

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

GABRIELLA SIMÕES HEYN ROTH CARDOSO

SÍNTESE E AVALIAÇÃO DO EFEITO CITOTÓXICO DE NOVOS COMPOSTOS  
PLANEJADOS A PARTIR DO ÁCIDO ANACÁRDICO SATURADO

BRASÍLIA

2017

GABRIELLA SIMÕES HEYN ROTH CARDOSO

SÍNTESE E AVALIAÇÃO DO EFEITO CITOTÓXICO DE NOVOS COMPOSTOS  
PLANEJADOS A PARTIR DO ÁCIDO ANACÁRDICO SATURADO

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

Orientador: Dr. Luiz Antonio Soares Romeiro

BRASÍLIA

2017

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

### Catálogo da Publicação

Cs            Cardoso, Gabriella Simões Heyn Roth  
              Síntese e Avaliação do Efeito Citotóxico de Novos  
Compostos Planejados a partir do Ácido Anacárdico Saturado / Gabriella Simões Heyn Roth Cardoso; orientador Luiz Antonio Soares Romeiro. -- Brasília, 2017.  
              186 p.

              Dissertação (Mestrado - Mestrado em Ciências Farmacêuticas) -- Universidade de Brasília, 2017.

              1. Química Farmacêutica Medicinal. I. Romeiro, Luiz Antonio Soares, orient. II. Título.

GABRIELLA SIMÕES HEYN ROTH CARDOSO

SÍNTESE E AVALIAÇÃO DO EFEITO CITOTÓXICO DE NOVOS COMPOSTOS PLANEJADOS A PARTIR DO ÁCIDO ANACÁRDICO SATURADO. Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Faculdade de Saúde, Universidade de Brasília, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

Aprovado em 23/02/2017

**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

**Prof. Dr. Felipe Saldanha de Araújo**

Universidade de Brasília-UnB

Brasília

2017

*“Colocamos em tudo o que fazemos o pensamento de tudo o que amamos”*

*S. Josemaria Escrivá*

## AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus por estes dois anos de pesquisa, pois foi Ele quem me fortaleceu diariamente, cuidou de meus passos.

Ao meu esposo Hugo, quem tanto me motivou a realização deste mestrado, com seu total suporte, amor, exemplo. Aos meus pais Sônia e Paulo, por todos os ensinamentos, exemplo de vida, superação, estudo, apoio incondicional e amor. À minha avó Inês e madrinha Sandra pelo amor, suporte, carinho e orações. Ao meu irmão Renan, meu grande amigo e referência na vida.

Ao meu orientador, professor Luiz Romeiro, por toda a paciência em receber inúmeras imagens de placas de cromatografia delgada por dia, resolução de dúvidas, discussões, auxílio teórico, prático, por lançar desafios diários com novas metodologias e moléculas que me permitiram sair da zona de conforto, adquirir confiança, descobrir novas possibilidades dentro da química medicinal e conhecimento para concretização deste trabalho da melhor forma possível.

Às minhas colegas e amigas de laboratório, Aline Arruda, Andressa Oliveira, Camila Miranda, Giselle Ramos, Priscilla Alves e Thaís Ferreira. Posso dizer que com cada uma delas aprendi algo novo e vivenciei experiências diferentes. Nestes dois anos dividimos momentos importantes, compartilhamos alegria, expectativas e amizade.

À Universidade Católica de Brasília, pelo espaço cedido para pesquisa, por meio do laboratório LADETER, pelos espectros de infravermelho e todo auxílio prestado.

Aos professores Edilberto Silveira, Patrícia Nascimento e Herbert Magalhães da CENAUREM na Universidade Federal do Ceará, pela concessão dos espectros de RMN e ao professor Guilherme Brand da Universidade de Brasília pelos espectros de massas.

Ao grupo de pesquisa do Laboratório de Oncologia Experimental da Universidade Federal do Ceará, pelos ensaios biológicos realizados pela doutoranda Maria Cláudia dos Santos Luciana e Cristiana Libardi Miranda Furtado, coordenado pela Prof<sup>a</sup> Cláudia do Ó Pessoa.

À CAPES pela bolsa de estudo. À banca examinadora, previamente pelas contribuições.

## RESUMO

CARDOSO, Gabriella Simões Heyn Roth. **Síntese e Avaliação do Efeito Citotóxico de Novos Compostos Planejados a partir do Ácido Anacárdico Saturado.** Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Faculdade de Saúde. Universidade de Brasília, Brasília, 2017.

O câncer – conjunto de doenças que apresenta como característica comum o crescimento celular desordenado de células com capacidade de invadir tecidos e órgãos – pode ser resultado de alterações de mecanismos epigenéticos que regulam a acessibilidade da cromatina a fatores transcricionais, modificações do DNA e rearranjos de nucleossomos. O ácido anacárdico, lipídeo fenólico predominante no líquido da casca da castanha do caju natural (LCC), apresenta diversas ações biológicas – dentre elas como inibidor da histona acetiltransferase p300 – as quais têm sido exploradas para o desenvolvimento de novos agentes terapêuticos. O presente trabalho descreve a síntese de novas moléculas planejadas a partir de modificações estruturais na subunidade salicílica do ácido anacárdico saturado e a avaliação do perfil citotóxico em linhagens tumorais. Neste sentido, 13 derivados-alvo foram sintetizados em rendimentos que variaram de 40% a 90% e caracterizados por métodos espectroscópicos de análise. A avaliação da viabilidade celular por ensaio de MTT em seis linhagens tumorais revelou que o ácido anacárdico saturado (LDT11, **1**) apresentou melhor perfil citotóxico para carcinoma de cólon (HCT116,  $IC_{50}$  13,46  $\mu$ M), leucemia aguda promielocítica (HL60,  $IC_{50}$  6,26  $\mu$ M), leucemia mieloide crônica (K562,  $IC_{50}$  11,82  $\mu$ M) e glioblastoma (SF295,  $IC_{50}$  14,63  $\mu$ M); e seu análogo álcool benzílico (LDT197, **14**) para adenocarcinoma de próstata (PC3,  $IC_{50}$  5,95  $\mu$ M) e adenocarcinoma de cólon (SW620,  $IC_{50}$  12,94  $\mu$ M). O estudo de relações estrutura-atividade (SAR) para a triagem a 25  $\mu$ g/mL para os precursores das séries evidenciou a relevância de grupos doadores de ligação de hidrogênio (DLH) ou aniônicos na subunidade benzílica/benzoica para derivados com fenol livre. As substituições nos grupos fenólicos em cada série diminuiram as atividades observadas para os precursores; entretanto a subunidade hidróxicarbamoilmetileno apresentou melhor atividade para as linhagens HCT116 e PC3. **1** e **14** apresentaram índice de seletividade frente a células L929 em torno de 5 vezes comparada às linhagens em que foram mais ativos. Na avaliação do potencial hemolítico comparados à Triton a 1%, **1** apresentou percentual de hemólise acima de 95%; enquanto **14** foi considerado não hemolítico.

**Palavras chave:** câncer, agentes citotóxicos, LCC, ácido anacárdico saturado

## ABSTRACT

CARDOSO, Gabriella Simões Heyn Roth. **Synthesis and Evaluation of the Cytotoxic Effect of New Compounds Planned from Saturated Anacardic Acid.** Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Faculdade de Saúde. Universidade de Brasília, Brasília, 2017.

Cancer – a cluster of diseases that has as a common feature the disordered cell growth of cells with the capacity to invade tissues and organs – may be the result of alterations in epigenetic mechanisms that regulate the accessibility of chromatin to transcriptional factors, DNA modifications and nucleosomes rearrangements. Anacardic acid, the predominant phenolic lipid in the liquid cashew nut shell (CNSL), present several biological actions- among them as inhibitor of histone acetyltransferase p300-which has been explored for the development of new therapeutic agents. The present work describes the synthesis of new molecules planned from structural modifications in the salicylic subunit of saturated anacardic acid and the evaluation of the cytotoxic profile in tumoral cell lines. In this sense, 13 target derivatives were synthesized in yields ranging from 40% to 90% and characterized by spectroscopic methods of analysis. The evaluation of cell viability by MTT assay in six tumor lines revealed that saturated anacardic acid (LDT11, **1**), had a better cytotoxic profile for colon carcinoma (HCT116, IC<sub>50</sub> 13.46 μM), promyelocytic acute leukemia (HL60, IC<sub>50</sub> 26 μM), chronic myeloid leukemia (K562, IC<sub>50</sub> 11.82 μM) and glioblastoma (SF295, IC<sub>50</sub> 14.63 μM) and its analog benzyl alcohol (LDT197, **14**) for adenocarcinoma of prostate (PC3, IC<sub>50</sub> 5.95 μM) and colon adenocarcinoma (SW620, IC<sub>50</sub> 12.94 μM). The study of structure-activity relationships (SAR) for screening at 25 μg/mL for the series precursors evidenced the relevance of hydrogen bonding (DLH) or anionic donor groups in the benzylic / benzoic subunit for free phenol derivatives. The substitutions in the phenolic groups in each series decreased the observed activities for the precursors; however, the hydroxylcarbamoylmethylene subunit presented better activity for the HCT116 and PC3 lines. **1** and **14** presented selectivity index against L929 cells around 5 times compared to the strains in which they were most active. In the evaluation of the hemolytic potential compared to 1% Triton, **1** presented a percentage of hemolysis above 95%, whereas **14** was considered non-hemolytic.

**Key words:** cancer, cytotoxic agents, cashew nutshell liquid, saturated anacardic acid



## LISTA DE FIGURAS

<b>FIGURA 1:</b> RESPOSTA CELULAR A DIFERENTES FONTES DE DANO AO DNA. .6	6
<b>FIGURA 2:</b> MECANISMO DE REGULAÇÃO NEGATIVA DO GENE PTEN SOBRE A VIA DE SINALIZAÇÃO PI3K.....9	9
<b>FIGURA 3:</b> NUCLEOSSOMA CONSTITUÍDO DO DNA E MODIFICAÇÕES EM (A) POR DESACETILAÇÃO DAS HISTONAS E EM (B) ACETILAÇÃO DE HISTONAS. ....11	11
<b>FIGURA 4:</b> MECANISMO BÁSICO DE ACETILAÇÃO DE RESÍDUOS DE LISINA PELAS HATS E A DESACETILAÇÃO EFETUADA PELAS HDACS. ....11	11
<b>FIGURA 5 :</b> COMPOSTOS QUE ATUAM NA MAQUINARIA EPIGENÉTICA..... 12	12
<b>FIGURA 6:</b> EXEMPLOS DE MOLÉCULAS INIBIDORAS HDAC, RECONHECIDOS NA LITERATURA .....14	14
<b>FIGURA 7:</b> MOLÉCULAS INIBIDORAS DE HAT P300, EXTRAÍDAS DE PRODUTOS NATURAIS..... 17	17
<b>FIGURA 8:</b> MECANISMO DE AÇÃO DO ÁCIDO ANACÁRDICO E SEUS DERIVADOS NA SUPRESSÃO DE NF-KB..... 19	19
<b>FIGURA 9:</b> PRINCIPAIS COMPONENTES DO LCC E DIFERENTES GRAUS DE INSATURAÇÃO DA CADEIA LATERAL.....20	20
<b>FIGURA 10:</b> ACETILAÇÃO DE LISINA DA HISTONA H4 PELA AC-COA CATALISADA POR P300. ....23	23
<b>FIGURA 11:</b> DERIVADOS DOS ÁCIDOS ANACÁRDICOS E ISOANACÁRDICO E RESPECTIVAS IC <sub>50</sub> PARA P300. ....24	24
<b>FIGURA 12:</b> PLANEJAMENTO RACIONAL DE INIBIDORES P300. ( CENTRALIZAR SETAS).....25	25
<b>FIGURA 13:</b> NUMERAÇÃO E LEGENDAS EMPREGADAS NO ASSINALAMENTO DE SINAIS EM RMN <sup>1</sup> H E DE <sup>13</sup> C.....33	33
<b>FIGURA 14:</b> DERIVADOS-ALVO A PARTIR DO ÁCIDO ANACÁRDICO.....53	53
<b>FIGURA 15:</b> ESPECTROS DE RMN <sup>1</sup> H E RMN DE <sup>13</sup> C DO LDT11 (1). ....59	59
<b>FIGURA 16:</b> ESPECTRO DE RMN DE <sup>1</sup> H E DE RMN DE <sup>13</sup> C DO DERIVADO LDT13 (13). ....60	60
<b>FIGURA 17:</b> ESPECTROS DE RMN <sup>1</sup> H E DE RMN <sup>13</sup> C DO LDT29 (17). ....61	61
<b>FIGURA 18:</b> ESPECTRO DE RMN DE <sup>1</sup> H E DE RMN DE <sup>13</sup> C DO LDT197 (14).....63	63
<b>FIGURA 19:</b> ESPECTRO DE RMN DE <sup>1</sup> H E DE RMN DE <sup>13</sup> C DO LDT457 (15).....64	64
<b>FIGURA 20:</b> ESPECTRO DE RMN DE <sup>1</sup> H DO LDT458 (16) COM LDT457 (15).....65	65
<b>FIGURA 21:</b> ESPECTRO DE RMN DE <sup>1</sup> H: COMPARAÇÃO ENTRE LDT460 (18) E LDT29 (17).....67	67
<b>FIGURA 22:</b> ESPECTRO DE RMN DE <sup>1</sup> H DO LDT461 (19) COMPARADO COM LDT460 (18).....68	68
<b>FIGURA 23:</b> ESPECTRO DE RMN DE <sup>13</sup> C, DO LDT462 (22) COMPARADO COM LDT457 (17).....69	69

<b>FIGURA 24:</b> ESPECTRO DE RMN DE $^1\text{H}$ DE LDT464 (24) EM COMPARAÇÃO COM LDT463 (22).....	70
<b>FIGURA 25:</b> ESPECTRO DE RMN DE $^1\text{H}$ DO LDT459 (23) DOS HIDROGÊNIOS DO NH E OH DO ÁCIDO HIDROXÂMICO.....	71
<b>FIGURA 26:</b> ESPECTRO DE RMN DE $^1\text{H}$ , DO LDT462 (21) EM COMPARAÇÃO COM SEU PRECURSOR LDT460 (18). ....	72
<b>FIGURA 27:</b> ESPECTRO DE RMN DE $^1\text{H}$ DO LDT465 (25) DOS HIDROGÊNIOS DOS GRUPOS NH E OH HIDROXÂMICOS.....	73
<b>FIGURA 28:</b> PERCENTUAL MÉDIO DE INIBIÇÃO DO CRESCIMENTO CELULAR DOS COMPOSTOS, POR ENSAIO DE MTT .....	80
<b>FIGURA 29:</b> PERCENTUAL MÉDIO DE INIBIÇÃO DO CRESCIMENTO CELULAR DOS COMPOSTOS, POR ENSAIO DE MTT NA CONCENTRAÇÃO DE 25 MG/ML.....	81
<b>FIGURA 30:</b> POSSÍVEIS INTERAÇÕES INTRAMOLECULARES NOS DERIVADOS 1, 14 E 17. ....	82
<b>FIGURA 31:</b> POSSÍVEIS INTERAÇÕES INTRAMOLECULARES NOS DERIVADOS 14, 15, 16 E 23. ....	82
<b>FIGURA 32:</b> POSSÍVEIS INTERAÇÕES INTRAMOLECULARES NOS DERIVADOS 1, 22, 24 E 25. ....	83
<b>FIGURA 33:</b> POSSÍVEIS INTERAÇÕES INTRAMOLECULARES NOS DERIVADOS 17, 18, 19 E 21. ....	84
<b>FIGURA 34:</b> PERCENTUAL DE HEMÓLISE CALCULADO DOS COMPOSTOS-ALVO.....	89
<b>FIGURA 35:</b> CINCO DERIVADOS DA SÉRIE QUE SATISFIZERAM OS CRITÉRIOS DE INIBIÇÃO DA VIABILIDADE CELULAR E DETERMINADOS VALORES DE $\text{IC}_{50}$ .....	91

**LISTA DE ESQUEMAS**

<b>ESQUEMA 1: ESTRATÉGIA SINTÉTICA PARA OBTENÇÃO DOS DERIVADOS-ALVO .....</b>	<b>30</b>
-------------------------------------------------------------------------------	-----------

## LISTA DE TABELAS

<b>TABELA 1:</b> DISTRIBUIÇÃO PROPORCIONAL DOS DEZ TIPOS DE CÂNCER MAIS INCIDENTES ESTIMADOS PARA 2016 POR SEXO, EXCETO PELE NÃO MELANOMA. ....	3
<b>TABELA 2:</b> CLASSIFICAÇÃO E SUBTIPOS DE FAMÍLIAS DAS HISTONAS DESACETILASES .....	13
<b>TABELA 3:</b> CLASSIFICAÇÃO E SUBTIPOS DE FAMÍLIAS DAS HISTONAS ACETILTRANSFERASES. ....	15
<b>TABELA 4:</b> COMPOSIÇÕES QUÍMICAS DOS LCC NATURAL E TÉCNICO. ....	20
<b>TABELA 5:</b> COMPOSIÇÃO PERCENTUAL RELATIVA DE INSATURAÇÕES NOS CONSTITUINTES FENÓLICOS DO LCC OBTIDA POR CG/MS. ....	21
<b>TABELA 6:</b> PRINCIPAIS DESLOCAMENTOS QUÍMICOS DE RMN 1 H E DE RMN DE 13C (PPM, CDCL3) .....	75
<b>TABELA 7:</b> PRINCIPAIS DESLOCAMENTOS QUÍMICOS DE RMN DE 1H E DE RMN 13C (PPM, CDCL3* OU DMSO**) .....	76
<b>TABELA 8:</b> CARACTERÍSTICAS QUÍMICAS, RENDIMENTOS E PONTOS DE FUSÃO DOS DERIVADOS SINTETIZADOS.....	78
<b>TABELA 9:</b> LINHAGENS CELULARES, DESCRIÇÃO E DENSIDADE DE PLAQUEAMENTO.....	85
<b>TABELA 10:</b> VALORES DE IC50 PARA OS DERIVADOS FRENTE A SETE DIFERENTES LINHAGENS CELULARES .....	86
<b>TABELA 11:</b> ÍNDICE DE SELETIVIDADE (IC50 L929/IC50 DE CÉLULAS TUMORAIS).....	88

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

- AA<sub>n</sub>: Ácido anacárdico saturado
- ALH: Aceptor de ligação de hidrogênio
- ATF-3: Fator 3 de ativação transcricional
- BCL-2: *B-cell lymphoma 2*
- BRCA 1: *Breast Cancer gene 1*
- BRCA 2: *Breast Cancer gene 2*
- CBP: *CREB-Binding Protein*
- CCD: Cromatografia em camada delgada
- CDK: Quinase dependente de ciclina
- COX: Cicloxigenase
- CpG: Citosina-fosfato-Guanina
- DCM: Diclorometano
- DLH: Doador de ligação de hidrogênio
- DMSO: Dimetilsulfóxido
- DNA: Ácido desoxirribonucleico
- DNMTs: DNA Metiltransferases
- EBV: Vírus Epstein Barr
- HAT: Histona Acetiltransferase
- HBV: Vírus da hepatite B
- HCV: Vírus da hepatite C
- HDAC: Histona Desacetilase

HHV-8: Herpes Vírus 8-humano

HIF-1 $\alpha$ : Fator indutor de hipóxia 1-alfa

HMTs: Histona Metiltransferase

HPV: Papilomavírus humano

HSP90: Proteína de choque térmico 90

HTLV: Vírus T-linfotrópico humano

IARC: *International Agency for Research on Cancer*

IC<sub>50</sub>: Concentração requerida para adquirir 50% do efeito inibitório

IL-1: Interleucina-1

IL-6: Interleucina-6

IL-8: Interleucina-8

IKK: Complexo da quinase I $\kappa$ B

INCA: Instituto Nacional de Câncer

IV: Infravermelho

JAK: *Janus kinase*

KAT: Lisina Acetiltransferase

LCC: Líquido da casca da castanha do caju

LHi: Ligação de hidrogênio intramolecular

MCL-1: Leucemia de Células Mielóides-1

MDR-1: Proteína de multirresistência a drogas

NAD: Nicotinamida Adenina Dinucleotídeo

NF- $\kappa$ B: Fator de Transcrição Nuclear kappa B

PCC: Clorocromato de piridínio

PI3K: Fosfatidilinositol 3-quinase

PIP2: Fosfatidilinositol

PPAR: Receptor ativado por proliferador peroxissômico

PSA: Área de superfície polar

PTEN: Fosfatase homóloga a tensina

Rf: Fator de retenção

RMN de  $^{13}\text{C}$ : Ressonância magnética nuclear de carbono 13

RMN de  $^1\text{H}$ : Ressonância magnética nuclear de hidrogênio

SAHA: Ácido suberoilanilidahidroxâmico

STAT3: *Signal Transducer and Activator of Transcription 3*

TEA: Trietilamina

THF: Tetraidrofurano

TMS: Tetrametilsilano

TNF: Fator de necrose tumoral

TOAD: Terapia Oncológica Alvo-Dirigida

TSA: Tricostatina

VEGF: Fator de crescimento do endotélio vascular

## SUMÁRIO

<b>Introdução</b>	<b>1</b>
1. INTRODUÇÃO	2
1.1 Dados Epidemiológicos	3
1.2 Fatores de Risco na Carcinogênese	4
1.3 A Terapêutica Para o Tratamento de Neoplasias	5
1.4 Alterações Genéticas no Câncer	6
1.4.1 Mutações genéticas	7
1.4.2 O gene TP53	7
1.4.3. Os genes BRCA	8
1.4.4 O gene PTEN	8
1.5 A Relação Entre a Epigenética e o Câncer	9
1.5.1 DNA metiltransferases	10
1.5.2 O Nucleossoma e as alterações nas histonas	10
1.5.3 A maquinaria epigenética	12
1.6 Histonas Desacetilases	13
1.7 Histonas Acetiltransferases (HATs)	15
1.8 Alvos Farmacológicos e a Relação com o Ácido Anacárdico	17
1.8.1 Ácido anacárdico saturado: inibidor HAT p300	18
1.9 Derivados do LCC (Líquido da Casca da Castanha de Caju)	19
<b>Planejamento Estrutural</b>	<b>22</b>
2. PLANEJAMENTO ESTRUTURAL	23
<b>Objetivos</b>	<b>26</b>
3. OBJETIVO GERAL	27
3.1. Objetivos Específicos	27
<b>Estratégia Sintética</b>	<b>28</b>
4. Estratégia Sintética	29
<b>Parte Experimental</b>	<b>31</b>
5. Parte Experimental	32
5.1 Materiais e Métodos	32
5.2. Metodologia Sintética e Caracterização dos Compostos	34
5.2.1. Obtenção do Ácido Anacárdico a Partir do LCC Natural	34
5.2.2. Obtenção do Derivado Ácido 2-Hidróxi-6-pentadecilbenzóico (LDT11, 1)	35
5.2.3 Obtenção do Derivado Ácido 2-Acetóxi-6-pentadecilbenzóico (LDT13, 13)	36



5.2.4 Obtenção do Derivado 2-(Hidróximetil)-3-pentadecilfenol (LDT197, 14)	37
5.2.5 Obtenção do Derivado 2-(2-(Hidróximetil)-3-(pentadecil)fenóxiacetato de etila (LDT457, 15).	40
5.2.6 Obtenção do Derivado Ácido 2-(2-Hidróximetil-3-pentadecil)fenóxiacético (LDT458, 16).	41
5.2.7 Obtenção do Derivado 2-Hidróxi-6-pentadecilbenzoato de metila (LDT29, 17).	42
5.2.8 Obtenção do Derivado 2-(2-Carbetoximetóxi)-6-pentadecilbenzoato de metila (LDT460, 18).	43
5.2.10 Obtenção do Derivado 2-(Hidróxicarbamoilmetóxi)-6-pentadecilbenzoato de metila (LDT462, 21).	45
5.2.11 Obtenção do Derivado Ácido 2-(2-Carbetóximetóxi)-6-pentadecilbenzóico (LDT463, 22).	46
5.2.12 Obtenção do Derivado N-Hidróxi-2-(2-(hidróximetil)-3-pentadecilfenóxiacetamida (LDT459, 23).	47
5.2.13 Obtenção do Derivado Ácido 2-(Carboximetóxi)-6-pentadecilbenzóico (LDT464, 24).	49
5.2.14 Obtenção do Derivado Ácido 2-(Hidróxicarbamoilmetóxi)-6-pentadecilbenzóico (LDT465, 25).	50
5.2.15 Obtenção do derivado éster metil 7-(fenilcarbamoil)heptanoato para síntese do SAHA (20).	51
5.2.16 Obtenção do Derivado N-Hidróxi-N-fenil-octanediamida (SAHA)	52
5.3. Avaliação Biológica in vitro	53
5.3.1 Avaliação do Potencial Citotóxico por Ensaio de MTT	54
5.3.2 Determinação do Índice de Seletividade	55
5.3.3 Determinação do Potencial Hemolítico	55
<b>6. Resultados e Discussão</b>	<b>56</b>
6. RESULTADOS E DISCUSSÃO	57
6.1 Síntese e Caracterização dos compostos	57
6.1.1 Obtenção da Mistura de Ácidos Anacárdicos (9)	57
6.1.2 Obtenção do Ácido Anacárdico Saturado (LDT11, 1)	58
6.1.2 Obtenção do Derivado Ácido 2-Acetóxi-6 pentadecilbenzóico (LDT13, 13)	60
6.1.3 Obtenção do Derivado 2-Hidróxi-6-pentadecilbenzoato de metila (LDT29, 17)	61
6.1.4 Obtenção do Derivado 2-(Hidróximetil)-3-pentadecilfenol (LDT197, 14)	62
6.1.5 Obtenção do Derivado 2-(2-(Hidróximetil)-3-(pentadecil)fenóxiacetato de etila (LDT457, 15).	63
6.1.6 Obtenção do Derivado Ácido 2-(2-Hidróximetil-3-pentadecil)fenóxiacético (LDT458, 16)	65

6.1.7 Obtenção do Derivado 2-(2-Carbetoximetóxi)-6-pentadecilbenzoato de metila (LDT460 18)	66
6.1.8 Obtenção do Derivado Ácido 2-(2-(Carbometóxi)-3-pentadecilfenóxiacético (LDT461, 19)	67
6.1.9 Obtenção do Derivado Ácido 2-(2-Carbetóximetóxi)-6-pentadecilbenzóico (LDT463, 22).	68
6.1.10 Obtenção do Derivado Ácido 2-(Carbóximetóxi)-6-pentadecilbenzóico (LDT 464, 24).	70
6.1.11 Obtenção do Derivado N-Hidróxi-2-(2-(hidróximetil)-3-pentadecilfenóxiacetamida (LDT459, 23)	71
6.1.12 Obtenção do Derivado 2-(Hidróxicarbamoilmetóxi)-6-pentadecilbenzoato de metila (LDT462, 21)	72
6.1.13 Obtenção do Derivado Ácido 2-(Hidróxicarbamoilmetóxi)-6-pentadecilbenzóico (LDT465, 25).	73
6.1.14 Obtenção do Derivado N-hidróxi-N-fenil-octanediamida (SAHA)	74
6.2. PARÂMETROS FÍSICO-QUÍMICOS TEÓRICOS	77
6.3 AVALIAÇÃO BIOLÓGICA IN VITRO	79
6.3.1 Ensaio de Citotoxicidade por MTT	79
6.3.2 Relações Estrutura-Atividade a Partir da Triagem a 25 µg/mL	81
6.3.3 Determinação do IC <sub>50</sub>	84
6.3.4 Relações Estrutura-Atividade a Partir dos Dados de IC <sub>50</sub>	87
6.3.5 Determinação do Índice de Seletividade	88
6.3.6 Determinação do Potencial Hemolítico	88
6.3.7 Análise Estatística	89
<b>Conclusões e Perspectivas</b>	<b>90</b>
7. Conclusões e Perspectivas	91
<b>Referências Bibliográficas</b>	<b>93</b>
8. Referências Bibliográficas	94
<b>Anexos</b>	<b>102</b>

## ***Introdução***

---

## 1.INTRODUÇÃO

A origem da palavra câncer é creditada ao médico grego Hipócrates que utilizava os termos carcinos e carcinomas para descrição de tumores indutores e não indutores de úlceras. Por sua vez, o médico romano Celsus traduziu o termo grego para o latim cancer em analogia à capacidade de rápido espalhamento das células tumorais entre os tecidos como patas de caranguejo.

O câncer consiste no conjunto de doenças que apresenta como característica comum o crescimento celular desordenado de células com capacidade de invadir tecidos e órgãos. Oscilando entre a primeira e a segunda posição no âmbito das doenças de maior impacto em saúde pública, as neoplasias malignas afetam milhões de pessoas em todo o mundo com estatísticas crescentes de novos casos que superarão 1% da população mundial nos próximos 10 anos.

No contexto da terapia oncológica alvo-dirigida (TOAD), moléculas originadas da biodiversidade com resultados significativos em experimentos *in vitro* e *in vivo* como vimblastina, vincristina, podofilotoxina, análogos etoposídeo e taxol motivaram a indústria farmacêutica para o desenvolvimento de medicamentos a partir de produtos naturais, especialmente aqueles com estruturas complexas, cujo desenvolvimento sintético está associado a custos elevados.

Os derivados fenólicos do líquido da casca da castanha do caju (LCC) têm sido explorados no âmbito da Química Medicinal nos últimos anos com diferentes aplicações em saúde e potenciais terapêuticos, incluindo propriedades antineoplásicas como atividade citotóxica em células malignas originárias de diversos tipos de tumores como carcinoma oral e de próstata (SUNG et al, 2008) e adenoma pituitário (SUKUMAR-RAMESH et al, 2011) relacionadas ao ácido anacárdico saturado (LDT11, **1**). O mecanismo pelo qual **1** exerce tal função parece ser epigenético, controlando a expressão gênica (BALASUBRAMANYAM et al, 2003, SUN et al, 2006, ELISEEVA et al, 2007, SUNG et al, 2008) bem como a sensibilização das células à radiação ionizante (SUKUMAR-RAMESH et al, 2011).

Este trabalho relaciona-se à obtenção de novas moléculas planejadas a partir do ácido anacárdico saturado com intuito de sintetizar, caracterizar e avaliar derivados com perfil antineoplásico e correlacionar suas atividades à modulações epigenéticas bem como receptores associados como alvos terapêuticos contra o câncer.

### 1.1 Dados Epidemiológicos

De acordo com estimativas da Agência Internacional de Pesquisa sobre o Câncer (IARC), para o ano de 2012, houve 14,1 milhões de novos casos de câncer com 8,2 milhões de mortes em todo o mundo. Para 2030, estima-se o aumento para 21,7 milhões de novos casos e 13 milhões de óbitos. Dentre os motivos que contribuirão para o aumento do número de casos destacados pela IARC (2016), estão o crescimento e envelhecimento populacional.

Atualmente, o câncer é a segunda causa de óbitos no Brasil. A estimativa para o país no biênio 2016-2017 (INCA 2016) aponta para a ocorrência de aproximadamente 600 mil novos casos, destes 420 mil do tipo não melanoma. O perfil epidemiológico para o Brasil, similar ao da América Latina e Caribe, apresenta 61 mil casos de câncer de próstata em homens e 58 mil casos de câncer de mama em mulheres como as maiores frequências. A distribuição proporcional dos dez tipos de câncer não melanoma mais incidentes estão descritos na Tabela 1.

**Tabela 1:** Distribuição proporcional dos dez tipos de câncer mais incidentes estimados para 2016 por sexo, exceto pele não melanoma.

<b>Homens</b>			<b>Mulheres</b>		
<b>Localização primária</b>	<b>Novos Casos</b>	<b>%</b>	<b>Localização primária</b>	<b>Novos Casos</b>	<b>%</b>
<b>Próstata</b>	61.200	28,6%	<b>Mama feminina</b>	57.960	28,1%
<b>Traquéia, brônquio e Pulmão</b>	17.330	8,1%	<b>Cólon e Reto</b>	17.620	8,6%
<b>Cólon e Reto</b>	16.660	7,8%	<b>Colo do útero</b>	16.340	7,9%
<b>Estômago</b>	12.920	6,0%	<b>Traquéia, brônquio e pulmões</b>	10.890	5,3%
<b>Cavidade Oral</b>	11.140	5,2%	<b>Estômago</b>	7.600	3,7%
<b>Esôfago</b>	7.950	3,7%	<b>Corpo do útero</b>	6.950	3,4%
<b>Bexiga</b>	7.200	3,4%	<b>Ovário</b>	6.150	3,0%
<b>Laringe</b>	6.360	3,0%	<b>Glândula tireóide</b>	5.870	2,9%
<b>Leucemias</b>	5.540	2,6%	<b>Linfoma não Hodgkin</b>	5.030	2,4%
<b>Sistema Nervoso Central</b>	5.440	2,5%	<b>Sistema Nervoso Central</b>	4.830	2,3%

Fonte: Dados recolhidos pelo Instituto Nacional do Câncer (2016).

## 1.2 Fatores de Risco na Carcinogênese

Vários fatores de risco estão relacionados ao desenvolvimento do câncer, dentre eles: a exposição à radiação ultravioleta UVA e UVB – levando a danos do DNA – o envelhecimento, a ingestão de certos grupos de alimentos e exposição a substâncias carcinogênicas como o tabaco e álcool. Adicionalmente, sobrepeso, infecções por vírus oncogênicos e fatores genéticos também contribuem para o aumento de risco para essa doença.

O envelhecimento aumenta o risco de desenvolvimento do câncer. Esta afirmação baseia-se na identificação de marcadores relacionados à carcinogênese e à idade que incluíram a instabilidade genômica e alterações epigenéticas, dentre as quais podem ser citadas: alterações em telômeros (regiões cromossômicas) que quando afetados por danos ao DNA colaboram para efeitos deletérios, como a senescência ou apoptose.

Estudos apontam que o processo de envelhecimento está associado a mutações epigenéticas, processos multifatoriais de transformação de células saudáveis em células cancerosas, acúmulo de dano ao DNA, principalmente por falhas nos mecanismos de reparo e controle do ciclo celular (WHITE et al, 2015). A acetilação aumentada de histonas H4K16, metilação de H4K20 e hipometilação de H3K9 constituem-se como marcadores epigenéticos relacionados ao envelhecimento (FRAGA; ESTELLER, 2007).

Estudos recentes indicam que pacientes com índice de gordura acima de níveis normais apresentaram aumento da incidência de cânceres de cólon, mama, rins, pâncreas, próstata e fígado. De acordo com dados elucidados por Calle e Kaaks (2004), o tecido adiposo pode exercer diferentes efeitos sobre a fisiologia de outros tecidos bem como regular o equilíbrio energético e metabolismo lipídico através da liberação de hormônios peptídicos tais como a leptina e a adiponectina.

A descoberta em 1964 do vírus Epstein-Barr e do vírus da hepatite B (HBV) em humanos, em associação com o desenvolvimento dos modelos de cultura celular e desenvolvimento animal, instigaram o interesse científico do papel do vírus na carcinogênese em humanos. De acordo com dados citados por McLaughlin-Drubin e Munger (2008), atualmente 15% a 20% dos cânceres detectados estão relacionados a infecções virais. Dentre os vírus que podem ser carcinogênicos estão: HTLV (vírus linfotrófico da célula humana), HCV (vírus da hepatite C), HPV (papilomavírus

humano), HBV (vírus da hepatite B), EBV (vírus Epstein Barr) e HHV-8 (herpes vírus associado ao sarcoma de Kaposi). Embora sejam diferentes vírus, com diferentes vias de infecção e efeitos no hospedeiro, compartilham em comum a capacidade de infectar sem matar a célula hospedeira; pelo contrário, os vírus oncogênicos demonstram a tendência de infectar por longos períodos e barrar a resposta imunológica hospedeira. Sabe-se que a correlação entre infecção viral e o desenvolvimento tumoral não é de imediato, o qual pode ser silencioso e de longo prazo (MCLAUGHLIN-DRUBIN; MUNGER, 2008).

Baseados em estudos de coorte, Stepien e colaboradores (2016) apontam para evidências epidemiológicas da correlação inversa entre a ingestão de frutas e verduras e a carcinogênese. Neste contexto, alimentos que contém carotenoides ou betacaroteno, vitamina C e selênio apresentam excelentes propriedades antioxidantes que previnem a formação de radicais livres, o que corrobora para a redução de peroxidação lipídica e proteção contra danos ao DNA. Com relação a xenobióticos nocivos à saúde especialmente quando de exposição prolongada, as bebidas alcoólicas aparecem como potenciais carcinogênicos. O etanol, que modula negativamente a atividade enzimática responsável por destoxificar o organismo, pode facilitar a infiltração e desenvolvimento de células cancerígenas bem como afetar processos de metilação e modificação do DNA por promoção de mutações gênicas. Ainda são citados como alimentos danosos as carnes processadas ricas em gordura e dietas ricas em açúcar e gordura transesterificada (STEPIEN; CHAJES, ROMIEU, 2015).

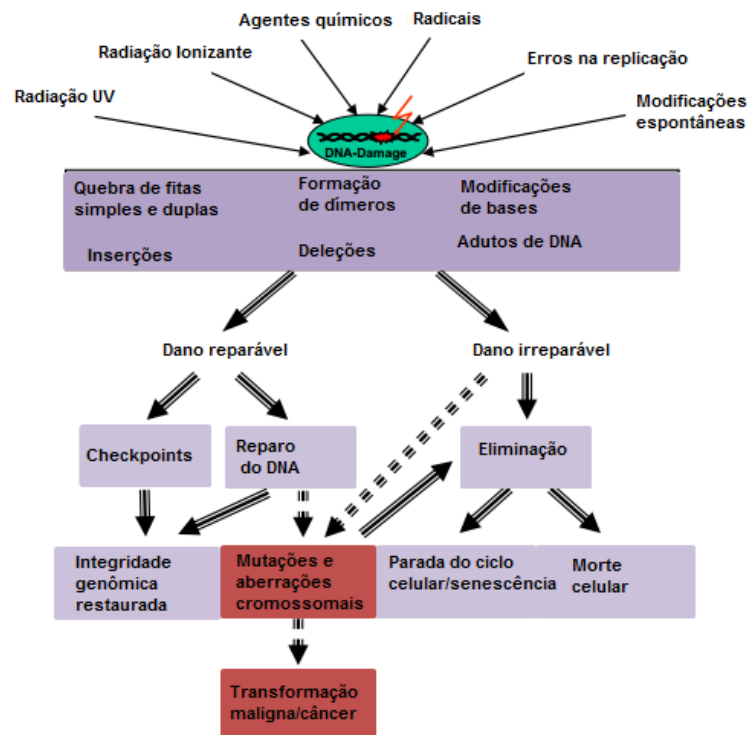
### *1.3 A Terapêutica Para o Tratamento de Neoplasias*

O tratamento para os diversos tipos de câncer está relacionado a especificidades e estágio da doença e, de maneira geral, envolve quimioterapias neoadjuvante ou adjuvante e procedimento cirúrgico; quimioterapia paliativa que visa assegurar a qualidade de vida dos pacientes por meio do controle do volume dos tumores; terapêutica multimodal que combina radioterapia com terapia antineoplásica sistêmica e envolve aspectos neoadjuvantes, adjuvantes e paliativos; e a terapia oncológica alvo-dirigida (TOAD) que, orientada molecularmente, visa o bloqueio do crescimento, morte ou sensibilização de células cancerígenas ao sistema imune bem como compreende a interrupção do fluxo sanguíneo e carreamento de agentes

terapêuticos aos tumores. Mutações em genes supressores tumorais BRCA 1 e BRCA 2, conforme dados elucidados na literatura indicam que estão associados ao aumento do risco de desenvolvimento de câncer de ovário e câncer de mama. Ambos os genes estão relacionados a mecanismos de reparo do DNA, por recombinação homóloga, que contribui para a instabilidade genômica e transformação de células tumorais (XU; YANG; ZHAO, 2016).

#### 1.4 Alterações Genéticas no Câncer

O descontrole na proliferação celular por desequilíbrio no ciclo celular no câncer pode ser explicado por alteração na expressão e atividades de oncogenes, genes supressores tumorais, genes de controle da apoptose e genes de reparo ao DNA. De acordo com O'Connor (2015) as células estão sujeitas a milhares de eventos que podem comprometer o DNA (Figura 1). A resposta de dano ao DNA (do inglês, DDR) pode ser ativada por diferentes vias de sinalização e enzimas. No caso da impossibilidade de reparo ao DNA, a instabilidade genômica celular atinge níveis elevados que corroboram para a morte celular ou senescência.



**Figura 1:** Resposta celular a diferentes fontes de dano ao DNA. Fonte: Speidel (2015).



### 1.4.1 Mutações genéticas

Assim como as demais células que constituem o organismo, a célula cancerígena é descendente de linhagem de divisão de células mitóticas; entretanto o DNA da célula cancerígena adquiriu modificações quando comparado ao da célula progenitora. Para estas células podem ser diferenciados dois tipos de mutações: as hereditárias, presentes na célula do zigoto que será transmitida à geração seguinte; e as adquiridas, que não estão no zigoto, mas são adquiridas por exposição a determinados agentes que ocasionam as mutações (STRATTON; CAMPBELL; FUTREAL, 2009).

As mutações somáticas no genoma cancerígeno podem ser resultantes de substituição, inserção ou deleção de bases constituintes do DNA, rearranjos ou anormalidades do número de cópias presentes no genoma diploide. Por ação exógena, como visto em infecções por vírus oncogênicos, o DNA da célula cancerígena pode captar fragmentos de novas sequências de DNA. Adicionalmente, alterações epigenéticas, como metilação e alterações no perfil de acetilação de histonas, podem provocar mudanças na cromatina com capacidade de transmissão entre gerações bem como gerar efeitos fenotípicos que favorecem a carcinogênese (STRATTON; CAMPBELL; FUTREAL, 2009).

### 1.4.2 O gene TP53

As anormalidades nas células cancerígenas desencadeadas por mutações podem afetar genes importantes como o gene supressor tumoral TP53. O papel anti-proliferativo deste gene, em resposta a danos fisiológicos, torna-o alvo para inativação do câncer que ocorre principalmente por substituição de base e perda de alelos. A herança de mutações no gene TP53 aumenta a predisposição para cânceres de início precoce como visto em carcinomas de mama, tumores cerebrais e sarcoma. O gene TP53 também apresenta polimorfismos em regiões codificantes e não codificantes que aumentam a susceptibilidade do indivíduo em desenvolver câncer (OLIVIER; HOLLSTEIN; HAINAUT, 2010).

O gene TP53 pode ser ativado por diferentes formas de estresse oncogênico e induzir a parada do ciclo celular. A proteína codificada pelo gene p53 pode acumular-se no núcleo celular por mecanismos pós-traducionais e ativar genes alvos que vão atuar sobre a função de suprimir o tumor. Dentre estes genes está a p21 que constitui a família de inibidores de quinases dependentes de ciclina (CDK). Estudos da

literatura reportaram que a maior expressão de p21 está associada à parada do ciclo celular nas fases G1/S ou G2/M (XIA; KNEZEVIC; VASSILEV, 2010). Segundo Razmikmirzayans e colaboradores (2002), a p53 regula negativamente a transcrição de genes importantes tais como BCL-2, MCL-1 e survivina, os quais suprimem a atividade apoptótica, além do MDR-1 que confere fenótipo de multirresistência farmacológica em muitos tratamentos quimioterápicos.

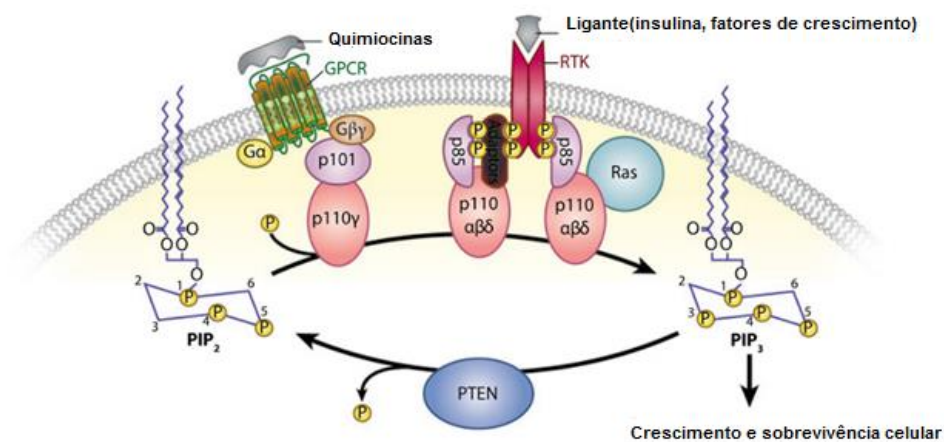
#### 1.4.3. Os genes BRCA

De acordo com dados da literatura, mutações em genes supressores tumorais BRCA 1 e BRCA 2 estão associadas ao aumento do risco de desenvolvimento de câncer de ovário e câncer de mama. Ambos os genes estão relacionados a mecanismos de reparo do DNA por recombinação homóloga que contribui para a instabilidade genômica e transformação de células tumorais (XU; YANG; ZHAO, 2016). Os genes BRCA 1 e BRCA 2 estão envolvidos nos processos de regulação do ciclo celular, transcrição gênica, apoptose e outras vias relacionadas à regulação gênica. Segundo Enyedi e colaboradores (2016) as alterações das mutações nos genes BRCA são importantes para personalização do tratamento na clínica, uma vez que pacientes que são portadores de anomalias na expressão destes genes apresentaram diferentes respostas terapêuticas quando tratadas com inibidores da enzima poli (ADP-ribose) polimerase (ENYEDI et al, 2016).

#### 1.4.4 O gene PTEN

O gene PTEN, supressor tumoral, codifica a proteína homólogo de tensina e fosfatase. Assim como os demais genes supressores tumorais, apresenta funções na regulação do ciclo celular, apoptose e metástase. O gene PTEN pode ser regulado por metilação, acetilação, oxidação e ubiquitinação. Mutações em PTEN estão associadas a vários tumores em humanos, bem como causar a síndrome de Cowden, que é caracterizada pelo alto risco em desenvolver carcinoma de mama (ZHANG, 2013). PTEN é um regulador negativo da via de sinalização da PI3K por desfosforilação do intermediário PIP3 (Figura 2). A fosfatase é antagonista da PI3K. Em resposta a estímulos extracelulares, tais como a captação de insulina, fatores de crescimento, quimiocinas, a subunidade catalítica de PI3K é recrutada por receptores acoplados à proteína G ou receptores tirosina quinase através da subunidade regulatória p85 ou p101, conforme ilustração, onde o PIP2 é fosforilado para gerar

PIP3. PTEN é uma fosfatase lipídica que antagoniza o perfil de atividade de PI3K (fosfatidilinositol-3-quinase) por desfosforilar PIP3 (fosfatidilinositol 3,4,5- trifosfato) na posição D3 para gerar PIP2A (fosfatidilinositol 4,5- bifosfato) na via da PI3K, que regula o crescimento, sobrevivência e proliferação celular, cuja produção de PIP3 leva à ativação da via canônica AKT-mTORC1. Desta forma, a via PI3K destaca-se como alvo terapêutico uma vez que mutações do gene PTEN podem resultar em proliferação celular desregulada e maior atividade celular favorecendo a carcinogênese.



**Figura 2:** Mecanismo de regulação negativa do gene PTEN sobre a via de sinalização PI3K.  
Fonte: Chauhoub e Baker (2009).

### 1.5 A Relação Entre a Epigenética e o Câncer

Embora os estágios de iniciação e progressão sejam geralmente originados por alterações genéticas, há evidência de que modificações epigenéticas podem provocar alterações que impactam a dinâmica da expressão gênica.

Segundo Kanwal e Gupta (2010) a epigenética é definida como o conjunto de modificações herdáveis na atividade da expressão gênica que ocorre sem alterar as sequências das bases do DNA. Dentre os processos importantes na regulação epigenética encontram-se a metilação do DNA, modificações da cromatina, no nucleossoma, alterações nos padrões de acetilação e desacetilação por enzimas histonas acetiltransferases e histonas desacetilases e micro-RNAs.

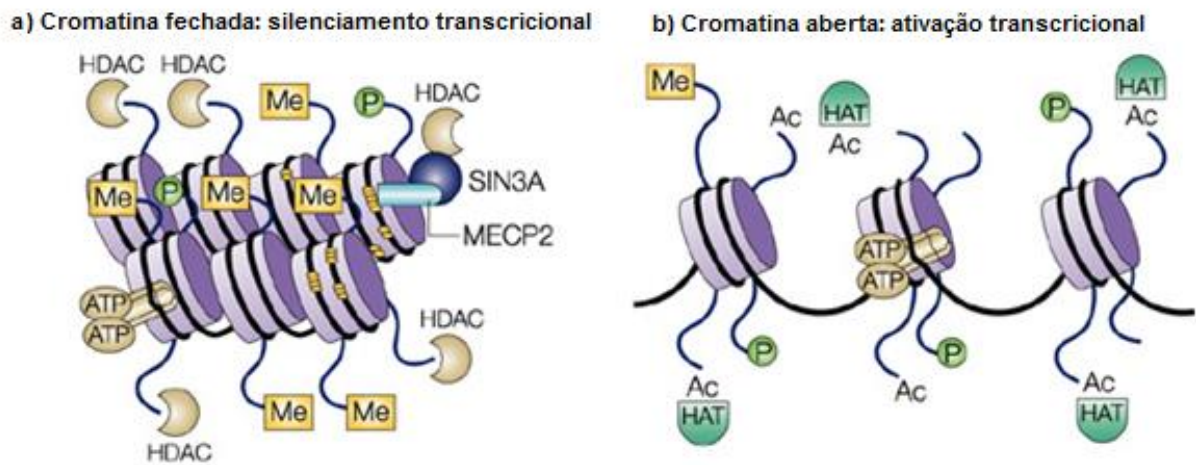
### 1.5.1 DNA metiltransferases

A metilação do DNA está relacionada à família de enzimas conhecidas como DNA metiltransferases (DNMTs) que reconhecem os dinucleotídeos CpG (citosina-fosfato-guanina) e tem por consequência o silenciamento de genes e de regiões genômicas não codificantes. A metilação ocorre pela adição covalente do grupo metila na posição 5' da citosina e dos dinucleotídeos CpG. Existem três principais enzimas DNA metiltransferases: DNMT1, DNMT3A e DNMT3B (RODRIGUEZ-PAREDES; ESTELLE, 2011). Adicionalmente, as células cancerígenas podem apresentar padrões alterados no perfil de metilação do DNA. A hipometilação de DNA, por exemplo, ocorre em sequências genômicas, em elementos repetitivos, retrotransposons e íntrons, o que resulta em instabilidade genômica bem como na indução da ativação de protooncogenes. Por sua vez, a hipermetilação dos dinucleotídeos CpG está associada ao silenciamento de genes supressores tumorais presente em várias neoplasias (RODRIGUEZ, PAREDES E ESTELLE, 2011).

### 1.5.2 O Nucleossoma e as alterações nas histonas

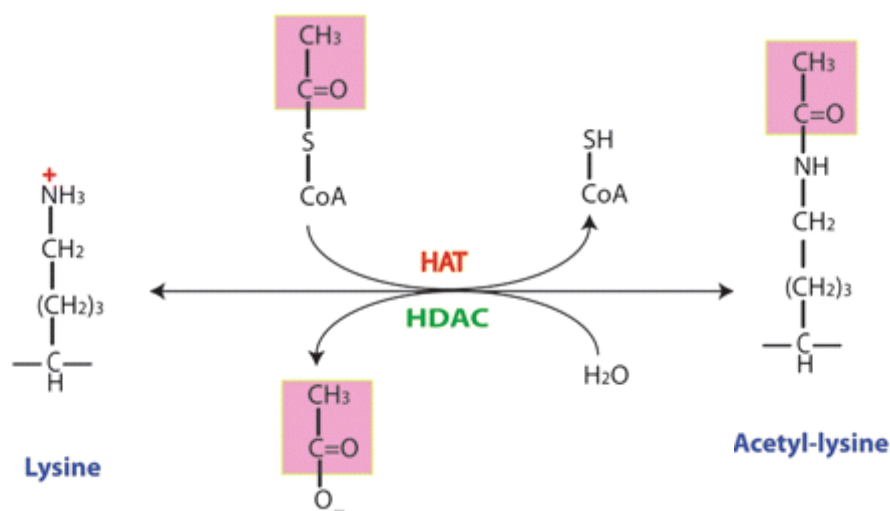
A unidade estrutural e funcional de repetição básica da cromatina é o nucleossoma que consiste de oito proteínas histonas e cerca de 146 pares de base do DNA. Duas das histonas H2A, H2B, H3 e H4 se juntam para formar um octâmero de histonas que se ligam e envolve cerca de 1,7 rotações de DNA. A adição da proteína H1 envolve outros 20 pares de base, resultando em duas voltas completas ao redor do octâmero (THOMAS; KORNBERG, 1975). A disposição das histonas resulta de modificações por metilação, ubiquitinação, fosforilação e acetilação de grupos *N*-terminais nos resíduos de lisinas.

As alterações por acetilação e desacetilação estão associadas respectivamente com ativação e silenciamento gênico apresentados na Figura 3 (CLAYTON et al., 2006 apud DANIEL E TOLLESBO, 2015).



**Figura 3:** Nucleossoma constituído do DNA e modificações em (a) por desacetilação das histonas e em (b) acetilação de histonas. Fonte: Johnstone, 2002.

A acetilação de resíduos *N*-terminais de lisina elimina a carga positiva, reduzindo a interação com a carga negativa dos grupos fosfato expostos do DNA, tornando a estrutura da cromatina relaxada, o que facilita o acesso ao DNA e ativação das vias de transcrição gênica (CLAYTON et al., 2006 apud DANIEL E TOLLESBO, 2015) (Figura 4).



**Figura 4:** Mecanismo básico de acetilação de resíduos de lisina pelas HATs e a desacetilação efetuada pelas HDACs. Fonte: Sun et al. (2011).

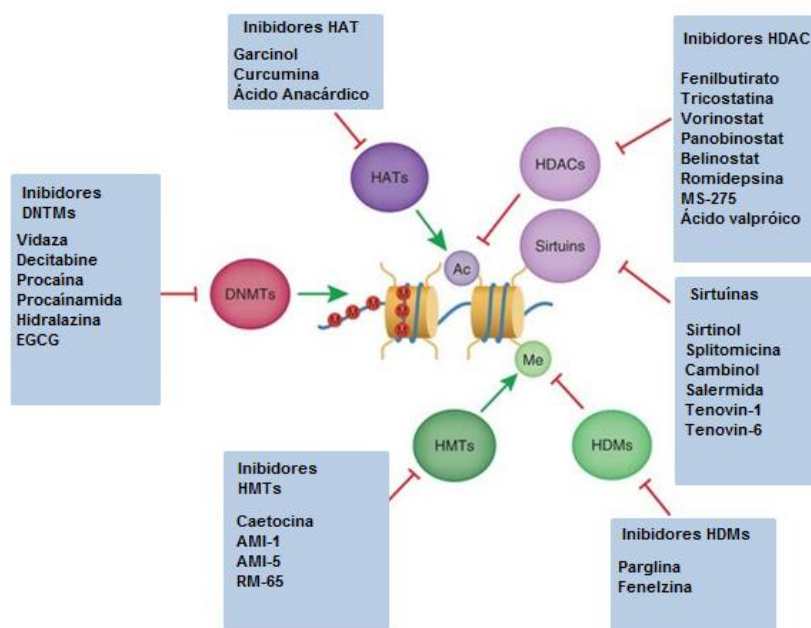
As modificações pós-traducionais como a acetilação de resíduos de lisina estão relacionadas a diversas patologias uma vez que histonas, receptores nucleares,

fatores transcricionais e enzimas têm suas atividades moduladas por enzimas histona acetiltransferases (HATs) e histona desacetilases (HDACs) (WAPENAAR; DEKKER, 2016).

A acetilação das histonas está relacionada à transcrição gênica; entretanto outros alvos podem ser regulados e, conseqüentemente, diferentes vias como o protooncogene c-Myc, a p53 e o fator nuclear NF-κB. As HATs e HDACs são consideradas importantes alvos terapêuticos e novos compostos que atuam sobre esta via têm sido explorados atualmente na clínica (WAPENAAR; DEKKER, 2016).

### 1.5.3 A maquinaria epigenética

As modificações de histonas e a metilação do DNA podem interagir entre si e acarretar em mudanças na organização da cromatina e na própria identidade celular. Enzimas histona metiltransferases (HMTs) podem direcionar a metilação do DNA para alvos genômicos específicos por recrutamento de DNA metiltransferases (DNMTs), HMTs e dimetilases, o que gera alterações nos padrões de metilação do DNA. As interações entre a metilação do DNA e enzimas modificadoras de histonas como as HATs e HDACs podem aumentar a complexidade do maquinário transcripcional na regulação gênica, alterando a acessibilidade do DNA a diferentes fatores transcricionais, o que abre à possibilidade de desenvolvimento de novos alvos terapêuticos, conforme ilustrado na Figura 5 (SHARMA; KELLY; JONES, 2009).



**Figura 5** :Compostos que atuam na maquinaria epigenética. Adaptado de Rodriguez e Estelle (2011).

## 1.6 Histonas Desacetilases

As histonas desacetilases aumentam as interações entre histonas e o DNA, o que favorece que a cromatina fique mais condensada e promove assim o silenciamento do maquinário transcricional. As HDACs podem formar complexos correpressores com receptores nucleares na ausência de ligantes.

As enzimas histonas desacetilases são divididas em quatro famílias, sendo as das classes I, II e IV amidoidrolases dependentes de zinco para atividade catalítica; enquanto as da classe III, as sirtuínas, são dependentes da nicotinamida adenina de dinucleotídeo (NAD). A classificação e subtipos de HDAC está apresentada na Tabela 2.

**Tabela 2:** Classificação e subtipos de famílias das histonas desacetilases.

Família	Subtipo	Localização celular	Substratos
<b>Classe I</b>	HDAC 1	Núcleo	Receptor androgênico, SHP, p53, Stat3
	HDAC 2	Núcleo	Receptor glicocorticoide, Bcl-6, Stat 3
	HDAC 3	Núcleo	Stat 3, CDK-9, Rel A
	HDAC 8	Núcleo	-
<b>Classe IIa</b>	HDAC 4	Núcleo/citoplasma	-
	HDAC 5	Núcleo/citoplasma	-
	HDAC 7	Núcleo/citoplasma	PLAG 1 e PLAG 2
	HDAC 9	Núcleo/citoplasma	FOX3P
<b>Classe IIb</b>	HDAC 6	Citoplasma	
	HDAC 10	Citoplasma	-
<b>Classe III</b>	SIRT 1	Núcleo	-
	SIRT 2		$\alpha$ tubulina
	SIRT 3,4,5	Mitocôndria	-
	SIRT 6	Núcleo	-
	SIRT 7		-
<b>Classe IV</b>	HDAC 11	Núcleo/citoplasma	-

Fonte: Adaptado de Dokmanovic, Clarke e Marks (2007).

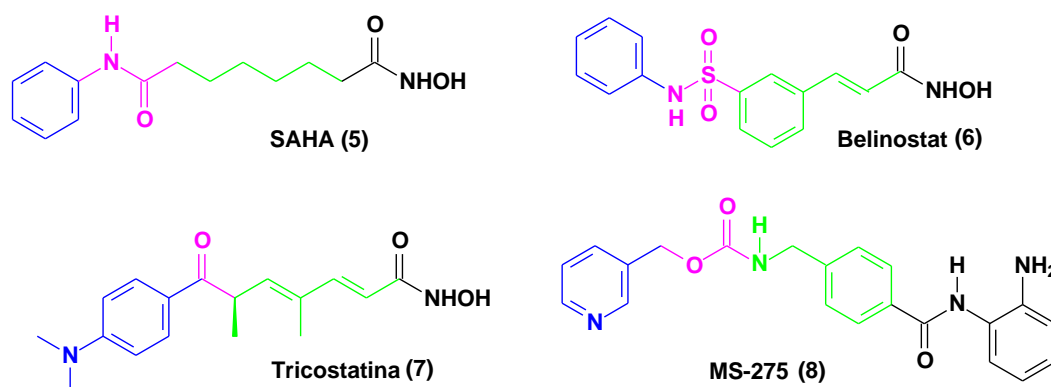
As histonas desacetilases alteram a expressão de vários genes por interagir com fatores transcricionais como E2f, STAT3, p53, proteína retinoblastoma (LIN et al. 2006, apud ROPERO e ESTELLER, 2007). Ainda são citadas a regulação da homeostase celular, que atua na progressão do ciclo celular, diferenciação e

apoptose. As HDACs ainda podem interferir na atividade de receptores hormonais, chaperones e proteínas de resposta ao dano ao DNA (ROPERO; ESTELLER, 2007).

Conforme visto anteriormente, o câncer é considerado uma doença proveniente de alterações genéticas como mutações e deleções nas sequências de bases do DNA e alterações na cromatina por mecanismos epigenéticos, que resultam na perda de atividade de genes de supressão tumoral e de proteínas de reparo, bem como pela maior atividade de oncogenes e genes que promovem em conjunto a carcinogênese.

O desequilíbrio na expressão e atividade das histonas desacetilases também está relacionado à progressão de tumores. As HDACs modificam o padrão de acetilação de histonas atuando no silenciamento gênico. No entanto, a desregulação da expressão de histonas desacetilases colabora para o aumento de genes que atuam na proliferação celular, ciclo celular e apoptose. Neste sentido, a superexpressão de HDAC1 foi encontrada nos cânceres gástrico, de mama, pancreático, hepatocelular, pulmão, e próstata, sendo diretamente proporcional ao prognóstico e sobrevida dos pacientes. Adicionalmente, superexpressões das HDACs 1, 2 e 3 têm associação com linfoma de Hodgkin; a de HDAC6 foi identificada em uma série de estágios primários em diferentes variedades de câncer; enquanto a de HDAC 10 foi observado em pacientes com leucemia linfocítica crônica e indução da liberação de espécies reativas de oxigênio em tumores (BENEDETTI, CONTE e ALTUCCI, 2015).

Entre os derivados inibidores HDAC encontram-se o vorinostat ou SAHA (5), o belinostat (6), a tricostatina (7) e o derivado MS-275 (8) (Figura 6).



**Figura 6:** Exemplos de inibidores HDAC, reconhecidos na literatura. As estruturas assinaladas em azul correspondem ao cap da unidade farmacofórica, os assinalados em rosa correspondem à unidade conectora, em verde ao espaçador hidrofóbico e em preto a porção de interação com zinco.

Fonte: Próprio autor.



### 1.7 Histonas Acetiltransferases (HATs)

As histonas acetiltransferases (HATs) utilizam como cofator a acetil-CoA para transferência de grupos acetila a grupos amino dos resíduos de lisina nas cadeias da proteína histona, levando à relaxação da cromatina e ativação transcricional. As histonas desacetilases (HDACs) opõem-se às HATs pela reversão da acetilação dos resíduos de lisina (desacetilação), restaurando a carga positiva e compactando a cromatina (ARROWSMITH et al, 2012).

As enzimas histonas acetiltransferases (HAT) também são conhecidas como lisina acetiltransferases (KAT) e são divididas em cinco famílias GNAT, MYST, P300/CBP, TAFII250 e a última como cofatores de receptor nuclear (Tabela 3).

**Tabela 3:** Classificação e subtipos das principais famílias das histonas acetiltransferases.

Família	Subtipo	Substratos	Características
<b>GNAT</b>	KAT2A (GCN5)	H3 e H4	Bromodomínio carboxiterminal
	KAT2B (PCAF)	H3 e H4	
<b>MYST</b>	KAT5 (Tip60)	H2a, H3, H4	Motivo estrutural de acetilação e cromodomínio
	KAT6A (MYST3)	H3	
	KAT6B (MYST4)	-	
	KAT7 (MYST2)	-	
	KAT8 (MYST1)	H4	
<b>P300/CBP</b>	KAT3B (p300)	H2A,H2B,H3,H4	Motivo relacionados à acetilação, regiões de dedos de zinco e bromodomínio
	KAT3A (CBP)	H2A,H2B,H3,H4	

Fonte: Adaptado de Wapenaar e Dekker (2016).

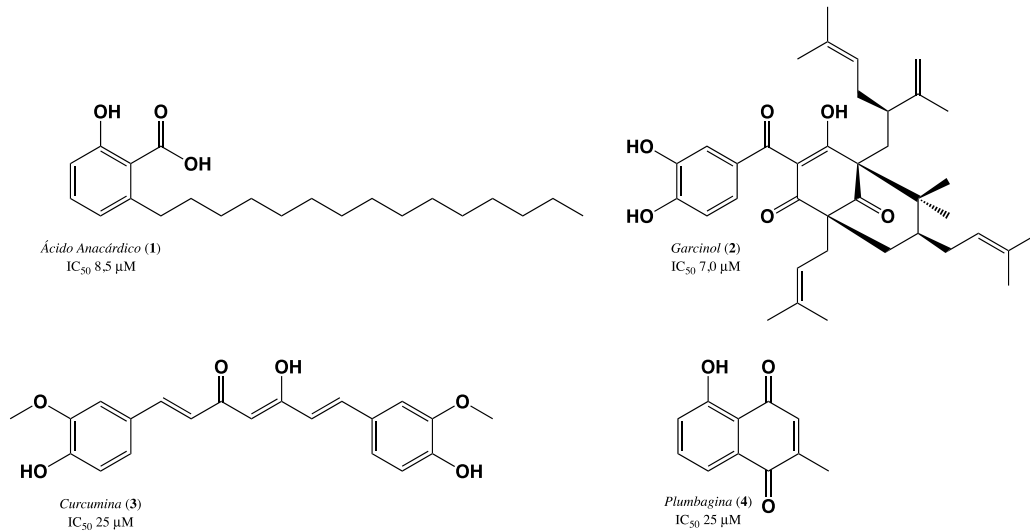
A família GNAT também conhecida como *N*-acetiltransferases relacionadas à GCN5 apresenta um motivo estrutural de acetilação altamente conservado. Dentre as características encontradas nesta família está o bromodomínio carbóxi-terminal que facilita o acesso ao substrato enzimático. As GNATs são capazes de acetilar outros substratos além de histonas e funcionam como coativadores para um conjunto de ativadores transcricionais (KARMODIYA et al., 2014).

As proteínas da família MYST contém dedos de zinco e apresentam motivo estrutural de acetilação, que permitem a ativação e desativação de genes. Adicionalmente, é sugerido que a presença de cromo-domínio facilite a interação com proteínas associadas à heterocromatina. Esta família está envolvida em ampla cadeia de funções de regulação, ativação e silenciamento gênico (KARMODIYA et al., 2014).

A família P300/CBP é formada por duas proteínas, P300 e CBP, as quais apresentam funções as quais podem ser permutadas. Estas enzimas contêm muitos domínios funcionais como motivos relacionados à acetilação e interação com acetil-COA, regiões de dedos de zinco e bromodomínio. Em adição, atuam como co-ativadores e interagem com muitos fatores transcricionais (KARMODIYA et al., 2014). A presença de bromodomínios facilita o reconhecimento de resíduos de lisina modificados nas histonas, tornando-se importantes na coativação transcricional, onde a identificação e ligação a resíduos de lisina de proteínas histonas são fundamentais na atividade regulatória (ARROWSMITH et.al, 2012).

Segundo a literatura, as enzimas HAT demonstram exercer atividade no crescimento tumoral e na progressão da doença. A ativação da maquinaria transcricional pode resultar em maior expressão de protooncogenes e o padrão de hiperacetilação pode potencializar a carcinogênese. Segundo Wapenaar e Dekker (2016), foi encontrada a correlação entre a hiperacetilação de histonas e carcinoma hepático bem como a acetilação de histonas H3 (H3K18) com a recorrência do câncer de próstata. Neste contexto, a p300 é capaz de promover a progressão do carcinoma prostático por acetilações do receptor e de NF-KB que pode potencializar o estímulo proliferativo (CERBO; SCHNEIDER, 2013). Adicionalmente, a HAT p300, bem como a TIP60 acetilam o receptor androgênico induzindo a expressão de genes alvos importantes. A enzima p300 foi encontrada superexpressa no câncer de mama, a qual pode atuar em receptores de estrogênio induzindo a proliferação tumoral no câncer. Em casos onde o gene supressor tumoral BRCA1 está mutado, a acetilação de p300/CBP ativa o receptor de estrogênio. (CERBO; SCHNEIDER, 2013).

