

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

FELLIPE JOSÉ GOMES QUEIROZ

SÍNTESE E AVALIAÇÃO DE INIBIDORES DE HISTONA ACETILTRANSFERASES  
PLANEJADOS A PARTIR DO ÁCIDO ISOANACÁRDICO

BRASÍLIA

2015

FELLIPE JOSÉ GOMES QUEIROZ

SÍNTESE E AVALIAÇÃO DE INIBIDORES DE HISTONA ACETILTRANSFERASES  
PLANEJADOS A PARTIR DO ÁCIDO ISOANACÁRDICO

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

Orientador: Prof. Dr. Luiz Antonio Soares Romeiro

BRASÍLIA

2015

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.

### Catálogo da Publicação

Q3s      Queiroz, Fellipe José Gomes  
            Síntese e Avaliação de Inibidores de Histona  
            Acetiltransferases Planejados a Partir do Ácido  
            Isoanacárdico / Fellipe José Gomes Queiroz;  
            orientador Luiz Antônio Soares Romeiro. -- Brasília,  
            2015.  
            207 p.

            Dissertação (Mestrado - Mestrado em Ciências  
            Farmacêuticas) -- Universidade de Brasília, 2015.

            1. Química Medicinal. 2. Química Farmacêutica. I.  
            Romeiro, Luiz Antônio Soares, orient. II. Título.

FELLIPE JOSÉ GOMES QUEIROZ

SÍNTESE E AVALIAÇÃO DE INIBIDORES DE HISTONA ACETILTRANSFERASES  
PLANEJADOS A PARTIR DO ÁCIDO ISOANACÁRDICO

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

Aprovada em 26 de Março de 2015.

**Banca Examinadora**

---

Dr. Luiz Antônio Soares Romeiro  
Presidente

---

Dra. Yanna Karla de Medeiros Nóbrega

---

Dr. Wender Alves da Silva

---

Dra. Kelly Grace Magalhães

Brasília  
2015

*Esta dissertação é dedicada aos meus pais, Maria Sônia e Genivaldo, que sempre estiveram ao meu lado me incentivando a permanecer na constante busca pelo saber, e à minha querida irmã Maria Isabel pelo constante apoio e carinho.*

## AGRADECIMENTOS

À Deus pela sua constante presença e luz do Seu Santo Espírito, principalmente nas noites em claro.

Aos meus pais, Maria Sônia e Genivaldo Mendes, pelo amor, apoio, dedicação e ensinamentos.

À minha querida, irmã Maria Isabel, pelo apoio, carinho, amizade, força e alegres momentos juntos.

À minha querida família, pelo apoio, dedicação, amor e ensinamentos.

Aos amigos e colegas queridos, de perto e de longe, que permaneceram na paciência quando não tive tempo para com eles.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Luiz Romeiro, pelo saber compartilhado, paciência e dedicação durante essa jornada pelo caminho da Química Medicinal.

Aos meus amigos do LADETER, Aline, Priscilla, Giselle, Thais e Andressa, por estarem sempre presentes, pelo incentivo, convivência, companheirismo e momentos de laser.

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

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

Ao Prof. Dr. Masoud Vedadi e Abdellah Allali-Hassani do Structural Genomics Consortium da Universidade de Toronto pela realização dos ensaios biológicos.

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

*“O farmacêutico faz misturas agradáveis, compõe unguentos úteis à saúde, e seu trabalho não terminará, até que a paz divina se estenda sobre a face da terra.”*  
*Eclesiástico, 38, 7, 8.*

## RESUMO

QUEIROZ, Fellipe José Gomes. **Síntese e Avaliação de Inibidores de Histona Acetiltransferases Planejados a Partir do Ácido Isoanacárdico**. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Faculdade de Saúde. Universidade de Brasília. Brasília, 2015.

As principais doenças inflamatórias intestinais – doença de Crohn e colite ulcerativa – apresentam caráter inflamatório idiopático agudo ou crônico que envolve a cascata de sinalização NF- $\kappa$ B por meio dos receptores Toll-like e TNF- $\alpha$ . No âmbito das modificações pós-translacionais, as acetilações reversíveis de resíduos de lisina nas subunidades p50 e p65 de NF- $\kappa$ B – promovidas por histonas acetiltransferases (HAT) – modulam as respostas inflamatórias dependentes desta via. Neste contexto, inibidores de HATs *e.g.* p300 e GCN5, regulam as funções do NF- $\kappa$ B induzidas por TNF e IL-1 $\beta$  e compreendem estratégia terapêutica para o tratamento da UC. Descrevemos neste trabalho o planejamento, a síntese e a avaliação biológica de novos inibidores de histona acetiltransferases – p300 e GCN5 – obtidos a partir do ácido isoanacárdico. A estratégia sintética permitiu à obtenção de 25 derivados: 2 intermediários aldeídos, 3 ácidos carboxílicos, 5 amidas e 15 ésteres, em rendimentos que variaram de 78-98%. A avaliação biológica dos compostos-alvo frente às enzimas p300 e GCN5 evidenciaram a capacidade dos derivados LDT380 (**28**), LDT383 (**35**) e LDT407 (**32**) – que contém a subunidade carboxila – atuarem como inibidores de ambas acetiltransferases com IC<sub>50</sub> variando de 11  $\mu$ M a 51  $\mu$ M para a enzima p300; e de 25  $\mu$ M a 61  $\mu$ M para a enzima GCN5. A confirmação da atividade inibitória dos compostos ativos por métodos ortogonais, os estudos de *docking* com p300 e GCN5, a avaliação sobre a translocação de NF- $\kappa$ B, bem como a avaliação em modelos experimentais *in vivo* compreendem as perspectivas desse trabalho.

Palavras-chave: Doenças Inflamatórias Intestinais, colite ulcerativa, NF- $\kappa$ B, HAT, ácido isoanacárdico, p300, GCN5.

## ABSTRACT

QUEIROZ, Fellipe José Gomes. **Synthesis and Evaluation of Histone Acetyltransferases Inhibitors Planned from Isoanacardic Acid**. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Faculdade de Saúde. Universidade de Brasília. Brasília, 2015.

The major inflammatory bowel diseases - Crohn's disease and ulcerative colitis - show acute or chronic idiopathic inflammatory profiles that involve the NF- $\kappa$ B signaling cascade through Toll-like and TNF- $\alpha$  receptors. In the context of post-translational modifications, reversible acetylation of lysine residues on p50 and p65 subunits of NF- $\kappa$ B - promoted by histone acetyltransferases (HAT) - modulate inflammatory responses dependent on this pathway. In this context, HATs inhibitors *e.g.* GCN5 and p300 regulate NF- $\kappa$ B functions induced by TNF and IL-1 $\beta$  and comprise therapeutic strategy for the treatment of UC. Herein we describe the design, synthesis and biological evaluation of new inhibitors of histone acetyltransferases - p300 and GCN5 - obtained from isoanacardic acid. The synthetic strategy allowed for obtaining 25 derivatives: 2 aldehyde intermediates, 3 carboxylic acids, 5 amides and 15 esters in yields ranging from 78-98%. Biological evaluation of target-compounds against the GCN5 and p300 enzymes revealed the ability of compounds LDT380 (**28**) LDT383 (**35**) and LDT407 (**32**) - containing the carboxyl subunit - to act as inhibitors of both acetyltransferases with IC<sub>50</sub> ranging from 11  $\mu$ M to 51  $\mu$ M for p300; and from 25  $\mu$ M and 61  $\mu$ M for GCN5. The work's perspectives include the confirmation of the inhibitory activity of the active compounds by orthogonal methods, docking studies with p300 and GCN5, studies on the translocation of NF- $\kappa$ B, and posteriorly *in vivo* evaluation in experimental models of colitis.

Keywords: Inflammatory Bowel Disease, ulcerative colitis, NF- $\kappa$ B, HAT, isoanacardic acid, p300, GCN5.

## Lista de Figuras

	pag.
<b>Figura 1:</b> Inflamação e Patologias associadas	22
<b>Figura 2:</b> Distribuição da UC	26
<b>Figura 3:</b> Sinalização <i>Toll-like</i>	30
<b>Figura 4:</b> Ativação da Via NF-kB por ligantes TNF- $\alpha$	31
<b>Figura 5:</b> Cascata de ativação NF-kB. Via Clássica e Alternativa	36
<b>Figura 6:</b> Acetilação de histonas	37
<b>Figura 7:</b> Acetilação catalisada por p300	38
<b>Figura 8:</b> Inibidores sintéticos de HATs	43
<b>Figura 9:</b> Derivados aminossalicílicos	45
<b>Figura 10:</b> Composto 5-CSPA, inibidor de NF-kB	46
<b>Figura 11:</b> Lipídios fenólicos não isoprenóides constituintes do LCC	47
<b>Figura 12:</b> Planejamento Estrutural	52
<b>Figura 13:</b> Numeração e legendas empregadas no assinalamento de sinais nos espectros de RMN $^1\text{H}$ e RMN $^{13}\text{C}$	57
<b>Figura 14:</b> LDT77: Ligação de hidrogênio intramolecular	86
<b>Figura 15:</b> Íon carboxilato gerado em pH 7,4	102
<b>Figura 16:</b> Sítio ativo da p300 com Acetil-CoA	103
<b>Figura 17:</b> Compostos amídicos e ésteres das séries 2 e 3	104
<b>Figura 18:</b> Derivado ativos dos ácidos anacárdico e isoanacárdico	105
<b>Figura 19:</b> Íons carboxilato e fenolato gerados em pH 9,5	107
<b>Figura 20:</b> Sítio ativo da GCN5 com Acetil-CoA	107

## Listas de Esquemas

	pag.
<b>Esquema 1:</b> Planejamento sintético para os derivados-alvo	54
<b>Esquema 2:</b> LDT77: Proposta mecanística para a formilação regioespecifica	86

## Lista de Tabelas

	pag.
<b>Tabela 1:</b> Compostos naturais com atividade inibitória de p300	42
<b>Tabela 2:</b> Principais deslocamentos químicos de RMN $^1\text{H}$ e RMN $^{13}\text{C}$ para a caracterização da série dos derivados 2-acetóxi, hidróxi e metoxiácidos ou metilésteres	89
<b>Tabela 3:</b> Principais deslocamentos químicos de RMN $^1\text{H}$ e RMN $^{13}\text{C}$ para a caracterização das 2-metóxiâmidas.	91
<b>Tabela 4:</b> Principais deslocamentos químicos de RMN $^1\text{H}$ e RMN $^{13}\text{C}$ para a caracterização dos 2-metoxiésteres	92
<b>Tabela 5:</b> Principais deslocamentos químicos de RMN $^1\text{H}$ e RMN $^{13}\text{C}$ para a caracterização dos 2-hidroxiésteres	95
<b>Tabela 6:</b> Principais deslocamentos químicos de RMN $^1\text{H}$ e RMN $^{13}\text{C}$ para a caracterização dos 2-acetoxiésteres	97
<b>Tabela 7:</b> Características químicas, rendimentos e ponto de fusão da série acetóxi, hidróxi e metoxiácidos ou metilésteres	98
<b>Tabela 8:</b> Características químicas, rendimentos e ponto de fusão dos derivados da série dos derivados amídicos	99
<b>Tabela 9:</b> Características químicas, rendimentos e ponto de fusão dos derivados da série dos derivados ésteres	100
<b>Tabela 10:</b> Valores de $\text{IC}_{50}$ para os derivados <b>28, 32-36</b>	101
<b>Tabela 11:</b> Valores de $\text{IC}_{50}$ para derivados dos ácidos anacárdico e isoanacárdico frente à p300	106
<b>Tabela 12:</b> Valores de $\text{IC}_{50}$ para os derivados <b>28, 32-36</b>	106
<b>Tabela 13:</b> Valores de $\text{IC}_{50}$ para derivados dos ácidos anacárdico e isoanacárdico frente à GCN5	109

## Lista de Abreviaturas e Siglas

5-ASA – Ácido 5-aminossalicílico

5-CSPA – 5-clorosaliciloilfenetilamida

AINEs – Anti-inflamatórios não esteróides

ANCA – Anticorpo anti-citoplasma neutrofílico

APCs – Células apresentadoras de antígenos

BAFFR – Receptor do fator de ativação de células B

BRCA1 – Proteína A1 de câncer de mama

COX-2 – Ciclooxigenase 2

CREB – Proteína de ligação ao elemento de resposta ao cAMP

DC – Doença de Crohn

DII – Doenças Inflamatórias Intestinais

HAT – Histona acetiltransferase

HDAC – Histona desacetilase

HEPES – ácido 2-[4-(2-hidróxi-etil)piperazin-1-il]etanosulfônico

hTM1 – Tropomiosina humana 1

hTM5 – Tropomiosina humana 5

ICAM-1 – Molécula de adesão intercelular 1

IFN- $\gamma$  – Intérferon *gamma*

I $\kappa$ B $\alpha$  – Inibidor *kappa* B *alfa*

iNOS – Óxido nítrico sintase

IRAK – Quinase associada ao receptor de interleucina

LCC – Líquido da casca da castanha de caju

LDT – Código para Laboratório de Desenvolvimento de Estratégias Terapêuticas  
(LADETER)

LMAD – Ligantes multialvo-dirigidos

LPS – Lipopolissacarídeos

MIF – Fator inibitório de migração de macrófagos

MMP – Metaloproteinases de matriz

MyD88 – Proteína 88 de resposta a diferenciação mielóide primária

NEMO – Modulador não-essencial de NF-kB

NF-kB – Fator Nuclear *kappa* B

NIK – Quinase indutora de NF-kB

NK – Natural killer

NSL – Sinal de localização nuclear

PAMPs – Padrões moleculares associados a patógenos

PCAF – Fator associado a p300/CBP

PPAR – Receptor ativado por proliferador peroxissomais

PRR – Receptores de reconhecimento padrão

RANK – Ativador do receptor de NF-kB

RIP – Proteína quinase de interação com o receptor

ROS – Espécies reativas de oxigênio

TAD – Domínio de transativação

TCR – Receptor de célula T

TGF- $\beta$  – Fator transformador de crescimento

TGI – Trato Gastrointestinal

TLRs – Receptores *Toll-like*

TNF- $\alpha$  – Fator de Necrose Tumoral alfa

TNFR – Receptor de Fator de Necrose Tumoral

TIRAP – Proteína associada ao receptor *Toll* de interleucina 1

TRADD – Domínio de morte associado ao receptor TNF tipo 1

TRAF – Fator associado ao receptor de TNF

UC – Colite Ulcerativa

## Sumário

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	<b>19</b>
<b>2 REFERENCIAL TEÓRICO</b> .....	<b>22</b>
2.1 DOENÇAS INFLAMATÓRIAS INTESTINAIS.....	23
2.2 COLITE ULCERATIVA.....	24
2.3 FISIOPATOLOGIA .....	26
2.4 ETIOPATOGENIA .....	27
<i>Fatores Genéticos</i> .....	27
<i>Fatores Imunológicos</i> .....	28
<i>Receptores Toll-like (TLRs)</i> .....	28
<i>Fator de Necrose Tumoral <math>\alpha</math> (TNF-<math>\alpha</math>)</i> .....	29
<i>Fatores Ambientais</i> .....	31
2.5 ALVOS FARMACOLÓGICOS .....	33
<i>Fator de Transcrição Nuclear kappa B (NF-<math>\kappa</math>B)</i> .....	33
<i>Fatores epigenéticos: p300 e GCN5</i> .....	36
2.6 TRATAMENTO.....	44
2.7 LÍQUIDO DA CASCA DA CASTANHA DE CAJU (LCC) .....	47
<b>3 OBJETIVOS</b> .....	<b>50</b>
3.1 OBJETIVO GERAL .....	50
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	50
<b>4 PLANEJAMENTO ESTRUTURAL</b> .....	<b>22</b>
<b>5 PLANEJAMENTO SINTÉTICO</b> .....	<b>53</b>
<b>6 PARTE EXPERIMENTAL</b> .....	<b>56</b>
6.1 GENERALIDADES, MATERIAIS E MÉTODOS .....	56
<i>Análises dos espéctros de RMN</i> .....	57
6.2 METODOLOGIA SINTÉTICA E CARACTERIZAÇÃO DOS COMPOSTOS....	
.....	58
6.3 AVALIAÇÃO <i>IN VITRO</i> .....	80
<i>Obtenção da proteína e avaliação dos compostos frente a p300</i> .....	80
<i>Obtenção da proteína e avaliação dos compostos frente a GCN5</i> .....	82
<b>7 RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	<b>86</b>

7.1 SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DOS COMPOSTOS.....	86
7.2 AVALIAÇÃO <i>IN VITRO</i> .....	102
<i>Avaliação biológica frente a enzima p300</i> .....	102
<b><i>Relação Estrutura-Atividade</i></b> .....	<b>103</b>
<i>Avaliação biológica frente a enzima GCN5</i> .....	107
<b><i>Relação Estrutura-Atividade</i></b> .....	<b>108</b>
<b>8 CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS .....</b>	<b>112</b>
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>114</b>
<b>ANEXOS .....</b>	<b>134</b>



## 1 INTRODUÇÃO

---

As doenças inflamatórias constituem um heterogêneo e complexo grupo de doenças, compreendendo desde as mais simples – como as que acometem o sistema locomotor – até as mais complexas – como o câncer – sendo causa importante de morbidade e mortalidade (SALEEM et al., 2015; KIM et al., 2015; KHAN et al., 2014; CURRAIS, 2015; FRERS et al., 2015). Dentre este grupo de doenças, as inflamatórias intestinais têm sido alvo de estudos no Laboratório de Desenvolvimento de Estratégias Terapêuticas – LADETER – no âmbito de linha de pesquisa sobre novos agentes anti-inflamatórios planejados a partir do líquido da casca da castanha de caju (LCC).

As Doenças Inflamatórias Intestinais (DII) são uma classe de patologias que acometem o trato gastrointestinal (TGI) e possuem caráter inflamatório idiopático agudo ou crônico (ATHANASAKOS, et al., 2014). Destacam-se, dentre as DII, a Colite Ulcerativa (UC) e a Doença de Crohn (DC), que se diferenciam pela localização inflamatória, bem como pelas características clínicas e patológicas (ATHANASAKOS, et al., 2014; RAPOSO, 2008; MEIER e STURM 2011).

A UC é caracterizada por inflamação crônica e difusa da camada mucosa e submucosa do intestino grosso, em geral, acompanhada de ulcerações. Os episódios de remissão e exacerbação do quadro inflamatório associados à UC (ATHANASAKOS, et al., 2014; MEIER e STURM 2011; KORNBLUTH e SACHAR, 2010; BACH e MORTENSEN, 2007) representam grande impacto socioeconômico e de saúde pública, devido à cronicidade e o tempo de internação prolongado que afetam a qualidade de vida do paciente (WGO, 2009; LAKATOS e LAKATOS, 2006; MALDAUN, 2007; FEAKINS, 2014; MEIER e STURM 2011).

A UC é uma doença multifatorial com hipóteses baseadas em predisposição genética e polimorfismo em diversos genes, fatores imunológicos e fatores ambientais (LAKATOS e LAKATOS, 2006). Considerando que o processo inflamatório é a principal característica da UC, as principais vias inflamatórias envolvidas nesta patologia são as vias iniciadas pela ativação dos receptores *Toll-like* e TNF- $\alpha$ , culminando com a cascata de sinalização NF- $\kappa$ B (PETRONILHO, 2010; OLIVEIRA, COY e LEAL, 2012; PAIVA, 2011).

As modificações pós-translacionais moduladas por histonas acetiltransferases (HAT) e desacetilases (HDAC) – em especial as acetilações reversíveis de resíduos de lisinas nas subunidades p50 e p65 de NFκB – têm papel crucial na regulação de diferentes funções do NF-κB (GHIZZONI et al, 2011). Uma vez que as HATs p300/ CBP e PCAF acetilam as subunidades do NF-κB, a inibição destas enzimas modula diretamente a via de sinalização dependente da acetilação e, conseqüentemente, as respostas inflamatórias. O ácido anacárdico saturado – um dos compostos presente na mistura de derivados fenólicos do líquido da casca da castanha de caju – inibe a acetilação de p65 e suprime as ativações induzida e constitutiva do NF-κB, levando à redução da expressão de genes NF-κB-dependentes (DANCY e COLE, 2015; GHIZZONI et al, 2011).

Adicionalmente, nas DII, há um aumento significativo da citocina pró-inflamatória IL-1β, a qual está associada à promoção destas patologias. A acetilação mediada pela histona acetiltransferase GCN5 tem papel importante na regulação da indução de genes responsivos à interleucina IL-1β e migração celular sob condições inflamatórias. Neste sentido, inibidores GCN5, capazes de modular a transcrição do NF-κB induzida por IL-1β, aparecem como relevante estratégia terapêutica (KIM et al., 2013; COCCIA et al., 2012).

Devido à multifatorialidade e complexidade da UC e considerando as ações anti-inflamatórias atribuídas aos derivados salicílicos como 5-ASA (KIM et al., 2012) – inibidor NFκB – e do ácido anacárdico saturado (SUNG et al., 2008; GHIZZONI et al., 2010) – inibidor NFκB e HAT (p300/CBP, PCAF, Tip60, GCN5) – foram planejados derivados do ácido isoanacárdico – *orto*-regioanálogo do ácido anacárdico – como agentes inibidores das histona acetiltransferases p300 e GCN5, candidatos ao tratamento de doenças inflamatórias.

***Referencial Teórico***

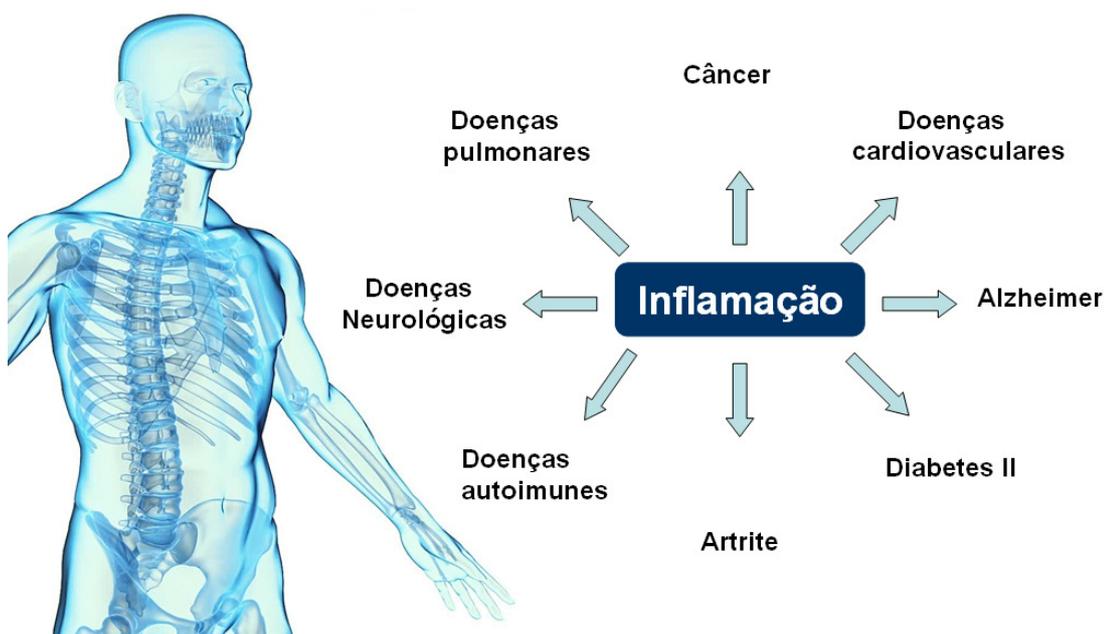
---

## 2 REFERENCIAL TEÓRICO

---

A inflamação é um processo fisiopatológico presente em diversas doenças, sendo responsável pela maioria de seus sintomas agudos, bem como pela sua cronicidade. É um mecanismo de defesa natural do organismo contra a injúria tecidual ou celular frente a estímulos infecciosos, lesão mecânica ou térmica. As doenças inflamatórias constituem um heterogêneo e complexo grupo de doenças (Figura 1), compreendendo desde as mais simples – como as que acometem o sistema locomotor – até as mais complexas – como o câncer – sendo causa de morbidade e mortalidade (SALEEM et al., 2015; KIM et al., 2015; KHAN et al., 2014; KHAN et al., 2013; CURRAIS, 2015; FRERS et al., 2015).

As doenças inflamatórias podem ser divididas em: infecciosas (tuberculose e outras infecções bacterianas, sepse, doenças tropicais, infecções virais e fúngicas); autoimunes ou diretamente ligadas à resposta imunológica (lúpus, artrite reumatóide, psoríase, asma e afecções do trato respiratório, processos alérgicos); e multifatoriais (doenças inflamatórias intestinais - DII, doença de Alzheimer, aterosclerose e câncer) (CHANDEL, PRAKASH e MEDHI, 2015; KIM et al., 2015; RAWASHDEH et al., 2015; JIE et al., 2015; RIFAI et al., 2015; CURRAIS, 2015; FRERS et al., 2015).



**Figura 1** – Inflamação e patologias associadas.

Fonte: Adaptado de <<http://macularhope.org/pay-attention-chronic-inflammation/>>

Dentre este grupo de doenças, as inflamatórias intestinais têm sido alvo de estudos no Laboratório de Desenvolvimento de Estratégias Terapêuticas – LADETER – no âmbito de linha de pesquisa sobre novos agentes anti-inflamatórios planejados a partir do LCC (ALVES, 2015).

## 2.1 DOENÇAS INFLAMATÓRIAS INTESTINAIS

As Doenças Inflamatórias Intestinais (DII) são uma classe de patologias caracterizadas por processo inflamatório idiopático agudo ou crônico que acomete o trato gastrointestinal (TGI). Destacam-se, dentre as DII, a Colite Ulcerativa (UC) e a Doença de Crohn (DC), que representam a maioria dos casos de DII e se diferenciam pela localização inflamatória, bem como pelas características clínicas e patológicas (ATHANASAKOS, et al., 2014; WGO, 2009; RAPOSO, 2008; MALDAUN, 2007).

A UC é caracterizada por inflamação difusa e crônica da camada mucosa e submucosa do intestino grosso, em geral, acompanhada de úlceras, com cursos de remissão e exacerbação do processo inflamatório. Por sua vez, a DC é distinguida por inflamação crônica de qualquer parte do trato gastrointestinal, da boca ao ânus. Apresenta ainda comprometimento descontínuo, sem alterações em meio à áreas comprometidas (MEIER e STURM 2011; KORNBLUTH e SACHAR, 2010; BACH e MORTENSEN, 2007; HARA, 2007).

A patogenia das DII não é completamente conhecida. Fatores genéticos e ambientais, bem como alterações no sistema imunológico e na microbiota intestinal contribuem para a iniciação e progressão do quadro inflamatório e suas complicações (ATHANASAKOS, et al., 2014; WGO, 2009; MALDAUN, 2007).

As DII representam um problema de saúde pública, principalmente devido à cronicidade e dificuldades no diagnóstico diferencial e tratamento (WGO, 2009; FEAKINS, 2014; MEIER e STURM 2011; LAKATOS e LAKATOS, 2006). Acometem indivíduos de várias idades e, devido ao seu curso clínico prolongado e recidivas, interferem no convívio social, habilidade no trabalho e no campo educacional e, conseqüentemente, na qualidade de vida (WGO, 2009; LAKATOS e LAKATOS, 2006; MALDAUN, 2007).

## 2.2 COLITE ULCERATIVA

Em 1793, o médico patologista escocês Matthew Baillie sugeriu – em seu livro *"Anatomia Patológica de algumas das mais importantes partes do corpo humano"* – que os pacientes estavam morrendo de colite ulcerativa. Entretanto, somente em 1875, os médicos britânicos Samuel Wilks e Walter Moxon descreveram o relato de caso de uma mulher jovem que morreu de diarreia sanguinolenta grave. O relatório da autópsia descreveu ulcerações e inflamação de todo o cólon, caracterizando um caso de colite ulcerativa precoce (RAPOSO, 2008; KIRSNER, 2001).

Na primeira década do século 20 diversos procedimentos e diagnósticos foram realizados. Em 1902, o médico R. F. Weir realizou apendicostomia em paciente com UC para facilitar a irrigação do cólon com permanganato de potássio devido a infecção (KIRSNER, 2001). Em 1907, o médico John Percy Lockhart-Mummery, por meio da recém técnica de proctosigmoidoscopia eletricamente iluminada, diagnosticou carcinoma de cólon em 7 de 36 pacientes com UC (KIRSNER, 2001; MULDER et al., 2014). Em 1909, 317 pacientes se encontravam internados em hospitais de Londres com uma doença inflamatória e ulcerativa do cólon. Nas demais décadas, diversos casos de UC foram relatados na Europa e nos Estados Unidos. Na época, as especulações sobre a etiologia incluíam alergia a alimentos e pólen e, ainda, distúrbios psicogênicos. Mais tarde, o tratamento com sulfonamidas (1938) e, posteriormente, com penicilina (1946), enfatizou a possibilidade de infecção bacteriana. Durante a década de 1950, houve respostas favoráveis ao uso de hormônio adrenocorticotrófico (ACTH) e esteróides adrenais, despertando o interesse em mecanismos imunológicos (KIRSNER, 2001).

