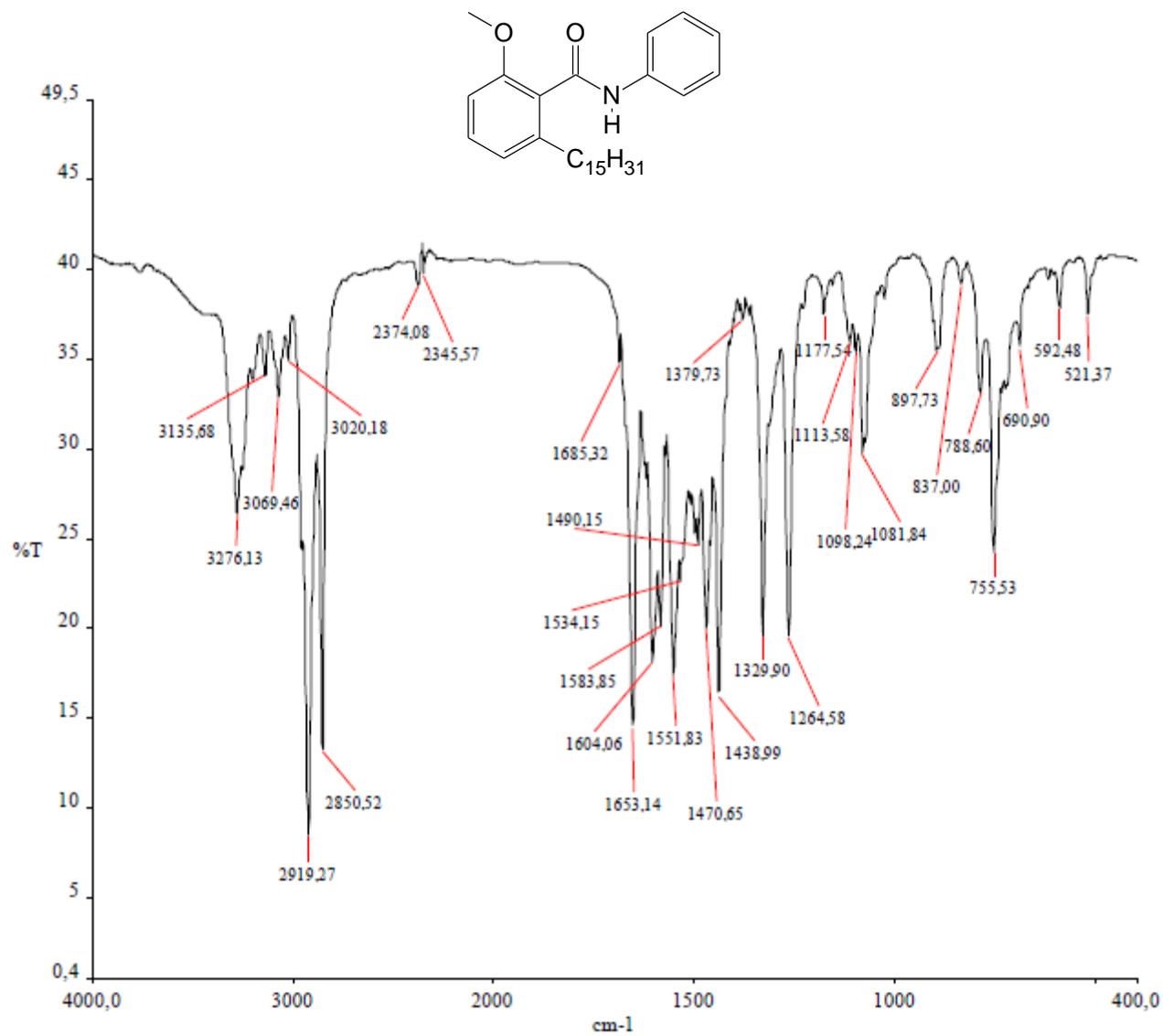
ANEXO 14 – ESPECTRO DE RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) – LDT29 (19)

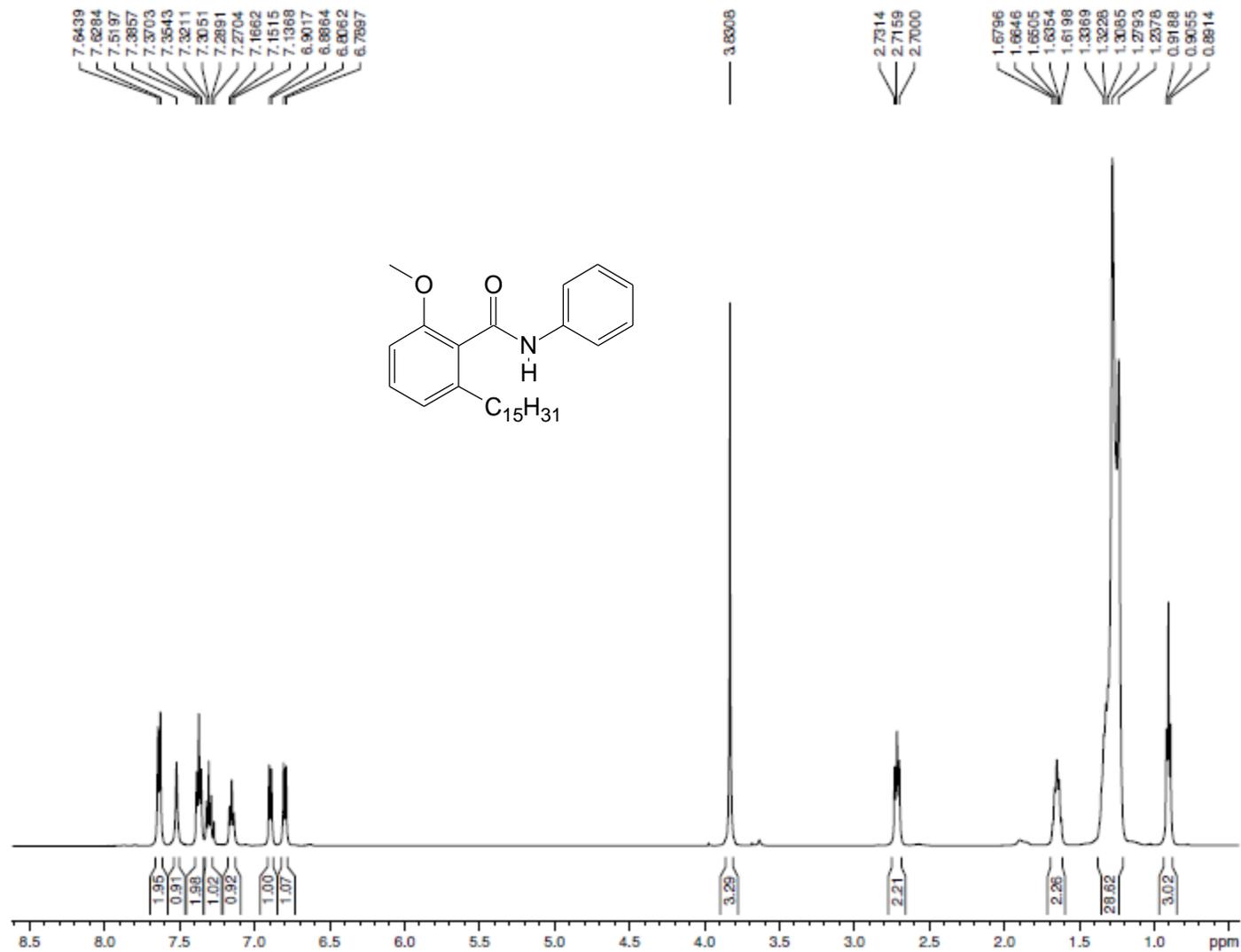
ANEXO 15 – ESPECTRO RMN  $^{13}\text{C}$  (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) – LDT29 (19)

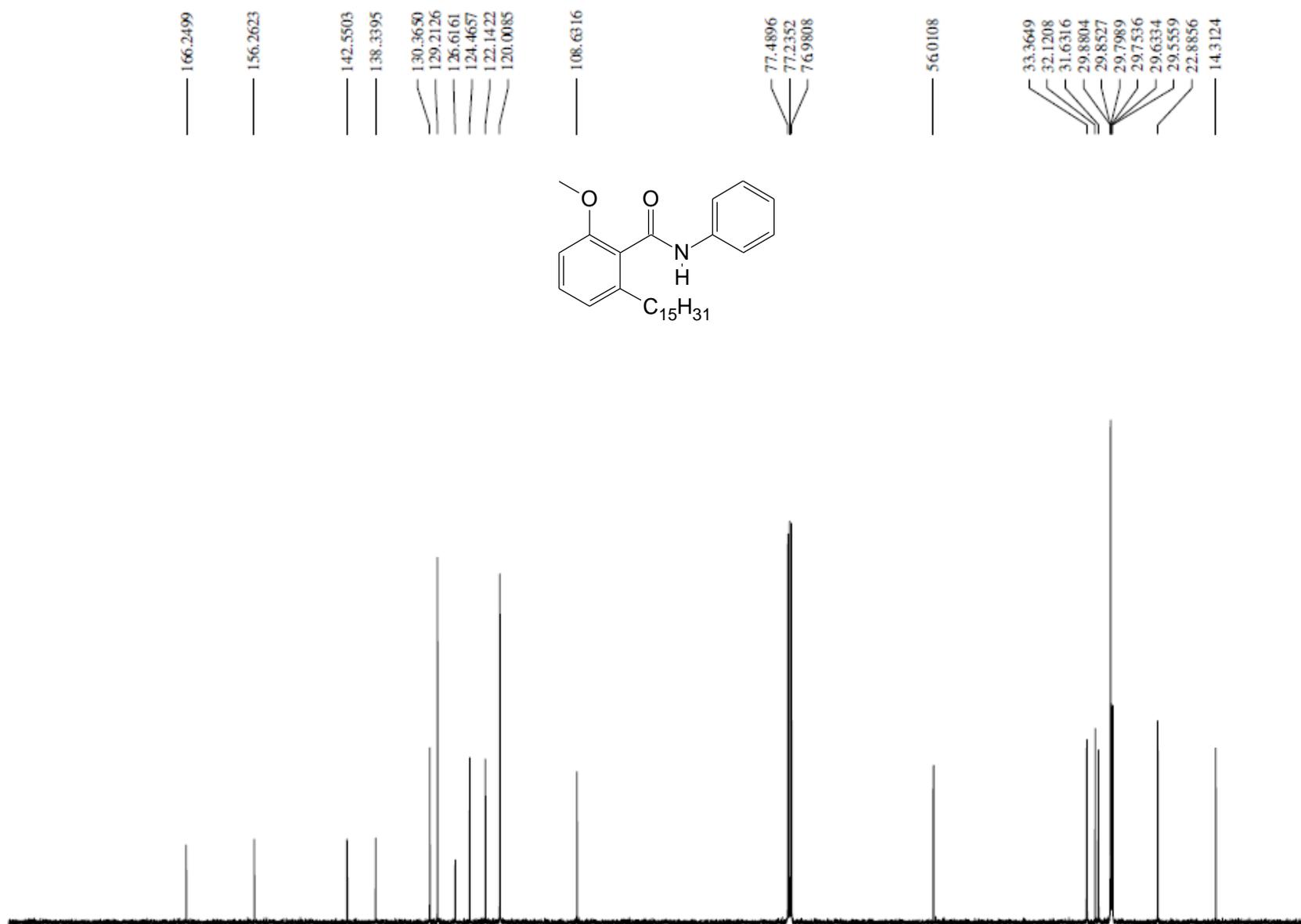
ANEXO 16 – ESPECTRO NO INFRAVERMELHO ( $\nu$   $\text{cm}^{-1}$ , KBr) – LDT208 (21)

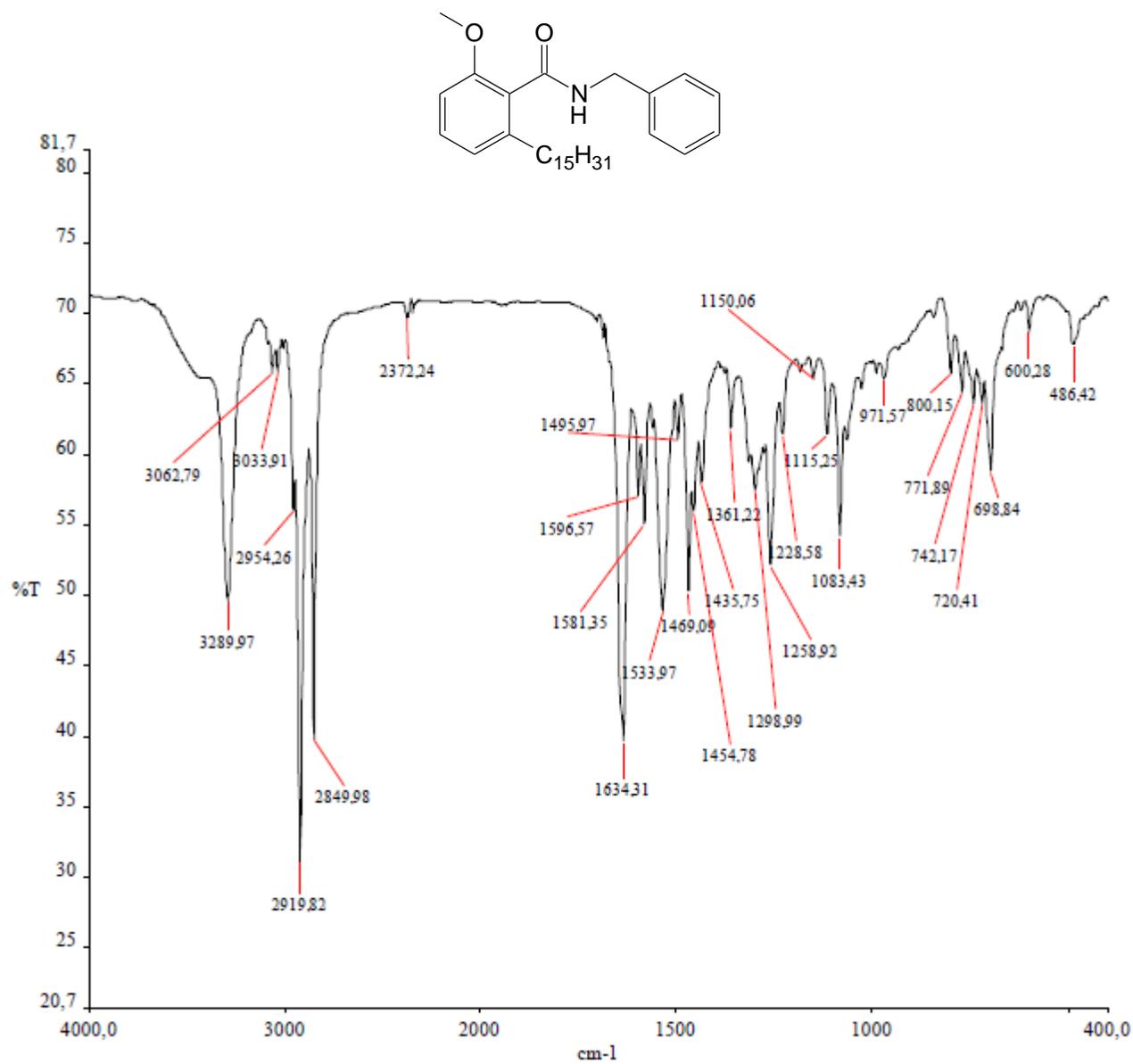
ANEXO 17 – ESPECTRO DE RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) – LDT208 (21)

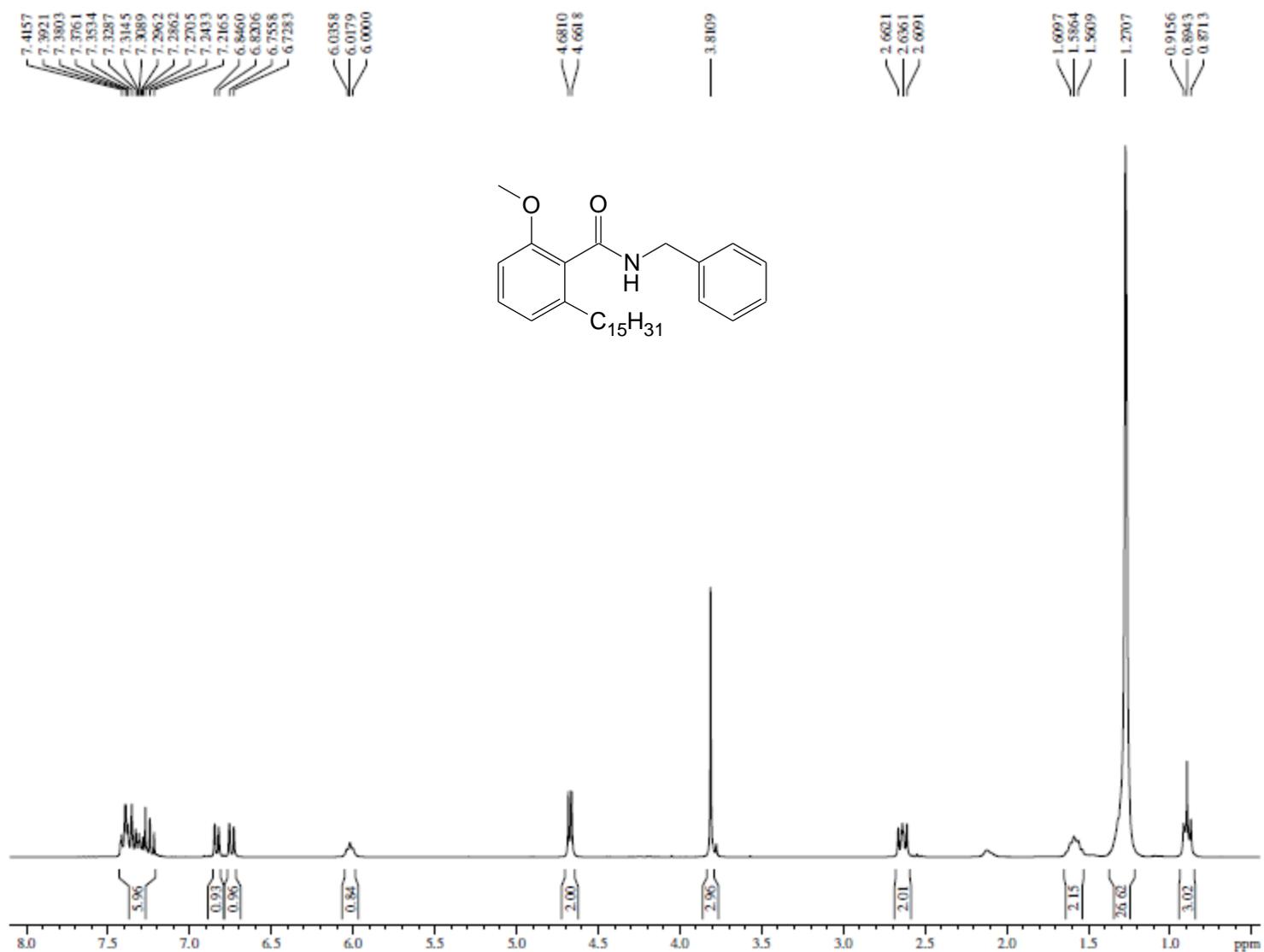
ANEXO 18 – ESPECTRO RMN  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) – LDT208 (21)

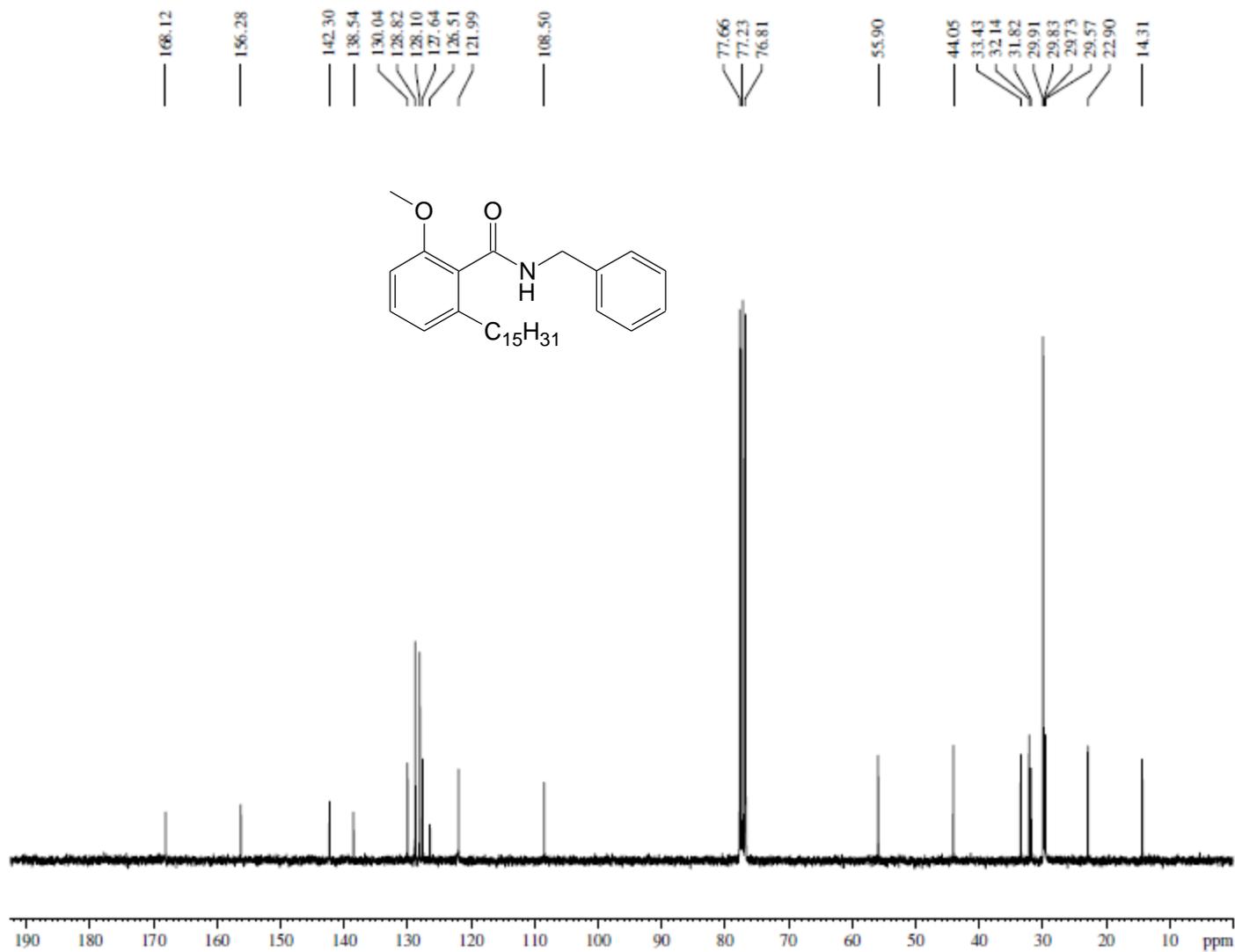
ANEXO 19 – ESPECTRO NO INFRAVERMELHO ( $\nu$   $\text{cm}^{-1}$ , KBr) – LDT651 (22)

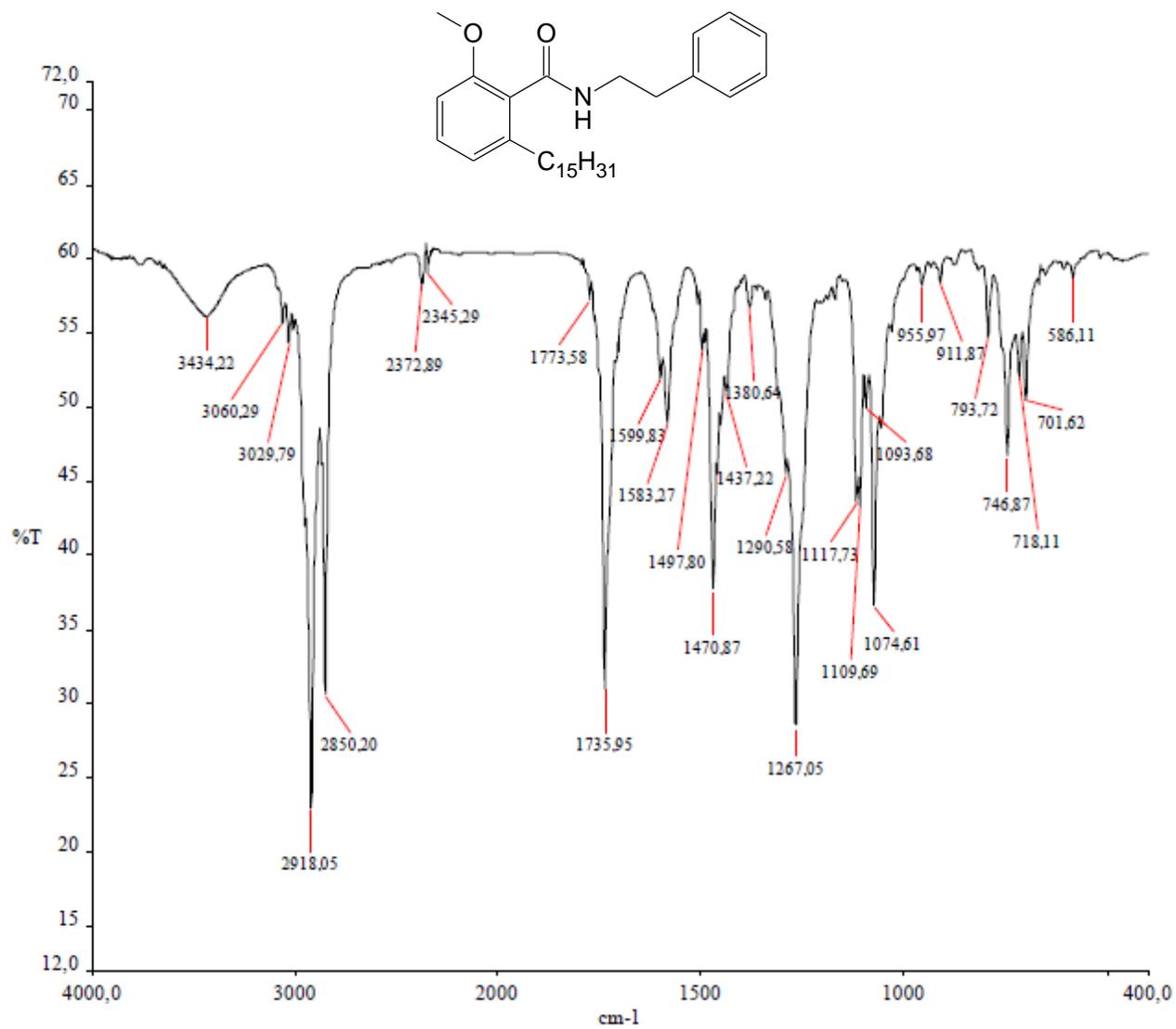
ANEXO 20 – ESPECTRO DE RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) – LDT651 (22)

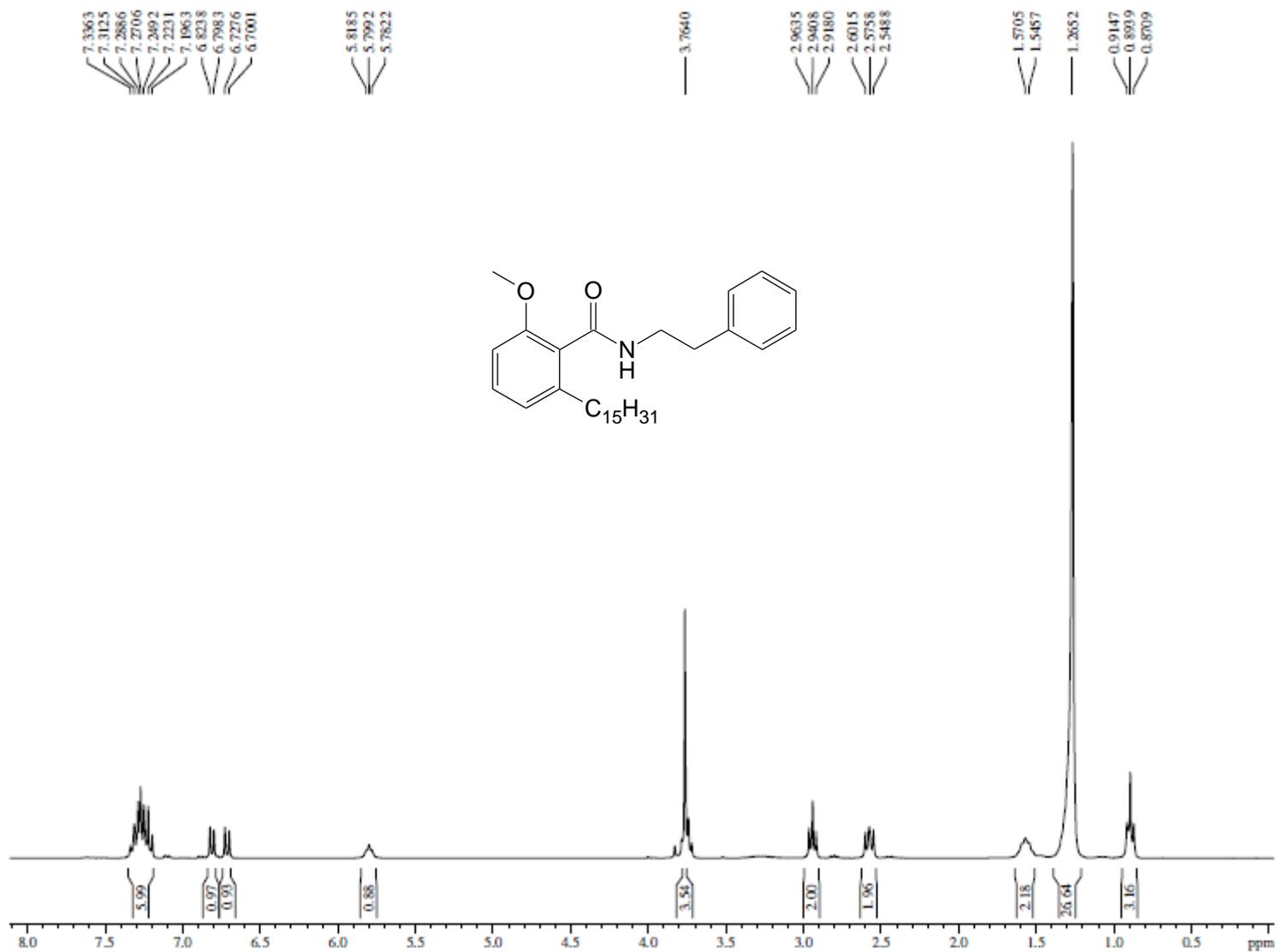
ANEXO 21 – ESPECTRO RMN  $^{13}\text{C}$  (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) – LDT651 (22)

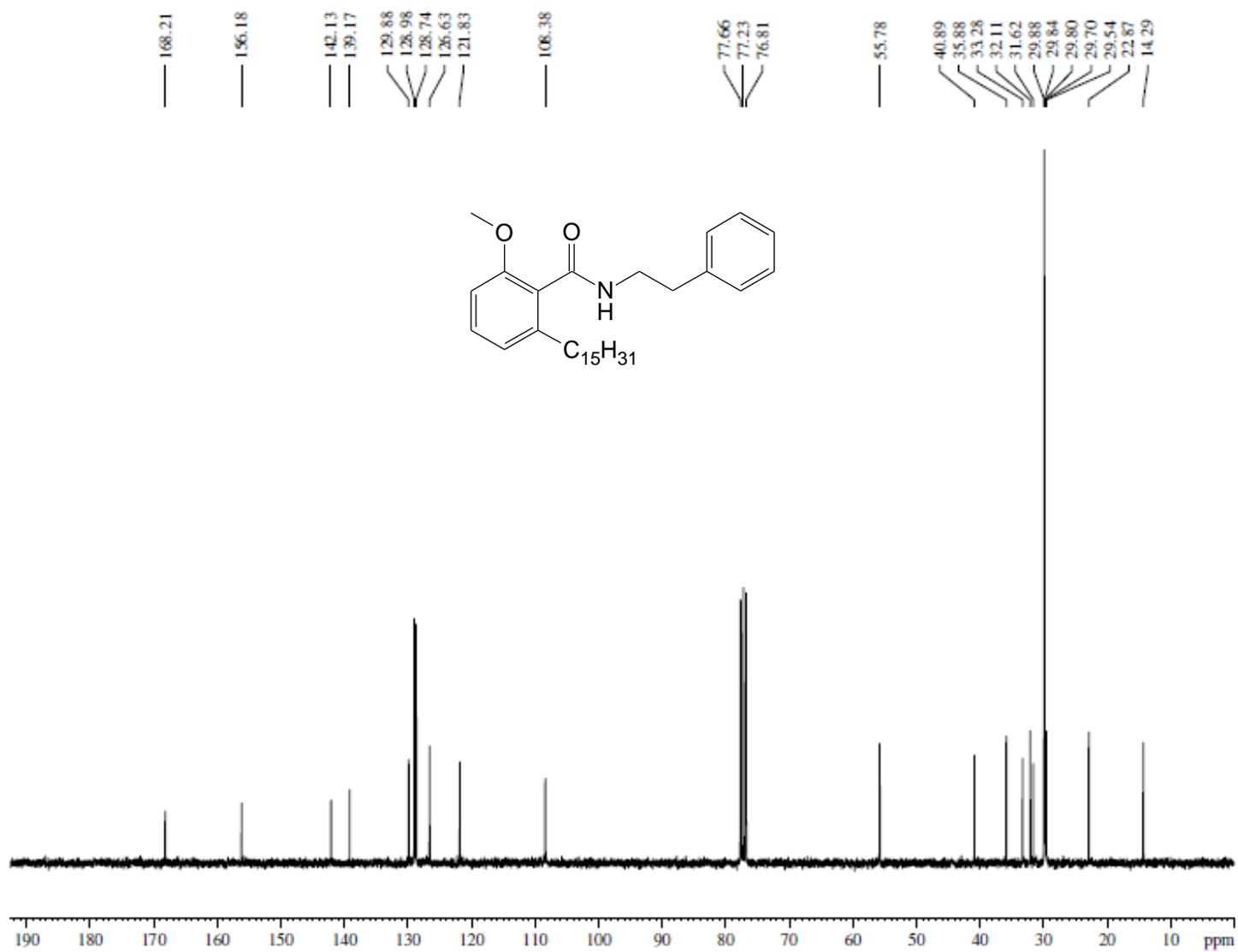
ANEXO 22 – ESPECTRO NO INFRAVERMELHO ( $\nu$   $\text{cm}^{-1}$ , KBr) – LDT653 (23)