Entre os produtos naturais inibidores de p300 encontram-se o ácido anacárdico (1), extraído de *Anacardium occidentale*; o garcinol (2), extraído de *Garcinia indica*; a curcumina (3), extraída de *Curcuma longa*; e plumbagina (4) extraída de *Plumbago scandens* (Figura 7).



**Figura 7:** Moléculas Inibidoras de HAT p300, extraídas de produtos naturais, representadas por ácido anacárdico saturado (1), garcinol (2), curcumina (3) e plumbagina (4).  
Fonte: Próprio

### 1.8 Alvos Farmacológicos e a Relação com o Ácido Anacárdico

A enzima p300, também conhecida como KAT3B, apresenta múltiplos domínios que interagem com diversas proteínas e fatores transcricionais. A expressão elevada de p300 está relacionada com a gênese de tumores e baixo prognóstico. Segundo dados da literatura já foram identificados em carcinoma prostático, hepático, carcinoma mamário, o que sugere a importância desta HAT como alvo terapêutico contra câncer.

A p300 atua como coativadora para uma série de oncogenes como a STAT3. A STAT3 quando fosforilada por receptores associados a JAK (do inglês, Janus Kinase) pode formar homo ou heterodímeros e translocar até ao núcleo, onde atua como ativador transcricional e desempenha importante papel no crescimento celular e apoptose. A p300 atua como coativadora de NF-KB e HIF-1 $\alpha$  (YANG et al.,2013). Segundo Li e colaboradores (2016) a enzima p300 pode acetilar centenas de substratos proteicos que incluem a p53 e proteínas de choque térmico HSP90. As suas atividades estão atreladas às vias de resposta ao dano de DNA, processos celulares envolvidos na proliferação celular e diferenciação celular.

### 1.8.1 Ácido anacárdico saturado: inibidor HAT p300

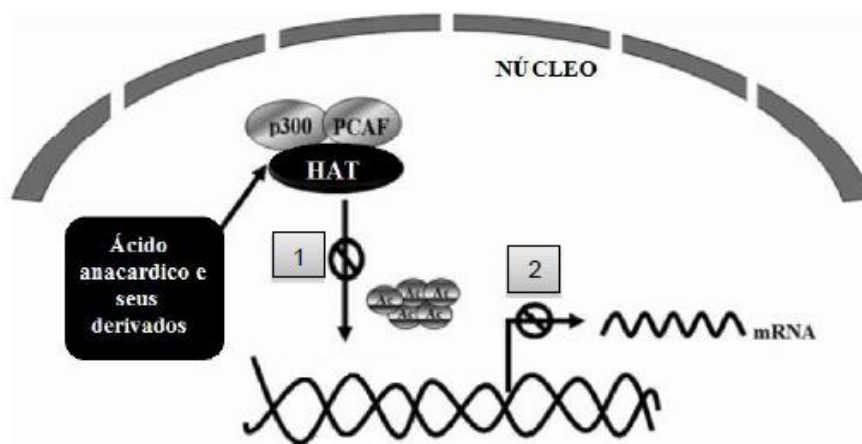
O ácido anacárdico saturado (**1**), principal componente do líquido da casca da castanha do caju natural, é estruturalmente um derivado salicílico que apresenta cadeia saturada com 15 átomos de carbono. Além de inibidor não competitivo de p300 e p300/CBP, **1** possui amplo espectro de atividades biológicas (STASIUK e KOZUBEK, 2010) que incluem atividade antimicrobiana frente a *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus mutans* and *anti Helicobacter pylori* resistentes à metilina (GREEN et al, 2008; MUROI e KUBO, 1996; KUBO, LEE e KUBO, 1999; KUBO, NIHEI e TSUJIMOTO, 2003); zoosporicida contra *Aphanomyces cochlioides* (BEGUM et al, 2002), antilarvária (SCHULTZ et al, 2006), moluscicida (SULLIVAN et al, 1982), antifúngica (PRITHIVIRAJ et al, 1997) e inseticida (MWALONGO et al, 1999) bem como apresenta perfil relacionado inibição de enzimas como lipooxigenase (SHOBHA, RAMADOSS, RAVINDRANATH, 1994; HA e KUBO, 2005; WISASTRA et al, 2012), ciclooxigenase (HSIEH et al, 2011; HA e KUBO, 2005; GRAZZINI et al, 1991), acetilcolinesterase (STASIUK, BARTOSIEWICZ e KOZUBEK, 2008), tirosinase (KUBO, KISKI-HORI e YOKOKAWA, 1994), heparanase (GRAZZINI et al, 1991) e GAPDH de *T. cruzi* (PEREIRA et al, 2008; FREITAS et al, 2009).

Estudos conduzidos por Sung e colaboradores (2008) relataram que o ácido anacárdico saturado inibe a ativação constitutiva de NF- $\kappa$ B – relacionado a uma variedade de células leucêmicas e tumores de células epiteliais – pela inibição da acetilação de p65 pela inibição da HAT p300. Adicionalmente, **1** diminui a expressão de inibidores de apoptose survivina, XIAP, Bcl-2, Bcl-xL e FLIP, os quais são regulados por NF- $\kappa$ B e quando superexpressos em tumores estão associados a sobrevivência, quimio e radioresistência. O trabalho de Sung e colaboradores (2008) ainda revela que o ácido anacárdico saturado suprime produtos genéticos implicados na angiogênese (VEGF), invasão (COX-2, MMP-9 e ICAM-1) e proliferação (ciclina D1 e c-Myc). Desta forma foi demonstrado que **1** é um potente inibidor da ativação de NF- $\kappa$ B – através da inibição de IKK, fosforilação de I $\kappa$ B, degradação de I $\kappa$ B, fosforilação da subunidade p65 pela HAT (HEMSHEKHAR et al, 2012) – que está relacionado aos efeitos antiangiogênico, antiproliferativo, pró-apoptótico, antimetastático, anti-inflamatório e imunomodulatório.

Segundo Hoesel e Schmid, o fator transcricional NF- $\kappa$ B induz citocinas inflamatórias que regulam a resposta imunológica, tais como TNF- $\alpha$ , IL-1, IL-6, IL-8, o

que resulta no recrutamento de leucócitos em sítios inflamatórios. Segundo Godwin e colaboradores (2013), os genes regulados por NF- $\kappa$ B estão associados também à proliferação (CDKs) e morte celular (Fas e FasL). A relação entre o processo inflamatório e o câncer é complexa. A resposta imune inata de neutrófilos que liberam espécies reativas de oxigênio para eliminar patógenos invasores causadores de danos ao DNA, colaboram para mutações genéticas, que podem desencadear na tumorigênese. A sinalização de NF- $\kappa$ B demonstrou favorecer a progressão do câncer por colaborar com a transição epitelial-mesenquimal e metástase, regula a angiogênese por ativação de VEGF (fator de crescimento endotelial vascular) e seus receptores. A inibição de NF- $\kappa$ B afeta a transcrição do gene p53, STAT, receptor de estrógeno, ATF-3, SMAD-3.

O ácido anacárdico saturado é um inibidor não competitivo de p300 e p300/CBP, sendo capaz de inibir também outras famílias das enzimas HAT como Tip60 bloqueando a ativação de ATM e DNA-PKCs, proteínas quinases que atuam após lesão do DNA (YIANNAKOPOULOU, 2014) (Figura 8).

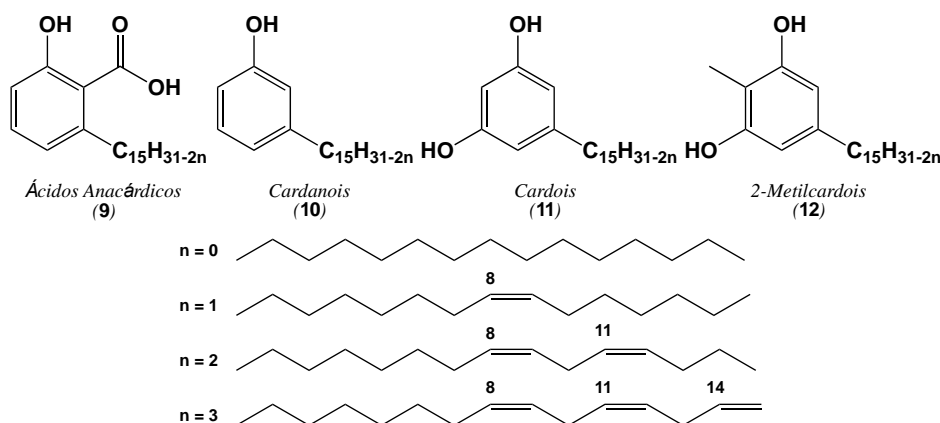


**Figura 8:** Mecanismo de ação do ácido anacárdico e seus derivados na supressão de NF- $\kappa$ B. Fonte: Hemshekhar et al (2011).

### 1.9 Derivados do LCC (Líquido da Casca da Castanha de Caju)

Segundo Mazzetto e Lomonaco (2009), o fruto do cajueiro (*Anacardium occidentale L.*) é a castanha, um aquênio de comprimento e largura variados, casca coriácea e lisa, mesocarpo alveolado, repleto de um líquido de cor escura, inflamável e caústico, conhecido como líquido da casca da castanha do caju.

O líquido da casca da castanha do caju é uma das fontes mais ricas em lipídeos fenólicos não-isoprenoides – ácidos anacárdicos (**9**), cardanois (**10**) cardois (**11**) e metilcardois (**12**) (Figura 9) – e pode ser classificado como natural ou técnico de acordo com as técnicas de extração utilizadas.



**Figura 9:** Principais componentes do LCC e diferentes graus de insaturação da cadeia lateral.

O LCC natural pode ser obtido por extração em prensa à frio ou com solventes; enquanto o LCC técnico é obtido por processo termo-mecânico que submetido a temperaturas entre 185-195°C leva à descarboxilação da mistura de ácidos anacárdicos (**9**) que é convertida na mistura de cardanois (**10**).

**Tabela 4:** Composições químicas dos LCC Natural e Técnico.

Constituinte	LCC Natural	LCC Técnico
Ácidos Anacárdicos	71,70 – 82,00 %	1,09 – 1,75 %
Cardanois	1,60 – 9,20 %	67,82 – 94,60 %
Cardois	13,80 – 20,10 %	3,80 – 18,86 %
2-Metilcardois	1,65 – 3,90 %	1,20 – 4,10 %
Componentes Minoritários	2,20 %	3,05 – 3,98 %
Material Polimérico	----	0,34 – 21,63 %

Fonte: Mazzetto e Lomonaco (2009)

Do ponto de vista químico, os lipídeos fenólicos do LCC configuram-se como matéria-prima versátil para transformações químicas devido à natureza dualística (caráter aromático e acíclico), aliada à existência de grupos funcionais polares no anel aromático e múltiplas insaturações na cadeia alifática em C-8, C-11 e C-14, cuja composição percentual está descrita na Tabela 5.

**Tabela 5:** Composição percentual relativa de insaturações nos constituintes fenólicos do LCC obtida por CG/MS.

<b>Constituinte</b>	<b>Ácidos Anacárdicos</b>	<b>Cardanois</b>	<b>Cardois</b>	<b>2-Metilcardois</b>
Saturado	2,2 – 3,0 %	3,9 – 4,4 %	0,2 – 2,7 %	0,9 – 1,3 %
Monoeno (8)	25,0 – 33,3 %	21,6 – 32,2 %	8,4 – 15,2 %	16,3 – 25,3 %
Dieno (8, 11)	17,8 – 32,1 %	15,4 – 18,2 %	24,2 – 28,9 %	20,6 – 24,4 %
Trieno (8, 11, 14)	36,3 – 50,4 %	45,1 – 59,0 %	36,5 – 67,2 %	49,8 – 62,2 %

Fonte: Mazzetto e Lomonaco (2009)

No âmbito de uma linha de pesquisa que visa o emprego dos lipídeos fenólicos não-isoprenoides do cajueiro (*Anacardium occidentale*) como matéria-prima para obtenção racional de novos agentes terapêuticos, nosso grupo de pesquisa vem desenvolvendo projetos relacionados ao desenho de ligantes com resultados promissores (LEMES, 2013; CORREIA, 2013; FERNANDES, 2014; RAMOS, 2014; FERREIRA 2014; ALVES, 2015; QUEIROZ, 2015; OLIVEIRA, 2016; MIRANDA, 2016). Desta forma, a utilização da biomassa do LCC – fonte renovável, biodegradável e de baixo custo – a partir dos arcabouços moleculares de seus lipídeos tem se mostrado como cenário estratégico, técnico e sustentável no planejamento racional de novos candidatos a agentes terapêuticos.

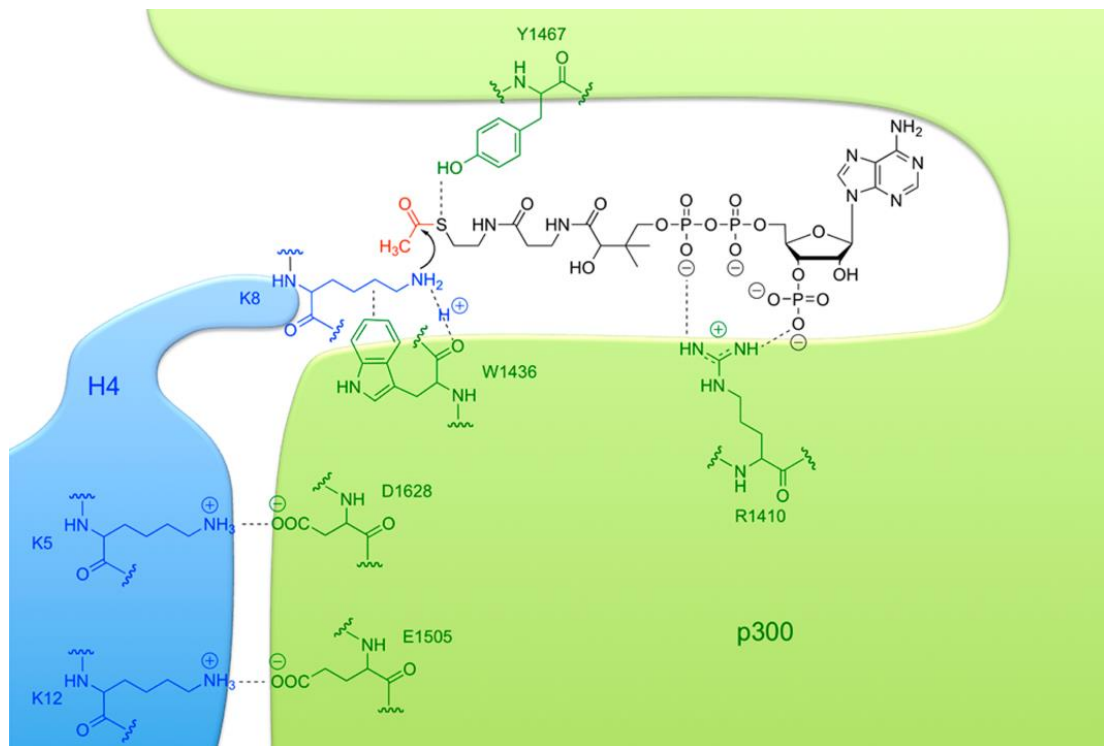
## ***Planejamento Estrutural***

---



## 2. PLANEJAMENTO ESTRUTURAL

O mecanismo de acetilação de lisina de histonas pela p300 envolve a participação da enzima acetil-CoA. Um dos ancoramentos apresentados por Dancy e Cole (2015) compreende a interação eletrostática entre os íons fosfatos da acetil-CoA com o grupo guanidina do resíduo de arginina 1410 (R1410) (Figura 10).

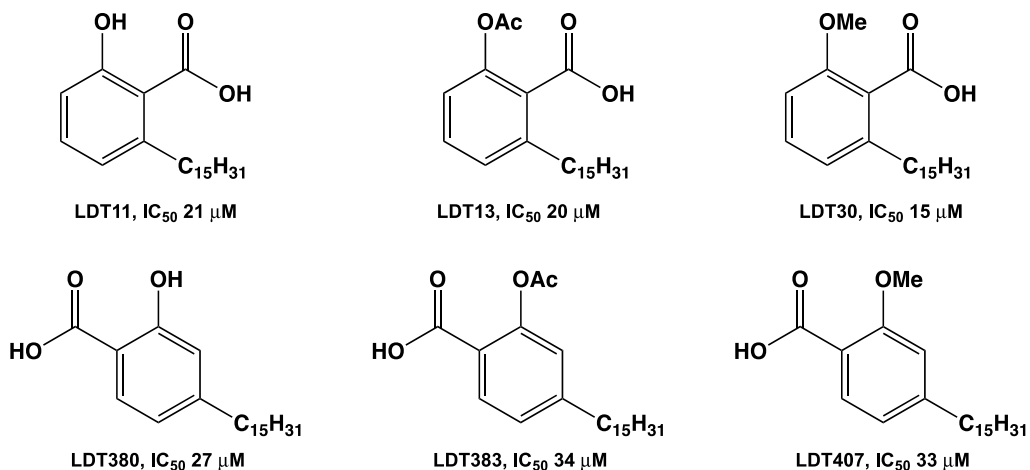


**Figura 10:** Acetilação de lisina da histona H4 pela Ac-CoA catalisada por p300. Fonte: DANCY e COLE, 2015.

Estudos preliminares sobre a inibição de p300 por derivados do ácido anacárdico (AAn) e isoanacárdico (iAAn), desenvolvidos respectivamente por Alves (2015) e Queiroz (2015), demonstraram que as moléculas contendo o grupo ácido carboxílico apresentaram melhor perfil de inibição com  $IC_{50}$  variando de 15,0 a 34,0  $\mu$ M (Figura 11). Segundo os autores, os ácidos carboxílicos ionizados a carboxilatos (pH 7,4) poderiam ser reconhecidos por meio de interações íon-íon – com R1410, mimetizando os grupos fosfato – ou íon-dipolo pela p300.

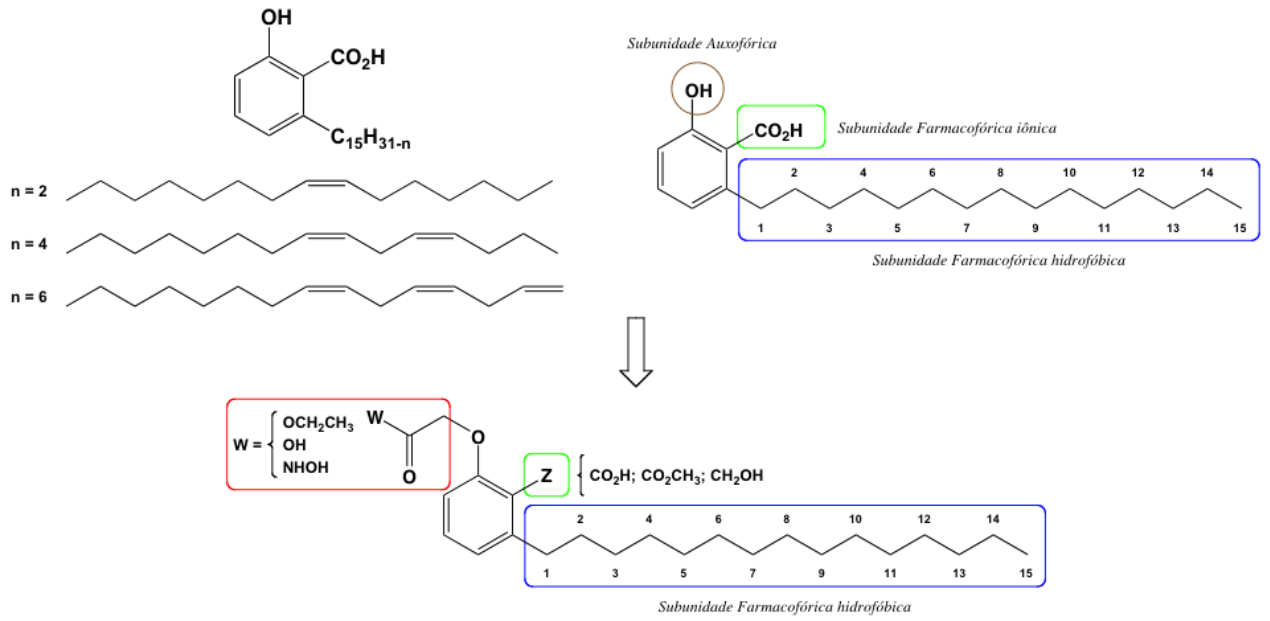
Os autores ainda apontam que embora considerada ponto farmacofórico para reconhecimento molecular pela p300, a cadeia pentadecila diminuiu a solubilidade de

derivados não iônicos – ésteres e amidas de AAn e iAAn – com influência na determinação do perfil de atividade destes compostos nas condições dos ensaios realizados.



**Figura 11:** Derivados dos ácidos anacárdicos e isoanacárdico e respectivas IC<sub>50</sub> para p300.

Os compostos-alvo foram planejados a partir de modificações estruturais na subunidade salicílica do ácido anacárdico saturado (LDT11, **1**) visando novos padrões moleculares com diferentes características de complementaridade para reconhecimento pela histona acetiltransferase p300. Neste sentido, a mistura de lipídeos fenólicos do ácido anacárdico foi escolhida como produto de partida, em que as cadeias insaturadas seriam funcionalizadas à cadeia saturada com quinze carbonos como ponto farmacofórico. Segundo estudos de docking realizados por Devipriya e Kumaradhas (2012), a cadeia pentadecila do ácido anacárdico é importante ao perfil de atividade frente à enzima p300, uma vez que permite interações importantes com os resíduos de Serina 1396. O grupo carboxila seria convertido nos respectivos éster metílico e álcool visando explorar os diferentes perfis de interações intermoleculares com a p300. Por sua vez, os grupos fenólicos dos derivados supracitados seriam convertidos a  $\alpha$ -oxiésteres,  $\alpha$ -oxiácidos e  $\alpha$ -oxiidroxamatos visando a modulação do perfil de atividade por meio de interações adicionais com o resíduo R1410 bem como aumento da solubilidade dos compostos.



**Figura 12:** Planejamento racional de inibidores p300.

## ***Objetivos***

---

### 3. OBJETIVO GERAL

Sintetizar e avaliar o perfil citotóxico de novos derivados planejados a partir do ácido anacárdico saturado, candidatos a inibidores da HAT p300.

#### 3.1. *Objetivos Específicos*

Compreendem os objetivos específicos:

- Obter o extrato bruto e isolar os derivados fenólicos do LCC;
- Sintetizar e caracterizar intermediários e produtos finais;
- Avaliar a atividade citotóxica dos compostos líderes frente à seis linhagens tumorais: PC3 (carcinoma de próstata), SF295 (glioblastoma), SW620 (adenocarcinoma de cólon), HL60 (leucemia promielocítica), K562 (leucemia mielóide crônica) e HCT116 (carcinoma de cólon).
  - Determinar o índice de citotoxicidade, que significa a concentração dos derivados-alvo, testados nas concentrações de 25 µg/mL e 50 µg/mL, que induzam 50% da morte celular ( $IC_{50}$ ) para a triagem de células inicialmente avaliadas (HCT116, PC3, SF295).
  - Determinar o índice de seletividade dos derivados para as linhagens de HCT116, HL60, K562, SW620, PC3 e SF295, cujos percentuais inibitórios por ensaio de citotoxicidade forem maiores ou iguais a 75%, tendo como controle linhagem não tumoral de fibroblasto murino (L929).
  - Determinar o potencial hemolítico dos compostos sintetizados em eritrócitos remanescentes de coleta de sangue para isolamento.
  - Estabelecer relações entre as estruturas e o perfil de citotoxicidade avaliado.

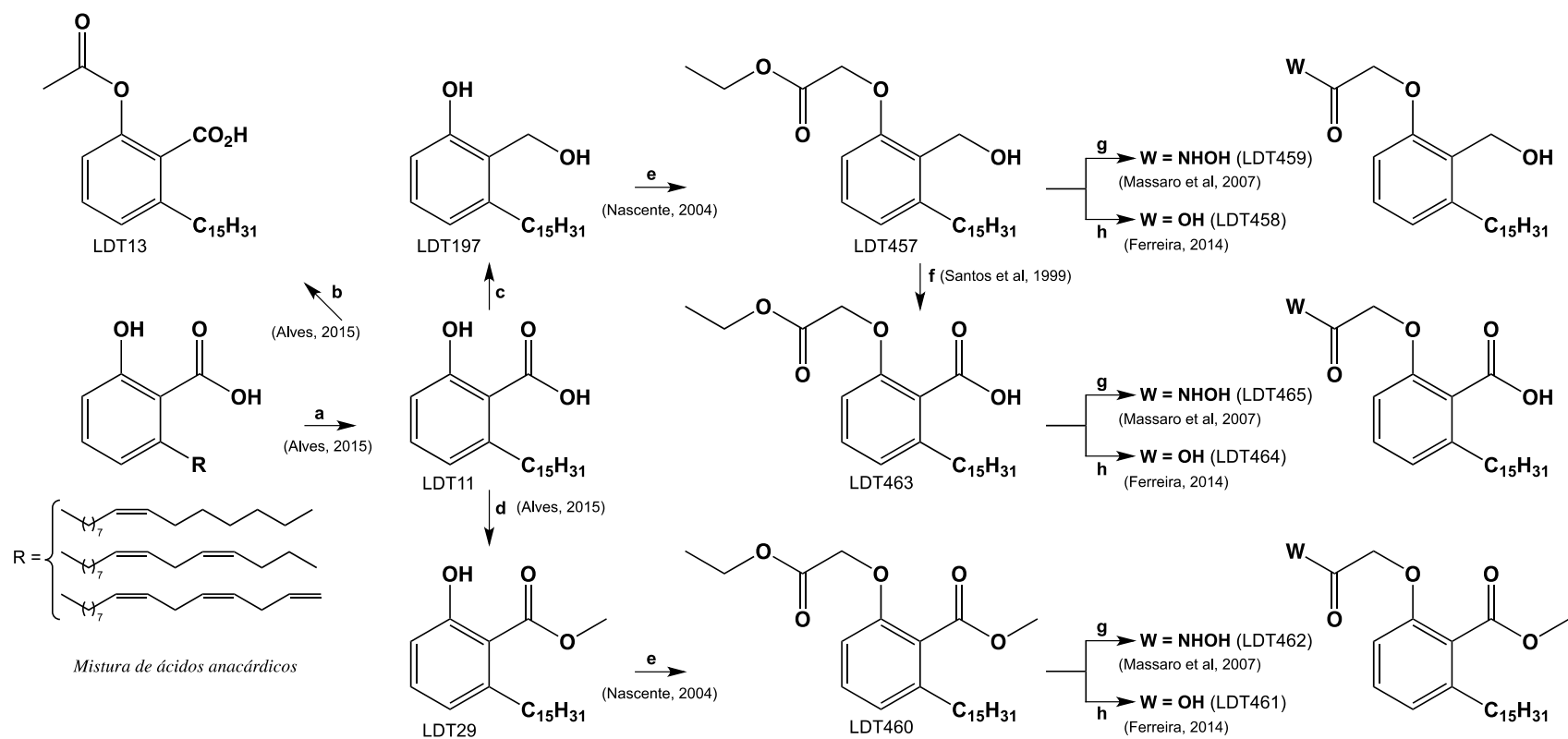
***Estratégia Sintética***

---

#### 4. ESTRATÉGIA SINTÉTICA

A rota sintética para a obtenção dos derivados-alvo foi estruturada a partir da exploração de procedimentos sintéticos clássicos de interconversão de grupos funcionais, por exemplo, *O*-alquilação, *O*-acilação, redução com hidretos metálicos e atmosfera de hidrogênio sob catálise, oxidação, condensação e aminólise, sob condições experimentais à temperatura ambiente, sob refluxo e radiação micro-ondas. As reações foram baseadas em metodologias desenvolvidas no laboratório e adaptações da literatura.

Neste sentido, o planejamento sintético foi delineado a partir da mistura de ácidos anacárdicos (9) que submetida à hidrogenação catalítica com Pd/C levaria ao ácido anacárdico saturado (LDT11). Por sua vez, o derivado LDT11 seria submetido a reações de acetilação com anidrido acético para a obtenção do acetilderivado LDT13, derivado com perfil inibitório para p300. Para a série 1 – derivados com o grupo hidróximetila (álcool benzílico) – LDT11 seria submetido à redução com hidreto de lítio e alumínio fornecendo o intermediário álcool LDT197. A alquilação quimiosseletiva do fenol com bromoacetato de etila levaria ao alfa-oxiéster LDT457. A hidrólise alcalina de LDT457 levaria ao ácido LDT458, enquanto aminólise com hidroxilamina forneceria o hidroxamato LDT459. A série 2 – derivados com grupo carboxila – foi planejada a partir da oxidação do álcool benzílico de LDT457 ao ácido LDT463, o qual submetido às etapas de hidrólise alcalina e aminólise com hidroxilamina forneceria os derivados diácido LDT464 e monohidroxamato LDT465. Por fim a série 3 – derivados com o grupo carbometoxila – foi planejada a partir da esterificação de Fischer do ácido LDT11 fornecendo o éster LDT29. Este por sua vez submetido a alquilação com bromoacetato de etila levaria ao alfa-oxiéster LDT457. As reações regioseletivas de hidrólise alcalina e aminólise com hidroxilamina do diéster levaria aos respectivos alfa-oxiácido LDT461 e hidroxamato LDT462. O planejamento sintético para a obtenção dos derivados-alvos está descrito no Esquema 1.



a. Pd/C, H<sub>2</sub> (60 psi), EtOH; b. Ac<sub>2</sub>O, H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>, MO; c. LiAlH<sub>4</sub>, THF, refluxo; d. MeOH, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, refluxo; e. BrCH<sub>2</sub>CO<sub>2</sub>Et, K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, Me<sub>2</sub>CO; f. CrO<sub>3</sub>, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>; g. NH<sub>2</sub>OH.HCl, KOH, MeOH; h. LiOH, THF/H<sub>2</sub>O.

**Esquema 1:** Estratégia sintética para obtenção dos derivados-alvo



***Parte Experimental***

---

## 5. PARTE EXPERIMENTAL

### 5.1 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), e no Laboratório de Desenvolvimento de Inovações Terapêutica (LDT) da Universidade de Brasília (UnB) no período entre fevereiro de 2015 e setembro de 2016.

Os reagentes e solventes químicos utilizados neste trabalho foram adquiridos das indústrias Sigma-Aldrich® (EUA), Tedia® (EUA) e PanReac (Espanha). Trietilamina (TEA), tetraidrofurano (THF) e diclorometano (DCM) e anilina 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 em banho de óleo. Para as reações assistidas por radiação micro-ondas foi utilizado forno de micro-ondas doméstico Brastemp®, modelo BMK38ABHNA JetDeFrost com capacidade de 38 L e potência de 900 W, sem agitação magnética. As reações de hidrogenação catalítica foram realizadas em aparelho Parr Instrument Company®, série 3910.

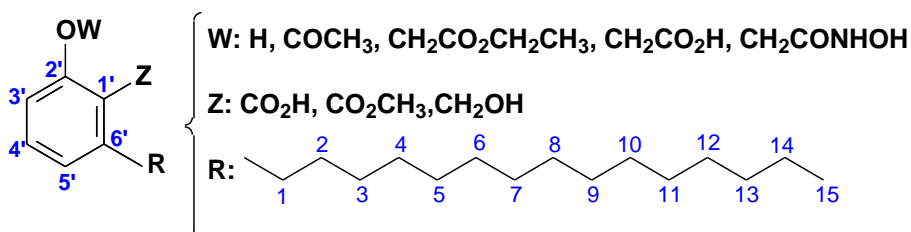
As reações foram monitoradas por cromatografia em camada delgada (CCD) por meio de cromatofolhas (5,0 x 1,5 cm) de alumínio de Kieselgel 60 F254 com espessura de 0,25 mm (SILICYCLE®) e reveladas em lâmpada ultravioleta UV (254 nm) e reveladores – solução hidroalcoólica de cloreto férrico a 5% e solução alcoólica de 2,4-dinitrofenilhidrazina – o que permitiu o cálculo do fator de retenção (Rf) de cada substância. Para a purificação dos compostos foi utilizada cromatografia em coluna tendo como fase fixa gel de sílica G60 (70-230 mesh ou 230-400 mesh, SILICYCLE®) bem como por meio do sistema de cromatografia flash em equipamento Isolera Spektra Systems with ACI™ (Biotage®) em cartucho de sílica SNAP 10 g.

Os solventes foram evaporados à pressão reduzida utilizando evaporador rotatório Tecnal® TE-211, conectado a sistema de alto-vácuo com pressão variando entre 10 e 0,1 mmHg. Os pontos de fusão, não corrigidos, foram determinados em aparelho digital de fusão MQAPF302.

Os espectros de ressonância magnética nuclear de hidrogênio (RMN de  $^1\text{H}$  – 300 MHz ou 500 MHz) e de carbono 13 (RMN de  $^{13}\text{C}$  – 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  $\text{CDCl}_3$  como solvente e 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 ( $\text{cm}^{-1}$ ).

A Figura 13 apresenta a estrutura Markush e numerações padronizadas visando facilitar a análise dos espectros.



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

## 5.2. Metodologia Sintética e Caracterização dos Compostos

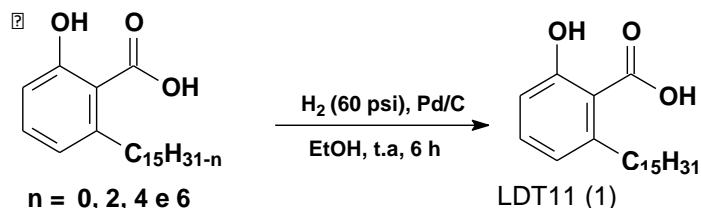
Os derivados e intermediários tiveram como produto de partida a mistura de ácidos anacárdicos, principal componente do LCC natural.

### 5.2.1. Obtenção do Ácido Anacárdico a Partir do LCC Natural

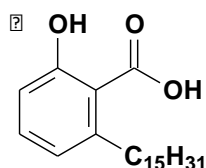


A um balão de 100 mL foram adicionados 30,00 g de LCC natural, 15,00 g de  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  – previamente solubilizado em água (10,0 mL) – e mistura de MeOH (180,0 mL) e água destilada (30,0 mL). O sistema reacional permaneceu em refluxo, com sistema de resfriamento do condensador à 0°C e aquecimento em banho de óleo à 80°C, sob agitação magnética por 3 horas. Após este período a mistura foi resfriada à temperatura ambiente e filtrada à vácuo. Os sais dos anacardatos de cálcio foram solubilizados em acetato de etila (150,0 mL) e à mistura, sob banho de água/gelo e agitação magnética, foi adicionada solução de ácido clorídrico a 50% até atingir pH 1. A fase orgânica foi lavada com solução saturada de cloreto de sódio e seca em sulfato de sódio anidro. Após evaporação do solvente à pressão reduzida, a mistura de ácidos anacárdicos foi purificada em coluna cromatográfica tendo gel de sílica, eluída com mistura de hexano e acetato de etila (80%:20%) fornecendo a mistura bruta de ácidos anacárdicos em rendimento de 80%. A mistura foi repurificada em coluna de gel de sílica, eluída com gradiente de mistura hexano e acetato de etila (95%:5% a 50%:50%) fornecendo a mistura desejada em rendimento de 90%.

### 5.2.2. Obtenção do Derivado Ácido 2-Hidróxi-6-pentadecilbenzóico (LDT11, 1)



A um frasco de hidrogenação catalítica de 250 mL foram adicionados 5,00 g da mistura de ácidos anacárdicos (**9**) (~14,35 mmol), 0,20 g de catalisador paládio-carvão a 10% (Pd/C) e etanol (50,0 mL). O sistema de hidrogenação foi submetido à pressão de 60 Psi de hidrogênio em reator Paar à temperatura ambiente por 6 horas. Em seguida, a mistura foi filtrada em funil sinterizado e o solvente evaporado à pressão reduzida. O resíduo foi recristalizado em hexano fornecendo o ácido anacárdico saturado (LDT11,1).



Sólido Branco

Rendimento: 90%

RF: 0,48 (Hex80%:AcOEt20%)

Ponto de fusão: 81°C-84°C

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

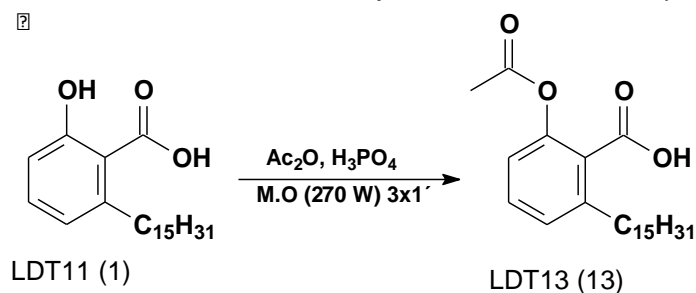
Massa molar: 348,519 g/mol

IV (KBr)  $\nu_{\text{máx}} \text{ cm}^{-1}$ : 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 ( $\nu_{\text{sC-O}}$ ).

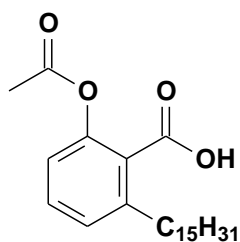
RMN de <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  0,89 (t,  $J = 6,5$  Hz, 3H, 15); 1,26 (m, 24H, 3-14); 1,60 (qi,  $J = 6,6$  Hz, 2H, 2); 3,00 (t,  $J = 7,7$  Hz, 2H, 1); 6,79 (d,  $J = 7,4$  Hz, 1H, 3'); 6,89 (d,  $J = 8,0$  Hz, 1H, 5'); 7,37 (t,  $J = 7,9$  Hz, 1H, 4'); 10,72 (s, ArOH).

RMN de <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); 29,6-30,0 (CH<sub>2</sub>, 3-12); 32,1 (CH<sub>2</sub>, 13); 32,2 (CH<sub>2</sub>, 2); 36,7 (CH<sub>2</sub>, 1); 110,6 (C, 1'); 116,1 (CH, 3'); 123,0 (CH, 5'); 135,6 (CH, 4'); 148,1 (C, 6'); 163,8 (C, 2'); 176,5 (ArC=O<sub>2</sub>H).

### 5.2.3 Obtenção do Derivado Ácido 2-Acetóxi-6-pentadecilbenzóico (LDT13, 13)



A um erlenmeyer de 50 mL foram adicionados 2,00 g do derivado **1** (5,74 mmol), 1,6 mL de anidrido acético (17,22 mmol) e 6 gotas de ácido fosfórico. O sistema foi submetido à radiação micro-ondas à potência de 30% (270 W) durante 3 minutos. Em seguida a mistura foi solubilizada em acetato de etila (20,0 mL) e lavada com soluções de bicarbonato de sódio a 5% (3 x 15,0 mL), de HCl a 10% (15,0 mL) e saturada de cloreto de sódio (15,0 mL). Após secagem em sulfato de sódio anidro, o solvente foi removido à pressão reduzida e o produto purificado em coluna cromatográfica de gel de sílica, eluída com gradiente de mistura de hexano e acetato de etila (95%:5% a 60%:40%) fornecendo o derivado LDT13 (**13**).



Sólido Branco

Rendimento: 65%

RF: 0,20 (Hex 80%: AcOEt 20%)

Ponto de fusão: 65°C-69°C

Fórmula Molecular: C<sub>24</sub>H<sub>39</sub>O<sub>4</sub>

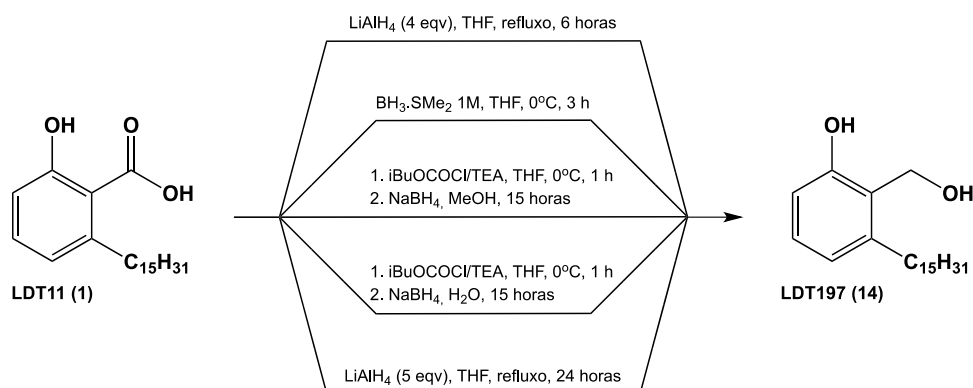
Massa molar: 390,556 g/mol

IV (KBr)  $\nu_{\text{máx}} \text{ cm}^{-1}$ : 2922 ( $\nu_{\text{asCH}_2}$ ); 2800 ( $\nu_{\text{sCH}_2}$ ); 1714 ( $\nu_{\text{C=O}}$ ); 1460 ( $\nu_{\text{C=C}}$ ); 1317 ( $\nu_{\text{CH}_3}$ ); 1223 ( $\nu_{\text{asC-O}}$ ).

RMN de <sup>1</sup>H (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  0,89 (t,  $J = 6,8$  Hz, 3H, 15); 1,26 (m, 24H, 3-14); 1,64 (q,  $J = 7,5$  Hz, 2H, 2); 2,31 (s, 3H, ArOCOCH<sub>3</sub>); 2,81 (t,  $J = 7,9$  Hz, 2H, 1); 7,01 (d,  $J = 8,0$  Hz, 1H, 3'); 7,17 (d,  $J = 7,7$  Hz, 1H, 5'); 7,41 (t,  $J = 7,9$  Hz, 1H, 4').

RMN de <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); 29,6-29,9 (CH<sub>2</sub>, 3-12); 31,7 (CH<sub>2</sub>, 13); 32,1 (CH<sub>2</sub>, 2); 34,1 (CH<sub>2</sub>, 1); 120,8 (CH, 3'); 124,9 (C, 1'); 127,8 (CH, 5'); 131,6 (CH, 4'); 143,9 (C, 6'); 148,9 (C, 2'); 169,7 (ArOCOCH<sub>3</sub>); 172,4 (ArCO<sub>2</sub>H).

### 5.2.4 Obtenção do Derivado 2-(Hidróximetil)-3-pentadecilfenol (LDT197, 14)



#### Metodologia 1

Em um balão de 100 mL foram adicionados 0,44 g do agente redutor LAH (11,48 mmol) e THF (10,0 mL). A este, em banho de gelo e agitação magnética branda, foi adicionado, gota a gota, solução de **1** – 1,00 g (2,87 mmol) em THF anidro (30,0 mL) – Após completa adição a reação submetida a refluxo com aquecimento em banho de óleo à temperatura de 76°C e sistema de resfriamento do condensador a 0°C por 6 horas. Após este período, o excesso do agente redutor foi inativado pela adição, gota a gota e em banho de gelo, de metanol. Em seguida foram adicionados solução de NaOH a 10% (2,0 mL) e água destilada (1,0 mL). Após formação do hidróxido de alumínio, a reação foi acidificada com solução de HCl a 10% até pH 1. A mistura foi extraída com acetato de etila (3 x 10,0 mL) e a fase orgânica lavada com solução saturada de cloreto de sódio (30,0 mL) e seca em sulfato de sódio anidro. O solvente foi removido à pressão reduzida e o produto da reação purificado em coluna cromatográfica de gel de sílica, eluída com gradiente de mistura hexano e acetato de etila (90%:10% a 40%:60) fornecendo o derivado-alvo em rendimento de 20%.

#### Metodologia 2

Em um balão de 10 mL foram adicionados 0,10 g de ácido anacárdico (0,29 mmol), 0,6 mL solução de borano complexado  $\text{BH}_3 \cdot \text{S}(\text{CH}_3)_2$  1M (0,60 mmol) e THF (2,0 mL). A reação, em banho de gelo, foi submetida à agitação magnética por 3 horas. Após este período foram adicionados mais 0,6 mL solução de borano complexado  $\text{BH}_3 \cdot \text{S}(\text{CH}_3)_2$  1M (0,60 mmol), permanecendo sob agitação à temperatura ambiente por 2 horas. Ao término deste período foi adicionada água destilada (1,0 mL) a fim de

desativar o excesso de hidreto e solução de NaOH a 10% (0,5 mL). Em seguida o meio foi neutralizado com ácido acético, gota a gota, até pH 7.0. A mistura foi extraída com éter e o solvente evaporado à pressão reduzida. Ao resíduo foram adicionados THF (2,0 mL) e solução de NaOH a 10% (2,0 mL). A mistura foi submetida à agitação magnética por trinta minutos e depois foi adicionado, em banho de gelo, solução de peróxido de hidrogênio a 30% (2,0 mL). Ao final do processo, a mistura foi extraída com éter etílico (2 x 10, 0 mL) e a fase orgânica lavada com soluções de HCl a 10% (5,0 mL), saturada de cloreto de sódio (5,0 mL) e seca em sulfato de sódio. Após evaporação do resíduo à pressão ambiente o resíduo foi purificação em coluna cromatográfica de sílica em gel, eluída com gradiente de mistura hexano e acetato de etila (90%:10% a 40%:60) fornecendo o álcool desejado em rendimento de 20%.

### *Metodologia 3*

Em um balão de 25 mL foram adicionados 0,10 g de ácido anacárdico (0,29 mmol), 0,09 mL de cloroformato de isobutila (0,72 mmol), 0,15 mL de TEA (1,08 mmol) e THF (5,0 mL). A reação, em banho de gelo, foi submetida à agitação magnética vigorosa por 1 hora. Após observação da formação do intermediário anidrido misto por CCD foi adicionado 0,11 g de NaBH<sub>4</sub> (2,90 mmol), seguido da adição de lenta, em banho de gelo, de metanol (2,0 mL) permanecendo a reação por 15 horas. Ao término deste período a reação foi acidificada com solução de HCl a 10% até pH 1 e extraída com éter (3 x 5,0 mL). A fase orgânica foi lavada com solução concentrada de cloreto de sódio (2 x 5,0 mL), seca em sulfato de sódio anidro e o solvente removido à pressão reduzida. O resíduo foi purificado em coluna de sílica gel, com gradiente de mistura hexano e acetato de etila (90%:10% a 40%:60) fornecendo o derivado-alvo em rendimento de 20%.

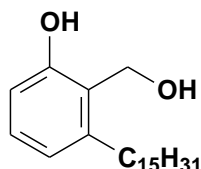
### *Metodologia 4*

O procedimento realizado na metodologia 3 foi repetido com substituição o metanol por água destilada na etapa de redução com boroidreto de sódio. O resíduo foi purificado em coluna de sílica gel, com gradiente de mistura hexano e acetato de etila (90%:10% a 40%:60) fornecendo o derivado-alvo em rendimento de 40%.



### Metodologia 5

Em um balão de 100 mL foram adicionados 0,44 g do agente redutor LAH (11,48 mmol) e THF (10,0 mL). A este, em banho de gelo e agitação magnética branda, foi adicionado, gota a gota, solução de **1** – 1,00 g (2,87 mmol) em THF anidro (30,0 mL) – Após completa adição a reação submetida a refluxo com aquecimento em banho de óleo à temperatura de 110°C e sistema de resfriamento do condensador a 0°C por 24 horas. Após este período, o excesso do agente redutor foi inativado pela adição, gota a gota e em banho de gelo, de metanol. Em seguida foram adicionados solução de NaOH a 10% (2,0 mL) e água destilada (1,0 mL). Após formação do hidróxido de alumínio, a reação foi acidificada com solução de HCl a 10% até pH 1. A mistura foi extraída com acetato de etila (3 x 10,0 mL) e a fase orgânica lavada com solução saturada de cloreto de sódio (30,0 mL) e seca em sulfato de sódio anidro. O solvente foi removido à pressão reduzida e o produto da reação purificado em coluna cromatográfica de gel de sílica, eluída com gradiente de mistura hexano e acetato de etila (90%:10% a 40%:60) fornecendo o derivado-alvo.



Sólido Branco

Rendimento: 90%

RF: 0,66 (Hex 80%: AcOEt 20%)

Ponto de fusão: 60°C-62°C

Fórmula Molecular: C<sub>22</sub>H<sub>38</sub>O<sub>2</sub>

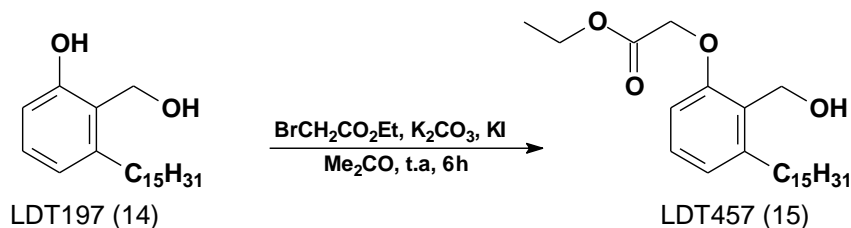
Massa molar: 334,535 g/mol

IV (KBr)  $\nu_{\text{máx}} \text{ cm}^{-1}$ : 3526 ( $\nu_{\text{OH}}$ ); 3190 ( $\nu_{\text{OH}}$ ); 2919 ( $\nu_{\text{asCH}_2}$ ); 2852 ( $\nu_{\text{sCH}_2}$ ); 1466 ( $\nu_{\text{C=C}}$ ); 1364 ( $\nu_{\text{CH}_3}$ ); 1260 ( $\nu_{\text{asC-O}}$ ).

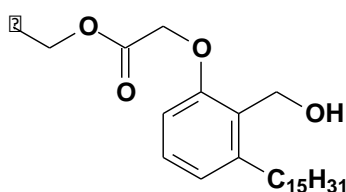
RMN de  $^1\text{H}$  (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  0,89 (t,  $J = 6,7$  Hz, 3H, 15); 1,26 (m, 24H, 3-14); 1,49 (m, 2H, 2); 1,63 (sl, 1H CH<sub>2</sub>OH); 2,57 (t,  $J = 7,7$  Hz, 2H, 1); 4,93 (s, 2H, ArCH<sub>2</sub>OH); 6,72 (t,  $J = 8,3$  Hz, 2H, 3' e 5'); 7,11 (t,  $J = 7,7$  Hz, 1H, 4'); 7,48 (sl, ArOH).

RMN de  $^{13}\text{C}$  (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  14,1 (CH<sub>3</sub>, 15); 22,7 (CH<sub>2</sub>, 14); 29,4-29,7 (CH<sub>2</sub>, 3-12); 31,8 (CH<sub>2</sub>, 13); 31,9 (CH<sub>2</sub>, 2); 33,3 (CH<sub>2</sub>, 1); 60,2 (ArCH<sub>2</sub>OH); 114,5 (CH, 3'); 121,6 (CH, 5'); 122,6 (C, 1'); 128,9 (CH, 4'); 141,2 (C, 6'); 156,7 (C, 2').

### 5.2.5 Obtenção do Derivado 2-(2-(Hidróximetil)-3-(pentadecil)fenóxi)acetato de etila (LDT457, **15**).



A um balão (**a**) de 50 mL foram adicionados 0,25 g do derivado **14** (0,75 mmol), 0,26 g de carbonato de potássio (1,50 mmol), acetona (5,0 mL) e a mistura submetida à agitação magnética, à temperatura ambiente por 30 minutos. Em outro balão (**b**) de 50 mL foram adicionados 0,25 g de iodeto de potássio (1,50 mmol) e 0,12 mL de bromoacetato de etila (1,13 mmol), e a mistura permaneceu sob agitação magnética à temperatura ambiente por 30 minutos. Ao término dos períodos, a mistura do balão **a** foi adicionada lentamente à mistura do balão **b**. A reação permaneceu sob agitação magnética à temperatura ambiente por 6 horas. Em seguida, o solvente foi removido à pressão reduzida e a fase orgânica extraída com diclorometano (15,0 mL), lavada com soluções de HCl a 10% (10,0 mL), saturada de cloreto de sódio (10,0 mL) e seca em sulfato de sódio anidro. O solvente foi removido à pressão reduzida e o produto purificado por coluna de gel de sílica, eluída com hexano e gradiente de mistura hexano e acetato de etila (60%:40%) fornecendo o éster LDT457 (**15**).



Sólido Branco

Rendimento: 70%

RF: 0,60 (Hex 80%: AcOEt 20%)

Ponto de fusão: 32°C-34°C

Fórmula Molecular: C<sub>26</sub>H<sub>44</sub>O<sub>4</sub>

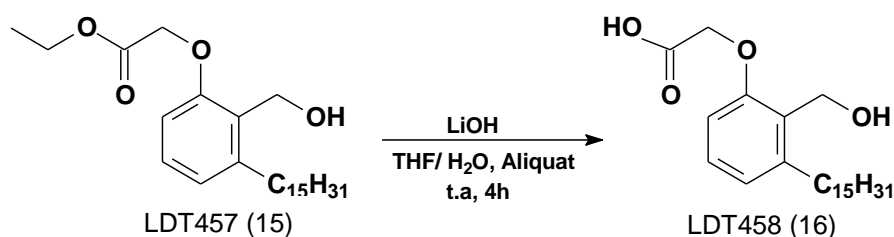
Massa molar: 420,625 g/mol

IV (KBr)  $\nu_{\text{máx}} \text{ cm}^{-1}$ : 3517 ( $\nu_{\text{OH}}$ ); 2918 ( $\nu_{\text{asCH}_2}$ ); 2855 ( $\nu_{\text{sCH}_2}$ ); 1745 ( $\nu_{\text{C=O}}$ ); 1465 ( $\nu_{\text{C=C}}$ ); 1393 ( $\nu_{\text{CH}_3}$ ); 1222 ( $\nu_{\text{asC-O}}$ ).

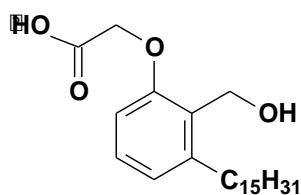
RMN de <sup>1</sup>H (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  0,88 (t,  $J = 6,7$  Hz, 3H, 15); 1,26-1,35 (m, 27H, 3-14 e ArOCH<sub>2</sub>CO<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>); 1,55 (qi,  $J = 7,5$  Hz, 2H, 2); 2,69 (t,  $J = 7,9$  Hz, 2H, 1); 4,26 (q,  $J = 7,7$  Hz, 2H, ArOCH<sub>2</sub>CO<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>); 4,71 (s, 2H, ArOCH<sub>2</sub>CO<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>); 4,78 (s, 2H, CH<sub>2</sub>OH); 6,67 (d,  $J = 8,2$  Hz, 1H, 3'); 6,85 (d,  $J = 7,7$  Hz, 1H, 5'); 7,16 (t,  $J = 7,92$  Hz, 1H, 4').

RMN de  $^{13}\text{C}$  (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  14,3 ( $\underline{\text{C}}\text{H}_3$ , 15 e  $\text{ArOCH}_2\text{CO}_2\text{CH}_2\underline{\text{C}}\text{H}_3$ ); 22,9 ( $\underline{\text{C}}\text{H}_2$ , 14); 29,6-29,9 ( $\underline{\text{C}}\text{H}_2$ , 3-12); 32,2 ( $\underline{\text{C}}\text{H}_2$ , 13); 32,3 ( $\underline{\text{C}}\text{H}_2$ , 2); 33,5 ( $\underline{\text{C}}\text{H}_2$ , 1); 57,2 ( $\text{Ar}\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{OH}$ ); 61,9 ( $\text{ArOCH}_2\text{CO}_2\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{CH}_3$ ); 65,9 ( $\text{ArO}\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{CO}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$ ); 109,8 (CH, 3'); 123,8 (CH, 5'); 128,5<sup>9</sup> (CH, 4'); 128,6<sup>4</sup> (C, 1'); 143,4 (C, 6'); 157,0 (C, 2'); 169,7 ( $\text{ArOCH}_2\underline{\text{C}}\text{O}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$ ).

### 5.2.6 Obtenção do Derivado Ácido 2-(2-Hidróximetil-3-pentadecil)fenóxiacético (LDT458, **16**).



A um balão de 50 mL foram adicionados 0,12 g do derivado **15** (0,29 mmol), 0,05 g de hidróxido de lítio (1,14 mmol) – solubilizado em água destilada (1,0 mL), 4,0 mL de THF e 3 gotas de Aliquat 336. A mistura foi submetida à agitação magnética vigorosa à temperatura ambiente por 4 horas. A reação foi acidificada até pH 1 com solução de HCl a 10%, extraída com acetato de etila (3 x 5,0 mL) e a fase orgânica lavada com solução saturada de cloreto de sódio (5,0 mL) e seca em sulfato de sódio anidro. O solvente foi evaporado à pressão reduzida e o produto purificado por coluna de sílica gel, eluída com gradiente de mistura clorofórmio e etanol (90%:10% a 50%:50%) fornecendo o ácido correspondente LDT458 (**16**).



Sólido Branco

Rendimento: 55%

RF: 0,20 (Hex 80%: AcOEt 20%)

Ponto de fusão: 87°C-90°C

Fórmula Molecular:  $\text{C}_{24}\text{H}_{40}\text{O}_4$

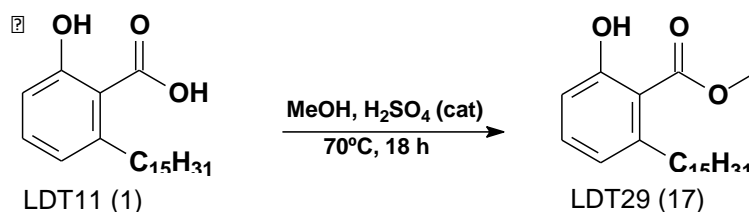
Massa molar: 392,572 g/mol

IV (KBr)  $\nu_{\text{máx}} \text{ cm}^{-1}$ : 3365 ( $\nu_{\text{OH}}$ ); 2919 ( $\nu_{\text{asCH}_2}$ ); 1710 ( $\nu_{\text{C=O}}$ ); 1238 ( $\nu_{\text{asC-O}}$ ).

RMN de  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  0,88 (t,  $J = 6,5$  Hz, 3H, 15); 1,26-1,31 (m, 24H, 3-14); 1,54 (qi,  $J = 6,5$  Hz, 2H, 2); 2,67 (t,  $J = 7,8$  Hz, 2H, 1); 4,73 (s, 2H,  $\text{ArO}\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{CO}_2\text{H}$ ); 4,82 (s, 2H,  $\text{Ar}\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{OH}$ ); 6,72 (d,  $J = 8,1$  Hz, 1H, 3'); 6,86 (d,  $J = 7,6$  Hz, 1H, 5'); 7,19 (t,  $J = 7,9$  Hz, 1H, 4').

RMN de  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  14,3 ( $\text{CH}_3$ , 15); 22,9 ( $\text{CH}_2$ , 14); 29,6-29,9 ( $\text{CH}_2$ , 3-12); 32,2 ( $\text{CH}_2$ , 13); 32,4 ( $\text{CH}_2$ , 2); 33,4 ( $\text{CH}_2$ , 1); 57,4 ( $\text{ArCH}_2\text{OH}$ ); 66,3 ( $\text{ArOCH}_2\text{CO}_2\text{H}$ ); 110,4 (C, 3'); 124,1 (CH, 5'); 127,4 (C, 1'); 129,2 (CH, 4'); 143,3 (C, 6'); 157,2 (C, 2'); 171,3 ( $\text{ArOCH}_2\text{CO}_2\text{H}$ ).

### 5.2.7 Obtenção do Derivado 2-Hidróxi-6-pentadecilbenzoato de metila (LDT29, 17).



A um balão de 50 mL foram adicionados 0,35 g de **1** (1,00 mmol), metanol (8,0 mL) e  $\text{H}_2\text{SO}_4$  (1,5 mL). O sistema reacional permaneceu em refluxo, com sistema de resfriamento do condensador a  $0^\circ\text{C}$  e aquecimento em banho de óleo à  $70^\circ\text{C}$ , sob agitação magnética por 18 h. A mistura foi extraída com diclorometano (3 x 10,0 mL) e a fase orgânica lavada com solução saturada de cloreto de sódio (2 x 10,0 mL) e seca em sulfato de sódio anidro. O solvente foi evaporado à pressão reduzida e mistura purificada em coluna cromatográfica de gel de sílica, eluída com gradiente de mistura hexano e acetato de etila (95%:5% a 45%:55%) fornecendo o éster 2-hidróxi-6-pentadecilbenzoato de metila LDT29 (**17**).

Sólido branco

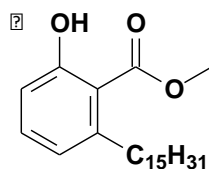
Rendimento: 82%

RF: 0,60 (Hex 80%: AcOEt 20%)

Ponto de fusão:  $37^\circ\text{C}$ - $40^\circ\text{C}$

Fórmula Molecular:  $\text{C}_{23}\text{H}_{38}\text{O}_3$

Massa molar: 362,54 g/mol

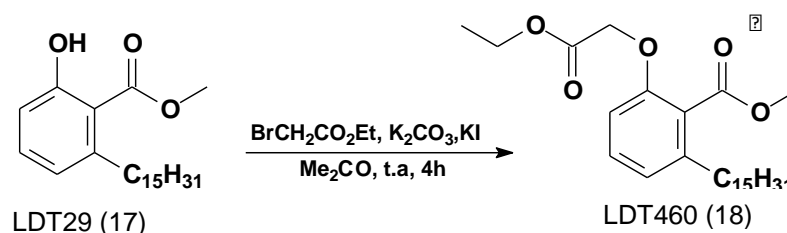


IV (KBr)  $\nu_{\text{máx}} \text{ cm}^{-1}$ : 3437 ( $\nu_{\text{OH}}$ ); 2917 ( $\nu_{\text{asCH}_2}$ ); 2923 ( $\nu_{\text{sCH}_2}$ ); 1739 ( $\nu_{\text{C=O}}$ ); 1460 ( $\nu_{\text{C=C}}$ ); 1223 ( $\nu_{\text{asC-O}}$ ).

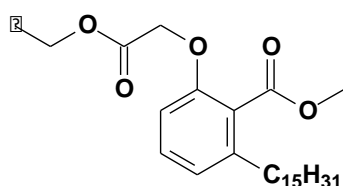
RMN de  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  0,89 (t,  $J = 6,6$  Hz, 3H, 15); 1,27-1,31 (m, 24H, 3-14); 1,53 (qi,  $J = 7,1$  Hz, 2H, 2); 2,89 (t,  $J = 7,8$  Hz, 2H, 1); 3,97 (s, 3H,  $\text{ArCOOCH}_3$ ); 6,72 (d,  $J = 7,5$  Hz, 1H, 3'); 6,84 (d,  $J = 8,28$  Hz, 1H, 5'); 7,29 (t,  $J = 8,0$  Hz, 1H, 4'); 11,09 (s, 1H,  $\text{ArOH}$ ).

RMN de  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  14,3 ( $\text{CH}_3$ , 15); 22,9 ( $\text{CH}_2$ , 14); 29,6-30,1 ( $\text{CH}_2$ , 3-12); 32,2 ( $\text{CH}_2$ , 13); 32,3 ( $\text{CH}_2$ , 2); 36,8 ( $\text{CH}_2$ , 1); 52,3 ( $\text{ArCOOCH}_3$ ); 115,8 (CH, 3'); 122,7 (CH, 5'); 134,4 (CH, 4'); 146,4 (C, 6'); 162,8 (C, 2'); 172,2 ( $\text{ArCOOCH}_3$ ).

5.2.8 Obtenção do Derivado 2-(2-Carboximetóxi)-6-pentadecilbenzoato de metila (LDT460, **18**).



A um balão de 50 mL foram adicionados 0,18 g de **17** (0,50 mmol), 0,06 mL de bromoacetato de etila (0,62 mmol), 0,14 g de carbonato de potássio (0,99 mmol) e acetona (10,0 mL). A mistura foi mantida em agitação magnética, à temperatura ambiente por 4 horas. Após este período, a mistura foi extraída com diclorometano (3 x 10,0 mL) e a fase orgânica lavada com soluções de HCl a 10% (20,0 mL), saturada de cloreto de sódio (20,0 mL) e seca em sulfato de sódio anidro. O solvente foi evaporado à pressão reduzida e o produto purificado em coluna cromatográfica de gel de sílica, eluída com mistura de hexano e acetato (95%:5%) fornecendo o derivado LDT460 (**18**).



Sólido branco

Rendimento: 70%

RF: 0,60 (Hex 80%: AcOEt 20%)

Ponto de fusão: 38°C-41°C

Fórmula Molecular: C<sub>27</sub>H<sub>44</sub>O<sub>5</sub>

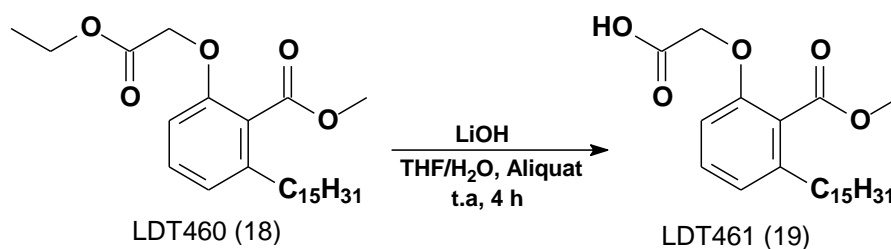
Massa molar: 448,635 g/mol

IV (KBr)  $\nu_{\text{máx}} \text{ cm}^{-1}$ : 2920 ( $\nu_{\text{asCH}_2}$ ); 1754 ( $\nu_{\text{C=O}}$ ); 1642 ( $\nu_{\text{C=O}}$ ); 1564 ( $\nu_{\text{C=C}}$ ); 1222 ( $\nu_{\text{S-C-O}}$ ); 1113 ( $\nu_{\text{asC-O}}$ ).

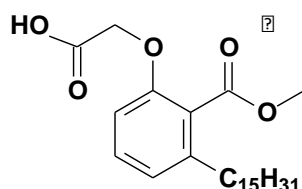
RMN de <sup>1</sup>H (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  0,88 (t,  $J = 6,8$  Hz, 3H, 15); 1,25-1,29 (m, 27H, 3-14 e ArOCH<sub>2</sub>CO<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>); 1,57 (qi,  $J = 7,2$  Hz, 2H, 2); 2,56 (t,  $J = 7,9$  Hz, 2H, 1); 3,91 (s, 3H, ArCO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>); 4,24 (q,  $J = 7,1$  Hz, 2H, ArOCH<sub>2</sub>CO<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>); 4,61 (s, 2H, ArOCH<sub>2</sub>CO<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>); 6,65 (d,  $J = 8,3$  Hz, 1H, 3'); 6,86 (d,  $J = 7,7$  Hz, 1H, 5'); 7,25 (t,  $J = 8,0$  Hz, 1H, 4').

RMN de <sup>13</sup>C (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  14,3 (2CH<sub>3</sub>, 15 e ArOCH<sub>2</sub>CO<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>); 22,8 (CH<sub>2</sub>, 14); 29,6-29,9 (CH<sub>2</sub>, 3-12); 31,3 (CH<sub>2</sub>, 13); 32,1 (CH<sub>2</sub>, 2); 33,6 (CH<sub>2</sub>, 1); 52,3 (ArCO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>); 61,5 (ArOCH<sub>2</sub>CO<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>); 66,5 (ArOCH<sub>2</sub>CO<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>); 110,0 (CH, 3'); 122,6 (CH, 5'); 124,4 (C, 1'); 130,3 (CH, 4'); 142,1 (C, 6'); 154,9 (C, 2'); 168,6<sup>6</sup> (ArCO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>); 168,7<sup>0</sup> (ArOCH<sub>2</sub>CO<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>);

### 5.2.9 Obtenção do Derivado Ácido 2-(2-(Carbometóxi)-3-pentadecilfenóxi)acético (LDT461, **19**).



A um balão de 25 mL foram adicionados 0,10 g de **18** (0,22 mmol), THF (4,0 mL), 0,04 g de LiOH (0,89 mmol) – solubilizado em água destilada (1,0 mL) e 3 gotas de Aliquat 336. A reação permaneceu sob agitação magnética à temperatura ambiente por 4 horas. Ao final deste período, a solução foi com solução de HCl a 10% até pH 1. A mistura foi extraída com acetato de etila (5,0 mL) e a fase orgânica lavada com solução concentrada de cloreto de sódio (5,0 mL) e seca em sulfato de sódio anidro. O solvente foi evaporado à pressão reduzida e o produto purificado em coluna de gel de sílica, eluída com diclorometano e gradiente de mistura diclorometano e clorofórmio (30%:70%) fornecendo o derivado LDT461 (**19**).