As principais manifestações clínicas da UC são diarreia, em geral, com sangue e muco, dor abdominal e sangramento retal, caracterizada por períodos de remissão e exacerbação da doença. Com menos frequência pode ocorrer febre, cansaço, perda de apetite e de peso. Adicionalmente, outras complicações como sepse – devido à facilidade de infecção por meio das lesões da mucosa intestinal – e anemia – causada pela perda crônica de sangue – podem ocorrer (GUIMARÃES e YOSHIDA, 2008; KORNBLUTH e SACHAR, 2010; RADOVANOVIĆ-DINIĆ, 2003; LONGO et al., 2012). Observa-se ainda a existência de relação entre pacientes com

UC e neoplasias intestinais, as quais são dependentes da duração e extensão da doença (KORNBLUTH e SACHAR, 2010; WILSON, 2010; MACHADO, 2010; CARMO, 2010; NUNES, 2009).

Em geral, para o diagnóstico da UC são necessários diversos exames, dentre eles, hemograma, imunohistoquímica, histopatologia, biologia molecular, exame de fezes para eliminar infecções e para pesquisa de presença de sangue e muco. Endoscopia, raios X, tomografia computadorizada e, mais recentemente, imagens por infravermelho, são utilizados (PAIVA, 2011; PINHO, 2008; USA, 2010; AFIFY, SAYED e ELHAMMADY, 2010; RANGEL, 2010; FABRIS, 2011; ARAÚJO, 2009; LIMA, 2009; LONGO et al., 2012).

Apesar de acometer indivíduos de qualquer idade, a UC apresenta distribuição etária bimodal com um pico entre 20 e 40 anos e outro em idade mais tardia, após 50 anos. Em geral, não há diferença quanto ao gênero (GUIMARÃES, 2008; PAIM et al., 2009; OLIVEIRA, 2010; SOUZA, 2008; LONGO et al., 2012; MALDAUN, 2007).

Na América do Norte, a UC apresenta taxa de incidência de 2,2-14,3 casos por 100.000 pessoas por ano e prevalência de 37-246 casos por 100.000 pessoas por ano. Na Europa, a taxa de incidência é de 1,5-20,3 casos por 100.000 pessoas por ano e prevalência de 21,4-243 casos por 100.000 pessoas por ano (LONGO et al., 2012; SILVA, 2014; LAKATOS e LAKATOS, 2006).

Estudos epidemiológicos recentes indicam aumento na incidência de DII pediátricas que, nessa fase, ainda não podem ser diferenciadas, mas que levam a morte durante os primeiros anos da doença e risco de câncer de cólon quando de longa duração (ATHANASAKOS, et al., 2014; SILVA, 2014; LONGO et al., 2012; FIGUEIREDO et al., 2004).

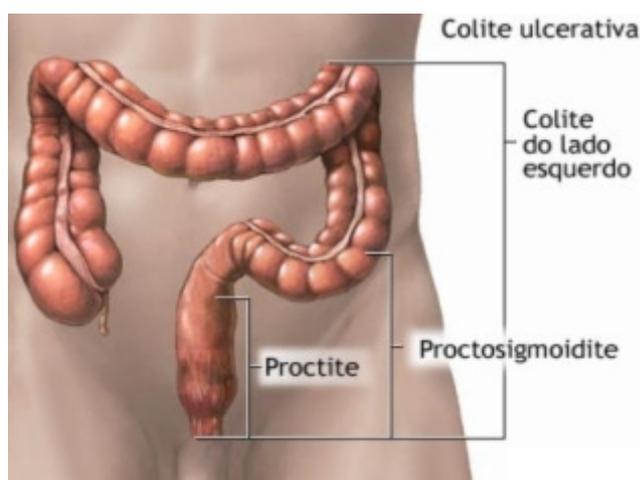
Os dados epidemiológicos, no Brasil são inconsistentes devido às dificuldades no diagnóstico e à subnotificação (PAIM et al., 2009; OLIVEIRA, 2010; SOUZA, 2008; ABCD, 2014). As comorbidades associadas, colites de outras etiologias e pouco conhecimento dos profissionais de saúde com relação à doença, contribuem para as dificuldades no diagnóstico dessa patologia (PAIM et al., 2009).

Em face ao aumento da incidência e prevalência da UC com o crescimento e envelhecimento da população mundial e brasileira, novos estudos relacionados às DII são necessários (LONGO et al., 2012; PAIM et al., 2009; SILVA, 2014). Os impactos e custos, tanto para o sistema de saúde quanto para o indivíduo,

são altos. A UC altera a qualidade de vida dos pacientes devido ao elevado tempo de internação, cronicidade, períodos de exacerbação e inúmeras complicações (WGO, 2009; OLIVEIRA, 2010, LONGO et al., 2012).

### 2.3 FISIOPATOLOGIA

A UC apresenta processo inflamatório ulcerativo crônico e difuso, atingindo a camada mucosa e submucosa do intestino grosso. Aproximadamente 40% a 50% dos indivíduos apresentam inflamação limitada ao reto (Retocolite) (Figura 2) e reto-sigmóide (Reto-sigmoidite), 30-40% apresentam difusão para além do cólon sigmóide e parte do cólon descendente (Colite Esquerda), mas preservando parte do intestino grosso, e 20% apresentam expansão para demais áreas do intestino grosso, ultrapassando o ângulo esplênico (Pancolite) (ATHANASAKOS, et al., 2014; RAPOSO, 2008; MEIER e STURM, 2011; KORNBLUTH e SACHAR, 2010; BACH e MORTENSEN, 2007; HARA, 2007; LONGO et al., 2012; SILVA, 2014).



**Figura 2** – Distribuição da UC.  
Fonte: ADAM

A avaliação endoscópica mostra que, quando a inflamação está no estágio inicial ou é de intensidade leve, a mucosa se apresenta eritematosa com superfície de aspecto granular fino. No estágio mais grave a mucosa é hemorrágica,

edematosa e ulcerada. Pode haver ocorrência de pólipos inflamatórios (pseudopólipos) na doença de longa duração, como resultado da regeneração epitelial. Durante a fase de remissão a mucosa pode parecer normal, entretanto, pacientes com vários anos de doença apresentam cólon com aspecto atrofiado. Em estágio fulminante, pode-se desenvolver colite tóxica ou megacólon, no qual a parede do cólon se torna muito fina e a mucosa é extretamente ulcerada, podendo levar à perfuração (LONGO et al., 2012; FERREIRA et al., 2011).

À análise histológica, o processo limita-se à camada mucosa e submucosa superficial. Somente no estágio fulminante da UC as camadas mais internas são afetadas. Outras alterações também podem ser encontradas como agregados linfóides, congestão vascular da mucosa com edema e hemorragia focal, além da presença de infiltrado de células inflamatórias como neutrófilos, linfócitos e macrófagos (LONGO et al., 2012).

## 2.4 ETIOPATOGENIA

A UC é uma doença multifatorial com causas ainda desconhecidas e hipóteses baseadas em predisposição genética e polimorfismos em diversos genes, fatores imunológicos e fatores ambientais relacionados a dieta, tabagismo, estresse psicológico e exposição a alguns medicamentos (LAKATOS e LAKATOS, 2006).

### *Fatores Genéticos*

A UC pode ser transmitida por herança genética, possuindo polimorfismos comuns a todos os portadores e outros específicos de grupos étnicos. Há fatores genéticos ligados à extensão e severidade da doença, como polimorfismos nos genes que codificam IL-1 e IL-17 (LONGO et al., 2012; RAPOSO, 2008; SOUZA, 2012). Parece haver ainda, uma forte associação com polimorfismos nos genes do antígeno leucocitário humano (HLA) (RAPOSO, 2008; WILSON, 2010; FDEZ-MORERA et al., 2003; NUNEZ et al., 2006; YAMAMOTO-FURUSHO et al., 2003; YAMAMOTO-FURUSHO et al., 2004; FERGUSON et al., 2007) e da região promotora do TNF- $\alpha$  (YAMAMOTO-FURUSHO et al., 2004). Adicionalmente,

polimorfismos nos genes do complexo principal de histocompatibilidade de classe 1 (MHC de classe 1) (FDEZ-MORERA et al., 2003), do fator inibitório de migração de macrófagos (MIF), do receptor *Toll-like* 4 (TLR4) e da proteína CD14, são encontrados em pacientes portadores de UC (SIVARAM et al., 2012).

### *Fatores Imunológicos*

A presença de marcadores sorológicos, como anticorpos anti-citoplasma neutrofílico (ANCA), também são estudados quando se avalia a severidade e extensão da doença. A positividade sorológica para anticorpo perinuclear anti-citoplasma neutrofílico (*p*-ANCA), em geral, está associada à severidade e resistência ao tratamento (SILVA, 2014; RAPOSO, 2008; LONGO et al., 2012; ASAKURA e SUGIMURA, 1995).

O gene supressor de tumores p53 é responsável por expressar a proteína p53 que participa do ciclo celular, promovendo reparos no DNA e estimulando a apoptose. Mutações neste gene levam a expressão de p53 inativa que é acumulada nas células alteradas. A maior expressão de p53 mutada em pacientes com UC, demonstra a relação da doença com o risco de neoplasia colorretal (RAPOSO, 2008; JURACH, 2003; CARMO, 2010; BALDIN JÚNIOR, 2005; MACHADO et al., 2010).

Na UC ativa, é notada a presença de infiltrado de células inflamatórias na mucosa intestinal, com elevada produção de IgG1 e de macrófagos, bem como predominância de resposta imunológica, predominantemente, do tipo Th1 (RAPOSO, 2008; EBERT et al., 2006). Mediadores inflamatórios, incluindo citocinas e espécies reativas de oxigênio (ROS), contribuem para a resposta imune e formação da cascata inflamatória. Há o aumento significativo de citocinas pró-inflamatórias (TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ ) e diminuição das citocinas anti-inflamatórias (IL-4, IL-10) na mucosa do cólon de pacientes com UC (WANG et al., 2011; WALDNER e NEURATH, 2015).

Adicionalmente, é descrita a presença de IgG1 e outros anticorpos contra as isoformas 1 e 5 da tropomiosina humana (hTM1 e hTM5), família de proteínas de microfilamento citoesquelético encontradas no interior ou na superfície de células epiteliais colônicas. Esses autoanticorpos podem levar à destruição de colonócitos, iniciando ou agravando o quadro clínico da UC (EBERT et al., 2006; GENG et al., 1998). Trabalhos sobre a ação de autoanticorpos contra a proteína humana CD13

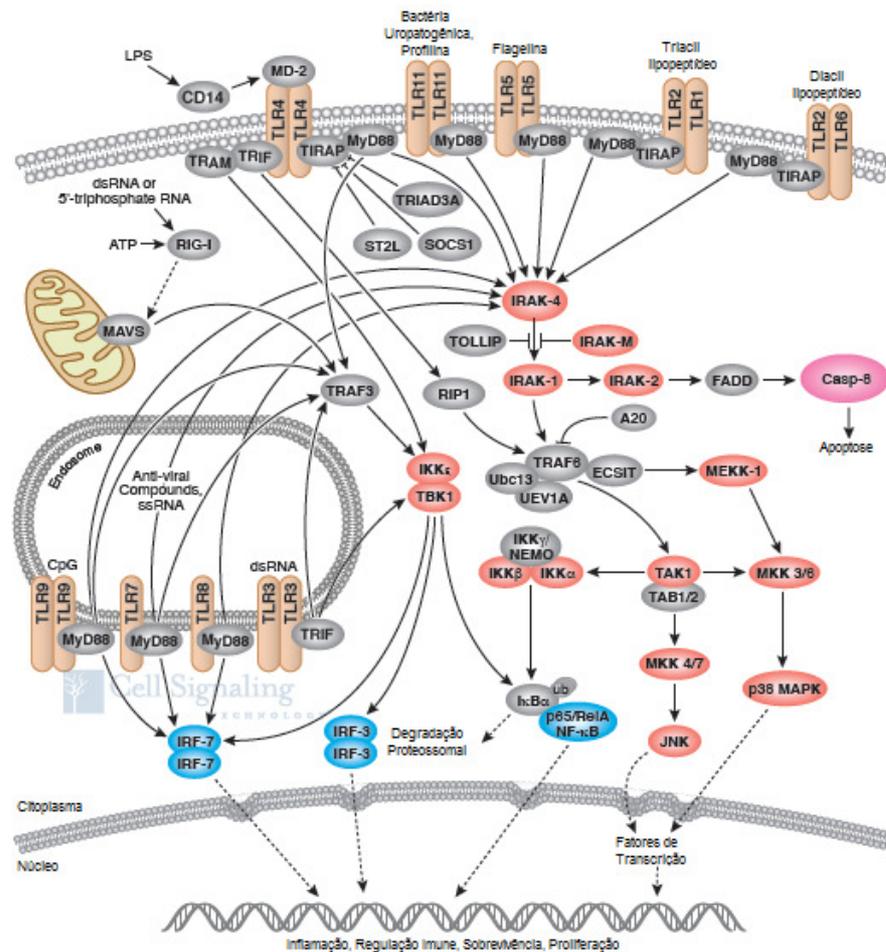
(aminopeptidase N) relatam efeitos citotóxicos e alteração de funções celulares. Estes estudos reforçam a existência de mecanismo de autoimunidade envolvido na etiopatogenia da UC (RAHBAR, BOSTROM e SODERBERG-NAUCLER, 2006).

Considerando que a principal característica da UC é o processo inflamatório, as principais vias envolvidas nesta doença são as ativadas por ligantes dos receptores *Toll-like* e TNF- $\alpha$ , que culminam na cascata de sinalização NF-kB (PETRONILHO, 2010; OLIVEIRA, COY e LEAL, 2012; PAIVA, 2011).

O epitélio intestinal possui uma barreira imunológica responsável por proteger o organismo de patógenos e antígenos vindos dos alimentos. Os padrões moleculares associados a patógenos (PAMPs), são respostas do sistema imunológicos frente a antígenos produzidos por bactérias, fungos e vírus presentes em alimentos ou acessam o TGI por via oral devido a técnicas de higiene inadequadas. Antígenos como os lipopolissacarídeos (LPS), peptidoglicanas, flagelinas e lipoproteínas, atuam em diversos tipos de receptores de reconhecimento padrão (PRR) como grupo de receptores de membrana celular que incluem os Receptores *Toll-like* (TLRs) (PETRONILHO, 2010; OLIVEIRA, COY e LEAL, 2012; PAIVA, 2011).

### *Receptores Toll-like (TLRs)*

Os *TLRs* (Figura 3) são receptores protéicos de membrana celular (TLRs 1, 2, 4, 5 e 6) ou endossomais (TLRs 3, 7, 8 e 9), expressos predominantemente em células apresentadoras de antígenos (APCs) como macrófagos e células dendríticas. A ativação dos TLRs resulta na produção do fator de necrose tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ) e na ativação da cascata NF-kB, desencadeando a resposta inflamatória (PETRONILHO, 2010; OLIVEIRA, COY e LEAL, 2012; PAIVA, 2011). O TNF- $\alpha$  é uma citocina pró-inflamatória produzida predominantemente por linfócitos T e macrófagos ativados. Ao interagir com o receptor específico (TNFR), promove sinalizações celulares que resultarão na ativação da cascata NF-kB, desencadeando a resposta inflamatória presente na UC (LEAL et al., 2006; PAIVA, 2011; FRANCO, 2010; FRUET, 2010; RUIZ et al., 2007; ZHANG et al., 2015).



**Figura 3** – Sinalização *Toll-like*.

Fonte: Adaptado de <http://www.cellsignal.com>

### *Fator de Necrose Tumoral $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )*

O TNF- $\alpha$  é uma das principais citocinas responsáveis pela mediação da resposta inflamatória e dano tecidual em diversas condições (BRADLEY, 2008; WEI et al., 2008; YIN et al., 2011). Sua origem vem, principalmente, de células inflamatórias como macrófagos e linfócitos T. Existem dois receptores de superfície celular para o TNF- $\alpha$  (TNFR1 e TNFR2) que são expressos de acordo com o tipo de célula. Ambos os receptores interagem com TNF- $\alpha$ , entretanto, o TNFR1 está envolvido na maioria das cascatas de sinalização relacionadas a atividade pró-inflamatória, dano celular e apoptose (DOHI et al., 2014; BRADLEY, 2008; WEI et al., 2008; YIN et al., 2011). A cascata de sinalização ativada por TNF- $\alpha$  é complexa e completamente entendida, entretanto, a ativação da via de sinalização NF- $\kappa$ B é o ponto-chave da cascata de sinalização ativada por TNF- $\alpha$  (Figura 4) (DOHI et al., 2014; BRADLEY, 2008; WEI et al., 2008).

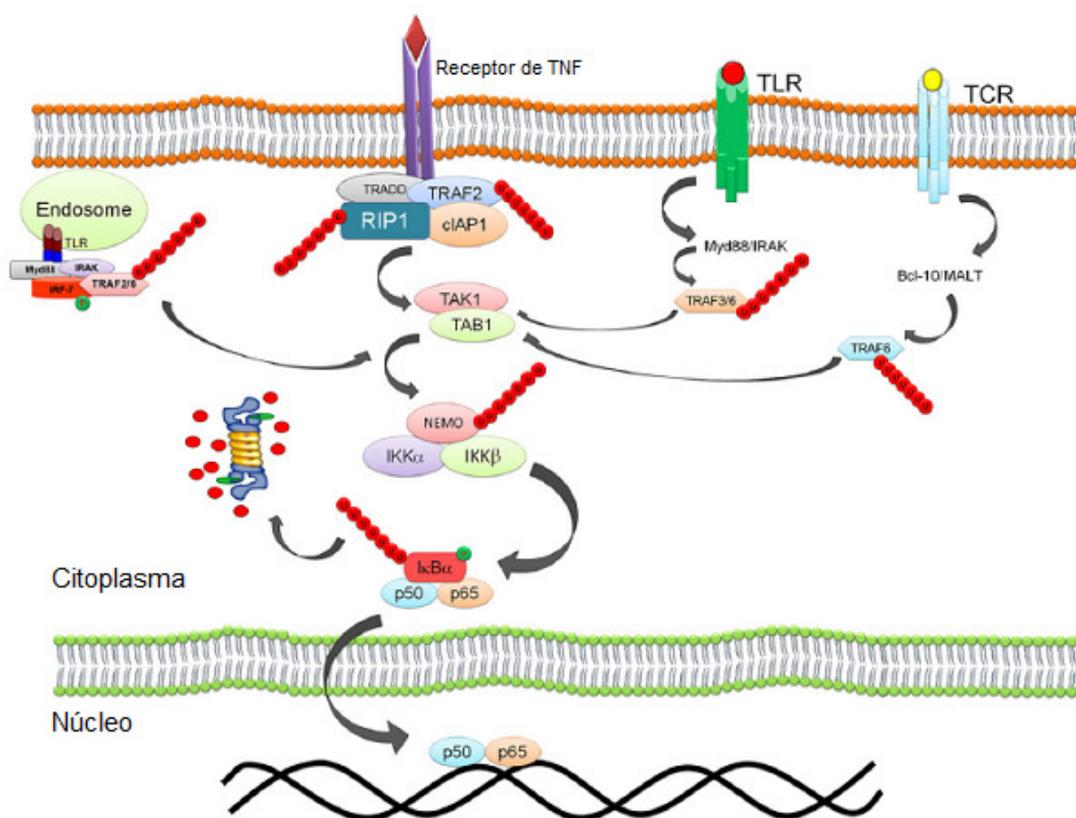


Figura 4 – Ativação da via NF-κB por ligantes TNF-α.  
Fonte: Adaptado de TOMAR e SINGH, 2015

Indivíduos saudáveis, em geral, não apresentam níveis séricos de TNF-α detectáveis. Entretanto, níveis elevados em amostras de tecido e soro estão associados a quadros inflamatórios e infecciosos (BRADLEY, 2008; YIN et al., 2011). Adicionalmente, o TNF-α está envolvido na indução de espécies reativas de oxigênio (ROS), levando à ativação da transcrição de genes da resposta a estresse oxidativo, agravando e prolongando o processo inflamatório (WANG et al., 2011; LARRICK e WRIGHT, 1990; ROESSNER et al., 2008). Apesar de monócitos e macrófagos serem a principal fonte de TNF-α em patologias inflamatórias, outras células, como mastócitos, linfócitos T e B, *Natural Killer* (NK) e neutrófilos, podem produzi-lo (BRADLEY, 2008; WEI et al., 2008).

### Fatores Ambientais

Alguns fatores ambientais parecem estar associados ao aparecimento de sintomas da UC, bem como estão relacionados à recidivas ou agravamentos. Em

geral, a interrupção do uso do fumo em tabagistas crônicos, estresse psicológico, hábitos alimentares e uso de anti-inflamatórios não-esteroidais (AINEs) são os mais relatados (DANESE, SANS e FIOCCHI, 2004; EKBOM, 2004; HVIID, SVANSTROM e FRISCH, 2011; NEUMAN e NANAU, 2012; RAPOSO, 2008; MALDAUN, 2007; LAKATOS e LAKATOS, 2006).

Curiosamente, há relatos que tabagistas crônicos que pararam de fumar passaram a desenvolver sinais clínicos de UC, assim também, os que já possuíam a doença, com a interrupção do tratamento foram observados agravamento dos sintomas. Alguns estudos mostram que o uso de nicotina nesses pacientes parece ter um efeito benéfico no curso da doença (KIKUCHI, ITOH e FUKUDA, 2007; NIKFAR et al., 2010; SANDBORN, 1999; PULLAN et al., 1994). Entretanto, em outros estudos realizados não foram observadas alterações clínicas relevantes com o uso de nicotina, indicando que a relação entre nicotina/tabaco e UC ainda não está bem esclarecida, ou que as demais substâncias presentes no tabaco podem agir de forma sinérgica no controle da doença (INGRAM et al., 2005a; INGRAM et al., 2005b; NIKFAR et al., 2010).

O estresse psicológico está associado com o início e agravamentos dos sinais sintomas da UC. Estudos demonstraram que pacientes submetidos a estresse psicossocial agudo e crônico foram mais susceptíveis a apresentarem períodos de exacerbação (LEVENSTEIN et al., 2000; MAWDSLEY et al., 2006; DANESE, SANS e FIOCCHI, 2004).

Os hábitos alimentares estão envolvidos tanto na remissão quanto na exacerbação dos sintomas. Pré- e pró-bióticos, incluindo ácidos graxos, fibras e certos tipos de proteínas, desempenham papel protetor da mucosa e regulador da microbiota intestinal (FERGUSON et al., 2007; MARCHI et al., 2014; PRINCE et al., 2011; ANDERSEN et al., 2012). Por sua vez, laticínios, certos tipos de cereais e proteínas, gorduras e bebidas alcoólicas estão associados com a exacerbação da UC (FERGUSON et al., 2007; PRINCE et al., 2011; ANDERSEN et al., 2012). Desta forma, o acompanhamento nutricional visando dieta individual de pacientes com UC é relevante para o controle de sinais e sintomas clínicos (FERGUSON et al., 2007; PRINCE et al., 2011; JOWET et al., 2003).

O uso prolongado de anti-inflamatórios não-esteroidais (AINEs) aparece associado a complicações clínicas e reações adversas no TGI, devido a ulcerações e erosões da mucosa do cólon de pacientes com UC (SCARPIGNATO e HUNT,

2010; LEVENSTEIN et al., 2000; BJARNASON e MACPHERSON, 1994; BJORKMAN, 1996; HAWKINS e HANKS, 2000). Contrariamente, relatos mostram que estes agentes – inibidores COX-2 – suprimem a inflamação colônica sem causar complicações (CIPOLLA et al., 2002).

## 2.5 ALVOS FARMACOLÓGICOS

### *Fator de Transcrição Nuclear kappa B (NF-kB)*

O fator de transcrição nuclear *kappa B* (NF-kB) é membro da família de fatores de transcrição estruturalmente relacionados que promovem a expressão de genes envolvidos em diversos processos celulares. NF-kB é expresso em todas as células e é extensivamente estudado em células do sistema imunológico devido à regulação da expressão de genes envolvidos na resposta imune, processos inflamatórios, sobrevivência e proliferação celular. A família NF-kB é formada por cinco proteínas estruturalmente relacionadas – p50, p52, p65 (RelA), RelB e c-Rel – e possuem porção *N*-terminal conservada com cerca de 300 aminoácidos (RHD – *Rel Homology Domain*). Esta se divide em regiões relacionadas ao reconhecimento pelo DNA e de domínio de dimerização referente ao sinal de localização nuclear (NSL). A porção *C*-terminal difere dentre as subunidades p65, RelB e c-Rel, que possuem domínio de transativação (TAD) necessário para atividade transcricional (GUTIERREZ e DAVIES, 2011; KUMAR et al., 2004; TOMAR e SINGH, 2015; MEFFERT e BALTIMORE, 2005).

As subunidades p50, p52, p65 (RelA), RelB e c-Rel formam homodímeros e heterodímeros responsáveis por induzir ou inibir a expressão gênica. As formas indutoras são os heterodímeros p50/p65 – o mais estudado – ou p52/p65, enquanto as inibidoras compreendem os homodímeros p50/p50 ou p52/p52. No citoplasma, os homodímeros inativos encontram-se complexados com um membro da família de proteínas inibidoras *kappa-B* (I $\kappa$ B): I $\kappa$ B $\alpha$ , I $\kappa$ B $\beta$ , I $\kappa$ B $\epsilon$ , I $\kappa$ B-R, I $\kappa$ B $\gamma$  (p105), I $\kappa$ B $\delta$  (p100) e Bcl-3 (GUTIERREZ e DAVIES, 2011; KUMAR et al., 2004; LI e VERMA, 2002).

Os estímulos provenientes de citocinas, patógenos virais e bacterianos, agentes indutores de estresse oxidativo ativam a cascata NF- $\kappa$ B no citoplasma da célula (GUTIERREZ e DAVIES, 2011; KUMAR et al., 2004; TANAKA et al., 2001; DOHI et al., 2014; TOMAR e SINGH, 2015; WANG et al., 2011; KALTSCHMIDT, WIDERA e KALTSCHMIDT, 2005), para os quais são descritas duas vias de ativação: Clássica (canônica) ou Alternativa (não-canônica) (Figura 5). A ativação da via clássica ocorre quando um ou mais receptores são ativados *e.g.* receptor de TNF $\alpha$ , receptores *Toll-like* ou receptor de célula T (TCR) (WANG et al., 2011; BONIZZI e KARIN, 2004). Após o estímulo as proteínas envolvidas são ativadas levando à fosforilação do complexo latente p50/p65/I $\kappa$ B $\alpha$ . Essa fosforilação ocorre nos resíduos conservados de serina (Ser32 e Ser36), situados na porção *N*-terminal do I $\kappa$ B $\alpha$ , por meio do complexo de proteínas quinases IKK $\alpha$ /IKK $\beta$ . O complexo IKK é formado pelas subunidades catalíticas IKK $\alpha$  (IKK1) e IKK $\beta$  (IKK2) e pelo modulador não-essencial de NF- $\kappa$ B (NEMO ou IKK $\gamma$ ), que atua com função regulatória no complexo IKK. O recrutamento de IKK para formação do complexo ocorre quando um conjunto de proteínas ancoradoras e adaptadoras (TRAFs, TIRAP e MyD88) e quinases (RIP e IRAK) organizam-se na ocorrência de estímulo (GUTIERREZ e DAVIES, 2011; KUMAR et al., 2004; TANAKA et al., 2001; DOHI et al., 2014; TOMAR e SINGH, 2015; WANG et al., 2011; KALTSCHMIDT, WIDERA e KALTSCHMIDT, 2005; BONIZZI e KARIN, 2004).

A fosforilação da subunidade I $\kappa$ B $\alpha$ , presente no complexo p50/p65/I $\kappa$ B $\alpha$ , faz com que o NEMO oligomerise e ligue-se à cadeia de poliubiquitina, através do domínio de ligação Ub (Uba), com ubiquitinação da I $\kappa$ B $\alpha$ . A ubiquitinação faz com que a I $\kappa$ B $\alpha$  seja degradada pelo proteossoma 26S (TANAKA et al., 2001; TOMAR e SINGH, 2015; XIAO, 2004) liberando o dímero p50/p65 e expondo o sinal de localização nuclear de p65, induzindo a translocação do dímero para o núcleo, no qual liga-se ao sítio promotor  $\kappa$ B do gene-alvo, regulando sua transcrição e ativando as respostas imune e inflamatória (TOMAR e SINGH, 2015; PAUL, GOHIL e BHUTANI, 2006; DOHI et al., 2014). Isso sugere que a ubiquitinação desempenha importante papel na regulação de diferentes passos da via NF- $\kappa$ B (TOMAR e SINGH, 2015). A translocação do dímero ativo para o núcleo está relacionada à regulação e ativação de genes associados às respostas imune e inflamatória *e.g.* como TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-2, IL-8 e molécula de adesão intercelular 1 (ICAM-1) (WANG et al., 2011; XIAO, 2004; BONIZZI e KARIN, 2004).

