



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

ANNA RAYK GUIMARÃES BEZERRA

SÍNTESE E AVALIAÇÃO DE NOVOS AGONISTAS PPAR PLANEJADOS A
PARTIR DO ÁCIDO ANACÁRDICO SATURADO

Brasília
2023

ANNA RAYK GUIMARÃES BEZERRA

SÍNTESE E AVALIAÇÃO DE NOVOS AGONISTAS PPAR 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

2023

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

GB574s Guimaraes Bezerra, Anna Rayk
SÍNTESE E AVALIAÇÃO DE NOVOS AGONISTAS PPAR PLANEJADOS A PARTIR DO ÁCIDO ANACÁRDICO SATURADO / Anna Rayk Guimaraes Bezerra; orientador Luiz Antonio Soares Romeiro. -- Brasília, 2023.
115 p.

Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) -- Universidade de Brasília, 2023.

1. Receptores ativados de proliferadores peroxissomais (PPAR). 2. Desenvolvimento de novos ligantes PPAR a partir do ácido anacárdico saturado, incluindo planejamento, síntese e avaliação.. I. Soares Romeiro, Luiz Antonio, orient. II. Título.

ANNA RAYK GUIMARÃES BEZERRA

SÍNTESE E AVALIAÇÃO DE NOVOS AGONISTAS PPAR 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 13 de novembro de 2023.

Banca Examinadora

Prof. Dr. Luiz Antonio Soares Romeiro

Universidade de Brasília – UnB

Profa. Dra. Laís Flávia Nunes Lemes

Universidade Católica de Brasília – UCB

Profa. Dra. Cecília Beatriz Fiuza Favali

Universidade de Brasília – UnB

Profa. Dra. Djane Braz Duarte

Universidade de Brasília – UnB

Brasília

2023

Essa dissertação é dedicada primeiro a Deus, segundo a meu falecido pai Luiz e minha mãe Maria que sempre me apoiaram em todos os momentos da minha vida.

AGRADECIMENTOS

Sou grata a Deus pela presença constante em minha vida e em todos os momentos que precisei de sabedoria e discernimento durante todo o desenvolvimento do trabalho. É fato notório que tudo só aconteceu pela sua vontade e Graça concedidos a mim.

Aos meus pais e meus dois irmãos, Anny e William, que me apoiaram e não me deixaram desistir nos momentos mais difíceis dessa jornada, me estimulando a continuar e manter a persistência e resiliência para finalizar esse ciclo de aprendizado.

À minha boa colega de laboratório Natalia Cipriano, sua generosidade em me ensinar o que sabia e pelos momentos de descontração e boas conversas, enquanto desenvolvíamos nossos trabalhos laboratoriais.

Ao meu orientador Prof. Dr. Luiz Antonio Sores Romeiro que me ensinou com toda paciência e por oferecer essa oportunidade única de realizar um sonho, além de todos os aprendizados e discussões teóricas e práticas em torno da química medicinal, que com toda certeza, tornaram-me uma profissional melhor do que eu era quando iniciei esse grande desafio.

Ao Prof. Dr. Edilberto Silveira, Profa. Davila Zampieri, Msc. Patrícia Nascimento e Msc. Débora Hellen Almeida de Brito do Centro Nordestino de Aplicação e Uso de Ressonância Magnética Nuclear (CENAUREMN) da Universidade Federal do Ceará pela concessão dos espectros de RMN de ^1H e RMN de ^{13}C .

À Dra. Cigdem Sahin, em colaboração com a Profa. Dra. Carolyn Cummins, no *Nuclear Hormone Receptors in Human Health and Disease Laboratory* da *Leslie Dan Faculty of Pharmacy*, na Universidade de Toronto que realizou os bioensaios.

Ao CNPq pelo apoio financeiro e à CAPES pela bolsa de estudos.

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

RESUMO

BEZERRA, Anna Rayk Guimarães Bezerra. **Síntese e Avaliação de Novos Agonistas PPAR Planejados a Partir do Ácido Anacárdico Saturado**. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Faculdade de Saúde Universidade de Brasília, Brasília, 2023.

Os receptores ativados de proliferadores peroxissomais (PPAR) – pertencentes à subfamília de receptores nucleares – desempenham diversas funções no organismo, como proliferação e a diferenciação celular, sinalização de ácidos graxos (AG) e eicosanoides, formação óssea, reparação e remodelação de tecidos, sensibilidade à insulina, metabolismo de glicose e lipídeos. Em particular, os agonistas PPAR α e PPAR γ estimulam a captação de ácidos graxos, oxidação de lipídeos e a sensibilidade à insulina no fígado. Este estudo descreve o desenvolvimento de novos ligantes PPAR a partir do ácido anacárdico saturado, incluindo planejamento, síntese e avaliação. Assim, utilizando a estratégia de modificações estruturais na subunidade salicílica do ácido anacárdico saturado foram sintetizados 3 intermediários e 6 derivados-alvo em rendimentos que variaram de 55 % a 97 % e caracterizados por ressonância magnética nuclear (RMN). A avaliação da ativação de PPAR humanos por meio de ensaio gene repórter demonstraram que os derivados-alvo contendo a subunidade ácida atuam como agonistas parcial e dual com valores de ativação de EC₅₀ na faixa micromolar. O estudo de relações estrutura-atividade (REA) para a série 2-arilóxietanoica revelou que em relação ao análogo LDT16 (**27**) (hPPAR α EC₅₀ 1,1 μ M; hPPAR α EC₅₀ 3,7 μ M; hPPAR β/δ EC₅₀ 10 μ M), LDT458 (**37**, subunidade 2-hidróximetila) e LDT461 (**38**, subunidade 2-carbometoxila) respectivamente modularam os perfis agonistas de forma negativa não significativa (estratégia bem tolerada) e significativa (estratégia tolerada) para PPAR α ; e de forma negativa não significativa (estratégia bem tolerada) para PPAR γ . Para a série 2-arilóximetilpropanoica, considerando o análogo LDT409 (**28**) (hPPAR α EC₅₀ 0,5 μ M; hPPAR α EC₅₀ 0,9 μ M; hPPAR β/δ EC₅₀ 37 μ M), LDT469 (**40**) (subunidade 2-carbometoxila) modulou o perfil de forma negativa significativa para PPAR α (estratégia tolerada) e negativa muito significativa (estratégia pouco tolerada) para PPAR γ . Por fim, os derivados ácidos LDT458 (**37**), LDT461 (**38**) e LDT469 (**40**) modularam o perfil agonista de forma farmacofórica negativa (estratégia deletéria) para PPAR β/δ .

Palavras-chave: Doença Hepática Esteatótica Associada à Disfunção Metabólica (DHEADM); Agonistas PPAR; LCC; Ácido Anacárdico Saturado.

ABSTRAT

BEZERRA, Anna Rayk Guimarães Bezerra. **Synthesis and Evaluation of New PPAR Agonists Designed from Saturated Anacardic Acid**. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Faculdade de Saúde Universidade de Brasília, Brasília, 2023.

Peroxisome proliferator-activated receptors (PPAR) – belonging to the subfamily of nuclear receptors – perform diverse functions in the body, such as cell proliferation and differentiation, fatty acid (FA) and eicosanoid signaling, bone formation, tissue repair and remodeling, sensitivity insulin, glucose, and lipid metabolism. In particular, PPAR α and PPAR γ agonists stimulate fatty acid uptake, lipid oxidation, and insulin sensitivity in the liver. This study describes the development of new PPAR ligands from saturated anacardic acid, including design, synthesis, and evaluation. Thus, using the strategy of structural modifications in the salicylic subunit of saturated anacardic acid, 3 intermediates, and 6 target derivatives were synthesized in yields ranging from 55 % to 97 % and characterized by nuclear magnetic resonance (NMR). Assessment of human PPAR activation through reporter gene assay demonstrated that target derivatives containing the acidic subunit act as partial and dual agonists with EC₅₀ activation values in the micromolar range. The study of structure-activity relationships (REA) for the 2-aryloxytanoic series revealed that concerning the LDT16 analogue (**27**) (hPPAR α EC₅₀ 1.1 μ M; hPPAR α EC₅₀ 3.7 μ M; hPPAR β/δ EC₅₀ 10 μ M), LDT458 (**37**, 2-hydroxymethyl subunit) and LDT461 (**38**, 2-carbomethoxy subunit) respectively modulated the agonist profiles in a non-significant (well-tolerated strategy) and significant (tolerated strategy) negative way for PPAR α ; and in a non-significant negative way (well-tolerated strategy) for PPAR γ . For the 2-aryloxymethylpropanoic series, considering the analogue LDT409 (**28**) (hPPAR α EC₅₀ 0.5 μ M; hPPAR α EC₅₀ 0.9 μ M; hPPAR β/δ EC₅₀ 37 μ M), LDT469 (**40**) (2-carbomethoxyl subunit) modulated the profile significantly negative for PPAR α (tolerated strategy) and very significantly negative (poorly tolerated strategy) for PPAR γ . Finally, the acidic derivatives LDT458 (**37**), LDT461 (**38**), and LDT469 (**40**) modulated the agonist profile in a negative pharmacophoric way (deleterious strategy) for PPAR β/δ .

Keywords: Metabolic Dysfunction-associated Steatotic Liver Disease (MASLD); PPAR Agonists; CNSL; Saturated Anacardic Acid.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1:	Estrutura molecular dos domínios dos receptores nucleares PPARs.	22
Figura 2:	Mecanismo de ativação da expressão do PPAR resultando em múltiplas vias regulatórias.	23
Figura 3:	Estrutura molecular dos compostos constituintes da classe dos medicamentos fibratos, agonistas sintéticos PPAR α : benzafibrato (1), ciprofibrato (2), clofibrato (3), fenofibrato (4), genfibrozila (5) e pemofibrato (6).	25
Figura 4:	Estrutura molecular das glitazonas, agonistas PPAR γ : rosiglitazona (7), pioglitazona (8), troglitazona (9) e ciglitazona (10).	26
Figura 5:	Estrutura dos glitazares, agonistas duais PPAR α/γ : murigliptazar (11), tesagliptazar (12), aleglitazar (13), sarogliptazar (14).	27
Figura 6:	Estrutura molecular de agonistas PPAR α : ácido piriníxico (15), GW9662 (16), elafibranor (17) e lanifibranor (18).	28
Figura 7:	Linha do tempo dos medicamentos voltados para o tratamento da esteatose hepática.	30
Figura 8:	Fluxograma da cadeia produtiva da castanha de caju.	32
Figura 9:	Aspectos estruturais da castanha do caju.	33
Figura 10:	Constituintes do líquido da castanha do caju LCC: misturas de ácidos anacárdicos (19), cardanois (20), cardois (21) e 2-metilcardois (22).	33
Figura 11:	Agonista PPAR planejados a partir do LCC: LDT 11 (23), LDT 13 (24), LDT 15 (25), LDT 408 (26), LDT 16 (27), LDT 409 (28).	35
Figura 12:	Numeração e legendas empregadas no assinalamento de sinais em RMN ^1H e RMN ^{13}C .	46
Figura 13:	Intermediários e derivados-alvo planejados a partir do ácido anacárdico saturado (23).	58

Figura 14:	Atividade transcricional dos compostos-alvo para PPAR α humano (hPPAR α).	73
Figura 15:	Valores de EC ₅₀ para os compostos LDT408 (26), LDT458 (37) e LDT461 (38) e LDT469 (40) para PPAR α	74
Figura 16:	Atividade transcricional dos compostos-alvo para PPAR γ humano (hPPAR γ).	75
Figura 17:	Valores de EC ₅₀ para os compostos LDT408 (26), LDT458 (37) e LDT461 (38) e LDT469 (40) para PPAR γ .	76
Figura 18:	Atividade transcricional dos compostos-alvo para PPAR β/δ humano (hPPAR β/δ).	77
Figura 19:	Efeito <i>orto</i> e interações intramoleculares para os compostos LDT458 (37), LDT461 (38) e LDT469 (40).	82

LISTA DE ESQUEMAS

Esquema 1:	Planejamento estrutural dos candidatos a agonistas PPAR a partir do ácido anacárdico.	40
Esquema 2:	Planejamento sintético dos derivados-alvo.	42

LISTA DE TABELAS

Tabela 1:	Principais deslocamentos químicos de RMN ^1H e de RMN de ^{13}C (ppm, CDCl_3)	70
Tabela 2:	Principais deslocamentos químicos de RMN de ^1H e RMN de ^{13}C (ppm, CDCl_3^* ou DMSO^{**}).	71
Tabela 3:	Correlações entre os perfis de atividade transcricional para PPAR	78
Tabela 4:	Valores EC_{50} para os α -fenoxiésteres LDT15 (25), LDT408 (26), LDT457 (33), LDT460 (34), LDT468 (36), e α -fenoxiácidos LDT16 (27), LDT409 (28), LDT458 (37), LDT461 (38) e LDT469 (40) para PPAR α .	79
Tabela 5:	Valores EC_{50} para os α -fenoxiésteres LDT15 (25), LDT408 (26), LDT457 (33), LDT460 (34), LDT468 (36), e α -fenoxiácidos LDT16 (27), LDT409 (28), LDT458 (37), LDT461 (38) e LDT469 (40) para PPAR γ .	82

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

- AF-1 – Função de ativação 1
- AF-2 – Função de ativação 2
- AG – Ácidos graxos
- ALH – Aceptor de Ligação de Hidrogênio
- aP2 – Proteína de ligação de ácidos graxos
- C-terminal – Carbóxi terminal
- d – duplete
- DBD – Domínio de ligação ao DNA
- DCM – Diclorometano
- dd – duplo dublete
- DHEADM – Doença Hepática Esteatótica Associada a Disfunção Metabólica
- DLH – Doador de Ligação de Hidrogênio
- DMSO – Dimetilsulfóxido
- DNA – Ácido Desoxirribonucleico
- FDA – Food and Drug Administration
- FABP1 – Proteína de ligação a ácidos graxos-1
- HbA1C – Hemoglobina Glicada
- HDL – Lipoproteína de Alta Densidade
- EC₅₀ – Concentração da droga requerida para adquirir 50% do efeito máximo
- EtOH – Etanol
- GLP-1 – Receptor do Peptídeo Semelhante ao Glucagon-1
- IV – Infravermelho
- J* – Constante de acoplamento
- LAH – hidreto de lítio e alumínio
- LBD – Domínio de Ligação ao Ligante
- LCC – Líquido da casca da Castanha do Caju
- LDL – Lipoproteína de Baixa Densidade
- LPL – Lipoproteína lipase
- m – múltiplo
- MO – Micro-ondas
- N*- terminal - Amino terminal
- NF-κB – Nuclear Factor Kappa B

PPAR – Receptor Ativado por Proliferadores Peroxissomais
PPAR α – Receptor Ativado por Proliferadores Peroxissomais Alfa
PPAR β/δ – Receptor Ativado por Proliferadores Peroxissomais Beta/Delta
PPAR γ – Receptor Ativado por Proliferadores Peroxissomais Gama
PPER – Elementos Responsivos ao PPAR
RE – Retículo Endoplasmático
RMN de ^1H – Ressonância magnética nuclear de hidrogênio 1
RMN de ^{13}C – Ressonância magnética nuclear de carbono 13
RN – Receptor Nuclear
Rosi – Rosiglitazona
RXR – Receptor retinóide X
ROS – Espécies Reativas de Oxigênio
s – simpleto
sl – simpleto largo
t – tripleto
TG – Triglicerídeos
TZD – Tiazolidinedionas
UV – Ultravioleta
VLDL – Lipoproteína de muito baixa densidade
WY – Ácido Piriníxico (WY-14643)

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	18
1.1	RECEPTORES ATIVADOS POR PROLIFERADORES DE PEROXISSOMAS (PPAR) E MECANISMO DE AÇÃO	21
1.2	PPAR COMO ALVOS TERAPÊUTICOS NA DHEADM	24
1.2.1	Agonistas de PPARα: Fibratos	24
1.2.2	Agonistas de PPARγ: Tiazolidinedionas ou Glitazonas (TZD)	26
1.2.3	Agonistas Duais de PPARα/γ: Glitazares	27
1.2.4	Outros ativadores PPAR em pesquisa	28
1.3	A VERSATILIDADE DA BIOMASSA DE <i>Anacardium occidentale</i>	30
1.4	LÍQUIDO DA CASTANHA DO CAJU (LCC)	33
1.5	AGONISTAS PPAR PLANEJADOS A PARTIR DO LCC	34
2	OBJETIVOS	36
2.1	OBJETIVO GERAL	37
2.2	Objetivos Específicos	37
3	PLANEJAMENTO ESTRUTURAL	38
4	ESTRATÉGIA SINTÉTICA	41
5	PARTE EXPERIMENTAL	44
5.1	GENERALIDADES, MATERIAIS E CARACTERIZAÇÃO DOS COMPOSTOS	45
5.2	METODOLOGIA SINTÉTICA E CARACTERIZAÇÃO DOS COMPOSTOS	49
5.2.1	Obtenção da mistura de ácidos anacárdicos (LDT11i, 19)	47
5.2.2	Obtenção do composto ácido 2-Hidróxi-6-pentadecilbenzóico (LDT11, 23)	48
5.2.3	Obtenção do composto 2-(Hidróximetil)-3-pentadecilfenol (LDT197, 31)	49
5.2.4	Obtenção do composto 2-(2-(Hidróximetil)-3-pentadecilfenóxi)acetato de etila (LDT457, 33)	50
5.2.5	Obtenção do composto ácido 2-(2-(Hidróximetil)-3-pentadecilfenóxi)acético (LDT458, 37)	51

5.2.6	Obtenção do Composto 2-Metóxi-6-pentadecilbezoato de metila (LDT28, 29)	52
5.2.7	Obtenção do Composto 2-Hidróxi-6-pentadecilbenzoato de metila (LDT29, 32)	53
5.2.8	Obtenção do Composto 2-(2-Carbetoximetóxi)-6-pentadecilbenzoato de metila (LDT460, 34)	54
5.2.9	Obtenção do Composto Ácido 2-(2-(Carbometóxi)-3-pentadecilfenóxiacético (LDT461, 38)	55
5.2.10	Obtenção do Composto 2-(2-Carbometóxi-3-pentadecilfenóxi)-2-metilpropanoato de etila (LDT468, 36)	56
5.2.11	Obtenção do Composto Ácido 2-(2-(Carbometóxi-3-pentadecilfenóxi)-2-metilacético (LDT469, 40)	57
5.3	AVALIAÇÃO BIOLÓGICA <i>in vitro</i>	58
5.3.1	Reagentes químicos	59
5.3.2	Plasmídeos	59
5.3.3	Ensaio de gene repórter	60
5.3.4	Análises estatísticas	62
6	RESULTADOS E DISCUSSÃO	61
6.1	Síntese e caracterização dos compostos	62
6.1.1	Obtenção da mistura de ácidos anacárdicos (LDT11i, 19)	62
6.1.2	Obtenção do ácido anacárdico saturado (LDT11, 23)	63
6.1.3	Obtenção do Derivado 2-Hidróxi-6-pentadecilbenzoato de metila (LDT28, 29)	64
6.1.4	Obtenção do Derivado 2-Hidróxi-6-pentadecilbenzoato de metila (LDT29, 32)	64
6.1.5	Obtenção do Derivado 2-(Hidróximetil)-3-pentadecilfenol (LDT197, 31)	65
6.1.6	Obtenção do Derivado 2-(2-(Hidróximetil)-3-(pentadecil)fenóxiacetato de etila (LDT457, 33)	65
6.1.7	Obtenção do Derivado Ácido 2-(2-Hidróximetil-3-pentadecil)fenóxiacético (LDT458, 37)	66
6.1.8	Obtenção do Derivado 2-(2-Carbetoximetóxi)-6-pentadecilbenzoato de metila (LDT460, 34)	67

6.1.9	Obtenção do Derivado Ácido 2-(2-(Carbometóxi)-3-pentadecilfenóxiacético (LDT461, 38)	68
6.1.10	Obtenção do Derivado 2-(2-Carbometóxi-3-pentadecilfenóxi)-2-metilpropanoato de etila (LDT468, 36)	69
6.1.11	Obtenção do Derivado Ácido 2-(2-(Carbometóxi)-3-pentadecilfenóxiacético (LDT469, 40)	69
6.2	AVALIAÇÃO BIOLÓGICA <i>in vitro</i>	72
6.2.1	PPARα	73
6.2.2	PPARγ	75
6.2.3	PPARβ	77
6.3	RELAÇÃO ESTRUTURA-ATIVIDADE	78
6.3.1	PPARα	79
6.3.2	PPARγ	82
7	CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS	85
8	REFERÊNCIAS	88
ANEXOS		

1. INTRODUÇÃO

A doença hepática esteatótica crônica associada à disfunção metabólica (DHEADM), acomete cerca de 25 a 30% da população mundial. Dentre os fatores de risco relacionados a esse evento está o sedentarismo, a obesidade, a diabetes mellitus do tipo II, bem como dislipidemia, fatores genéticos e a síndrome metabólica tornando-a umas das doenças mais comuns atualmente (GRATTAGLIANO et al., 2021; SUN et al., 2023).

A condição ocorre pelo acúmulo de gordura no fígado, que por sua vez, gera prejuízo à funcionalidade mitocondrial por afetar a cadeia de transporte de elétrons com diminuição da β -oxidação dos ácidos graxos livres, criando espécies reativas de oxigênio (ROS) e peroxidação lipídica. O resultado é a fragilidade celular com risco de necroinflamação, fibrose, cirrose e carcinoma hepatocelular. Além disso, existe a correlação entre a DHEADM e o aumento do risco de doença cardiovascular mesmo na ausência de diabetes, hipertensão e obesidade (DI CIAULA et al., 2021; ANSARI et al., 2022).

Os tratamentos para a DHEADM, preventivos ou reversivos, envolvem a modificação do estilo de vida para diminuir os fatores de risco renais e metabólicos adjacentes e uso de medicamentos que atuam direta e indiretamente sobre o metabolismo da glicose e lipídeos. Dentre eles encontram-se os agonistas do receptor do peptídeo semelhante a glucagon-1 (GLP-1), liraglutida e semaglutida, os inibidores de SGLT2 e as estatinas que exercem efeitos positivos sobre a esteatose hepática e necroinflamação – efeitos clinicamente favoráveis para pacientes acometidos por doença cardiovascular e renal. Ademais, as estatinas também contribuem para a diminuição do risco de eventos cardiovasculares fatais nos pacientes que não realizam diálise (SUN et al., 2023).

Porém a síndrome metabólica caracterizada por hiperglicemia, dislipidemia, hipertensão e resistência à insulina – é um fator de risco à DHEADM, pois os metabolitos dos ácidos graxos provocam lesões nos hepatócitos através do estresse do retículo endoplasmático (RE), inflamação e apoptose, que associada à contribuição da obesidade resulta em morte celular, esteatose e fibrose hepática. Vários agonistas PPAR tem demonstrado melhoras relacionadas à DHEADM por reduzirem o

triacilglicerol, esteatose hepática, inflamação e os impactos da obesidade (DIXON et al., 2021; CHE et al., 2022; TAVARES et al., 2023). Eles participam da modulação e na transcrição dos genes envolvidos em diferentes atividades biológicas, tais como processos inflamatórios, atividade redox, sensibilização à insulina, proteção neuronal e regulação da função mitocondrial, dentre outras (LAMICHANE; LAMISHANE; KWON, 2018; BEHL et al., 2021).

Dentre os medicamentos utilizados, os fibratos, agonistas PPAR α , agem no metabolismo lipídico e redução dos níveis de triglicerídeos e colesterol. Beneficiam casos de hipertrigliceridemia e DHEADM ao diminuir o risco de complicações cardiovasculares, redução da inflamação e da fibrose hepática, aumentando também a capacidade oxidativa nos adipócitos (TAVARES et al., 2023).

As glitazonas são usadas no tratamento da diabetes mellitus tipo 2, conhecidas como tiazolidinedionas (TZD) – pioglitazona, troglitazona e rosiglitazona – agem como agonistas seletivos dos receptores ativados por proliferadores de peroxissoma-gama (PPAR γ), melhoram a sensibilidade à insulina e aumento da captação da glicose, reduzindo assim a glicemia. Adicionalmente, diminuem a inflamação e a fibrose hepática, pois ao reduzir a resistência à insulina no fígado, atenuam a produção e a liberação de ácidos graxos livres, modulando citocinas e mediadores pró-inflamatórios (TUFANO; PINNA, 2020; MUELLER et al., 2021; SHOLA-DARE et al., 2021;). Por regularem a transcrição, metabolismo lipídico, termogênese, diferenciação celular, processo de mielinização e biogênese mitocondrial, tornam-se alvo terapêutico de interesse (JUSTIN et al., 2020; WÓJTOWICZ et al., 2020; DURAI et al., 2022; GIGLIO et al., 2022).

O uso de fontes alternativas baratas e sustentáveis para pesquisas de novos fármacos, favorece a investigação dos produtos derivados do líquido da castanha de caju (LCC). Neste sentido, agonistas PPAR planejados a partir dos derivados do LCC saturados com cadeia alquílica pentadecílica possuem características relevantes para o reconhecimento hidrofóbico por resíduos complementares nos sítios de reconhecimento molecular dos receptores-alvo (FERREIRA 2014; SALEHI et al., 2019; SAHIN et al., 2022). Descrevemos neste trabalho a síntese e avaliação da ativação de receptores PPAR visando a otimização do Composto-Protótipo LDT409.

1.1. RECEPTORES ATIVADOS POR PROLIFERADORES PEROXISSOMAIIS (PPAR) E MECANISMO DE ATIVAÇÃO

Os receptores ativados de proliferadores peroxissomais (PPAR) são uma subfamília de receptores nucleares dependentes de ligantes diferenciados em três isotipos, codificados por genes diferentes: PPAR α (NR1C1), PPAR β/δ (NR1C2) e PPAR γ (NR1C3). Os PPAR desempenham diversas funções no organismo, como proliferação e a diferenciação celular, sinalização de ácidos graxos (AG) e eicosanoides, formação óssea, reparação e remodelação de tecidos, sensibilidade à insulina, metabolismo de glicose e lipídeos (KHAN et al., 2019; DUSZKA et al., 2020; ORELLANA et al., 2020; ENAYATI et al., 2022).

O PPAR α regula o catabolismo lipídico, incluindo a hidrólise de triglicerídeos, transporte de ácidos graxos e β -oxidação, além de atuar sobre a cetogênese e ter efeito anti-inflamatório e antifibrinogênio. Encontrados no fígado, músculo esquelético, coração, rim, cérebro, mucosa intestinal, olhos e tecido adiposo, PPAR α é ativo tanto em jejum quanto em estado alimentado (ESCADON et al., 2021; BOECKMANS et al., 2020; LANGE et al., 2022).

No caso do PPAR β/δ há a melhora da sensibilidade da insulina, redução da obesidade e regulação do metabolismo hepático da glicose e dos ácidos graxos, desempenhando papel importante na homeostase energética do fígado, na manutenção da capacidade oxidativa do músculo esquelético e mediação da resposta adaptativa ao exercício, aumentando a biogênese mitocondrial, a oxidação de ácidos graxos e o uso de glicose. Os PPAR β/δ podem ser encontrados no fígado, coração, músculo esquelético, cérebro, placenta, tecido adiposo, intestino delgado, queratinócitos e olho (ESCADON et al., 2021; BOECKMANS et al., 2020; LANGE et al., 2022).

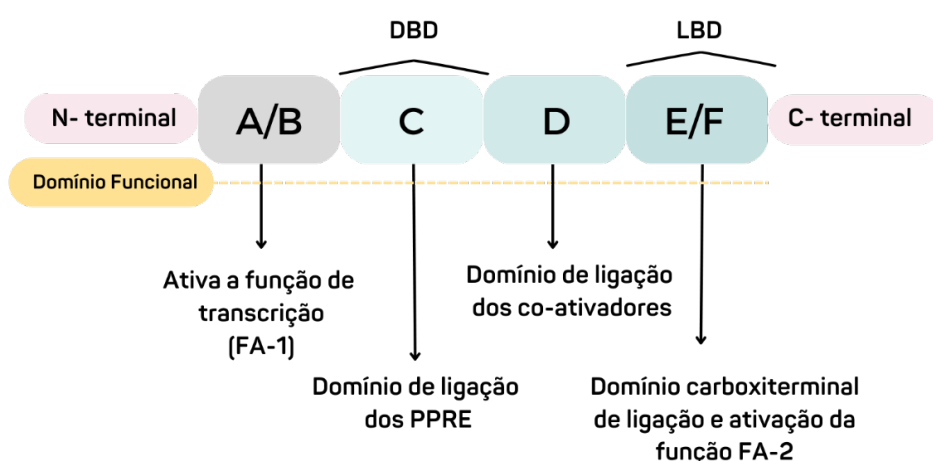
Já o PPAR γ – diferenciados em PPAR γ 1 e PPAR γ 2 – atuam na adipogênese e na absorção/gasto de ácidos graxos no tecido adiposo, aumentando assim a sensibilidade à insulina e os níveis de adiponectina. Ademais, também possuem propriedades anti-inflamatórias, atuando através da modulação da polarização de macrófagos e da atenuação da via NF- κ B. Os PPAR γ estão distribuídos no fígado, tecido adiposo, coração, medula óssea, pâncreas, pulmão, placenta, músculo

esquelético, olhos e rins (ESCADON et al., 2021; BOECKMANS et al., 2020; LANGE et al., 2022).

Os PPAR possuem a capacidade de formar heterodímeros com o receptor retinoide X (RXR) resultando na ligação aos promotores dos genes-alvo através dos elementos de resposta e promotores alvo (PPRES). Dessa forma, os receptores atuam como fatores de transcrição modulando a atividade gênica e desencadeando a resposta biológica específica (FERRET-SENA et al., 2018; WÓJTOWICZ et al., 2020; WAGNER; WAGNER, 2022).

A estrutura tridimensional (Figura 1) é composta por quatro domínios: o primeiro A/B, contém função de ativação independente do ligante 1 (AF-1) responsável pela transcrição. Um segundo domínio C, é responsável pela ligação ao ácido desoxirribonucleico (DNA) e se liga aos elementos de resposta do proliferador de peroxissoma (PPRE). O domínio D, o terceiro, controla a capacidade do receptor de interagir com o DNA e com o correpressor. E por fim, o domínio E/F carboxiterminal faz a interação com o ligante (LBD) que possui bolsa de ligação ao ligante (LBP). Essa função de ativação é dependente do ligante (AF-2) e outra região para a heterodimerização com o receptor X retinoide (RXR) (SAGHEDDU et al., 2021; SANJAY et al., 2021).

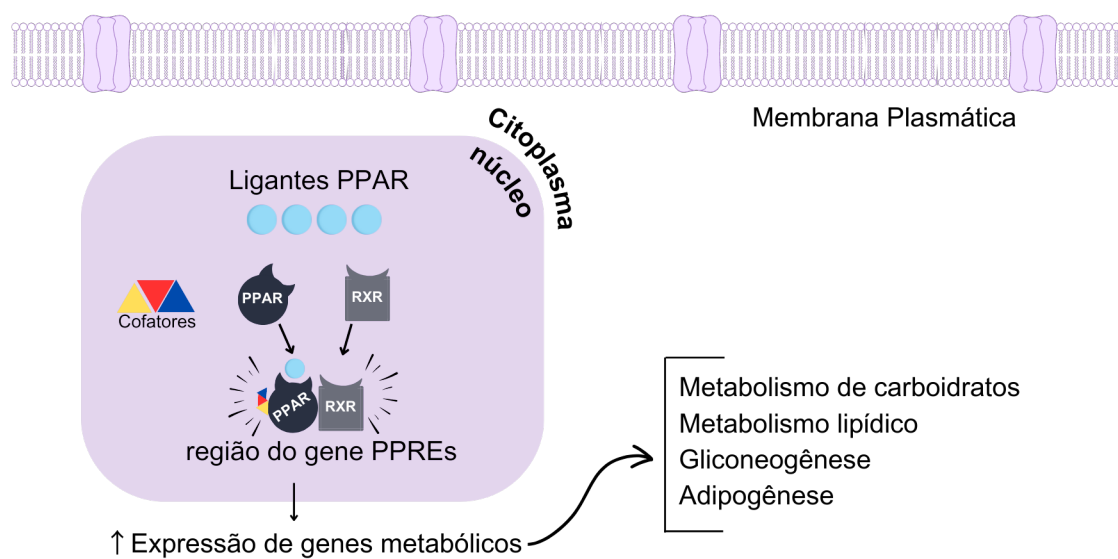
Figura 1: Estrutura molecular dos domínios dos receptores nucleares (PPARs).



Fonte: Adaptado de SAGHEDDU et al., 2021 e SANJAY et al., 2021.

Todos os PPAR possuem estrutura semelhante para a ativação (Figura 2). O domínio de ligação LBD possui caráter polar com a presença de resíduo de aminoácido (aa) hidrofílico no primeiro braço, responsável pela ligação do ligante. Os dois braços restantes são resíduos de aa hidrofóbicos (KORBECKI et al., 2019; ESCANDON et al., 2021). Ao interagir com ligantes anfifílicos com subunidade polar, como os ácidos graxos (AG), os braços com resíduos hidrofóbicos LBD estabilizam o ligante. Os AG com quatorze (14) até dezoito (18) átomos de carbono ativam o PPAR; porém AG com vinte (20) ou mais átomos de carbono não ativam o PPAR. Outro fator importante para a ativação é a presença de ligações duplas que tornam a conformação mais favorável para corresponder ao LBD do que os AG saturados (KHAN et al., 2019; KORBECKI et al., 2019; CHRISTOFIDES et al., 2021).