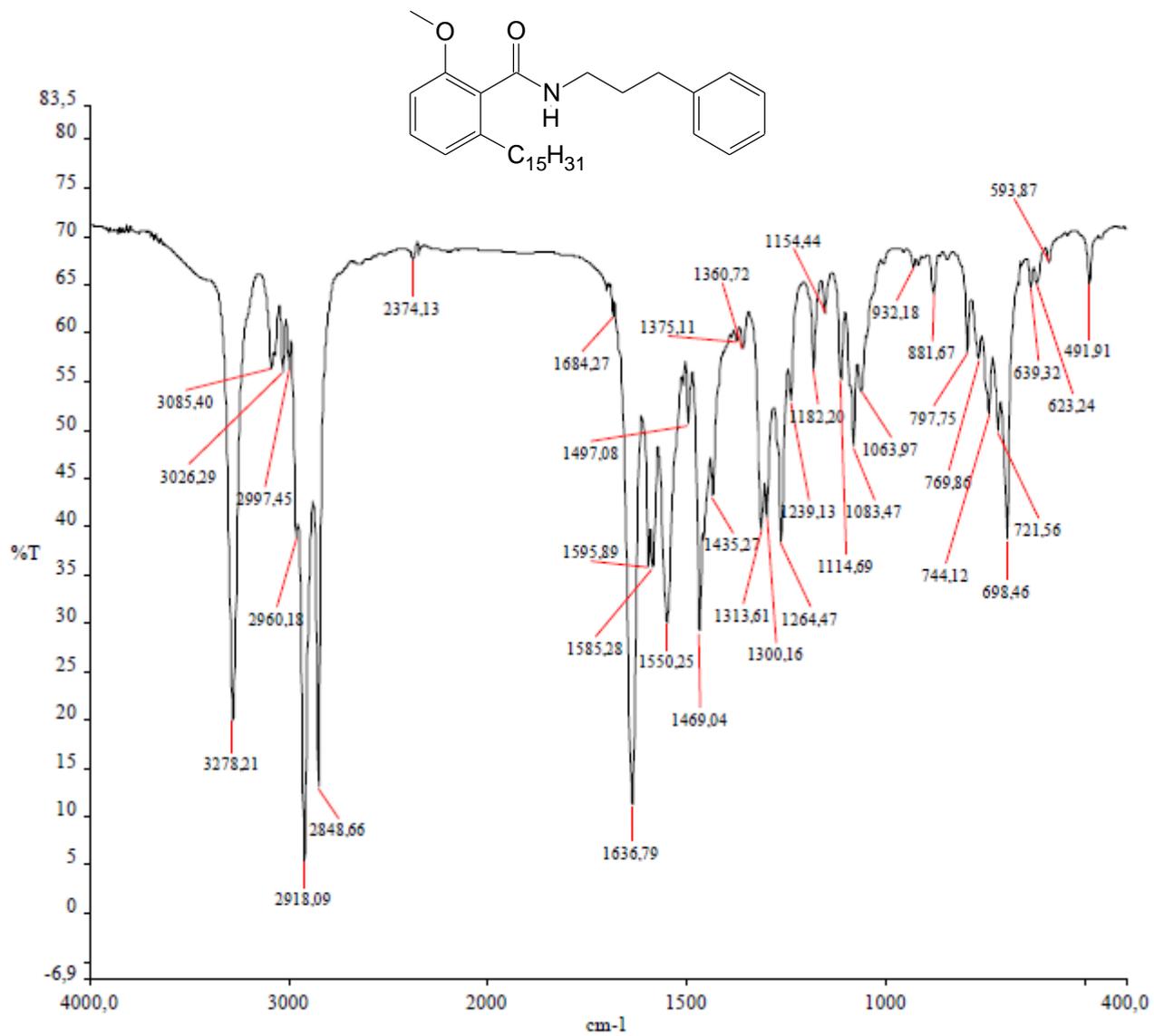
ANEXO 23 – ESPECTRO DE RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) – LDT653 (23)

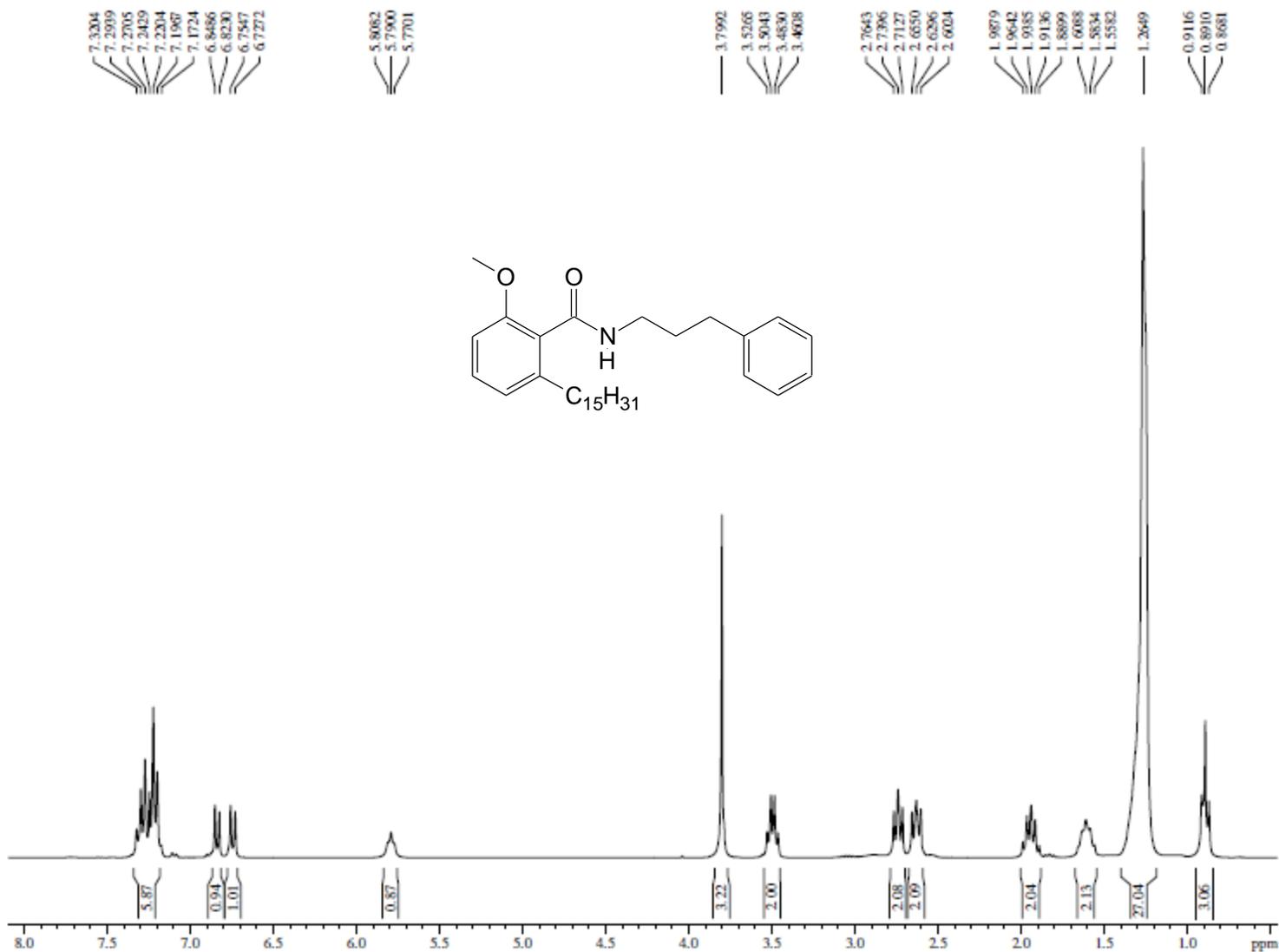
ANEXO 24 – ESPECTRO RMN  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) – LDT653 (23)

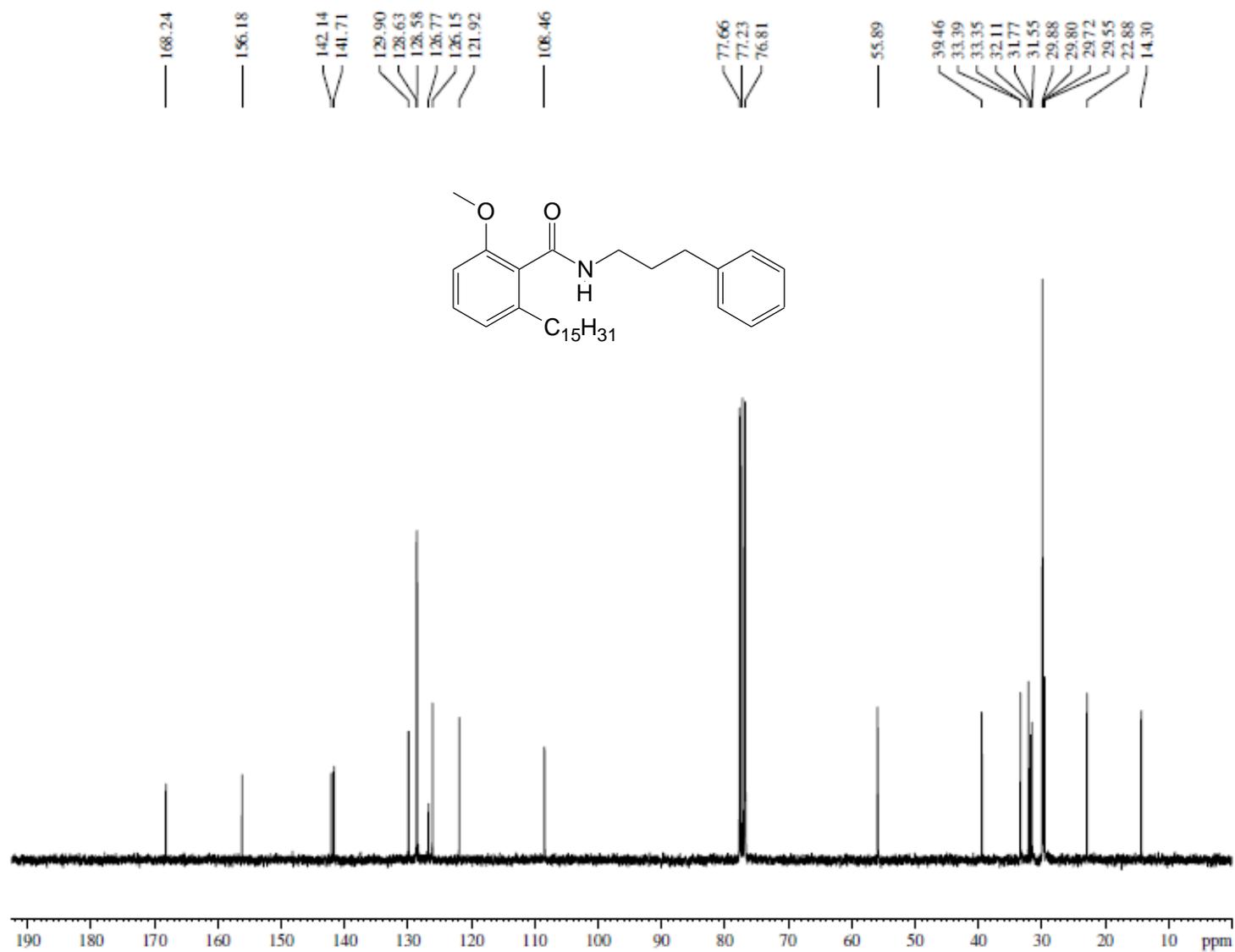
ANEXO 25 – ESPECTRO NO INFRAVERMELHO ( $\nu$   $\text{cm}^{-1}$ , KBr) – LDT655 (24)

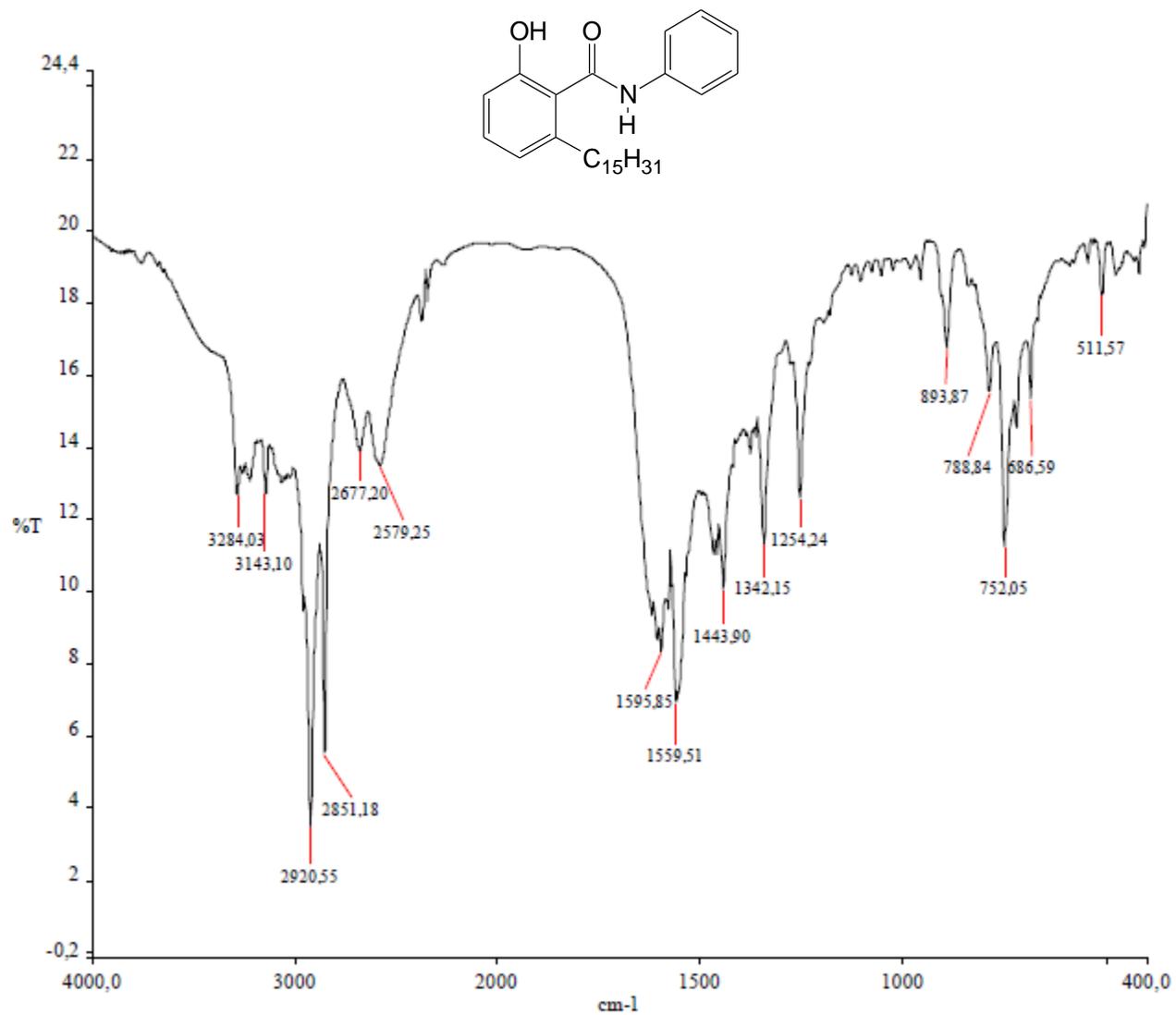
ANEXO 26 – ESPECTRO DE RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) – LDT655 (24)

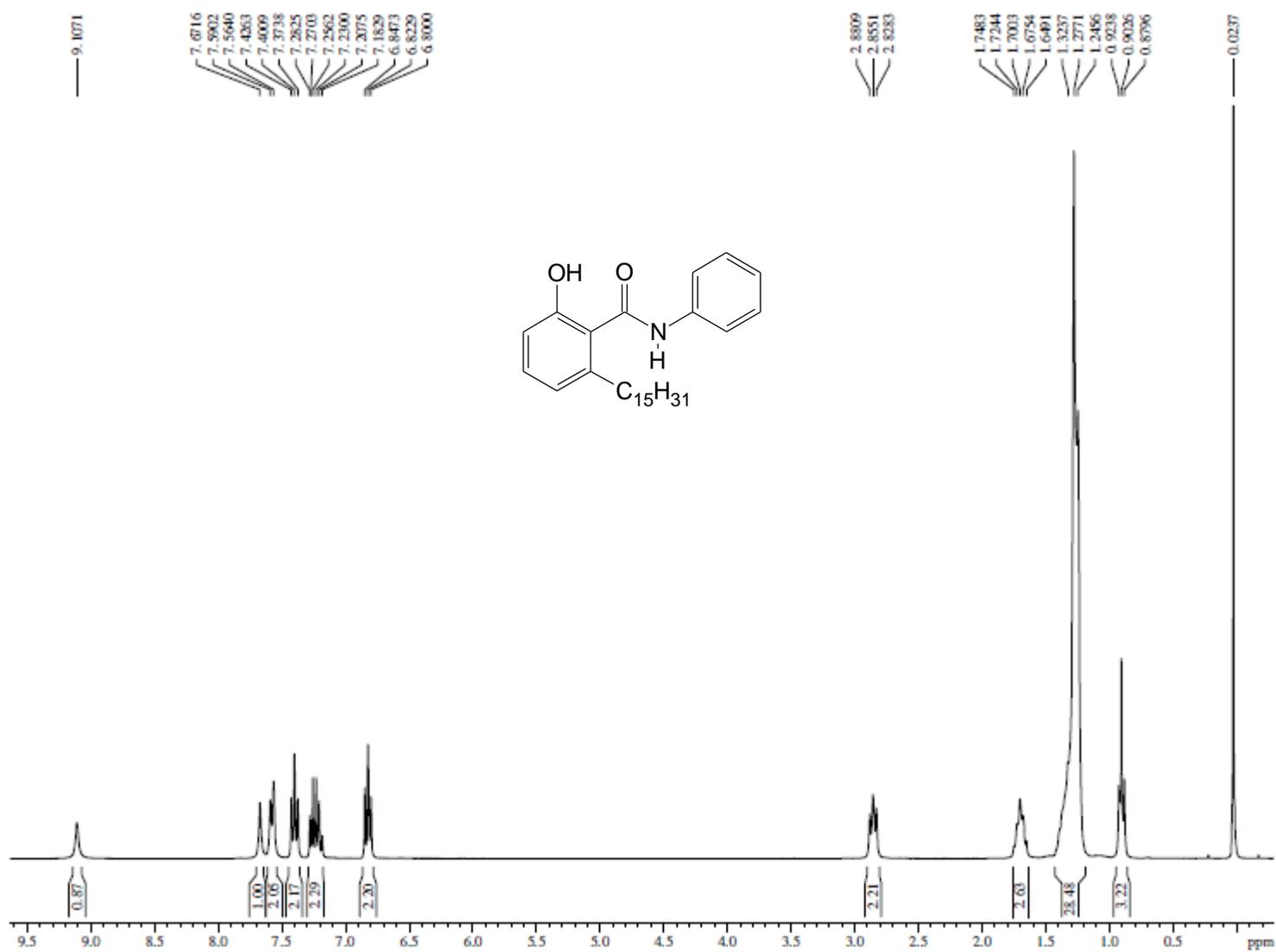
ANEXO 27 – ESPECTRO RMN  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) – LDT655 (24)

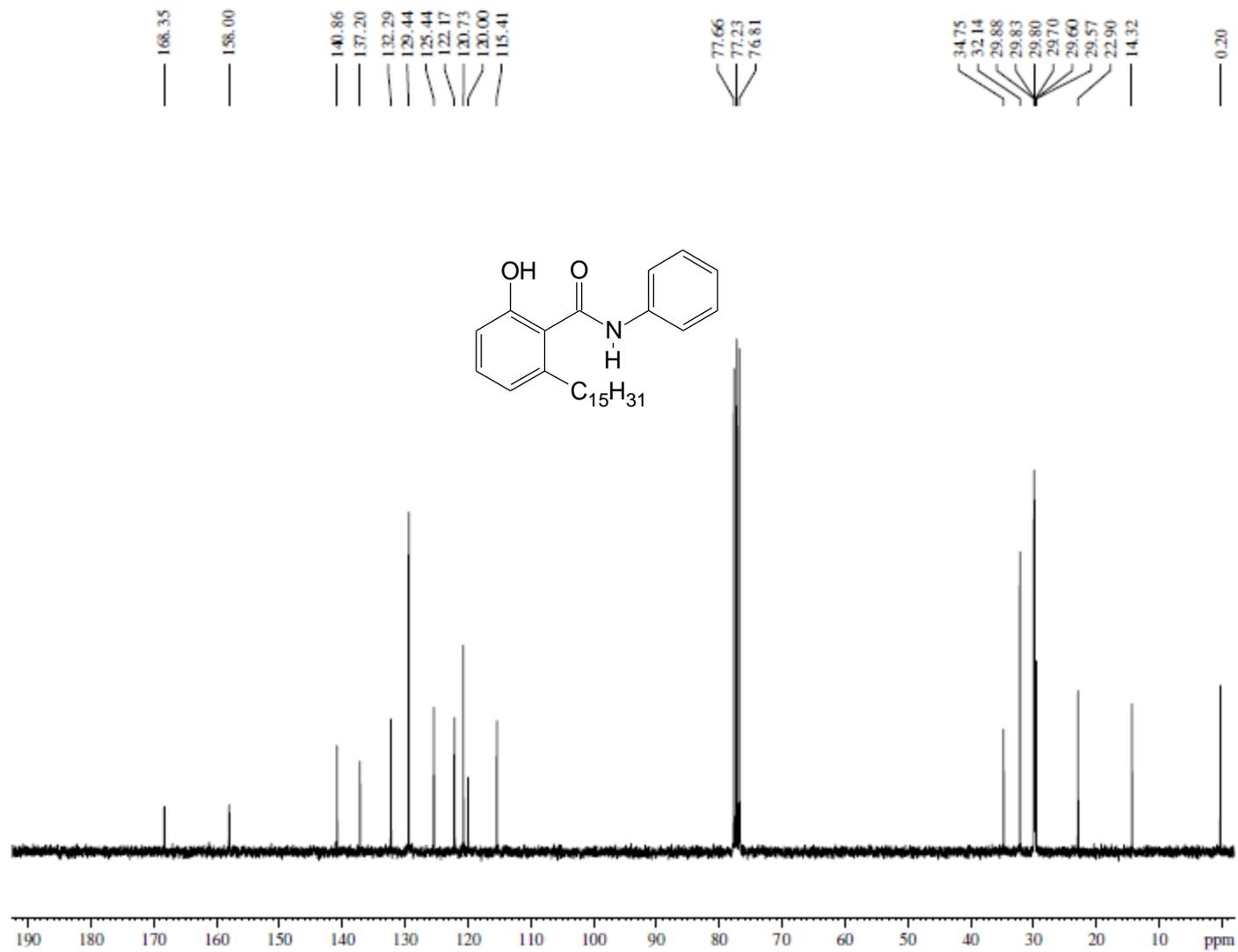
ANEXO 28 – ESPECTRO NO INFRAVERMELHO ( $\nu$   $\text{cm}^{-1}$ , KBr) – LDT657 (25)

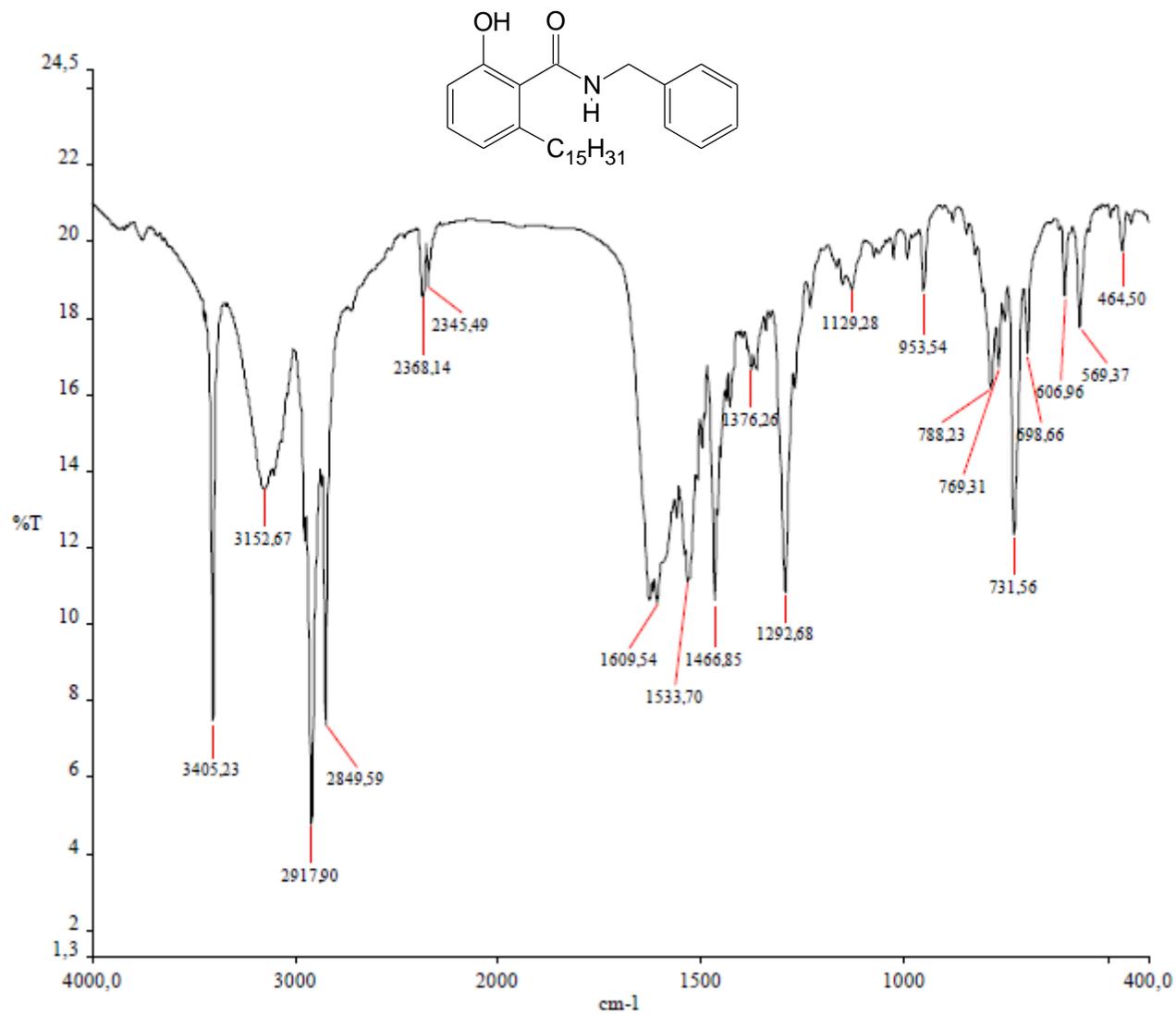
ANEXO 29 – ESPECTRO DE RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) – LDT657 (25)

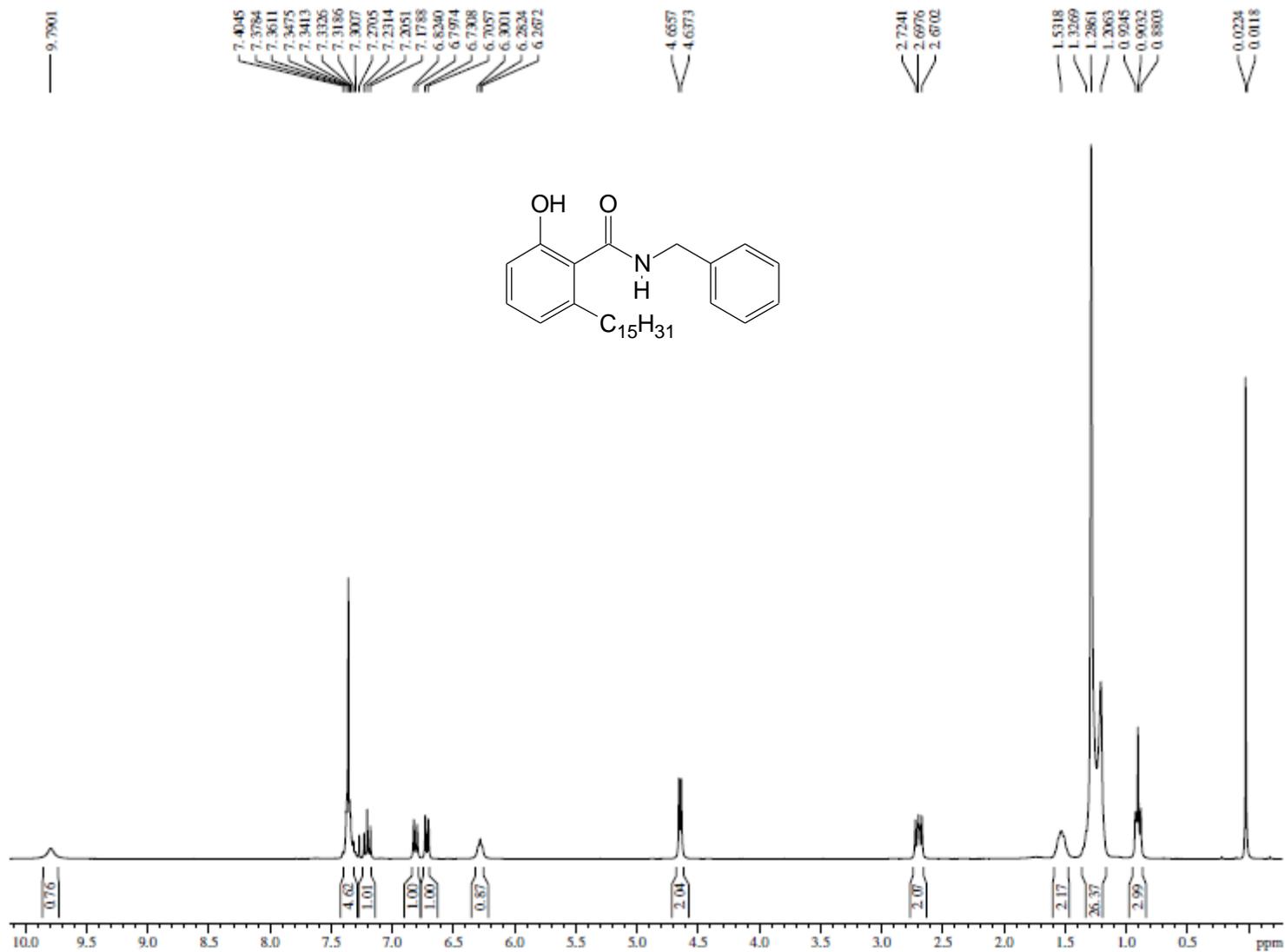
ANEXO 30 – ESPECTRO RMN  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) – LDT657 (25)