Por sua vez, é descrito que o reconhecimento de TNF- $\alpha$  pelo receptor TNFR1 ativa o complexo IKK, via domínio TRADD, desencadeando o processo de degradação da proteína inibitória I $\kappa$ B $\alpha$ . Como resultado, há liberação de NF- $\kappa$ B (PAUL, GOHIL e BHUTANI, 2006; DOHI et al., 2014; VALLE et al., 2009), revelando mecanismo de auto-regulação positiva que amplifica a resposta inflamatória e perpetua o quadro de inflamação intestinal crônica. Neste sentido, novas abordagens terapêuticas têm focado o uso de inibidores TNF- $\alpha$  para o tratamento da UC e mais recentemente oligonucleotídeos, inibidores proteassômicos e agonistas PPAR gama (PIRAT et al., 2012; YAN e POLK, 1999a; CUI et al., 2014; DOHI et al., 2014; DOU et al., 2014; VALLE et al., 2009).

Foi detectados um aumento na ativação de NF- $\kappa$ B na mucosa de pacientes com DII e em modelos experimentais de colite (DOU et al., 2014). Desta forma, a inibição da atividade de NF- $\kappa$ B observada em modelos experimentais – relacionada à inibição da expressão de mediadores pró-inflamatórios óxido nítrico sintase (iNOS), ciclooxigenase 2 (COX2), TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-17 e intérferon  $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ) – aparece como estratégia eficiente para o tratamento da UC (ZHANG et al., 2014; DOU et al., 2014; DOHI et al., 2014).

Considerando a via alternativa (não-canônica), esta é iniciada, principalmente, pela ativação dos receptores de linfotoxina  $\beta$ , do fator de ativação de células B (BAFFR), do ativador do receptor de NF- $\kappa$ B (RANK) ou receptor CD40 (CD40R), mediado pela quinase indutora de NF- $\kappa$ B (NIK), sendo estritamente dependente de IKK $\alpha$ , mas independente de IKK $\beta$  e NEMO. Nessa via, a NIK sinaliza para IKK $\alpha$  fosforilar a porção C-terminal da proteína p100 (I $\kappa$ B $\delta$ ) associada ao RelB, seguida de poliubiquitinação e degradação no proteossoma, liberando o heterodímero p52/RelB. A translocação desse dímero para o núcleo está relacionada com a expressão de genes envolvidos no desenvolvimento e manutenção de órgãos linfóides secundários (p. ex.: linfonodos e baço) (XIAO, 2004; ELGUETA et al., 2013; LI et al., 2013; LIU et al., 2012; TAO e GHOSH, 2012; LEON-BOENIG et al., 2012; MORTIER et al., 2010; THU e RICHMOND, 2010).

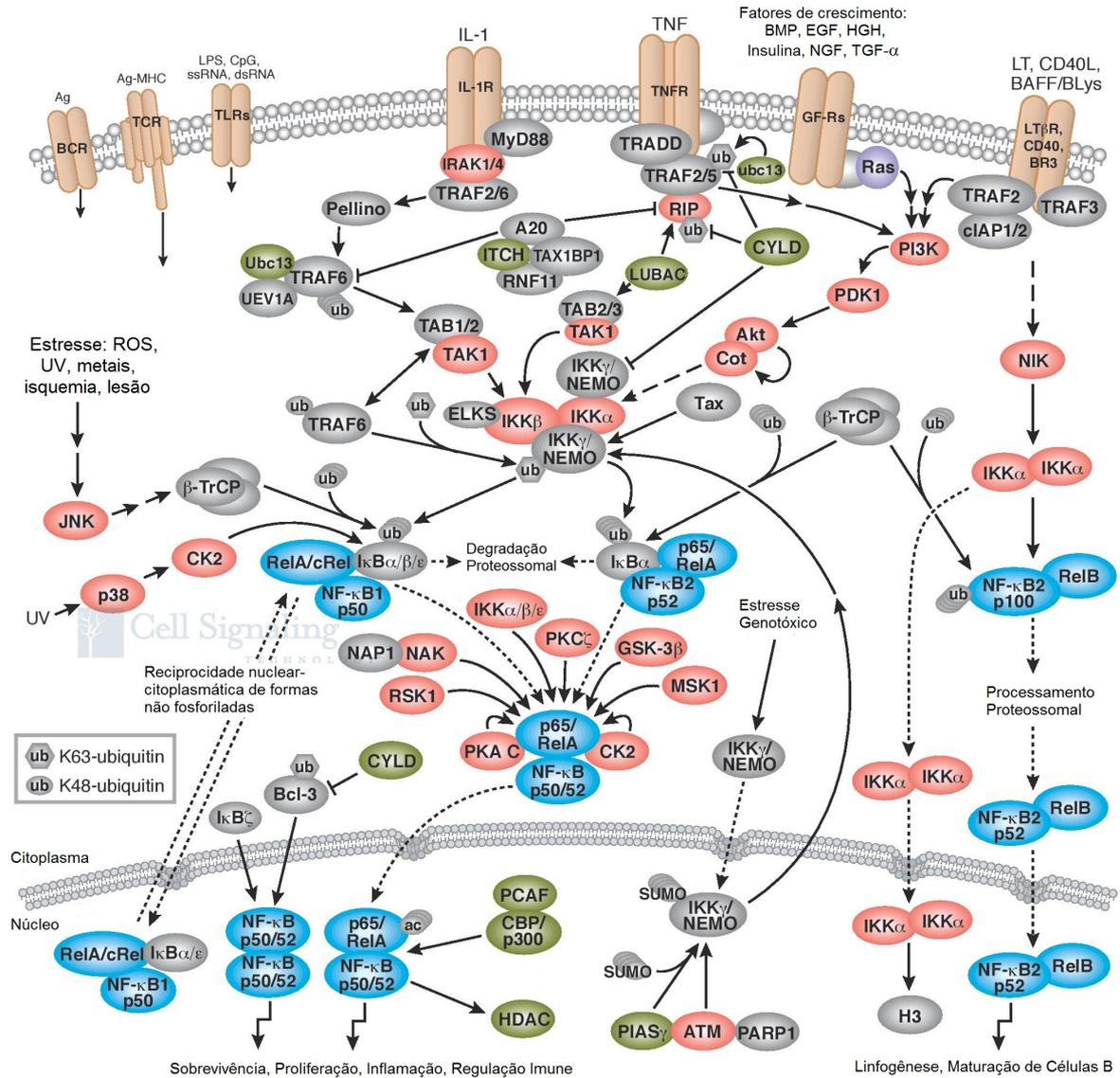


Figura 5 – Cascata de ativação NF-κB. Via Clássica e Alternativa.  
 Fonte: Adaptado de <http://www.cellsignal.com>

*Fatores epigenéticos: p300 e GCN5*

O termo epigenética, proposto por Conrad Hal Waddington (SPEYBROECK, 2002; KELLERMAYER, 2012), está relacionado a alterações reversíveis e hereditárias do genoma sem variação na sequência de nucleotídeos do DNA (KELLERMAYER, 2012; KHAN e KHAN, 2010). Modificações em histonas, como acetilações, metilações e fosforilações, alteram sinais de recrutamento de proteínas envolvidas na atividade transcricional, bem como proporcionam mudanças na estrutura da cromatina e consequentemente nas interações histonas-DNA

(PORTELA e ESTELLER, 2010; WU, 2011; DEKKER e HAISMA). Essas modificações são mecanismos moleculares responsivos, originadas de fatores ambientais que, ao longo do tempo, estabeleceram padrões de modificação da expressão gênica de forma independente do código genético, os quais podem ser críticos para o desenvolvimento de determinadas patologias como a UC. Hábitos de vida e alimentares, exposição a substâncias e o meio sócio-cultural em que se vive, contribuem para a ocorrência de alterações epigenéticas. Adicionalmente, a observação de alterações na expressão gênica de diferentes fatores imunológicos e inflamatórios, os quais variaram etnicamente, apoiam o envolvimento da hipótese epigenética na UC (KELLERMAYER, 2012; KHAN e KHAN, 2010).

A acetilação de resíduos de lisina das histonas ocorre por meio de enzimas com atividade Histona Acetiltransferase (HAT) *e.g.* p300, PCAF e GCN5 (Figura 6), aumentando a acessibilidade do DNA à fatores de transcrição (IMHOF et al., 1997; KHAN e KHAN, 2010). As HATs catalisam a transferência de um grupo acetil, a partir da acetil-CoA, para o grupo *N*-terminal dos resíduos de lisina presente nas histonas. A acetilação neutraliza as cargas positivas nos núcleos das histonas reduzindo a afinidade da subunidade *N*-terminal acetilada das histonas ao DNA (KHAN e KHAN, 2010; YANG, 2004; HASSAN et al., 2002; MUJTABA et al., 2004; SUN et al., 2004; ROTH, DENU e ALLIS, 2001; HASAN e HOTTIGER, 2002).

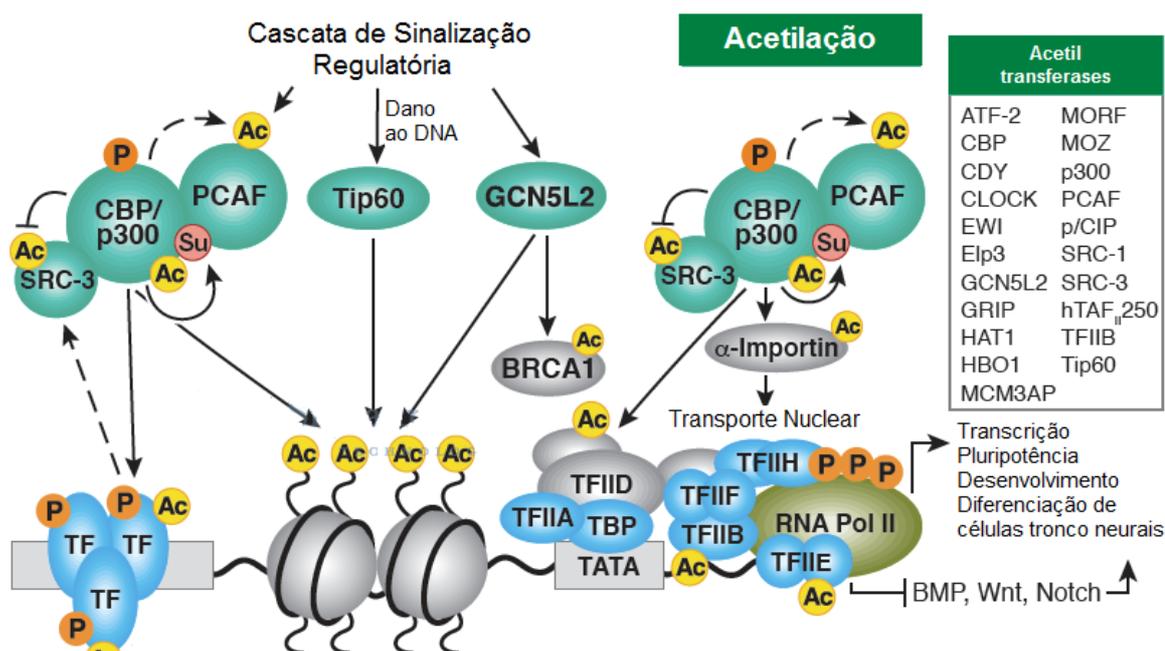


Figura 6 – Acatilação de Histonas.

Fonte: Adaptado de <<http://www.cellsignal.com/>>

As histonas acetiltransferases são classificadas em dois grupos (A e B), baseado na sua localização intracelular e tipo de substrato. As enzimas do tipo A localizam-se no núcleo e são responsáveis pela acetilação de histonas nucleossomais em reações intimamente ligadas a ativação da transcrição. As HATs do tipo B são encontradas no citoplasma e acetilam histonas recém sintetizadas, antes da montagem da cromatina durante a replicação do DNA (KIKUCHI et al., 2011; KUO e ALLIS, 1998).

A EP300 ou p300 – originalmente identificada como fator de ligação à proteína adenoviral E1A – é uma proteína expressa ubiquamente e participa em diversos processos, incluindo proliferação celular, processos metabólicos, diferenciação miogênica e hematopoiética, estabilidade genômica e resposta a infecção viral. A p300 pertence às acetiltransferases do grupo A e atua como coativador geral de transcrição e acetilação de histonas (Figura 7), bem como de proteínas não-histonas. A acetilação de proteínas não-histonas pode acarretar em efeito positivo ou negativo na regulação transcricional por afetar as interações proteína-proteína ou proteína-DNA (KALKHOVEN, 2004; KIKUCHI et al., 2011). Neste sentido, p300 pode acetilar a proteína ativadora de transcrição p53, levando à maior atividade específica de ligação ao DNA (KHAN e KHAN, 2010).

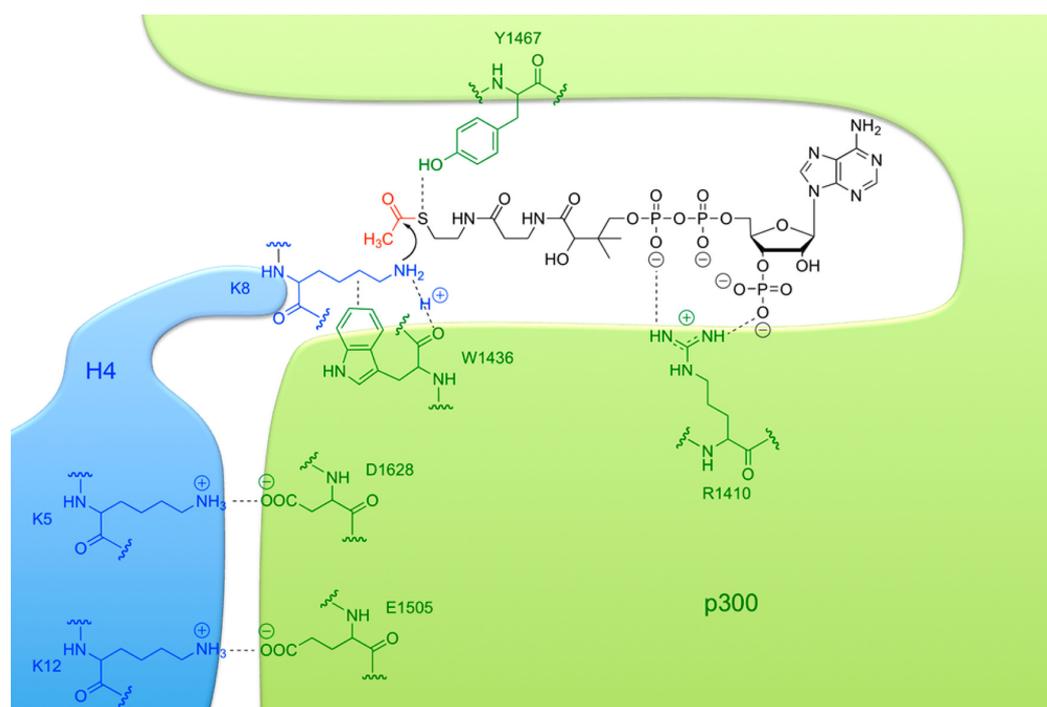


Figura 7 – Acetilação catalizada por p300.  
Fonte: DANCY e COLE, 2015

A p300 está associada à supressão tumoral e resposta a antígenos virais, em que evidências sobre mutações no gene EP300 foram encontradas em diversos tipos de tumores e algumas doenças genéticas raras (CHAN e LA THANGUE, 2001; GOODMAN e SMOLIK, 2000; ROELFSEMA e PETERS, 2007).

Estruturalmente, a proteína é composta por múltiplos domínios, sendo três ricos em cistina-histidina (CH1, CH2, CH3) dos quais a região C-terminal é a que mais interage especificamente com E1A; um bromodomínio, um dedo de zinco do tipo PHD, um domínio KIX que age como sítio de ligação para o fator de transcrição CREB, um domínio rico em glutamina no C-terminal e um domínio de histona acetiltransferase (HAT) (THAKUR, YADAV e YADAV, 2013; YANG, 2004; MUJTABA, 2004; BLOBEL, 2002; GOODMAN e SMOLIK, 2000).

Dentre as HATs, a família de enzimas CBP/p300 mostra ser a mais eficiente por ter menor especificidade de substrato, podendo acetilar todas as quatro histonas. Por sua vez, a *N*-acetiltransferase relacionada com a GCN5 (GNAT) pode interagir com CBP/p300, estando relacionada com regulação transcricional e controle do ciclo celular (KHAN e KHAN, 2010).

GCN5 é uma histona acetiltransferase A, identificada originalmente como sendo um coativador global. GCN5 desempenha atividade HAT acetilando principalmente histonas, mas, também, possui capacidade de acetilar alguns fatores de transcrição como a p53, BRCA1, Myc e membros da família E2F (JIANG et al., 2012; KIKUCHI et al., 2011; NAGY e TORA, 2007; LIU et al., 2008; GAMPER e ROEDER, 2008; OISHI et al., 2006; LANG e HEARING, 2003).

A p53 é uma proteína que tem como principal função controlar pontos de checagem do ciclo celular, promover reparos no DNA e estimular a apoptose. Durante a fase G1 da divisão celular, a p53 verifica se há mutações na sequência do código genético devido a algum erro de replicação. Na ocorrência de algum erro, a p53 impede que ocorra a mitose e se complete a divisão celular de uma célula mutante. Esse impedimento pode ser pela correção da mutação envolvendo proteínas de reparo do DNA, ou por meio de apoptose (JURACH, 2003; CARMO, 2010).

As vias NF- $\kappa$ B e p53 são ativadas em resposta ao estresse celular, com manutenção de equilíbrio por meio de antagonismo mútuo. Enquanto a ativação da via NF- $\kappa$ B leva à transcrição de fatores pró-inflamatórios, a ativação da p53 promove a regulação do ciclo celular, reparos ao DNA e parece estar envolvida no controle da

expressão de certos fatores pró-inflamatórios, por meio da diminuição da atividade de NF- $\kappa$ B. Como a GCN5 é capaz de acetilar a p53, alterações em sua função podem ser responsáveis pelo desequilíbrio na atividade de NF- $\kappa$ B, tendo como consequência o aumento na ativação da via NF- $\kappa$ B e, conseqüentemente, aumento na transcrição dos fatores pró-inflamatórios (PAL et al., 2014; JIANG et al., 2012; GUDKOV, GUROVA e KOMAROVA, 2011). O complexo STAGA (SPT3-TAFII31-GCN5-L acetylase) – complexo multiproteico com a subunidade catalítica acetiltransferase GCN5L – está especificamente envolvido na ativação gênica dependente de p53 (JIANG et al., 2012; GAMPER e ROEDER, 2008).

A inibição de GCN5 é capaz de modular diretamente a via NF- $\kappa$ B dependente de sinalização, reduzindo as respostas inflamatórias. Adicionalmente, a inibição da acetilação de p65 suprime as ativações induzida e constitutiva do NF- $\kappa$ B, levando à redução da expressão de genes dependentes de NF- $\kappa$ B (DANCY e COLE, 2015; KIM et al., 2013).

A transdução de sinais mediada pelo Fator Nuclear *kappa* B (NF- $\kappa$ B) desempenha importante papel na inflamação. Ao se deslocar para o núcleo, o NF- $\kappa$ B interage com o sítio de reconhecimento  $\kappa$ B de genes-alvo, requerendo co-fatores, como as HATs, para a ativação da transcrição gênica. Isso induz a acetilação dos resíduos de lisina presente nas histonas 4 (H4), promovendo a abertura da cromatina e permitindo a transcrição de genes pró-inflamatórios. A expressão exacerbada de p300 parece estar ligada à indução da atividade de NF- $\kappa$ B, e, do contrário, sua regulação negativa está ligada a supressão de NF- $\kappa$ B. Dessa forma, manter o equilíbrio da atividade de HATs por meio de inibidores revela uma alternativa promissora para o tratamento dos processos inflamatórios (ADCOCK et al., 2007; BARNES, ADCOCK e ITO, 2005; DEKKER e HAISMA, 2009; GHIZZONI et al., 2010; CLARKE et al, 2008).

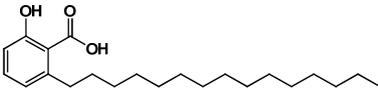
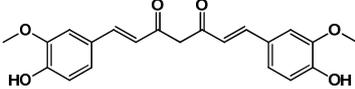
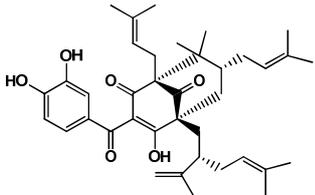
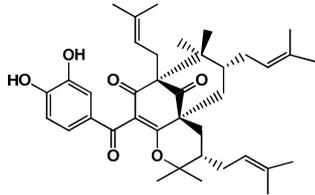
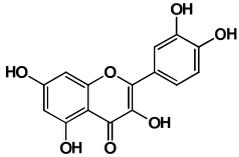
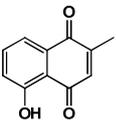
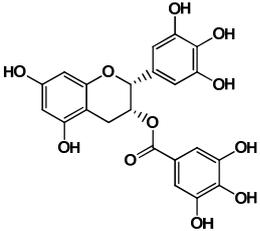
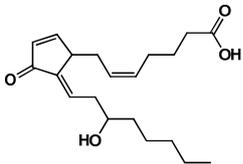
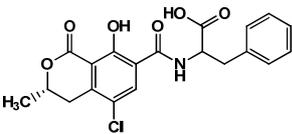
Estudos sobre o perfil de atividade de produtos naturais frente a HATs identificaram propriedades inibitórias destes compostos. O primeiro inibidor natural de acetiltransferase foi o ácido anacárdico (**1**) (Tabela **1**), extraído, principalmente, do líquido da casca da castanha de caju, e também encontrado na manga ou nos geraniuns. Outros compostos naturais isolados *e.g.* curcumina (**2**), garcinol (**3**), isogarcinol (**4**), quercetina (**5**) (Tabela **1**), apresentam atividade inibitória frente a p300. Na busca de ligantes seletivos para estas acetiltransferases foram identificados compostos sintéticos que apresentam atividade inibitória frente a HATs

(Figura 8) (DANCY e COLE, 2015; DEKKER e HAIMA, 2009). Nesses estudos, arcabouços moleculares contendo grupos salicílico, catecólico e cinâmico foram associados ao perfil HAT-inibitório.

Mais recentemente, compostos desta classe apresentaram propriedades anti-inflamatórias, sugerindo que essas atividades possam estar diretamente relacionadas. Entretanto, deve-se destacar que a inibição de histonas acetiltransferases pode influenciar outros alvos, cujas possíveis conseqüências devem ser amplamente estudadas (DANCY e COLE, 2015; DEKKER e HAIMA, 2009; GHIZZONI et al. 2011; COSTI et al., 2007; TSAPROUNI, et al., 2011).

Por fim, o desenvolvimento de inibidores HAT seletivos à regulação negativa de NF- $\kappa$ B constitui um desafio na busca de novas entidades químicas para o tratamento de doenças de base inflamatória, como a UC, bem como o estabelecimento de parâmetros associados à modulação de suas atividades.

**Tabela 1** – Compostos naturais com atividade inibitória de p300.

Inibidor p300		IC <sub>50</sub> (uM)
Ácido Anacárdico (1)		8,5 uM
Curcumina (2)		25,0 uM
Garcinol (3)		7,0 uM
Isogarcinol (4)		7,0 uM
Quercetina (5)		100,0 uM
Plumbagina (6)		25,0 uM
EGCG (7)		30,0 uM
D12-Prostaglandina-J2 (8)		750,0 nM
Ocratoxina A (9)		25,0 uM

Fonte: Adaptado de DANCY e COLE, 2015; DEKKER e HAISMA, 2009.

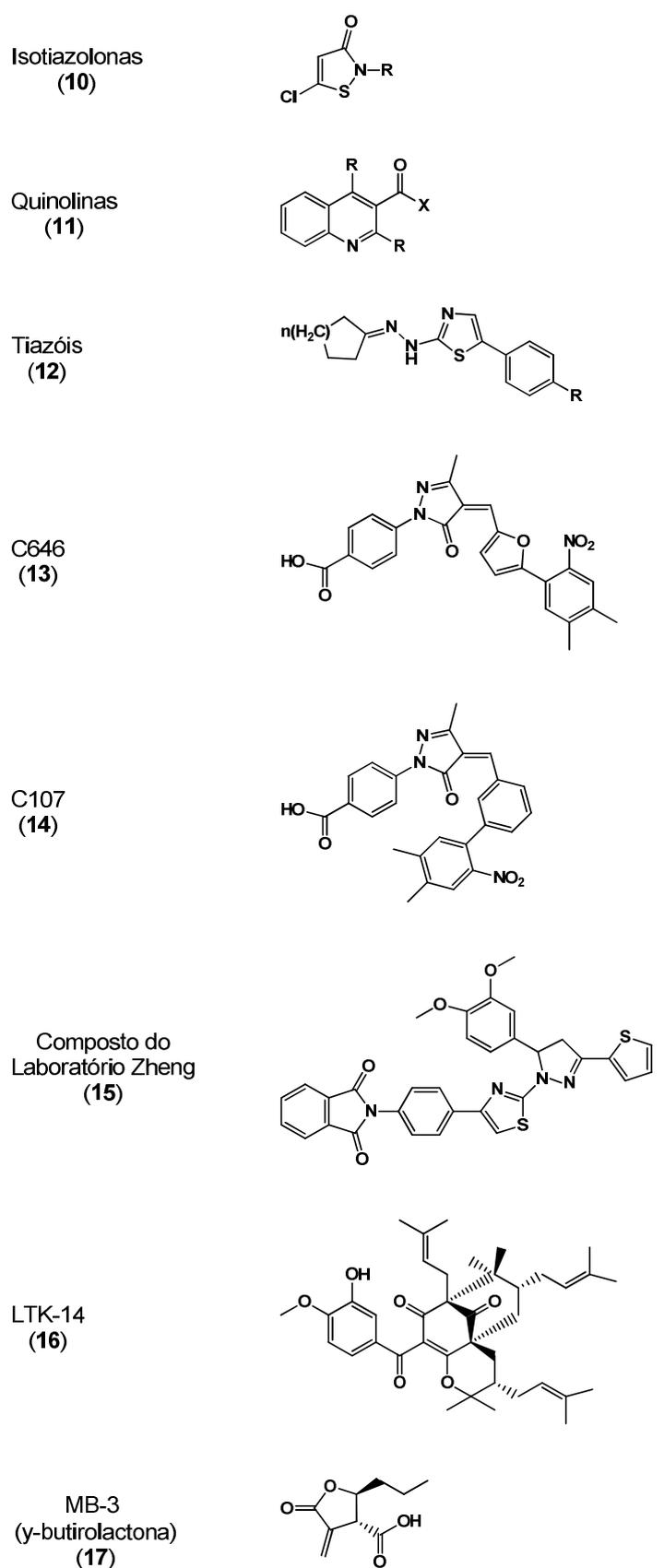


Figura 8 – Inibidores sintéticos de HATs.  
Fonte: Adaptado de DANCY e COLE, 2015.

## 2.6 TRATAMENTO

O tratamento para pacientes com UC é essencialmente o mesmo para todas as idades. O que diferencia é a ocorrência ou não de comorbidades ou outras patologias associadas. O tratamento cirúrgico tem como objetivo a remoção completa do intestino grosso, em face a recidivas associadas à remoção incompleta e possibilidade de câncer (PAIM et al., 2009).

O objetivo do tratamento farmacológico na UC é a rápida remissão e controle do processo inflamatório de modo a reduzir suas conseqüências, complicações e desconforto para o paciente. Atualmente, o ácido 5-aminosalicílico (5-ASA, **18**) e seus derivados são utilizados como tratamento base e primeira escolha, enquanto glicocorticóides e imunomoduladores visam intensificar o tratamento (MEIER e STURM, 2011; KORNBLUTH e SACHAR, 2010; SANTOS, 2011; WGO, 2009; LONGO et al., 2012).

Nos quadros mais graves podem ser usados anticorpos monoclonais anti TNF- $\alpha$  (infliximab), inibidores de calcineurina (ciclosporina A, tacrolimus), análogos de purina (azatioprina, 6-mercaptopurina) ou até mesmo cirurgia, visando reduzir o risco da evolução para câncer colorretal (MEIER e STURM, 2011; KORNBLUTH e SACHAR, 2010; SANTOS, 2011; NUNES, 2009; LONGO et al., 2012; WGO, 2009). A definição de quadro grave é baseada na freqüência de mais de 6 evacuações com sangramento por dia, acompanhado de outros sinais clínicos (febre, taquicardia, anemia) (MEIER e STURM, 2011).