Figura 2: Mecanismo de ativação da expressão do PPAR resultando em múltiplas vias regulatórias.



Fonte: Adaptado de ESCADON et al., 2021.

1.2. PPAR COMO ALVOS TERAPÊUTICOS NA DHEADM

Alguns autores consideram a DHEADM como a manifestação hepática da síndrome metabólica em que a sobrecarga lipídica advinda do aumento do influxo de ácidos graxos, por causa da resistência a insulina no tecido adiposo, resulta em hepatócitos metabolicamente estressados com ativação da morte celular e vias de sinalização pró-inflamatórias (TRAUNER; FUCHS, 2022).

É importante salientar que o mecanismo subjacente ao desenvolvimento da DHEADM não é totalmente elucidado, porém, o modelo que envolve as múltiplas ocorrências possui diversos estressores que incluem lipotoxicidade, estresse do retículo endoplasmático, disfunção mitocondrial, estresse oxidativo, endotoxinas intestinais e microbiota, essa sobrecarga lipídica leva a lipotoxicidade, inflamação, estresse oxidativo e fibrose. Logo os tratamentos farmacológicos disponíveis incluem medicamentos antidiabéticos, antilipidêmicos e ácidos biliares naturais (NASSIR, 2022).

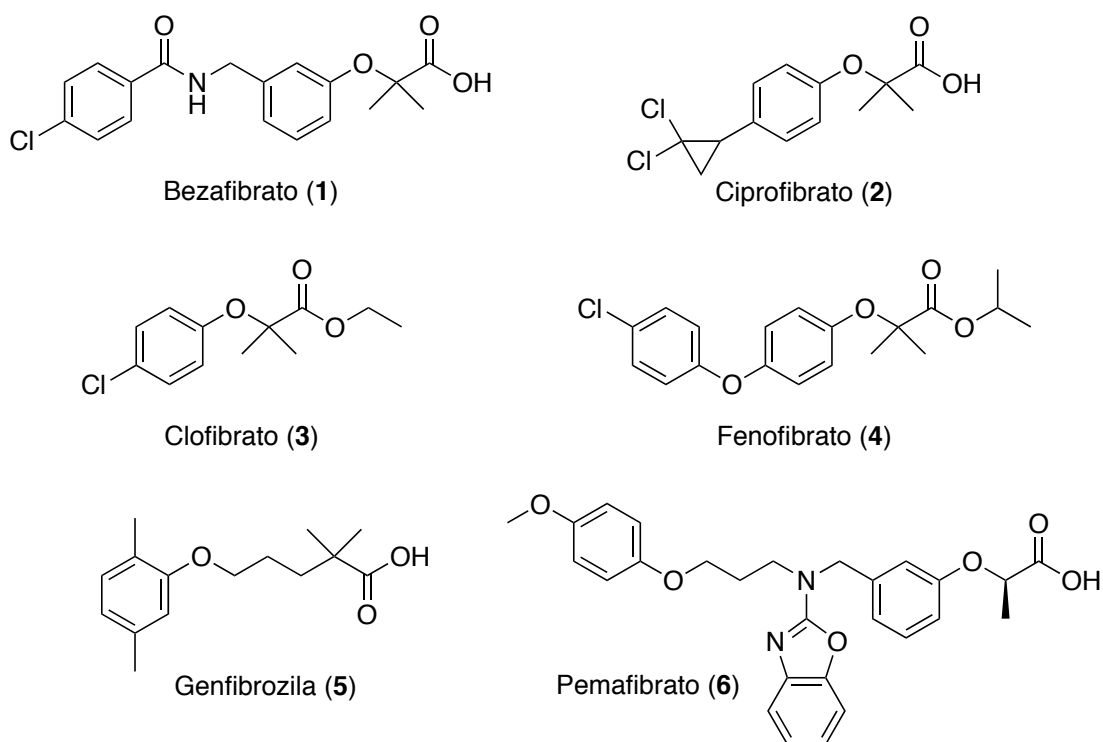
Estudos tem demonstrado uma relação entre síndrome metabólica e a DHEADM, uma vez que a desregulação do PPAR hepáticos, como PPAR α , está relacionado ao aumento da resistência a insulina e a gravidade da DHEADM, bem como, por meio de correlação negativa, com os níveis de adiponectina e adipocinas anti-inflamatória com o aumento da obesidade visceral. Além disso, tanto em humanos quanto em camundongos dietas ricas em gordura tendem a diminuir os níveis hepáticos de PPAR δ , acompanhada por diminuição na quantidade de lipoproteína de baixa densidade (VLDL) e esteatose hepática grave (LI; WALG; KLAUNING, 2018; BOELMANS et al., 2020).

1.2.1 Agonistas de PPAR α : Fibratos

Os fibratos são agonistas PPAR α usados no tratamento de dislipidemias. Quando ativam o receptor presente nas células do fígado aumentam a atividade das enzimas envolvidas no metabolismo lipídico, o que leva à diminuição dos níveis de triglicerídeos no sangue e aumento do HDL, impactando também sobre o risco cardiovascular (KIM; KIM, 2020).

No caso da DHEADM, os fibratos são eficazes na redução dos níveis de triglicerídeos no sangue, pois diminuem o acúmulo de gordura no fígado e modulam a inflamação, além de melhorar a sensibilidade a insulina. Estes medicamentos são os mais usados no tratamento de hipertrigliceridemia por controlarem o metabolismo lipídico, através da redução dos níveis de TG e aumento do HDLc, todavia devido à sua toxicidade hepática e renal, bem como a miopatia e colelitíase seu uso clínico é restrito. Bezafibrato (1), ciprofibrato (2), clorofibrato (3), fenofibrato (4), genfibrozila (5) e pema-fibrato (6) são representantes desta classe (Figura 3) (TAKEUCHI; TAKAHSHI; ASAI, 2020).

Figura 3: Estrutura molecular dos compostos constituintes da classe de medicamentos fibratos, agonistas sintéticos PPAR α

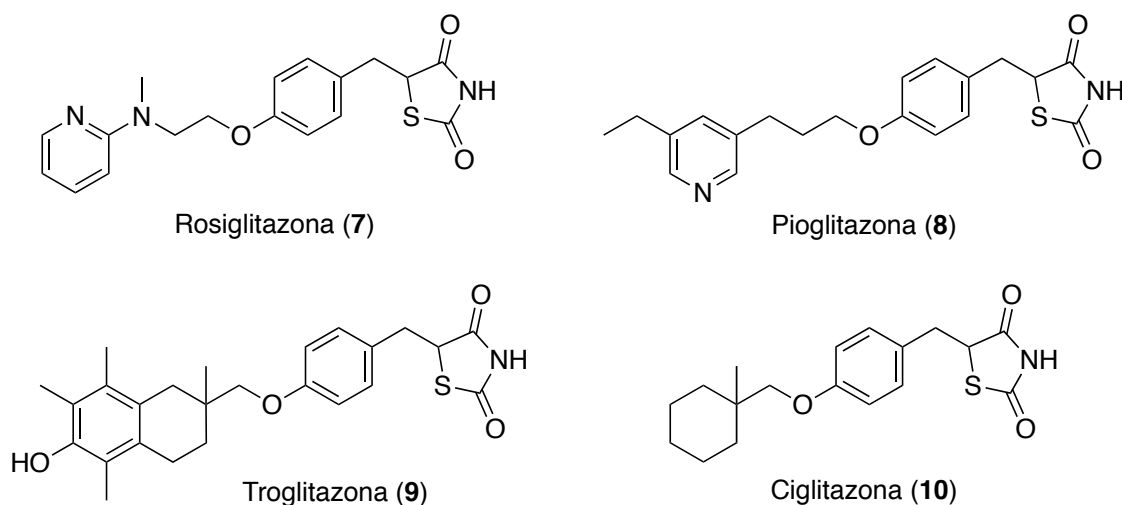


1.2.2 Agonistas de PPAR γ : Tiazolidinedionas ou Glitazonas (TZD)

As glitazonas, usadas para o tratamento de diabetes mellitus do tipo 2, são capazes de ativar o PPAR γ . Estes receptores quando ativados regulam a expressão dos genes envolvidos no metabolismo lipídico e da glicose, resultando no aumento da captação de glicose pelas células e diminuindo a produção da mesma pelo fígado, o que torna a células mais sensíveis à ação da insulina (GIGLIO et al., 2022).

Esta classe de fármacos é representada pela rosiglitazona (7), pioglitazona (8), troglitazona (9) e ciglitazona (10) (Figura 4). Embora sejam usadas como antidiabéticos, seus efeitos adversos severos como retenção hídrica, ganho ponderal, hemodiluição, perda de massa óssea e falência cardíaca, requerem uso clínico mais restrito (LEBOVITZ, 2019; HWANG et al., 2021).

Figura 4: Estrutura molecular das glitazonas, agonistas PPAR γ

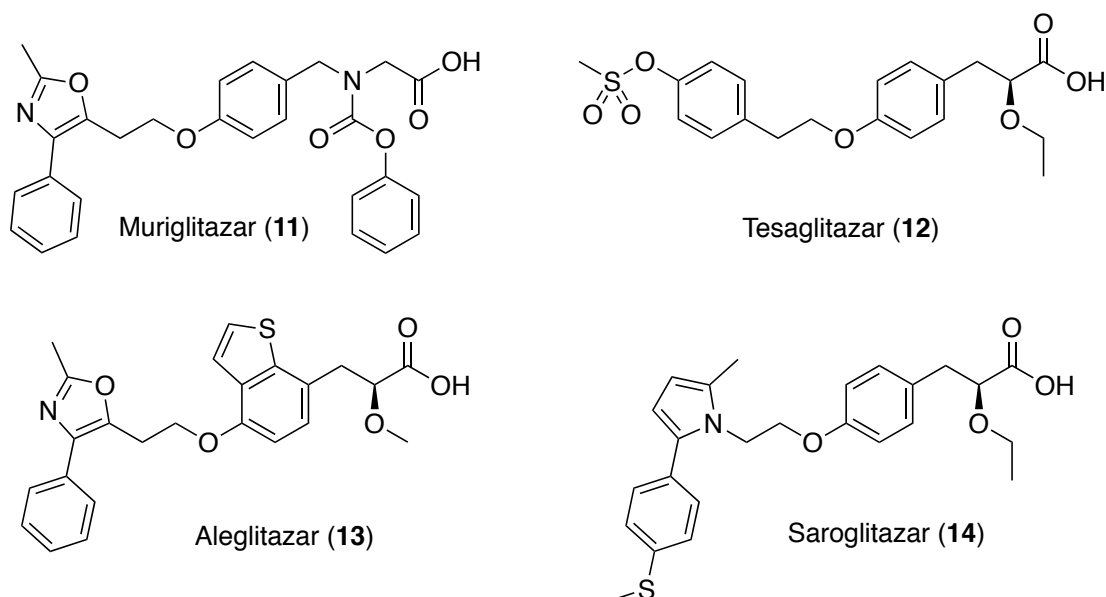


Os agonistas PPAR γ , rosiglitazona (7) e pioglitazona (8), melhoram a hiperglicemia revertendo a resistência à insulina e a sensibilidade celular; ademais também possuem efeitos significativos nos lipídeos das lipoproteínas plasmáticas em humanos. As TZD também promovem a diferenciação dos pré-adipócitos em conjunto com a lipogênese, favorecendo a redução das concentrações de ácidos graxos não esterificados (AGNE) (KIM et al., 2021; TAVARES et al., 2023).

1.2.3 Agonistas Duais de PPAR α / γ : Glitazares

Essa é uma classe de medicamentos que atuam como agonistas duais dos PPAR, ativam tanto PPAR α quanto o PPAR γ , reduzindo os níveis de triglicerídeos e aumentando a lipólise com melhora da sensibilidade à insulina. Seus principais representantes estão relacionados na figura 5. (AMANTYA, et al. 2023).

Figura 5: Estrutura molecular dos glitazares, agonistas duais PPAR α / γ .



O saroglitazar (**14**) é o representante dessa classe mais estudado, como agonista duplo do PPAR α / γ possui, teoricamente, uma ação como agonista parcial do PPAR γ , logo os efeitos adversos relacionados a ativação desse receptor PPAR é moderado, embora ainda possua boa resposta no aumento da ativação da insulina e redução dos níveis de HbA1c (hemoglobina 1Ac), já o agonismo do PPAR α permite o aumento da oxidação hepática dos ácidos graxos, reduz a síntese e a secreção de AG com produção favorável de lipoproteínas circulantes (ANAND; ACHARYA, 2022).

Essa classe possui como fragmento comum o grupo farmacóforo o ácido (S) – 2- etoxi-3- fenilpropranoico, é este fragmento que realiza a interação com o receptor PPAR α e PPAR γ , conseqüentemente regulam o metabolismo de carboidratos e lipídeos. Muito embora os resultados sejam promissores, apenas o saroglitazar (**14**) foi liberado na Índia para uso clínico, os outros representantes não foram liberados

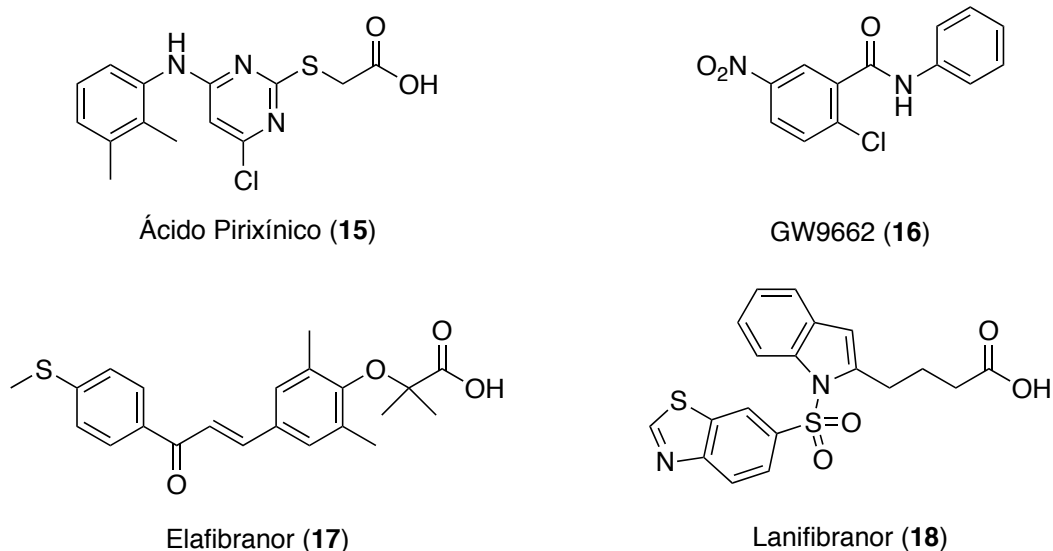
devido aos efeitos adversos como a hepatotoxicidade, cardiotoxicidade e toxicidade intestinal (KALLIORA, C. & DROSATOS, K., 2022; BLOKHIN, et al., 2023).

1.2.4 Outros Ativadores PPAR em pesquisa

Existem diversos estudos em andamento com outros ativadores do PPAR, além dos já mencionados, há outros que apresentam resultados promissores, como por exemplo, o agonista PPAR α , o ácido pirínico WY-14643 (**15**) que demonstrou melhora do acúmulo de gordura hepática induzida por etanol, redução da resistência à insulina e a obesidade, restaurando a homeostase da glicose (XU; DENNING; LU, 2022; ZHANG; LIU; YANG, 2023).

Existem também pesquisas com antagonista PPAR γ , GW9662 (**16**), que diminuiu a expressão mediada por lipopolissacarídeos (LPS)/TLR4 de interleucinas (IL-1, IL-1 β , IL-6), óxido nítrico sintase induzível (iNOS) e a concentração de nitrito (NO $^{2-}$) (ZHANG; LIU; YANG, 2023).

Figura 6: Estrutura molecular de agonistas PPAR.



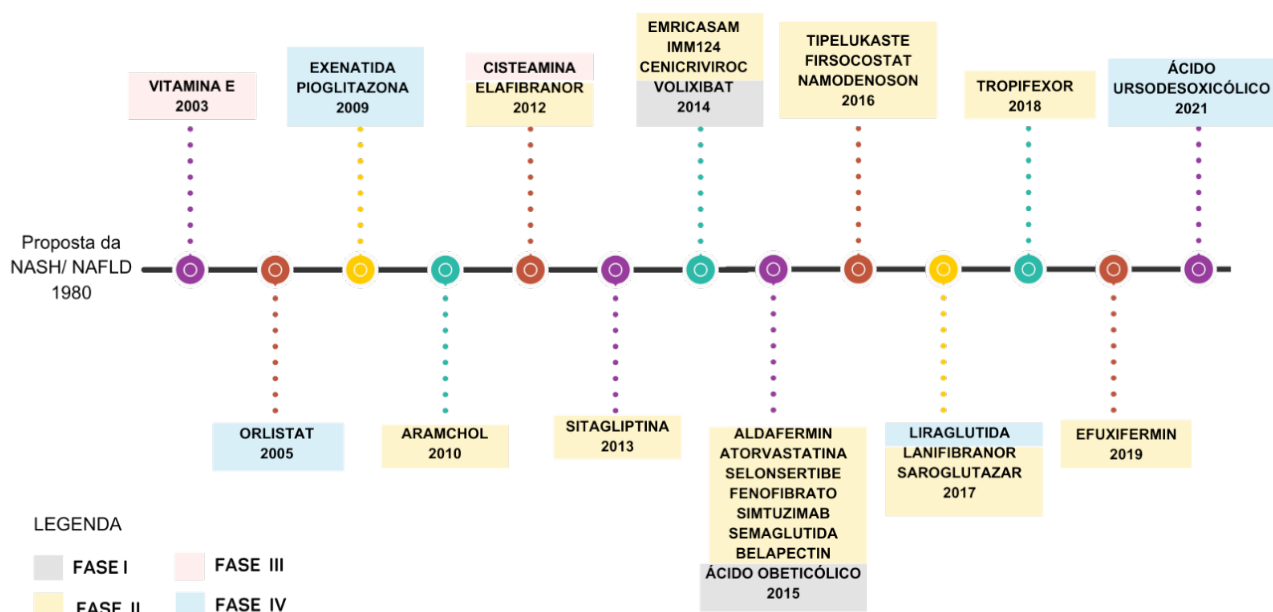
Elanifranor (17) e lanifibranor (18) pertencem a classe dos agonistas PPAR α/δ , ambos exibem potencial na redução da inflamação hepática e melhora à sensibilidade a insulina com consequente diminuição da gordura hepática, tornando-os opções promissoras para tratar a DHEADM, porém pesquisas adicionais são necessárias para confirma sua eficácia e segurança a longo prazo (HOEK, et al., 2021; BOECKMANS, et al., 2022; MØLLERHØJ, et al., 2022).

A DHEADM não possui um tratamento específico, o que se busca em novos candidatos a fármacos para esta patologia é a possibilidade de melhorar a esteato-hepatite, diminuir a inflamação lobular histológica e o balonamento dos hepatócitos e a redução da regressão da fibrose (CASTERA, et al., 2019; SIMOES, ET AL., 2019; MITSALA, et al., 2022).

Todavia os novos compostos com atividade agonista PPAR apresentaram efeitos adversos graves como câncer na bexiga, hiperplasia, risco de toxicidade hepática e renal ou ainda elevado risco cardiovascular, dentre outros, restringindo seu uso clínico, promovendo a retirada de alguns e/ou não aprovação pelo FDA (HONG et al., 2019).

As terapias emergentes visam atuar sobre o diabetes, metabolismo lipídico hepático, inflamação e fibrose, fornecendo diversas estratégias e abordagens diferentes para a DHEADM (Figura 7). Apesar dos benefícios demonstrados nas pesquisas com os agonistas PPAR, os efeitos tóxicos relacionados ao comprometimento cardíaco, carcinogenicidade, insuficiência cardíaca, infarto do miocárdio, edema, hemorragia e disfunção renal, alguns fármacos tiveram seus estudos interrompidos na fase II ou III. Porém a síntese e avaliação de novos ligantes sintéticos para PPAR continuam sendo exploradas (CHENG et al., 2019; RAMIREZ et al., 2021).

Figura 7: Linha do tempo dos medicamentos voltados para o tratamento esteatose hepática.



Fonte: Adaptado de XU et al., 2022.

1.3 A VERSATILIDADE DA BIOMASSA DE *Anacardium occidentale*

A biodiversidade, principalmente das plantas, tem sido fonte de medicamentos há séculos. Neste contexto, as pesquisas com a família *Anacardiaceae* tem contribuído em vários aspectos medicinais e nutracêuticos. Essa família possui cerca de 82 gêneros e 700 espécies encontradas majoritariamente em regiões tropicais (MAZZETTO; LOMONACO; MELE, 2009).

A espécie *Anacardium occidentale* Linn, também chamada de cajueiro, é considerada nativa do Brasil, aparecendo pela primeira vez na ilustração do livro "As singularidades da França Antártica" escrito pelo monge naturalista francês André Thévet (1502-1590) em 1557 durante as expedições francesas ao sul das regiões equatoriais do Brasil entre 1555 e 1567 (THÉVET, 1997). Embora nativo do Brasil, o cajueiro foi introduzido e difundido na Ásia e na África, durante a colonização

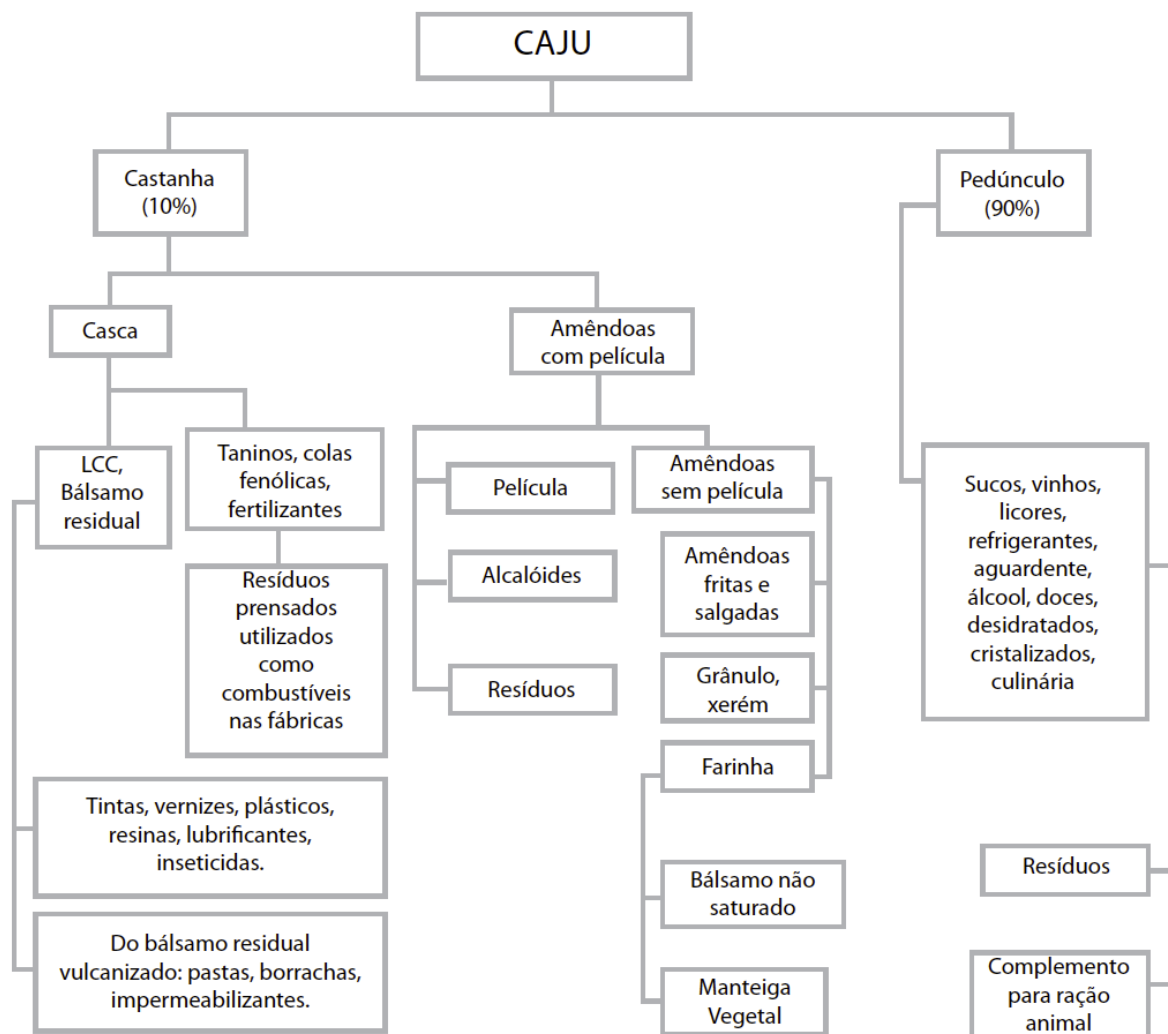
portuguesa e nas rotas comerciais a partir do século XVI, onde se adaptou rapidamente devido às condições climáticas semelhantes (LOMONACO; MELE; MAZZETTO, 2017).

O panorama da cajucultura no mundo está distribuído nos segmentos de produção de castanha de caju (amêndoa), do caju de mesa (pedúnculo floral ou pseudofruto) e do líquido da casca da castanha de caju (LCC). Atualmente, em termos comerciais, os três maiores produtores de castanha de caju com casca são Costa do Marfim, Índia e Vietnã com cerca de 2 milhões de toneladas; enquanto Brasil, Mali e Madagáscar são os grandes produtores de caju de mesa com cerca de 1,4 milhão de toneladas em 2020 (BRAINER, 2022). Adicionalmente, a produção mundial de LCC ficou em torno de 200 mil toneladas no mesmo ano.

A produção nacional de castanhas, caju e LCC está concentrada na Região Nordeste com 99,7 %, com destaque para os Estados do Ceará (63,5 %), Piauí e Rio Grande do Norte – 28,7 % somados - e 7,8 % distribuídos em outros Estados da região Nordeste. Em 2020, o país produziu 140 mil toneladas de castanha de caju e 1 milhão de tonelada de caju de mesa.

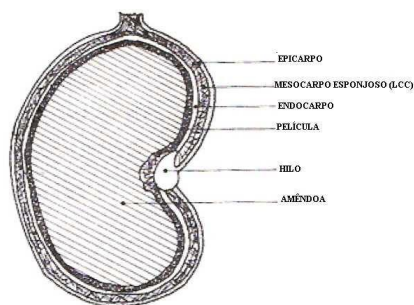
Do ponto de vista socioeconômico, o agronegócio do caju ou cajucultura é uma das fontes de desenvolvimento regional envolvendo desde a agricultura familiar até diferentes indústrias da cadeia produtiva do caju (Figura 8).

Figura 8: Fluxograma da cadeia produtiva do caju



Fonte: Adaptado de PAIVA; GARRUTI; SILVA NETO, 2000

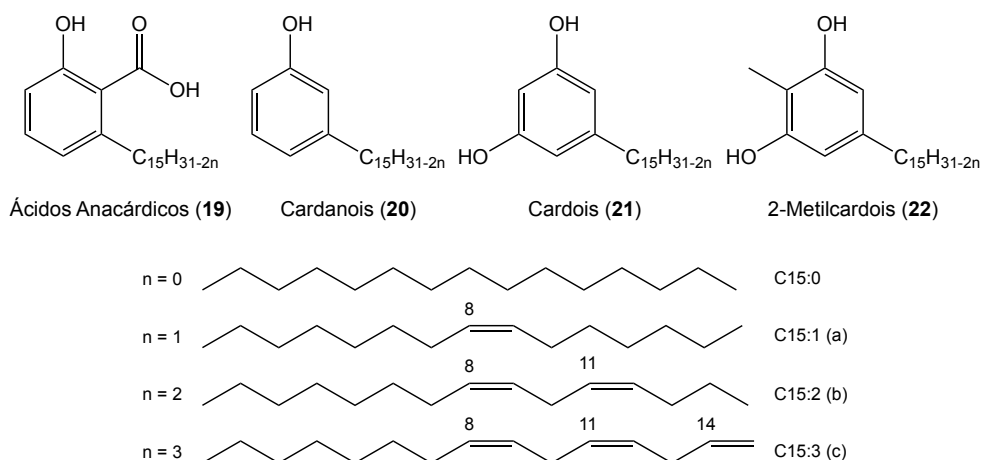
A castanha do caju apresenta tamanho variável e é subdivida em casca (pericarpo), película e amêndoa. A casca da castanha é composta pelo epicarpo – fina camada externa da casca –, mesocarpo – camada alveolada que contém um óleo escuro, cáustico, irritante, viscoso e inflamável conhecido como líquido da castanha do caju (LCC) –, o endocarpo, e uma película dura que protege a amêndoa – fonte rica em proteínas e componentes graxos (Figura 9) (MAZZETTO; LOMONACO, 2009).

Figura 9: Aspectos estruturais da castanha de caju

Fonte: Adaptado de PAIVA; GARRUTI; SILVA NETO, 2000

1.4 LÍQUIDO DA CASCA DA CASTANHA DO CAJU (LCC)

O líquido da casca da castanha de caju (LCC), produzido no mesocarpo da castanha, é um óleo viscoso e acre que compreende 25-30 % do peso do fruto *in natura*, sendo uma das fontes mais ricas de misturas de lipídeos fenólicos não-isoprenoides como ácidos anacárdicos (**19**, 71-82%), cardanois (**20**, 2-9%), cardois (**21**, 13-20%) e 2-metilcardois (**22**, 1-4%) (Figura 10). Como agrossíduo produzido no beneficiamento da castanha de caju, o LCC tem sido explorado por diversos segmentos de baixo valor agregado cujo maior destino é a exportação a preços que variam de 250 a 800 dólares a tonelada (valores dependentes das safras).

Figura 10: Constituintes do Líquido da Castanha do Caju (LCC).

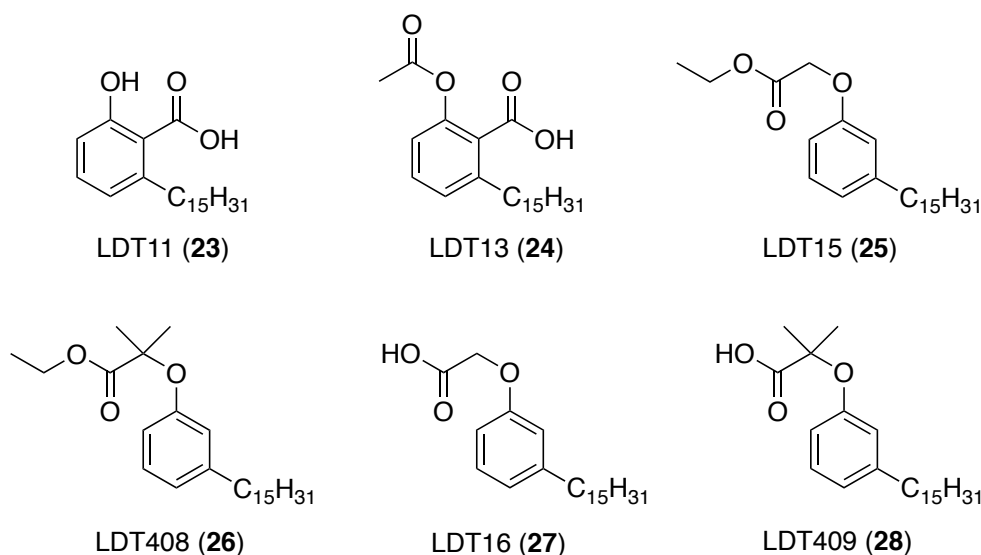
O LCC natural – produzido em larga escala por extração em prensa à frio, extração com solventes, processo termo-mecânico e extração com CO₂ supercrítico – é usado como matéria-prima na fabricação de inseticidas, germicidas, antioxidantes, isolantes térmicos, material de atrito, plastificantes, tensoativos, tintas, vernizes. Por sua vez, LCC técnico – obtido por processo termo-mecânico a temperaturas de 185-195 °C na indústria – apresenta a conversão da mistura de ácidos anacárdicos na mistura de cardanois via descarboxilação, tornando-se o componente majoritário (67-95%) (MAZZETTO; LOMONACO, 2009; CERONE et al., 2019; SALEHI et al., 2019; NYIRENDA et al., 2021).

Estruturalmente, estes lipídeos possuem características polares (hidroxilas fenólicas e carboxilas) e apolares (cadeia lateral com 15 átomos de carbono e diferentes graus de insaturação) em anel aromático de 6 membros – que diferencia esta matéria-prima para modificações em síntese orgânica – constituindo sistema biofórico natural com propriedades eletrônicas e hidrofóbicas relevantes ao reconhecimento molecular por diferentes alvos terapêuticos. Neste contexto, vários estudos sobre as atividades destes compostos – purificados ou como misturas – bem como derivados semissintéticos descrevem ações fenotípicas e em biorreceptores (STASIUK; KOZUBEK, 2010), incluindo propriedades antioxidantes, anti-inflamatórias (SOUZA, et al., 2018), e atividades antimicrobianas (ASHRAF; RATHINASAMY, 2018; MORAIS et al., 2017; SOUZA et al., 2022)

1.5 AGONISTAS PPAR PLANEJADOS A PARTIR DO LCC

Estudos desenvolvidos em colaboração com o grupo da Profa. Carolyn Cummins da Universidade de Toronto mostraram que derivados planejados a partir dos lipídeos fenólicos presentes no LCC atuam como agonista PPAR. As séries derivadas do ácido anacárdico (**19**) e cardanol (**20**), ambas com cadeia lateral hidrofóbica com 15 átomos de carbono (C15), exibiram diferentes perfis de ativação específicos para os subtipos PPAR α , seletivos duais para PPAR α /PPAR γ , PPAR α /PPAR γ , e abrangentes (pan-PPAR) em relação aos três subtipos de receptores-alvo: PPAR α (EC₅₀ 0,5 μ M a 67 μ M), PPAR γ (EC₅₀ 0,9 μ M a 50 μ M) e PPAR β/δ (EC₅₀ 10 μ M a 100 μ M) (SAHIN et al., 2022) (Figura 11).

