



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

NATÁLIA CIPRIANO MONTEIRO

SÍNTESE E AVALIAÇÃO DE NOVOS AGONISTAS PPAR PLANEJADOS A
PARTIR DA OTIMIZAÇÃO DO COMPOSTO PROTÓTIPO LDT409

BRASÍLIA

2023

NATÁLIA CIPRIANO MONTEIRO

SÍNTESE E AVALIAÇÃO DE NOVOS AGONISTAS PPAR PLANEJADOS A
PARTIR DA OTIMIZAÇÃO DO COMPOSTO PROTÓTIPO LDT409

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Faculdade de Ciências da 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, total ou parcial, deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletrônico, para fins de ensino, estudo ou pesquisa, desde que citada a fonte.

Catlogação da Publicação

NATÁLIA CIPRIANO MONTEIRO

SÍNTESE E AVALIAÇÃO DE NOVOS AGONISTAS PPAR PLANEJADOS A PARTIR DA OTIMIZAÇÃO DO COMPOSTO-PROTÓTIPO LDT 409

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

Aprovada em 09 de Outubro de 2023.

Banca Examinadora

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

Dra. Giselle de Andrade Ramos
Ministério da Saúde – MS

Profa. Dra. Djane Braz Duarte
Universidade de Brasília – UnB

Dra. Andressa Souza de Oliveira
Ministério da Saúde – MS

*“A educação é a arma mais poderosa que
você pode usar para mudar o mundo.”*

Nelson Mandela

AGRADECIMENTOS

À Deus, pela pujança que me permitiu perseverar frente as adversidades.

À minha mãe e irmã, ocupantes do meu coração, pelo apoio e estímulo em todas as minhas trajetórias. Vocês são exemplos de força, perseverança e dedicação. Eu não seria quem sou hoje se não fosse por vocês. Não existem palavras nem gestos suficientes para explicar o quão grata e o tanto que eu sinto por vocês.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Luiz Antonio Soares Romeiro, por me acolher aos 45' do 2º tempo e abrir as portas do mundo mágico, complicado, apaixonante e fatigante da Química Medicinal. Obrigado pela paciência, pela partilha de conhecimento e pela confiança em mim. Graças ao senhor posso dizer que me tornei uma cientista mais versátil e perspicaz, disposta a encarar qualquer desafio.

Às Dras. Carolyn Cummins e Cigdem Sahin, do *Nuclear Hormone Receptors in Human Health and Disease, University of Toronto* (UofT), pelas contribuições científicas e pela realização dos ensaios biológicos.

Ao Prof. Dr. Edilberto Silveira e à MSc. Débora Hellen Almeida de Brito do Centro Nordestino de Aplicação e Uso de Ressonância Magnética Nuclear (CENAUREMN) da Universidade Federal do Ceará (UFC) pela obtenção dos espectros de Ressonância Magnética Nuclear.

Aos professores do Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, por edificarem meu conhecimento e pela contribuição a minha formação.

Aos amigos, de dentro e fora do laboratório, de Brasília, do Rio de Janeiro e de São Paulo. Obrigado pelos momentos de descontração e de seriedade, presenciais e distanciados. Vocês são muito especiais para mim.

Aos colegas do Laboratório de Desenvolvimento de Inovações Terapêuticas (LDT), por todo suporte e ensinamentos, pelo ânimo e por não me deixarem desistir.

À banca examinadora. Obrigada por aceitarem este convite e por todas as contribuições que enriquecerão esta dissertação.

Ao CNPq e à CAPES pelo apoio financeiro.

E finalmente, a todos, conhecidos e desconhecidos, permanentes e passageiros, que contribuíram de alguma maneira, a mais ínfima que seja, para a produção deste trabalho.

RESUMO

Os Receptores Ativados por Proliferadores de Peroxissomo (PPAR) são receptores nucleares proteicos envolvidos na regulação metabólica que constituem importantes alvos terapêuticos para patologias como diabetes mellitus tipo 2 (DM2) e doença hepática gordurosa não alcoólica (DHGNA). Esses receptores são ativados por ligantes endógenos, como ácidos graxos, e exógenos, como fibratos (PPAR α) e tiazolidinedionas (PPAR γ); possuindo ação hipoglicemiante, hipolipemiante, anti-insulínica, antiapoptótica e antiinflamatória. No entanto, essa atividade metabólica está atrelada a efeitos adversos graves como ganho de peso, edema, fraturas ósseas e toxicidade hepática, sendo por isso necessária a investigação de novos ligantes sintéticos de PPAR. No âmbito de uma série de estudos voltados ao uso terapêutico de lipídios fenólicos extraídos do líquido da casca da castanha de caju, este trabalho descreve o planejamento, síntese e avaliação de novos ligantes PPAR. Neste contexto, adotou-se uma estratégia sintética baseada no melhoramento molecular do composto LDT409 a partir da diminuição da cadeia alquílica hidrofóbica de 15 carbonos (C15 – cLogP 7,50) para uma cadeia de 8 carbonos (C8 – cLogP 4,58), a fim de se diminuir a lipofilicidade da molécula de acordo com as regras postuladas por Lipinski. Esta estratégia rendeu seis derivados-alvo, com rendimentos variando de 67% a 90%, que foram caracterizados por métodos espectroscópicos. Os resultados farmacológicos referentes à ativação de receptores PPAR murinos e humanos demonstraram a capacidade desses derivados de desempenharem atividade agonística parcial e dual com valores de ativação de EC₅₀ na faixa micromolar. Quando confrontados com os valores de EC₅₀ do composto homólogo LDT409, o derivado LDT809 levou a uma modulação negativa significativa do perfil de ativação do receptor PPAR α e a uma modulação negativa não significativa do perfil de ativação do receptor PPAR γ , mostrando-se também inapto na ativação do receptor PPAR β/δ . Com isso, conclui-se que a estratégia de desomologação da cadeia ao homólogo inferior com oito carbonos é tolerada para PPAR α ; bem tolerada para PPAR γ e deletéria para PPAR β/δ .

Palavras-chave: PPAR; Doença Hepática Gordurosa Não-Alcoólica; LCC; Cardanol; cLogP.

ABSTRACT

Peroxisome Proliferator-Activated Receptors (PPAR) are nuclear protein receptors involved in metabolic regulation that are important therapeutic targets for pathologies such as type 2 diabetes mellitus (DM2) and non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD). These receptors are activated by endogenous ligands, such as fatty acids, and exogenous ligands, such as fibrates (for PPAR α) and thiazolidinediones (for PPAR γ), having hypoglycemic, hypolipidemic, anti-insulin, anti-apoptotic and anti-inflammatory action. However, this metabolic activity is linked to some serious adverse effects such as weight gain, edema, bone fractures and liver toxicity, which is why it is necessary to investigate new synthetic PPAR ligands. As part of a series of studies aimed at the therapeutic use of phenolic lipids extracted from cashew nutshell liquid, this work describes the design, synthesis and evaluation of new PPAR ligands. In this context, a synthetic strategy based on the molecular improvement of the compound LDT409 was adopted by reducing the hydrophobic alkyl chain from a 15-carbon chain (C15 – clog 7.50) to an 8-carbon chain (C8 – cLogP 4,58), in order to reduce the lipophilicity of the molecule according to the rules postulated by Lipinski. This synthetic strategy provided six new target derivatives, with yields ranging from 67% to 90%, which were characterized by spectroscopic methods. The pharmacological results regarding the activation of murine and human PPAR receptors demonstrated the ability of these new target derivatives to perform partial and dual agonistic activity with EC₅₀ activation values in the micromolar range. When confronted with the EC₅₀ values of the homologous compound LDT409, the LDT809 derivative led to a significant negative modulation of the PPAR α receptor activation profile and a non-significant negative modulation of the PPAR γ receptor activation profile, also showing itself to be incapable of activating the PPAR β/δ receptor. With this, it is possible to conclude that the chain demologation strategy to the lower homologue with eight carbons is tolerated for PPAR α ; well tolerated for PPAR γ and deleterious for PPAR β/δ .

Keywords: PPAR; Non-Alcoholic Fatty Liver Disease; CNSL; Cardanol; cLogP.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1:	Ativação do receptor nuclear PPAR	3
Figura 2:	Estrutura dos receptores ativados por proliferadores de peroxissomo	4
Figura 3:	Genes-alvo dos PPAR	8
Figura 4:	Estrutura molecular de ligantes naturais de PPAR α	10
Figura 5:	Estrutura molecular agonistas sintéticos de PPAR α (Fibratos)	11
Figura 6:	Estrutura molecular de ligantes naturais de PPAR β/δ	12
Figura 7:	Estrutura molecular de agonistas sintéticos de PPAR β/δ	13
Figura 8:	Estrutura molecular de ligantes naturais de PPAR γ	15
Figura 9:	Estrutura molecular de ligantes sintéticos de PPAR γ (tiazolidineadionas).	18
Figura 10:	Fisiopatologia da DHGNA	22
Figura 11:	Características do caju e sua castanha	28
Figura 12:	Lipídeos fenólicos que compõem o Líquido da Casca da Castanha do Caju (LCC)	28
Figura 13:	Agonista parcial PPAR LDT409 (39)	31
Figura 14:	Numeração e legendas empregadas no assinalamento de sinais em espectros de RMN de ^1H e RMN de ^{13}C	45
Figura 15:	Estrutura química do controle positivo WY-14643, agonista seletivo de PPAR α	65
Figura 16:	Atividade transcricional em PPAR α dos derivados-alvo	66
Figura 17:	Valores de EC_{50} para os compostos LDT808 (46), LDT809 (47), LDT815 (48) e LDT816 (49) no PPAR α .	67
Figura 18:	Atividade transcricional em PPAR β/δ dos derivados-alvo	68
Figura 19:	Atividade transcricional em PPAR γ dos derivados-alvo	69
Figura 20:	Valores de EC_{50} para os compostos LDT808 (46), LDT809 (47), LDT815 (48) e LDT816 (49) no PPAR γ .	70

LISTA DE TABELAS

Tabela 1:	Efeitos fisiológicos e adversos dos agonistas sintéticos de PPAR γ	19
Tabela 2:	Agonistas duais e pan-agonistas PPAR utilizados no tratamento da DHGNA	26
Tabela 3:	Percentual das misturas dos diferentes componentes presentes no líquido da casca da castanha de caju	30
Tabela 4:	Metodologias para secagem de solventes	43
Tabela 5:	Características físico-químicas e sinais espectroscópicos de RMN de ^1H e RMN de ^{13}C obtidos para os derivados-alvo	64
Tabela 6:	Perfil de atividade e valores de EC $_{50}$ (μM) para derivados-alvo frente aos PPAR	71
Tabela 7:	Correlações entre os perfis de atividade transcrional para PPAR	72
Tabela 8:	Perfil de atividade e valores de EC $_{50}$ (μM) para os compostos LDT409 (39) e LDT809 (47) frente aos PPAR	73

LISTA DE ESQUEMAS

Esquema 1:	Metodologias de extração do LCC da casca da castanha de caju e seus respectivos produtos.	29
Esquema 2:	Planejamento estrutural de derivados-alvo	38
Esquema 3:	Planejamento sintético dos derivados-alvo.	40

LISTA DE ABREVIATURAS E SILGLAS

ABCA1 –	Proteína Reguladora do Efluxo de Colesterol
ACACA –	Acetil-Coenzima A Carboxilase Alfa
ACADVL –	Acil-Coenzima A Desidrogenase Específica de Cadeia Longa
ACAT –	Acetil-Coenzima A Acetiltransferase
ACN –	Acetonitrila
AcoEt –	Acetato de Etila
ACOX –	Acil-Coenzima A Oxidase Peroxisomal
ADFP –	Proteína Relacionada à Diferenciação de Adipócitos
ADIPOQ –	Adiponectina
AF-1 –	Função de Ativação 1
AF-2 –	Função de Ativação 2
AG –	Ácidos Graxos
AMTH –	Aminotransferases Hepáticas
aP2 –	Proteína de Adipócitos 2
APOA –	Apolipoproteína A
APOC –	Apolipoproteína C
CCD –	Cromatografia em Camada Delgada
CD36 –	Translocase de Ácidos Graxos
CEBP α –	Proteína intensificadora de ligação alfa
CENAUREMN –	Centro Nordestino de Aplicação e Uso da Ressonância Magnética Nuclear
CHC –	Carcinoma Hepatocelular
cLogD –	Coeficiente de Distribuição
cLogP –	Coeficiente de Partição
CONAB –	Companhia Nacional de Abastecimento
CPT1 –	Carnitina Palmitoiltransferase I
CXCL-10 –	Ligante de Quimiocina de Motivo CXC-10
d –	Dupleto
DBD –	Domínio Conservado de Ligação do DNA
DCM –	Diclorometano
dd –	Duplo Dupleto
DHGNA –	Doença Hepática Gordurosa Não Alcoólica
DM2 –	Diabetes Mellitus Tipo 2
DMEM –	Meio de Cultura Eagle Modificado por Dulbecco
DMSO –	Dimetilsulfóxido
DNA –	Ácido Desoxirribonucleico
EC ₅₀ –	Concentração que Induz Metade do Efeito Máximo
EHNA –	Esteato-Hepatite Não Alcoólica

EPM –	Erro Padrão da Média
FABP –	Proteína de Ligação de Ácidos Graxos
FGF21 –	Fator de Crescimento de Fibroblastos 21
HAT –	Histonas Acetiltransferases
HbA1c –	Hemoglobina Glicada
HDL-C –	Colesterol de Lipoproteína de Alta Densidade
HEK293 –	Células de Rim Embrionário Humano 293
Hex –	Hexano
HMGCAS –	Hidroximetilglutaril-Coenzima A Sintase
HSC –	Células Estreladas Hepáticas
Hz –	Hertz
IL-1 –	Interleucina 1
IL-6 –	Interleucina 6
IRS –	Substrato Receptor de Insulina
J –	Constante de Acoplamento
KC –	Células de Kupffer
LB –	Luria Bertani
LBD –	Domínio Conservado de Ligação do Ligante
LCC –	Líquido da Casca da Castanha do Caju
LDL-C –	Colesterol de Lipoproteína de Baixa Densidade
LDN –	Lipogênese De Novo
LDT –	Laboratório de Desenvolvimento de Inovações Terapêuticas
LIPE –	Lipase Hormônio-Sensível
LPL –	Lipoproteína Lipase
LRP1 –	Proteína Relacionada ao Receptor de Lipoproteína de Baixa Densidade 1
m –	Múltiplo
nALH –	Número de Aceptores de Ligação de Hidrogênio
nDLH –	Número de Doadores de Ligação de Hidrogênio
NF- κ B –	Fator de Transcrição Nuclear Kappa B
NLS –	Sinal de Localização Nuclear
PDGF –	Fator de Crescimento Derivado de Plaquetas
PDK4 –	Piruvato Desidrogenase Lipoamida Quinase Isozima 4
PEPCK –	Fosfoenolpiruvato Carboxiquinase
pH –	Potencial Hidrognênico
PLIN –	Perilipina
PLTP –	Proteína de Transferência de Fosfolípidios
PPAR –	Receptores Ativados por Proliferadores de Peroxissomo
PPARGC1A –	Coativador 1 Alfa do Receptor Ativado por Proliferador de Peroxissomo Gama
ppm –	Parte Por Milhão

PPRE –	Elementos de Resposta ao Proliferador de Peroxissomo
PRDM16 –	Domínio PR Contendo 16
Rf –	Fator de Retenção
RI –	Resistência à Insulina
RLU –	Unidades Relativas de Luciferase
RMN –	Ressonância Magnética Nuclear
RMN ¹³ C –	Ressonância Magnética Nuclear de Carbono 13
RMN ¹ H –	Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio
RN –	Receptores Nucleares
Ro5 –	Regra de Lipinski
ROS –	Espécies Reativas de Oxigênio
RXR –	Receptor Nuclear Retinóide X
s –	Simpleto
SFB –	Soro Fetal Bovino
SIRT1 –	Sirtuína 1
sl –	Simpleto Largo
SLC27A –	Proteína Transportadora de Ácidos Graxos
SLC2A4 –	Transportador de Glicose Tipo 4 (GLUT4)
SM –	Síndrome Metabólica
SPPARM –	Moduladores Seletivos do Receptor Ativado por Proliferador de Peroxissomo
SREBF1 –	Proteína de Ligação ao Elemento Regulador de Esterol 1
t –	Tripleto
TAB –	Tecido Adiposo Branco
TAM –	Tecido Adiposo Marrom
TEA –	Trietilamina
TG –	Triglicerídeos
TGF-β –	Fator de Transformação do Crescimento Beta
THF –	Tetraidrofurano
TMS –	Tetrametilsilano
TNF-α –	Fator de Necrose Tumoral Alfa
UCP1 –	Proteína de Desacoplamento 1
UFC –	Universidade Federal do Ceará
UnB –	Universidade de Brasília
UV –	Ultravioleta
VLDL-C –	Colesterol de Lipoproteína de Muito Baixa Densidade
δ –	Deslocamento Químico

ÍNDICE

1. INTRODUÇÃO	1
1.1. RECEPTORES ATIVADOS POR PROLIFERADORES DE PEROXISSOMO	2
1.1.1. PPAR α	9
1.1.2. PPAR β/δ	12
1.1.3. PPAR γ	15
1.2. DISTÚRBIOS METABÓLICOS	20
1.2.1. Doença Hepática Gordurosa Não Alcoólica	21
1.3. AGONISTAS PPAR SINTÉTICOS NO TRATAMENTO DA DOENÇA HEPÁTICA GORDUROSA NÃO ALCOÓLICA	24
1.4. LIPÍDEOS FENÓLICOS DE <i>Anacardium occidentale</i>	27
1.5. AGONISTAS PPAR PLANEJADOS A PARTIR DO LCC	30
2. OBJETIVOS	33
2.1. OBJETIVO GERAL	34
2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	34
3. PLANEJAMENTO ESTRUTURAL	35
4. ESTRATÉGIA SINTÉTICA	39
5. PARTE EXPERIMENTAL	42
5.1. GENERALIDADES, MATERIAIS E MÉTODOS	43
5.2. METODOLOGIA SINTÉTICA E CARACTERIZAÇÃO DOS COMPOSTOS	45
5.2.1. Obtenção da Mistura de Cardanois (LDT10i, 40)	45
5.2.2. Obtenção da Mistura de 3-Metóxicardanois (LDT27i, 41)	46
5.2.3. Obtenção do Composto 8-(3-Metóxifenil)octan-1-ol (LDT72, 42)	47

5.2.4. Obtenção do composto metanossulfonato de 8-(3-metóxfenil)octila (LDT72Ms, 43)	48
5.2.5. Obtenção do Composto 1-Metóxi-3-octilbenzeno (LDT827, 44)	49
5.2.6. Obtenção do Composto 3-octilfenol (LDT810, 45)	51
5.2.7. Obtenção do Derivado 2-Metil-2-(3-octilfenóxi)propanoato de etila (LDT 808, 46)	52
5.2.8. Obtenção do Derivado 2-(3-Octilfenóxi)acetato de etila (LDT 815, 47)	53
5.2.9. Obtenção dos Derivado Ácido LDT809 (48) e LDT816 (49)	54
5.3. AVALIAÇÃO BIOLÓGICA	56
5.3.1. Reagentes Químicos	56
5.3.2. Plasmídeos	56
5.3.3. Ensaio de Gene Repórter	57
5.3.4. Análises Estatísticas	58
6. RESULTADOS E DISCUSSÃO	59
6.1. SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DOS COMPOSTOS	60
6.1.1. Obtenção e caracterização da mistura de cardanois	60
6.1.2. Série saturada a partir do 3-octilfenol	61
6.2. AVALIAÇÃO BIOLÓGICA	65
6.2.1. Ensaio de Gene Repórter	65
6.2.1.1. PPAR α	65
6.2.1.2. PPAR β/δ	67
6.2.1.3. PPAR γ	68
6.3. RELAÇÃO ESTRUTURA – ATIVIDADE	72
6.3.1. Comparação entre LDT409 e LDT809	73
7. CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS	74

7.1. CONCLUSÕES	75
7.2 PERSPECTIVAS	76
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	77
ANEXOS	85
ANEXO I	86
ANEXO II	87
ANEXO III	88
ANEXO IV	89
ANEXO V	90
ANEXO VI	91
ANEXO VII	92
ANEXO VIII	93
ANEXO IX	94
ANEXO X	95
ANEXO XI	96
ANEXO XII	97
ANEXO XIII	98
ANEXO XIV	99
ANEXO XV	100
ANEXO XVI	101
ANEXO XVII	102
ANEXO XVIII	103
ANEXO XIX	104
ANEXO XX	105

Introdução

1 INTRODUÇÃO

1.1 RECEPTORES ATIVADOS POR PROLIFERADORES DE PEROXISSOMO

Receptores Nucleares (RN) são proteínas encontradas no interior das células, nas imediações da carioteca, com habilidade de se ligar à cromatina. Eles integram a família de fatores de transcrição modulados pela interação com ligantes, atuando na expressão ou repressão de genes e coordenando diversos processos celulares como homeostase, proliferação celular, metabolismo e reprodução. (DE ROBERTIS; HIB, 2014; JONATHAN; ADRIÁN; GONZALO, 2021)

De acordo com as propriedades de interação ao ligante, os RN são divididos em três classes principais: (JONATHAN; ADRIÁN; GONZALO, 2021)

- Classe I – receptores esteroide clássicos, cujos ligantes endógenos são hormônios esteroidais;
- Classe II – receptores órfãos, que não possuem ligante endógeno conhecido; e
- Classe III – receptores não-esteroide, previamente identificados como receptores órfãos, cujos ligantes foram posteriormente identificados.

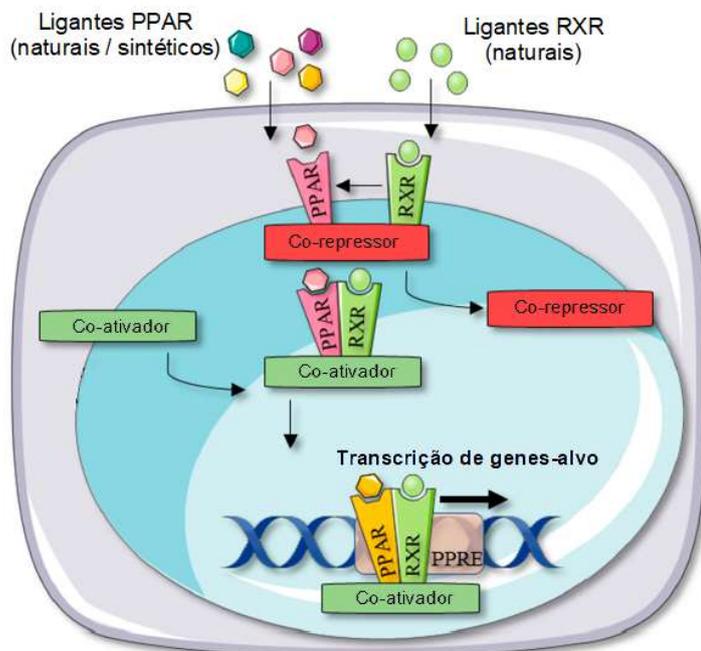
Os Receptores Ativados por Proliferadores de Peroxissomo (PPAR) pertencem à classe III dos receptores nucleares e podem ser ativados por ligantes exógenos (xenobióticos), sintéticos, naturais e endógenos, sendo estes provenientes de três vias: dieta, catabolismo de lipídeos e ácidos graxos (AG) e lipogênese de novo (síntese de AG). (DUBOIS *et al.*, 2017; JONATHAN; ADRIÁN; GONZALO, 2021; WAGNER; WAGNER, 2020)

A transcrição gênica mediada por PPAR é regulada por agentes co-reguladores (ativadores e repressores) responsáveis pela interação do receptor com o material genético. Na ausência de ligante, os receptores são mantidos na face citoplasmática da membrana nuclear em estado inativo, pois estão

acoplados a moléculas correpessoras (p. ex.: proteínas SMRT e NCoR1) que recrutam histonas deacetilases encarregadas de manter o material genético condensando e impossibilitar sua transcrição. (CHRISTOFIDES *et al.*, 2021; JONATHAN; ADRIÁN; GONZALO, 2021; LANGE *et al.*, 2022; NANJAN *et al.*, 2018; SHI *et al.*, 2020)

Uma vez ativados por ligantes, os PPAR dissociam-se de seus correpessores e deslocam-se até o núcleo celular, onde formam heterodímeros obrigatórios com o Receptor Nuclear Retinóide X (RXR), promovendo o recrutamento de moléculas coativadoras (p. ex.: proteínas histona acetiltransferases p300/CBP, p160 e SRC-1) responsáveis pelo alongamento da cromatina e sua consequente ativação transcricional (Figura 1). Com isso, o heterodímero transativado torna-se apto a reconhecer os Elementos de Resposta ao Proliferador de Peroxissomo (PPRE) nas regiões promotoras dos genes-alvo, suscitando aumento nas taxas de transcrição gênica. (CHRISTOFIDES *et al.*, 2021; JONATHAN; ADRIÁN; GONZALO, 2021; LANGE *et al.*, 2022; NANJAN *et al.*, 2018; SHI *et al.*, 2020)

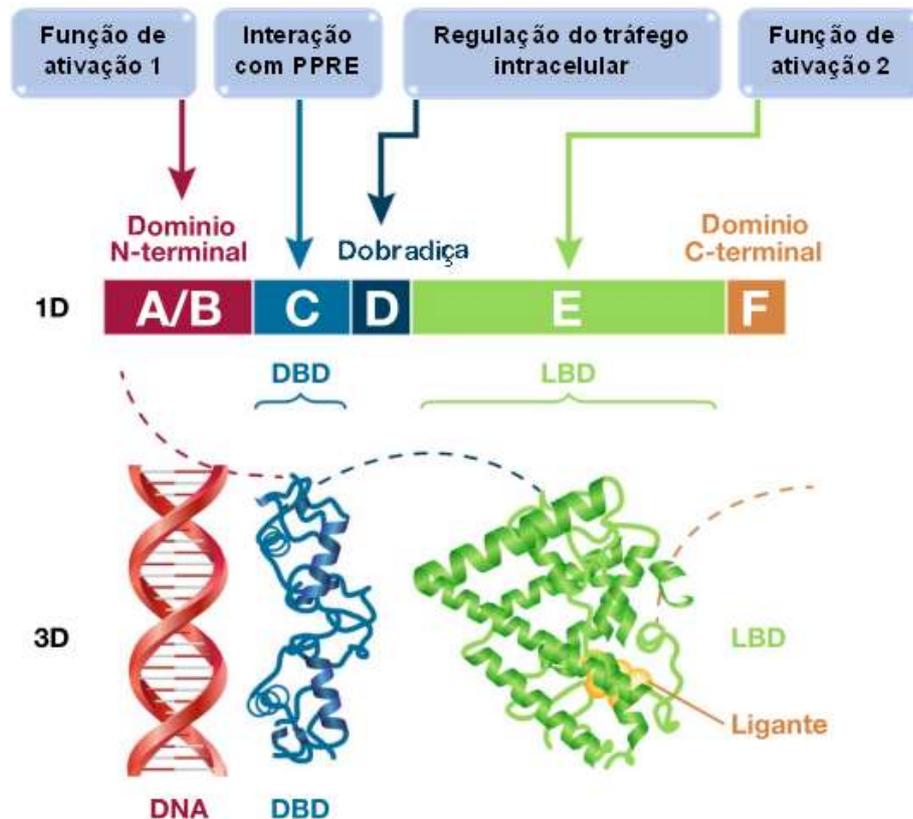
Figura 1: Ativação do receptor nuclear PPAR



Legenda: Quando ativado por ligantes, o correpessor se desacopla do heterodímero e um coativador ocupa sua posição, recrutando histonas acetiltransferases (HAT) que abrem a cromatina e possibilitam a transcrição gênica. (Adaptado de BOECKMANS *et al.*, 2020)

Estruturalmente, os PPAR são constituídos por cinco domínios funcionais: o domínio variável N-terminal (**A-B**), o domínio conservado de ligação do DNA (DBD) (**C**), a região de dobradiça variável (**D**), o domínio conservado de ligação do ligante (LBD) (**E**) e o domínio variável C-terminal (**F**). (Figura 2) (JONATHAN; ADRIÁN; GONZALO, 2021)

Figura 2: Estrutura dos receptores ativados por proliferadores de peroxissomo



Legenda: (A-B) e (E) são sítios de ativação e trans-ativação; (C) é o sítio de interação com o DNA; (D) é o sítio de flexibilidade do receptor com localizador celular e (F) é o sítio variável de funções não esclarecidas. (Adaptado de FRUCHART et al., 2019)

O domínio A-B é o menos conservado contendo em si a função de ativação 1 (AF-1), relacionada à ligação – de baixa intensidade – de corre reguladores independente de ligante. (CHRISTOFIDES *et al.*, 2021; JONATHAN; ADRIÁN; GONZALO, 2021)

O domínio C possui dois dedos de zinco altamente conservados que direcionam o receptor à cromatina e o auxiliam no reconhecimento dos PPRE, que são semi-sítios específicos de DNA dispostos como repetições da sequência AGGTCA separadas por até cinco pares de base. Além de estar intimamente associado ao processo de transcrição gênica (visto que é formado por três α -hélices e a primeira é determinante na especificidade da interação com o DNA), este domínio também está incurso na dimerização do receptor nuclear. (FRIGO; BONDESSON; WILLIAMS, 2021; JONATHAN; ADRIÁN; GONZALO, 2021; KROKER; BRUNING, 2015)

O domínio D, conhecido como região de dobradiça, é uma área flexível que permite a rotação entre dois domínios funcional e estruturalmente importantes; além de conter sinal de localização nuclear (NLS), que é um marcador de superfície (constituído por pequenas sequências de lisinas ou argininas carregadas positivamente), incumbido de direcionar o receptor para o núcleo celular. (JONATHAN; ADRIÁN; GONZALO, 2021; KROKER; BRUNING, 2015)

O domínio E compreende quatro funções básicas: a segunda interface de dimerização do receptor, a área de interação com o ligante, a função de ativação 2 (AF-2) e uma superfície de interação com corretores. Este domínio, de aproximadamente 270 aminoácidos, é constituído por treze regiões de α -hélices (H1-H12 e H2') e uma região de folha- β de quatro fitas, estando sua área de interação com o ligante centralmente localizada. Ensaios de cristalografia de raios X determinaram que esta área é uma grande cavidade (que confere aos PPAR a habilidade de interação com numerosos ligantes estruturalmente diferentes), no formato da letra Y, composta três ramificações: (CAPELLI *et al.*, 2016; FRIGO; BONDESSON; WILLIAMS, 2021; JONATHAN; ADRIÁN; GONZALO, 2021; KROKER; BRUNING, 2015)

- Ramo I – possui quatro resíduos polares (H3, H5, H11 e H12) de caráter hidrofílico que fazem parte de uma rede de ligações de hidrogênio que interage com o grupamento carboxilato dos ligantes;
- Ramo II – é circundado pelas regiões H2', H3, H6, H7 e folha- β que lhe conferem caráter altamente hidrofóbico, tornando-o local ideal de interação com a cauda hidrofóbica dos ligantes por meio de interações de Van der Waals; e
- Ramo III – denominado “grampo de carga”, possui características anfipáticas e é circundado pelas regiões H2, H3, H5 e folha- β , além de ser componente crucial para estabilização dos correguladores

A AF-2 é formada pela α -hélice H12; que em conjunto com as α -hélices H3, H4 e H5 estruturam a fenda à qual os correguladores se ligam com alta afinidade por meio de uma pequena cadeia polipeptídica LXXLL (onde L codifica o aminoácido leucina e X codifica qualquer outro aminoácido). Em virtude da conexão ligante-receptor, a α -hélice H12 se fecha sobre a área de interação com o ligante, facilitando a interação com moléculas correguladoras e estabelecendo mudança conformacional no domínio E, promovendo a ativação transcricional do receptor. (CAPELLI *et al.*, 2016; JONATHAN; ADRIÁN; GONZALO, 2021; KROKER; BRUNING, 2015)

Apesar de ser altamente conservado, com 80% de analogia entre as isoformas de PPAR, o domínio E possui diferenças no tamanho e na composição de aminoácidos que formam a bolsa de interação com o ligante, conferindo a essas isoformas especificidade aos seus respectivos ligantes. Tais ligantes compartilham três características essenciais que lhe conferem alta afinidade ao receptor: um grupo com cabeça polar (grupo carboxílico), uma região de ligação (cadeias longas de hidrocarbonetos) e uma cauda hidrofóbica. (CAPELLI *et al.*, 2016; JONATHAN; ADRIÁN; GONZALO, 2021; MIRZA; ALTHAGAFI; SHAMSHAD, 2019; WANG *et al.*, 2020)

Os PPAR são endogenamente estimulados por ácidos graxos (saturados e insaturados) e seus derivados, sendo responsáveis pela regulação gênica do balanço energético, da glicemia, do metabolismo lipídico e da proliferação celular. Uma vez desregulados, esses processos favorecem a patogênese de doenças metabólicas como obesidade, síndrome metabólica (SM), diabetes mellitus tipo 2 (DM2) e doença hepática gordurosa não alcoólica (DHGNA); evidenciando os PPAR como alvos terapêuticos promissores no tratamento dessas patologias. (HAN *et al.*, 2017a; LEFERE *et al.*, 2020; NANJAN *et al.*, 2018)

Alguns genes que contribuem para o desenvolvimento dessas patologias estão representados na Figura 3.