Sólido branco

Rendimento: 80%

RF: 0,20 (Hex 80%: AcOEt 20%)

Ponto de fusão: 86°C-88°C

Fórmula Molecular: C<sub>25</sub>H<sub>40</sub>O<sub>5</sub>

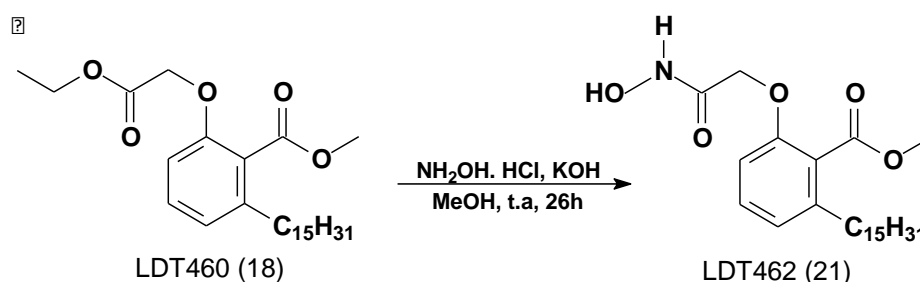
Massa molar: 420,582 g/mol

IV (KBr)  $\nu_{\text{máx}} \text{ cm}^{-1}$ : 3422 ( $\nu_{\text{OH}}$ ); 2920 ( $\nu_{\text{asCH}_2}$ ); 1735 ( $\nu_{\text{C=O}}$ ); 1623 ( $\nu_{\text{C=O}}$ ); 1261 ( $\nu_{\text{SC-O}}$ ); 1106 ( $\nu_{\text{asC-O}}$ ).

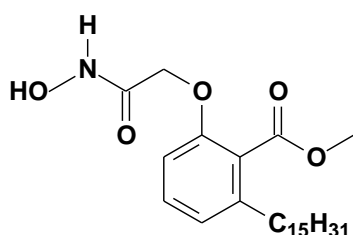
RMN de <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  0,88 (t,  $J = 6,4$  Hz, 3H, 15); 1,26 (m, 24H, 3-14); 1,56 (qi,  $J = 7,2$  Hz, 2H, 2); 2,62 (t,  $J = 7,8$  Hz, 2H, 1); 3,95 (s, 3H, ArCO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>); 4,71 (s, 2H, ArOCH<sub>2</sub>CO<sub>2</sub>H); 6,75 (d,  $J = 8,3$  Hz, 1H, 3'); 6,93 (d,  $J = 7,7$  Hz, 1H, 5'); 7,31 (t,  $J = 8,0$  Hz, 1H, 4').

RMN de <sup>13</sup>C (75MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  14,3 (CH<sub>3</sub>, 15); 22,9 (CH<sub>2</sub>, 14); 29,6-29,9 (CH<sub>2</sub>, 3-12); 31,5 (CH<sub>2</sub>, 2); 34,1 (CH<sub>2</sub>, 1); 52,7 (ArCO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>); 67,0 (ArOCH<sub>2</sub>CO<sub>2</sub>H); 111,1 (CH, 3'); 123,2 (C, 1'); 124,2 (CH, 5'); 131,4 (CH, 4'); 143,3 (C, 6'); 155,4 (C, 2'); 169,3 (ArCO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>); 171,0 (ArOCH<sub>2</sub>COOH).

5.2.10 Obtenção do Derivado 2-(Hidróxicarbamoilmetóxi)-6-pentadecilbenzoato de metila (LDT462, **21**).



A um balão de 25 mL foram adicionados, em banho de gelo, 0,10 g de hidróxido de potássio (1,78 mmol) e metanol (3,0 mL) até completa solubilização. Em seguida, à solução foi adicionado 0,12 g de cloridrato de hidroxilamina (1,78 mmol) e a reação permaneceu sob agitação magnética, à temperatura ambiente por 2 horas. Após este período, a mistura foi filtrada para um balão de 25 mL que continha 0,10 g do derivado **18** (0,22 mmol), 0,02 g de cloridrato de hidroxilamina (0,22 mmol) e metanol (1,0 mL). A mistura permaneceu sob agitação magnética vigorosa, à temperatura ambiente por 24 horas. Após este período, a reação foi submetida a aquecimento em banho de óleo à 50°C por 2 horas. Em seguida, o solvente foi evaporado à pressão reduzida, a mistura extraída com acetato de etila (3 x 4,0 mL), e a fase orgânica lavada com soluções de HCl a 10% (4,0 mL), saturada de cloreto de sódio (4,0 mL) e seca em sulfato de sódio anidro. O solvente foi evaporado à pressão reduzida e o produto purificado em coluna de gel de sílica eluída com gradiente de mistura hexano e acetato de etila (95%:5% a 30%:70%) fornecendo o derivado LDT462 (**21**).



Sólido branco

Rendimento: 41%

RF: 0,26 (Hex50%: AcOEt 50%)

Ponto de fusão: 71°C-73°C

Fórmula Molecular: C<sub>25</sub>H<sub>41</sub>NO<sub>5</sub>

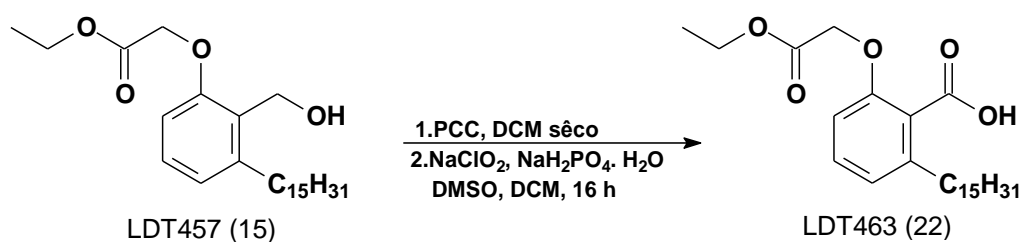
Massa molar: 435,605 g/mol

IV (KBr)  $\nu_{\text{máx}}$  cm<sup>-1</sup>: 3337 ( $\nu_{\text{NH}}$ ); 2921 ( $\nu_{\text{asCH}_2}$ ); 2855 ( $\nu_{\text{sCH}_2}$ ); 1710 ( $\nu_{\text{C=O}}$ ); 1264 ( $\nu_{\text{sC-O}}$ ); 1091 ( $\nu_{\text{asC-O}}$ ).

RMN de <sup>1</sup>H (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  0,88 (t,  $J = 6,3$  Hz, 3H, 15); 1,26 (m, 24H, 3-14); 1,56 (m, 2H, 2); 2,61 (t,  $J = 7,7$  Hz, 2H, 1); 3,96 (s, 3H, ArCO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>); 4,73 (s, 2H, ArOCH<sub>2</sub>CONHOH); 6,77 (d,  $J = 8,2$  Hz, 1H, 3'); 6,92 (d,  $J = 7,5$  Hz, 1H, 5'); 7,30 (t,  $J = 8,04$  Hz, 1H, 4'); 10,22 (s, 1H, NHOH).

RMN de  $^{13}\text{C}$  (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); 31,5 ( $\text{CH}_2$ , 13); 32,2 ( $\text{CH}_2$ , 2); 34,2 ( $\text{CH}_2$ , 1); 52,8 ( $\text{ArCO}_2\text{CH}_3$ ); 67,3 ( $\text{ArOCH}_2\text{CONHOH}$ ); 110,8 ( $\text{CH}$ , 3'); 123,0 ( $\text{C}$ , 1'); 123,9 ( $\text{CH}$ , 5'); 131,5 ( $\text{CH}$ , 4'); 143,3 ( $\text{C}$ , 6'); 154,9 ( $\text{C}$ , 2'); 165,1 ( $\text{ArOCH}_2\text{CONHOH}$ ); 169,3 ( $\text{ArCO}_2\text{CH}_3$ ).

### 5.2.11 Obtenção do Derivado Ácido 2-(2-Carbetóximetóxi)-6-pentadecilbenzóico (LDT463, **22**).



#### Etapa 1 – Obtenção do intermediário aldeído

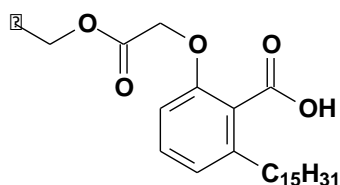
A um balão de 50 mL foram adicionados 0,20 g do derivado **15** (0,48 mmol) e diclorometano anidro (8,0 mL). À solução, sob agitação magnética e resfriada em banho de gelo, foi adicionado 0,31 g de clorocromato de piridínio (PCC) (1,43 mmol) e a reação permaneceu em agitação magnética e banho de gelo por 2 horas. A mistura reacional foi filtrada em coluna de sílica gel montada com diclorometano e sulfato de magnésio e o solvente evaporado à pressão reduzida fornecendo o formil-intermediário.

#### Etapa 2 – Obtenção do ácido carboxílico

Em um balão de 50 mL foi adicionado o aldeído obtido na etapa anterior e diclorometano anidro (10,0 mL). À solução, em banho de gelo, foi adicionado dimetilsulfóxido (DMSO) (2,0 mL). Após 5 minutos foram adicionadas solução de clorito de sódio 1M (5,0 mL), seguida da adição lenta de solução de monofosfato de sódio 1M (5,0 mL). A reação permaneceu sob agitação magnética à temperatura ambiente por 18 horas. A mistura foi extraída com acetato de etila (3 x 5,0 mL), a fase orgânica lavada com soluções de HCl a 10% (5,0 mL), concentrada de cloreto de sódio (5,0 mL) e seca em sulfato de sódio anidro. O solvente foi evaporado à pressão reduzida e o resíduo purificado em coluna de gel de sílica eluída com gradiente de



mistura hexano e acetato de etila (95%:5% a 40%:60%) fornecendo o derivado LDT463 (**22**).



Sólido branco

Rendimento: 80%

RF: 0,22 (Hex 80%: AcoEt 20%)

Ponto de fusão: 74°C-76°C

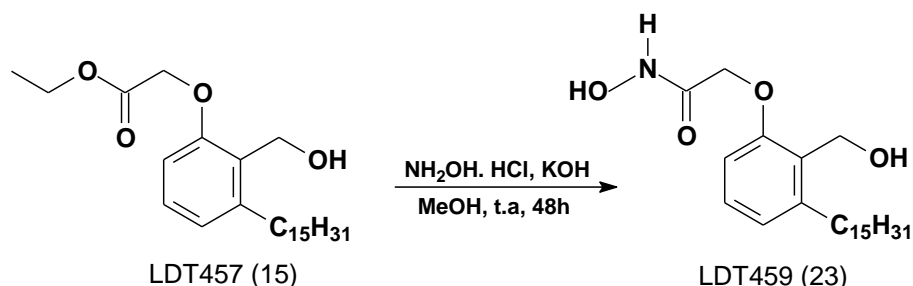
Fórmula Molecular: C<sub>26</sub>H<sub>42</sub>O<sub>5</sub>

IV (KBr)  $\nu_{\text{máx}}$  cm<sup>-1</sup>: 3292 ( $\nu_{\text{OH}}$ ); 2921 ( $\nu_{\text{asCH}_2}$ ); 1720 ( $\nu_{\text{C=O}}$ ); 1597( $\nu_{\text{C=O}}$ ) 1243 ( $\nu_{\text{asC-O}}$ ); 1109 ( $\nu_{\text{sC-O}}$ ).

RMN de <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  0,82 (t,  $J = 6,5$  Hz, 3H, 15); 1,20-1,26 (m, 27H, 3-14 e ArOCH<sub>2</sub>CO<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>); 1,53 (qi,  $J = 7,5$  Hz, 2H, 2); 2,71 (t,  $J = 7,8$  Hz, 2H, 1); 4,20 (q,  $J = 7,1$  Hz, 2H, ArOCH<sub>2</sub>CO<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>); 4,74 (s, 2H, ArOCH<sub>2</sub>CO<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>); 6,72 (d,  $J = 8,2$  Hz, 1H, 3'); 6,90 (d,  $J = 7,6$  Hz, 1H, 5'); 7,23 (t,  $J = 7,8$  Hz, 1H, 4').

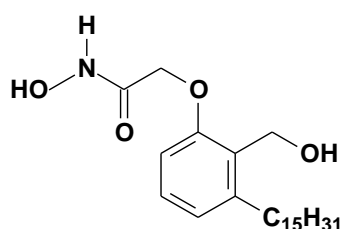
RMN de <sup>13</sup>C (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  14,2 (CH<sub>3</sub>, 15); 14,3 (ArOCH<sub>2</sub>CO<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>); 22,9 (CH<sub>2</sub>, 14); 29,5-29,9 (CH<sub>2</sub>, 3-12); 31,7 (CH<sub>2</sub>, 13); 32,1 (CH<sub>2</sub>, 2); 33,9 (CH<sub>2</sub>, 1); 62,6 (ArOCH<sub>2</sub>CO<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>); 66,6 (ArOCH<sub>2</sub>CO<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>); 110,9 (CH, 3'); 123,9 (C, 1'); 124,6 (CH, 5'); 131,1 (CH, 4'); 144,6 (C, 6'); 155,0 (C, 2'); 168,2 (ArOCH<sub>2</sub>CO<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>); 170,9 (ArCO<sub>2</sub>H).

### 5.2.12 Obtenção do Derivado *N*-Hidróxi-2-(2-(hidróximetil)-3-pentadecilfenóxiacetamida (LDT459, **23**).



A um balão de 25 mL, em banho de gelo, foram adicionados 0,11 g de hidróxido de potássio (1,90 mmol) em metanol (3,0 mL) que permaneceu sob agitação magnética até completa solubilização. Em seguida foi adicionado 0,12 g de cloridrato de hidroxilamina (1,90 mmol) e a reação permaneceu sob agitação magnética à

temperatura ambiente por 2 horas. Ao final deste tempo a mistura foi filtrada para outro balão de 25 mL que continha 0,10 g de **15** (0,24 mmol), 0,02 g de cloridrato de hidroxilamina (0,24 mmol) e metanol (1,0 mL). A reação foi submetida à agitação magnética vigorosa à temperatura ambiente por 48 horas. Após este período, o solvente foi evaporado à pressão reduzida, o resíduo extraído com acetato de etila (3 x 4,0 mL) e a fase orgânica lavada com soluções de HCl a 10% (4,0 mL), saturada de cloreto de sódio (4,0 mL) e seca em sulfato de sódio anidro. O solvente foi evaporado à pressão reduzida e o produto purificado em coluna de gel de sílica, eluída em gradiente de mistura hexano e acetato de etila (95%:5% a 10%:90%) fornecendo o derivado-alvo LDT459 (**23**).



Sólido alaranjado

Rendimento: 40%

RF: 0,33 (AcOEt100%)

Ponto de fusão: 53°C-56°C

Fórmula Molecular: C<sub>24</sub>H<sub>41</sub>NO<sub>4</sub>

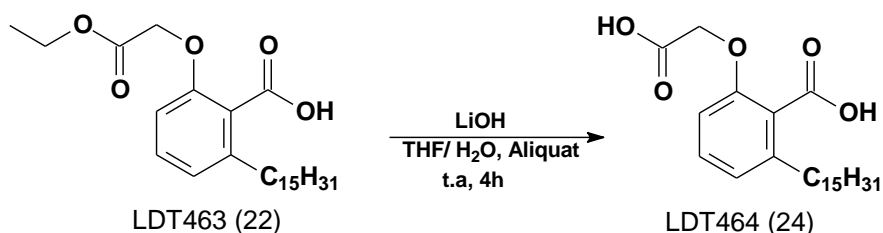
Massa molar: 407,595 g/mol

IV (KBr)  $\nu_{\text{máx}} \text{ cm}^{-1}$ : 3211 ( $\nu_{\text{NH}}$ ); 2918 ( $\nu_{\text{asCH}_2}$ ); 1666 ( $\nu_{\text{C=O}}$ ); 1264 ( $\nu_{\text{asC-O}}$ ); 1088 ( $\nu_{\text{sC-O}}$ ), 997 ( $\nu_{\text{N-O}}$ ).

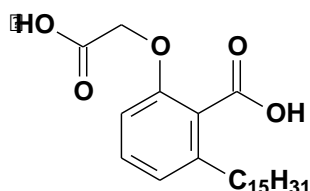
RMN de <sup>1</sup>H (500 MHz, DMSO):  $\delta$  0,84 (t,  $J = 6,6$  Hz, 3H, 15); 1,23-1,28 (sl, 24H, 3-14); 1,50 (m, 2H, 2); 2,63 (t,  $J = 7,6$  Hz, 2H, 1); 4,52 (s, 2H, ArOCH<sub>2</sub>CONHOH); 4,94 (s, 2H, ArCH<sub>2</sub>OH); 6,80 (d,  $J = 7,8$  Hz, 1H, 3'); 7,14 (t,  $J = 7,8$  Hz, 1H, 4'); 8,9 (s, 1H, ArOCH<sub>2</sub>CONHOH); 10,7 (s, 1H, ArOCH<sub>2</sub>CONHOH).

RMN de <sup>13</sup>C (125 MHz, DMSO):  $\delta$  13,9 (CH<sub>3</sub>, 15); 22,1 (CH<sub>2</sub>, 14); 28,7-29,3 (CH<sub>2</sub>, 3-12); 31,4 (CH<sub>2</sub>, 2); 32,2 (CH<sub>2</sub>, 13); 54,1 (ArCH<sub>2</sub>OH); 66,6 (ArOCH<sub>2</sub>CONHOH); 110,0 (CH, 3'); 122,5 (CH, 5'); 127,9 (C, 1'); 128,2 (CH, 4'); 142,9 (C, 6'); 156,4 (C, 2'); 164,8 (ArOCH<sub>2</sub>CONHOH).

5.2.13 Obtenção do Derivado Ácido 2-(Carboximetóxi)-6-pentadecilbenzóico (LDT464, **24**).



A um balão de 25 mL foram adicionados 0,10 g do derivado **22** (0,21 mmol), THF (4,0 mL) e 0,04 g de LiOH (0,83 mmol) – previamente solubilizado em água destilada (1,0 mL) – e 3 gotas de Aliquat 336. A reação permaneceu sob agitação magnética, à temperatura ambiente, por 4 horas. Ao término deste período o meio reacional foi acidificado a pH 1 pela adição de com solução de HCl a 10%. Em seguida, a mistura foi extraída com acetato de etila (5,0 mL) e a fase orgânica lavada com solução concentrada de cloreto de sódio (5,0 mL) e seca em sulfato de sódio anidro. O solvente foi removido à pressão reduzida e o produto purificado em coluna de gel de sílica, eluída com gradiente de mistura de clorofórmio e metanol (90%:10% a 40%:60%), fornecendo o derivado-alvo LDT464 (**24**).



Sólido amarelo

Rendimento: 60%

RF: 0,30 (AcOEt 100%)

Ponto de fusão: 59°C-62°C

Fórmula Molecular: C<sub>24</sub>H<sub>38</sub>O<sub>5</sub>

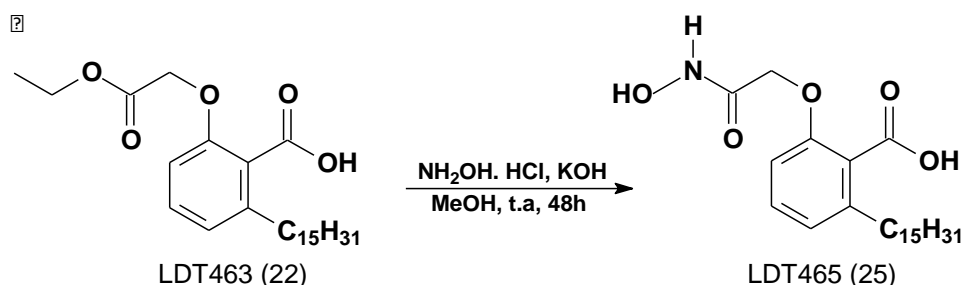
Massa molar: 406,563 g/mol

IV (KBr)  $\nu_{\text{máx}} \text{ cm}^{-1}$ : 2922 ( $\nu_{\text{asCH}_2}$ ); 2595 ( $\nu_{\text{OH}}$ ); 1725 ( $\nu_{\text{C=O}}$ ); 1615 ( $\nu_{\text{C=O}}$ ); 1308 ( $\nu_{\text{asC-O}}$ ); 1103 ( $\nu_{\text{sC-O}}$ ).

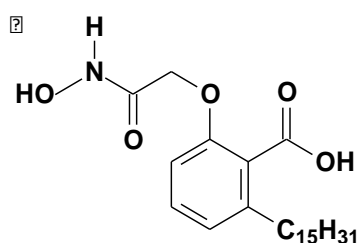
RMN de <sup>1</sup>H (500 MHz, DMSO):  $\delta$  0,84 (t,  $J = 6,5$  Hz, 3H, 15); 1,22 (m, 24H, 3-14); 1,52 (m, 2H, 2); 4,64 (s, 2H, ArOCH<sub>2</sub>CO<sub>2</sub>H); 6,75 (d,  $J = 7,8$  Hz, 1H, 3'); 6,83 (d,  $J = 7,6$  Hz, 1H, 5'); 7,2 (t,  $J = 7,9$  Hz, 1H, 4').

RMN de <sup>13</sup>C (125 MHz, DMSO):  $\delta$  13,9 (CH<sub>3</sub>, 15); 22,1 (CH<sub>2</sub>, 14); 28,7-29,0 (CH<sub>2</sub>, 3-12); 30,7 (CH<sub>2</sub>, 2); 31,3 (CH<sub>2</sub>, 13); 32,7 (CH<sub>2</sub>, 1); 65,4 (ArOCH<sub>2</sub>CO<sub>2</sub>H); 109,9 (CH, 3'); 121,7 (CH, 5'); 125,3 (C, 1'); 129,4 (CH, 4'); 139,9 (C, 6'); 154,0 (C, 2'); 168,7 (ArOCH<sub>2</sub>CO<sub>2</sub>H); 170,1 (ArCO<sub>2</sub>H).

5.2.14 Obtenção do Derivado Ácido 2-(Hidróxicarbamoilmetóxi)-6-pentadecilbenzóico (LDT465, **25**).



A um balão de 25 mL, resfriado em banho de gelo foram adicionados 0,30 g de hidróxido de potássio (5,38 mmol) e metanol (3,0 mL), sob agitação magnética até completa solubilização da base. Em seguida foram adicionados 0,35 g de cloridrato de hidroxilamina (5,38 mmol) permanecendo a mistura sob agitação à temperatura ambiente por 2 horas. Ao final deste período a mistura foi filtrada a outro balão de 25 mL que continha 0,13 g do derivado LDT463 (**22**) (0,30 mmol), 0,02 g de cloridrato de hidroxilamina (0,30 mmol) e metanol (1,0 mL). A reação permaneceu sob agitação magnética vigorosa à temperatura ambiente por 48 horas. Após este período o solvente foi removido à pressão reduzida, o resíduo extraído com acetato de etila (3 x 4,0 mL), e a fase orgânica lavada com soluções de HCl a 10% (4,0 mL) e saturada de cloreto de sódio (4,0 mL), e seca em sulfato de sódio anidro. O solvente foi evaporado à pressão reduzida e o produto purificado em coluna de gel de sílica, eluída com gradiente de mistura clorofórmio e metanol (90%:10% a 50%:50%) fornecendo o derivado-alvo LDT465 (**25**).



Sólido avermelhado

Rendimento: 60%

RF: 0,26 (AcOEt100%)

Ponto de fusão: 69°C-72°C

Fórmula Molecular: C<sub>24</sub>H<sub>39</sub>NO<sub>5</sub>

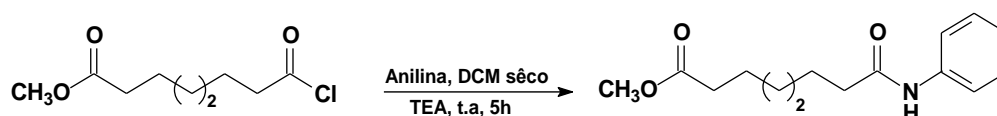
Massa molar: 421,578 g/mol

IV (KBr)  $\nu_{\text{máx}} \text{ cm}^{-1}$ : 3370 ( $\nu_{\text{NH}}$ ); 2919 ( $\nu_{\text{asCH}_2}$ ); 1690 ( $\nu_{\text{C=O}}$ ); 1279 ( $\nu_{\text{asC-O}}$ ); 1094 ( $\nu_{\text{sC-O}}$ ).

RMN de <sup>1</sup>H (500 MHz, DMSO):  $\delta$  0,85 (t,  $J = 6,5$  Hz, 3H, 15); 1,22 (m, 24H, 3-14); 1,51 (sl, 2H, 2); 2,52 (t,  $J = 10,7$  Hz, 2H, 1); 4,50 (s, 2H, ArOCH<sub>2</sub>CONHOH); 6,87 (d,  $J = 7,8$  Hz, 1H, 3'); 7,26 (t,  $J = 9,3$ Hz, 1H, 4'); 9,07 (s, 1H, ArOCH<sub>2</sub>CONHOH); 10,6 (s, 1H, ArOCH<sub>2</sub>CONHOH).

RMN de  $^{13}\text{C}$  (125 MHz, DMSO):  $\delta$  13,9 ( $\text{CH}_3$ , 15); 22,1 ( $\text{CH}_2$ , 14); 28,7-29,1 ( $\text{CH}_2$ , 3-12); 30,8 ( $\text{CH}_2$ , 2); 31,3 ( $\text{CH}_2$ , 13); 32,7 ( $\text{CH}_2$ , 1); 66,5 ( $\text{ArOCH}_2\text{CONHOH}$ ); 110,3 ( $\text{CH}$ , 3'); 122,2 ( $\text{CH}$ , 5'); 125,2 ( $\text{C}$ , 1'); 129,8 ( $\text{CH}$ , 4'); 140,2 ( $\text{C}$ , 6'); 154,2 ( $\text{C}$ , 2'); 164,4 ( $\text{CH}_2\text{CONHOH}$ ); 168,7 ( $\text{ArCO}_2\text{H}$ ).

### 5.2.15 Obtenção do derivado éster metil 7-(fenilcarbamoil)heptanoato para síntese do SAHA (20).

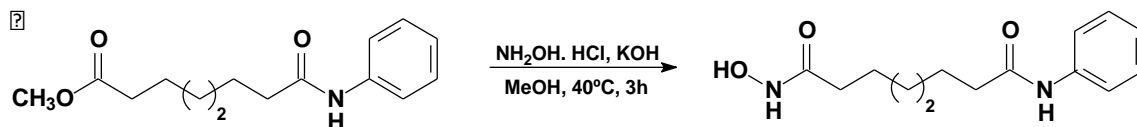


A um balão de 10,0 mL, resfriado em banho de gelo, foram adicionados 0,12 mL de anilina previamente destilada (1,4 mmol) e diclorometano (3,0 mL), sêco em hidreto de cálcio e previamente destilado. Em seguida foi adicionado 0,1 mL de cloreto de 8-carbometóxiioctanoíla (0,70 mmol). A reação permaneceu sob à agitação magnética vigorosa, à temperatura ambiente, por 2 horas. Em seguida foi adicionado aproximadamente 0,1 mL de trietilamina (0,70 mmol) e a reação permaneceu sob agitação magnética à temperatura ambiente por mais 3 horas. A mistura foi extraída com diclorometano (4,0 mL) e a fase orgânica foi lavada em soluções de HCl a 10% (4,0 mL) e saturada de cloreto de sódio (4,0 mL); e seca em sulfato de sódio anidro. O solvente foi evaporado à pressão reduzida e o resíduo purificado em coluna de gel de sílica, eluída com gradiente de mistura de hexano e acetato de etila (95%:5% a 40%:60%) fornecendo o derivado-alvo em rendimento de 80%.

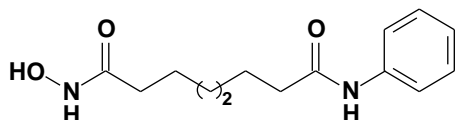
RMN de  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  1,39 (sl, 4H, 4 e 5); 1,64 (qi,  $J = 6,7$  Hz, 2H, 6); 1,74 (sl, 2H, 3); 2,32 (t,  $J = 7,3$  Hz, 2H, 2); 2,35 (t,  $J = 7,4$  Hz, 2H, 7); 3,67 (s, 3H,  $\text{CO}_2\text{CH}_3$ ); 7,10 (t,  $J = 7,0$  Hz, 1H, 4'); 7,23 (s, 1H,  $\text{ArNHCO}$ ); 7,32 (t,  $J = 7,4$  Hz, 2H, 3' e 5'); 7,57 (d,  $J = 7,6$  Hz, 2H, 2' e 6').

RMN de  $^{13}\text{C}$  (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  24,9 ( $\text{CH}_2$ , 3); 25,5 ( $\text{CH}_2$ , 6); 28,9 (2 $\text{CH}_2$ , 4 e 5); 34,1 ( $\text{CH}_2$ , 2); 37,8 ( $\text{CH}_2$ , 7); 51,7 ( $\text{CO}_2\text{CH}_3$ ); 119,9 ( $\text{CH}$ , 2' e 6'); 124,4 ( $\text{CH}$ , 4'); 129,2 ( $\text{CH}$ , 3' e 5'); 171,4 ( $\text{ArNHCO}$ ); 171,2 ( $\text{CO}_2\text{CH}_3$ ).

### 5.2.16 Obtenção do Derivado *N*-Hidróxi-*N*-fenil-octanediamida (SAHA)



A um balão de 10 mL foram adicionados 0,73 g de hidróxido de potássio (13,09 mmol) e metanol (4,0 mL) permanecendo sob agitação magnética até total solubilização da base. Em seguida, 0,84 g de cloridrato de hidroxilamina (~13,0932 mmol) foi adicionado e a reação submetida à agitação vigorosa, à temperatura ambiente por 1 hora. Após este período, a reação foi aquecida em banho de óleo a 40°C por mais 2 horas. Após o término deste período da reação foi resfriada em banho de gelo seguida de filtração para outro balão. Contendo 0,19 g do derivado 7-fenilcarbamoileptanoato de metila e a reação permaneceu sob agitação magnética à temperatura ambiente por mais 2 horas. O solvente evaporado à pressão reduzida e a mistura extraída com acetato de etila (3 x 4,0 mL). A fase orgânica foi lavada com soluções de HCl a 10% (4,0 mL) e saturada de cloreto de sódio (4,0 mL); e seca em sulfato de sódio anidro. O solvente foi evaporado à pressão reduzida e o produto purificado em coluna de gel de sílica eluída com gradiente de mistura clorofórmio e etanol (95%:5% a 0%:100) fornecendo o derivado SAHA (**20**).



Sólido laranja

Rendimento: 20%

RF: 0,36 (CHCl<sub>3</sub> 80%: EtOH 20%)

Ponto de fusão: 159°C-160°C

Fórmula Molecular: C<sub>14</sub>H<sub>20</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub>

Massa molar: 264,32 g/mol

RMN de <sup>1</sup>H (300 MHz, DMSO): δ 1,26 (s, 4H, 4 e 5); 1,46 (q, 4H, 3 e 6); 1,93 (t, *J* = 7,3 Hz, 2H, 2); 2,28 (t, *J* = 7,4 Hz, 2H, 7); 7,00 (t, *J* = 7,4 Hz, 1H, 4'); 7,27 (t, *J* = 7,8 Hz, 2H, 3' e 5'); 7,57 (d, *J* = 7,7 Hz, 2H, 2' e 6'); 8,64 (s, 1H, ArNHCO); 9,83 (s, 1H, CONHOH); 10,32 (s, 1H, CONHOH).

RMN de <sup>13</sup>C (75 MHz, DMSO): δ 24,9 (2CH<sub>2</sub>, 3 e 6); 28,3 (2CH<sub>2</sub>, 4 e 5); 32,2 (CH<sub>2</sub>, 2); 36,3 (CH<sub>2</sub>, 7); 119,0 (CH, 2' e 6'); 122,9 (CH, 4'); 128,6 (CH, 3' e 5'); 139,3 (C, 1'); 169,2 (CONHOH); 171,2 (ArNHCO).

MS (M+H)<sup>+</sup> calculado: 265,15; MS (M+H)<sup>+</sup> experimental: 265,14

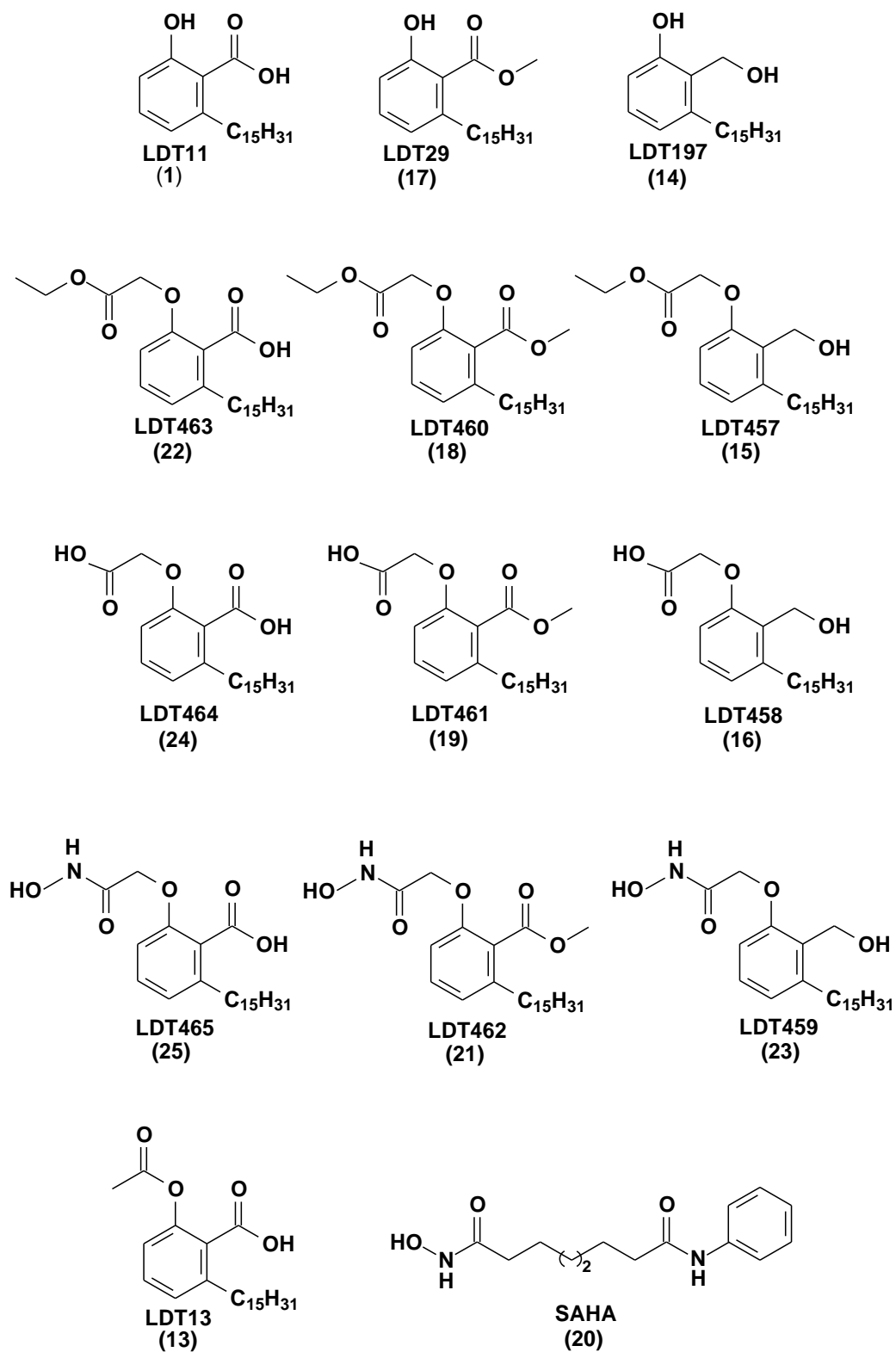


Figura 14: Derivados-alvo a partir do ácido anacárdico. Fonte: Próprio autor.

### 5.3. Avaliação Biológica *in vitro*

#### 5.3.1 Avaliação do Potencial Citotóxico por Ensaio de MTT

O ensaio de citotoxicidade por MTT é um ensaio colorimétrico, que analisa a viabilidade celular, por meio da redução enzimática mitocondrial do MTT para formazan, quando exposto em células viáveis. A redução acarreta em alteração da cor do meio. Esta avaliação permite a determinação da porcentagem de células cancerígenas viáveis após serem incubadas com os compostos de interesse. É um método rápido, preciso e simples.

As amostras foram previamente diluídas em DMSO estéril (diluyente padrão no experimento), na concentração estoque de 10,0 mg/mL e testadas nas concentrações únicas de 25,0 µg/mL e 50,0 µg/mL. Com exceção do SAHA, os demais derivados foram testados em linhagens de PC3 (carcinoma de próstata), HCT-116 (carcinoma colorretal) e SF295 (glioblastoma).

As células foram plaqueadas nas concentrações de  $0,7 \times 10^5$  para a linhagem de HCT-116 e  $0,1 \times 10^6$  para as demais linhagens. As amostras foram diluídas em série, em fator de diluição dois. As placas foram posteriormente incubadas com os compostos por 72 h em estufa, na temperatura de 37°C e 5% de CO<sub>2</sub>.

Em seguida as células foram centrifugadas e retirou-se o sobrenadante. Posteriormente foi adicionado 150,0 µL da solução de MTT (sal de tetrazolium), e as placas foram incubadas novamente por 3 horas, nas mesmas condições de incubação utilizadas anteriormente. A absorbância foi lida após dissolução do precipitado de formazan com 150,0 µL de DMSO puro em espectrofotômetro de placa a 595 nm.

Na triagem inicial dos compostos, denominada ensaio de concentração única, os dados foram analisados segundo a média e desvio padrão. Os compostos foram comparados ao controle negativo, que foram as células com meio não tratado. No ensaio por MTT, a linhagem não tumoral utilizada neste ensaio foi a de fibroblasto murino L929, cujos valores permitiram posteriormente a determinação do índice de seletividade dos compostos. Estes resultados são calculados por quantificação relativa, onde 100% será a média do crescimento da célula controle.



Foram realizados pelo menos três experimentos por composto, em duplicata cada um deles. Com a obtenção de três valores que entram no intervalo de confiança um do outro, estes dados foram normalizados. Os compostos que apresentaram percentual inibitório maior que 75% em pelo menos duas das três linhagens avaliadas, na concentração única de 25 µg/mL, foram selecionados para a determinação do IC<sub>50</sub> (capacidade de reduzir a população de células na metade). Para a determinação do IC<sub>50</sub> foi feita curva de diluição seriada das substâncias analisadas após exposição nas linhagens tumorais avaliadas. O cálculo para determinação do IC<sub>50</sub> é feito por normalização a partir do controle, seguido de curva de regressão não linear, no intervalo de confiança de 95% (margem de segurança que o valor de IC<sub>50</sub> pode estar). As linhagens foram cedidas pelo Instituto Nacional do Câncer (EUA), tendo sido cultivadas em RPMI 1640, suplementados com 10% de soro fetal bovino e 1% de antibióticos, mantidas em estufa a 37 °C e atmosfera de 5% de CO<sub>2</sub>.

### *5.3.2 Determinação do Índice de Seletividade*

O índice de seletividade de um composto é a razão entre os valores de IC<sub>50</sub> da substância em célula não cancerígena, no qual foi utilizada a linhagem não tumoral de fibroblasto murino (L929) e os valores de IC<sub>50</sub> da substância em linhagens cancerígenas, em que foram utilizadas as linhagens tumorais de HCT116, HL60, K562, SW620, PC3 e SF295.

### *5.3.3 Determinação do Potencial Hemolítico*

Para o ensaio de potencial hemolítico, os eritrócitos humanos foram lavados e ressuspendidos com solução salina para se obter uma suspensão de células a 2%. As células foram plaqueadas em placas de 96 poços e os compostos testes foram adicionados na concentração de 200 µg/mL. O Triton X-100 (1%) foi utilizado como controle positivo e para controle negativo na mesma concentração de DMSO (200 µg/mL). Após 1 hora de incubação e sob agitação constante à temperatura ambiente em torno de 26 °C, as placas foram centrifugadas (3000 rpm/10 min) e o sobrenadante foi analisado em espectrofotômetro de placa a 540 nm, em leitor de Elisa, para a quantificação da hemoglobina liberada.

## ***6. Resultados e Discussão***

---

## 6. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 6.1 SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DOS COMPOSTOS

O planejamento sintético propôs a obtenção de novas moléculas candidatas a inibidores de histona acetiltransferases (HAT) p300 a partir do ácido anacárdico. As metodologias empregadas compreenderam procedimentos clássicos de conversão de grupos funcionais, tais como, hidrogenação catalítica com Pd/C, acetilação em aquecimento assistido por radiação micro-ondas, redução com LiAlH<sub>4</sub>, esterificação de Fischer, O-alkilação com bromoacetato de etila, hidrólise alcalina de ésteres, oxidação de álcoois com clorocromato de piridínio, oxidação de aldeídos com solução de hipoclorito de sódio e monofosfato de sódio em DMSO e obtenção dos derivados hidroxâmicos via aminólise com hidroxilamina em condições experimentais à temperatura ambiente ou sob aquecimento brando em banho de óleo

Os compostos foram caracterizados por métodos espectroscópicos de análise região do infravermelho (IV), RMN de <sup>1</sup>H e de <sup>13</sup>C e espectrometria de massas. As características físico-químicas PSA, logS, logP, logD e pKa foram calculadas no programa Percepta/ACD Labs, versão 2014.

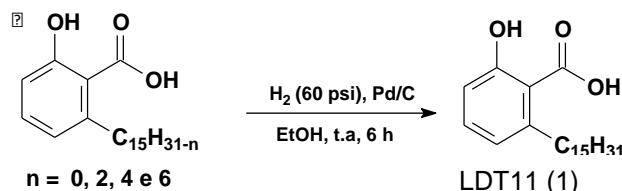
#### 6.1.1 Obtenção da Mistura de Ácidos Anacárdicos (9)



A mistura de ácidos anacárdicos foi obtida como óleo castanho claro a partir do LCC natural, via complexação com hidróxido de cálcio, em rendimento de 70%. Embora não submetida à análise por métodos espectroscópicos, a mistura foi caracterizada por cromatografia de camada delgada apresentando única mancha violeta com R<sub>f</sub> 0,48 (Hex80%:AcOEt 20%). A metodologia mostrou-se eficiente e limpa: eficiente devido à habilidade da subunidade salicílica – exclusiva dos ácidos anacárdicos dentre os compostos do LCC – de complexar-se com íons metálicos

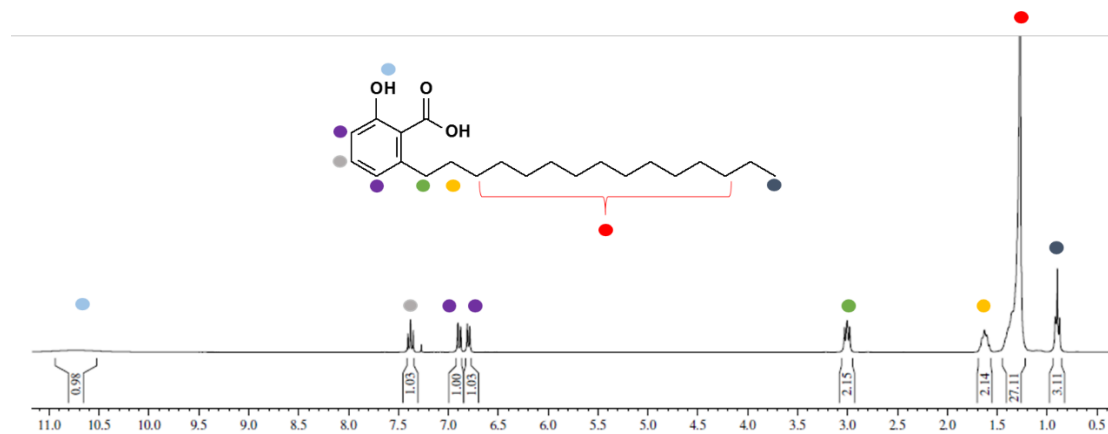
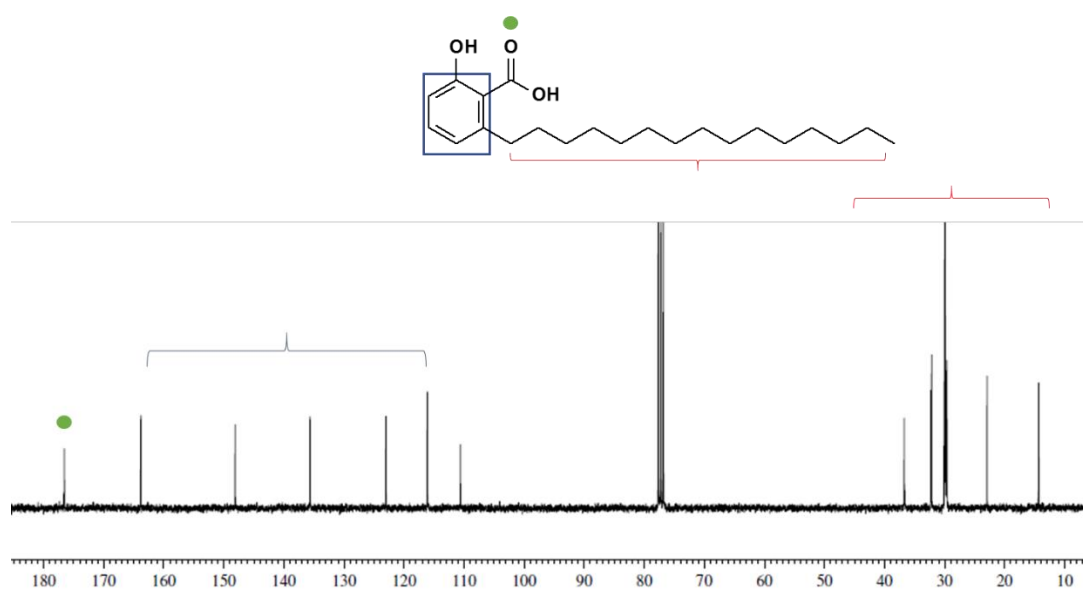
divalentes; e limpa em virtude da técnica anteriormente realizada, a qual baseava-se na precipitação com hidróxido de chumbo.

### 6.1.2 Obtenção do Ácido Anacárdico Saturado (LDT11, 1)

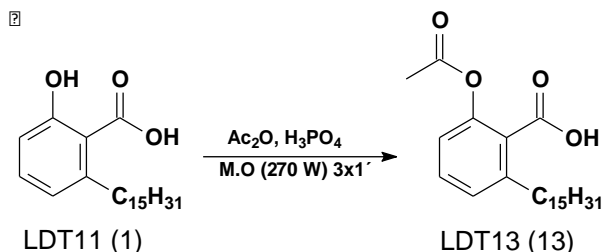


O ácido anacárdico saturado foi obtido a partir da hidrogenação da mistura de ácidos anacárdicos com atmosfera de hidrogênio à 60 psi e catálise de Pd/C 10% em etanol. Após purificação por cromatografia em coluna de gel de sílica LDT11 foi recristalizado em hexano fornecendo sólido branco floculoso em rendimento de 90%. O derivado foi caracterizado por meio da mudança de estado físico e ponto de fusão compatível com a literatura (81-84°C).

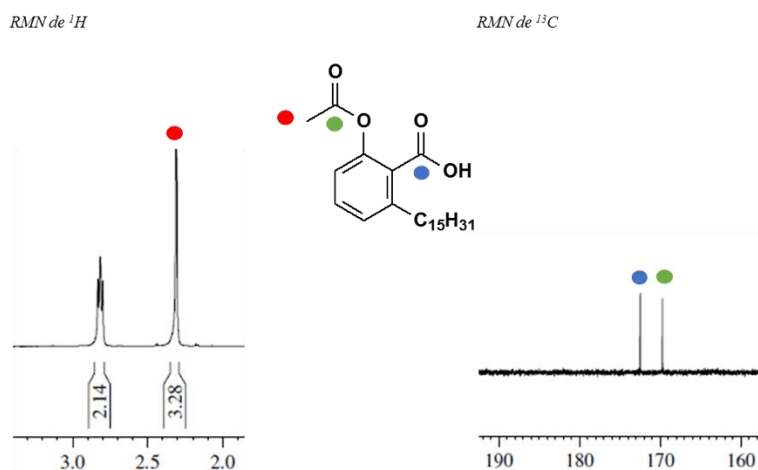
Na análise espectroscópica por RMN o grupo metila foi evidenciado como tripleto em 0,89 ppm em RMN de  $^1\text{H}$  (Anexo 2, pág. 104) e 14,3 ppm em RMN de  $^{13}\text{C}$  (Anexo 5, pág. 107). Os hidrogênios metilênicos da cadeia alifática foram assinalados como multipletto em 1,26 ppm para  $\text{C}_3\text{-C}_{14}$ ; quinteto que varia entre 1,60 ppm correspondente aos hidrogênios  $\text{C}_2$ ; e tripleto em 3,00 ppm referente aos hidrogênios  $\text{C}_1$ . A hidroxila fenólica, em ligação de hidrogênio intramolecular com o grupo carboxila, foi evidenciada como simpleto em 10,72 ppm. A cadeia saturada de LDT11 (1) foi confirmada pelos sinais observados entre 22,9 a 36,7 ppm referentes aos carbonos  $\text{C}_2\text{-C}_{14}$  no espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$ . Os sinais entre 6,78 ppm e 7,40 ppm no espectro de RMN de  $^1\text{H}$  demonstram a presença de hidrogênios aromáticos, identificados como dupletos para os hidrogênios 3' e 5'; e tripleto para 4'. O núcleo aromático foi ainda evidenciado pelos deslocamentos químicos entre 110,6 a 163,8 ppm no espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$ . O grupo carboxila foi identificado por deslocamento químico em 176,5 ppm (RMN de  $^{13}\text{C}$ ) e pela presença de absorção em  $1657 \text{ cm}^{-1}$  na região do infravermelho (Anexo 1, pág. 103).

RMN de  $^1\text{H}$ RMN de  $^{13}\text{C}$ **Figura 15:** Espectros de RMN  $^1\text{H}$  e RMN de  $^{13}\text{C}$  do LDT11 (1).

### 6.1.2 Obtenção do Derivado Ácido 2-Acetóxi-6-pentadecilbenzóico (LDT13, **13**)

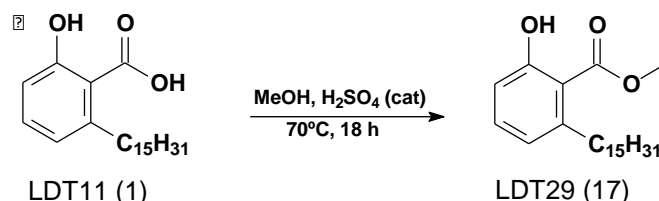


LDT11 (**1**) foi submetido à reação de acetilação com anidrido acético catalisada por ácido fosfórico sob assistência de radiação micro-ondas em forno doméstico segundo metodologia de Alves (2015). Após purificação em coluna de gel de sílica eluída com mistura de hexano e acetato de etila em diferentes concentrações, **13** foi obtido como sólido branco, caracterizado em CCD com única mancha com Rf 0,20 (Hex 80%:AcOEt 20%) em rendimento de 65%. A presença da metila grupo acetila foi evidenciada por simpleto em 2,31 ppm (RMN de  $^1\text{H}$ , Anexo 7, pág. 109), corroborado pelo deslocamento químico em 21,1 ppm. No espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$ , a carbonila do éster foi evidenciada em 169,6 ppm (Anexo 10, pág.112), enquanto que o grupo carboxila foi identificado em 172,1 ppm. No espectro na região do infravermelho foi observada banda larga com sobreposição em  $1714\text{ cm}^{-1}$  (Anexo 6, pág. 108), referente à presença das carbonilas dos grupos acetila e carboxila, o que contribuiu para a caracterização do derivado LDT13.

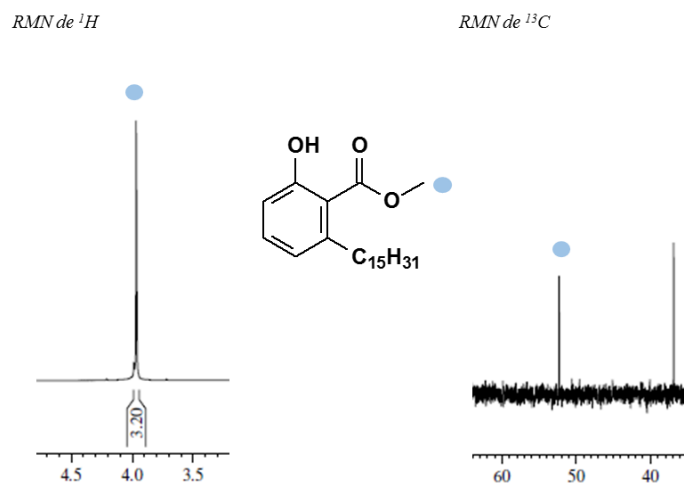


**Figura 16:** Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  e de RMN de  $^{13}\text{C}$  do derivado LDT13 (**13**).

### 6.1.3 Obtenção do Derivado 2-Hidróxi-6-pentadecilbenzoato de metila (LDT29, 17)

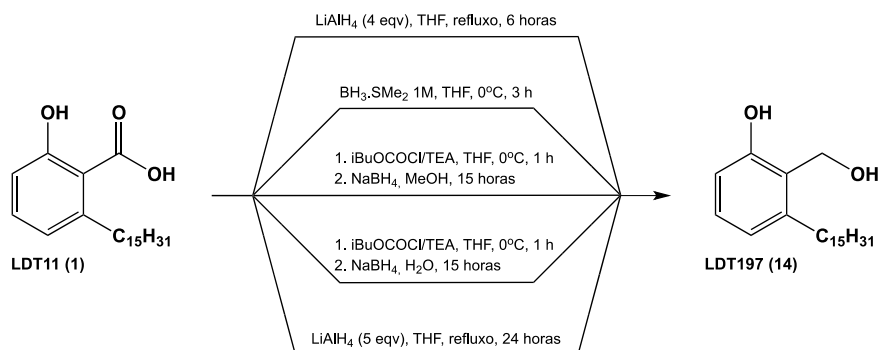


Para obtenção do derivado LDT29 (17) o ácido **1** foi submetido à reação de esterificação de Fischer em metanol, catalisado por ácido sulfúrico, sob condições de refluxo com sistema de resfriamento do condensador a 0°C (Alves, 2015). Após purificação em coluna cromatográfica, o derivado LDT29 (17) foi obtido em rendimento de 82% como sólido branco, ponto de fusão 37-40°C e única mancha (Rf 0,60; Hex80: AcOEt 20%). O grupo metila de **17** foi caracterizado em seus espectros de RMN de  $^1\text{H}$  (Anexo 27, pág. 129) e RMN de  $^{13}\text{C}$  (Anexo 30, pág. 132) pelos sinais em 3,96 ppm e 52,3 ppm, respectivamente. Na avaliação do espectro no IV (Anexo 26, pág. 128), a absorção em  $1739\text{ cm}^{-1}$  foi identificada como sendo referente à carbonila. A hidroxila fenólica foi caracterizada como simpleto em 11,09 ppm em RMN de  $^1\text{H}$ , característico de ligação de hidrogênio intramolecular confirmada pela absorção em  $3437\text{ cm}^{-1}$  na região do infravermelho.



**Figura 17:** Espectros de RMN  $^1\text{H}$  e de RMN  $^{13}\text{C}$  do LDT29 (17).

### 6.1.4 Obtenção do Derivado 2-(Hidróximetil)-3-pentadecilfenol (LDT197, **14**)



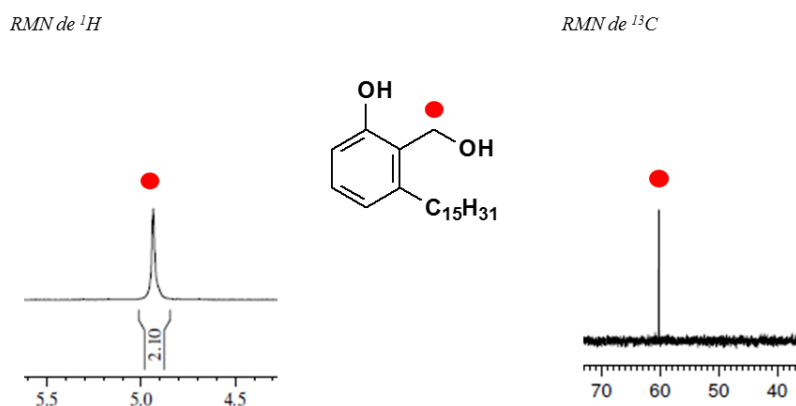
Para obtenção do álcool LDT197 (**14**) pela redução de **1** foram realizadas diferentes metodologias. Na primeira delas foi utilizado LAH (4,0 eq) em THF sob refluxo por 6 horas de reação. O derivado **14** foi obtido em rendimento de 30%. A segunda metodologia avaliada foi a redução do ácido anacárdico saturado com solução 1M de  $\text{BH}_3 \cdot \text{SMe}_2$  em DCM, tendo THF como solvente da reação (YOON e PAK, 1973), a qual forneceu o derivado álcool em rendimento de 20%, com formação de outros subprodutos não isoláveis e recuperação de 60% do produto de partida.

Em virtude destes resultados foram avaliadas duas metodologias envolvendo a formação de anidrido misto adaptadas de FARLONI, PORCHEDDU e TADEI (1999). Neste sentido, a reação foi estabelecida em duas etapas: a primeira envolvendo a formação do intermediário anidrido misto por meio da adição de cloroformato de isobutila na presença de trietilamina; e a segunda a redução com  $\text{NaBH}_4$  – esta última realizada em duas condições para solubilização do boroidreto de sódio *in situ*: metanol ou água. As diferentes condições de redução com  $\text{NaBH}_4$  apresentaram diferenças. A reação em água levou à formação do derivado **14** em rendimento de 40%, enquanto que com metanol foi de 20%. Inicialmente foi pensado em reutilizar o ácido anacárdico recuperado na coluna cromatográfica e submetê-lo novamente à reação de redução com boroidreto até obtenção de quantidade suficiente para dar seguimento à síntese dos outros derivados. No entanto, por meio da coleta de referências na literatura que partiam de derivados tão ou mais impedidos estericamente que o ácido anacárdico, a primeira metodologia de redução com LAH foi ajustada para 5 equivalentes de agente redutor, aumento da temperatura do banho de óleo (110°C), agitação magnética mais vigorosa, maior tempo reacional. Para este propósito, o THF foi seco e destilado no



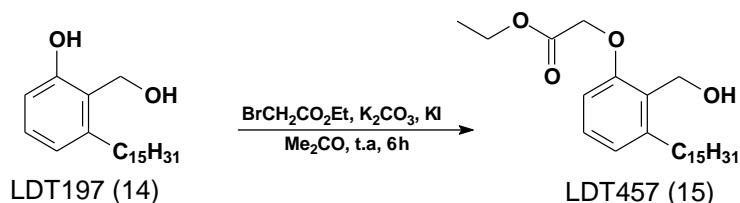
mesmo dia, toda vidraria foi seca previamente em estufa e vedada a fim de aumentar a segurança e evitar problemas à reação. Após os ajustes realizados a metodologia o álcool **14** foi obtido em rendimento de 90% como sólido branco, menos floculoso que o LDT11 (**1**), ponto de fusão 60°C-62°C apresentado única mancha em CCD (Rf 0,66 em Hex80%:AcOEt 20%).

No espectro de ressonância magnética de  $^1\text{H}$  o grupo metileno do álcool benzílico foi assinalado como simpleto em 4,93 ppm (Anexo 12, pág. 114) ratificado por sinal em 60,2 ppm no espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (Anexo 15, pág.117). As absorções em  $3526\text{ cm}^{-1}$  e  $3190\text{ cm}^{-1}$  referentes às respectivas hidroxilas alcoólica e fenólica bem como a ausência da banda do grupo carboxila do ácido **1** caracterizaram o derivado LDT197 (**14**).



**Figura 18:** Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  e de RMN de  $^{13}\text{C}$  do LDT197 (**14**).

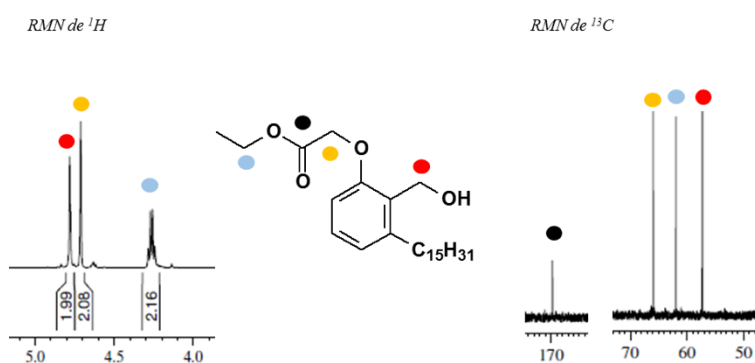
#### 6.1.5 Obtenção do Derivado 2-(2-(Hidróximetil)-3-(pentadecil)fenóxiacetato de etila (LDT457, **15**).



A síntese do derivado LDT457 (**15**) foi realizada a partir do derivado LDT197 (**14**), por meio de reação de *O*-substituição com bromoacetato de etila, na presença de carbonato de potássio e iodeto de potássio em acetona, por metodologia descrita por Nascente (2004). A reação ocorreu à temperatura ambiente. Após purificação em

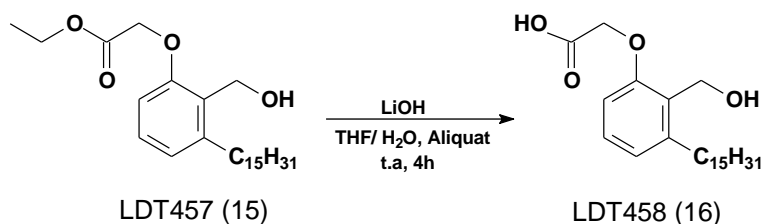
coluna cromatográfica de sílica gel, eluída em hexano e acetato de etila, o derivado **15** foi obtido em rendimento de 70%, como sólido branco, de baixo ponto de fusão na faixa de 32°C-34°C, caracterizado em CCD como única mancha (Rf 0,60 em Hex80%:AcOEt 20%). Uma vez que o valor do fator de retenção de **15** foi muito próximo ao do produto de partida **14**, foi realizada a revelação da CCD com solução hidroalcoólica de FeCl<sub>3</sub> a 5% que confirmou a ausência da hidroxila fenólica.

Na análise dos espectros de RMN de <sup>1</sup>H para **15** o grupo metileno da subunidade carboxila foi assinalado como quarteto em 4,26 ppm; enquanto que o tripleto referente ao grupo metila estava sobreposto ao multipletto na faixa de 1,26 ppm a 1,35 ppm (Anexo 17, 119). Adicionalmente foram identificados dois simples to em 4,71 ppm e 4,78 ppm correspondente aos grupos metilenos alfa à carbonila e do álcool benzílico. No espectro de RMN de <sup>13</sup>C foram observados sinais referentes aos grupos metileno em 57,2 ppm para o carbono benzílico; em 61,9 ppm para o grupo carbalcoxila; e em 65,9 ppm para o adjacente à carbonila do éster. O deslocamento químico referente ao grupo metila foi evidenciado em 14,3 ppm – juntamente com o metila da cadeia alquílica; enquanto que a carbonila foi evidenciada em 169,7 ppm (Anexo 20, pág. 122). No espectro na região do infravermelho pode ser observada a ausência da banda da hidroxila fenólica, a manutenção da banda referente ao álcool em 3517 cm<sup>-1</sup> e a presença da banda da carbonila em 1745 cm<sup>-1</sup> (Anexo 16, pág. 118).



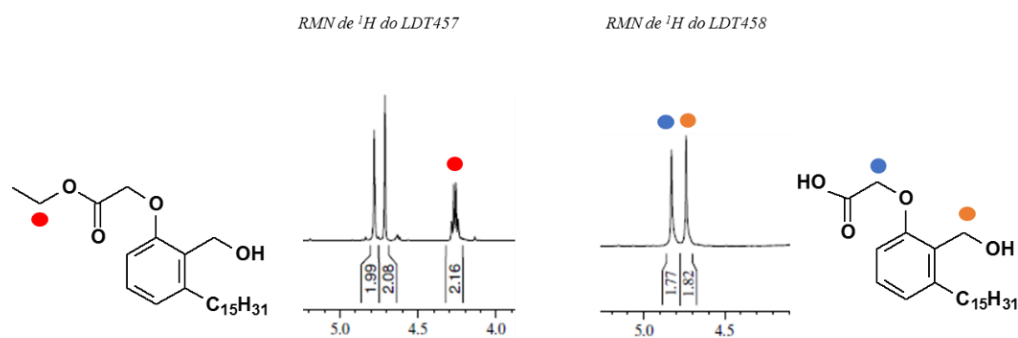
**Figura 19:** Espectro de RMN de <sup>1</sup>H e de RMN de <sup>13</sup>C do LDT457 (**15**).

### 6.1.6 Obtenção do Derivado Ácido 2-(2-Hidróximetil-3-pentadecil)fenóxiacético (LDT458, **16**)



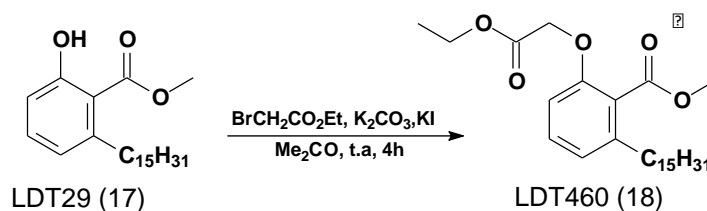
Para obtenção do derivado LDT458 (**16**) foi utilizada a metodologia da reação foi adaptada de Ferreira (2014) em que o derivado **15** foi submetido à hidrólise alcalina com LiOH em mistura THF/H<sub>2</sub>O e presença de Aliquat 336, como catalisador de transferência de fase, sob agitação magnética, à temperatura ambiente por 4 horas. O consumo do material de partida foi verificado na CCD com formação do íon carboxilato retido no spot. Após acidificação com solução de HCl a 10% até pH 1 e elaboração usual, o derivado ácido LDT458 (**16**) foi obtido em rendimento de 55% como sólido branco, ponto de fusão 87°C-90°C e caracterizado em CCD com única mancha (Rf 0,20 Hex80%:AcOEt 20%).

Nos espectros de RMN de <sup>1</sup>H (Anexo 22, pág. 124) e RMN de <sup>13</sup>C (Anexo 25, pág. 127) de **16** foram assinalados simpletos em 4,73 ppm e 4,82 ppm correspondentes aos metilenos alfa ao grupo carboxila e benzílico, confirmados respectivamente pelos deslocamentos químicos em 66,3 ppm e 57,4 ppm. O grupo carboxila foi evidenciado em 171,3 ppm. Na avaliação do espectro na região do infravermelho (Anexo 21, pág. 123), O grupo hidroxila do álcool foi identificado pela absorção em 3365 cm<sup>-1</sup>; enquanto que o estiramento da carboxila foi evidenciado sobreposto. Os dados supracitados permitiram a caracterização do derivado LDT458 (**16**).