Figura 11: Agonistas PPAR planejados a partir do LCC



Esses compostos também demonstraram relevante efeito em hepatócitos primários de camundongos com o aumento da expressão de genes envolvidos na oxidação (Fgf1, PDK4 e CPT1), captação de ácidos graxos (FABP1 e CD36) bem como induziram a expressão do transportador de glicose GLUT4, da adiponectina sensibilizadora de insulina sem induzir fortemente os genes relacionados à adipogênese (PPAR α , CEBP α , aP2) (SAHIN et al., 2022; ROMEIRO; CUMMINS; MAGOMEDOVA, 2017).

Como prova de conceito da eficácia *in vivo*, o derivado LDT409 (**28**) foi avaliado em camundongos alimentados com uma dieta rica em gordura, visando tratar a resistência à insulina, hiperlipidemia e esteatose hepática. Os camundongos que receberam o tratamento com **28** apresentaram perda de peso, melhoraram a tolerância à insulina e tiveram níveis mais baixos de triglicerídeos no sangue em comparação com o grupo de controle que recebeu apenas a dieta rica em gordura. A análise do fígado revelou uma redução na acumulação de gordura, juntamente com um aumento na expressão de genes relacionados à oxidação, como o Fgf21. Além disso, houve uma significativa diminuição na massa do tecido adiposo e uma forte ativação de genes relacionados à conversão de adipócitos brancos em adipócitos marrons (UCP1). Esses resultados indicam que o composto LDT409 (**28**) promoveu a quebra de gordura e o gasto de energia, sem os efeitos colaterais associados aos fibratos e glitazonas, sugerindo seu potencial para o tratamento de condições como hiperlipidemia, diabetes, obesidade e esteatose hepática (SAHIN et al., 2022).

Objetivos

2. OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Este trabalho teve por objetivo sintetizar e avaliar *in vitro* novos agonistas PPAR planejados a partir do ácido anacárdico saturado.

2.2 Objetivos Específicos

- Sintetizar nodos derivados-alvo α -fenoxiésteres e α -fenoxiácidos derivados planejados a partir do ácido anacárdico saturado;
- Avaliar a ativação da transcrição de PPAR por ensaio gene repórter *in vitro*;
- Estabelecer relação estrutura-atividade dos novos análogos.

3. PLANEJAMENTO ESTRUTURAL

Os receptores nucleares conhecidos como PPAR desempenham papel crucial na regulação metabólica sendo alvos importantes no tratamento de doenças metabólicas. As três isoformas de PPAR compartilham semelhanças no domínio de ligação do ligante (LDB), cuja cavidade hidrofóbica de aproximadamente 1400 Å³ para PPAR α e PPAR γ é capaz de reconhecer compostos naturais e sintéticos. Por sua vez, PPAR β/δ , que possui cavidade menor, tem reconhecimento seletivo com restrição de acesso a compostos com hidrofóbicos volumosos (BRUNETTI et al., 2020; SBLANO et al., 2022).

Considerando que os compostos derivados do ácido anacárdico e cardanol atuam como os agonistas parciais de PPAR (Figura 11), o planejamento dos novos compostos neste trabalho está relacionado com a otimização do protótipo LDT409 (28) (SAHIN et al, 2022).

Neste sentido, os compostos-alvo foram planejados a partir de modificações estruturais na subunidade salicílica do ácido anacárdico saturado LDT11 (23) visando novos padrões moleculares com diferentes características de complementaridade para reconhecimento pelos PPAR. Desta forma, a mistura de lipídeos fenólicos de ácidos anacárdicos (19), transformada no ácido anacárdico saturado, terá na cadeia saturada com quinze carbonos a mesma contribuição hidrofóbica do composto LDT 409 (28).

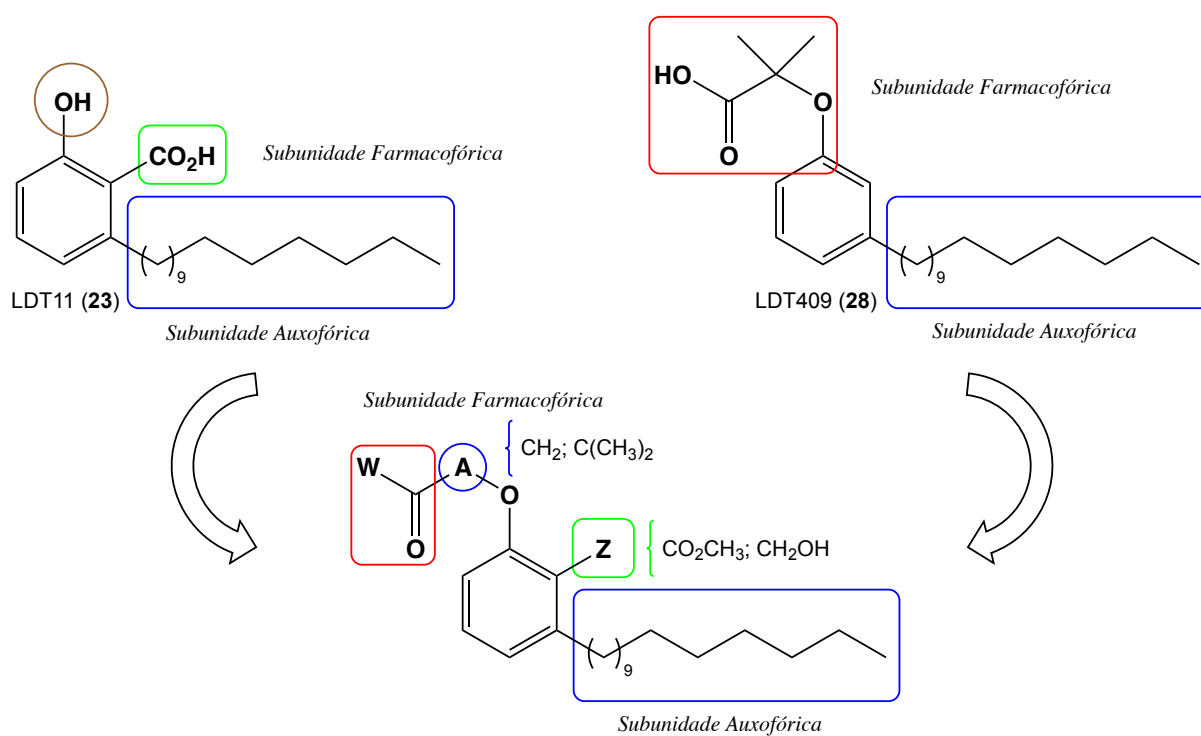
Ao grupo fenol do ácido 23 foi planejada a introdução da subunidade farmacofórica dos ésteres de fibratos α -fenoxiésteres, variando o carbono alfa em metileno (CH₂) e *gem*-dimetila (C(CH₃)₂), como nos respectivos análogos LDT15 (25) e LDT408 (26), que poderá ser reconhecida pelos PPAR por meio de interações dipolares de forças de Keesom. Já os derivados α -fenoxiácidos, análogos dos compostos LDT16 (27) e LDT409 (28), apresentam a subunidade farmacofórica iônica capaz de interagir por meio de interações íon-íon ou íon-dipolo com o LDB dos receptores.

Por fim, a subunidade carboxílica do composto LDT11 (23) será convertida em éster metílico (carbometoxila) e álcool primário (hidroximetila) visando identificar as

contribuições dipolares, ausentes nos compostos **25** a **28**, no reconhecimento molecular dos novos derivados pelos PPAR.

Neste contexto, a pergunta de pesquisa está relacionada à modulação do perfil PPAR dos novos análogos pela variação dos padrões de substituição no fenol e ácido carboxílico do composto LDT11 (**23**) como híbridos dos compostos desenvolvidos por SAHIN e colaboradores (2022) (Esquema 1).

Esquema 1: Planejamento estrutural dos candidatos a agonistas PPAR a partir do ácido anacárdico

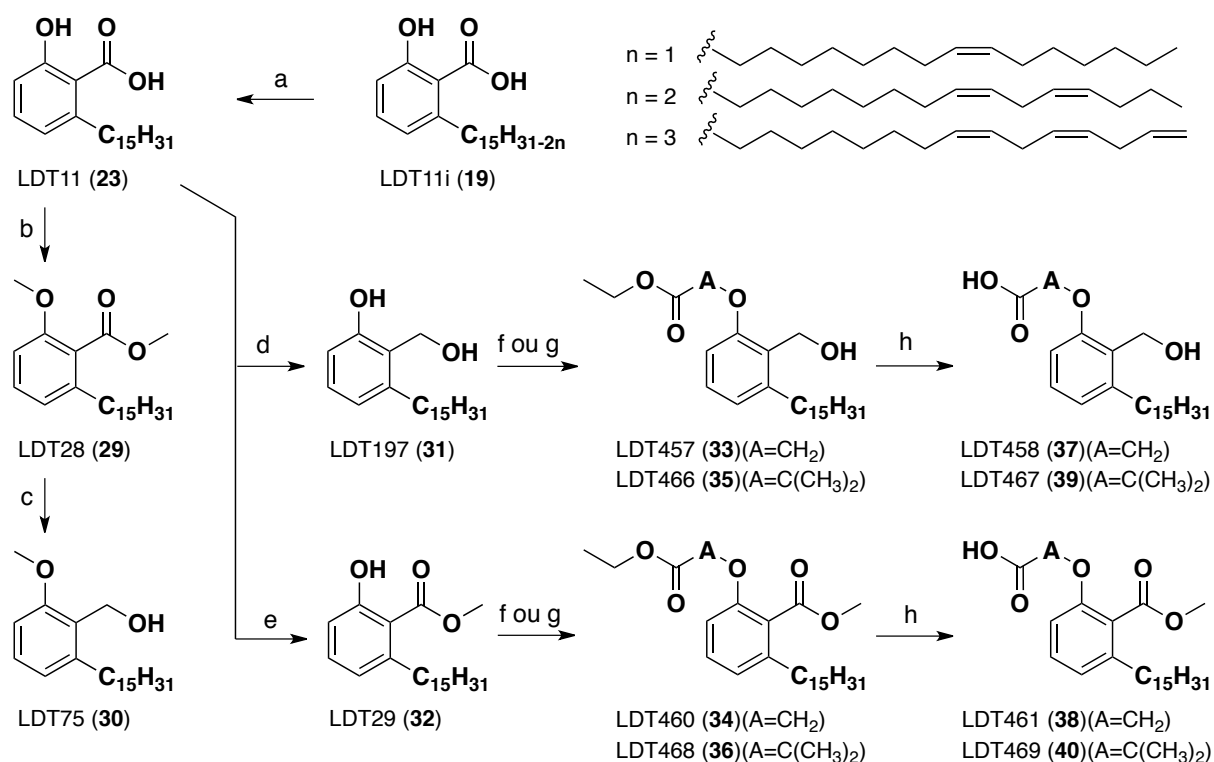


Estratégia Sintética

4. ESTRATÉGIA SINTÉTICA

A obtenção dos derivados-alvo foi planejada a partir da mistura de ácidos anacárdicos LDT11i (**19**) de acordo com a rota sintética apresentada no Esquema 2, por meio de reações clássicas da química orgânica de interconversão de grupos funcionais envolvendo hidrogenação catalítica, O-alkilação, redução, e hidrólise em condições experimentais convencionais e sob refluxo.

Esquema 2: Planejamento sintético dos derivados-alvo.



a) H₂, Pd/C 10 %, EtOH, t.a.; b) CH₃I, K₂CO₃, Me₂CO, 70 °C; c) LiAlH₄, THF, 70 °C; d) LiAlH₄, THF, 110 °C; e) CH₃OH, H₂SO₄, 70 °C; f) BrCH₂CO₂Et, K₂CO₃, Me₂CO, t.a.; BrC(CH₃)₂CO₂Et, K₂CO₃, KI, CH₃CN, 110 °C, 12 h.; h) LiOH, THF-H₂O, t.a. (A=CH₂) e 80 °C (A=C(CH₃)₂).

Diante disso, a rota adotada (Esquema 2) foi planejada com a hidrogenação catalítica da mistura de ácidos anacárdicos (LDT11i, **19**) com catalisador de paládio/carvão a 10 % (Pd/C) em etanol, resultando no intermediário-chave ácido anacárdico saturado (LDT11, **23**). Para obtenção dos demais intermediários, o composto LDT11 foi submetido à reação de O-alkilação com excesso de 3 equivalentes de iodeto de metila e carbonato de potássio para obtenção do éster

LDT28 (**29**). Por sua vez, a reação de esterificação de Fischer com metanol na presença de ácido sulfúrico concentrado levou à síntese do éster metílico LDT29 (**32**). A redução do ácido **23** e do éster **29** com hidreto de lítio e alumínio em THF anidro conduziu ao álcool LDT197 (**31**). O álcool LDT75 (**30**) foi sintetizado por Ferreira (2014) e não apresentou perfil PPAR.

Para obtenção dos derivados α -fenoxiésteres, os intermediários LDT197 (**31**) e LDT29 (**32**) foram submetidos à reação de *O*-alquilação quimiosseletiva do fenol com bromoacetato de etila (série **a**) visando os compostos LDT457 (**33**), LDT460 (**34**); e com α -bromoisobutirato de etila (série **b**) para os compostos LDT466 (**35**) e LDT468 (**36**). Por fim, a hidrólise dos respectivos ésteres com hidróxido de lítio em mistura de tetraidrofurano e água, na presença de catalisador de transferência de fase Aliquat336[®], forneceu os respectivos ácidos LDT458 (**37**) e LDT461 (**38**) (série **a**) e LDT467 (**39**) e LDT469 (**40**) (série **b**).

Os compostos sintetizados, intermediários e finais, foram estruturalmente caracterizados por meio da análise de espectros de ressonância de hidrogênio-1 e carbono-13, realizados no Centro Nordestino de Aplicação e Uso da Ressonância Magnética Nuclear (CENAUREMN) da Universidade Federal do Ceará (UFC).

Parte Experimental

5. PARTE EXPERIMENTAL

5.1 GENERALIDADES, MATERIAIS E CARACTERIZAÇÃO DOS COMPOSTOS

Os procedimentos experimentais em síntese orgânica foram realizados no Laboratório de Desenvolvimento de Inovações Terapêuticas (LDT), na Universidade de Brasília (UnB) no período de agosto de 2019 a agosto de 2022.

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) 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.

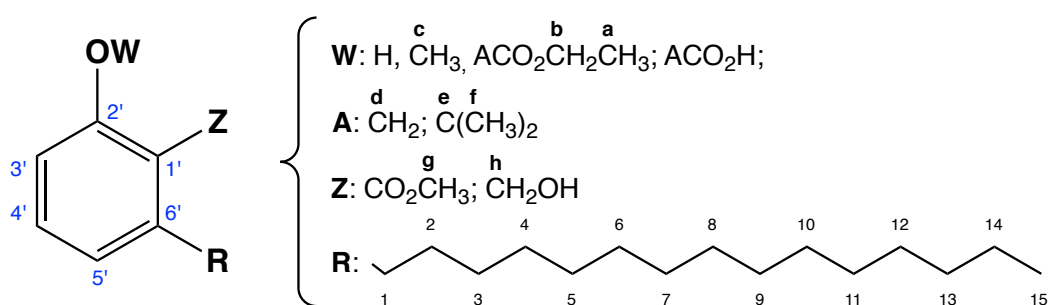
As reações foram monitoradas por cromatografia em camada delgada (CCD) por meio de cromatofolhas (5,0 x 1,5 cm) de alumínio de Kieselgel 60 F254 com espessura de 0,25 mm (SILICYCLE®) e reveladas em lâmpada ultravioleta UV (254 nm) e reveladores – solução hidroalcoólica de cloreto férrico a 5% e solução 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 ^1H – 300 MHz ou 500 MHz) e de carbono 13 (RMN de ^{13}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 CDCl_3 como solvente e tetrametilsilano (TMS) como referência interna. Os valores de deslocamento químico (δ) 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).

A Figura 12 apresenta a estrutura Markush e numerações padronizadas visando facilitar a análise dos espectros.

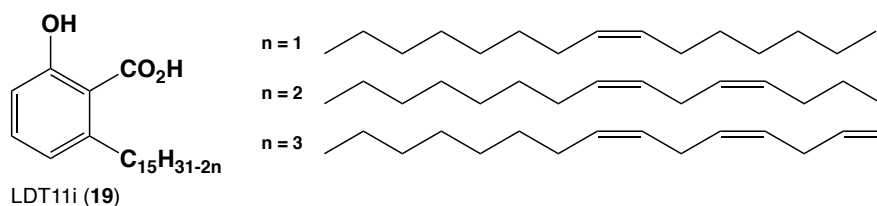
Figura 12: Numeração e legendas empregadas na análise dos sinais em RMN ^1H e de ^{13}C .



5.2 METODOLOGIA SINTÉTICA E CARACTERIZAÇÃO DOS COMPOSTOS

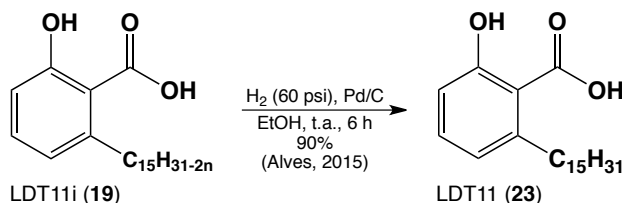
Os derivados e intermediários tiveram como produto de partida a mistura de ácidos anacárdicos, principal componente do LCC natural.

5.2.1. Obtenção da Mistura de Ácidos Anacárdicos (LDT11i, **19**)

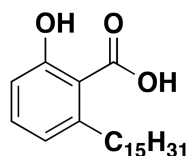


A um balão de 100 mL foram adicionados 30,0 g de LCC natural, 15,0 g de Ca(OH)₂ – previamente solubilizado em água (10 mL) – e mistura de MeOH (180 mL) e água destilada (30 mL). O sistema reacional permaneceu em refluxo, com sistema de resfriamento do condensador à 0 °C e aquecimento em banho de óleo 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 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 Composto Ácido 2-Hidróxi-6-pentadecilbenzóico (LDT11, **23**)



A um frasco de hidrogenação catalítica de 250 mL foram adicionados 5,0 g da mistura de ácidos anacárdicos (**19**) (~14,4 mmol), 0,2 g de catalisador paládio-carvão a 10 % (Pd/C) e etanol (50 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, **23**).



Sólido Branco

Rendimento: 90 %

RF: 0,48 (Hex_{80%}:AcOEt_{20%})

Ponto de fusão: 81 °C-84 °C

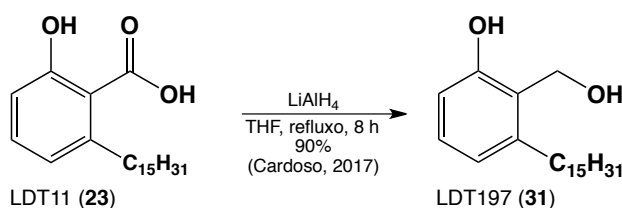
Fórmula Molecular: C₂₂H₃₆O₃

Massa molar: 348,519 g/mol

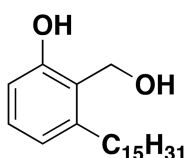
RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃): δ 0,89 (t, *J* = 6,5 Hz, 3H, 15); 1,26 (m, 24H, 3-14); 1,60 (qi, *J* = 6,6 Hz, 2H, 2); 3,00 (t, *J* = 7,7 Hz, 2H, 1); 6,79 (d, *J* = 7,4 Hz, 1H, 3'); 6,89 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H, 5'); 7,37 (t, *J* = 7,9 Hz, 1H, 4'); 10,72 (s, ArOH).

RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃): δ 14,3 (CH₃, 15); 22,9 (CH₂, 14); 29,6-30,0 (CH₂, 3-12); 32,1 (CH₂, 13); 32,2 (CH₂, 2); 36,7 (CH₂, 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=O₂H).

5.2.3 Obtenção do Composto 2-(Hidróximetil)-3-pentadecilfenol (LDT197, **31**)



Em um balão de 100 mL foram adicionados 0,4 g do agente redutor LAH (11,48 mmol) e THF (10 mL). A este, em banho de gelo e agitação magnética branda, foi adicionado, gota a gota, solução de **23** – 1,0 g (2,87 mmol) em THF anidro (30 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 8 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 mL) e água destilada (1 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 mL) e a fase orgânica lavada com solução saturada de cloreto de sódio (30 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

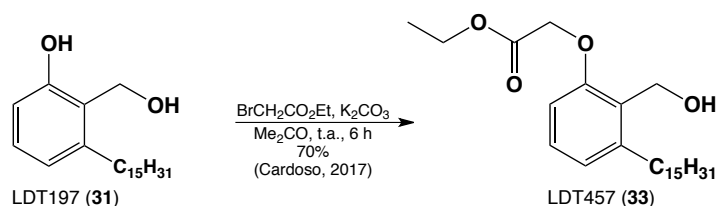
Fórmula Molecular: C₂₂H₃₈O₂

Massa molar: 334,535 g/mol

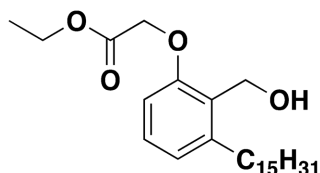
RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃): δ 0,89 (t, *J* = 6,7 Hz, 3H, 15); 1,26 (m, 24H, 3-14); 1,49 (m, 2H, 2); 1,63 (sl, 1H, OH); 2,57 (t, *J* = 7,7 Hz, 2H, 1); 4,93 (s, 2H, h); 6,72 (t, *J* = 8,3 Hz, 2H, 3' e 5'); 7,11 (t, *J* = 7,7 Hz, 1H, 4'); 7,48 (sl, ArOH).

RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃): δ 14,1 (CH₃, 15); 22,7 (CH₂, 14); 29,4-29,7 (CH₂, 3-12); 31,8 (CH₂, 13); 31,9 (CH₂, 2); 33,3 (CH₂, 1); 60,2 (CH₂, h); 114,5 (CH, 3'); 121,6 (CH, 5'); 122,6 (C, 1'); 128,9 (CH, 4'); 141,2 (C, 6'); 156,7 (C, 2').

5.2.4 Obtenção do Composto 2-(2-(Hidróximetil-3-pentadecilfenóxi)acetato de etila (LDT457, **33**).



A um balão de 50 mL foram adicionados 0,3 g do derivado **31** (0,75 mmol), 0,3 g de carbonato de potássio (1,50 mmol), acetona (5 mL) e a mistura submetida à agitação magnética, à temperatura ambiente por 30 minutos. Após esse tempo, foram 0,12 mL de bromoacetato de etila (1,13 mmol) e 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 mL), lavada com soluções de HCl a 10 % (10 mL), saturada de cloreto de sódio (10 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 (**33**).



Sólido Branco

Rendimento: 70 %

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

Ponto de fusão: 32 °C-34 °C

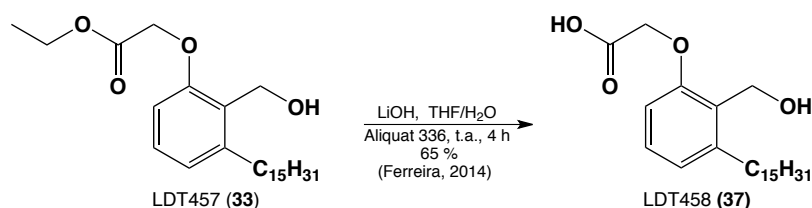
Fórmula Molecular: C₂₆H₄₄O₄

Massa molar: 420,625 g/mol

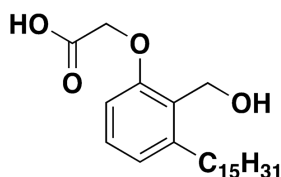
RMN de ¹H (500 MHz, CDCl₃): δ 0,88 (t, *J* = 6,7 Hz, 3H, 15); 1,26-1,35 (m, 27H, 3-14 e 3H, a); 1,55 (qi, *J* = 7,5 Hz, 2H, 2); 2,69 (t, *J* = 7,9 Hz, 2H, 1); 4,26 (q, *J* = 7,7 Hz, 2H, 2H, b); 4,71 (s, 2H, d); 4,78 (s, 2H, h); 6,67 (d, *J* = 8,2 Hz, 1H, 3'); 6,85 (d, *J* = 7,7 Hz, 1H, 5'); 7,16 (t, *J* = 7,92 Hz, 1H, 4').

RMN de ¹³C (125 MHz, CDCl₃): δ 14,3 (CH₃, 15 e a); 22,9 (CH₂, 14); 29,6-29,9 (CH₂, 3-12); 32,2 (CH₂, 13); 32,3 (CH₂, 2); 33,5 (CH₂, 1); 57,2 (CH₂, h); 61,9 (CH₂, b); 65,9 (CH₂, d); 109,8 (CH, 3'); 123,8 (CH, 5'); 128,5⁹ (CH, 4'); 128,6⁴ (C, 1'); 143,4 (C, 6'); 157,0 (C, 2'); 169,7 (CO₂CH₂CH₃).

5.2.5 Obtenção do Composto Ácido 2-(2-Hidróximetil-3-pentadecilfenóxi)acético (LDT458, **37**).



A um balão de 50 mL foram adicionados 0,12 g do derivado **33** (0,29 mmol), 0,05 g de hidróxido de lítio (1,14 mmol) – solubilizado em água destilada (1 mL), THF (4 mL) 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 mL) e a fase orgânica lavada com solução saturada de cloreto de sódio (5 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 (**37**).



Sólido Branco

Rendimento: 65 %

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

Ponto de fusão: 87 °C-90 °C

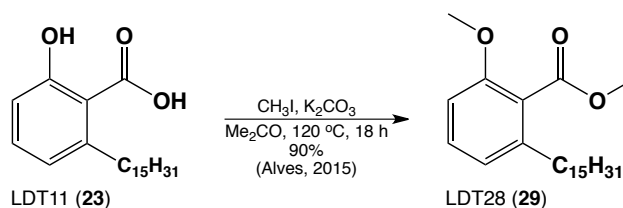
Fórmula Molecular: C₂₄H₄₀O₄

Massa molar: 392,572 g/mol

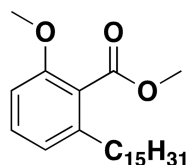
RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃): δ 0,88 (t, *J* = 6,5 Hz, 3H, 15); 1,26-1,31 (m, 24H, 3-14); 1,54 (qi, *J* = 6,5 Hz, 2H, 2); 2,67 (t, *J* = 7,8 Hz, 2H, 1); 4,73 (s, 2H, d); 4,82 (s, 2H, h); 6,72 (d, *J* = 8,1 Hz, 1H, 3'); 6,86 (d, *J* = 7,6 Hz, 1H, 5'); 7,19 (t, *J* = 7,9 Hz, 1H, 4').

RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃): δ 14,3 (CH₃, 15); 22,9 (CH₂, 14); 29,6-29,9 (CH₂, 3-12); 32,2 (CH₂, 13); 32,4 (CH₂, 2); 33,4 (CH₂, 1); 57,4 (CH₂, h); 66,3 (CH₂, d); 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 (CO₂H).

5.2.6 Obtenção do Composto 2-Metóxi-6-pentadecilbenzoato de metila (LDT28, **29**)



Em um balão (100 mL) foram adicionados 2,0 g do derivado LDT11 (**23**) (5,74 mmol), 2,4 g de carbonato de potássio (17,22 mmol) e acetona (50 mL). A mistura permaneceu sob agitação magnética por 20 minutos e a ela foram adicionados 1,49 mL de iodeto de metila (22,95 mmol). Em seguida, o sistema reacional foi mantido sob agitação vigorosa, em banho de óleo à 120 °C, com resfriamento do condensador em circulador a -8 °C, por 18 horas. Após esse período, a mistura foi extraída com diclorometano (3 x 10 mL) e a fase orgânica lavada com solução saturada de cloreto de sódio (2 x 10 mL) e seca em sulfato de sódio anidro. O solvente foi evaporado à pressão reduzida e a mistura purificada em coluna cromatográfica de gel de sílica, eluída em diferentes concentrações de mistura hexano-acetato de etila (5 % a 35 %), fornecendo o derivado éster 2-metóxi-6-pentadecilbenzoato de metila LDT2 (**29**).



Sólido branco

Rendimento 97%

R_f: 0,40 (Hex_{90%}:AcOEt_{10%})

Ponto de fusão: 32-33°C

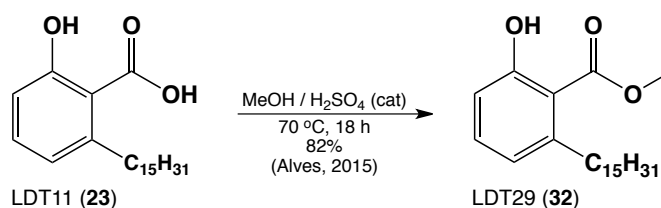
Fórmula molecular: C₂₄H₄₀O₃

Massa Molar: 376,573 g/mol

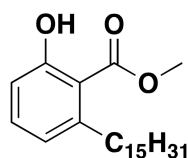
RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃): δ 0,89 (t, *J* = 6,3 Hz, 3H, 15); 1,26 (m, 24H, 3-14); 1,53-1,61 (m, 2H, 2); 2,55 (t, *J* = 7,8 Hz, 2H, 1); 3,82 (s, 3H, c); 3,91 (s, 3H, g); 6,76 (d, *J* = 8,3 Hz, 1H, 3'); 6,82 (d, *J* = 7,6 Hz, 1H, 5'); 7,27 (t, *J* = 7,9 Hz, 1H, 4').

RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃): δ 14,2 (CH₃, 15); 22,8 (CH₂, 14) 29,5-29,8 (CH₂, 3-12); 31,3 (CH₂, 13); 32,1 (CH₂, 2); 33,6 (CH₂, 1); 52,2 (CH₃, g); 56,0 (CH₃, c); 108,5 (CH, 3'); 121,7 (CH, 5'); 123,7 (C, 1'); 130,4 (CH, 4'); 141,6 (C, 6'); 156,4 (C, 2'); 169,1 (C=O, 2').

5.2.7 Obtenção do Composto 2-Hidróxi-6-pentadecilbenzoato de metila (LDT29, **32**).



A um balão de 50 mL foram adicionados 0,4 g de **23** (1,0 mmol), metanol (8 mL) e H₂SO₄ (1,5 mL). O sistema reacional permaneceu em refluxo, com sistema de resfriamento do condensador a 0 °C e aquecimento em banho de óleo à 70 °C, sob agitação magnética por 18 h. A mistura foi extraída com diclorometano (3 x 10 mL) e a fase orgânica lavada com solução saturada de cloreto de sódio (2 x 10 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 (**32**).



Sólido branco

Rendimento: 82 %

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

Ponto de fusão: 37 °C-40 °C

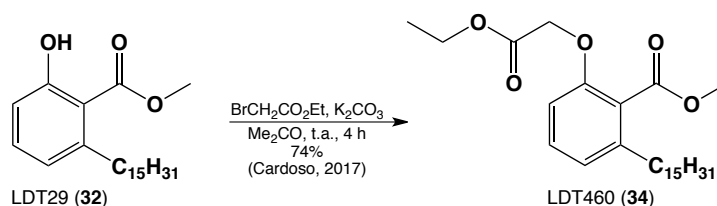
Fórmula Molecular: C₂₃H₃₈O₃

Massa molar: 362,54 g/mol

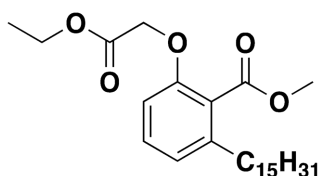
RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃): δ 0,89 (t, *J* = 6,6 Hz, 3H, 15); 1,27-1,31 (m, 24H, 3-14); 1,53 (qi, *J* = 7,1 Hz, 2H, 2); 2,89 (t, *J* = 7,8 Hz, 2H, 1); 3,97 (s, 3H, g); 6,72 (d, *J* = 7,5 Hz, 1H, 3'); 6,84 (d, *J* = 8,28 Hz, 1H, 5'); 7,29 (t, *J* = 8,0 Hz, 1H, 4'); 11,09 (s, 1H, OH).

RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃): δ 14,3 (CH₃, 15); 22,9 (CH₂, 14); 29,6-30,1 (CH₂, 3-12); 32,2 (CH₂, 13); 32,3 (CH₂, 2); 36,8 (CH₂, 1); 52,3 (CH₃, g); 112,1 (CH, 1'); 115,8 (CH, 3'); 122,7 (CH, 5'); 134,4 (CH, 4'); 146,4 (C, 6'); 162,8 (C, 2'); 172,2 (C=O₂CH₃).

5.2.8 Obtenção do Composto 2-(2-Carbetoximetóxi)-6-pentadecilbenzoato de metila (LDT460, **34**).



A um balão de 50 mL foram adicionados 0,2 g de **29** (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 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 mL) e a fase orgânica lavada com soluções de HCl a 10 % (20 mL), saturada de cloreto de sódio (20 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 (**34**).