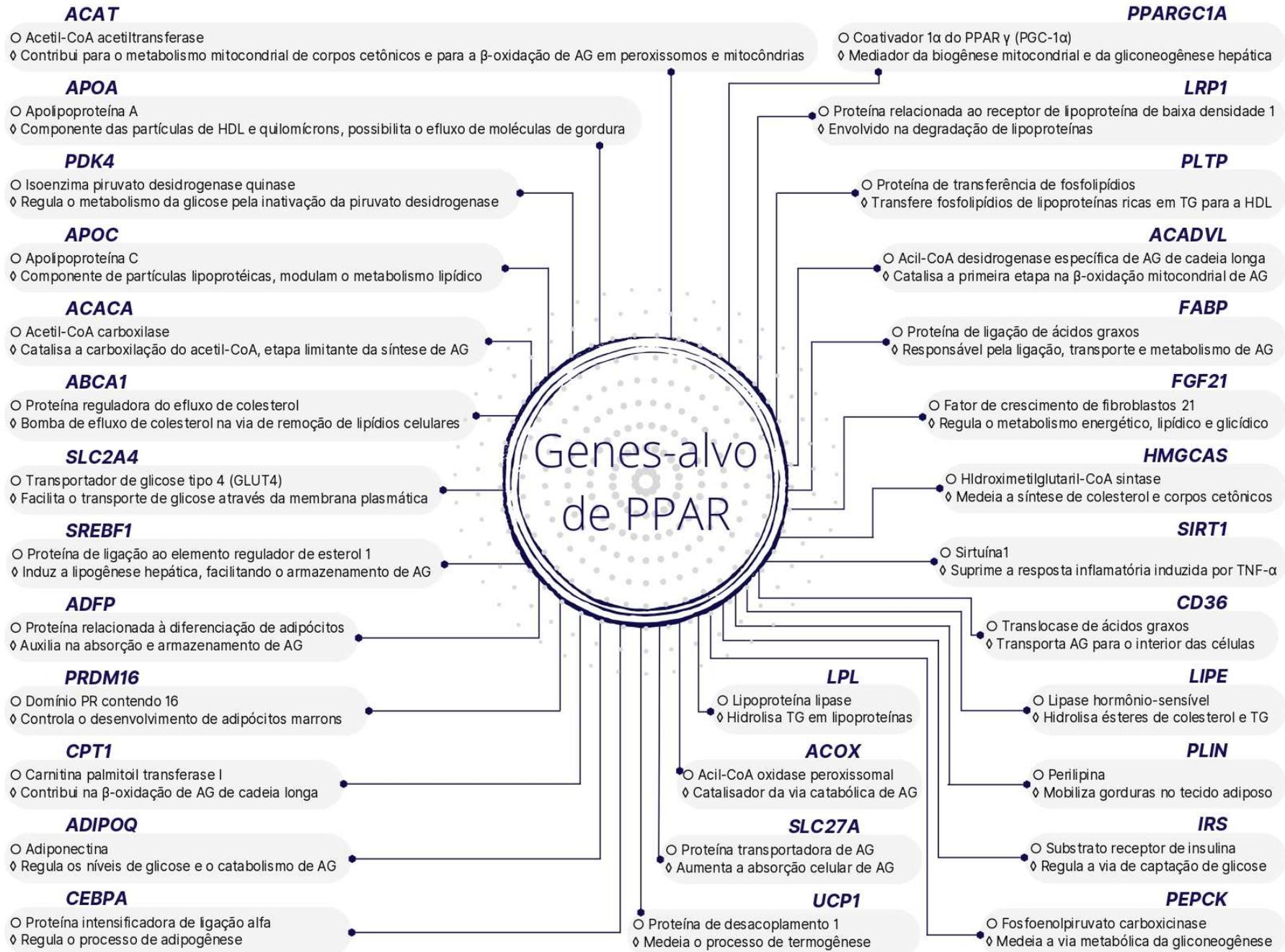
Além de processos metabólicos, os PPAR também medeiam outras funções relevantes, como tumorigênese, distúrbios neurológicos e inflamação. Seus efeitos anti-inflamatórios manifestam-se de três formas distintas: (HONG *et al.*, 2019)

- pela transcrição direta de genes que inibem o processo inflamatório;
- pela inibição da ativação do fator de transcrição nuclear κ B (NF- κ B), aumentando a estabilidade dos correpressores de NF- κ B e atenuando a ação de citocinas pró-inflamatórias; e
- pela competição ao mesmo conjunto de coativadores do NF- κ B.

Ainda que compartilhem funções anti-inflamatórias e apresentem elevado grau de homologia, as três isoformas de PPAR possuem alguns aspectos que as distinguem; como os genes que as codificam, sua distribuição tecidual e função metabólica. (DUBOIS *et al.*, 2017; HONG *et al.*, 2019)

Logo, evidenciam-se os PPAR α (codificado pelo gene PPARG, localizado no cromossomo 22q13.3), PPAR β/δ (codificado pelo gene PPARG, localizado no cromossomo 6p21.22) e PPAR γ (codificado pelo gene PPARG, localizado no cromossomo 3p25.2); receptores pertencentes a classe III, subfamília 1, grupo C dos RN. (WANG *et al.*, 2020; WEIKUM; LIU; ORTLUND, 2018).

Figura 3: Genes-alvo dos PPAR



Legenda: ○ = proteína codificada pelo gene; ◇ = função biológica da proteína. (BOTTA *et al.*, 2018; CHENG *et al.*, 2019; CHRISTOFIDES *et al.*, 2021; HAN *et al.*, 2017a; HONG *et al.*, 2019; LEFERE *et al.*, 2020; WANG *et al.*, 2020; XU, Pengfei; ZHAI; WANG, 2018).

1.1.1 PPAR α

O PPAR α foi a primeira isoforma descrita do grupo de receptores ativados por proliferadores de peroxissomo e é amplamente expresso em tecidos com alta demanda oxidativa como fígado, coração, músculo esquelético, intestino, rim e tecido adiposo. Uma vez ativado, este receptor modula diversos processos, dentre eles o metabolismo lipídico nos estados de inanição e de alimentação. (SHI *et al.*, 2020; XU, Pengfei; ZHAI; WANG, 2018)

No organismo em jejum, o PPAR α hepático regula positivamente a expressão dos genes SLC27A, CPT1, ACADVL, HMGCS e FGF21; promovendo o aumento da captação, transporte e β -oxidação de AG e consequente aumento da produção de acetil-CoA. Este metabólito, por sua vez, é utilizado na produção de corpos cetônicos que atuam como reserva energética para tecidos extra-hepáticos. Contudo, no estado alimentado, o PPAR α é responsável pela regulação da síntese de AG e seu armazenamento como triglicerídeos (TG) hepáticos a serem utilizados em períodos de jejum. (DUBOIS *et al.*, 2017; HONG *et al.*, 2019)

Além disto, o PPAR α ativado também estimula a termogênese e oxidação lipídica no tecido adiposo marrom (TAM) – pela expressão de PGC1 α –; aumenta a concentração plasmática de colesterol HDL (HDL-C) – pela expressão de APOA –; aumenta o efluxo de colesterol – pela expressão de ABCA1 –; e reduz a concentração plasmática de TG através da modulação de LPL. O gene LPL pode ser ativado de maneira direta, pelo reconhecimento de PPRE, e de maneira indireta, pela regulação negativa de APOC3 (inibidor de LPL) e positiva de APOA. (CHENG *et al.*, 2019; HONG *et al.*, 2019; LANGE *et al.*, 2022; MIRZA; ALTHAGAFI; SHAMSHAD, 2019)

Fora sua influência no metabolismo lipídico, o PPAR α é citado como hábil regulador do metabolismo glicídico e exercendo função anti-inflamatória no tecido adiposo. Devido a ativação transcricional de FGF21 e ADIPOQ, este receptor atenua o processo de gliconeogênese enquanto estimula a captação de glicose em adipócitos, intensificando desta forma a sensibilidade à insulina. Já sua função anti-inflamatória é exercida, principalmente, pela inibição de

mediadores pró-inflamatórios; como IL-6 (síntese de proteínas de fase aguda), CXCL10 (quimioatração e adesão celular), CCL2 (quimioatração) e NF- κ B (regulação gênica de mediadores inflamatórios); e pela ativação de mediadores anti-inflamatórios; como SIRT1, que suprime a resposta inflamatória mediada por TNF- α . (CHRISTOFIDES *et al.*, 2021; DUBOIS *et al.*, 2017; LEFERE *et al.*, 2020; WANG *et al.*, 2020)

Para desempenhar suas atribuições, é necessário que ocorra associação do PPAR α a seus ligantes, que podem ser naturais; como o ácido α -linolênico (1), a oleoiletanolamida (2), o ácido docosaexaenoico (3) e o ácido eicosapentaenoico (4) (Figura 4); ou sintéticos, como os fibratos: fenofibrato (5), pema-fibrato (6), ciprofibrato (7), genfibrozila (8) e clofibrato (9). (Figura 5) (HAN *et al.*, 2017a; MIRZA; ALTHAGAFI; SHAMSHAD, 2019; WANG *et al.*, 2020)

Figura 4: Estrutura molecular de ligantes naturais de PPAR α .

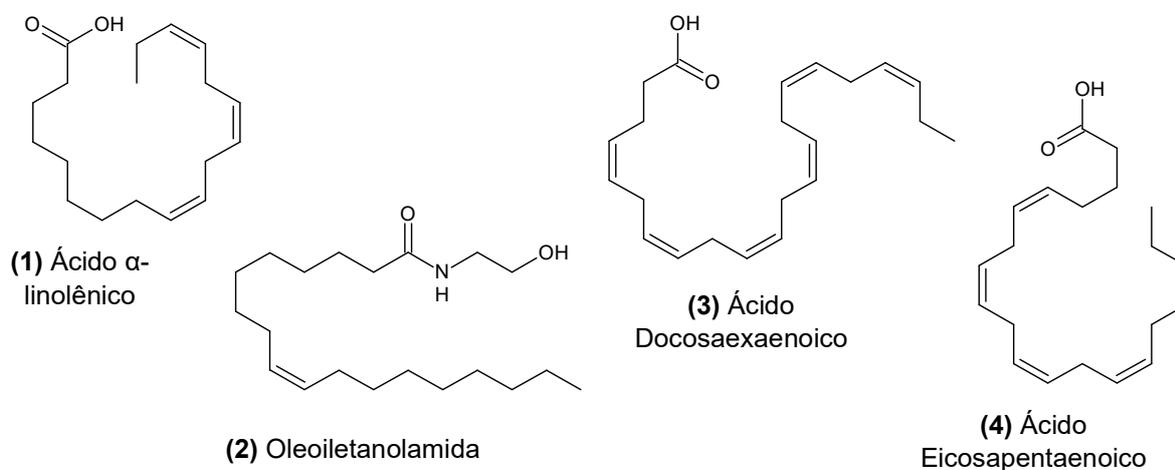
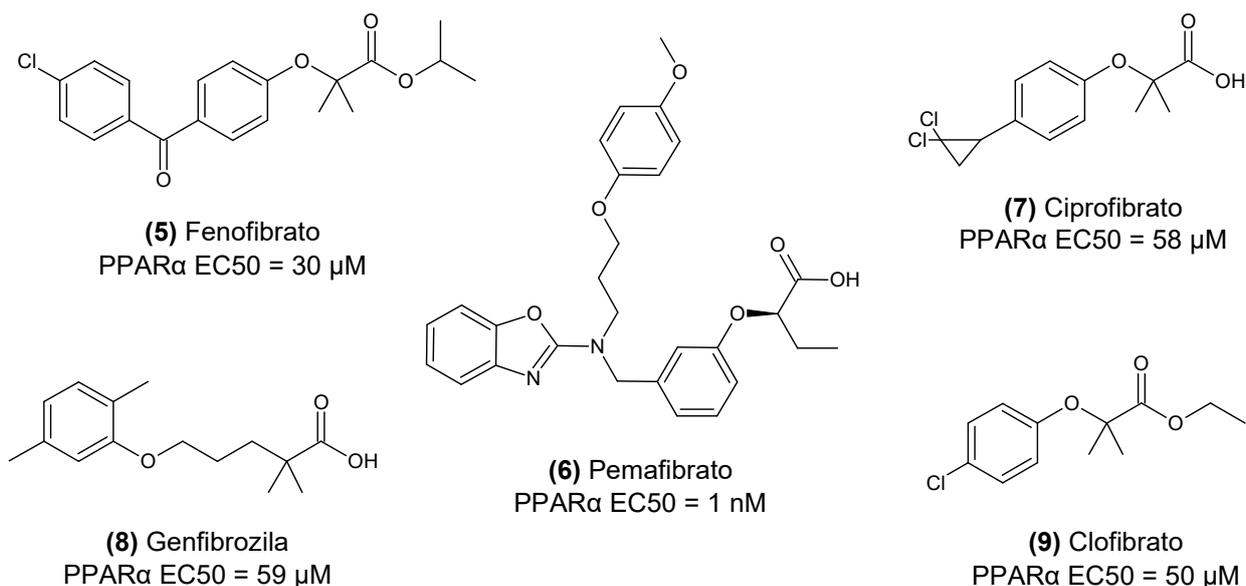


Figura 5: Estrutura molecular agonistas sintéticos de ligantes naturais de PPAR α (Fibratos)



Fibratos são fármacos agonistas de PPAR α com ação hipolipemiante utilizados principalmente no tratamento de dislipidemia e doença cardiovascular aterosclerótica. Quando estimulado por agonistas, a atividade do PPAR α é intensificada gerando aumento de HDL-C plasmático e degradação de colesterol LDL (LDL-C) e colesterol VLDL (VLDL-C) plasmáticos devido ao aumento transcricional de APOA e PLTP. Para mais, a terapia com fibratos estimula a termogênese no TAM (mediada por UCP, PGC1 α e PRDM16) e diminui a glicólise enquanto aumenta a gliconeogênese, evidenciando uma via de sensibilização insulínica mediada por PDK4. (CHENG *et al.*, 2019; DUBOIS *et al.*, 2017; HONG *et al.*, 2019)

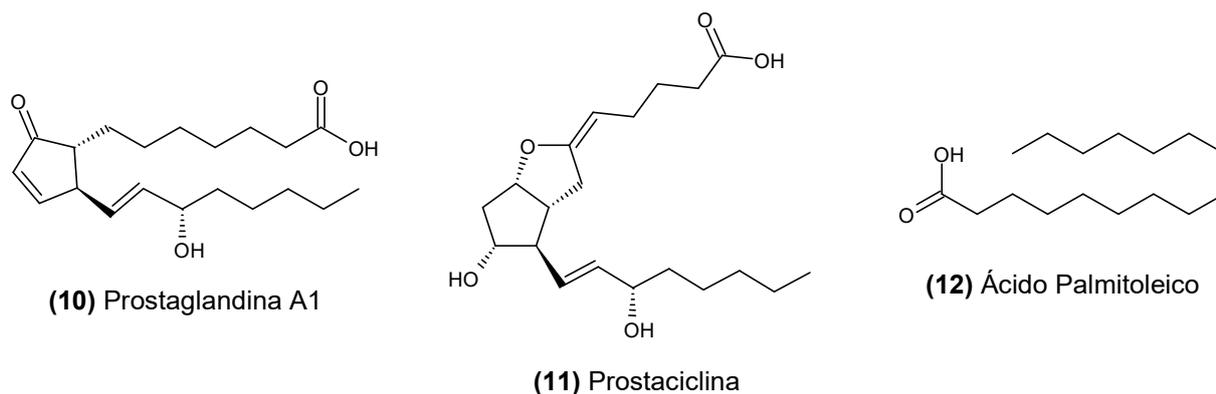
Apesar de amplamente aceitos na clínica médica, devido à baixa hepatotoxicidade e efeitos adversos administráveis e em pequena quantidade, os fibratos ainda apresentam algumas desvantagens como sua baixa potência e ocorrência de náusea, êmese e diarreia. (HONG *et al.*, 2019; XI *et al.*, 2020)

1.1.2 PPAR β/δ

O PPAR β/δ é a isoforma menos bem caracterizada dos PPAR, com propriedades focadas na regulação do metabolismo de AG e dos níveis de glicose no sangue. Ele apresenta padrão de expressão tecidual ubíquo, contudo, encontra-se em maior quantidade no tecido muscular esquelético e cardíaco, tecido adiposo, macrófagos, fígado, rim e intestino. (CHRISTOFIDES *et al.*, 2021; LANGE *et al.*, 2022; SHI *et al.*, 2020)

O PPAR β/δ pode ser ativado por diferentes ligantes naturais como a prostaglandina A1 (**10**), a prostaciclina (**11**) e o ácido palmítoleico (**12**) (Figura 6) e, quando ativado, exerce funções específicas ao tecido em que é expresso. (HAN *et al.*, 2017b)

Figura 6: Estrutura molecular agonistas sintéticos de ligantes naturais de PPAR β/δ



A expressão de PPAR β/δ no músculo esquelético está associada à prática de exercício físico e eleva os índices de β -oxidação, biogênese mitocondrial, depósito de glicogênio e captação de glicose. Ele ainda reduz os índices de gliconeogênese e favorece a troca do tipo de fibra muscular esquelética – de tipo II (glicolítica de contração rápida) para de tipo I (oxidativa de contração lenta) – pela regulação gênica de PGC1 α , gene responsável pela captação de glicose pelo músculo. (HONG *et al.*, 2019; LANGE *et al.*, 2022)

As funções musculares exercidas por PPAR β/δ são complementares as suas funções no sistema digestório, onde reduz a adsorção e aumenta o efluxo de colesterol intestinal pela regulação positiva de APOA e PLTP; inibe a absorção de lipídeos no intestino pela indução de FABP e CD36; e regula

Estudos clínicos e pré-clínicos anteriores estabeleceram os efeitos, in vivo, de cada agonista PPAR β/δ : (BLITEK; SZYMANSKA, 2020; HONG *et al.*, 2019; KASONGA; KRUGER; COETZEE, 2019; SHI *et al.*, 2020; WANG *et al.*, 2020)

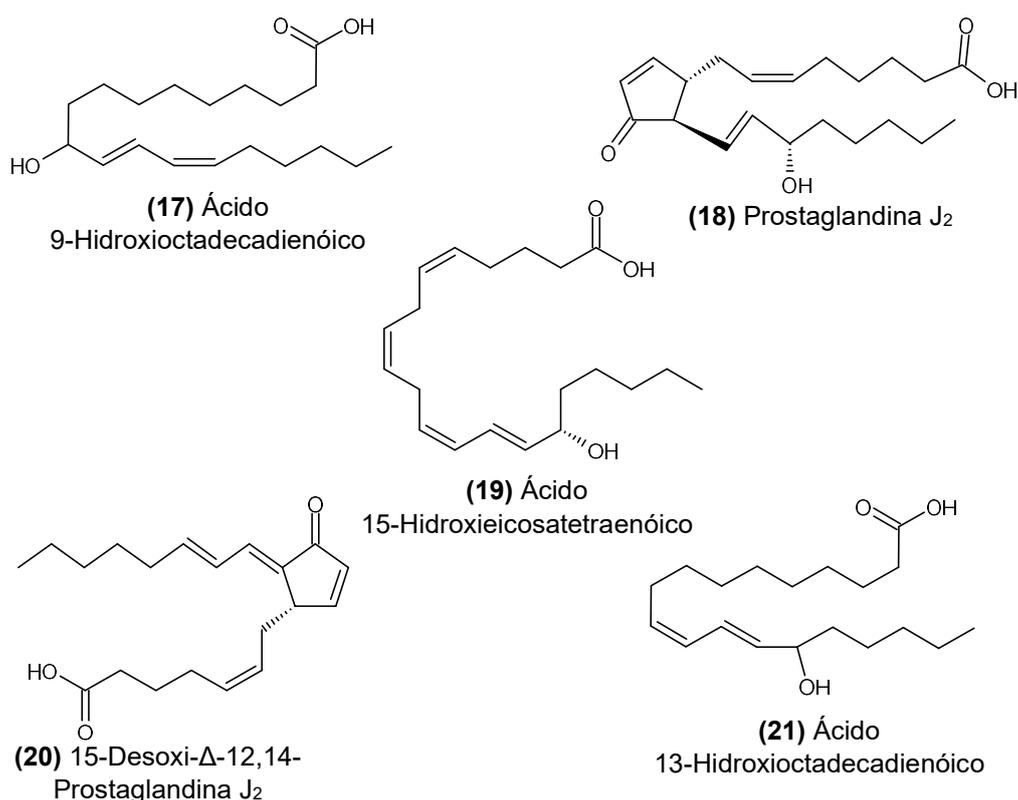
- Seladelpar – reduz os níveis plasmáticos de AG, TG e LDL-C, aumenta os níveis plasmáticos de HDL-C, melhora a sensibilidade à insulina e a função hepática, reverte a dislipidemia, modera o armazenamento hepático de lipídeos lipotóxicos e assiste à diminuição da circunferência da cintura e gordura corporal;
- L-165041 – induz diferenciação de adipócitos, reduz TG e o depósito de lipídeos no fígado, aumenta expressão de LPL e possui propriedades anti-inflamatórias;
- GW-501516 – reduz os níveis plasmáticos de AG, TG e LDL-C, aumenta os níveis plasmáticos de HDL-C, diminui a lipogênese e a gliconeogênese hepática, aumenta a eliminação de glicose e reduz os níveis séricos de insulina, diminui a hidrólise de TG no tecido adiposo e diminui o índice de gordura hepática. Descontinuado por estar associado ao surgimento de câncer no teste em animais; e
- GW-0742 – aumenta a β -oxidação e a absorção de AG, regula positivamente a expressão de mediadores anti-inflamatórios e possui propriedades anti-apoptóticas e neuroprotetoras.

Ensaio suplementares relatam o papel controverso de PPAR β/δ na carcinogênese visto que pode suprimir e promover a tumorigênese. Dado o seu potencial terapêutico, investigações mais aprofundadas são necessárias. Além disso, relatos apontam que PPAR β/δ ativado por agonistas controla a neuroinflamação, neurodegeneração e carga amiloide; aludindo-o como possível alvo neuroprotetor. (WAGNER; WAGNER, 2020; WANG *et al.*, 2020)

1.1.3 PPAR γ

O PPAR γ é um receptor nuclear apontado como alvo terapêutico para patologias como diabetes, obesidade e síndrome metabólica. Ele apresenta altos níveis de expressão no tecido adiposo e níveis moderados no fígado, músculo esquelético, intestino e células do sistema imunológico podendo ser ativado por ligantes naturais como o ácido 9-hidroxi-octadecadienóico (**17**), a prostaglandina J₂ (**18**), o ácido 15-hidroxi-eicosatetraenóico (**19**), a 15-desoxi- Δ -12,14-prostaglandina J₂ (**20**) e o ácido 13-hidroxi-octadecadienóico (**21**). (Figura 8) (CHRISTOFIDES *et al.*, 2021; HAN *et al.*, 2017b; LIU *et al.*, 2020)

Figura 8: Estrutura molecular de ligantes naturais de PPAR γ



A isoforma γ deste receptor apresenta três subtipos variantes derivados de *splicing* alternativo: o PPAR γ 1, o PPAR γ 2 e o PPAR γ 3. Ainda que possuam a mesma especificidade de ligação ao DNA, estes subtipos apresentam diferentes padrões de expressão tecidual sendo PPAR γ 1 expresso ubiquamente, PPAR γ 2 expresso principalmente no tecido adiposo e no

intestino e PPAR γ 3 expresso no TAB, c3lon e macr3fagos. (LANGE *et al.*, 2022; WANG *et al.*, 2020; XU, Pengfei; ZHAI; WANG, 2018)

A ativa33o de PPAR γ abrange o controle da homeostase glic3mica e do metabolismo lip3dico, principalmente no tecido adiposo, f3gado e tecido muscular esquel3tico. No TAM, por meio da express3o de PGC1 α e UCP1, PPAR γ regula, respectivamente, a biog3nese mitocondrial e a termog3nese; enquanto no TAB, regula a capta33o de AG – pela transcri33o de LIPE, CD36 e SLC27A1 – e a lipog3nese – pela transcri33o de FGF21, LPL, PEPCK, PLIN1, PLIN2 e FABP4. A prote3na codificada por FABP4 tamb3m 3 respons3vel por facilitar o armazenamento de AG na forma de TG em adip3citos, o que causa diminui33o nos n3veis de AG e TG plasm3ticos que, por sua vez, leva 3 diminui33o da resist3ncia 3 insulina e previne o ac3mulo de gordura ect3pica. Ademais, PPAR γ modula a diferencia33o de adip3citos atrav3s da express3o de ADIPOQ, o qual contribui para a redu33o da resist3ncia 3 insulina. (CHRISTOFIDES *et al.*, 2021; LEFERE *et al.*, 2020; LIU, Jia *et al.*, 2020; WANG *et al.*, 2020)

O PPAR γ tamb3m auxilia na manuten33o da homeostase glic3mica, aumentando a capta33o de glicose dependente de insulina atrav3s da express3o de PEPCK, SLC2A4, IRS1 e IRS2, e regulando a sinaliza33o insul3nica por meio da express3o de adipocinas, como a adiponectina, resistina, leptina (negativa) e TNF- α . A ativa33o desses genes gera aumento na sensibilidade 3 insulina, o qual 3 refor3ado pela regula33o da secre33o de insulina por c3lulas β -pancre3ticas e pelos aumentos da gliconeog3nese hep3tica e da oxida33o de AG em TAB. (BOTTA *et al.*, 2018; CHENG *et al.*, 2019; WAGNER; WAGNER, 2020; XU, Pengfei; ZHAI; WANG, 2018)

Uma caracter3stica atribu3da ao PPAR γ 3 a sua habilidade de induzir perfis esteatog3nicos e antifibr3ticos no f3gado. Sob sobrecarga nutricional, o receptor promove o armazenamento de AG no f3gado na forma de got3culas lip3dicas, levando 3 esteatose hep3tica. As caracter3sticas antifibr3ticas est3o associadas 3 ativa33o do PPAR γ 2 – subtipo que codifica uma prote3na com 28 amino3cidos adicionais no dom3nio N-terminal e atividade transcricional 5-10 vezes maior que o PPAR γ 1. O PPAR γ 2 3 altamente expresso em c3lulas estreladas hep3ticas quiescentes e, quando ativado, limita a prolifera33o dessas c3lulas que est3o envolvidas na forma33o de tecido fibroso em resposta 3 les3o hep3tica. (WANG *et al.*, 2020; XI *et al.*, 2020).

O PPAR γ 2 também atua como fator de transcrição para genes da cadeia de transporte de elétrons no DNA mitocondrial de adipócitos marrons regulando a respiração celular. (CHRISTOFIDES *et al.*, 2021)

Outrossim, a isoforma γ do receptor regula a imunogenicidade de células dendríticas, reduz a inflamação dependente de linfócitos T e modula a polarização do perfil M2 dos macrófagos (inibindo a ativação de NF- κ B e a produção de TNF- α e IL1), estimulando perfil anti-inflamatório. Além disto PPAR γ está incurso no processo de perda óssea, dado que sua ativação endógena suprime a formação de osteoblastos (células responsáveis pela síntese dos componentes orgânicos da matriz óssea) e sua ativação farmacológica promove a formação de osteoclastos (células que decompõem o tecido ósseo). (BOTTA *et al.*, 2018; LANGE *et al.*, 2022; MIRZA; ALTHAGAFI; SHAMSHAD, 2019; WANG *et al.*, 2020)

Com o intuito de elaborar fármacos com maior ação hipolipemiante que os fibratos, por meio de estudos sobre a relação estrutura-atividade, descobriu-se a primeira tiazolidinadiona (ou glitazona). Neste sentido, a ciglitazona (**22**), descoberta em 1982, apresentou efeitos promissores na redução de lipídeos e glicose em modelos animais; porém, devido à toxicidade hepática, foi descontinuada. Em 1988 descobriu-se a troglitazona (**23**), a primeira utilizada na rotina clínica por promover a sensibilidade à insulina aumentando a utilização e diminuindo a produção de glicose. No entanto, foi retirada do mercado em 2000 por induzir toxicidade hepática grave. Em 1999, tanto rosiglitazona (**24**) quanto pioglitazona (**25**) foram aprovadas para uso clínico por promoverem a melhora dos índices lipídicos e glicêmicos com outorga de segurança para o sistema hepático e, apesar de ainda serem utilizadas na rotina clínica, estas glitazonas acompanham restrições de uso. As estruturas moleculares das glitazonas e seus efeitos fisiológicos e adversos estão elencados, respectivamente, na Figura 9 e na Tabela 1. (HONG *et al.*, 2019; NANJAN *et al.*, 2018)

As tiazolidinadionas são agonistas PPAR γ com potente atividade de sensibilização à insulina que pode ser exercida de maneira direta – pela reciclagem de AG intracelulares e absorção e armazenamento de AG plasmáticos no tecido adiposo – ou indireta – por meio da liberação alterada de

adipocinas –, sendo por isso utilizadas no tratamento de DM2. Contudo, apresentam efeitos adversos de alta e média gravidade criando a necessidade de análise de novos fármacos não-tiazolidinadiônicos, como os moduladores seletivos de PPAR γ , INT-131 (**26**) e GW-7845 (**27**), que medeiam padrão distinto de recrutamento de correguladores proporcionando maior especificidade e menor toxicidade. Suas estruturas químicas e efeitos também estão descritos na Figura 9 e na Tabela 1. (CHRISTOFIDES *et al.*, 2021; HONG *et al.*, 2019; NANJAN *et al.*, 2018; XU, Pengfei; ZHAI; WANG, 2018)

Figura 9: Estrutura molecular ligantes sintéticos de PPAR γ (tiazolidinedionas)

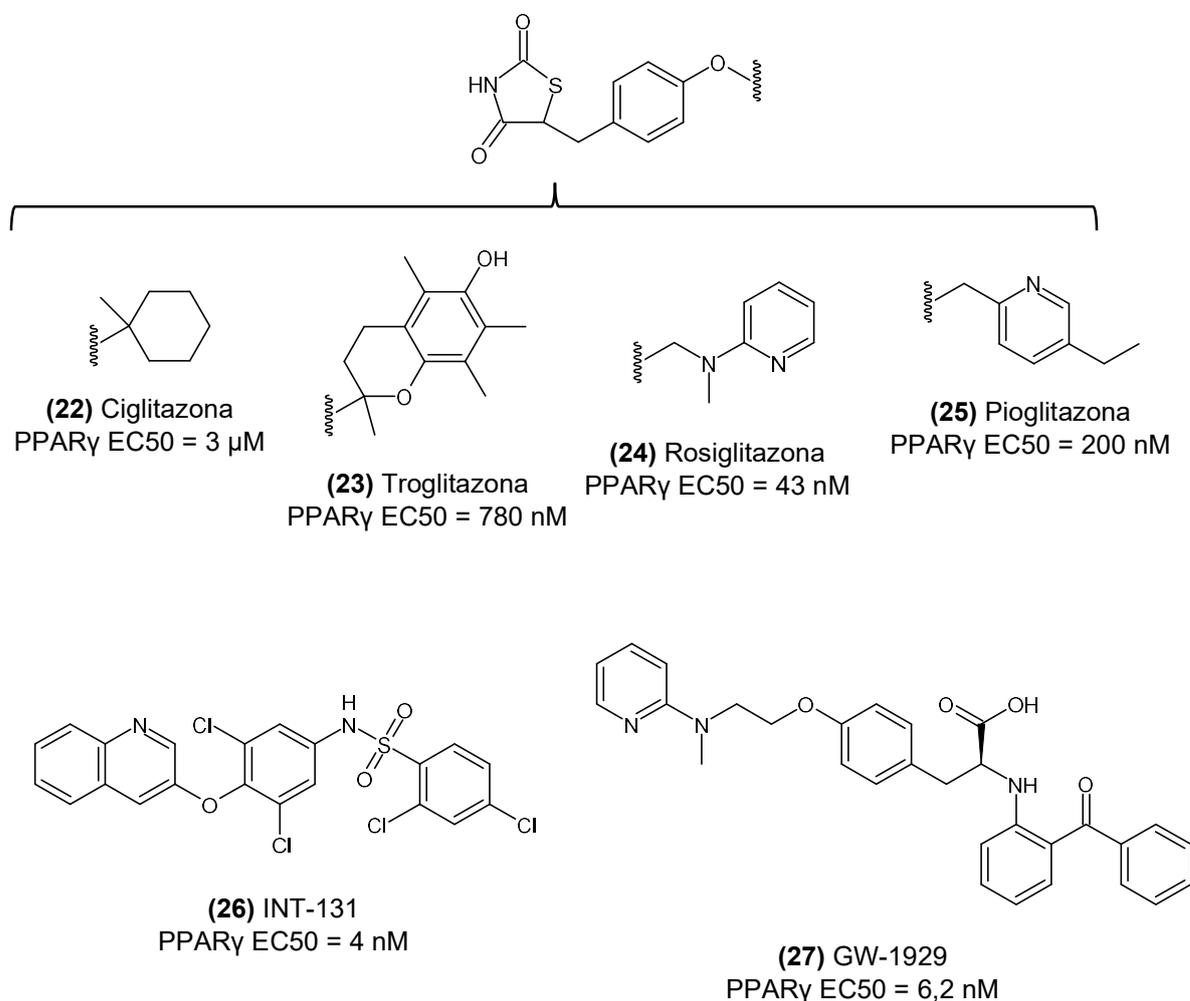


Tabela 1: Efeitos fisiológicos e adversos dos agonistas sintéticos de PPAR γ

GLITAZONAS	EFEITOS FISIOLÓGICOS	EFEITOS ADVERSOS	ROTINA CLÍNICA
Ciglitazona	<ul style="list-style-type: none"> ↓ diferenciação celular ↓ angiogênese ↑ adipogênese ↓ osteoblastos ↓ glicemia 	<ul style="list-style-type: none"> ↑ toxicidade hepática ↓ função mitocondrial ↑ produção de ROS 	Descontinuada (1982)
Troglitazona	<ul style="list-style-type: none"> ↓ inflamação ↑ glicólise ↓ gliconeogênese 	<ul style="list-style-type: none"> ↑ toxicidade hepática 	Terapêutica do DM2 (1997-2000) Descontinuada (2000)
Rosiglitazona	<ul style="list-style-type: none"> ↓ hiperglicemia ↓ HbA1c ↑ HDL-C ↓ AG ↓ TG ↓ insulina ↑ diferenciação de adipócitos ↓ inflamação 	<ul style="list-style-type: none"> ↑ edema ↑ ganho de peso ↑ risco cardiovascular ↑ LDL-C ↑ colesterol total ↑ acúmulo lipídico em adipócitos ↑ toxicidade hepática moderada ↓ função mitocondrial ↑ produção de ROS 	Terapêutica do DM2 Restrição para pacientes com histórico de insuficiência cardíaca
Pioglitazona	<ul style="list-style-type: none"> ↓ hiperglicemia ↓ HbA1c ↑ HDL-C ↓ AG ↓ TG ↓ insulina ↑ diferenciação de adipócitos ↓ inflamação ↓ risco cardiovascular ↓ gliconeogênese 	<ul style="list-style-type: none"> ↑ edema periférico ↑ ganho de peso ↑ anemia ↑ câncer de bexiga ↑ osteoporose 	Terapêutica do DM2 Advertência para o uso contínuo (associado ao risco de câncer de bexiga)
INT-131	<ul style="list-style-type: none"> ↓ adipogênese ↓ hiperglicemia ↑ glicólise ↓ edema ↓ risco cardiovascular ↓ ganho de peso ↓ inflamação 	—	Ensaio clínico
GW-1929	<ul style="list-style-type: none"> ↓ TG ↓ AG ↓ hiperglicemia ↑ insulina 	—	Ensaio clínico

Legenda: azul = efeitos estimulados/aumentados; vermelho = efeitos inibidos/diminuídos. (HONG *et al.*, 2019; LIU, Jia *et al.*, 2020; NANJAN *et al.*, 2018; SHI *et al.*, 2020; WANG *et al.*, 2020; XI *et al.*, 2020; XU, Pengfei; ZHAI; WANG, 2018)

Apoiado nisso, pode-se concluir que os PPAR são alvos terapêuticos pertinentes para o tratamento de diferentes patologias tendo seus agonistas sintéticos funções fundamentais na regulação metabólica e excelente drogabilidade. Vale ressaltar que ainda há necessidade de melhor entendimento dos efeitos protetores e deletérios dos PPAR, visto que isto pode ajudar a preservar a eficácia de seus moduladores e reduzir seus efeitos adversos. (CHENG *et al.*, 2019; XI *et al.*, 2020)

1.2 DISTÚRBIOS METABÓLICOS

O conjunto de reações orgânicas realizadas por um organismo para obter energia e sintetizar as substâncias necessárias à sua sobrevivência é chamada de metabolismo. É finamente regulado por uma série processos químicos catalisados por enzimas para manter um conjunto constante de condições celulares, conjunto este denominado de homeostase. Erros nesse sistema regulatório nem sempre são indicativos de patogênese, uma vez que mecanismos compensatórios existem. No entanto, erros críticos podem levar ao aparecimento de distúrbios metabólicos, que afetam negativamente o processamento e a distribuição de nutrientes pelo organismo. (LI, Yi *et al.*, 2021)