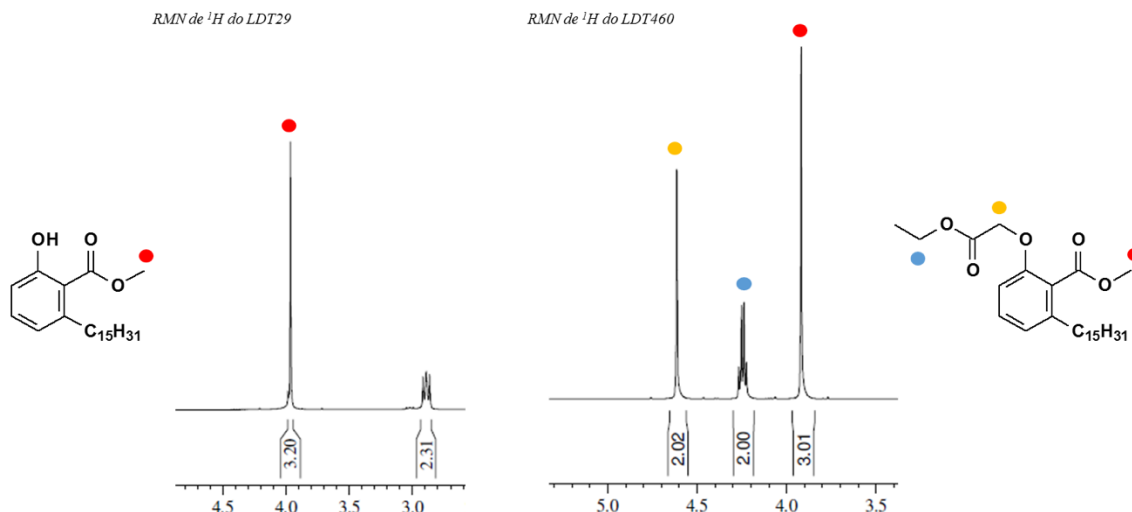
**Figura 20:** Espectro de RMN de <sup>1</sup>H do LDT458 (**16**) com LDT457 (**15**).

6.1.7 Obtenção do Derivado 2-(2-Carbetoximetóxi)-6-pentadecilbenzoato de metila (LDT460 **18**)



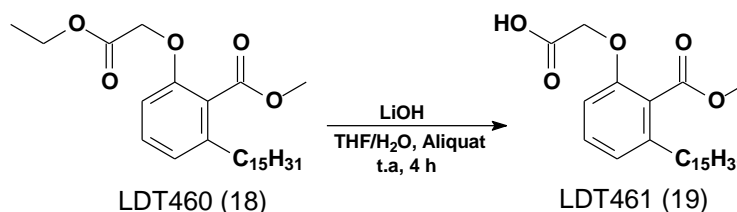
A síntese do derivado LDT460 (**18**) teve como produto de partida o éster LDT29 (**17**) que foi submetido à reação de O-substituição com bromoacetato de etila como descrito anteriormente (Nascente, 2004). **18** foi obtido em rendimento de 70% como sólido branco, ponto de fusão 38°C-41°C caracterizado em CCD com única mancha (Rf 0,60 Hex80%: AcOEt20%), praticamente o mesmo fator de retenção do LDT29 (**17**). A diferenciação entre ambos os compostos foi inicialmente evidenciada por revelação de placa cromatográfica com solução hidroalcoólica de FeCl<sub>3</sub> a 5% em que foi detectada a presença de fenol apenas no precursor LDT29 (**17**).

Os assinalamentos em 3,91 ppm e 52,3 ppm em RMN de <sup>1</sup>H (Anexo 32, pág. 134) e RMN <sup>13</sup>C (Anexo 34, pág. 136) foram atribuídos ao grupo metila do éster. Para o grupo carbetóximetoxila foram evidenciados quarteto em 4,24 ppm para o metileno do grupo etoxila; enquanto que o tripleto referente ao grupo metila estava sobreposto ao multipletto na faixa de 1,25 ppm a 1,29 ppm. O metileno alfa à carbetoxila (ArOCH<sub>2</sub>COOCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>) foi identificado como simpleto em 4,61 ppm. Não foi observado deslocamento químico referente à hidroxila fenólica em ligação de hidrogênio intramolecular presente no precursor **17** como simpleto em 11,09 ppm. Os sinais referentes à subunidade carbetóximetoxila no espectro de RMN de <sup>13</sup>C foram confirmados em 14,3 ppm e 61,5 para o grupo etoxila, 66,5 ppm para o metileno adjacente à carboalcoxila e 168,7 ppm para a carbonila. Na avaliação do espectro no infravermelho (Anexo 31, pág. 133) a presença de duas bandas em 1754 cm<sup>-1</sup> e em 1642 cm<sup>-1</sup> referente às carbonilas dos ésteres e ausência de banda referente à hidroxila fenólica corroboraram para a caracterização de **18**.



**Figura 21:** Espectro de RMN de  $^1\text{H}$ : Comparação entre LDT460 (**18**) e LDT29 (**17**).

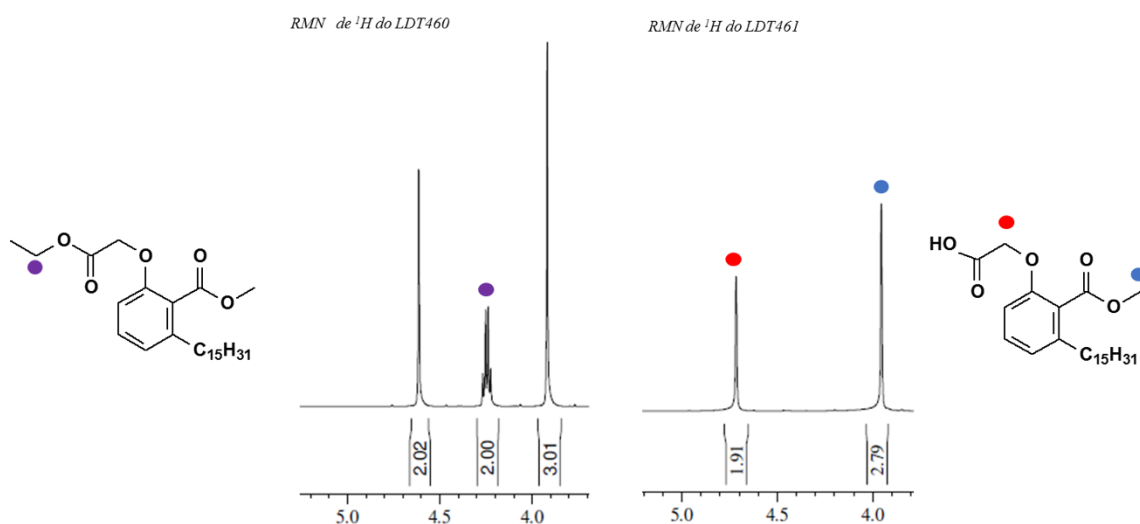
### 6.1.8 Obtenção do Derivado Ácido 2-(2-(Carbometóxi)-3- pentadecilfenóxi)acético (LDT461, **19**)



A partir do derivado éster LDT460 (**18**) foi sintetizado o ácido LDT461 (**19**) por reação de hidrólise alcalina como descrita anteriormente para o derivado **16**. O derivado LDT461 (**19**) foi obtido em rendimento de 80%, como sólido branco, ponto de fusão 86°C-88°C, caracterizado em CCD com única mancha ( $R_f$  0,20 Hex80%:AcOEt20%). A reação ocorreu de forma regiosseletiva com hidrólise do grupo carbetoílico e manutenção do éster metílico provavelmente em função do impedimento estérico em face da cadeia alquílica. Vale destacar que a hidrólise deste grupo em meio alcalino foi realizada por Santos e Magalhães (1999) para a síntese da lasiodiploidina cujas condições envolveram solução de KOH 10 M em etileno glicol à 165°C durante 4 horas, demonstrando a estabilidade do éster metílico em condições mais brandas.

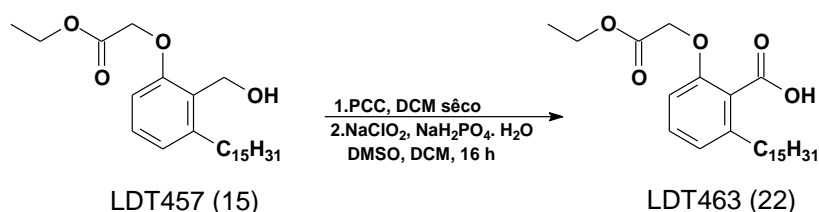
**19** foi caracterizado pela presença de simpleto em 3,95 ppm no espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (Anexo 36, pág. 138) referente ao grupo metoxila do éster, corroborado

pelo deslocamento químico em 52,3 ppm em RMN de  $^{13}\text{C}$  (Anexo 37, pág. 139). Adicionalmente, a ausência de sinais referente à subunidade carbetóxila de seu precursor LDT460 (**18**) confirma a hidrólise regioseletiva. A presença de simpleto em 4,71 ppm foi atribuída ao metileno alfa ao grupo carboxila, ratificado pelo deslocamento químico em 67,0 ppm no espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$ . No mesmo espectro ainda foram observados os sinais referentes ao grupo carbometotoxila em 169,32 ppm e carboxila em 171,0 ppm. As bandas no espectro na região do infravermelho (Anexo 35, pág. 137) foram atribuídas à hidroxila do ácido carboxílico em  $3422\text{ cm}^{-1}$  e às carbonilas do éster em  $1735\text{ cm}^{-1}$  e do ácido em  $1623\text{ cm}^{-1}$ .



**Figura 22:** Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  do LDT461 (**19**) comparado com LDT460 (**18**).

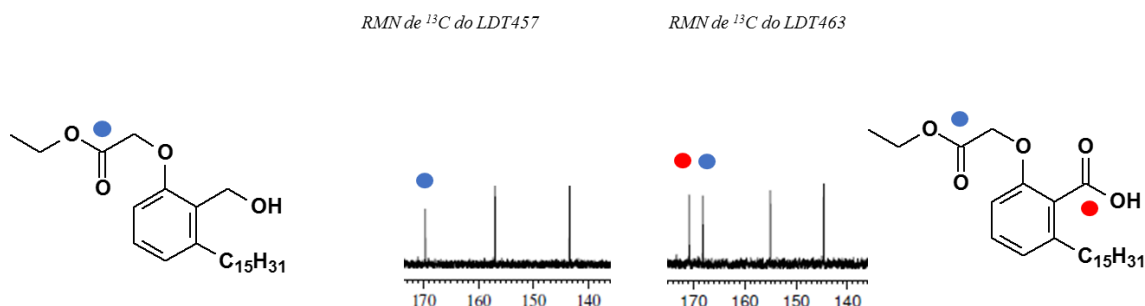
### 6.1.9 Obtenção do Derivado Ácido 2-(2-Carbetóximetóxi)-6-pentadecilbenzóico (LDT463, **22**).



Para obtenção do derivado LDT463 (**22**) a partir do éster LDT457 (**15**) a metodologia inicialmente empregada foi a oxidação direta com reagente de Jones;

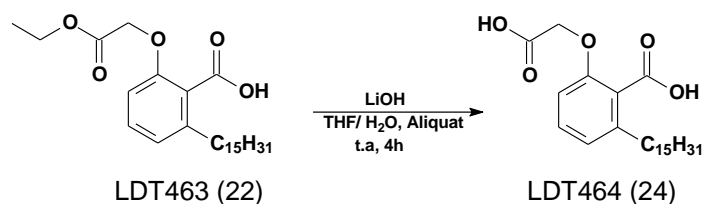
entretanto a reação não logrou êxito, possivelmente por impedimento estérico ou efeito quelante do cromo. Uma segunda metodologia visando a oxidação do álcool benzílico ao aldeído com clorocromato de piridínio (PCC) em DCM sêco foi realizada onde a conversão ao formilderivado foi verificada por revelação da CCD com 2,4-dinitrofenilhidrazina. O aldeído, não caracterizado por RMN ou no IV, foi submetido a nova oxidação com reagente de Jones, novamente sem êxito. Por fim, uma terceira metodologia baseada no trabalho de Santos e Magalhães (1999) foi empregada, em que o aldeído –purificado em coluna de sílica gel, montada com sulfato de magnésio e eluída com DCM – foi submetido a posterior oxidação com soluções 1M de clorito de sódio e monofosfato de sódio em DMSO fornecendo o ácido LDT463 (**22**) em rendimento de 80%, como sólido branco, ponto de fusão entre 74°C-76°C, caracterizado em CCD com única mancha (Rf 0,22 Hex80%:AcOEt20).

O grupo carboxila foi evidenciado pelo sinal em 170,9 ppm no espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (Anexo 45, pág. 147) bem como pela ausência do deslocamento químico referente ao metileno do álcool benzílico em 57,2 ppm (Anexo 45, pág. 147). No espectro na região do infravermelho foram observadas duas bandas referente às carbonilas do éster em  $1720\text{ cm}^{-1}$  e do ácido em  $1597\text{ cm}^{-1}$  bem como banda da hidroxila do ácido em  $3292\text{ cm}^{-1}$  bem como ausência da banda da hidroxila do álcool em  $3517\text{ cm}^{-1}$  (Anexo 43, pág. 145).



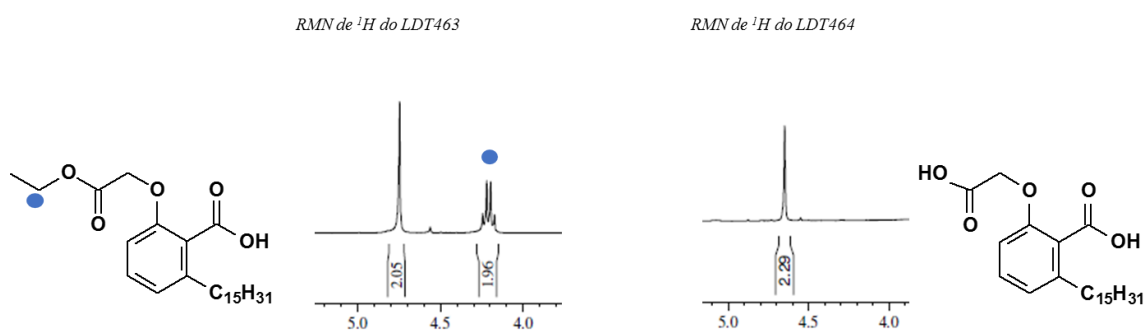
**Figura 23:** Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$ , do LDT463 (**22**) comparado com LDT457 (**15**).

6.1.10 Obtenção do Derivado Ácido 2-(Carbóximetóxi)-6-pentadecilbenzóico (LDT 464, **24**).



A metodologia de hidrólise adaptada de Ferreira (2014), como descrita anteriormente, foi empregada para o derivado **22** levando ao diácido LDT464 (**24**) obtido em rendimento de 60%, como sólido amarelo, ponto de fusão entre 59 a 62°C, caracterizado em CCD com única mancha (Rf 0,30 AcOEt 100%).

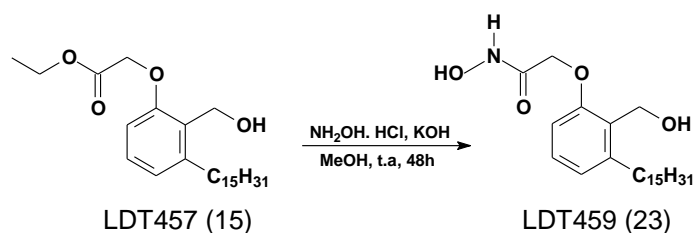
As ausências do quarteto em 4,20 ppm em RMN de  $^1\text{H}$  (Anexo 51, pág. 153) e sinais em 14,3 ppm e 62,6 ppm em RMN de  $^{13}\text{C}$  (Anexo 54, pág. 156) confirmaram a perda do grupo etoxila de **22**. Adicionalmente, o grupo metileno alfa à carboxila foi evidenciado como simpleto em 4,64 ppm e corroborado pelo sinal em 65,4 ppm nos espectros de RMN hidrogênio e carbono-13. Os grupos carboxílicos foram identificados pelos deslocamentos químicos em 168,7 ppm e 170,1 ppm no espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$ .



**Figura 24:** Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  de LDT464 (**24**) em comparação com LDT463 (**22**).



### 6.1.11 Obtenção do Derivado *N*-Hidróxi-2-(2-(hidróximetil)-3-pentadecilfenóxiacetamida (LDT459, **23**)



O derivado hidroxâmico LDT459 (**23**) foi obtido a partir da reação de aminólise com hidroxilamina em metanol após neutralização do cloridrato com hidróxido de potássio. A metodologia foi adaptada de Massaro et al (2007). Após purificação em coluna cromatográfica, eluída em hexano e acetato de etila, **23** foi obtido em rendimento de 40%, como sólido alaranjado, ponto de fusão 53-56°C e caracterizado em CCD com única mancha ( $R_f$  0,33 AcOEt 100%). **23** foi caracterizado em seu espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (Anexo 47, pág. 149) pela presença de simpletos em 4,52 ppm e 4,94 ppm atribuídos aos grupos metileno alfa-carbonílico e benzílico. Na caracterização do hidrogênio do ácido hidroxâmico, o deslocamento químico em 8,9 ppm foi assinalado como o hidrogênio ligado ao nitrogênio; enquanto o assinalamento em 10,7 ppm ao hidrogênio do grupo hidroxila. No espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (Anexo 49, pág. 151) foram identificados sinais em 54,1 ppm para o carbono benzílico e 66,6 ppm para o metileno adjacente à carbonila do ácido hidroxâmico, cuja carbonila foi atribuída ao sinal em 164,8 ppm. Em comparação com o espectro de RMN de hidrogênio do precursor **15**, foi observada a ausência do quarteto em torno de 4,26 ppm referente ao metileno do grupo alcoxila. Na avaliação do espectro na região do infravermelho (Anexo 46, pág. 148), a presença das bandas em  $3211\text{ cm}^{-1}$  e em  $1666\text{ cm}^{-1}$  corroboraram a caracterização do derivado **23**.

RMN de  $^1\text{H}$  do LDT459

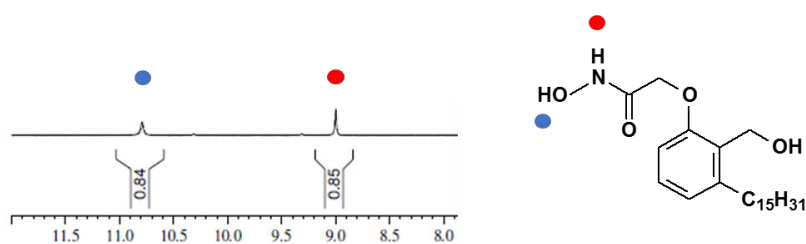
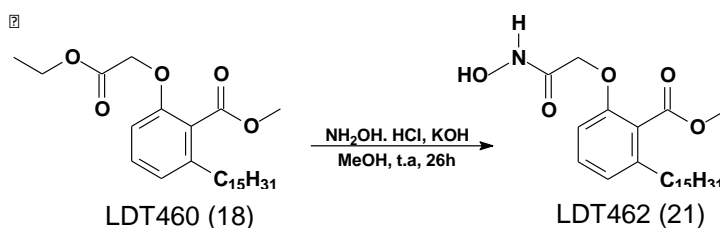
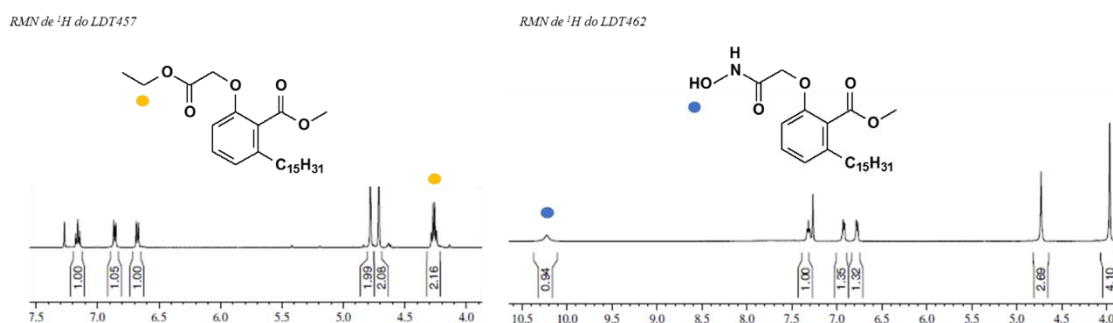


Figura 25: Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  do LDT459 (**23**) dos hidrogênios do NH e OH do ácido hidroxâmico.

### 6.1.12 Obtenção do Derivado 2-(Hidróxicarbamoilmetóxi)-6-pentadecilbenzoato de metila (LDT462, **21**)

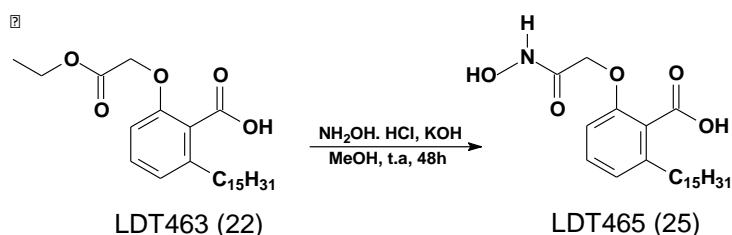


Para a síntese do derivado LDT462 (**21**) foi realizada a reação de aminólise do diéster LDT460 (**18**) com hidroxilamina em metanol à temperatura ambiente por 24 horas, seguida de aquecimento em banho de óleo a 50°C por 2 horas. A metodologia foi adaptada de Massaro et al (2007). Após purificação em coluna cromatográfica, eluída em mistura de hexano e acetato de etila, o derivado **21** foi obtido em rendimento de 41% como sólido branco, ponto de fusão 71-73°C e caracterizado em CCD com única mancha (Rf 0,26 Hex:AcOEt 50%). Na análise espectroscópica de **21** por RMN de  $^1\text{H}$  (Anexo 39, pág. 141) e RMN de  $^{13}\text{C}$  (Anexo 42, pág. 144) foram identificados simpletos em 4,73 ppm e 10,22 ppm respectivos ao metileno adjacente à carbonila e à hidroxila do ácido hidroxâmico, bem como a ausência de quarteto do metileno do grupo carboetoxila de **18**. A presença de simpleto em 3,96 ppm (RMN de  $^1\text{H}$ , Anexo 39, pág. 141) juntamente com sinal em 52,8 ppm (RMN de  $^{13}\text{C}$ , Anexo 42, pág. 144) confirmam a manutenção do éster metílico. Os assinalamentos em 165,1 ppm 169,3 ppm foram atribuídos às carbonilas ácido hidroxâmico e do éster metílico, respectivamente. Na avaliação do espectro na região do infravermelho (Anexo 38, pág. 140), a presença da banda em 3337  $\text{cm}^{-1}$  referente ao estiramento N-H do ácido hidroxâmico.



**Figura 26:** Espectro de RMN de  $^1\text{H}$ , do LDT462 (**21**) em comparação com seu precursor LDT460 (**18**).

6.1.13 Obtenção do Derivado Ácido 2-(Hidróxicarbamoilmetóxi)-6-pentadecilbenzóico (LDT465, **25**).



Para obtenção do derivado LDT465 (**25**), o ácido LDT463 (**22**) foi submetido à reação de aminólise de seu grupo carbetóxi com hidroxilamina em metanol à temperatura ambiente por 48 horas. **25** foi obtido com rendimento de 60% como sólido vermelho, ponto de fusão entre 69°C -72°C e caracterizado em CCD com única mancha (Rf 0,26 em AcOEt 100%). **25** apresentou em seu espectro de RMN de  $^1\text{H}$  sinais pertinentes à subunidade hidroxâmica como simpletos em 9,07 ppm e 10,6 ppm referentes aos grupos NH e OH (Anexo 56, pág. 158). No espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (Anexo 57, pág. 159) os deslocamentos químicos em 66,5 ppm, referente ao metileno adjacente à carbonila do ácido hidroxâmico; em 164,4 ppm pertencente à carbonila do ácido hidroxâmico; e em 168,7 ppm concernente à carbonila do ácido carboxílico corroboram a caracterização estrutural de **25**. Na avaliação do espectro na região do infravermelho (Anexo 55, pág.157) foi destacada a banda em 3370  $\text{cm}^{-1}$  característica do estiramento do grupo N-H do ácido hidroxâmico.

RMN de  $^1\text{H}$  do LDT465

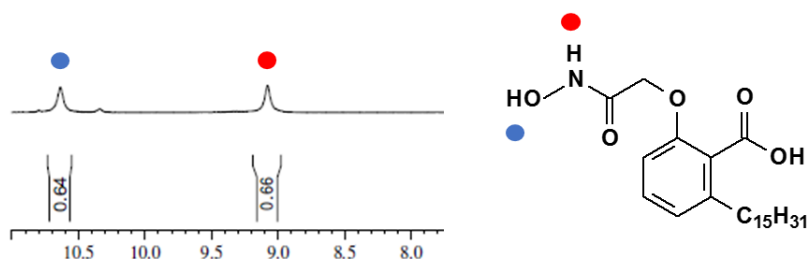
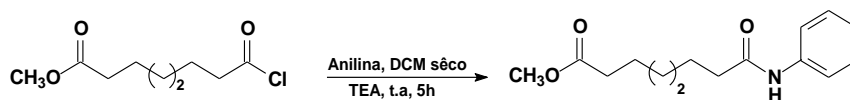
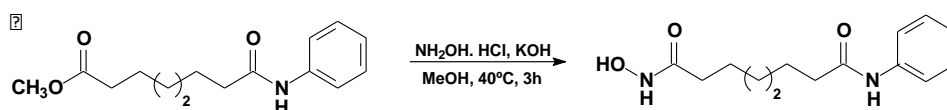


Figura 27: Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  do LDT465 (**25**) dos hidrogênios dos grupos NH e OH hidroxâmicos.

### 6.1.14 Obtenção do Derivado N-hidróxi-N-fenil-octanediamida (SAHA)



O objetivo para a síntese do Vorinostat (SAHA) – conhecido na literatura e na clínica como inibidora HDAC I e II, cujo uso medicinal é para o tratamento de linfoma cutâneo – foi a obtenção do controle a ser utilizado nos testes biológicos. A síntese do SAHA foi realizada em duas etapas. A primeira etapa consistiu na obtenção do éster-intermediário éster 7-(fenilcarbamoil) heptanoato de metila a partir do reagente cloreto de 8-carbometóxiioctanoíla. A reação foi realizada com anilina previamente destilada, DCM seco e o reagente, em banho de gelo, submetida à agitação magnética por 2 horas. Posteriormente foi adicionada TEA ao meio reacional, em banho de gelo, e após 3 horas de reação, o produto foi extraído e purificado fornecendo o derivado intermediário amido éster em rendimento de 80% como sólido de baixo ponto de fusão com fator de retenção de 0,22 (Hex 80%: AcOEt 20%).



A segunda etapa consistiu na aminólise do amidoéster baseada no artigo de GEDIYA e colaboradores (2005), cujo estudo de ajustes procedimentais permitiram a obtenção dos demais ácidos hidroxâmicos neste projeto.

Neste sentido foram ajustados a equivalência de hidróxido de potássio e metanol, a inversão de adição das soluções – adição da mistura de metanol, hidróxido de potássio e hidroxilamina ao invés de serem adicionados ao éster, seguiu a adição contrária, sendo o éster adicionado à mistura; e o sistema foi aquecido em banho de óleo a 40°C por duas horas, depois resfriado a 0°C em banho de gelo. O produto foi purificado em coluna de sílica gel, eluída em clorofórmio e metanol fornecendo o derivado alvo em rendimento de 20% como sólido alaranjado, ponto de fusão oscilou 159°C-161°C e única mancha em CCD (Rf 0,36, CHCl<sub>3</sub> 80%:EtOH 20%). O SAHA foi caracterizado por espectro de RMN <sup>1</sup>H, cuja cadeia alquílica foi identificada por

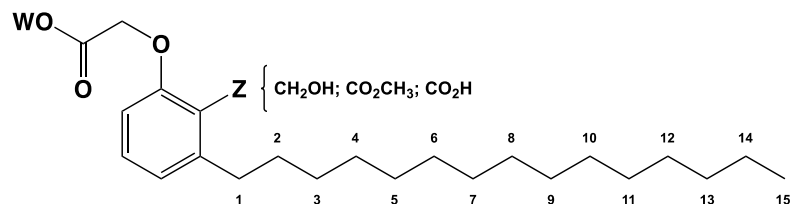
deslocamentos químicos na faixa de 1,26 ppm a 2,28 ppm. Para os hidrogênios aromáticos os sinais variaram de 7,00-7,57 ppm. A presença de simpletos em 8,64 ppm, referente ao hidrogênio da anilina bem como em 9,83 ppm e 10,32, referentes ao hidrogênios hidroxilamídicos assinalam a presença da subunidade. Por sua vez, os assinalamentos no espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  corroboraram a caracterização do derivado-alvo pelos sinais entre 24,9 ppm e 36,3 ppm para os carbonos da cadeia alquílica; entre 119,0 e 139,3 ppm referentes aos carbonos aromáticos; em 169,2 ppm como sendo da carbonila do ácido hidroxâmico; e a 171,2 ppm, referente à carbonila fenilamídica. No espectro de massas de alta resolução foi obtida a massa do derivado SAHA como sal de sódio e pico a 287 g/mol, bem como produto relativo à massa ionizada  $(\text{M}+\text{H})^+$  de 265,14 g/mol, conforme visto no Anexo 66, pág. 168.

Resumos dos principais assinalamentos nos espectros de RMN de hidrogênio e de carbono-13 estão dispostos nas Tabelas 6 e 7.

**Tabela 6:** Principais deslocamentos químicos de RMN  $^1\text{H}$  e de RMN de  $^{13}\text{C}$  (ppm,  $\text{CDCl}_3$ )

RMN	Grupos	RMN $^1\text{H}$ / RMN $^{13}\text{C}$ (ppm, $\text{CDCl}_3$ )			
		LDT11	LDT13	LDT29	LDT197
$^1\text{H}$	Ar	6,89-7,37	7,01-7,41	6,72-7,29	6,72-7,11
$^{13}\text{C}$		110,6-163,8	120,8-148,8	115,8-162,8	114,4-156,7
$^1\text{H}$	$\text{C}_{15}\text{H}_{31}$	0,89-3,00	0,89-2,81	0,89-2,89	0,88-2,57
$^{13}\text{C}$		14,3-36,7	14,3-34,01	14,31-36,84	14,3-33,29
$^1\text{H}$	$\text{Ar}\underline{\text{C}}\text{O}_2\text{CH}_3$	--	--	3,96	--
$^{13}\text{C}$	$\text{Ar}\underline{\text{C}}\text{O}_2\underline{\text{C}}\text{H}_3$	--	--	52,3/172,1	--
$^1\text{H}$	$\text{Ar}\underline{\text{C}}\text{OOH}$	--	--	--	--
$^{13}\text{C}$		176,5	--	--	--
$^1\text{H}$	$\text{Ar}\text{O}\underline{\text{C}}\text{O}\underline{\text{C}}\text{H}_3$	--	2,30	--	--
$^{13}\text{C}$	$\text{Ar}\text{O}\underline{\text{C}}\text{O}\underline{\text{C}}\text{H}_3$	--	21,0/172,4	--	--
$^1\text{H}$	$\text{Ar}\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{OH}$	--	--	--	4,93
$^{13}\text{C}$		--	--	--	60,18

Tabela 7: Principais deslocamentos químicos de RMN de  $^1\text{H}$  e RMN de  $^{13}\text{C}$  (ppm,  $\text{CDCl}_3^*$  ou  $\text{DMSO}^{**}$ )



RMN	Grupos	RMN $^1\text{H}$ / RMN $^{13}\text{C}$ (ppm, $\text{CDCl}_3^*$ ou $\text{DMSO}^{**}$ )								
		LDT457 (W = $\text{CH}_3\text{CH}_2$ )	LDT460* (W = $\text{CH}_3\text{CH}_2$ )	LDT463* (W = $\text{CH}_3\text{CH}_2$ )	LDT458 (W = H)	LDT461* (W = H)	LDT464** (W = H)	LDT459** (W = NHOH)	LDT462* (W = NHOH)	LDT465** (W = NHOH)
$^1\text{H}$	$\text{C}_{15}\text{H}_{31}$	0,88-2,69	0,88-2,56	0,82-2,71	0,88-2,67	0,88-2,62	0,84-1,51	0,84-2,63	0,88-2,61	0,84-2,52
$^{13}\text{C}$		14,3-33,4	14,3-33,6	14,2-33,9	14,3-33,4	14,3-34,1	13,9-32,7	13,9-32,2	14,3-34,2	13,9-32,7
$^1\text{H}$	Ar	6,67-7,15	6,65-7,25	6,72-7,23	6,72-7,19	6,75-7,31	6,75-7,20	6,80-7,14	6,77-7,30	6,87-7,26
$^{13}\text{C}$		109,7- 157,0	110,0-154,9	110,9-155,0	110,4-157,1	111,1-155,3	111,3-154,0	110,0-156,3	110,8-159,4	110,3-154,2
$^1\text{H}$	$\text{ArOCH}_2\text{CO}_2\text{W}$ $\text{ArOCH}_2\text{CO}_2\text{W}$	1,26-1,35/4,71	1,25-1,29/4,61	1,20-1,26/4,74	4,73	4,71	4,64	4,52/8,90/10,7	4,73/-/10,22	4,50/9,07/10,6
$^{13}\text{C}$		14,3/65,9/169,7	14,3/66,5/168,7	14,3/66,6/168,2	66,3/171,3	67,0/171,0	65,4/168,7	66,6/164,8	67,3/165,1	66,5/164,4
$^1\text{H}$	$\text{ArCH}_2\text{OH}$	4,78	--	--	4,58	--	--	4,94	--	--
$^{13}\text{C}$		57,2	--	--	57,4	--	--	54,1	--	--
$^1\text{H}$	$\text{ArCO}_2\text{CH}_3$ $\text{ArCO}_2\text{CH}_3$	--	3,91	--	--	3,95	--	--	3,96	--
$^{13}\text{C}$		--	52,3/168,6	--	--	52,7/169,3	--	--	52,8/169,3	--
$^{13}\text{C}$	$\text{ArCO}_2\text{H}$	--	--	170,9	--	--	170,1	--	--	168,7

## 6.2. PARÂMETROS FÍSICO-QUÍMICOS TEÓRICOS

Os parâmetros físico-químicos dos derivados-alvo foram obtidos através do programa Percepta/ACD Labs versão 12. As propriedades físico-químicas de uma substância são capazes de influenciar o perfil de atividade biológica. Os parâmetros calculados compreendem o coeficiente de partição ( $\log P$ ), coeficiente de distribuição ( $\log D$ ), constante de ionização ácida ( $pK_a$ ), coeficiente de solubilidade ( $\log S$ ) e área de superfície polar (PSA).

O coeficiente de partição expressa a lipofilicidade de uma substância baseada na solubilidade distribuída entre a fase orgânica e fase aquosa, em determinado pH no qual as moléculas estão na forma neutra (BARREIRO, MANSSOUR, 2008). Para compostos ionizáveis, a partição está sujeita a alterações em função do pH do meio, denominada como coeficiente de distribuição ( $\log D$ ). Para compostos não ionizáveis o  $\log P$  é igual ao  $\log D$  em qualquer pH do meio. O  $\log D$  calculado para o pH 7,4 (fisiológico) é um indicador de comportamento do composto na biofase aquosa (plasma). O  $pK_a$  permite expressar o percentual relativo das espécies não-ionizadas que atravessam membranas mais facilmente pela natureza lipofílica.

A área de superfície polar (PSA) de uma molécula corresponde ao somatório da superfície dos átomos polares, em especial o oxigênio e o nitrogênio. Este parâmetro prediz as propriedades de permeabilidade frente à barreira hematoencefálica, absorção intestinal e transporte da molécula no organismo (BARREIRO, MANSSOUR, 2008).

O  $\log S$  corresponde ao logaritmo de solubilidade em água de moléculas orgânicas, no qual o S corresponde à concentração do composto expresso em mol/L. A solubilidade em fase aquosa afeta diretamente a absorção de um composto e sua distribuição no organismo. Moléculas ricas em grupos polares estão associadas a valores de  $\log S$  acima de -1, como consequência apresentarão baixa permeabilidade de membrana na ausência de transporte ativo. O ideal no desenvolvimento de uma molécula é que esta apresente polaridade razoável, solubilidade em meio aquoso e lipofilicidade para atravessar membranas para exercer seu efeito biológico (SMITH, WATERBEEMD, WALKER, 2006).

As características físico-químicas logP, logD, pKa e PSA, calculadas no programa Percepta/ACD Labs, fórmula molecular, massa molar, rendimentos das reações, fatores de retenção e pontos de fusão dos derivados, estão resumidos na Tabela 8.

**Tabela 8:** Características químicas, rendimentos e pontos de fusão dos derivados-alvo

Molécula	Rf	MM (g/mol)	Fórmula Molecular	R (%)	p.f. (°C)	LogP	LogD (pH 7,4)	LogS (pH 7,4)	pKa	PSA
LDT11	0,48	348,519	C <sub>22</sub> H <sub>36</sub> O <sub>3</sub>	90	81-84	9,6	6,4	-5,6	3,1	57,53
LDT13	0,20	390,556	C <sub>24</sub> H <sub>39</sub> O <sub>4</sub>	65	65-69	9,4	6,2	-5,1	3,5	63,60
LDT29	0,60	362,546	C <sub>24</sub> H <sub>38</sub> O <sub>3</sub>	82	37-40	9,7	9,7	-8,7	9,9	46,53
LDT197	0,66	334,535	C <sub>22</sub> H <sub>38</sub> O <sub>2</sub>	90	60-62	8,3	8,3	-7,6	10,0	40,46
LDT457	0,60	420,625	C <sub>26</sub> H <sub>44</sub> O <sub>4</sub>	70	32-34	14,4	8,7	-8,3	14,4	55,76
LDT458	0,20	392,572	C <sub>24</sub> H <sub>40</sub> O <sub>4</sub>	55	87-90	7,6	4,2	-4,1	3,2	66,76
LDT459	0,33	407,595	C <sub>24</sub> H <sub>41</sub> NO <sub>4</sub>	40	53-56	6,5	6,5	-7,8	9,1	78,79
LDT460	0,60	448,635	C <sub>27</sub> H <sub>44</sub> O <sub>5</sub>	70	38-41	9,6	9,6	-9,0	--	61,83
LDT461	0,20	420,582	C <sub>25</sub> H <sub>40</sub> O <sub>5</sub>	80	86-88	8,9	5,2	-4,8	3,0	72,83
LDT462	0,26	435,605	C <sub>25</sub> H <sub>41</sub> NO <sub>5</sub>	41	71-73	7,9	7,9	-8,4	9,1	84,86
LDT463	0,22	434,617	C <sub>26</sub> H <sub>42</sub> O <sub>5</sub>	80	74-76	9,4	6,2	-6,2	3,3	72,83
LDT464	0,30	406,563	C <sub>24</sub> H <sub>38</sub> O <sub>5</sub>	60	59-62	8,5	4,0	-3,7	3,1	83,83
LDT465	0,26	421,578	C <sub>24</sub> H <sub>39</sub> NO <sub>5</sub>	60	69-72	7,4	4,5	-5,2	3,3	95,86
SAHA	0,36	264,32	C <sub>14</sub> H <sub>20</sub> N <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	20	159-160	1,2	1,0	-2,6	9,5	78,43



### 6.3 AVALIAÇÃO BIOLÓGICA *IN VITRO*

Dando continuidade aos objetivos específicos, os compostos-alvo derivados do ácido anacárdico – sintetizados e caracterizados por métodos espectroscópicos – foram submetidos a avaliação biológica *in vitro* para determinação do percentual de inibição da viabilidade celular por ensaio de MTT *in vitro* frente a três linhagens celulares tumorais por ensaio de MTT. Os derivados-alvo classificados como citotóxicos – quando o percentual de inibição de crescimento das células foi maior que 75% em pelo menos duas linhagens avaliadas na concentração única de 25 µg/mL – foram submetidos à determinação da IC<sub>50</sub> (concentração que reduz em metade a população de células testadas) em 6 linhagens tumorais, células L929 (seletividade) e eritrócitos humanos (hemólise) por meio da análise das absorbâncias das amostras, utilizando-se o logaritmo das concentrações testadas por regressão não-linear.

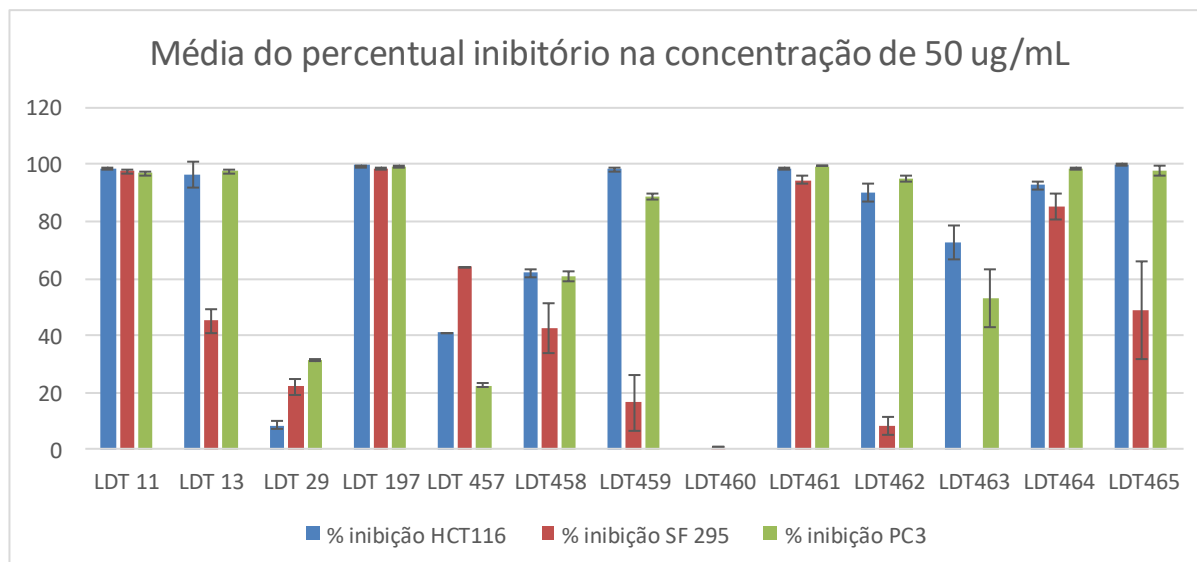
#### 6.3.1 Ensaio de Citotoxicidade por MTT

O ensaio de citotoxicidade por MTT foi realizado pela doutoranda Maria Cláudia dos Santos Luciano e Cristiana Libardi Miranda Furtado do Laboratório de Oncologia Experimental da Universidade Federal do Ceará coordenado pela Prof<sup>a</sup> Cláudia do Ó Pessoa.

As amostras foram previamente diluídas em DMSO estéril para concentração estoque de 10 mg/mL e testadas em concentrações de 25 µg/mL e 50 µg/mL. Para a determinação do percentual inibitório dos compostos (teste em concentração única), os compostos foram avaliados nas linhagens de HCT-116 (carcinoma colorretal), SF295 (glioblastoma) e PC3 (carcinoma de próstata). As células foram plaqueadas nas concentrações de  $0,7 \times 10^5$  para a linhagem de HCT116 e  $0,1 \times 10^6$  para as demais linhagens. As placas foram incubadas com as substâncias por 72 h em estufa a 37°C e 5% de CO<sub>2</sub>. Os compostos que apresentaram percentual de inibição maior que 75% na concentração única de 25 µg/mL, em pelo menos duas das três linhagens testadas, foram selecionados para determinação de IC<sub>50</sub>.

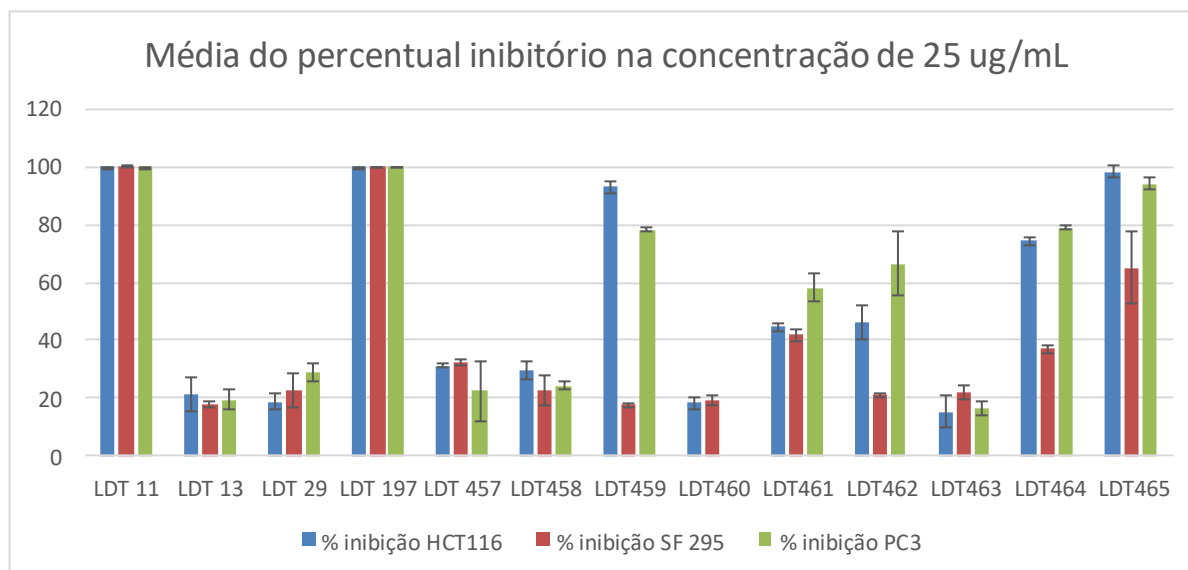
A triagem inicial foi realizada na concentração única de 50 µg/mL na qual oito dos treze compostos avaliados apresentaram a média da atividade citotóxica maior que 75%, em pelo menos duas de três linhagens testadas: LDT11, LDT13, LDT197, LDT459, LDT461, LDT462, LDT464 e LDT465. Os derivados LDT29, LDT457 e

LDT458 apresentaram percentual de atividade entre 8% e 62% para três linhagens; enquanto LDT463 mostrou atividades em torno de 75% e 55% para as linhagens HCT116 e PC3, respectivamente. Por sua vez o derivado LDT460 não apresentou atividade (Figura 28).



**Figura 28:** Média do percentual de inibição da viabilidade celular dos compostos, por ensaio de MTT, na concentração única de 50 µg/mL, com desvio padrão, no intervalo de 72 h. Foram realizados em duplicata, cada experimento individual e repetido 3 vezes. Foram analisados segundo a média  $\pm$  desvio padrão da média do percentual de inibição da viabilidade celular, no intervalo de confiança de 95%. O veículo utilizado para o ensaio foi o DMSO (diluyente padrão). As células tumorais com meio não tratado foram o controle negativo do ensaio, bem como a linhagem não tumoral L929, que permitiu posteriormente a determinação do índice de seletividade. Leitura em espectrofotômetro de placa a 595 nm. Destaque para os derivados LDT11, LDT13, LDT197, LDT459, LDT461, LDT462, LDT464 e LDT465 com inibição de 75% em pelo menos duas linhagens.

Os compostos foram submetidos a segunda triagem em concentração de 25 µg/mL em que cinco dos oito compostos com melhor perfil a 50 µg/mL apresentaram atividade citotóxica maior que 75%, em pelo menos duas de três linhagens testadas: LDT11, LDT197, LDT459, LDT464 e LDT465 (Figura 29).



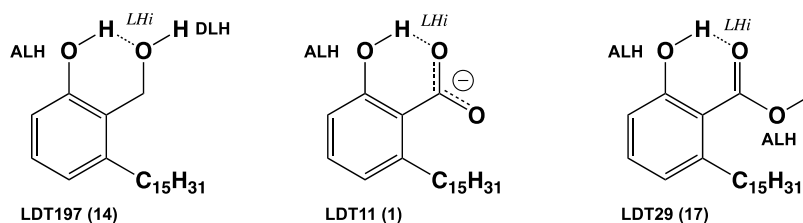
**Figura 29:** Média do percentual de inibição da viabilidade celular para as linhagens de HCT116, SF295, PC3 na concentração única de 25 ug/mL, com desvio padrão, no intervalo de 72 h. Foram realizados em duplicata, cada experimento individual e repetido 3 vezes. Foram analisados segundo a média  $\pm$  desvio padrão da média do percentual de inibição da viabilidade celular, no intervalo de confiança de 95%. O veículo utilizado para o ensaio foi o DMSO (diluyente padrão). As células tumorais com meio não tratado foram o controle negativo do ensaio, bem como a linhagem não tumoral L929, que permitiu posteriormente a determinação do índice de seletividade. Leitura em espectrofotômetro de placa a 595 nm.

### 6.3.2 Relações Estrutura-Atividade a Partir da Triagem a 25 $\mu$ g/mL

O estabelecimento de relações estrutura-atividade visa compreender a relevância de grupos funcionais no perfil de atividade dos compostos admitindo que moléculas com subunidades idênticas sejam reconhecidas da mesma forma pelo alvo de interação. Uma vez que os ensaios foram realizados em pH mimetizando a biofase (7,4) os ácidos carboxílicos serão apreciados como carboxilatos enquanto que ésteres, álcoois e ácidos hidroxâmicos na sua forma neutra. Adicionalmente, os grupos DLH e ALH que interajam intramolecularmente serão analisados como em ligação de hidrogênio intramolecular (LHi).

Os derivados LDT197 (**14**), LDT11 (**1**) e LDT29 (**17**) – precursores das séries 1 a 3 –, **14** e **1** apresentaram percentual de inibição do crescimento celular acima de 99,9 %; enquanto o valor máximo para **17** foi de 30%. Admitindo que estes formem LHi, os resultados apontam para a relevância da presença de grupos doadores de

ligação de hidrogênio (DLH) ou aniônicos respectivamente observados em **14** e **1** e inexistentes em **17** (Figura 30).



**Figura 30:** Possíveis interações intramoleculares nos derivados **1**, **14** e **17**.

Os demais derivados-alvo estão relacionados à alteração no padrão de substituição da hidroxila fenólica nos precursores **1**, **14** e **17** e visam compreender a modulação do perfil de atividade. Vale destacar que a presença de grupos volumosos em aromáticos *orto*-substituídos tende, em função de impedimento estérico, a gerar conformações que minimizem a repulsão entre eles (efeito *orto*), as quais podem impactar na influência de efeitos eletrônicos mesoméricos dependente de coplanaridade apropriada.

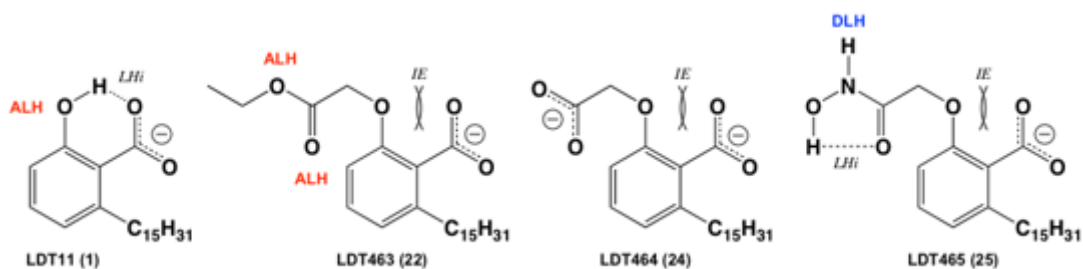
Para os compostos da série 1 – LDT197 (**14**), LDT457 (**15**), LDT458 (**16**) e LDT459 (**23**) apenas **14** e **23** atenderam aos critérios estabelecidos para a triagem e apresentaram percentual inibitório acima de 75% para 3 e 2 linhagens respectivamente; enquanto **15** e **16** inibiram o crescimento celular em torno de 30%. Estruturalmente a adição do grupo carbetóximetíleno ao fenol de **14** – gerando o derivado **15** – e sua interconversão ao ácidos **16** e **23** levam à perda do DLH do álcool benzílico (Figura 31).



**Figura 31:** Possíveis interações intramoleculares nos derivados **14**, **15**, **16** e **23**.

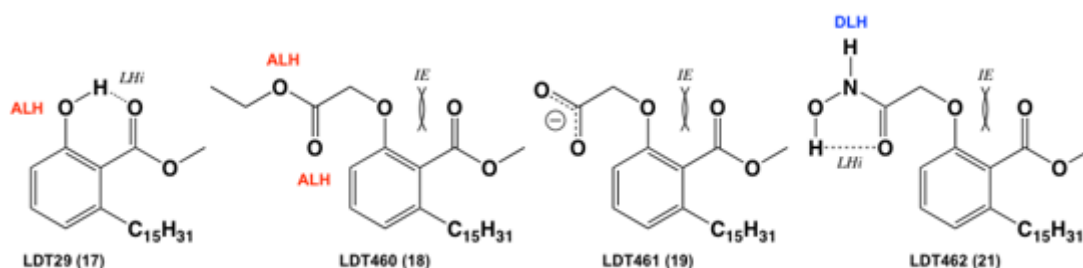
Desta forma **15** apresenta apenas grupos ALH em sua estrutura reproduzindo o perfil do derivado LDT29 (**17**). Por sua vez, o derivado LDT458 (**16**), ainda que conte com grupo carboxilato na subunidade carbóximetileno, não apresentou diferença quando comparado a LDT457 (**15**). A troca bioisotérica de função entre o grupo carboxila de **16** pelo grupo hidroxamato neutro em (**23**) – que apresenta pelo menos um grupo DLH considerando duas LHi – levou ao perfil inibitório significativo frente às linhagens HCT116 e PC3.

Os compostos da série 2 derivados de LDT11 (**1**) – LDT463 (**22**), LDT464 (**24**) e LDT465 (**25**), com exceção do derivado **22**, apresentaram percentual inibitório do crescimento acima de 75% em pelo mesmo 2 linhagens. Os derivados desta série são caracterizados pela presença do grupo carboxila benzoico e variação dos substituintes no oxigênio fenólico semelhante aos compostos da série 1. Diferente de **1** – cujo grupo carboxilato é planar em função da LHi no sistema salicílico – **22**, **24** e **25** apresentam impedimentos estéricos (IE) entre o ânion carboxilato e os O-substituintes gerando diferentes conformações. Os dados apontam para a modulação positiva do perfil de inibição entre os bioisósteros de função. Desta forma, a presença de ALH na subunidade carbóximetileno em **22** é deletéria para o perfil de atividade com percentual máximo em torno de 20%. Por sua vez, a presença do grupo carbóximetileno no diácido **24** permitiu a melhoria do perfil em pelo menos 4 vezes para as linhagens HCT116 e PC3, demonstrando que o dicarboxilato é significativo para a atividade. Já para o derivado LDT465 (**25**), a subunidade hidroxâmica eleva o percentual de inibição acima de 95% para as mesmas linhagens e superior a 60% para SF295. Desta forma, **25** quando comparado a **22** sugere que a presença de pelo menos um grupo DLH na subunidade O-substituída parece mais relevante que grupos ALH (Figura 32).



**Figura 32:** Possíveis interações intramoleculares nos derivados **1**, **22**, **24** e **25**.

Os compostos da série 3 derivados de LDT29 (**17**) – LDT460 (**18**), LDT461 (**19**) e LDT462 (**21**), apresentaram percentual inibitório do crescimento menor que 75% em nas linhagens avaliadas. Os compostos desta série são caracterizados pela substituição no oxigênio fenólico da subunidade tipo salicilato de metila com manutenção do éster metílico (Figura 33)



**Figura 33:** Possíveis interações intramoleculares nos derivados **17**, **18**, **19** e **21**.

O derivado LDT460 (**18**), que apresenta apenas grupos ALH como **17**, apresentou percentual de inibição abaixo de 20% para as linhagens HCT116 e SF295. A presença do grupo carbóximetileno **19** melhorou o perfil em mais de duas vezes para as três linhagens, revelando a contribuição do carboxilato. A troca bioisostérica do carboxilato em **19** pela subunidade hidroxâmica em **21** mantém o perfil de inibição do crescimento celular para as linhagens HCT116 e PC3 enquanto reduz o percentual de inibição sobre a linhagem SF295 semelhante à **18**.

Na segunda etapa da avaliação biológica para os derivados LDT11, LDT197, LDT459, LDT464 e LDT465 – que apresentaram percentual de inibição do crescimento celular por ensaio de MTT em pelo menos 75% de duas de três linhagens cancerígenas na concentração de 25  $\mu\text{g/mL}$  – foram determinados os valores de  $\text{IC}_{50}$ , o índice de seletividade e o potencial hemolítico.

### 6.3.3 Determinação do $\text{IC}_{50}$

Para a determinação do  $\text{IC}_{50}$  dos compostos selecionados foram utilizadas seis linhagens tumorais e uma não tumoral (L929) (Tabela 7). Os compostos foram diluídos em DMSO estéril na concentração estoque de 10  $\text{mg/mL}$  e avaliados em curva de diluição seriada, fator 2, na concentração de 50  $\mu\text{g/mL}$ . As linhagens foram cedidas pelo Instituto Nacional do Câncer (EUA), tendo sido cultivadas em meio

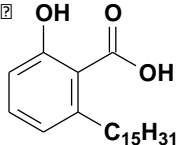
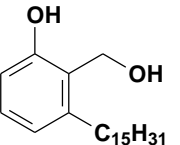
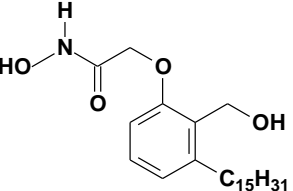
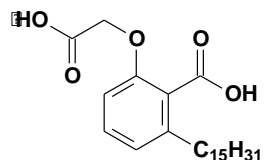
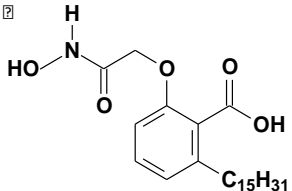
RPMI 1640, suplementados com 10% de soro fetal bovino e 1% de antibióticos, mantidas em estufa a 37°C e atmosfera contendo 5% de CO<sub>2</sub>.

**Tabela 9:** Linhagens celulares, descrição e densidade de plaqueamento.

<b>Linhagem celular</b>	<b>Descrição</b>	<b>Densidade de Plaqueamento</b>
HCT116	Carcinoma de cólon	0,7 x 10 <sup>5</sup> cells/mL
HL60	Leucemia aguda promielocítica	0,3 x 10 <sup>6</sup> cells/mL
PC3	Adenocarcinoma de próstata	0,1 x 10 <sup>6</sup> cells/mL
SF295	Glioblastoma	0,1 x 10 <sup>6</sup> cells/mL
SW620	Adenocarcinoma de cólon	0,1 x 10 <sup>6</sup> cells/mL
K562	Leucemia Mielóide Crônica	0,3 x 10 <sup>6</sup> cells/mL
L929	Fibroblasto murinho não cancerígeno	0,1 x 10 <sup>6</sup> cells/mL

Os valores de IC<sub>50</sub> dos derivados LDT11, LDT197, LDT459, LDT464 e LDT465 frente às linhagens celulares HCT116, HL60, PC3, SF295, SW620, K562 e L929 estão descritos na Tabela 10.

**Tabela 10:** Valores de IC<sub>50</sub> para os derivados frente a sete diferentes linhagens celulares

Compostos	IC <sub>50</sub> μM (intervalo)						
	HCT116	HL60	PC3	SW620	K562	SF295	L929
 LDT11	13,46 (11,68-14,78)	6,26 (5,11-7,66)	10,24 (7,89-13,31)	ND	11,82 (10,56-11,23)	14,63 (13,83-15,49)	32,57 (27,80-38,16)
 LDT197	23,17 (19,94-26,93)	13,75 (11,39-16,56)	5,95 (4,57-7,77)	12,94 (12,17-3,78)	14,35 (13,33-15,48)	17,46 (14,95-20,36)	29,86 (26,96-33,06)
 LDT459	47,55 (42,08-53,73)	14,89 (13,40-16,54)	34,10 (28,80-40,38)	ND	53,24 (47,13-60,13)	ND	ND
 LDT464	35,44 (31,66-39,65)	14,34 (13,04-15,77)	14,39 (12,54-16,53)	51,05 (42,82-60,85)	45,23 (38,67-52,93)	ND	54,21 (44,45-66,14)
 LDT465	27,33 (23,03-32,45)	18,50 (16,46-20,80)	33,54 (29,15-38,62)	ND	52,40 (47,99-57,21)	80,72 (71,59-91,02)	ND
SAHA	*	1,27 (1,12-1,43)	*	*	4,44 (3,86-5,11)	*	*

ND = Não Determinado: IC<sub>50</sub> >50 μg/mL (maior concentração testada). \* Avaliação em andamento



#### 6.3.4 Relações Estrutura-Atividade a Partir dos Dados de $IC_{50}$

O derivado LDT11 (**1**) apresentou valores de  $IC_{50}$  na faixa de 6,26  $\mu$ M a 14,63  $\mu$ M para cinco das seis linhagens tumorais avaliadas. A redução da subunidade carboxila de **1** forneceu o álcool benzílico LDT197 (**14**) que exibiu valores de  $IC_{50}$  na faixa de 5,95  $\mu$ M a 23,17  $\mu$ M para todas as linhagens tumorais. A comparação entre os perfis de atividade dos derivados LDT11 (**1**) e LDT197 (**14**) revela que **1** é cerca de 2 vezes mais potente que **14** para as linhagens HCT116 e HL60 e equipotente para K562 e SF295. Por sua vez, **14** apresentou melhor atividade para PC3 entre todos os compostos ( $IC_{50}$  5,95  $\mu$ M), sendo **2** cerca de duas vezes mais potente que **1**, bem como foi ativo para a linhagem SW620 não determinada para o derivado LDT11 (**1**).

A adição da subunidade hidróxicarbamoilmetileno ao fenol de **14** levou ao derivado LDT459 (**23**). Em relação a **14**, o derivado **23** mantém o perfil referente à linhagem HL60; entretanto é pelo menos 2 vezes menos potente que seu precursor para as linhagens em que foi ativo: HCT116, PC3 e K562. Por sua vez, o perfil de atividade para o derivado LD465 (**25**) pode ser comparado aos análogos **23** e **1**. Com relação a **23**, a substituição do álcool benzílico pelo ácido benzoico em **25** exibiu melhora do perfil para a linhagem HCT116 e manteve o mesmo percentual de inibição para as linhagens HL60, PC3 e K562. Adicionalmente, **25** foi ativo para a linhagem SF295 ( $IC_{50}$  80,72  $\mu$ M), não determinada para LDT459 (**23**). Comparando **25** com o derivado **1**, a presença da subunidade hidróxicarbamoilmetileno leva à diminuição do perfil de atividade em todas as linhagens em que **25** foi ativo. Estes dados indicam que a coplanaridade parece uma característica relevante para o perfil do derivado LDT11 (**1**).

Finalmente, o diácido LDT464 (**24**) apresentou menor potência para as linhagens HCT116, HL60 e K562 bem como similaridade para PC3, quando comparado ao análogo **1**. Já na comparação com o análogo **25**, o composto **24** foi equipotente para as linhagens leucêmicas HL60 e K562; melhor perfil para PC3 e SW620; e menos potente para a linhagem HCT116.

### 6.3.5 Determinação do Índice de Seletividade

O índice de seletividade (IS) de um composto ( $IC_{50}$  da célula não cancerígena)/( $IC_{50}$  da célula cancerígena) expressa a especificidade do composto frente a células cancerígenas em detrimento de células não tumorais (BADISA et. al, 2009). Neste sentido, quanto maior o valor do índice maior a seletividade do composto frente à linhagem tumoral testada. Para análise do índice de seletividade a linhagem não tumoral utilizada foi de fibroblasto murino (L929). Os resultados estão descritos na Tabela 11.

**Tabela 11:** Índice de seletividade ( $IC_{50}$  L929/ $IC_{50}$  de células tumorais).

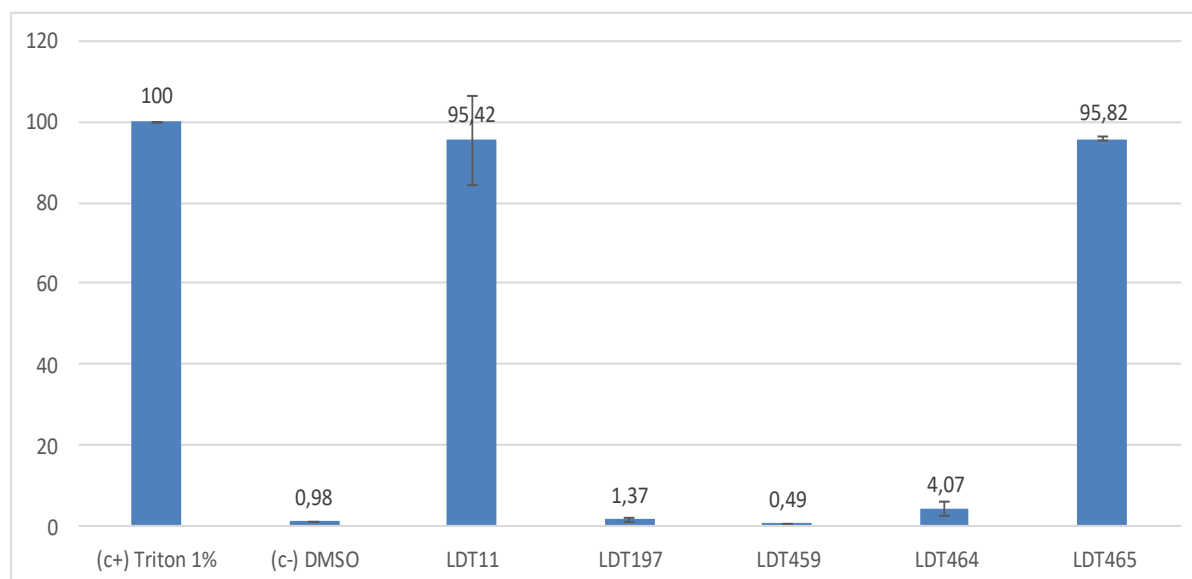
Composto	Índice de seletividade ( $IC_{50}$ L929/ $IC_{50}$ de células tumorais)					
	HCT116	HL60	K562	SW620	PC3	SF295
LDT11 (1)	2,42	5,21	2,75	ND	3,18	2,23
LDT197 (14)	1,29	2,17	2,08	2,31	5,02	1,71
LDT459 (23)	ND	ND	ND	ND	ND	ND
LDT464 (24)	1,53	3,78	1,20	1,06	3,77	ND
LDT465 (25)	ND	ND	ND	ND	ND	ND

Exceto para as linhagens PC3 e SW620 (não determinada) o derivado LDT11 (1) apresentou maior índice de seletividade, com destaque para HL60 (SI 5,21). Por sua vez o álcool LDT197 (14) foi mais seletivo para as linhagens PC3 e SW620. Para os derivados LDT459 e LDT465 não foram definidos os índices.

### 6.3.6 Determinação do Potencial Hemolítico

O teste de hemólise permite avaliar o potencial da substância testada em causar lesões na membrana plasmática, por formação de poros ou ruptura da membrana. Neste teste foi utilizada a concentração de 200 µg/mL para todos os compostos, incluindo o controle positivo Triton a 1% e controle negativo DMSO. Os resultados do teste estão apresentados no gráfico da Figura 34. Dos derivados

testados, o LDT11 (**1**) e LDT465 (**25**) foram hemolíticos, enquanto que os demais compostos praticamente não provocaram hemólise celular (Figura 34).