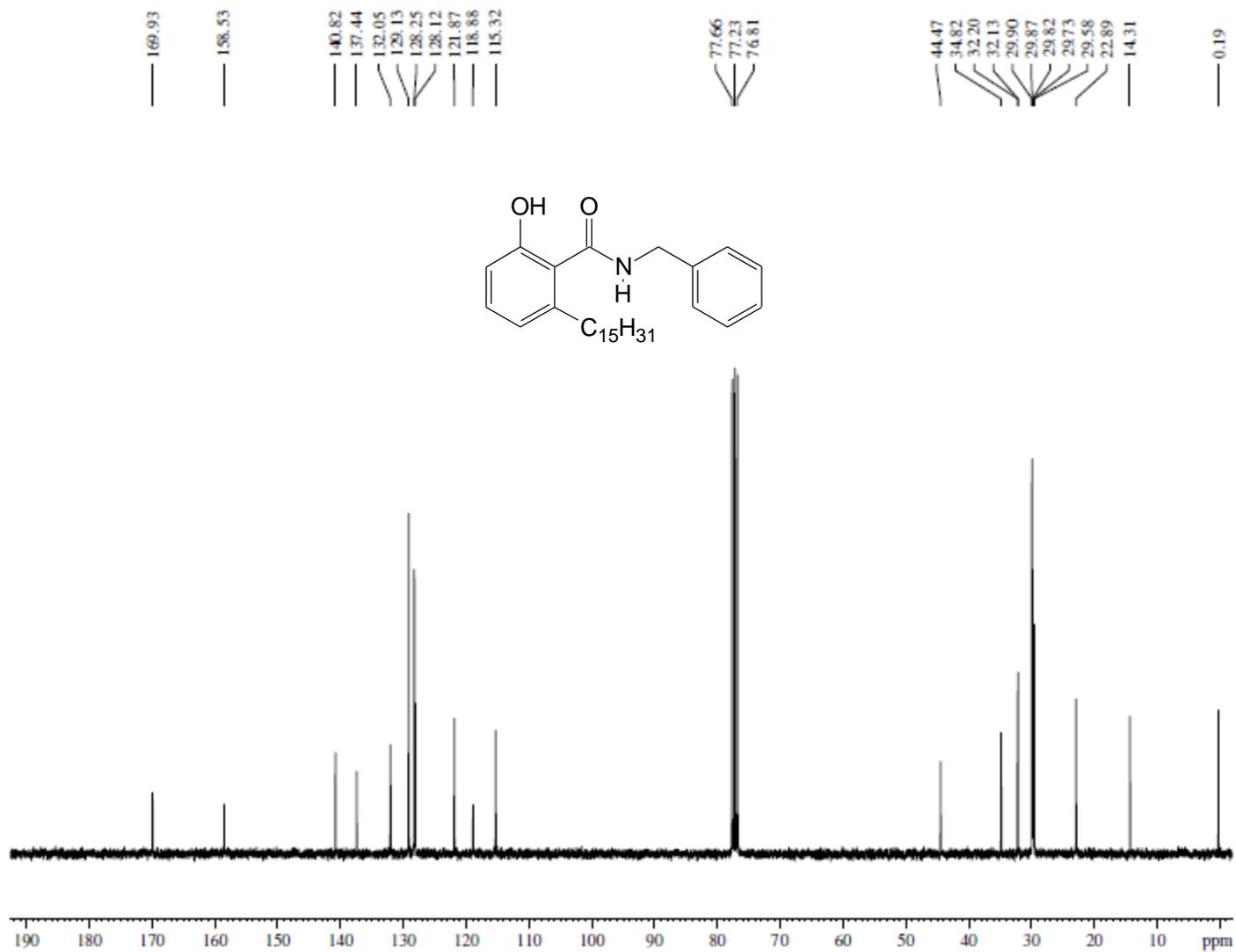
ANEXO 31 – ESPECTRO NO INFRAVERMELHO ( $\nu$   $\text{cm}^{-1}$ , KBr) – LDT82 (30)

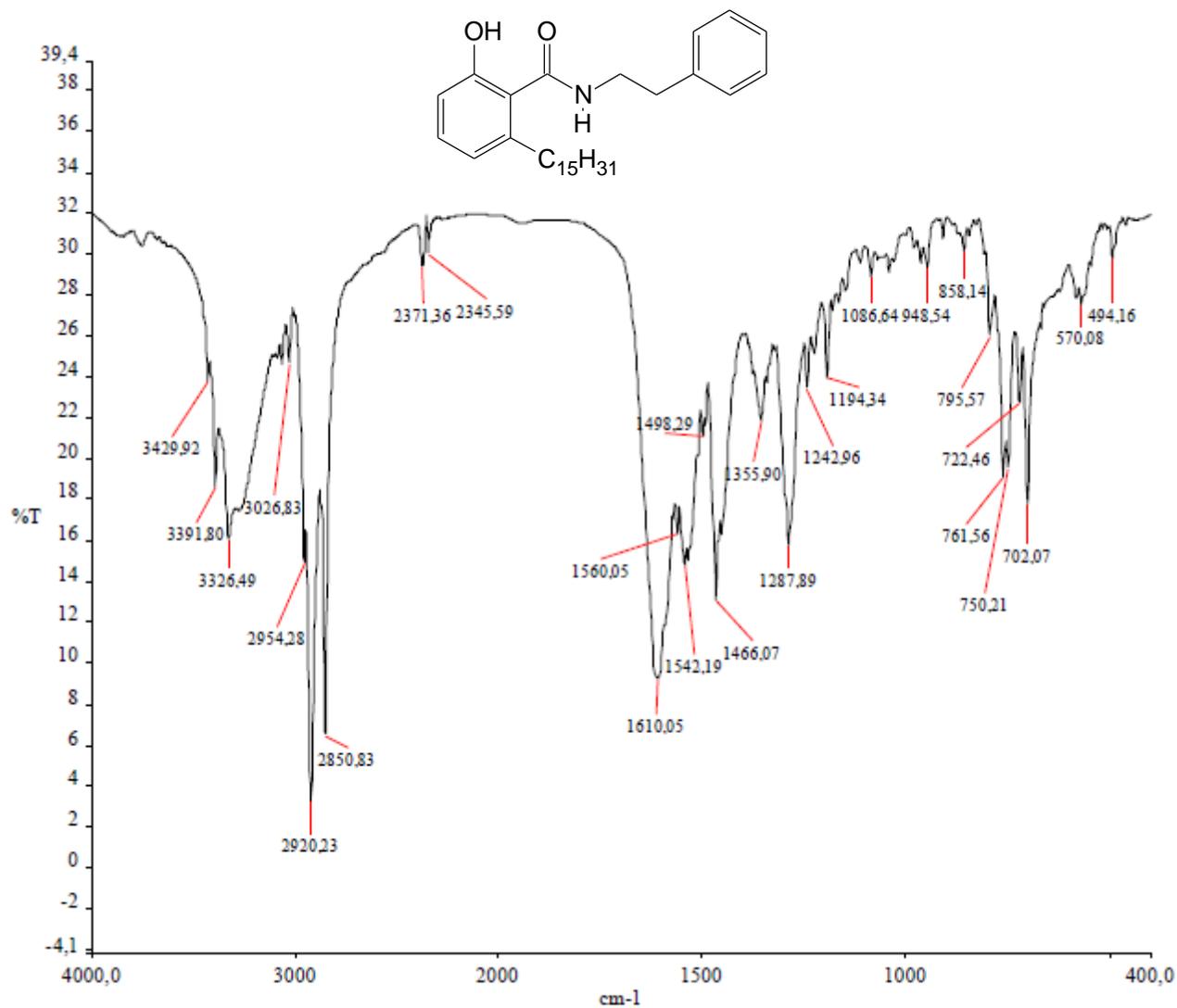
ANEXO 32 – ESPECTRO DE RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) – LDT82 (30)

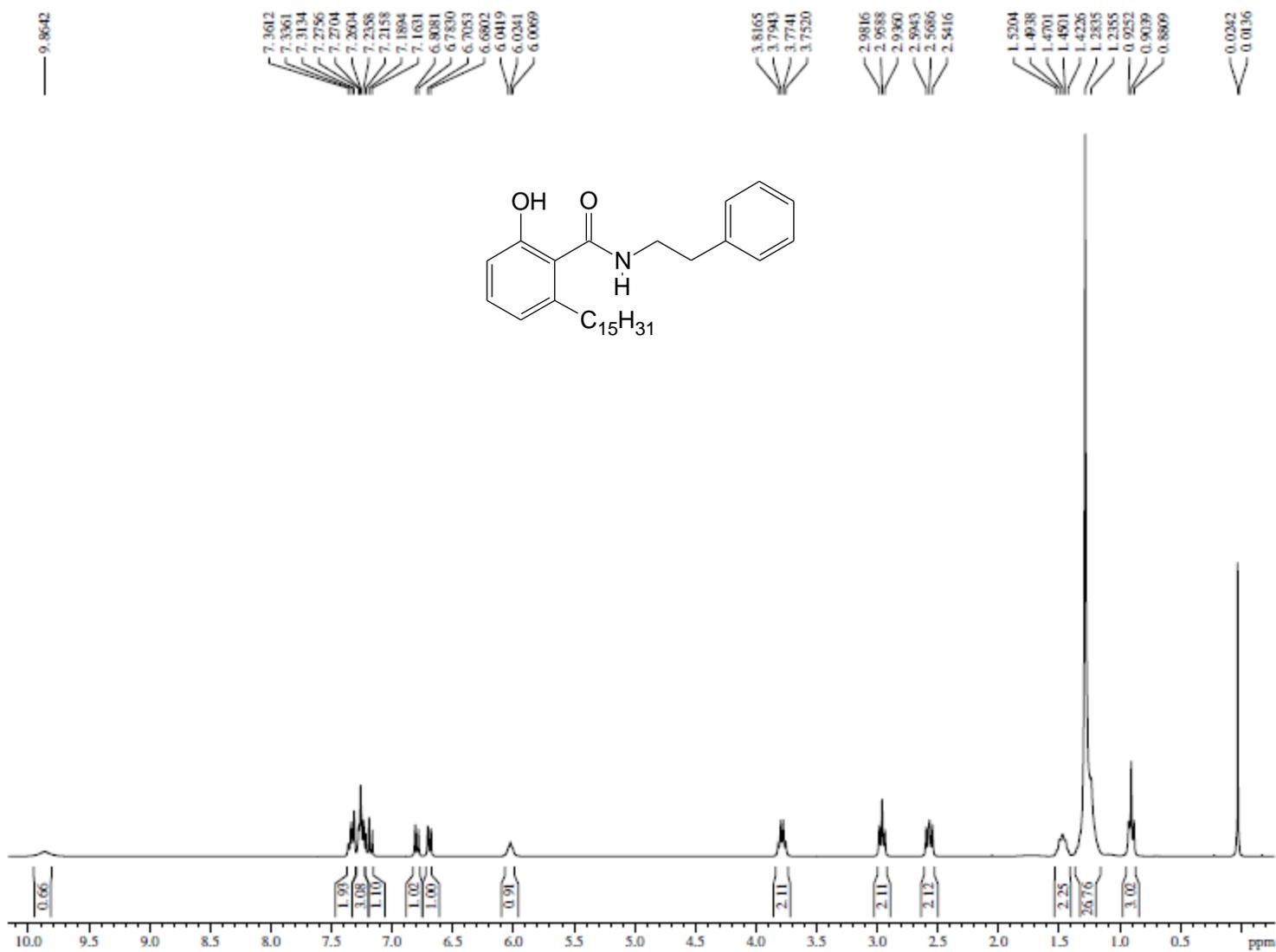
ANEXO 33 – ESPECTRO RMN  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) – LDT82 (30)

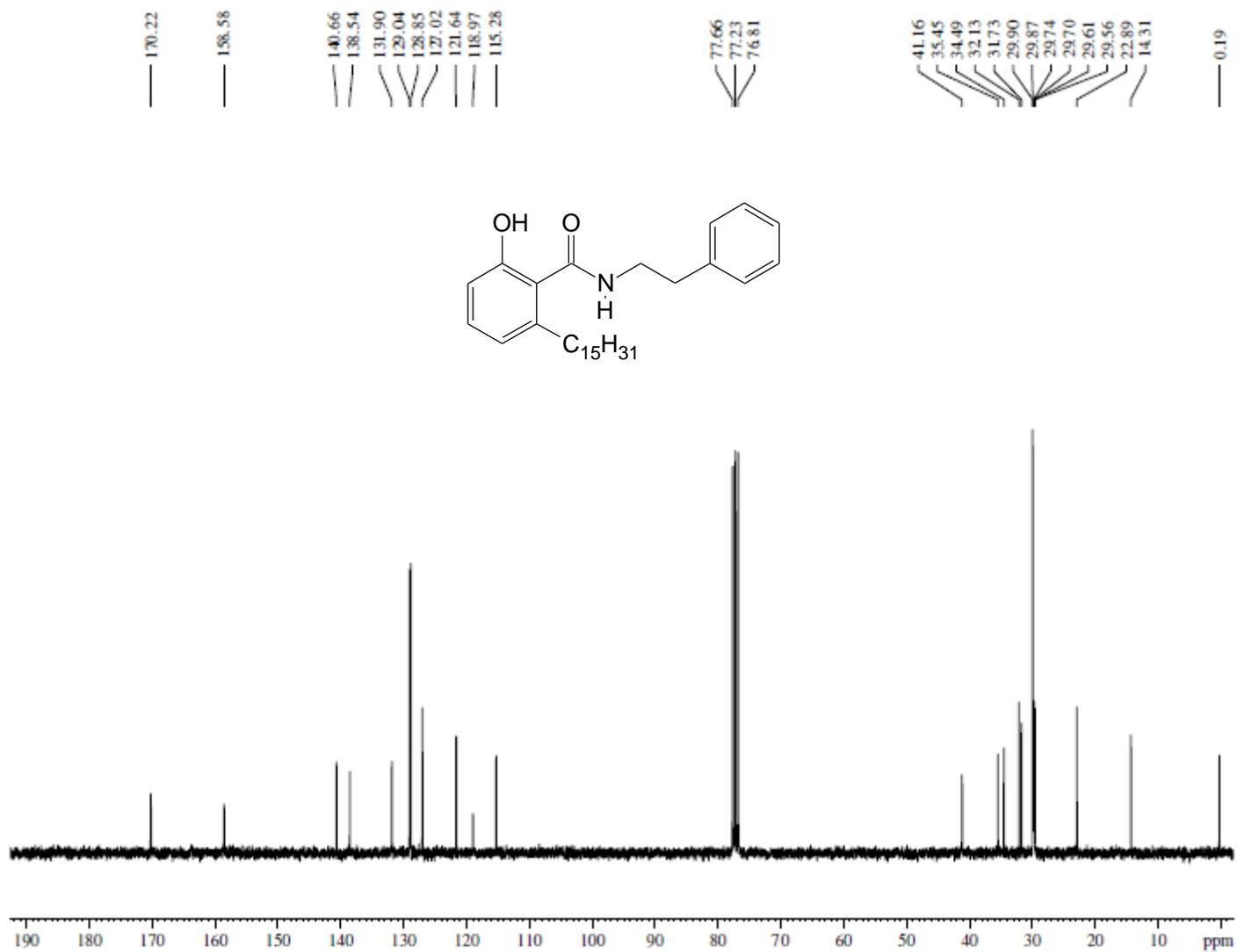
ANEXO 34 – ESPECTRO NO INFRAVERMELHO ( $\nu$   $\text{cm}^{-1}$ , KBr) – LDT645 (31)

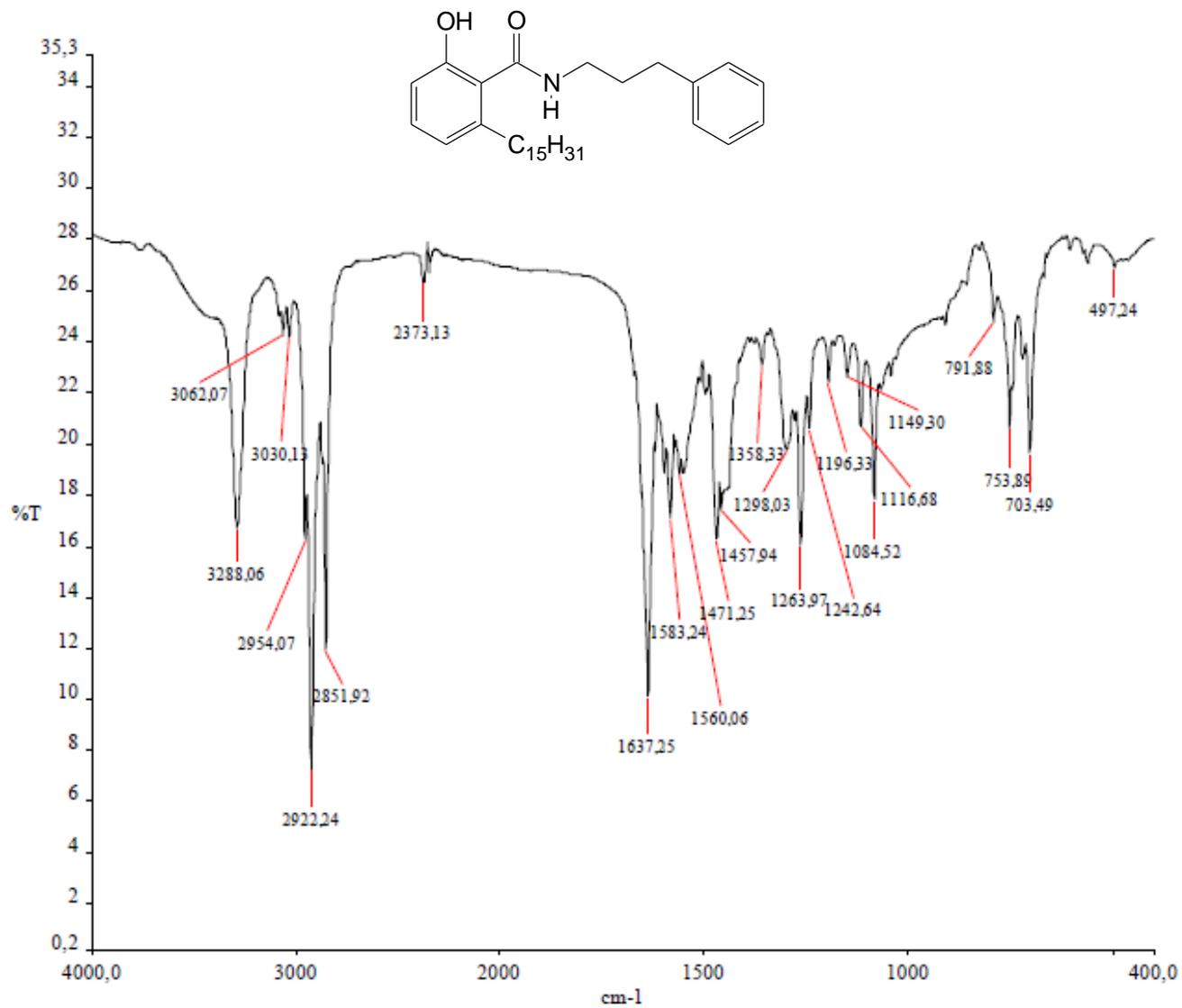
ANEXO 35 – ESPECTRO DE RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) – LDT645 (31)

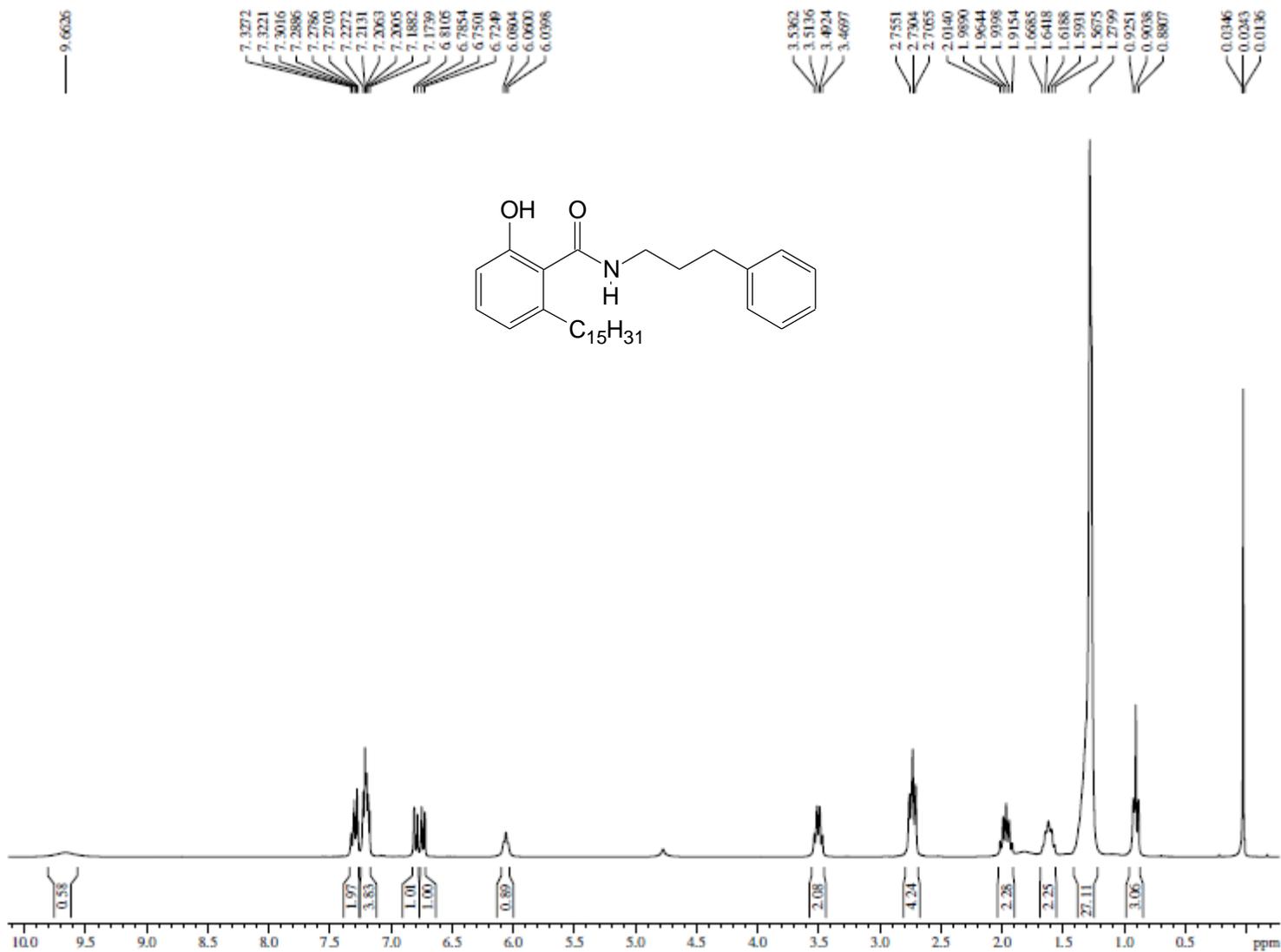
ANEXO 36 – ESPECTRO RMN  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) – LDT645 (31)

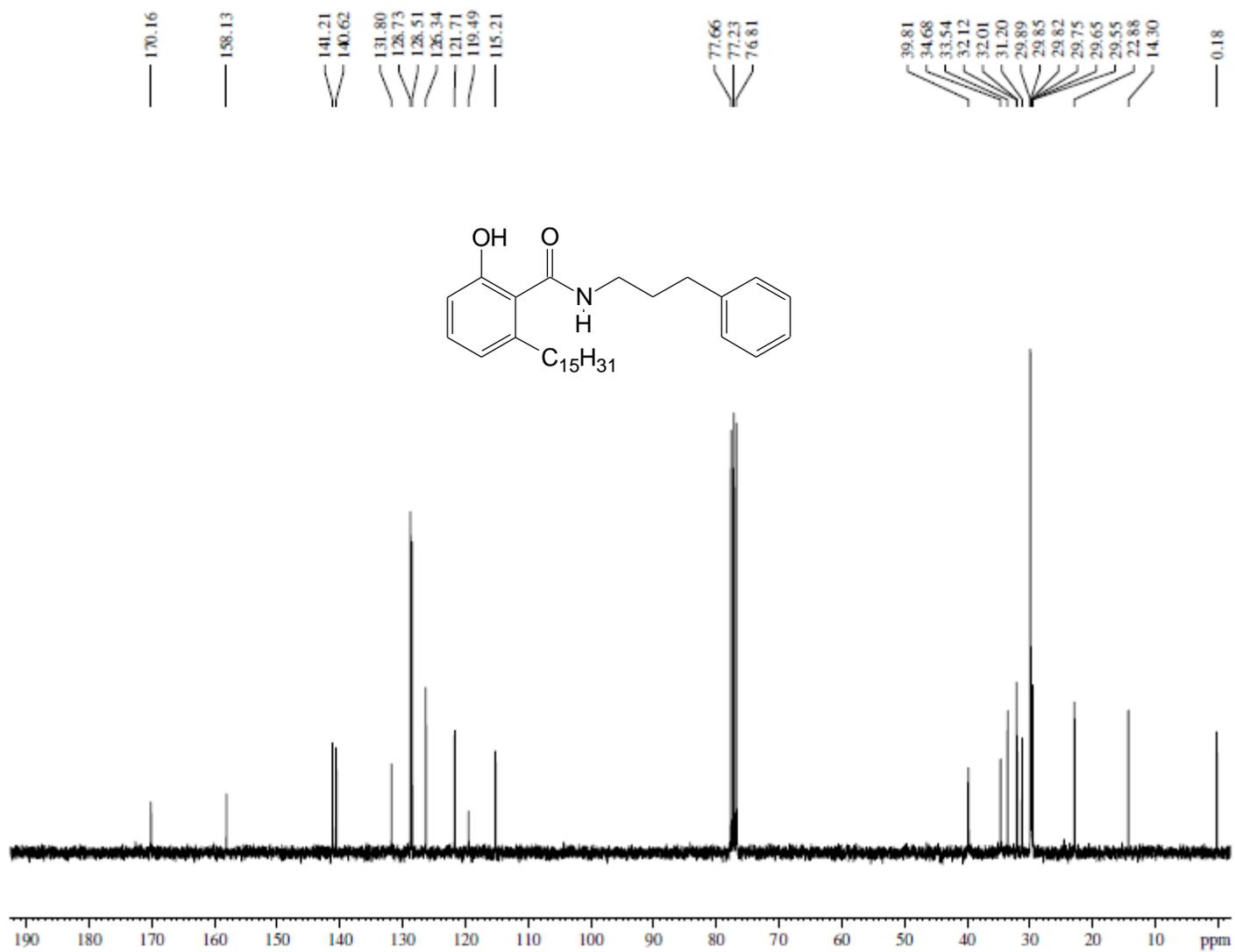
ANEXO 37 – ESPECTRO NO INFRAVERMELHO ( $\nu$   $\text{cm}^{-1}$ , KBr) – LDT647 (32)

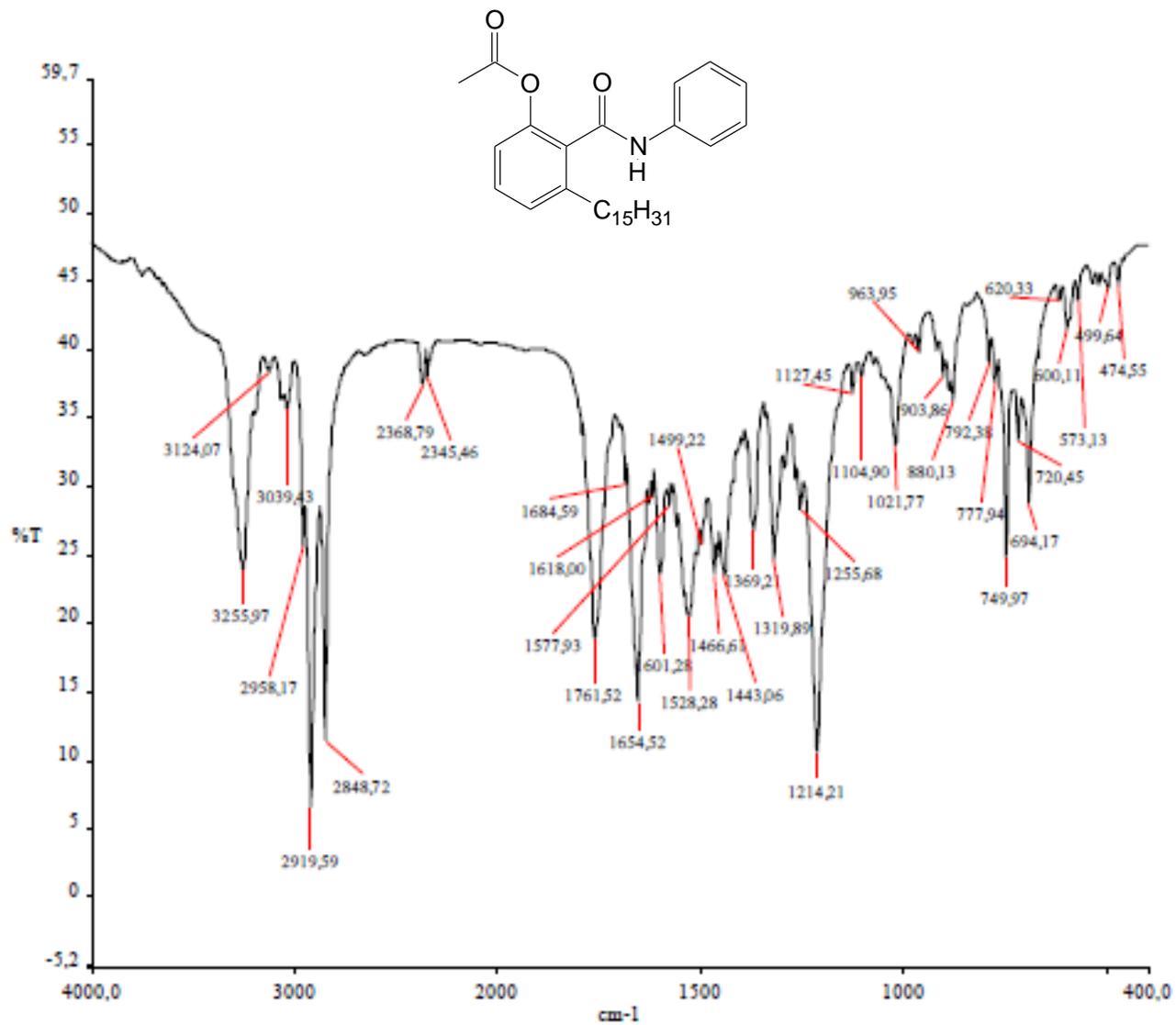
ANEXO 38 – ESPECTRO DE RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) – LDT647 (32)

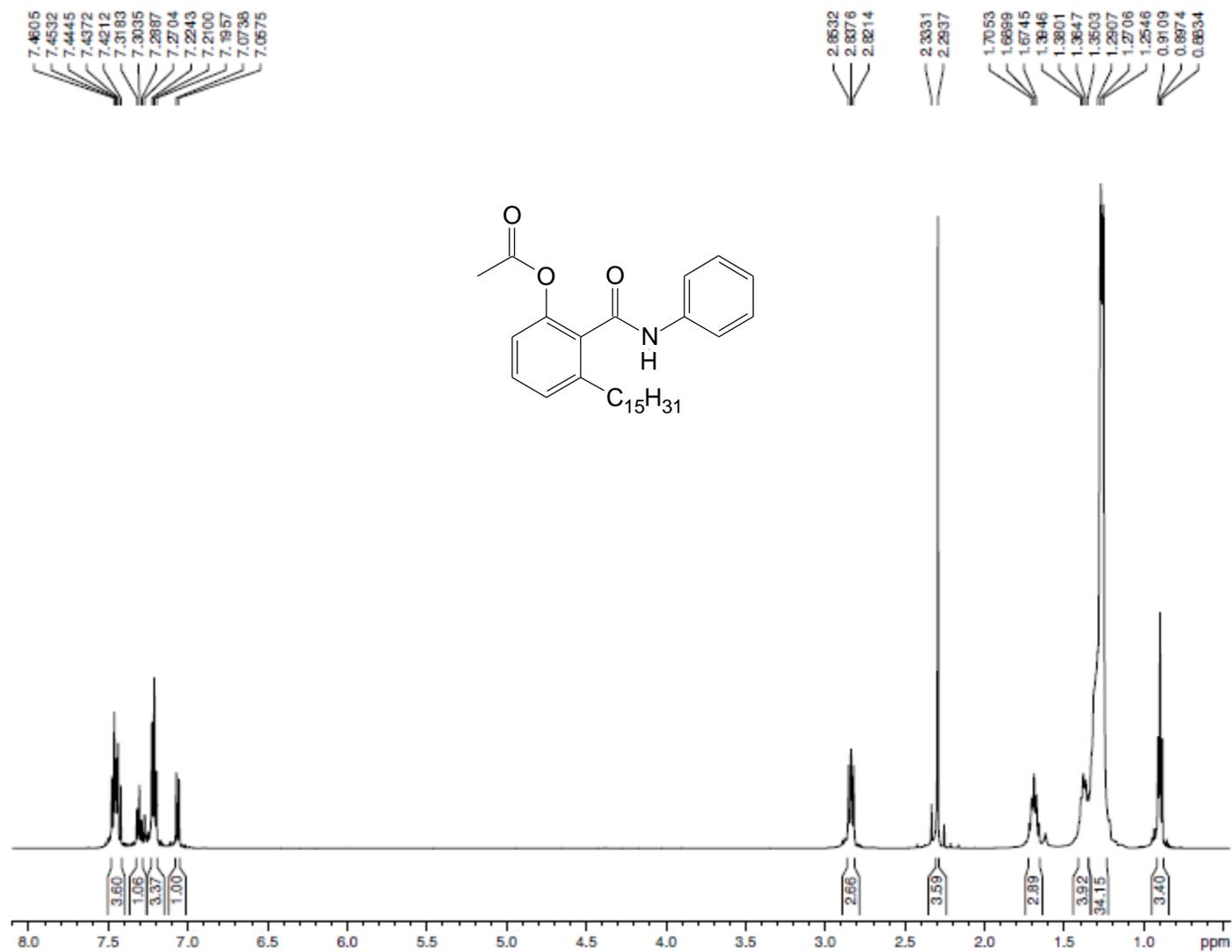
ANEXO 39 – ESPECTRO RMN  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) – LDT647 (32)