O consumo exacerbado de alimentos altamente calóricos e com baixo teor de fibras acompanhado da diminuição dos níveis de atividade física tem contribuído para a progressão na prevalência de distúrbios metabólicos. A obesidade (caracterizada pelo acúmulo excessivo de gordura causado por consumo energético superior àquele necessário pelo organismo para sua manutenção) é considerada importante fator de risco para o desenvolvimento de várias doenças metabólicas, como resistência à insulina (RI), diabetes mellitus tipo 2 (DM2), aterosclerose, hipertensão e doença hepática gordurosa não alcoólica (DHGNA) – doença hepática crônica mais prevalente no mundo e que constitui significativo fardo econômico para os sistemas de saúde. (AGUS; CLÉMENT; SOKOL, 2021; HUANG; BEHARY; ZEKRY, 2020; LI, Yi *et al.*, 2021)

1.2.1 Doença Hepática Gordurosa Não Alcoólica

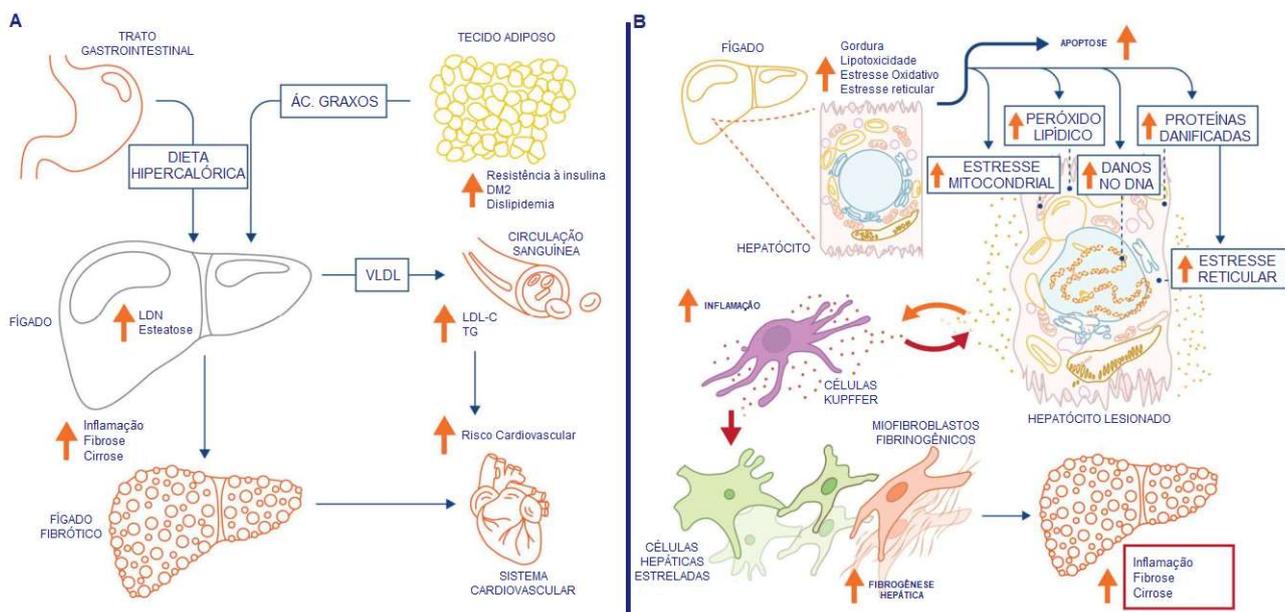
A DHGNA é um distúrbio hepático crônico que acomete aproximadamente 25 % da população mundial, sendo caracterizada pela deposição de partículas lipídicas em mais de 5 % das células hepáticas na ausência de fatores secundários; como consumo excessivo de álcool, hepatite viral ou autoimune, distúrbios hepáticos congênitos ou uso de medicamentos indutores de esteatose. Este distúrbio está intimamente associado a fatores de risco metabólicos (RI, DM2 e obesidade) que favorecem seu desenvolvimento em quatro diferentes estágios: esteatose hepática, esteato-hepatite não alcoólica (EHNA), fibrose hepática e cirrose. Quando não tratada, a fibrose associada à EHNA tende a progredir para cirrose, causa mais comum o desenvolvimento de doença hepática terminal ou carcinoma hepatocelular (CHC). (FILIPOVIC *et al.*, 2021; JUANOLA *et al.*, 2021; POWELL; WONG; RINELLA, 2021; TILLMAN; ROLPH, 2020)

Na fisiopatologia da DHGNA (Figura 10), a ingestão de dieta ocidental, rica em frutose, estimula a lipogênese de novo (LDN) e atenua a β -oxidação de AG, levando ao aumento das concentrações intra-hepáticas de AG livres, que por sua vez são esterificados com glicerol e armazenados como TG intra-hepáticos. Ao mesmo tempo, os mecanismos compensatórios responsáveis pela eliminação dos lipídeos hepáticos, como a exportação de TG na forma de VLDL-C, são deficientes promovendo desequilíbrio energético que gera sobrecarga nos órgãos metabólicos periféricos, como o tecido adiposo. (JUANOLA *et al.*, 2021; POWELL; WONG; RINELLA, 2021; TILLMAN; ROLPH, 2020)

Os AG livres na DHGNA são provenientes da dieta hipercalórica (10-20 %), da LDN (25-35 %) e do tecido adiposo (55 %), sendo a RI o principal contribuinte para essas altas concentrações derivadas do tecido adiposo, uma vez que prejudica a supressão da lipólise e atenua a absorção da gordura da

dieta. Paralelamente, o tecido adiposo disfuncional apresenta secreção reduzida de adiponectina, a adipocina responsável pela sensibilidade à insulina, efeitos hepatoprotetores (como aumento da β -oxidação e diminuição da gliconeogênese e da LDN) e propriedades anti-inflamatórias (como diminuição da ativação e proliferação de células estreladas hepáticas (HSC) e inibição de citocinas pró-inflamatórias) (ISHTIAQ *et al.*, 2019; MARJOT *et al.*, 2020).

Figura 10: Fisiopatologia da DHGNA



Legenda: (A) O aumento de AG livres derivados da lipólise do tecido adiposo e o aumento da LDN hepática levam à esteatose hepática, aumentando a mortalidade cardiovascular e relacionada à falência hepática; (B) O acúmulo lipídico intra-hepático conduz processos fisiopatológicos através de hepatócitos, KC e HSC produtoras de colágeno. Essa exposição contínua a estressores subjacentes (desregulação metabólica, lipotoxicidade) sustenta um fenótipo inflamatório e fibrótico, levando à fibrose e cirrose progressivas. (Adaptado de TILLMAN; ROLPH, 2020)

A convergência de insultos tóxicos ao fígado; como aumento de AG livres circulantes, RI e tecido adiposo disfuncional, criam estado pró-inflamatório facilitador para progressão à fibrose hepática. Os hepatócitos lesionados secretam moléculas imunogênicas que ativam as células de Kupffer (KC), macrófagos residentes no fígado que, quando estimulados, liberam citocinas pró-inflamatórias (IL-1, IL-6 e TNF- α) exacerbando assim a lesão das células

hepáticas (através do estresse reticular), promovendo apoptose e recrutamento de mais macrófagos periféricos, células T e neutrófilos para o sítio inflamado, aumentando a produção de ROS. Além disso, KC também secretam TGF- β e fator de crescimento derivado de plaquetas (PDGF), que estimulam a formação de HSC; miofibroblastos hepáticos que, se proliferam em resposta às citocinas pró-inflamatórias secretando proteínas da matriz extracelular, promovem a fibrose hepática. (HUANG; BEHARY; ZEKRY, 2020; ISHTIAQ *et al.*, 2019; MARJOT *et al.*, 2020; POWELL; WONG; RINELLA, 2021)

A má alimentação também contribui para alterações na microbiota intestinal atuando na progressão da DHGNA através do eixo intestino-fígado. Ensaios clínicos demonstraram que pacientes com DHGNA apresentam microbiota intestinal não saudável e aumentada, com supercrescimento bacteriano do intestino delgado predominante. Acredita-se que esse supercrescimento bacteriano esteja associado a alguns mecanismos patológicos da DHGNA; como aumento da permeabilidade intestinal e translocação de bactérias luminais ou seus produtos para o fígado, o que promove processo inflamatório pelo aumento da carga de citocinas pró-inflamatórias e favorece a fibrose hepática. (JUANOLA *et al.*, 2021; MARJOT *et al.*, 2020; POWELL; WONG; RINELLA, 2021)

Atualmente, a DHGNA é a segunda principal causa de doença hepática terminal e uma das principais razões para transplante de fígado em adultos, representando aproximadamente 8,4% dos transplantes anuais. Cerca de $\frac{1}{6}$ da população com DHGNA progride para EHNA, sendo essa mais prevalente na população masculina e idosa (≥ 60 anos). Ademais, compreende-se que cerca de 56% dos pacientes portadores de DM2 e 67% dos pacientes obesos desenvolvem DHGNA, tornando-a uma patologia emergente de extrema importância médica. (HUANG; BEHARY; ZEKRY, 2020; JUANOLA *et al.*, 2021; POWELL; WONG; RINELLA, 2021; TILLMAN; ROLPH, 2020)

Apesar da necessidade médica, até o presente, não há tratamentos aprovados para DHGNA/EHNA. Mudanças no estilo de vida (dieta e exercícios) podem levar a perda significativa de peso e mostrar benefício clínico, mas a sua adesão a longo prazo é ruim. Uma terapêutica ideal precisaria atingir o principal condutor da doença: a deposição elevada de lipídeos nos hepatócitos. Ao eliminar o dano patogênico subjacente, o estresse oxidativo e reticular, bem como a lipotoxicidade dos hepatócitos serão reduzidos, diminuindo a ativação de vias apoptótica e permitindo assim a resolução das sequelas a jusante da inflamação e fibrose hepática. Nos últimos anos, o tratamento farmacológico contra DHGNA/EHNA cresceu exponencialmente, no entanto, esses fármacos ainda apresentam algumas limitações devido a efeitos adversos, como distúrbios gastrointestinais, hipoglicemia, disfunção hepática, mialgia, ganho de peso e danos cardiovasculares. Com isso, entram em foco os PPAR, que são importantes reguladores lipídicos promotores de respostas anti-inflamatórias. Existem muitas diferenças farmacológicas entre os agonistas PPAR que afetam sua eficácia, tornando difícil dizer qual PPAR é o melhor para tratar DHGNA/EHNA; no entanto, os agonistas duais ou pan-agonistas de última geração são atualmente a abordagem mais promissora. Portanto, encontrar candidatos a fármacos eficazes para o tratamento de doenças metabólicas a partir de produtos naturais tem atraído cada vez mais atenção. (CHENG *et al.*, 2019; TILLMAN; ROLPH, 2020; XU, Xinmei *et al.*, 2021)

1.3 AGONISTAS PPAR SINTÉTICOS NO TRATAMENTO DA DOENÇA HEPÁTICA GORDUROSA NÃO ALCOÓLICA

Muitas das farmacoterapias voltadas para o tratamento da DHGNA baseiam-se na melhora da RI, um dos contribuintes centrais para o agravamento da doença. Porém, essa estratégia terapêutica é insuficiente quando utilizada isoladamente. Diante disso, moduladores de PPAR – previamente empregados no tratamento de condições metabólicas como

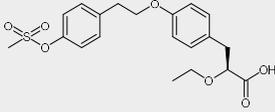
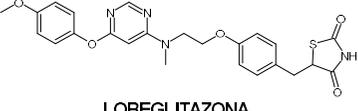
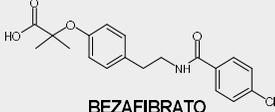
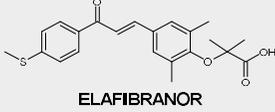
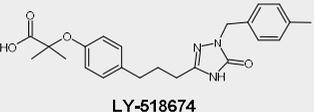
obesidade, dislipidemia e DM2 – têm sido considerados quanto ao seu impacto na regulação do metabolismo na DHGNA, uma vez que estão fisiopatologicamente e epidemiologicamente correlacionados com essas condições e coordenam vias metabólicas centrais e periféricas. (LANGE *et al.*, 2022; LEFERE *et al.*, 2020; POWELL; WONG; RINELLA, 2021)

Os PPAR mais utilizados na terapêutica da DHGNA são o PPAR α , devido a sua baixa expressão no decorrer da EHNA, e o PPAR γ , devido a sua influência metabólica no tecido adiposo. No entanto, a terapia com fibratos ou tiazolidinadionas apresenta sucesso clínico limitado, uma vez que desencadeiam efeitos adversos graves como insuficiência renal, elevação das taxas plasmáticas de aminotransferases hepáticas (AMTH), agravamento dos escores fibróticos, perda óssea, edema e aumento do risco cardiovascular. (CHENG *et al.*, 2019)

Alicerçado nisso, tem-se aumentado o interesse no desenvolvimento de agonistas mais específicos e seletivos como os moduladores seletivos de PPAR (SPPARM) – que direcionam e ativam genes específicos com o intuito de minimizar os efeitos adversos, ao passo que mantém a eficácia terapêutica – e de agonistas capazes de ativar múltiplos PPAR simultaneamente. Hipotetiza-se que agonistas com propriedades combinadas de dois ou mais PPAR serão mais eficazes no manejo clínico de DHGNA, visando a redução de TG e aumento de HDL-C, típico de fibratos, bem como a sensibilização à insulina e ação hipoglicemiante de tiazolidinadionas. Os compostos que ativam mais de um PPAR (agonistas duais ou pan-agonistas) podem ser benéficos contra desequilíbrios lipídicos e glicêmicos, pois exibem maior eficácia e minimizam a necessidade de intervenções farmacológicas duplas, reduzindo assim os efeitos adversos e o risco associado à administração de dois compostos farmacológicos individuais. (CHRISTOFIDES *et al.*, 2021; WAGNER; WAGNER, 2020)

Os agonistas duais e pan-agonistas PPAR atualmente aprovados, ou em fase de teste clínico, estão relacionados na Tabela 2.

Tabela 2: Agonistas duais e pan-agonistas PPAR utilizados no tratamento da DHGNA.

	AGONISTA	AGONISMO	ENSAIO CLÍNICO	AÇÃO FISIOLÓGICA		EFEITOS ADVERSOS
(28)	 TESAGLITAZAR	PPARα/γ EC ₅₀ PPAR α = 3,6 μ M EC ₅₀ PPAR γ = 0,2 μ M	Fase III Descontinuado	↑ PGC1- α ↓ SIRT1	↓ RI ↓ TG	↑ Risco cardiovascular ↑ Toxicidade mitocondrial ↑ Creatinina sérica ↓ Função renal
(29)	 LOBEGLITAZONA	PPARα/γ EC ₅₀ PPAR α = 0,02 μ M EC ₅₀ PPAR γ = 0,018 μ M	Aprovado para uso clínico	↓ RI ↓ TG	↓ AMTH ↓ Glicemia	↑ Edema ↑ Peso
(30)	 BEZAFIBRATO	PPARα/β(δ)/γ EC ₅₀ PPAR α = 37,37 μ M EC ₅₀ PPAR β / δ = 40,3 μ M EC ₅₀ PPAR γ = 64,76 μ M	Aprovado para uso clínico	↓ Glicemia ↓ TG ↓ LDL-C	↓ VLDL-C ↓ RI ↑ HDL-C	↑ Creatinina sérica ↑ Náusea ↓ Função renal
(31)	 LANIFIBRANOR	PPARα/β(δ)/γ EC ₅₀ PPAR α = 1,5 μ M EC ₅₀ PPAR β / δ = 0,87 μ M EC ₅₀ PPAR γ = 0,21 μ M	Fase III	↑ HDL-C ↓ TG ↓ AG livres ↓ RI	↓ Inflamação ↓ Fibrose ↓ Pressão portal	↑ Risco de anemia ↑ Edema ↑ Peso
(32)	 ELAFIBRANOR	PPARα/δ EC ₅₀ PPAR α = 45 nM EC ₅₀ PPAR δ = 175 nM	Fase III	↓ Glicemia ↓ TG ↓ LDL-C ↓ RI	↓ Inflamação ↓ Fibrose ↓ AMTH ↑ HDL-C	↑ Creatinina sérica ↓ Função renal
(33)	 SAROGLITAZAR	PPARα/γ EC ₅₀ PPAR α = 0,65 μ M EC ₅₀ PPAR γ = 3 nM	Aprovado para uso clínico	↓ Fibrose ↓ AMTH ↓ Glicemia	↓ TG ↓ LDL-C ↓ RI	↑ Risco gástrico ↑ Náusea ↑ Êmese
(34)	 LY-518674	SPPARM α EC ₅₀ PPAR α = 42 nM	Fase II	↑ HDL-C	↓ TG	↑ Creatinina sérica

Adaptada de CHENG *et al.*, 2019; FRUCHART, Jean-Charles *et al.*, 2021; HONG *et al.*, 2019; HUANG; BEHARY; ZEKRY, 2020; LANGE *et al.*, 2022; MARJOT *et al.*, 2020; NAUCK; WEFERS; MEIER, 2021; WANG *et al.*, 2020; XI *et al.*, 2020).

1.4 LIPÍDEOS FENÓLICOS DE *Anacardium occidentale*

O *Anacardium occidentale*, popularmente conhecido como cajueiro, é uma planta arbórea, originária do Brasil e adaptada a regiões com clima tropical. Mundialmente difundida no século XVI, a família *Anacardiaceae* encontra-se presente em países como Brasil, Índia, Costa do Marfim e Vietnã. (BORGES, 2021; MUBOFU; MGAYA, 2018; NYIRENDA *et al.*, 2021; SOUZA *et al.*, 2022)

Economicamente, a cajucultura é uma atividade de extrema significância na agroindústria do Nordeste do Brasil concentrando 98 % do cultivo no país. De acordo com a Companhia Nacional de Abastecimento (CONAB), o principal propósito do cultivo do cajueiro é sua castanha que atingiu produção nacional de 123 mil toneladas em 2022. (BORGES, 2021; MUBOFU; MGAYA, 2018; OLIVEIRA *et al.*, 2020)

Adversamente à crença popular, o real fruto do cajueiro é a castanha do caju, que por sua vez apresenta três elementos distintos: a película, a amêndoa e a casca. (OLIVEIRA *et al.*, 2020)

- Película – rica em tanino, representa 3 % do peso da castanha;
- Amêndoa – parte comestível da castanha, representa 27 % de seu peso;
- Casca – representa 70 % do peso da castanha e revela-se como uma fonte abundante e barata de compostos naturais.

Outrossim, a casca da castanha do caju é composta por três camadas distintas: o epicarpo, o mesocarpo e o endocarpo. (Figura 11) (OLIVEIRA *et al.*, 2020; SERRANO; DE OLIVEIRA, 2013a)

- Epicarpo – camada mais externa com aparência coriácea;
- Mesocarpo – camada intermediária de aspecto esponjoso com alvéolos preenchidos por um líquido cáustico e inflamável, denominado líquido da casca da castanha do caju (LCC); e
- Endocarpo – camada mais interna com aspecto duro cuja função é proteger a amêndoa.

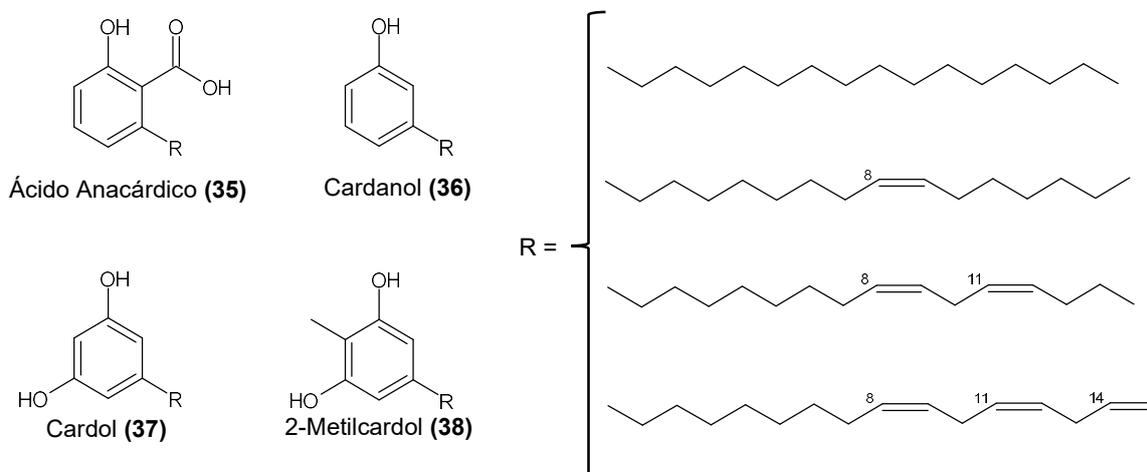
Figura 11: Características do caju e sua castanha



Legenda: (1) Castanha do caju *in natura*; (2) Castanha aberta em seu sentido longitudinal, com suas diferentes camadas expostas e; (3) Caju, o fruto do cajueiro. (SERRANO; DE OLIVEIRA, 2013b)

O LCC é um fluido viscoso marrom-avermelhado reputado por ser uma fonte abundante de lipídeos fenólicos com cadeias laterais alifáticas longas, portando diferentes graus de insaturação. Essa mistura de fenóis é constituída, em sua maioria, por compostos que exibem propriedades biológicas e farmacológicas (o que os tornam alvos para o desenvolvimento de novos fármacos), sendo eles o ácido anacárdico, o cardanol, o cardol e o 2-metilcardol. (Figura 12) (ANDRADE *et al.*, 2011; BHUNIA *et al.*, 2000; DE SOUZA *et al.*, 2018)

Figura 12: Lipídeos fenólicos que compõem o Líquido da Casca da Castanha do Caju (LCC).



O LCC é extraído da casca da castanha do caju mediante três metodologias definidas, e assim originando duas categorias diferentes de LCC, como ilustrado no Esquema 1. (MUBOFU; MGAYA, 2018; NYIRENDA *et al.*, 2021)

Esquema 1: Metodologias de extração do LCC da casca da castanha de caju e seus respectivos produtos.



Estudos prévios comprovaram que a extração com solventes orgânicos em condições brandas preserva a composição natural do LCC. Usualmente ocorrendo em aparelho Soxhlet, nessa metodologia as cascas das castanhas são fragmentadas e o óleo é extraído através de um processo de refluxo intermitente do solvente. Tal como a extração por prensagem mecânica, essa metodologia originará o LCC in natura, composto por ácido anacárdico (71-82 %), cardanol (1,6–9,2 %), cardol (13,8-20,3 %) e traços de 2-metilcardol. (ARAÚJO *et al.*, 2019; MUBOFU; MGAYA, 2018; NYIRENDA *et al.*, 2021; RWAHWIRE *et al.*, 2019)

No processo de obtenção do LCC técnico, as cascas das castanhas, e o próprio LCC in natura, são submetidos à altas temperaturas (180-200°C), promovendo a descarboxilação do ácido anacárdico e sua subsequente conversão em cardanol. Em consequência desta conversão, este óleo de grau técnico apresenta em sua composição cardanol (63-95%), cardol (3,8-18,9%), traços de ácido anacárdico e 2-metilcardol e material polimérico advindo da reação térmica (Tabela 3) (ARAÚJO *et al.*, 2019; SOUZA *et al.*, 2022).

Tabela 3: Percentual das misturas dos diferentes componentes presentes no líquido da casca da castanha de caju.

COMPONENTES	LCC NATURAL (%)	LCC TÉCNICO (%)
Ácidos Anacárdicos	71 – 82	0 – 1,8
Cardanois	1,6 – 9,2	63 – 95
Cardois	13,8 – 20,3	3,8 – 18,9
2-Metilcardol	1,6 – 3,9	1,2 – 5,2
Material polimérico	—	0 – 21,6
Componentes secundários	0 – 2,2	0 – 4

Os lipídeos fenólicos presentes no LCC apresentam comportamento anfipático devido a presença de anel aromático com grupos funcionais polares distintos e uma cadeia lateral acíclica com 15 átomos de carbono e insaturações. Estas características estruturais conferem propriedades únicas a esses lipídeos fenólicos, visto que viabilizam sua derivatização/modificação em amplo espectro de compostos de importância biológica e industrial. (DE SOUZA, *et al.*, 2018; HAMAD; MUBOFU, 2015; MUBOFU; MGAYA, 2018)

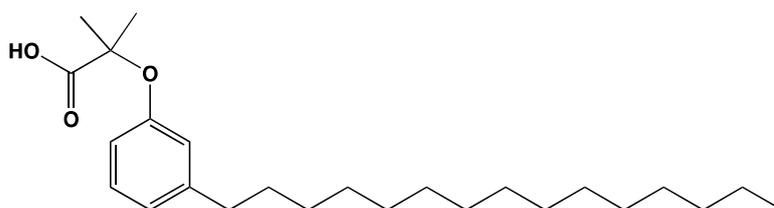
1.5 AGONISTAS PPAR PLANEJADOS A PARTIR DO LCC

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 com derivados contendo a cadeia lateral hidrofóbica com 15 átomos de carbono (C15) apresentaram diferentes e individuais perfis de ativação – específico PPAR α , seletivos duais PPAR α /PPAR γ e PPAR α /PPAR γ , e pan-PPAR – frente 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). Os compostos-alvo apresentaram relevante efeito em hepatócitos primários de camundongos com o aumento da expressão de genes envolvidos na oxidação (FGF21, 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; CUMMINS, C., MAGOMEDOVA, L., ROMEIRO, L. A. S., 2014; ROMEIRO; CUMMINS; MAGOMEDOVA, 2016; ROMEIRO; CUMMINS; MAGOMEDOVA, 2017).

Como prova de conceito da eficácia *in vivo*, o derivado LDT409 (**39**) (Figura 13) foi testado em camundongos com dieta rica em gordura para tratar resistência à insulina, hiperlipidemia e esteatose hepática. Os camundongos tratados com LDT409 perderam peso, apresentaram melhora na tolerância à insulina e níveis mais baixos de triglicérides no sangue em comparação com o grupo de controle que recebeu apenas a dieta rica em gordura. A análise do fígado mostrou redução no acúmulo de gordura, juntamente com o aumento da expressão de genes relacionados à oxidação, como o FGF21. A massa do tecido adiposo diminuiu significativamente e genes relacionados à conversão de adipócitos brancos em adipócitos marrons (UCP1) foram fortemente ativados. Esses resultados indicam que o LDT409 (**39**) aumentou a quebra de gordura e o gasto de energia, sem causar os efeitos colaterais dos fibratos e glitazonas, mostrando potencial para o tratamento de hiperlipidemia, diabetes, obesidade e esteatose hepática (SAHIN et al., 2022).

Figura 13: Agonista parcial PPAR LDT409 (**39**).



No contexto da regra de Lipinski (Ro5), que considera características físico-químicas e atributos estruturais para previsão de biodisponibilidade oral (drogabilidade), LDT409 preencheu 3 dos 4 requisitos: peso molecular ≤ 500 , número de aceptores de ligação de hidrogênio (nALH) ≤ 10 e número de doadores de ligação de hidrogênio (nDLH) ≤ 5 ; entretanto, apresentou lipofilicidade (cLogP 7,5) maior que cLogP ≤ 5 , o que demanda uma nova etapa

de estudos que é a otimização do composto-protótipo LDT409 por meio de modificações estruturais.

A diversificação da estrutura do composto-protótipo LDT409 objetiva compreender a importância do arcabouço molecular quanto suas características de reconhecimento molecular bem como dos descritores físico-químicos associados. Neste sentido, a nova série de compostos concebidos pela diminuição da cadeia hidrofóbica C15 (cLogP 7,50) para hidrofóbica C8 (cLogP 4,58) permitirá avaliar a relevância das contribuições hidrofóbicas não aromáticas em ambas as séries para o perfil de atividade e farmacocinética bem como confrontar a adequação do cLogP à Ro5 para esta classe de compostos estruturalmente específicos.

Objetivos

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Esta dissertação teve por objetivo sintetizar e avaliar *in vitro* novos agonistas PPAR planejados a partir da mistura de cardanois visando a otimização do Composto-Protótipo LDT409.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Sintetizar novos agonistas PPAR utilizando o composto LDT409 como arcabouço molecular;
- Avaliar a ativação da transcrição de PPAR por ensaio gene repórter *in vitro*; e
- Estabelecer relação estrutura-atividade dos novos análogos obtidos;

Planejamento Estrutural

3 PLANEJAMENTO ESTRUTURAL

Os PPAR são receptores nucleares hábeis na regulação metabólica e constituem alvos terapêuticos valiosos no tratamento de doenças metabólicas. Suas três isoformas compartilham semelhanças estruturais no LBD, domínio que comporta uma cavidade hidrofóbica constituída por três ramos. Devido ao seu tamanho relativamente grande ($\approx 1400 \text{ \AA}^3$), essa cavidade é capaz de reconhecer uma variedade de compostos naturais e sintéticos, como AG hidrofóbicos ao PPAR α e AG hidroxilados ao PPAR γ . Em contrapartida, o PPAR β/δ apresenta a menor cavidade dentre as isoformas devido a alterações próximas à região α -helicoidal H2, tornando-o mais seletivo e incapacitando-o de acomodar ligantes com grandes grupos hidrofóbicos. (BRUNETTI *et al.*, 2020; SBLANO *et al.*, 2022)

Todavia, a atividade biológica de ligantes depende não apenas da interação com o receptor, mas também de sua permeabilidade e biodisponibilidade; características inferidas a partir da solubilidade e dos coeficientes de partição (cLogP) e de distribuição (cLogD) de uma molécula. Ambos os coeficientes são definidos como a razão entre as concentrações de equilíbrio de composto dissolvido em sistema bifásico (fase lipídica/fase aquosa), porém cLogP analisa o composto em sua forma neutra enquanto cLogD analisa o composto em sua forma ionizada. Em outras palavras, cLogP determina a lipofilicidade do ligante em sua forma neutra e cLogD determina a em sua forma ionizada em determinado pH do meio. Na perspectiva da pesquisa farmacêutica, esses coeficientes, juntamente com a solubilidade, auxiliam na especificação de parâmetros como absorção, distribuição, metabolismo, excreção, biodisponibilidade, potência/eficácia, duração da ação e toxicidade; contribuindo para a síntese e otimização de agonistas PPAR de ação balanceada com poucos ou nenhum efeito colateral. (BRUNETTI *et al.*, 2020; SBLANO *et al.*, 2022)

Ligantes modelo apresentam equilíbrio entre lipofilicidade e hidrofiliicidade, sendo suficientemente lipofílicos para particionar ao transpor a bicamada lipídica, mas não tão lipofílicos ao ponto de se reparticionar uma vez mais dentro da bicamada. Concomitantemente, a lipofilicidade dos compostos tem o

potencial de torná-los tóxicos, pois $c\text{LogP} \geq 5$ (*Lipinski's rule of five*¹) alude à maior afinidade a proteínas plasmáticas, maior deposição em adipócitos, distribuição mais ampla no organismo e menor seletividade. Portanto, recomenda-se que o ligante seja o mais hidrofílico possível para que possa circular livremente na corrente sanguínea em altas concentrações, e lipofílico o suficiente para que retenha afinidade de ligação adequada ao receptor. Dentre os fatores que podem intervir na lipofilicidade de ligantes, destacam-se: (SBLANO *et al.*, 2022; SPEIGHT, 2018a, b)

- Polaridade – diretamente proporcional a hidrossolubilidade da molécula. Cadeias de hidrocarbonetos conferem um caráter mais apolar e grupos funcionais com átomos eletronegativos (RNH₂, ROH e RCOOH) conferem caráter mais polar;
- Tamanho molecular – compostos químicos estruturalmente relacionados apresentam $c\text{LogP}$ diretamente proporcional ao tamanho molecular/volume molar, uma vez que grupos funcionais semelhantes exibem interações intermoleculares semelhantes, resultando em aumento sistemático das forças de dispersão.

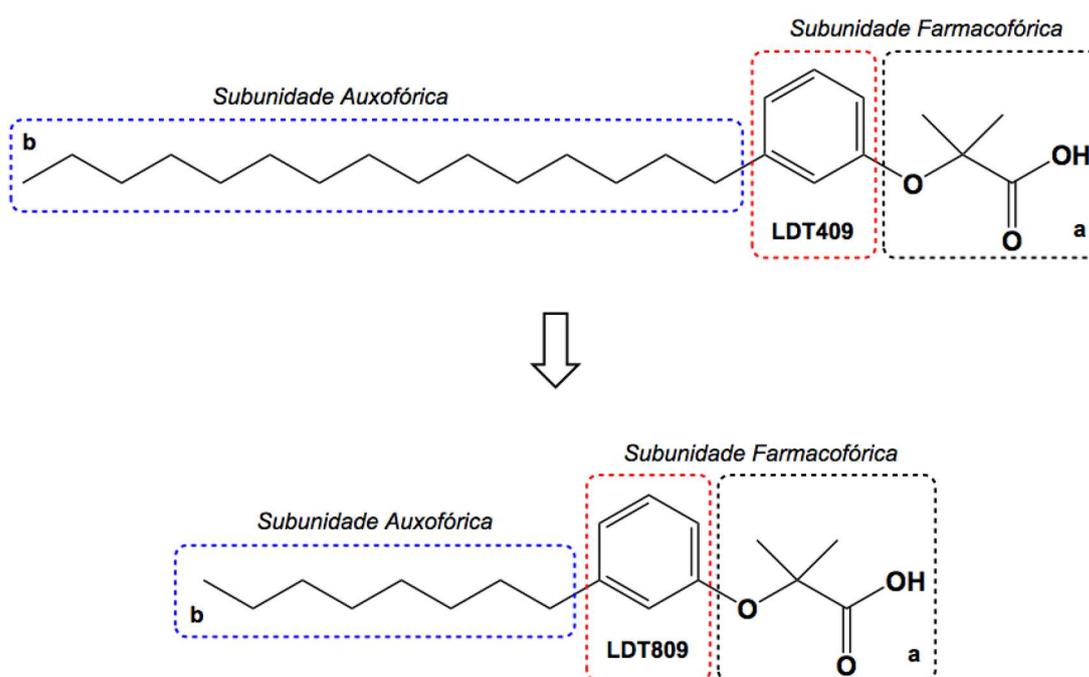
Atualmente, os agonistas PPAR mais utilizados são moléculas polares de caráter ácido com capacidade reduzida de atravessar membranas biológicas. Nesse contexto, uma linha de pesquisa foi desenvolvida com o objetivo de aprimorar estratégias terapêuticas que empregam o uso de derivados de cardanol saturados e insaturados. Ensaios *in vitro*, previamente realizados em nosso grupo, estabeleceram que a capacidade de ligantes de ativar a transcrição de receptores PPAR está correlacionada com alguns marcadores químicos, como o grupamento ácido carboxílico que induz o aumento na potência do composto e a presença do grupo dimetila geminado na subunidade α -carbonila que melhora o perfil de ativação transcricional dos receptores. (FERREIRA, 2018; LI, Yunwei *et al.*, 2023)

¹ *Lipinski's rule of five* – conceito que prediz a probabilidade de uma molécula bioativa ser oralmente biodisponível com base em suas propriedades físico-químicas. Esta regra baseia as propriedades farmacocinéticas de um fármaco em quatro propriedades físico-químicas: 1. possuir não mais que 5 doadores de ligações de hidrogênio; 2. possuir não mais que 10 aceptores de ligações de hidrogênio; 3. possuir peso molecular inferior a 500 Daltons; 4. possuir coeficiente de partição não superior a 5. para ser considerada oralmente ativa, uma molécula não pode violar mais do que uma dessas propriedades. (DE OLIVEIRA, Ewerton Cristhian Lima *et al.*, 2021)

Com base nisso, foram planejados novos análogos derivados do cardanol baseados em dois padrões moleculares: (Esquema 2)

- Padrão I – presença da subunidade α -ariloxicarboxilica visando interação com resíduos de histidina e tirosina no LBD dos PPAR, responsáveis pelo recrutamento de coativadores, estabilização do receptor e modulação da subunidade octila;
- Padrão II – presença de cadeia lateral contendo 8 carbonos saturados para aumentar a lipofilicidade do composto.