**Figura 34:** Percentual de hemólise determinado, com desvio padrão, a partir de eritrócitos remanescentes de coleta de sangue para isolamento. Compostos-testes adicionados na concentração de 200  $\mu\text{g}/\text{mL}$ . O controle positivo deste ensaio foi o Triton X 1% e para controle negativo foi utilizado o DMSO (também utilizado como veículo), nas concentrações de 200  $\mu\text{g}/\text{mL}$ . Ensaio realizado em duplicata, cada experimento individual e repetido 3 vezes. Leitura em espectrofotômetro, por leitor de Elisa, na absorvância de 540 nm, para quantificação de hemoglobina liberada.

### 6.3.7 Análise Estatística

Os experimentos de concentração única foram analisados segundo a média  $\pm$  desvio padrão do percentual de inibição da viabilidade celular. Para a determinação da  $\text{IC}_{50}$  (concentração capaz de inibir 50% da viabilidade celular), as absorvâncias das amostras foram analisadas utilizando o logaritmo das concentrações testadas por regressão não-linear. Esta análise permitiu a determinação dos valores de  $\text{IC}_{50}$  no intervalo de confiança de 95% (margem de segurança que os valores de  $\text{IC}_{50}$  podem estar).

Duas repetições individuais para cada um dos compostos foram realizadas, no mínimo, em duplicata e repetido 3 vezes em todas as linhagens previamente indicadas. Os ensaios biológicos foram realizados pela equipe da Prof<sup>a</sup> Cláudia Ó Pessoa, do Laboratório de Oncologia Experimental da Universidade Federal do Ceará, analisados utilizando-se do programa GraphPad Prism 5.0.

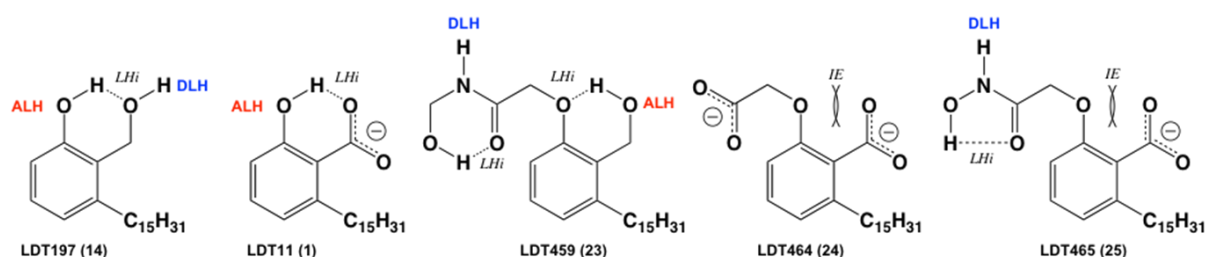
## ***Conclusões e Perspectivas***

---

## 7. CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS

As metodologias sintéticas mostraram-se eficazes para obtenção dos derivados a partir do ácido anacárdico saturado (LDT11, **1**) com obtenção de treze compostos em rendimentos variaram de 40% a 90%. Adicionalmente o fármaco SAHA foi obtido em rendimento de 20% para ser utilizado como controle. As metodologias empregadas – desenvolvidas no laboratório e adaptadas da literatura – compreenderam reações clássicas de interconversão de grupos funcionais, como O-alkilação, O-acilação, redução com hidretos metálicos e atmosfera de hidrogênio sob catálise, oxidação, condensação e aminólise, sob condições experimentais à temperatura ambiente, refluxo e radiação micro-ondas. A caracterização estrutural dos intermediários e compostos-alvos foi realizada por análise de espectros na região do IV, de RMN de  $^1\text{H}$ , de RMN de  $^{13}\text{C}$  e espectrometria de massas para o SAHA.

Os derivados-alvo foram avaliados *in vitro* quanto ao percentual inibitório médio da citotoxicidade de linhagens celulares tumorais HCT116 (carcinoma colorretal), PC3 (carcinoma de próstata) e SF295 (glioblastoma) por ensaio de MTT em duas triagens a 50  $\mu\text{g/mL}$  e a 25  $\mu\text{g/mL}$ . Para os compostos que apresentaram inibição superior ou igual a 75% para duas das três linhagens tumorais avaliados a 25  $\mu\text{g/mL}$  foram determinadas as concentrações inibitórias ( $\text{IC}_{50}$ ). Para cinco derivados-alvo – LDT11 (**1**), LDT197 (**14**), LDT459 (**23**), LDT 464 (**24**), LDT465 (**25**) – foram determinados os valores de  $\text{IC}_{50}$  para as linhagens HCT116 (carcinoma de cólon), HL60 (leucemia aguda promielocítica), PC3 (adenocarcinoma de próstata), SF295 (glioblastoma), SW620 (adenocarcinoma de cólon) e K562 (leucemia mieloide crônica).



**Figura 35:** Cinco derivados que satisfizeram percentual inibitório e determinados valores de  $\text{IC}_{50}$ .

Neste sentido, LDT11 (**1**) apresentou melhores valores de  $\text{IC}_{50}$  frente a quatro das seis linhagens testadas: HCT116 ( $\text{IC}_{50}$  13,46  $\mu\text{M}$ ), HL60 ( $\text{IC}_{50}$  6,26  $\mu\text{M}$ ) K562 ( $\text{IC}_{50}$  11,82  $\mu\text{M}$ ) e SF296 ( $\text{IC}_{50}$  14,63  $\mu\text{M}$ ); enquanto o álcool LDT197 (**14**) para as linhagens PC3 ( $\text{IC}_{50}$  5,95  $\mu\text{M}$ ) e SW620 ( $\text{IC}_{50}$  12,94  $\mu\text{M}$ ). Os demais derivados LDT459 (**23**),

LDT464 (**24**) e LDT465 (**25**) apresentaram valores de IC<sub>50</sub> menores ou similares aos respectivos precursores LDT11 (**1**) e LDT197 (**14**) (Tabela 10, Pág. 86).

Os estudos sobre relações estrutura-atividade apontam para a relevância de grupos doadores de ligação de hidrogênio (DLH) ou aniônicos na subunidade benzílica/benzoica para o grupo fenólico livre. Considerando as séries 1 a 3 – comparadas aos compostos precursores LDT197 (**14**), LDT11 (**1**) e LDT29 (**17**) – a substituição no fenol pela subunidade carbetóximetileno altera drasticamente o perfil de atividade para as séries 1 [LDT457 (**15**)] e 2 [LDT463 (**22**)]. Por sua vez o substituinte carbóximetileno impacta de forma positiva nas séries 2 [LDT464 (**24**)] e 3 [LDT461 (**19**)] para as três linhagens utilizadas na triagem em comparação com a subunidade carbetóximetileno. Por fim, o grupo hidróxicarbamoilmetileno proporcionou melhor recuperação do perfil de atividade para as 3 séries – LDT459 (**23**), LDT462 (**21**) e LDT465 (**25**) – e mais relevante para as linhagens HCT116 e PC3.

### *Perspectivas*

O ensaio de citotoxicidade não permite elucidar por qual mecanismo de ação (MoA) os compostos-alvo atuam sobre as linhagens celulares avaliadas. Neste sentido estudos complementares referentes à proliferação, ao ciclo celular, à migração, à apoptose bem como a alterações na produção de ROS e NO são relevantes para compreensão do MoA.

Uma vez que LDT11 (**1**) é inibidor da histona acetiltransferase p300 avaliação biológica *in vitro* dos compostos-alvo frente à enzima p300 é uma das perspectivas deste trabalho a ser realizada pelo grupo do Prof. Masoud Vedadi do Structural Genomics Consortium (SGC) da Universidade de Toronto.

Considerando ainda que derivados do ácido anacárdico saturado apresentaram perfil agonista parcial para receptores ativados por proliferadores peroxissomais (PPAR) do tipo alfa e gama, os novos derivados-alvo serão avaliados quanto ao perfil para esta classe de receptores nucleares a ser realizada pelo grupo da Profa. Carolyn Cummins da Faculdade de Farmácia Leslie Dan da Universidade de Toronto.

Estes resultados permitirão identificar o perfil farmacológicos dos derivados-alvo com o qual pretendemos identificar as possíveis vias de sinalização moduladas por estes compostos planejados a partir do ácido anacárdico.

## ***Referências Bibliográficas***

---

## 8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALVES, Priscilla Souza. **Síntese e avaliação biológica de novos agentes anti-inflamatórios planejados a partir do ácido anacárdico**. 212 f. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde, Universidade de Brasília, Brasília, 2015.

ARROWSMITH, C. H. Epigenetic protein families: a new frontier for drug discovery. **Nature Reviews Drug Discovery**. 2012, v. 11, p.384-400.

BALASUBRAMAYAN, K.; SWAMINATHAN, V.; RANGANATHAN, A. Small molecule modulators of histone acetyltransferase p300. **Journal of Biological Chemistry**, 2003, v.1, p.19134-19140.

BEGUM, P.; HASHIDOKO, Y.; ISLAM, Md. T. Zoosporicidal Activities of Anacardic Acids against *Aphanomyces cochlioides*. **Verlag Der Zeitschrift Für Naturforschung**. 2002, v. 1, p.874-872.

BENEDETTI, R.; CONTE, M.; ALTUCCI, L. Targeting Histone Deacetylases in Diseases: Where Are We? **Antioxidants & Redox Signaling**. 2015 v. 23, p.99-126.

CALLE, E. E.; KAAKS, R. Overweight, obesity and cancer: epidemiological evidence and proposed mechanisms. **Nature Review Cancer**. 2004, v. 8, p.579-591.

CERBO, V. di; SCHNEIDER, R. Cancers with wrong HATs: the impact of acetylation. **Briefings In Functional Genomics**. 2013, v. 12, p.231-243.

CHALHOUB, N.; BAKER, S. J. PTEN and the PI3-Kinase Pathway in Cancer. **Annual Review of Pathology Mechanisms of Disease**. 2009, v. 4, p.127-150.

CORREIA, Vinícius Soares da Paixão. **Síntese e Avaliação de Eficácia de Dibenzoilmetanonas, planejadas como absorvedores da radiação ultravioleta**. 2013. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade de Brasília, Brasília, 2013.

DANCY, B. M.; COLE, P. A. Protein Lysine Acetylation by p300/CBP. **Chemical Reviews**. 2015, v. 6, p.2419-2452.



DEVIPRIYA, B; KUMARADHAS, P. Probing the Effect of Intermolecular Interaction and Understanding the Electrostatic Moments of Anacardic Acid in the Active Site of p300 enzyme via DFT and Charge Density Analysis. **Journal of Molecular Graphics and Modelling**. 2011, v. 34, p.57-66.

DOKMANOVIC, M.; CLARKE, C.; MARKS, P. A. Histone Deacetylase Inhibitors: Overview and Perspectives. **Molecular Cancer Research**. 2007, v. 5, p.981-989.

ENYEDI, M. Z.; JACSA, G.; PINTÉR, L.; SÜKÖSD, F.; GYURIS, Z.; HADJU, A.; HATÁRVÖIGYI, E.; PRISKIN, K.; HARACSKA, L. Simultaneous detection of BRCA mutations and large genomic rearrangements in germline DNA and FFPE tumor samples. **Oncotarget**. 2016, v. 7, p.61845-61859.

FALORNI, M.; PORCHEDDU, A.; TADDEI, M.. Mild Reduction of Carboxylic Acids to Alcohols Using Cyanuric Chloride and Sodium Borohydride. **Tetrahedron Letters**. 1999, v. 1, p.4395-4396.

FERNANDES, Viviane Côrrea de Almeida. **Síntese e Avaliação Farmacológica de candidatos inibidores da enzima acetilcolinesterase planejados a partir do ácido anacárdico**. 2014. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade de Brasília, Brasília, 2014.

FERREIRA, Thais de Araujo Marques. **Síntese e avaliação farmacológica de novos ligantes PPAR Planejados a partir do cardanol**. 170 f. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade de Brasília, Brasília, 2014.

FRAGA, Mario; ESTELLER, Manel. Epigenetics and Aging: the targets and the marks. **Trends in Genetics**, 2007, v.23, p. 412-418.

GEDIYA, L.; CHOPRA, P.; PURUSHOTTAMACHAR, P.; MAHESHWARI, N.; NJAR, V. A New Simple and High-Yield Synthesis of Suberoylanilide Hydroxamic Acid and Its Inhibitory Effect Alone or in Combination with Retinoids on Proliferation of Human Prostate Cancer. **Journal of Medicinal Chemistry**. 2005, v. 48, p.5047-5051.

GODWIN, P; BAIRD, A.M; BARR, M.P; HEAVEY, S; O' BYERNE, KJ; GATELY, K. Targeting Nuclear NF- $\kappa$ B to overcome resistance to chemotherapy. **Frontiers in Oncology**. 2013, v.3, p. 1-10.

GREEN, I. V.; TOCOLI, F. E.; LEE, S. H.; NIHEI, K-I.; KUBO, I. Design and evaluation of anacardic acid derivatives as anticavity agents. **European Journal of Medicinal Chemistry**. 2008, v. 43, p.1315-1320.

HEMSHEKHAR, M.; SANTHOSH, M. S.; KEMPARAJU, K.; GIRISH, K. S. Emerging Roles of Anacardic Acid and Its Derivatives: A Pharmacological Overview. **Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology**. 2011, v. 2, p.122-132.

HOESEL, Bastian; SCHMID, Johannes. The Complexity of NF- $\kappa$ B signaling in inflammation and cancer. **Molecular Cancer**. 2013, v.12, p.1-15.

HSIEH, C.; HERNÁNDEZ-LEDESMA, B.; LUMEN, B. O. de. Cell proliferation inhibitory and apoptosis-inducing properties of anacardic acid and lunasin in human breast cancer MDA-MB-231 cells. **Food Chemistry**. 2011, v. 125, p.630-636.

HUANG, H.; HUA, X.; NINGNING, L.; XIAOFEN, L.; SHOUTING, L.; XIN, C.; ZHAO, C.; LAN, X.; YANG, C.; DOU, Q. P.; LIU, J. Anacardic acid induces cell apoptosis associated with induction of ATF-4 dependent endoplasmatic reticulum stress. **Toxicology Letters**. 2014, v.1, p. 170-178.

INSTITUTO NACIONAL DO CÂNCER (INCA/MS). **Estimativa 2016**, 2016.

INTERNATIONAL AGENCY FOR RESEARCH ON CANCER. **Globocan 2012: Estimated Cancer Incidence, Mortality and Prevalence Worldwide in 2012**, 2016.

JOHNSTONE, R. W. Histone-deacetylase inhibitors: novel drugs for the treatment of cancer. **Nature Reviews Drug Discovery**. 2002, v. 1, p.287-299.

KANWAL, R.; GUPTA, S. Epigenetics and cancer. **Journal Of Applied Physiology**. 2010, v. 2, p.598-605.

KARMODIYA, K.; ANAMIKA, K.; MULEY, V.; PRADHAM, S. J.; BHIDE, Y.; GALANDE, S. Camello, a novel family of Histone Acetyltransferases that acetylate histone H4 and is essential for zebrafish development. **Scientific Reports**. 2014, v. 4, p.1-9.

KAUSHIK, D.; VASHISTHA, V., ISHARWAL, S., SEDIQE, S. A.; LIN, M. F. et al. Histone deacetylase inhibitors in castration-resistant prostate cancer: molecular mechanism of action and recent clinical trials. **Therapeutic Advances In Urology**. 2015, v. 7, p.388-395.

KIM, G.; GOCEVSKI, G.; WU, C.J.; YANG, X. Y. Dietary, Metabolic, and Potentially Environmental Modulation of the Lysine Acetylation Machinery. **International Journal Of Cell Biology**. 2010, v. 10, p.1-14.

KUBO, I.; MASUOKA, N.; HA, T. J.; TSUJIMOTO, K. et al. Antioxidant activity of anacardic acids. **Food Chemistry**. 2006, v. 3, p.555-562.

LEMES, Laís Flávia. **Síntese e Avaliação de Novos Agentes Inibidores de Acetilcolinesterase Planejados a Partir do Cardanol, Candidatos ao Tratamento da Doença de Alzheimer**. 2013, 225 f. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde, Universidade de Brasília, Brasília, 2013.

LI, G. B.; HUANG, L-Y.; LI, H.; JI, S.; LI, L-L.; YANG, S-Y. Identification of new p300 histone acetyltransferase inhibitors from natural products by a customized virtual screening method. **RSC Advances**. 2016, v. 6, p.61137-61140.

LI, H. P.; LEU, Y. W.; CHANG, Y. S. Epigenetic changes in virus-associated human cancers. **Cell Research**. 2005, v. 15, p.262-271.

MANALLACK, D. T. The pKa Distribution of Drugs: Application to Drug Discovery. **Perspectives In Medicinal Chemistry**. 2007, v.1 p.25-38.

MASSARO, A.; MORDINI, A.; REGINATO, G.; RUSSO, F.; TADDEI, M. Microwave-assisted transformation of esters into hydroxamic acids. **Synthesis**. 2007, v. 2, p.3201-3204.

MAZZETTO, S. E.; LOMONACO, D. Óleo da castanha de caju: oportunidades e desafios no contexto do desenvolvimento e sustentabilidade industrial. **Química Nova**. 2009, v. 32, p.732-741.

MCLAUGHLIN-DRUBIN, M. E.; MUNGER, K. Viruses associated with human cancer. **Biochimica Et Biophysica Acta (bba) - Molecular Basis Of Disease**. 2008, v. 3, p.127-150.

MENDITI, K. B. C.; KANG, H. C. O papel das proteínas histonas nas neoplasias hematológicas. **Revista Brasileira de Cancerologia**. 2007, v.4, p 453-460.

MICHAEL, D.; TOLLEFSBOL, T. Epigenetic linkage of aging, cancer and nutrition. **Journal of Experimental Biology**. 2015, v.1, p. 59-70.

MIRANDA, Camila de Oliveira. **Síntese e Avaliação *in vitro* de Novas N-Aciletanolaminas Planejados a Partir do Cardanol**. 2016. 94 f. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade de Brasília, Brasília, 2016.

MONTANARI, C. A.; BOLZANI, V.. Planejamento Racional de Fármacos baseado em produtos naturais. **Química Nova**. 2010, v. 24, p.105-11.

NASCENTE, L. C. de. Síntese de Novo Derivado Beta-Fenoxietilamínico, Candidato a Antagonista Alfa-Adrenérgico, Congresso de Iniciação Científica da Universidade Católica de Brasília, Brasília, 2004

O'CONNOR, M. J. Targeting the DNA Damage Response in Cancer. **Molecular Cell**. 2015, v. 4, p.547-560.

OLIVEIRA, Andressa Souza. **Síntese e Avaliação do Perfil Citotóxico de Novas Chalconas Planejadas a Partir do Cardanol**. 2016, 179 f. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade de Brasília, Brasília, 2016.

OLIVIER, M.; HOLLSTEIN, M.; HAINAUT, P.. TP53 Mutations in Human Cancers: Origins, Consequences, and Clinical Use. **Cold Spring Harbor Perspectives In Biology**. 2010, v. 1, p.1-18.

PRITHIVIRAJ, B.; SINGH, U. P.; RAY, A. B. Antifungal activity of anacardic acid, a naturally occurring derivative of salicylic acid. **Canadian Journal Of Botany**. 1997, v. 75, p.207-211.

QUEIROZ, Fellipe José Gomes. **Síntese e Avaliação de Inibidores de Histona Acetiltransferases Planejados a Partir do Ácido Isoanacárdico**. 2013. 131 f. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade de Brasília, Brasília, 2015.

RAMOS, Giselle de Andrade. **Síntese e Avaliação Farmacológica de Inibidores da Enzima Acetilcolinesterase Planejados a Partir do Cardol**. 2014, 168 f.

Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade de Brasília, 2014.

MIRZAYANS, M.; ANDRAIS, B.; SCOTT, A.; MURAY, D. New Insights into p53 Signaling and Cancer Cell Response to DNA Damage: Implications for Cancer Therapy. **Journal Of Biomedicine And Biotechnology**. 2002, v.1, p.1-16.

RODRÍGUEZ-PAREDES, M.; ESTELLE, M. Cancer epigenetics reaches mainstream oncology. **Nature Medicine**. 2011, v. 17, p.330-339.

ROPERO, S.; ESTELLER, M. The role of histone deacetylases (HDACs) in human cancer. **Molecular Oncology**. 2007, v. 1, p.19-25.

SANTOS, M. L.; MAGALHÃES, G. C. de. Utilisation of Cashew Nut Shell Liquid from *Anacardium occidentale* as Starting Material for Organic Synthesis: A Novel Route to Lasiodiplodin from Cardols. **Journal of Brazilian Chemical Society**. 1999, v.10, p. 13-20.

SCHULTZ, D. J.; OLSEN, C.; COBBS, G. A.; STOLOWICH, N. J.; PARROTT, M. M. Bioactivity of anacardic acid against colorado potato beetle (*Leptinotarsa decemlineata*) Larvae. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. 2006, v.54, p.7522–7529.

SHARMA, S.; KELLY, T. K.; JONES, P. A.. Epigenetics in cancer. **Carcinogenesis**. 2009, v. 31, p.27-36.

SHOBA, S. V.; RAMADOS, C. S.; RAVINDRANATH, B. Inhibition of soybean lipoxygenase-1 by anacardic acids, cardols, and cardanols. **Journal of Natural Products**. 1994, v.57, p.1755–1757.

SPEIDEL, D. The role of DNA damage responses in p53 biology. **Archives of Toxicology**. 2015, v.4, p 501-517.

STASIUK, M., BARTOSIEWICZ, D., KOZUBEK, A., Inhibitory effect of some natural and semisynthetic phenolic lipids upon acetylcholinesterase activity. **Food Chemistry**. 2008, v. 108, p. 996-1001.

STASIUK, M., KOZUBEK, A., Biological activity of phenolic lipids. **Cellular and Molecular Life Sciences**. 2010, v. 67, p. 841-860.

STEPIEN, M.; CHAJES, V.; ROMIEU, I. The role of diet in cancer: the epidemiologic link. **Salud Pública de México**. 2015, v. 58, p.261-273.

STRATTON, M. R.; CAMPBELL, P. J.; FUTREAL, P. A. The cancer genome. **Nature**. 2009, v. 458, p.719-724.

SUDHAKAR, A. History of Cancer, Ancient and Modern Treatment Methods. **Journal Of Cancer Science & Therapy**. 2009, v. 1, p.1-7.

SUKUMARI-RAMESH, S.; SINGH, N.; JENSEN, M. A.; DHADAPANI, K. M.; VENDER, J. R. Anacardic acid induces caspase-independent apoptosis and radiosensitizes pituitary adenoma cells. **Journal Of Neurosurgery**. 2011, v. 114, p.1681-1690.

SULLIVAN, J. T.; RICHARDS, C. S.; LLOYD, H. A.; KRISHNA, G. Anacardic Acid: Molluscicide in Cashew Nut Shell Liquid. **Planta Medica**. 1982, v. 44, p.175-177.

SUN, W. J.; ZHOU, X.; ZHENG, J. H.; LU, M. D.; NIE, J. Y.; YANG, X. J.; ZHENG, Z. Q. Histone acetyltransferases and deacetylases: molecular and clinical implications to gastrointestinal carcinogenesis. **Acta Biochimica et Biophysica Sinica**. 2011, v. 44, p.80-91.

SUNG, B., PANDEY, M. K, AHN, K. S., YI, T., CHATURVEDI, M. M., LIU, M., AGGARWAL, B. B. 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, v.111, p.4880-4891.

TAN, J.; CHEN, B.; HE, L.. Anacardic acid (6-pentadecylsalicylic acid) induces apoptosis of prostate cancer cells through inhibition of androgen receptor and activation of p53 signaling. **Chinese Journal Of Cancer Research**. 2012, v. 24, p.275-283.

THOMAS, J.O; KORNBERG, R.D. Octamer of histones in chromatin and free in solution. **Proceedings of The National Academy of Sciences**. 1975, v.72, p.2626-2630.

WAPENAAR, H.; DEKKER, F J. Histone acetyltransferases: challenges in targeting bi-substrate enzymes. **Clinical Epigenetics**. 2016, v. 8, p.1-11.

WEST, A. C.; JOHNSTONE, R. W. New and emerging HDAC inhibitors for cancer treatment. **Journal Of Clinical Investigation**. 2014, v. 124, p.30-39.

WHITE, M. C. Age and Cancer Risk A Potentially Modifiable Relationship. **American Journal of Preventive Medicine**. 2015, v. 301, p.1-16.

XIA, M; KNEZEVIC, D; VASSILEV, Lt. P21 does not protect cancer cells from apoptosis induced by nongenotoxic p53 activation. **Oncogene**. 2010, v. 30, p.346-355.

XU, K.; YANG, S.; ZHAO, Y. Prognostic significance of BRCA mutations in ovarian cancer: an updated systematic review with meta-analysis. **Oncotarget** 2016, v.2, p.1-18.

YANG, H.; PINELLO, C. E.; LUO, J.; LI, D.; WANG, Y.; ZHAO, L. Y.; JAHN, S. C.; SANDANHA, S. A.; CHASE, P.; PLANCK, J.; GEARY, K. R.; MA, H.; LAW, B. K.; ROUSH, W. R.; HODDER, P.; LIAO, D. Small-Molecule Inhibitors of Acetyltransferase p300 Identified by High-Throughput Screening Are Potent Anticancer Agents. **Molecular Cancer Therapeutics**. 2013, v. 12, p.610-620.

YIANNAKOPOULOU, E. Targeting epigenetic mechanisms and micro RNAs by aspirin and other non-steroidal anti-inflammatory agents implication for cancer treatment and chemoprevention. **Cellular Oncology**. 2014, v.3, p. 167-178.

YOON, N. M.; PAK, C. S.; KRISHNAMURTHY, S. STOCKY, T. P. Selective reductions. XIX. Rapid reaction of carboxylic acids with borane-tetrahydrofuran. Remarkably convenient procedure for the selective conversion of carboxylic acids to the corresponding alcohols in the presence of other functional groups. **The Journal Of Organic Chemistry**. 1973 v. 38, p.2786-2792.

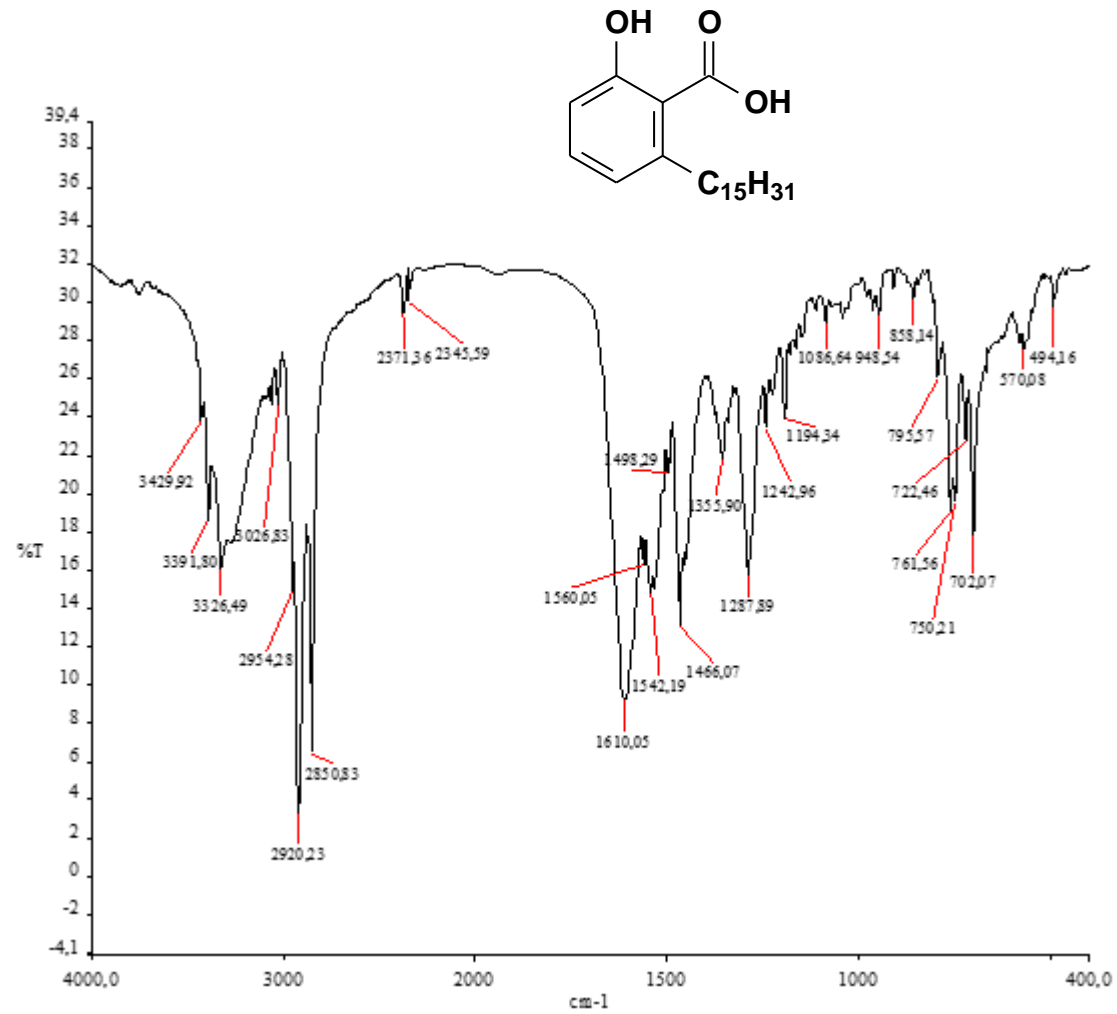
ZHANG, H. PTEN mutation, methylation and expression in breast cancer patients. **Oncology Letters**. 2013, v. 5, p.161-168.

ZHOU, N.; XU, W.; ZHANG, Y. Histone deacetylase inhibitors merged with protein tyrosine kinase inhibitors. **Drug Discoveries & Therapeutics**. 2015, v. 9, p.147-155.

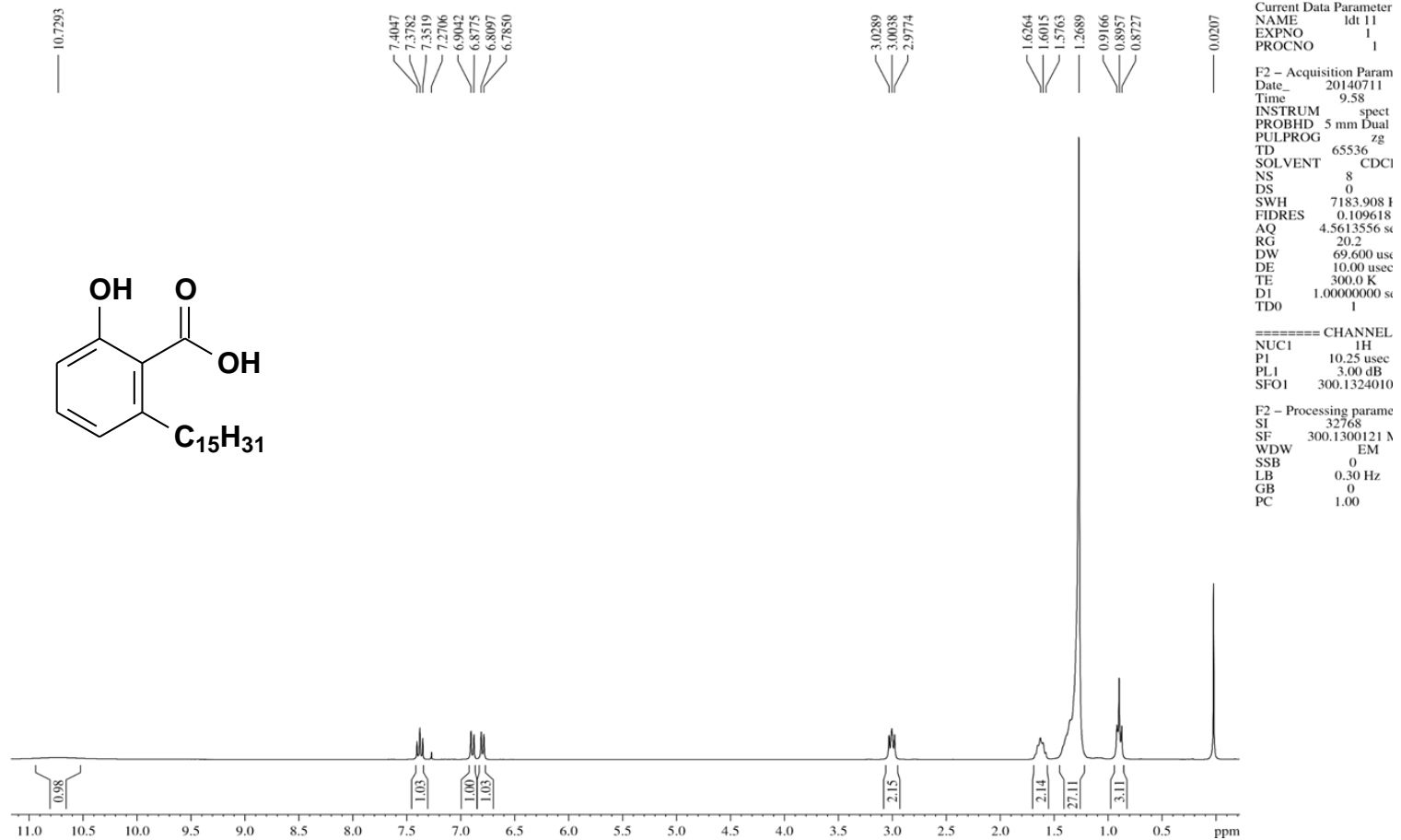
***Anexos***

---

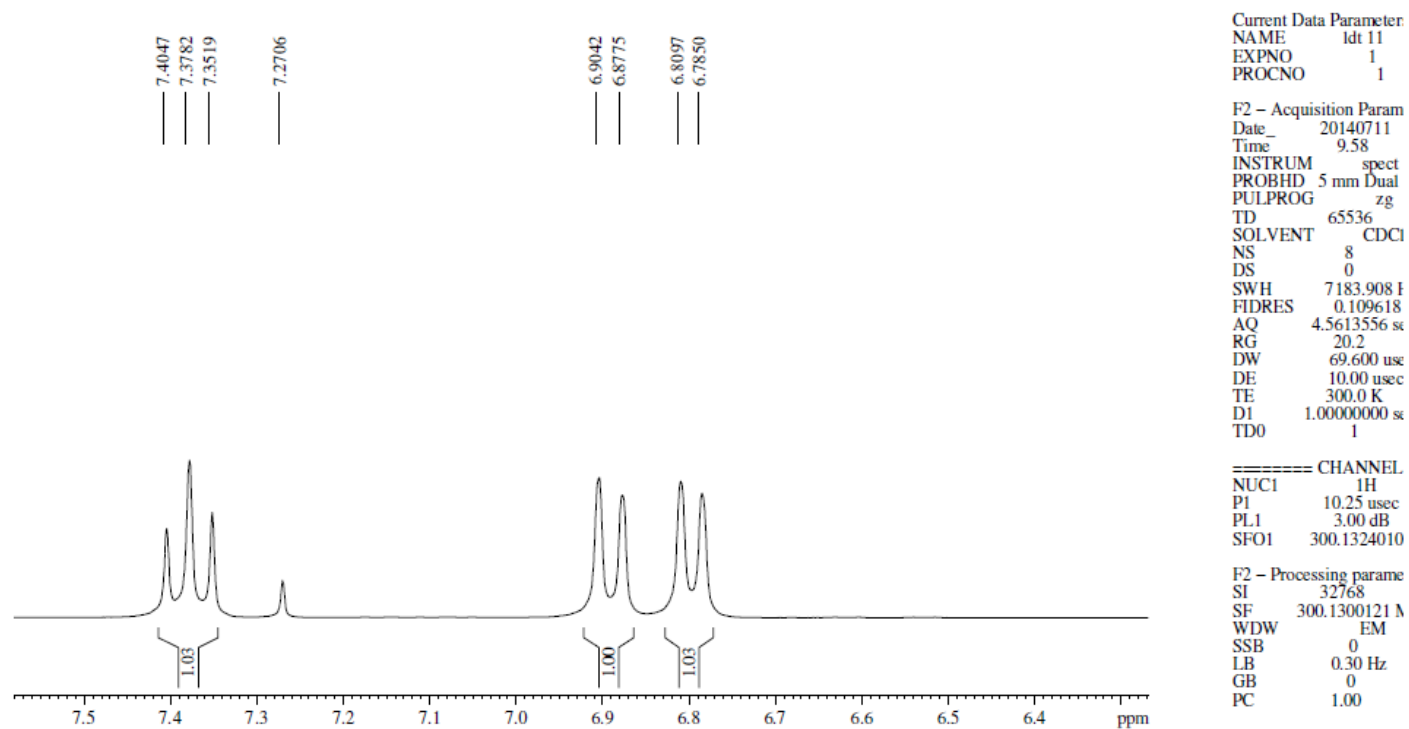


**ANEXO 1 – Espectro na região do infravermelho (cm<sup>-1</sup>, KBr): Ácido 2-Hidróxi-6-pentadecilbenzóico (LDT11,1)**

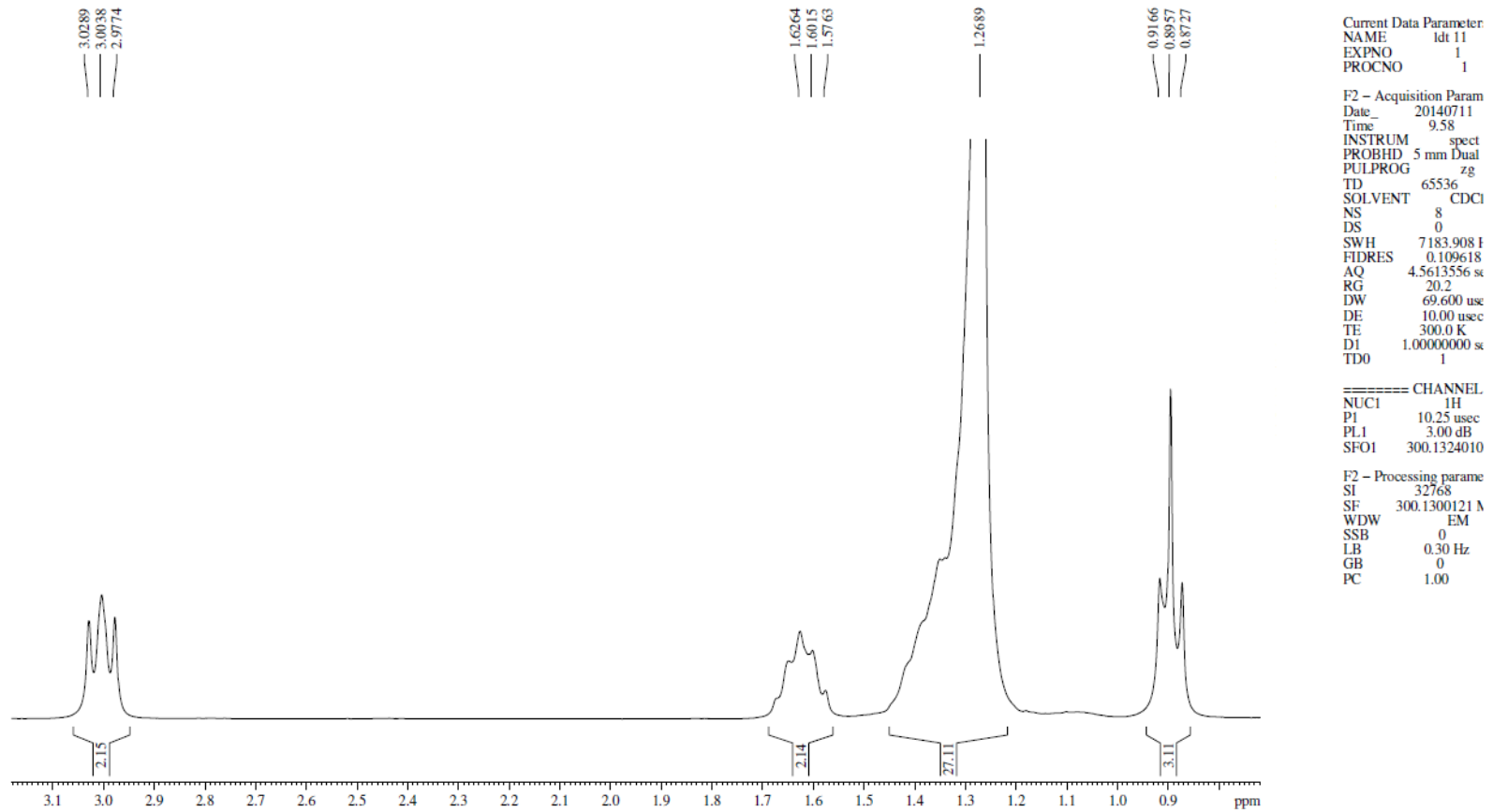
**ANEXO 2 – Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): Ácido 2-Hidróxi-6-pentadecilbenzóico (LDT11, 1)**



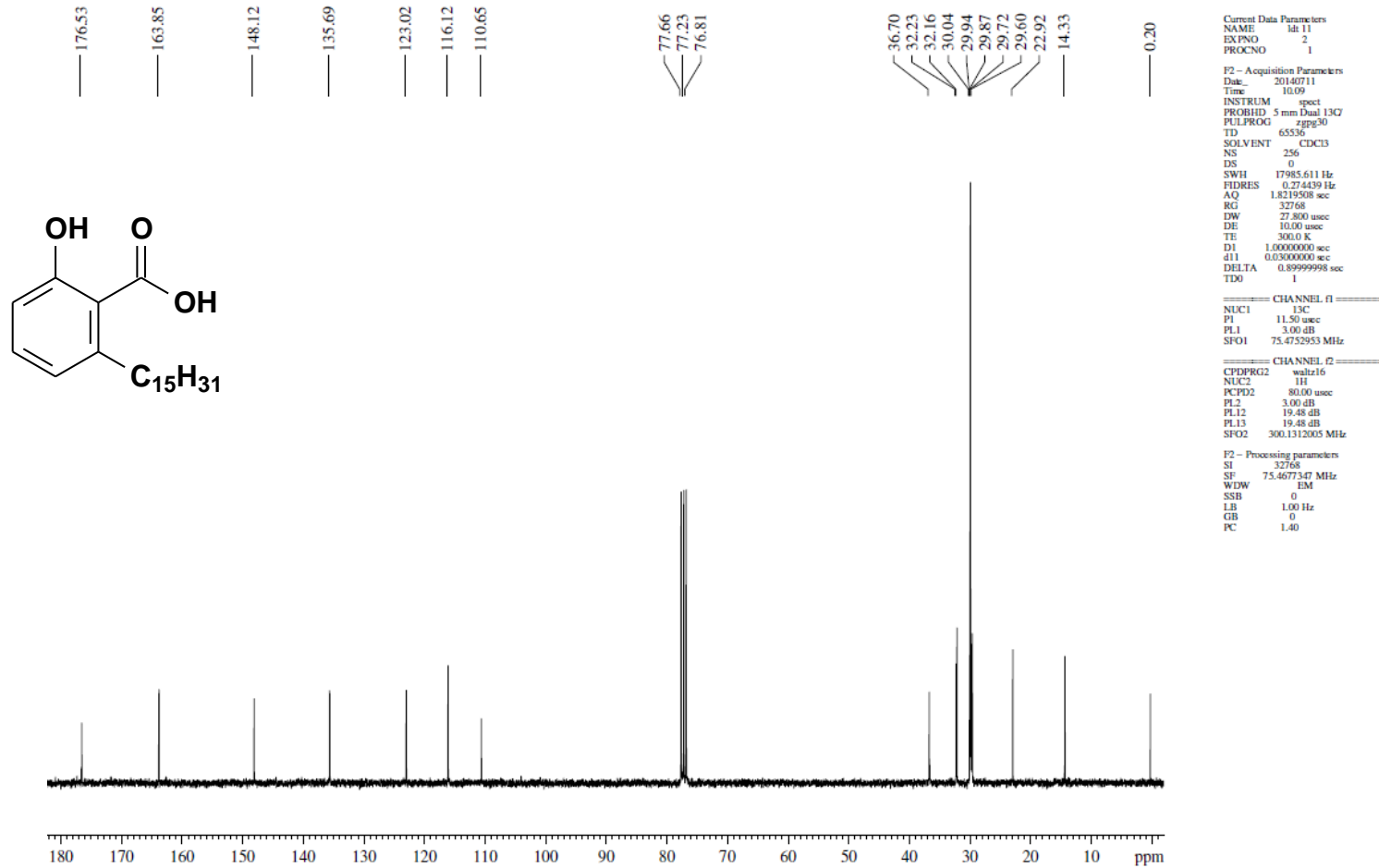
**ANEXO 3 – Expansões do RMN de  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) : Ácido 2-Hidróxi-6-pentadecilbenzóico (LDT11, 1)**

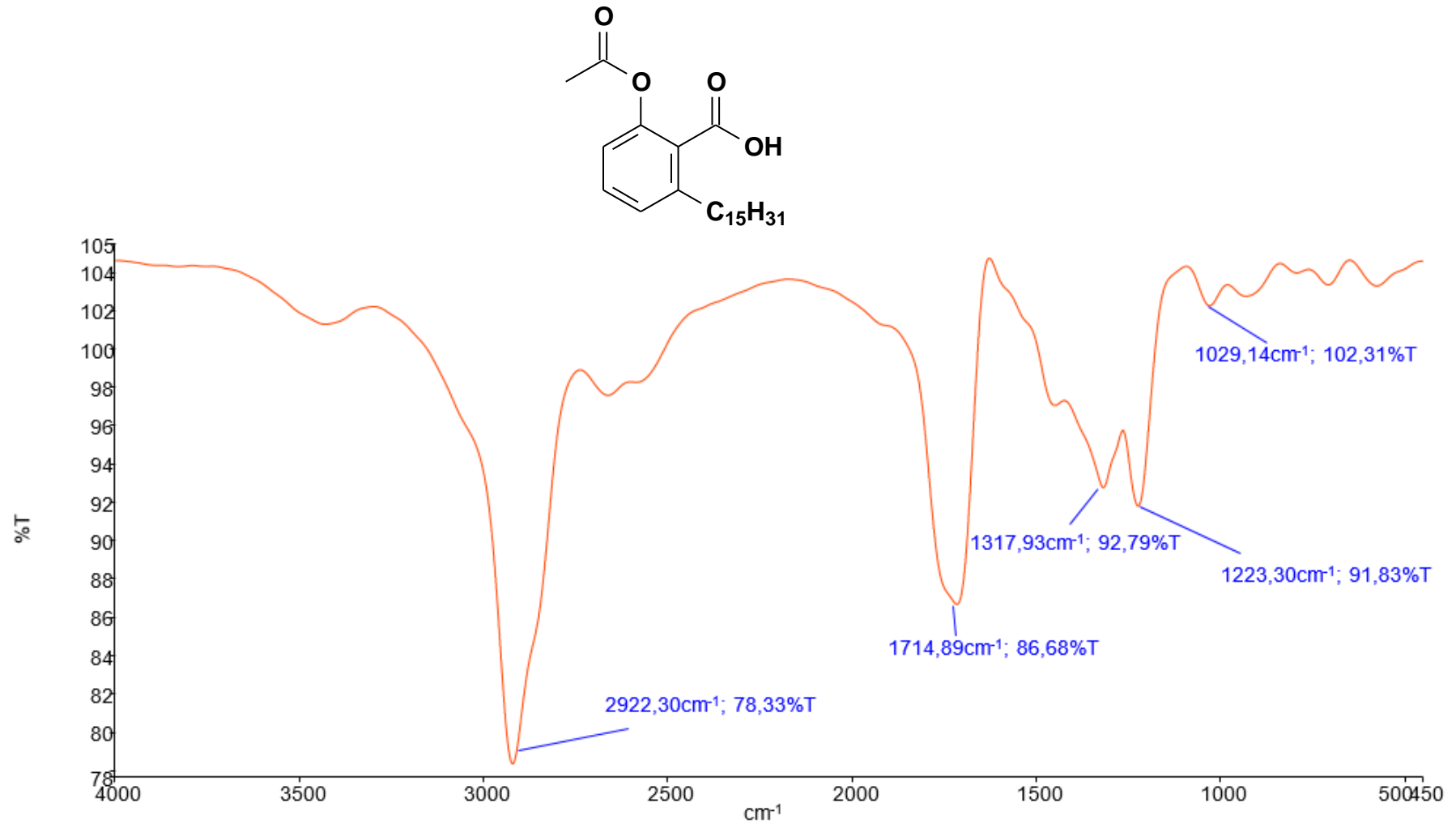


**ANEXO 4 – Expansões do RMN de  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): Ácido 2-Hidróxi-6-pentadecilbenzóico (LDT11,1)**

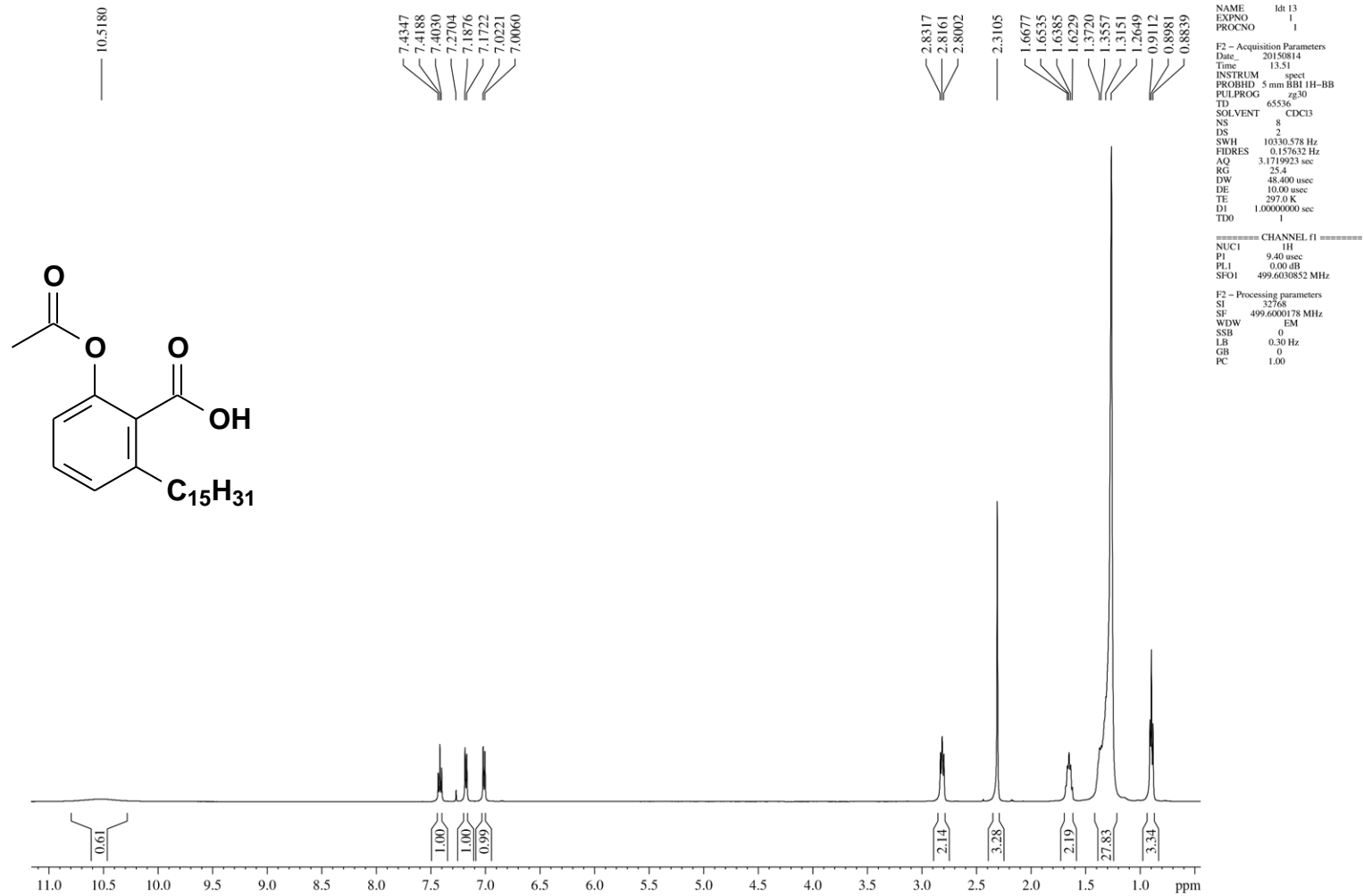


**ANEXO 5 – Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): Ácido 2-Hidróxi-6-pentadecilbenzóico (LDT11, 1)**

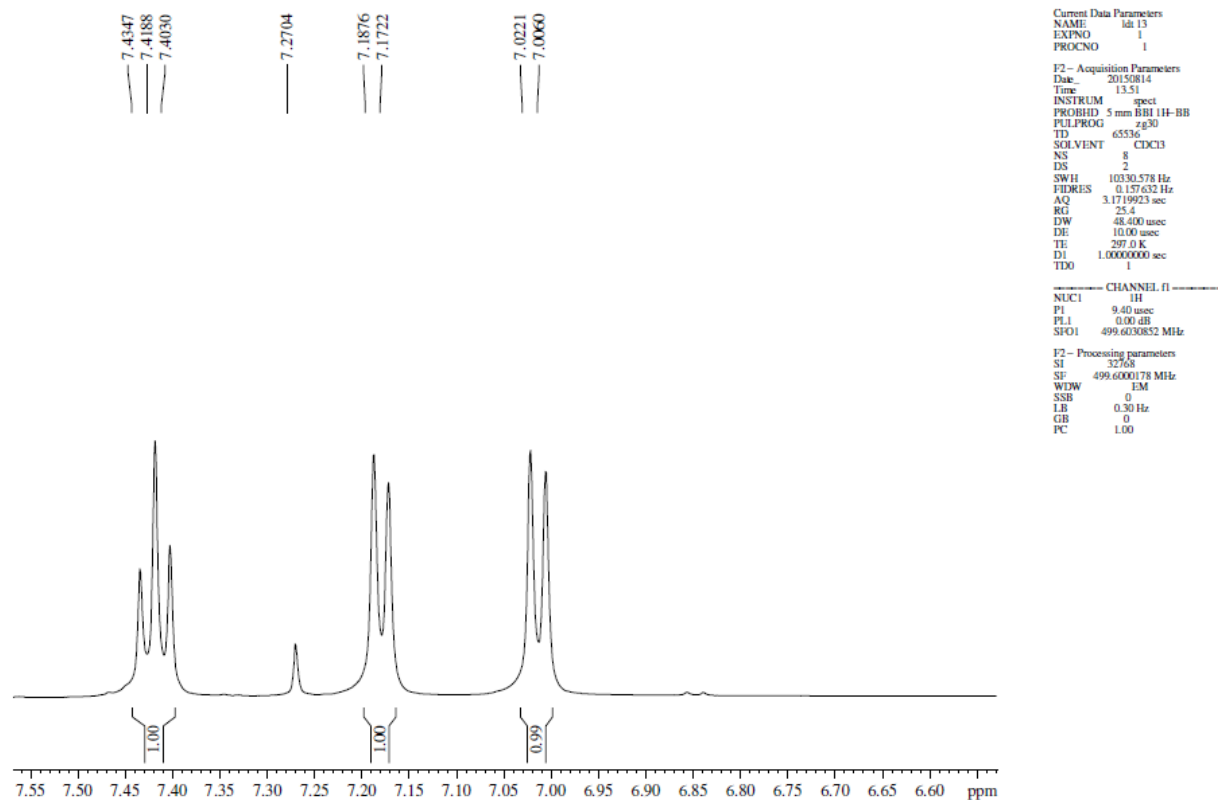


**ANEXO 6** – Espectro na região do infravermelho ( $\text{cm}^{-1}$ , KBr): Ácido 2-Acetóxi-6-pentadecilbenzóico (LDT13, **13**)

**ANEXO 7 – Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): Ácido 2-Acetóxi-6-pentadecilbenzóico (LDT13, 13)**

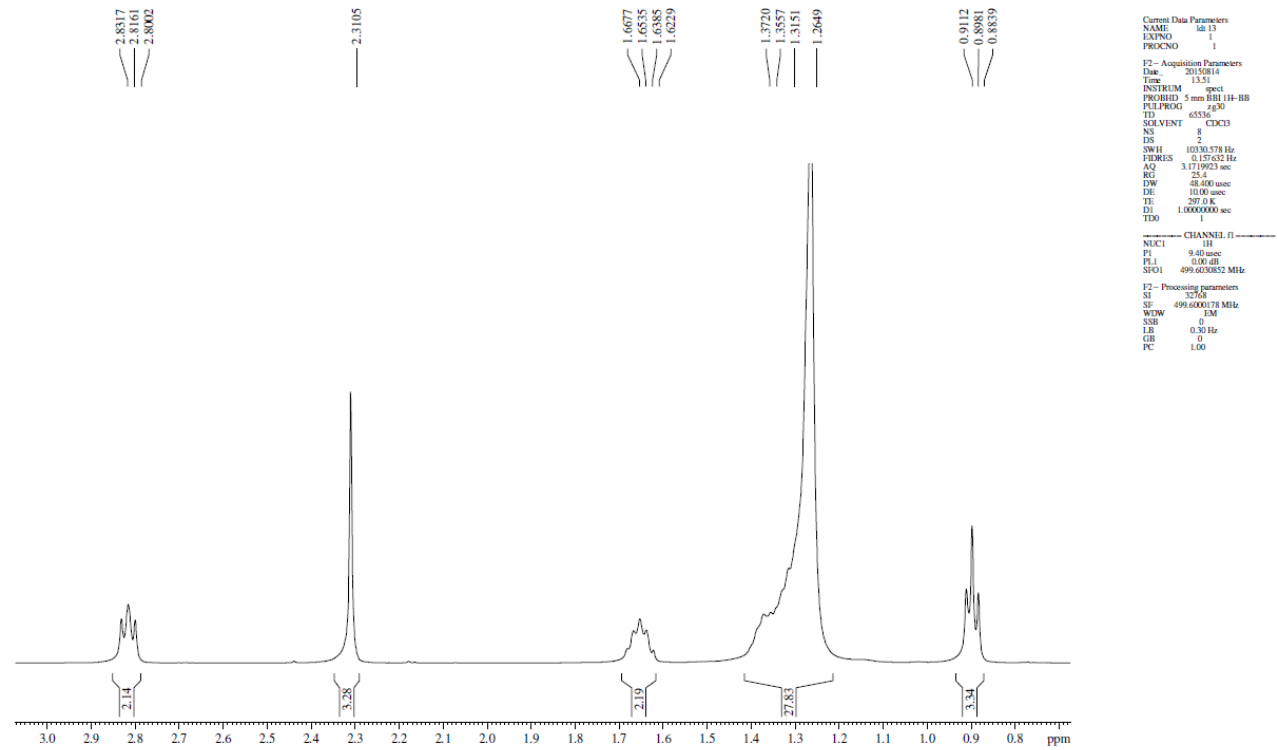


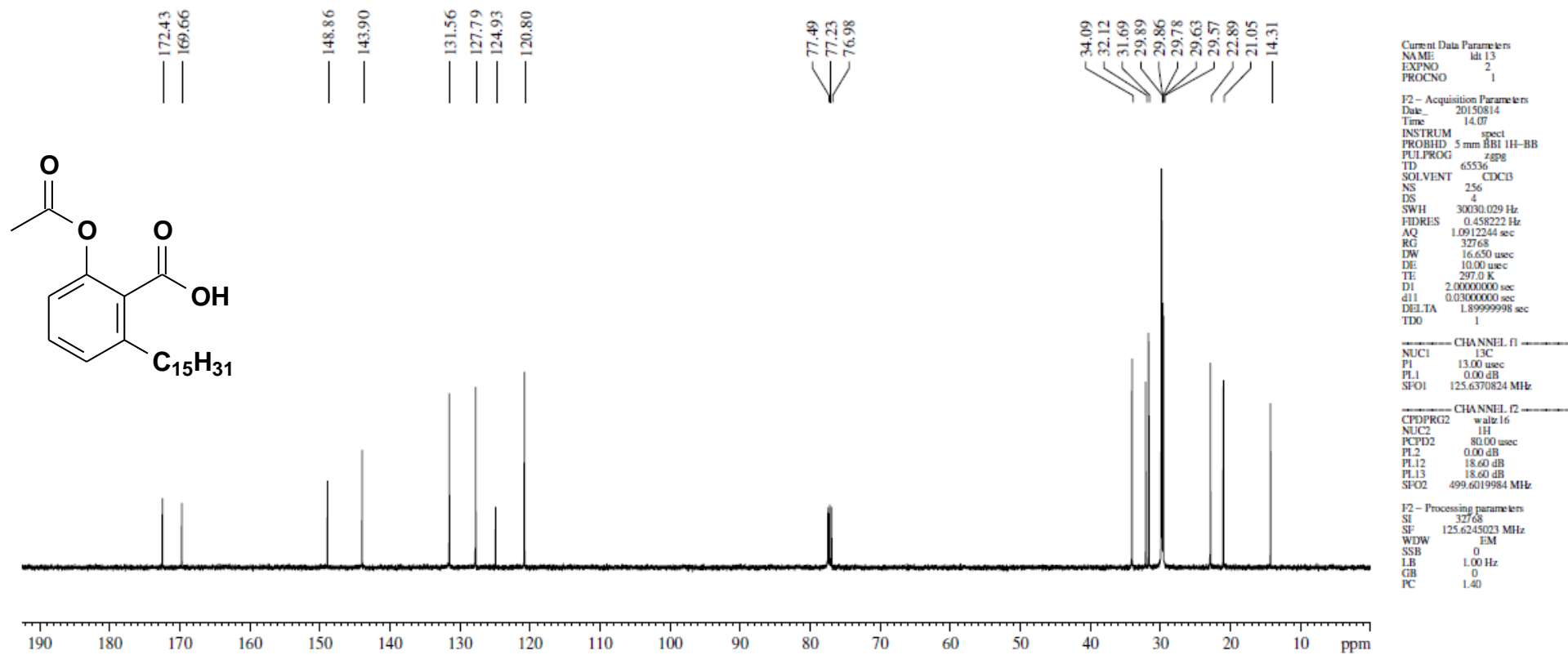
**ANEXO 8 – Expansões do Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): Ácido 2-Acetóxi-6-pentadecilbenzóico (LDT13, 13)**

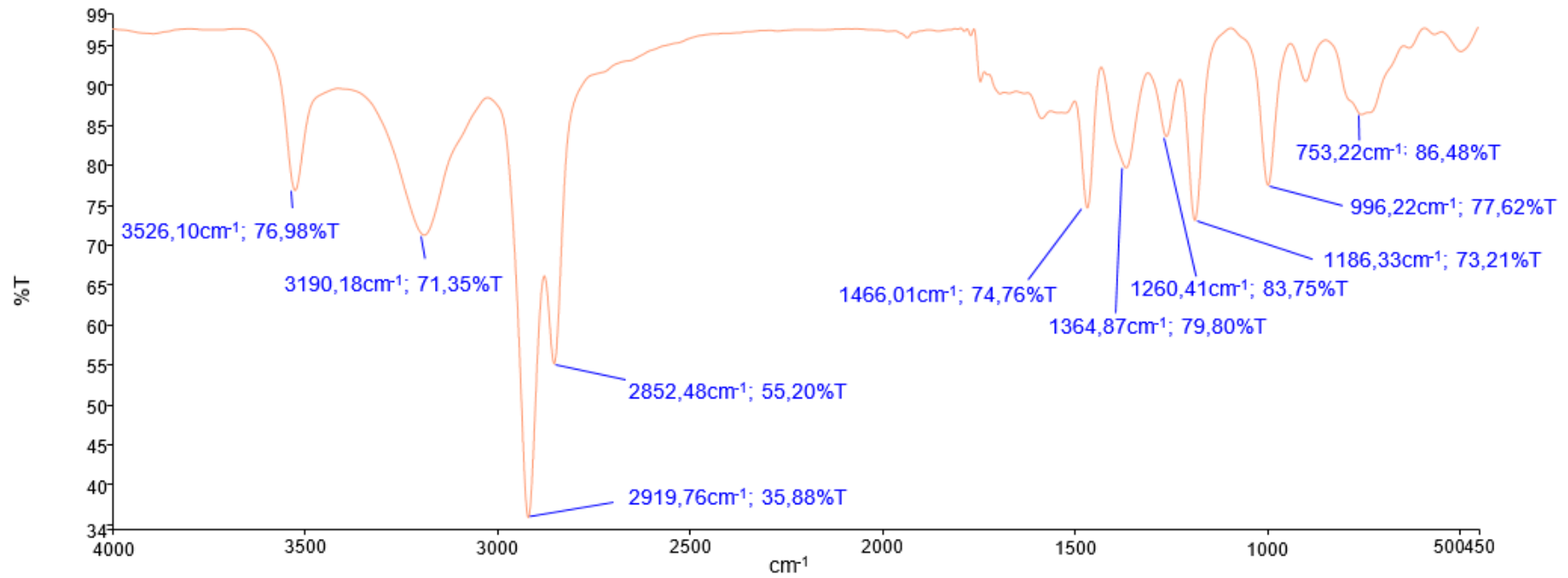
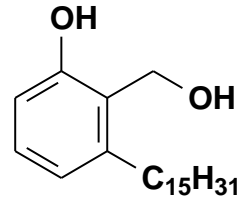




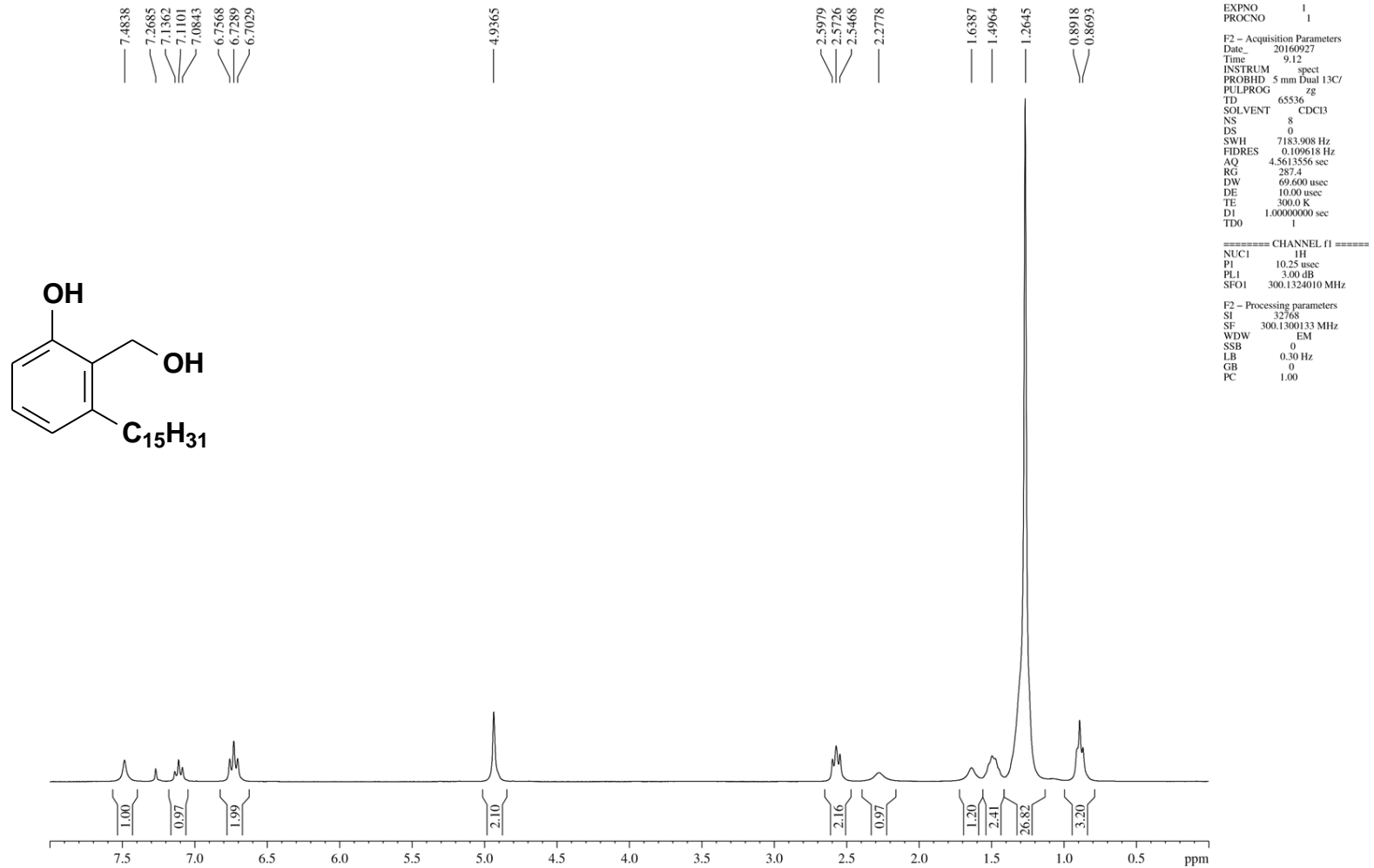
**ANEXO 9 – Expansões do Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): Ácido 2-Acetóxi-6-pentadecilbenzóico (LDT13, 13)**