O uso de antimicrobianos (metronidazol, ciprofloxacino) é recomendado quando houver infecções associadas ou como prevenção de acordo com o risco benefício (SANTOS, 2011; MEIER e STURM, 2011; LONGO et al., 2012). Entretanto, a prescrição de AINEs é contra-indicada, pois estão relacionados à exacerbação da doença (SCARPIGNATO e HUNT, 2010; LEVENSTEIN et al., 2000; BJARNASON e MACPHERSON, 1994; BJORKMAN, 1996; HAWKINS e HANKS, 2000). Como terapias complementares, encontram-se as vitamina B12, D, polivitamínico e reposição de ferro em caso de anemia (WGO, 2009).

Há mais de 50 anos, os derivados aminossalicílicos (Figura **9**) estão em uso clínico para o tratamento e manutenção da remissão em pacientes com UC leve a moderada (CAMPIERE et al., 1981; SVARTZ, M., 1948). Os estudos originais com

sulfasalazina (**19**) (SASP, salicilazosulfapiridina) (SVARTZ, M., 1948; SVARTZ, N., 1948), permitiram identificar o ácido 5-aminosalicílico [5-ASA, mesalazina, **18**] como fração ativa da SASP, dando início ao desenvolvimento clínico de modernas formulações orais e retais contendo 5-ASA (**18**).

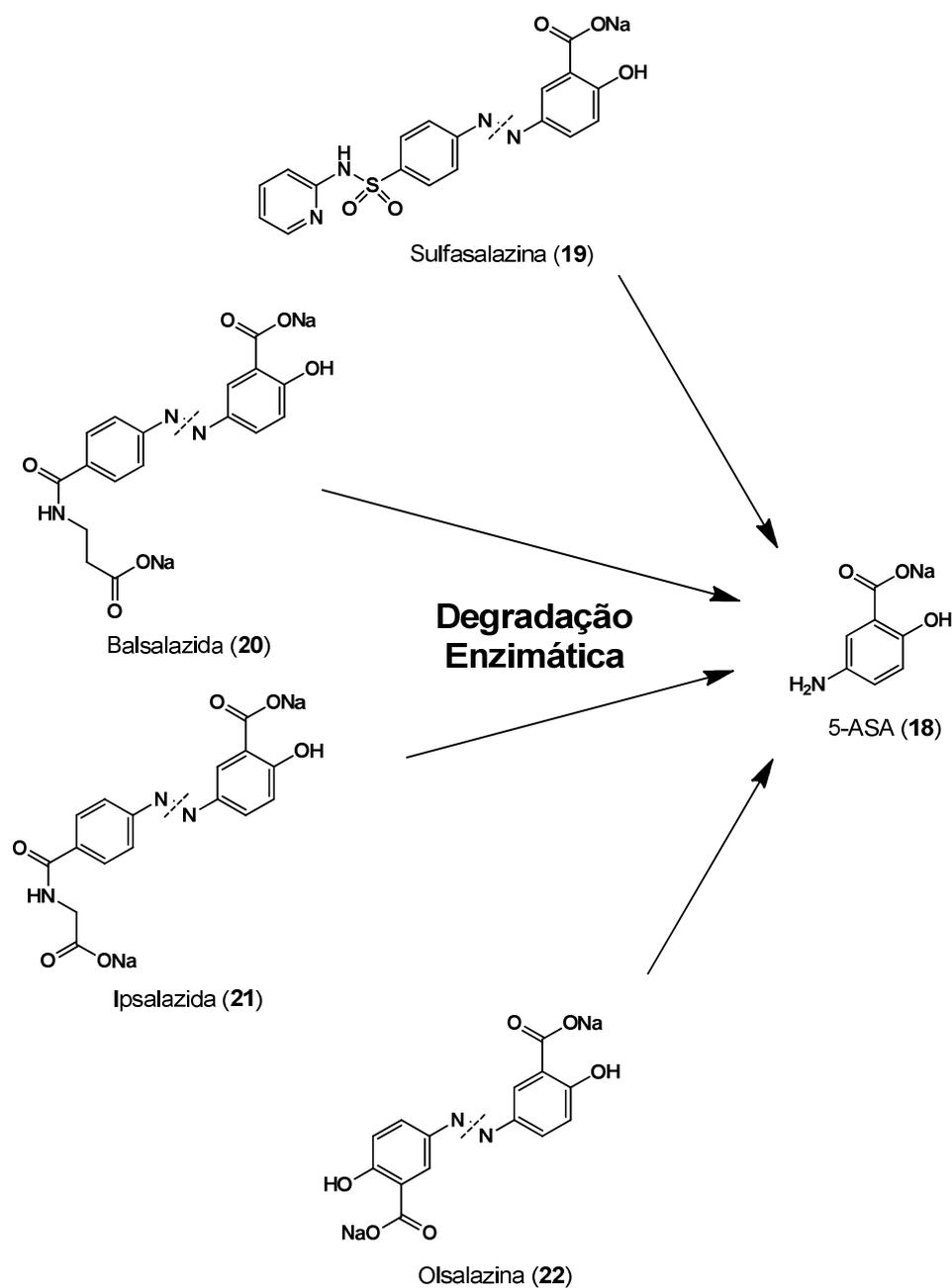
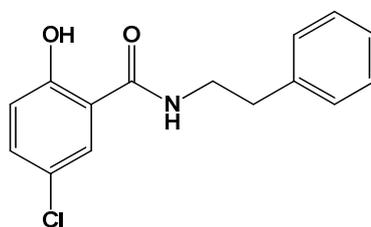


Figura 9 – Derivados aminossalicílicos.  
Fonte: Adaptado de FREIRE et al., 2006.

Farmacologicamente, 5-ASA (**18**) atua na sinalização da cascata do TNF- $\alpha$  (HORVATH et al., 2008), sobre os fatores TGF- $\beta$  (KOELINK et al., 2010) e NF-kB (YAN e POLK, 1999b). Outros trabalhos evidenciaram que **18** suprimiu a proliferação de células cancerosas do cólon humano por meio da inibição da expressão de metaloproteinases 2 e 9 (MMP-2, MMP-9), via NF-kB (KIM et al., 2009). Adicionalmente, 5-ASA também atua como agonista PPAR $\gamma$ , reforçando sua atividade anti-inflamatória e antineoplásica (LYAKHOVICH et al., 2011). O PPAR $\gamma$  parece mediar a ação terapêutica do 5-ASA (**18**) por meio da diminuição da localização nuclear do NF-kB (LONGO et al., 2012).

A busca por novas moléculas úteis no tratamento da UC tem recebido atenção da Química Medicinal, onde estratégias de modificação estrutural do ácido 5-ASA (**18**) (KIM et al., 2012; DHANESHWAR et al., 2009; HASSAN, G. S., SOLIMAN, 2010) bem como hibridização molecular com antibacterianos *Gram*-negativos têm sido exploradas; e já forneceram alguns protótipos mais eficientes (mais seletivos e menos tóxicos) que os fármacos comerciais (KIM et al., 2012; PIRAT et al., 2012).

Neste sentido, Kim e colaboradores (2012), observaram que a administração retal de 5-CSPA (5-clorosaliciloilfenetilamida, **23**) – que apresentou atividade inibitória frente a NF-kB com IC<sub>50</sub> de 15  $\mu$ M – melhorou a colite ulcerativa induzida por ácido 2,4,6-trinitrobenzenosulfônico (TNBS). O estudo avaliou 12 derivados amídicos do ácido 5-clorosalicílico, com destaque para 5-CSPA (**23**) (Figura 10), que apresenta substituinte araquilamida com duas unidades metilênicas a partir do ácido 5-clorosalicílico.



**Figura 10** – Composto 5-CSPA (**23**), inibidor de NF-kB.  
Fonte: Adaptado de KIM et al. 2012.

## 2.7 LÍQUIDO DA CASCA DA CASTANHA DE CAJU (LCC)

O LCC – produzido no mesocarpo esponjoso da casca da castanha de caju (*Anacardium occidentale*) – é um óleo acre e viscoso que compreende 25% do peso do fruto *in natura*, sendo uma das mais ricas fontes de lipídeos fenólicos não-isoprenóides. Estes derivados encontram-se na forma de misturas de ácidos anacárdicos (**24**), cardanóis (**25**), cardóis (**26**) e 2-metilcardóis (**27**) (Figura 11). Dependendo do método de obtenção do LCC este pode ser ainda considerado natural (abaixo de 150°C) ou técnico (200-230 °C) em processo de beneficiamento da castanha de caju. No LCC natural a mistura de ácidos anacárdicos compreendendo cerca de 70% dos lipídeos fenólicos; enquanto no LCC técnico há 65% de cardanol proveniente da descboxilação no ácidos anacárdicos (MAZZETTO e LOMONACO, 2009).

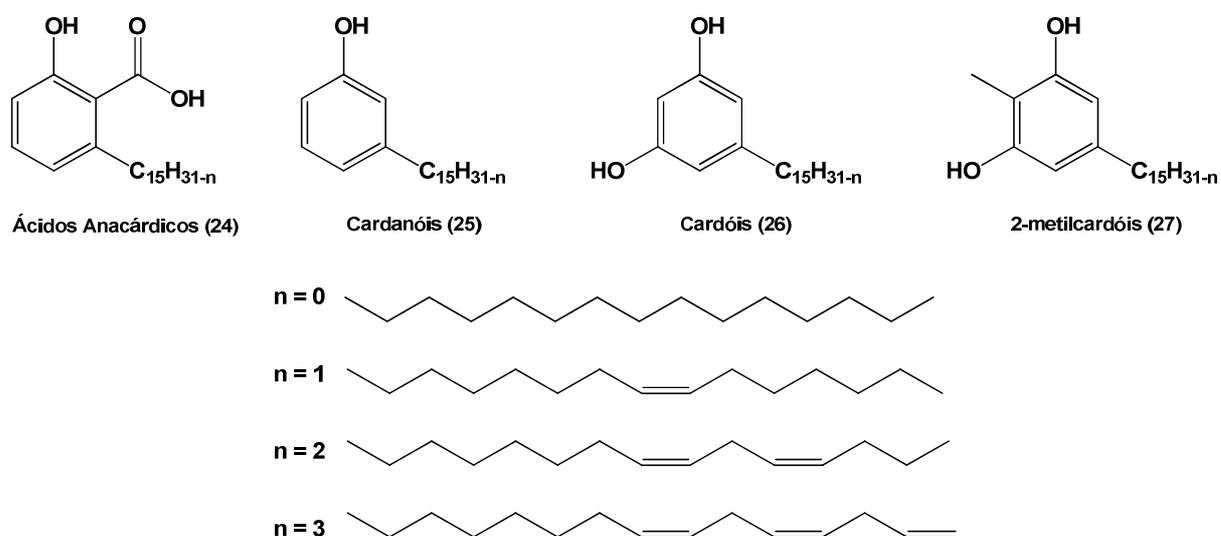


Figura 11 – Lipídeos fenólicos não isoprenóides constituintes do LCC  
Fonte: Adaptado de MAZZETTO e LOMONACO, 2009.

Os lipídeos fenólicos do LCC apresentam versatilidade transformações químicas, devido à natureza dualística (caráter aromático e acíclico), aliado à existência de grupos funcionais polares no anel aromático e múltiplas insaturações na cadeia alifática em C-8', C-11' e C-14 (PARAMASHIVAPPA et al., 2001; NUNES, 2014).

Estes derivados fenólicos do LCC e sintéticos apresentam diferentes perfis de atividades biológicas (STASIUK e KOZUBEK, 2010) *i.e.* antibacteriana (GREEN et al., 2008; GREEN et al., 2007), antioxidante (TREVISAN et al., 2006) e farmacológicas *e.g.* inibidores enzimáticos (STASIUK, BARTOSIEWICZ e KOZUBEK, 2008; PARAMASHIVAPPA et al., 2002), antiproliferativos (PARAMASHIVAPPA et al., 2003; CHANDREGOWDA, KUSH e REDDY, 2009). Sung e colaboradores (2008) demonstraram que o ácido anacárdico saturado (**1**) inibiu a ativação do NFκB induzido e constitutivo bem como da proteína kinase IκBα (SUNG et al., 2008). Por sua vez, Ghizzoni e colaboradores (2010) observaram a inibição da histona acetiltransferase PCAF, por um derivado do ácido anacárdico (GHIZZONI et al., 2010).

De maneira geral, produtos naturais e seus derivados apresentam perfil de atividade em diferentes alvos, podendo ser classificados como ligantes multialvo. Este perfil cunhou o paradigma do planejamento de uma única entidade química capaz de atuar, de forma sinérgica, em múltiplos alvos envolvidos em doenças multifatoriais. No âmbito da Química Medicinal esta estratégia foi denominada de ligantes multialvo-dirigidos (LMAD) e tem sido explorada para o tratamento de doenças neurodegenerativas, negligenciadas e câncer (LEÓN, GARCIA e MARCO-CONTELLES, 2013; BOLOGNESI et al., 2009; KOEBERLE e WERZ, 2014).

Neste sentido, o planejamento de novas moléculas multialvo planejadas a partir do ácido anacárdico foi estabelecido em linha de pesquisa do LADETER, explorando o perfil anti-inflamatório deste derivado pela modulação de diferentes alvos terapêuticos (SUNG et al., 2008; GHIZZONI et al., 2010).

No âmbito de uma linha de pesquisa que visa o emprego dos lipídeos fenólicos não-isoprenóides do cajueiro (*Anacardium occidentale*) como matéria-prima e considerando a versatilidade da utilização do cardanol (RAO e PALANISAMY, 2011; TYMAN e IDDENTEN, 2005; MORAIS et al., 1990), do ácido anacárdico (SUNG et al., 2008; GHIZZONI et al., 2010) e considerando a ação inibitória de NF-κB do 5-ASA (**18**) (KIM et al., 2012) e inibitória de HAT de benzamidas derivadas do ácido anacárdico (CHANDREGOWDA, KUSH e REDDY, 2009), o presente trabalho objetivou a utilização do ácido isoanacárdico, obtido a partir do cardanol, na obtenção racional de novos agentes anti-inflamatórios, candidatos ao tratamento da colite ulcerativa.

***Objetivos***

---

## 3 OBJETIVOS

---

### 3.1 OBJETIVO GERAL

O presente estudo objetivou a obtenção racional de novos derivados do ácido isoanacárdico e a avaliação *in vitro* frente a histona acetiltransferases p300 e GCN5, no âmbito de uma linha de pesquisa que visa o desenvolvimento de agentes anti-inflamatórios planejados a partir do LCC, candidatos ao tratamento da colite ulcerativa.

### 3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Síntese e caracterização de intermediários e produtos finais derivados do ácido isoanacárdico.
- Avaliação do perfil inibitório dos derivados-alvo frente à enzimas p300 e GCN5L2.
- Estabelecimento de relação estrutura-atividade dos compostos ativos.



## 4 PLANEJAMENTO ESTRUTURAL

Os compostos-alvo foram planejados a partir da similaridade estrutural entre o 5-CSPA (**23**) – inibidor NF- $\kappa$ B – e o ácido anacárdico (**1**) – inibidor NF- $\kappa$ B, p300 e GCN5 – de forma a gerar novos padrões moleculares com arcabouço estrutural do ácido isoanacárdico (**28**) (Figura 12).

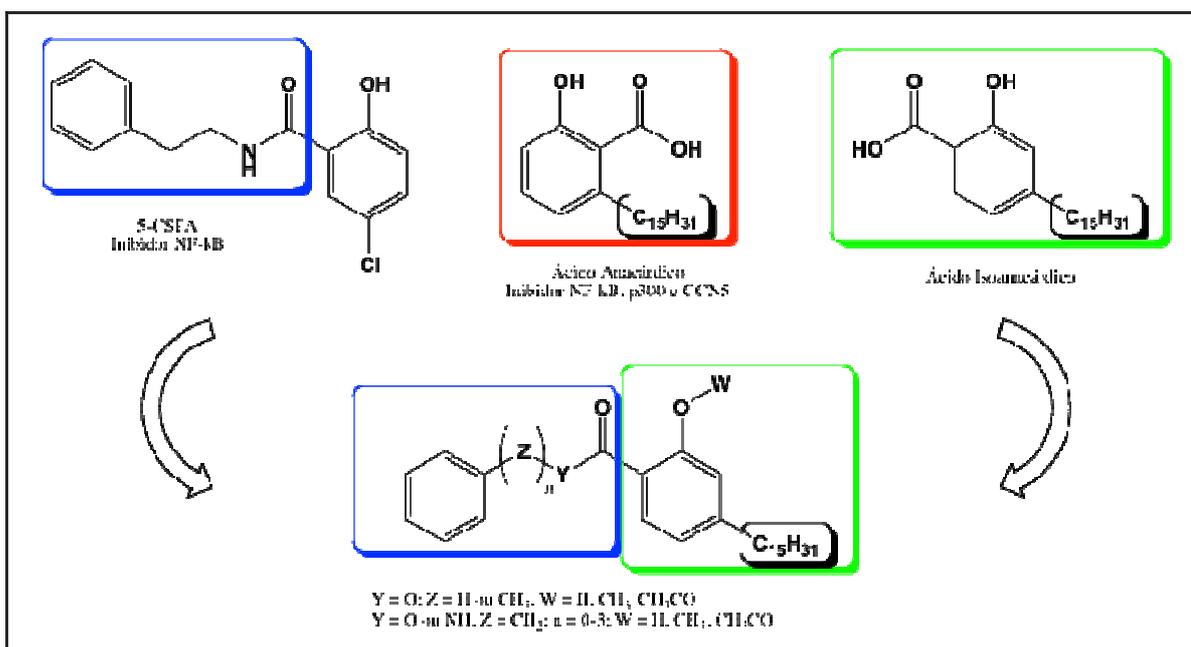


Figura 12: Planejamento Estrutural

Para a primeira série, o planejamento de *orto*-regioanálogo do ácido anacárdico (**1**) e seus derivados visa observar a influência do grupo carboxílico – em posição mais acessível – no perfil de atividade frente às enzimas p300 e GCN5. Esta série está relacionada a substituições em W, fornecendo os grupos hidroxila, metoxila e acetoxila e compreende a obtenção de derivados ácidos carboxílicos e metil ésteres do ácido isoanacárdico.

A segunda série compreende a obtenção de aril e araquilamidas secundárias com variação entre o número de carbonos metileno ( $n = 0-3$ ) entre os grupos carbamoila e fenila. Para a terceira série foram planejados análogos ésteres – biosósteros das amidas secundárias – visando compreender a relevância do grupo NH como doador de ligação de hidrogênio. Variações na hidroxila fenólica

planejadas para a primeira série serão empregadas nas demais séries visando avaliar a contribuição desta subunidade na modulação do perfil desejado.

A variação no número de grupos metilênicos ( $n = 0-3$ ), entre os grupos carbonila e fenila dos derivados arila e aralquila, para as séries das amidas e ésteres, visa avaliar a participação de interações hidrofóbicas, aromáticas ou  $\pi$ - $\pi$  no perfil de atividade destes compostos.

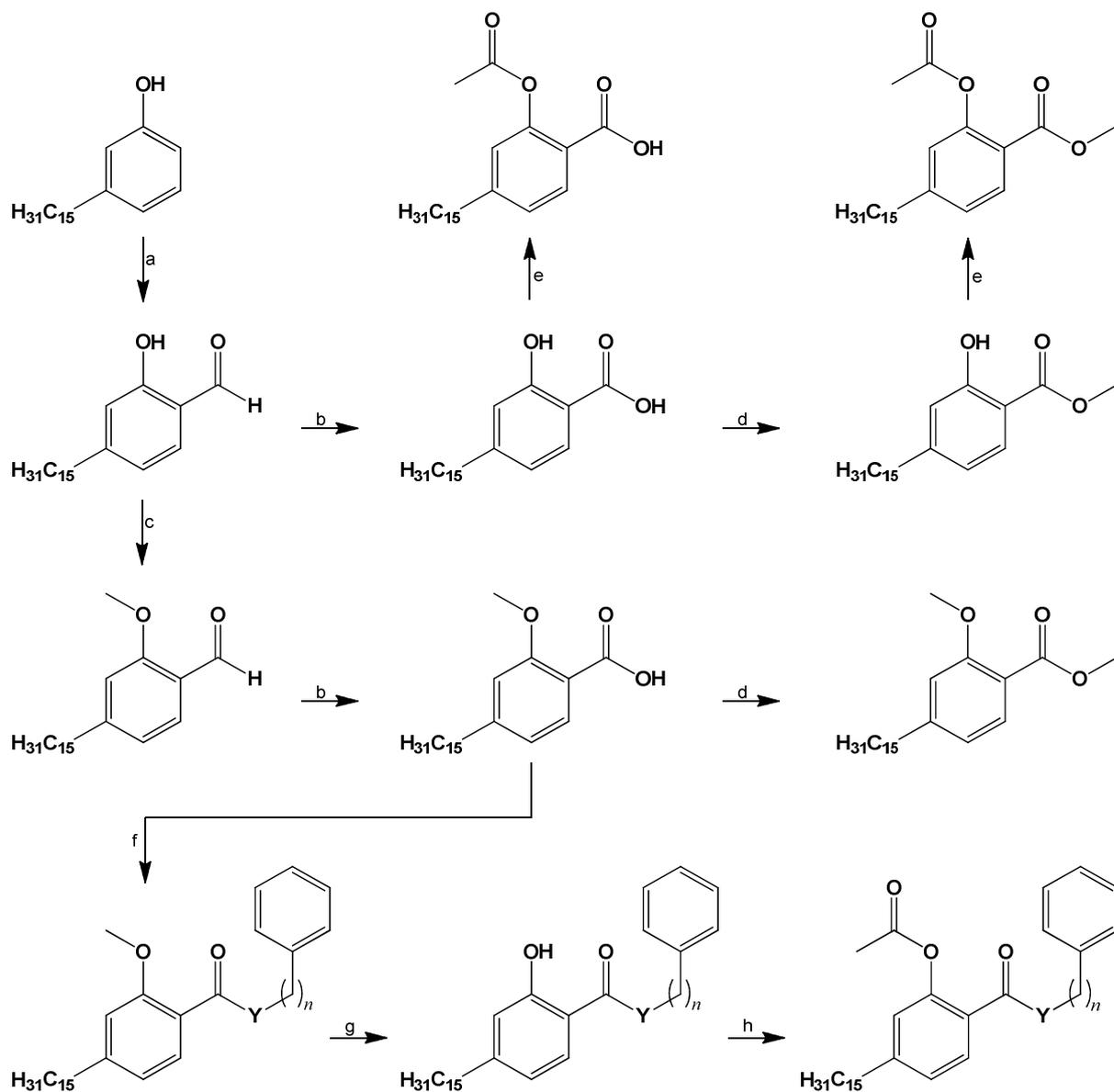
## 5 PLANEJAMENTO SINTÉTICO

---

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

A primeira série de compostos foi planejada a partir da obtenção do ácido isoanacárdico (LDT380, **28**), a partir da formilação do cardanol saturado (**29**) utilizando a metodologia de Hofslokken e Skattebol (1989), seguido de oxidação com clorito/DMSO descrito por Santos e Magalhães (1999). Para obtenção dos derivados acetóxi, hidróxi e metoxiácidos bem como seus correspondentes metil ésteres a partir do derivado ácido LDT380 foram prevista reações de acetilação em forno micro-ondas convencional ou à temperatura ambiente alquilação, alquilação em condições de refluxo e esterificação de Fischer. A obtenção do acetilação foi planejada pela metodologia em forno de micro-ondas convencional. (Esquema 1).

As séries das amidas e ésteres foram baseadas no trabalho desenvolvido por Chandregowda, Kush e Reddy (2009), em que o ácido LDT407 seria transformado em seu cloreto de ácido, e este submetido a condensação com aminas, álcoois e fenol. Para a série dos derivados 2-hidroxiamídico e 2-hidroxiésteres foi planejada a reação de *O*-desmetilação com solução de  $\text{BBr}_3/\text{DCM}$  1 M. Por fim, a acetilação foi planejada pela reação dos hidróxiderivados com cloreto de acetila. O planejamento sintético está descrito no Esquema 1.



a.  $\text{MgBr}_2$ , *p*-HCHO, TEA, refluxo, 24 h; b.  $\text{NaClO}_2$ ,  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ , DMSO, AcOEt, ou DCM, t.a. 16 h; c.  $\text{CH}_3\text{I}$ ,  $\text{K}_2\text{CO}_3$ , acetona, refluxo, 20 h; d. MeOH,  $\text{H}_2\text{SO}_4$ , refluxo, 16 h; e.  $\text{Ac}_2\text{O}$ ,  $\text{H}_3\text{PO}_4$ , Micro-ondas 270 W, 5 x 2'; f. 1.  $\text{SOCl}_2/\text{DMF}$ , hexano. 2. amina, álcool ou fenol, TEA, DCM; g.  $\text{BBr}_3/\text{DCM}$  1M; h. AcCl, TEA, DCM.

**Esquema 1:** Planejamento sintético para os derivados-alvo

***Parte Experimental***

---

## 6 PARTE EXPERIMENTAL

---

### 6.1 GENERALIDADES, MATERIAIS E MÉTODOS

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

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

As reações foram realizadas sob agitação magnética, à temperatura ambiente ou em aquecimento. Para as reações realizadas sob radiação micro-ondas foi utilizado micro-ondas doméstico Brastemp<sup>®</sup>, modelo BMK38ABHNA JetDeFrost com capacidade de 38 L e potência de 900 W sem agitação magnética.

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

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

Os espectros de ressonância magnética nuclear de hidrogênio (RMN <sup>1</sup>H - 300 MHz ou 500 MHz) e carbono-13 (RMN <sup>13</sup>C - 75 MHz ou 125 MHz) foram obtidos em aparelho Bruker Avance DRX300 e DRX500 do Centro Nordestino de Aplicação da Ressonância Magnética Nuclear (CENAUREMN) da Universidade Federal do Ceará (UFC). As amostras foram solubilizadas em CDCl<sub>3</sub> ou Piridina deuterada utilizando tetrametilsilano (TMS) como referência interna. Os valores de

deslocamento químico ( $\delta$ ) são referidos em parte por milhão (ppm) em relação ao TMS e as constantes de acoplamento ( $J$ ) em Hertz (Hz). As áreas dos sinais foram obtidas por integração eletrônica e suas multiplicidades descritas como: simpleto (s); sinal largo (sl); duplete (d); duplo duplete (dd); tripleto (t); quarteto (q); quinteto (qi) e multiplete (m).

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

#### Análises dos espectros de RMN

Para facilitar a análise dos espectros, as estruturas gerais foram padronizadas como mostradas na Figura 13 abaixo.

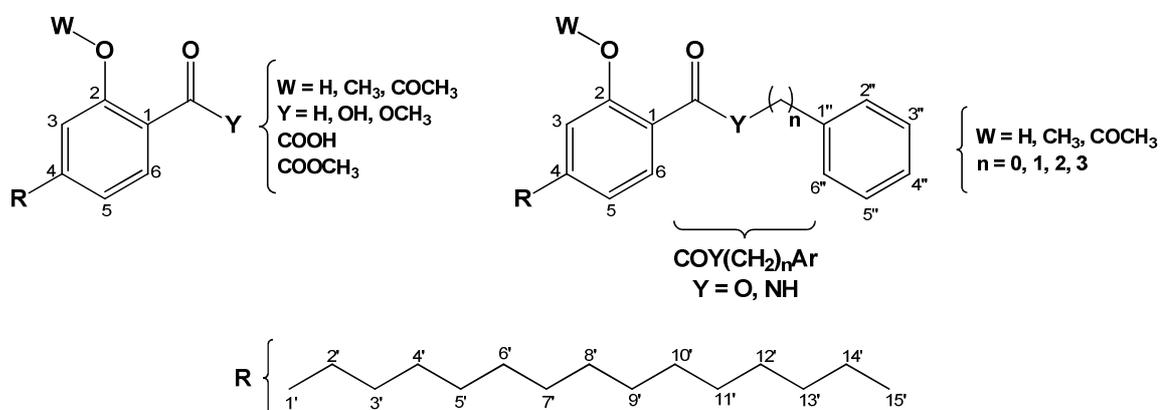
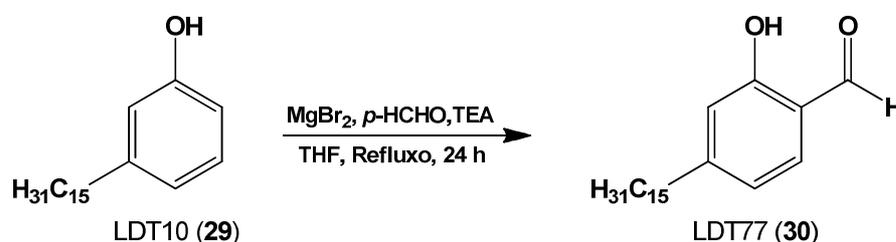
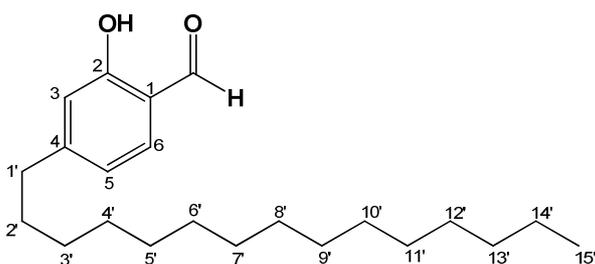


Figura 13. Numeração e legendas empregadas no assinalamento de sinais nos espectros de RMN <sup>1</sup>H e RMN <sup>13</sup>C.