Sólido branco

Rendimento: 74 %

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

Ponto de fusão: 38 °C-41 °C

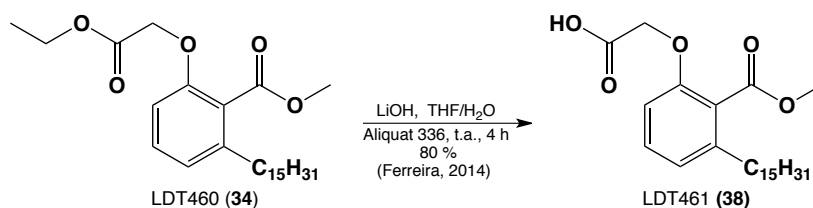
Fórmula Molecular: C₂₇H₄₄O₅

Massa molar: 448,635 g/mol

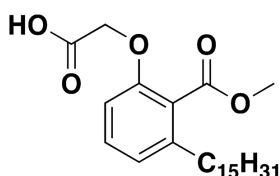
RMN de ¹H (500 MHz, CDCl₃): δ 0,88 (t, *J* = 6,8 Hz, 3H, 15); 1,25-1,29 (m, 27H, 3-14 e 3H, a); 1,57 (qi, *J* = 7,2 Hz, 2H, 2); 2,56 (t, *J* = 7,9 Hz, 2H, 1); 3,91 (s, 3H, g); 4,24 (q, *J* = 7,1 Hz, 2H, b); 4,61 (s, 2H, d); 6,65 (d, *J* = 8,3 Hz, 1H, 3'); 6,86 (d, *J* = 7,7 Hz, 1H, 5'); 7,25 (t, *J* = 8,0 Hz, 1H, 4').

RMN de ¹³C (125 MHz, CDCl₃): δ 14,3 (2CH₃, 15 e a); 22,8 (CH₂, 14); 29,6-29,9 (CH₂, 3-12); 31,3 (CH₂, 13); 32,1 (CH₂, 2); 33,6 (CH₂, 1); 52,3 (CH₃, g); 61,5 (CH₂, b); 66,5 (CH₂, d); 110,0 (CH, 3'); 122,6 (CH, 5'); 124,4 (C, 1'); 130,3 (CH, 4'); 142,1 (C, 6'); 154,9 (C, 2'); 168,6⁶ (CO₂CH₃); 168,7⁰ (CO₂CH₂CH₃);

5.2.9 Obtenção do Composto Ácido 2-(2-(Carbometóxi)-3-pentadecilfenóxi)acético (LDT461, **38**)



A um balão de 25 mL foram adicionados 0,10 g de **34** (0,22 mmol), THF (4,0 mL), 0,04 g de LiOH (0,89 mmol) – solubilizado em água destilada (1 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 mL) e a fase orgânica lavada com solução concentrada de cloreto de sódio (5 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 (**38**).



Sólido branco

Rendimento: 80 %

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

Ponto de fusão: 86 °C-88 °C

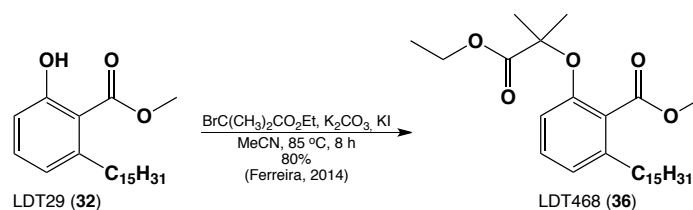
Fórmula Molecular: C₂₅H₄₀O₅

Massa molar: 420,582 g/mol

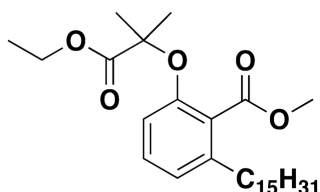
RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃): δ 0,88 (t, *J* = 6,4 Hz, 3H, 15); 1,26 (m, 24H, 3-14); 1,56 (qi, *J* = 7,2 Hz, 2H, 2); 2,62 (t, *J* = 7,8 Hz, 2H, 1); 3,95 (s, 3H, ArCO₂CH₃); 4,71 (s, 2H, ArOCH₂CO₂H); 6,75 (d, *J* = 8,3 Hz, 1H, 3'); 6,93 (d, *J* = 7,7 Hz, 1H, 5'); 7,31 (t, *J* = 8,0 Hz, 1H, 4').

RMN de ¹³C (75MHz, CDCl₃): δ 14,3 (CH₃, 15); 22,9 (CH₂, 14); 29,6-29,9 (CH₂, 3-12); 31,5 (CH₂, 2); 34,1 (CH₂, 1); 52,7 (ArCO₂CH₃); 67,0 (ArOCH₂CO₂H); 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 (ArCO₂CH₃); 171,0 (ArOCH₂COOH).

5.2.10 Obtenção do Composto 2-(2-Carbometóxi-3-pentadecilfenóxi)-2-metilpropanoato de etila (LDT468, **36**).



A um balão (125,0 mL) foram adicionados 0,2 g de **29** (0,55 mmol), carbonato de potássio (2,00 eq), iodeto de potássio (1,00 eq) e acetonitrila (6,0 mL). A mistura permaneceu sob agitação magnética durante 60 minutos, e então, foi adicionado α -bromoisobutirato de etila (3,00 eq). A reação prosseguiu sob agitação magnética, em refluxo à 85 °C por 8 horas. Após redução do volume de solvente à pressão reduzida, a mistura foi extraída com diclorometano (3 x 10 mL) e as frações orgânicas reunidas foram lavadas com solução de HCl a 10 % (20,0 mL), solução salina saturada (20,0 mL) e seca sob sulfato de sódio. O solvente foi evaporado à pressão reduzida e os resíduos purificados em coluna de gel de sílica eluída com mistura de hexano e acetato (95 %:5 %) fornecendo o derivado LDT468 (**38**).



Líquido amarelo claro

Rendimento: 80 %

RF: 0,60 (Hex_{80%}: AcOEt_{20%})

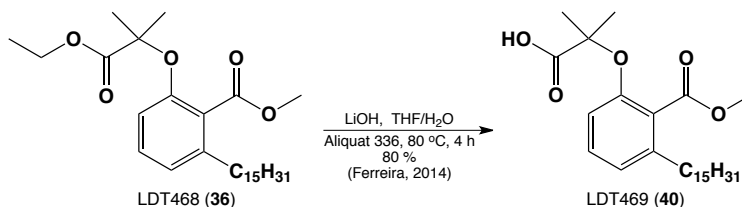
Fórmula Molecular: C₂₉H₄₈O₅

Massa molar: 476,688 g/mol

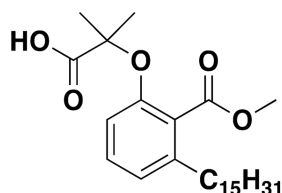
RMN de ¹H (500 MHz, CDCl₃): δ 0,88 (t, J = 6,9 Hz, 3H, 15); 1,26 (m, 24H, 3-14 e 3H, a); 1,55 (s, 6H, f); 2,53 (t, J = 8,0 Hz, 2H, 1); 3,88 (s, 3H, g); 4,25 (q, J = 7,2 Hz, 2H, b); 6,64 (d, J = 8,3 Hz, 1H, 3'); 6,86 (d, J = 7,7 Hz, 1H, 5'); 7,16 (t, J = 8,0 Hz, 1H, 4').

RMN de ¹³C (125 MHz, CDCl₃): RMN de ¹³C (125 MHz, CDCl₃): δ 14,2⁷ (CH₃, 15); 14,3¹ (CH₃, a); 22,9 (CH₂, 14); 25,3 (CH₃, f); 29,5-29,9 (CH₂, 3-12); 31,3 (CH₂, 2); 32,1 (CH₂, 13); 33,7 (CH₂, 1); 52,1 (CH₃, g); 61,6 (CH₂, b); 80,2 (C, e); 115,4 (CH, 3'); 123,1 (C, 1'); 127,6 (CH, 5'); 129,7 (CH, 4'); 141,6 (C, 6'); 152,7 (C, 2'); 169,1 (CO₂CH₃); 174,6 (CO₂CH₂CH₃).

5.2.11 Obtenção do Composto Ácido 2-(2-(Carbometóxi-3-pentadecilfenóxi)-2-metilacético (LDT469, **40**).



A um balão de 25 mL foram adicionados 0,1 g de **38** (0,22 mmol), THF (4,0 mL), 0,04 g de LiOH (0,89 mmol) – solubilizado em água destilada (1 mL) e Aliquat 336® (3 gotas). A reação permaneceu em refluxo à 80°C, sob agitação magnética, por 4 horas. Ao final deste período, a mistura foi acidificada com solução de HCl a 10 % até pH 1 e extraída com acetato de etila (3 x 10 mL). As frações orgânicas reunidas foram lavadas com solução concentrada de cloreto de sódio (10 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 LDT469 (**40**).



Sólido branco

Rendimento: 80 %

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

Ponto de fusão: 76 °C-77 °C

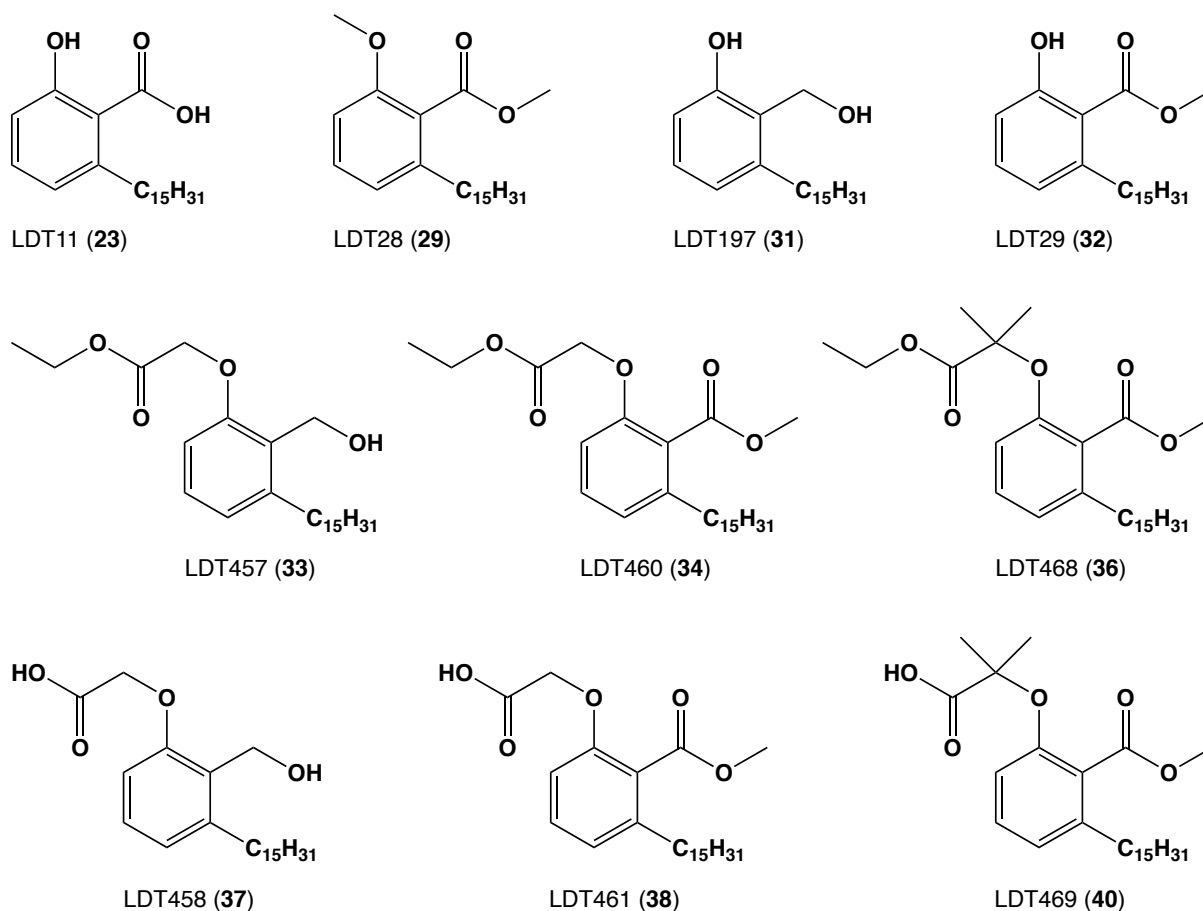
Fórmula Molecular: C₂₅H₄₀O₅

Massa molar: 420,582 g/mol

RMN de ¹H (500 MHz, CDCl₃): δ 0,93 (t, *J* = 6,9 Hz, 3H, 15); 1,30 (m, 24H, 3-14); 1,65 (s, 6H, f); 2,62 (t, *J* = 7,8 Hz, 2H, 1); 3,96 (s, 3H, g); 6,88 (d, *J* = 8,3 Hz, 1H, 3'); 6,98 (d, *J* = 7,7 Hz, 1H, 5'); 7,29 (t, *J* = 8,0 Hz, 1H, 4').

RMN de ¹³C (125 MHz, CDCl₃): δ 14,2 (CH₃, 15); 22,7 (CH₂, 14); 24,9 (CH₃, f); 29,4-29,9 (CH₂, 3-12); 31,2 (CH₂, 2); 31,9 (CH₂, 13); 33,7 (CH₂, 1); 52,6 (CH₃, g); 81,4 (C, e); 116,8 (CH, 3'); 124,5 (C, 1'); 127,2 (CH, 5'); 130,5 (CH, 4'); 142,6 (C, 6'); 152,1 (C, 2'); 169,5 (CO₂CH₃); 177,3 (COOH).

Figura 13: Intermediários e derivados-alvo planejados a partir do ácido anacárdico (**23**)



5.3. AVALIAÇÃO BIOLÓGICA *in vitro*

Os derivados alvo, uma vez sintetizados e caracterizados por meio de métodos espectroscópicos, foram submetidos a ensaios *in vitro* visando avaliar a ativação transcricional de PPAR por meio do ensaio de gene repórter. Os bioensaios foram executados pela Dra. Cigdem Sahin, em colaboração com a Profa. Dra. Carolyn Cummins, no *Nuclear Hormone Receptors in Human Health and Disease Laboratory* da *Leslie Dan Faculty of Pharmacy*, na Universidade de Toronto. Os procedimentos foram deferidos pelo *Faculties of Medicine and Pharmacy Animal Care Committee* (FMPACC) da Universidade de Toronto.

5.3.1 Reagentes Químicos

Os controles positivos WY-14643, GW-0742 e rosiglitazona foram adquiridos da empresa de biotecnologia Cayman Chemicals® (EUA). Comprimidos de inibidores de protease foram obtidos da Roche® (Canadá). Meio de cultura Eagle modificado por Dulbecco (DMEM), lactato de sódio, dimetilsulfóxido (DMSO), penicilina e estreptomicina foram adquiridos da empresa Sigma-Aldrich® (EUA). Soro fetal bovino tratado com carvão ativado foi adquirido da empresa Invitrogen® (EUA). As placas tratadas com cultura de tecidos foram obtidas da BD Bioscience® (EUA) e o sistema de ensaio de luciferase foi adquirido da Promega® (EUA).

5.3.2 Plasmídeos

Os plasmídeos correspondentes aos PPAR humanos (GAL4-hPPAR α , GAL4-hPPAR β/δ , GAL4-hPPAR γ) e os plasmídeos correspondentes aos PPAR murinos (GAL4-mPPAR α , GAL4-mPPAR β/δ , GAL4-mPPAR γ), o promotor de luciferase, o controle β -galactosidase, e o vetor de plasmídeo pGEM foram doados pelo Prof. Dr. David Mangelsdorf da Universidade do Texas. Os plasmídeos foram transformados (processo de alteração genética pelo qual um material genético exógeno é transferido para a célula hospedeira) em células DH5-alfa de *Escherichia coli*, e cultivados a 37°C, por um período de 12 horas, em placas de ágar Miller contendo 0,1 mg/mL de ampicilina. A partir desta cultura foi isolada uma única colônia, que por sua vez foi cultivada em meio caldo LB adicionado de 0,1 mg/mL de ampicilina, perante agitação, a 37°C durante 12 horas. O DNA do plasmídeo foi extraído e purificado mediante utilização do *GenElute™ HP Plasmid Midiprep Kit* da Invitrogen® (EUA).

5.3.3 Ensaio de Gene Repórter

Células de rim embrionário humano 293 (HEK293) foram semeadas (\approx 40 mil células/poço), em meio de cultura DMEM enriquecido com SFB a 10%, em placas de 96 poços de fundo transparente e incubadas por 12 horas a 37°C em atmosfera úmida com saturação de 5 % de CO₂. Posteriormente, essas células foram transfectadas com um mix de plasmídeo (150ng/poço) contendo 50 ng de UAS-Luciferase Reporter, 20 ng de β -galactosidase, 15 ng do DNA do plasmídeo purificado correspondente ao respectivo receptor nuclear e 65 ng do vetor de plasmídeo pGEM. Em um período de 6-8 horas após a transfecção as células foram tratadas com veículo (DMSO), 10 μ M de controle positivo (WY-14643 para PPAR α , GW-0742 para PPAR β/δ e rosiglitazona para PPAR γ) ou 10-100 μ M dos compostos (LDTs) a serem testados e, após 14-16 horas de incubação, colhidas e ensaiadas frente a atividade da enzima luciferase. Para análise de eficiência da transfecção, os valores da luciferase, expressos em Unidades Relativas de Luciferase (RLU), foram normalizados utilizando β -galactosidase e multiplicados pelo tempo de incubação para atividade da β -galactosidase. Todos os experimentos foram realizados em triplicata e repetidos em três ensaios independentes, sendo as curvas de dose resposta elaboradas através dos valores de EC₅₀ obtidos para cada composto no programa GraphPad PRISM®.

$$RLU = \left[\frac{\text{Atividade da Luciferase}}{\text{Atividade da } \beta - \text{galactosidase}} \right] \times \text{Tempo (minutos)}$$

5.3.4 Análises Estatísticas

Os dados estatísticos foram analisados no programa GraphPad PRISM® e os resultados foram plotados com média \pm desvio padrão. Para comparação entre dois grupos, analisou-se a significância estatística através do teste t de Student com correção de Welch. O teste de análise de variância unidimensional (One-Way ANOVA) seguido do teste de correção de Hol-Sidak foi utilizado para comparação de múltiplos grupos. O nível de significância adotado foi de $p < 0,05$ e os valores atípicos foram retirados pelo método ROUT.

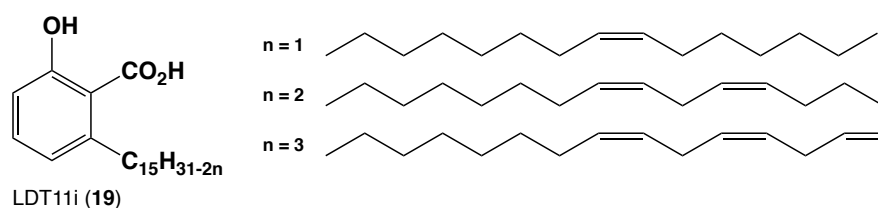
Resultados e Discussão

6. RESULTADO E DISCUSSÃO

6.1 SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DOS COMPOSTOS

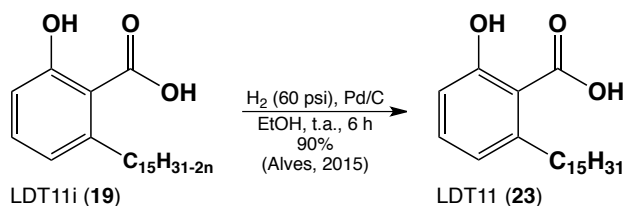
O planejamento sintético propôs a obtenção de novas moléculas candidatas a agonistas PPAR a partir do ácido anacárdico. As metodologias empregadas compreenderam procedimentos clássicos de conversão de grupos funcionais, tais como, hidrogenação catalítica com Pd/C, redução com LiAlH₄, esterificação de Fischer, O-alkilação com bromoacetato de etila (série **a**) e α-bromoisobutirato de etila (série **b**), hidrólise alcalina de ésteres em condições experimentais à temperatura ambiente ou sob aquecimento brando em banho de óleo

6.1.1 Obtenção da Mistura de Ácidos Anacárdicos (**19**)



A mistura de ácidos anacárdicos LDT10i (**19**) 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_f 0,48 (Hex:AcOEt 80 %: 20 %) revelada em lâmpada UVC. A metodologia mostrou-se eficiente e limpa devido à habilidade da subunidade salicílica – exclusiva dos ácidos anacárdicos dentre os compostos do LCC – de complexar-se com íons metálicos divalentes.

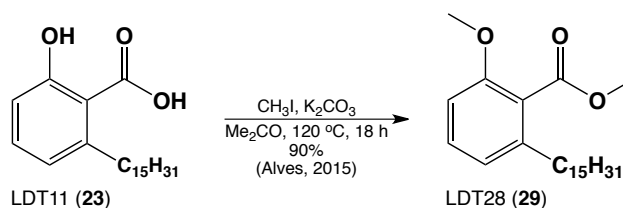
6.1.2 Obtenção do Ácido Anacárdico Saturado (LDT11, **23**)



O ácido anacárdico saturado (**23**) foi obtido a partir da hidrogenação da mistura de ácidos anacárdicos (**19**) com atmosfera de hidrogênio à 60 psi sob catálise de Pd/C a 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).

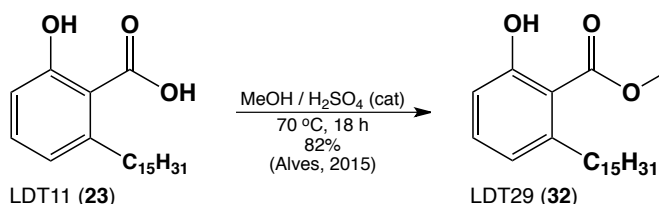
Na análise espectroscópica por RMN o grupo metila terminal da cadeia pentadecila foi evidenciado como tripleto em 0,89 ppm em RMN de ^1H (Anexo I, pág. 96) e 14,3 ppm em RMN de ^{13}C (Anexo II, pág. 97). Os hidrogênios metilênicos da cadeia alifática foram assinalados como multipletos em 1,26 ppm para $\text{C}_3\text{-C}_{14}$; quinteto que varia entre 1,60 ppm correspondente aos hidrogênios C_2 ; e tripleto em 3,00 ppm referente aos hidrogênios 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 (**23**) foi confirmada pelos sinais observados entre 22,9 ppm a 36,7 ppm referentes aos carbonos $\text{C}_2\text{-C}_{14}$ no espectro de RMN de ^{13}C . Os sinais entre 6,78 ppm e 7,40 ppm no espectro de RMN de ^1H 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 ppm a 163,8 ppm no espectro de RMN de ^{13}C .

6.1.3 Obtenção do Derivado 2-Hidróxi-6-pentadecilbenzoato de metila (LDT28, **29**)



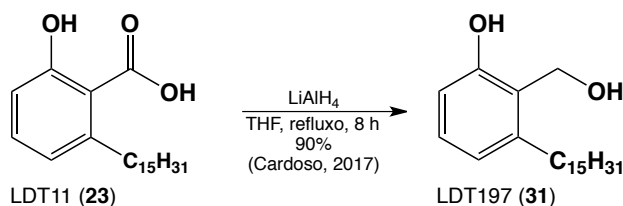
A partir do composto LDT11 (**23**) foi obtido o derivado LDT28 (**29**) por meio da reação de dimetilação com iodeto de metila e carbonato de potássio em acetona, à temperatura de 120 °C e resfriamento do condensador em circulador a -8 °C. O éster **29** foi obtido como sólido branco em rendimento de 97 % , ponto de fusão (32-33°C) e Rf 0,40 (Hex:AcOEt 10%). Na análise espectroscópica, **29** apresentou deslocamentos químicos como simpletos em 3,82 ppm e 3,91 ppm no espectro de RMN ¹H (Anexo IX, pág. 104) evidenciam a presença das metilas (metoxila e éster metílico), a qual foi confirmada pelos sinais em 52,2 ppm e 56,0 ppm do espectro de RMN ¹³C (Anexo X, pág. 105).

6.1.4 Obtenção do Derivado 2-Hidróxi-6-pentadecilbenzoato de metila (LDT29, **32**)



Para obtenção do derivado LDT29 (**32**), o ácido **23** 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 (**32**) foi obtido como sólido branco em rendimento de 82 %, ponto de fusão 37-40 °C e Rf 0,60 (Hex 80 %: AcOEt 20 %). O grupo metila de **32** foi caracterizado em seus espectros de RMN de ¹H (Anexo XI, pág. 107) e RMN de ¹³C (Anexo XII, pág. 108) pelos sinais em 3,96 ppm e 52,3 ppm, respectivamente. A hidroxila fenólica foi caracterizada como simpleto em 11,09 ppm em RMN de ¹H, característico de ligação de hidrogênio intramolecular.

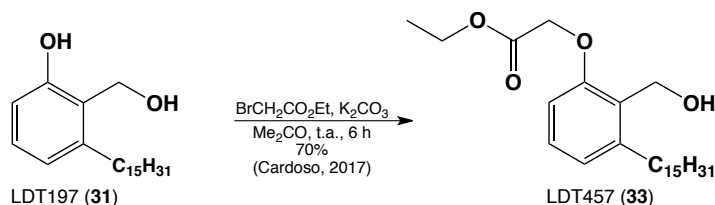
6.1.5 Obtenção do Derivado 2-(Hidróximetil)-3-pentadecilfenol (LDT197, **31**)



A obtenção do álcool LDT197 (**31**) pela redução de **23** foi realizada de acordo com metodologia de Cardoso (2017) utilizando hidreto de lítio e alumínio (LAH) (5,0 eq) em THF sêco sob refluxo por 8 horas de reação com temperatura do banho de óleo (110°C), e agitação magnética vigorosa. O composto **31** foi obtido como sólido branco em rendimento de 90 %, ponto de fusão 60 °C-62 °C e Rf 0,66 (Hex:AcOEt 80 %:20 %).

No espectro de ressonância magnética de ^1H o grupo metileno do álcool benzílico foi assinalado como simpleto em 4,93 ppm (Anexo III, pág. 98) ratificado por sinal em 60,2 ppm no espectro de RMN de ^{13}C (Anexo IV, pág.99).

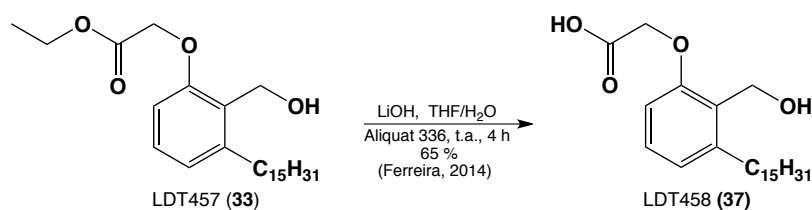
6.1.6 Obtenção do Derivado 2-(2-(Hidróximetil)-3-(pentadecil)fenóxi)acetato de etila (LDT457, **33**).



A síntese do derivado LDT457 (**33**) foi realizada a partir do derivado LDT197 (**31**), por meio de reação de O-substituição com bromoacetato de etila, na presença de carbonato de potássio em acetona, por metodologia descrita por Cardoso (2017). A reação ocorreu à temperatura ambiente. Após purificação em coluna cromatográfica de sílica gel, eluída em hexano e acetato de etila, o derivado **33** foi obtido como sólido branco em rendimento de 70 %, ponto de fusão 32 °C-34 °C e Rf 0,60 (Hex:AcOEt 80 %:20 %). Uma vez que o valor do fator de retenção de **33** foi muito próximo ao do produto de partida **31**, foi realizada a revelação da CCD com solução hidroalcoólica de FeCl_3 a 5 % que confirmou a ausência da hidroxila fenólica.

Na análise dos espectros de RMN de ^1H para **33** 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 V, 100). Adicionalmente foram identificados dois simpletos em 4,71 ppm e 4,78 ppm correspondente aos grupos metilenos alfa à carbonila e do álcool benzílico. No espectro de RMN de ^{13}C foram observados sinais referentes aos grupos metileno em 57,2 ppm para o carbono benzílico; em 61,9 ppm para o grupo carboxila; 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 (Anexo VI, 101).

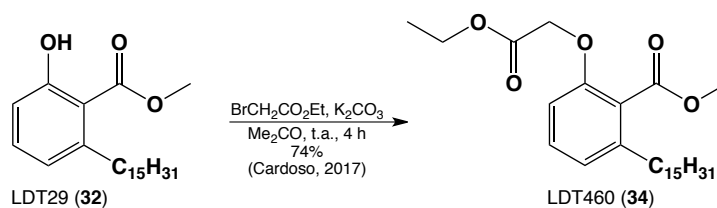
6.1.7 Obtenção do Derivado Ácido 2-(2-Hidróximetil-3-pentadecil)fenóxiacético (LDT458, **37**)



Para obtenção do derivado LDT458 (**37**) foi utilizada a metodologia da reação foi adaptada de Ferreira (2014) em que o derivado **33** foi submetido à hidrólise alcalina com LiOH em mistura THF/H₂O 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 (**37**) foi obtido como sólido branco em rendimento de 65 %, ponto de fusão 87 °C-90 °C e R_f 0,20 (Hex:AcOEt 80 %:20 %).

Nos espectros de RMN de ^1H (Anexo VII, pág. 102) e RMN de ^{13}C (Anexo VIII, pág. 103) de **37** 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.

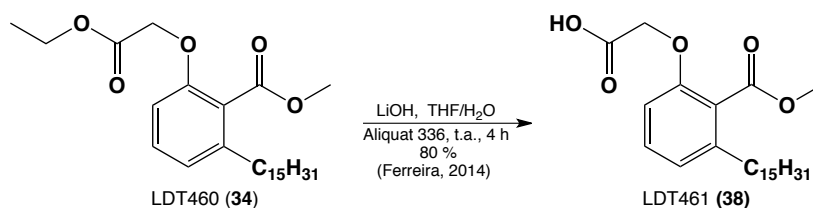
6.1.8 Obtenção do Derivado 2-(2-Carbetoximetóxi)-6-pentadecilbenzoato de metila (LDT460 **34**)



A síntese do derivado LDT460 (**34**) teve como produto de partida o éster LDT29 (**29**) que foi submetido à reação de *O*-substituição com bromoacetato de etila como descrito anteriormente (Cardoso, 2017). **34** foi obtido como sólido branco em rendimento de 74 %, ponto de fusão 38 °C-41 °C e Rf 0,60 (Hex:AcOEt 80 %:20 %), praticamente o mesmo fator de retenção do LDT29 (**29**). A diferenciação entre ambos os compostos foi inicialmente evidenciada por revelação de placa cromatográfica com solução hidroalcoólica de FeCl₃ a 5 % em que foi detectada a presença de fenol apenas no precursor LDT29 (**29**).

Os assinalamentos em 3,91 ppm e 52,3 ppm em RMN de ¹H (Anexo **XIII**, pág. 108) e RMN ¹³C (Anexo **XIV**, pág. 109) 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 multiplete na faixa de 1,25 ppm a 1,29 ppm. O metileno alfa à carbetoxila (ArOCH₂COOCH₂CH₃) 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 **29** como simpleto em 11,09 ppm. Os sinais referentes à subunidade carbetoxila no espectro de RMN de ¹³C 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.

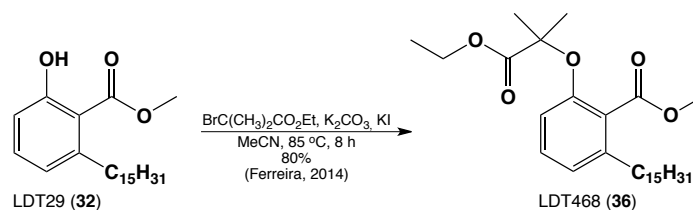
6.1.9 Obtenção do Derivado Ácido 2-(2-(Carbometóxi)-3-pentadecilfenóxi)acético (LDT461, **38**)



A partir do derivado éster LDT460 (**34**) foi sintetizado o ácido LDT461 (**38**) por reação de hidrólise alcalina como descrita anteriormente para o derivado **37**. O derivado LDT461 (**38**) foi obtido em rendimento de 80 %, como sólido branco, ponto de fusão 86 °C-88 °C, caracterizado em CCD com única mancha (Rf 0,20 Hex:AcOEt 80 %:20 %). A reação ocorreu de forma regiosseletiva com hidrólise do grupo carboxílico e manutenção do éster metílico provavelmente em função do impedimento estérico em face da cadeia alquílica e condições brandas utilizadas no experimento. A estabilidade plasmática do éster metílico em humanos foi evidenciada no trabalho de Rossi et al (2021) por período acima de 6 horas. Quimicamente, o éster metílico do ácido anacárdico pode ser hidrolisado segundo ALVES (2015) com terbutóxido de potássio em DMSO à 40°C.

38 foi caracterizado pela presença de simpleto em 3,95 ppm no espectro de RMN de ^1H (Anexo **XV**, pág. 110) referente ao grupo metoxila do éster, corroborado pelo deslocamento químico em 52,3 ppm em RMN de ^{13}C (Anexo **XVI**, pág. 111). Adicionalmente, a ausência de sinais referente à subunidade carboxila de seu precursor LDT460 (**34**) confirma a hidrólise regiosseletiva. 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}C . No mesmo espectro ainda foram observados os sinais referentes ao grupo carbometoxila em 169,32 ppm e carboxila em 171,0 ppm.