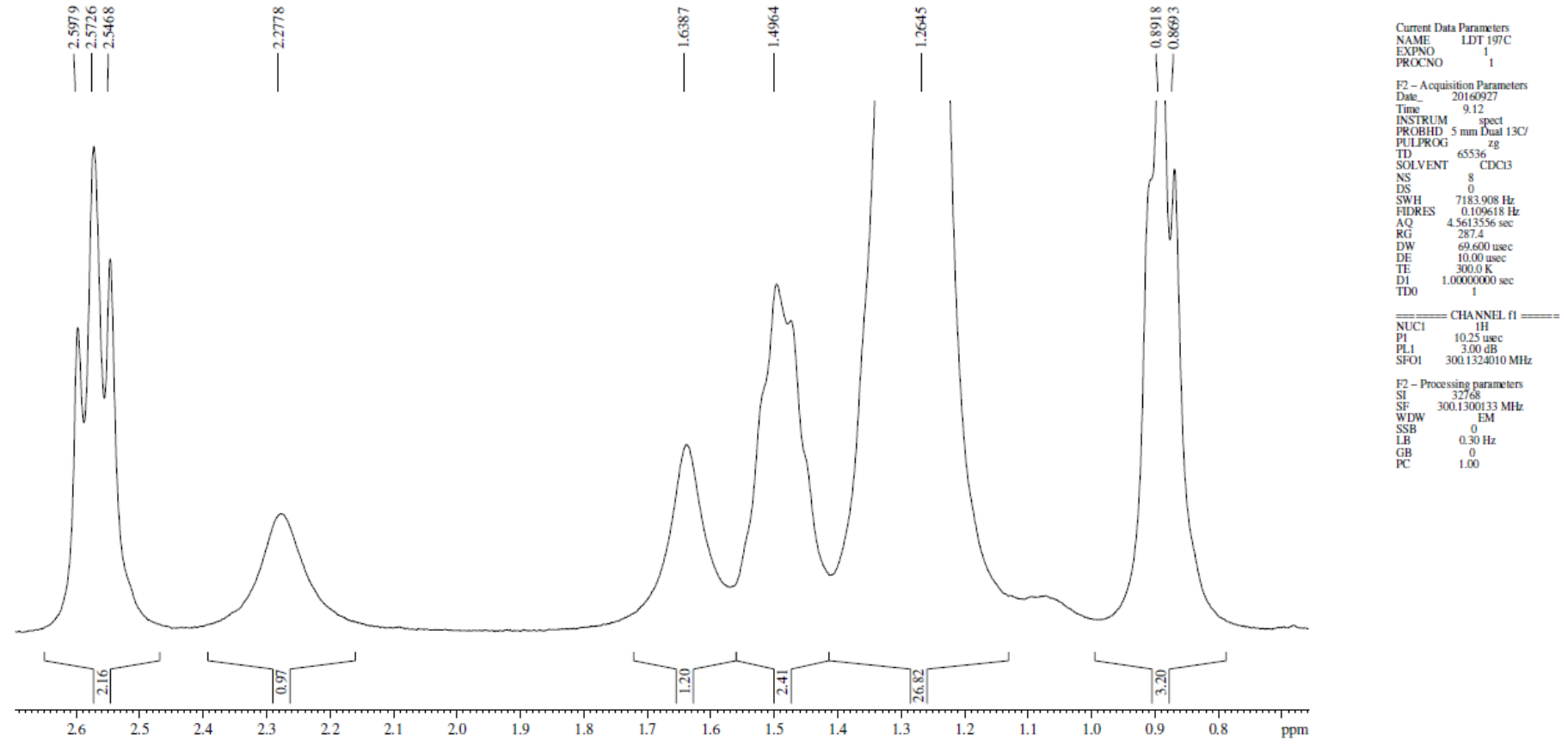
**ANEXO 10 – Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): Ácido 2-Acetóxi-6-pentadecilbenzóico (LDT13, 13)**


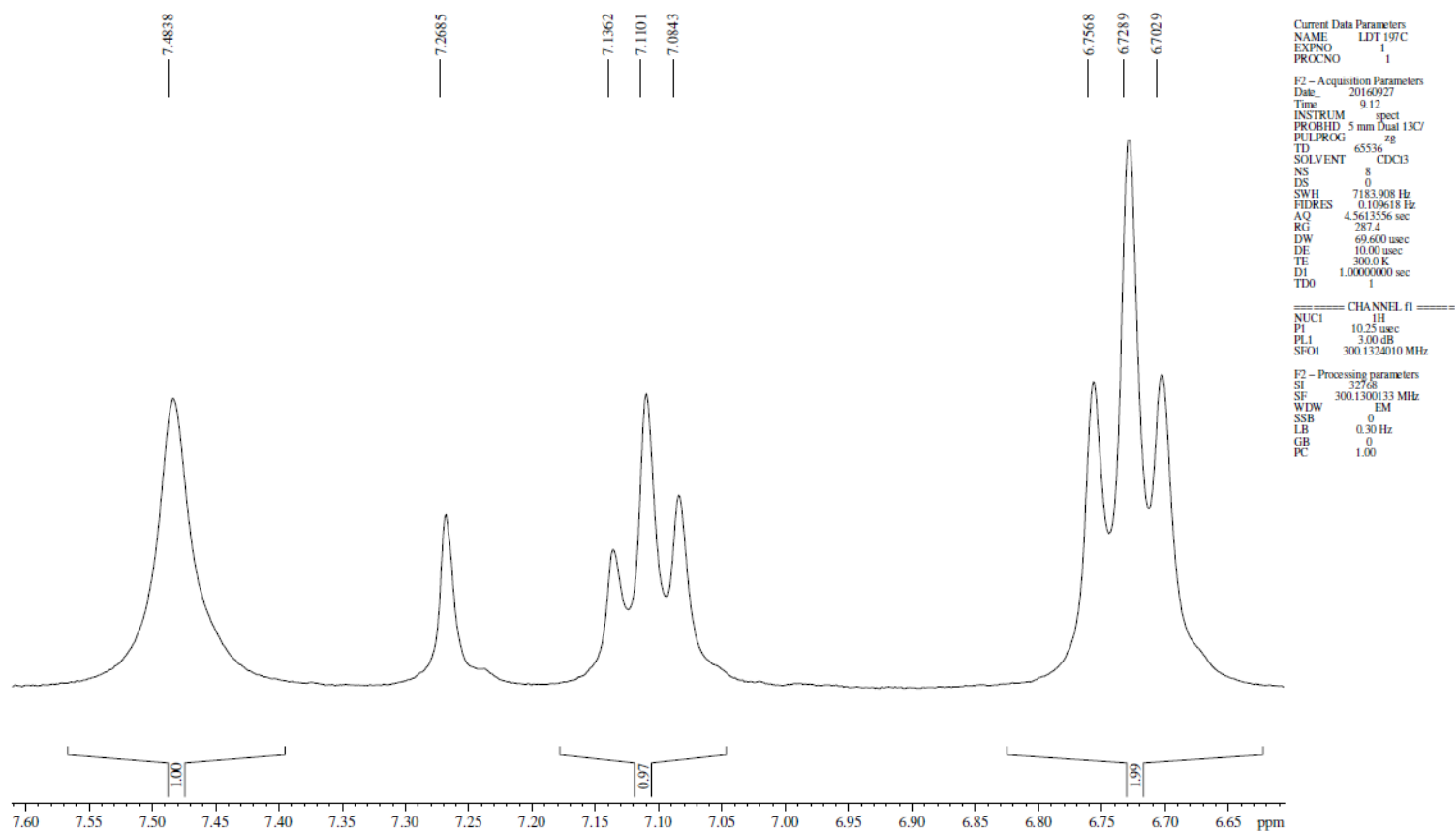
**ANEXO 11 – Espectro na região do infravermelho ( $\text{cm}^{-1}$ , KBr): 2-(Hidróximetil)-3-pentadecilfenol (LDT197, **14**)**

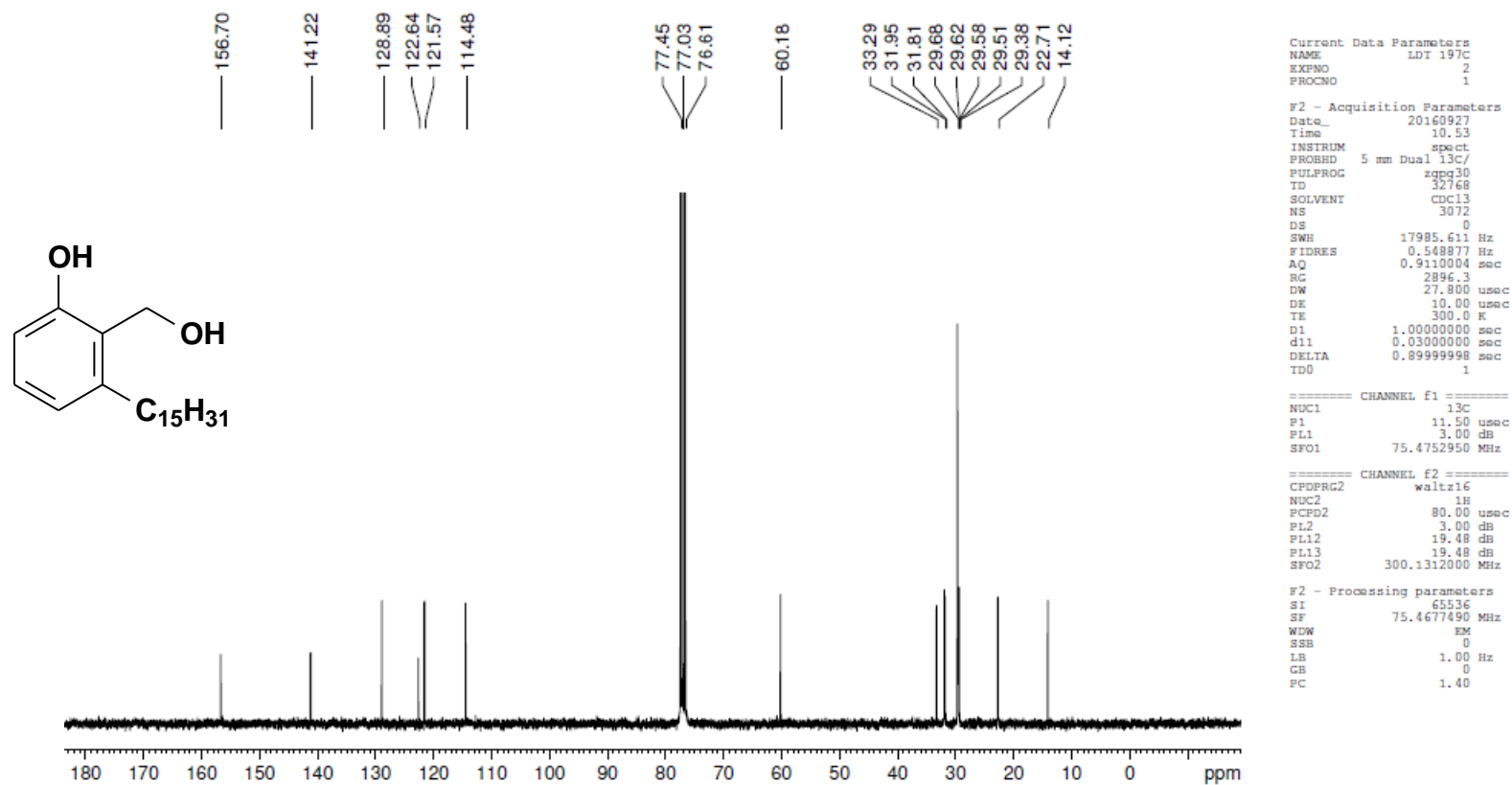
**ANEXO 12 – Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): 2-(Hidróximetil)-3-pentadecilfenol (LDT197, **14**)**



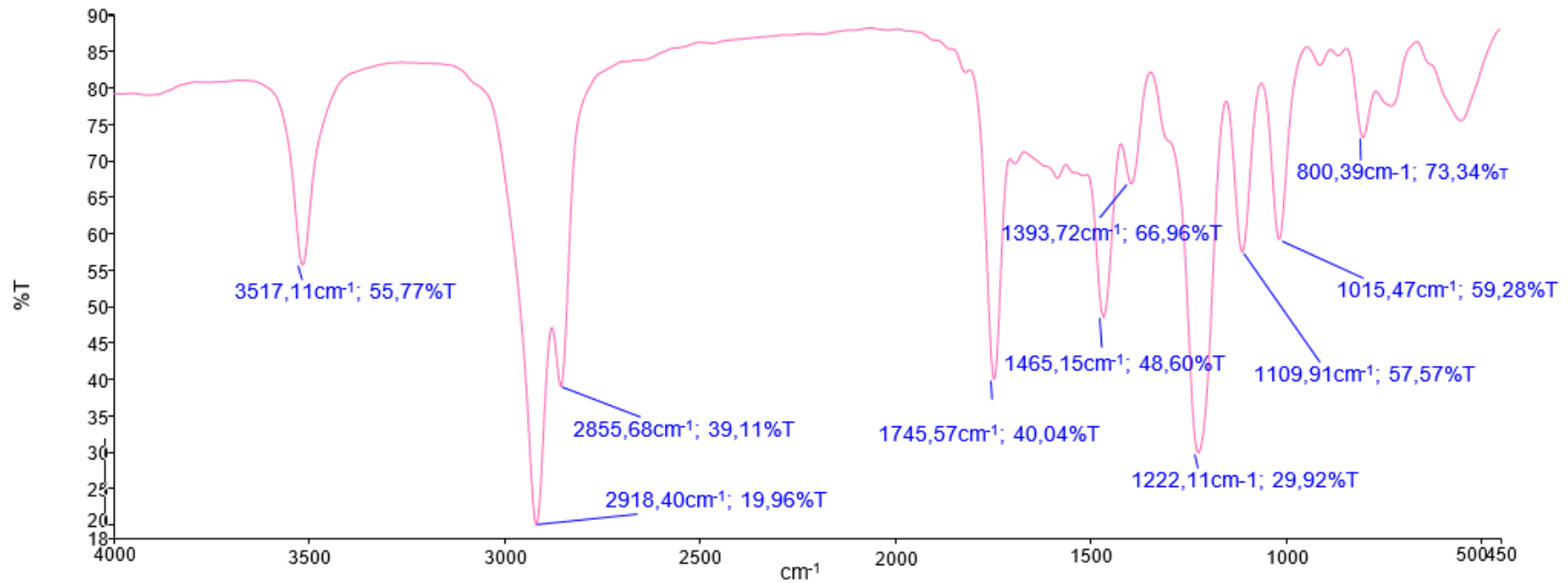
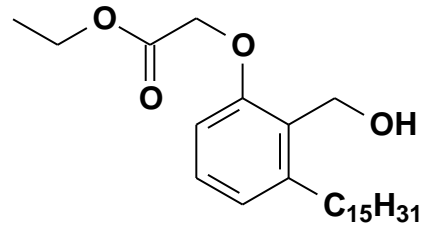
**ANEXO 13 – Expansões do Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): 2-(Hidróximetil)-3-pentadecilfenol (LDT197, **14**)**



**ANEXO 14 – Expansões do Espectro de RMN de <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 2-(Hidróximetil)-3-pentadecilfenol (LDT197, 14)**

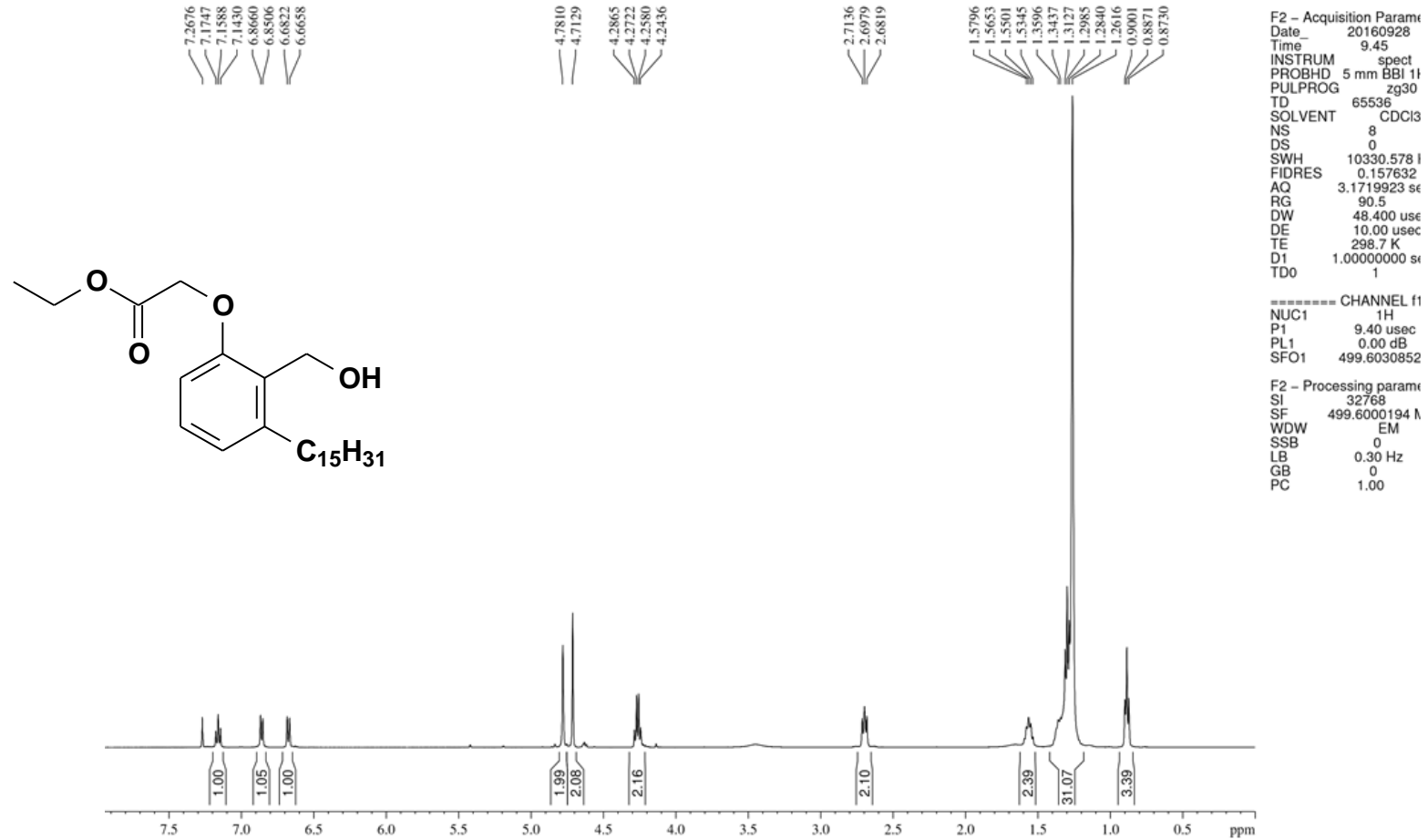
**ANEXO 15 – Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): 2-(Hidróximetil)-3-pentadecilfenol (LDT197, 14)**


**ANEXO 16**– Espectro na região do infravermelho ( $\text{cm}^{-1}$ , KBr): 2-(2-(Hidróximetil)-3-(pentadecil) fenóxiacetato de etila (LDT457, 15)

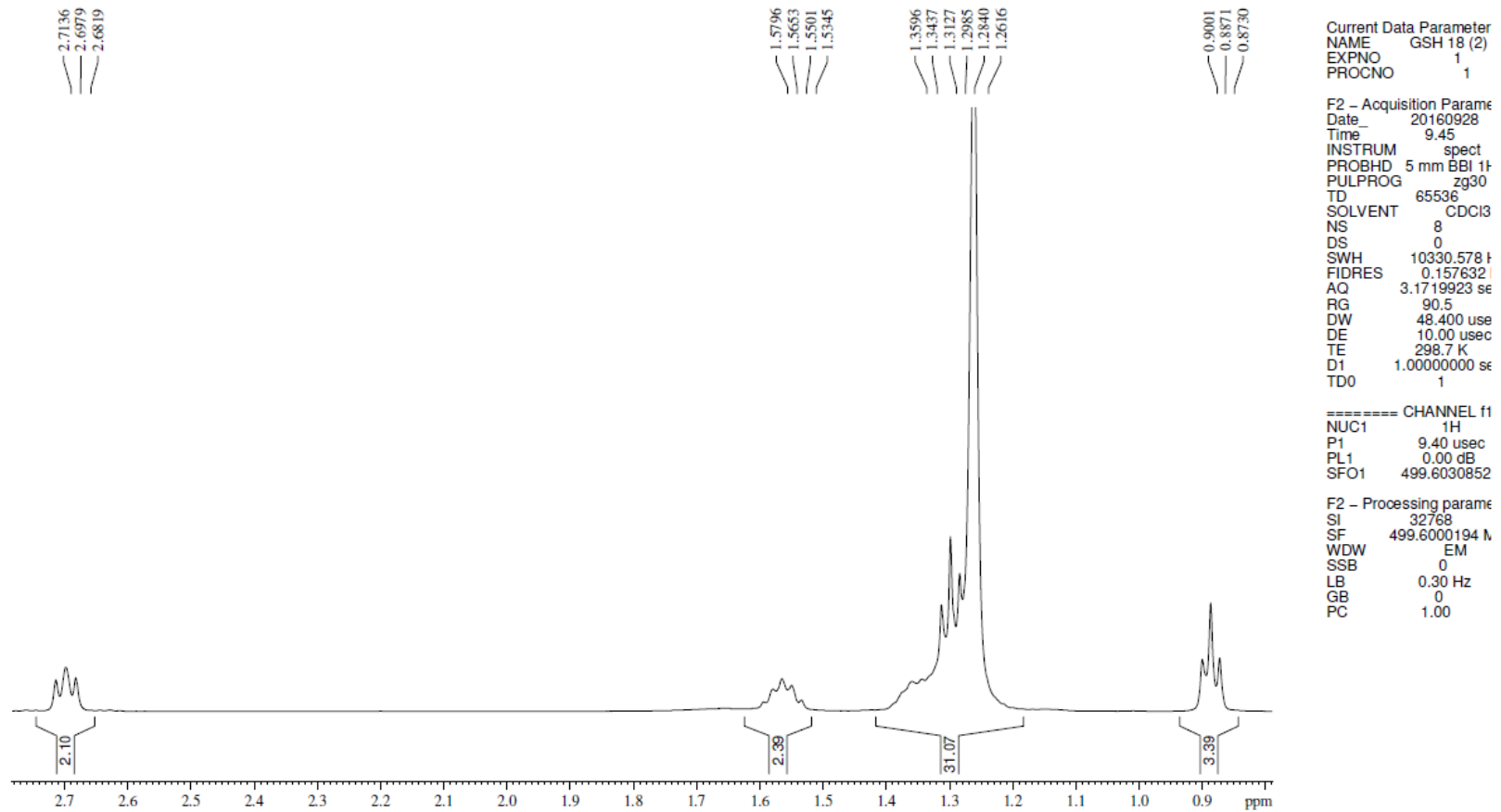




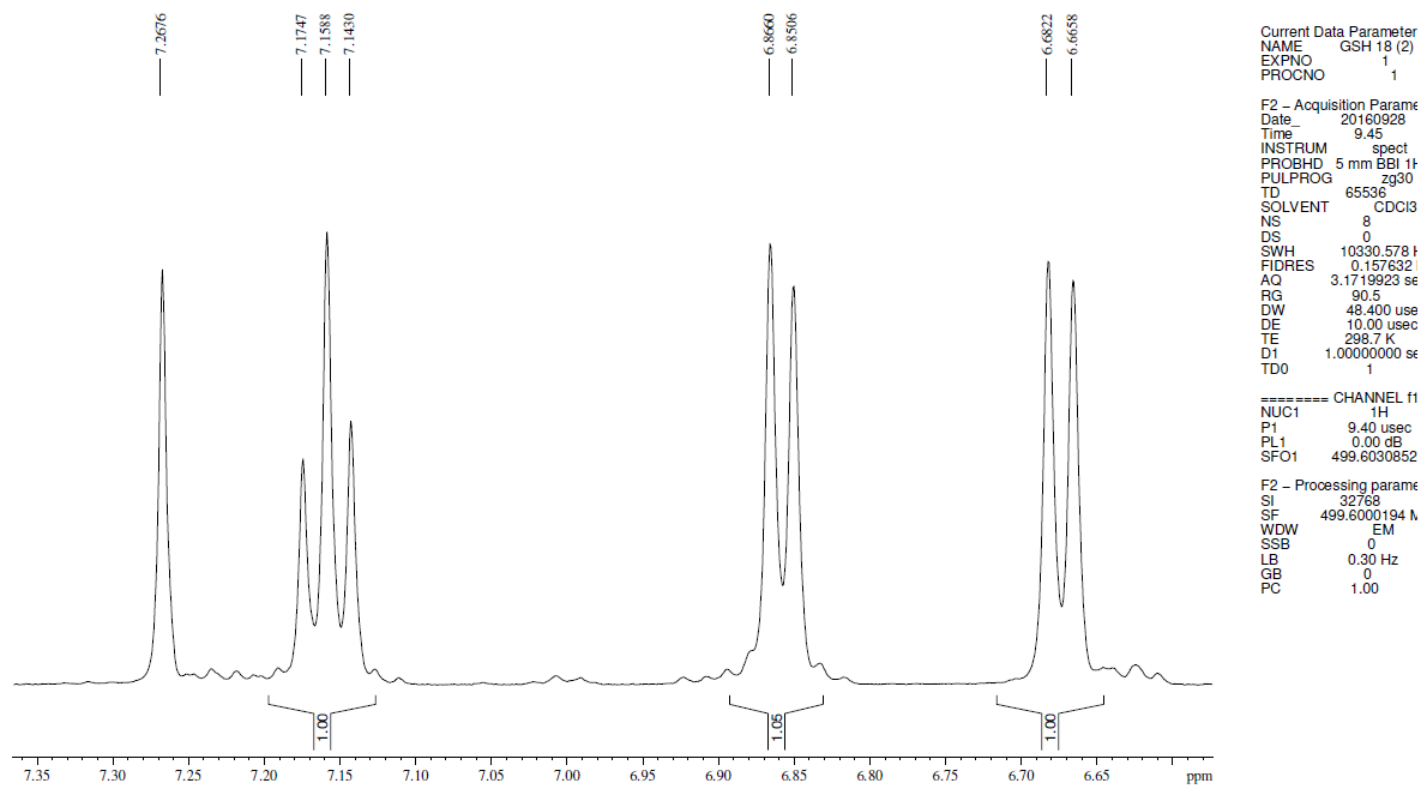
**ANEXO 17 – Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): 2-(2-(Hidróximetil)-3-(pentadecil) fenóxiacetato de etila (LDT457, 15)**



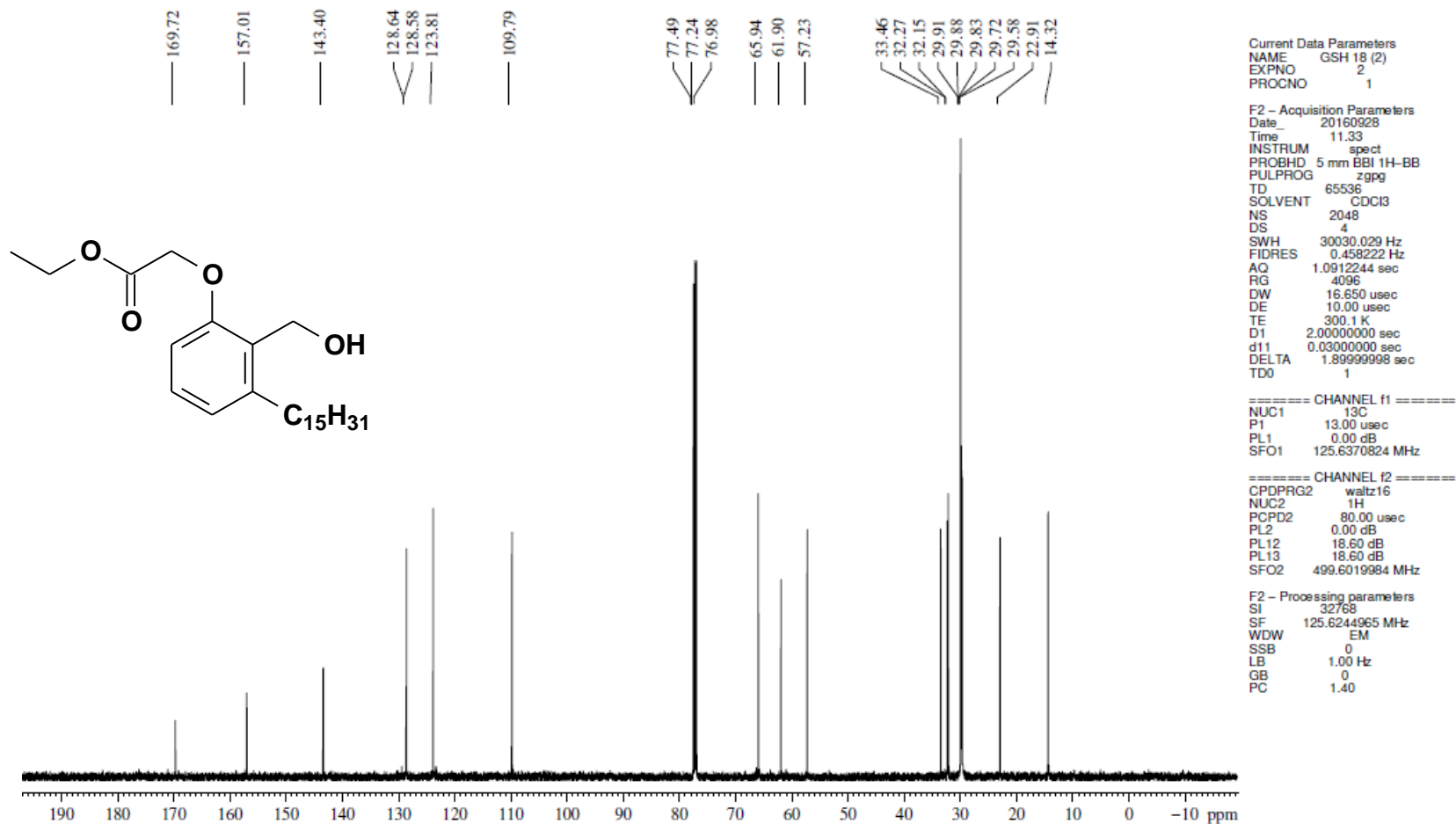
**ANEXO 18 – Expansões do Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): 2-(2-(Hidróximetil)-3-(pentadecil) fenóxiacetato de etila (LDT457, 15)**

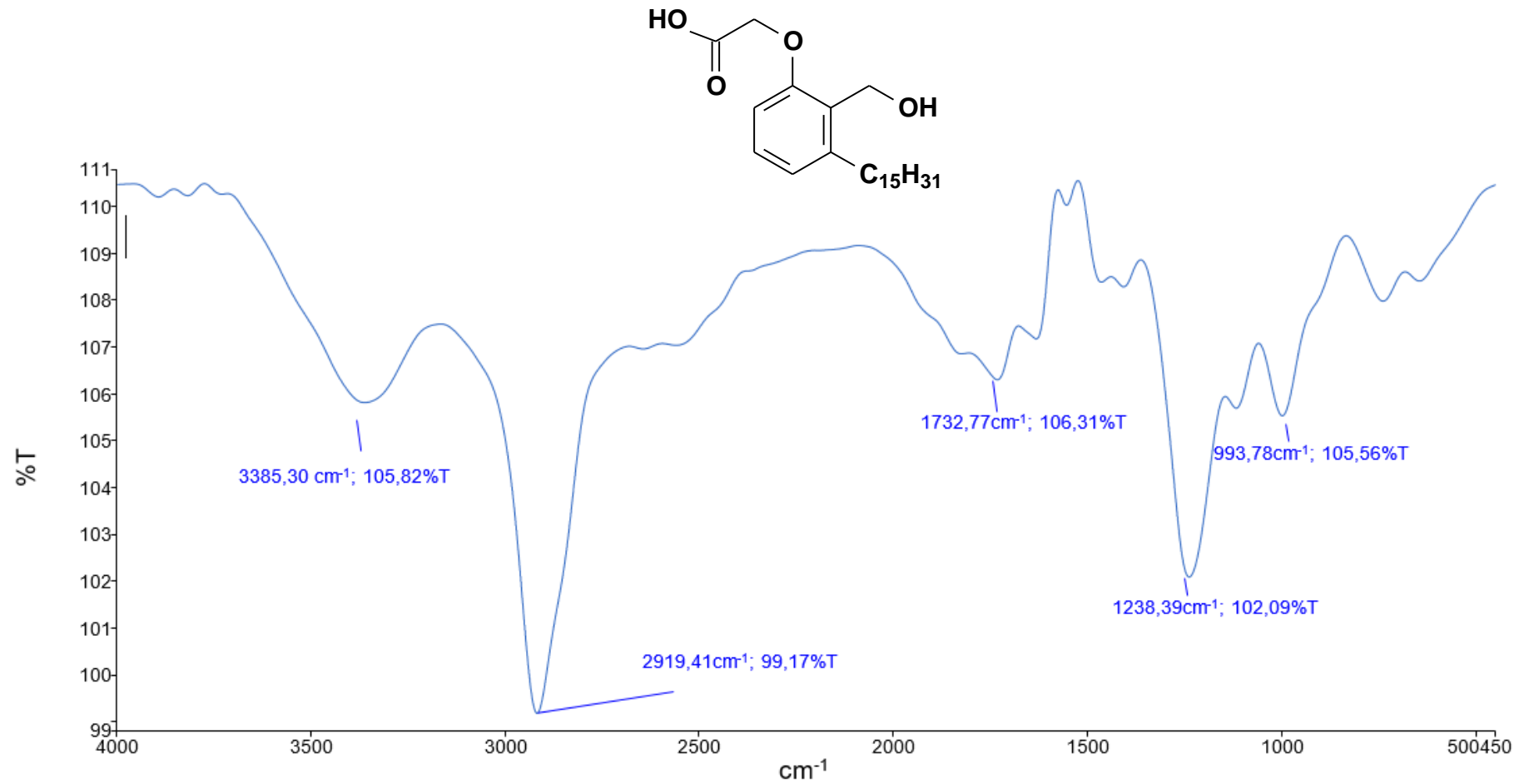


**ANEXO 19 – Expansões do Espectro de RMN de <sup>1</sup>H (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 2-(2-(Hidróximetil)-3-(pentadecil) fenóxi)acetato de etila (LDT457, 15)**

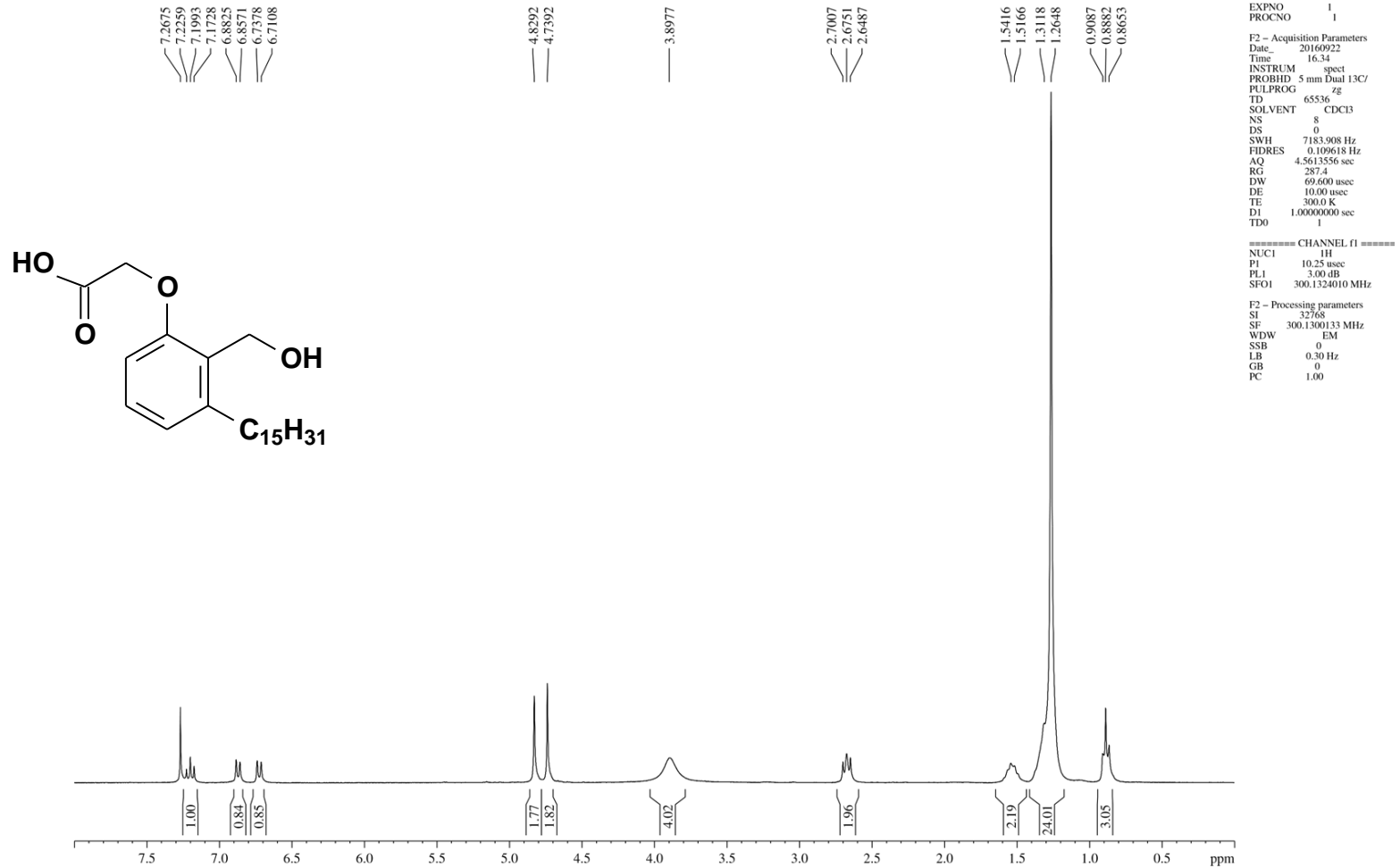


**ANEXO 20 – Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): 2-(2-(Hidróximetil)-3-(pentadecil) fenóxiacetato de etila (LDT457, 15)**

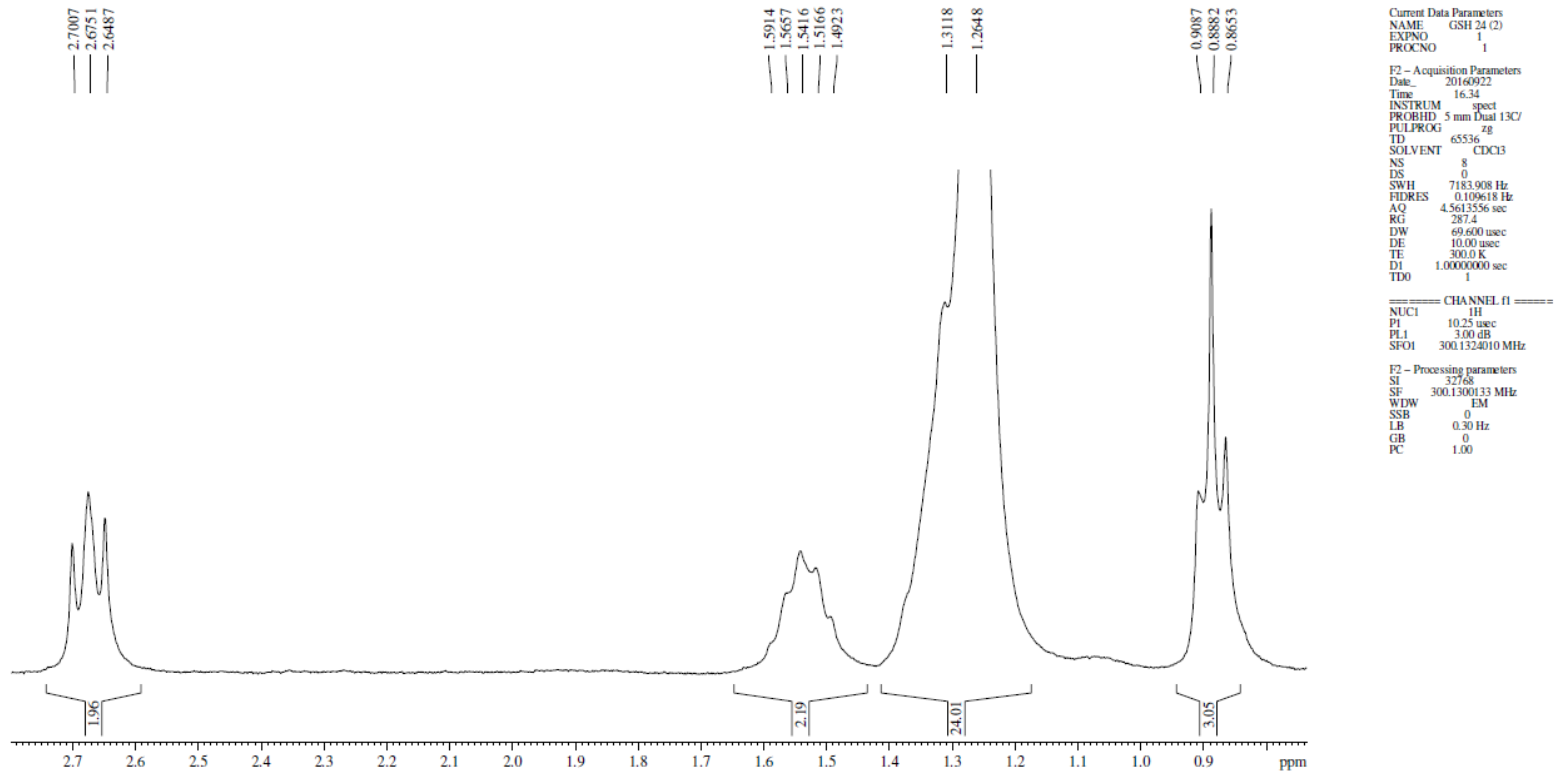


**ANEXO 21**– Espectro na região do infravermelho ( $\text{cm}^{-1}$ , KBr): Ácido 2-(2-Hidróximetil-3-pentadecil) fenóxiacético (LDT458, **16**)

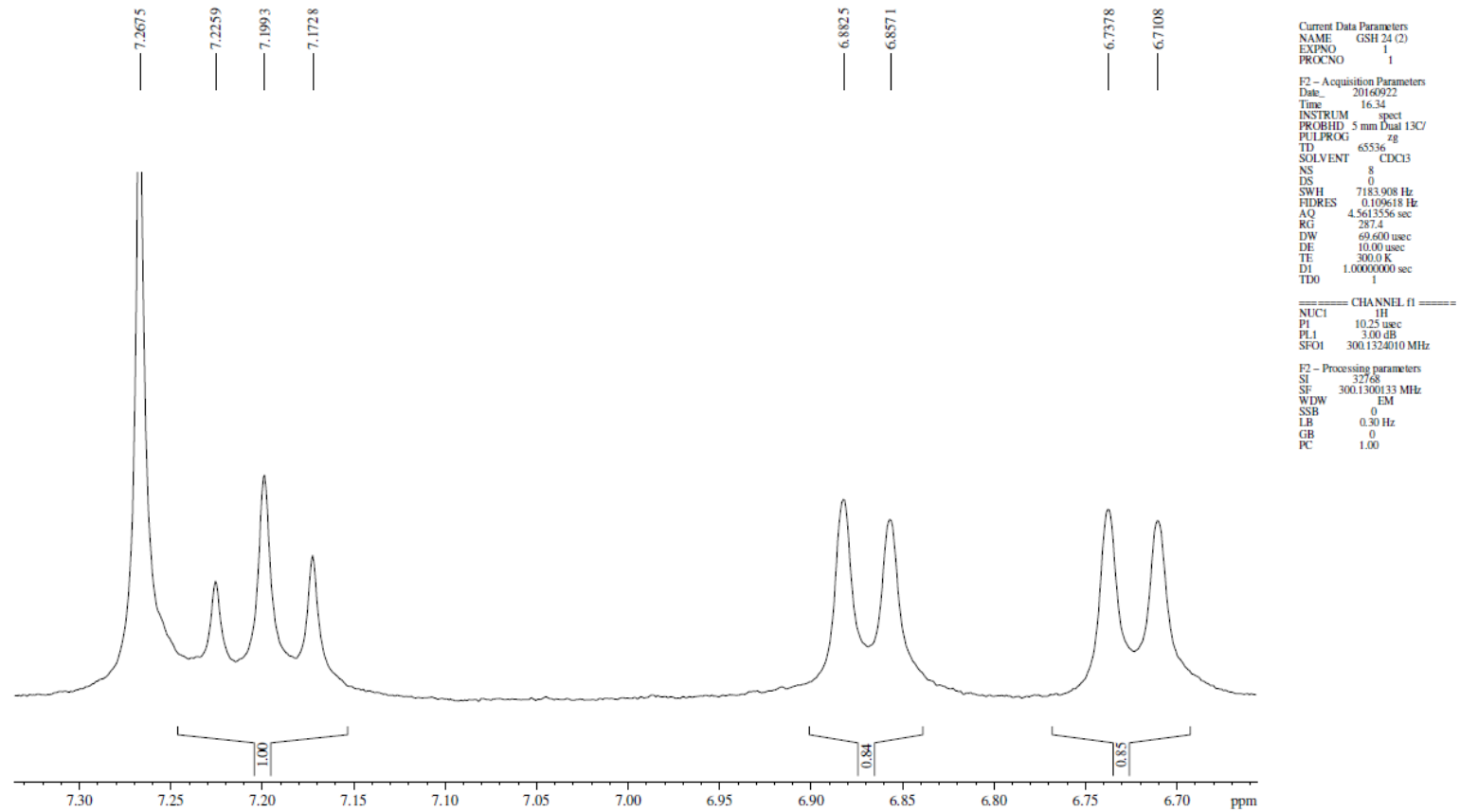
**ANEXO 22 – Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): Ácido 2-(2-Hidróximetil-3-pentadecil) fenóxiacético (LDT458, **16**)**



**ANEXO 23 – Expansões do Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): Ácido 2-(2-Hidróximetil-3-pentadecil) fenóxiacético (LDT458, 16)**

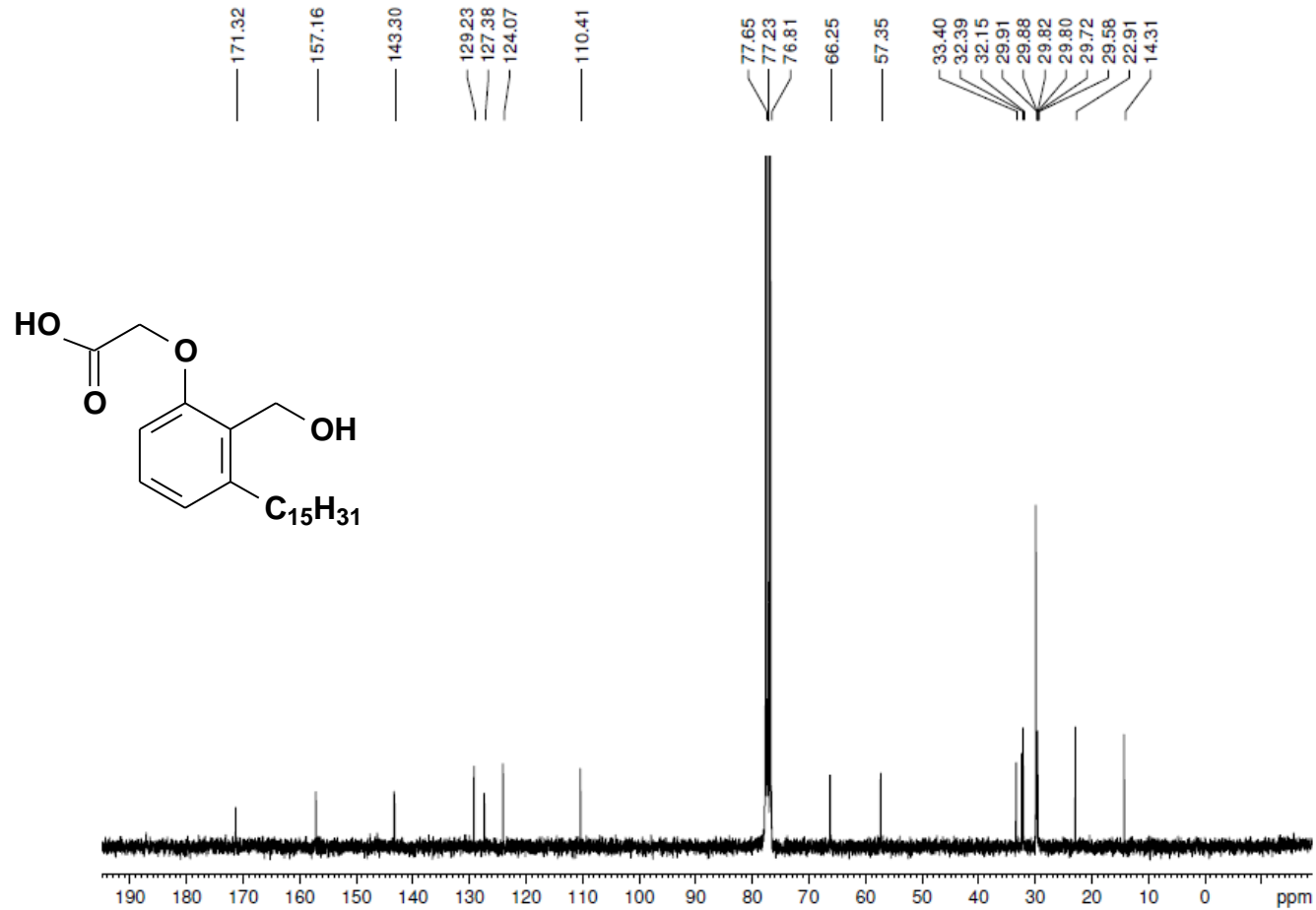


**ANEXO 24 – Expansões do Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): Ácido 2-(2-Hidróximetil-3-pentadecil) fenóxiacético (LDT458, 16)**





**ANEXO 25 – Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): Ácido 2-(2-Hidróximetil-3-pentadecil) fenóxiacético (LDT458, **16**)**



```

Current Data Parameters
NAME      GSH 24 (2)
EXPNO    2
PROCNO   1

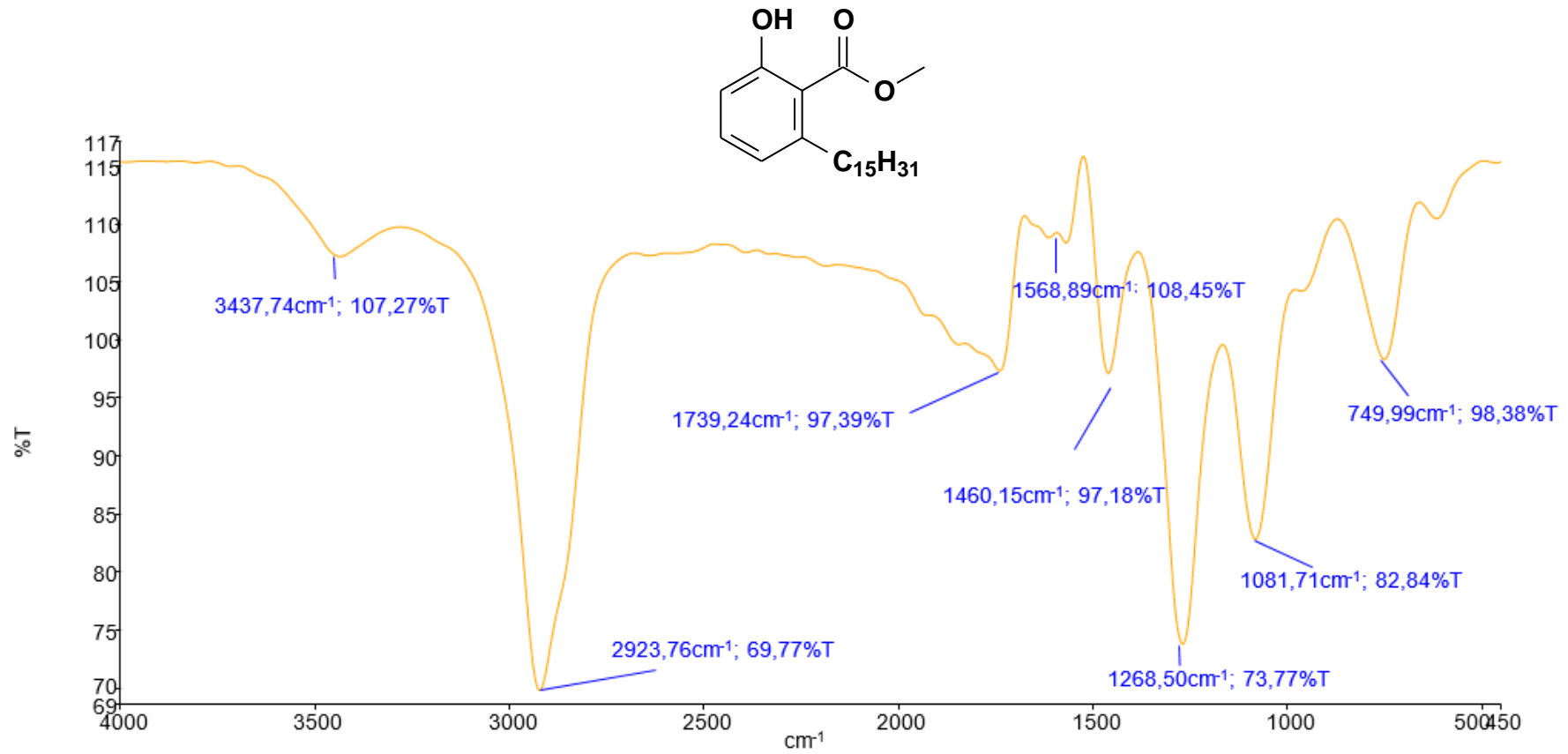
F2 - Acquisition Parameters
Date_    20160922
Time     18.00
INSTRUM  spect
PROBHD   5 mm Dual 13C/
PULPROG  zgpg30
TD       32768
SOLVENT  cdcl3
NS       10240
DS       0
SWH      17985.611 Hz
FIDRES   0.548877 Hz
AQ       0.9110004 sec
RG       2580.3
DW       27.800 usec
DE       10.00 usec
TE       300.0 K
D1       1.00000000 sec
d11      0.03000000 sec
DELTA    0.89999998 sec
TD0      1

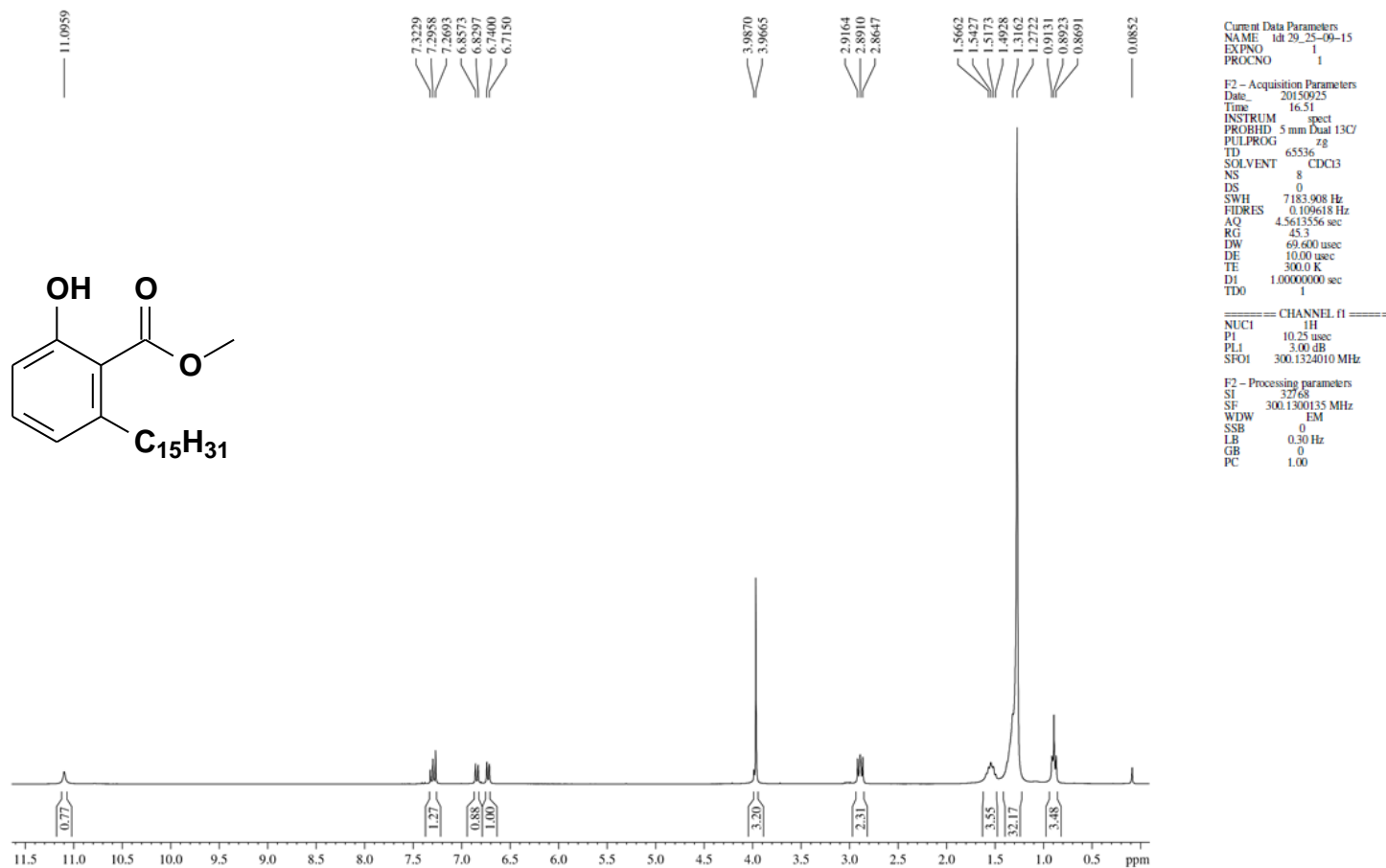
===== CHANNEL F1 =====
NUC1     13c
P1       11.50 usec
PL1      3.00 dB
SFO1     75.4752950 MHz

===== CHANNEL F2 =====
CPDPRG2  waltz16
NUC2     1H
PCPD2    80.00 usec
PL2      3.00 dB
PL12     19.48 dB
PL13     19.48 dB
SFO2     300.1312000 MHz

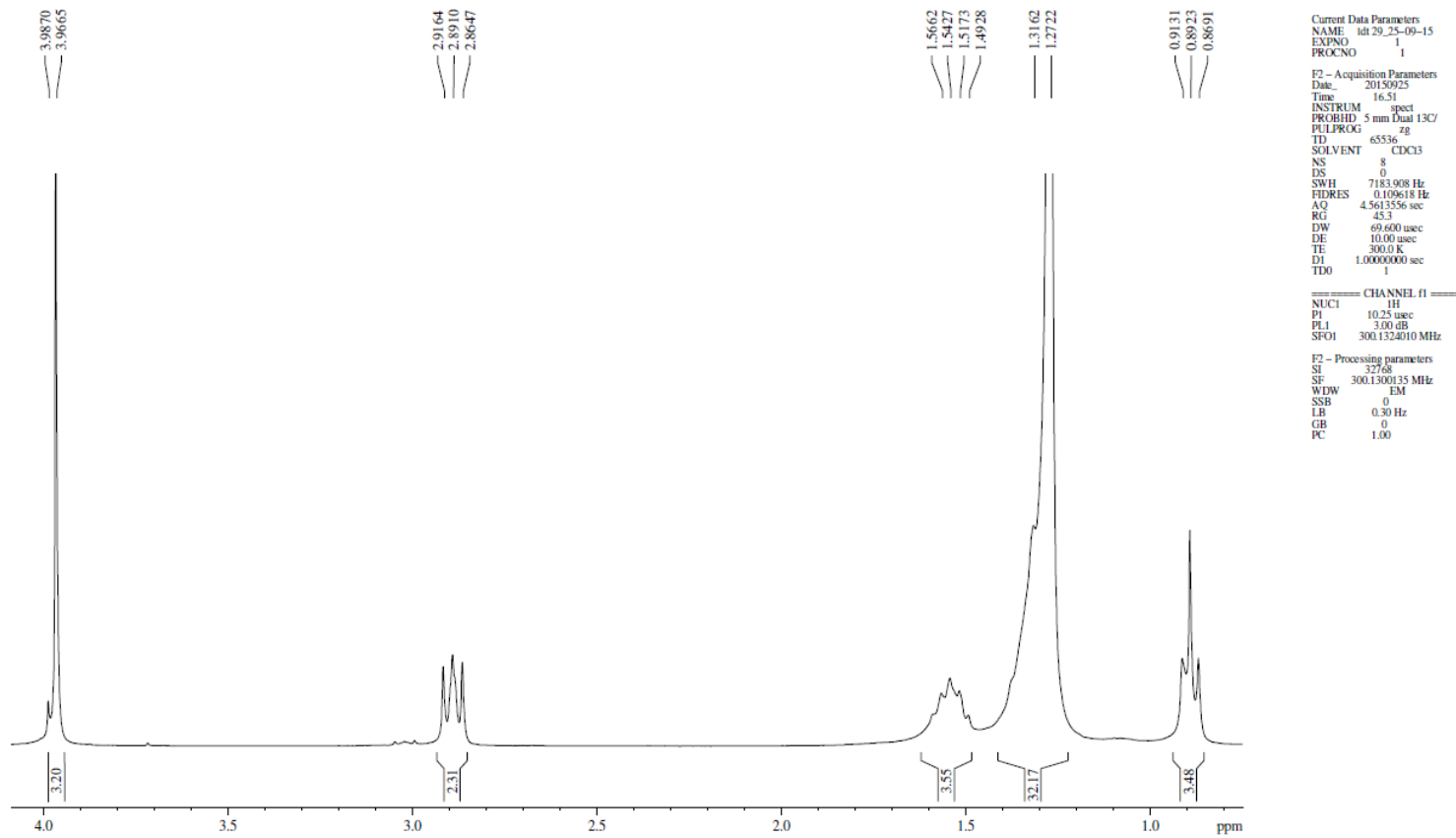
F2 - Processing parameters
SI       65536
SF       75.4677327 MHz
WDW      EM
SSB      0
LB       1.00 Hz
GB       0
PC       1.40

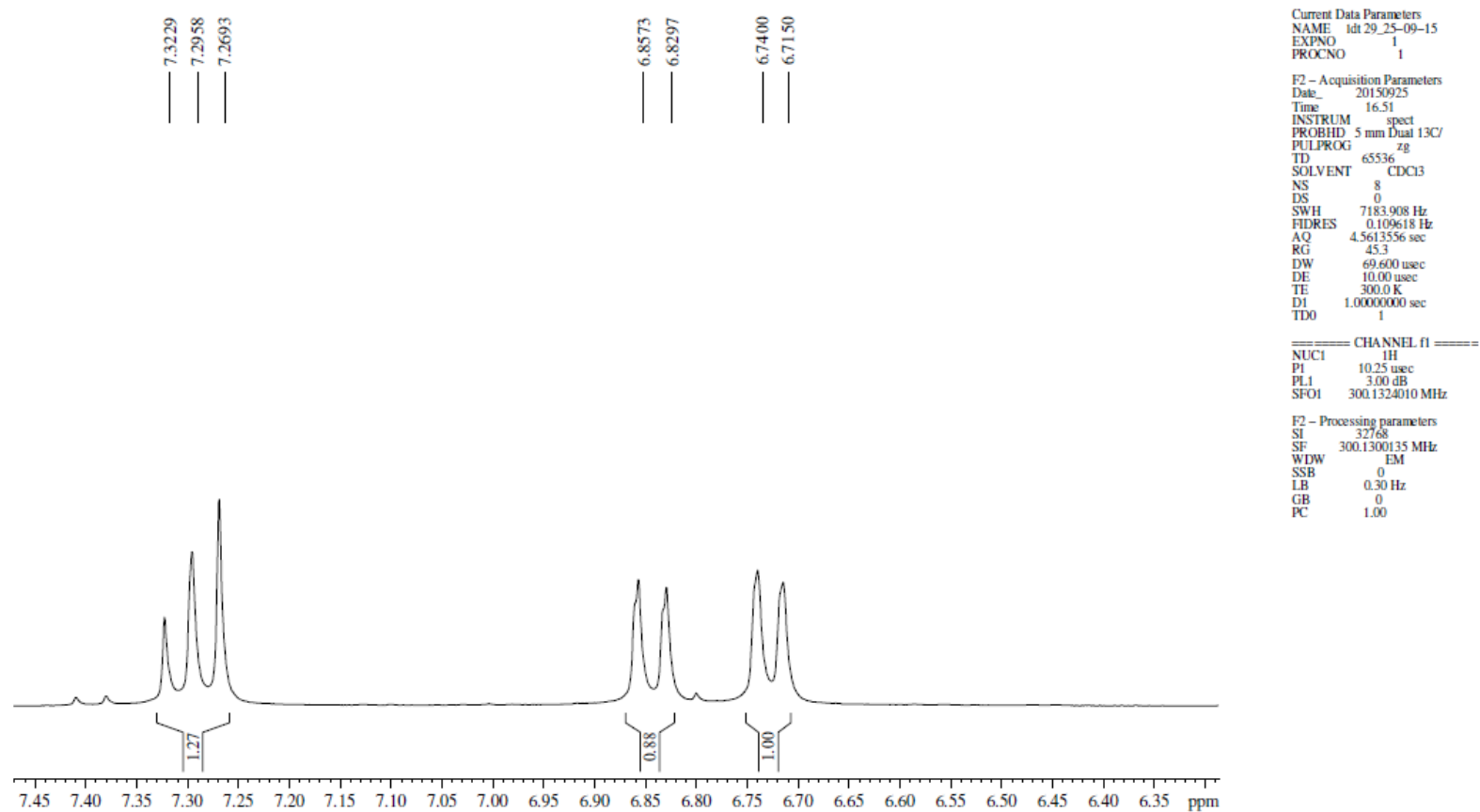
```