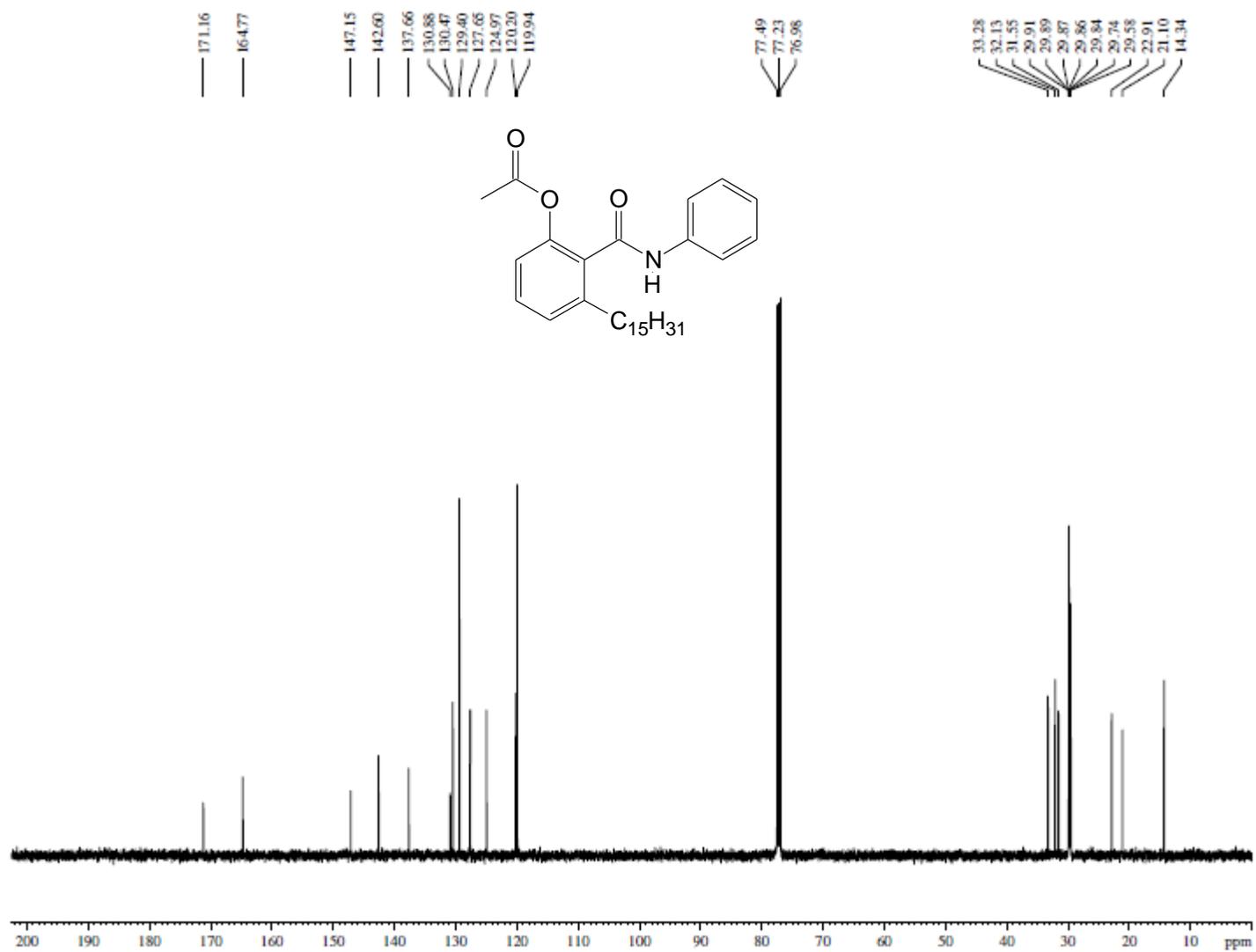
ANEXO 40 – ESPECTRO NO INFRAVERMELHO ( $\nu$   $\text{cm}^{-1}$ , KBr) – LDT649 (33)

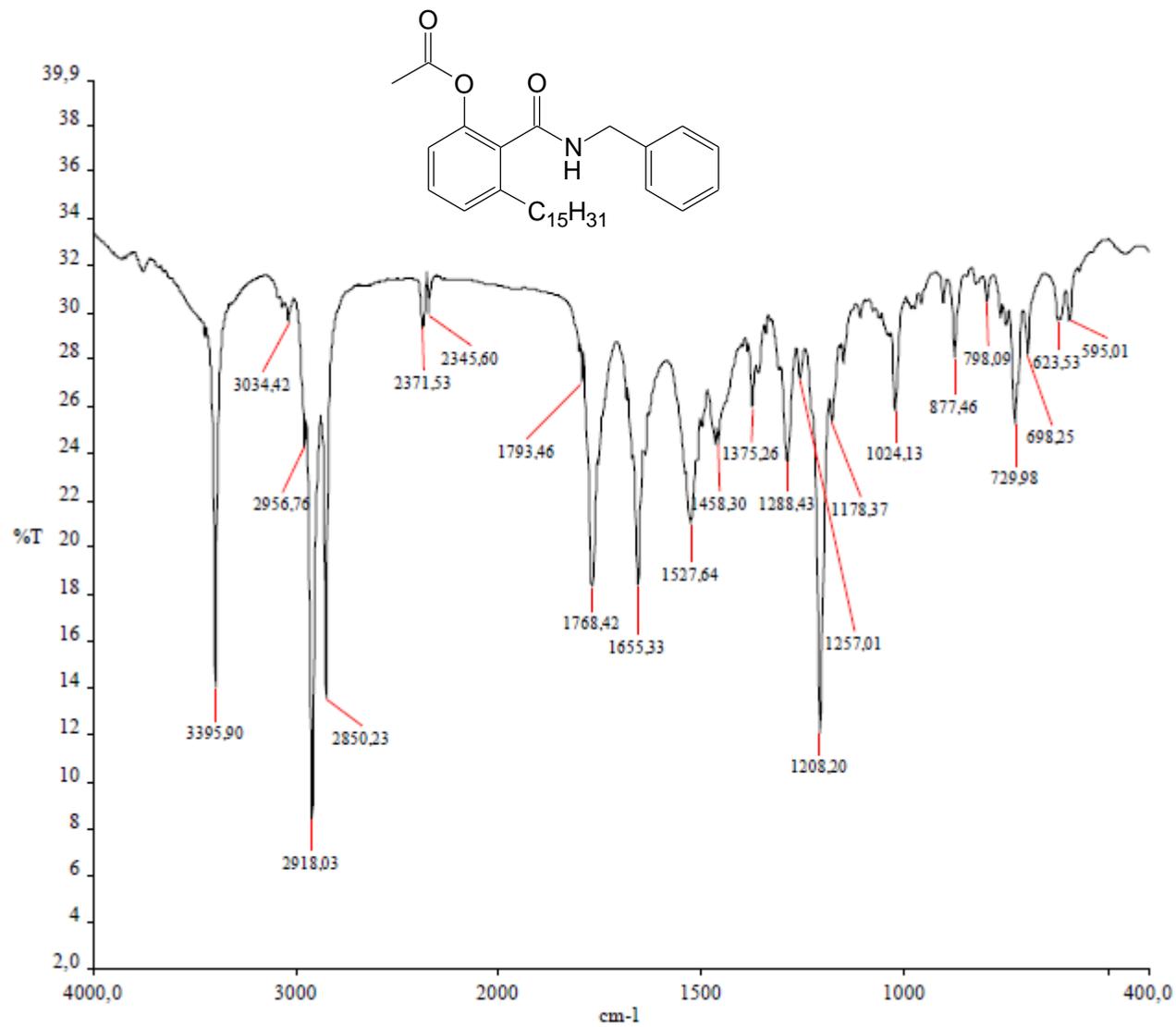
ANEXO 41 – ESPECTRO DE RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) – LDT649 (33)

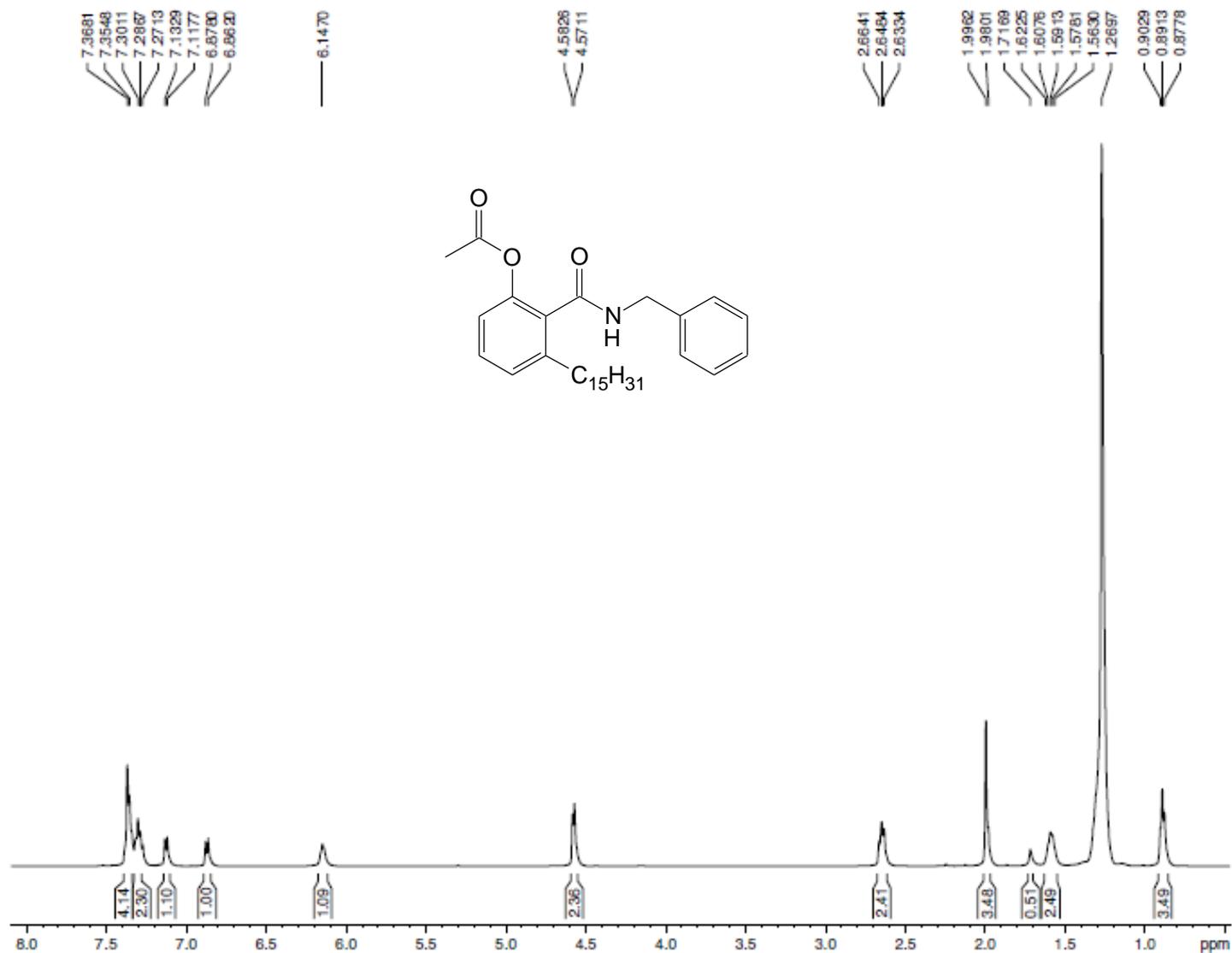
ANEXO 42 – ESPECTRO RMN  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) – LDT649 (33)

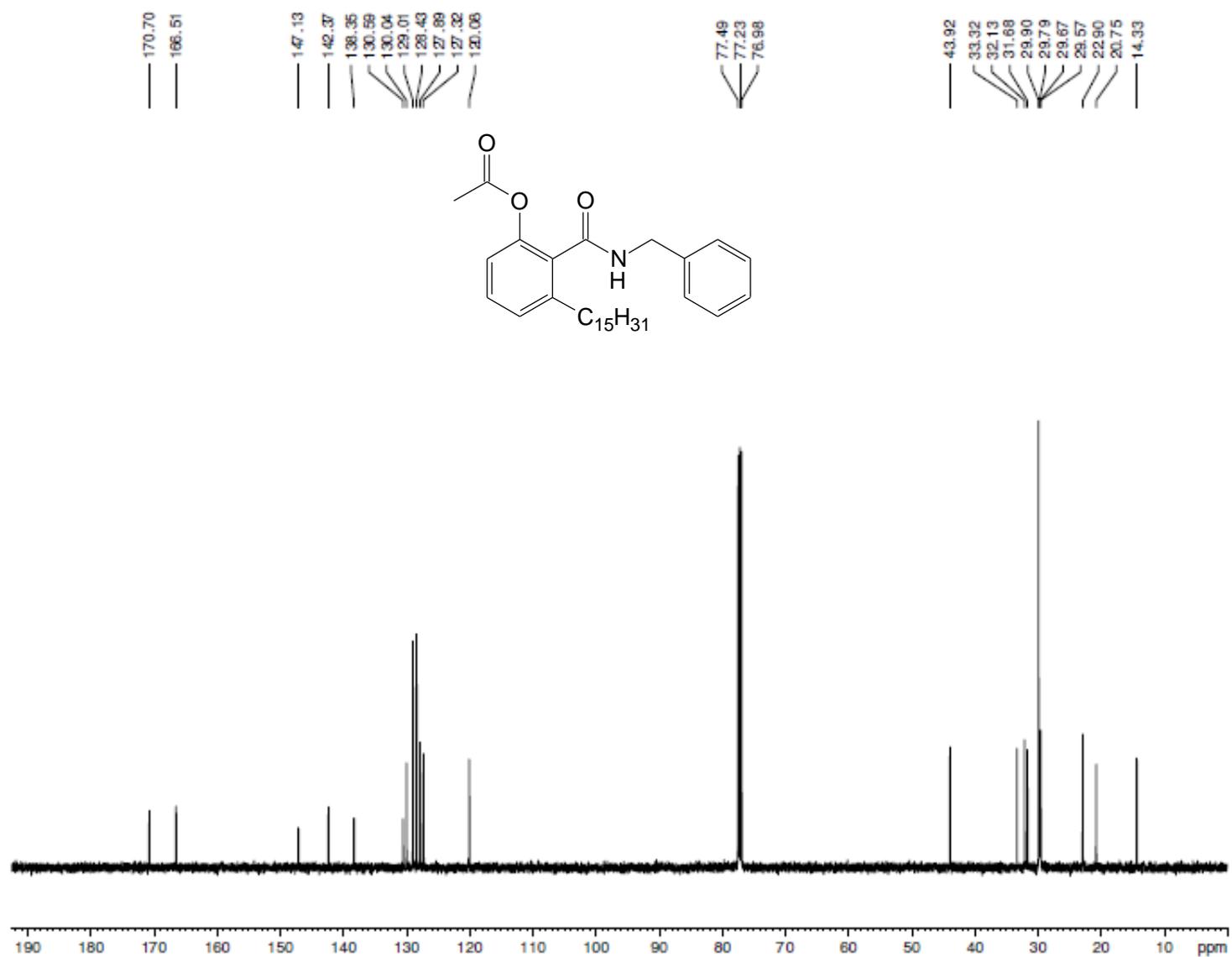
ANEXO 43 – ESPECTRO NO INFRAVERMELHO ( $\nu$   $\text{cm}^{-1}$ , KBr) – LDT675 (38)

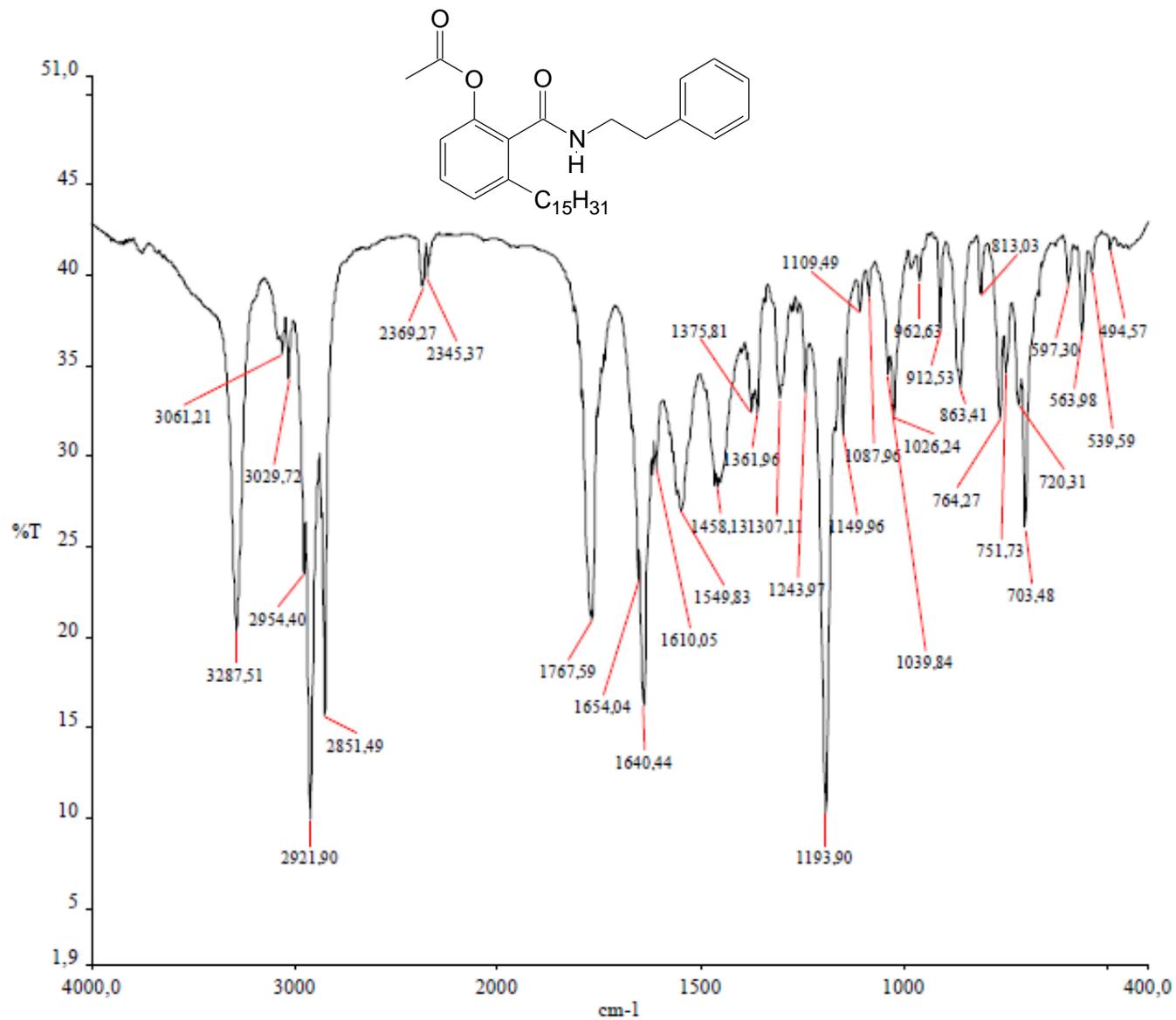
ANEXO 44 – ESPECTRO DE RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) – LDT675 (38)

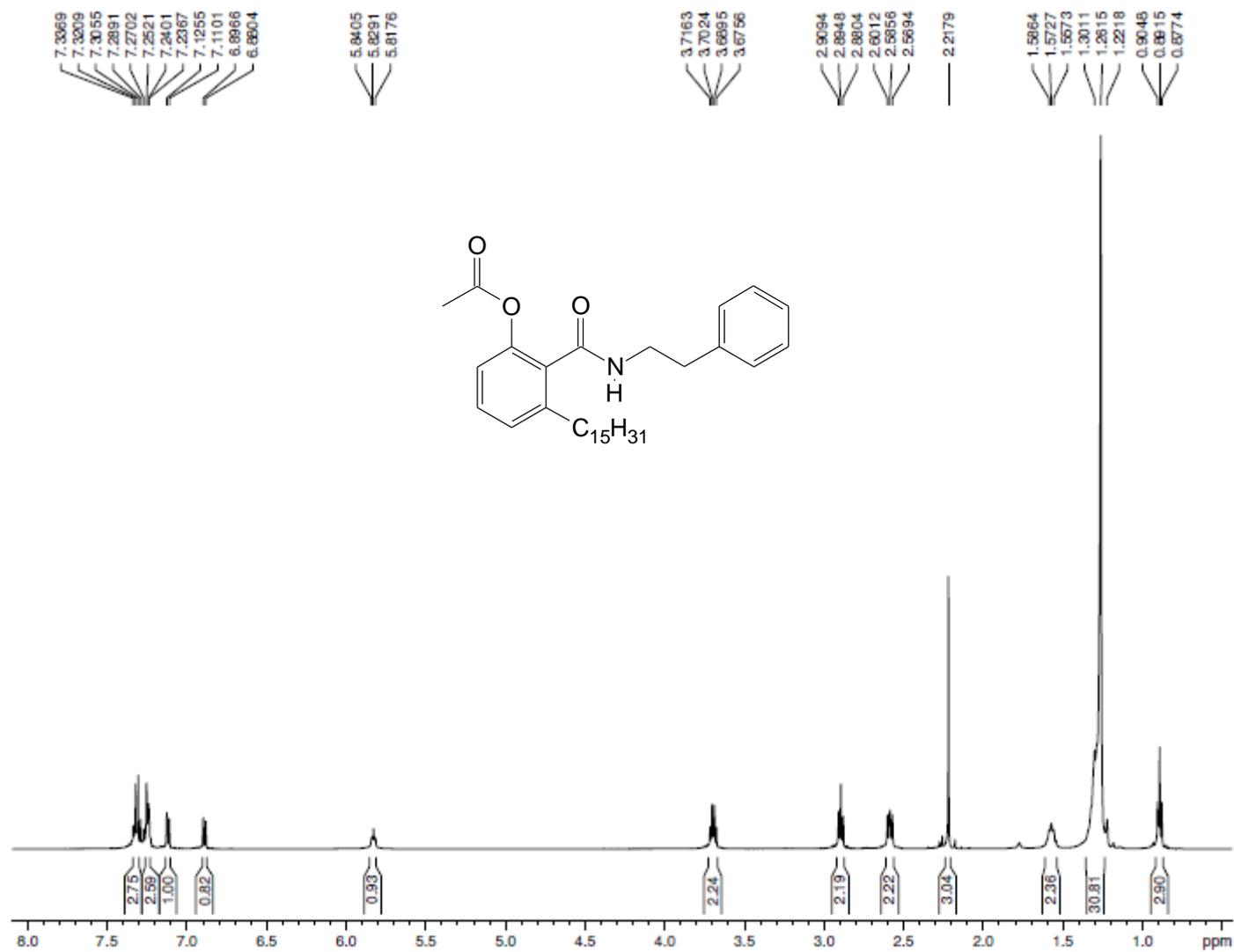
ANEXO 45 – ESPECTRO RMN  $^{13}\text{C}$  (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) – LDT675 (38)

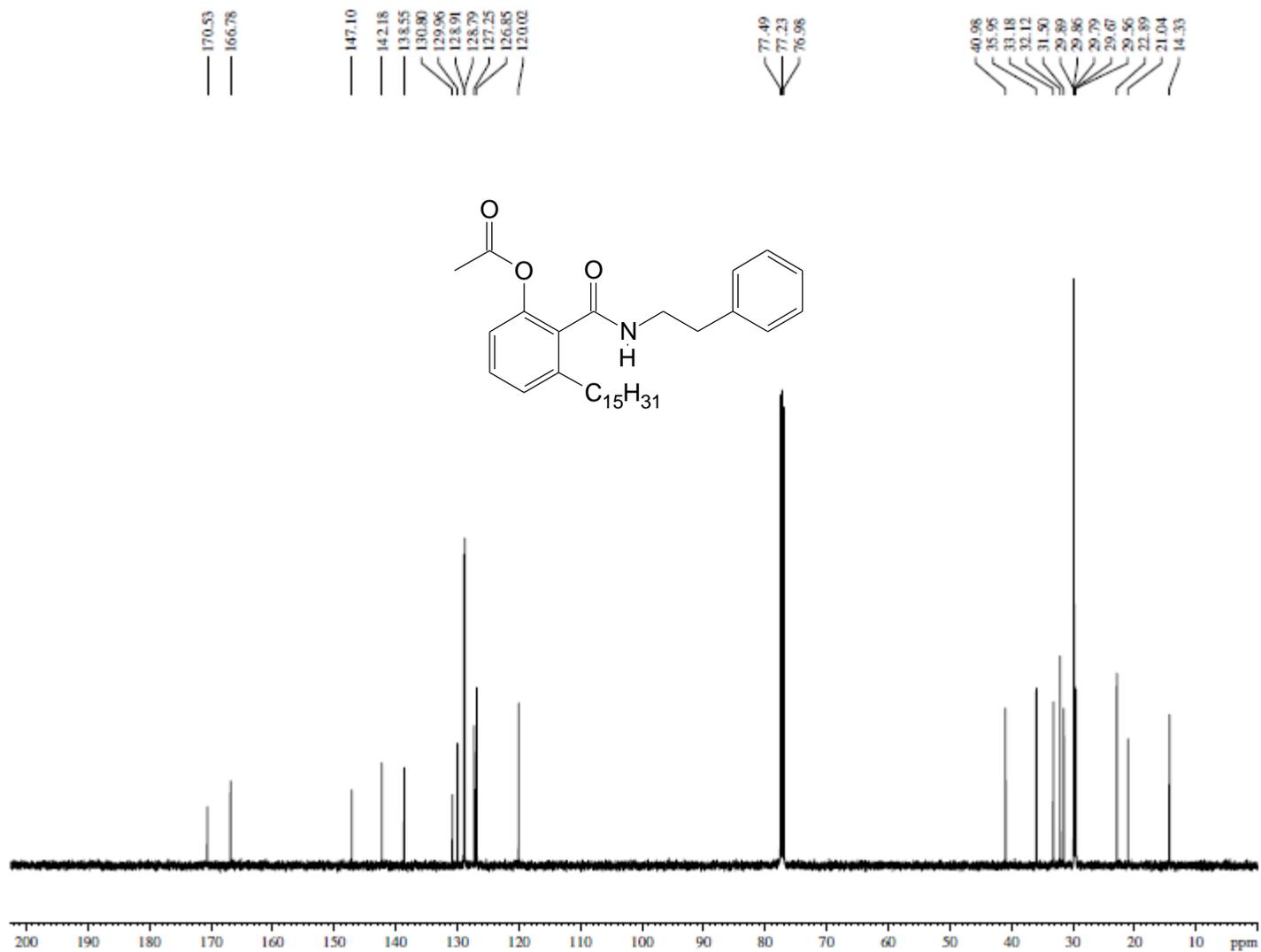
ANEXO 46 – ESPECTRO NO INFRAVERMELHO ( $\nu$   $\text{cm}^{-1}$ , KBr) – LDT677 (39)

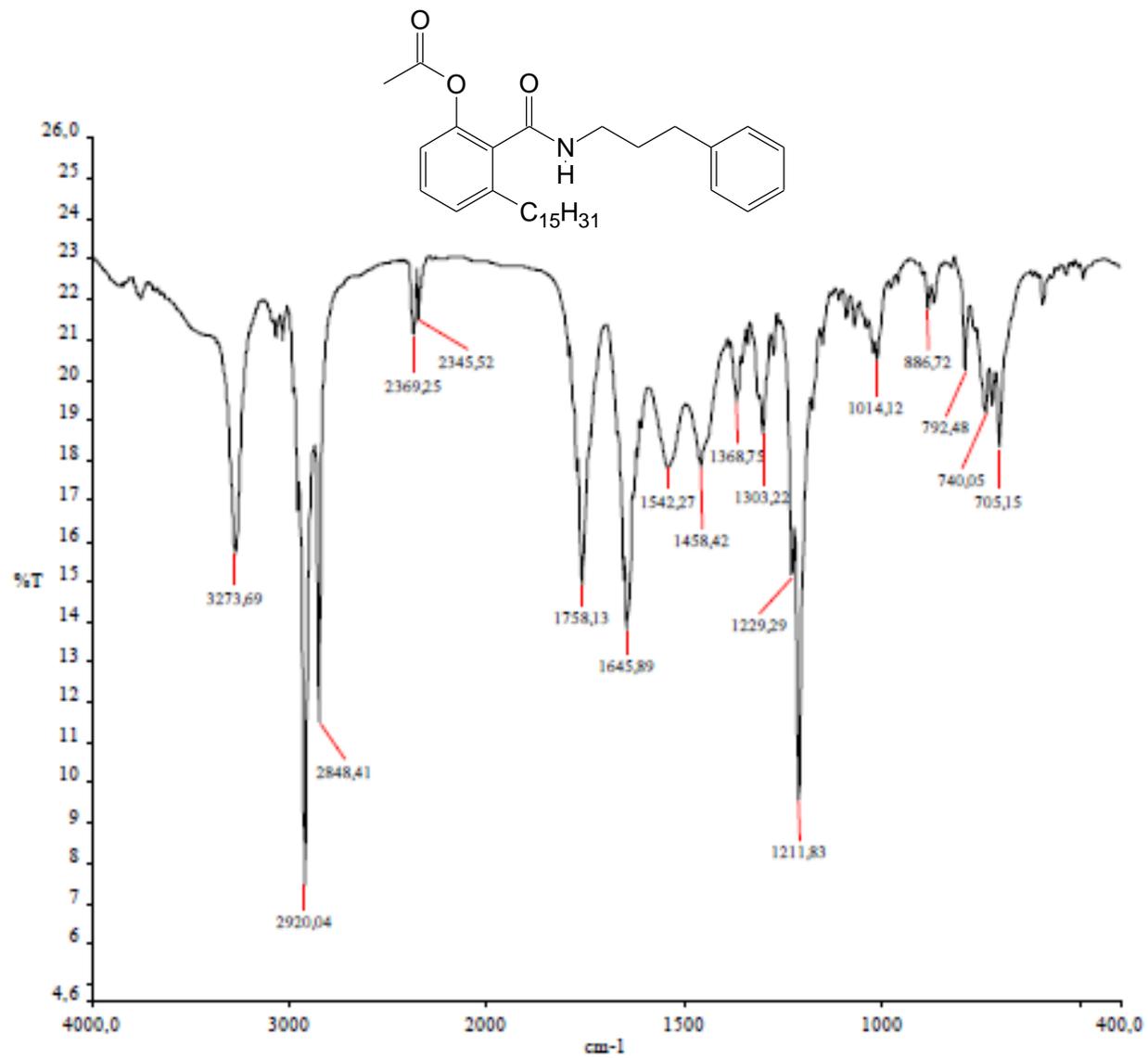
ANEXO 47 – ESPECTRO DE RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) – LDT677 (39)

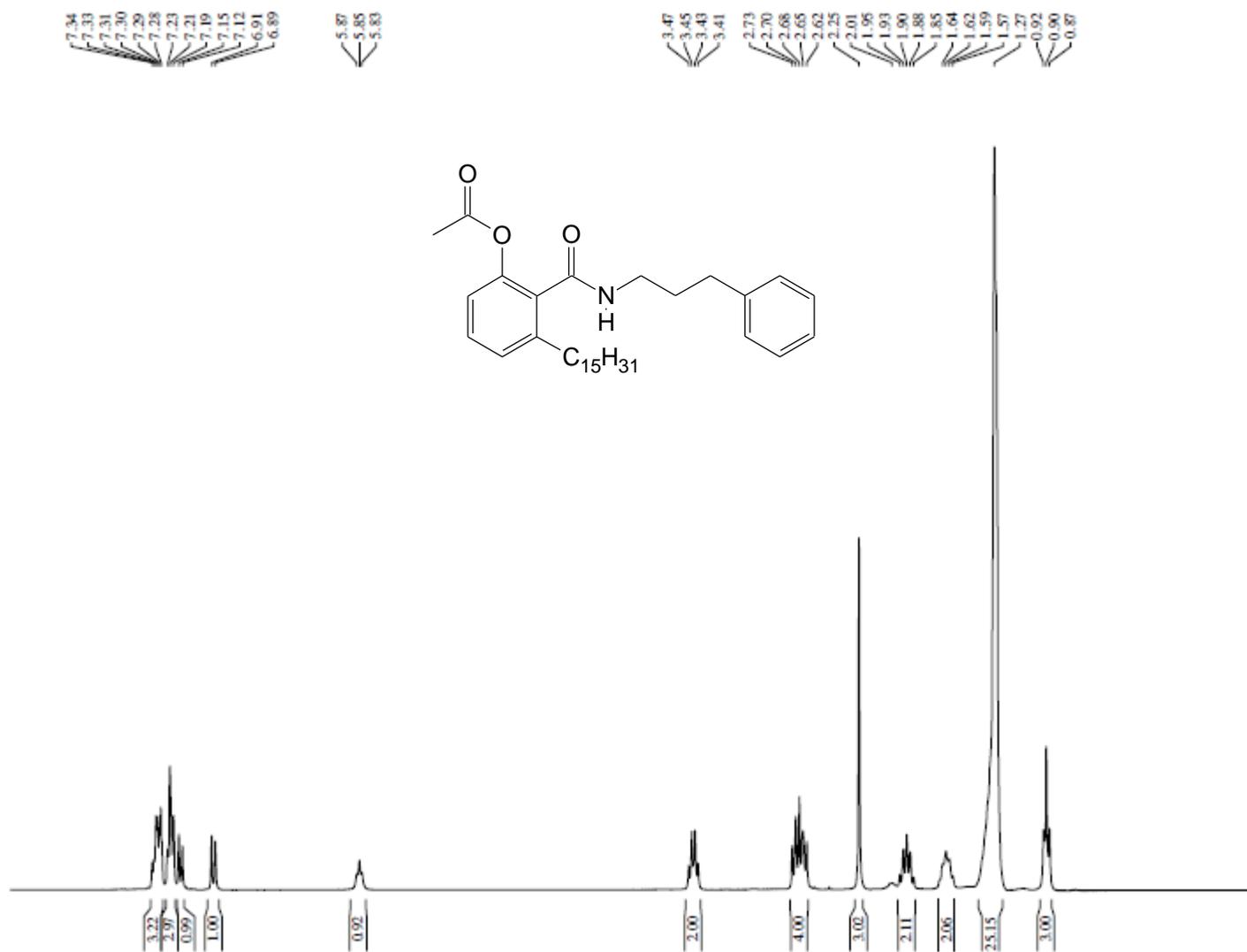
ANEXO 48 – ESPECTRO RMN  $^{13}\text{C}$  (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) – LDT677 (39)