Esquema 2: Planejamento estrutural de derivados-alvo



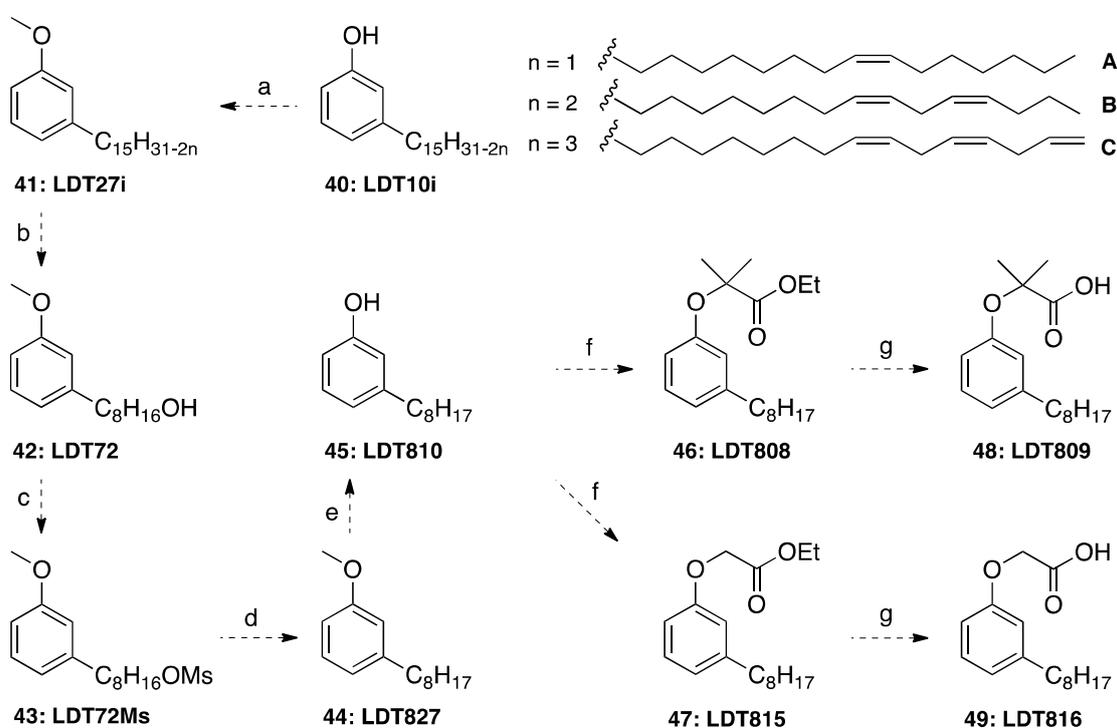
Legenda: destaque para as regiões que interagem com o LDB do receptor. Cabeças com caráter polar ocupam o ramo I (hidrofílico) do receptor PPAR, formando ligações de hidrogênio com resíduos de histidina e tirosina, auxiliando na estabilização do fator AF-2 e promovendo a atividade transcricional. Ademais, modelos farmacofóricos apontam que o anel benzênico ocupa o ramo III do receptor e a cauda hidrofóbica ocupa o ramo II, formando interações hidrofóbicas que aumentam a afinidade e eficácia da ligação (LI et al., 2023).

Estratégia Sintética

4 ESTRATÉGIA SINTÉTICA

A obtenção dos derivados alvo foi planejada a partir da mistura de cardanois de acordo com a rota sintética apresentada no Esquema 3, e utilizou reações clássicas da química orgânica envolvendo *O*-alquilação, redução, condensação e *O*-desalquilação, por meio de interconversão de grupos funcionais em condições experimentais convencionais e sob refluxo.

Esquema 3: Planejamento sintético dos derivados-alvo.



a) CH_3I , K_2CO_3 , Me_2CO ; b) $\text{i.O}_3/\text{O}_2$, $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{CH}_3\text{OH}$, 0°C , ii. NaBH_4 , EtOH ; c) $\text{CH}_3\text{SO}_2\text{Cl}$, TEA , CH_2Cl_2 ; d) LiAlH_4 , THF , t.a., e) BBr_3 , CH_2Cl_2 , 0°C ; f) BrYCO_2Et , K_2CO_3 , Me_2CO ; g) LiOH , $\text{THF-H}_2\text{O}$, t.a.

Diante disso, a rota adotada (Esquema 3) foi iniciada com a metilação da mistura de cardanois insaturados (LDT10i, 40), doada pela empresa RESIBRAS[®], resultando na mistura metilada (LDT27i, 41), a qual foi submetida à ozonólise seguida de redução com boridreto de sódio, levando ao álcool primário LDT72 (42). O composto LDT72 foi submetido à reação de condensação com cloreto de metanossufonila resultante no éster sulfônico

LDT72Ms (**43**) e posteriormente reduzido com hidreto de lítio e alumínio ao composto LDT827 (**44**) contendo o grupo metila terminal na cadeia com 8 carbonos. Por fim, o éter **44** foi desmetilado com BBr_3 originando o derivado-alvo LDT810 (**45**).

A O-alkilação do fenol **45** com seus α -bromoésteres correspondentes, na presença de carbonato de potássio em acetona ou acetonitrila, deu origem aos β -oxiésteres LDT808 (**46**) e LDT815 (**47**). Estes ésteres foram então submetidos à hidrólise na presença de hidróxido de lítio e catalisador de transferência de fase Aliquat336[®], em uma mistura de tetraidrofurano e água, levando aos respectivos ácidos carboxílicos LDT809 (**48**) e LDT816 (**49**), finalizando a série composta pelos derivados-alvo com cadeia alquílica saturada com 8 carbonos.

Os compostos sintetizados, intermediários e finais, foram estruturalmente caracterizados através 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). Paralelamente, os ensaios referentes à atividade biológica, os quais avaliaram o perfil de ativação in vitro dos receptores PPAR por meio do ensaio de gene repórter, foram realizados na Faculdade de Farmácia Leslie Dan da Universidade de Toronto, Canadá.

Parte Experimental

5 PARTE EXPERIMENTAL

5.1 GENERALIDADES, MATERIAIS E MÉTODOS

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 na síntese dos compostos foram adquiridos das indústrias: Sigma-Aldrich® (EUA), Tedia® (EUA), PanReac® (Espanha) e BioGrade® (Inglaterra/EUA). Determinados solventes e reagentes requeriam tratamento antes do uso, seguindo as metodologias especificadas na Tabela 4. A mistura de cardanóis destilada foi obtida a partir de doação da empresa RESIBRAS®.

Tabela 4: Metodologias para secagem de solventes.

SOLVENTES	TRATAMENTO
Acetonitrila	Hidreto de Cálcio + Destilação
Diclorometano	Hidreto de Cálcio + Destilação
Tetraidrofurano	Purificação em Coluna Cromatográfica contendo Sulfato de Sódio, Sulfato de Magnésio e Cloreto de Cálcio + Hidreto de Cálcio + Destilação
REAGENTE	TRATAMENTO
Trietilamina	Hidreto de Cálcio + Destilação

Os experimentos foram realizados sob agitação magnética, à temperatura ambiente ou aquecimento convencional. Para experimentos sob refluxo, com reagentes e solventes com ponto de ebulição inferior à temperatura de aquecimento, utilizou-se banho termostático e sistema de refrigeração com condensadores a temperaturas entre -5°C e 5°C.

O monitoramento das reações foi realizado por meio de cromatografia em camada delgada (CCD), em cromatofolhas (5,0cm x 1,5cm) de alumínio de Kieselgel 60 F254 com espessura de 0,25mm (SILICYCLE®), e revelado em

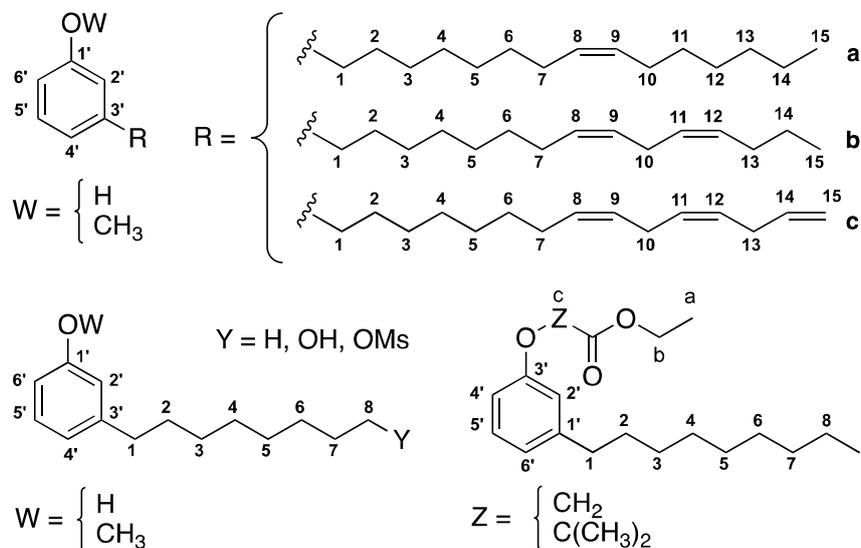
lâmpada UV (254nm), o que permitiu o cálculo do fator de retenção (Rf). Quando necessário, os produtos foram revelados com solução alcoólica de cloreto férrico a 20% a fim de evidenciar a presença da hidroxila fenólica.

Para a purificação dos compostos utilizou-se cromatografia em coluna de sílica gel G60 (70-230 mesh) SILICYCLE® e o sistema de cromatografia flash em equipamento Isolera Spektra Systems with ACI™ (Biotage®) em cartucho de sílica SNAP 10g.

A evaporação dos solventes foi realizada em evaporador rotatório Tecnal® TE-211, à pressão reduzida, variando entre 10 e 0,1mmHg, e em temperaturas entre 20 e 40°C.

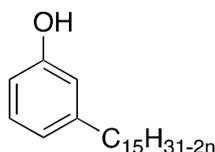
Os espectros de ressonância magnética nuclear de hidrogênio (RMN de ^1H – 300 MHz ou 500 MHz) e de carbono ^{13}C (RMN de ^{13}C – 75 MHz ou 125 MHz) foram adquiridos em aparelho Bruker Avance DRX300 e DRX500 no Centro Nordestino de Aplicação da Ressonância Magnética Nuclear (CENAUREMN) da Universidade Federal do Ceará (UFC), utilizando tetrametilsilano (TMS) como referência interna. Os valores de deslocamento químico (δ) são referenciados em parte por milhão (ppm) em relação ao TMS e as constantes de acoplamento (J) em Hertz (Hz). As áreas dos sinais foram obtidas por integração eletrônica e suas multiplicidades descritas como: simpleto (s); simpleto largo (sl); duplete (d); duplo duplete (dd); tripleto (t) e multiplete (m).

Figura 14: Numeração e legendas empregadas no assinalamento de sinais em espectros de RMN de ^1H e RMN de ^{13}C



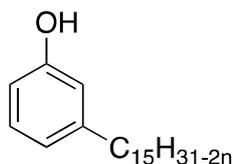
5.2 METODOLOGIA SINTÉTICA E CARACTERIZAÇÃO DOS COMPOSTOS

5.2.1 Obtenção da Mistura de Cardanois (LDT10i, **40**)



A mistura de cardanois (RESIBRAS[®]) foi purificada em coluna cromatográfica contendo gel de sílica como fase sólida e eluída com mistura de hexano e acetato de etila, obtendo-se a mistura denominada LDT10i (**40**) em rendimento de 90% em relação à massa total aplicada.

Mistura de cardanois (LDT10i, **40**)

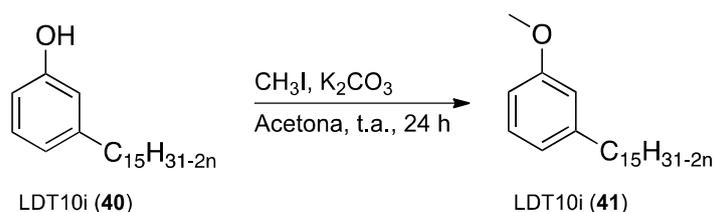


Óleo marrom claro
 Rendimento (90%)
 Rf: 0,7 (9:1 Hex:AcoEt)
 Fórmula molecular: $\text{C}_{21}\text{H}_{31-2n}\text{O}$

RMN de ^1H (CDCl_3 ; 500 MHz) δ : 0,89-0,95 (m, 3H, 15a-b); 1,33-1,43 (m, 13H, 3- 6a-c, 11a e H14a-b); 1,61 (sl, 2H, 2a-c); 2,04-2,08 (m, 4H, 7a-c, 10a, 13b); 2,56 (t, $J = 7,6$ Hz; 2H, 1a-c); 2,80-2,85 (m, 2H, 10b-c e 13c); 4,99-5,09 (m, 2H, 15c); 5,37-5,46 (sl, 3H, 8-9a-c e H11-12b-c); 6,65-6,67 (m, 2H, 2' e 6'); 6,76 (d, $J = 7,3$ Hz, 1H, 4'); 7,15 (t, $J = 7,6$ Hz, 1H, 5').

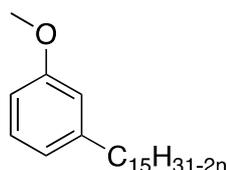
RMN de ^{13}C (CDCl_3 ; 125 MHz) δ : 14,0-14,3 (CH_3 , 15a-b); 22,8-23,0 (CH_2 , 14a-b); 25,8-25,9 (CH_2 , 10b-c, 13c); 27,4 (CH_2 , 7a-c, 10a, 13b); 29,2-29,9 (CH_2 , 3-6a-c, 11-12a); 31,5 (CH_2 , 2a-c); 31,7-32,0 (CH_2 , 13a); 36,0 (CH_2 , 1a-c); 112,7 (CH, 6'); 114,9 (CH_2 , 15c); 115,5 (CH, 2'); 121,1 (CH, 4'); 129,6 (CH, 5'); 127,0-129,5 e 130,0-130,6 (CH, 8-9a-c e 11-12b-c); 137,0 (CH, 14c); 145,1 (C, 3'); 155,7 (C, 1').

5.2.2 Obtenção da Mistura de 3-Metóxicardanois (LDT27i, **41**)



Em um balão (150,00mL) contendo 5,00g da mistura de cardanois (**40**) (16,17mmol) foram adicionados acetona (60,00mL) e carbonato de potássio (2,00eq). A solução permaneceu sob agitação magnética, à temperatura ambiente, por 60 minutos e, em seguida, adicionou-se iodeto de metila (2,50eq). A reação prosseguiu sob agitação magnética, à temperatura ambiente, por 24 horas. Após redução do volume de solvente à pressão reduzida, a mistura foi extraída com acetato de etila (3 x 15,00mL), e as frações orgânicas reunidas foram lavadas com solução de ácido clorídrico a 10% (20,00mL), solução saturada de cloreto de sódio (20,00mL) e seca sob sulfato de sódio anidro. O solvente foi evaporado a pressão reduzida e os resíduos purificados em coluna de gel de sílica eluída com mistura hexano-acetato de etila (9:1) originando o derivado LDT27i (**41**).

Mistura de 3-Metóxicardanois (LDT27i, **41**)

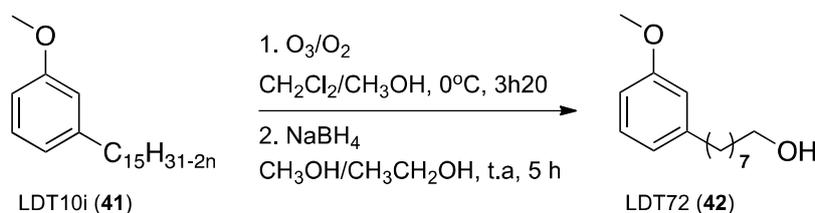


Óleo incolor
Rendimento (90%)
Rf: 0,45 (9:1 Hex:AcOEt)
Fórmula molecular: C₂₂H₃₂O

RMN de ¹H (CDCl₃; 500 MHz) δ: 0,88-0,91 (m, 3H, H_{15a-b}); 1,27-1,32 (m, 13H, 3-6a-c, H_{11a} e H_{14a-b}); 1,6 (sl, 2H, 2a-c); 2,01-2,03 (m, 4H, 7a-c, 10a, 13b); 2,58 (t, J = 7,8 Hz; 2H, 1a-c); 3,81 (s, 3H, OCH₃); 5,34-5,37 (sl, 3H, 8-9a-c e H_{11-12b-c}); 6,72-6,74 (m, 2H, 2' e 6'); 6,78 (d, J = 7,0 Hz, 1H, 4'); 7,19 (t, J = 7,8 Hz, 1H, 5').

RMN de ¹³C (CDCl₃; 125 MHz) δ: 14,3 (CH₃, 15a-b); 22,9 (CH₂, 14a-b); 27,4-27,5 (CH₂, 7a-c, 10a, 13b); 29,2-29,9 (CH₂, 3-6a-c, 11-12a); 31,5 (CH₂, 2a-c); 32,0 (CH₂, 13a); 36,2-36,3 (CH₂, 1a-c); 55,4 (OCH₃); 111,2 (CH, 6'); 114,4 (CH, 2'); 121,1 (CH, 4' e 5'); 129,4-130,1 (CH, 8-9a-c e 11-12b-c); 130,2 (CH, 14c); 144,8 (C, 3'); 160,0 (C, 1').

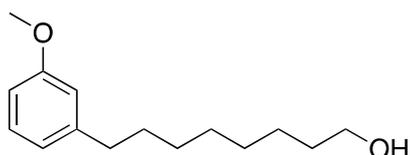
5.2.3 Obtenção do Composto 8-(3-Metóxiifenil)octan-1-ol (LDT72, **42**)



Em um sistema para ozonólise contendo 1,50g da mistura de cardanois metilados **41** (14,31mmol) foram adicionados diclorometano (25,00mL) e metanol (25,00mL). O sistema reacional foi resfriado em banho de gelo à temperatura de 0°C e submetido a fluxo contínuo de ozônio (5,00g/mL) por 3 horas e 20 minutos (5 ciclos de 40"). Ao final do último ciclo, o excesso de ozônio foi purgado com fluxo de nitrogênio e a solução transferida a um erlenmeyer com boroidreto de sódio (3,00eq), metanol (10,00mL) e etanol (10,00mL), todos previamente resfriados em banho de gelo. A solução permaneceu sob agitação magnética por 5 horas à temperatura ambiente. Após acidificação à pH 1 com solução de ácido clorídrico a 50% (10,00mL), a

mistura reacional foi extraída com diclorometano (3 x 15,00mL) e as fases orgânicas lavadas com solução saturada de cloreto de sódio (20,00mL) e seca sob sulfato de sódio anidro. O solvente foi evaporado a pressão reduzida e o resíduo purificado por cromatografia em coluna de gel de sílica, eluída com hexano-acetato de etila (9:1), fornecendo o derivado LDT72 (**42**).

Derivado 8-(3-Metóxfenil) octan-1-ol (LDT72, **42**)

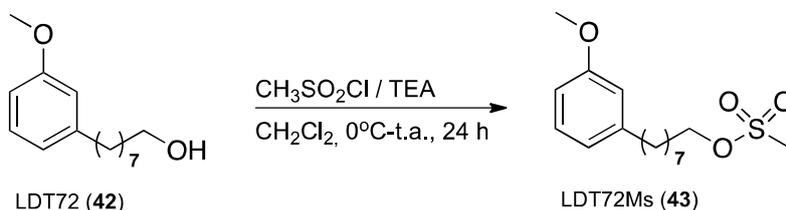


Óleo amarelo claro
Rendimento (75%)
Rf: 0,47 (9:1 Hex:AcOEt)
Fórmula molecular: C₁₅H₂₄O₂

RMN de ¹H (500 MHz, CDCl₃): δ 1,33 (m, 8H, 3-6); 1,52-1,59 (m, 2H, 7); 1,61-1,64 (m, 2H, 2); 2,59 (t, *J* = 7,7 Hz, 2H, 1); 3,64 (t, *J* = 6,7 Hz, 2H, 8); 3,81 (s, 3H, ArOCH₃); 6,73-6,74 (m, 2H, 2' e 6'); 6,78 (d, *J* = 7,6 Hz, 1H, 4'), 7,18-7,21 (m, 1H, 5').

RMN de ¹³C (125 MHz, CDCl₃): δ 25,9 (CH₂, 5); 29,4 (CH₂, 5); 29,5 (CH₂, 4); 29,6 (CH₂, 3); 31,5 (CH₂, 2); 33,0 (CH₂, 7); 36,2 (CH₂, 1); 55,3 (OCH₃); 63,2 (CH₂, 8); 111,1 (CH, 6'); 114,5 (CH, 2'); 121,1 (CH, 4'); 129,4 (CH, 5'); 144,8 (C, 3'); 159,9 (C, 1').

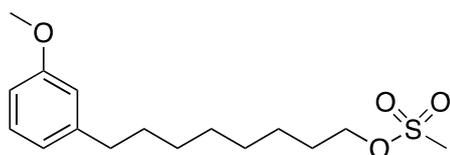
5.2.4 Obtenção do composto metanossulfonato de 8-(3-metóxfenil)octila (LDT72Ms, **43**)



Em um balão de 100,00mL foram adicionados 3,20g do composto **42** (13,59mmol) e diclorometano seco (50,00mL). O sistema foi submetido a banho de gelo e agitação magnética e, posteriormente, acrescido de trietilamina (2,00eq) e cloreto de metanossulfonila (1,50eq). A mistura permaneceu sob agitação por 24 horas, com evolução à temperatura ambiente e ao abrigo da

luz. Após este período a mistura foi extraída com diclorometano (3 x 10,00mL) e as fases orgânicas reunidas foram neutralizadas com solução de bicarbonato de sódio 5% (20,00mL), solução de ácido clorídrico 50% (20,00mL), solução salina saturada (20,00mL) e seca sob sulfato de sódio anidro. O solvente foi evaporado à pressão reduzida e a mistura purificada por cromatografia em coluna de gel de sílica, eluída com hexano-diclorometano (9:1).

Metanossulfonato de 8-(3-Metóxiifenil)octila (LDT72Ms, **43**)

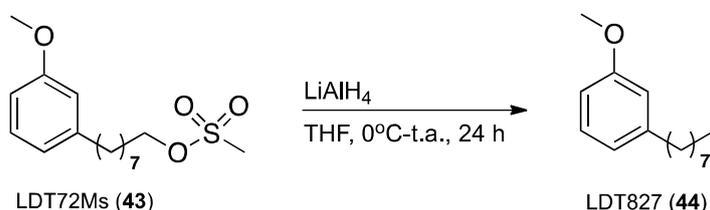


Óleo amarelo âmbar
Rendimento (80%)
Rf: 0,45 (9:1 Hex:DCM)
Fórmula molecular: C₁₆H₂₆SO₄

RMN de ¹H (500 MHz, CDCl₃): δ 1,34 (sl, 8H, 3-6); 1,38-1,41 (m, 2H, 7); 1,61-1,64 (m, 2H, 2); 2,59 (t, *J* = 7,6 Hz, 2H, 1); 2,99 (s, 3H, SO₂CH₃); 3,81 (s, 3H, OCH₃); 6,73-6,74 (m, 2H, 2' e 6'); 6,78 (d, *J* = 7,5 Hz, 1H, 4'), 7,18-7,21 (m, 1H, 5').]

RMN de ¹³C (125 MHz, CDCl₃): δ 25,6 (CH₂, 5); 29,1 (CH₂, 5); 29,3¹ (CH₂, 4); 29,3⁴ (CH₂, 3); 31,5 (CH₂, 2); 33,0 (CH₂, 7); 37,6 (CH₂, 1); 55,3 (OCH₃); 70,3 (CH₂, 8); 111,1 (CH, 6'); 114,5 (CH, 2'); 121,1 (CH, 4'); 129,4 (CH, 5'); 144,6 (C, 3'); 159,9 (C, 1').

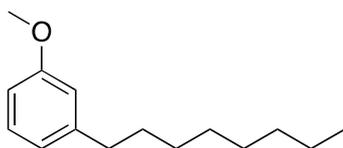
5.2.5 Obtenção do Composto 1-Metóxi-3-octilbenzeno (LDT827, **44**)



Em um balão (100,00mL) foram adicionados hidreto de lítio e alumínio (3,00eq) e tetraidrofurano seco (30,00mL), sendo o sistema submetido a agitação magnética e resfriado sob banho de gelo. Separadamente, em um béquer, o derivado **43** foi diluído em 20,00mL de tetraidrofurano seco e, em

seguida, adicionado, gota a gota, ao balão reacional. O sistema permaneceu sob agitação por 24 horas, com evolução à temperatura ambiente e ao abrigo da luz. Para desativar o excesso de hidreto de lítio e alumínio foram adicionados metanol (8,00mL), e em seguida solução de hidróxido de sódio a 5% (5,00mL), água destilada (8,00mL). Após formação de hidróxido de alumínio a mistura foi acidificada com e solução de ácido clorídrico 50% (8,00mL). Depois de 20 minutos, a mistura foi extraída com acetato de etila (3 x 15,00mL) e as frações orgânicas lavadas com solução salina saturada (20,00mL) e seca sob sulfato de sódio anidro. O solvente foi evaporado à pressão reduzida e a mistura purificada por cromatografia em coluna de gel de sílica, eluída com hexano-diclorometano (9:1).

1-Metóxi-3-octilbenzeno (LDT827, **44**)

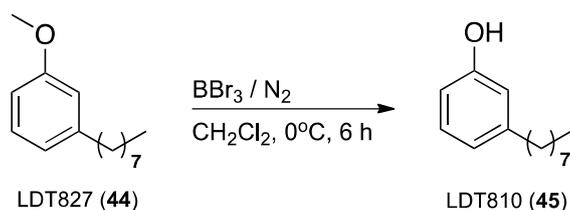


Óleo amarelo claro
Rendimento (72%)
Rf: 0,65 (9:1 Hex:AcOEt)
Fórmula molecular: C₁₅H₂₄O

RMN de ¹H (500 MHz, CDCl₃): δ 0,92 (t, *J* = 6,7 Hz, 3H, 8) 1,30 (sl, 8H, 3-6); 1,34 (sl, 2H, 7); 1,63-1,66 (m, 2H, 2); 2,61 (t, *J* = 7,7 Hz, 2H, 1); 3,82 (s, 3H, OCH₃); 6,74-6,76 (m, 2H, 2' e 6'); 6,81 (d, *J* = 7,5 Hz, 1H, 4'), 7,21 (t, *J* = 7,7 Hz, 1H, 5').

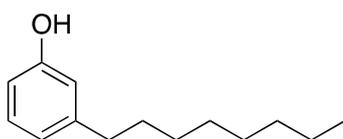
RMN de ¹³C (125 MHz, CDCl₃): δ 14,2 (CH₃, 8); 22,8 (CH₂, 7); 29,4⁵ (CH₂, 4); 29,5 (CH₂, 5); 29,7 (CH₂, 3); 31,4 (CH₂, 2); 32,1 (CH₂, 6); 36,3 (CH₂, 1); 55,3 (OCH₃); 111,2 (CH, 6'); 114,6 (CH, 2'); 121,1 (CH, 4'); 129,4 (CH, 5'); 144,9 (C, 3'); 159,9 (C, 1').

5.2.6 Obtenção do Composto 3-octilfenol (LDT810, **45**)



Em um balão (10,00mL) foram adicionados 0,50g do derivado **44** (2,27mmol) e diclorometano seco (5,00mL), realizada a troca de atmosfera com nitrogênio gasoso (N₂) e o sistema submetido a banho de água/gelo e agitação magnética. Na sequência, foi adicionado tribrometo de boro (4,00eq) e a reação foi mantida sob mesma agitação e temperatura por 6 horas. Em seguida, a reação foi vertida em um béquer contendo gelo de água destilada e a mistura foi extraída com acetato de etila. As frações orgânicas reunidas foram lavadas com soluções de ácido clorídrico a 50% e salina saturada, e seca sob sulfato de sódio anidro. O solvente foi evaporado à pressão reduzida e a mistura purificada por cromatografia em coluna de gel de sílica, eluída com hexano-acetato de etila (9:1).

3-Octilfenol (LDT810, **45**)

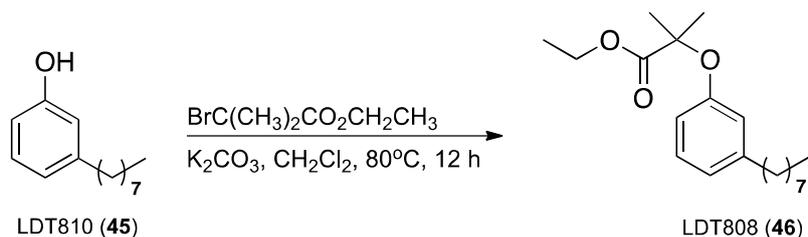


Óleo marrom claro
Rendimento (67%)
Rf: 0,6 (9:1 Hex:AcOEt)
Fórmula molecular: C₁₄H₂₂O

RMN de ¹H (500 MHz, CDCl₃): δ 0,91 (t, J = 6,6 Hz, 3H, 8) 1,30 (sl, 8H, 3-6); 1,34 (sl, 2H, 7); 1,60-1,63 (m, 2H, 2); 2,57 (t, J = 7,7 Hz, 2H, 1); 5,1 (sl, 1H, OH); 6,67-6,69 (m, 2H, 2' e 6'); 6,78 (d, J = 7,5 Hz, 1H, 4'), 7,16 (t, J = 7,7 Hz, 1H, 5').

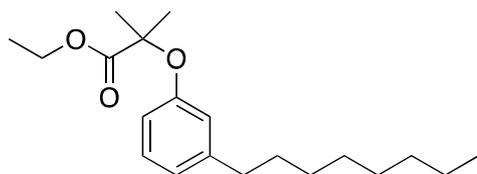
RMN de ¹³C (125 MHz, CDCl₃): δ 14,2 (CH₃, 8); 22,9 (CH₂, 7); 29,4⁵ (CH₂, 4); 29,5 (CH₂, 5); 29,7 (CH₂, 3); 31,4 (CH₂, 2); 32,1 (CH₂, 6); 36,1 (CH₂, 1); 112,8 (CH, 6'); 115,6 (CH, 2'); 121,2 (CH, 4'); 129,6 (CH, 5'); 145,2 (C, 3'); 155,7 (C, 1').

5.2.7 Obtenção do Derivado 2-Metil-2-(3-octilfenóxi)propanoato de etila (LDT808, **46**)



Em um balão (25,00mL) foram adicionados 0,50g do fenol **45** (2,42mmol), carbonato de potássio (2,00eq), iodeto de potássio (1,00eq) e acetonitrila (8,00mL), e a mistura foi submetida à agitação magnética, à temperatura ambiente, durante 60 minutos. Posteriormente, adicionou-se α -bromoisobutirato de etila (3,00eq) e a reação prosseguiu sob agitação magnética, doravante em refluxo à 85°C por 12 horas. Após redução do volume de solvente à pressão reduzida, a mistura foi extraída com acetato de etila (2 x 25,00mL) e as frações orgânicas reunidas foram lavadas com solução de ácido clorídrico a 50% (30,00mL), solução salina saturada (20,00mL) e seca sob sulfato de sódio anidro. Após retirada de solvente à pressão reduzida, os resíduos foram purificados em coluna de gel de sílica eluída com mistura de hexano e acetato de etila (9:1), fornecendo o derivado LDT808 (**46**).

2-Metil-2-(3-octilfenóxi)propanoato de etila (LDT808, **46**)

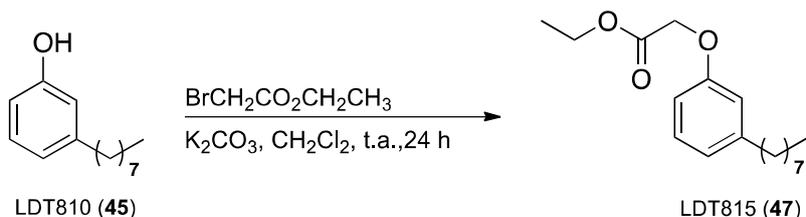


Óleo amarelo claro
Rendimento (80%)
Rf: 0,85 (9:1 Hex:AcOEt)
Fórmula molecular: C₂₀H₃₂O₃

RMN de ¹H (500 MHz, CDCl₃): δ 0,89 (t, $J = 6,7$ Hz 3H, 8); 1,24-1,29 (m, 14H, CH₃ (a), e CH₂, 3-6); 1,57-1,60 (m, 9H, *gem*-(CH₃)₂ e 2); 2,55 (t, $J = 7,7$ Hz, 2H, 1); 4,24 (q, $J = 7,1$ Hz, 2H, CH₂, b); 6,65 (d, $J = 8,1$ Hz, 1H, 6'); 6,70 (s, 1H, 2'); 6,81 (d, $J = 7,5$ Hz, 1H, 4'); 7,13 (t, $J = 7,8$ Hz, 1H, 5').

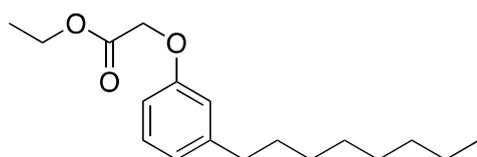
RMN de ^{13}C (125 MHz, CDCl_3): 14,3 (CH_3 , a); 14,3 (CH_3 , 8); 22,9 (CH_2 , 7); 25,6 (*gem*- $(\text{CH}_3)_2$); 29,4⁵ (CH_2 , 4); 29,5 (CH_2 , 5); 29,7 (CH_2 , 3); 31,5 (CH_2 , 2); 32,1 (CH_2 , 6); 36,1 (CH_2 , 1); 61,5 (CH_2 , b); 79,1 (C, c); 116,5 (CH, 4'); 119,7 (CH, 2'); 122,5 (CH, 6'); 128,9 (CH, 5'); 144,5 (C, 1'); 155,7 (C, 3'); 174,6 (CO).