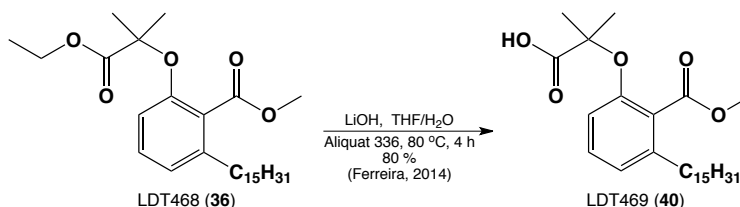
6.1.10 Obtenção do Derivado 2-(2-Carbometóxi-3-pentadecilfenóxi)-2-metilpropanoato de etila (LDT468, **36**)



A síntese do derivado LDT468 (**36**) teve como produto de partida o éster LDT29 (**29**) que foi submetido à reação de O-substituição com α -bromoisobutirato de etila, na presença de KI em acetonitrila como descrito anteriormente (Ferreira, 2014). **36** foi como óleo amarelo claro em rendimento de 74 % e Rf 0,50 (Hex:AcOEt 80 %:20 %). A utilização do KI visou a troca do bromo pelo iodo que favorece a reação S_N2 de o-alkilação.

Os assinalamentos em 3,88 ppm em RMN de 1H (Anexo **XVII**, pág. 112) e e 52,1 ppm em RMN ^{13}C (Anexo **XVIII**, pág. 113) foram atribuídos ao grupo metila do éster. Para o grupo carbetóximetoxila foram evidenciados quarteto em 4,25 ppm para o metileno do grupo etoxila; enquanto que o tripleto referente ao grupo metila estava sobreposto ao multipletto na faixa de 1,26 ppm a 1,29 ppm. A presença de simpleto em 1,55 ppm foi atribuída às metilas geminadas alfa ao grupo carboxila, ratificada pelo deslocamento químico em 25,3 ppm no espectro de RMN de ^{13}C . Os sinais referentes à subunidade carbetoxila no espectro de RMN de ^{13}C foram confirmados em 14,3 ppm e 61,6 para o grupo etoxila, 80,2 ppm para o carbono terciário adjacente à carboalcoxila e 174,6 ppm para a carbonila.

6.1.11 Obtenção do Derivado Ácido 2-(2-(Carbometóxi)-3-pentadecilfenóxi)acético (LDT469, **40**)



A hidrólise alcalina do éster LDT468 (**36**) à temperatura de 80 °C, como descrito por Ferreira (2014), levou à obtenção do ácido LDT469 (**40**) como sólido branco em

rendimento de 80 %, ponto de fusão 86 °C-88 °C, e Rf 0,20 (Hex:AcOEt 80 %:20 %). Mesmo realizada à temperatura de 80 °C, em função do impedimento estérico da gem-dimetila, a reação ocorreu de forma regioseletiva com hidrólise do grupo carboxila e manutenção do éster metílico provavelmente em função do impedimento estérico em face da cadeia alquílica.

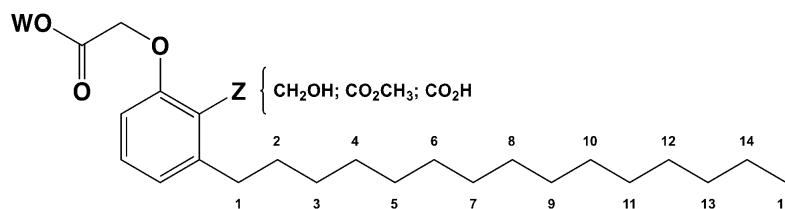
40 foi caracterizado pela presença de simpleto em 3,96 ppm no espectro de RMN de ^1H (Anexo **XIX**, pág. 114) referente ao grupo metoxila do éster, corroborado pelo deslocamento químico em 52,6 ppm em RMN de ^{13}C (Anexo **XX**, pág. 115). Adicionalmente, a ausência de sinais referente à subunidade carboxila de seu precursor LDT468 (**36**) confirma a hidrólise regioseletiva. A presença de simpleto em 1,65 ppm foi atribuída às metilas geminadas alfa ao grupo carboxila, ratificada pelo deslocamento químico em 24,9 ppm no espectro de RMN de ^{13}C . No mesmo espectro ainda foram observados os sinais referentes ao grupo carbometoxila em 169,5 ppm e carboxila em 177,3 ppm.

Um Resumo dos principais assinalamentos nos espectros de RMN de hidrogênio e de carbono-13 estão dispostos nas Tabelas **1** e **2**.

Tabela 1: Principais deslocamentos químicos de RMN ^1H e de RMN de ^{13}C (ppm, CDCl_3)

RMN	Grupos	RMN ^1H / RMN ^{13}C (ppm, CDCl_3)			
		LDT11 (23)	LDT28 (29)	LDT29 (32)	LDT197 (31)
^1H	$\text{C}_{15}\text{H}_{31}$	0,89-3,00	0,89-2,55	0,89-2,89	0,88-2,57
^{13}C		14,3-36,7	14,2-33,6	14,31-36,84	14,3-33,29
^1H	Ar	6,89-7,37	6,76-7,27	6,72-7,29	6,72-7,11
^{13}C		110,6-163,8	121,7-156,4	115,8-162,8	114,4-156,7
^1H	ArCO_2CH_3	--	3,97	3,96	--
^{13}C	ArCO_2CH_3	--	52,2 / 169,1	52,3 / 172,1	--
^1H	ArCOOH	--	--	--	--
^{13}C		176,5	--	--	--
^1H	ArOCH_3	--	3,82	--	--
^{13}C		--	56,0	--	--
^1H	ArCH_2OH	--	--	--	4,93
^{13}C		--	--	--	60,2

Tabela 2: Principais deslocamentos químicos de RMN de ^1H e RMN de ^{13}C (ppm, CDCl_3^* ou DMSO^{**})



RMN	Grupos	RMN ^1H / RMN ^{13}C (ppm, CDCl_3^* ou DMSO^{**})					
		LDT457 (33) (W = CH_3CH_2)	LDT460 (34) (W = CH_3CH_2)	LDT468 (36) (W = CH_3CH_2)	LDT458 (37) (W = H)	LDT461 (38) (W = H)	LDT469 (40) (W = H)
^1H	$\text{C}_{15}\text{H}_{31}$	0,88-2,69	0,88-2,56	0,88-2,53	0,88-2,67	0,88-2,62	0,93-1,30; 2,62
^{13}C		14,3-33,4	14,3-33,6	14,2-33,7	14,3-33,4	14,3-34,1	14,2-33,7
^1H	Ar	6,67-7,15	6,65-7,25	6,64-7,16	6,72-7,19	6,75-7,31	6,88-7,29
^{13}C		109,7- 157,0	110,0-154,9	115,4-152,7	110,4-157,1	111,1-155,3	116,8-152,1
^1H	$\text{ArOCH}_2\text{CO}_2\text{W}$	1,26-1,35/4,71	1,25-1,29/4,61	--	4,73	4,71	--
^{13}C	$\text{ArOCH}_2\text{CO}_2\text{W}$	14,3/65,9/169,7	14,3/66,5/168,7	--	66,3/171,3	67,0/171,0	--
^1H	$\text{ArOC}(\text{CH}_3)_2\text{CO}_2\text{W}$	1,26-1,35/4,71	1,25-1,29/4,61	1,55	4,73	4,71	1,65
^{13}C	$\text{ArOC}(\text{CH}_3)_2\text{CO}_2\text{W}$	14,3/65,9/169,7	14,3/66,5/168,7	25,3/174,6	66,3/171,3	67,0/171,0	24,9/177,3
^1H	ArCH_2OH	4,78	--	--	4,58	--	--
^{13}C		57,2	--	--	57,4	--	--
^1H	ArCO_2CH_3	--	3,91	3,88	--	3,95	3,96
^{13}C	ArCO_2CH_3	--	52,3/168,6	52,1/169,1	--	52,7/169,3	52,6/169,5
^{13}C	$\text{ArOC}(\text{CH}_3)_2\text{CO}_2\text{W}$	--	--	80,2	--	--	81,4

6.2 AVALIAÇÃO BIOLÓGICA *in vitro*

Os compostos sintetizados, tanto os derivados quanto os produtos finais, foram caracterizados por método espectroscópico, e posteriormente submetidos ao ensaio farmacológico para avaliação de atividade transcricional.

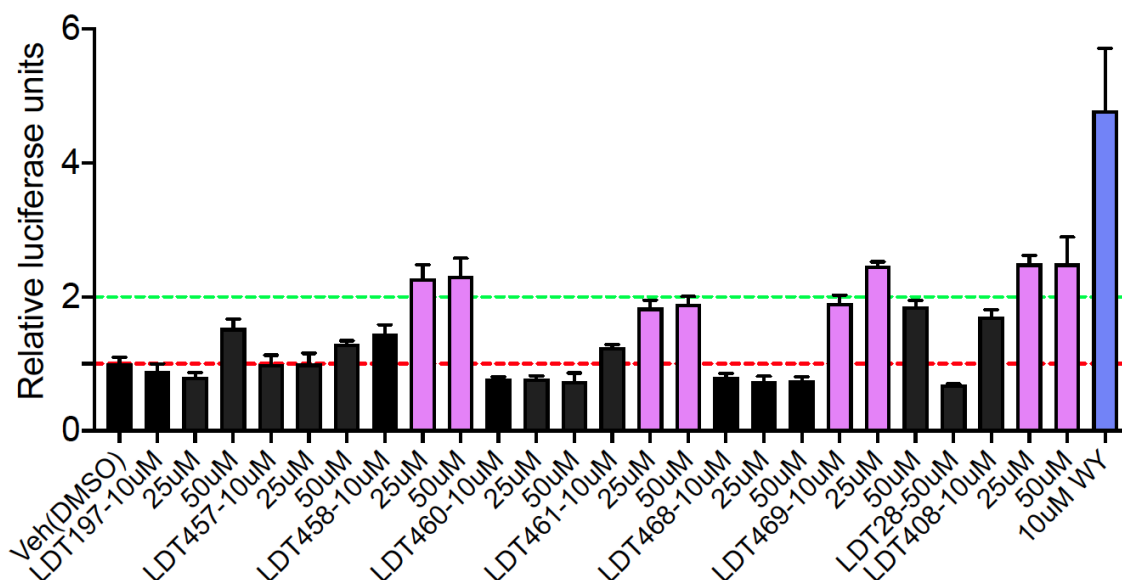
O ensaio de gene repórter -luciferase foi realizado na Universidade de Toronto, Canadá, no *Nuclear Hormone Receptors in Human Health and Disease*. Utilizando enzimas luciferinas para ativar o substrato por meio de oxidação, a reação contendo adenosina trifosfato (ATP), magnésio e oxigênio no meio, resulta em bioluminescência que penetra na célula alvo, permitindo a avaliação da transcrição através da intensidade proporcional à atividade do composto testado. Essa intensidade de luz é medida por luminômetro e reportada como unidades relativas (RLU) (PERDIGONES, et al., 2019; VIVIANI, PELETIR & BEVILAQUA, 2022).

Em suma a ativação do PPAR gera uma cascata de expressão de genes envolvidos no aumento da captação intracelular e oxidação hepática de AG. Para o teste luciferase as células Gal4-hPPAR foram usadas para a ativação do gene Gal4, modificadas para expressar PPAR de interesse, sob o controle do promotor Gal4. No procedimento, Gal4-hPPAR cultivadas em meio apropriado para manter crescimento e viabilidade são plaqueadas em cultura em poços (24 a 96) a depender da escala do experimento, e sob tratamento experimental com as soluções em diferentes concentrações contendo os compostos candidatos a agonistas PPAR LDT28 (**29**), LDT408 (**26**), LDT197(**31**), LDT457 (**33**), LDT458 (**37**), LDT460 (**34**), LDT461 (**34**), LDT468 (**36**), LDT 469 (**40**) e os controles ácido piriníxico (WY-14643, **15**) e rosiglitazona (ROSI, **7**) frente ao estímulo ocorre a ativação do PPAR proporcional a intensidade da bioluminescência emitida e aferida pelo luminômetro que reporta o resultado em RLU.

6.2.1 PPAR α

A avaliação da capacidade dos compostos alvo de ativar o receptor PPAR α foi conduzida através do ensaio GAL4-hPPAR. Utilizou-se o agonista PPAR α WY-14643 (**15**) a 10 μ M como controle positivo, e o veículo DMSO a 0,1 %. Os derivados-alvo foram solubilizados em veículo dimetilsulfóxido (DMSO) para obtenção de solução a 100 mM (milimolar) e depois diluídos às concentrações finais de 10 μ M, 25 μ M e 50 μ M para teste no modelo humano (Figura 14).

Figura 14: Atividade transcricional dos compostos-alvo para PPAR α humano (hPPAR α)



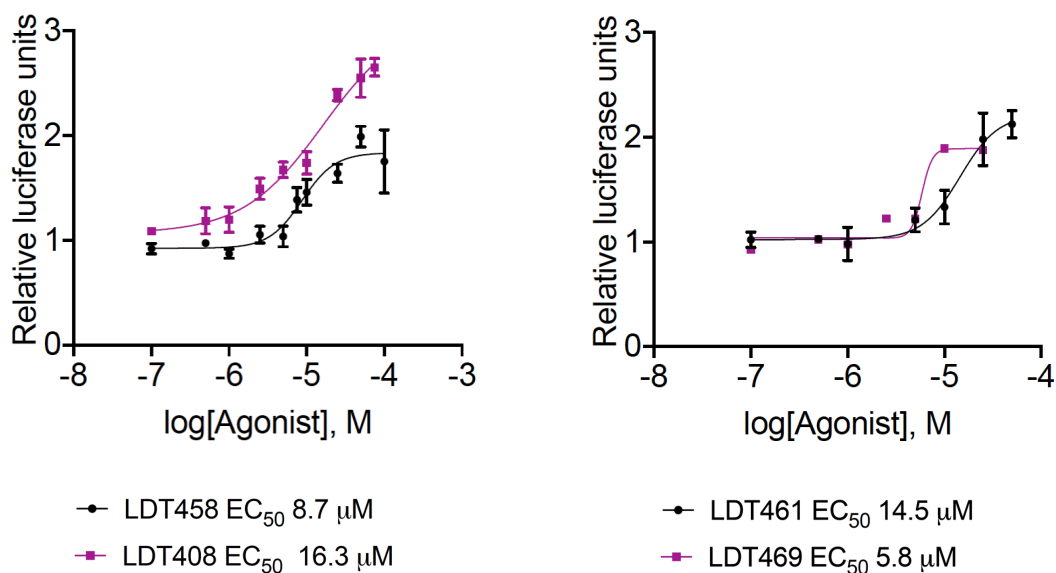
Legenda: Atividade transcricional *in vitro* em células HEK293 co-transfectada transitoriamente com GAL4-hPPAR α dos compostos LDT28 (**29**), LDT408 (**26**), LDT197(**31**), LDT457 (**33**), LDT458 (**37**), LDT460 (**34**), LDT461 (**34**), LDT468 (**36**), LDT 469 (**40**) em concentrações 10 μ M, 25 μ M e 50 μ M, sendo o veículo DMSO a 0,1 % e o controle positivo WY-14643 a 10 μ M. Os dados foram representados na forma de média \pm EPM (N = 3). Unidades Relativas de Luciferase (RLU) = (Unidades de luz de luciferase / Galactosidase) x tempo. A resposta do veículo é evidenciada pela linha tracejada. O nível de significância adotado foi de $p < 0.05$, teste de análise unidimensional One-Way ANOVA seguido do teste de correção de Hol-Sidak para comparação de múltiplos grupos.

Na primeira triagem, quando comparados ao veículo, os resultados demonstram que os compostos LDT28 (**29**), LDT460 (**34**) e LDT468 (**36**), mesmo na concentração máxima testada (50 μ M) não demonstraram atividade transcricional apresentando resultado abaixo da resposta do veículo DMSO. Por sua vez, os compostos LDT197 (**31**) e LDT457 (**33**) exibiram atividade

transcricional não significativa acima da resposta do veículo. Já os compostos LDT408 (**26**), LDT458 (**37**) e LDT461 (**38**) foram capazes de ativar o receptor PPAR α , com atividade de transcrição duas vezes maior que o veículo, nas concentrações de 25 μ M e 50 μ M com destaque para o composto LDT469 (**40**) cujo resultado foi obtido nas concentrações de 10 μ M e 25 μ M. Nenhum dos compostos testados superou o controle positivo WY-14643 (**15**), o que sugere que os compostos **26**, **37**, **38** e **40** atuam como ativadores fracos¹.

Com base nos resultados de atividade transcricional, os derivados LDT408 (**26**), LDT458 (**37**) e LDT461 (**38**) e LDT469 (**40**) foram submetidos a um novo ensaio, em diferentes concentrações (0,1 μ M – 100,0 μ M) para determinar sua potência individual na ativação do receptor PPAR α e confecção da curva dose-resposta (Figura 15). De acordo com os valores de EC₅₀ foi possível evidenciar que o derivado LDT469 (**40**) demonstrou a maior potência neste ensaio, exibindo os menores valores de EC₅₀ para o modelo humano avaliado.

Figura 15: Valores de EC₅₀ para os compostos LDT408 (**26**), LDT458 (**37**) e LDT461 (**38**) e LDT469 (**40**) para PPAR α .

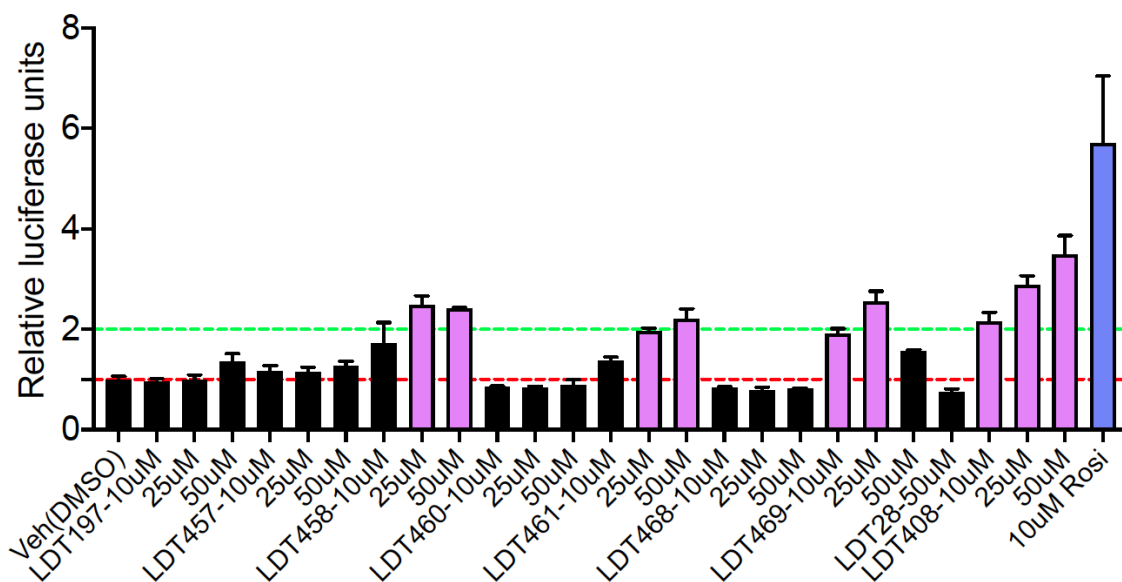


¹ Baseado no EC_{máx} de 10 μ M do derivado LDT409 (SAHIN t al., 2022).

6.2.2 PPAR γ

Para avaliação frente ao PPAR γ , os compostos-alvo foram submetidos a testes como agonistas de PPAR γ por meio de ensaio com GAL4-hPPAR/GAL, utilizando o agonista rosiglitazona (**7**) a 10 μ M como controle positivo e DMSO a 0,1 % como veículo. Os derivados-alvo foram solubilizados em veículo dimetilsulfóxido (DMSO) para obtenção de solução a 100 mM (milimolar) e depois diluídos às concentrações finais de 10 μ M, 25 μ M e 50 μ M para teste no modelo humano (Figura 16).

Figura 16: Atividade transcricional dos compostos-alvo para PPAR γ humano (hPPAR γ)



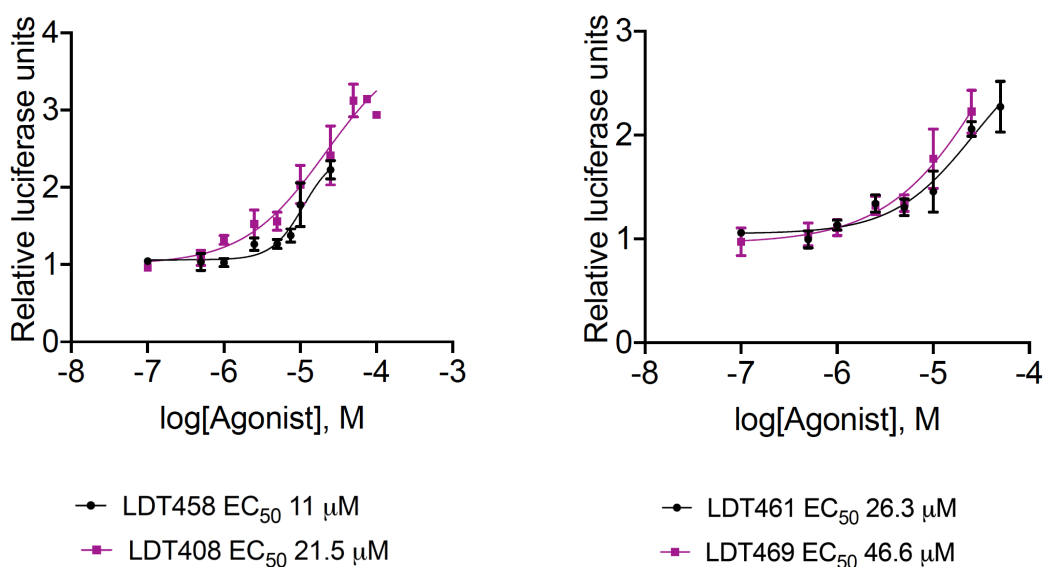
Legenda: Atividade transcricional *in vitro* em células HEK293 co-transfectada transitoriamente com GAL4-hPPAR γ dos compostos dos compostos LDT28 (**29**), LDT408 (**26**), LDT197(**31**), LDT457 (**33**), LDT458 (**37**), LDT460 (**34**), LDT461 (**38**), LDT468 (**36**), LDT 469 (**40**) em concentrações 10 μ M, 25 μ M e 50 μ M, sendo o veículo DMSO a 0,1 % e o controle positivo Rosi a 10 μ M. Os dados foram representados na forma de média \pm EPM (N = 3). Unidades Relativas de Luciferase (RLU) = (Unidades de luz de luciferase / Galactosidase) x tempo. A resposta do veículo é evidenciada pela linha tracejada. O nível de significância adotado foi de $p < 0.05$, teste de análise unidimensional One-Way ANOVA seguido do teste de correção de Hol-Sidak para comparação de múltiplos grupos.

Os resultados mostram perfil de atividade semelhante ao observado para PPAR α . Neste sentido, os compostos LDT28 (**29**), LDT460 (**34**) e LDT468 (**36**) não demonstraram atividade transcricional apresentando mesmo a 50 μ M. Por outro lado, os compostos LDT197 (**31**) e LDT457 (**33**) novamente não exibiram

atividade transcricional significativa em relação da resposta do veículo. Mais uma vez, os compostos LDT458 (**37**) e LDT461 (**38**) foram capazes de ativar o PPAR γ , com atividade de transcrição duas vezes maior que o veículo, nas concentrações de 25 μ M e 50 μ M com destaque para os compostos LDT469 (**40**) e LDT408 (**26**) cuja atividade transcricional foi observada já na concentração de 10 μ M. Importante ressaltar que nenhum dos compostos testados superou o controle positivo Rosiglitazona (**7**), indicando que os compostos **26**, **37**, **38** e **40** atuam como ativadores de PPAR γ de baixa potência.

Para determinar as concentrações efetivas (EC_{50}) por meio da confecção e análise da curva dose-resposta em diferentes concentrações (0,1 μ M – 100,0 μ M), os derivados LDT408 (**26**), LDT458 (**37**) e LDT461 (**38**) e LDT469 (**40**) foram avaliados quanto à potência individual na ativação do receptor PPAR γ (Figura 17). De acordo com os valores de EC_{50} foi possível evidenciar que o derivado LDT458 (**37**) demonstrou a maior potência neste ensaio, exibindo os menores valores de EC_{50} para o modelo humano avaliado.

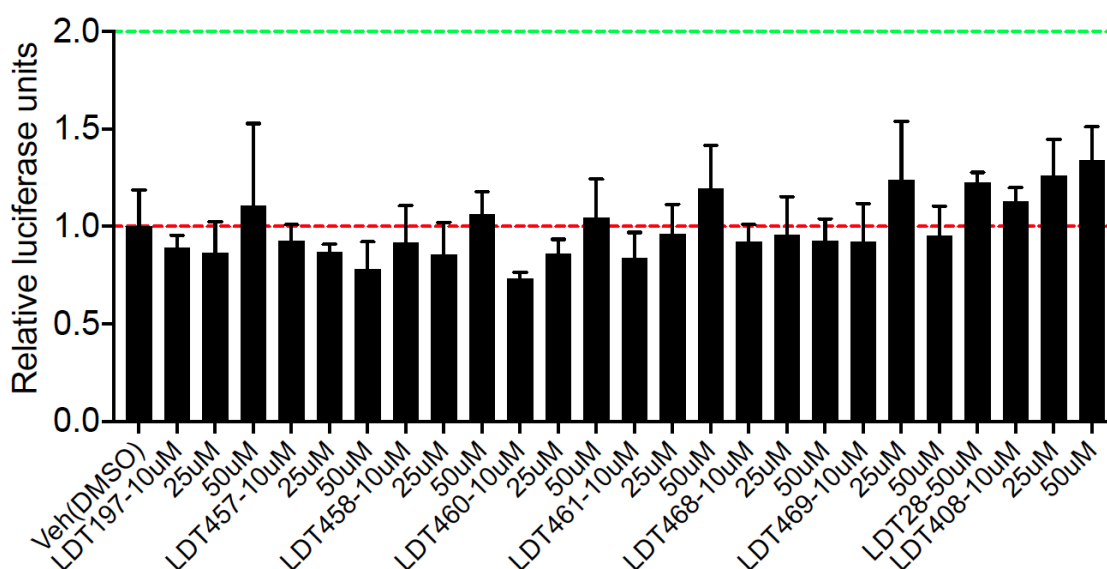
Figura 17: Valores de EC_{50} para os compostos LDT408 (**26**), LDT458 (**37**) e LDT461 (**38**) e LDT469 (**40**) para PPAR γ .



6.2.3 PPAR β/δ

Para avaliação frente ao PPAR β/δ , os compostos-alvo foram submetidos a testes como agonistas de PPAR β/δ por meio de ensaio com GAL4-hPPAR/GAL, utilizando o agonista GW-0742 a 0,1 μ M como controle positivo e DMSO a 0,1 % como veículo. Os derivados-alvo foram solubilizados em veículo dimetilsulfóxido (DMSO) para obtenção de solução a 100 mM (milimolar) e depois diluídos às concentrações finais de 10 μ M, 25 μ M e 50 μ M para teste no modelo humano (Figura 18).

Figura 18: Atividade transcricional dos compostos-alvo para PPAR β/δ humano (hPPAR β/δ)



Legenda: Atividade transcricional in vitro em células HEK293 co-transfectada transitoriamente com GAL4-hPPAR β dos compostos *dos compostos* LDT28 (**29**), LDT408 (**26**), LDT197(**31**), LDT457 (**33**), LDT458 (**37**), LDT460 (**34**), LDT461 (**38**), LDT468 (**36**), LDT 469 (**40**) em concentrações 10 μ M, 25 μ M e 50 μ M, sendo o veículo DMSO a 0,1 % e o controle positivo GW-0742 a 0,1 μ M. Os dados foram representados na forma de média \pm EPM (N = 3). Unidades Relativas de Luciferase (RLU) = (Unidades de luz de luciferase / Galactosidase) x tempo. A resposta do veículo é evidenciada pela linha tracejada. *P<0.05 (ANOVA) e Hol-Sidak.

Em uma primeira análise, os resultados da Figura 18 demonstraram que os compostos-alvo não foram capazes de promover a ativação transcricional do receptor PPAR β , uma vez que nenhum dos valores alcançou ou ultrapassou o limite de ativação de duas vezes o valor do veículo (representado pela linha verde tracejada). Entretanto, uma vez que o controle positivo GW-0742 também não ativou o PPAR β (1.4 RLU), não podemos afirmar que os compostos não apresentaram perfil de ativador.

6.3 RELAÇÃO ESTRUTURA-ATIVIDADE

Para compreender a relevância dos grupos funcionais no perfil de atividade dos compostos candidatos a agonistas PPAR, a análise da relação estrutura–atividade permite inferir quais atributos moleculares são relevantes para o reconhecimento molecular pelos PPAR e sua ativação.

Para esta análise, é preciso que haja a concepção de modelo idealizado visando o exercício intelectual de racionalização dos resultados que considera que: i. as moléculas deste estudo e as do trabalho de Sahin et al (2022) são reconhecidas da mesma forma pelos PPAR; ii. as interações sejam estáticas e compreendam apenas os atributos dos ligantes interagido com complementos dos aminoácidos ou íons (Zn^{2+}) sem a participação de moléculas de água bem como a dinâmica real do sistema; iii. o pH do meio seja 7,4 para utilização de atributos iônicos em espécies ácidas ou básicas dos ligantes ou aminoácidos; e iv. as correlações entre as atividades transcricionais para os PPAR observadas neste estudo e as de Sahin et al (2022) serão tratadas como estudo teórico acadêmico, uma vez que os dados encontrados, mesmo sob mesmo protocolo, referem-se a diferentes estudos cujos resultados podem não ser comparáveis.

Neste sentido, o estabelecimento das relações entre a estrutura química e as atividades transcricionais para PPAR α e PPAR γ no modelo humano será baseada nas estruturas e atividades dos compostos LDT15 (**25**), LDT16 (**27**), LDT408 (**26**) e LDT409 (**28**) considerando as alterações moleculares nos derivados-alvos de acordo com o planejamento estrutural (Esquema 1).

Adicionalmente, para facilitar a discussão, ainda que de forma arbitrária, utilizaremos as correlações estabelecidas na Tabela 3.

Tabela 3: Correlações entre os perfis de atividade transcricional para PPAR

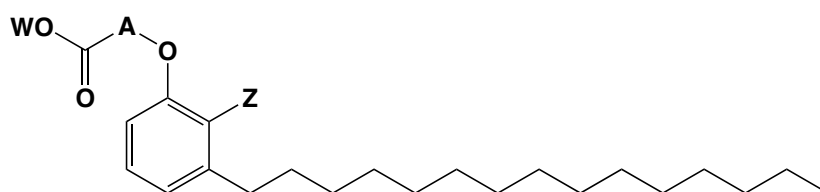
Razão Maior EC ₅₀ /Menor EC ₅₀	Modulação		Estratégia	
	Negativa	Positiva	Negativa	Positiva
	Sem modulação		Equivalente	
Menor que 10 vezes	Não Significativa		Bem tolerada	Pouco Relevante
Entre 10 e 100 vezes	Significativa		Tolerada	Relevante
Maior que 100 vezes	Muito Significativa		Pouco Tolerada	Muito Relevante
Se EC ₅₀ for zero	Farmacofórica		Deletéria	Essencial

Legenda: a. valor da EC₅₀ é maior; b. valor da EC₅₀ é menor; c. não altera o reconhecimento molecular pelo PPAR.

6.3.1 PPAR α

O estabelecimento da relação estrutura-atividade para PPAR α foi baseado na estrutura Markush e nos valores de EC₅₀ para o PPAR α apresentados na Tabela 4. A análise visou relacionar, por meio da comparação entre pares de compostos estruturalmente semelhantes, as modulações do perfil transcricional de α -fenoxiésteres e α -fenoxiácidos a partir da inclusão das subunidades hidróximetila (CH₂OH) e carbometoxila (CO₂CH₃) na posição Z dos compostos de LDT15 (25), LDT16 (27), LDT408 (26) e LDT409 (28).

Tabela 4: Valores EC₅₀ para os α -fenoxiésteres LDT15 (25), LDT408 (26), LDT457 (33), LDT460 (34), LDT468 (36), e α -fenoxiácidos LDT16 (27), LDT409 (28), LDT458 (37), LDT461 (38) e LDT469 (40) para PPAR α



Composto	W	A	Z	hPPAR α EC ₅₀ (μ M)
LDT15 (25)	CH ₂ CH ₃	CH ₂	H	3,5*
LDT457 (33)	CH ₂ CH ₃	CH ₂	CH ₂ OH	-- ^b
LDT460 (34)	CH ₂ CH ₃	CH ₂	CO ₂ CH ₃	-- ^b
LDT408 (26)	CH ₂ CH ₃	C(CH ₃) ₂	H	16,3
LDT468 (36)	CH ₂ CH ₃	C(CH ₃) ₂	CO ₂ CH ₃	-- ^b
LDT16 (27)	H	CH ₂	H	1,1*
LDT458 (37)	H	CH ₂	CH ₂ OH	8,7 ^a
LDT461(38)	H	CH ₂	CO ₂ CH ₃	14,5 ^a
LD409 (28)	H	C(CH ₃) ₂	H	0,5*
LDT469 (40)	H	C(CH ₃) ₂	CO ₂ CH ₃	5,8 ^a

Legenda: *: Compostos referência - dados obtidos de Sahin et al. (2022). a. valor da EC₅₀ é maior que compostos referência; b: Sem atividade transcricional

Derivados α -fenoxiésteres

Nenhum dos compostos-alvos da classe dos α -fenoxiésteres da série **a** ($A = \text{CH}_2$) – LDT457 (**33**), LDT460 (**34**) – ou da série **b** ($A = \text{C}(\text{CH}_3)_2$) – LDT468 (**36**) – foi capaz de ativar o receptor PPAR α , como observado para os compostos LDT15 (**25**) e LDT408 (**26**). Neste sentido, a inclusão do grupo hidróximetila (CH_2OH) ou carbometoxila (CO_2CH_3) na posição Z do anel aromático modulam os perfis de atividade transcricional de forma farmacofórica negativa, sendo a estratégia, portanto, deletéria, uma vez que levou à perda dos perfis transcricionais observados para os compostos LDT15 (**25**) e LDT408 (**26**). Considerando as características dipolares dos substituintes em Z, os resultados sugerem que a presença de dipolos negativo do oxigênio e positivo de hidrogênio ligado a oxigênio da subunidade hidróximetila no composto LDT457 (**33**) referente ao álcool benzílico bem como os dipolos negativo do oxigênio da carbometoxila e contribuições hidrofóbicas da metila do éster não são reconhecidas pelo receptor.