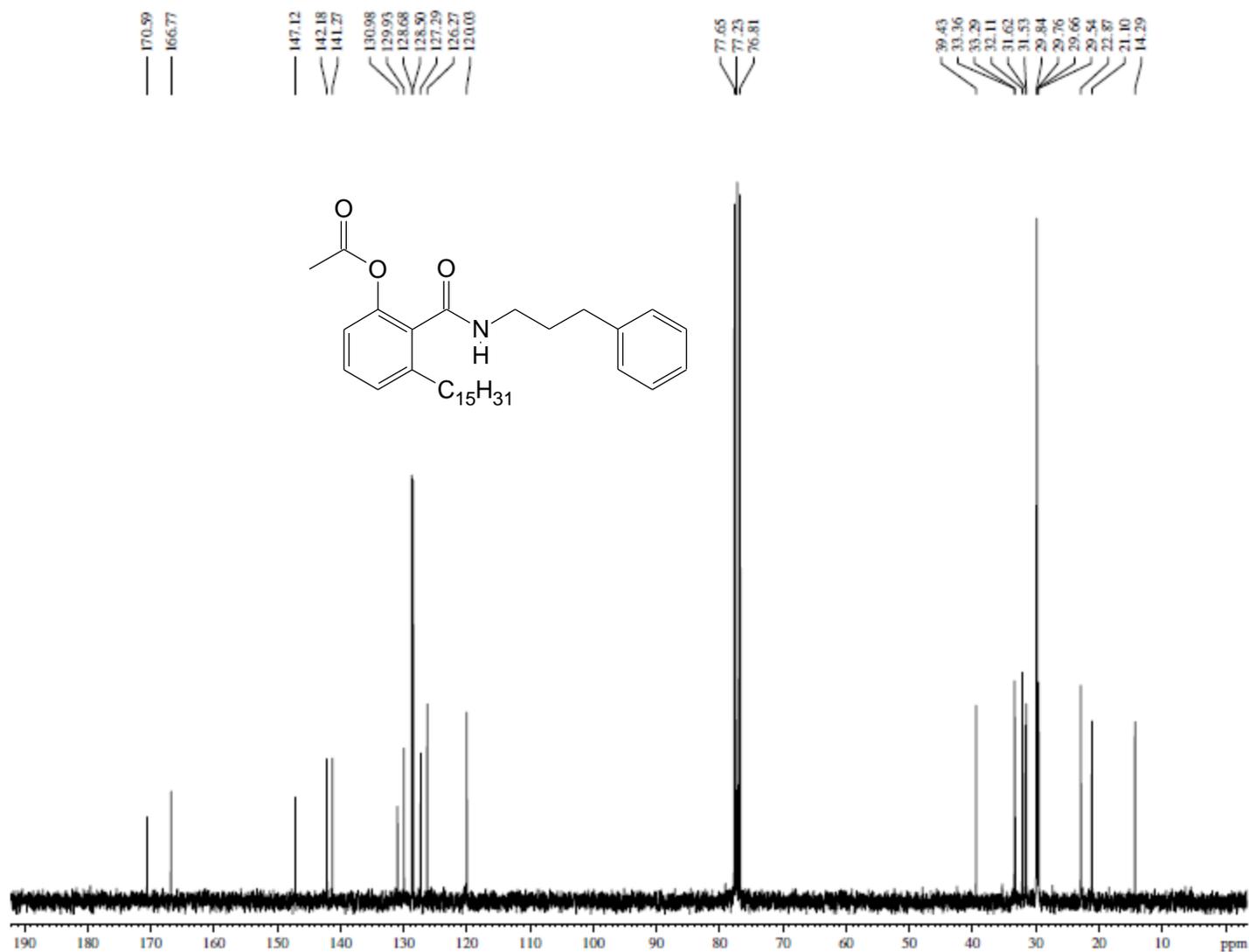
ANEXO 49 – ESPECTRO NO INFRAVERMELHO ( $\nu$   $\text{cm}^{-1}$ , KBr) – LDT679 (40)

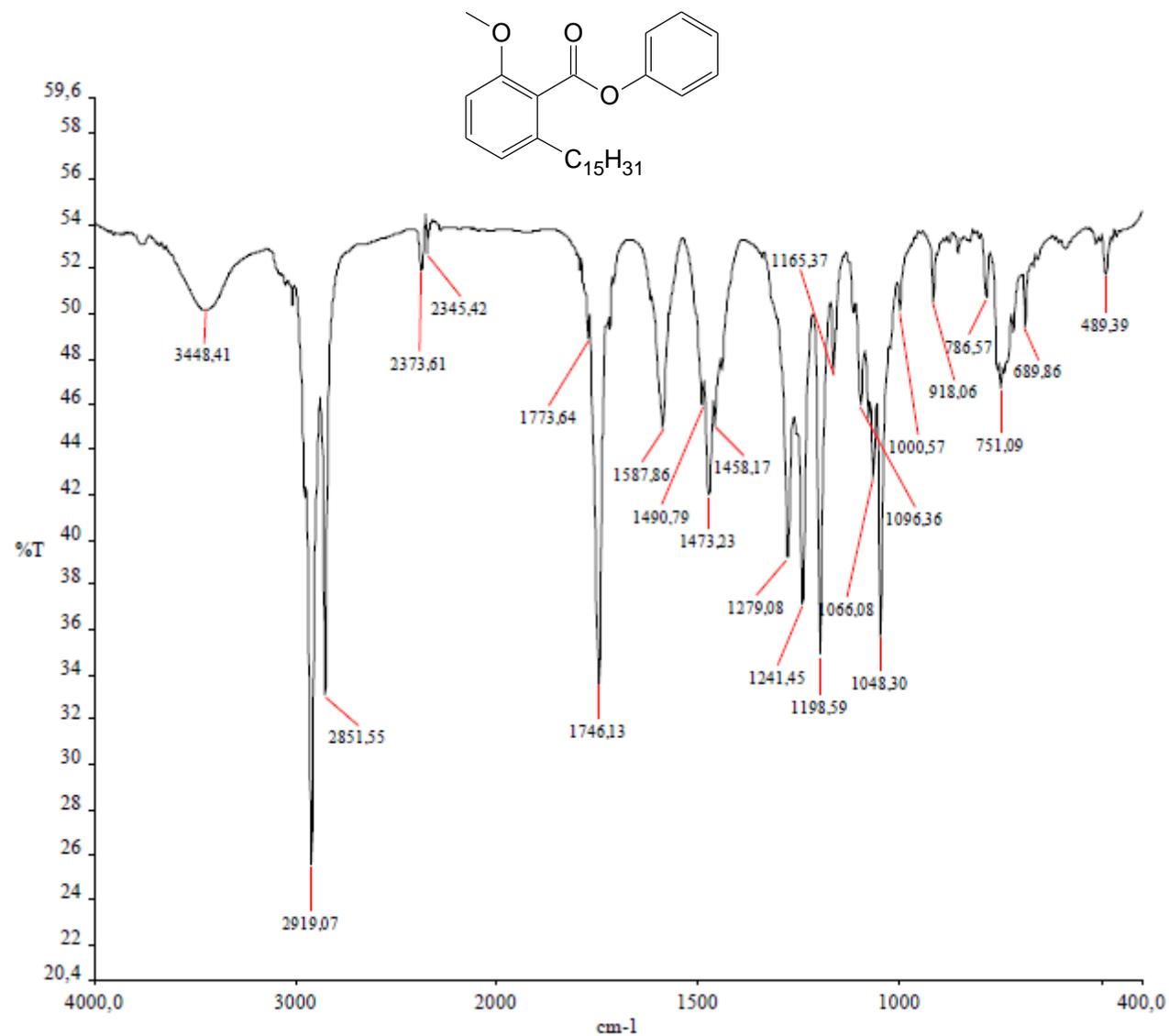
ANEXO 50 – ESPECTRO DE RMN <sup>1</sup>H (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) – LDT679 (40)

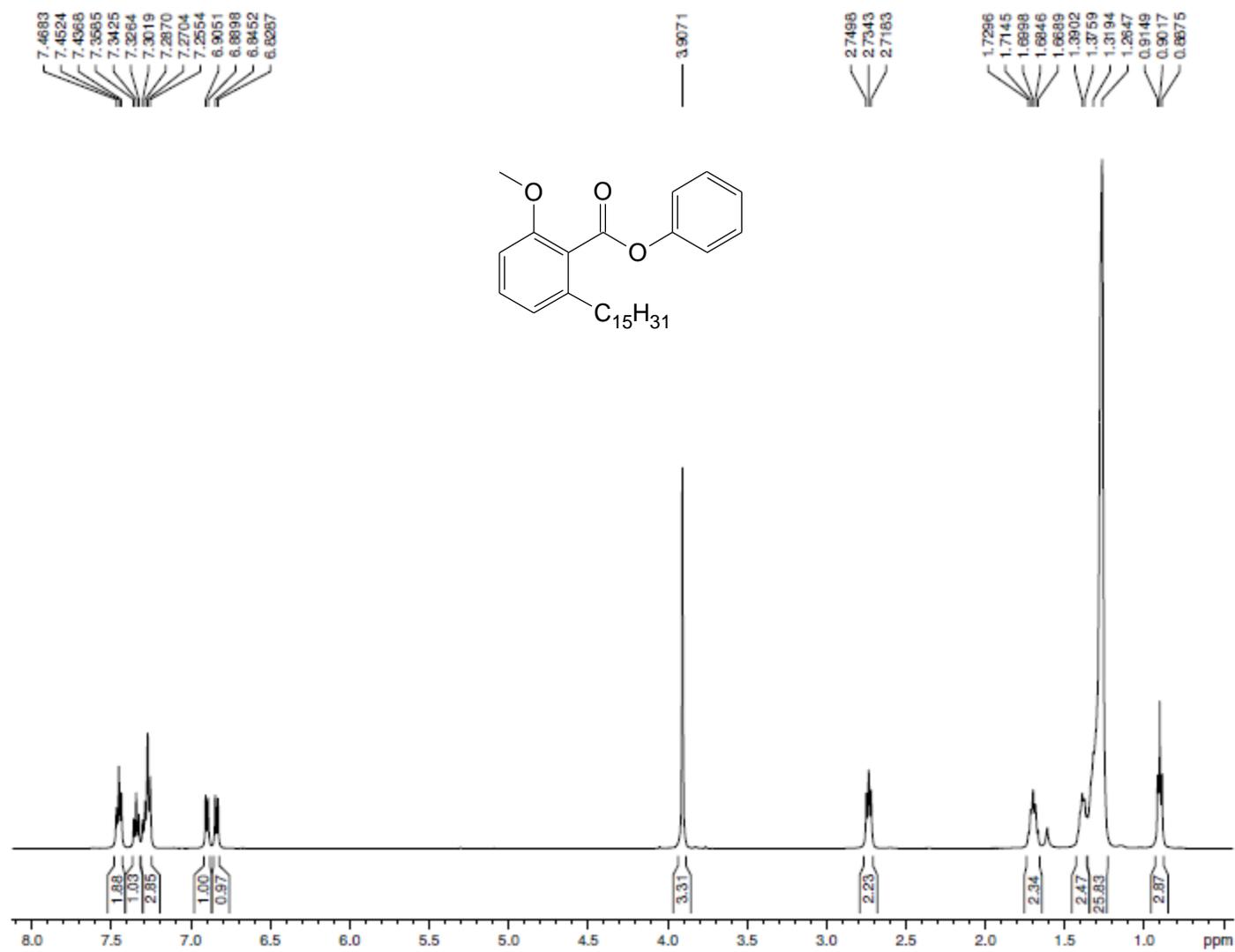
ANEXO 51 – ESPECTRO RMN  $^{13}\text{C}$  (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) – LDT679 (40)

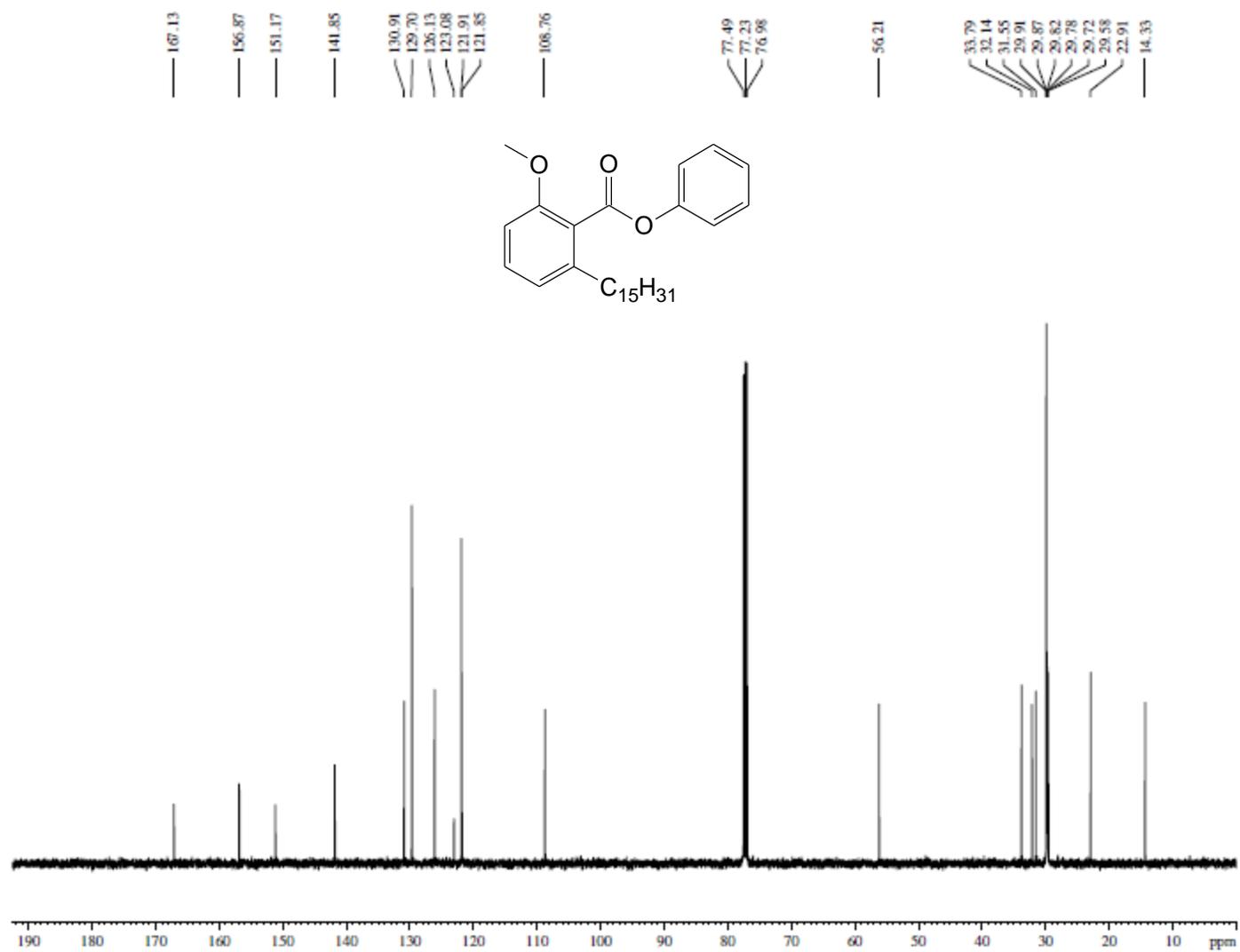
ANEXO 52 – ESPECTRO NO INFRAVERMELHO ( $\nu$   $\text{cm}^{-1}$ , KBr) – LDT681 (41)

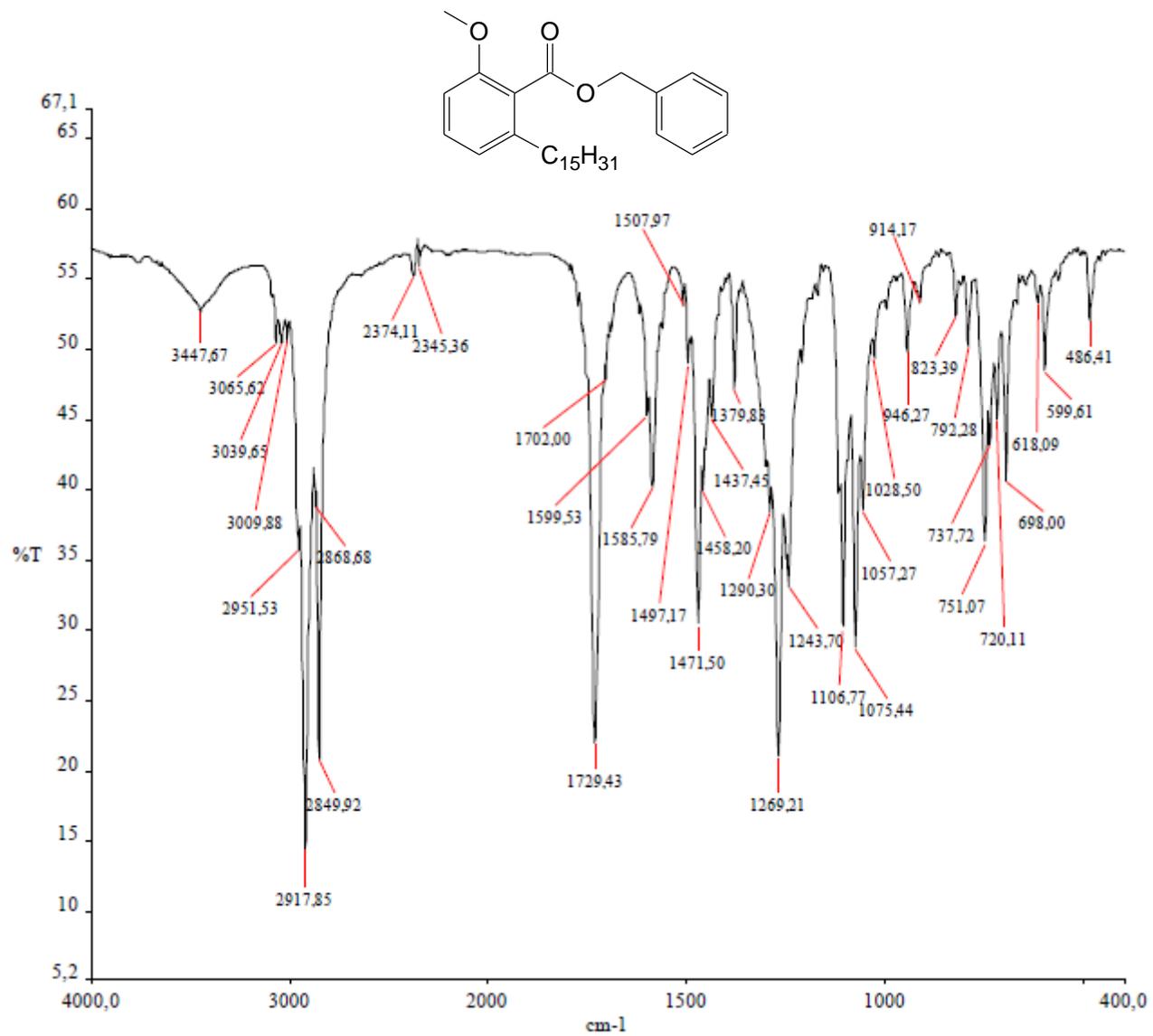
ANEXO 53 – ESPECTRO DE RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) – LDT681 (41)

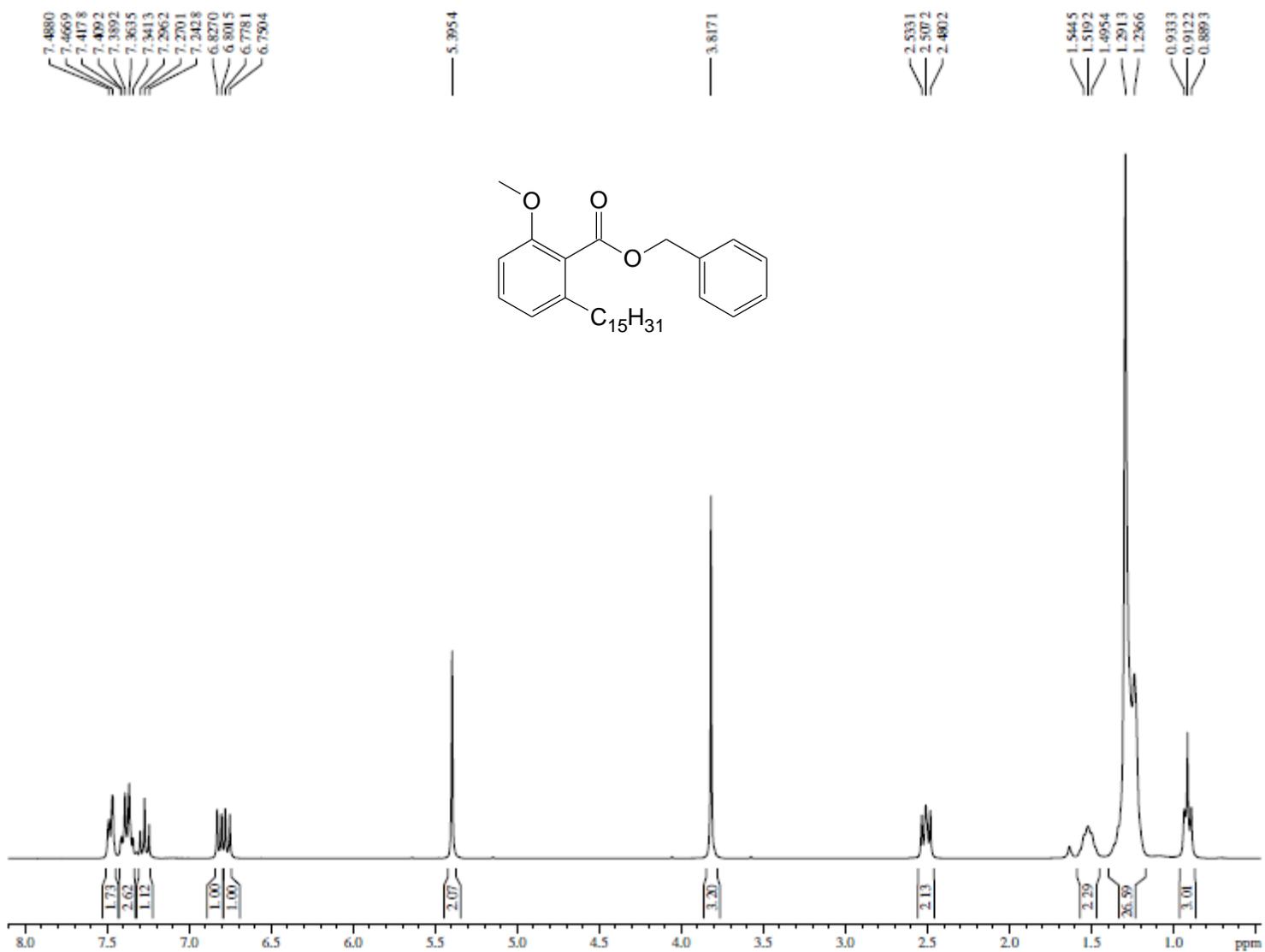
ANEXO 54 – ESPECTRO RMN  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) – LDT681 (41)

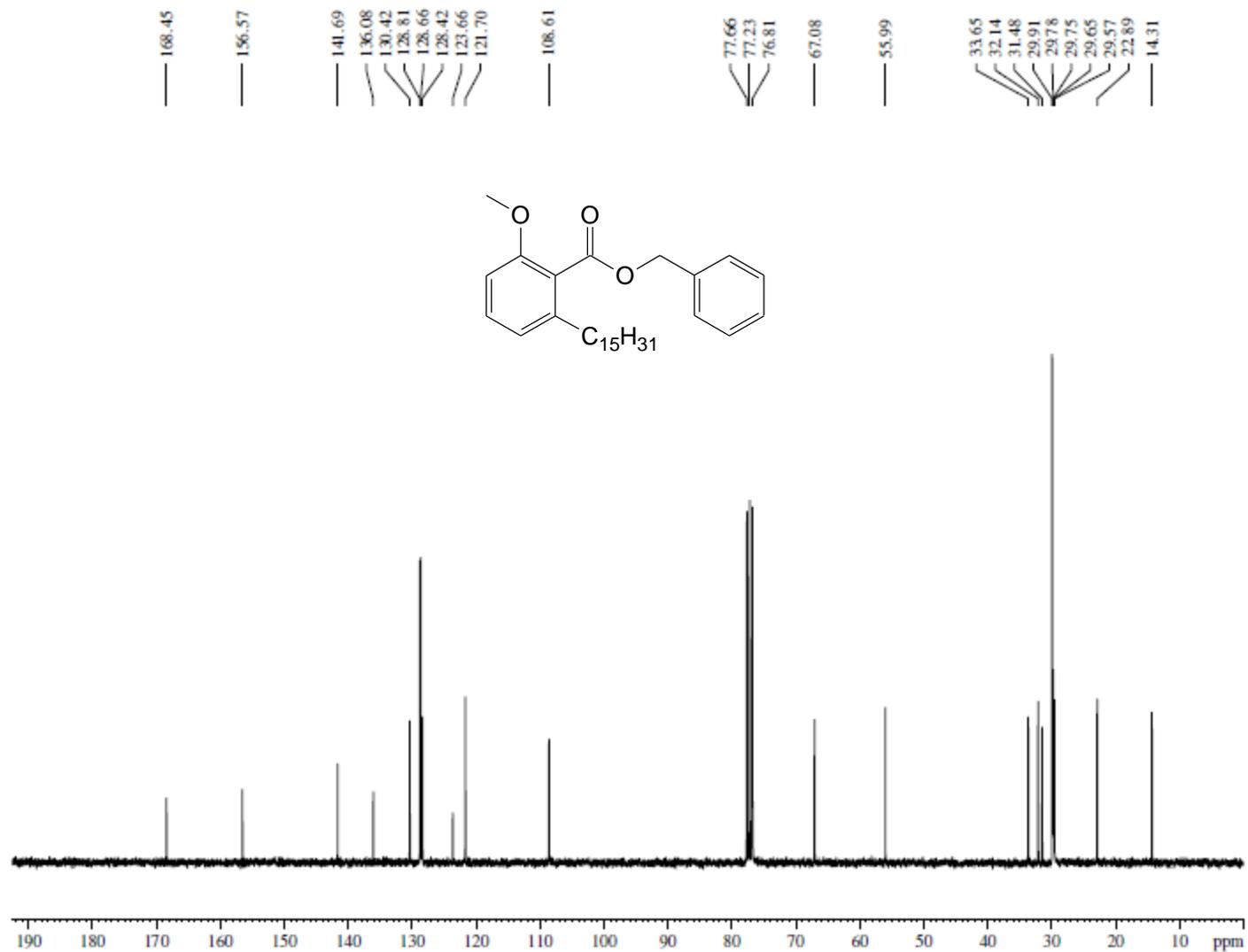
ANEXO 55 – ESPECTRO NO INFRAVERMELHO ( $\nu$   $\text{cm}^{-1}$ , KBr) – LDT667 (26)

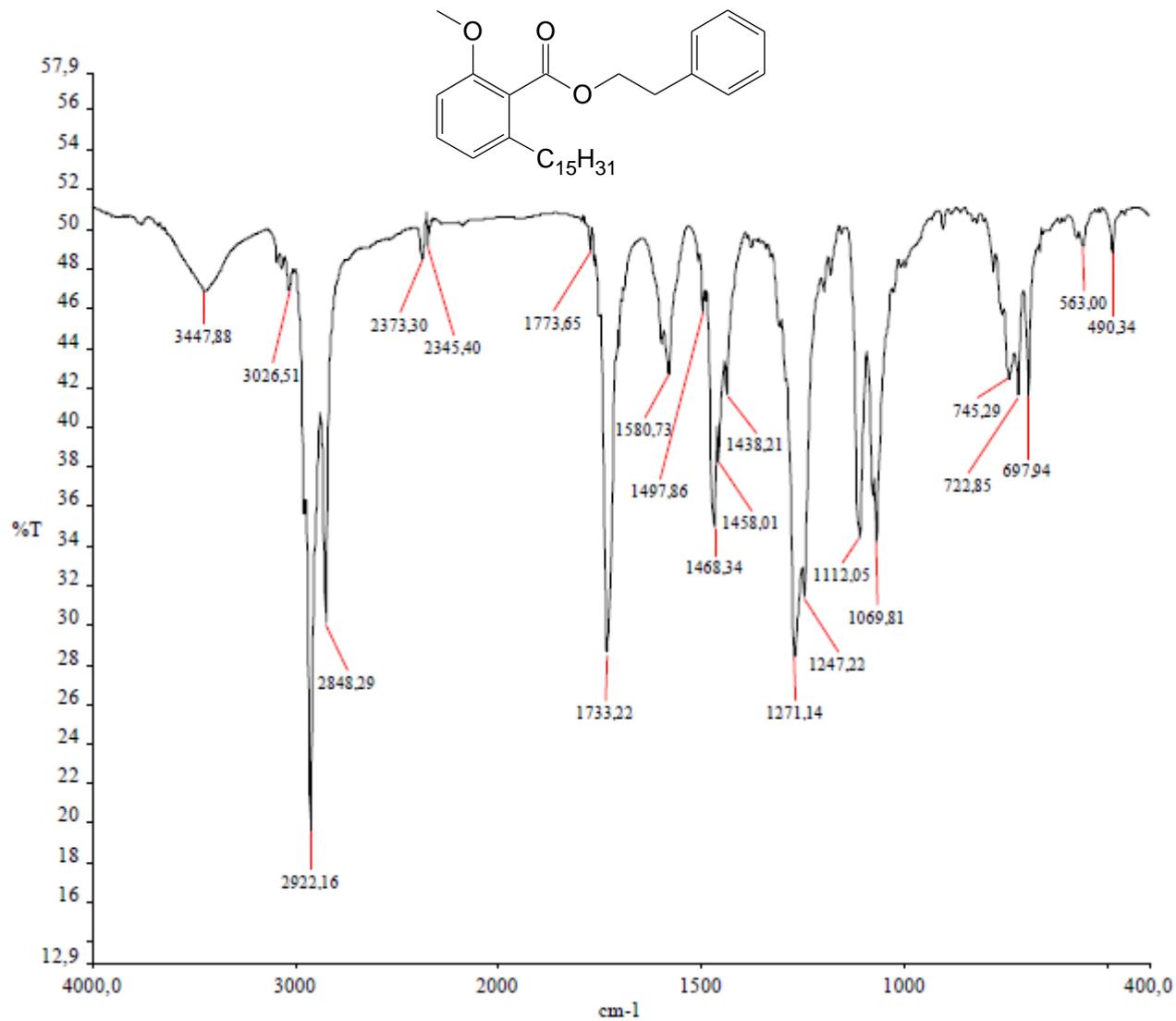
ANEXO 56 – ESPECTRO DE RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) – LDT667 (26)