5.2.8 Obtenção do Derivado 2-(3-Octilfenóxi)acetato de etila (LDT815, **47**)



Em um balão (50,00mL) foram adicionados 0,50g do fenol **45** (2,42mmol), carbonato de potássio (2,00eq) e acetona (30,00mL). A mistura foi submetida à agitação magnética por 60 minutos e, em seguida, adicionou-se o reagente 2-bromoacetato de etila (1,25eq). A reação prosseguiu sob agitação magnética, à temperatura ambiente por 24 horas. Após redução do volume de solvente à pressão reduzida, a mistura foi extraída com acetato de etila (3 x 20,00mL) e as frações orgânicas reunidas foram lavadas com solução de ácido clorídrico a 50% (30,00mL), solução salina saturada (20,00mL) e seca sob sulfato de sódio anidro. O solvente foi evaporado a pressão reduzida e os resíduos purificados em coluna de gel de sílica, eluída com mistura hexano-acetato de etila (8:2) originando o éster-derivado LDT815 (**47**).

2-(3-Octilfenóxi)acetato de etila (LDT815, **47**)

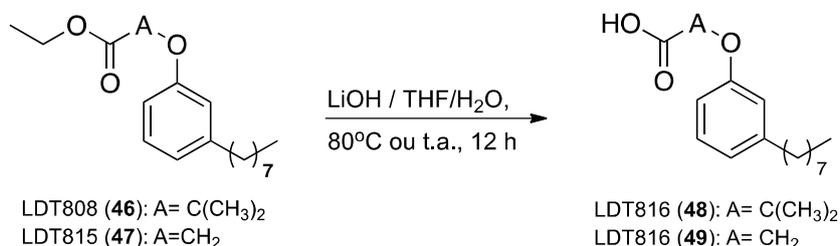


Óleo amarelo claro
 Rendimento (80 %)
 Rf: 0,6 (8:2 Hex:AcOEt)
 Fórmula molecular: $\text{C}_{18}\text{H}_{28}\text{O}_3$

RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3): δ 0,89 (t, $J = 6,9$ Hz 3H, 8); 1,29-1,32 (m, 15H, CH_3 (a), e CH_2 , 3-6); 1,58-1,61 (m, 2H, 2); 2,58 (t, $J = 7,7$ Hz, 2H, 1); 4,28 (q, $J = 7,1$ Hz, 2H, CH_2 , b); 4,61 (CH_2 , c); 6,72 (d, $J = 7,8$ Hz, 1H, 4'); 6,77 (s, 1H, 2'); 6,82 (d, $J = 7,3$ Hz, 1H, 6'); 7,19 (t, $J = 7,8$ Hz, 1H, 5').

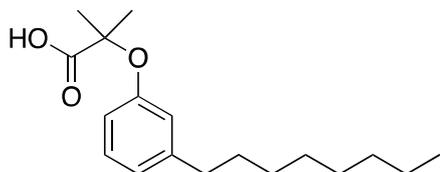
RMN de ^{13}C (125 MHz, CDCl_3): 14,2 (CH_3 , a); 14,4 (CH_3 , 8); 22,9 (CH_2 , 7); 29,4 (CH_2 , 4); 29,5 (CH_2 , 5); 29,7 (CH_2 , 3); 31,5 (CH_2 , 2); 32,1 (CH_2 , 6); 36,2 (CH_2 , 1); 61,4 (CH_2 , b); 65,9 (CH_2 , c); 111,8 (CH, 6'); 115,4 (CH, 2'); 122,2 (CH, 4'); 128,4 (CH, 5'); 145,0 (C, 3'); 158,2 (C, 1'); 169,3 (CO).

5.2.9 Obtenção dos Derivado Ácido LDT809 (**48**) e LDT816 (**49**)



Em um balão (50,00mL) foram individualmente adicionados os derivados **46** (0,90g; 2,81mmol) ou **47** (0,37g; 1,27mmol), hidróxido de lítio (4,00eq), solubilizados em água destilada (2,00mL), catalisador de transferência de fase Aliquat[®] (3 gotas) e tetraidrofurano (4,00mL). O sistema reacional foi submetido à agitação magnética por 12 horas, à temperatura ambiente para o derivado **46** e sob refluxo à 80°C, por 12 horas, para o derivado **47**. Na sequência, cada mistura foi acidificada com solução de ácido clorídrico a 50% até pH 1 e extraída com acetato de etila (3 x 10,00mL). As frações orgânicas foram reunidas e lavadas com solução salina saturada (10,00mL) e secas com sulfato de sódio anidro. O solvente foi evaporado à pressão reduzida e os produtos obtidos foram purificados em coluna de gel de sílica, fornecendo os derivados-alvo.

Ácido 2-metil-2-(3-octilfenóxi)propanoico (LDT809, **48**)

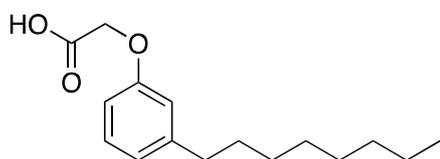


Óleo amarelo claro
Rendimento (85%)
Rf: 0,7 (4:1 Hex:AcOEt)
Fórmula molecular: C₁₈H₂₈O₃

RMN de ¹H (500 MHz, CDCl₃): δ 0,89 (t, *J* = 6,7 Hz 3H, 8); 1,27-1,31 (m, 12H, CH₂, 3-6); 1,61 (sl, 9H, *gem*-(CH₃)₂ e 2); 2,57 (t, *J* = 7,7 Hz, 2H, 1); 6,75 (d, *J* = 8,1 Hz, 1H, 6'); 6,79 (s, 1H, 2'); 6,89 (d, *J* = 7,5 Hz, 1H, 4'); 7,17 (t, *J* = 7,8 Hz, 1H, 5').

RMN de ¹³C (125 MHz, CDCl₃): 14,3 (CH₃, 8); 22,8 (CH₂, 7); 25,3 (*gem*-(CH₃)₂); 29,4 (CH₂, 4); 29,5 (CH₂, 5); 29,6 (CH₂, 3); 31,4 (CH₂, 2); 32,1 (CH₂, 6); 36,0 (CH₂, 1); 79,7 (C, c); 117,7 (CH, 6'); 121,0 (CH, 2'); 123,6 (CH, 4'); 129,1 (CH, 5'); 144,7 (C, 3'); 154,3 (C, 1'); 178,8 (CO).

Ácido 2-(3-octilfenóxi)acético (LDT816, **49**)



Sólido branco
Rendimento (90%)
Rf: 0,6 (3:1 Hex:AcOEt)
Fórmula molecular: C₁₆H₂₄O₃

RMN de ¹H (500 MHz, DMSO-d₆): δ 0,85 (t, *J* = 6,8 Hz 3H, 8); 1,23-1,26 (m, 10H, CH₂, 3-6); 1,53 (sl, 2H, 2); 2,52 (t, *J* = 7,7 Hz, 2H, 1); 4,62 (CH₂, c); 6,69 (d, *J* = 7,8 Hz, 1H, 6'); 6,70 (s, 1H, 2'); 6,76 (d, *J* = 7,6 Hz, 1H, 4'); 7,16 (t, *J* = 7,8 Hz, 1H, 5').

RMN de ¹³C (125 MHz, DMSO-d₆): 13,7 (CH₃, 8); 21,9 (CH₂, 7); 28,4 (CH₂, 4); 28,5 (CH₂, 5); 28,6 (CH₂, 3); 30,6 (CH₂, 2); 31,1 (CH₂, 6); 35,0 (CH₂, 1); 64,5 (CH₂, c); 111,4 (CH, 6'); 114,5 (CH, 2'); 120,9 (CH, 4'); 128,9 (CH, 5'); 143,8 (C, 3'); 157,7 (C, 1'); 169,9 (CO).

5.3 AVALIAÇÃO BIOLÓGICA

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 WY14643, GW0742 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 (SFB) 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 0,10mg/mL de ampicilina. A partir desta cultura foi isolada uma única colônia, que por sua vez foi cultivada em meio caldo Luria Bertani (LB) adicionado de 0,10mg/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 DMEN 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 (150,00ng/poço) contendo 50,00ng de UAS-Luciferase Reporter, 20,00ng de β -galactosidase, 15,00ng do DNA do plasmídeo purificado correspondente ao respectivo receptor nuclear e 65,00ng do vetor de plasmídeo pGEM. Em um período de 6-8 horas após a transfecção as células foram tratadas com veículo (DMSO), 10,00 μ M de controle positivo (WY14643 para PPAR α , GW-0742 para PPAR β/δ e rosiglitazona para PPAR γ) ou 10,00-100,00 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

6.1 SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DOS COMPOSTOS

6.1.1 Obtenção e caracterização da mistura de cardanois

Para obtenção da mistura de cardanois (LDT10i, **40**), o LCC técnico, fornecido pela empresa RESIBRAS®, foi purificado em coluna cromatográfica contendo gel de sílica eluída com hexanos, em rendimento de 90 % em relação à massa aplicada. A mistura **40** foi caracterizada por meio de análise de espectros de RMN, nos quais foi evidenciada a presença dos derivados monoeno (**a** – C8'-C9'), dieno (**b** – C8'-C9' e C11'-C12') e trieno (**c** – C8'-C9', C11'-C12' e C14'-C15'). Os grupos metilidenos 8'-9'**a-c** e 11'-12'**b-c** foram assinalados como multipletos no intervalo de 5,37 ppm e 5,46 ppm no espectro de RMN de ¹H (Anexo I, Pág 84) e corroborados pelo espectro de ¹³C (Anexo II, Pág 85) no intervalo de 127,0 ppm e 129,5 ppm e 130,0 ppm e 130,6 ppm respectivamente. Em contrapartida, o metilidino 14'**c**, também identificado como multipletos, foi assinalado no intervalo de 5,79 ppm e 5,87 ppm em espectro de RMN de ¹H e confirmado pelo sinal de 137,0 ppm por espectro de RMN de ¹³C. O grupamento metileno 15'**c** foi evidenciado como um multipletos entre 4,99 ppm e 5,09 ppm em RMN de ¹H, sendo validado pelo sinal de 114,9 ppm em RMN de ¹³C. Os hidrogênios alílicos 7'**a-c**, 10'**a** e 13'**b** foram assinalados como multipletos no intervalo de 2,04 ppm e 2,08 ppm em RMN de ¹H e pelo sinal de 27,4 ppm em RMN de ¹³C, enquanto os hidrogênios bis-alílicos 10'**b-c** e 13'**c** foram assinalados por multipletos entre 2,80 ppm e 2,85 ppm em RMN de ¹H e sinal entre 25,8 ppm e 25,9 ppm em RMN de ¹³C.

Os grupamentos metilidenos aromáticos **2a-c**, **4a-c** e **5a-c** foram descritos por sinais entre 6,78ppm e 7,76ppm em RMN de ¹H e por sinais entre 112,7 ppm e 129,6 ppm em RMN de ¹³C. Os carbonos quaternários **3a-c** e **1a-c** foram respectivamente caracterizados pelos sinais 145,1 ppm e 155,7 ppm em RMN de ¹³C.

6.1.2 Série saturada a partir do 3-octilfenol

O planejamento da série saturada de derivados-alvo teve início com a proteção do grupo fenol por meio de O-metilação da mistura de cardanois LDT10i (**40**), com iodeto de metila na presença de carbonato de potássio em acetona, sob refluxo, conduzindo à mistura metilado LDT27i (**41**). Houve mudança na coloração do óleo marrom claro da mistura inicial **40** para incolor da mistura com metil-éteres **41**, a qual foi obtida em rendimento de 90 % e caracterizada com Rf 0,45 (20:1 Hex:AcOEt) em CCD. A análise espectroscópica de **41** indicou a presença do grupo metoxila assinalado como simpleto em 3,81 ppm em RMN de ^1H (Anexo III, Pág. 86), e confirmado pelo sinal de 55,4 ppm em RMN de ^{13}C (Anexo IV, Pág. 87).

Em seguida, a mistura metilada **41** foi submetida à clivagem oxidativa das insaturações das cadeias laterais dos metiléter-derivados por meio de fluxo de ozônio a 0 °C. O ozônio é o agente responsável pela oxidação das ligações π da cadeia lateral, levando à formação de moléculas intermediárias instáveis (ozonídeos primários) que rearranjam a ozonídeos secundários mais estáveis. A mistura destes ozonídeos secundários não isolados foi reduzida com NaBH_4 resultando no álcool LDT72 (**42**), obtido como óleo amarelo claro em rendimento de 75 % e identificado com Rf 0,47 (9:1 Hex:AcOEt) em CCD. Na análise espectroscópica, **42** apresentou tripleto característico referente ao metileno adjacente ao grupo hidroxila em 3,64 ppm (Anexo V, Pág. 88), corroborado pelo sinal em 63,2 ppm (Anexo VI, Pág. 89). Os sinais na região de aromáticos entre 6,72 ppm e 7,20 ppm em RMN ^1H reforçam a presença do anel aromático, assim como os sinais entre 1,33 ppm e 2,59 ppm estão relacionados aos carbonos 1 a 7 da cadeia alquílica.

Posteriormente, o derivado intermediário **42** foi transformado em seu éster metanossulfônico por meio de reação com cloreto de metila e TEA resultando no composto LDT72Ms (**43**), obtido como óleo amarelo âmbar em rendimento de 80 % e identificado com Rf 0,45 (9:1 Hex:DCM) em CCD. A identificação do grupo metila do mesilato **43** se deu pela presença de simpleto em 3,00 ppm em RMN de ^1H (Anexo VII, Pág. 90), confirmada pelo deslocamento químico em 37,6 ppm no espectro de RMN de ^{13}C (Anexo VIII, Pág. 91).

Para obtenção do composto com grupo metila terminal na cadeia alquílica com 8 carbonos, o grupo mesilato do derivado **43** foi removido pela reação com hidreto de lítio e alumínio em THF anidro, levando ao composto LDT827 (**44**), obtido como óleo amarelo claro em rendimento de 72 % e identificado com Rf 0,65; (9,5:0,5 Hex:AcOEt) em CCD. O composto **44** foi caracterizado pela presença de grupo metila terminal assinalado como tripleto em 0,92 ppm em RMN de ^1H (Anexo **IX**, Pág. 92), confirmada pelo deslocamento químico em 14,3 ppm no espectro de RMN de ^{13}C (Anexo **X**, Pág. 93).

Para obtenção do derivado 3-octilfenol – análogo do cardanol saturado (3-pentadecilfenol) e material de partida para a nova série – o composto **44** foi desmetilado com BBr_3 em diclorometano seco e atmosfera de nitrogênio originando o composto LDT810 (**45**) como óleo marrom claro em rendimento de 67 % identificado com Rf 0,6 (20:1 Hex:AcOEt) em CCD. A análise espectroscópica para o composto **45** revelou a ausência dos assinalamentos referentes ao grupo metoxila identificados como simpleto em 3,82 ppm em RMN de ^1H (Anexo **XI**, Pág. 94), e em 55,3 ppm em RMN de ^{13}C (Anexo **XII**, Pág. 95) nos espectros do composto LDT827 (**44**).

De posse do composto LDT810 (**45**), este foi submetido à reação de O-alquilação utilizando o reagente α -bromoisobutirato de etila. O derivado éster LDT808 (**46**) foi obtido como óleo amarelo claro em rendimento de 80 % e identificado Rf 0,85 (9:1 Hex:AcOEt) em CCD. Na análise espectroscópica as metilas geminadas foram caracterizadas pelos sinais em RMN de carbono 13 em 25,7 ppm, onde o carbono terciário alfa à carbonila foi identificado em 79,1 ppm no mesmo espectro. Adicionalmente, o grupo carboetoxila foi caracterizado pelos deslocamentos químicos evidenciados em 174,6 ppm referente ao carbono carbonílico, enquanto a subunidade etila foi caracterizada pela presença de tripleto em 0,89 ppm e quarteto em 4,24 ppm em RMN ^1H (Anexo **XIII**, Pág. 96) referentes aos grupos metila e metilenóxila, corroborados pelos respectivos deslocamentos químicos em 14,3 ppm e 61,5 ppm em RMN de ^{13}C (Anexo **XIV**, Pág. 97).

Para obtenção do análogo sem as metilas geminais, LDT815 (**47**), o fenol **45** foi submetido ao mesmo protocolo de O-alquilação, utilizando 2-bromacetato de etila como agente alquilante, levando ao derivado beta-

oxoéster **47**, obtido como óleo amarelo claro em rendimento de 80 % e identificado com Rf 0,60 (9:1 Hex:AcOEt) em CCD. Este composto apresentou sinal característicos para hidrogênios alfa-metilênicos à carbonila do grupo éster como simpleto em 4,61 ppm em seu espectro de RMN ^1H (Anexo **XV**, Pág. 95), confirmados pelo assinalamento em 65,8 ppm em RMN de ^{13}C (Anexo **XVI**, Pág. 96). Adicionalmente, os deslocamentos químicos pertinentes ao metileno do grupo etoxila em 4,28 ppm em RMN de ^1H (Anexo **XV**, Pág. 98) e em 61,4 ppm em RMN de ^{13}C bem como sinal em 169,3 ppm em RMN de ^{13}C (Anexo **XVI**, Pág. 99) referente à carbonila confirmam a presença do éster.

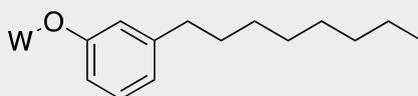
De posse dos derivados LDT808 (**46**) e LDT815 (**47**), finalizando a série octila, estes foram submetidos à reação de hidrólise dos grupos ésteres com hidróxido de lítio. Após 12 horas de reação à temperatura ambiente para o derivado **46** e 4 horas sob refluxo à 80 °C para o derivado **47**, seguido de acidificação a pH 1 e purificação em coluna cromatográfica, os ácidos carboxílicos correspondentes LDT809 (**48**) e LDT816 (**49**) foram obtidos em respectivos rendimentos de 85 % e 90 %.

O composto **48**, obtido como óleo amarelo claro e identificado com Rf 0,70 (4:1 Hex:AcOEt) em CCD, foi caracterizado por deslocamento químico em 179,2 ppm relativo ao carbono carbonílico no espectro de RMN de ^{13}C (Anexo **XVIII**, Pág. 101) e a ausência dos sinais em 4,24 ppm (Anexo **XVII**, Pág. 100) e 61,5 ppm RMN de ^{13}C , referentes ao grupo metileno da etoxila.

Por sua vez, o composto **49** foi obtido como sólido branco e identificado com Rf 0,60 (3:1 Hex:AcOEt) em CCD. O derivado **49** apresentou deslocamentos químicos pertinentes à unidade alfa-metilênica ao ácido em 4,62 ppm RMN ^1H (Anexo **XIX**, Pág. 102) e 64,5 ppm RMN de ^{13}C (Anexo **XX**, Pág. 103). Adicionalmente, a conversão foi confirmada pela presença de sinal em 169,9 ppm, relativo ao carbono carbonílico no espectro de RMN de ^{13}C , e a ausência dos sinais em 4,28 ppm em RMN de ^1H e 61,4 ppm em RMN de ^{13}C , referentes ao grupo etoxila da subunidade carbetoxila.

Os assinalamentos dos derivados alvo foram expressos na Tabela **5**, com seus respectivos gráficos na seção de anexos. (Anexo **III** – Anexo **XIV**)

Tabela 5: Características físico-químicas e sinais espectroscópicos de RMN de ^1H e RMN de ^{13}C obtidos para os derivados-alvo.



Composto	Rendimento (%)	W	RMN de ^1H (δ ppm)	RMN de ^{13}C (δ ppm)
LDT827 (44)	72	CH_3	3,82	55,3
LDT810 (45)	67	H	5,1	–
LDT808 (46)	80	$\text{C}(\text{CH}_3)_2\text{CO}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$	1,24 – 1,20	14,3
		$\text{C}(\text{CH}_3)_2\text{CO}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$	4,24	61,5
		$\text{C}(\text{CH}_3)_2\text{CO}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$	–	174,6
		$\text{C}(\text{CH}_3)_2\text{CO}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$	1,57 – 1,60	25,6
		$\text{C}(\text{CH}_3)_2\text{CO}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$	–	79,1
LDT815 (48)	80	$\text{CH}_2\text{CO}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$	1,29 – 1,32	14,2
		$\text{CH}_2\text{CO}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$	4,28	61,4
		$\text{CH}_2\text{CO}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$	–	169,3
		$\text{CH}_2\text{CO}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$	4,61	65,9
LDT809 (47)	85	$\text{C}(\text{CH}_3)_2\text{CO}_2\text{H}$	–	178,8
		$\text{C}(\text{CH}_3)_2\text{CO}_2\text{H}$	1,61	25,3
		$\text{C}(\text{CH}_3)_2\text{CO}_2\text{H}$	–	79,7
LDT816 (49)	90	$\text{CH}_2\text{CO}_2\text{H}$	–	169,9
		$\text{CH}_2\text{CO}_2\text{H}$	4,62	64,5

6.2 AVALIAÇÃO BIOLÓGICA

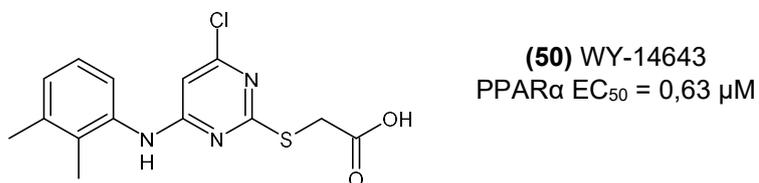
6.2.1 Ensaio de Gene Repórter

Os derivados-alvo foram submetidos a bioensaio de gene repórter e avaliados quanto à atividade da enzima luciferase com o objetivo de analisar a ativação transcricional dos genes PPAR (α , β/δ e γ). Neste bioensaio, células HEK293 foram transfectadas com plasmídeo de expressão contendo gene repórter da luciferase e a sequência de codificação para a proteína de fusão GAL4-hPPAR/GAL4-mPPAR. A luciferase, quando em contato com ligante ativo, gera sinal bioluminescente (via oxidação do substrato da luciferina) que é detectado fotometricamente e indica a indução da ativação do PPAR. (CHANG *et al.*, 2021; LIU, Shirley *et al.*, 2021)

6.2.1.1 PPAR α

A capacidade dos compostos alvo de ativar o receptor PPAR α foi avaliada pelo ensaio de GAL4-hPPAR/GAL4-mPPAR utilizando o agonista PPAR α WY-14643 (**50**) como um controle positivo e DMSO a 0,1 % como veículo. Os derivados foram analisados nas concentrações de 10 μ M e 50 μ M para o modelo murino e de 10 μ M, 50 μ M e 100 μ M para o modelo humano.

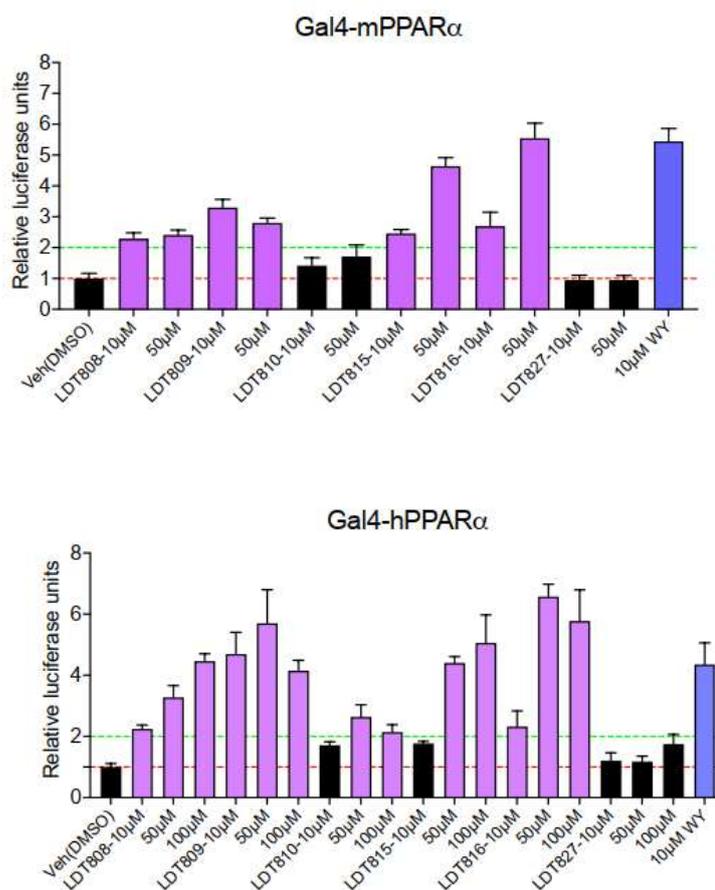
Figura 15: Estrutura química do controle positivo WY-14643, agonista seletivo de PPAR α



Analisando os resultados foi possível concluir que os derivados LDT808 (**46**), LDT809 (**47**), LDT815 (**48**) e LDT816 (**49**) são ativadores do modelo murino de PPAR α quando comparados ao veículo, sendo o composto LDT816 (**49**) o melhor ativador do receptor quando comparado ao controle positivo. Não obstante, no modelo humano, todos os derivados, exceto o LDT827 (**44**), foram capazes de ativar o receptor PPAR α ; podendo-se ressaltar a atividade dos

derivados LDT808 (**46**) e LDT816 (**49**), considerados ativadores fracos devido a sua atividade de transcrição duas vezes maior que o veículo, e o LDT809 (**47**), cuja atividade de transcrição superou o controle positivo (Figura **16**).

Figura 16: Atividade transcricional em PPAR α dos derivados-alvo

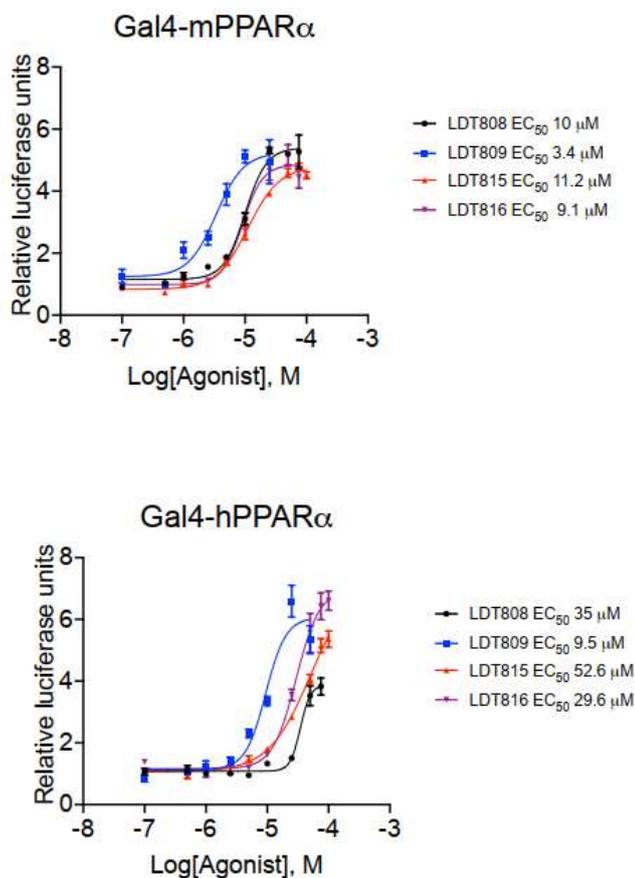


Legenda: Os compostos LDT808 (**46**), LDT809 (**47**), LDT810 (**45**), LDT815 (**48**), LDT816 (**49**) e LDT827 (**44**) foram avaliados em concentrações de 10,0 μ M a 100,0 μ M, em células HEK293. Os dados foram representados na forma de média \pm EPM (N = 3). Unidades Relativas de Luciferase (RLU) = (Unidades de luz de luciferase / β -galactosidase) x tempo; (---); Limiar de ativação do veículo; (---) Limiar de ativação normalizado pela β -galactosidase.

Com base nos resultados de atividade transcricional, os derivados LDT808 (**46**), LDT809 (**47**), LDT815 (**48**) e LDT816 (**49**) foram submetidos a um novo ensaio, em diferentes concentrações (10 nM – 100 μ M) para determinar sua potência individual na ativação do receptor PPAR α e confecção da curva dose-resposta. (Figura **17**). Consoante com os valores de EC₅₀, foi possível constatar que o derivado LDT809 (**47**) foi o mais potente neste ensaio,

apresentando os menores valores de EC₅₀ tanto no modelo murino quanto no modelo humano.

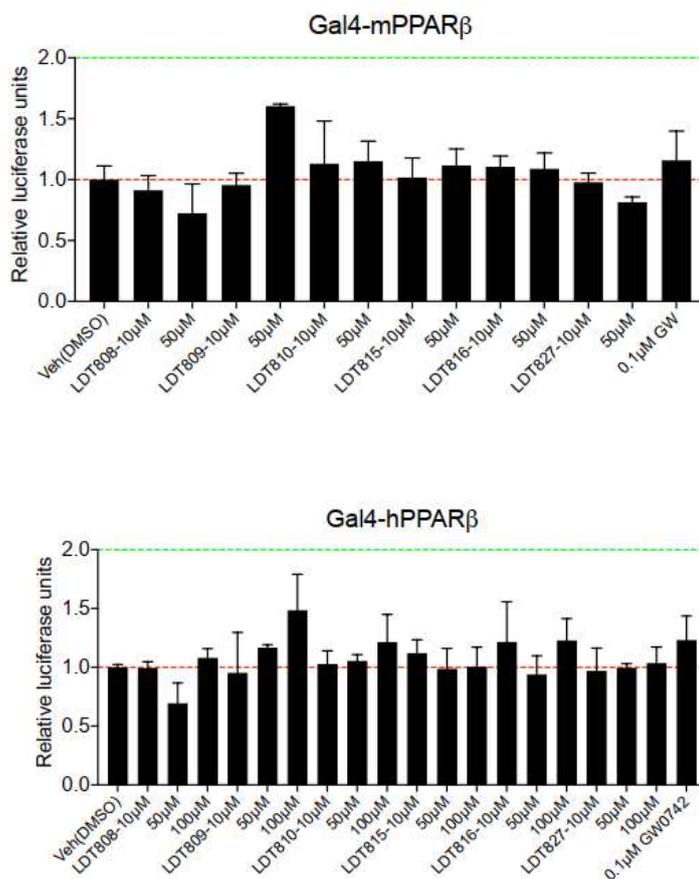
Figura 17: Valores de EC₅₀ para os compostos LDT808 (**46**), LDT809 (**47**), LDT815 (**48**) e LDT816 (**49**) no PPAR α .



6.2.1.2 PPAR β/δ

Para os ensaios com o receptor PPAR β/δ foram testados os compostos LDT827 (**44**), LDT810 (**45**), LDT808 (**46**), LDT809 (**47**), LDT815 (**48**) e LDT816 (**49**) nas concentrações de 10 μ M e 50 μ M para o modelo murino e de 10 μ M, 50 μ M e 100 μ M para o modelo humano. Para avaliar a atividade transcricional do receptor foram utilizados DMSO a 0,1 % como veículo e GW-0742 (**16**) como controle positivo (Figura **18**).

Figura 18: Atividade transcricional em PPAR β/δ dos derivados-alvo



Legenda: Os compostos LDT808 (**46**), LDT809 (**47**), LDT810 (**45**), LDT815 (**48**), LDT816 (**49**) e LDT827 (**44**) foram avaliados em concentrações de 10,0 μ M a 100,0 μ M, em células HEK293. Os dados foram representados na forma de média \pm EPM (N = 3). Unidades Relativas de Luciferase (RLU) = (Unidades de luz de luciferase / β -galactosidase) x tempo; (---); Limiar de ativação do veículo; (---) Limiar de ativação normalizado pela β -galactosidase.

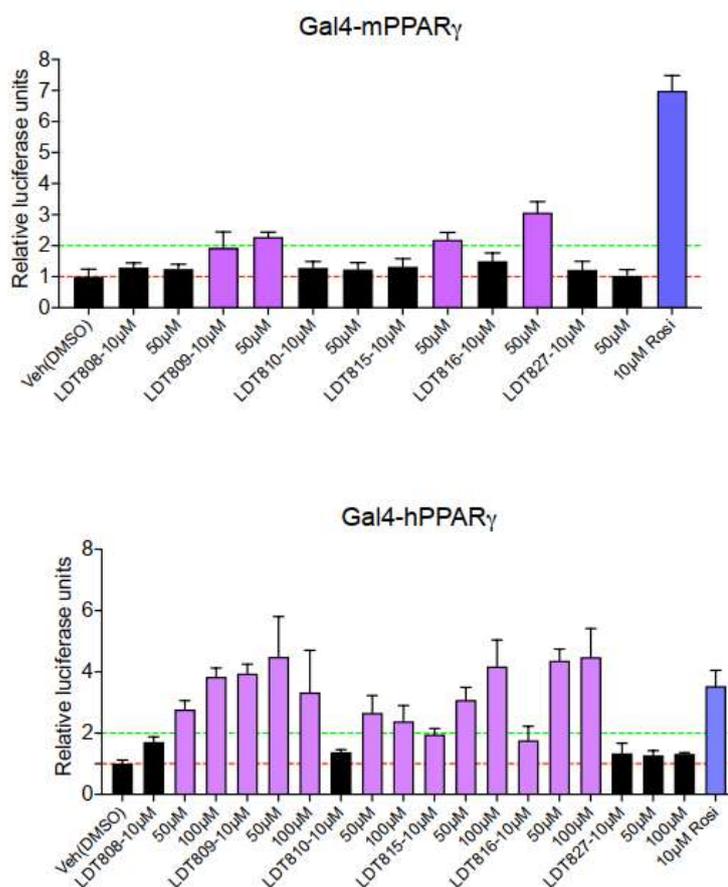
De acordo com a análise, os resultados obtidos são problemáticos e não confiáveis, uma vez que nenhum dos valores (dos derivados-alvo ou do controle positivo) se sobrepôs ao limiar de ativação normalizado (linha verde tracejada).

6.2.1.3 PPAR γ

A princípio, os derivados LDT827 (**44**), LDT810 (**45**), LDT808 (**46**), LDT809 (**47**), LDT815 (**48**) e LDT816 (**49**) foram testados frente à habilidade como agonistas de PPAR γ . Esta análise foi realizada através de ensaio com GAL4-hPPAR/GAL4-mPPAR, empregando DMSO a 0,1 % como veículo e o

agonista tiazolidinadiônico rosiglitazona (**24**) como controle positivo. Os compostos foram avaliados nas concentrações de 10 μM e 50 μM para o modelo murino e de 10 μM , 50 μM e 100 μM para o modelo humano. (Figura 19)

Figura 19: Atividade transcricional em PPAR γ dos derivados-alvo

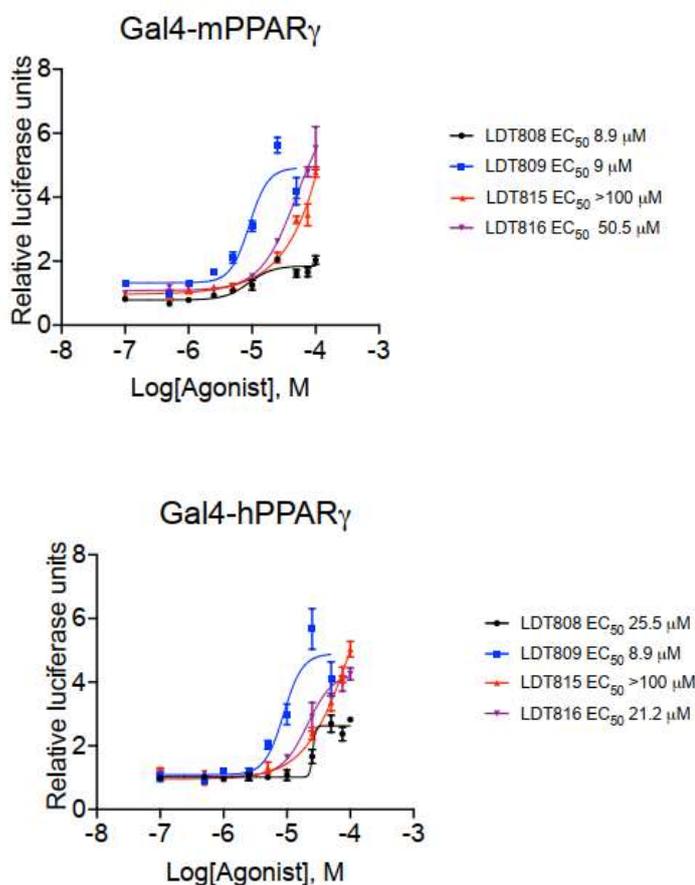


Legenda: Os compostos LDT808 (**46**), LDT809 (**47**), LDT810 (**45**), LDT815 (**48**), LDT816 (**49**) e LDT827 (**44**) foram avaliados em concentrações de 10,0 μM a 100,0 μM , em células HEK293. Os dados foram representados na forma de média \pm EPM (N = 3). Unidades Relativas de Luciferase (RLU) = (Unidades de luz de luciferase / β -galactosidase) x tempo; (---) Limiar de ativação do veículo; (---) Limiar de ativação normalizado pela β -galactosidase.