## 6.2 METODOLOGIA SINTÉTICA E CARACTERIZAÇÃO DOS COMPOSTOS

**Obtenção do Derivado 2-Hidróxi-4-pentadecilbenzaldeído (LDT77, 30)**

Em um balão de 500 mL foram adicionados 5,00 g de LDT10 (**29**) (cardanol saturado) (16,419 mmol), TEA (32,839 mmol),  $MgBr_2$  (32,839 mmol) e *p*-formaldeído (49,258 mmol) em THF (180,0 mL). A mistura foi submetida a refluxo, em atmosfera de nitrogênio, durante 24 horas. Em seguida, o solvente foi removido à pressão reduzida e a mistura obtida extraída com éter etílico (3 x 50,0 mL) e lavada com soluções de HCl 10% (30,0 mL), saturada de NaCl (30,0 mL) e seca em sulfato de sódio anidro. Após remoção do solvente a pressão reduzida, o resíduo foi purificado por cromatografia em coluna contendo gel de sílica, eluída com mistura de diclorometano:hexano (1:5), fornecendo o derivado LDT77 (**30**).

**2-Hidróxi-4-pentadecilbenzaldeído (LDT77, 30)**

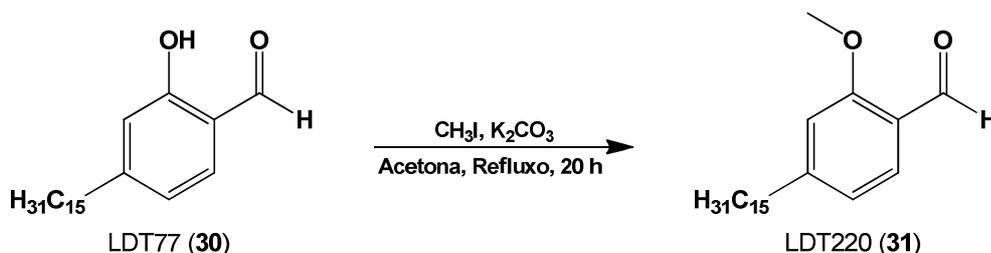
Sólido branco cristalino  
 Rendimento (90%)  
 $R_f$ : 0,73 (Hex<sub>50%</sub>:DCM<sub>50%</sub>)  
 Ponto de fusão: 48,0-50,0 °C  
 Fórmula molecular: C<sub>22</sub>H<sub>36</sub>O<sub>2</sub>  
 Peso molecular: 332,52 g/mol

IV (KBr)  $\nu_{\text{máx cm}^{-1}}$ : 2918 ( $\nu_{\text{asCH}_2}$ ); 2850 ( $\nu_{\text{sCH}_2}$ ); 1671 ( $\nu_{\text{C=O}}$ ); 1629, 1570, 1472 ( $\nu_{\text{C=C}}$ ); 1390 ( $\nu_{\text{CH}_3}$ ); 1193, 1227 ( $\nu_{\text{asC-O}}$ ).

RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  0,89 (t,  $J = 6,6$  Hz, 3H, 15'); 1,26-1,30 (m, 24H, 3'-14'); 1,60-1,65 (m, 2H, 2'); 2,62 (t,  $J = 7,7$  Hz, 2H, 1'); 6,81 (s, 1H, 3); 6,83 (dd,  $J = 8,5$  Hz,  $J = 1,4$  Hz, 1H, 5); 7,44 (d,  $J = 7,8$  Hz, 1H, 6); 9,83 (s, 1H, CHO); 11,05 (s, 1H, OH).

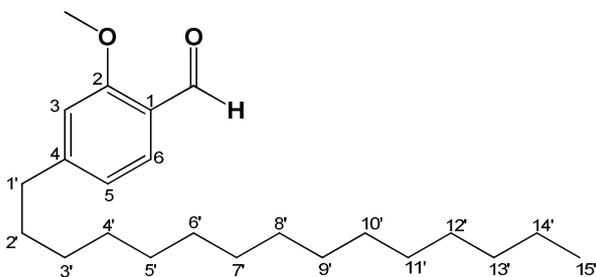
RMN  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  14,3 ( $\underline{\text{C}}\text{H}_3$ , 15'); 22,9 ( $\underline{\text{C}}\text{H}_2$ , 14'); 29,4-29,9 ( $\underline{\text{C}}\text{H}_2$ , 3'-12'); 30,9 ( $\underline{\text{C}}\text{H}_2$ , 2'); 32,1 ( $\underline{\text{C}}\text{H}_2$ , 13'); 36,6 ( $\underline{\text{C}}\text{H}_2$ , 1'); 117,3 ( $\underline{\text{C}}\text{H}$ , 3); 119,1 (C, 1); 120,7 ( $\underline{\text{C}}\text{H}$ , 5); 133,8 ( $\underline{\text{C}}\text{H}$ , 6); 154,0 (C, 4); 162,0 (C, 2); 195,9 ( $\underline{\text{C}}\text{H}\text{O}$ ).

### Síntese do Derivado 2-Metóxi-4-Pentadecilbenzaldeído (LDT220, 31)



Em um balão de 100 mL foram adicionados 3,00 g de LDT77 (**30**) (9,022 mmol),  $\text{K}_2\text{CO}_3$  (18,044 mmol) e acetona (50,0 mL). A mistura foi submetida a refluxo, com resfriamento do condensador por meio de banho termostáticos a  $-8^\circ\text{C}$ , e após 10 minutos foram adicionados 2,25 mL de  $\text{CH}_3\text{I}$  (36,088 mmol), permanecendo o refluxo por 20 horas. O solvente foi removido à pressão reduzida e a mistura obtida extraída com diclorometano (2 x 40,0 mL) e lavada com soluções de HCl 10% (25,0 mL), solução saturada de NaCl % (25,0 mL) e seca em sulfato de sódio anidro. Após remoção do solvente a pressão reduzida, o resíduo foi purificado por cromatografia em coluna contendo gel de sílica, eluída com mistura de diclorometano:hexano (2:5), fornecendo o derivado LDT220 (**31**).

### 2-Metóxi-4-pentadecilbenzaldeído (LDT220, 31)



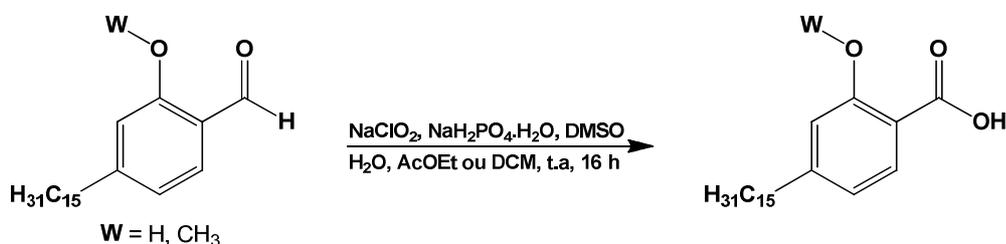
Sólido branco cristalino  
 Rendimento (80%)  
 $R_f$ : 0,55 ( $\text{Hex}_{50\%}:\text{DCM}_{50\%}$ )  
 Ponto de fusão:  $39,0\text{-}41,0^\circ\text{C}$   
 Fórmula molecular:  $\text{C}_{23}\text{H}_{38}\text{O}_2$   
 Peso molecular: 346,55 g/mol

IV (KBr)  $\nu_{\text{máx cm}^{-1}}$ : 2923 ( $\nu_{\text{asCH}_2}$ ); 2851 ( $\nu_{\text{sCH}_2}$ ); 1675 ( $\nu_{\text{C=O}}$ ); 1605, 1477 ( $\nu_{\text{C=C}}$ ); 1267, 1204, 1161 ( $\nu_{\text{asC-O}}$ ).

RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  0,88 (t,  $J = 6,6$  Hz, 3H, 15'); 1,26-1,31 (m, 24H, 3'-14'); 1,61-1,66 (m, 2H, 2'); 2,64 (t,  $J = 7,7$  Hz, 2H, 1'); 3,92 (s, 3H,  $\text{OCH}_3$ ); 6,78 (s, 1H, 3); 6,85 (d,  $J = 7,9$  Hz, 1H, 5); 7,74 (d,  $J = 7,9$  Hz, 1H, 6); 10,40 (s, 1H, CHO).

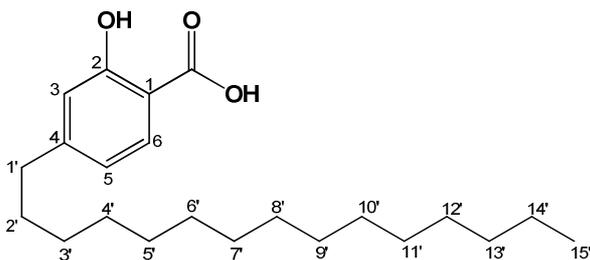
RMN  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  14,3 ( $\text{CH}_3$ , 15'); 22,9 ( $\text{CH}_2$ , 14'); 29,5-29,9 ( $\text{CH}_2$ , 3'-12'); 31,2 ( $\text{CH}_2$ , 2'); 32,1 ( $\text{CH}_2$ , 13'); 36,9 ( $\text{CH}_2$ , 1'); 55,7 ( $\text{OCH}_3$ ); 111,7 ( $\text{CH}$ , 3); 121,2 (C, 1); 123,1 ( $\text{CH}$ , 5); 128,8 ( $\text{CH}$ , 6); 152,6 (C, 4); 162,1 (C, 2); 189,6 ( $\text{CHO}$ ).

### Obtenção dos Ácidos 2-Hidróxi-4-pentadecilbenzóico (LDT380, **28**) e 2-Metóxi-4-pentadecilbenzóico (LDT407, **32**)



Em um balão de 50 mL foram individualmente adicionados os aldeídos LDT77 (**30**) ou LDT220 (**31**) (1,000 mmol), diclorometano (10,0 mL) e DMSO (10,0 mL). O sistema reacional foi resfriado em banho de gelo/água e à solução resultante foram adicionadas soluções de clorito de sódio 1 M (5,0 mL) e, cuidadosamente, solução de monofosfato de sódio 1 M (5,0 mL). A mistura permaneceu sob agitação, à temperatura ambiente, durante 16 horas. Em seguida, a mistura foi extraída com acetato de etila (20,0 mL – LDT380, **28**) ou diclorometano (20,0 mL – LDT407, **32**), lavada com soluções de HCl 10% (10,0 mL), saturada de NaCl % (10,0 mL) e seca em sulfato de sódio anidro. Após remoção do solvente a pressão reduzida, o resíduo foi purificado por recristalização em diclorometano:hexano (1:5) (LDT380, **28**) ou por cromatografia em coluna (LDT407, **32**) contendo gel de sílica, eluída com mistura de diclorometano:hexano (3:5).

**Ácido 2-Hidróxi-4-pentadecilbenzóico (LDT380, 28)**



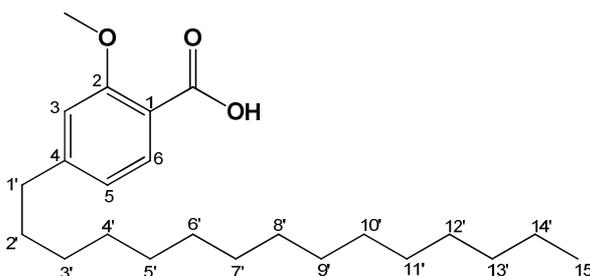
Sólido branco cristalino  
 Rendimento (89%)  
 $R_f$ : 0,67 (Hex<sub>50%</sub>:AcOEt<sub>50%</sub>)  
 Ponto de fusão: 91,9-93,9°C  
 Fórmula molecular: C<sub>22</sub>H<sub>36</sub>O<sub>3</sub>  
 Peso molecular: 348,27 g/mol

IV (KBr)  $\nu_{\text{máx}} \text{ cm}^{-1}$ : 2919 ( $\nu_{\text{asCH}_2}$ ); 2850 ( $\nu_{\text{sCH}_2}$ ); 1654 ( $\nu_{\text{C=O}}$ ); 1499, 1458 ( $\nu_{\text{C=C}}$ ); 1256, 1221 ( $\nu_{\text{asC-O}}$ ).

RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, Piridina):  $\delta$  0,89 (t,  $J = 6,6$  Hz, 3H, 15'); 1,24-1,37 (m, 24H, 3'-14'); 1,63-1,67 (m, 2H, 2'); 2,63 (t,  $J = 7,6$  Hz, 2H, 1'); 6,89 (dd,  $J = 7,3$  Hz,  $J = 1,4$  Hz, 1H, 5); 7,13 (s, 1H, 3); 8,25 (d,  $J = 8,0$  Hz, 1H, 6); 11,04 (sl, 1H, OH).

RMN <sup>13</sup>C (75 MHz, Piridina):  $\delta$  14,8 ( $\underline{\text{C}}\text{H}_3$ , 15'); 23,4 ( $\underline{\text{C}}\text{H}_2$ , 14'); 30,0-30,5 ( $\underline{\text{C}}\text{H}_2$ , 3'-12'); 31,7 ( $\underline{\text{C}}\text{H}_2$ , 2'); 32,6 ( $\underline{\text{C}}\text{H}_2$ , 13'); 36,8 ( $\underline{\text{C}}\text{H}_2$ , 1'); 113,2 (C, 1); 117,8 ( $\underline{\text{C}}\text{H}$ , 3); 120,2 ( $\underline{\text{C}}\text{H}$ , 5); 131,6 ( $\underline{\text{C}}\text{H}$ , 6); 151,9 (C, 4); 163,5 (C, 2); 174,9 ( $\underline{\text{C}}\text{O}\text{O}\text{H}$ ).

**Ácido 2-Metóxi-4-pentadecilbenzóico (LDT407, 32)**



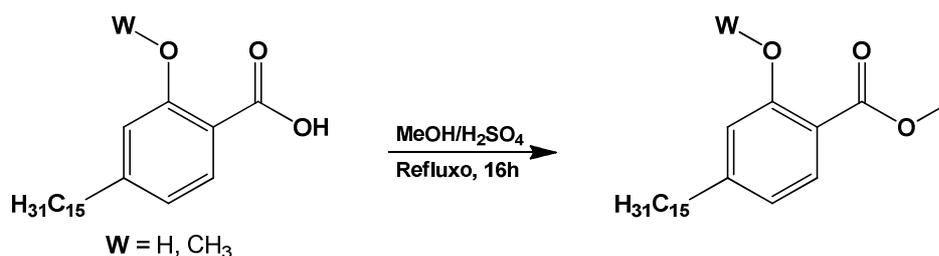
Sólido branco cristalino  
 Rendimento (92%)  
 $R_f$ : 0,51 (Hex<sub>10%</sub>:DCM<sub>90%</sub>)  
 Ponto de fusão: 72,8-74,8°C  
 Fórmula molecular: C<sub>23</sub>H<sub>38</sub>O<sub>3</sub>  
 Peso molecular: 362,55 g/mol

IV (KBr)  $\nu_{\text{máx}} \text{ cm}^{-1}$ : 2917 ( $\nu_{\text{asCH}_2}$ ); 2850 ( $\nu_{\text{sCH}_2}$ ); 1718 ( $\nu_{\text{C=O}}$ ); 1611, 1466 ( $\nu_{\text{C=C}}$ ); 1420 ( $\nu_{\text{CH}_2}$ ); 1252, 1175 ( $\nu_{\text{asC-O}}$ ); 1033 ( $\nu_{\text{sC-O}}$ ).

RMN <sup>1</sup>H (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  0,88 (t,  $J = 6,7$  Hz, 3H, 15'); 1,26-1,32 (m, 24H, 3'-14'); 1,62-1,63 (m, 2H, 2'); 2,66 (t,  $J = 7,7$  Hz, 2H, 1'); 4,07 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>); 6,85 (s, 1H, 3); 6,95 (d,  $J = 7,9$  Hz, 1H, 5); 8,07 (d,  $J = 8,0$  Hz, 1H, 6).

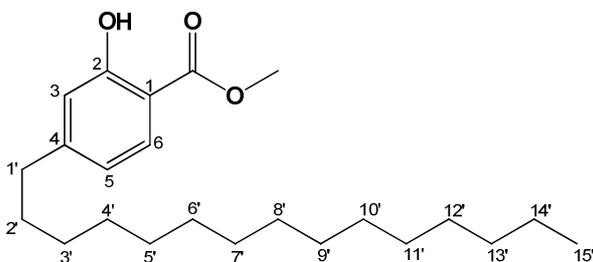
RMN  $^{13}\text{C}$  (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  14,3 ( $\underline{\text{C}}\text{H}_3$ , 15'); 22,9 ( $\underline{\text{C}}\text{H}_2$ , 14'); 29,5-29,9 ( $\underline{\text{C}}\text{H}_2$ , 3'-12'); 31,2 ( $\underline{\text{C}}\text{H}_2$ , 2'); 32,1 ( $\underline{\text{C}}\text{H}_2$ , 13'); 36,5 ( $\underline{\text{C}}\text{H}_2$ , 1'); 56,7 ( $\text{O}\underline{\text{C}}\text{H}_3$ ); 111,8 ( $\underline{\text{C}}\text{H}$ , 3); 115,2 (C, 1); 122,6 ( $\underline{\text{C}}\text{H}$ , 5); 133,9 ( $\underline{\text{C}}\text{H}$ , 6); 151,7 (C, 4); 158,3 (C, 2); 165,7 ( $\underline{\text{C}}\text{O}\text{O}\text{H}$ ).

### Obtenção dos Ésteres 2-Hidróxi-4-pentadecilbenzoato de metila (LDT381, **33**) e 2-Metóxi-4-pentadecilbenzoato de metila (LDT382, **34**)



Em um balão de 100 mL foram individualmente adicionados os ácidos LDT380 (**28**) ou LDT407 (**32**) (3,000 mmol) e metanol (30 mL). O sistema reacional foi resfriado em banho de gelo/água e à solução resultante foi cuidadosamente adicionado  $\text{H}_2\text{SO}_4$  (1,0 mL). A mistura foi submetida a refluxo por 16 horas. Em seguida, o solvente foi removido à pressão reduzida e a mistura obtida extraída com diclorometano (25,0 mL), lavada com água destilada (10,0 mL), solução saturada de NaCl (10,0 mL) e seca em sulfato de sódio anidro. Após remoção do solvente a pressão reduzida, o resíduo foi purificado por cromatografia em coluna contendo gel de sílica, eluída com mistura de diclorometano:hexano (2:5), fornecendo o derivado LDT381 (**33**) ou LDT382 (**34**).

#### 2-Hidróxi-4-pentadecilbenzoato de metila (LDT381, **33**)



Sólido branco

Rendimento (95%)

$R_f$ : 0,57 ( $\text{Hex}_{50\%}:\text{DCM}_{50\%}$ )

Ponto de fusão: 40,6-42,6 °C

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

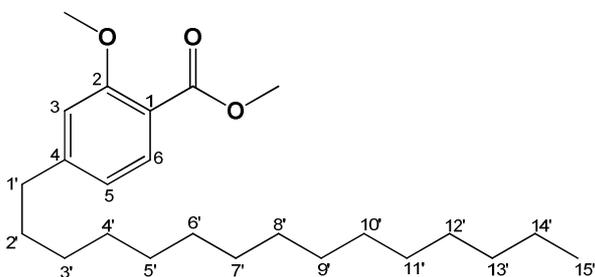
Peso molecular: 362,55 g/mol

IV (KBr)  $\nu_{\text{máx}} \text{ cm}^{-1}$ : 2917 ( $\nu_{\text{asCH}_2}$ ); 2849 ( $\nu_{\text{sCH}_2}$ ); 1686 ( $\nu_{\text{C=O}}$ ); 1566, 1501, 1472 ( $\nu_{\text{C=C}}$ ); 1444 ( $\nu_{\text{CH}_2}$ ); 1260, 1204, 1155 ( $\nu_{\text{asC-O}}$ ).

RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  0,89 (t,  $J = 6,6$  Hz, 3H, 15'); 1,27-1,31 (m, 24H, 3'-14'); 1,60-1,62 (m, 2H, 2'); 2,59 (t,  $J = 7,6$  Hz, 2H, 1'); 3,94 (s, 3H,  $\text{COOCH}_3$ ); 6,71 (d,  $J = 7,2$  Hz, 1H, 5); 6,81 (s, 1H, 3); 7,73 (d,  $J = 8,1$  Hz, 1H, 6); 10,72 (s, 1H, OH).

RMN  $^{13}\text{C}$  (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  14,3 ( $\underline{\text{C}}\text{H}_3$ , 15'); 22,9 ( $\underline{\text{C}}\text{H}_2$ , 14'); 29,5-29,9 ( $\underline{\text{C}}\text{H}_2$ , 3'-12'); 30,9 ( $\underline{\text{C}}\text{H}_2$ , 2'); 32,2 ( $\underline{\text{C}}\text{H}_2$ , 13'); 36,4 ( $\underline{\text{C}}\text{H}_2$ , 1'); 52,3 ( $\text{COO}\underline{\text{C}}\text{H}_3$ ); 110,2 (C, 1); 117,2 ( $\underline{\text{C}}\text{H}$ , 3); 120,0 ( $\underline{\text{C}}\text{H}$ , 5); 130,0 ( $\underline{\text{C}}\text{H}$ , 6); 152,2 (C, 4); 161,8 (C, 2); 170,8 ( $\underline{\text{C}}\text{OOCH}_3$ ).

*2-Metóxi-4-pentadecilbenzoato de metila (LDT382, 34)*



Sólido branco

Rendimento (92%)

$R_f$ : 0,55 ( $\text{Hex}_{50\%}:\text{DCM}_{50\%}$ )

Ponto de fusão: 31,5-33,5 °C

Fórmula molecular:  $\text{C}_{24}\text{H}_{40}\text{O}_3$

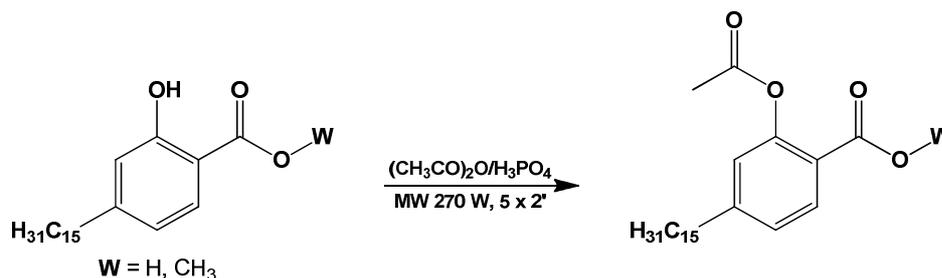
Peso molecular: 376,57 g/mol

IV (KBr)  $\nu_{\text{máx}} \text{ cm}^{-1}$ : 2918 ( $\nu_{\text{asCH}_2}$ ); 2848 ( $\nu_{\text{sCH}_2}$ ); 1702 ( $\nu_{\text{C=O}}$ ); 1610, 1466, 1439 ( $\nu_{\text{C=C}}$ ); 1175, 1138 ( $\nu_{\text{asC-O}}$ ); 1097, 1030 ( $\nu_{\text{sC-O}}$ ).

RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  0,89 (t,  $J = 6,6$  Hz, 3H, 15'); 1,27-1,30 (m, 24H, 3'-14'); 1,60-1,64 (m, 2H, 2'); 2,62 (t,  $J = 7,7$  Hz, 2H, 1'); 3,87 (s, 3H,  $\text{OCH}_3$ ); 3,90 (s, 3H,  $\text{COOCH}_3$ ); 6,77-6,80 (m, 2H, 3 e 5); 7,74 (d,  $J = 7,9$  Hz, 1H, 6).

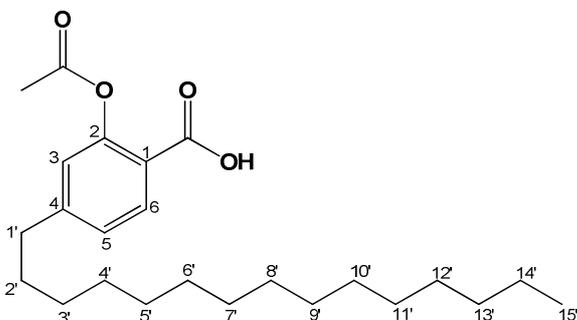
RMN  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  14,3 ( $\underline{\text{C}}\text{H}_3$ , 15'); 22,9 ( $\underline{\text{C}}\text{H}_2$ , 14'); 29,5-29,9 ( $\underline{\text{C}}\text{H}_2$ , 3'-12'); 31,2 ( $\underline{\text{C}}\text{H}_2$ , 2'); 32,1 ( $\underline{\text{C}}\text{H}_2$ , 13'); 36,5 ( $\underline{\text{C}}\text{H}_2$ , 1'); 52,0 ( $\text{COO}\underline{\text{C}}\text{H}_3$ ); 56,1 ( $\text{OCH}_3$ ); 112,3 (C, 3); 117,4 ( $\underline{\text{C}}\text{H}$ , 1); 120,4 ( $\underline{\text{C}}\text{H}$ , 5); 132,0 ( $\underline{\text{C}}\text{H}$ , 6); 149,8 (C, 4); 159,6 (C, 2); 166,8 ( $\underline{\text{C}}\text{OOCH}_3$ ).

### Obtenção dos Acetóxiderivados LDT383 (35) e LDT384 (36)



Em um tubo reator aberto foram individualmente adicionados os derivados LDT380 (**28**) ou LDT381 (**33**) (1,000 mmol), 1,0 mL de anidrido acético (10,5 equivalentes) e ácido fosfórico (3 gotas). A mistura foi submetida à radiação micro-ondas em forno convencional, à potência de 270 W, durante 10 minutos (5 x 2'). A mistura foi extraída com acetato de etila (15,0 mL), lavada com solução de bicarbonato de sódio (10,0 mL), solução saturada de NaCl (10,0 mL), e seca em sulfato de sódio anidro. Após remoção do solvente a pressão reduzida, o resíduo obtido foi purificado por recristalização em diclorometano:hexano (1:2), fornecendo o derivado LDT383 (**35**) ou LDT384 (**36**).

#### Ácido 2-acetóxi-4-pentadecilbenzóico (LDT383, **35**)



Sólido branco

Rendimento (80%)

$R_f$ : 0,62 (Hex<sub>50%</sub>:AcOEt<sub>50%</sub>)

Ponto de fusão: 103,4-105,4 °C

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

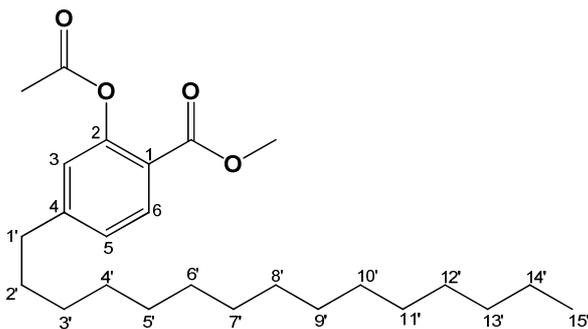
Peso molecular: 390,56 g/mol

IV (KBr)  $\nu_{\text{máx}} \text{ cm}^{-1}$ : 2916 ( $\nu_{\text{asCH}_2}$ ); 2849 ( $\nu_{\text{sCH}_2}$ ); 1763 ( $\nu_{\text{C=O}}$ ); 1685 ( $\nu_{\text{C=O}}$ ); 1448 ( $\nu_{\text{C=C}}$ ); 1202, 1163 ( $\nu_{\text{asC=O}}$ ); 1084 ( $\nu_{\text{sC-O}}$ ).

RMN <sup>1</sup>H (500 MHz, Piridina):  $\delta$  0,92 (t,  $J = 7,0$  Hz, 3H, 15'); 1,26-1,39 (m, 24H, 3'-14'); 1,60-1,68 (m, 2H, 2'); 2,54 (s, 3H, OCOCH<sub>3</sub>); 2,67 (t,  $J = 7,5$  Hz, 2H, 1'); 7,27-7,33 (m, 2H, 3 e 5); 8,40 (d,  $J = 7,9$  Hz, 1H, 6).