Por sua vez, compostos LDT15 (**25**) e LDT408 (**26**), a adição de grupos metila geminais (*gem*-dimetila, $\text{C}(\text{CH}_3)_2$) ao carbono alfa leva à modulação negativa não significativa de 4,6 vezes, sugerindo que a estratégia é bem tolerada para reconhecimento pelo PPAR α .

Derivados α -fenoxiácidos

Considerando os α -fenoxiácidos, tanto os compostos-alvos da série **a** ($A = \text{CH}_2$) – LDT458 (**37**), LDT461 (**38**) – quanto da série **b** ($A = \text{C}(\text{CH}_3)_2$) – LDT469 (**40**) – foram capazes de ativar o receptor PPAR α , sendo o composto **40**, o melhor ácido das duas séries.

Inicialmente ponderando sobre os diferentes perfis de ativação do PPAR α entre α -fenoxiésteres e α -fenoxiácidos, estes dados mostram que a presença do íon carboxilato modula os perfis de forma farmacofórica positiva, sendo a estratégia essencial, tendo que os ésteres inativos, quando transformados em seus respectivos ácidos, passaram a ser ativos.

Comparando os compostos da série **a** – LDT458 (**37**), LDT461 (**38**) – com o ácido LDT16 (**27**), a presença das subunidades hidróximetila em **37** e

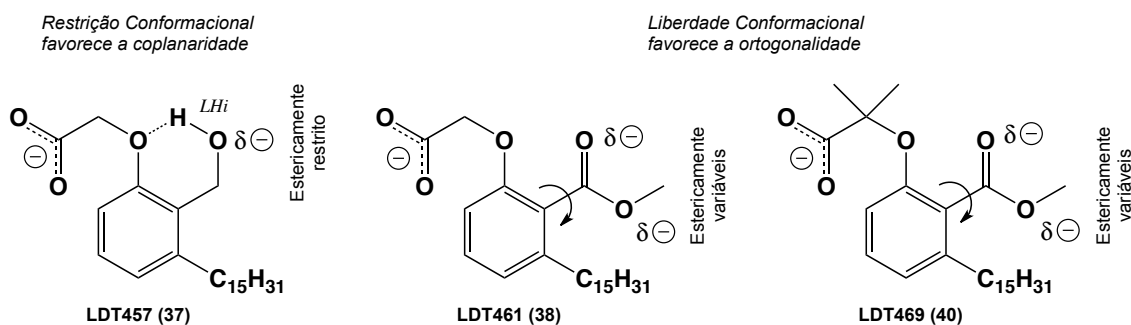
carbometoxila em **38** modula negativamente os perfis de atividade transcricional de forma não significativa (7,9 vezes) e significativa (13,2 vezes), respectivamente. Desta forma, as diferentes estratégias de adição de grupos funcionais (GF) mostraram que a presença de contribuições hidrofílicas e hidrofóbicas dipolares permanentes e transientes, por meio dos dipolos negativo do oxigênio e positivo de hidrogênio ligado a oxigênio bem como da metila – pertinentes a cada GF –, foram bem toleradas para o composto LDT458 (**37**) e toleradas para LDT461 (**38**).

Para a série **b**, foi sintetizado o composto LDT469 (**40**) planejado pela inserção da subunidade carbometoxila ($A = C(CH_3)_2$) na posição Z do composto LDT409 (**28**). A presença da referida subunidade modula o perfil de atividade transcricional para o composto **40** de forma negativa e significativa de 11,6 vezes; sendo, portanto, a estratégia tolerada.

Sobre a presença do grupo *gem*-dimetila no carbono alfa leva à modulação positiva não significativa de 1,7 vezes, sugerindo que a estratégia é pouco relevante para reconhecimento pelo PPAR α .

Por fim, considerando o efeito *orto* das subunidades hidróximetila (CH_2OH) e carbometoxila (CO_2CH_3) bem como as interações intramoleculares destas subunidades com o oxigênio fenólico dos compostos-alvo – o que podem alterar os aspectos conformacionais na subunidade salicílica – observou-se para os α -fenoxiácidos da série **a** que o dipolo positivo de hidrogênio da hidróximetila é capaz de formar ligação de hidrogênio intramolecular (LHi) como o oxigênio fenólico levando à formação de anel de 6 membros que promove certa coplanaridade e restrição conformacional do oxigênio da subunidade α -fenoxila (Figura 19). Do contrário, a presença do grupo carbometoxila mais volumoso tende a gerar conformações distorcidas mais ortogonais. Quando comparados, os compostos LDT458 (**37**) e LDT461 (**38**) apontam para o favorecimento do sistema mais coplanar que ortogonal, ainda que a diferença do perfil de atividade transcricional é não significativo (1,7 vezes).

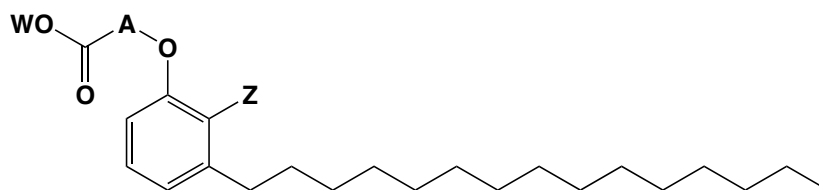
Figura 19: Efeito *orto* e interações intramoleculares para os compostos LDT458 (37), LDT461 (38) e LDT469 (40)



6.3.2 PPAR γ

Considerando o PPAR γ , o estabelecimento da relação estrutura-atividade foi baseado na estrutura Markush e nos valores de EC₅₀ (Tabela 5).

Tabela 5: Valores EC₅₀ para os α -fenoxiésteres LDT15 (25), LDT408 (26), LDT457 (33), LDT460 (34), LDT468 (36), e α -fenoxiácidos LDT16 (27), LDT409 (28), LDT458 (37), LDT461 (38) e LDT469 (40) para PPAR γ



Composto	W	A	Z	hPPAR γ EC ₅₀ (μ M)
LDT15 (25)	CH ₂ CH ₃	CH ₂	H	29,0*
LDT457 (33)	CH ₂ CH ₃	CH ₂	CH ₂ OH	-- ^b
LDT460 (34)	CH ₂ CH ₃	CH ₂	CO ₂ CH ₃	-- ^b
LDT408 (26)	CH ₂ CH ₃	C(CH ₃) ₂	H	21,5*
LDT468 (36)	CH ₂ CH ₃	C(CH ₃) ₂	CO ₂ CH ₃	-- ^b
LDT16 (27)	H	CH ₂	H	3,7*
LDT458 (37)	H	CH ₂	CH ₂ OH	11 ^a
LDT461(38)	H	CH ₂	CO ₂ CH ₃	26,3 ^a
LD409 (28)	H	C(CH ₃) ₂	H	0,9*
LDT469 (40)	H	C(CH ₃) ₂	CO ₂ CH ₃	46,6 ^a

Legenda: *: Compostos referência - dados obtidos de Sahin et al. (2022). a. valor da EC₅₀ é maior que compostos referência; b: Sem atividade transcricional

Derivados α -fenoxiésteres

De maneira similar ao observado para PPAR α , os α -fenoxiésteres da série **a** (A= CH₂) – LDT457 (**33**), LDT460 (**34**) – ou da série **b** (A = C(CH₃)₂) – LDT468 (**36**) – não foram capazes de ativar o receptor PPAR γ , evidenciando que inclusão das subunidades hidróximetila (CH₂OH) ou carbometoxila (CO₂CH₃) na posição Z do anel aromático também levou à perda dos perfis transcricionais observados para os compostos LDT15 (**25**) e LDT408 (**26**) o receptor gama. Em relação aos atributos dipolares dos substituintes em Z, os resultados apontam para o não reconhecimento molecular pelo PPAR γ das contribuições hidrofílicas dipolares permanentes negativas de oxigênio (hidroxila e carbonila) e positivo de hidrogênio ligado a oxigênio (hidroxila) bem como hidrofóbica dipolar transiente (metila).

Por sua vez, ao contrário observado para PPAR α , a presença do grupo *gem*-dimetila no carbono alfa no composto **40** leva à modulação positiva não significativa de 1,4 vezes quando comparado ao composto **38**, sugerindo que a estratégia é pouco relevante para reconhecimento pelo PPAR γ .

Derivados α -fenoxiácidos

Da mesma forma, os α -fenoxiácidos apresentaram atividade transcricional para ambas as séries, sendo novamente o composto LDT469 (**40**) o melhor ativador avaliado para PPAR γ . Adicionalmente, os resultados mostraram que o íon carboxilato é atributo essencial para esta classe de compostos estudados.

Na comparação dos compostos da série **a** – LDT458 (**37**) e LDT461 (**38**) – com o ácido LDT16 (**27**), observou-se que a presença das subunidades hidróximetila em **37** e carbometoxila em **38** modulou negativamente os perfis de atividade transcricional. Esses efeitos foram não significativos tanto para LDT458 (2,9 vezes) quanto para LDT461 (7,1 vezes), revelando que a estratégia de adição dos GF álcool benzílico e éster metílico foi bem tolerada. Adicionalmente, os dados reforçam que contribuições hidrofílicas – associadas a dipolos negativos de oxigênio e positivos de hidrogênio ligados ao oxigênio – e hidrofóbica – referente ao dipolo transiente da metila – são reconhecidas pelo PPAR γ .

Em relação à série **b**, o composto LDT469 (**40**), contendo a subunidade carbometoxila ($A = C(CH_3)_2$) na posição Z do composto LDT409 (**28**), apresentou diminuição do perfil de atividade transcricional de forma negativa e significativa de 51,7 vezes, revelando que a estratégia é tolerada.

Sobre as diferenças no carbono alfa **A**, a presença do grupo *gem*-dimetila no composto **40** promove modulação negativa não significativa de 1,8 vezes, sugerindo que a estratégia é bem tolerada quanto ao reconhecimento molecular pelo PPAR γ .

Por fim, à luz do efeito *orto* das subunidades hidróximetila (CH_2OH) e carbometoxila (CO_2CH_3) e interações intramoleculares sobre o oxigênio fenólico dos compostos-alvo, os resultados para os compostos LDT458 (**37**) e LDT461 (**38**) reiteram a vantagem do sistema mais coplanar com modulação negativa e não significativo (2,4 vezes) do perfil de atividade transcricional para PPAR γ .

Conclusões e Perspectivas

7. CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS

7.1 Conclusões

As metodologias sintéticas utilizando o ácido anacárdico saturado (LDT11, **23**) mostraram-se eficazes para obtenção de 3 intermediários e 6 compostos finais em rendimentos variaram de 65 % a 97 %. As metodologias utilizadas para obtenção dos compostos, sendo elas desenvolvidas em laboratório ou adaptadas da literatura, compreenderam reações clássicas de interconversão de grupos funcionais como *O*-alquilação, redução com hidretos metálicos e atmosfera de hidrogênio e hidrólise, sob condições experimentais à temperatura ambiente ou refluxo. A caracterização estrutural dos compostos intermediários e derivados-alvo foi realizada por métodos espectroscópicos de análise de Ressonância Magnética Nuclear de ^1H e de ^{13}C .

A avaliação *in vitro*, por meio do ensaio de gene repórter, revelou que somente os α -fenoxiácidos LDT458 (**37**), LDT461 (**38**) e LDT469 (**40**) foram capazes de promover a ativação transcricional dos PPAR α e PPAR γ em modelo humano com valores de EC_{50} em concentrações micromolar. Destacam-se o perfil dos compostos LDT469 (**40**) para PPAR α ($\text{EC}_{50} = 5,8 \mu\text{M}$) e LDT458 (**37**) para PPAR γ ($\text{EC}_{50} = 11 \mu\text{M}$).

O estudo da relação-estrutura atividades considerando os atributos iônicos e dipolares polares e apolares para PPAR α e PPAR γ mostraram a relevância do grupo ácido carboxílico para interações íon-dipolares com resíduos de histidina e tirosina contidos no LBD dos PPAR, favorecendo o recrutamento de proteínas correguladoras e a estabilização para ativação da transcrição do receptor.

Além disso, considerando o padrão de substituição do carbono alfa-carbonila, a presença do grupo *gem*-dimetila apresenta diferentes modulações, sendo positiva não significativa para PPAR α – mimetizando os fibratos – e negativa não significativa para PPAR γ , sugerindo a importância da restrição conformacional promovida pelos grupos metilas, assim como de interações hidrofóbicas adicionais no aumento da potência mediada pelos compostos.

Quanto ao efeito *orto* dos grupos hidróximetila e carbometoxila, os resultados sugerem favorecimento da conformação mais coplanar que ortogonal mas com modulação do perfil de atividade transcricional de forma positiva e não significativa.

De maneira geral, a adição dos grupos funcionais hidróximetila (CH₂OH) e carbometoxila (CO₂CH₃) aos derivados LDT15 (**25**), LDT16 (**27**), LDT408 (**26**) e LDT409 (**28**) – sintetizados por Ferreira (2014) e avaliados por Sahin et al (2022) – tem-se que a estratégia foi deletéria para os compostos α -fenoxiésteres com perda do perfil transcricional para os PPAR e variou de bem tolerada a tolerada para os α -fenoxiácidos.

Por fim, pode-se inferir que os resultados obtidos foram suficientes para validar o planejamento estrutural postulado, e evidenciar as modulações dos perfis de atividade transcricional para PPAR α e PPAR γ .

7.2 Perspectivas

Considerando que parte das moléculas planejadas não foram sintetizadas e outros estudos teóricos e biológicos podem refinar o potencial desta nova classe de compostos constituem perspectivas a este trabalho a obtenção de novos compostos e otimização dos rendimentos globais reacionais; a determinação parâmetros teóricos e experimentais de pKa, LogP, LogD e solubilidade dos derivados-alvo bem como as avaliações da ativação de genes reguladores metabólicos em hepatócitos primários de camundongos e a diferenciação de adipócitos em linhagem celular 3T3-L1 e expressão das proteínas adipocitárias aP2, LPL, CD36 e adiponectina *in vitro*. Adicionalmente, a avaliação farmacológica *in vivo* dos melhores compostos e o do estabelecimento da relação estrutura-propriedade-atividade química dos possíveis agonistas duais PPAR α / γ permitirão validar o planejamento estrutural destes novos agonistas PPAR obtidos a partir do ácido anacárdico saturado (LDT11, **23**).

Referências

8. REFERÊNCIAS

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

AMATYA R, LEE D, MIN KA, SHIN MC. Pharmaceutical Strategies to Improve Druggability of Potential Drug Candidates in Nonalcoholic Fatty Liver Disease Therapy. **Pharmaceutics**. v.15, n. 7:1963, 2023.

ANAND AC, ACHARYA SK. Nonalcoholic Steatohepatitis, Peroxisome Proliferator-Activated Receptors and Our Good Glitazar: Proof of the Pudding is in the Eating. **Journal of Clinical and Experimental Hepatology**. v.12, n. 2, 263-267. 2022.

ANSARI, N.N.; ANDROUTSAKOS, T.; FLESSA, C.M.; KYROU, L.; SIASOS, G.; RANDEVA; H. S.; KASSI, E.; PAPAVALASSILOU, A. G. Endothelial cell dysfunction and nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD): a concise review. **Cells**, v. 11, n 16: 2511, 2022.

BOECKMANS, J.; NATALE, A.; ROMBAUT, M.; BUYL, K.; ROGIERS, V.; KOCK, J.; VANHAECKE, T.; RODRIGUES, R. Anti-NASH Drug Development Hitches a Lift on PPAR Agonism. **Cells**, v. 11, n 9: 37, 2019.

BLOKHIN ME, KURANOV SO, KHVOSTOV MV, FOMENKO VV, LUZINA OA, ZHUKOVA NA, ELHAJJAR C, TOLSTIKOVA TG, SALAKHUTDINOV NF. Terpene-Containing Analogues of Glitazars as Potential Therapeutic Agents for Metabolic Syndrome. **Current Issues in Molecular Biology**. v. 45, n.3, p. 2230-2247, 2023.

BRAINER, M. S. C. P, **Cajucultura in: Caderno Setorial ETENE**, Ano 7, n 230, Fortaleza, Banco do Nordeste, 2022

CARDOSO, GABRIELA S.H.R. **Síntese e avaliação do efeito citotóxico de novos compostos planejados a partir do ácido anacárdico saturado**. 186 f. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Faculdade de Saúde, Universidade de Brasília. 2017.

CERONE, et al.. Discovery of Sustainable Drugs for Neglected Tropical Diseases: Cashew Nut Shell Liquid (CNSL)-Based Hybrids Target Mitochondrial Function and ATP Production in *Trypanosoma brucei*. **ChemMedChem**. v.14, n. 6, 621-635, 2019.

CHE, W.; ZHAO, M.; LI, X.; LI, C.; CHO, W.C.; YU, S. Current insights in molecular characterization of non-alcoholic fatty liver Disease and treatment. **Frontiers in Endocrinology**. v. 13: 1002916, 2022.

DI CIAULA, A.; PASSARELLA, S.; SHANMUGAM, H.; NOVIELLO, M.; BONFRATE, L.; WANG, D.Q.-H; PORTINCASA, P. Nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD). Mitochondria as players and targets of therapies? **International Journal of Molecular Sciences**, v. 22, n. 10: 5375, 2021.

DIXON, E.D.; NARDO, A.D.; CLAUDEL, T.; TRAUNER, M. The Role of Lipid Sensing Nuclear Receptors (PPARs and LXR) and Metabolic Lipases in Obesity, Diabetes and NAFLD. **Genes**, v. 26, n 5: 645, 2021.

ESCANDON, P.; VASINI, B.; WHELCHER, A. E.; NICHOLAS; S. E.; MATLOCK, H. G.; MA, J.X.; KARAMICHOS, D. The role of peroxisome proliferator-activated receptors in healthy and diseased eyes. **Experimental Eye Research**, v. 208: 108617.

FERREIRA, THAIS A. M. **Síntese e avaliação farmacológica de novos ligantes PPAR planejados a partir do cardanol**. Orientador Dr. Luiz Antonio Soares Romeiro. 2014. 170 f. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Faculdade de Saúde, Universidade de Brasília. 2014.

GIGLIO, R.V.; PAPANAS, N.; RIZVI, A.A.; CIACCIO, M.; PATTI, A.M.; ILIAS, I.; PANTEA STOIAN, A.; SAHEBKAR, A.; JANEZ, A.; RIZZO, M. An Update on the Current and Emerging Use of Thiazolidinediones for Type 2 Diabetes. **Medicina**, v. 58, n. 10:1475, 2022.

GRATTAGLIANO, I.; DI CIAULA, A.; BAJ, J.; MOLINA-MOLINA, E.; SHANMUGAM, H.; GARRUTI, G.; Q-H WANG, D.; PORTINCASA, P. Protocols for Mitochondria as the Target of Pharmacological Therapy in the Context of Nonalcoholic Fatty Liver Disease (NAFLD). **Methods in Molecular Biology**, v. 2310, 201-246, 2021.

HOEK, et al. Beneficial effects of elafibranor on NASH in E3L.CETP mice and differences between mice and men. **Scientific Reports**, v. 11, n. 1:5050, 2021.

HONG, F.; PAN, S.; GUO, Y.; XU, P.; ZHAI, Y. PPARs as Nuclear Receptors for Nutrient and Energy Metabolism. *Molecules*, v. 24, n. 14:2545, 2019.

HWANG, M.; KIM, HS.; JIN, SM.; HUR, K. Y.; KIM, J.H.; LEE, M.L. Thiazolidinediones (TZDs) enhance insulin secretory response via GPR40 and adenylate cyclase (AC). **Journal of Cellular Physiology**, v. 236, n. 12, 8137-8147, 2021.

KIM, N.H.; KIM, S.G. Fibrates Revisited: Potential Role in Cardiovascular Risk Reduction. **Diabetes & Metabolism Journal**, v. 44, n. 2, 213-221, 2020.

KALLIORA C, DROSATOS K. The Glitazars Paradox: Cardiotoxicity of the Metabolically Beneficial Dual PPAR α and PPAR γ Activation. **Journal of Cardiovascular Pharmacology**, v. 76, n. 5, 514-526. 2020.

KIM, H.; LEE, D.S.; AN, T.H.; PARK, H.-J.; KIM, W.K.; BAE, K.-H.; OH, K.-J. Metabolic Spectrum of Liver Failure in Type 2 Diabetes and Obesity: From NAFLD to NASH to HCC. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 22, n. 9: 4495, 2021.

LANGE, N.F.; GRAF, V.; CAUSSY, C.; DUFOUR, J.-F. PPAR-Targeted Therapies in the Treatment of Non-Alcoholic Fatty Liver Disease in Diabetic Patients. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 23, n. 8: 4305, 2022.

LI, X.; WANG, Z.; KLAUNIG, J. E. Modulation of xenobiotic nuclear receptors in high-fat diet induced non-alcoholic fatty liver disease. **Toxicology**, v. 1, n. 410, 199-213, 2018.

LOMONACO D., MELE G., MAZZETTO S.E. (2017) Cashew Nutshell Liquid (CNSL): From an Agro-industrial Waste to a Sustainable Alternative to Petrochemical Resources. In: **Anilkumar P. (eds) Cashew Nut Shell Liquid**. Springer, Cham.

MAZZETO, et al.. Óleo da castanha de caju: oportunidades e desafios no contexto do desenvolvimento e sustentabilidade industrial. **Química Nova**, v. 32, n 3, 732-741, 2009.

MONROY-RAMIREZ, H.C.; GALICIA-MORENO, M.; SANDOVALRODRIGUEZ, A.; MEZA-RIOS, A.; SANTOS, A.; ARMENDARIZ-BORUNDA, J. PPARs as Metabolic Sensors and Therapeutic Targets in Liver Diseases. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 22, n. 15: 8298, 2021.

MØLLERHØJ MB, VEIDAL SS, THRANE KT, ORÓ D, OVERGAARD A, SALINAS CG, MADSEN MR, PFISTERER L, VYBERG M, SIMON E, BROERMANN A, VRANG N, JELSING J, FEIGH M, HANSEN HH. Hepatoprotective effects of semaglutide, lanifibranor and dietary intervention in the GAN diet-induced obese and biopsy-confirmed mouse model of NASH. **Clinical and Translational Sciences**. v.15, n. 5, 1167-1186, 2022.

NASSIR, F. NAFLD: Mechanisms, Treatments, and Biomarkers. **Biomolecules**, v. 12, n. 6:824, 2022.

PAIVA, F.F. de A.; GARRUTI, D. dos S.; SILVA NETO, R.M. da. **Aproveitamento Industrial do Caju**. Fortaleza: Embrapa-CNPAT/SEBRAE/CE, 2000, 88p. (Embrapa-CNPAT. Documentos, 38).

PADOLE, P.; ARORA, A.; SHARMA, P.; CHAND, P.; VERMA, N.; KUMAR, A. Saroglitazar for nonalcoholic fatty liver Disease: a single centre experience in 91 patients. **Jornal of Clinical and Experimental Hepatology**, v. 12, n. 2, 435-439, 2021.

ROSSI, M.; FRESCHI, M.; NASCENTE, L. C.; SALERNO, A.; TEIXEIRA, S. M. V.; NACHON, F.; CHANTEGREIL, F.; SOUKUP, O.; PRCHAL, L.; MALAGUTI, M.; BERGAMINI, C.; BARTOLINI, M.; ANGELONIO, C.; HRELIA, S.; ROMEIRO, L. A. S.; BOLOGNESI, M. L. Sustainable Drug Discovery of Multi-Target-Directed Ligands for Alzheimer's Disease. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 64, n. 8, 4972-4990.

ROY, A.; FAJARDIE, P.; LEPOITTEVIN, B.; BAUDOUX, J.; LAPINTE, V.; CAILLOL, S.; BRIOU, B. CNSL, a Promising Building Blocks for Sustainable Molecular Design of Surfactants: A Critical Review. **Molecules**, v. 27, n. 4: 1443, 2022.

SOUZA et al.. Molecular evaluation of anti-inflammatory activity of phenolic lipid extracted from cashew nut shell liquid (CNSL). **BMC Complementary and Alternative Medicine**, v. 18, n. 1:181, 2018.

STASIUK, M., KOZUBEK, A. Biological activity of phenolic lipids. **Cellular and Molecular Life Sciences**, v. 67, n. 6, 841-860, 2010.

SUN, D.Q.; TARGHER, G.; BYRNE, C.D.; WHEELER, D.C.; WONG, V. W.S.; FAN, J.G.; TILG, H.; et. al. An international Delphi consensus statement on metabolic dysfunction-associated fatty liver disease and risk of chronic kidney Disease. **HepatoBiliary Surgery and Nutrition**, v. 12, n. 3, 386-403, 2023.

TAVARES, H.S.; MIRANDA, C.S.; MONTEIRO, I.M.L.V.; SANDOVAL, C.; OLIVEIRA, D.A.S.; VEIGA, F.M.S.; SILVA, A.F.; MELLO, V.S. Peroxisome proliferator-activated receptors as targets to treat metabolic diseases: Focus on the adipose tissue, liver, and pancreas. **World Journal of Gastroenterology**, v. 29, n. 26, 4136-4155, 2023.

THEVET, André. Le Brésil d'André Thevet - Les singularités de la France Antarctique (1557). Édition intégrale établie, présentée & annotée par Frank Lestingant. Paris: Éditions Chadeigne, 1997.

TRAUNER, M.; FUNCHS, C.D. Novel therapeutic targets for cholestatic and fatty liver Disease. **Recent Advances in Clinical Practice**, v. 71, n. 1, 194-209, 2022.

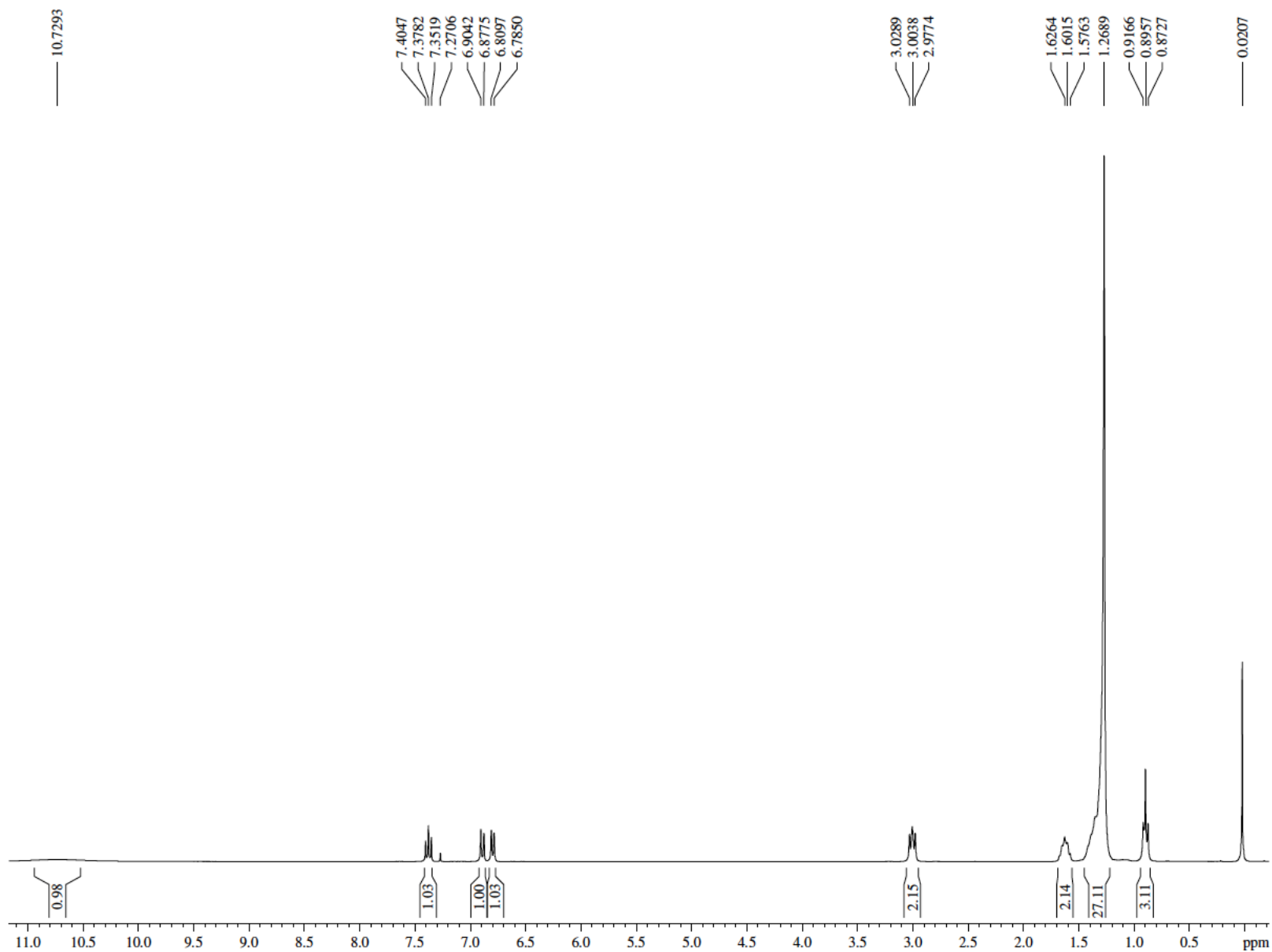
VASAPOLLO, G.; MELE, G.; DEL SOLE. R. Cardanol-Based Materials as Natural Precursors for Olefin Metathesis. **Molecules**, v. 16, n. 8, 6871-6882, 2011.

XU, X.; POULSEN, K.L.; WU, L.; LIU, S.; MIYATA, T.; SONG, Q.; ZHAO, C.; LIN, C.; YANG, J. Targeted therapeutics and novel signaling pathways in nonalcohol-associated fatty liver/steatohepatitis (NAFL/NASH). **Signal Transduction and Target Therapy**, v. 7:287, 2022.

ZHANG, C.Y.; LIU, S.; YANG, M. Antioxidant and anti-inflammatory agents in chronic liver diseases: Molecular mechanisms and therapy. **World Journal of Hepatology**, v. 15, n. 2. 180-200, 2023.