No modelo de análise murino, os derivados LDT809 (**47**), LDT815 (**48**) e LDT816 (**49**) apresentaram atividade agonística fraca em relação ao veículo, evidenciada pelo perfil de ativação duas vezes maior, indicando perfil de agonismo parcial. No modelo humano, os compostos LDT808 (**46**), LDT809 (**47**), LDT810 (**45**), LDT815 (**48**) e LDT816 (**49**) demonstraram aptidão na ativação do PPAR γ , sendo o LDT809 (**47**) considerado o melhor indutor transcricional, quando comparado ao controle positivo.

Posto que a atividade transcricional dos derivados foi determinada, em seguida, estes foram avaliados quanto as suas potencias individuais. Os compostos LDT808 (**46**), LDT809 (**47**), LDT815 (**48**) e LDT816 (**49**) foram avaliados em diferentes concentrações (10 nM – 100 μ M) e suas respectivas curvas dose-resposta foram determinadas. (Figura 20) Os derivados LDT808 (**46**) e LDT809 (**47**) apresentaram os melhores perfis de ativação no modelo murino, com EC_{50} de 8,9 μ M e 9,0 μ M, respectivamente. Outrossim, o LDT809 (**47**) foi caracterizado como o melhor derivado para ativação do modelo humano do receptor PPAR γ , exibindo EC_{50} de 8,9 μ M.

Figura 20: Valores de EC_{50} para os compostos LDT808 (**46**), LDT809 (**47**), LDT815 (**48**) e LDT816 (**49**) no PPAR γ .



Em tese, os derivados alvo LDT808 (**46**), LDT809 (**47**), LDT815 (**48**) e LDT816 (**49**) foram caracterizados como agonistas duais de PPAR, uma vez que foram capazes de ativar a transcrição dos subtipos α e γ do receptor em questão. Sabe-se que o aumento na indução transcricional desses receptores está associado ao grupamento ácido carboxílico (responsável por promover interações polares com os aminoácidos histidina e tirosina no LBD do receptor, viabilizando assim o recrutamento de proteínas correguladoras e a estabilização do receptor para ativação da transcrição) e ao grupo *gem*-dimetila na subunidade α -carbonila que mimetiza fibratos sintéticos. Alicerçado nesses dados, pode-se corroborar os resultados que indicam o LDT809 (**47**) como o melhor candidato a agonista parcial dual PPAR (DE OLIVEIRA et al., 2021; FERREIRA, 2018).

A atividade transcricional dos derivados alvos frente ao PPAR humano e seus respectivos valores de EC₅₀ estão ilustrados na Tabela 6.

Tabela 6: Perfil de atividade e valores de EC₅₀ (μ M) para derivados-alvo frente aos PPAR.

COMPOSTOS	EC ₅₀ (μ M)					
	Humano			Murino		
	PPAR α	PPAR β/δ	PPAR γ	PPAR α	PPAR β/δ	PPAR γ
LDT808 (46)	35,0	--	25,5	10,0	--	8,9
LDT809 (47)	9,5	--	8,9	3,4	--	9,0
LDT815 (48)	52,6	--	> 100,0	11,2	--	> 100,0
LDT816 (49)	29,6	--	21,2	9,1	--	50,5

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.

Adicionalmente, para facilitar a discussão, ainda que de forma arbitrária, utilizaremos as correlações estabelecidas na Tabela 7.

Tabela 7: Correlações entre os perfis de atividade transcricional para PPAR

RAZÃO MAIOR EC₅₀/ MENOR EC₅₀	Modulação		Estratégia	
	Negativa	Positiva	Negativa	Positiva
Zero	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 EC₅₀ 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 Comparação entre LDT409 e LDT809

Entre os principais objetivos deste estudo está a otimização da estrutura do composto-protótipo LDT409 (**39**) visando compreender a relevância das interações hidrofóbicas e da lipofilicidade para o reconhecimento molecular das subunidades pentadecila (C15) no composto (**39**) e octila (C8) no composto LDT809 (**47**). A Tabela 8 apresenta o perfil de atividade e valores de EC₅₀ (μM) para os compostos LDT409 (**39**) e LDT809 (**47**) frente aos PPAR.

Tabela 8: Perfil de atividade e valores de EC₅₀ (μM) para os compostos LDT409 (**39**) e LDT809 (**47**) frente aos PPAR. (FERREIRA, 2018)

COMPOSTOS	hEC ₅₀ (μM)		
	PPARα	PPAR β/δ	PPARγ
LDT409 (39)	0,7	21	1,8
LDT809 (47)	9,5	--	8,9

Considerando o aspecto estrutural dos compostos e a modulação do perfil de atividade para PPARα, a comparação entre os ácidos LDT809 (**47**) e LDT409 (**39**) revela que a diminuição da cadeia alquílica de 15 para 8 átomos de carbono leva à modulação negativa significativa de 13 vezes do perfil de ativação, e demonstra que a estratégia de desomologação da cadeia ao homólogo inferior com oito carbonos é tolerada para o reconhecimento molecular pelo alvo.

A análise para o PPARβ/δ mostra que apenas o composto LDT409 (**39**) apresenta perfil de ativação do receptor. Neste caso, a diminuição da cadeia alquílica foi deletéria, sugerindo que a presença de mais átomos de carbono é necessária para ativação do receptor.

Por fim, a comparação dos compostos **39** e **47** frente ao PPARγ mostra modulação negativa não significativa de 5 vezes do perfil de ativação, sendo a estratégia de diminuição da cadeia bem tolerada para o reconhecimento molecular pelo receptor.

Conclusões e Perspectivas

7.1 CONCLUSÕES

A metodologia sintética projetada para obtenção a dos derivados alvo a partir da mistura de cardanois (LDT10i, **39**) mostrou-se muito eficaz, tendo em vista que os dez derivados sintetizados com base nesta metodologia apresentaram rendimentos globais variando de 60% a 92%. As metodologias utilizadas para obtenção dos compostos, sendo elas desenvolvidas em laboratório ou adaptadas da literatura, compreenderam reações clássicas de interconversão de grupos funcionais, sob condições experimentais à temperatura ambiente ou sob refluxo, consistentes com os paradigmas e conceitos em Química Farmacêutica e Medicinal. A caracterização estrutural dos compostos intermediários e derivados alvo ocorreu por meio de 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, avaliou o potencial (por determinação dos valores de EC_{50} frente aos controles) dos compostos sintetizados em relação aos receptores PPAR, uma vez que os derivados LDT808 (**46**), LDT809 (**47**) e LDT816 (**49**) foram capazes de promover a ativação a transcricional desses receptores com valores de EC_{50} em concentrações micromolar. Posto isto, vale-se destacar o desempenho do derivado ácido LDT809 (**47**) que, além de apresentar perfil de agonista parcial também propiciou a ativação de dois subtipos do receptor: PPAR α ($h\text{EC}_{50} = 9,5 \mu\text{M}$; $m\text{EC}_{50} = 3,4 \mu\text{M}$) e PPAR γ ($h\text{EC}_{50} = 8,9 \mu\text{M}$; $m\text{EC}_{50} = 9,0 \mu\text{M}$).

O segundo derivado com melhor perfil de ativação foi o LDT816 (**49**) – PPAR α ($h\text{EC}_{50} = 29,6 \mu\text{M}$; $m\text{EC}_{50} = 9,1 \mu\text{M}$) e o PPAR γ ($h\text{EC}_{50} = 21,2 \mu\text{M}$; $m\text{EC}_{50} = 50,5 \mu\text{M}$) – reforçando a noção de que o grupo ácido carboxílico aumenta a potência dos compostos por meio de interações polares entre o carboxilato e os 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, a presença do grupo dimetila

na subunidade alfa-carbonila, mimetizando os fibratos, resultou em melhores perfis de ativação transcricional dos PPARs, sugerindo a importância da rigidez conformacional, assim como de interações hidrofóbicas adicionais no aumento da potência mediada pelos compostos.

A relação estrutura-atividade para os derivados ácidos LDT809 (**47**) e LDT409 (**39**) evidenciou que a diminuição da cadeia alquílica de 15 para 8 carbonos leva à diminuição do perfil de ativação para os PPAR α e PPAR γ , e a perda do perfil para o PPAR β/δ . Neste sentido, a estratégia de desomologação da cadeia ao homólogo inferior com oito carbonos é tolerada para PPAR α , bem tolerada para PPAR γ e deletéria para PPAR β/δ .

Desta forma, pode-se inferir que os resultados obtidos foram suficientes para validar o planejamento estrutural postulado, além de evidenciar a aptidão dos derivados em atuarem sobre os receptores PPAR α e PPAR γ . Haja vista que a atual farmacoterapia utilizada para o tratamento da DHGNA apresenta limitações relacionadas a efeitos adversos – como distúrbios gastrointestinais, hipoglicemia, disfunção hepática, mialgia, ganho de peso e danos cardiovasculares –, o papel dos derivados-alvo ativadores duais de PPAR faz-se ainda mais relevante, apontando-os como uma possível terapêutica para o tratamento desta patologia.

7.2 PERSPECTIVAS

Respalado nessas conclusões, pode-se afirmar que constituem perspectivas futuras a este trabalho a otimização dos rendimentos globais reacionais e a determinação parâmetros teóricos e experimentais de pKa, CLogP, CLogD e solubilidade dos derivados-alvo bem como as avaliações da toxicidade farmacológica, 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 ligantes e o do estabelecimento da relação estrutura-propriedade-atividade química dos possíveis agonistas duais PPAR α/γ .

Referências Bibliográficas

AGUS, A.; CLÉMENT, K.; SOKOL, H. Gut microbiota-derived metabolites as central regulators in metabolic disorders. **Gut**, vol. 70, n° 6, p. 1174–1182, 1 jun. 2021. <https://doi.org/10.1136/gutjnl-2020-323071>.

ANDRADE, T. D. J. A. D. S.; ARAÚJO, B. Q.; CITÓ, A. M. D. G. L.; DA SILVA, J.; SAFFI, J.; RICHTER, M. F.; FERRAZ, A. D. B. F. Antioxidant properties and chemical composition of technical Cashew Nut Shell Liquid (tCNSL). **Food Chemistry**, vol. 126, n° 3, p. 1044–1048, 1 jun. 2011. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.11.122>.

ARAÚJO, M. N.; VISCONTE, L. L. Y.; BARRETO, D. W.; ESCÓCIO, V. A.; DA SILVA, A. L. N.; DE SOUSA, A. M. F.; PACHECO, E. B. A. V. The Use of Cashew Nut Shell Liquid (CNSL) in PP/HIPS Blends: Morphological, Thermal, Mechanical and Rheological Properties. **Materials**, vol. 12, n° 1904, 1 jun. 2019. <https://doi.org/10.3390/ma12121904>.

BHUNIA, H. P.; BASAK, A.; CHAKI, T. K.; NANDO, G. B. Synthesis and characterization of polymers from cashewnut shell liquid: a renewable resource V. Synthesis of copolyester. **European Polymer Journal**, vol. 36, p. 1157–1165, 2000.

BLITEK, A.; SZYMANSKA, M. Peroxisome proliferator-activated receptor β/δ and γ agonists differentially affect prostaglandin E2 and cytokine synthesis and nutrient transporter expression in porcine trophoblast cells during implantation. **Theriogenology**, vol. 152, p. 36–46, 1 ago. 2020. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2020.04.024>.

BOECKMANS, J.; NATALE, A.; ROMBAUT, M.; BUYL, K.; ROGIERS, V.; DE KOCK, J.; VANHAECKE, T.; RODRIGUES, R. M. Anti-NASH Drug Development Hitches a Lift on PPAR Agonism. **Cells**, vol. 9, n° 37, 1 jan. 2020. <https://doi.org/10.3390/cells9010037>.

BORGES, J. Cashew tree (*Anacardium occidentale*): Possible applications in dermatology. **Clinics in Dermatology**, vol. 23, n° 30, p. 493–495, 1 maio 2021. <https://doi.org/10.1016/j.clindermatol.2020.11.014>.

BOTTA, M.; AUDANO, M.; SAHEBKAR, A.; SIRTORI, C. R.; MITRO, N.; RUSCICA, M. PPAR agonists and metabolic syndrome: An established role? **International Journal of Molecular Sciences**, vol. 19, n° 1197, 14 abr. 2018. <https://doi.org/10.3390/ijms19041197>.

BRUNETTI, L.; LAGHEZZA, A.; LOIODICE, F.; TORTORELLA, P.; PIEMONTESE, L. Combining fatty acid amide hydrolase (FAAH) inhibition with peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR) activation: A new potential multi-target therapeutic strategy for the treatment of Alzheimer's disease. **Neural Regeneration Research**, vol. 15, nº 1, p. 67–68, 1 jan. 2020. <https://doi.org/10.4103/1673-5374.264458>.

CAPELLI, D.; CERCHIA, C.; MONTANARI, R.; LOIODICE, F.; TORTORELLA, P.; LAGHEZZA, A.; CERVONI, L.; POCHEZZI, G.; LAVECCHIA, A. Structural basis for PPAR partial or full activation revealed by a novel ligand binding mode. **Scientific Reports**, vol. 6, nº 34792, 6 out. 2016. <https://doi.org/10.1038/srep34792>.

CHANG, D.; FENG, S.; GIRIK, V.; RIEZMAN, H.; WINSSINGER, N. Luciferase Controlled Protein Interactions. **Journal of the American Chemical Society**, vol. 143, nº 10, p. 3665–3670, 17 mar. 2021. <https://doi.org/10.1021/jacs.0c11016>.

CHENG, H. S.; TAN, W. R.; LOW, Z. S.; MARVALIM, C.; LEE, J. Y. H.; TAN, N. S. Exploration and development of PPAR modulators in health and disease: An update of clinical evidence. **International Journal of Molecular Sciences**, vol. 20, nº 5055, 2 out. 2019. <https://doi.org/10.3390/ijms20205055>.

CHRISTOFIDES, A.; KONSTANTINIDOU, E.; JANI, C.; BOUSSIOTIS, V. A. The role of peroxisome proliferator-activated receptors (PPAR) in immune responses. **Metabolism: Clinical and Experimental**, vol. 114, 1 jan. 2021. <https://doi.org/10.1016/j.metabol.2020.154338>.

DE OLIVEIRA, E. C. L.; SANTANA, K.; JOSINO, L.; LIMA, A. H. L. e; DE SALES JÚNIOR, C. de S. Predicting cell-penetrating peptides using machine learning algorithms and navigating in their chemical space. **Scientific Reports**, vol. 11, nº 7628, 1 dez. 2021. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-87134-w>.

DE ROBERTIS, E. M.; HIB, J. Capítulo 10 - Peroxissomos: Detoxificação Celular. **Biologia Celular e Molecular**. [S. l.: s. n.], 2014.

DE SOUZA, M. Q.; TEOTÔNIO, I. M. S. N.; DE ALMEIDA, F. C.; HEYN, G. S.; ALVES, P. S.; ROMEIRO, L. A. S.; PRATESI, R.; DE MEDEIROS NÓBREGA, Y. K.; PRATESI, C. B. Molecular evaluation of anti-inflammatory activity of phenolic lipid extracted from cashew nut shell liquid (CNSL). **BMC Complementary and Alternative Medicine**, vol. 18, nº 181, 11 jun. 2018. <https://doi.org/10.1186/s12906-018-2247-0>.

DUBOIS, V.; EECKHOUTE, J.; LEFEBVRE, P.; STAELS, B. Distinct but complementary contributions of PPAR isotypes to energy homeostasis. **Journal**

of **Clinical Investigation**, vol. 127, nº 4, p. 1202–1214, 3 abr. 2017. <https://doi.org/10.1172/JCI88894>.

FERREIRA, T. de A. M. **Síntese de Derivados do Cardanol e Avaliação sobre Receptores Ativados por Proliferadores Peroxissomais**. 2018. Universidade de Brasília, Brasília, 2018.

FILIPOVIC, B.; LUKIC, S.; MIJAC, D.; MARJANOVIC-HALJILJI, M.; VOJNOVIC, M.; BOGDANOVIC, J.; GLISIC, T.; FILIPOVIC, N.; KISWANI, J. Al; DJOKOVIC, A.; KAPOR, S.; KAPOR, S.; BUKUMIRIC, Z.; STARCEVIC, A. The new therapeutic approaches in the treatment of non-alcoholic fatty liver disease. **International Journal of Molecular Sciences**, vol. 22, nº 13219, 1 dez. 2021. <https://doi.org/10.3390/ijms222413219>.

FRIGO, D. E.; BONDESSON, M.; WILLIAMS, C. Nuclear receptors: From molecular mechanisms to therapeutics. **Essays in Biochemistry**, vol. 65, nº 6, p. 847–856, 1 nov. 2021. <https://doi.org/10.1042/EBC20210020>.

FRUCHART, J. C.; SANTOS, R. D.; AGUILAR-SALINAS, C.; AIKAWA, M.; AL RASADI, K.; AMARENCO, P.; BARTER, P. J.; CESKA, R.; CORSINI, A.; DESPRÉS, J. P.; DURIEZ, P.; ECKEL, R. H.; EZHOV, M. v.; FARNIER, M.; GINSBERG, H. N.; HERMANS, M. P.; ISHIBASHI, S.; KARPE, F.; KODAMA, T.; ... LIBBY, P. The selective peroxisome proliferator-activated receptor alpha modulator (SPPARM α) paradigm: Conceptual framework and therapeutic potential. **Cardiovascular Diabetology**, vol. 18, nº 71, 4 jun. 2019. <https://doi.org/10.1186/s12933-019-0864-7>.

FRUCHART, J.-C.; HERMANS, M. P.; FRUCHART-NAJIB, J.; KODAMA, T. Selective Peroxisome Proliferator-Activated Receptor Alpha Modulators (SPPARM α) in the Metabolic Syndrome: Is Pema-fibrate Light at the End of the Tunnel? **Current Atherosclerosis Reports**, vol. 23, nº 3, 2021. DOI 10.1007/s11883-020-00897-x/Published. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s11883-020-00897-x>.

HAMAD, F. B.; MUBOFU, E. B. Potential biological applications of bio-based anacardic acids and their derivatives. **International Journal of Molecular Sciences**, vol. 16, nº 4, p. 8569–8590, 16 abr. 2015. <https://doi.org/10.3390/ijms16048569>.

HAN, L.; SHEN, W. J.; BITTNER, S.; KRAEMER, F. B.; AZHAR, S. PPARs: Regulators of metabolism and as therapeutic targets in cardiovascular disease. Part I: PPAR- α . **Future Cardiology**, vol. 13, nº 3, p. 259–278, 1 maio 2017a. <https://doi.org/10.2217/fca-2016-0059>.

HAN, L.; SHEN, W. J.; BITTNER, S.; KRAEMER, F. B.; AZHAR, S. PPARs: Regulators of metabolism and as therapeutic targets in cardiovascular disease.

Part II: PPAR- β/δ and PPAR- γ . **Future Cardiology**, vol. 13, n° 3, p. 279–296, 1 maio 2017b. <https://doi.org/10.2217/fca-2017-0019>.

HONG, F.; PAN, S.; GUO, Y.; XU, P.; ZHAI, Y. PPARs as nuclear receptors for nutrient and energy metabolism. **Molecules**, vol. 24, n° 2545, 2019. <https://doi.org/10.3390/molecules24142545>.

HUANG, T.; BEHARY, J.; ZEKRY, A. Non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD): a review of epidemiology, risk factors, diagnosis and management. **Internal Medicine Journal**, vol. 50, n° 9, p. 1038–1047, 1 set. 2020. <https://doi.org/10.1111/imj.14709>.

ISHTIAQ, S. M.; RASHID, H.; HUSSAIN, Z.; ARSHAD, M. I.; KHAN, J. A. Adiponectin and PPAR: a setup for intricate crosstalk between obesity and non-alcoholic fatty liver disease. **Reviews in Endocrine and Metabolic Disorders**, vol. 20, n° 3, p. 253–261, 1 set. 2019. <https://doi.org/10.1007/s11154-019-09510-2>.

JONATHAN, M. C.; ADRIÁN, S. H.; GONZALO, A. Type II nuclear receptors with potential role in Alzheimer disease. **Molecular Aspects of Medicine**, vol. 78, 1 abr. 2021. <https://doi.org/10.1016/j.mam.2020.100940>.

JUANOLA, O.; MARTÍNEZ-LÓPEZ, S.; FRANCÉS, R.; GÓMEZ-HURTADO, I. Non-alcoholic fatty liver disease: Metabolic, genetic, epigenetic and environmental risk factors. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, vol. 18, n° 5227, 2 maio 2021. <https://doi.org/10.3390/ijerph18105227>.

KASONGA, A.; KRUGER, M. C.; COETZEE, M. Activation of PPARs modulates signalling pathways and expression of regulatory genes in osteoclasts derived from human CD14+ monocytes. **International Journal of Molecular Sciences**, vol. 20, n° 1798, 1 abr. 2019. <https://doi.org/10.3390/ijms20071798>.

KROKER, A. J.; BRUNING, J. B. Review of the Structural and Dynamic Mechanisms of PPAR γ Partial Agonism. **PPAR Research**, vol. 2015, 2015. <https://doi.org/10.1155/2015/816856>.

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**, vol. 23, n° 4305, 1 abr. 2022. <https://doi.org/10.3390/ijms23084305>.

LEFERE, S.; PUENGEL, T.; HUNDERTMARK, J.; PENNERS, C.; FRANK, A. K.; GUILLOT, A.; DE MUYNCK, K.; HEYMANN, F.; ADARBES, V.; DEFRÊNE, E.; ESTIVALET, C.; GEERTS, A.; DEVISSCHER, L.; WETTSTEIN, G.; TACKE,

F. Differential effects of selective- and pan-PPAR agonists on experimental steatohepatitis and hepatic macrophages☆. **Journal of Hepatology**, vol. 73, n° 4, p. 757–770, 1 out. 2020. <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2020.04.025>.

LI, Yi; WANG, F.; IMANI, S.; TAO, L.; DENG, Y.; CAI, Y. Natural Killer Cells: Friend or Foe in Metabolic Diseases? **Frontiers in Immunology**, vol. 12, n° 614429, 24 fev. 2021. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.614429>.

LI, Yunwei; KS, N.; BYRAN, G.; KRISHNAMURTHY, P. T. Identification of Selective PPAR-γ Modulators by Combining Pharmacophore Modeling, Molecular Docking, and Adipogenesis Assay. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, vol. 195, n° 2, p. 1014–1041, 1 fev. 2023. <https://doi.org/10.1007/s12010-022-04190-2>.

LIU, J.; YAO, Q.; XIAO, L.; MA, W.; LI, F.; LAI, B.; WANG, N. PPARγ induces NEDD4 gene expression to promote autophagy and insulin action. **The FEBS Journal**, vol. 287, n° 3, p. 529–545, 1 fev. 2020. <https://doi.org/10.1111/febs.15042>.

LIU, S.; SU, Y.; LIN, M. Z.; RONALD, J. A. Brightening up Biology: Advances in Luciferase Systems for in Vivo Imaging. **ACS Chemical Biology**, vol. 16, n° 12, p. 2707–2718, 17 dez. 2021. <https://doi.org/10.1021/acscchembio.1c00549>.

MARJOT, T.; MOOLLA, A.; COBBOLD, J. F.; HODSON, L.; TOMLINSON, J. W. Nonalcoholic Fatty Liver Disease in Adults: Current Concepts in Etiology, Outcomes, and Management. **Endocrine Reviews**, vol. 41, n° 1, p. 66–117, 7 fev. 2020. <https://doi.org/10.1210/endrev/bnz009>.

MIRZA, A. Z.; ALTHAGAFI, I. I.; SHAMSHAD, H. Role of PPAR receptor in different diseases and their ligands - Physiological importance and clinical implications. **European Journal of Medicinal Chemistry**, vol. 166, p. 502–513, 2019.

MUBOFU, E. B.; MGAYA, J. E. Chemical Valorization of Cashew Nut Shell Waste. **Topics in Current Chemistry**, vol. 376, n° 8, 1 abr. 2018. <https://doi.org/10.1007/s41061-017-0177-9>.

NANJAN, M. J.; MOHAMMED, M.; KUMAR, B. R. P.; CHANDRASEKAR, M. J. N. Thiazolidinediones as antidiabetic agents: A critical review. **Bioorganic Chemistry**, vol. 77, p. 548–567, 1 abr. 2018. <https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2018.02.009>.

NAUCK, M. A.; WEFERS, J.; MEIER, J. J. Treatment of type 2 diabetes: challenges, hopes, and anticipated successes. **The Lancet Diabetes and**

Endocrinology, vol. 9, nº 8, p. 525–544, 1 ago. 2021. [https://doi.org/10.1016/S2213-8587\(21\)00113-3](https://doi.org/10.1016/S2213-8587(21)00113-3).

NYIRENDA, J.; ZOMBE, K.; KALABA, G.; SIABBAMBA, C.; MUKELA, I. Exhaustive valorization of cashew nut shell waste as a potential bioresource material. **Scientific Reports**, vol. 11, nº 1, 1 dez. 2021. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-91571-y>.

OLIVEIRA, N. N.; MOTHÉ, C. G.; MOTHÉ, M. G.; DE OLIVEIRA, L. G. Cashew nut and cashew apple: a scientific and technological monitoring worldwide review. **Journal of Food Science and Technology**, vol. 57, nº 1, p. 12–21, 1 jan. 2020. <https://doi.org/10.1007/s13197-019-04051-7>.

POWELL, E. E.; WONG, V. W. S.; RINELLA, M. Non-alcoholic fatty liver disease. **The Lancet**, vol. 397, nº 10290, p. 2212–2224, 5 jun. 2021. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)32511-3](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)32511-3).

RWAHWIRE, S.; TOMKOVA, B.; PERIYASAMY, A. P.; KALE, B. M. Chapter 3 - Green thermoset reinforced biocomposites. **Green Composites for Automotive Applications**. [S. l.]: Elsevier, 2019. p. 61–80. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-102177-4.00003-3>.

SBLANO, S.; CERCHIA, C.; LAGHEZZA, A.; PIEMONTESE, L.; BRUNETTI, L.; LEUCI, R.; GILARDI, F.; THOMAS, A.; GENOVESE, M.; SANTI, A.; TORTORELLA, P.; LAVECCHIA, A.; LOIODICE, F. A chemoinformatics search for peroxisome proliferator-activated receptors ligands revealed a new pan-agonist able to reduce lipid accumulation and improve insulin sensitivity. **European Journal of Medicinal Chemistry**, vol. 235, nº 114240, 2022. .

SERRANO, L. A. L.; DE OLIVEIRA, V. H. Aspectos botânicos, fenologia e manejo da cultura do cajueiro. *In*: DE ARAÚJO, J. P. P. (org.). **Agronegócio Caju: Práticas e Inovações**. [S. l.]: Embrapa, 2013a. p. 77–165.

SERRANO, L. A. L.; DE OLIVEIRA, V. H. Capítulo 3 - Aspectos botânicos, fenologia e manejo da cultura do cajueiro. **Agronegócio Caju: Práticas e Inovações**. [S. l.: s. n.], 2013b. p. 77–165.

SHI, Y.; ZOU, Y.; SHEN, Z.; XIONG, Y.; ZHANG, W.; LIU, C.; CHEN, S. Trace elements, PPARs, and metabolic syndrome. **International Journal of Molecular Sciences**, vol. 21, nº 2612, 1 abr. 2020. <https://doi.org/10.3390/ijms21072612>.

SOUZA, N. de O.; CUNHA, D. A.; RODRIGUES, N. de S.; PEREIRA, A. L.; MEDEIROS, E. J. T.; PINHEIRO, A. de A.; DE VASCONCELOS, M. A.; DO NASCIMENTO NETO, L. G.; BEZERRA, T. T.; MAZZETTO, S. E.;

LOMONACO, D.; TEIXEIRA, E. H.; SABOIA, V. de P. A. Cashew nut shell liquids: Antimicrobial compounds in prevention and control of the oral biofilms. **Archives of Oral Biology**, vol. 133, 1 jan. 2022. <https://doi.org/10.1016/j.archoralbio.2021.105299>.

SPEIGHT, J. G. Chapter 5 - Sorption, Dilution, and Dissolution. **Reaction Mechanisms in Environmental Engineering**. [S. l.]: Elsevier, 2018a. p. 165–201. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-804422-3.00005-5>.

SPEIGHT, J. G. Chapter 9 - Molecular Interactions, Partitioning, and Thermodynamics. **Reaction Mechanisms in Environmental Engineering**. [S. l.]: Elsevier, 2018b. p. 307–336. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-804422-3.00009-2>.

TILLMAN, E. J.; ROLPH, T. FGF21: An Emerging Therapeutic Target for Non-Alcoholic Steatohepatitis and Related Metabolic Diseases. **Frontiers in Endocrinology**, vol. 11, nº 601290, 14 dez. 2020. <https://doi.org/10.3389/fendo.2020.601290>.

WAGNER, N.; WAGNER, K. D. The Role of PPARs in Disease. **Cells**, vol. 9, nº 2367, 28 out. 2020. <https://doi.org/10.3390/cells9112367>.

WANG, Y.; NAKAJIMA, T.; GONZALEZ, F. J.; TANAKA, N. PPARs as metabolic regulators in the liver: Lessons from liver-specific PPAR-null mice. **International Journal of Molecular Sciences**, vol. 21, nº 2061, 2 mar. 2020. <https://doi.org/10.3390/ijms21062061>.

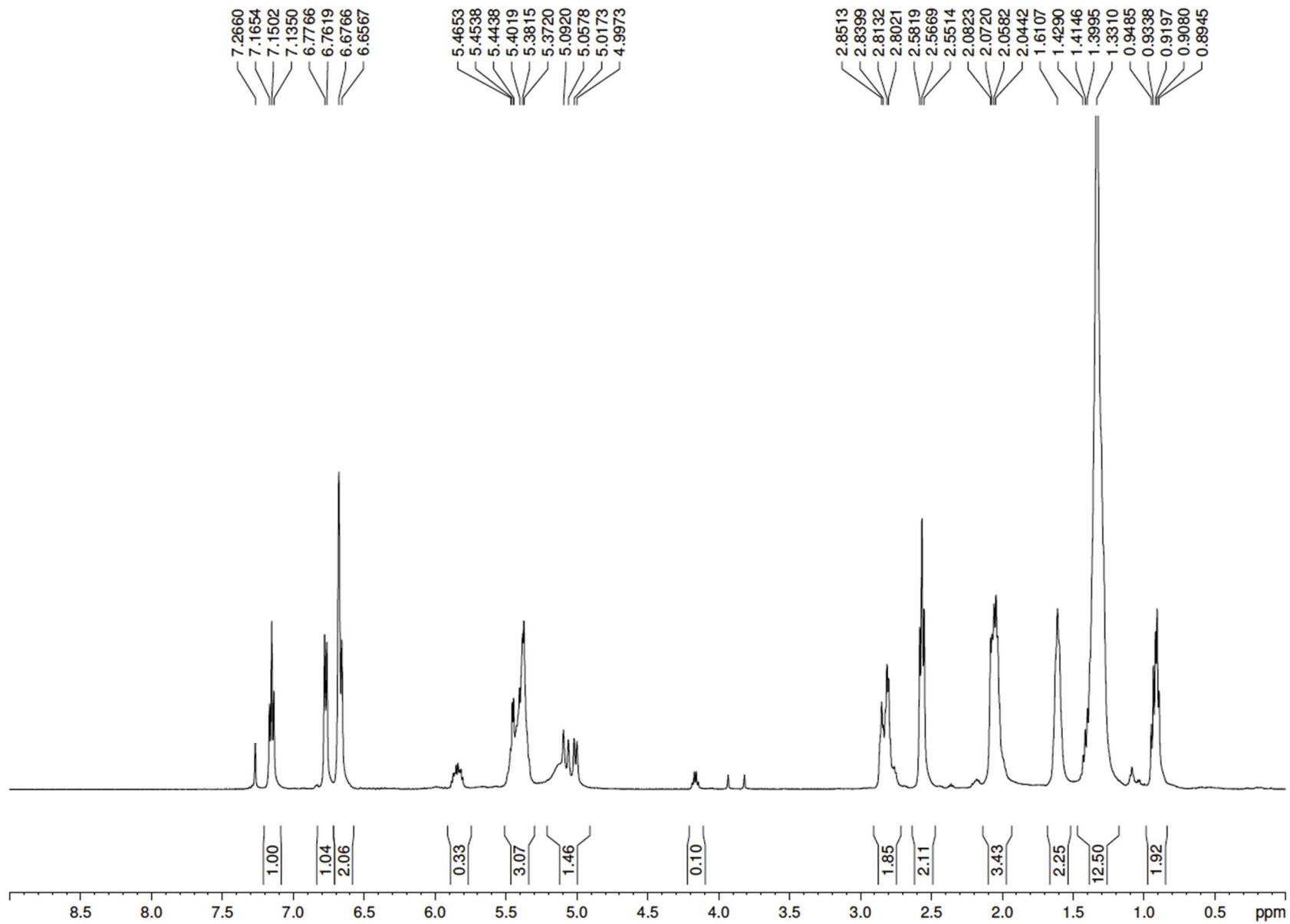
WEIKUM, E. R.; LIU, X.; ORTLUND, E. A. The nuclear receptor superfamily: A structural perspective. **Protein Science**, vol. 27, nº 11, p. 1876–1892, 1 nov. 2018. <https://doi.org/10.1002/pro.3496>.

XI, Y.; ZHANG, Y.; ZHU, S.; LUO, Y.; XU, P.; HUANG, Z. PPAR-Mediated Toxicology and Applied Pharmacology. **Cells**, vol. 9, nº 352, 3 fev. 2020. <https://doi.org/10.3390/cells9020352>.