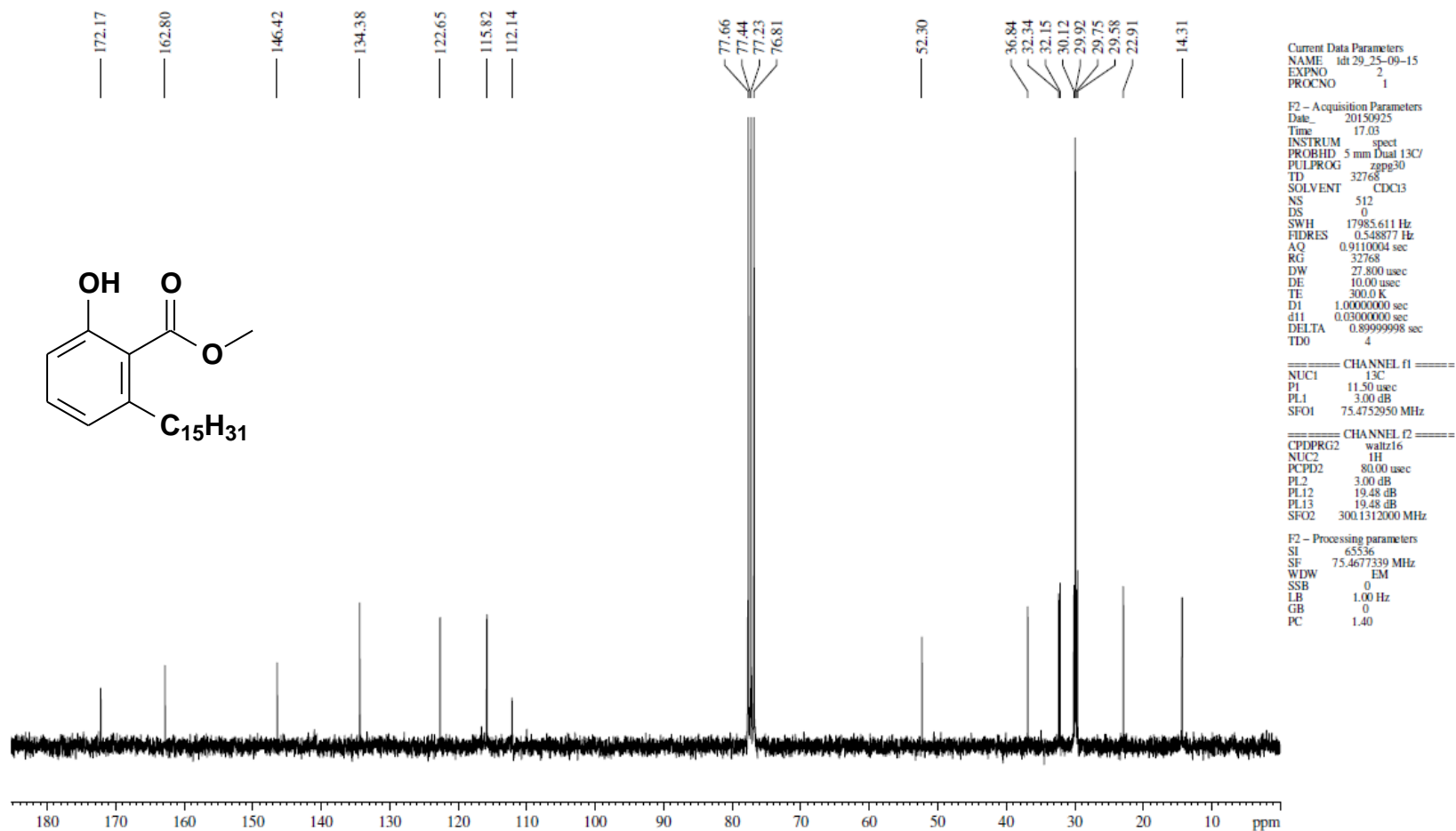
**ANEXO 26**– Espectro na região do infravermelho ( $\text{cm}^{-1}$ , KBr): 2-Hidróxi-6-pentadecilbenzoato de metila (LDT29, **17**)

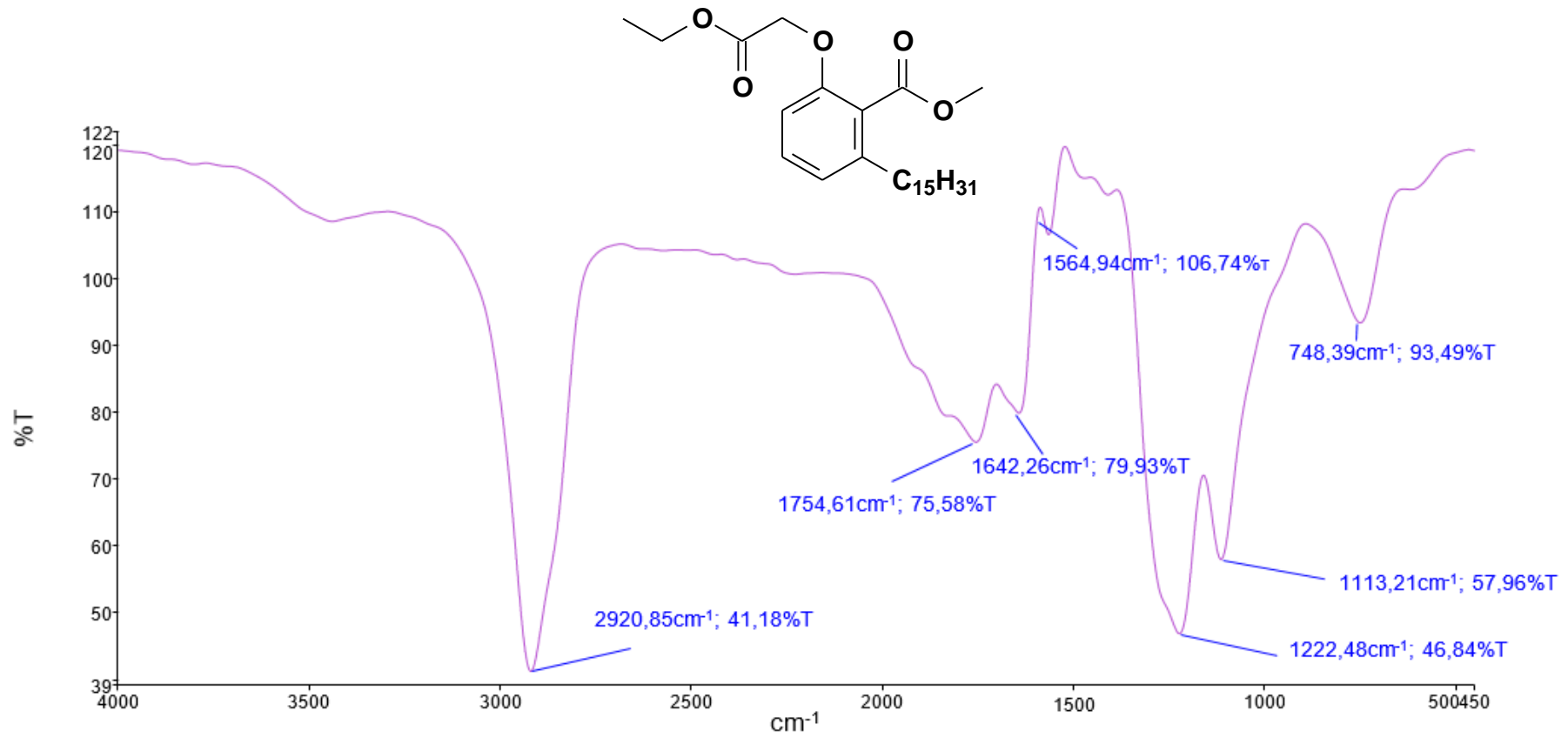
**ANEXO 27 – Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): 2-Hidróxi-6-pentadecilbenzoato de metila (LDT29, 17)**


**ANEXO 28 – Expansões do Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): 2-Hidróxi-6-pentadecilbenzoato de metila (LDT29, 17)**

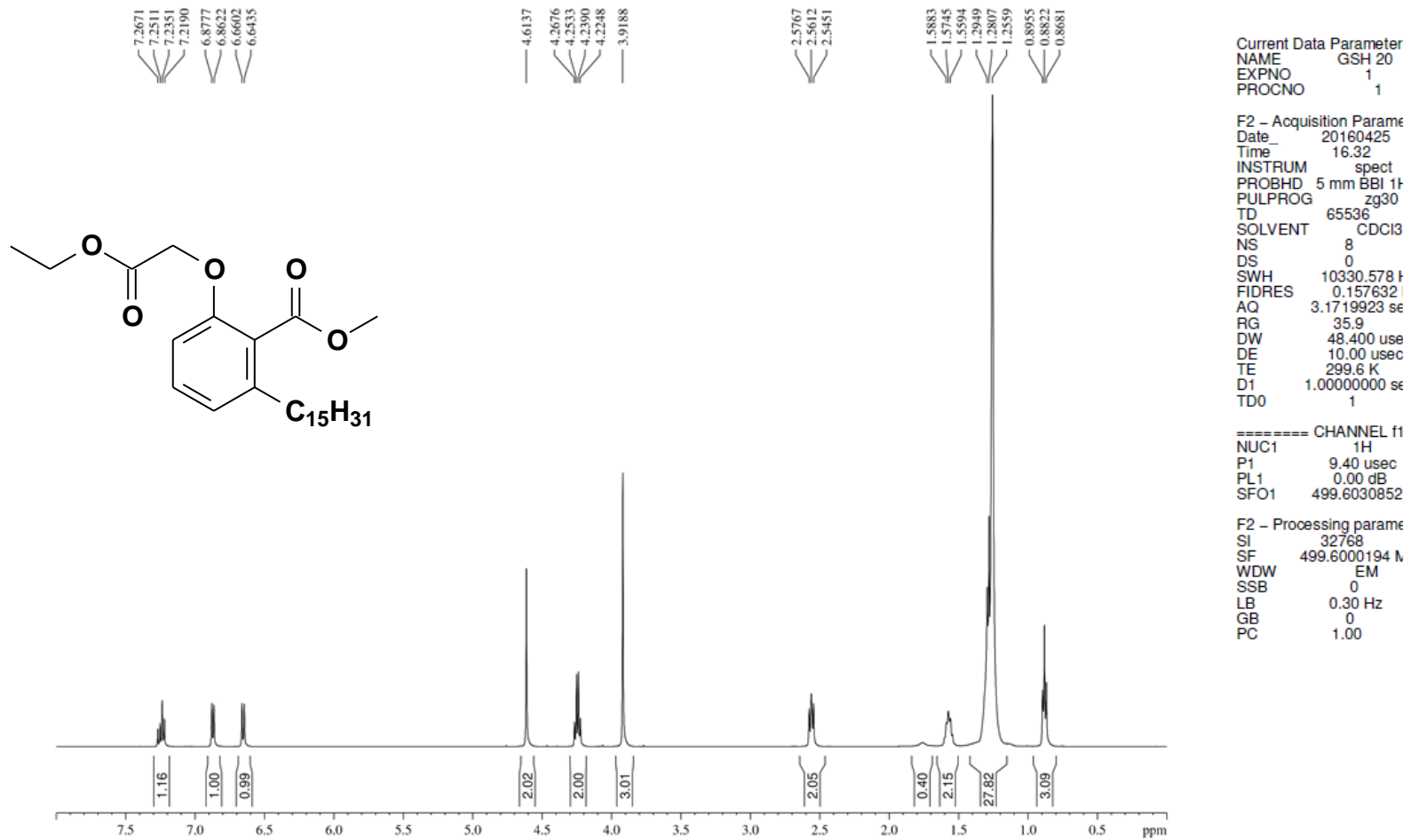


**ANEXO 29 – Expansões do Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): 2-Hidróxi-6-pentadecilbenzoato de metila (LDT29, 17)**

**ANEXO 30 – Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): 2-Hidróxi-6-pentadecilbenzoato de metila (LDT29, 17)**


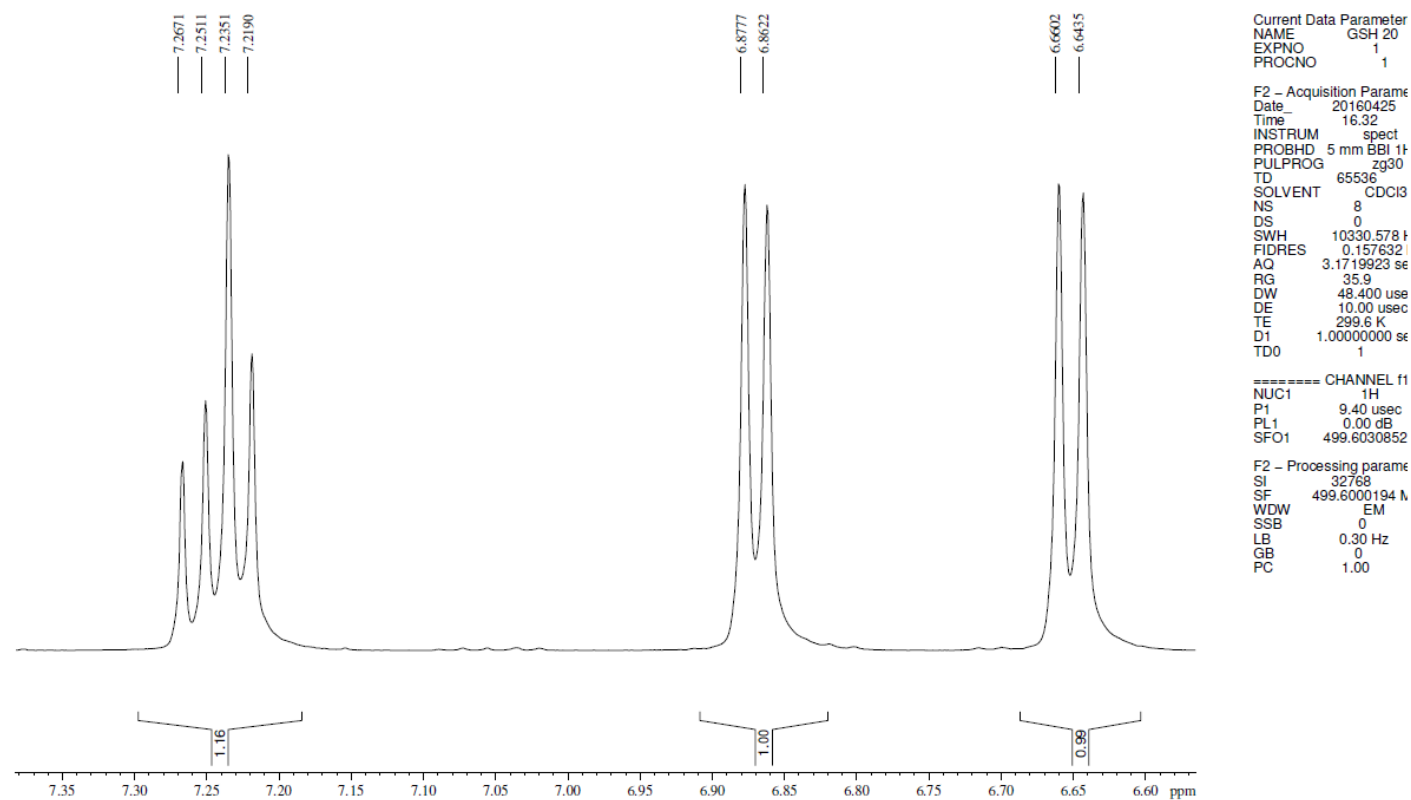
**ANEXO 31 – Espectro na região do infravermelho ( $\text{cm}^{-1}$ , KBr): 2-(2-Carboximetóxi)-6-pentadecilbenzoato de metila (LDT460, **18**)**

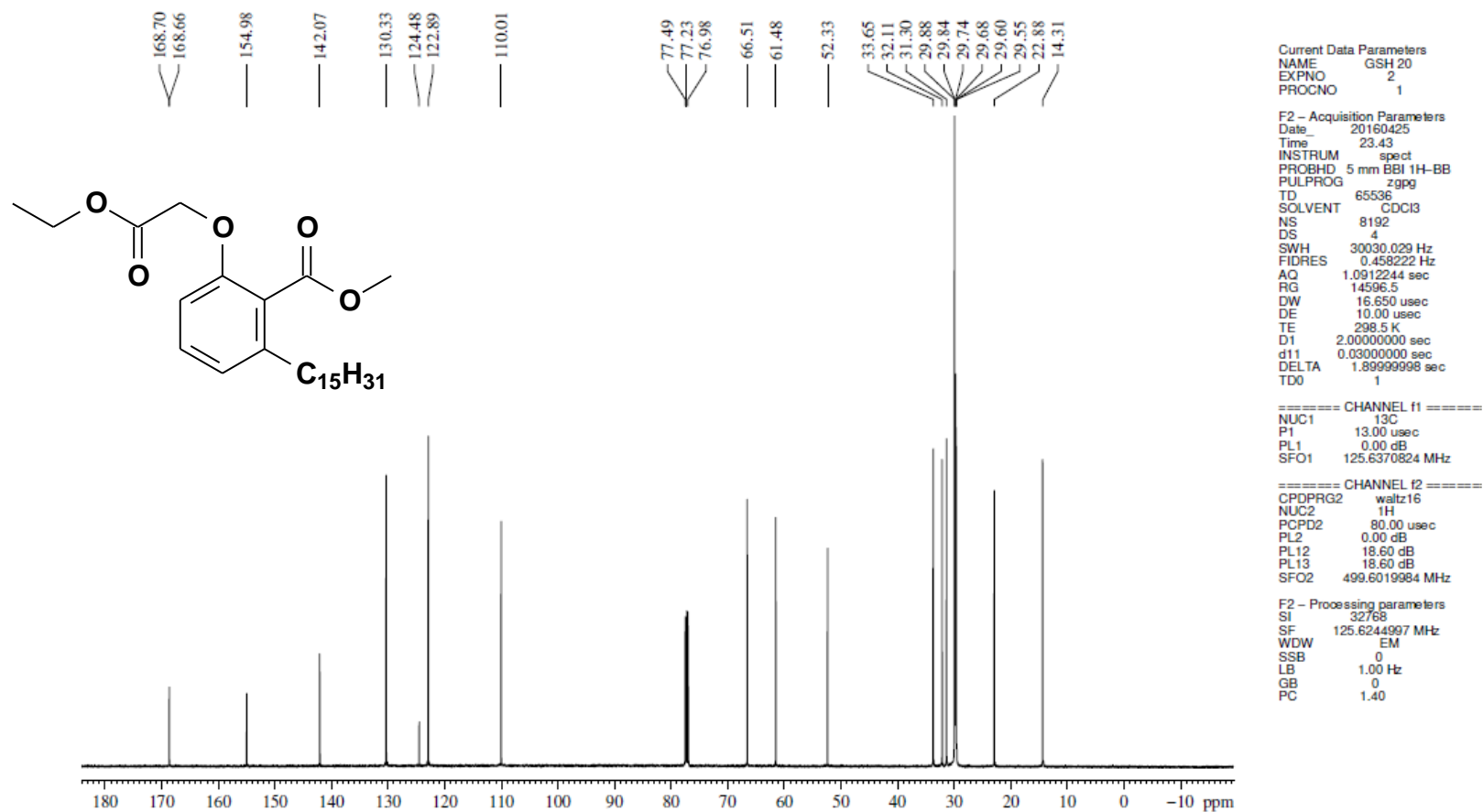
**ANEXO 32 – Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): 2-(2-Carbetoximetóxi)-6-pentadecilbenzoato de metila (LDT460, **18**)**

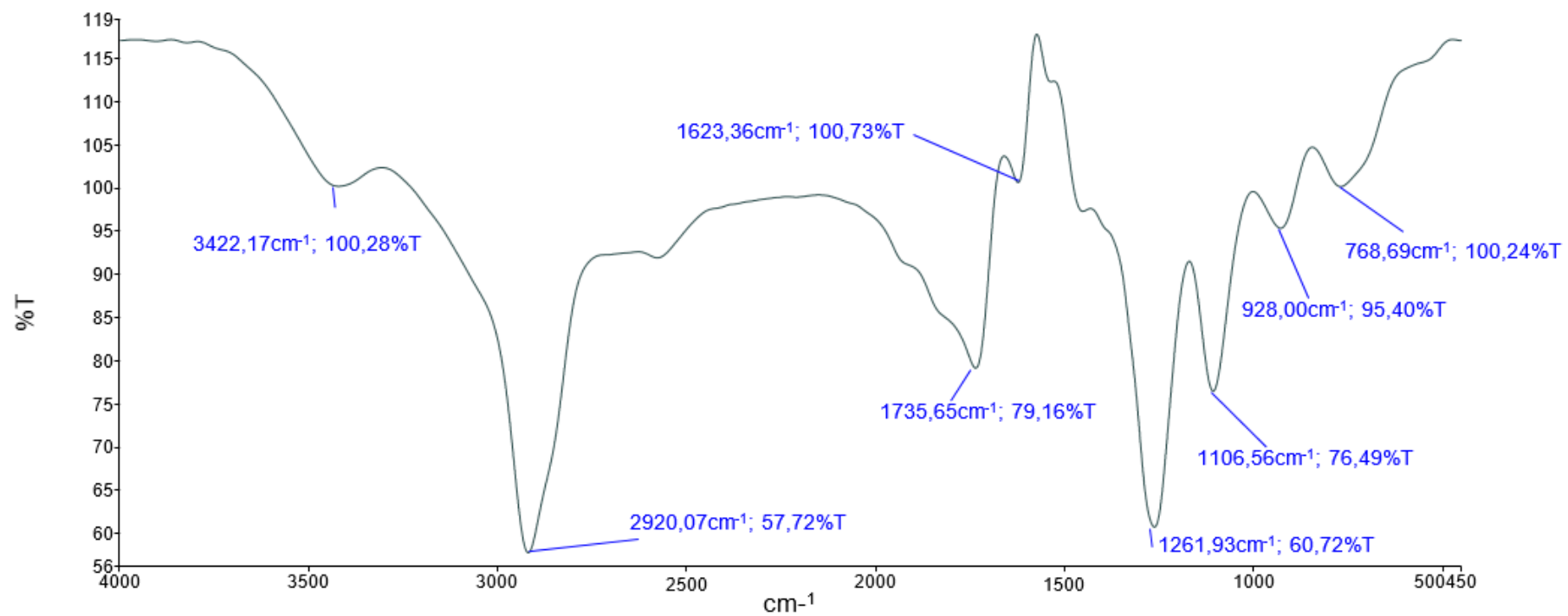
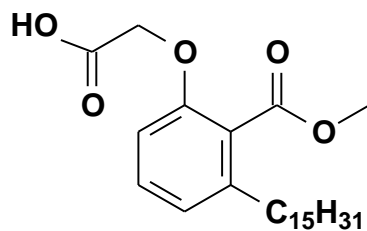


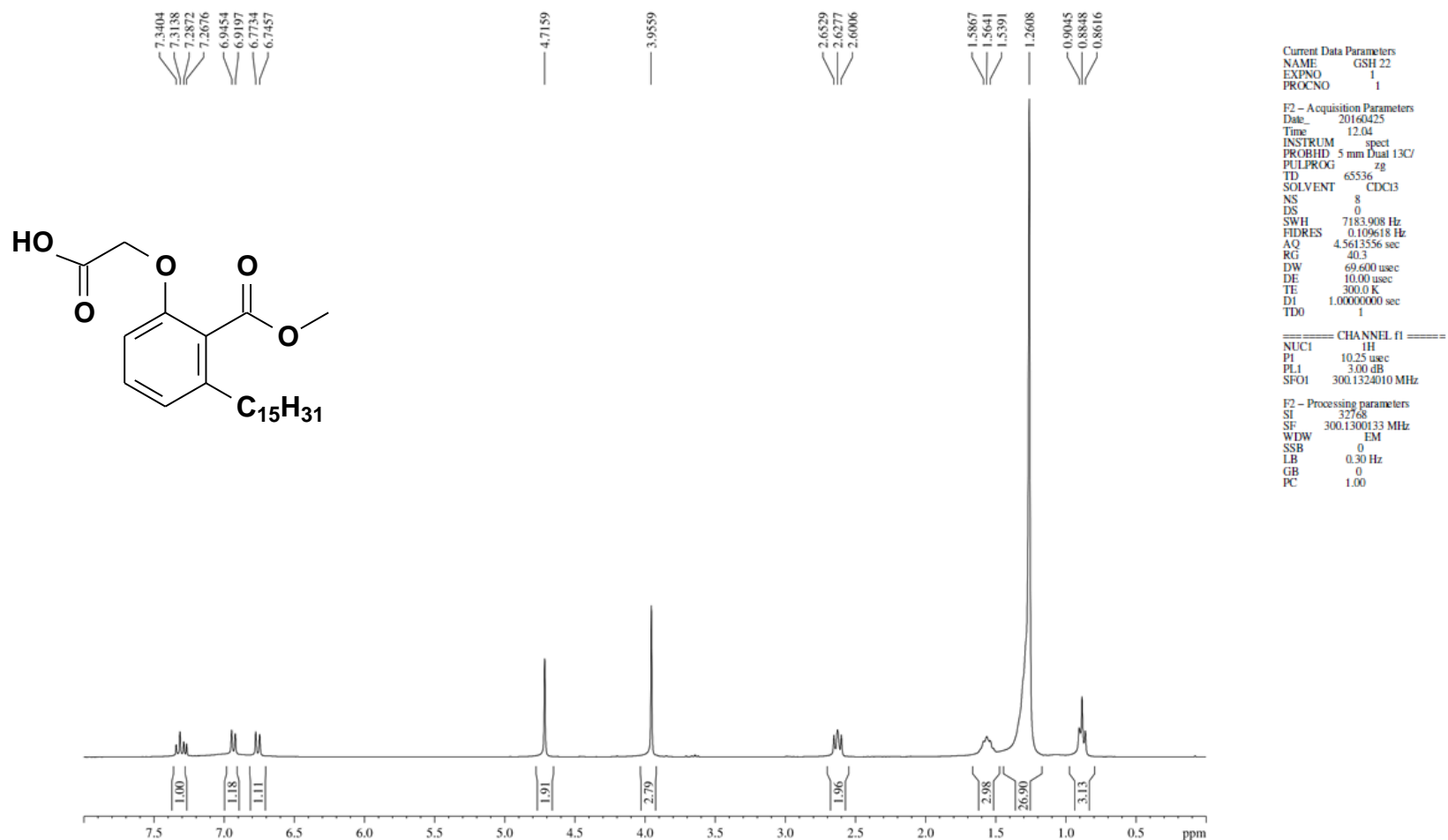


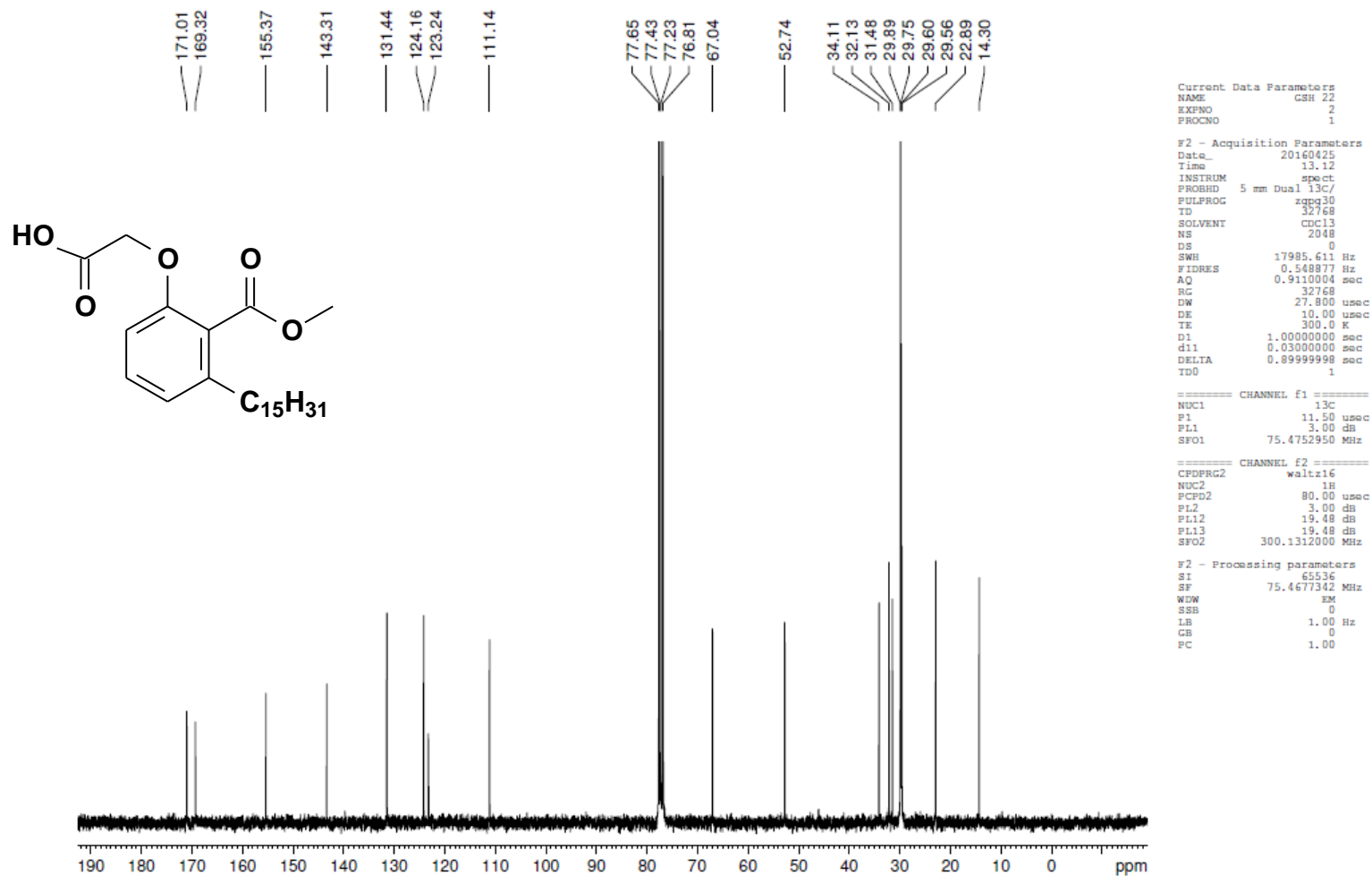
**ANEXO 33 – Expansões do Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): 2-(2-Carboximetóxi)-6-pentadecilbenzoato de metila (LDT460, 18)**



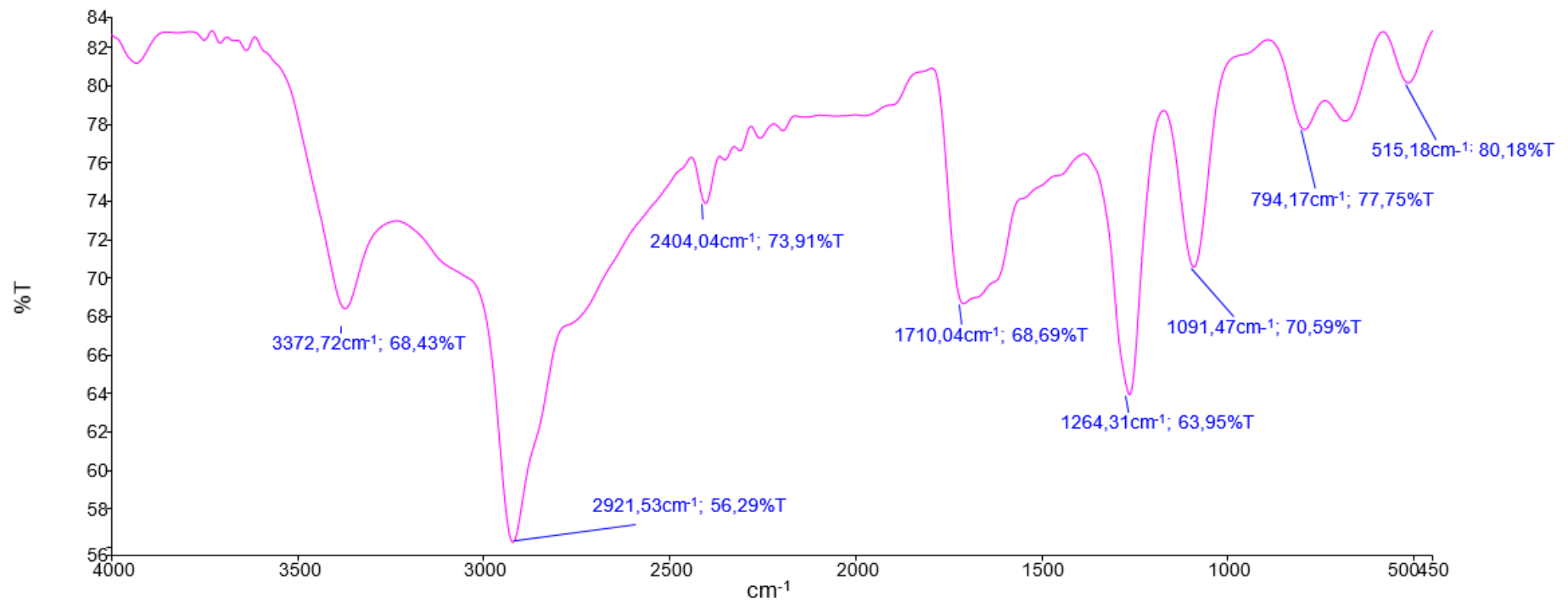
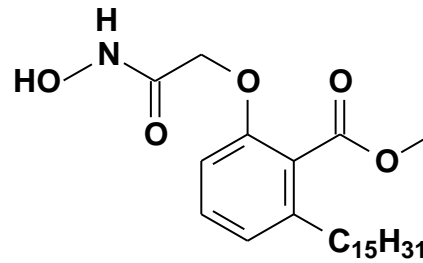
**ANEXO 34 – Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): 2-(2-Carboximetóxi)-6-pentadecilbenzoato de metila (LDT460, 18)**


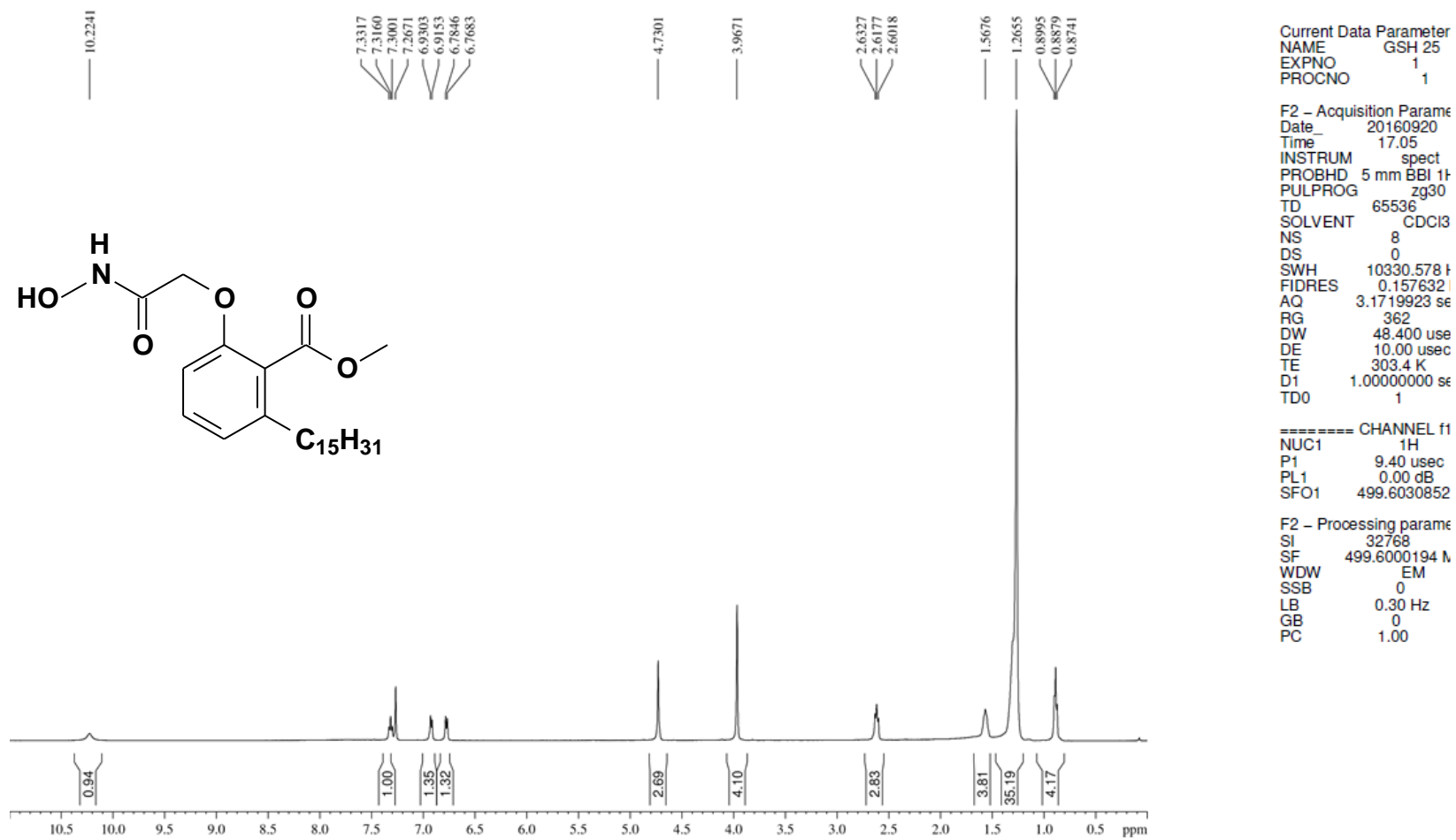
**ANEXO 35 – Espectro na região do infravermelho ( $\text{cm}^{-1}$ , KBr): Ácido 2-(2-(Carbometóxi)-3- pentadecilfenóxi)acético (LDT461, 19)**

**ANEXO 36 – Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): Ácido 2-(2-(Carbometóxi)-3- pentadecilfenóxi)acético (LDT461, 19)**


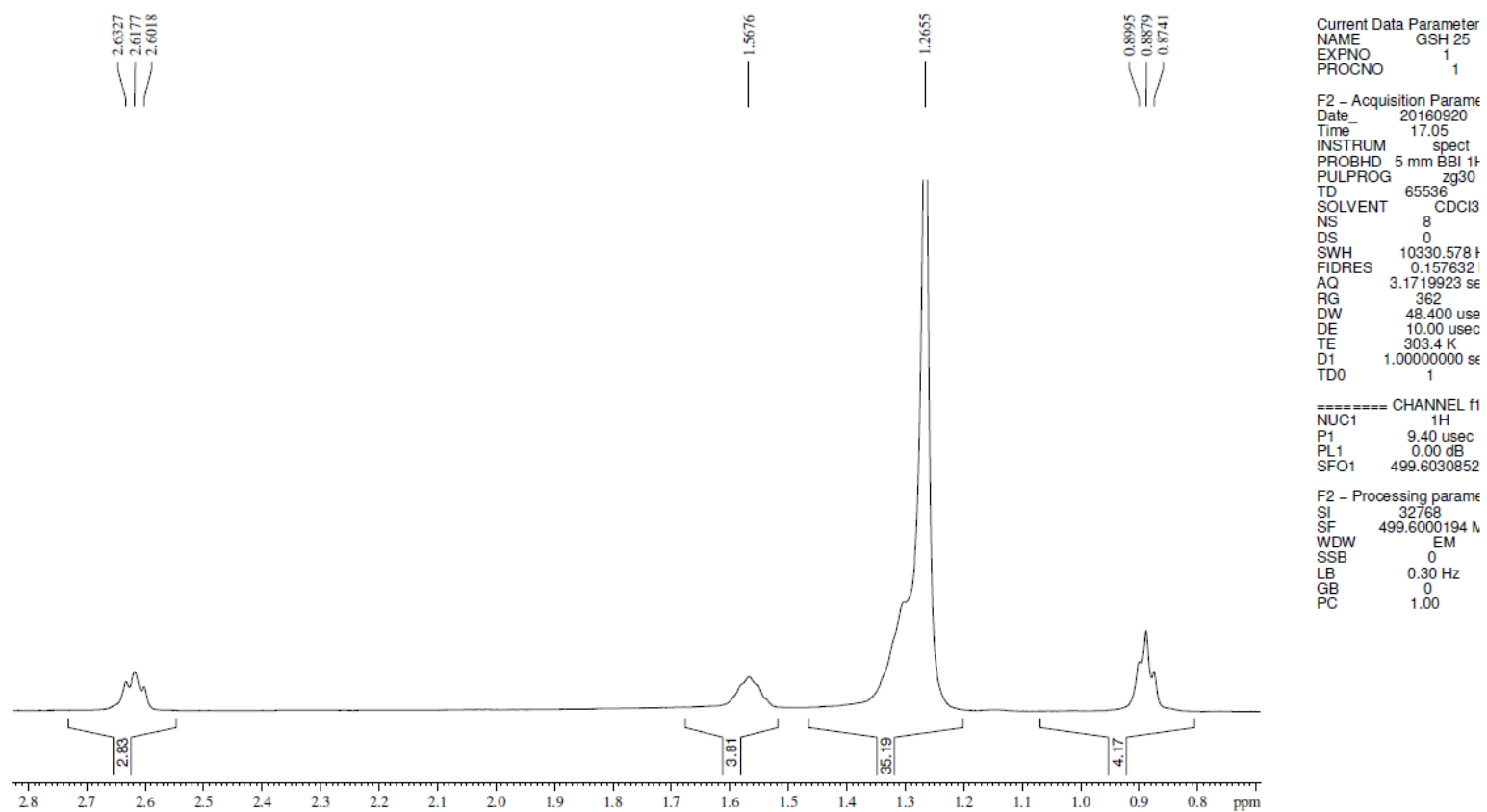
**ANEXO 37 – Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): Ácido 2-(2-(Carbometóxi)-3- pentadecilfenóxi)acético (LDT461, 19)**


**ANEXO 38 – Espectro na região do infravermelho ( $\text{cm}^{-1}$ , KBr): 2-(Hidróxicarbamoilmetóxi)-6-pentadecilbenzoato de metila (LDT462, 21)**



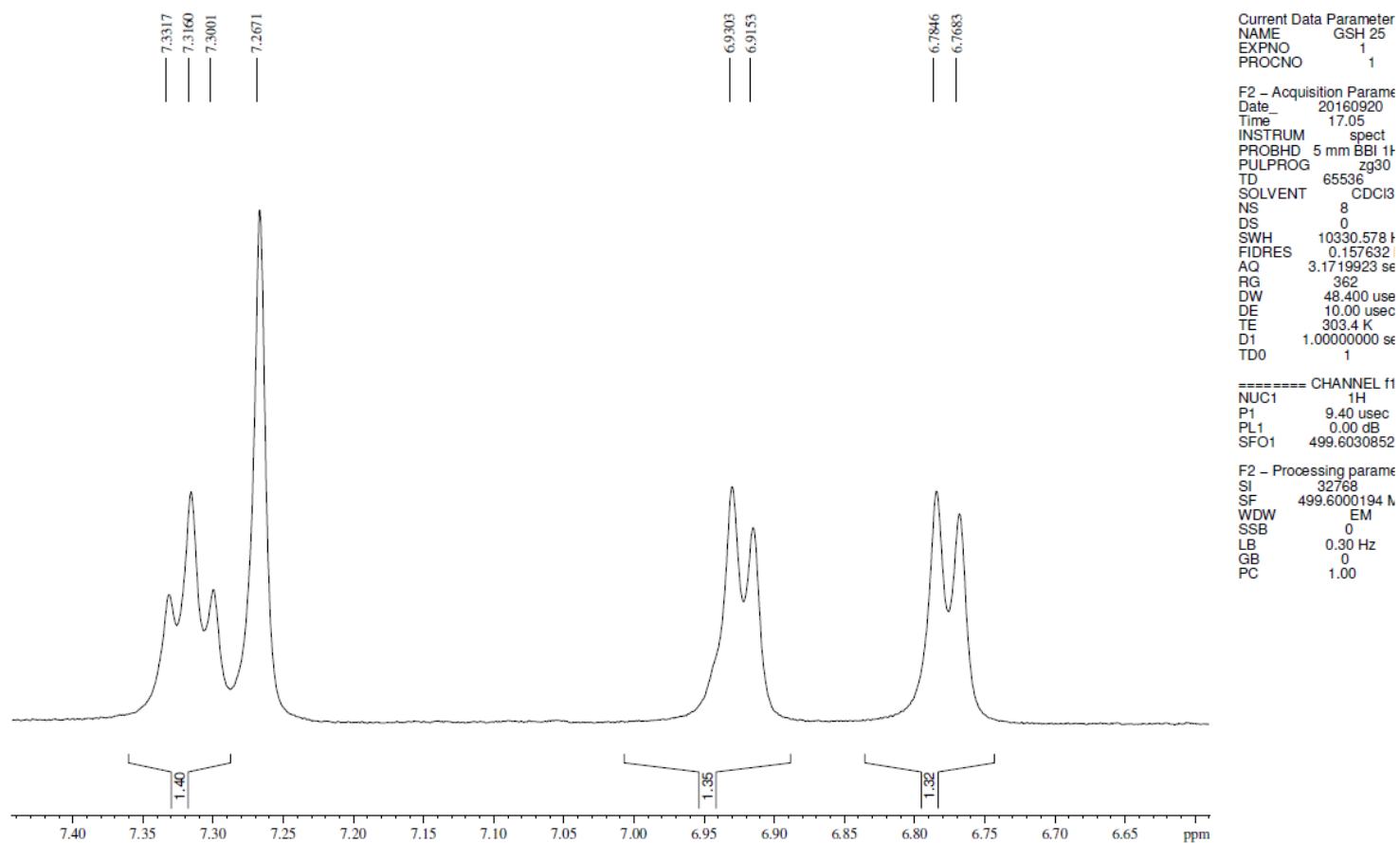
**ANEXO 39 – Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): 2-(Hidróxicarbamoilmetóxi)-6-pentadecilbenzoato de metila (LDT462, **21**)**


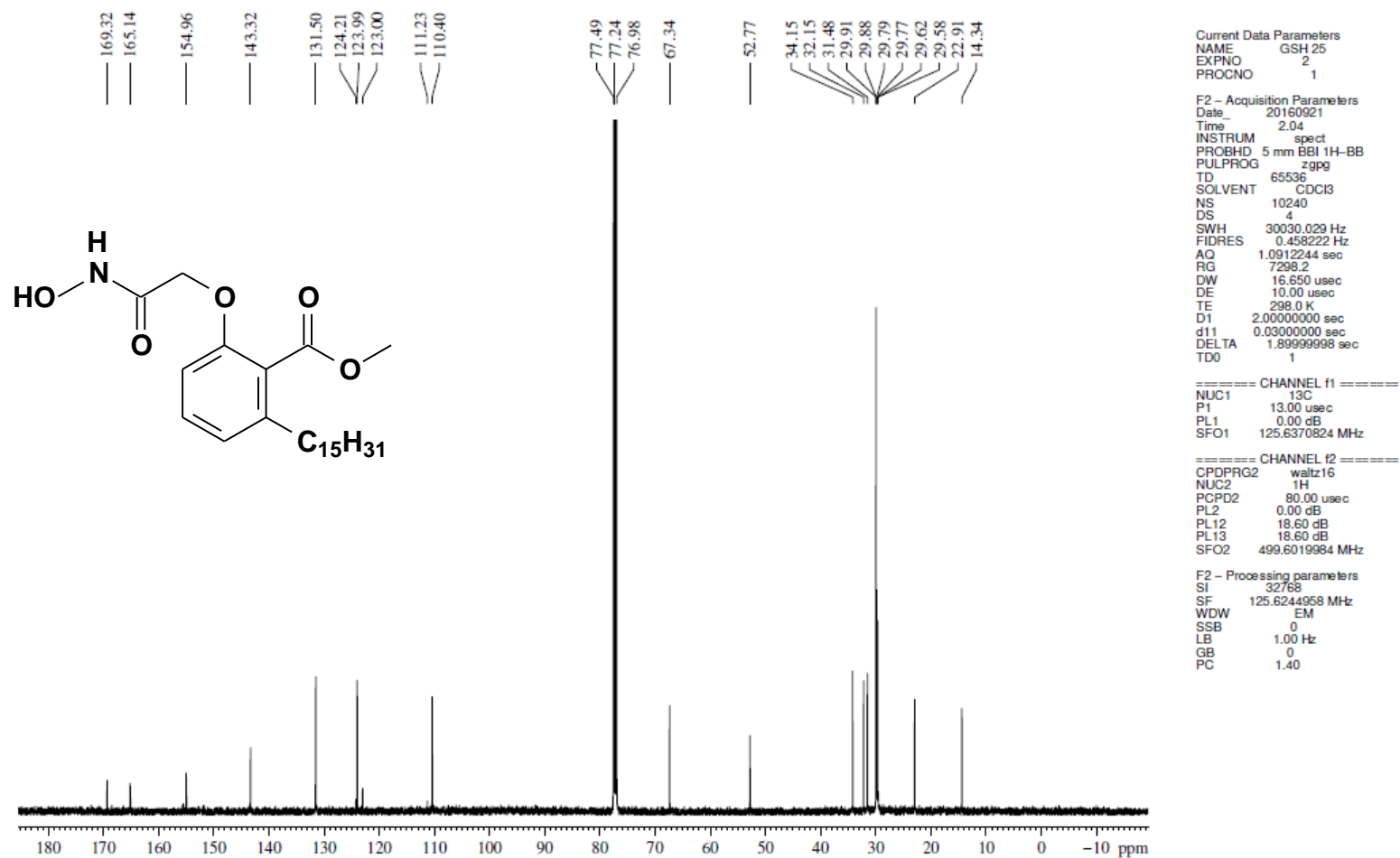
**ANEXO 40 – Expansões do Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): 2-(Hidróxicarbamoilmetóxi)-6-pentadecilbenzoato de metila (LDT462, 21)**

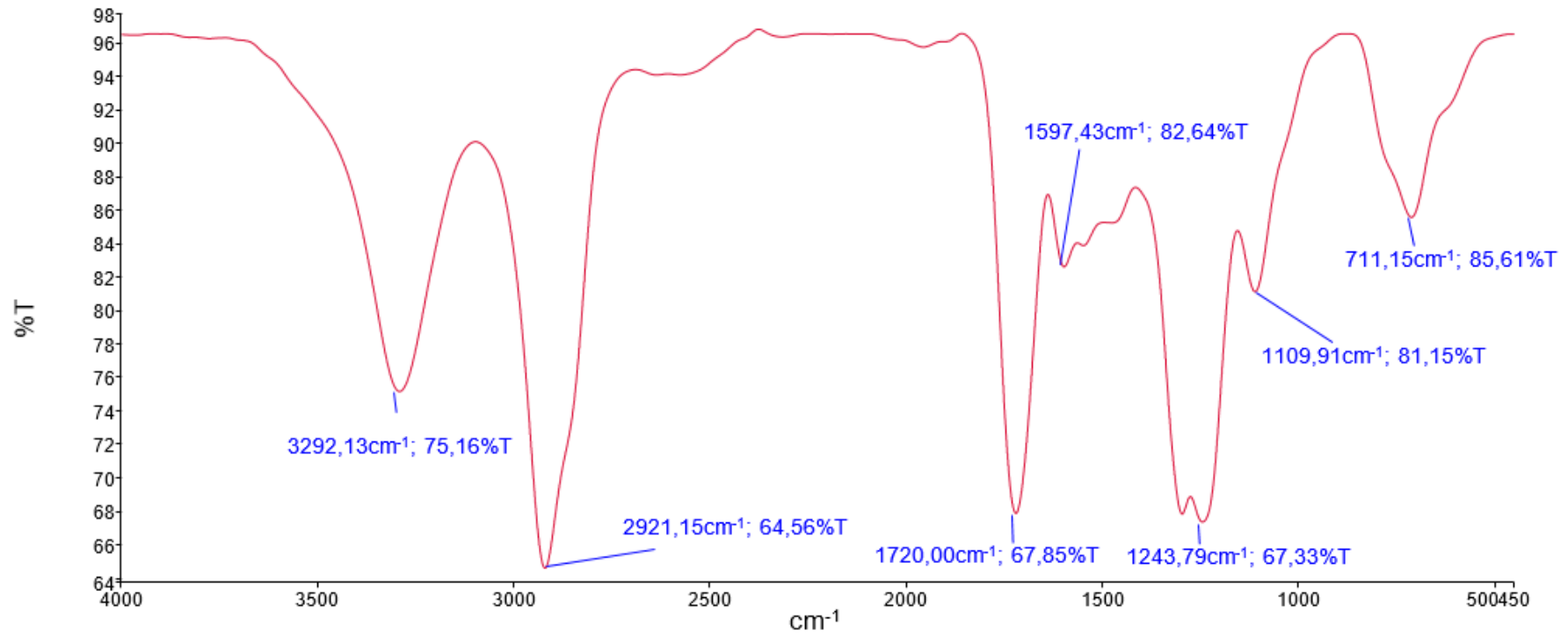
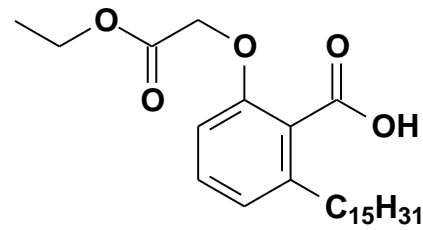


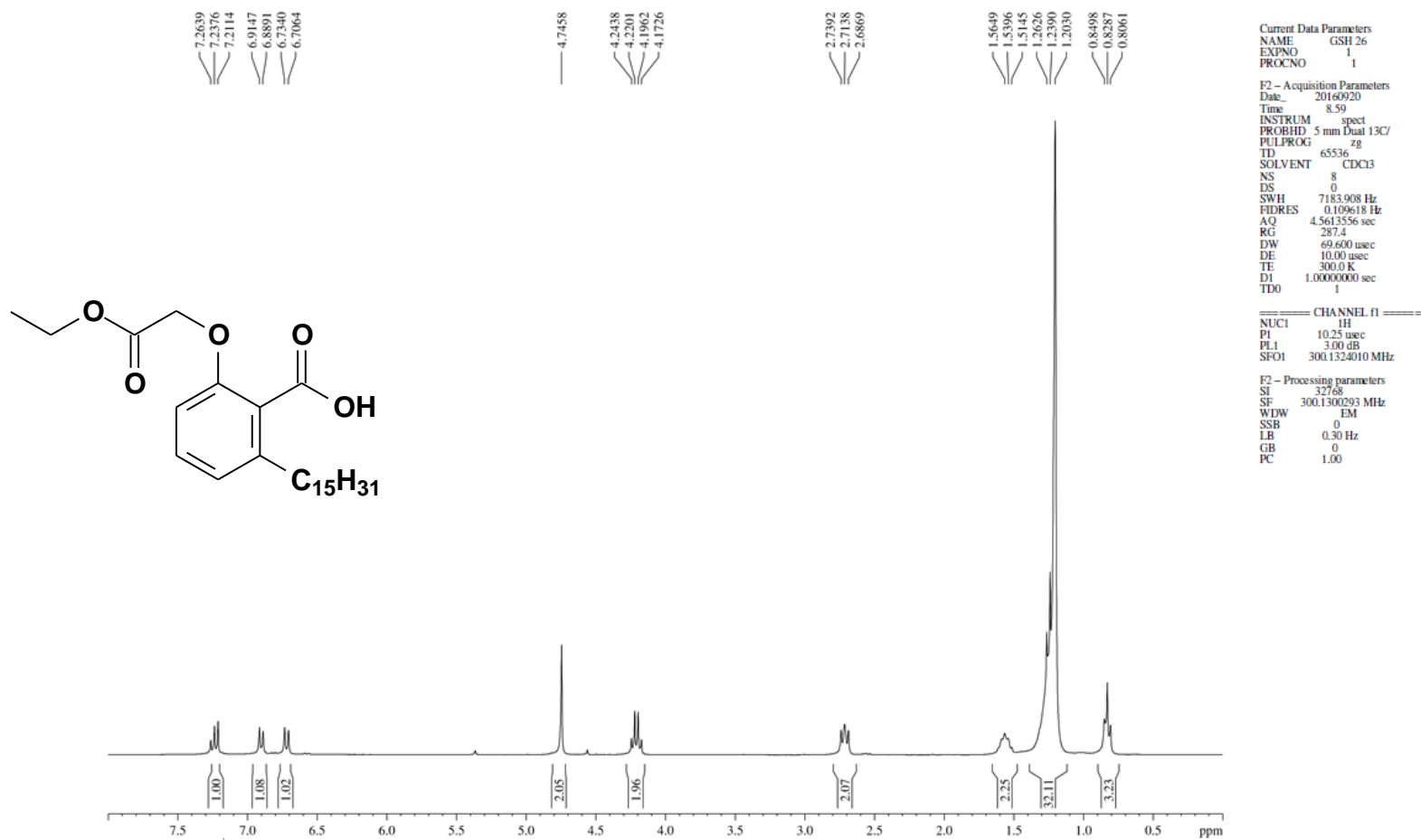


**ANEXO 41 – Expansões do Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): 2-(Hidróxicarbamoilmetóxi)-6-pentadecilbenzoato de metila (LDT462, 21)**



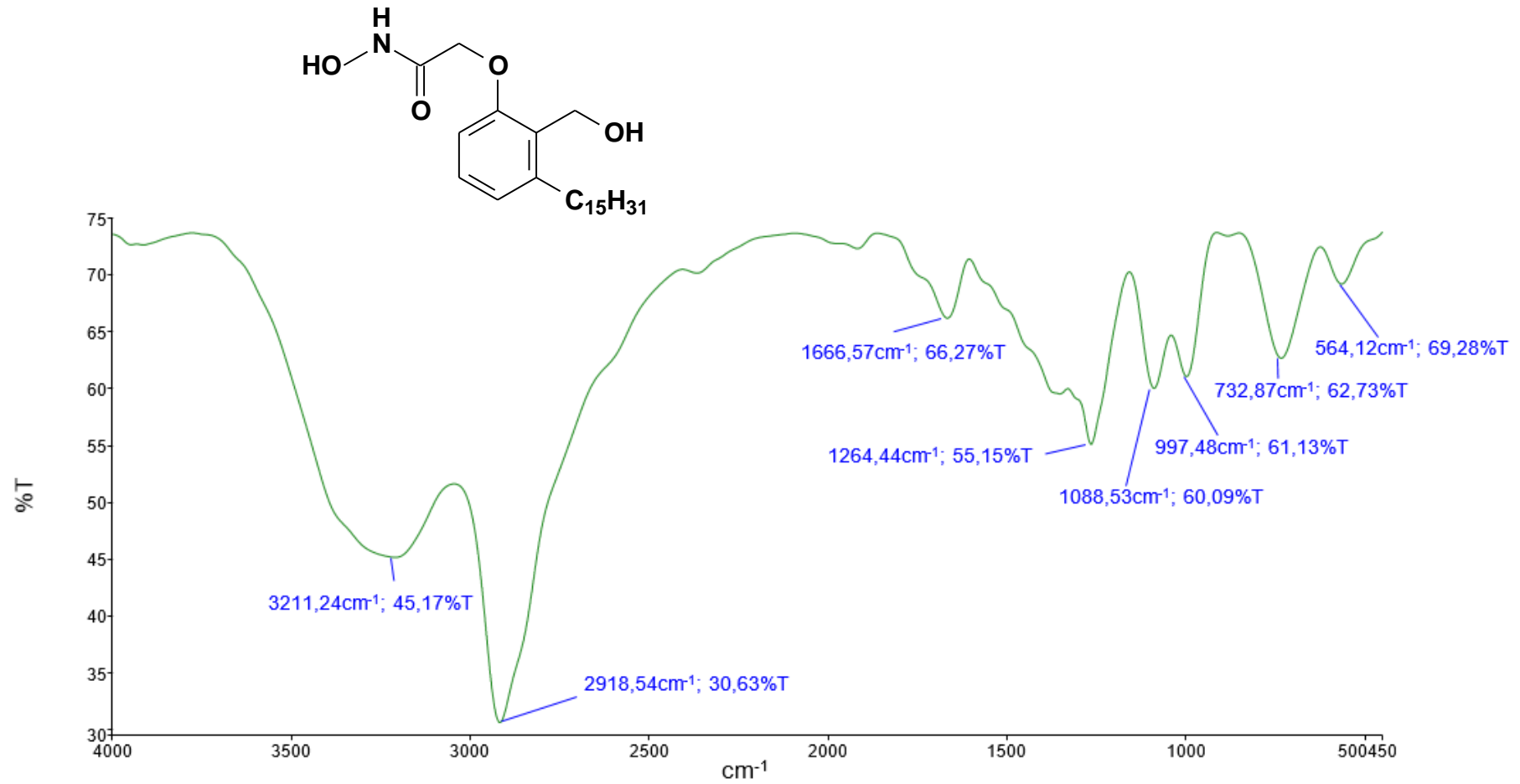
**ANEXO 42 – Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): 2-(Hidróxicarbamoilmetóxi)-6-pentadecilbenzoato de metila (LDT462, 21)**


**ANEXO 43**– Espectro na região do infravermelho ( $\text{cm}^{-1}$ , KBr): Ácido 2-(2-Carbetóximetóxi)-6-pentadecilbenzóico (LDT463, **22**)

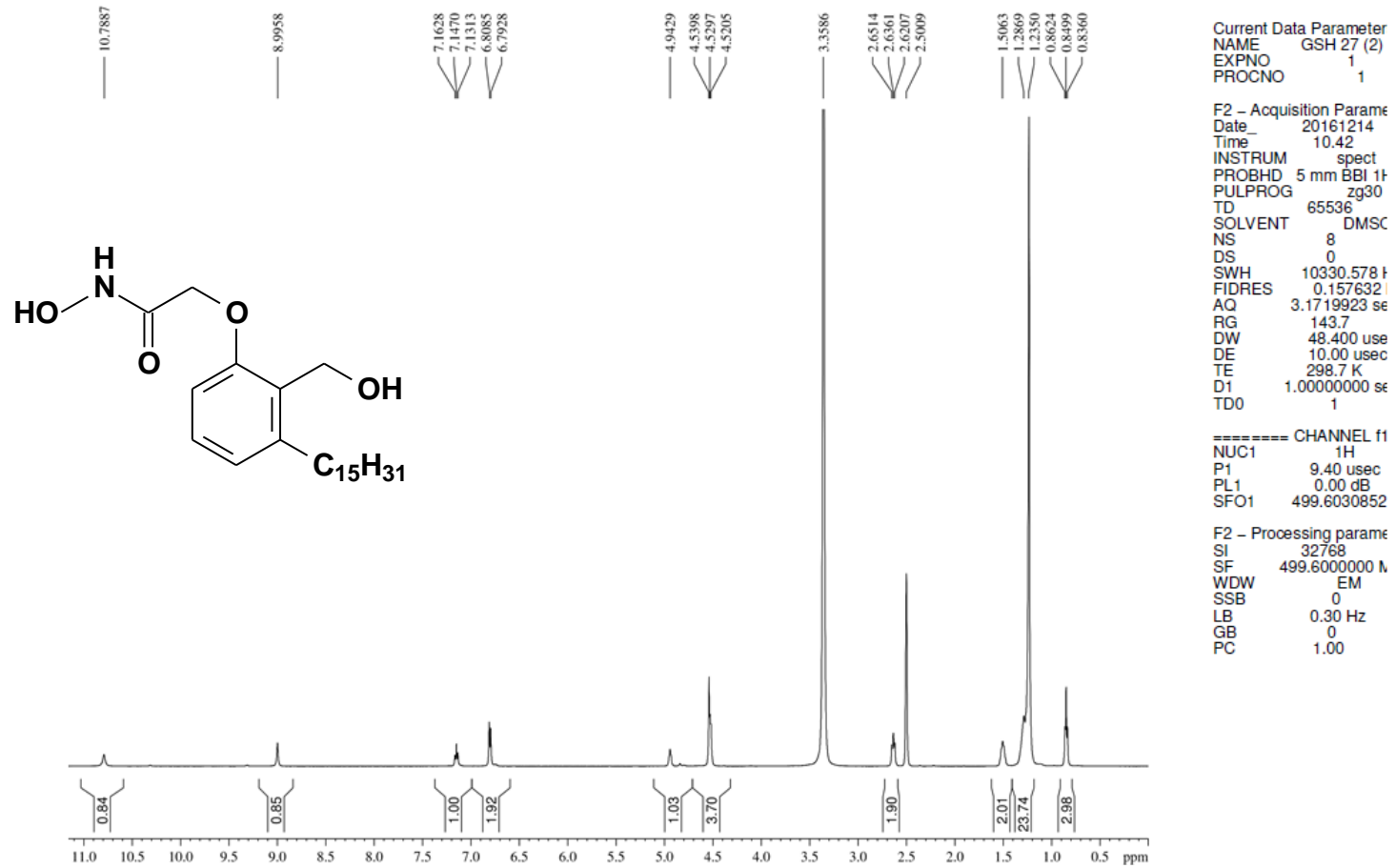
**ANEXO 44 – Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): Ácido 2-(2-Carbetóximetóxi)-6-pentadecilbenzóico (LDT463, **22**)**




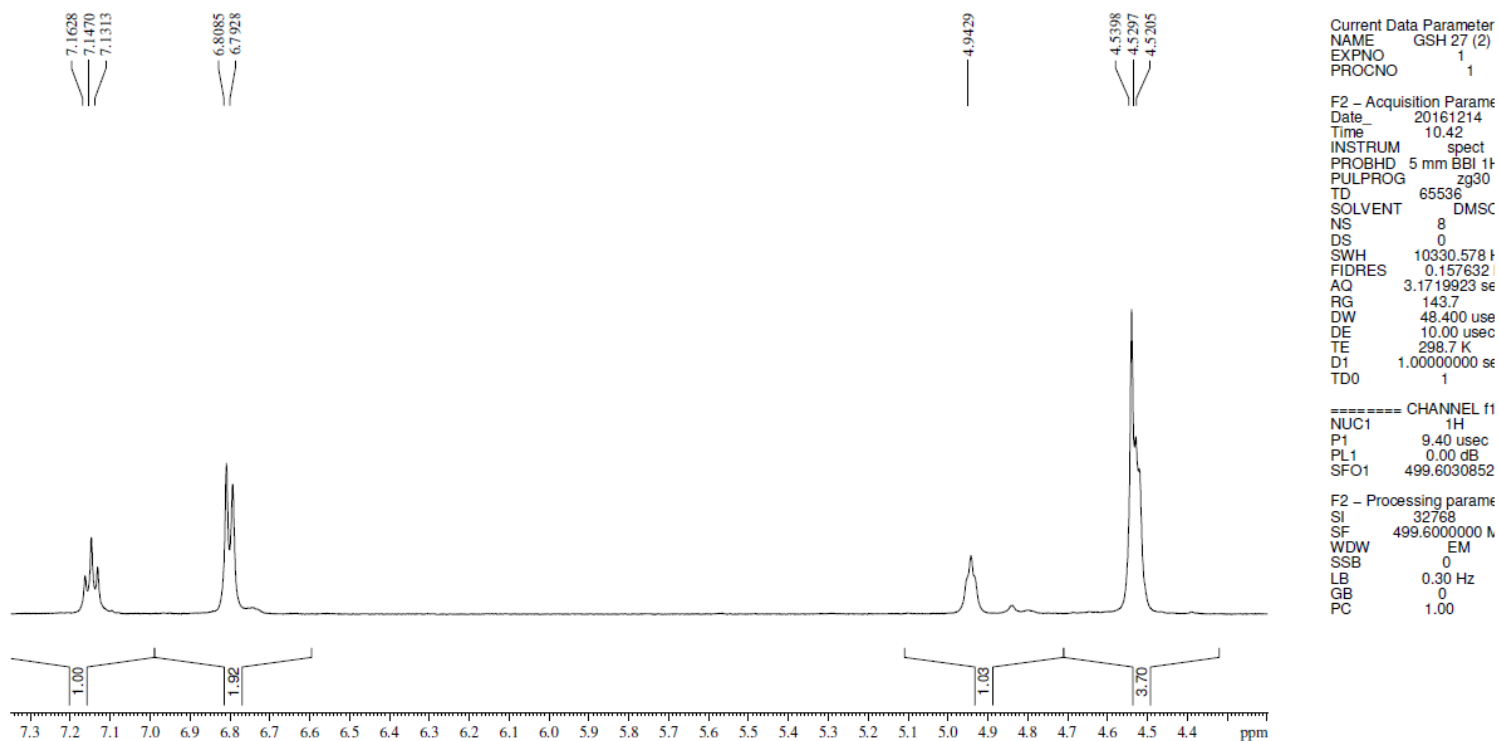
**ANEXO 46**– Espectro na região do infravermelho ( $\text{cm}^{-1}$ , KBr): N-Hidróxi-2-(2-(hidróximetil)-3-pentadecilfenóxi)acetamida (LDT459, 23)