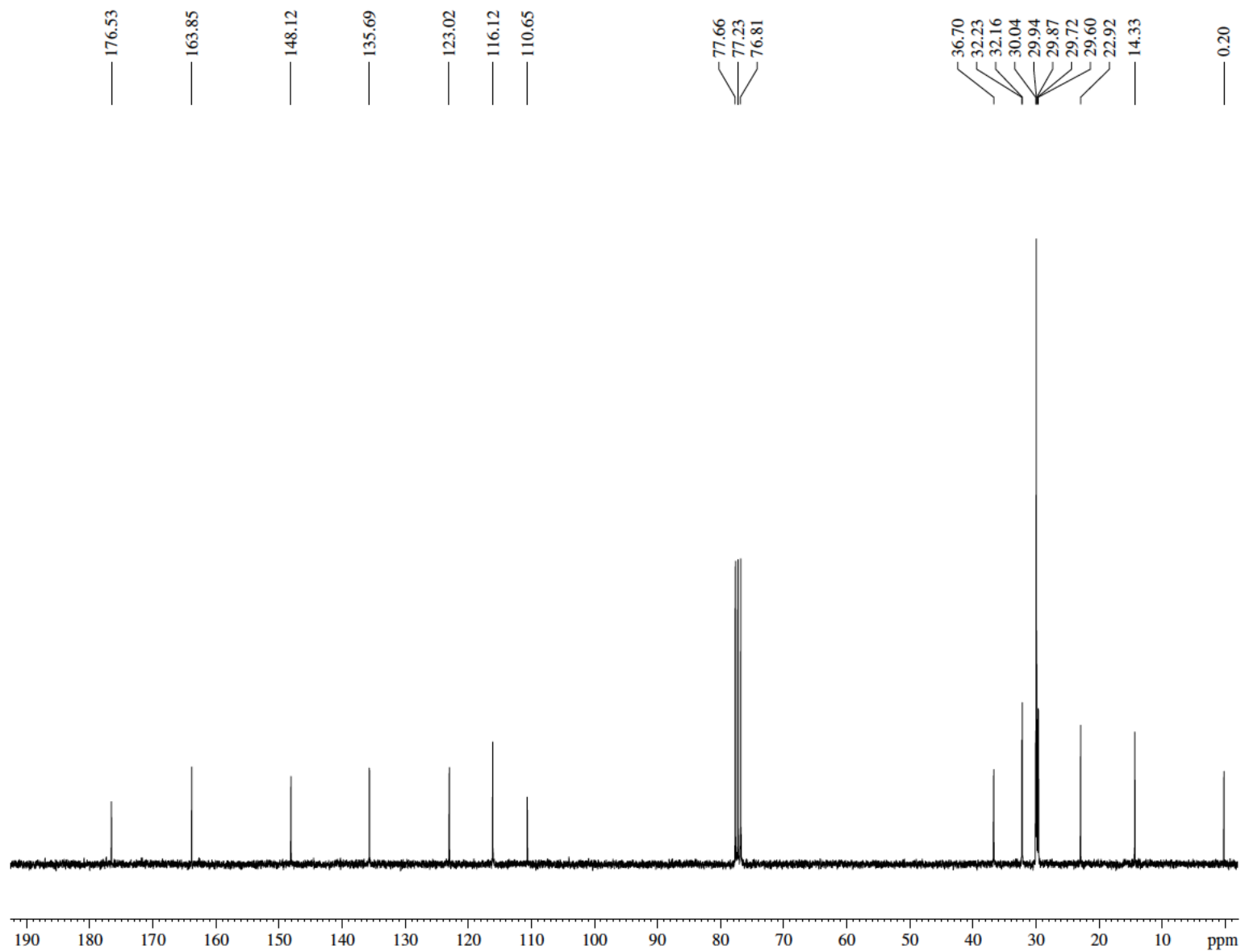
ANEXO I

Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) do ácido anacárdico saturado (LDT11, **23**)



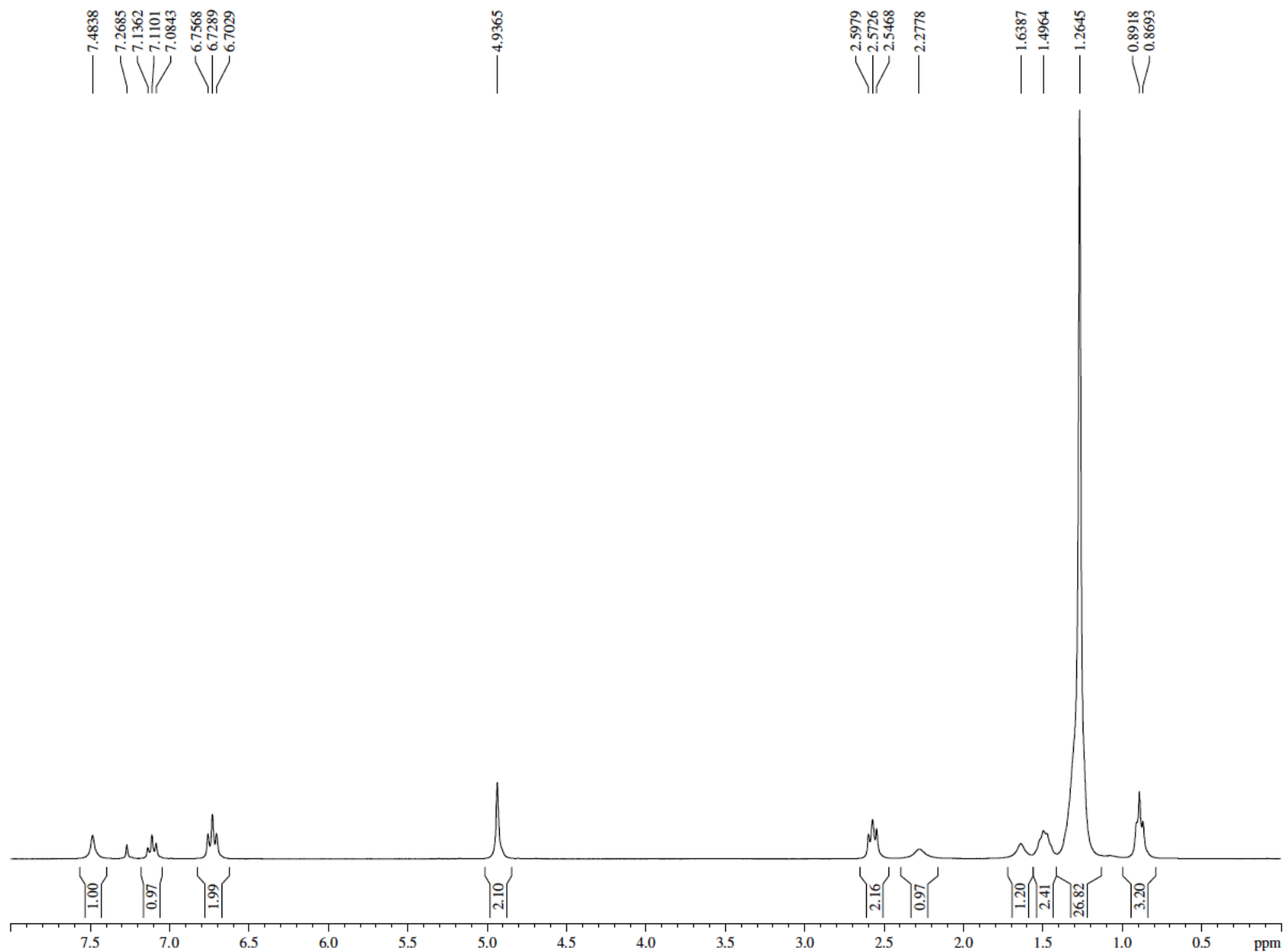
ANEXO II

Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) do ácido anacárdico saturado (LDT11, **23**)



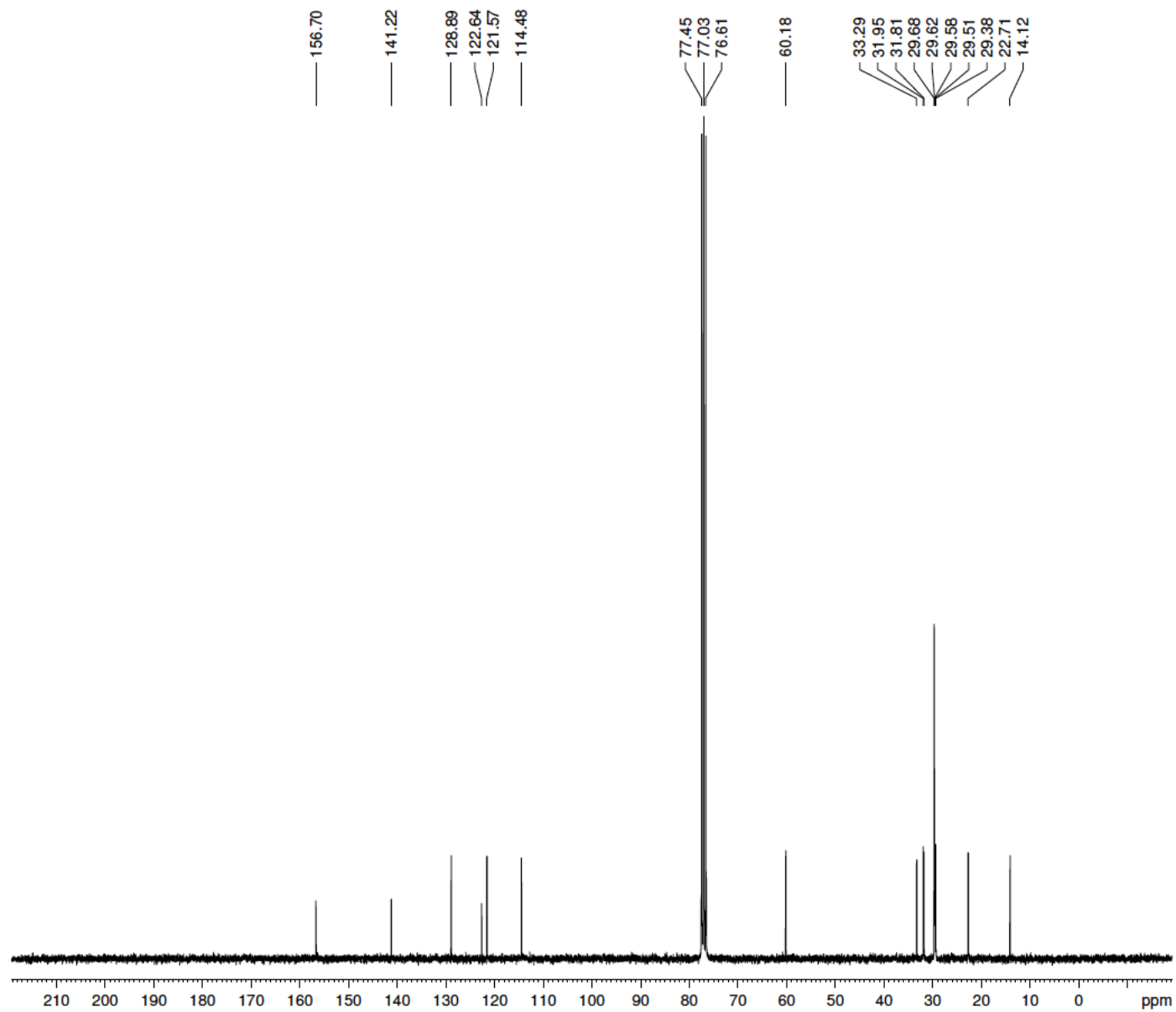
ANEXO III

Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) do composto 2-(hidróximetil)-3-pentadecilfenol (LDT197, **31**)



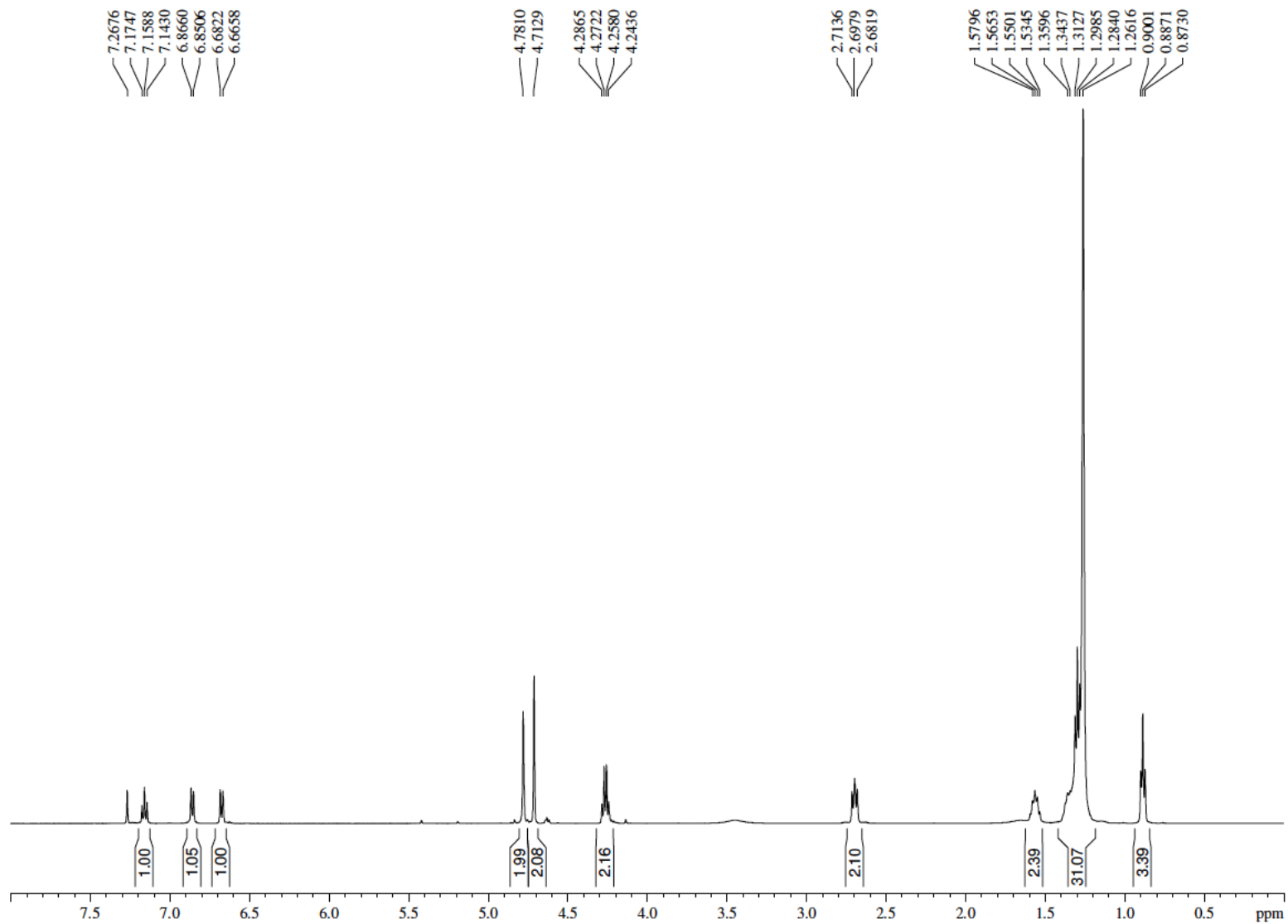
ANEXO IV

Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) do composto 2-(hidróximetil)-3-pentadecilfenol (LDT197, **31**)



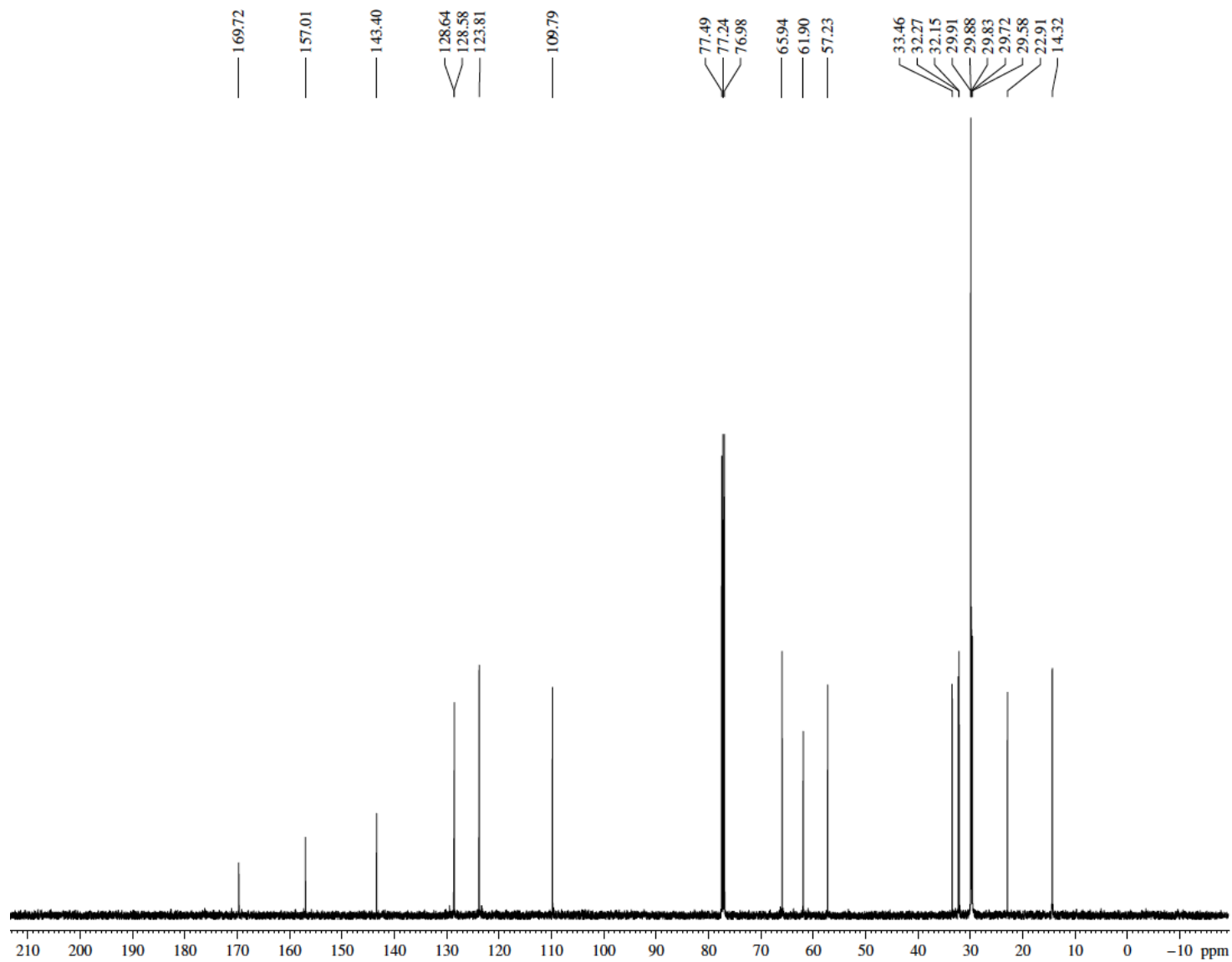
ANEXO V

Espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) do composto 2-(2-(hidróximetil-3-pentadecilfenóxi)acetato de etila (LDT457, **33**)



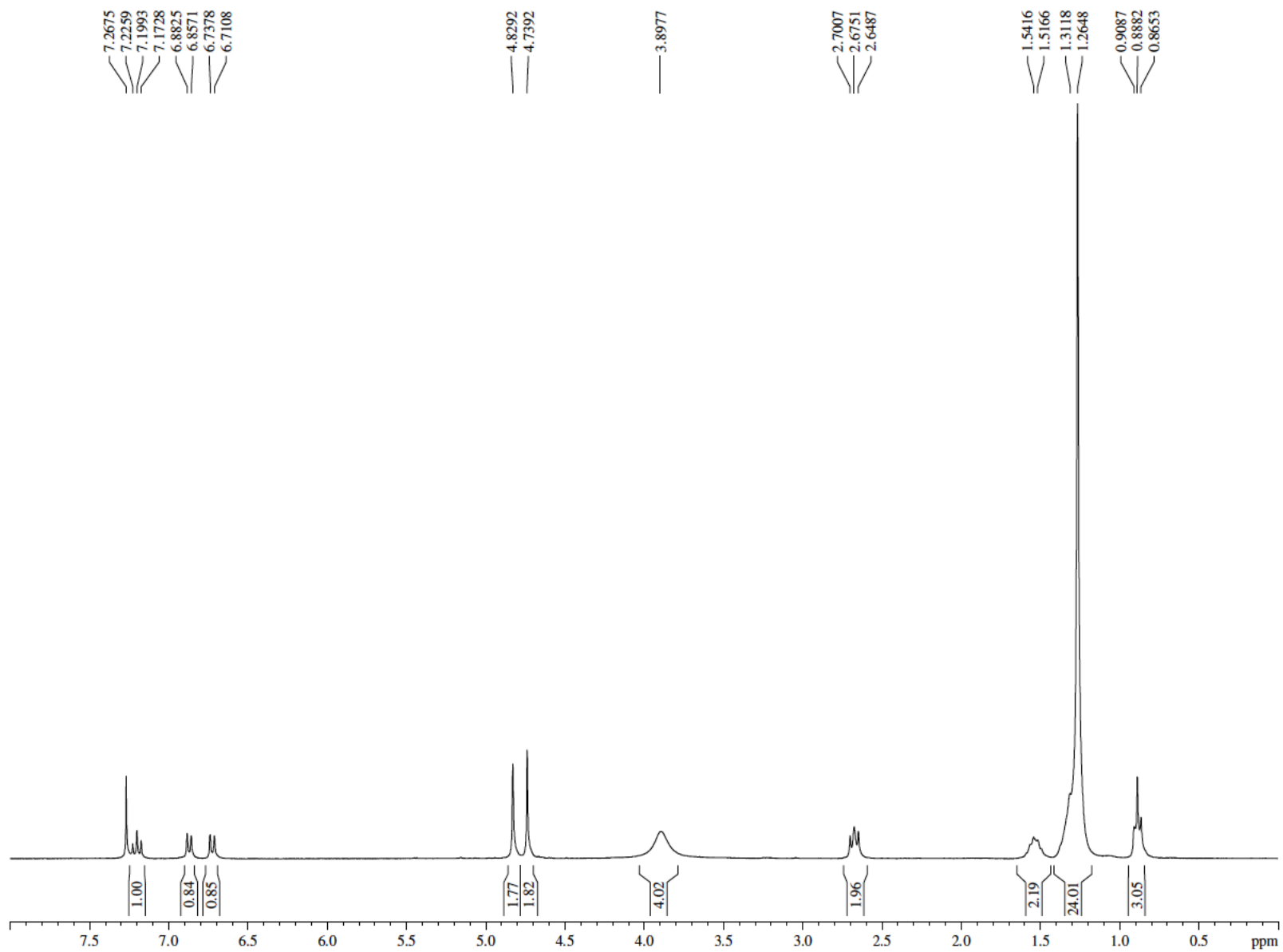
ANEXO VI

Espectro de RMN de ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) do composto 2-(2-(hidróximetil-3-pentadecilfenóxi)acetato de etila (LDT457, **33**)



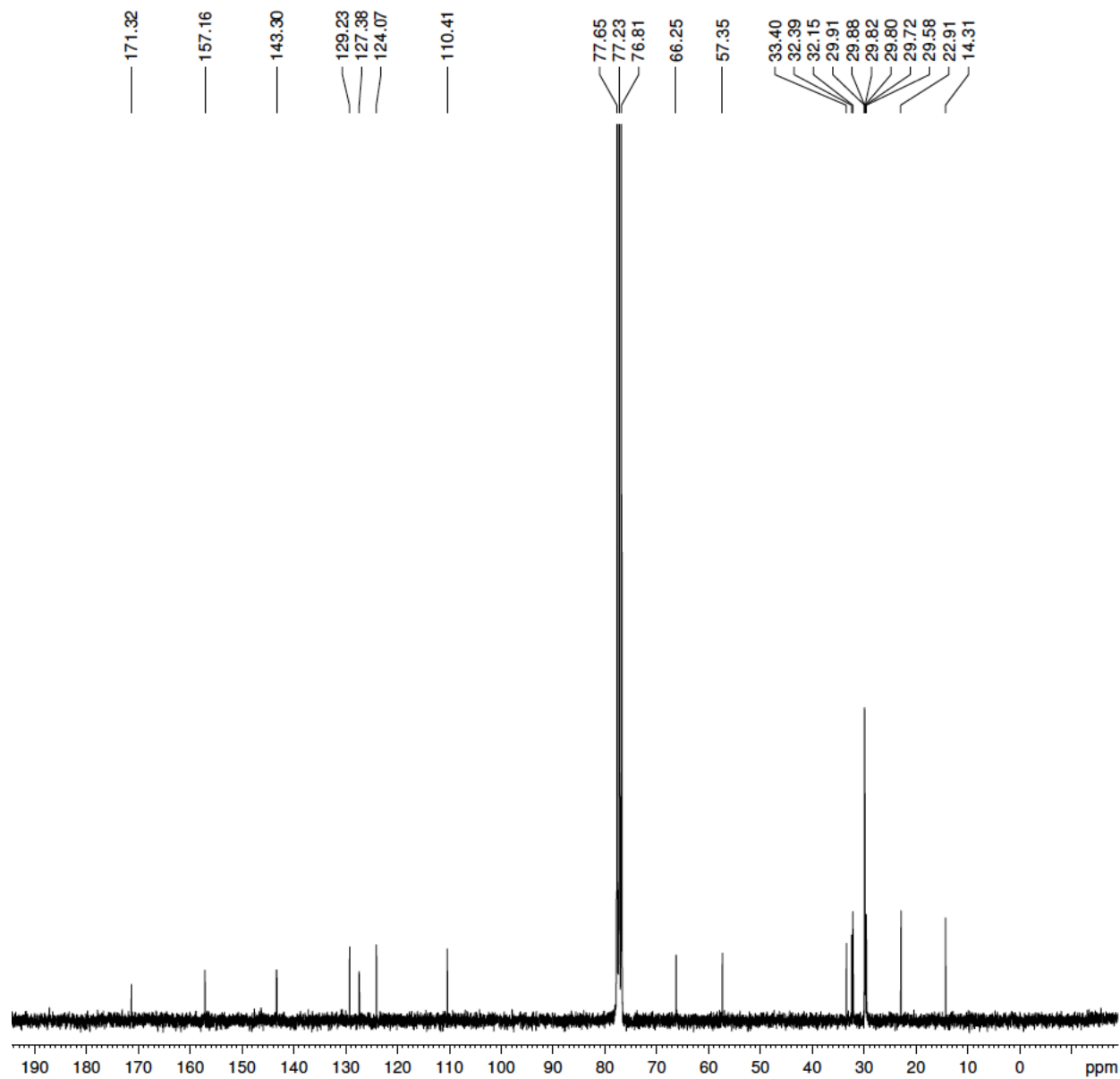
ANEXO VII

Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) do composto ácido 2-(2-hidróximetil-3-pentadecilfenóxi)acético (LDT458, **37**)



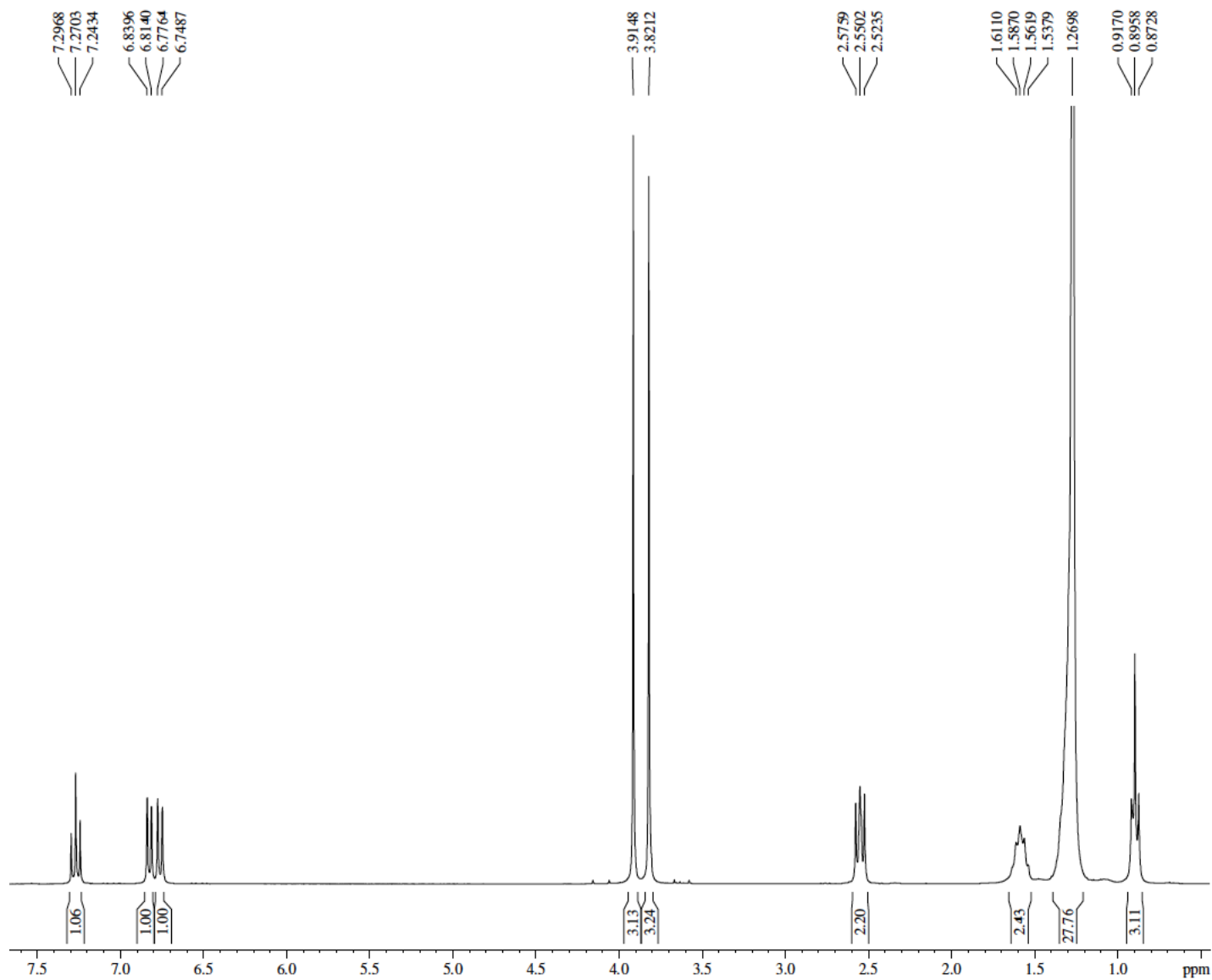
ANEXO VIII

Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) do composto ácido 2-(2-hidróximetil-3-pentadecilfenóxi)acético (LDT458, **37**)



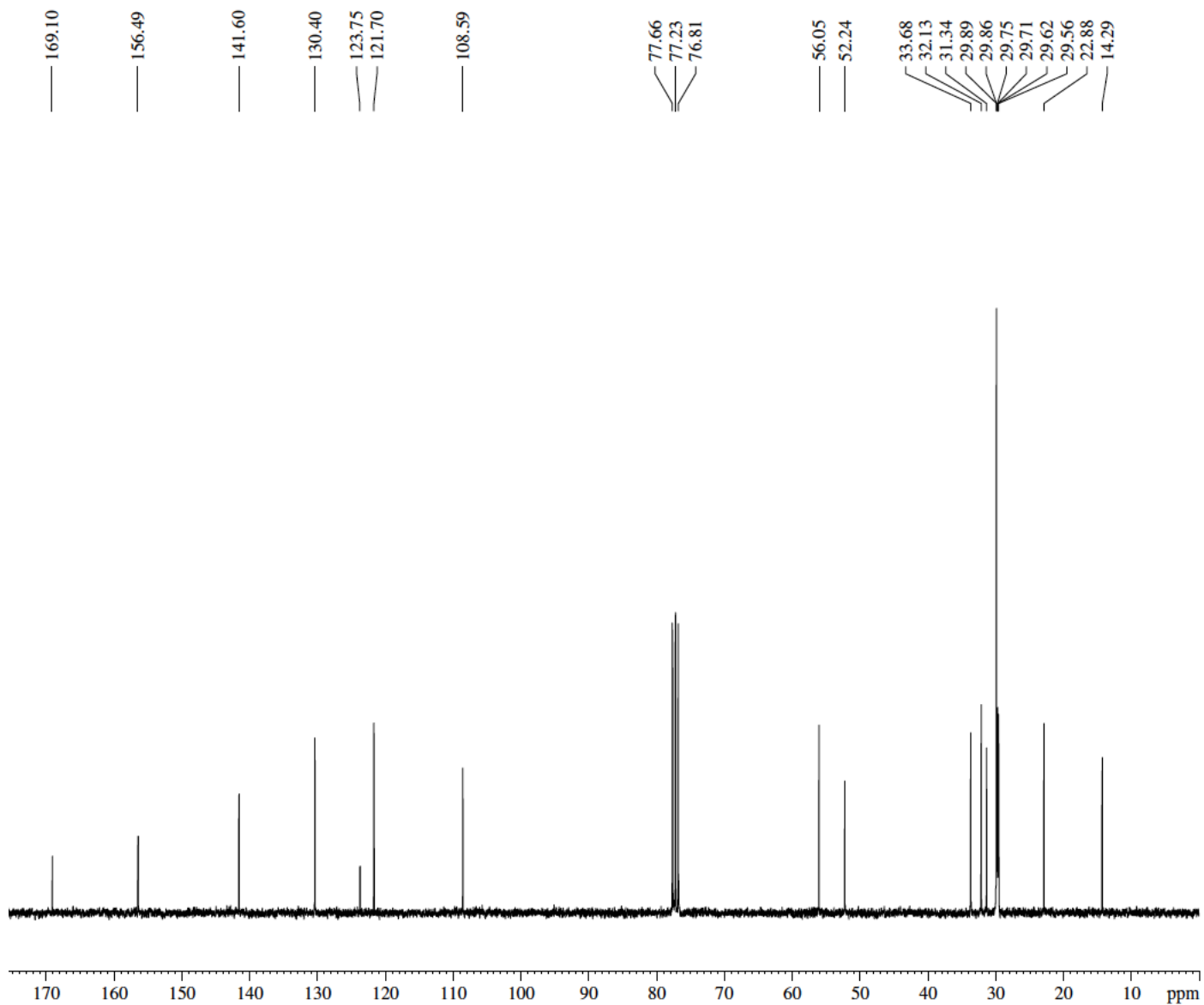
ANEXO IX

Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) do composto 2-metóxi-6-pentadecilbezoato de metila (LDT28, **29**)