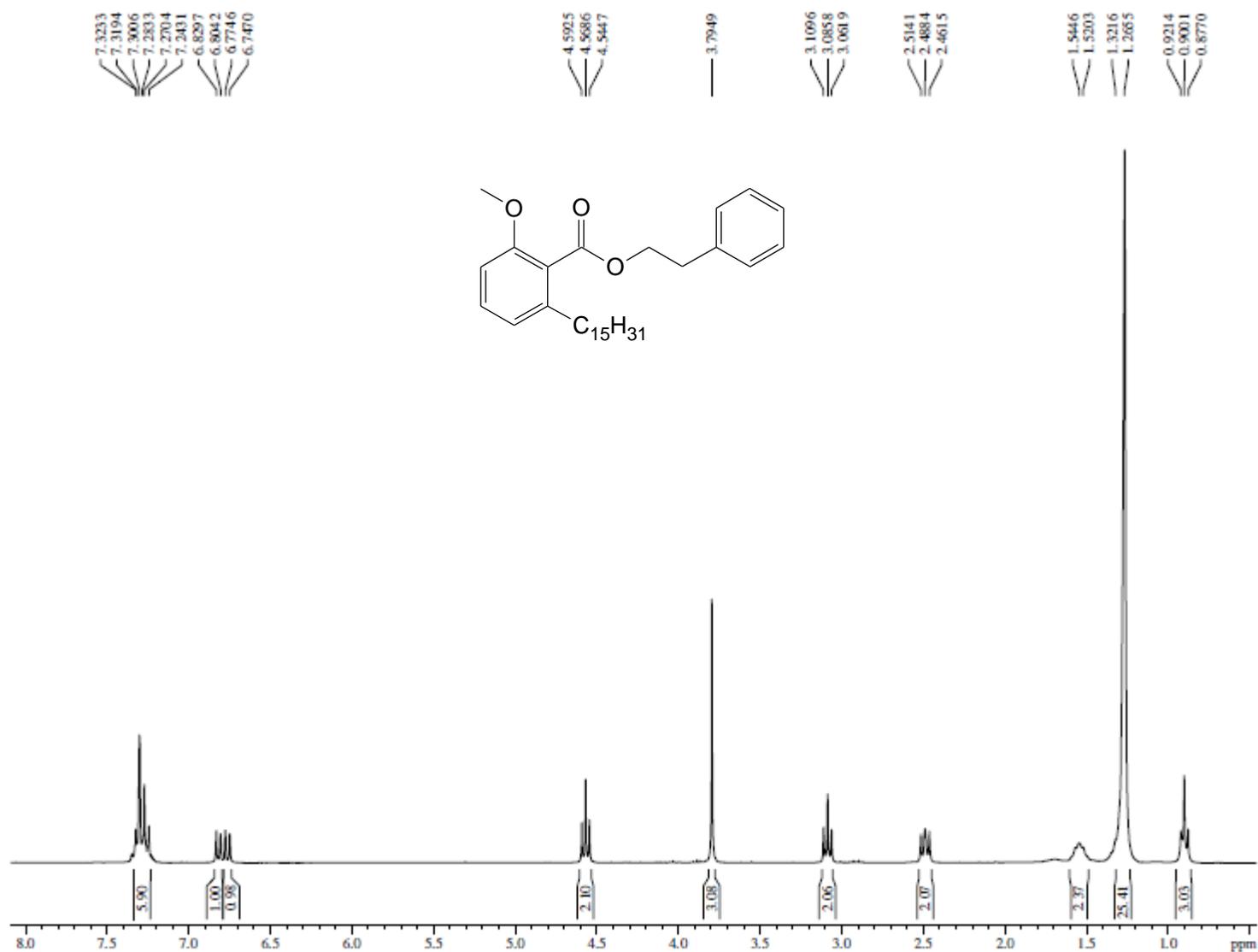
ANEXO 57 – ESPECTRO RMN  $^{13}\text{C}$  (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) – LDT667 (26)

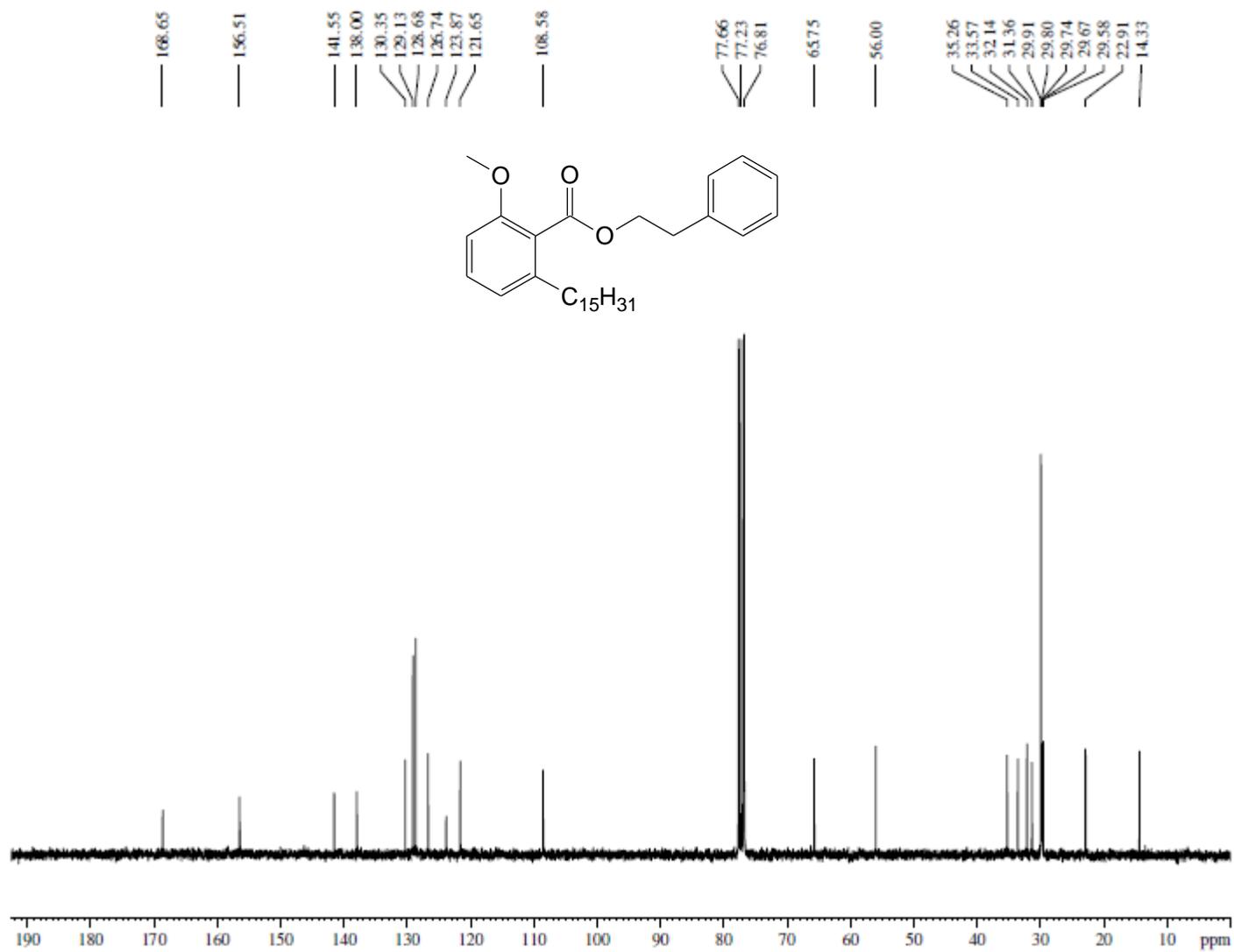
ANEXO 58 – ESPECTRO NO INFRAVERMELHO ( $\nu$   $\text{cm}^{-1}$ , KBr) – LDT669 (27)

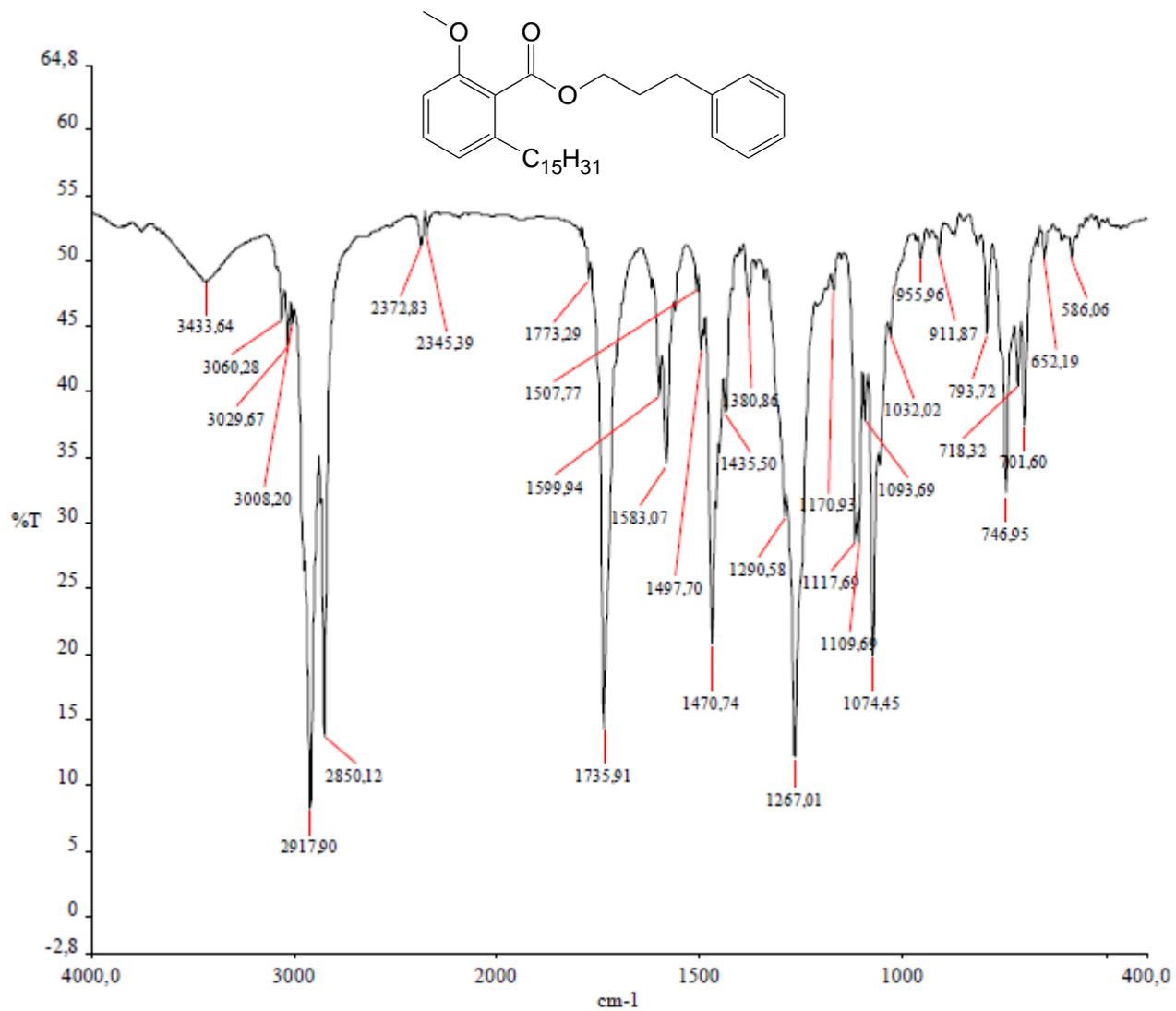
ANEXO 59 – ESPECTRO DE RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) – LDT669 (27)

ANEXO 60 – ESPECTRO RMN  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) – LDT669 (27)

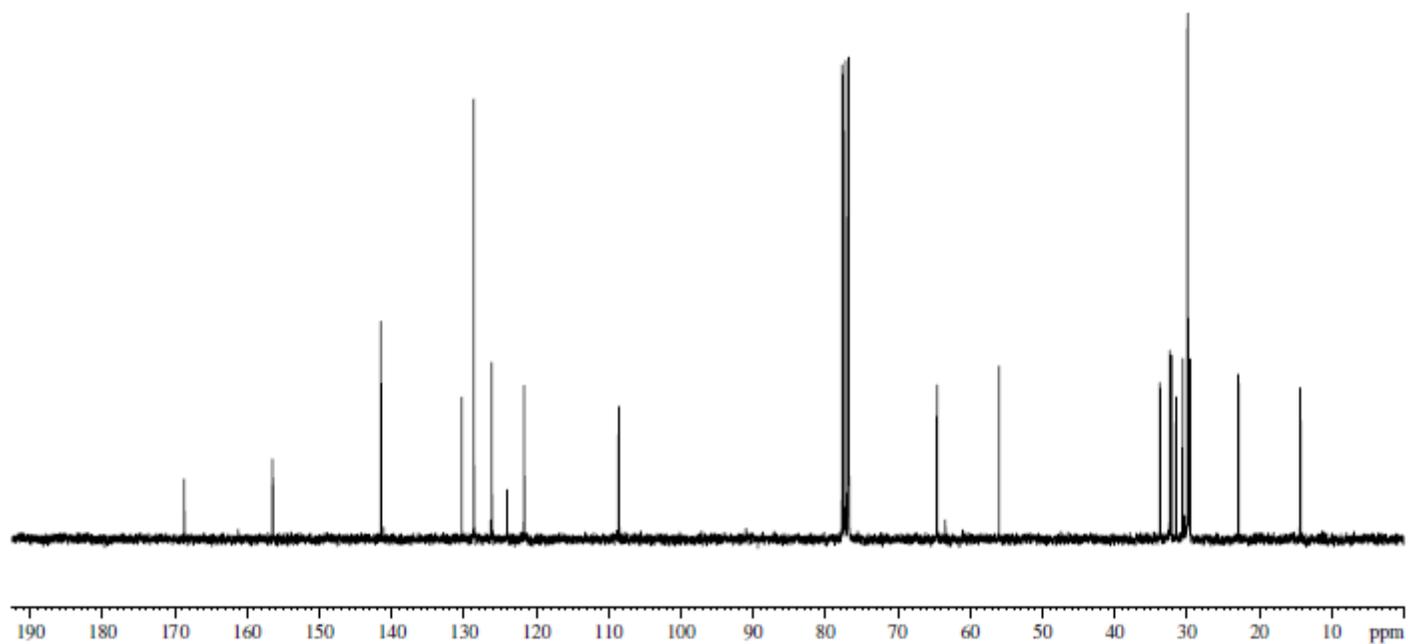
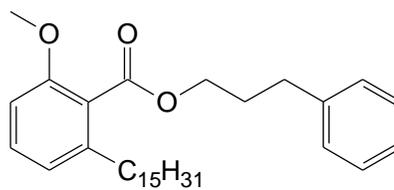
ANEXO 61 – ESPECTRO NO INFRAVERMELHO ( $\nu$   $\text{cm}^{-1}$ , KBr) – LDT671 (28)

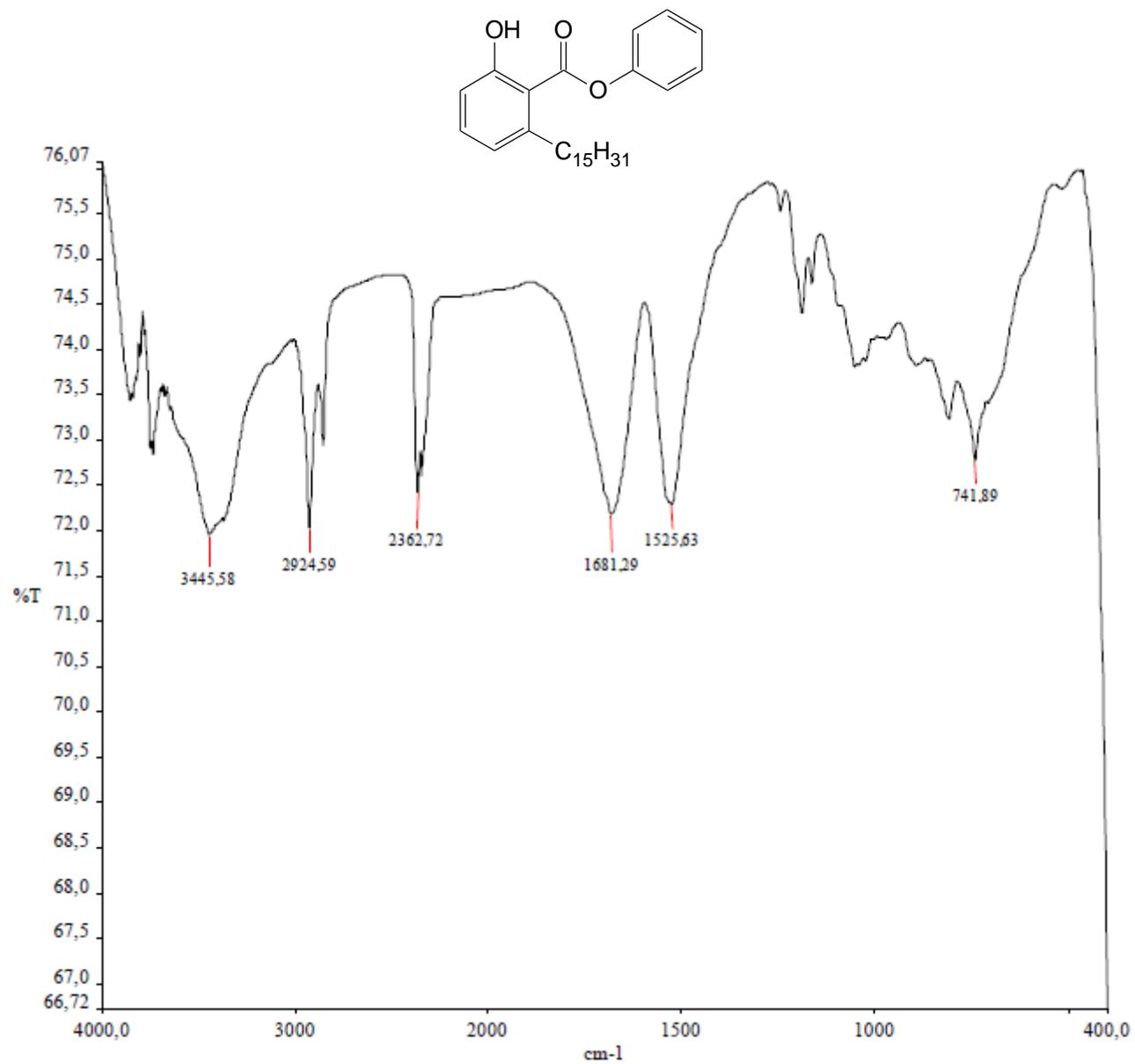
ANEXO 62 – ESPECTRO DE RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) – LDT671 (28)

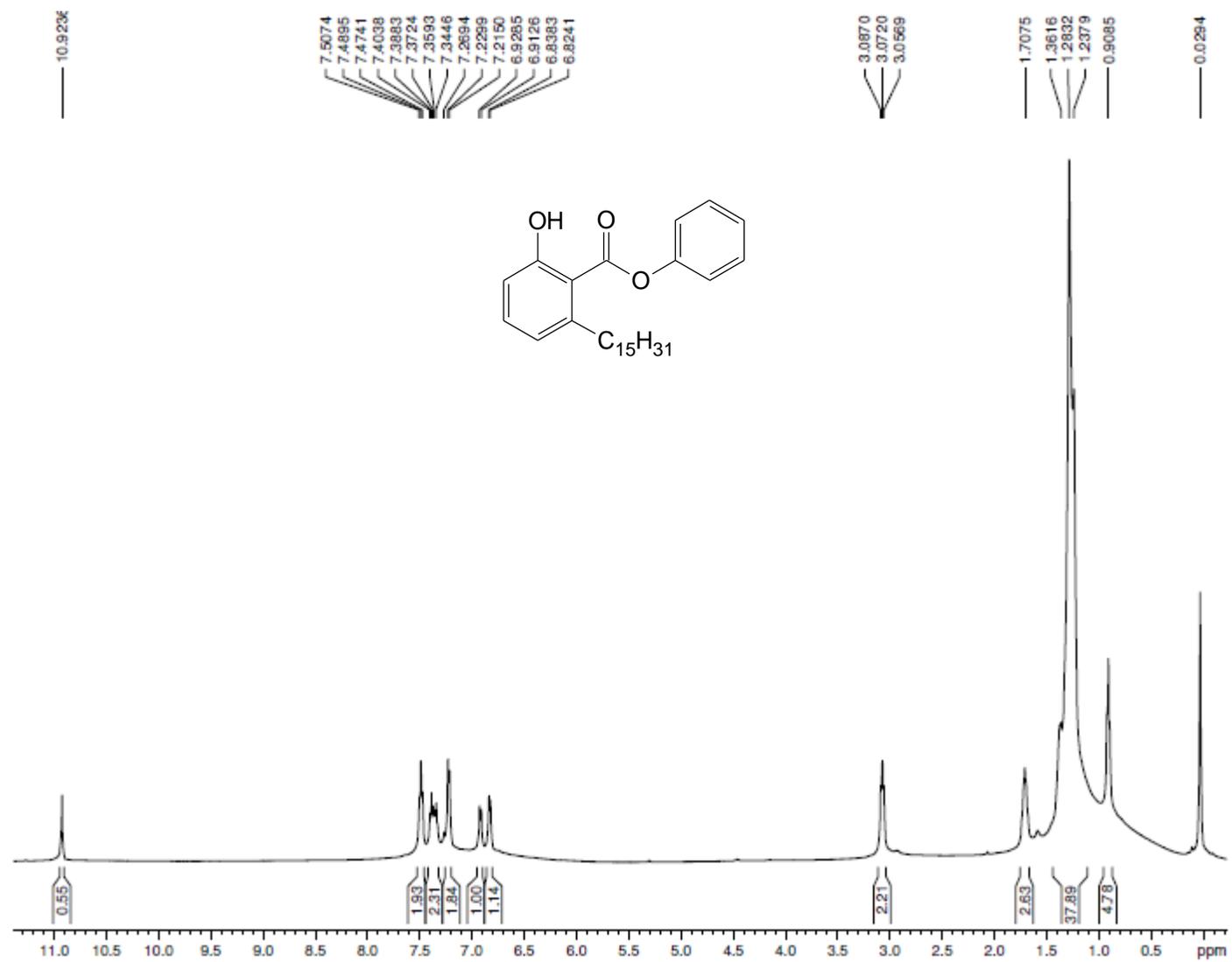
ANEXO 63 – ESPECTRO RMN  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) – LDT671 (28)

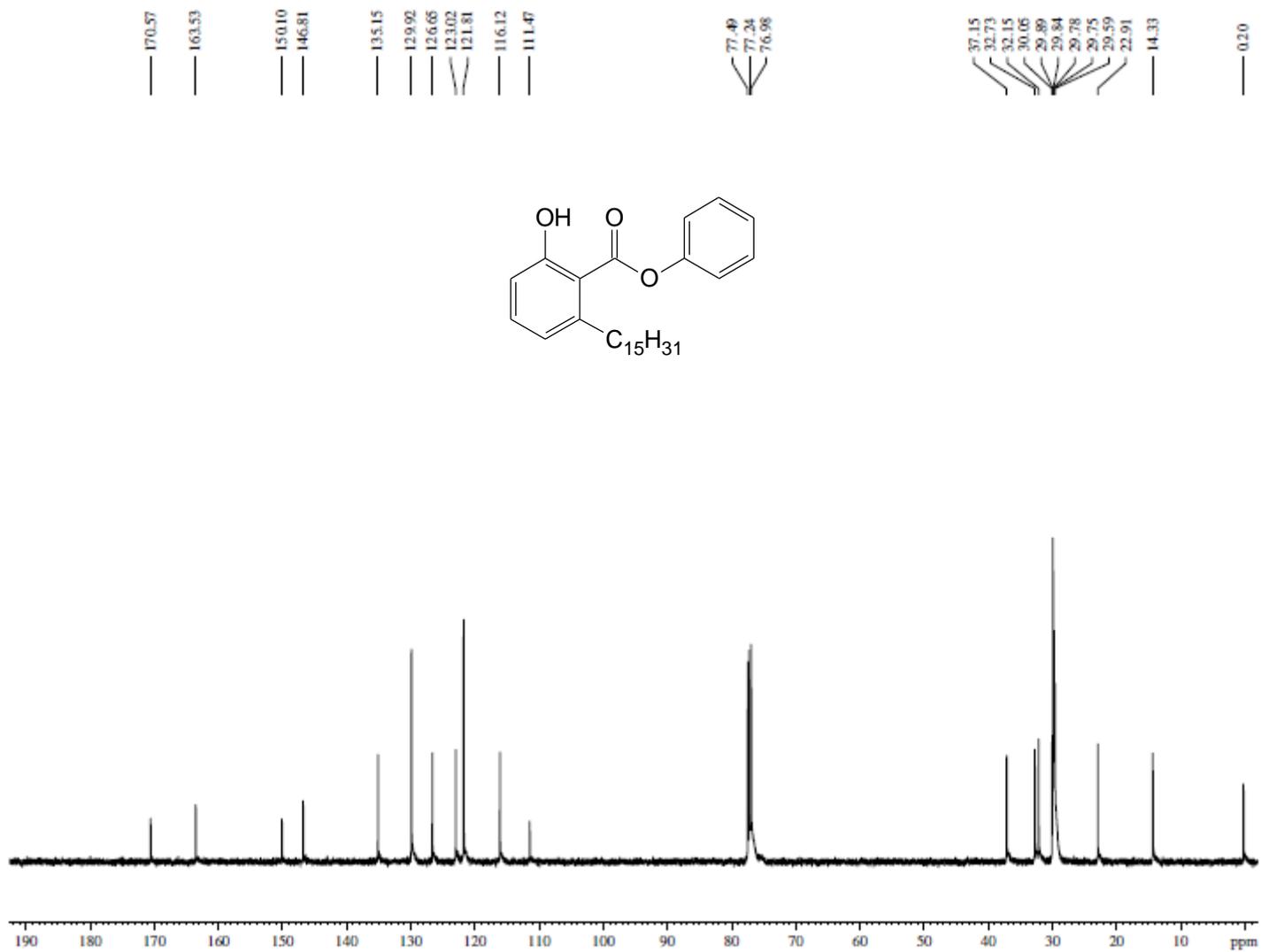
ANEXO 64 – ESPECTRO NO INFRAVERMELHO ( $\nu$   $\text{cm}^{-1}$ , KBr) – LDT673 (29)

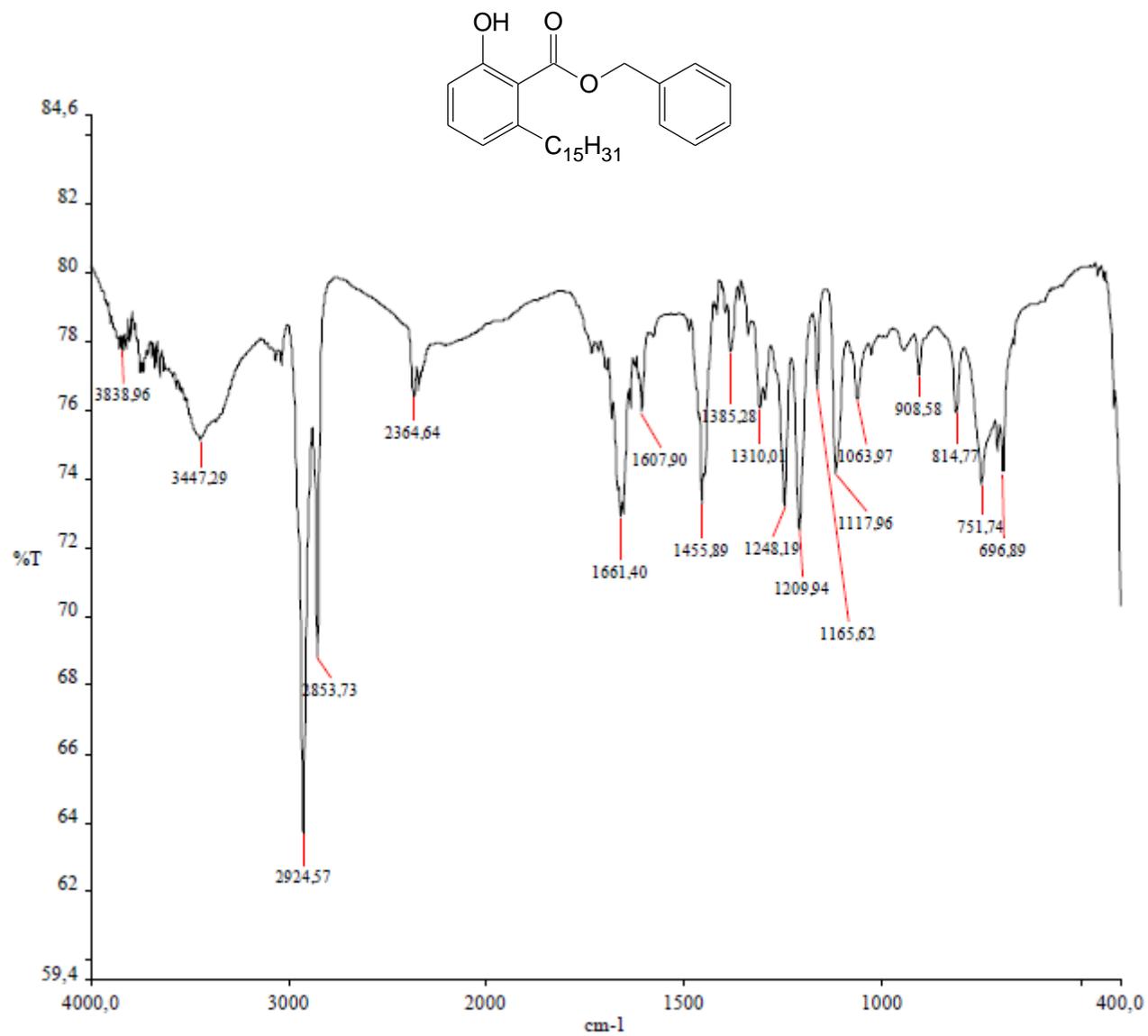
ANEXO 65 – ESPECTRO DE RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) – LDT673 (29)

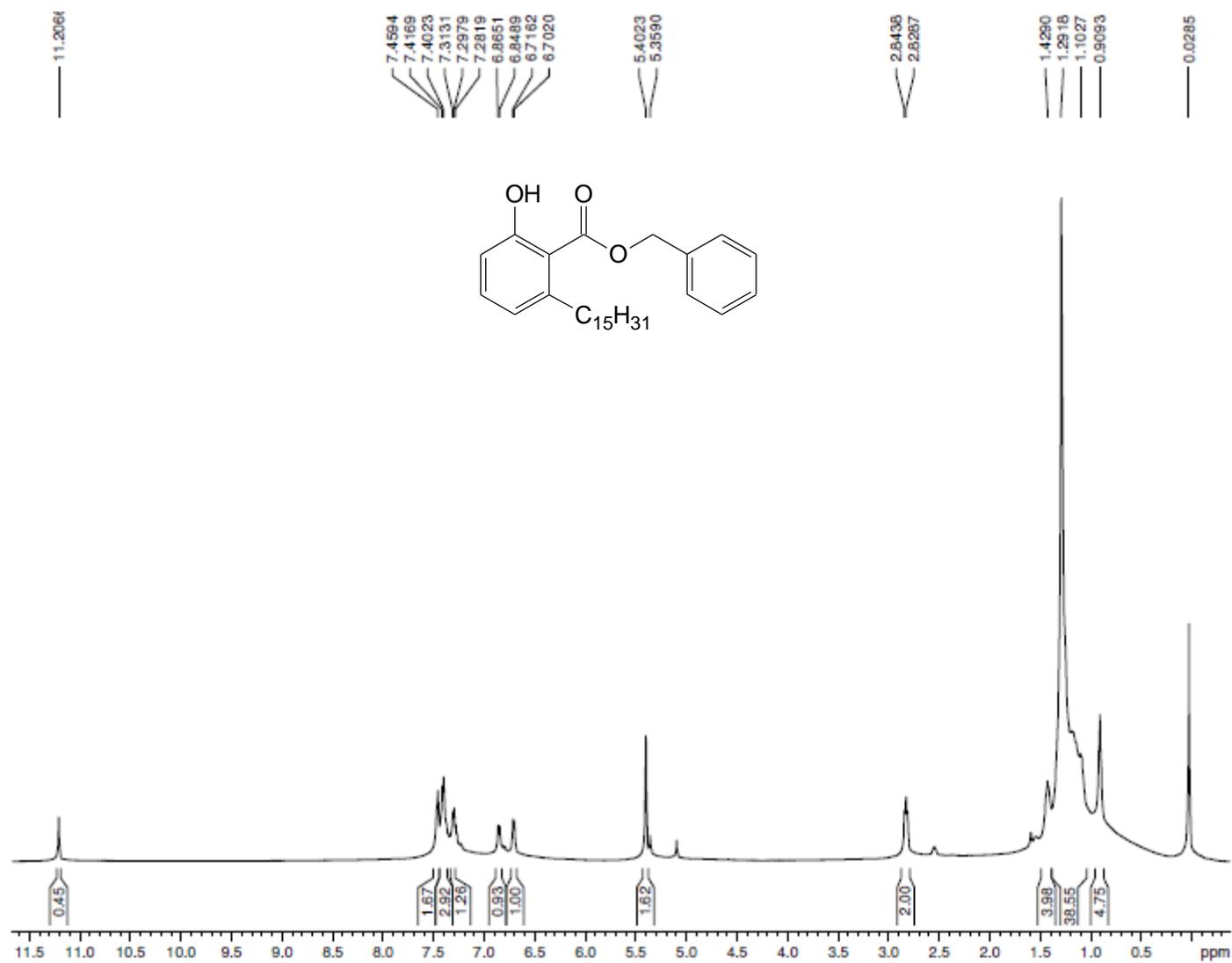
ANEXO 66 – ESPECTRO RMN  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) – LDT673 (29)