RMN  $^{13}\text{C}$  (125 MHz, Piridina):  $\delta$  15,1 ( $\underline{\text{C}}\text{H}_3$ , 15'); 22,2 ( $\text{O}\underline{\text{C}}\text{O}\underline{\text{C}}\text{H}_3$ ); 23,7 ( $\underline{\text{C}}\text{H}_2$ , 14'); 30,3-30,8 ( $\underline{\text{C}}\text{H}_2$ , 3'-12'); 31,9 ( $\underline{\text{C}}\text{H}_2$ , 2'); 32,9 ( $\underline{\text{C}}\text{H}_2$ , 13'); 36,5 ( $\underline{\text{C}}\text{H}_2$ , 1'); 123,7 (C, 1); 124,9 ( $\underline{\text{C}}\text{H}$ , 3); 127,2 ( $\underline{\text{C}}\text{H}$ , 5); 133,4 ( $\underline{\text{C}}\text{H}$ , 6); 150,7 (C, 4); 152,6 (C, 2); 168,4 ( $\text{O}\underline{\text{C}}\text{O}\text{C}\text{H}_3$ ); 171,1 ( $\underline{\text{C}}\text{O}\text{O}\text{H}$ ).

### 2-Acetóxi-4-pentadecilbenzoato de metila (LDT384, **36**)



Sólido branco

Rendimento (88%)

$R_f$ : 0,67 (Hex<sub>80%</sub>:AcOEt<sub>20%</sub>)

Ponto de fusão: 53,3-55,3 °C

Fórmula molecular:  $\text{C}_{25}\text{H}_{40}\text{O}_4$

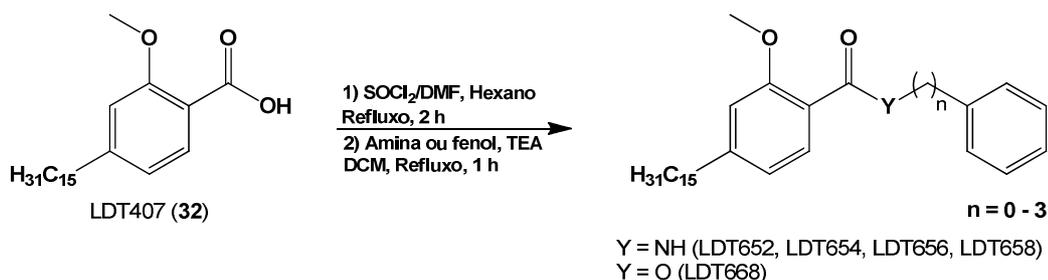
Peso molecular: 404,58 g/mol

IV (KBr)  $\nu_{\text{máx}} \text{ cm}^{-1}$ : 2916 ( $\nu_{\text{asCH}_2}$ ); 2849 ( $\nu_{\text{sCH}_2}$ ); 1764 ( $\nu_{\text{C=O}}$ ); 1721 ( $\nu_{\text{C=O}}$ ); 1618 ( $\nu_{\text{C=C}}$ ); 1435 ( $\nu_{\text{CH}_2}$ ); 1206, 1146 ( $\nu_{\text{asC-O}}$ ).

RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  0,89 (t,  $J = 6,7$  Hz, 3H, 15'); 1,24-1,39 (m, 24H, 3'-14'); 1,58-1,69 (m, 2H, 2'); 2,35 (s, 3H,  $\text{OCOCH}_3$ ); 2,65 (t,  $J = 7,6$  Hz, 2H, 1'); 3,86 (s, 3H,  $\text{COOCH}_3$ ); 6,92 (s, 1H, 3); 7,12 (d,  $J = 7,4$  Hz, 1H, 5); 7,94 (d,  $J = 8,0$  Hz, 1H, 6).

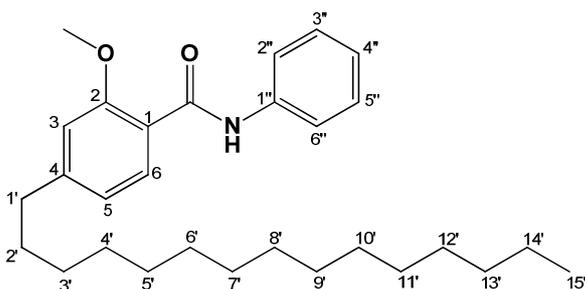
RMN  $^{13}\text{C}$  (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  14,3 ( $\underline{\text{C}}\text{H}_3$ , 15'); 21,2 ( $\text{CO}\underline{\text{C}}\text{H}_3$ ); 22,9 ( $\underline{\text{C}}\text{H}_2$ , 14'); 29,4-29,9 ( $\underline{\text{C}}\text{H}_2$ , 3'-12'); 30,9 ( $\underline{\text{C}}\text{H}_2$ , 2'); 32,1 ( $\underline{\text{C}}\text{H}_2$ , 13'); 35,9 ( $\underline{\text{C}}\text{H}_2$ , 1'); 52,2 ( $\text{COO}\underline{\text{C}}\text{H}_3$ ); 120,4 (C, 1); 123,8 ( $\underline{\text{C}}\text{H}$ , 3); 126,3 ( $\underline{\text{C}}\text{H}$ , 5); 131,9 ( $\underline{\text{C}}\text{H}$ , 6); 150,4 (C, 4); 151,0 (C, 2); 165,1 ( $\underline{\text{C}}\text{O}\text{C}\text{H}_3$ ); 170,0 ( $\underline{\text{C}}\text{O}\text{O}\text{C}\text{H}_3$ ).

### Obtenção dos Derivados 2-Metóxiâmidas e 2-Metóxiésteres



Em um balão de 25 mL foram adicionados o LDT407 (**32**) (0,550 mmol), hexano (10,0 mL), cloreto de tionila (1,5 mL) e 3 gotas de DMF. A mistura foi submetida a refluxo durante 2 horas. Após esse tempo, o solvente e o excesso de cloreto de tionila foram removidos por destilação e o resíduo solubilizado em diclorometano (5,0 mL). A solução resultante foi adicionada, gota a gota, sob banho de gelo/água, à solução contendo a respectiva amina ou fenol (2 equivalentes), TEA (2 equivalentes) em diclorometano (5,0 mL) e a mistura submetida a refluxo durante 1 hora. Em seguida, a mistura foi extraída com diclorometano (15,0 mL), lavada com soluções de bicarbonato de sódio 5% (15,0 mL), HCl 10% (15,0 mL), solução saturada de NaCl (15,0 mL), e seca em sulfato de sódio anidro. Após remoção do solvente a pressão reduzida, o resíduo foi purificado por cromatografia em coluna contendo gel de sílica, eluída com mistura de acetato de etila:hexano (1:10).

*2-Metóxi-4-pentadecil-N-fenilbenzamida (LDT652, 37)*



Sólido branco a pardo

Rendimento (90%)

R<sub>f</sub>: 0,59 (Hex<sub>80%</sub>:AcOEt<sub>20%</sub>)

Ponto de fusão: 46,9-48,9 °C

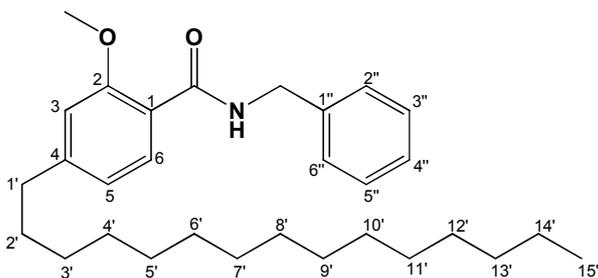
Fórmula molecular: C<sub>29</sub>H<sub>43</sub>NO<sub>2</sub>

Peso molecular: 437,66 g/mol

IV (KBr)  $\nu_{\text{máx cm}^{-1}}$ : 3362 ( $\nu_{\text{N-H}}$ ); 2920 ( $\nu_{\text{asCH}_2}$ ); 2850 ( $\nu_{\text{sCH}_2}$ ); 1655 ( $\nu_{\text{C=O}}$ ); 1560 ( $\nu_{\text{N-H}}$ ); 1598, 1541, 1499 ( $\nu_{\text{C=C}}$ ); 1442, 1414 ( $\nu_{\text{CH}_2}$ ); 1252, 1166 ( $\nu_{\text{asC-O}}$ ).

RMN <sup>1</sup>H (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  0,90 (t,  $J = 6,7$  Hz, 3H, 15'); 1,25-1,39 (m, 24H, 3'-14'); 1,60-1,69 (m, 2H, 2'); 2,67 (t,  $J = 7,6$  Hz, 2H, 1'); 4,05 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>); 6,83 (s, 1H, 3); 6,96 (d,  $J = 7,7$  Hz, 1H, 5); 7,12 (t,  $J = 7,2$  Hz, 1H, 4''); 7,36 (t,  $J = 7,7$  Hz, 2H, 3'' e 5''); 7,69 (d,  $J = 7,6$  Hz, 2H, 2'' e 6''); 8,20 (d,  $J = 7,9$  Hz, 1H, 6); 9,81 (s, 1H, CONHAr).

RMN <sup>13</sup>C (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  14,3 (CH<sub>3</sub>, 15'); 22,9 (CH<sub>2</sub>, 14'); 29,5-29,9 (CH<sub>2</sub>, 3'-12'); 31,3 (CH<sub>2</sub>, 2'); 32,1 (CH<sub>2</sub>, 13'); 36,4 (CH<sub>2</sub>, 1'); 56,3 (OCH<sub>3</sub>); 111,8 (CH, 3); 119,5 (C, 1); 120,6 (CH, 2'' e 6''); 122,0 (CH, 5); 124,1 (CH, 4''); 129,1 (CH, 3'' e 5''); 132,6 (CH, 6); 138,8 (C, 1''); 149,4 (C, 4); 157,4 (C, 2); 163,5 (CONHAr).

***N*-Benzil-2-metóxi-4-pentadecilbenzamida (LDT654, 38)**

Sólido branco

Rendimento (93%)

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

Ponto de fusão: 50,8-52,8 °C

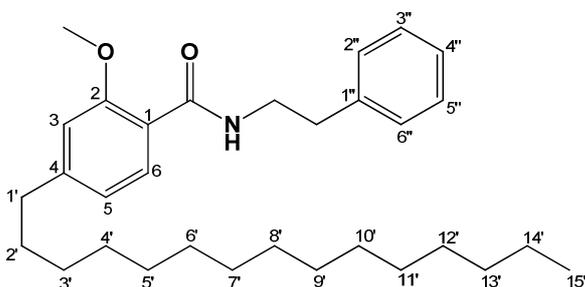
Fórmula molecular: C<sub>30</sub>H<sub>45</sub>NO<sub>2</sub>

Peso molecular: 451,68 g/mol

IV (KBr)  $\nu_{\text{máx}} \text{ cm}^{-1}$ : 3366 ( $\nu_{\text{N-H}}$ ); 2924 ( $\nu_{\text{asCH}_2}$ ); 2849 ( $\nu_{\text{sCH}_2}$ ); 1637 ( $\nu_{\text{C=O}}$ ); 1610 ( $\nu_{\text{N-H}}$ ); 1570, 1560, 1533, 1498 ( $\nu_{\text{C=C}}$ ); 1426 ( $\nu_{\text{CH}_2}$ ); 1252 ( $\nu_{\text{asC-O}}$ ).

RMN <sup>1</sup>H (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  0,88 (t,  $J = 6,8$  Hz, 3H, 15'); 1,15-1,34 (m, 24H, 3'-14'); 1,59-1,68 (sl, 2H, 2'); 2,63 (t,  $J = 7,2$  Hz, 2H, 1'); 3,91 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>); 4,69 (d,  $J = 5,0$  Hz, 2H, NHCH<sub>2</sub>Ar); 6,77 (s, 1H, 3); 6,92 (d,  $J = 7,7$  Hz, 1H, 5); 7,26-7,36 (m, 5H, 2'', 3'', 4'', 5'' e 6'').

RMN <sup>13</sup>C (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  14,3 (CH<sub>3</sub>, 15'); 22,9 (CH<sub>2</sub>, 14'); 29,5-29,9 (CH<sub>2</sub>, 3'-12'); 31,3 (CH<sub>2</sub>, 2'); 32,1 (CH<sub>2</sub>, 13'); 36,3 (CH<sub>2</sub>, 1'); 43,8 (NHCH<sub>2</sub>Ar); 56,0 (OCH<sub>3</sub>); 111,5 (CH, 3); 119,1 (C, 1); 121,6 (CH, 5); 127,3 (CH, 4''); 127,7 (CH, 2'' e 6''); 128,8 (CH, 3'' e 5''); 132,6 (CH, 6); 139,2 (C, 1''); 148,9 (C, 4); 157,7 (C, 2); 165,6 (CONHAr).

***2*-Metóxi-4-pentadecil-*N*-fenetilbenzamida (LDT656, 39)**

Sólido branco

Rendimento (91%)

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

Ponto de fusão: 60,3-62,3 °C

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

Peso molecular: 465,71 g/mol

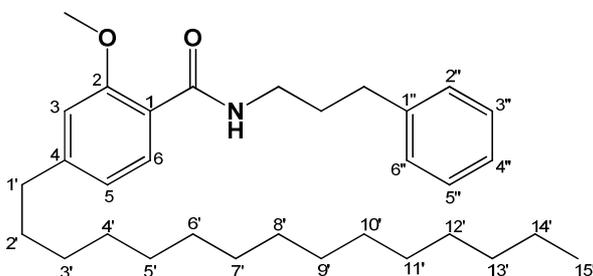
IV (KBr)  $\nu_{\text{máx}} \text{ cm}^{-1}$ : 3389 ( $\nu_{\text{N-H}}$ ); 2917 ( $\nu_{\text{asCH}_2}$ ); 2849 ( $\nu_{\text{sCH}_2}$ ); 1644 ( $\nu_{\text{C=O}}$ ); 1613 ( $\nu_{\text{N-H}}$ ); 1578, 1560, 1535, 1492, 1471 ( $\nu_{\text{C=C}}$ ); 1289, 1256 ( $\nu_{\text{asC-O}}$ ).

RMN <sup>1</sup>H (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  0,91 (t,  $J = 6,1$  Hz, 3H, 15'); 1,27-1,35 (m, 24H, 3'-14'); 1,59-1,68 (sl, 2H, 2'); 2,63 (t,  $J = 7,5$  Hz, 2H, 1'); 2,94 (t,  $J = 6,9$  Hz, 2H,

NHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>Ar); 3,71-3,82 (m, 5H, OCH<sub>3</sub> e NHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>Ar); 6,73 (s, 1H, 3); 6,90 (d,  $J = 7,7$  Hz, 1H, 5); 7,27-7,29 (m, 3H, 2'', 4'' e 6''); 7,34-7,35 (m, 2H, 3'' e 5''); 7,90 (s, 1H, CONHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>Ar); 8,14 (d,  $J = 7,8$  Hz, 1H, 6).

RMN <sup>13</sup>C (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 14,3 (CH<sub>3</sub>, 15'); 22,9 (CH<sub>2</sub>, 14'); 29,5-29,9 (CH<sub>2</sub>, 3'-12'); 31,3 (CH<sub>2</sub>, 2'); 32,1 (CH<sub>2</sub>, 13'); 35,9 (NHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>Ar); 36,3 (CH<sub>2</sub>, 1'); 40,9 (NHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>Ar); 55,7 (OCH<sub>3</sub>); 111,4 (CH, 3); 119,2 (C, 1); 121,5 (CH, 5); 126,5 (CH, 4''); 128,7 (CH, 2'' e 6''); 129,1 (CH, 3'' e 5''); 132,3 (CH, 6); 139,7 (C, 1''); 148,6 (C, 4); 157,6 (C, 2); 165,5 (CONHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>Ar).

**2-Metóxi-4-pentadecil-N-(3-fenilpropil)benzamida (LDT658, 40)**



Sólido branco

Rendimento (89%)

R<sub>f</sub>: 0,63 (Hex<sub>80%</sub>:AcOEt<sub>20%</sub>)

Ponto de fusão: 56,5-58,5 °C

Fórmula molecular: C<sub>32</sub>H<sub>49</sub>NO<sub>2</sub>

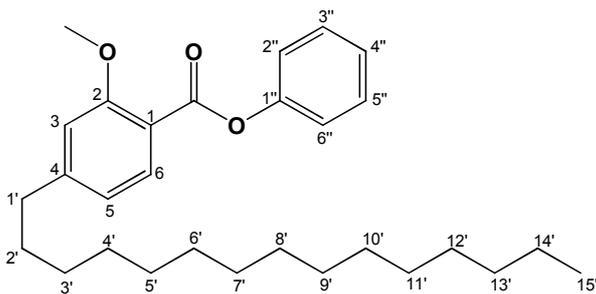
Peso molecular: 479,74 g/mol

IV (KBr)  $\nu_{\text{máx cm}^{-1}}$ : 3403 ( $\nu_{\text{N-H}}$ ); 2918 ( $\nu_{\text{asCH}_2}$ ); 2850 ( $\nu_{\text{sCH}_2}$ ); 1643 ( $\nu_{\text{C=O}}$ ); 1610 ( $\nu_{\text{N-H}}$ ); 1560, 1534, 1496 ( $\nu_{\text{C=C}}$ ); 1292, 1255 ( $\nu_{\text{asC-O}}$ ).

RMN <sup>1</sup>H (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 0,90 (t,  $J = 6,4$  Hz, 3H, 15'); 1,21-1,39 (m, 24H, 3'-14'); 1,59-1,68 (sl, 2H, 2'); 1,96 (t,  $J = 7,3$  Hz, 2H, NHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>Ar); 2,64 (t,  $J = 7,5$  Hz, 2H, 1'); 2,73 (t,  $J = 7,5$  Hz, 2H, NHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>Ar); 3,50 (q,  $J = 6,3$  Hz, 2H, NHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>Ar); 3,96 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>); 6,78 (s, 1H, 3); 6,91 (d,  $J = 7,7$  Hz, 1H, 5); 7,18-7,25 (m, 3H, 2'', 4'' e 6''); 7,26-7,33 (m, 2H, 3'' e 5''); 7,89 (sl, 1H, NHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>Ar); 8,13 (d,  $J = 7,9$  Hz, 1H, 6).

RMN <sup>13</sup>C (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 14,2 (CH<sub>3</sub>, 15'); 22,7 (CH<sub>2</sub>, 14'); 29,4-29,7 (CH<sub>2</sub>, 3'-12'); 31,2 (NHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>Ar); 31,4 (NHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>Ar); 32,0 (CH<sub>2</sub>, 2'); 33,4 (CH<sub>2</sub>, 13'); 36,2 (CH<sub>2</sub>, 1'); 39,2 (NHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>Ar); 55,9 (OCH<sub>3</sub>); 111,4 (CH, 3); 119,2 (C, 1); 121,5 (CH, 5); 125,9 (CH, 4''); 128,5 (CH, 6, 2'' e 6''); 132,3 (CH, 3'' e 5''); 141,7 (C, 1''); 148,5 (C, 4); 157,4 (C, 2); 165,4 (CONHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>Ar).

*2-Metóxi-4-pentadecilbenzoato de fenila (LDT668, 41)*



Sólido branco

Rendimento (81%)

$R_f$ : 0,58 (Hex<sub>25%</sub>:DCM<sub>75%</sub>)

Ponto de fusão: 47,4-49,4 °C

Fórmula molecular: C<sub>29</sub>H<sub>42</sub>NO<sub>3</sub>

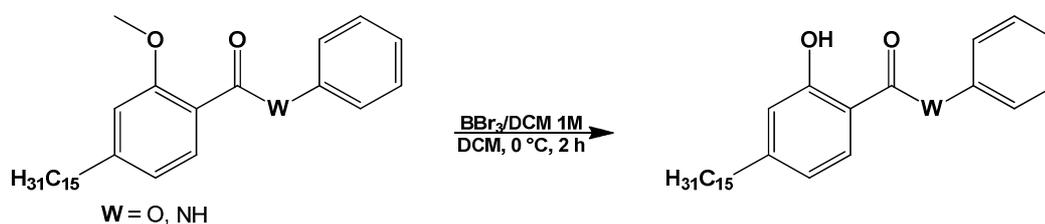
Peso molecular: 438,64 g/mol

IV (KBr)  $\nu_{\text{máx}} \text{ cm}^{-1}$ : 2918 ( $\nu_{\text{asCH}_2}$ ); 2850 ( $\nu_{\text{sCH}_2}$ ); 1729 ( $\nu_{\text{C=O}}$ ); 1611, 1459 ( $\nu_{\text{C=C}}$ ); 1420 ( $\nu_{\text{CH}_2}$ ); 1242,1203 ( $\nu_{\text{asC-O}}$ ).

RMN <sup>1</sup>H (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  0,90 (t,  $J = 6,7$  Hz, 3H, 15'); 1,26-1,39 (m, 24H, 3'-14'); 1,60-1,69 (sl, 2H, 2'); 2,68 (t,  $J = 7,4$  Hz, 2H, 1'); 3,95 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>); 6,85 (s, 1H, 3); 6,88 (d,  $J = 7,8$  Hz, 1H, 5); 7,20-7,28 (m, 3H, 2'', 4'' e 6''); 7,42 (t,  $J = 7,5$  Hz, 2H, 3'' e 5''); 7,98 (d,  $J = 7,8$  Hz, 1H, 6).

RMN <sup>13</sup>C (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  14,3 (CH<sub>3</sub>, 15'); 22,9 (CH<sub>2</sub>, 14'); 29,5-29,9 (CH<sub>2</sub>, 3'-12'); 31,3 (CH<sub>2</sub>, 2'); 32,1 (CH<sub>2</sub>, 13'); 36,6 (CH<sub>2</sub>, 1'); 56,2 (OCH<sub>3</sub>); 112,5 (CH, 3); 116,5 (C, 1); 120,6 (CH, 5); 122,1 (CH, 2'' e 6''); 125,7 (CH, 4''); 129,5 (CH, 3'' e 5''); 132,5 (CH, 6); 150,8 (C, 4); 151,3 (C, 1''); 160,4 (C, 2); 164,5 (COOAr).

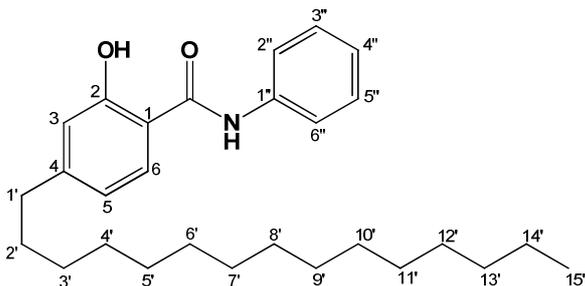
**Obtenção dos 2-Hidróxiderivados LDT644 (42) e LDT660 (43)**



Em um balão de 25 mL foram individualmente adicionados os derivados LDT652 (**37**) ou LDT668 (**41**) (1,100 mmol) e diclorometano seco (5,0 mL). O balão foi fechado com septo, foi passado um fluxo de N<sub>2</sub> em seu interior e o sistema foi resfriado em banho de gelo/água. Em seguida, cuidadosamente foram adicionados 4,4 mL de solução de tribrometo de boro 1 M (4,0 equivalentes). A mistura foi mantida em agitação por 2 horas, sendo, então, vertida em gelo picado, extraída

com acetato de etila (15,0 mL – LDT644, **42**) ou diclorometano (15,0 mL – LDT660, **43**), lavada com solução saturada de NaCl (10,0 mL) e seca em sulfato de sódio anidro. Após remoção do solvente a pressão reduzida, o resíduo foi purificado por recristalização em hexano:diclorometano (1:1) (LDT644, **42**) ou por cromatografia em coluna (LDT660, **43**) contendo gel de sílica, eluída com mistura de diclorometano:hexano (1:10).

*2-Hidróxi-4-pentadecil-N-fenilbenzamida (LDT644, **42**)*



Sólido branco

Rendimento (80%)

$R_f$ : 0,48 (Hex<sub>70%</sub>:AcOEt<sub>30%</sub>)

Ponto de fusão: 115,6-117,6 °C

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

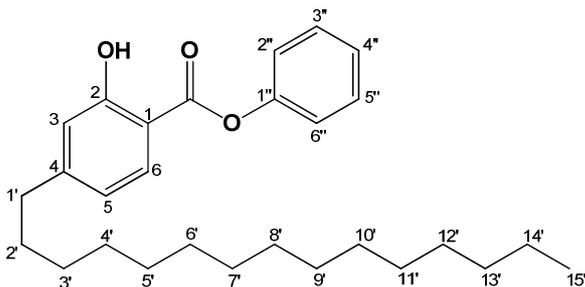
Peso molecular: 423,63 g/mol

IV (KBr)  $\nu_{\text{máx}} \text{ cm}^{-1}$ : 3327 ( $\nu_{\text{N-H}}$ ); 2916 ( $\nu_{\text{asCH}_2}$ ); 2851 ( $\nu_{\text{sCH}_2}$ ); 1618 ( $\nu_{\text{C=O}}$ ); 1594, 1550, 1473 ( $\nu_{\text{C=C}}$ ); 1370 ( $\nu_{\text{CH}_3}$ ); 1254, 1229, 1204 ( $\nu_{\text{asC-O}}$ ); 1096, 1075 ( $\nu_{\text{sC-O}}$ ).

RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, Piridina):  $\delta$  0,89 (t,  $J = 6,6$  Hz, 3H, 15'); 1,21-1,37 (sl, 24H, 3'-14'); 1,58-1,63 (m, 2H, 2'); 2,58 (t,  $J = 7,6$  Hz, 2H, 1'); 6,87 (dd,  $J = 7,4$  Hz,  $J = 1,4$  Hz, 1H, 5); 7,14-7,19 (m, 2H, 3 e 4''); 7,40 (t,  $J = 7,9$  Hz, 2H, 3'' e 5''); 8,04 (d,  $J = 7,6$  Hz, 2H, 2'' e 6''); 8,40 (d,  $J = 8,1$  Hz, 1H, 6); 11,12 (s, 1H, OH).

RMN <sup>13</sup>C (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  14,8 ( $\underline{\text{C}}\text{H}_3$ , 15'); 23,4 ( $\underline{\text{C}}\text{H}_2$ , 14'); 29,9-30,5 ( $\underline{\text{C}}\text{H}_2$ , 3'-12'); 31,6 ( $\underline{\text{C}}\text{H}_2$ , 2'); 32,6 ( $\underline{\text{C}}\text{H}_2$ , 13'); 36,5 ( $\underline{\text{C}}\text{H}_2$ , 1'); 116,3 (C, 1); 118,3 ( $\underline{\text{C}}\text{H}$ , 3); 120,4 ( $\underline{\text{C}}\text{H}$ , 5); 122,3 ( $\underline{\text{C}}\text{H}$ , 2'' e 6''); 125,0 ( $\underline{\text{C}}\text{H}$ , 4''); 129,7 ( $\underline{\text{C}}\text{H}$ , 3'' e 5''); 130,3 ( $\underline{\text{C}}\text{H}$ , 6); 139,9 (C, 1''); 160,9 (C, 2); 168,2 ( $\underline{\text{C}}\text{ONHAr}$ ).

2-Hidróxi-4-pentadecilbenzoato de fenila (LDT660, **43**)



Sólido branco

Rendimento (98%)

$R_f$ : 0,58 (Hex<sub>50%</sub>:DCM<sub>50%</sub>)

Ponto de fusão: 37,1-39,1 °C

Fórmula molecular: C<sub>28</sub>H<sub>40</sub>NO<sub>3</sub>

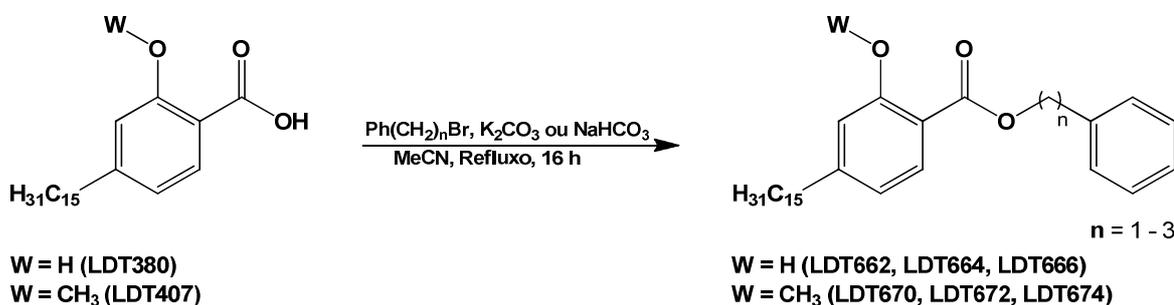
Peso molecular: 424,62 g/mol

IV (KBr)  $\nu_{\text{máx}} \text{ cm}^{-1}$ : 2920 ( $\nu_{\text{asCH}_2}$ ); 2848 ( $\nu_{\text{sCH}_2}$ ); 1684 ( $\nu_{\text{C=O}}$ ); 1488, 1460 ( $\nu_{\text{C=C}}$ ); 1221, 1200, 1167 ( $\nu_{\text{asC-O}}$ ).

RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  0,90 (t,  $J = 6,5$  Hz, 3H, 15'); 1,28-1,39 (m, 24H, 3'-14'); 1,63-1,68 (m, 2H, 2'); 2,65 (t,  $J = 7,6$  Hz, 2H, 1'); 6,82 (dd,  $J = 7,5$  Hz,  $J = 1,3$  Hz, 1H, 5); 6,88 (s, 1H, 3); 7,20-7,24 (m, 2H, 2'' e 6''); 7,29-7,34 (m, 1H, 4''); 7,44-7,49 (m, 2H, 3'' e 5''); 7,99 (d,  $J = 8,2$  Hz, 1H, 6); 10,48 (s, 1H, OH).

RMN <sup>13</sup>C (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  14,3 ( $\underline{\text{C}}\text{H}_3$ , 15'); 22,9 ( $\underline{\text{C}}\text{H}_2$ , 14'); 29,5-29,9 ( $\underline{\text{C}}\text{H}_2$ , 3'-12'); 30,9 ( $\underline{\text{C}}\text{H}_2$ , 2'); 32,1 ( $\underline{\text{C}}\text{H}_2$ , 13'); 36,4 ( $\underline{\text{C}}\text{H}_2$ , 1'); 109,7 (C 1); 117,3 ( $\underline{\text{C}}\text{H}$ , 3); 120,3 ( $\underline{\text{C}}\text{H}$ , 5); 121,9 ( $\underline{\text{C}}\text{H}$ , 2'' e 6''); 126,5 ( $\underline{\text{C}}\text{H}$ , 4''); 129,8 ( $\underline{\text{C}}\text{H}$ , 3'' e 5''); 130,4 ( $\underline{\text{C}}\text{H}$ , 6); 150,5 (C, 1''); 153,2 (C, 4); 162,5 (C, 2); 169,1 ( $\underline{\text{C}}\text{OOAr}$ ).

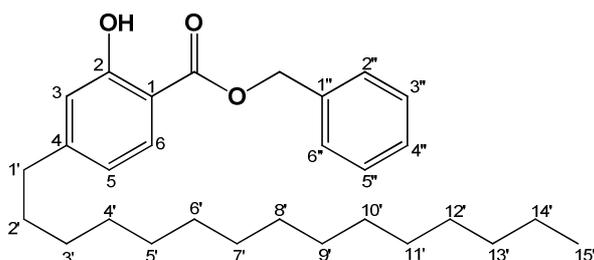
Obtenção dos Derivados 2-Hidroxiésteres e 2-Metoxiésteres



Em um balão de 25 mL foram adicionados o LDT380 (**28**) ou o LDT407 (**32**) (1,000 mmol), NaHCO<sub>3</sub> (2 equivalentes) ou K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (2 equivalentes), brometo de araquila (3 equivalentes) e acetonitrila (10 mL). A mistura foi submetida a refluxo por 16 horas e, em seguida, o solvente foi removido à pressão reduzida e a mistura

obtida extraída com diclorometano (15,0 mL), lavada com soluções de HCl 10% (10,0 mL), saturada de NaCl (10,0 mL) e seca em sulfato de sódio anidro. Após remoção do solvente a pressão reduzida, o resíduo foi purificado por cromatografia em coluna contendo gel de sílica, eluída com mistura de diclorometano:hexano (1:5).

**2-Hidróxi-4-pentadecilbenzoato de benzila (LDT662, 44)**



Sólido branco

Rendimento (98%)

R<sub>f</sub>: 0,52 (Hex<sub>50%</sub>:DCM<sub>50%</sub>)

Ponto de fusão: 40,1-42,1 °C

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

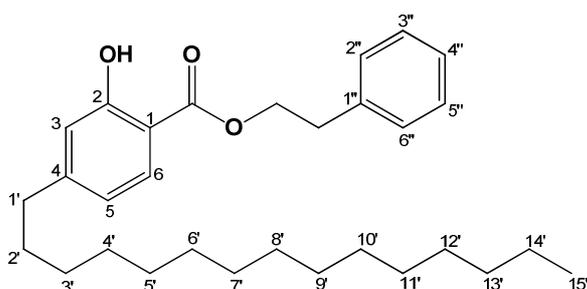
Peso molecular: 438,64 g/mol

IV (KBr)  $\nu_{\text{máx cm}^{-1}}$ : 2921 ( $\nu_{\text{asCH}_2}$ ); 2850 ( $\nu_{\text{sCH}_2}$ ); 1670 ( $\nu_{\text{C=O}}$ ); 1263, 1224, 1151 ( $\nu_{\text{asC-O}}$ ), 1104 ( $\nu_{\text{sC-O}}$ ).

RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  0,90 (t,  $J = 6,7$  Hz, 3H, 15'); 1,25-1,35 (sl, 24H, 3'-14'); 1,60-1,64 (m, 2H, 2'); 2,60 (t,  $J = 7,7$  Hz, 2H, 1'); 5,39 (s, 2H, COOCH<sub>2</sub>Ar); 6,71 (dd,  $J = 7,4$  Hz,  $J = 1,5$  Hz, 1H, 5); 6,82 (d,  $J = 1,3$  Hz, 1H, 3); 7,27-7,48 (m, 5H, 2'', 3'', 4'', 5'' e 6''); 7,80 (d,  $J = 8,1$  Hz, 1H, 6); 10,73 (s, 1H, OH).

RMN <sup>13</sup>C (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  14,3 ( $\underline{\text{C}}\text{H}_3$ , 15'); 22,9 ( $\underline{\text{C}}\text{H}_2$ , 14'); 29,4-29,9 ( $\underline{\text{C}}\text{H}_2$ , 3'-12'); 30,9 ( $\underline{\text{C}}\text{H}_2$ , 2'); 32,1 ( $\underline{\text{C}}\text{H}_2$ , 13'); 36,4 ( $\underline{\text{C}}\text{H}_2$ , 1'); 66,9 (COO $\underline{\text{C}}\text{H}_2$ Ar); 110,2 (C 1); 117,3 ( $\underline{\text{C}}\text{H}$ , 3); 120,0 ( $\underline{\text{C}}\text{H}$ , 5); 128,4 ( $\underline{\text{C}}\text{H}$ , 2'' e 6''); 128,7 ( $\underline{\text{C}}\text{H}$ , 4''); 128,9 ( $\underline{\text{C}}\text{H}$ , 3'' e 5''); 130,0 ( $\underline{\text{C}}\text{H}$ , 6); 135,7 (C, 1''); 152,4 (C, 4); 161,9 (C, 2); 165,6 (COO $\underline{\text{C}}\text{H}_2$ Ar).

**2-Hidróxi-4-pentadecilbenzoato de fenetila (LDT664, 45)**



Sólido branco

Rendimento (82%)

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

Ponto de fusão: 42,9-44,9 °C

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

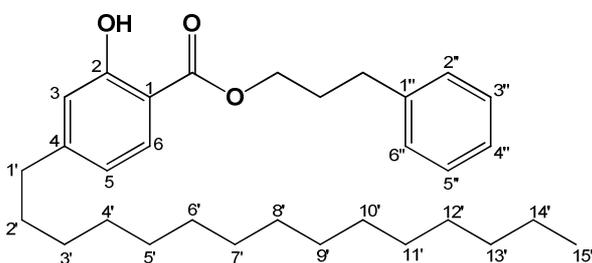
Peso molecular: 452,67 g/mol

IV (KBr)  $\nu_{\text{máx cm}^{-1}}$ : 2917 ( $\nu_{\text{asCH}_2}$ ); 2848 ( $\nu_{\text{sCH}_2}$ ); 1670 ( $\nu_{\text{C=O}}$ ); 1466 ( $\nu_{\text{C=C}}$ ); 1262, 1218, 1152, 1099 ( $\nu_{\text{asC-O}}$ ).

RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  0,91 (t,  $J = 6,7$  Hz, 3H, 15'); 1,27-1,35 (sl, 24H, 3'-14'); 1,59-1,65 (m, 2H, 2'); 2,60 (t,  $J = 7,7$  Hz, 2H, 1'); 3,10 (t,  $J = 6,7$  Hz, 2H,  $\text{COOCH}_2\text{CH}_2\text{Ar}$ ); 4,56 (t,  $J = 7,0$  Hz, 2H,  $\text{COOCH}_2\text{CH}_2\text{Ar}$ ); 6,72 (dd,  $J = 7,4$  Hz,  $J = 1,5$  Hz, 1H, 5); 6,81 (d,  $J = 1,2$  Hz, 1H, 3); 7,27-7,38 (m, 5H, 2'', 3'', 4'', 5'' e 6''); 7,72 (d,  $J = 8,1$  Hz, 1H, 6); 10,7 (s, 1H, OH).

RMN  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  14,3 ( $\text{CH}_3$ , 15'); 22,9 ( $\text{CH}_2$ , 14'); 29,5-29,9 ( $\text{CH}_2$ , 3'-12'); 30,9 ( $\text{CH}_2$ , 2'); 32,1 ( $\text{CH}_2$ , 13'); 35,4 ( $\text{COOCH}_2\text{CH}_2\text{Ar}$ ); 36,4 ( $\text{CH}_2$ , 1'); 65,8 ( $\text{COOCH}_2\text{CH}_2\text{Ar}$ ); 110,3 (C, 1); 117,2 ( $\text{CH}$ , 3); 119,9 ( $\text{CH}$ , 5); 126,9 ( $\text{CH}$ , 4''); 128,8 ( $\text{CH}$ , 2'' e 6''); 129,1 ( $\text{CH}$ , 3'' e 5''); 129,9 ( $\text{CH}$ , 6); 137,8 (C, 1''); 152,2 (C, 4); 161,9 (C, 2); 170,3 ( $\text{COOCH}_2\text{CH}_2\text{Ar}$ ).

*2-Hidróxi-4-pentadecilbenzoato de 3-fenilpropila (LDT666, 46)*



Líquido viscoso

Rendimento (78%)

$R_f$ : 0,49 ( $\text{Hex}_{50\%}:\text{DCM}_{50\%}$ )

Ponto de fusão: Não aplicável

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

Peso molecular: 466,70 g/mol

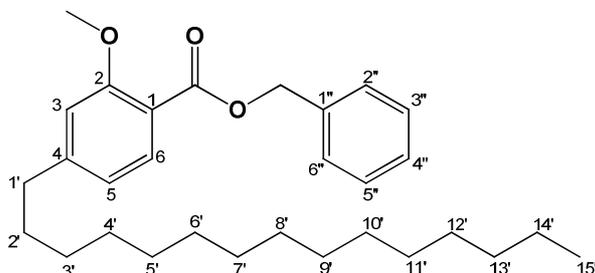
IV (Filme)  $\nu_{\text{máx cm}^{-1}}$ : 2922 ( $\nu_{\text{asCH}_2}$ ); 2850 ( $\nu_{\text{sCH}_2}$ ); 1676 ( $\nu_{\text{C=O}}$ ); 1467, 1405 ( $\nu_{\text{C=C}}$ ); 1264, 1251, 1223, 1154 ( $\nu_{\text{asC-O}}$ ).

RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  0,90 (t,  $J = 6,8$  Hz, 3H, 15'); 1,27-1,38 (m, 24H, 3'-14'); 1,59-1,64 (m, 2H, 2'); 2,13 (qi,  $J = 7,0$  Hz, 2H,  $\text{COOCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Ar}$ ); 2,61 (t,  $J = 7,7$  Hz, 2H, 1'); 2,81 (t,  $J = 7,5$  Hz, 2H,  $\text{COOCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Ar}$ ); 4,36 (t,  $J = 6,4$  Hz, 2H,  $\text{COOCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Ar}$ ); 6,73 (d,  $J = 8,1$  Hz, 1H, 5); 6,82 (s, 1H, 3); 7,21-7,25 (m, 3H, 2'', 4'' e 6''); 7,30-7,34 (m, 2H, 3'' e 5''); 7,73 (d,  $J = 8,1$  Hz, 1H, 6); 10,80 (s, 1H, OH).

RMN  $^{13}\text{C}$  (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  14,3 ( $\text{CH}_3$ , 15'); 22,9 ( $\text{CH}_2$ , 14'); 29,5-29,9 ( $\text{CH}_2$ , 3'-12'); 30,3 ( $\text{COOCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Ar}$ ); 31,0 ( $\text{CH}_2$ , 2'); 32,1 ( $\text{CH}_2$ , 13'); 32,4 ( $\text{COOCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Ar}$ ); 36,4 ( $\text{CH}_2$ , 1'); 64,6 ( $\text{COOCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Ar}$ ); 110,3 (C, 1); 117,2

( $\underline{\text{C}}\text{H}$ , 3); 119,9 ( $\underline{\text{C}}\text{H}$ , 5); 126,3 ( $\underline{\text{C}}\text{H}$ , 4''); 128,6 ( $\underline{\text{C}}\text{H}$ , 2'' e 6''); 128,7 ( $\underline{\text{C}}\text{H}$ , 3'' e 5''); 129,8 ( $\underline{\text{C}}\text{H}$ , 6); 141,1 (C, 1''); 152,2 (C, 4); 161,9 (C, 2); 170,4 ( $\underline{\text{C}}\text{OOCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Ar}$ ).

**2-Metóxi-4-pentadecilbenzoato de benzila (LDT670, 47)**



Sólido branco

Rendimento (97%)

R<sub>f</sub>: 0,40 (Hex<sub>50%</sub>:DCM<sub>50%</sub>)

Ponto de fusão: 34,3-36,3 °C

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

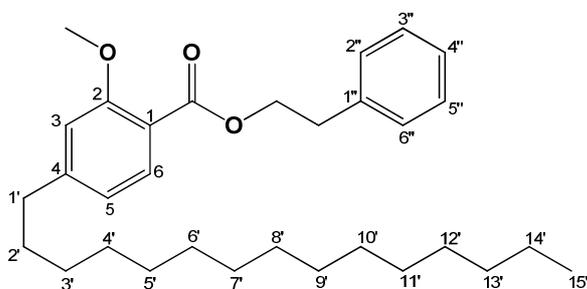
Peso molecular: 452,67 g/mol

IV (KBr)  $\nu_{\text{máx}} \text{ cm}^{-1}$ : 2919 ( $\nu_{\text{asCH}_2}$ ); 2849 ( $\nu_{\text{sCH}_2}$ ); 1728 ( $\nu_{\text{C=O}}$ ); 1610, 1576, 1499, 1466 ( $\nu_{\text{C=C}}$ ); 1258, 1242, 1175, 1152 ( $\nu_{\text{sC-O}}$ ).

RMN <sup>1</sup>H (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  0,90 (t,  $J = 6,8$  Hz, 3H, 15'); 1,25-1,36 (m, 24H, 3'-14'); 1,59-1,68 (m, 2H, 2'); 2,63 (t,  $J = 7,7$  Hz, 2H, 1'); 3,92 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>); 5,35 (s, 2H, COOCH<sub>2</sub>Ar); 6,79-6,80 (m, 2H, 3 e 5); 7,31-7,34 (m, 1H, 4''); 7,38 (t,  $J = 7,4$  Hz, 2H, 3'' e 5''); 7,47 (d,  $J = 7,3$  Hz, 2H, 2'' e 6''); 7,80 (d,  $J = 8,2$  Hz, 1H, 6).

RMN <sup>13</sup>C (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  14,3 ( $\underline{\text{C}}\text{H}_3$ , 15'); 22,9 ( $\underline{\text{C}}\text{H}_2$ , 14'); 29,5-29,9 ( $\underline{\text{C}}\text{H}_2$ , 3'-12'); 31,3 ( $\underline{\text{C}}\text{H}_2$ , 2'); 32,1 ( $\underline{\text{C}}\text{H}_2$ , 13'); 36,5 ( $\underline{\text{C}}\text{H}_2$ , 1'); 56,1 (OCH<sub>3</sub>); 66,4 (COOCH<sub>2</sub>Ar); 112,4 ( $\underline{\text{C}}\text{H}$ , 3); 117,2 (C, 1); 120,4 ( $\underline{\text{C}}\text{H}$ , 5); 128,1 ( $\underline{\text{C}}\text{H}$ , 4''); 128,2 ( $\underline{\text{C}}\text{H}$ , 2'' e 6''); 128,7 ( $\underline{\text{C}}\text{H}$ , 3'' e 5''); 132,1 ( $\underline{\text{C}}\text{H}$ , 6); 136,6 (C, 1''); 149,9 (C, 4); 159,8 (C, 2); 165,9 ( $\underline{\text{C}}\text{OOCH}_2\text{Ar}$ ).

**2-Metóxi-4-pentadecilbenzoato de fenetila (LDT672, 48)**



Sólido branco

Rendimento (82%)

R<sub>f</sub>: 0,47 (Hex<sub>50%</sub>:DCM<sub>50%</sub>)

Ponto de fusão: 36,8-38,8 °C

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

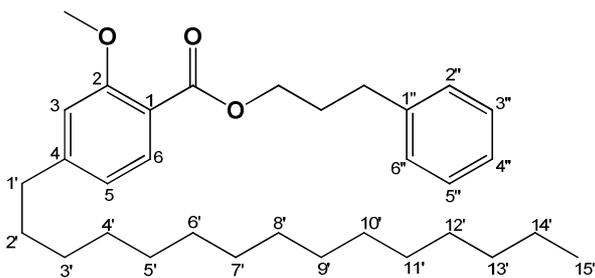
Peso molecular: 466,70 g/mol

IV (KBr)  $\nu_{\text{máx}} \text{ cm}^{-1}$ : 2921 ( $\nu_{\text{asCH}_2}$ ); 2850 ( $\nu_{\text{sCH}_2}$ ); 1725 ( $\nu_{\text{C=O}}$ ); 1608, 1458 ( $\nu_{\text{C=C}}$ ); 1240, 1174, 1152, ( $\nu_{\text{asC-O}}$ ); 1080 ( $\nu_{\text{sC-O}}$ ).

RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  0,90 (t,  $J = 6,5$  Hz, 3H, 15'); 1,21-1,39 (m, 24H, 3'-14'); 1,59-1,69 (sl, 2H, 2'); 2,63 (t,  $J = 7,5$  Hz, 2H, 1'); 3,08 (t,  $J = 6,8$  Hz, 2H,  $\text{COOCH}_2\text{CH}_2\text{Ar}$ ); 3,89 (s, 3H,  $\text{OCH}_3$ ); 4,51 (t,  $J = 6,9$  Hz, 2H,  $\text{COOCH}_2\text{CH}_2\text{Ar}$ ); 6,78-6,80 (m, 2H, 3 e 5); 7,26 (m, 1H, 4''); 7,31-7,33 (m, 4H, 2'', 3'', 5'' e 6''); 7,70 (d,  $J = 7,6$  Hz, 1H, 6).

RMN  $^{13}\text{C}$  (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  14,3 ( $\text{CH}_3$ , 15'); 22,9 ( $\text{CH}_2$ , 14'); 29,5-29,9 ( $\text{CH}_2$ , 3'-12'); 31,3 ( $\text{CH}_2$ , 2'); 32,1 ( $\text{CH}_2$ , 13'); 35,4 ( $\text{COOCH}_2\text{CH}_2\text{Ar}$ ); 36,5 ( $\text{CH}_2$ , 1'); 56,1 ( $\text{OCH}_3$ ); 65,3 ( $\text{COOCH}_2\text{CH}_2\text{Ar}$ ); 112,3 ( $\text{CH}$ , 3); 117,5 (C, 1); 120,4 ( $\text{CH}$ , 5); 126,7 ( $\text{CH}$ , 4''); 128,6 ( $\text{CH}$ , 2'' e 6''); 129,2 ( $\text{CH}$ , 3'' e 5''); 132,0 ( $\text{CH}$ , 6); 138,4 (C, 1''); 149,8 (C, 4); 159,7 (C, 2); 166,2 ( $\text{COOCH}_2\text{CH}_2\text{Ar}$ ).

*2-Metóxi-4-pentadecilbenzoato de 3-fenilpropila (LDT674, 49)*



Sólido branco

Rendimento (82%)

$R_f$ : 0,51 ( $\text{Hex}_{50\%}:\text{DCM}_{50\%}$ )

Ponto de fusão: 33,0-35,0 °C

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

Peso molecular: 480,72 g/mol

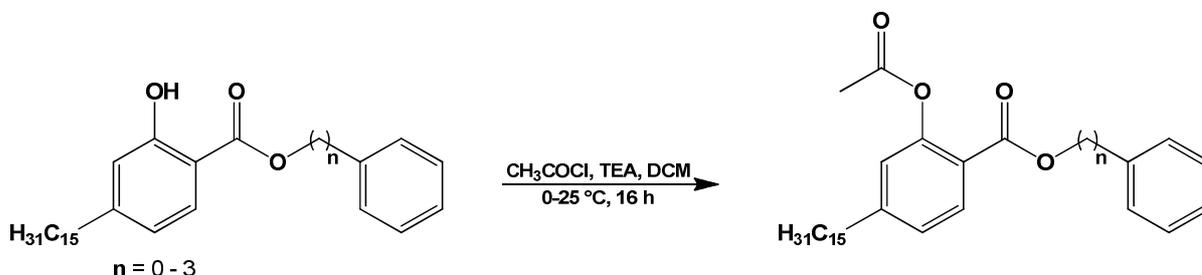
IV (KBr)  $\nu_{\text{máx}} \text{ cm}^{-1}$ : 2921 ( $\nu_{\text{asCH}_2}$ ); 2848 ( $\nu_{\text{sCH}_2}$ ); 1725 ( $\nu_{\text{C=O}}$ ); 1607, 1466 ( $\nu_{\text{C=C}}$ ); 1242, 1177, 1151, 1101 ( $\nu_{\text{asC-O}}$ ).

RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  0,90 (t,  $J = 6,7$  Hz, 3H, 15'); 1,21-1,39 (m, 24H, 3'-14'); 1,59-1,69 (m, 2H, 2'); 2,04-2,14 (m, 2H,  $\text{COOCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Ar}$ ); 2,65 (t,  $J = 7,7$  Hz, 2H, 1'); 2,81 (t,  $J = 7,6$  Hz, 2H,  $\text{COOCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Ar}$ ); 3,93 (s, 3H,  $\text{OCH}_3$ ); 4,32 (t,  $J = 6,4$  Hz, 2H,  $\text{COOCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Ar}$ ); 6,80-6,84 (m, 2H, 3 e 5); 7,21-7,33 (m, 5H, 2'', 3'', 4'', 5'' e 6''); 7,74 (d,  $J = 7,7$  Hz, 1H, 6).

RMN  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  14,3 ( $\text{CH}_3$ , 15'); 22,9 ( $\text{CH}_2$ , 14'); 29,5-29,9 ( $\text{CH}_2$ , 3'-12'); 30,6 ( $\text{COOCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Ar}$ ); 31,3 ( $\text{CH}_2$ , 2'); 32,1 ( $\text{CH}_2$ , 13'); 32,5 ( $\text{COOCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Ar}$ ); 36,5 ( $\text{CH}_2$ , 1'); 56,1 ( $\text{OCH}_3$ ); 64,0 ( $\text{COOCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Ar}$ ); 112,4 ( $\text{CH}$ , 3); 117,8 (C, 1); 120,5 ( $\text{CH}$ , 5); 126,1 ( $\text{CH}$ , 4''); 128,6 ( $\text{CH}$ , 2'' e 6''); 128,7 ( $\text{CH}$ ,

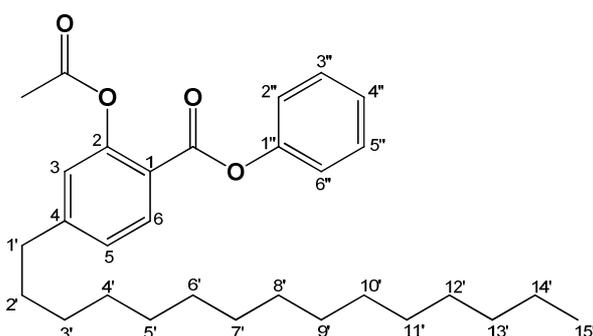
3'' e 5''); 131,9 (C<sub>H</sub>, 6); 141,6 (C, 1''); 149,7 (C, 4); 159,6 (C, 2); 166,4 (COOCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>Ar).

### Obtenção dos Acetóxiderivados



Em um balão de 25 mL foram individualmente adicionados os ésteres (1,000 mmol), TEA (5 equivalentes) e diclorometano (10,0 mL). A mistura foi resfriada sob banho de gelo/água e, em seguida, foi adicionado cuidadosamente o cloreto de acetila (2,5 equivalentes) mantendo agitação à temperatura ambiente por 16 horas. A mistura foi extraída com diclorometano (15,0 mL), lavada com soluções de bicarbonato de sódio 5% (10,0 mL), HCl 10% (10,0 mL), saturada de NaCl (10,0 mL) e seca em sulfato de sódio anidro. Após remoção do solvente a pressão reduzida, o resíduo foi purificado por cromatografia em coluna contendo gel de sílica, eluída com mistura de acetato de etila:hexano (1:10).

### 2-Acetóxi-4-pentadecilbenzoato de fenila (LDT684, **50**)



Sólido Branco

Rendimento (85%)

R<sub>f</sub>: 0,53 (Hex<sub>50%</sub>:DCM<sub>50%</sub>)

Ponto de fusão: 62,4-64,4 °C

Fórmula molecular: C<sub>30</sub>H<sub>42</sub>O<sub>4</sub>

Peso molecular: 466,65 g/mol

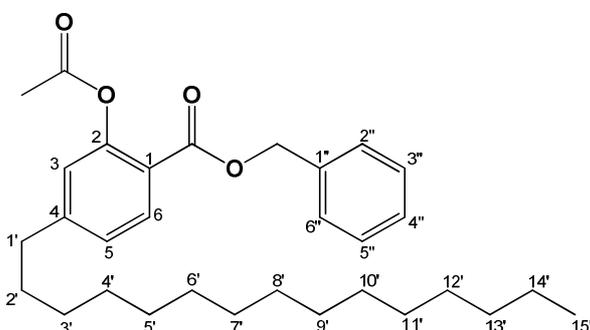
IV (KBr)  $\nu_{\text{máx cm}^{-1}}$ : 2917 ( $\nu_{\text{asCH}_2}$ ); 2848 ( $\nu_{\text{sCH}_2}$ ); 1773 ( $\nu_{\text{C=O}}$ ); 1737 ( $\nu_{\text{C=O}}$ ); 1616, 1472 ( $\nu_{\text{C=C}}$ ); 1371 ( $\nu_{\text{CH}_3}$ ); 1262, 1252, 1203, 1190 ( $\nu_{\text{asC-O}}$ ).

RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  0,90 (t,  $J = 6,6$  Hz, 3H, 15'); 1,28-1,38 (sl, 24H, 3'-14'); 1,63-1,69 (m, 2H, 2'); 2,31 (s, 3H, OCOCH<sub>3</sub>); 2,70 (t,  $J = 7,7$  Hz, 2H, 1'); 7,00 (d,  $J =$

1,3 Hz, 1H, 3); 7,16-7,22 (m, 3H, 5, 2'' e 6''); 7,25-7,30 (m, 1H, 4''); 7,40-7,46 (m, 2H, 3'' e 5''); 8,15 (d,  $J = 8,0$  Hz, 1H, 6).

RMN  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  14,3 ( $\underline{\text{C}}\text{H}_3$ , 15'); 21,2 ( $\text{OCO}\underline{\text{C}}\text{H}_3$ ); 22,9 ( $\underline{\text{C}}\text{H}_2$ , 14'); 29,4-29,9 ( $\underline{\text{C}}\text{H}_2$ , 3'-12'); 30,9 ( $\underline{\text{C}}\text{H}_2$ , 2'); 32,1 ( $\underline{\text{C}}\text{H}_2$ , 13'); 36,0 ( $\underline{\text{C}}\text{H}_2$ , 1'); 119,9 (C 1); 121,9 ( $\underline{\text{C}}\text{H}$ , 2'' e 6''); 123,9 ( $\underline{\text{C}}\text{H}$ , 3); 126,2 ( $\underline{\text{C}}\text{H}$ , 5); 126,5 ( $\underline{\text{C}}\text{H}$ , 4''); 129,7 ( $\underline{\text{C}}\text{H}$ , 3'' e 5''); 132,4 ( $\underline{\text{C}}\text{H}$ , 6); 150,9 (C, 1''); 151,2 (C, 4); 151,5 (C, 2); 163,2 ( $\text{OCO}\underline{\text{C}}\text{H}_3$ ); 169,9 ( $\underline{\text{C}}\text{OOAr}$ ).