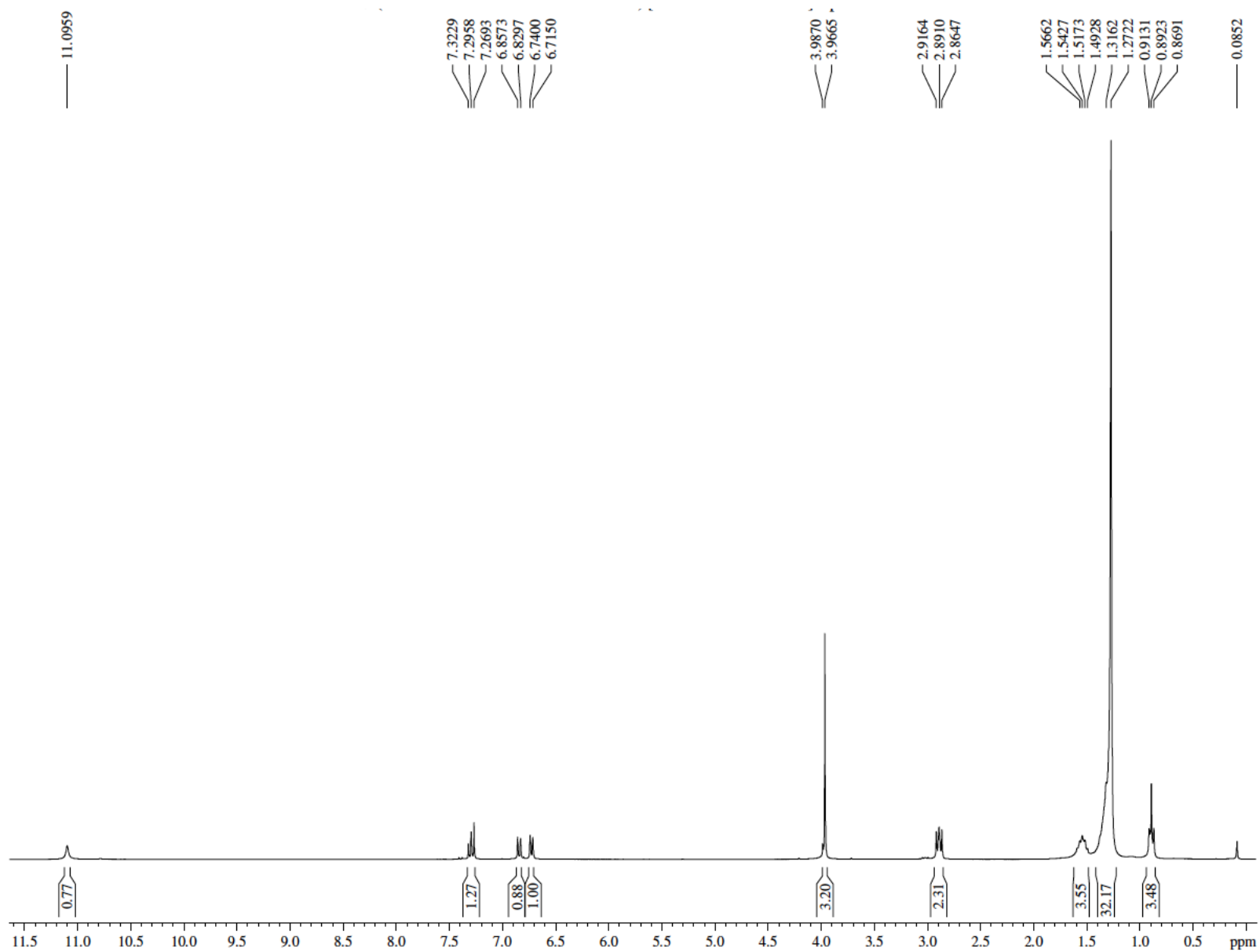
ANEXO X

Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) do composto 2-metóxi-6-pentadecilbezoato de metila (LDT28, **29**)



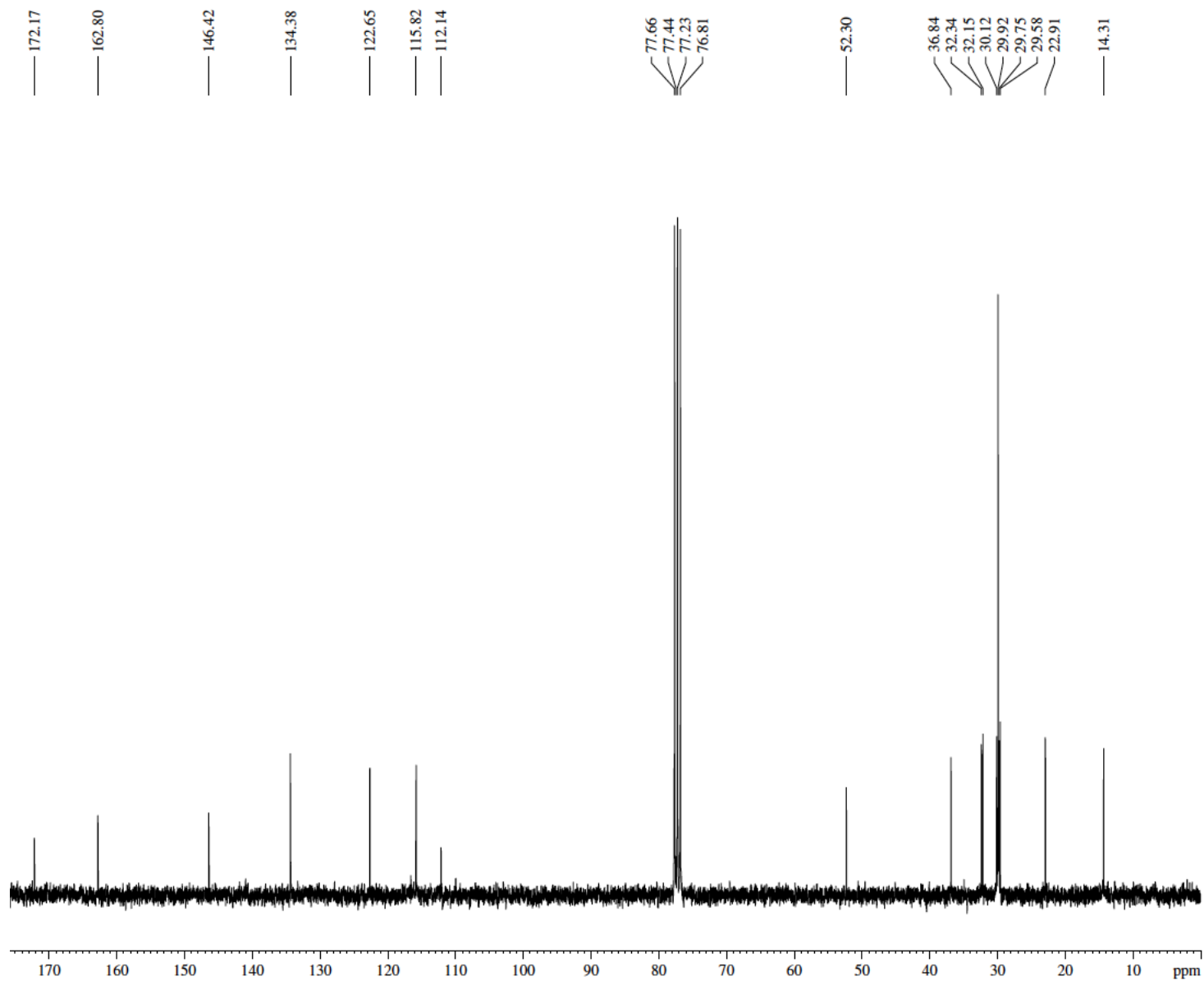
ANEXO XI

Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) do composto 2-hidróxi-6-pentadecilbenzoato de metila (LDT29, **32**)



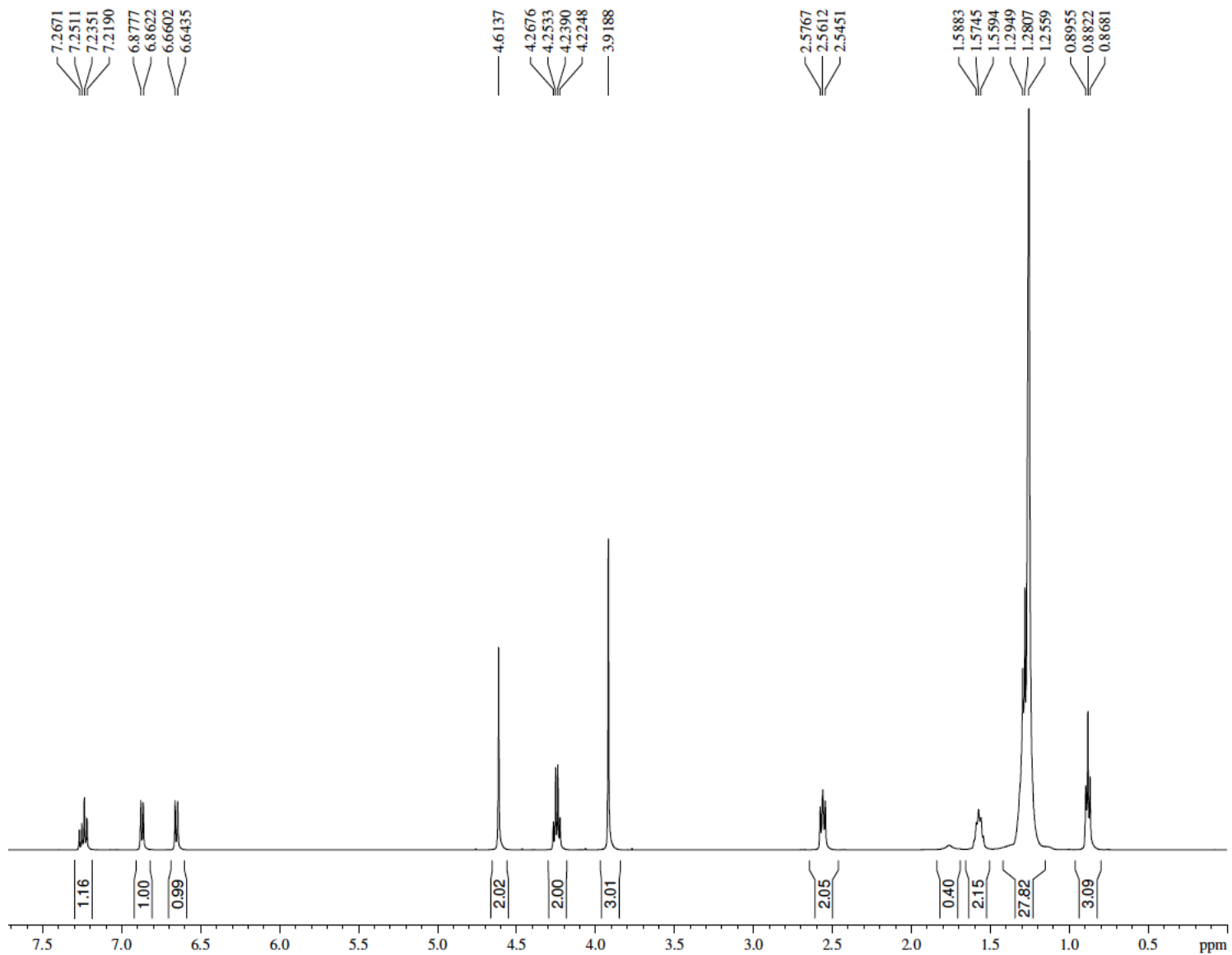
ANEXO XII

Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) do composto 2-hidróxi-6-pentadecilbenzoato de metila (LDT29, **32**)



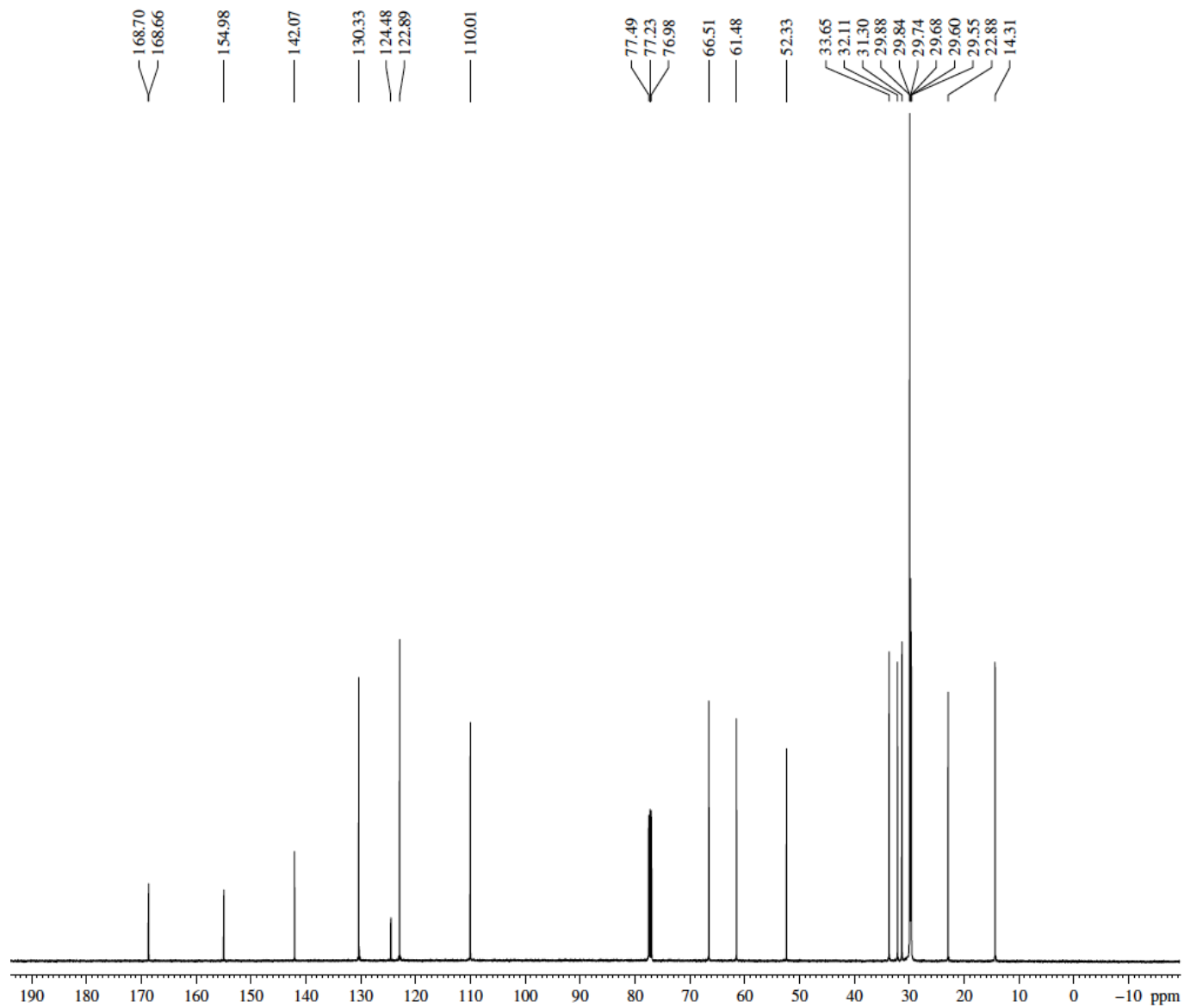
ANEXO XIII

Espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) do composto 2-(2-carbetoximetóxi)-6-pentadecilbenzoato de metila (LDT460, **34**)



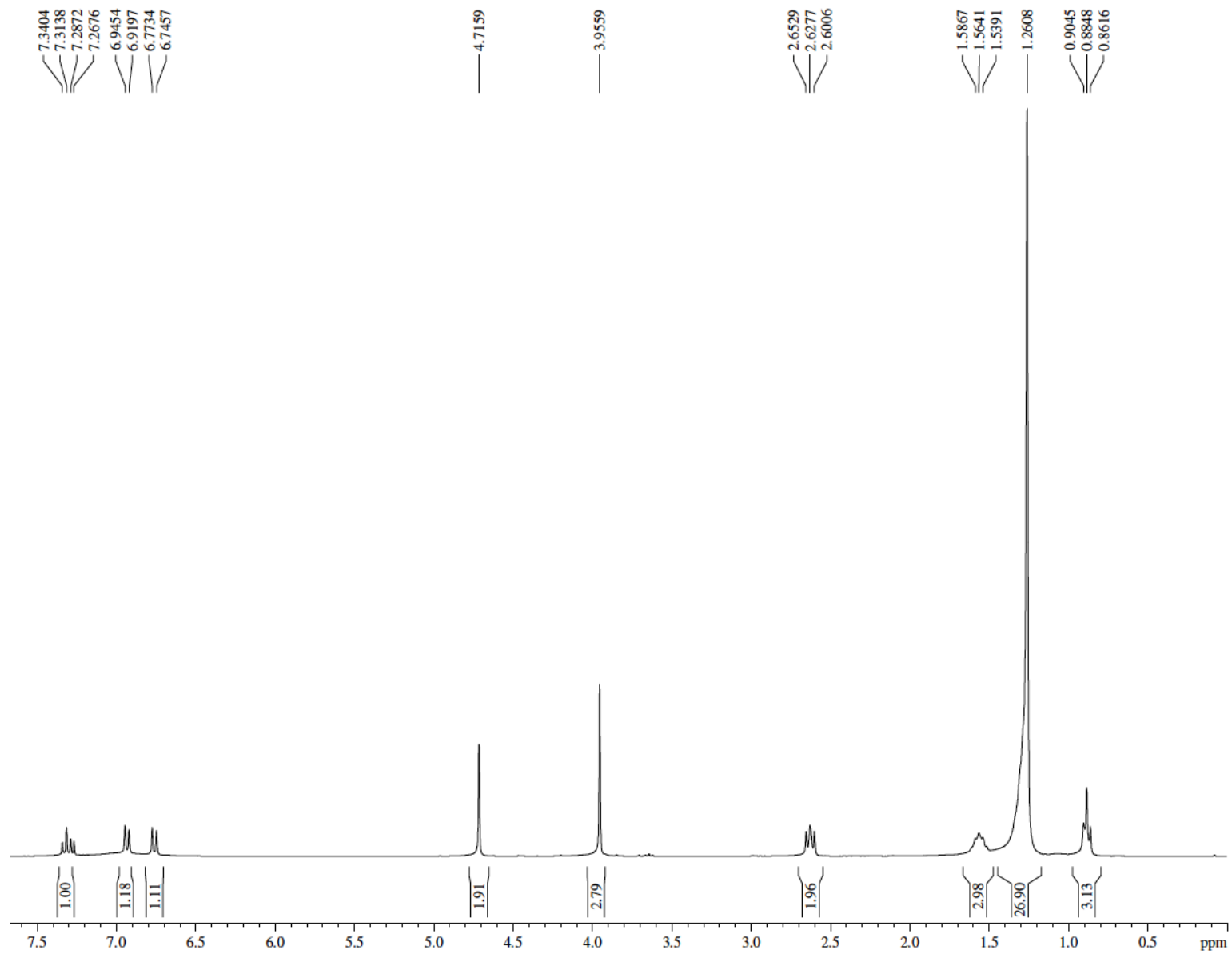
ANEXO XIV

Espectro de RMN de ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) do composto 2-(2-carbetoximetóxi)-6-pentadecilbenzoato de metila (LDT460, **34**)



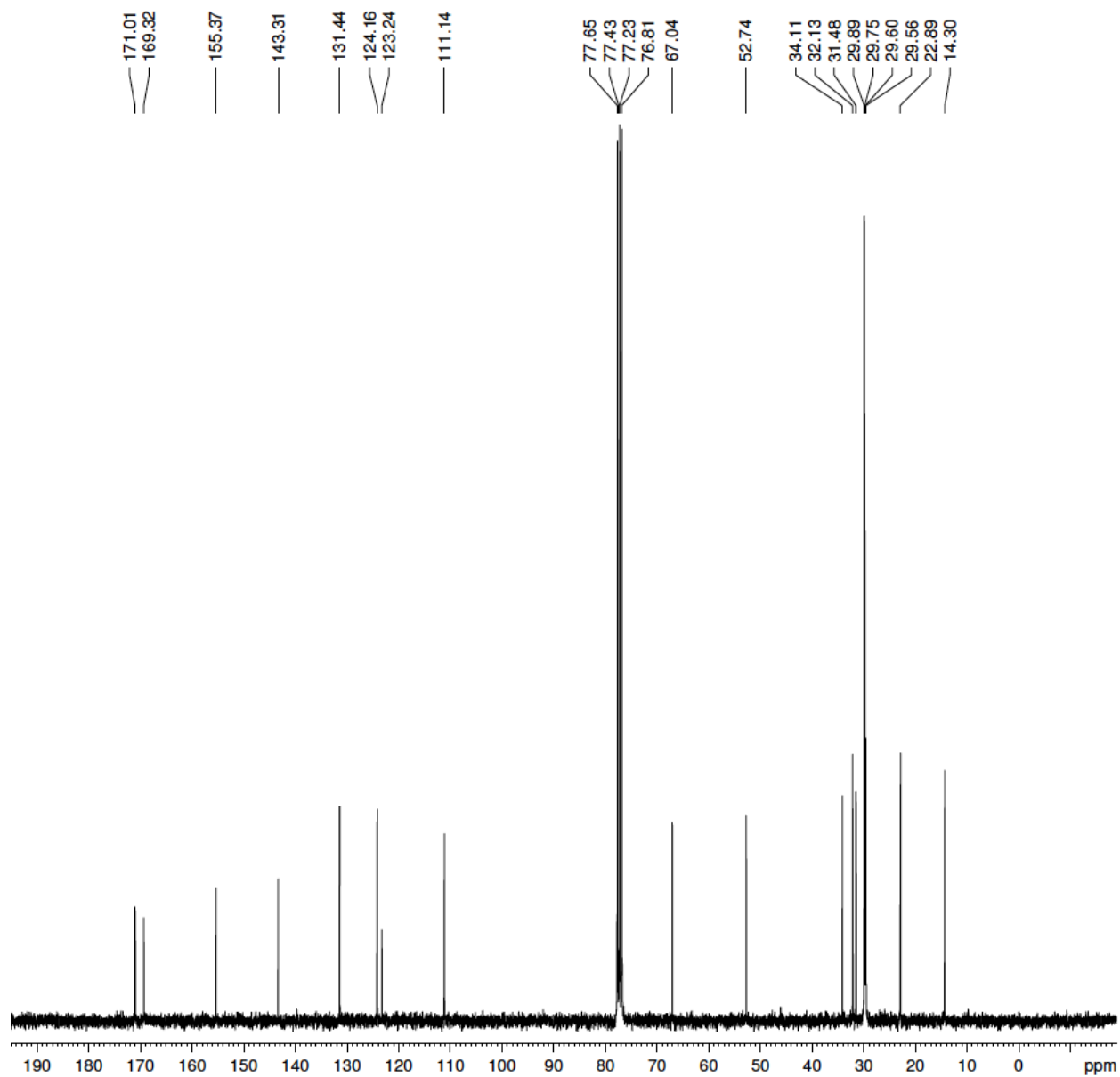
ANEXO XV

Espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) do composto ácido 2-(2-(carbometóxi)-3-pentadecilfenóxiacético (LDT461, **38**)



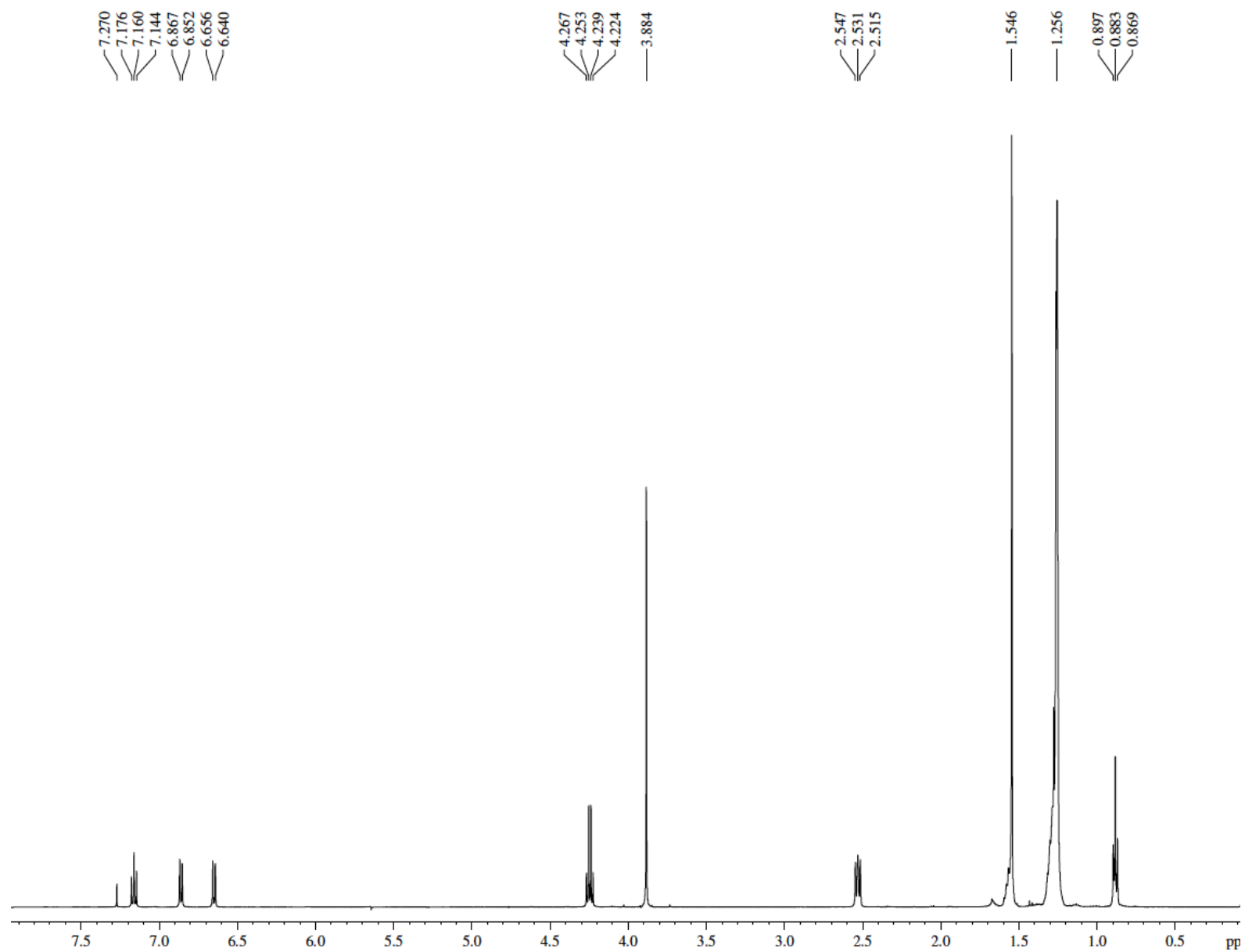
ANEXO XVI

Espectro de RMN de ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) do composto ácido 2-(2-(carbometóxi)-3-pentadecilfenóxi)acético (LDT461, **38**)



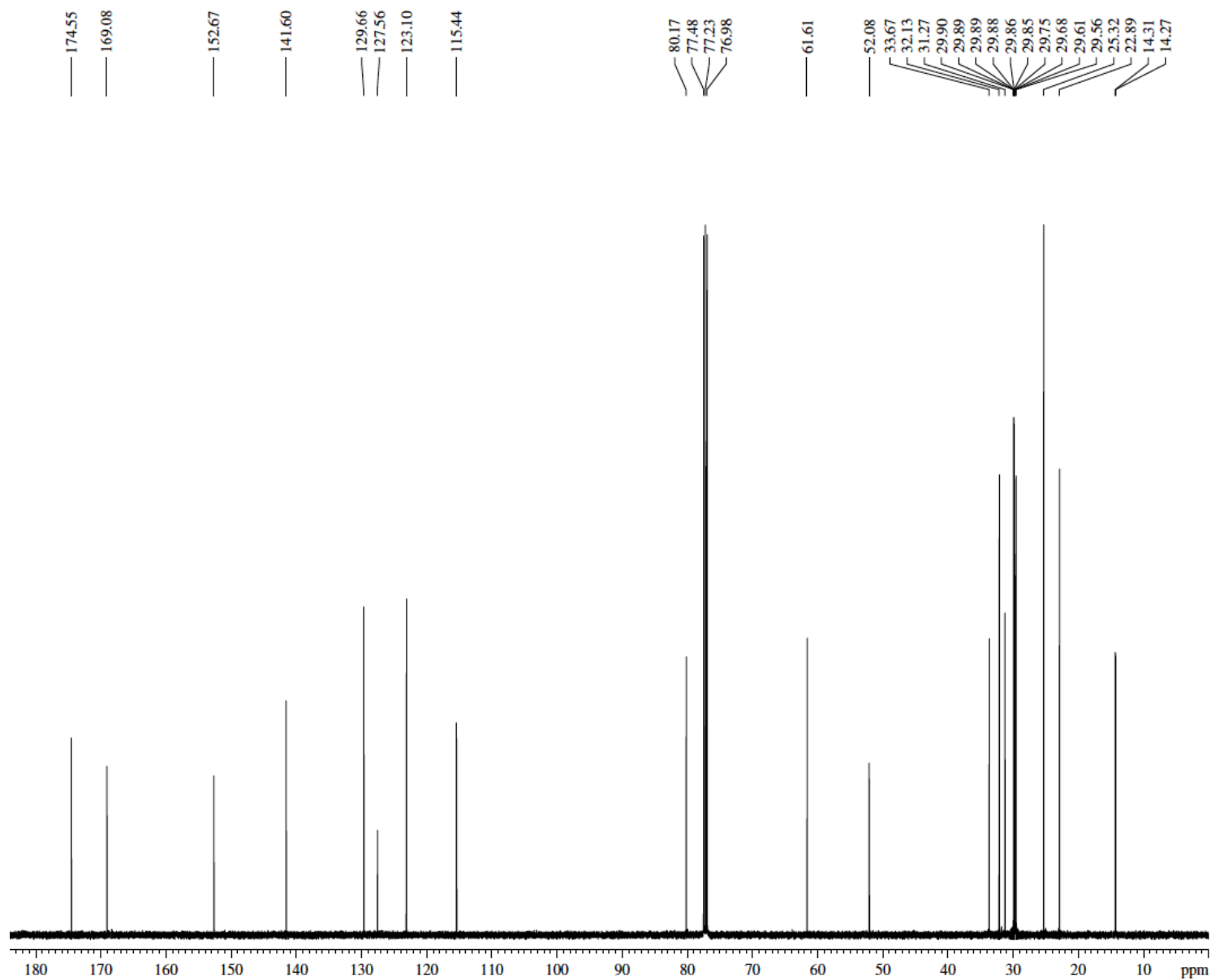
ANEXO XVII

Espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) do composto 2-(2-carbometóxi-3-pentadecilfenóxi)-2-metilpropanoato de etila (LDT468, **36**)



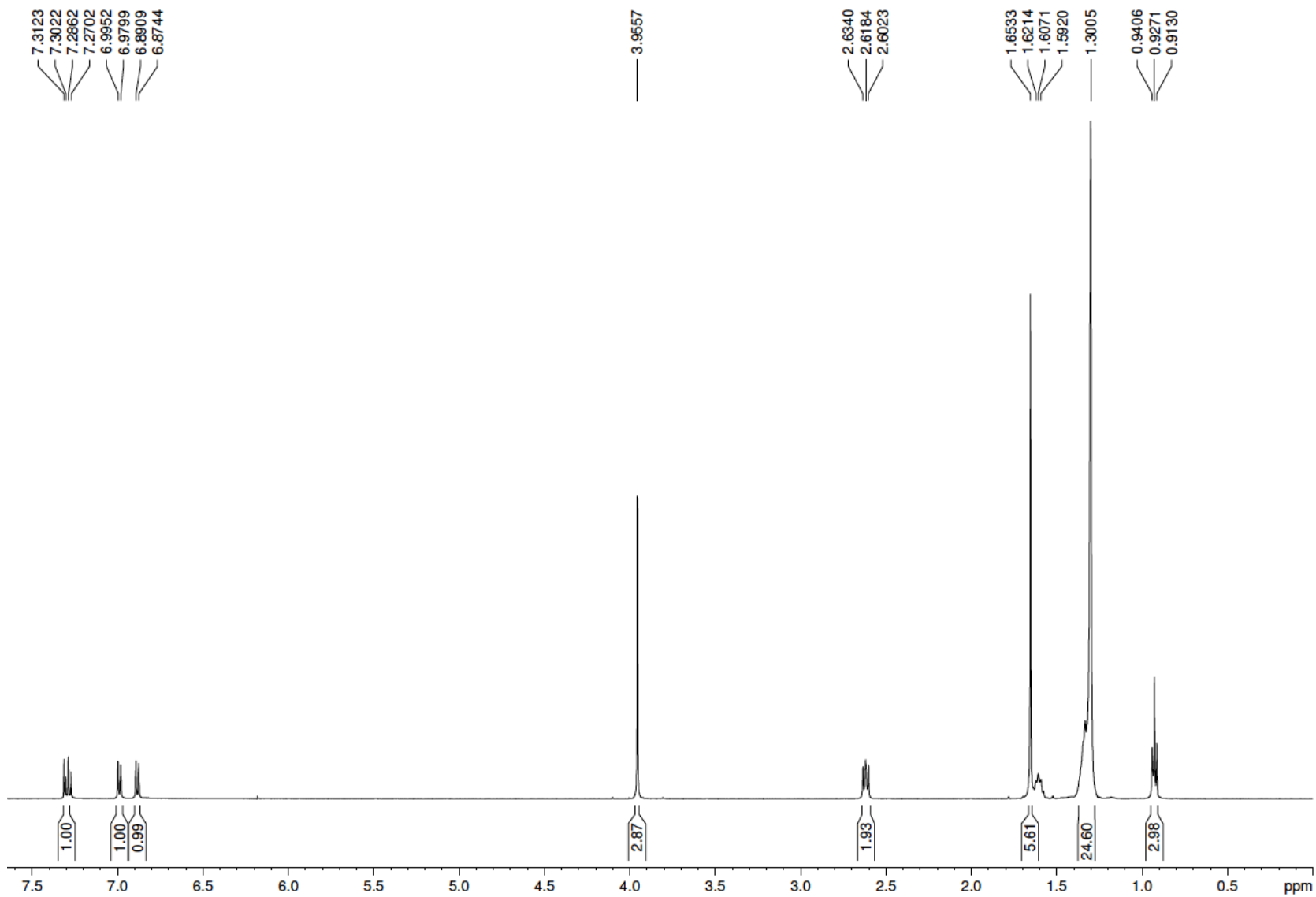
ANEXO XVIII

Espectro de RMN de ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) do composto 2-(2-carbometóxi-3-pentadecilfenóxi)-2-metilpropanoato de etila (LDT468, **36**)



ANEXO XIX

Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) do composto ácido 2-(2-(carbometóxi-3-pentadecilfenóxi)-2-metilacético (LDT469, **40**).



ANEXO XX

Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) do composto ácido 2-(2-(carbometóxi-3-pentadecilfenóxi)-2-metilacético) (LDT469, **40**).