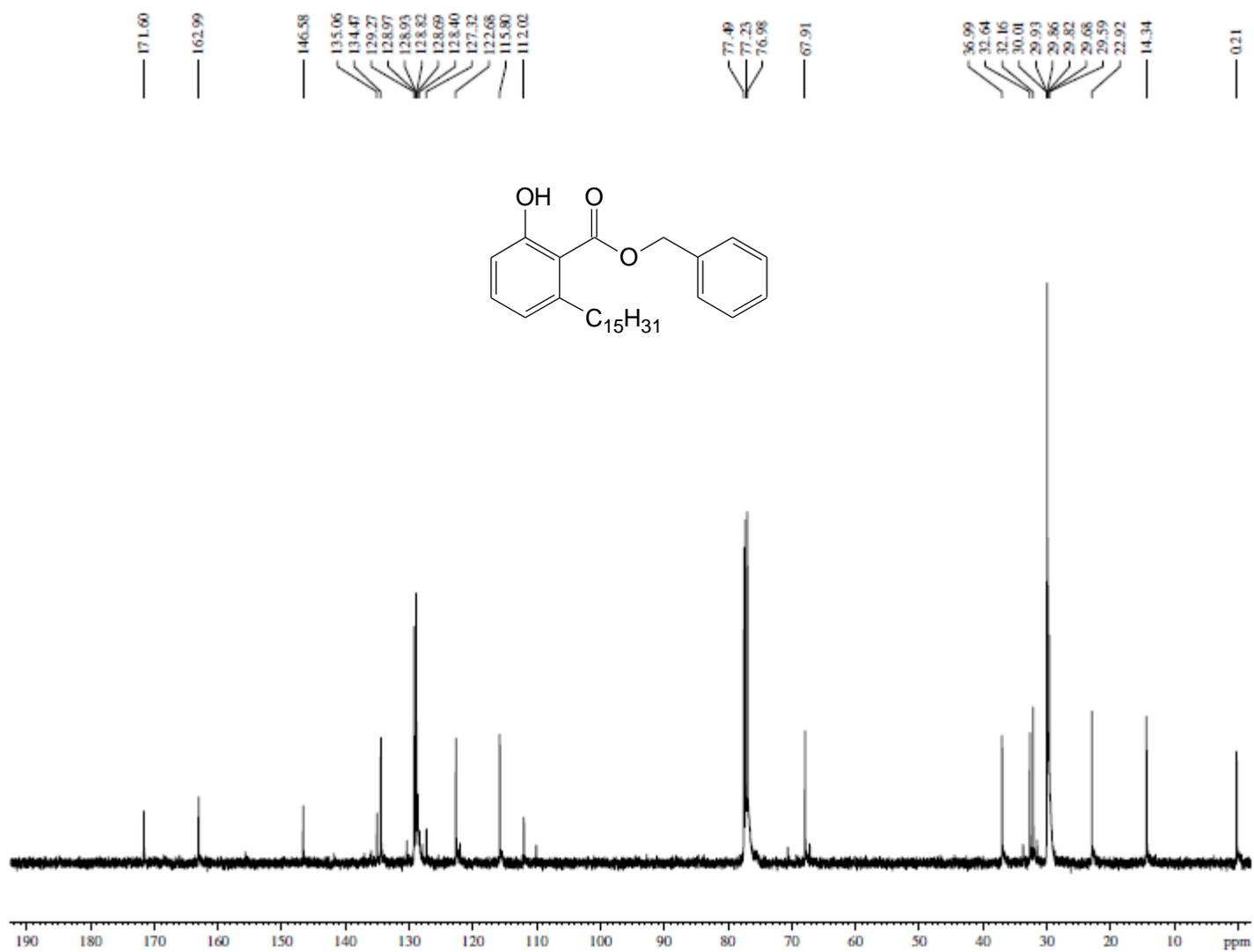
ANEXO 67 – ESPECTRO NO INFRAVERMELHO ( $\nu$   $\text{cm}^{-1}$ , KBr) – LDT659 (34)

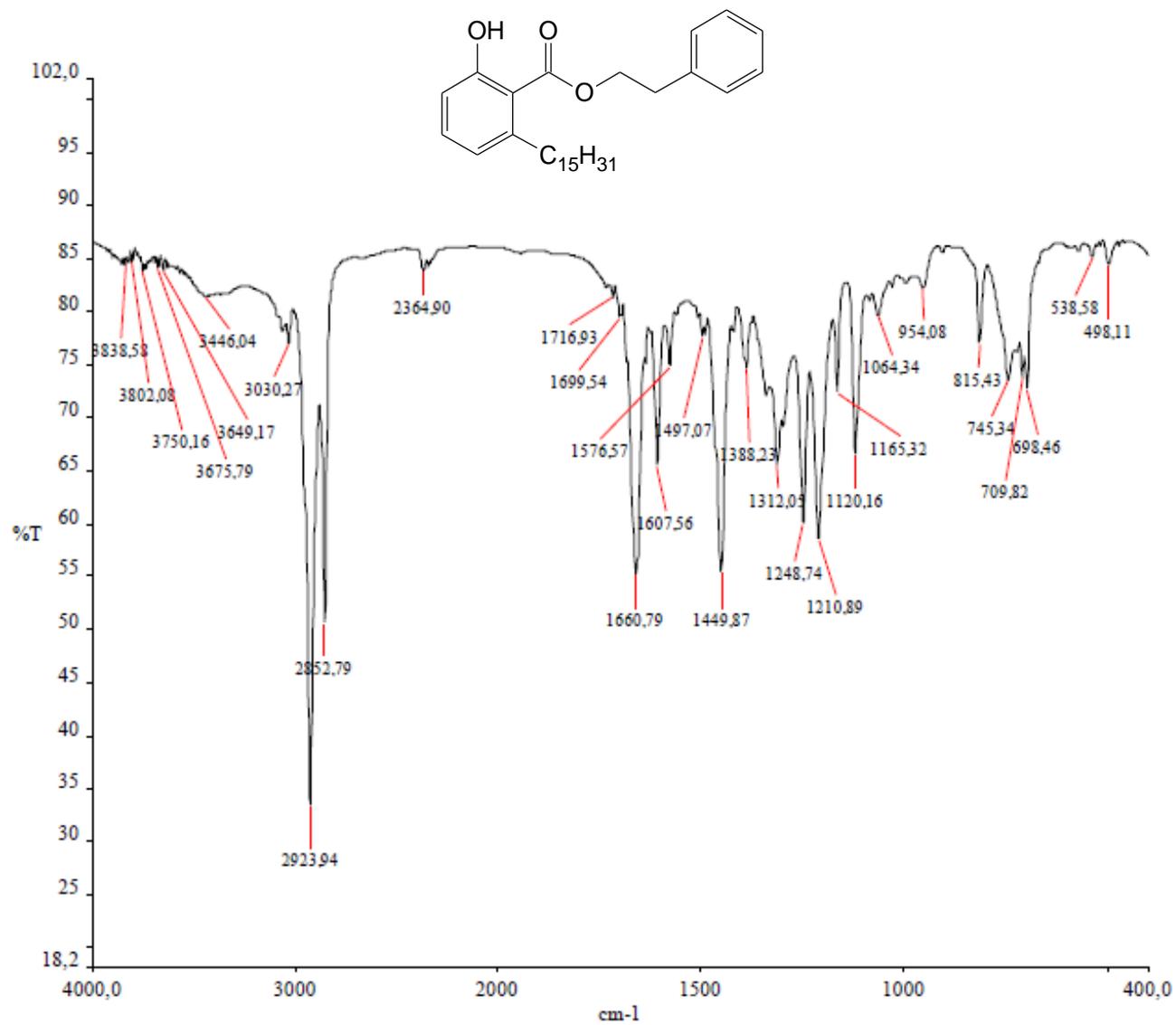
ANEXO 68 – ESPECTRO DE RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) – LDT659 (34)

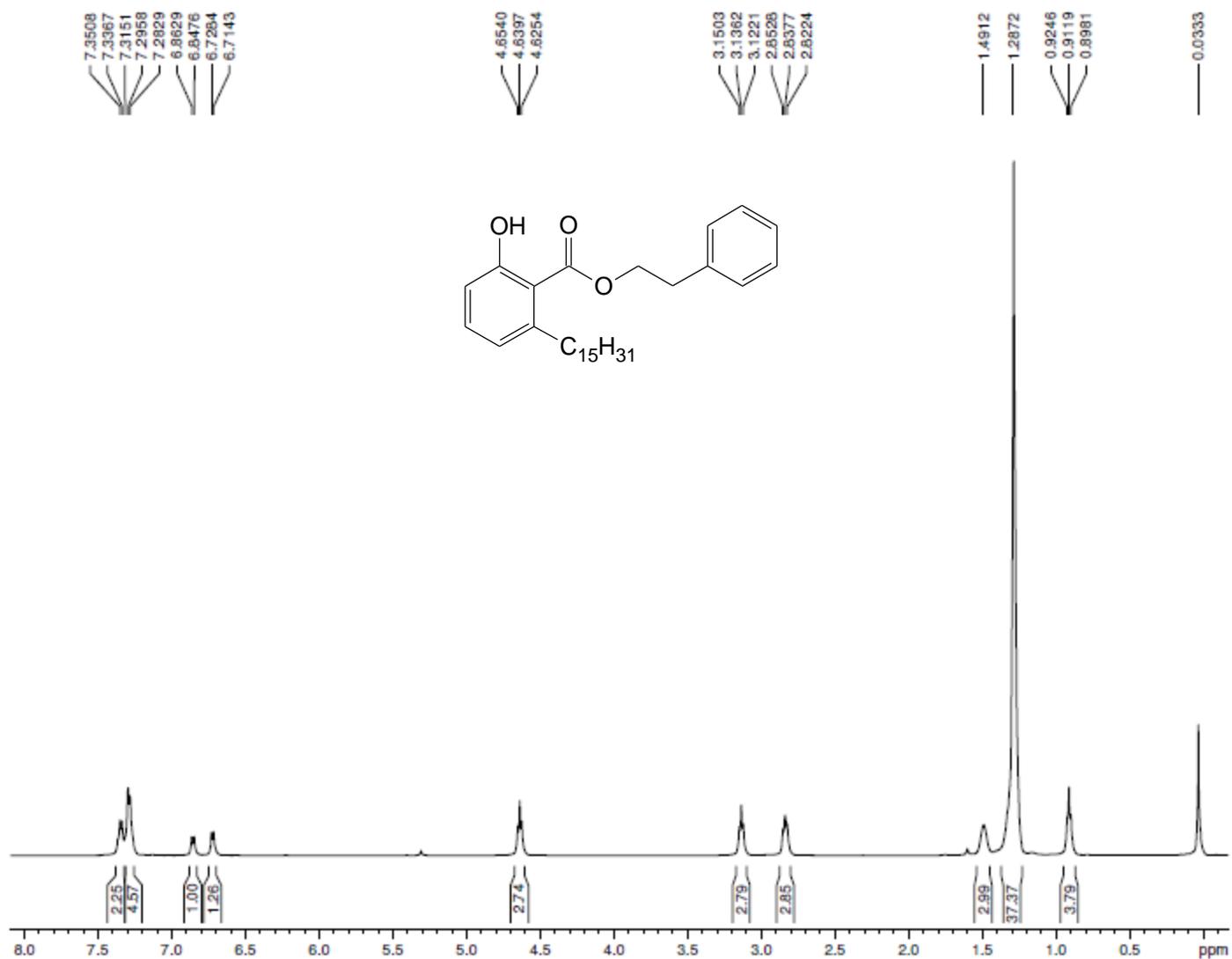
ANEXO 69 – ESPECTRO RMN  $^{13}\text{C}$  (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) – LDT659 (34)

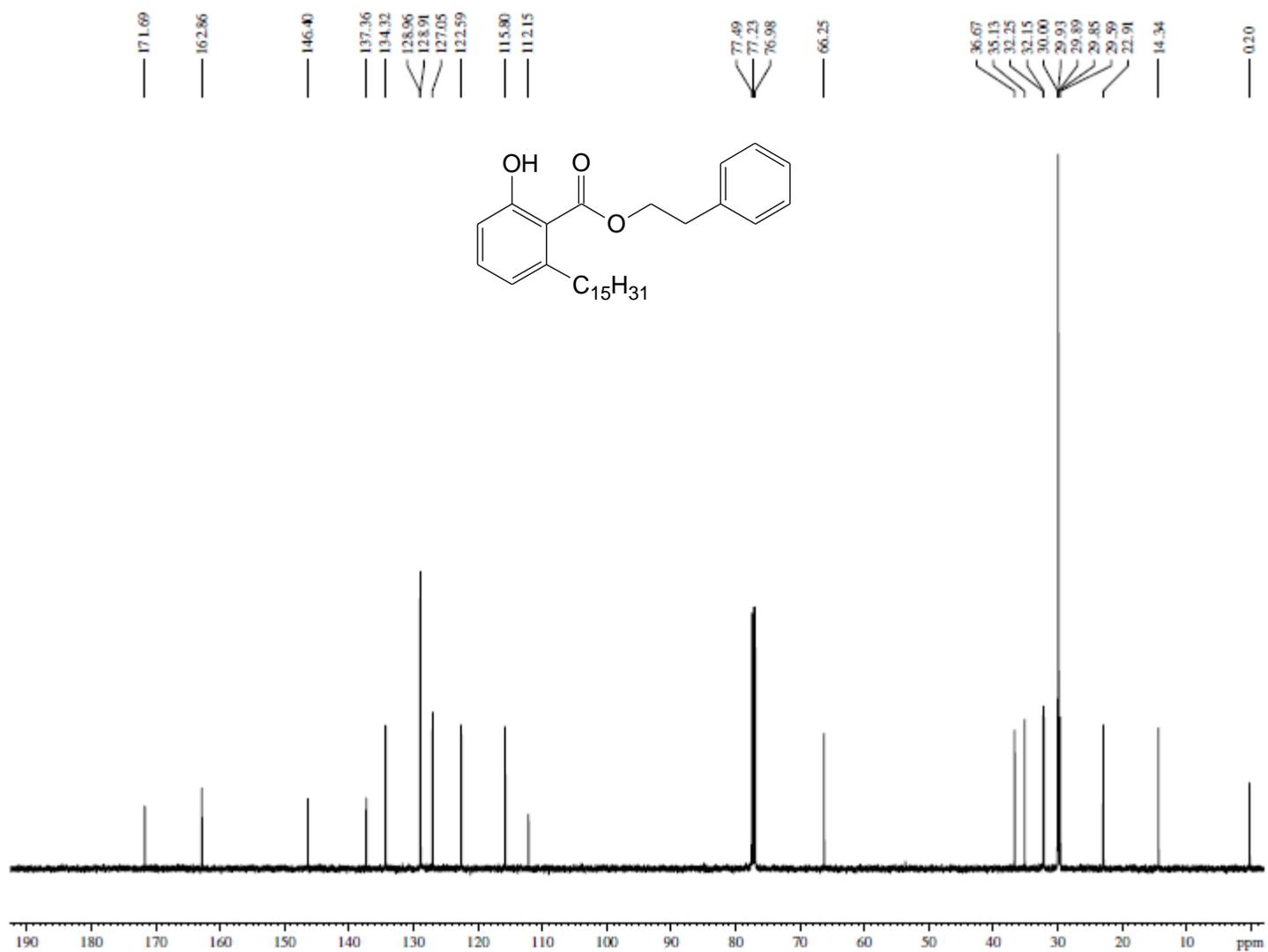
ANEXO 70 – ESPECTRO NO INFRAVERMELHO ( $\nu$   $\text{cm}^{-1}$ , KBr) – LDT661 (35)

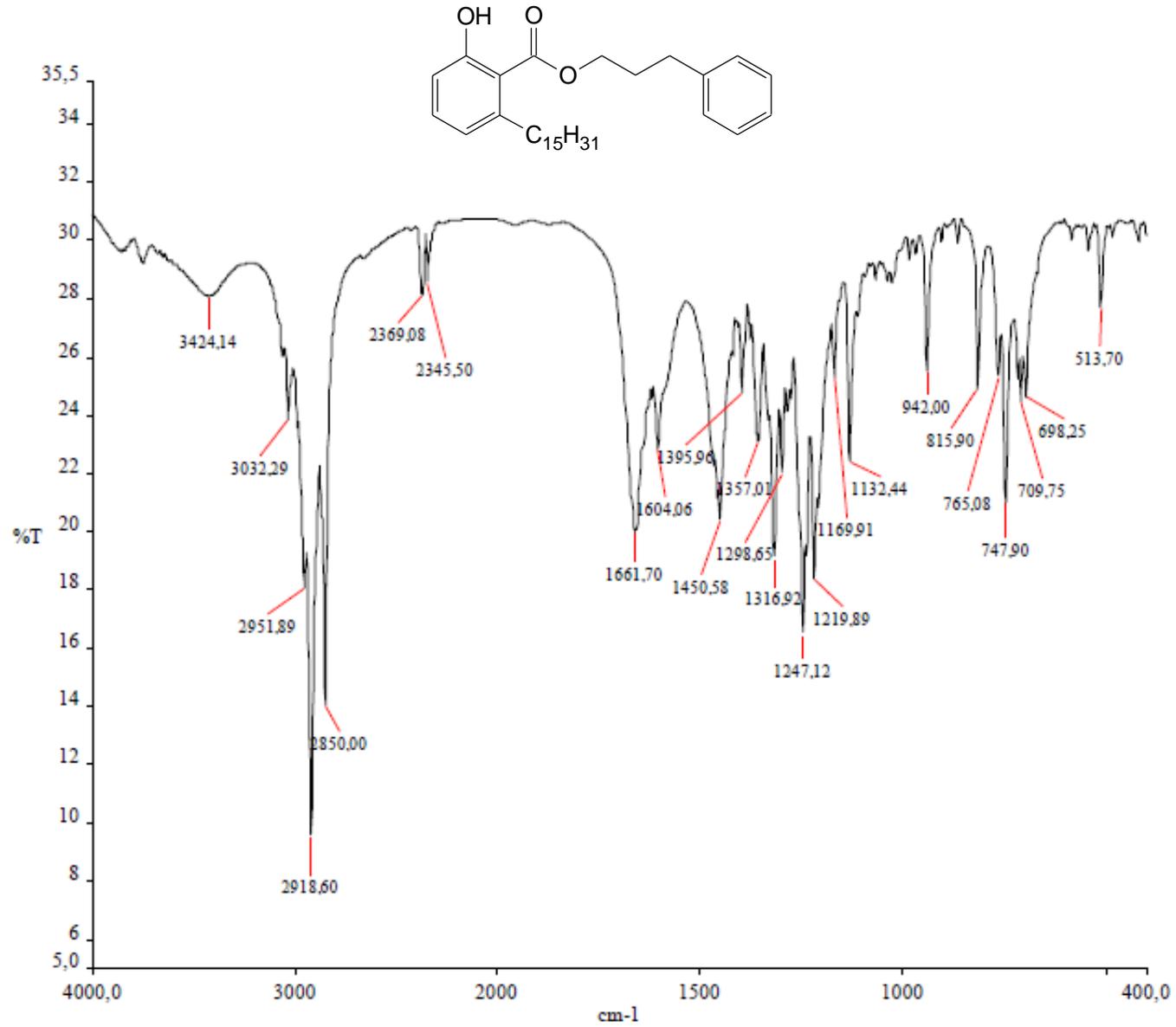
ANEXO 71 – ESPECTRO DE RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) – LDT661 (35)

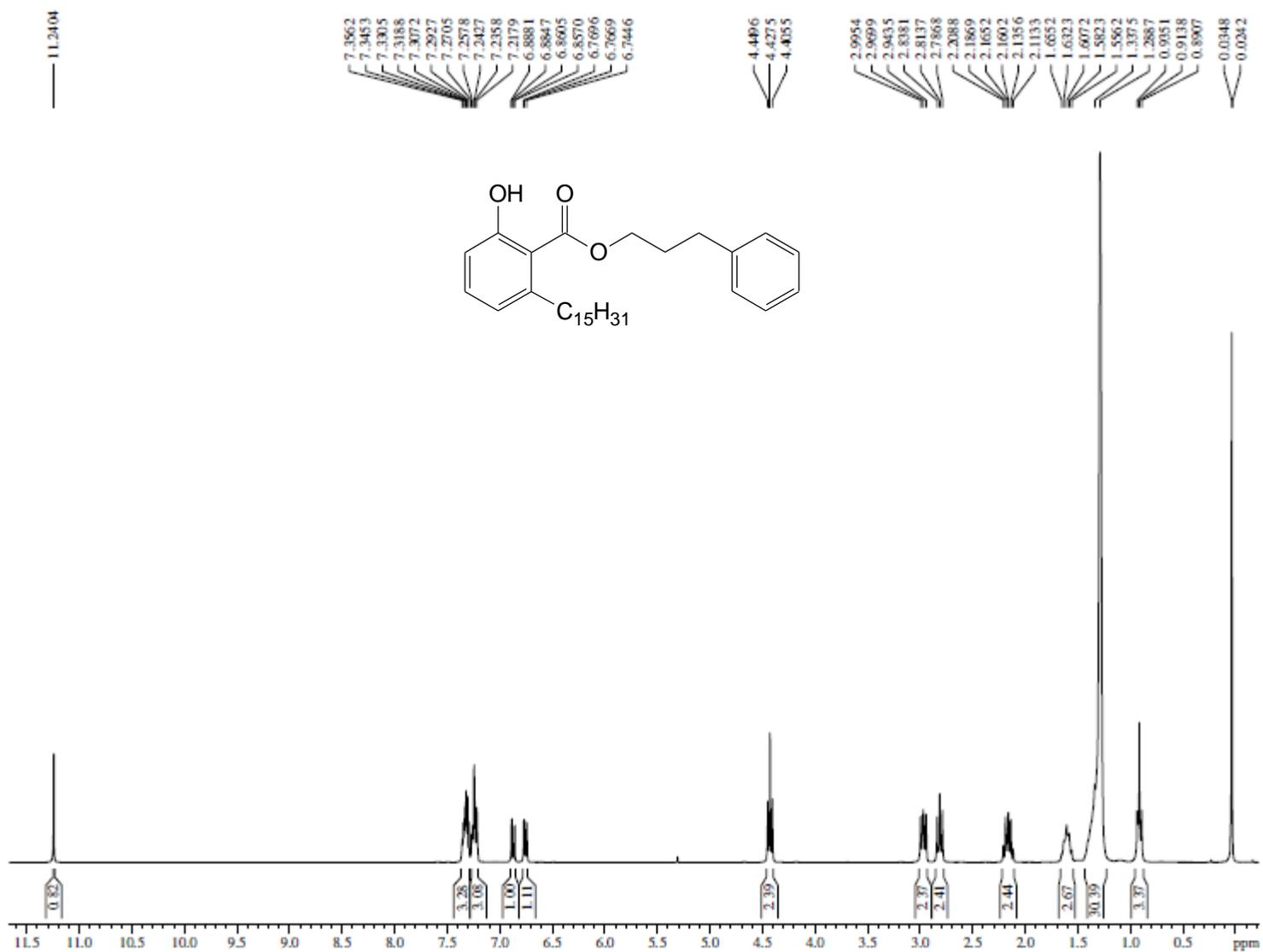
ANEXO 72 – ESPECTRO RMN  $^{13}\text{C}$  (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) – LDT661 (35)

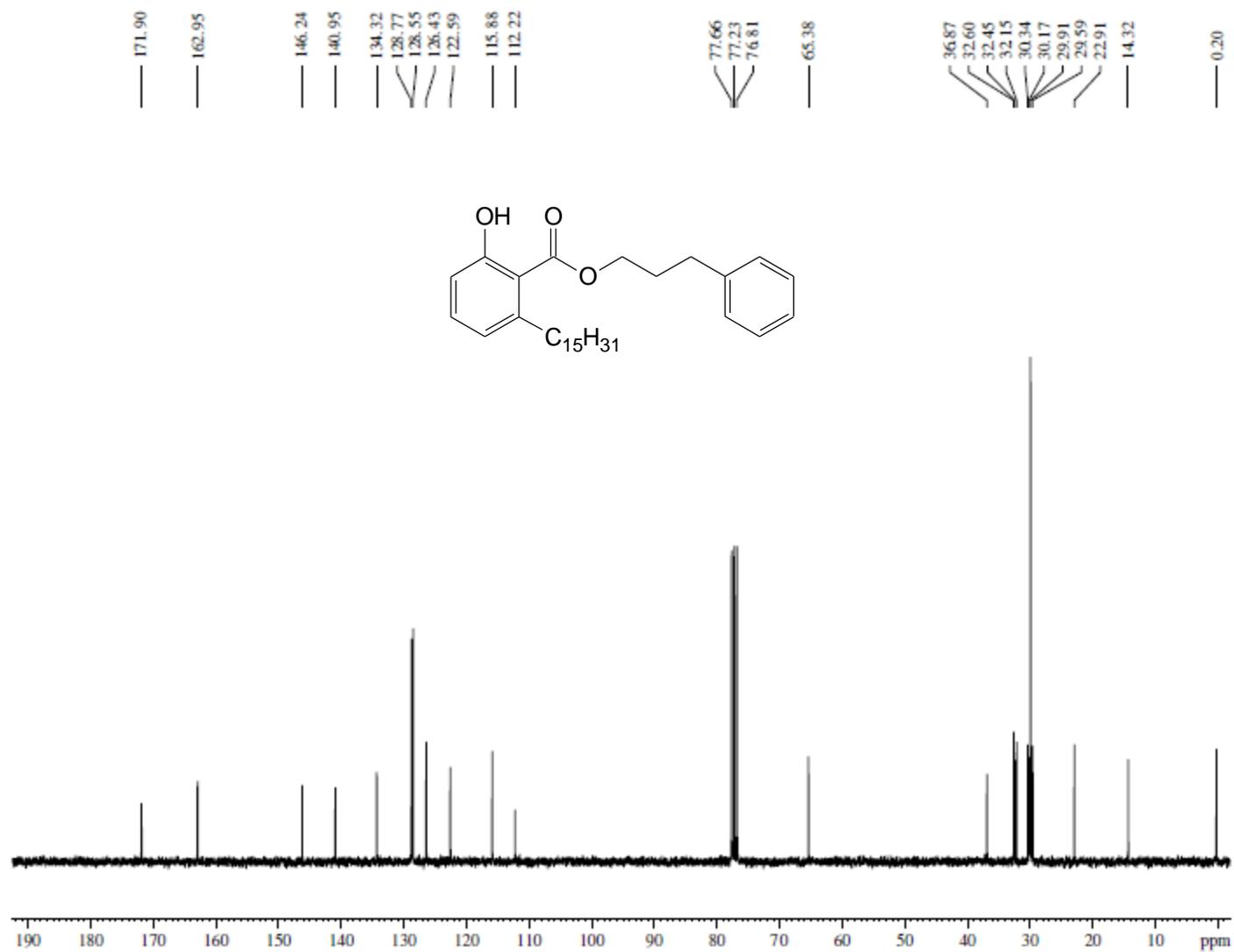
ANEXO 73 – ESPECTRO NO INFRAVERMELHO ( $\nu$   $\text{cm}^{-1}$ , KBr) – LDT663 (36)

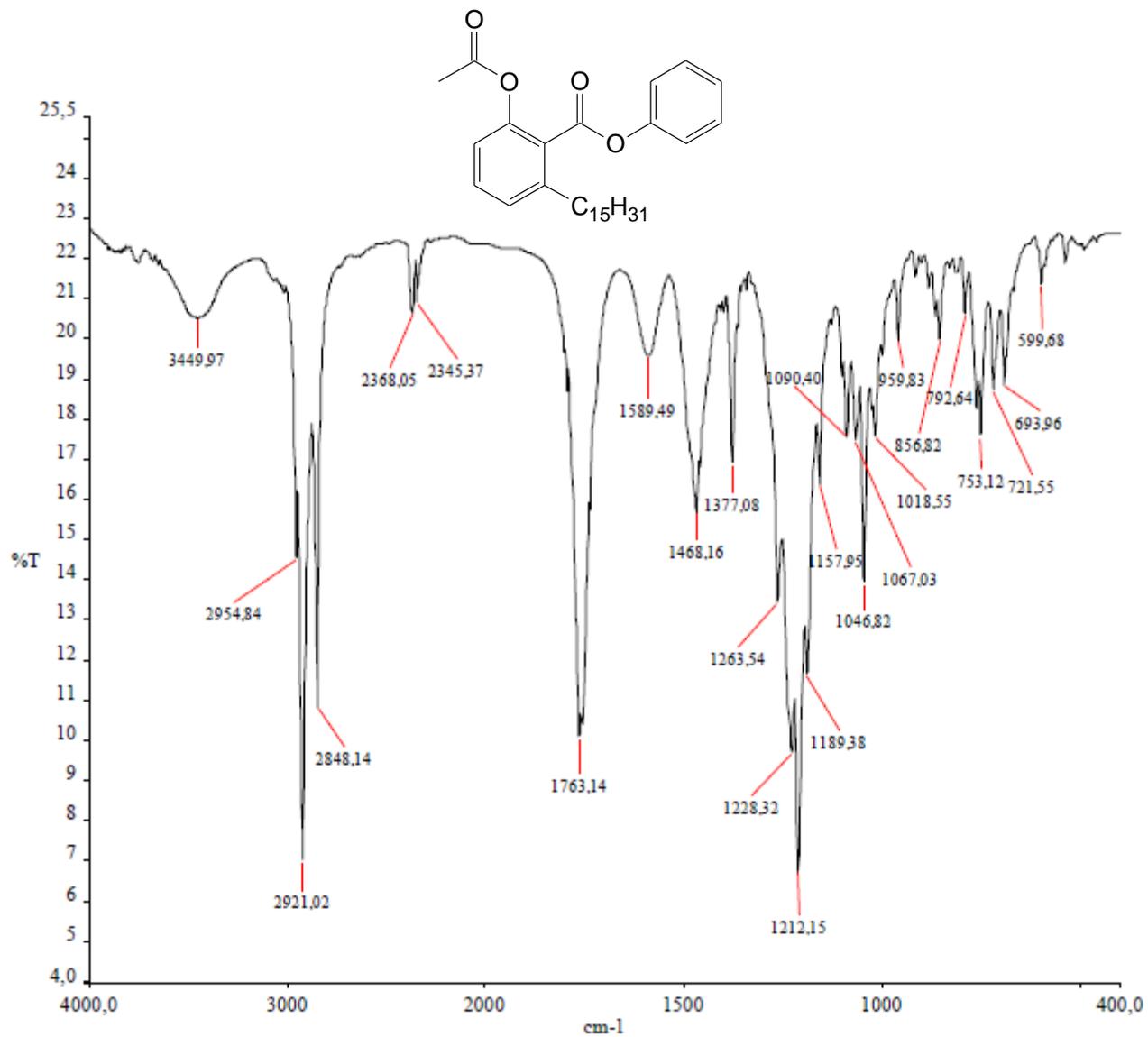
ANEXO 74 – ESPECTRO DE RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) – LDT663 (36)

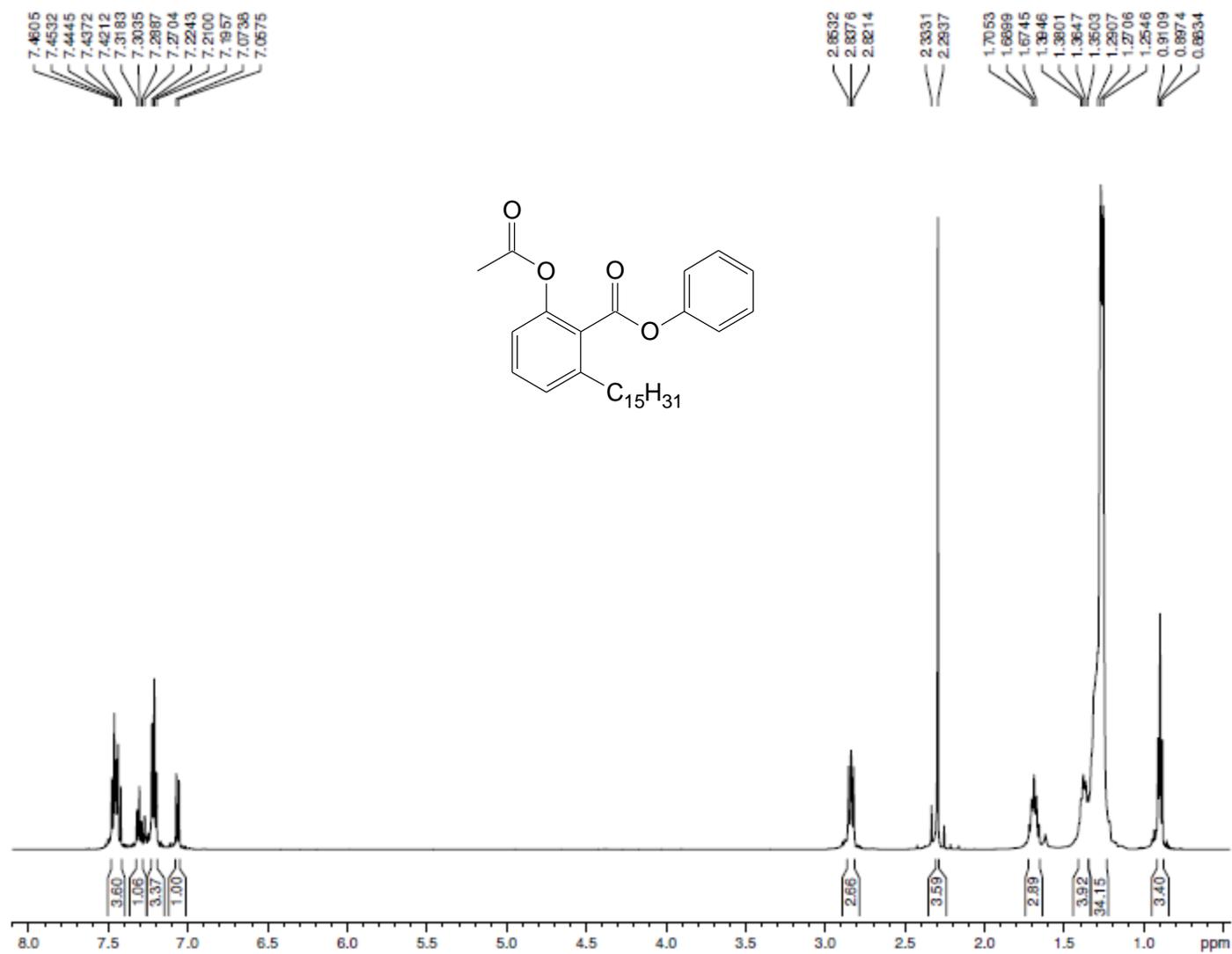
ANEXO 75 – ESPECTRO RMN  $^{13}\text{C}$  (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) – LDT663 (36)