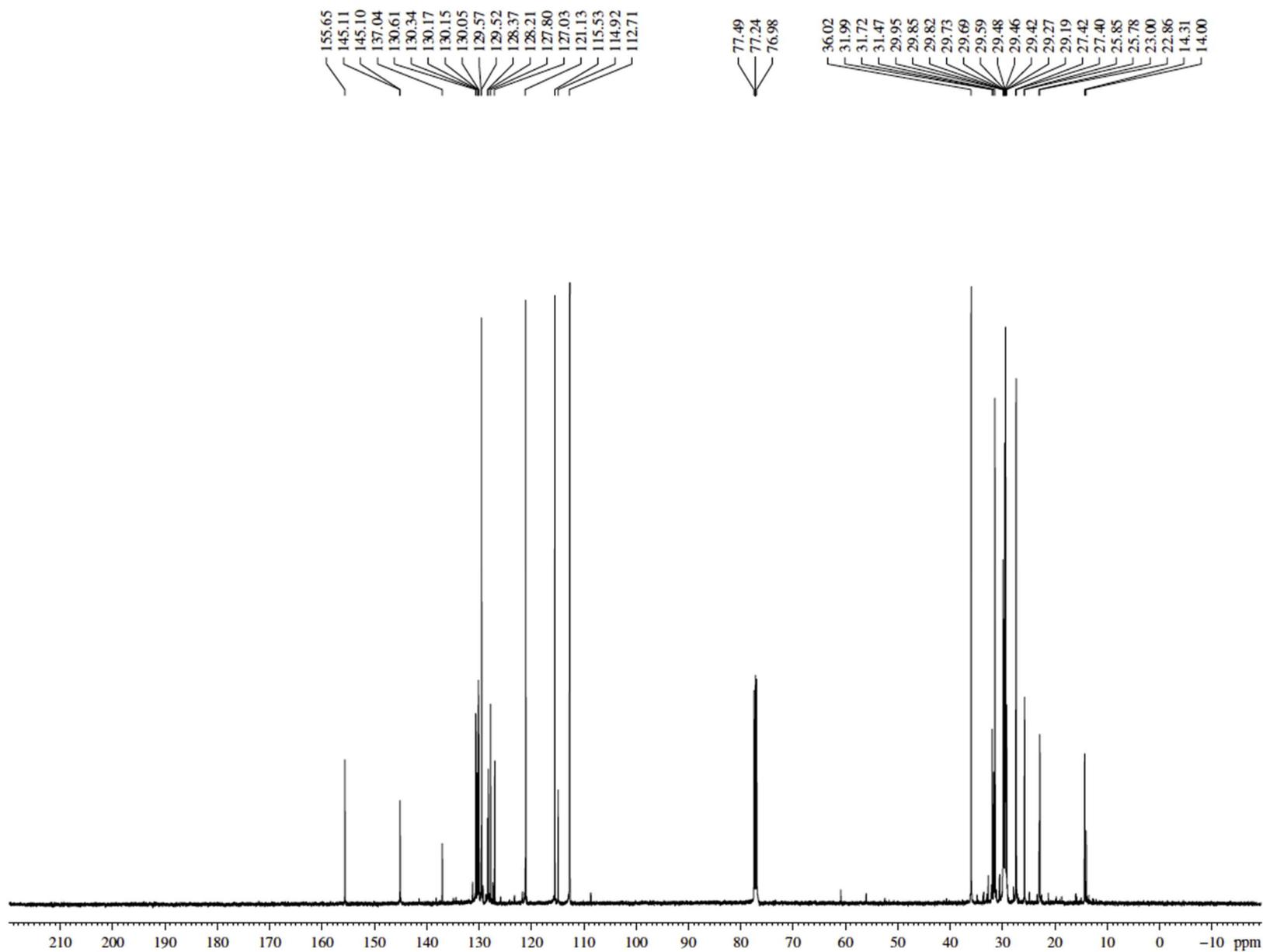
XU, P.; ZHAI, Y.; WANG, J. The role of PPAR and its cross-talk with CAR and LXR in obesity and atherosclerosis. **International Journal of Molecular Sciences**, vol. 19, nº 1260, 23 abr. 2018. <https://doi.org/10.3390/ijms19041260>.

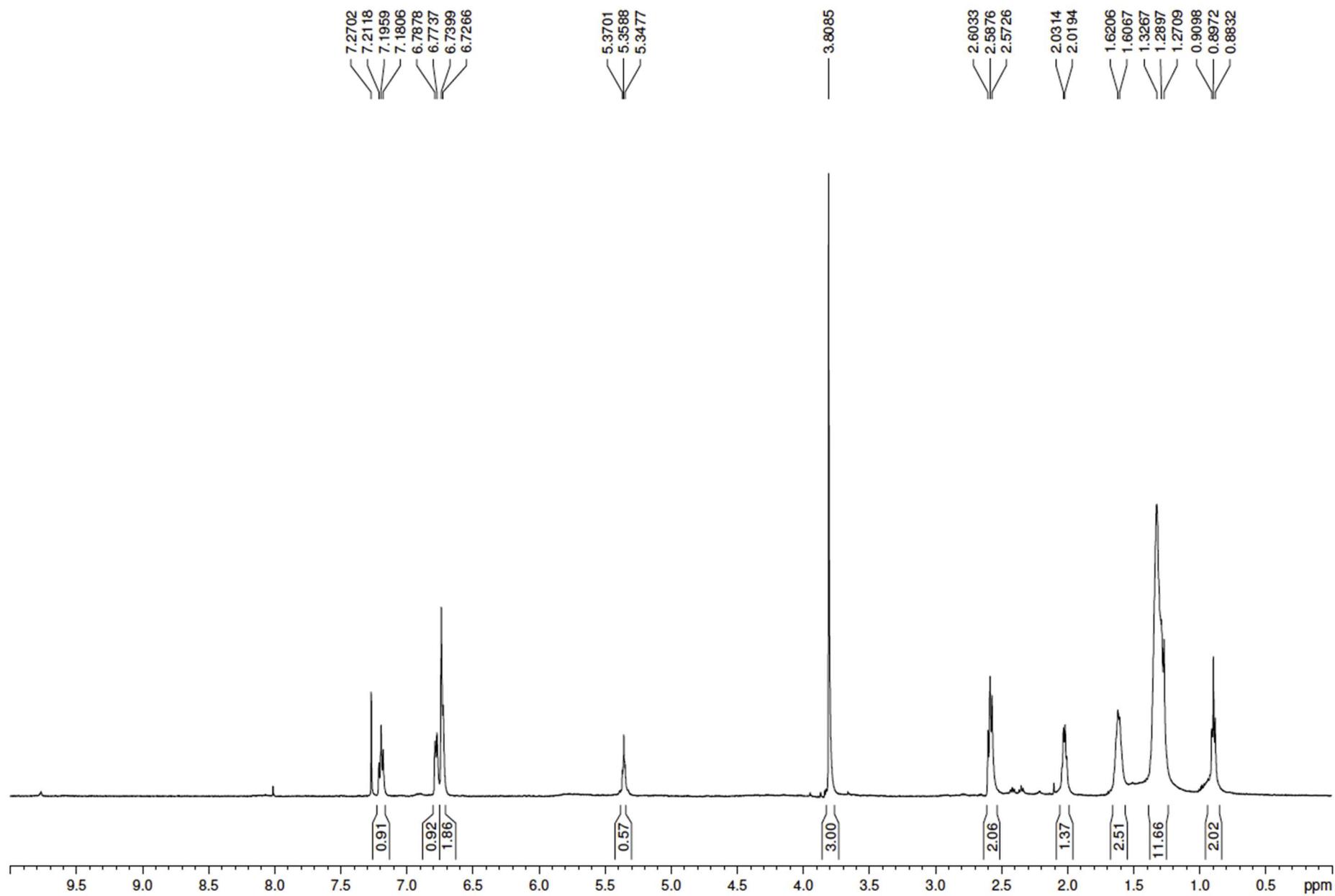
XU, X.; YI, H.; WU, J.; KUANG, T.; ZHANG, J.; LI, Q.; DU, H.; XU, T.; JIANG, G.; FAN, G. Therapeutic effect of berberine on metabolic diseases: Both pharmacological data and clinical evidence. **Biomedicine and Pharmacotherapy**, vol. 133, nº 110984, 1 jan. 2021. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2020.110984>.

Anexos

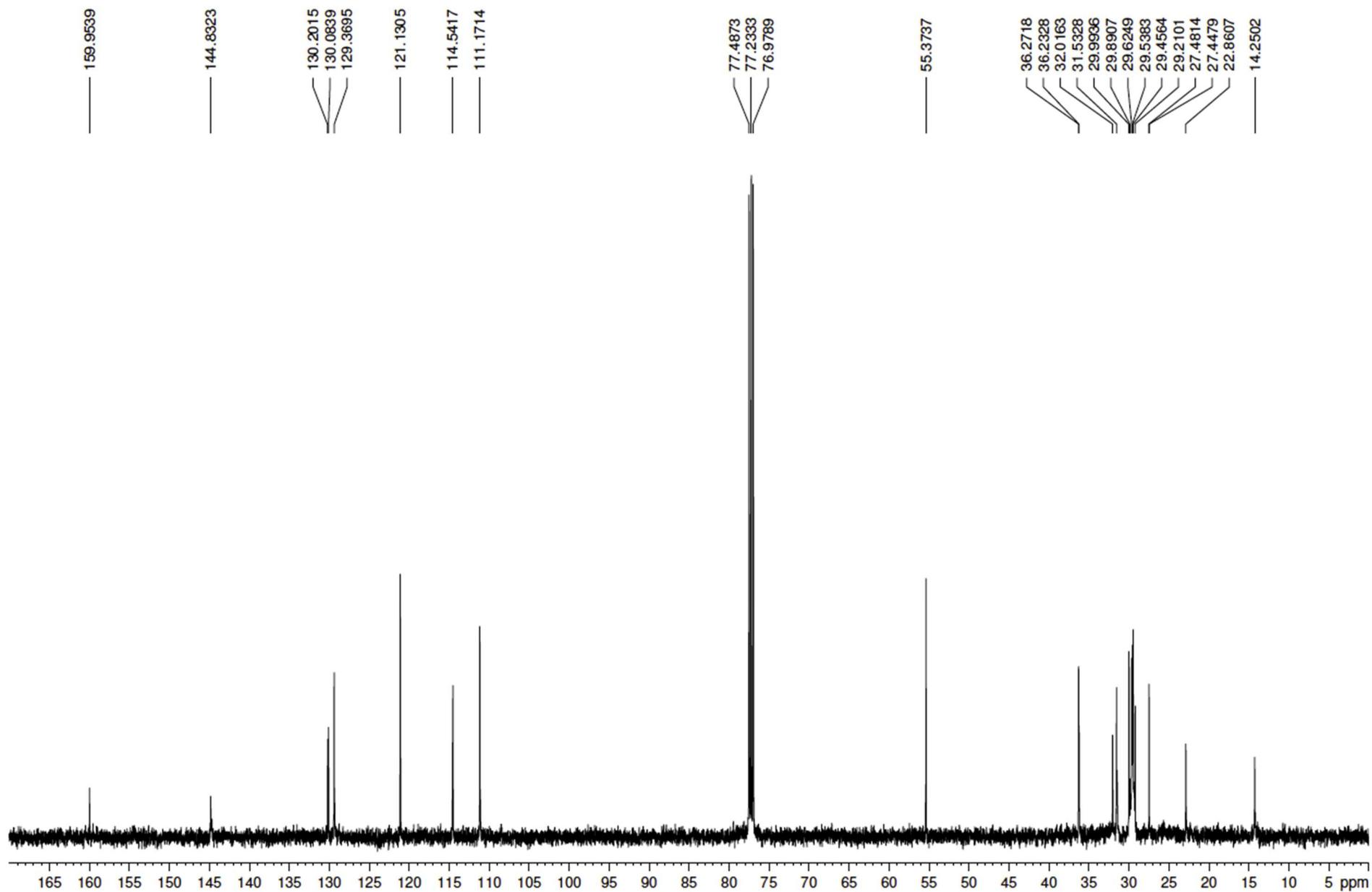
Espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) da mistura de cardanois (LDT10i, **40**)

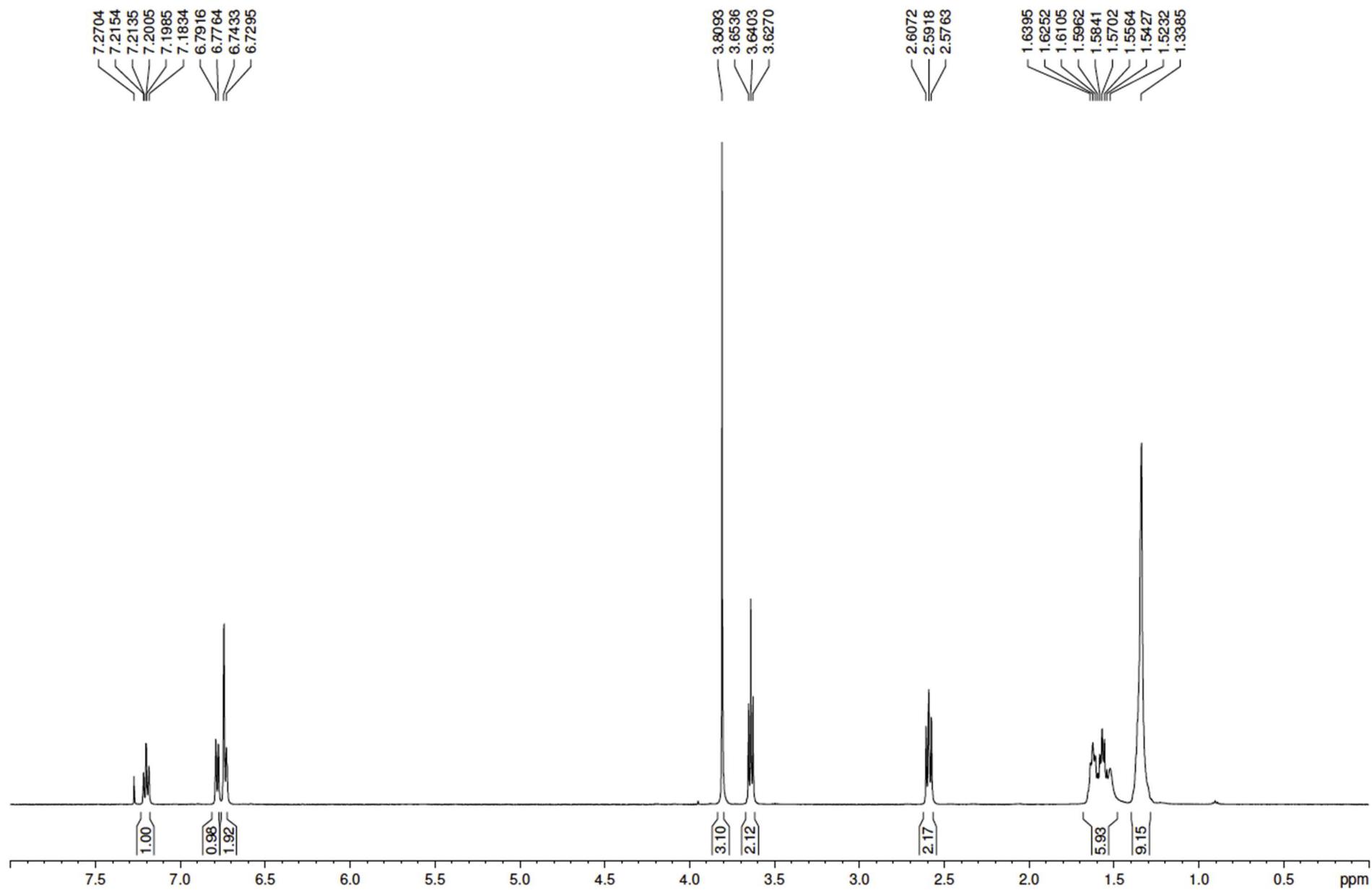
Espectro de RMN de ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) da mistura de cardanois (LDT10i, **40**)



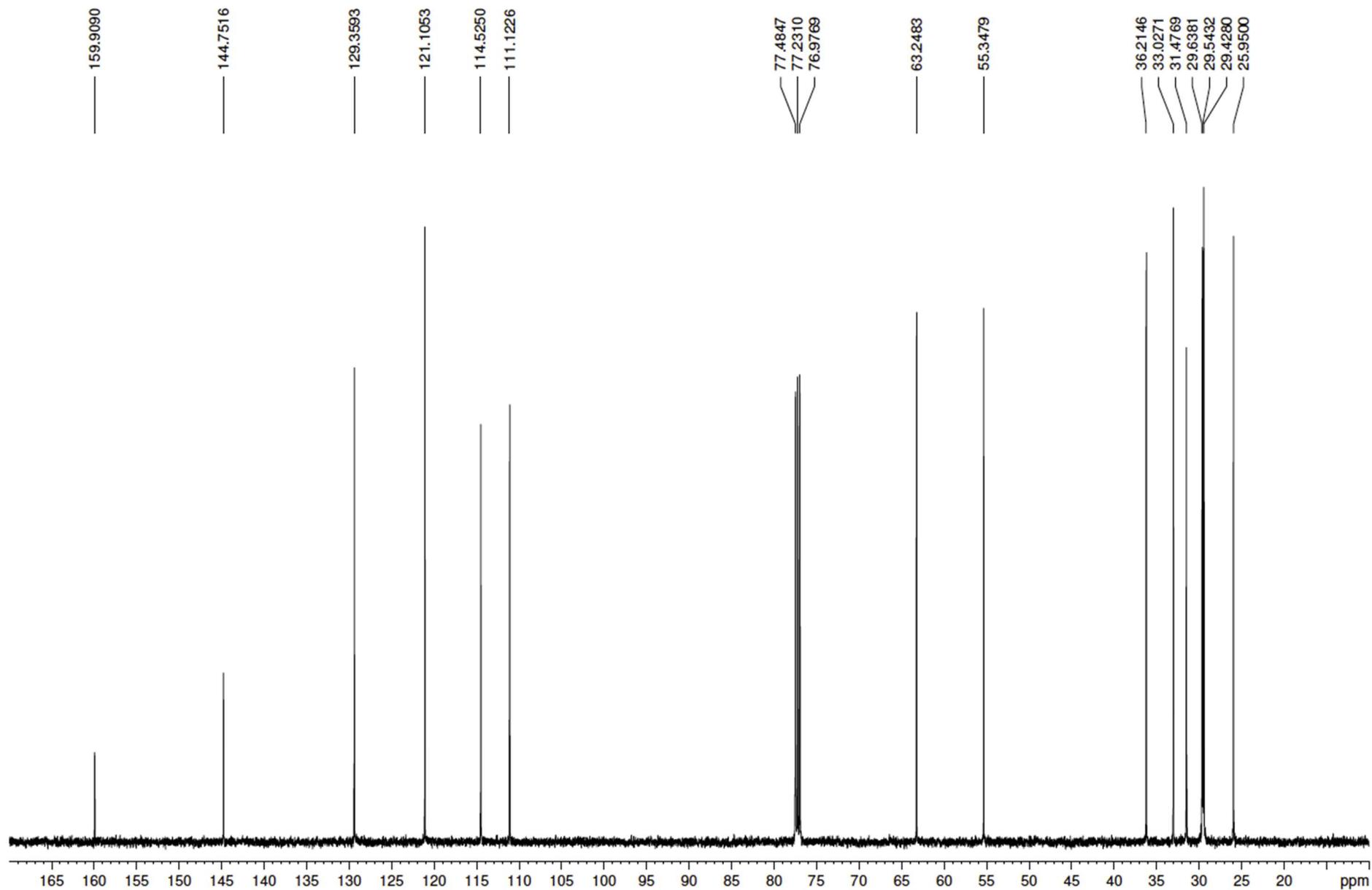
Espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) da mistura de 3-metóxicardanois (LDT27i, **41**)

Espectro de RMN de ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) da mistura de 3-metóxicardanois (LDT27i, **41**)

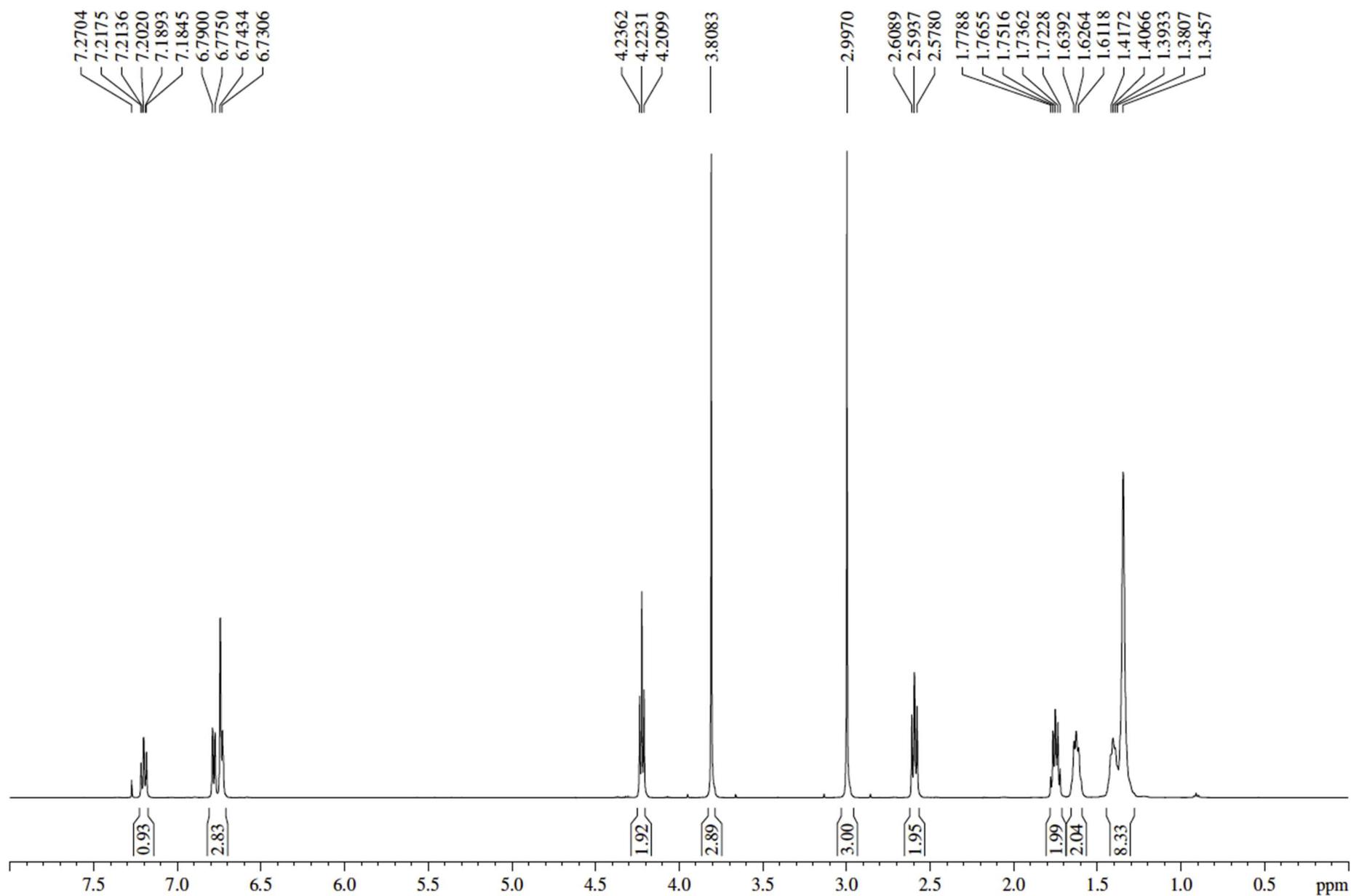


Espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) do composto 8-(3-metóxfenil)octan-1-ol (LDT72, **42**)

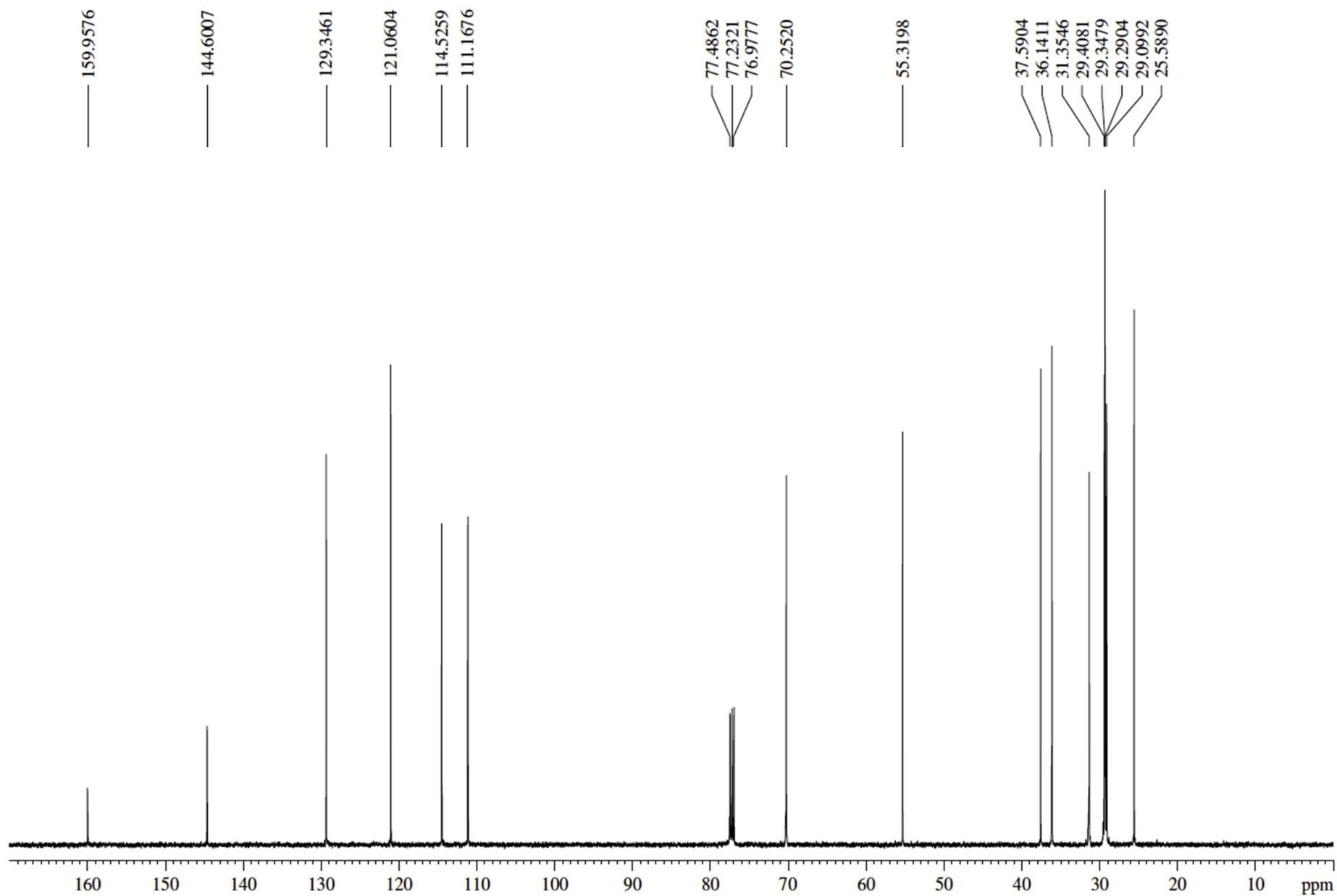
Espectro de RMN de ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) do composto 8-(3-metóxfenil)octan-1-ol (LDT72, **42**)



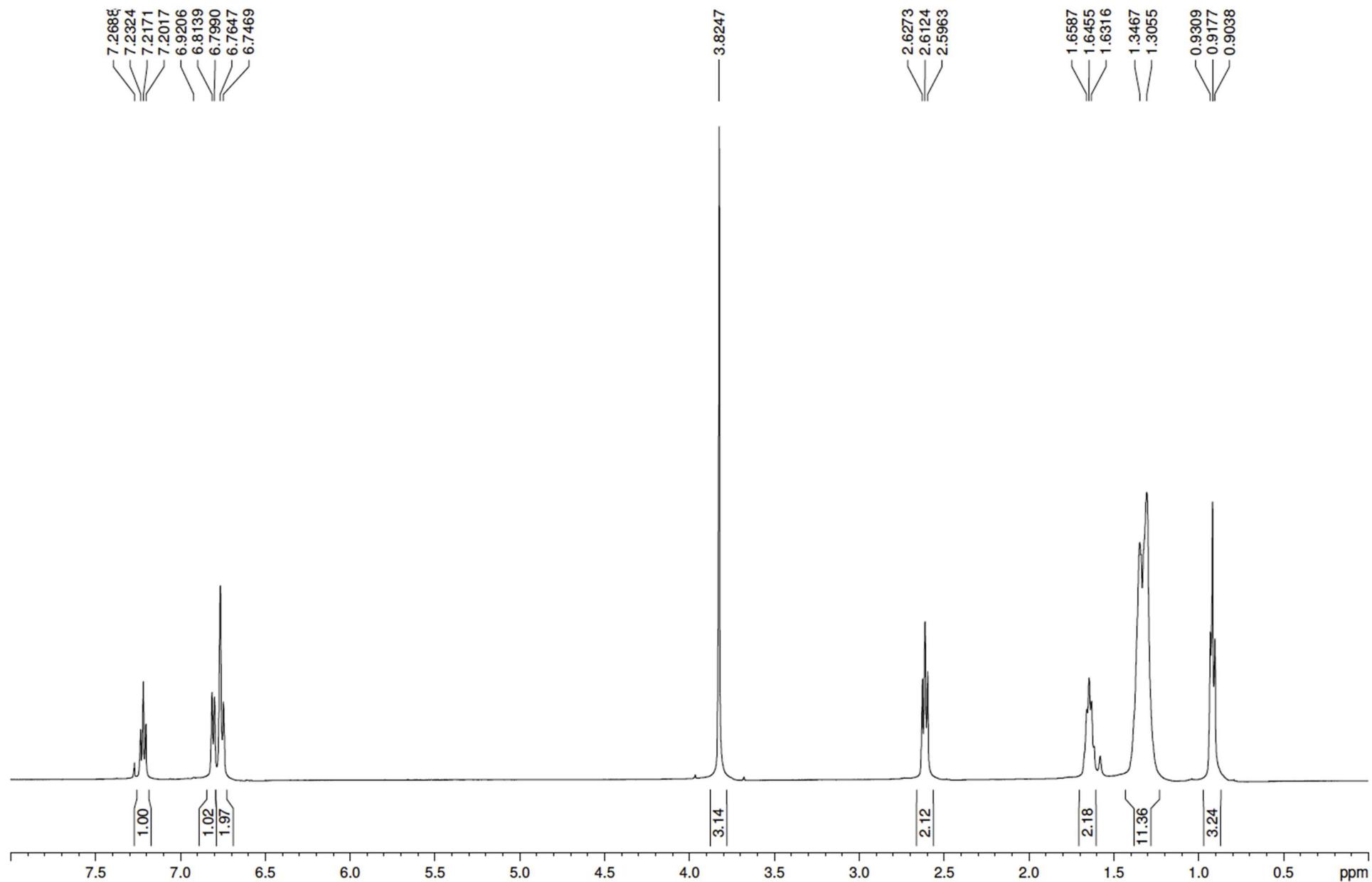
Espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) do composto metanossulfonato de 8-(3-metóxfenil)octila (LDT72Ms, **43**)

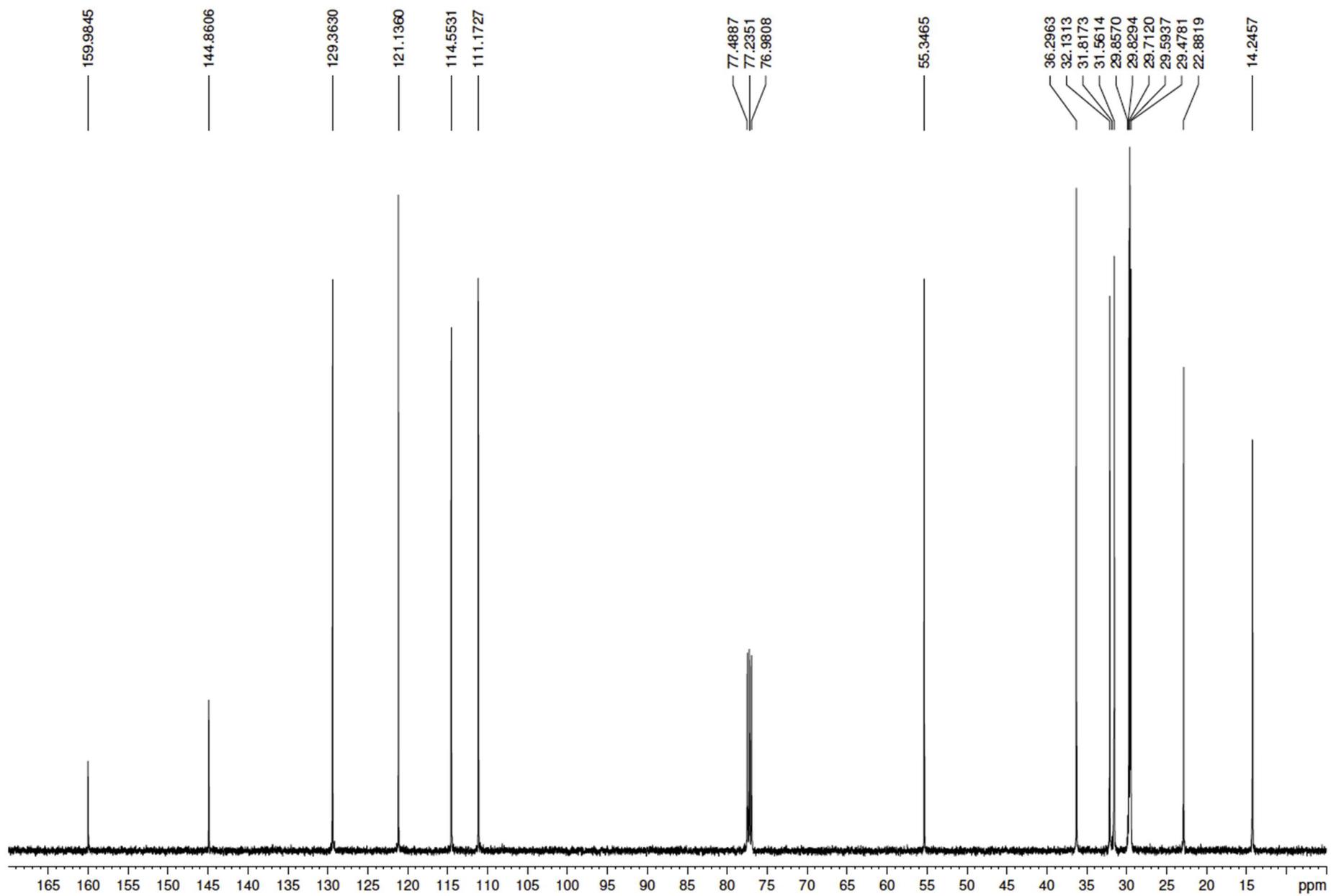


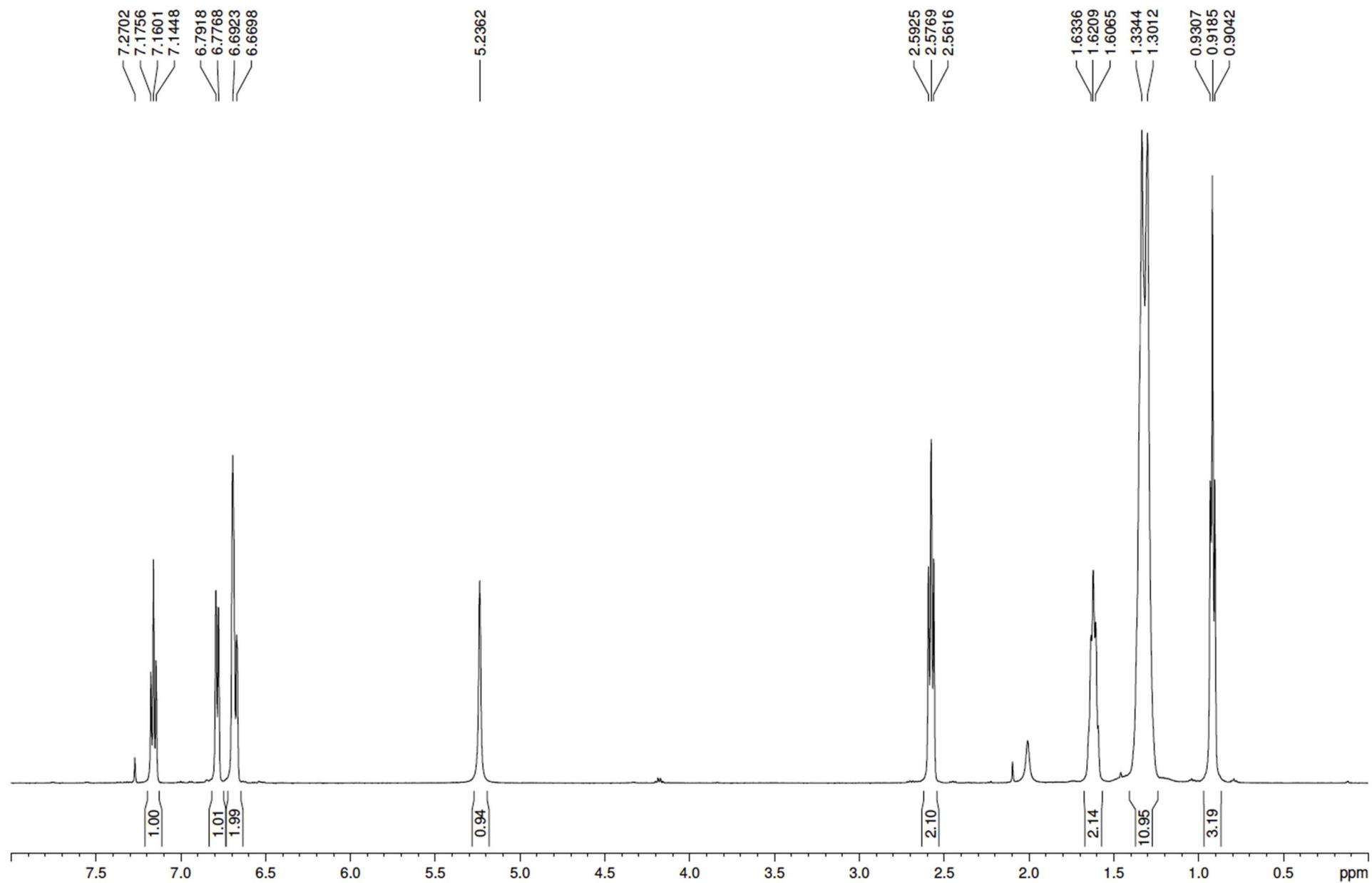
Espectro de RMN de ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) do composto metanossulfonato de 8-(3-metóxfenil)octila (LDT72Ms, **43**)