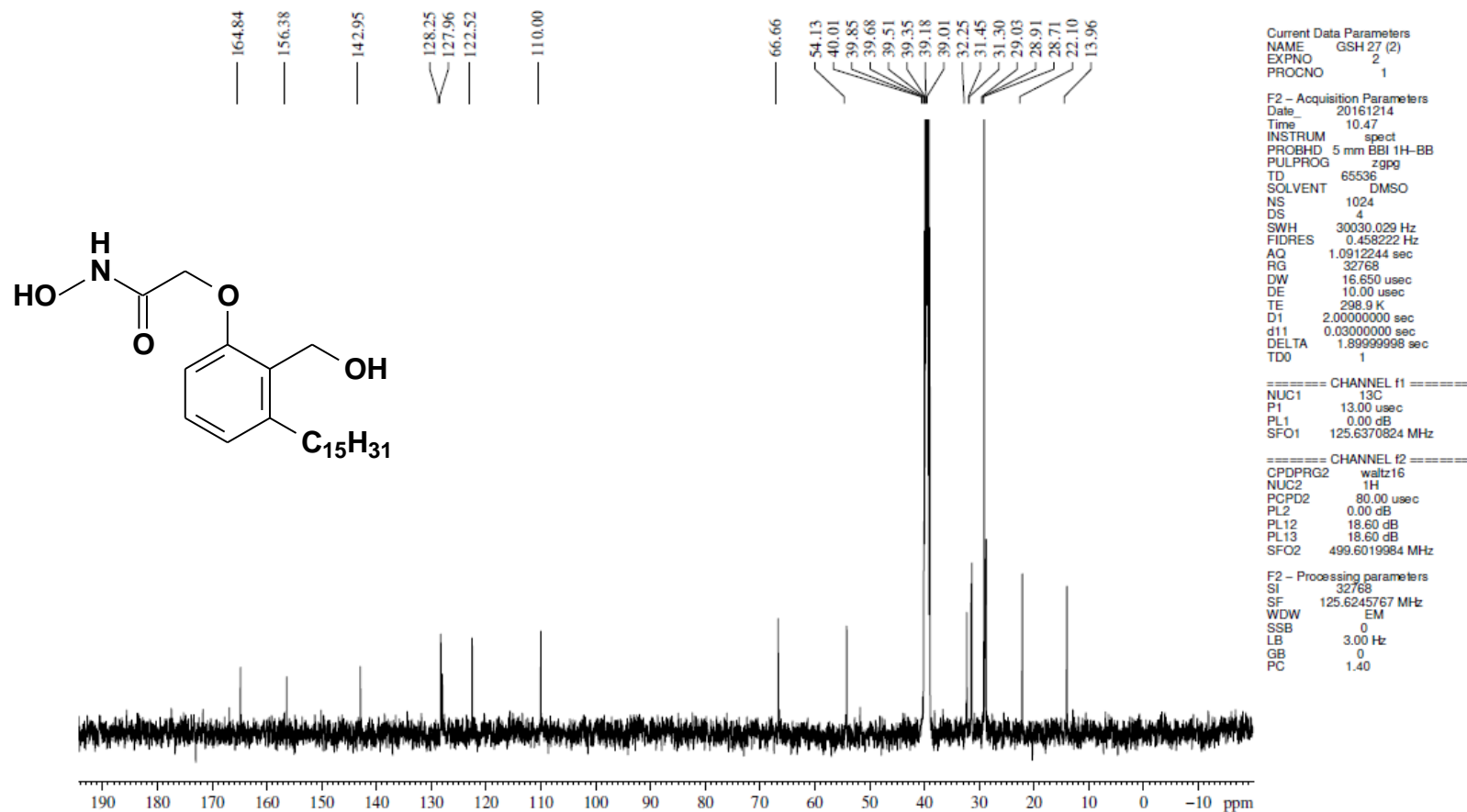
**ANEXO 47 – Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (500 MHz, DMSO): *N*-Hidróxi-2-(2-(hidróximetil)-3-pentadecilfenóxi)acetamida (LDT459, 23)**

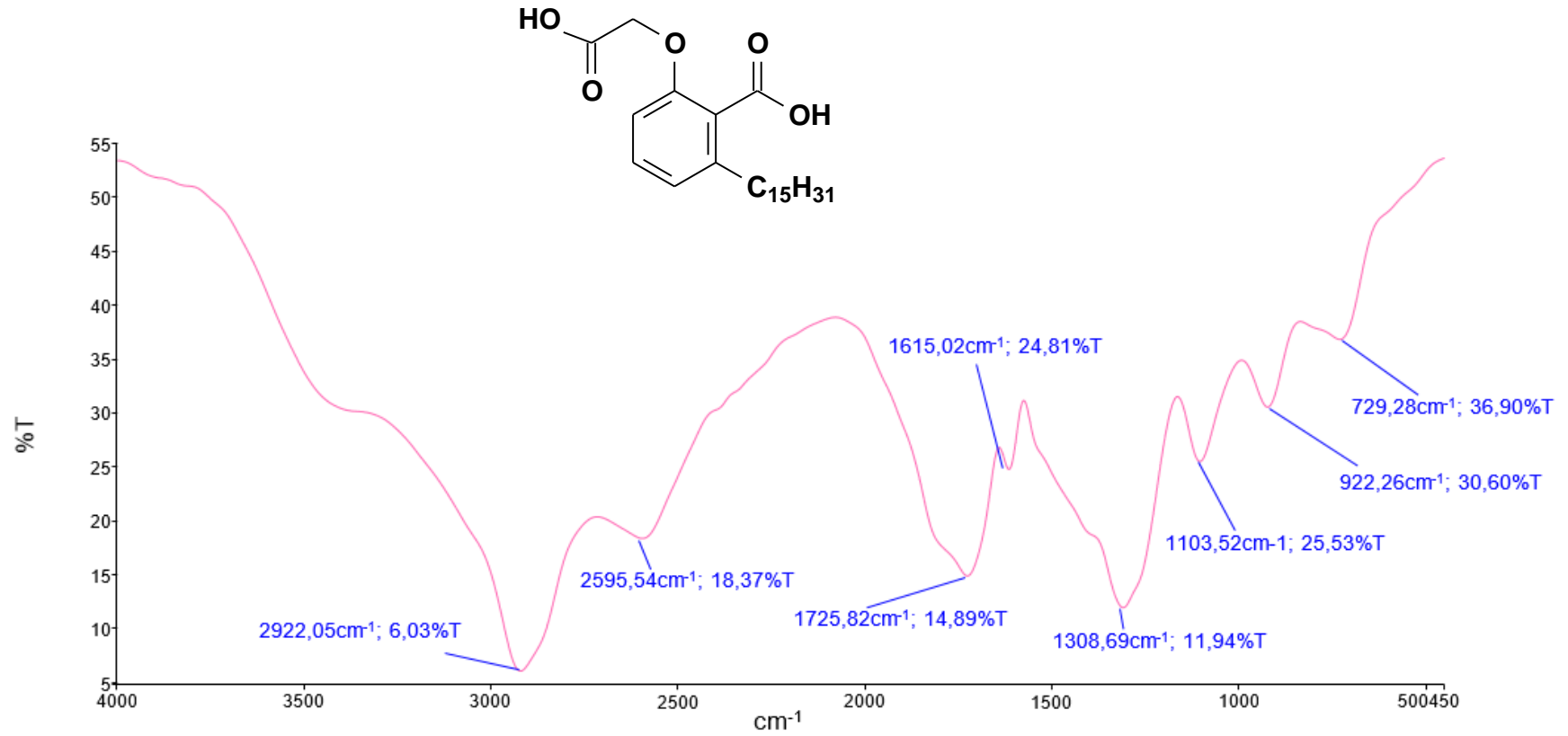


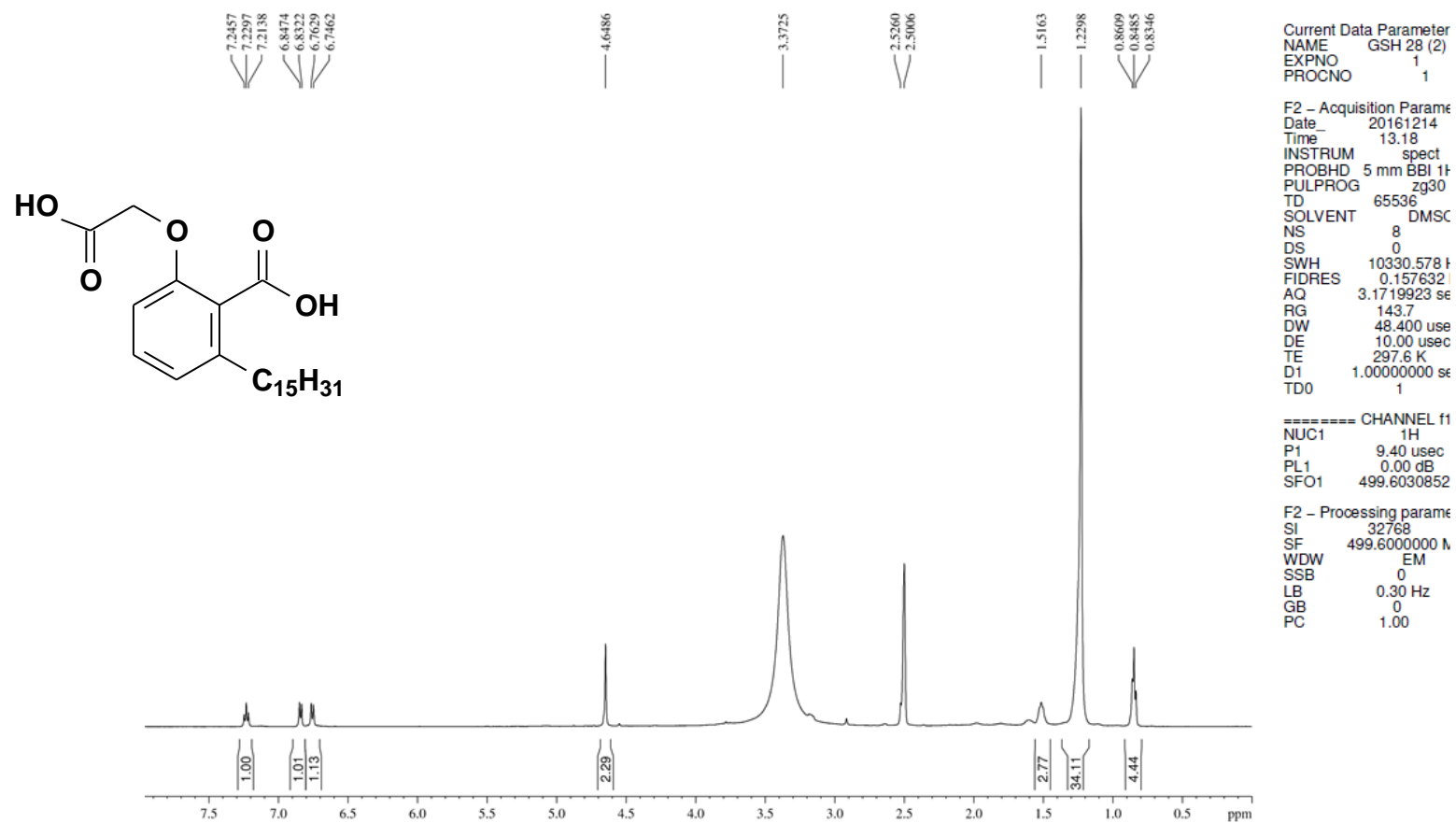
**ANEXO 48 – Expansões do Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (500 MHz, DMSO): *N*-Hidróxi-2-(2-(hidróximetil)-3-pentadecilfenóxiacetamida (LDT459, 23)**



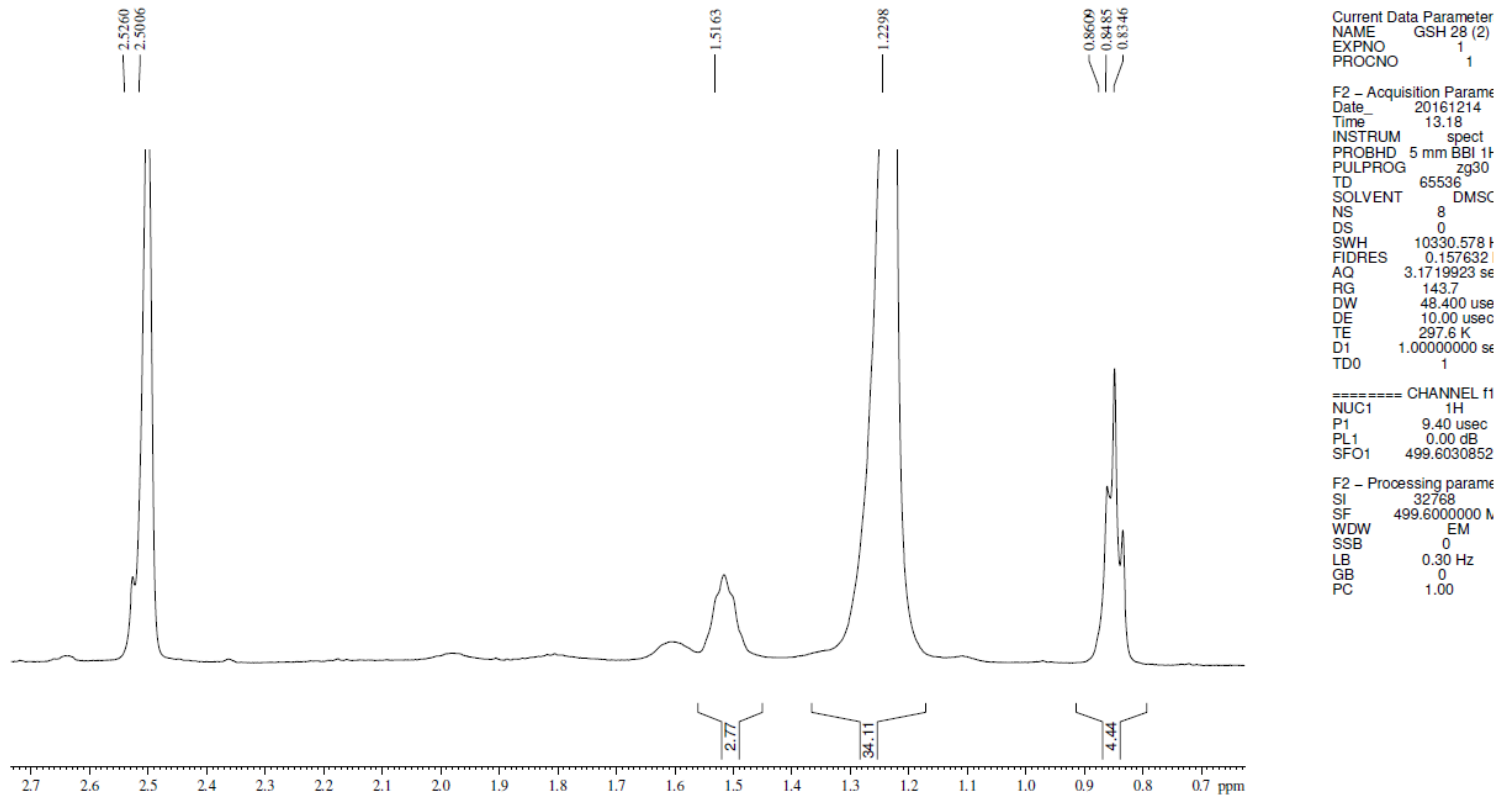


**ANEXO 49 – Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (125 MHz, DMSO): *N*-Hidróxi-2-(2-(hidróximetil)-3-pentadecilfenóxi)acetamida (LDT459, 23)**


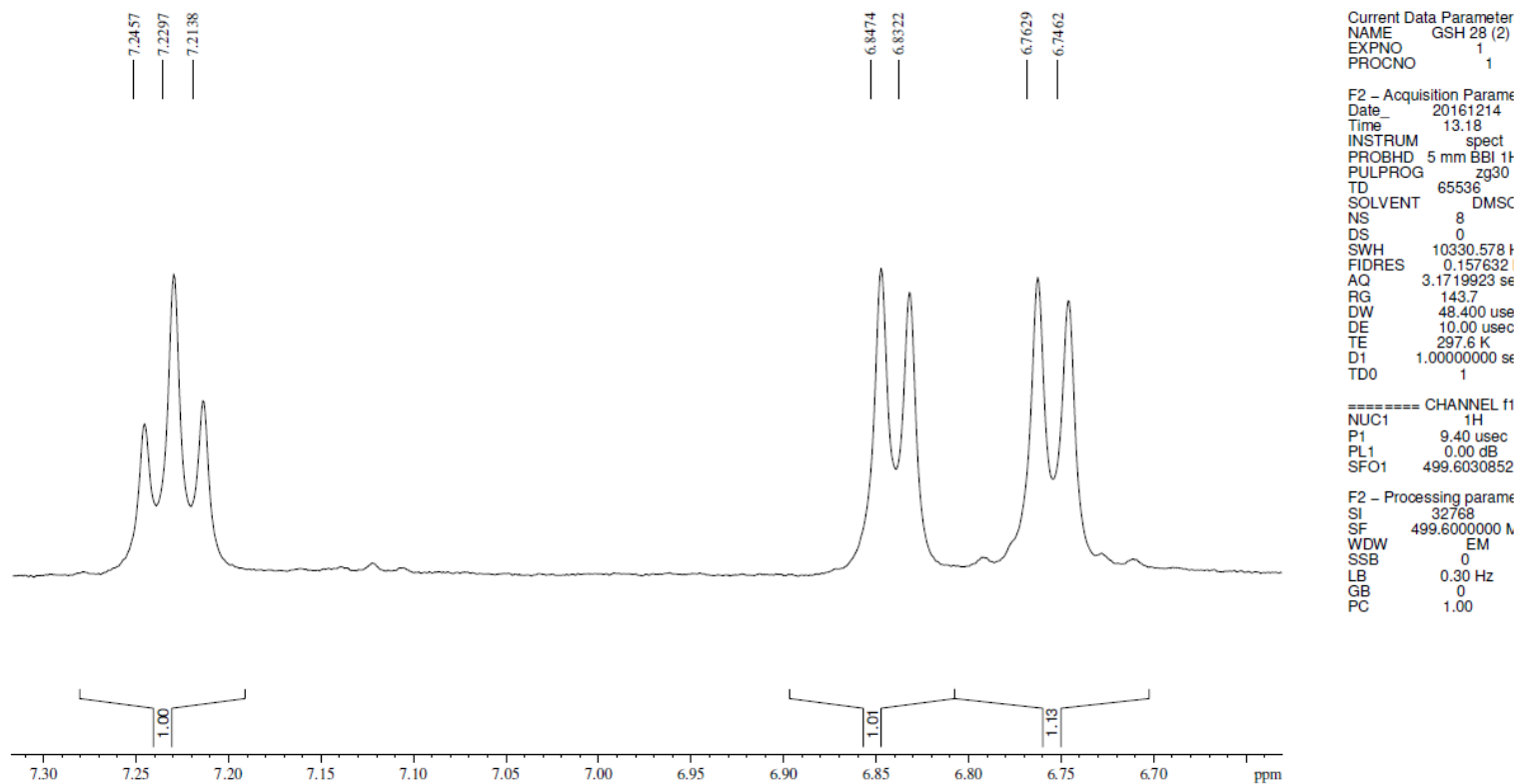
**ANEXO 50–** Espectro na região do infravermelho ( $\text{cm}^{-1}$ , KBr): Ácido 2-(Carboximetóxi)-6-pentadecilbenzóico (LDT464, **24**)

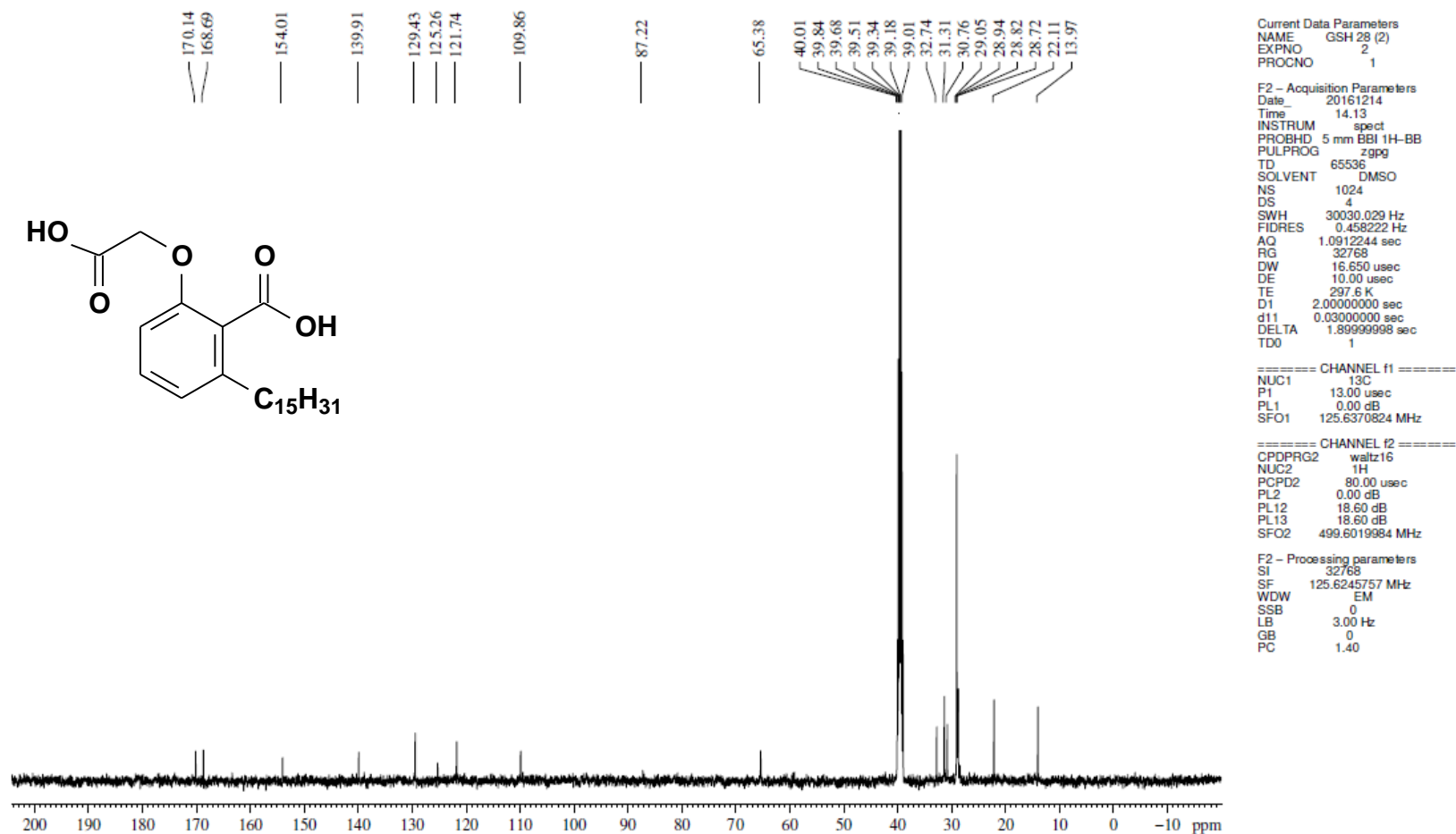
**ANEXO 51 – Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (500 MHz, DMSO): Ácido 2-(Carboximetóxi)-6-pentadecilbenzóico (LDT464, **24**)**


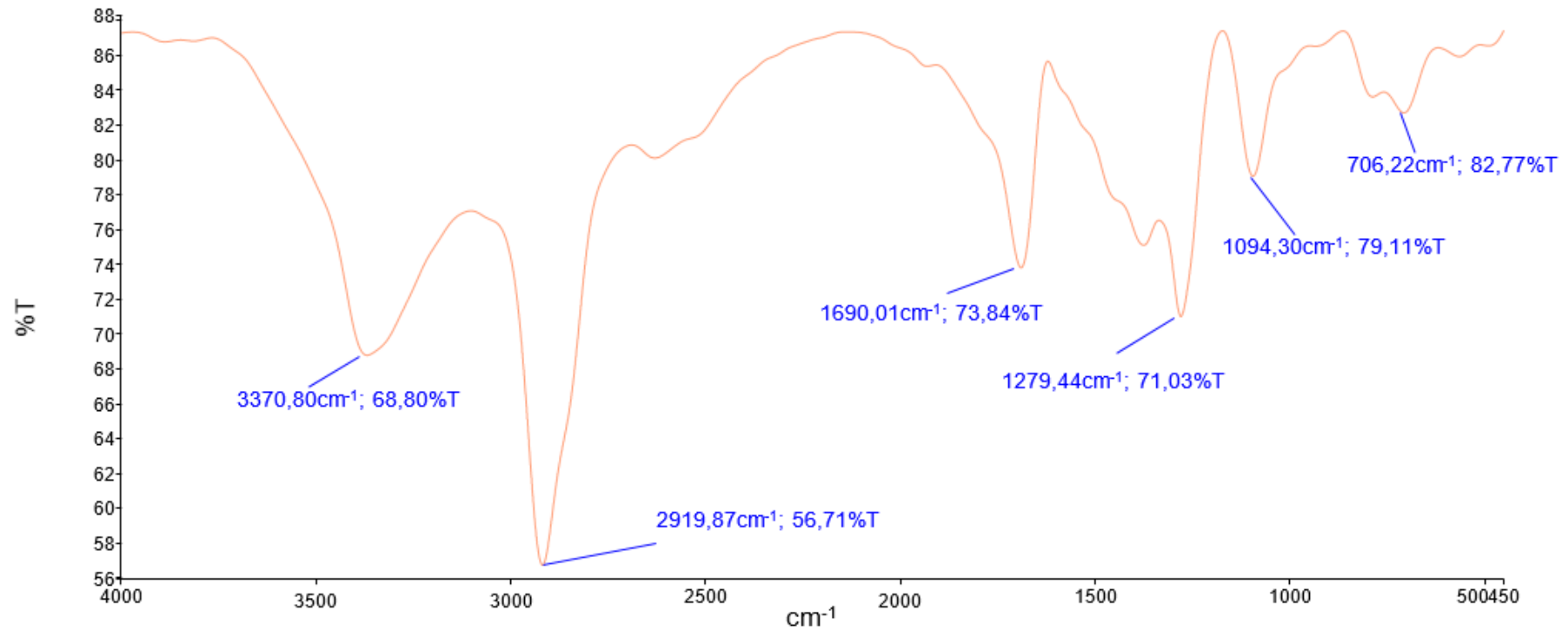
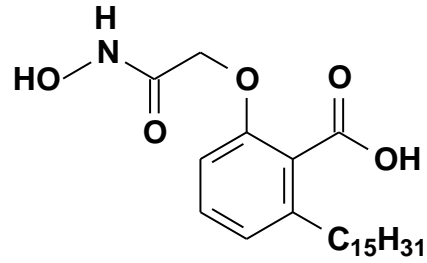
**ANEXO 52 – Expansões do Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (500 MHz, DMSO): Ácido 2-(Carboximetóxi)-6-pentadecilbenzóico (LDT464, 24)**

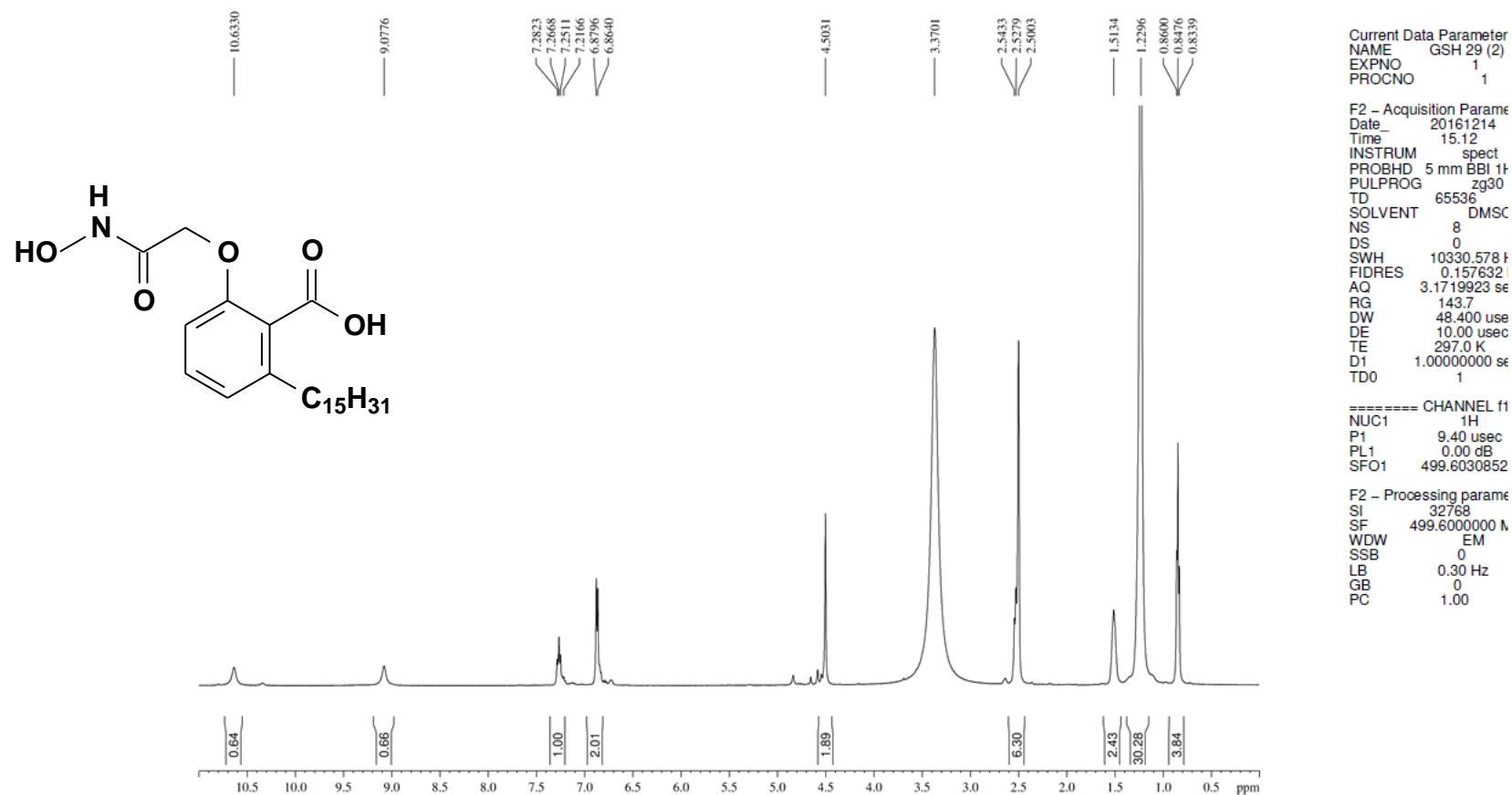


**ANEXO 53 – Expansões do Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (500 MHz, DMSO): Ácido 2-(Carboximetóxi)-6-pentadecilbenzóico (LDT464, 24)**



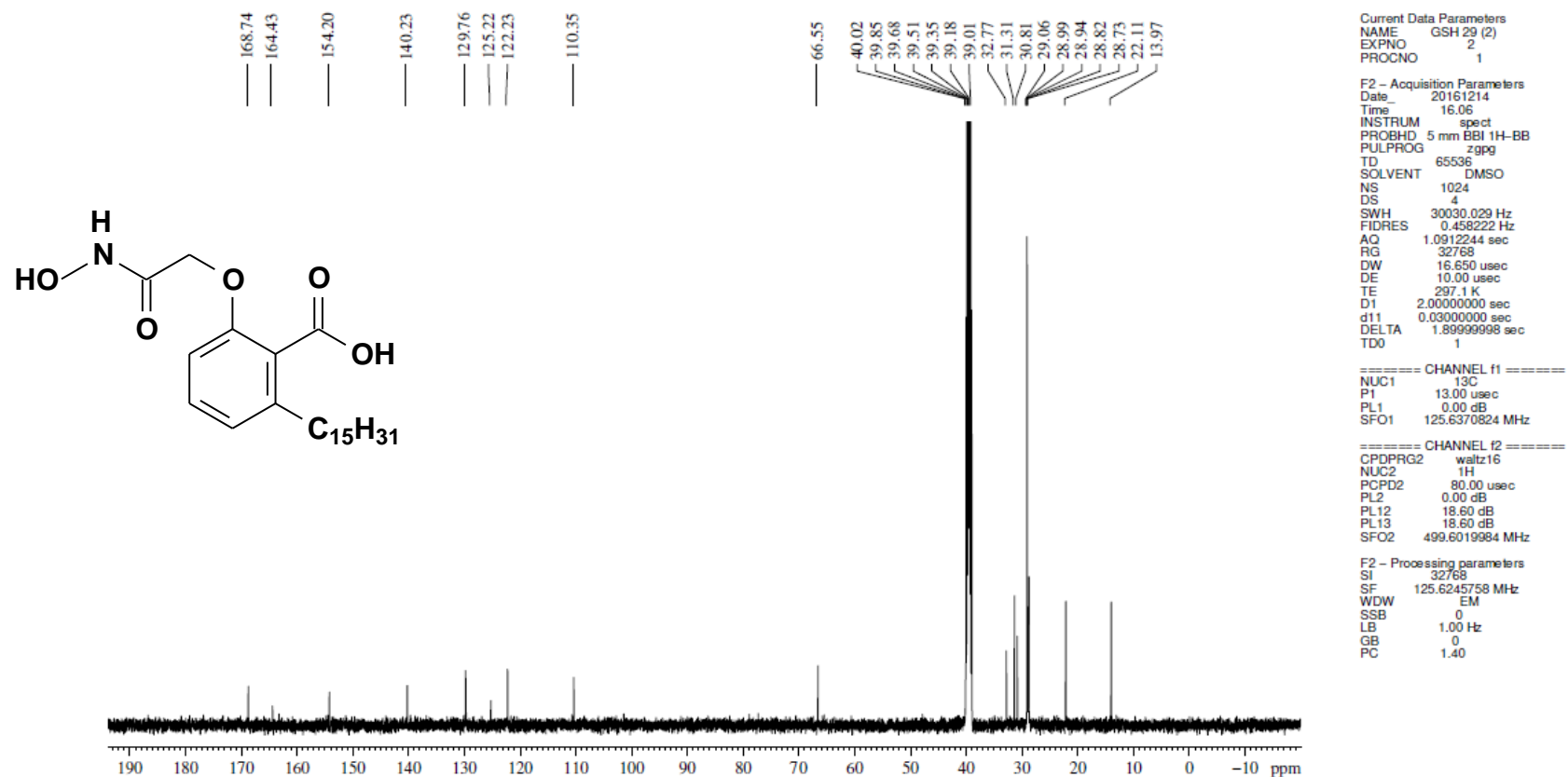
**ANEXO 54 – Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (125 MHz, DMSO): Ácido 2-(Carboximetóxi)-6-pentadecilbenzóico (LDT464, **24**)**


**ANEXO 55**– Espectro na região do infravermelho ( $\text{cm}^{-1}$ , KBr): Ácido 2-(Hidróxicarbamoilmetóxi)-6-pentadecilbenzóico (LDT465, **25**)

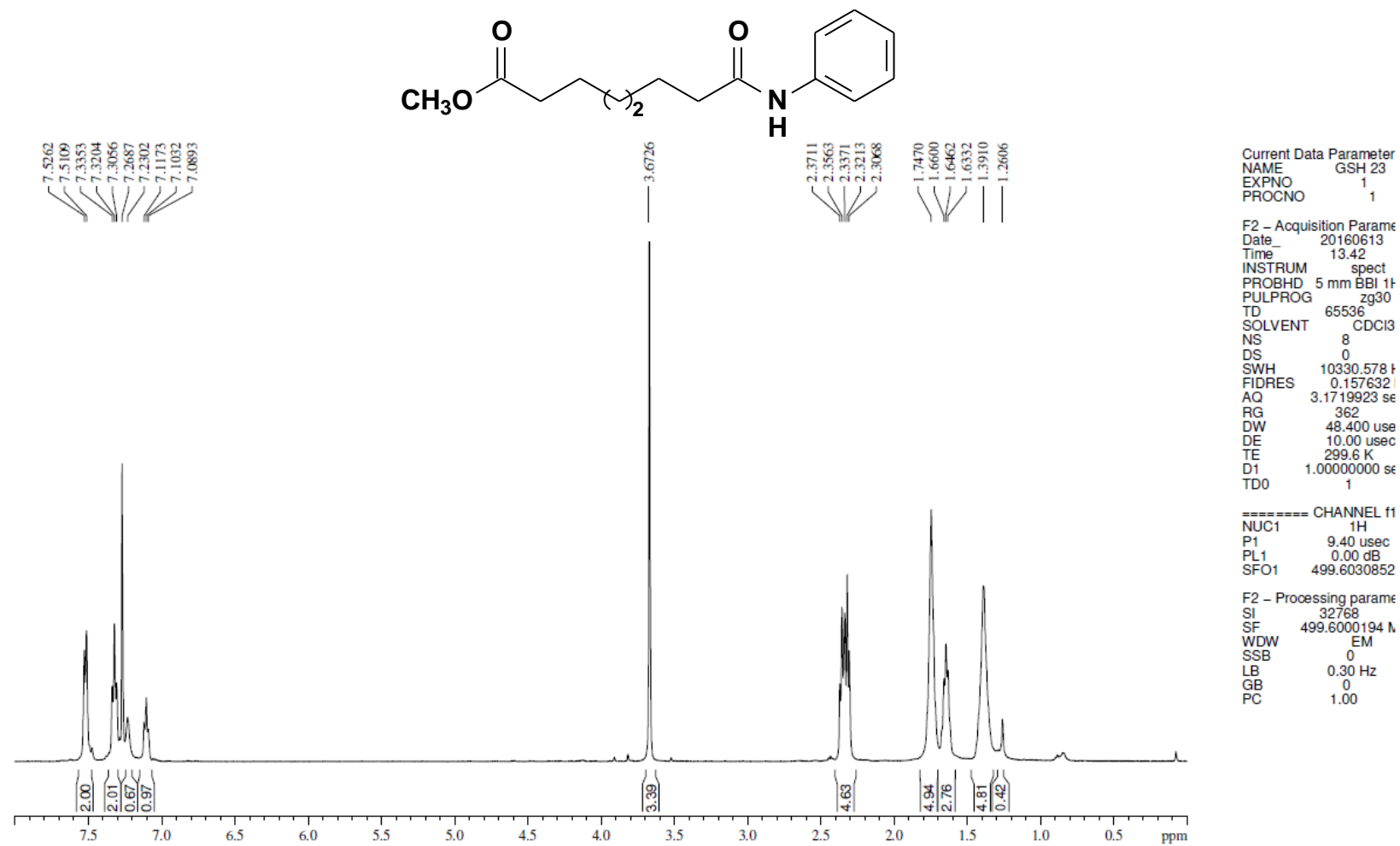
**ANEXO 56 – Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (500 MHz, DMSO): Ácido 2-(Hidróxicarbamoilmetóxi)-6-pentadecilbenzóico (LDT465, 25)**




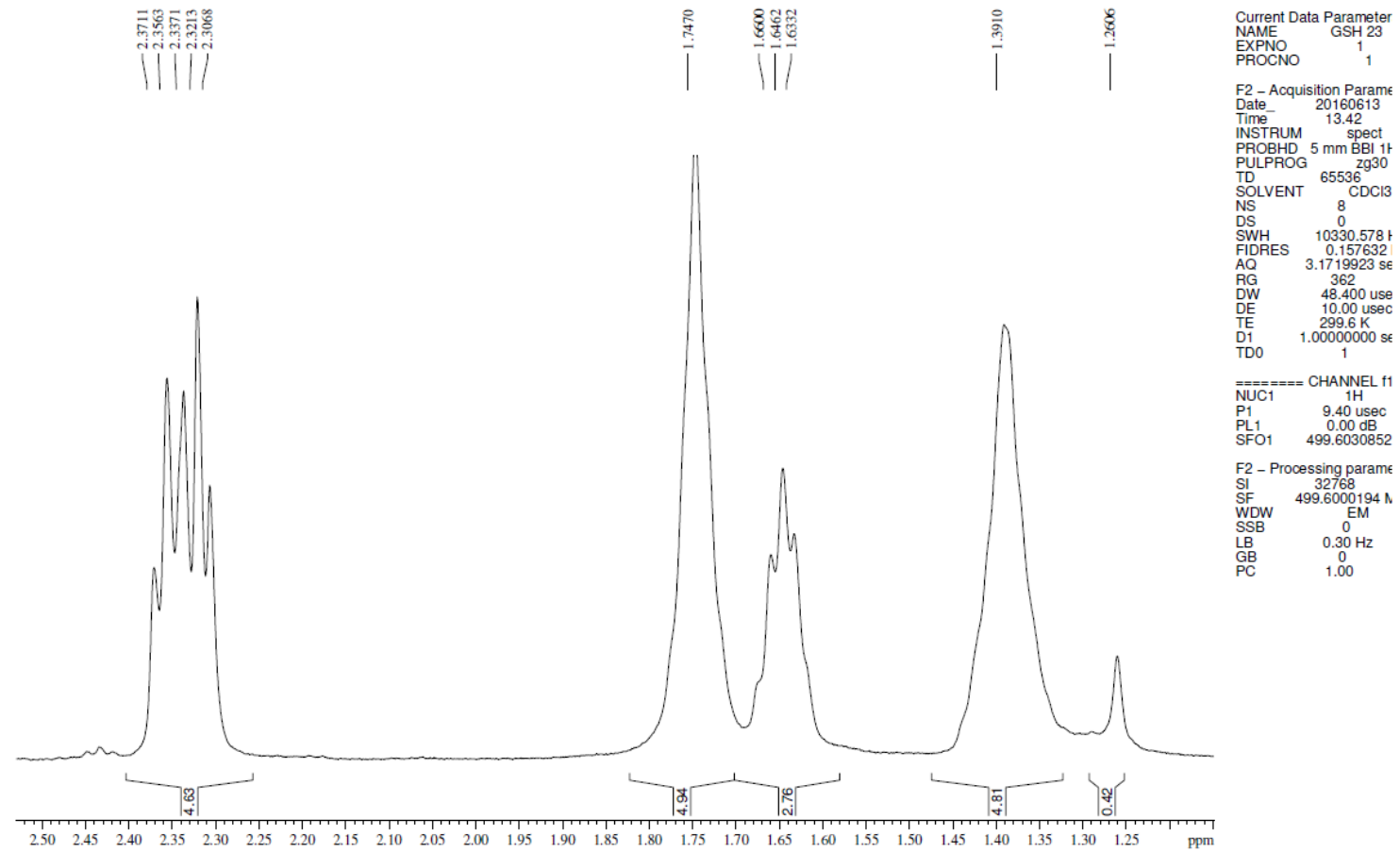
**ANEXO 57 – Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (125 MHz, DMSO): Ácido 2-(Hidróxicarbamoilmetóxi)-6-pentadecilbenzóico (LDT465, 25)**



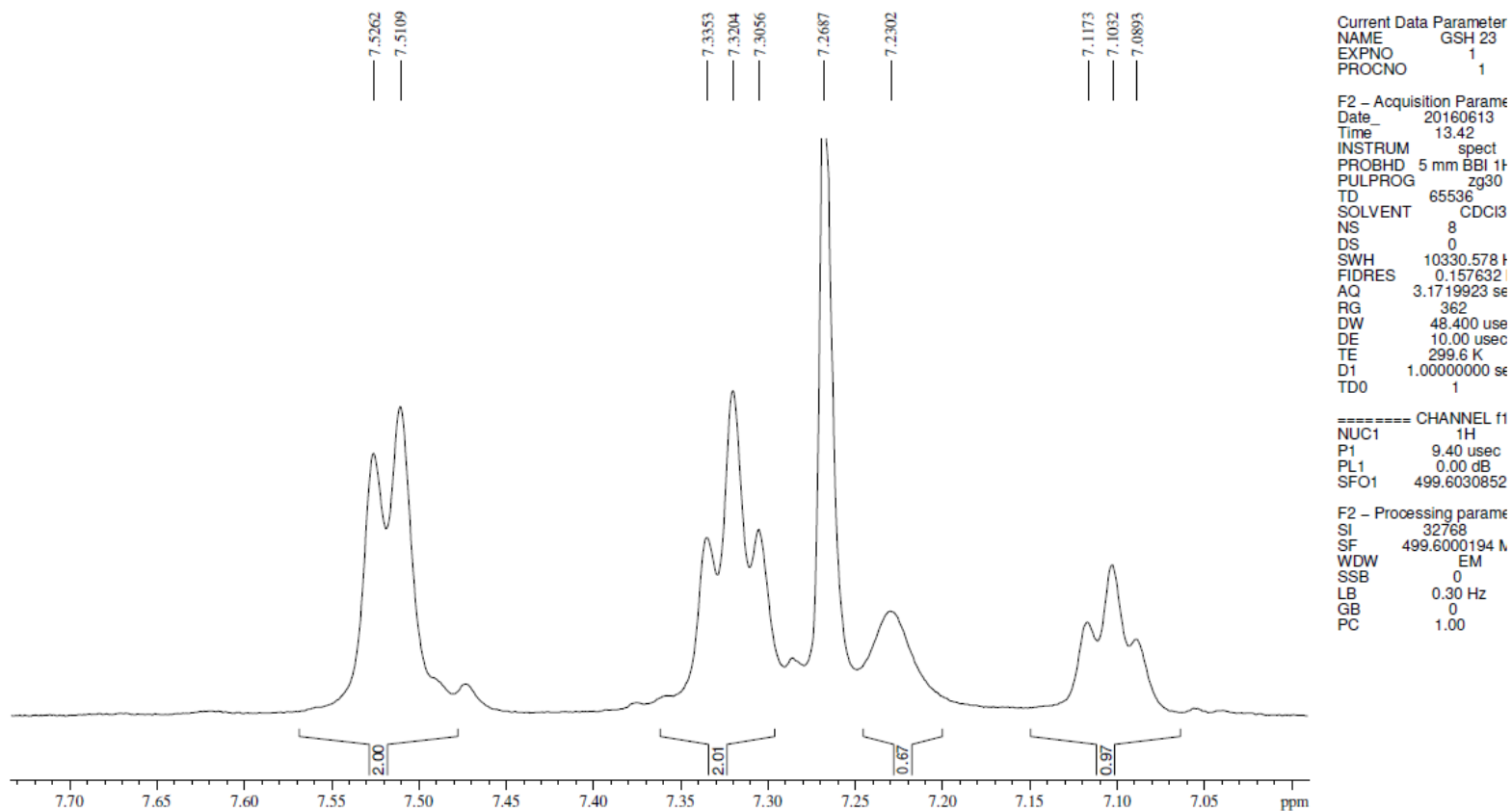
**ANEXO 58 – Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): Éster metil 7-(fenilcarbamoi)heptanoato (intermediário do SAHA)**

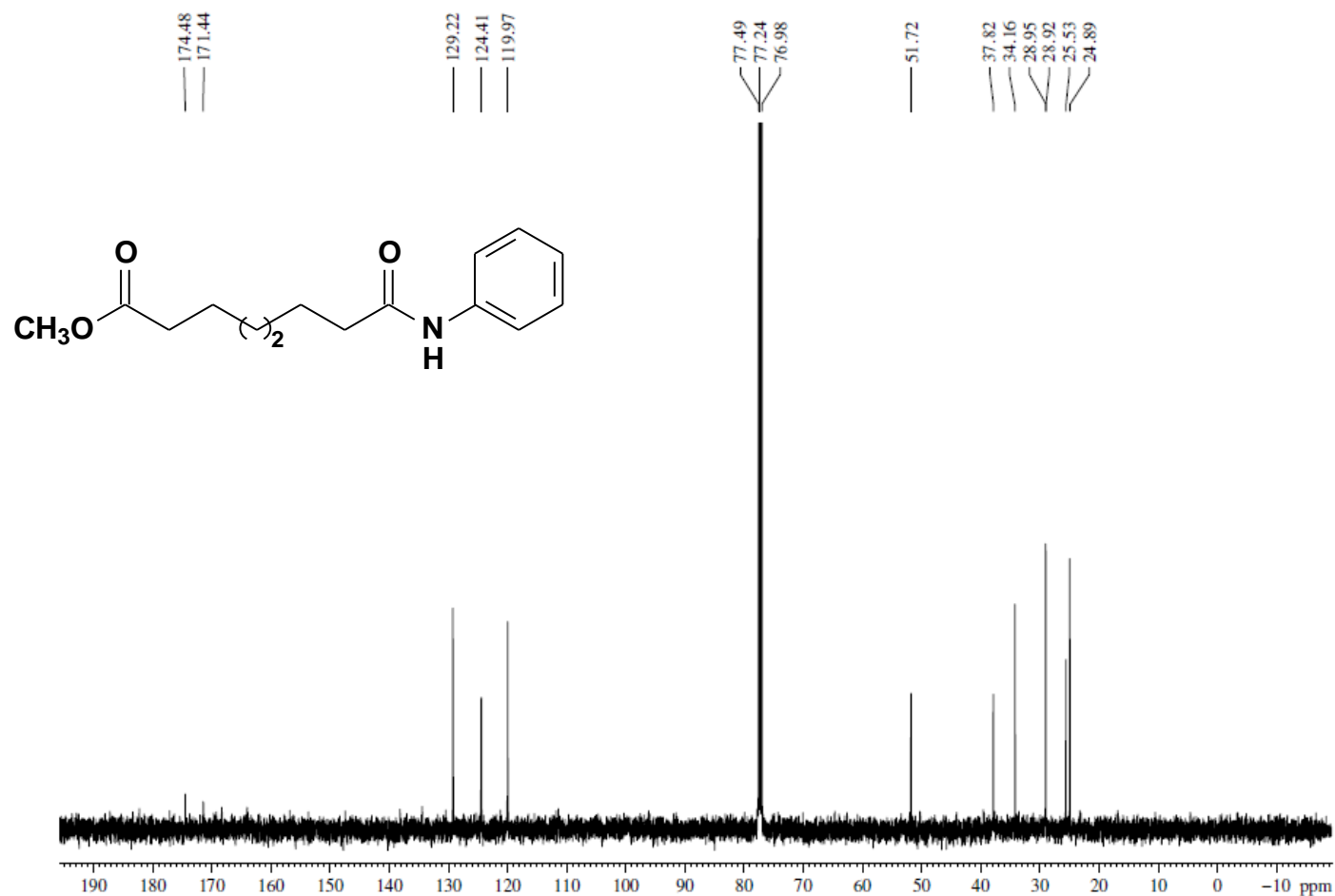


**ANEXO 59** – Expansões do Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): Éster metil 7-(fenilcarbamoil)heptanoato (intermediário do SAHA)



**ANEXO 60** – Expansões do Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): Éster metil 7-(fenilcarbamoil)heptanoato (intermediário do SAHA)



**ANEXO 61 – Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): Éster metil 7-(fenilcarbamoil)heptanoato (intermediário do SAHA)**


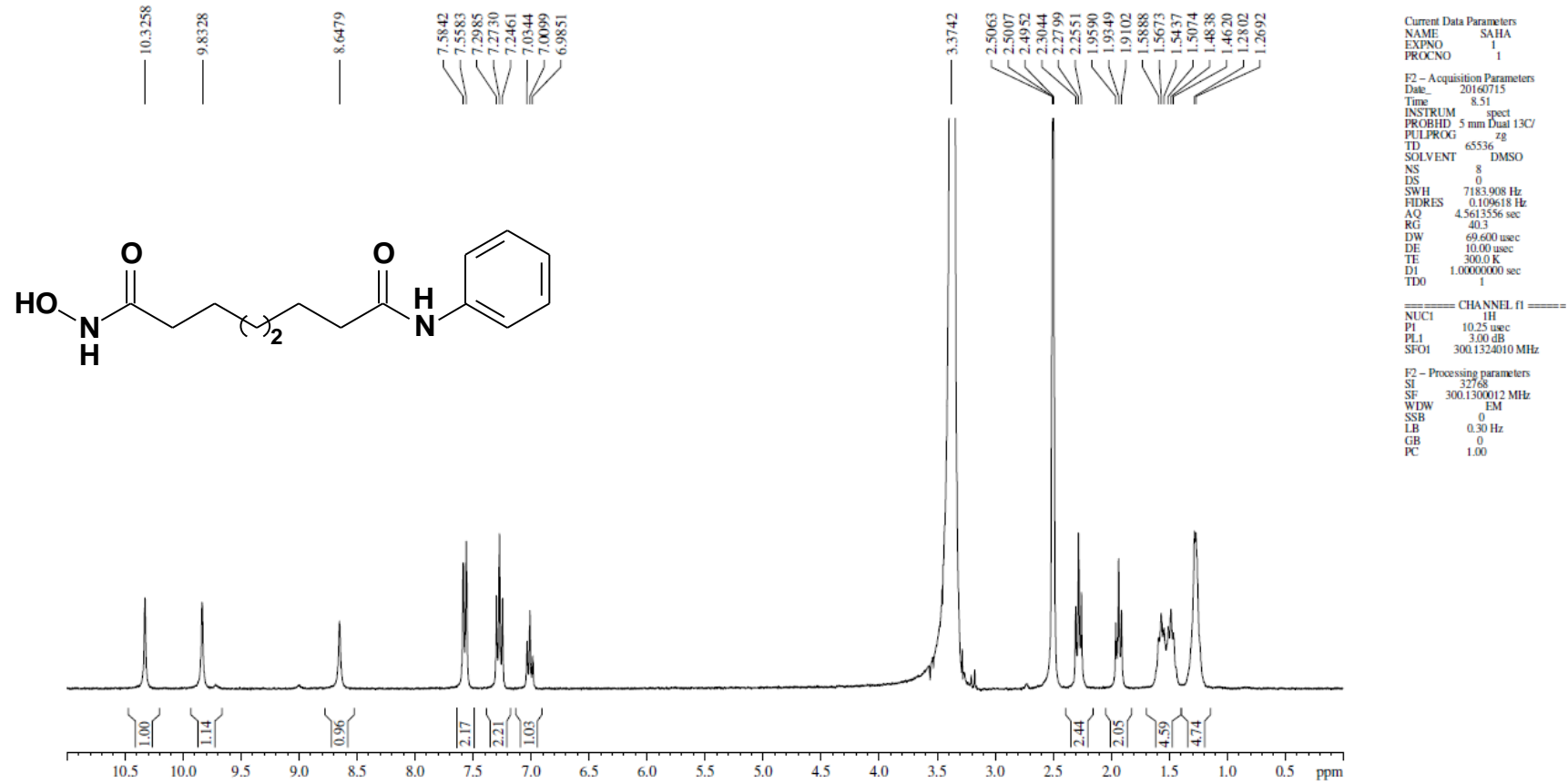
Current Data Parameters  
 NAME GSH 23  
 EXPNO 2  
 PROCNO 1

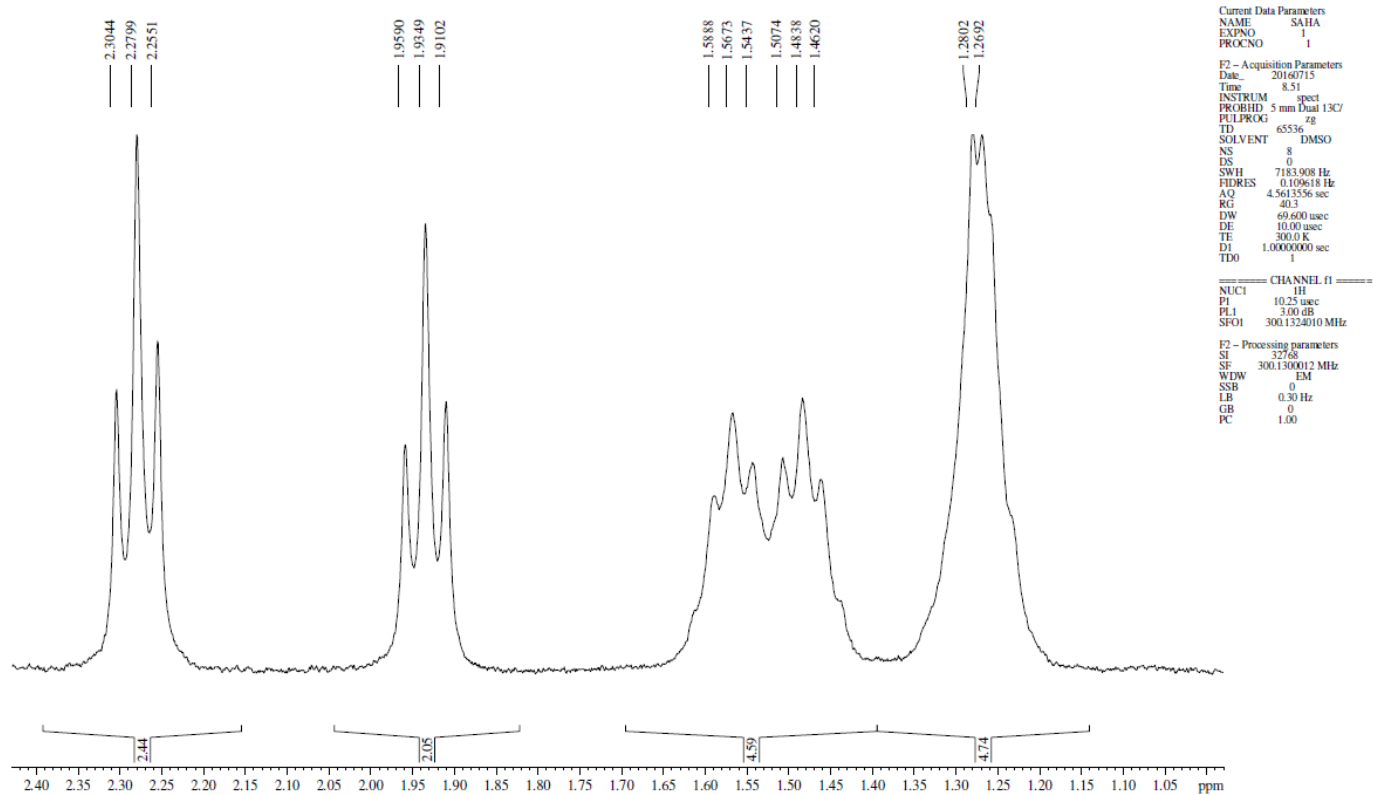
F2 - Acquisition Parameters  
 Date\_ 20160613  
 Time 15.30  
 INSTRUM spect  
 PROBHND 5 mm BBI 1H-BB  
 PULPROG zgpg  
 TD 65536  
 SOLVENT  $\text{CDCl}_3$   
 NS 2048  
 DS 4  
 SWH 30030.029 Hz  
 FIDRES 0.458222 Hz  
 AQ 1.0912244 sec  
 RG 32768  
 DW 16.650 usec  
 DE 10.00 usec  
 TE 299.0 K  
 D1 2.00000000 sec  
 d11 0.03000000 sec  
 DELTA 1.89999998 sec  
 TD0 1

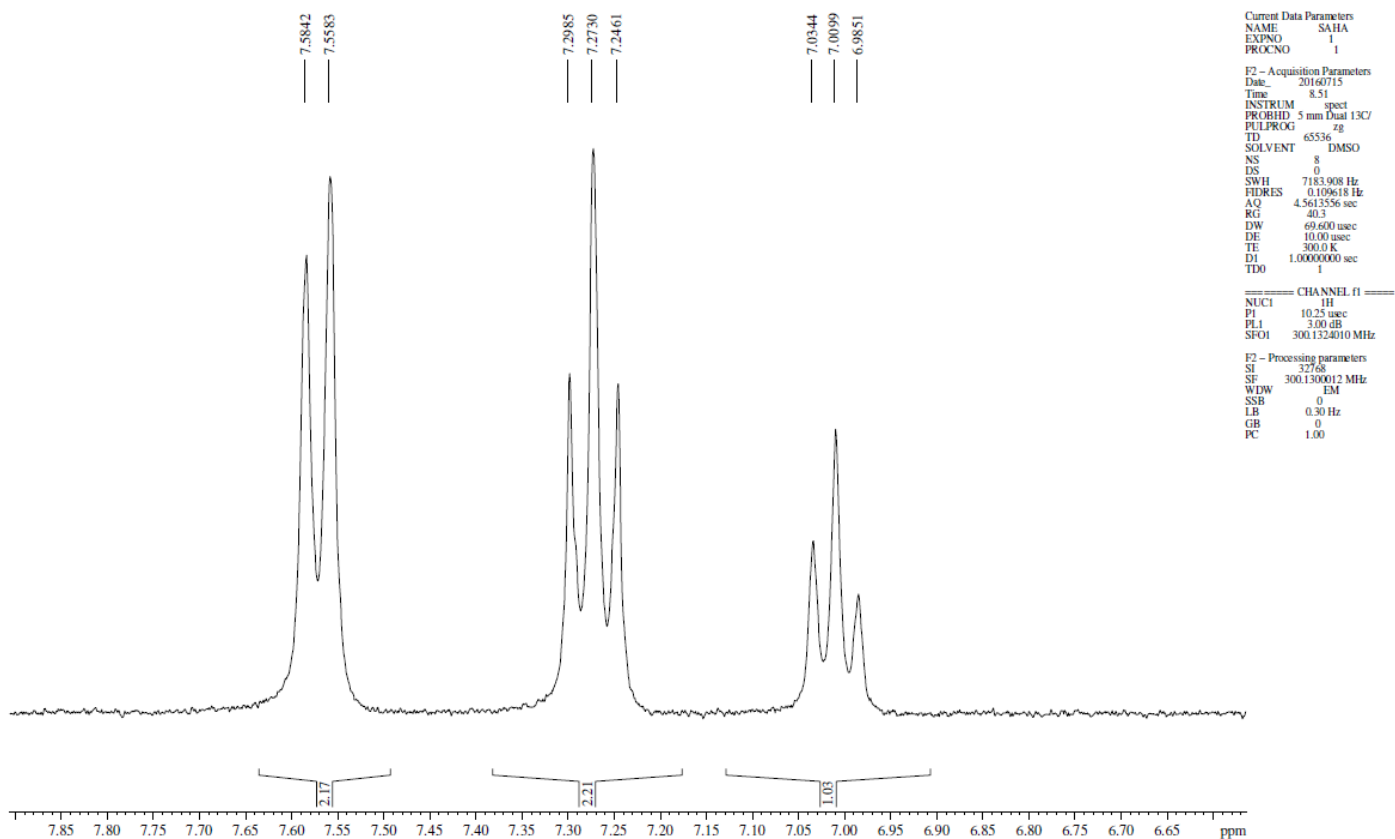
==== CHANNEL f1 =====  
 NUC1  $^{13}\text{C}$   
 P1 13.00 usec  
 PL1 0.00 dB  
 SFO1 125.6370824 MHz

==== CHANNEL f2 =====  
 CPDPRG2 waltz16  
 NUC2  $^1\text{H}$   
 PCPD2 80.00 usec  
 PL2 0.00 dB  
 PL12 18.60 dB  
 PL13 18.60 dB  
 SFO2 499.6019984 MHz

F2 - Processing parameters  
 SI 32768  
 SF 125.6244958 MHz  
 WDW EM  
 SSB 0  
 LB 1.00 Hz  
 GB 0  
 PC 1.40

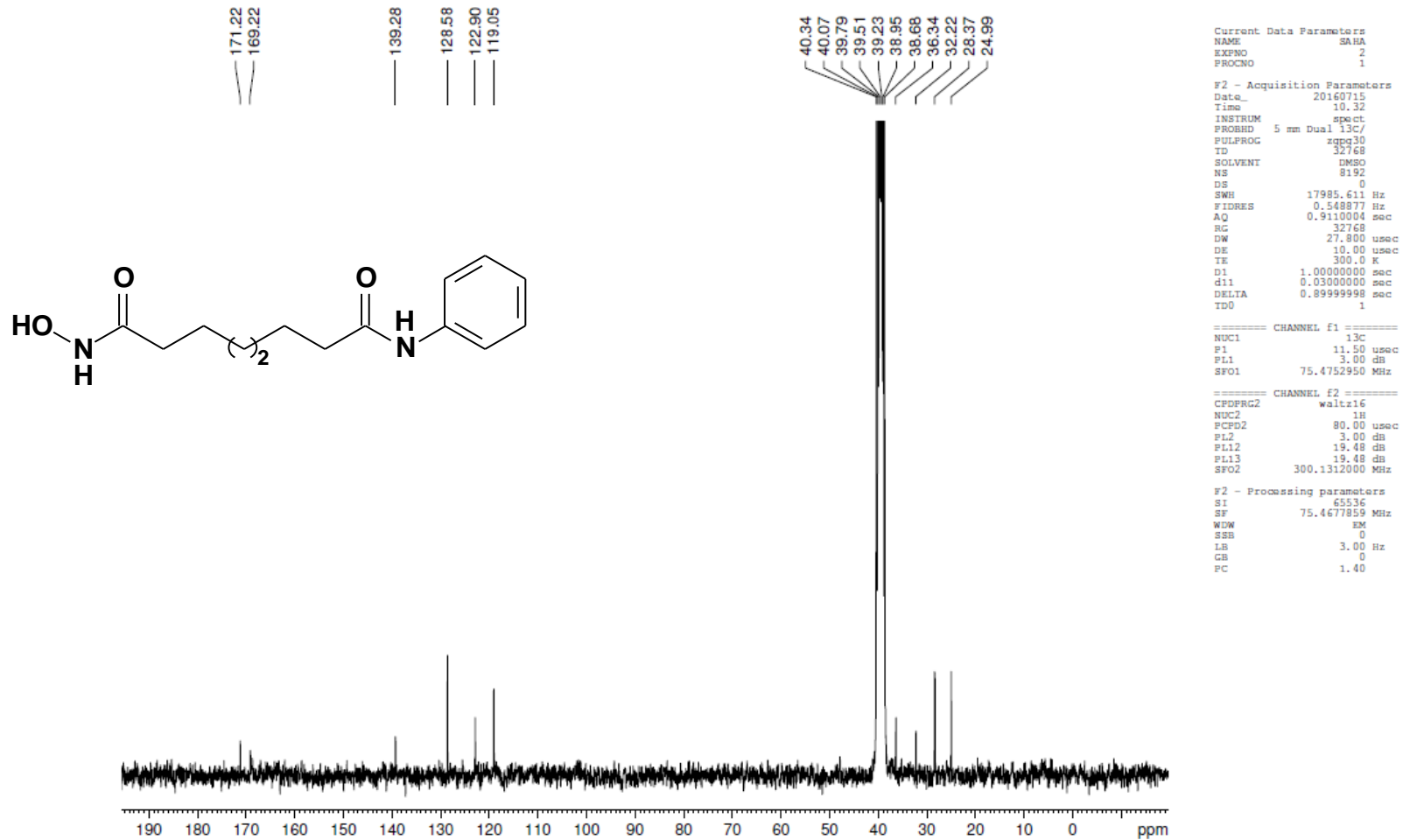
**ANEXO 62 – Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (500 MHz, DMSO): *N*-Hidróxi-*N*-fenil-octanediamida (SAHA, 20)**


**ANEXO 63 – Expansões do Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (500 MHz, DMSO): *N*-Hidróxi-*N*-fenil-octanediamida (SAHA, **20**)**


**ANEXO 64 – Expansões do Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (500 MHz, DMSO): *N*-Hidróxi-*N*-fenil-octanediamida (SAHA, **20**)**



ANEXO 65 – Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): *N*-Hidróxi-*N*-fenil-octanediamida (SAHA, 20)



**ANEXO 66 – Espectro de Massa (TOF MS, m/z): *N*-Hidróxi-*N*-fenil-octanediamida (SAHA, 20)**