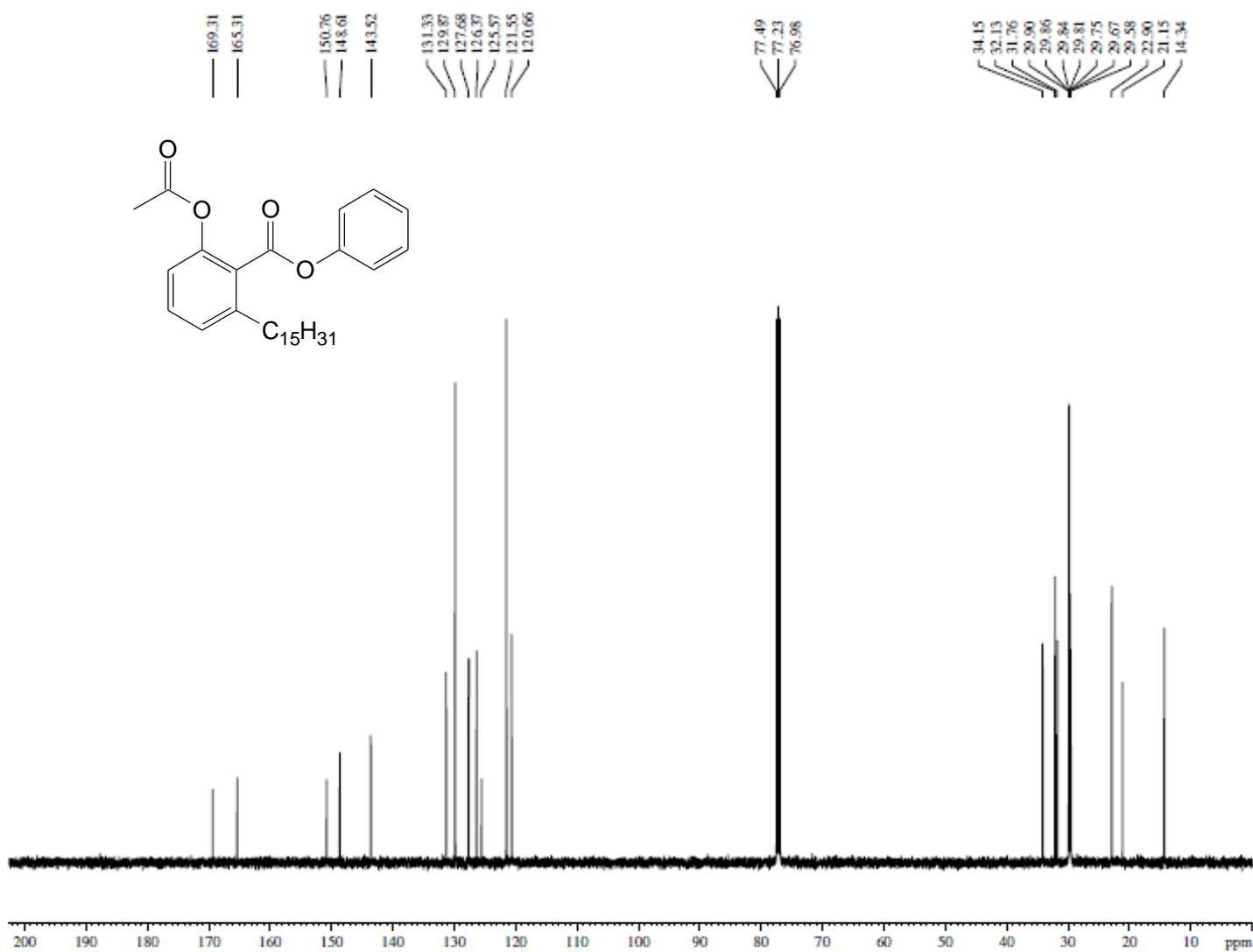
ANEXO 76 – ESPECTRO NO INFRAVERMELHO ( $\nu$   $\text{cm}^{-1}$ , KBr) – LDT665 (37)

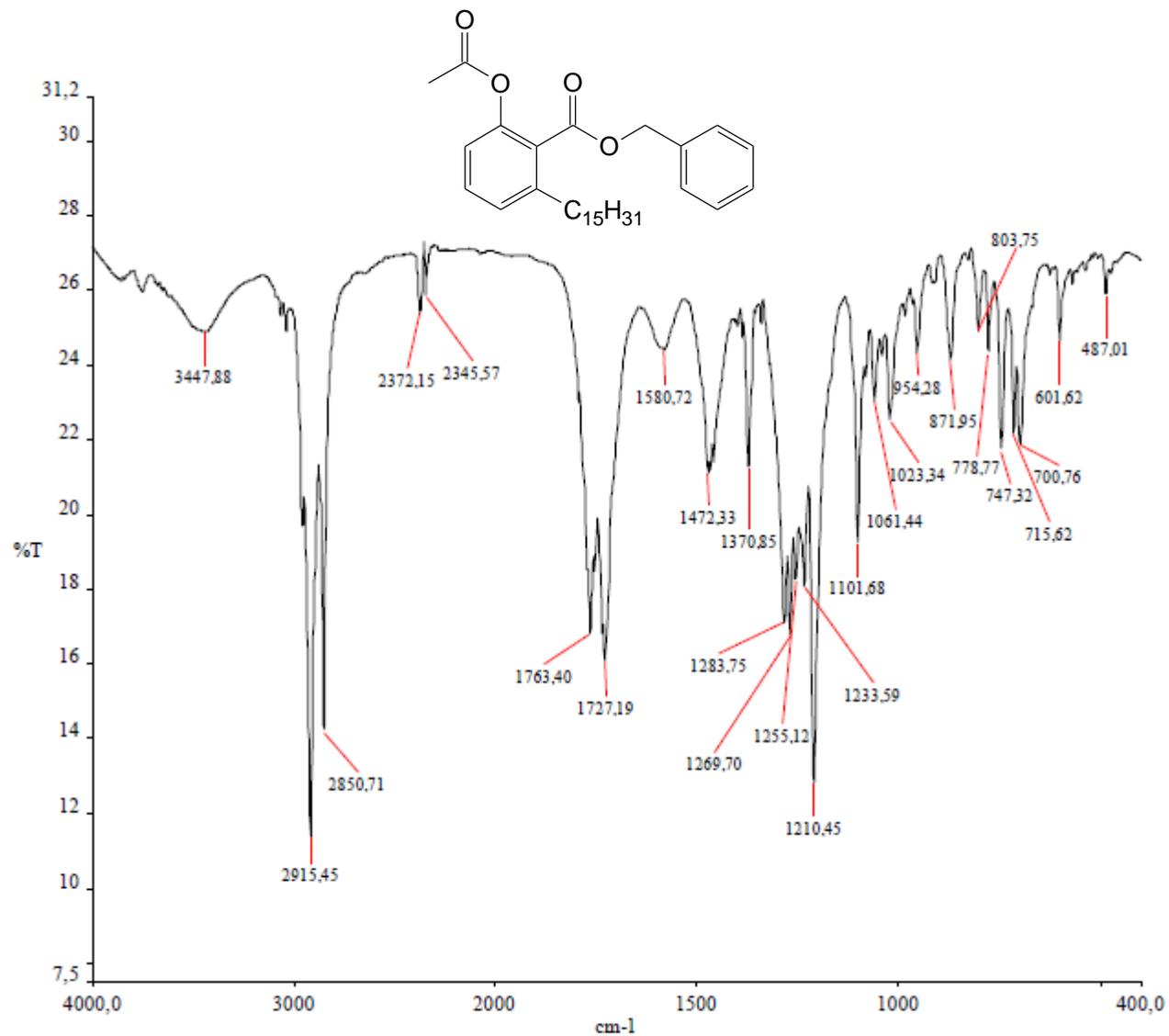
ANEXO 77 – ESPECTRO DE RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) – LDT665 (37)

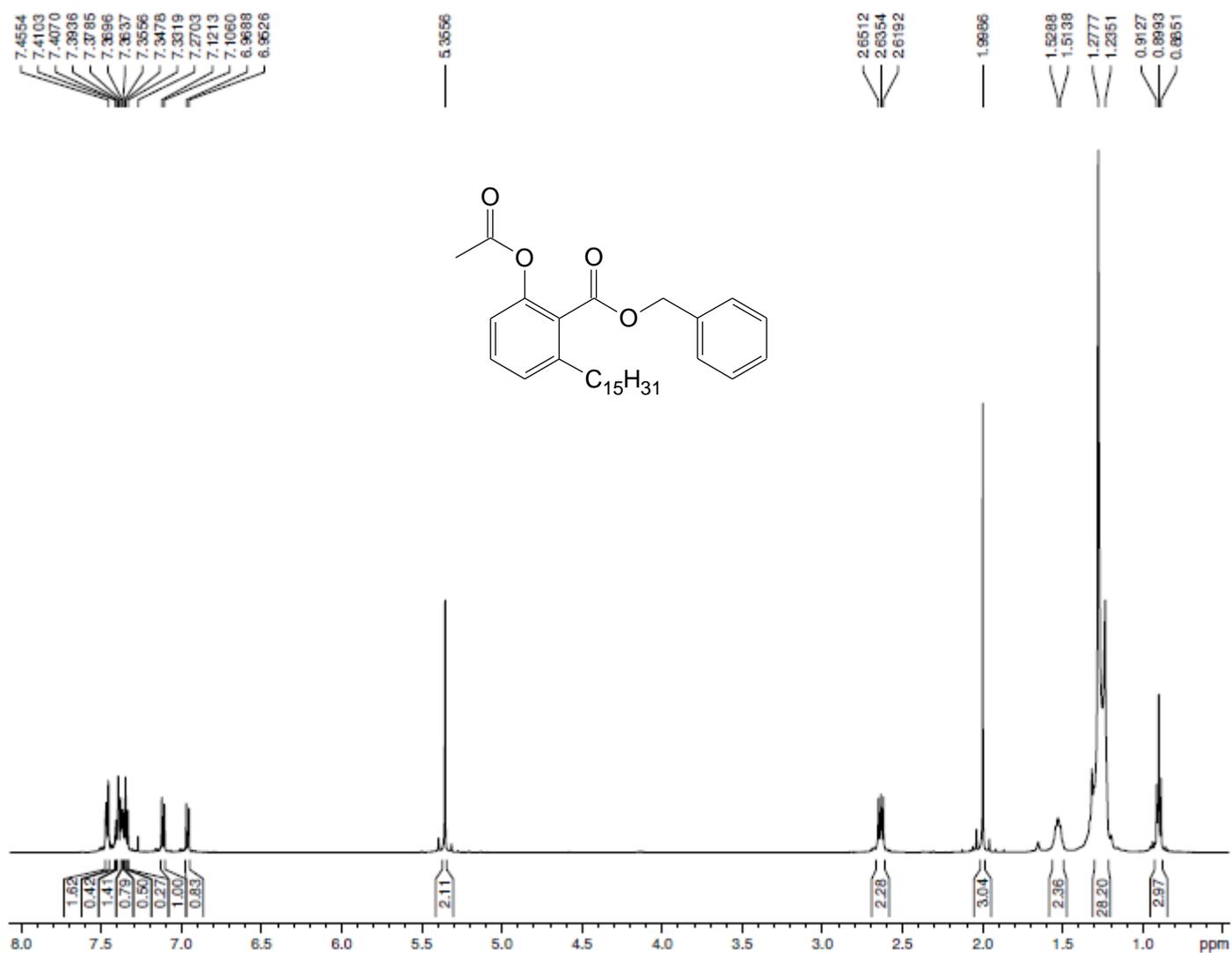
ANEXO 78 – ESPECTRO RMN  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) – LDT665 (37)

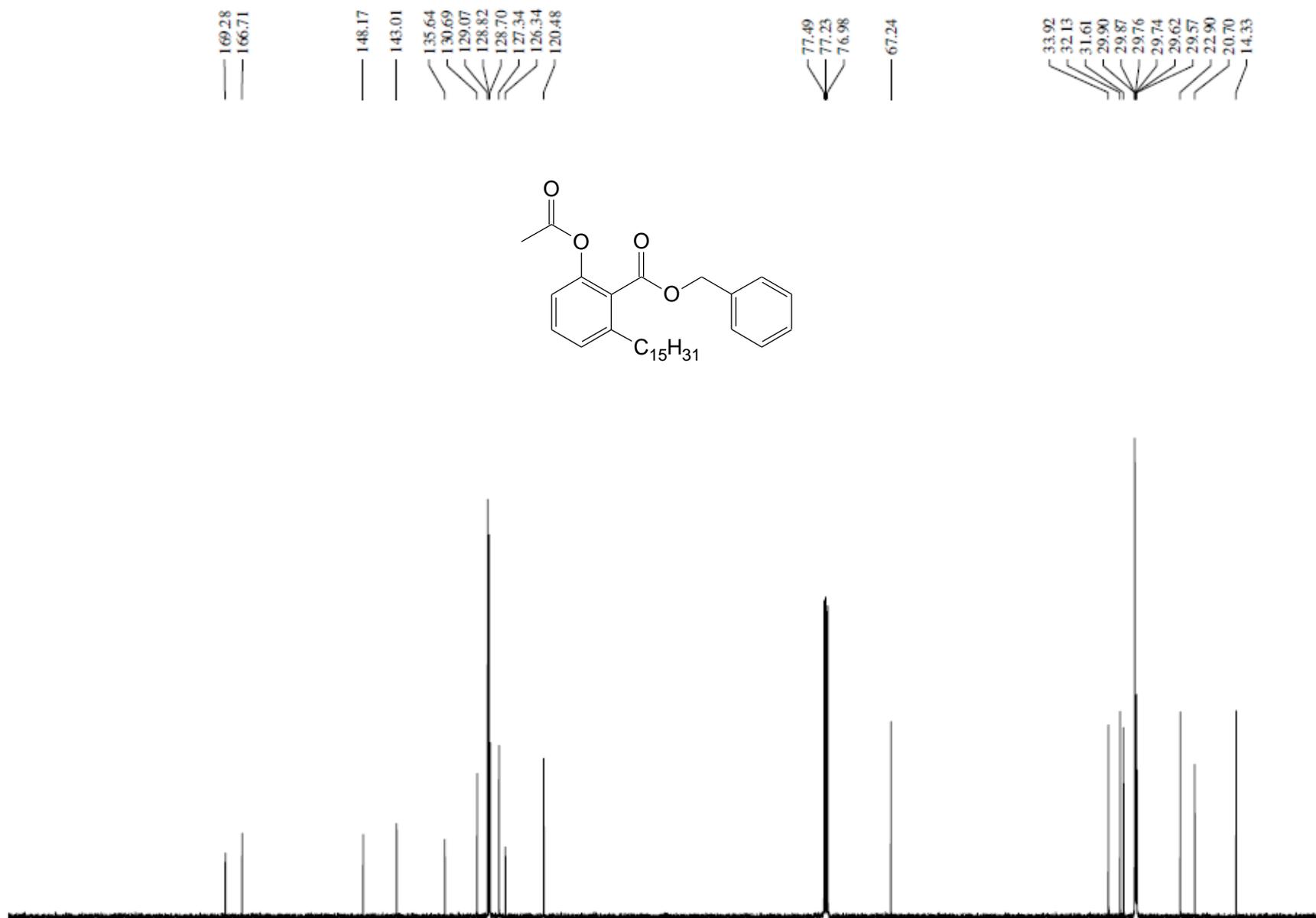
ANEXO 79 – ESPECTRO NO INFRAVERMELHO ( $\nu$   $\text{cm}^{-1}$ , KBr) – LDT683 (42)

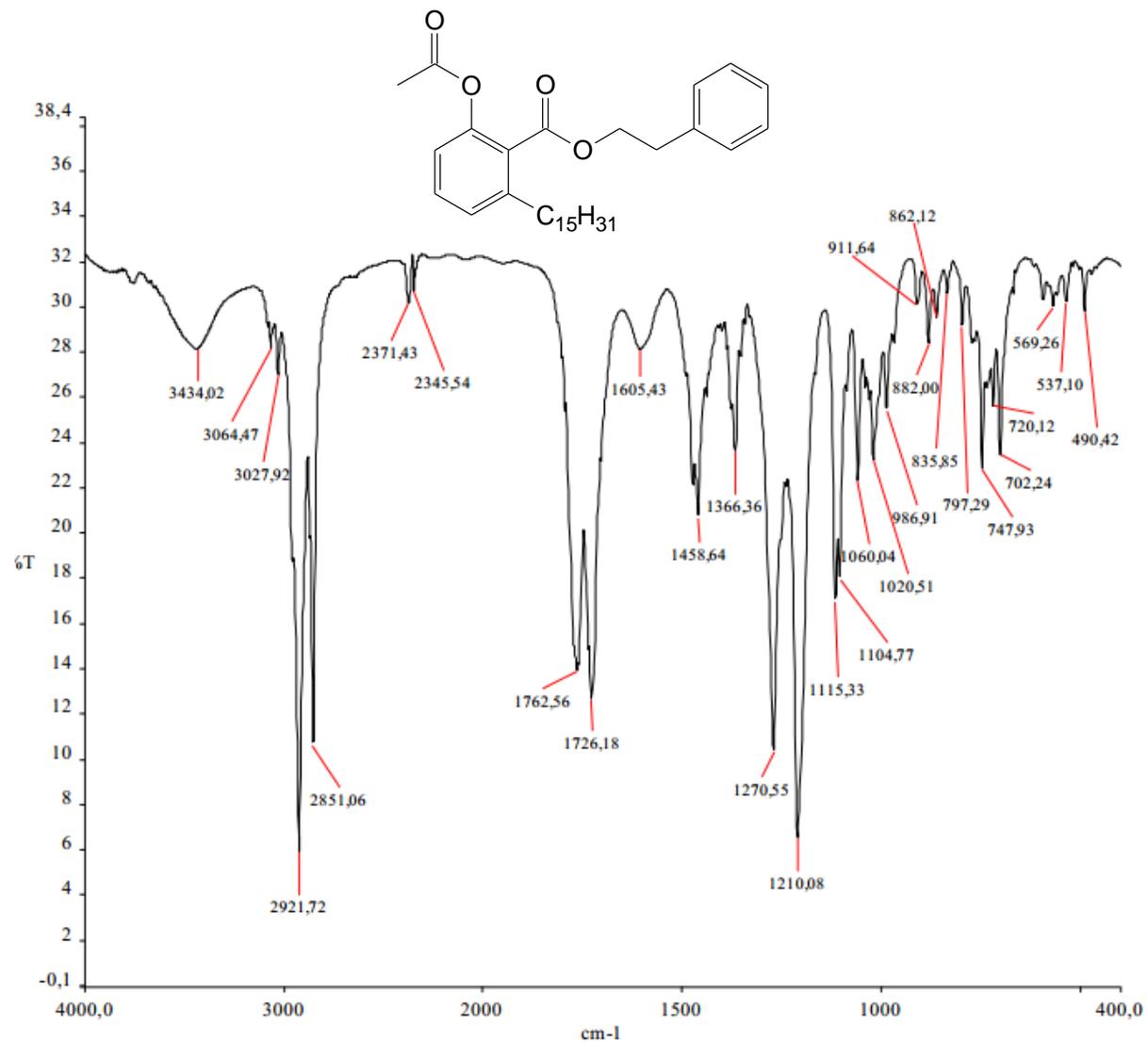
ANEXO 80 – ESPECTRO DE RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) – LDT683 (42)

ANEXO 81 – ESPECTRO RMN  $^{13}\text{C}$  (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) – LDT683 (42)

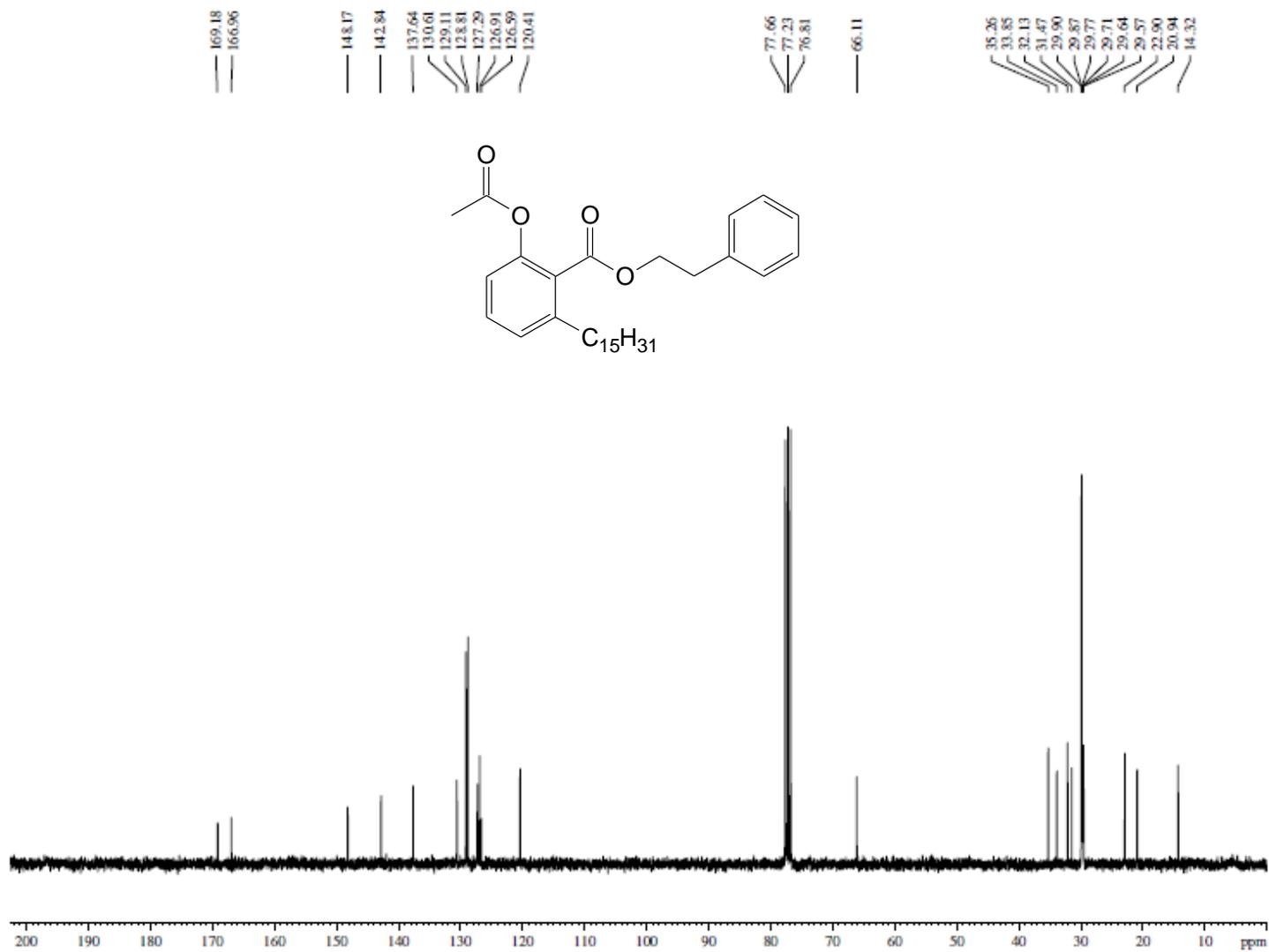
ANEXO 82 – ESPECTRO NO INFRAVERMELHO ( $\nu$   $\text{cm}^{-1}$ , KBr) – LDT685 (43)

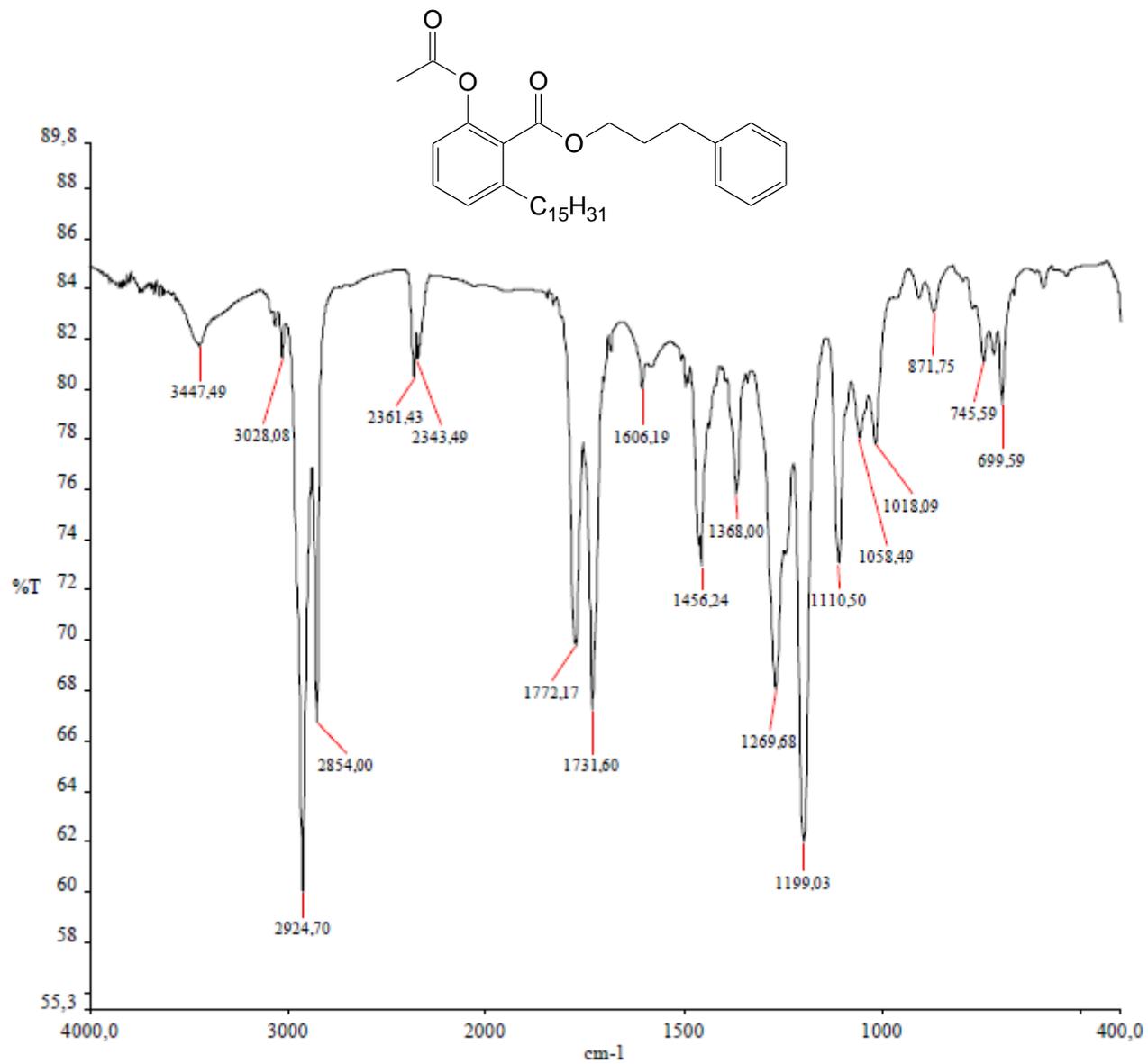
ANEXO 83 – ESPECTRO DE RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) – LDT685 (43)

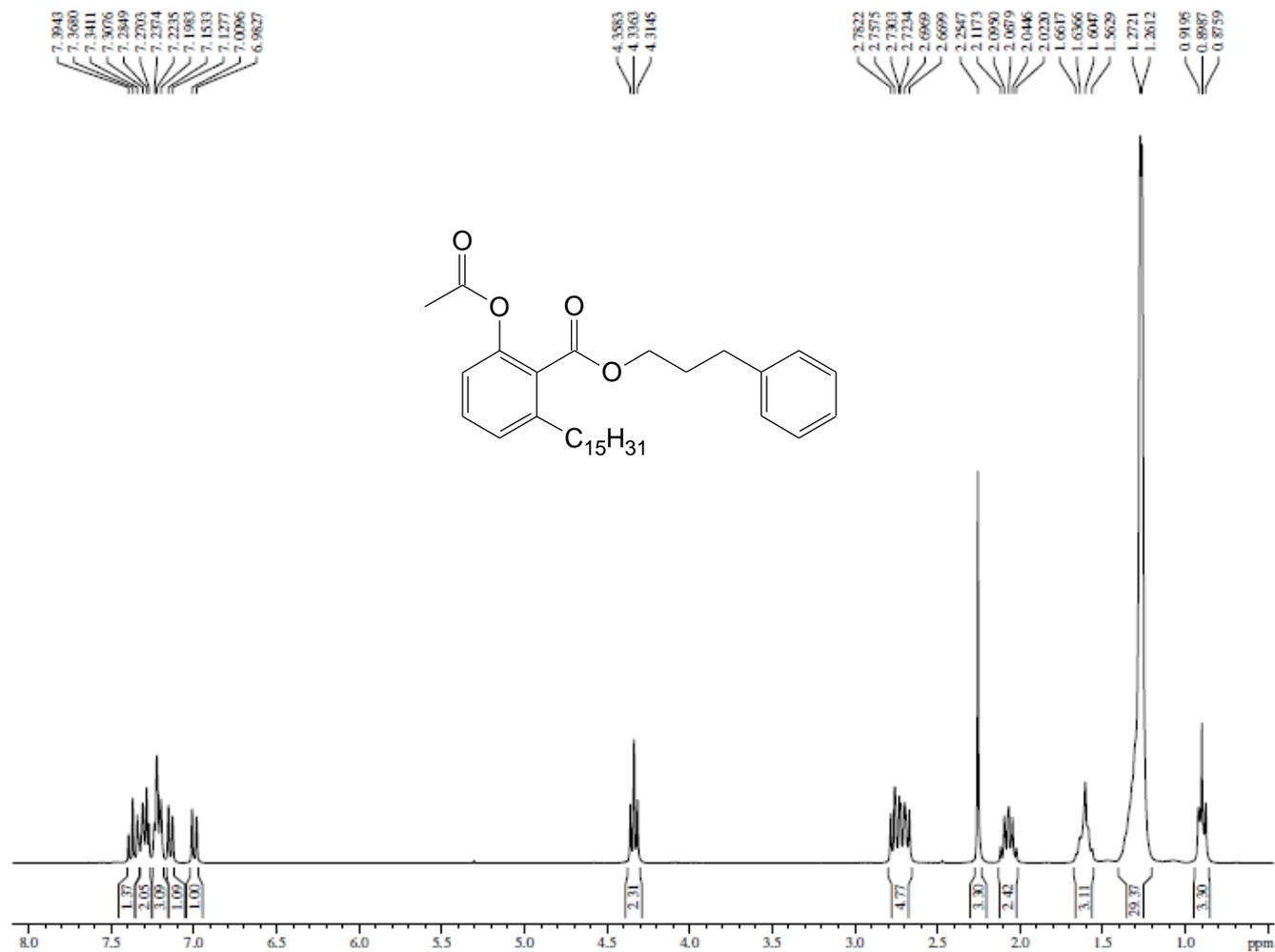
ANEXO 84 – ESPECTRO RMN  $^{13}\text{C}$  (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) – LDT685 (43)

ANEXO 85 – ESPECTRO NO INFRAVERMELHO ( $\nu$   $\text{cm}^{-1}$ , KBr) – LDT687 (44)

ANEXO 86 – ESPECTRO DE RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) – LDT687 (44)

ANEXO 87 – ESPECTRO RMN  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) – LDT687 (44)

ANEXO 88 – ESPECTRO NO INFRAVERMELHO ( $\nu$   $\text{cm}^{-1}$ , KBr) – LDT689 (45)

ANEXO 89 – ESPECTRO DE RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) – LDT689 (45)

ANEXO 90 – ESPECTRO RMN  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) – LDT689 (45)