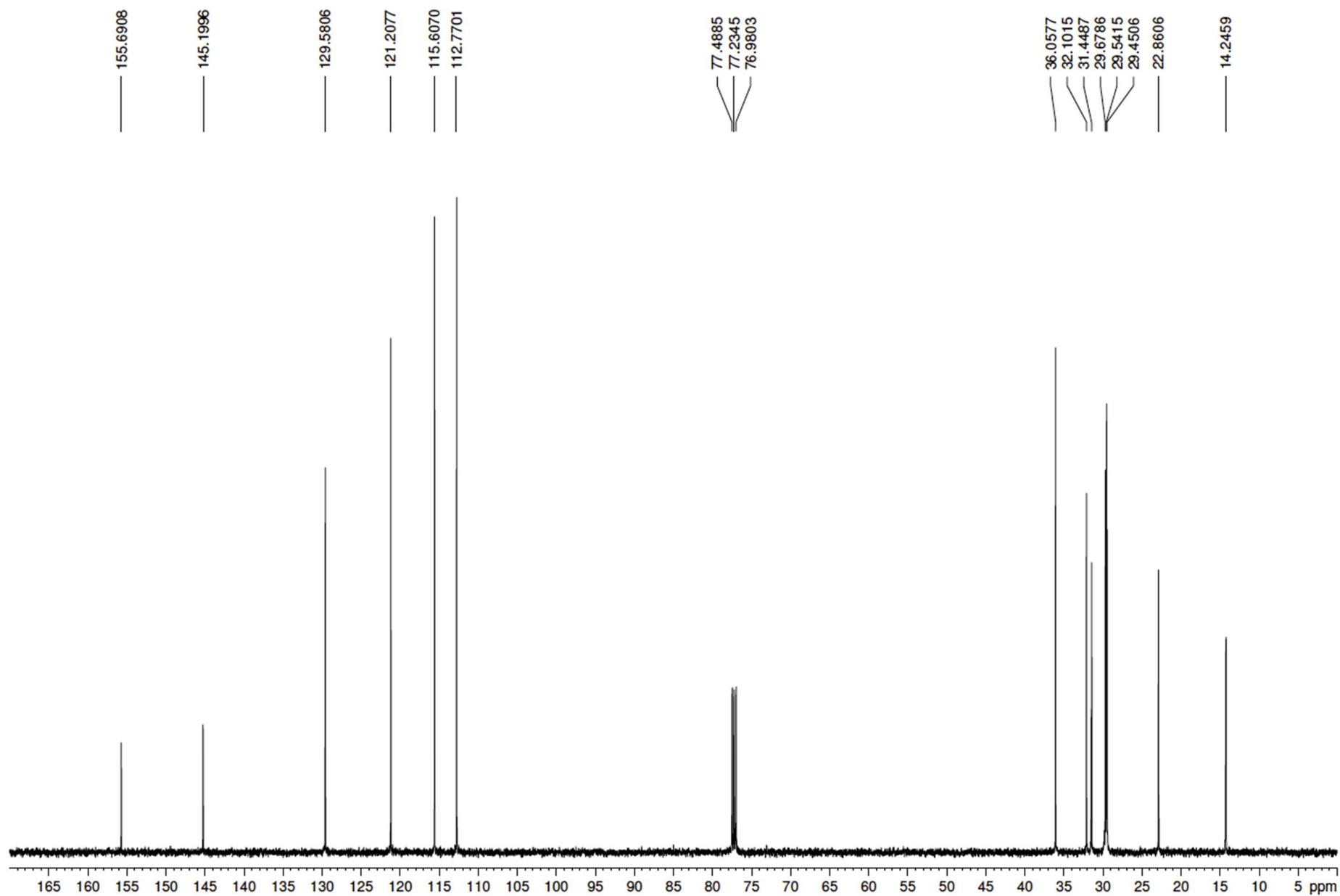
Espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) do composto 1-metóxi-3-octilbenzeno (LDT827, **44**)



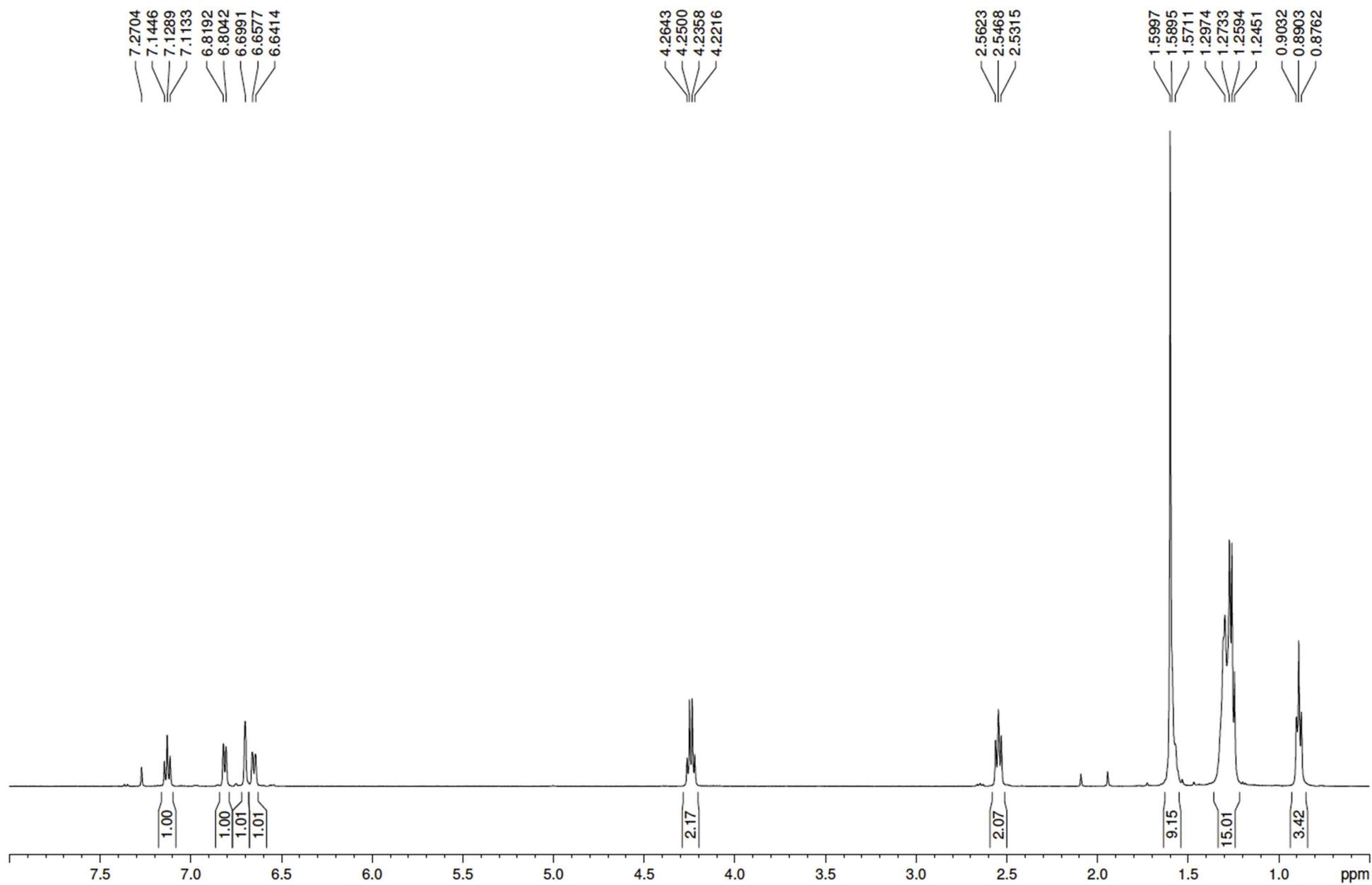
Espectro de RMN de ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) do composto 1-metóxi-3-octilbenzeno (LDT827, **44**)

Espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) do composto 3-octilfenol (LDT810, **45**)

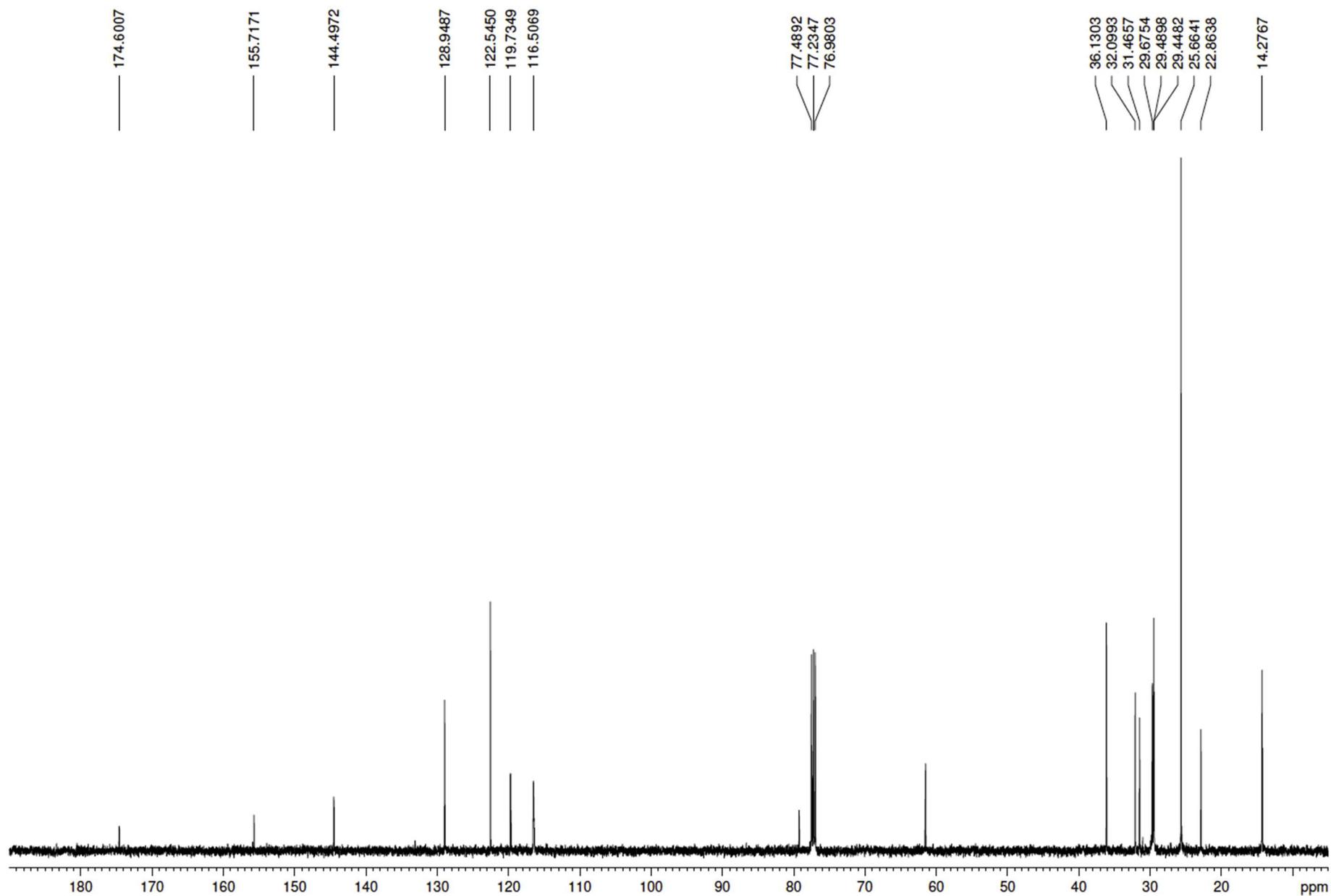
Espectro de RMN de ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) do composto 3-octilfenol (LDT810, **45**)



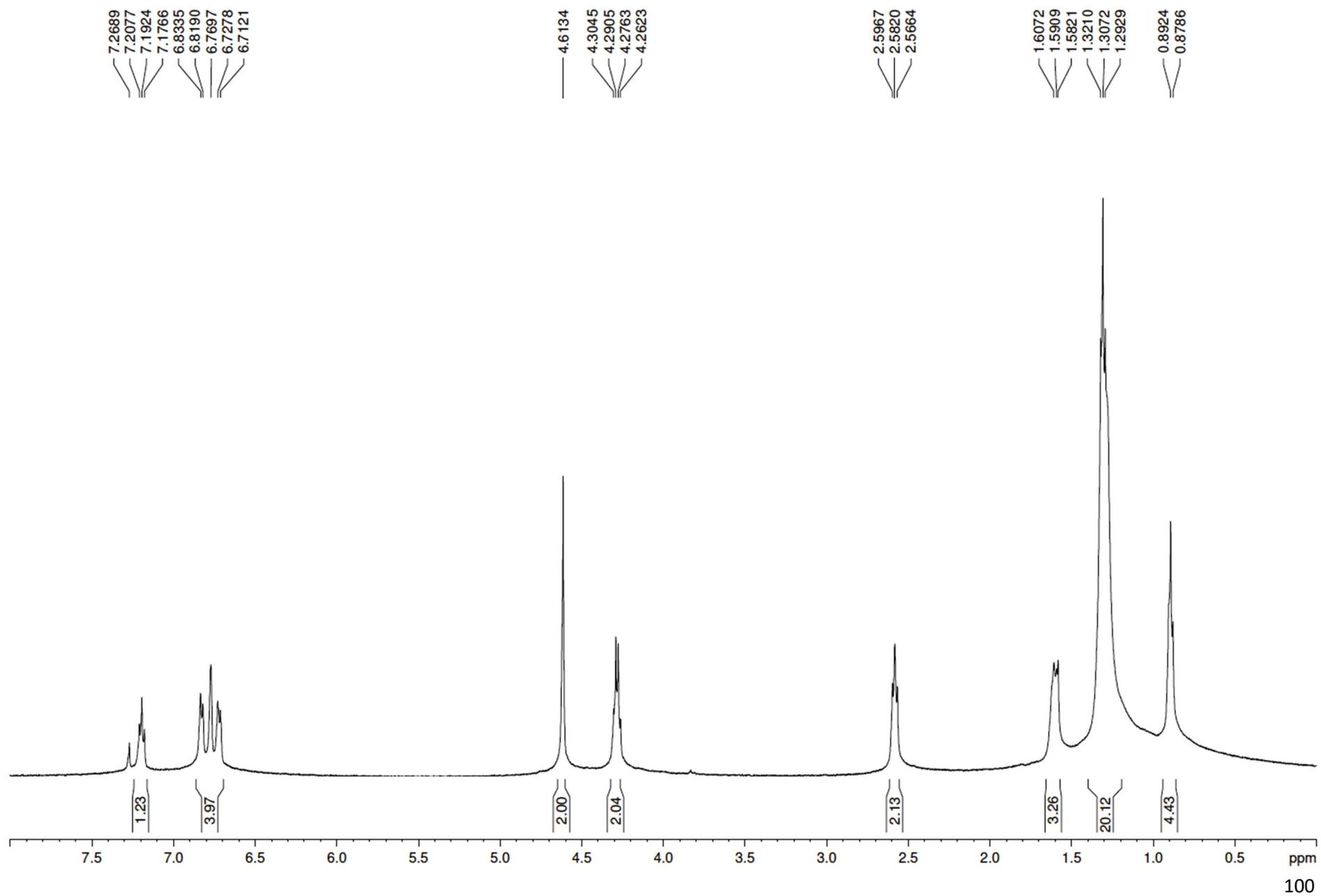
Espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) do composto 2-metil-2-(3-octilfenóxi)propanoato de etila (LDT808, **46**)



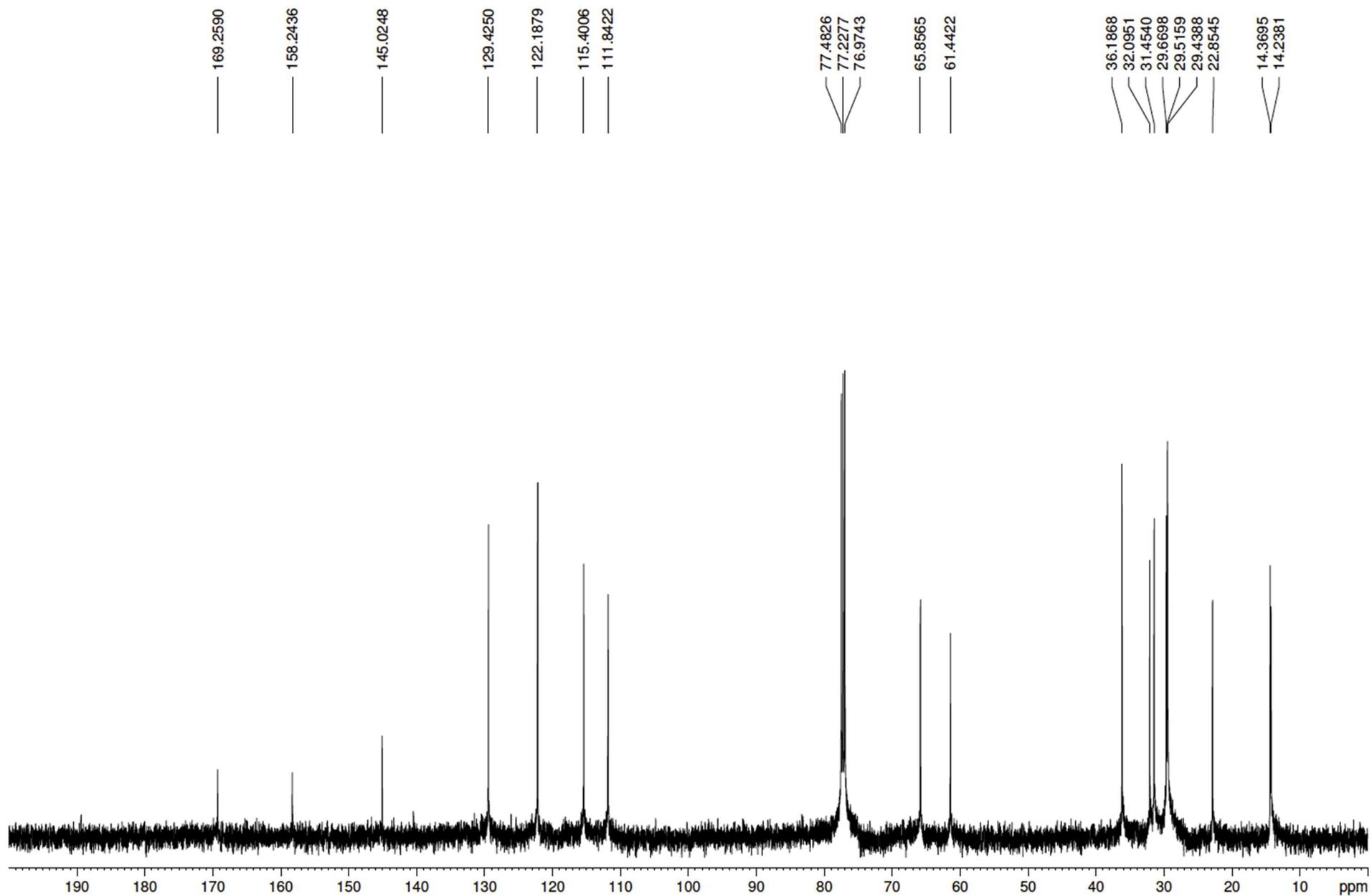
Espectro de RMN de ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) do composto 2-metil-2-(3-octilfenóxi)propanoato de etila (LDT808, **46**)



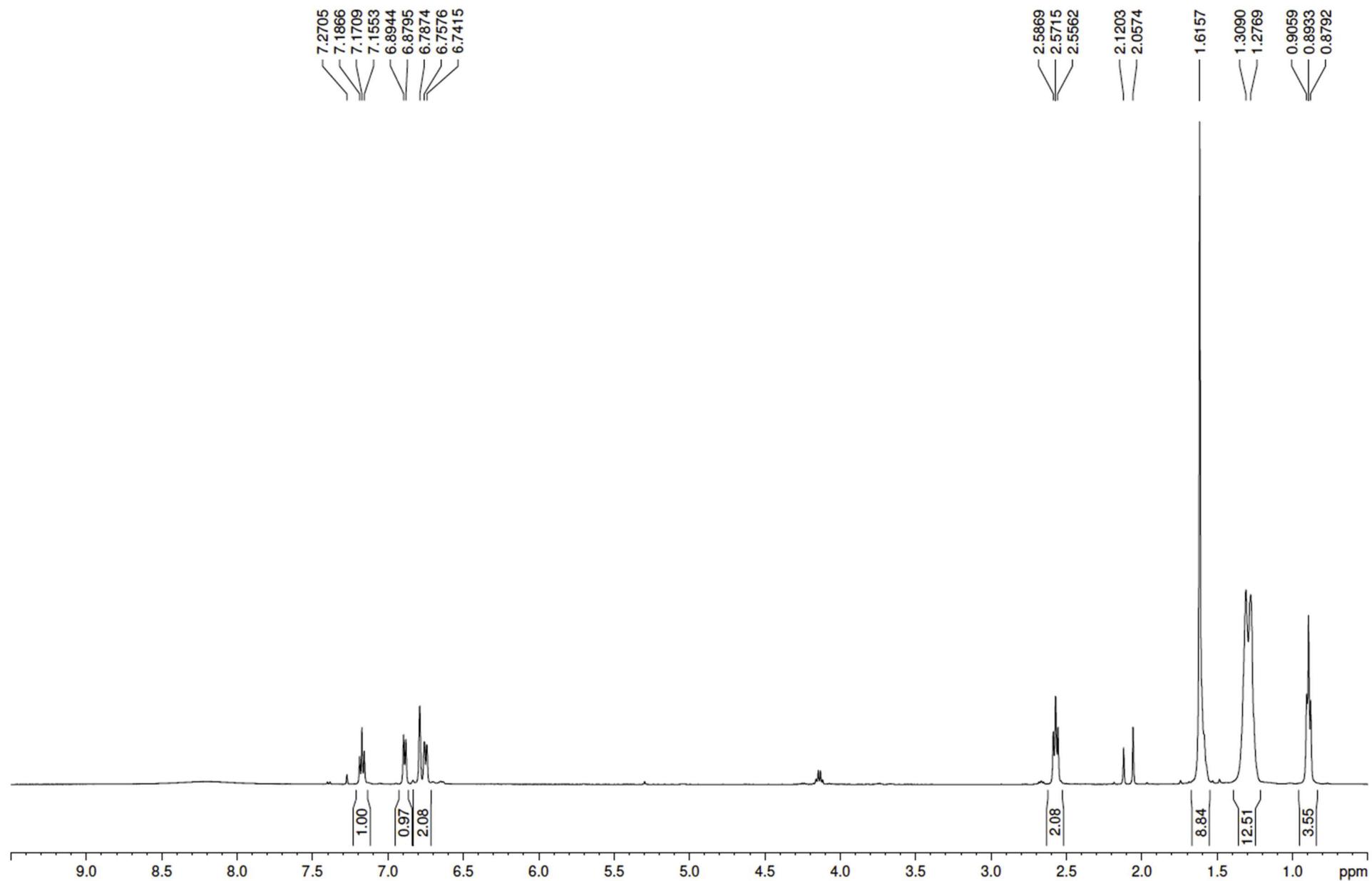
Espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) do composto 2-(3-octilfenóxi)etanoato de etila (LDT815, **47**)



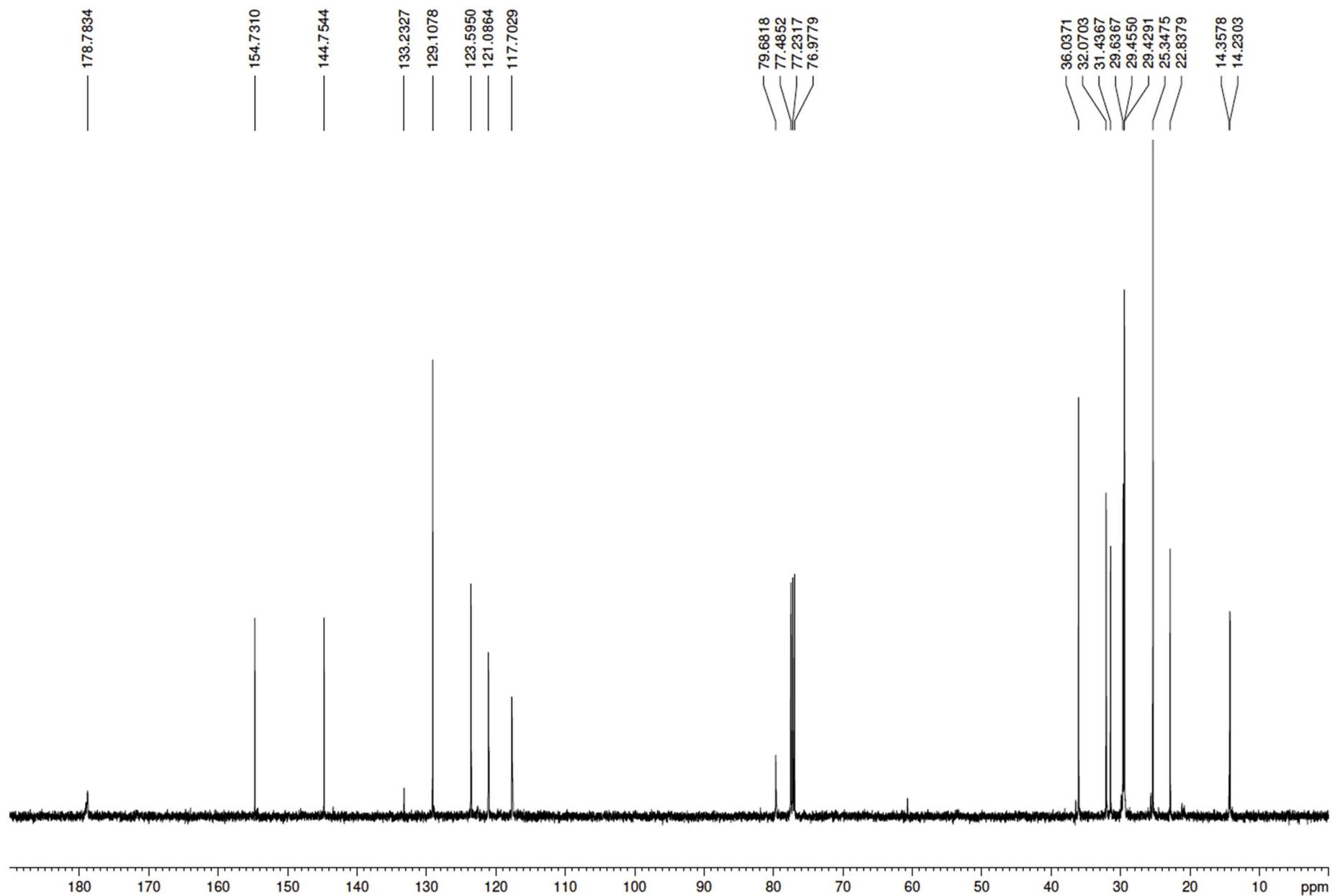
Espectro de RMN de ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) do composto 2-(3-octilfenóxi)etanoato de etila (LDT815, **47**)

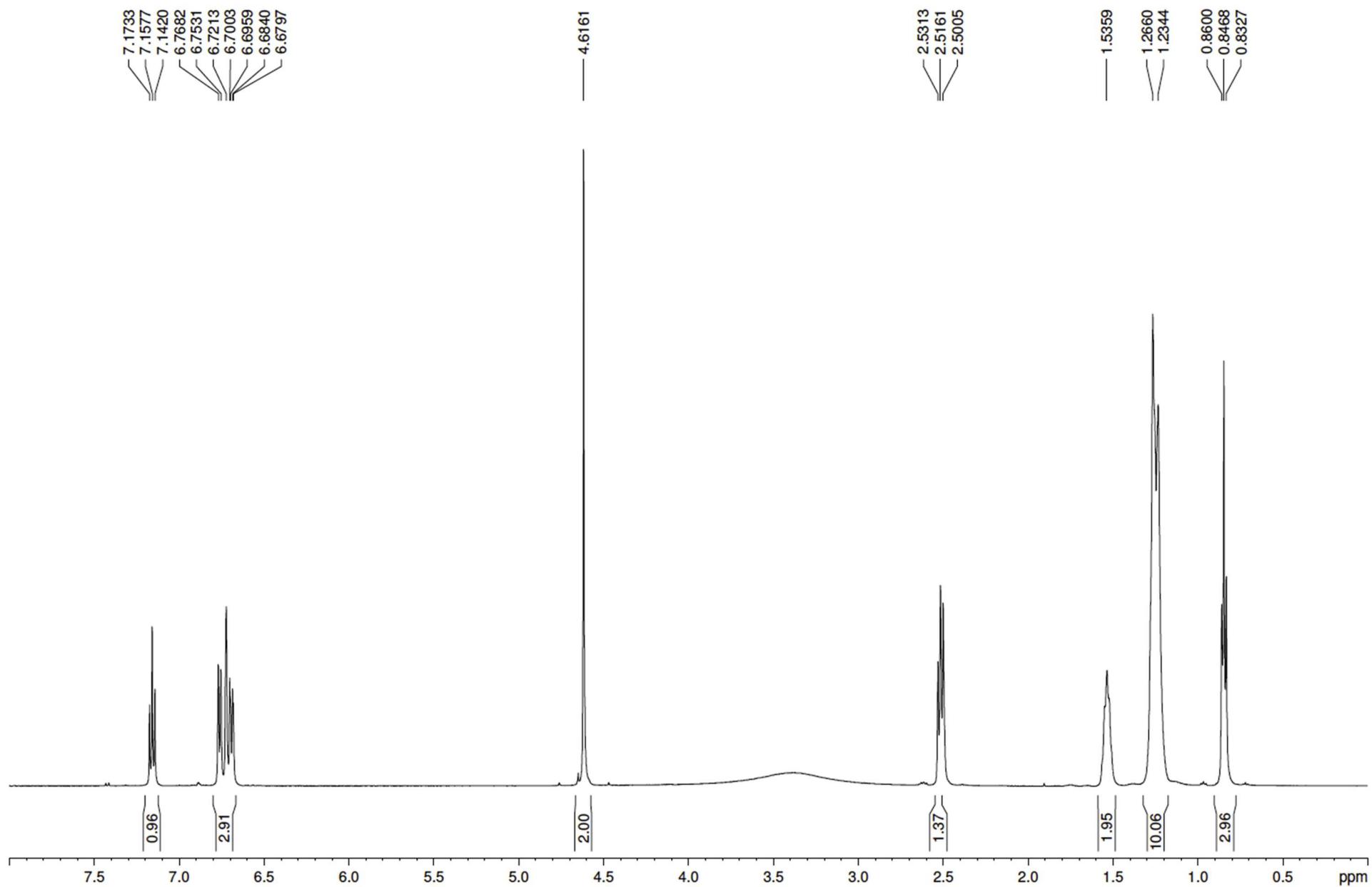


Espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) do composto ácido 2-metil-2-(3-octilfenóxi)propanóico (LDT809, **48**)



Espectro de RMN de ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) do composto ácido 2-metil-2-(3-octilfenóxi)propanóico (LDT809, **48**)



Espectro de RMN de ^1H (500 MHz, DMSO- d_6) do composto ácido 2-(3-octilfenóxi)etanoico (LDT816, **49**)

Espectro de RMN de ^{13}C (125 MHz, DMSO- d_6) do composto ácido 2-(3-octilfenóxi)etanoico (LDT816, **49**)