*2-Acetóxi-4-pentadecilbenzoato de benzila (LDT686, 51)*



Sólido Branco

Rendimento (81%)

$R_f$ : 0,46 ( $\text{Hex}_{50\%}:\text{DCM}_{50\%}$ )

Ponto de fusão: 45,1-47,1 °C

Fórmula molecular:  $\text{C}_{31}\text{H}_{44}\text{O}_4$

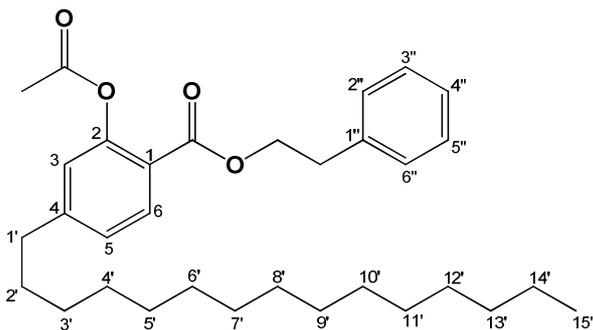
Peso molecular: 480,68 g/mol

IV (KBr)  $\nu_{\text{máx}} \text{ cm}^{-1}$ : 2916 ( $\nu_{\text{asCH}_2}$ ); 2847 ( $\nu_{\text{sCH}_2}$ ); 1763 ( $\nu_{\text{C=O}}$ ); 1719 ( $\nu_{\text{C=O}}$ ); 1617, 1464 ( $\nu_{\text{C=C}}$ ); 1374 ( $\nu_{\text{CH}_3}$ ); 1260, 1198 ( $\nu_{\text{asC-O}}$ ); 1148, 1082 ( $\nu_{\text{sC-O}}$ ).

RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  0,89 (t,  $J = 6,7$  Hz, 3H, 15'); 1,25-1,35 (m, 24H, 3'-14'); 1,62 (sl, 2H, 2'); 2,13 (s, 3H,  $\text{OCO}\underline{\text{C}}\text{H}_3$ ); 2,65 (t,  $J = 7,7$  Hz, 2H, 1'); 5,30 (s, 2H,  $\text{COO}\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{Ar}$ ); 6,91 (s, 1H, 3); 7,12 (d,  $J = 8,0$  Hz, 5); 7,36-7,44 (m, 5H, 2'', 3'', 4'', 5'' e 6''); 7,99 (d,  $J = 8,0$  Hz, 1H, 6).

RMN  $^{13}\text{C}$  (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  14,3 ( $\underline{\text{C}}\text{H}_3$ , 15'); 20,9 ( $\text{OCO}\underline{\text{C}}\text{H}_3$ ); 22,9 ( $\underline{\text{C}}\text{H}_2$ , 14'); 29,4-29,9 ( $\underline{\text{C}}\text{H}_2$ , 3'-12'); 30,9 ( $\underline{\text{C}}\text{H}_2$ , 2'); 32,1 ( $\underline{\text{C}}\text{H}_2$ , 13'); 35,9 ( $\underline{\text{C}}\text{H}_2$ , 1'); 67,0 ( $\text{COO}\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{Ar}$ ); 120,5 (C, 1); 123,8 ( $\underline{\text{C}}\text{H}$ , 3); 126,4 ( $\underline{\text{C}}\text{H}$ , 5); 128,6 ( $\underline{\text{C}}\text{H}$ , 4''); 128,7 ( $\underline{\text{C}}\text{H}$ , 2'' e 6''); 128,8 ( $\underline{\text{C}}\text{H}$ , 3'' e 5''); 132,2 ( $\underline{\text{C}}\text{H}$ , 6); 135,9 (C, 1''); 150,5 (C, 4); 150,9 (C, 2); 164,6 ( $\underline{\text{C}}\text{OCH}_3$ ); 169,9 ( $\underline{\text{C}}\text{OOCH}_2\text{Ar}$ ).

*2-Acetóxi-4-pentadecilbenzoato de fenetila (LDT688, 52)*



Sólido Branco

Rendimento (78%)

R<sub>f</sub>: 0,33 (Hex<sub>50%</sub>:DCM<sub>50%</sub>)

Ponto de fusão: 41,1-43,1 °C

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

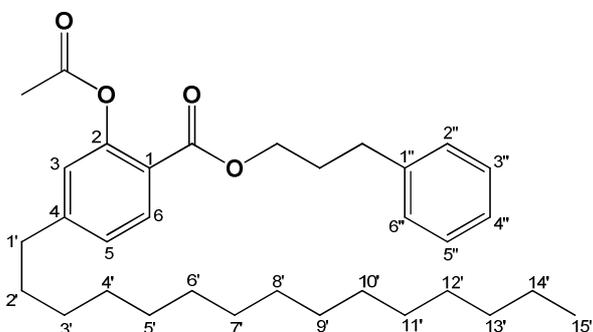
Peso molecular: 494,71 g/mol

IV (KBr)  $\nu_{\text{máx}} \text{ cm}^{-1}$ : 2917 ( $\nu_{\text{asCH}_2}$ ); 2850 ( $\nu_{\text{sCH}_2}$ ); 1767 ( $\nu_{\text{C=O}}$ ); 1715 ( $\nu_{\text{C=O}}$ ); 1618, 1465 ( $\nu_{\text{C=C}}$ ); 1376 ( $\nu_{\text{CH}_3}$ ); 1275, 1208 ( $\nu_{\text{asC-O}}$ ); 1158, 1101 ( $\nu_{\text{sC-O}}$ ).

RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  0,90 (t,  $J = 6,6$  Hz, 3H, 15'); 1,25-1,37 (m, 24H, 3'-14'); 1,59-1,66 (m, 2H, 2'); 2,30 (s, 3H, OCOCH<sub>3</sub>); 2,65 (t,  $J = 7,7$  Hz, 2H, 1'); 3,06 (t,  $J = 7,0$  Hz, 2H, COOCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>Ar); 4,49 (t,  $J = 7,0$  Hz, 2H, COOCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>Ar); 6,92 (d,  $J = 1,3$  Hz, 1H, 3); 7,11 (dd,  $J = 7,3$  Hz,  $J = 1,4$  Hz, 1H, 5); 7,25-7,37 (m, 5H, 2'', 3'', 4'', 5'' e 6''); 7,89 (d,  $J = 8,0$  Hz, 1H, 6).

RMN <sup>13</sup>C (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  14,3 (CH<sub>3</sub>, 15'); 21,2 (OCOCH<sub>3</sub>); 22,9 (CH<sub>2</sub>, 14'); 29,4-29,9 (CH<sub>2</sub>, 3'-12'); 30,9 (CH<sub>2</sub>, 2'); 32,1 (CH<sub>2</sub>, 13'); 35,4 (COOCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>Ar); 35,9 (CH<sub>2</sub>, 1'); 65,6 (COOCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>Ar); 120,6 (C, 1); 123,7 (CH, 3); 126,3 (CH, 5); 126,8 (CH, 4''); 128,8 (CH, 2'' e 6''); 129,1 (CH, 3'' e 5''); 131,8 (CH, 6); 137,9 (C, 1''); 150,3 (C, 4); 151,0 (C, 2); 164,5 (OCOCH<sub>3</sub>); 169,9 (COOCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>Ar).

*2-Acetóxi-4-pentadecilbenzoato de 3-fenilpropila (LDT690, 53)*



Sólido Branco

Rendimento (79%)

R<sub>f</sub>: 0,47 (Hex<sub>50%</sub>:DCM<sub>50%</sub>)

Ponto de fusão: 41,5-43,5 °C

Fórmula molecular: C<sub>33</sub>H<sub>48</sub>O<sub>4</sub>

Peso molecular: 508,73 g/mol

IV (KBr)  $\nu_{\text{máx}} \text{ cm}^{-1}$ : 2915 ( $\nu_{\text{asCH}_2}$ ); 2848 ( $\nu_{\text{sCH}_2}$ ); 1768 ( $\nu_{\text{C=O}}$ ), 1714 ( $\nu_{\text{C=O}}$ ); 1618, 1466 ( $\nu_{\text{C=C}}$ ); 1370 ( $\nu_{\text{CH}_3}$ ); 1259, 1203 ( $\nu_{\text{asC-O}}$ ); 1078 ( $\nu_{\text{sC-O}}$ ).

RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  0,90 (t,  $J = 6,7$  Hz, 3H, 15'); 1,27-1,38 (m, 24H, 3'-14'); 1,58-1,69 (sl, 2H, 2'); 2,03-2,13 (m, 2H,  $\text{COOCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Ar}$ ); 2,35 (s, 3H,  $\text{OCOCH}_3$ ); 2,54 (t,  $J = 7,7$  Hz, 2H, 1'); 2,77 (t,  $J = 7,7$  Hz, 2H,  $\text{COOCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Ar}$ ); 4,30 (t,  $J = 6,5$  Hz, 2H,  $\text{COOCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Ar}$ ); 6,93 (d,  $J = 1,4$  Hz, 1H, 3); 7,13 (dd,  $J = 7,3$  Hz,  $J = 1,5$  Hz, 1H, 5); 7,18-7,24 (m, 3H, 2'', 4'' e 6''); 7,27-7,34 (m, 2H, 3'' e 5''); 7,92 (d,  $J = 8,0$  Hz, 1H, 6).

RMN  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  14,3 ( $\text{CH}_3$ , 15'); 21,3 ( $\text{OCOCH}_3$ ); 22,9 ( $\text{CH}_2$ , 14'); 29,4-29,9 ( $\text{CH}_2$ , 3'-12'); 30,5 ( $\text{COOCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Ar}$ ); 30,9 ( $\text{CH}_2$ , 2'); 32,1 ( $\text{CH}_2$ , 13'); 32,5 ( $\text{COOCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Ar}$ ); 35,9 ( $\text{CH}_2$ , 1'); 64,5 ( $\text{COOCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Ar}$ ); 120,7 (C, 1); 123,8 ( $\text{CH}$ , 3); 126,2 ( $\text{CH}$ , 5); 126,3 ( $\text{CH}$ , 4''); 128,6 ( $\text{CH}$ , 2'' e 6''); 128,7 ( $\text{CH}$ , 3'' e 5''); 131,8 ( $\text{CH}$ , 6); 141,3 (C, 1''); 150,3 (C, 4); 151,0 (C, 2); 164,7 ( $\text{OCOCH}_3$ ); 169,9 ( $\text{COOCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Ar}$ ).

### 6.3 AVALIAÇÃO *IN VITRO*

Avaliação frente a Histonas Acetiltransferases: p300 e GCN5

A avaliação biológica dos compostos frente a EP300 e GCN5 foi realizada no Instituto Canadense de Pesquisa Científica SGC – Structural Genomics Consortium, pelos pesquisadores Masoud Vedadi e Abdellah Allali-Hassani. Os compostos foram testados em três diferentes concentrações (10, 30 and 100  $\mu\text{M}$ ) e o ensaio foi baseado em radioatividade. Os procedimentos de síntese, purificação e caracterização foram realizados de acordo com os protocolos do SGC (SGC TORONTO, 2015).

#### *Obtenção da proteína e avaliação dos compostos frente a p300*

Para obtenção da proteína p300, visando sua utilização na avaliação biológica dos compostos, foi montada, inicialmente, uma cultura de 50 mL contendo 50  $\mu\text{g/mL}$  de canamicina e 34  $\mu\text{g/mL}$  de cloranfenicol, sendo incubada por 12 horas. Para a cultura, foi utilizada *E. coli* (BL21 (DE3)R3-pRARE2) contendo o gene para

expressão de p300. Dessa cultura, foi retirada uma alíquota de 10 mL a qual foi utilizada para inocular cada uma de 2 culturas de 1 litro de meio TB (Terrific Broth) contendo 50 µg/mL de canamicina e 34 µg/mL de cloranfenicol.

As culturas foram cultivadas a 37 °C até que a leitura em filtro de 600 nm atingisse densidade óptica (D.O) de aproximadamente 2,5 e, em seguida, a temperatura foi ajustada para 18 °C. A expressão foi induzida durante a noite utilizando 0,1 mM de Isopropil-β-D-1-tiogalactopiranosídeo (IPTG) até uma DO<sub>600</sub> de 3,0. DO<sub>600</sub> representa a densidade óptica ou absorbância da amostra mensurada a 600 nm, estimando a concentração das células no líquido.

A cultura foi centrifugada obtendo-se um sedimento contendo as células. O sedimento foi ressuspenso em tampão de ligação e congelado. O tampão de ligação é composto por 50 mM de ácido 2-[4-(2-hidróxietil)piperazin-1-il]jetanosulfônico (HEPES, pH 7,5), 500 mM de NaCl e 10 mM de imidazol.

As células foram descongeladas a temperatura ambiente, e 0,5 mM de Tris(2-carboietil)fosfina (TCEP) e 1 mM de Fluoreto de fenilmetilsulfonil (PMSF) foram adicionados ao lisado celular. As células foram lisadas por meio de sonicação e o lisado foi centrifugado a 16.500 rpm durante 60 minutos, sendo o sobrenadante coletado para purificação.

Para a primeira purificação foi utilizada a técnica cromatografia por afinidade ao níquel (Ni-affinity chromatography), na qual a coluna de Ni-sefarose (Amersham), com 1,5 x 10 cm de tamanho, contendo 5 mL de pasta a 50% foi lavada com tampão de ligação.

O tampão de ligação é composto por 50 mM de HEPES (pH 7,5), 500 mM de NaCl e 10 mM de imidazol. O tampão de lavagem é composto de 50 mM de HEPES (pH 7,5), 500 mM de NaCl e 30 mM de imidazol. O tampão de eluição é composto de 50 mM de HEPES (pH 7,5), 500 mM de NaCl, 50 a 250 mM de imidazol (fase de eluição).

O sobrenadante carregado por escoamento por gravidade em coluna de Ni-sefarose. A coluna foi, então, lavada com 30 mL de tampão de lavagem por fluxo de gravidade. A proteína foi eluída por escoamento por gravidade através da aplicação de porções de 5 mL de tampão de eluição com concentração crescentes de imidazol (50 mM, 100 mM, 150 mM e 250 mM). As frações foram coletadas até a proteína ser completamente eluída.

No tratamento enzimático, a cauda de histidina do N-terminal foi clivada por meio de tratamento com protease TEV, uma protease altamente específica para sítio de cisteína que é encontrada no vírus *Tobacco etch*.

A segunda purificação foi realizada usando-se a técnica de cromatografia de exclusão de tamanho, com coluna Superdex S75 16/60 HiLoad. O tampão utilizado era composto de 10 mM de HEPES (pH 7,5), 500 mM de NaCl e 5% de glicerol.

A p300 foi concentrada e aplicada à coluna de filtração em gel Superdex S75 16/60 HiLoad, equilibrada com o tampão descrito acima, usando um sistema de cromatografia do tipo ÄKTA Express.

Em seguida, outra purificação foi realizada usando-se uma coluna do tipo Bio-rad poly-prep, contendo 2 mL de pasta Ni-sefaroze (Amersham) a 50%, lavada com tampão de ligação. O tampão de ligação era composto de 10 mM de HEPES (pH 7,5), 500 mM de NaCl e 5% de glicerol. O tampão de lavagem era composto de 10 mM de HEPES (pH 7,5), 500 mM de NaCl e 5% de glicerol. O tampão de eluição era composto de 50 mM de HEPES (pH 7,5), 500 mM de NaCl e 250 mM de imidazol.

As frações da filtração em gel contendo p300 foram reunidas e carregadas por escoamento por gravidade em coluna de Ni-sefaroze. Após carregar mais 4 mL de tampão de ligação o fluxo total foi recolhido. A coluna, então, foi lavada com 5 mL de tampão de lavagem em fluxo por gravidade. Finalmente, 6 mL de tampão de eluição foram adicionados. As frações de eluição e lavagem recolhidas foram analisadas por eletroforese em gel de poliacrilamina e dodecilsulfato de sódio (SDS-PAGE). A proteína p300 clivada por TEV foi encontrada, principalmente, no fluxo através da fração.

A caracterização por espectrometria de massas foi realizada utilizando-se um sistema múltiplo do tipo liquid chromatography–electrospray ionization–mass spectrometry time-of-flight (LC-ESI-MS TOF), fornecendo uma massa mensurada em 14639 Da para esta construção como previsto a partir da sequência desta proteína.

A proteína foi concentrada a 9,0 mg/mL usando um concentrador Amicon de corte 3 kDa.

As atividades dos compostos foram determinadas com 1 nM de p300, 4,0  $\mu$ M de histona H3 (1-25), 2,5  $\mu$ M de  $^3\text{H}$ -AcetilCoA em 50 mM de trisaminometano

(Tris) pH 7,5, 5 mM de ditioneitol (DTT) e 0,01% de Triton (surfactante) com 20 minutos de incubação a temperatura ambiente. Os compostos foram testados em concentrações que variaram de de 0,1 a 100  $\mu$ M e a leitura do ensaio foi realizada por mensuração da radioatividade emitida pela AcetilCoA marcada com trítio ( $^3$ H-AcetilCoA), usando um contador de cintilação líquida.

#### *Obtenção da proteína e avaliação dos compostos frente a GCN5L2*

Para obtenção da proteína GCN5, visando sua utilização na avaliação biológica dos compostos, foi montada, inicialmente, uma cultura de 10 mL contendo 50  $\mu$ g/mL de canamicina e 35  $\mu$ g/mL de cloranfenicol, sendo incubada por 12 horas. Para a cultura, foi utilizada *E. coli* (BL21(DE3)-R3-pRARE2) contendo o gene para expressão de GCN5L2. Dessa cultura, foi retirada uma alíquota de 1 mL a qual foi utilizada para inocular 1 litro de meio Lysogeny broth (LB) contendo a mesma concentração de antibióticos.

As culturas foram cultivadas a 37 °C até que a leitura em filtro de 600 nm atingisse D.O de aproximadamente 0,3 e, em seguida, a temperatura foi ajustada para 20 °C. A expressão foi induzida durante a noite utilizando 0,1 mM de IPTG até uma  $DO_{600}$  de 0,8.

A cultura foi centrifugada obtendo-se um sedimento contendo as células. O sedimento foi ressuspense em tampão de ligação e congelado. O tampão de ligação é composto por 50 mM de HEPES (pH 7,5), 500 mM de NaCl, 5% de glicerol e 10 mM de imidazol.

As células foram lisadas por meio de homogeneizador de alta pressão C5 (Avestin) e o lisado foi centrifugado a 21.000 rpm por 60 minutos e o sobrenadante coletado para purificação.

Para a purificação foi utilizada cromatografia por afinidade ao níquel (Ni-affinity chromatography). O tampão de ligação era composto de 50 mM de HEPES (pH 7,5), 500 mM de NaCl, 5% de glicerol e 10 mM de imidazol. O tampão de lavagem era composto de 50 mM de HEPES (pH 7,5), 500 mM de NaCl, 30 mM de de imidazol e 5% de glicerol. O tampão de eluição era composto de 50 mM de HEPES (pH 7,5), 500 mM de NaCl, 50 a 250 mM de imidazol e 5% de glicerol.

Foram aplicados 5 mL de pasta a 50% de níquel-ácido nitrilotriacético (Ni-NTA), da Qiagen, a uma coluna de gravidade, possuindo 1,5 x 10 cm de tamanho. A coluna foi equilibrada com 50 mL de tampão de ligação. O lisado foi aplicado à coluna que foi, em seguida, lavada com 50 mL do tampão de lavagem 1 e 2.

A proteína foi eluída por escoamento por gravidade, pela aplicação de porções de 5 mL de tampão de eluição com concentrações crescentes de imidazol (50 mM, 100 mM, 150 mM e 250 mM). As frações foram recolhidas até a completa eluição da proteína.

A proteína eluída foi analisada por SDS-PAGE. DTT foi adicionado à amostra de proteína até uma concentração final de 5 mM.

A segunda purificação foi realizada usando-se a técnica de cromatografia de exclusão de tamanho (SEC – Size Exclusion Chromatography), com coluna Superdex S75, 60 x 1 cm. O tampão SEC utilizado era composto de 50 mM de HEPES (pH 7,5), 150 mM de NaCl e 5 mM de DTT.

As frações eluídas na cromatografia por afinidade ao níquel foram concentradas até aproximadamente 4 mL usando concentradores Centricon (5 kDa CUT off). A proteína concentrada foi aplicada a uma coluna Superdex S75 equilibrada em tampão SEC a uma taxa de eluição de 0,8 mL/min. As frações eluídas foram de 95% pura como avaliado por SDS-PAGE.

Por meio de espectrometria de massas, a massa da proteína foi calculada como sendo 15975 Da e a massa foi determinada experimentalmente como sendo 15975 Da para a proteína contendo cauda de histidina.

As atividades dos compostos foram determinadas com 1 nM de GCN5, 10 µM de H3 (1-25) e 2,5 µM de <sup>3</sup>H-AcetilCoA em 50 mM de Tris (pH 9,5), 5 mM DTT e 0,01% de Triton com 20 minutos de incubação a temperatura ambiente. Os compostos foram testados em concentrações que variaram de 0,1 a 100 µM e a leitura do ensaio foi realizada por mensuração da radioatividade emitida pela AcetilCoA marcada com trítio (<sup>3</sup>H-AcetilCoA), usando um contador de cintilação líquida.

## ***Resultados e Discussão***

---

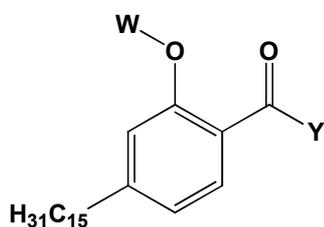
## 7 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 7.1 SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DOS COMPOSTOS

A rota sintética para a obtenção dos derivados-alvo compreendeu a exploração de procedimentos sintéticos clássicos de interconversão de grupos funcionais, como por exemplo, *orto*-formilação, *O*-alquilação, oxidação, amidação e esterificação em condições experimentais à temperatura ambiente, sob refluxo ou sob radiação micro-ondas.

Os compostos foram caracterizados por espectroscopia de ressonância magnética nuclear de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  e no infravermelho (IV). As características físico-químicas PSA, logS, logP, logD e pKa foram calculadas no programa Percepta/ACD Labs, versão 2014.

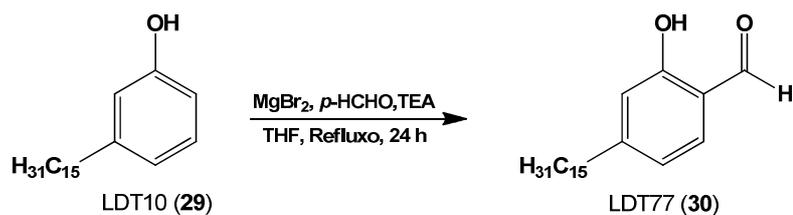
#### Série 2-Acetóxi, 2-Hidróxi e 2-Metoxiácidos ou Metilésteres



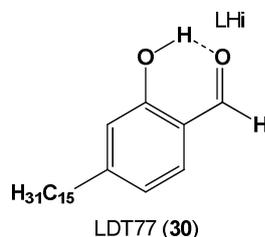
LDT77: W = H e Y = H  
 LDT220: W = CH<sub>3</sub> e Y = H  
 LDT380: W = H e Y = OH  
 LDT407: W = CH<sub>3</sub> e Y = OH  
 LDT383: W = Ac e Y = OH  
 LDT381: W = H e Y = OCH<sub>3</sub>  
 LDT382: W = CH<sub>3</sub> e Y = OCH<sub>3</sub>  
 LDT384: W = Ac e Y = OCH<sub>3</sub>

A primeira série de derivados-alvo compreendeu a obtenção do ácido 2-hidróxi-4-pentadecilbenzóico (isoanacárdico, **28**), seus ésteres metílicos e derivados acetoxila e metoxila para ambos.

O planejamento sintético foi iniciado a partir da *orto*-formilação (HOFSLOKKEN e SKATTEBOL, 1999; ANWAR, 2009) do cardanol saturado (LDT10, **29**) levando ao aldeído LDT77 (**30**) como um sólido branco cristalino em rendimento de 90%.

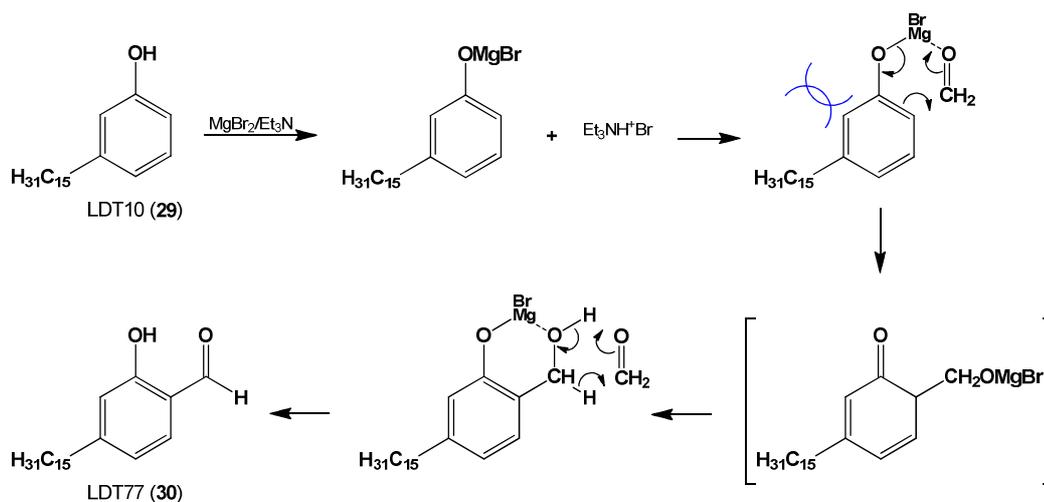


O grupo aldeído foi caracterizado por meio dos sinais em 9,83 ppm e 195,9 ppm em seus espectros de RMN  $^1\text{H}$  (Anexo 2, Pág. 2) e RMN  $^{13}\text{C}$  (Anexo 3, Pág. 3). Adicionalmente, o deslocamento químico em 11,05 ppm no espectro de RMN  $^1\text{H}$  (Anexo 2, Pág. 2) indicou a presença do grupo hidroxila em ligação de hidrogênio intramolecular com o oxigênio da carbonila do aldeído (Figura 14).



**Figura 14.** LDT77: Ligação de hidrogênio intramolecular.

Os sinais em 6,81 ppm (s, 1H, 3), 6,83 ppm (dd,  $J = 8,5$  Hz,  $J = 1,4$  Hz, 1H, 5); 7,44 ppm (d,  $J = 7,8$  Hz, 1H, 6) em RMN  $^1\text{H}$  caracterizaram a presença do anel aromático e o padrão de acoplamento revela que a formilação ocorreu na posição *orto* à hidroxila fenólica e *para* à cadeia alquílica (Esquema 2).

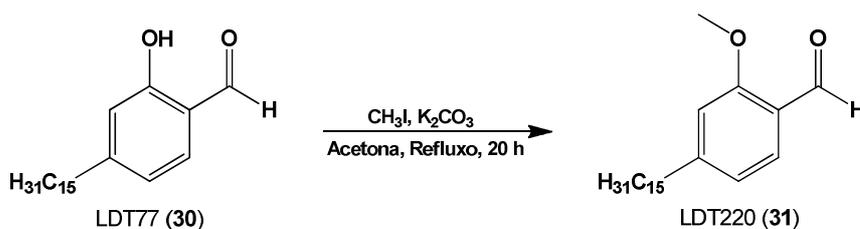


**Esquema 2.** LDT77: Proposta mecanística para a formilação regioespecifica.  
Fonte: adaptado de HOFSLØKKEN e SKATTEBOL, 1999

Como a formilação apresentou apenas uma mancha em CCD, esta pode ser considerada regioespecífica. Adicionalmente, os deslocamentos químicos entre 0,89 ppm e 2,62 ppm (RMN  $^1\text{H}$ ) bem como 14,3 ppm a 32,6 ppm (RMN  $^{13}\text{C}$ ) estão relacionados à cadeia alquílica saturada.

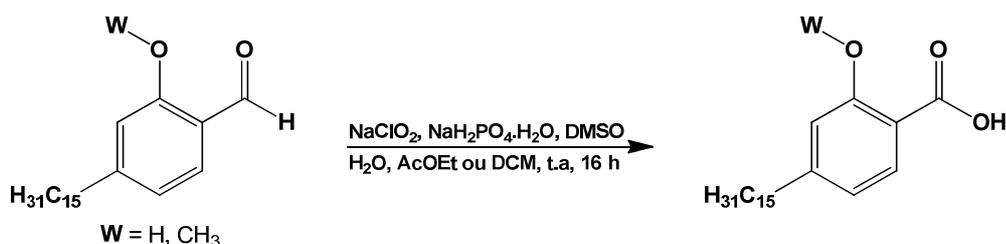
A presença de absorção em  $1671\text{ cm}^{-1}$  no infravermelho (Anexo 1, Pág. 1), referente ao estiramento da carbonila corroborou a caracterização do derivado LDT77 (**30**). Não se observou a presença dos dupletos referentes à ressonância de Fermi em  $2820\text{ cm}^{-1}$  e  $2738\text{ cm}^{-1}$  possivelmente pela presença dos grupos metilenos da cadeia alquílica que absorvem próximos a esta região.

Em seguida, LDT77 (**30**) foi metilado com iodeto de metila na presença de carbonato de potássio em acetona sob refluxo levando ao aldeído LDT220 (**31**) como um sólido branco cristalino, em rendimento de 80%.



Os sinais característicos referente ao grupo metoxila foram identificados em 3,92 ppm e 55,7 ppm em seus espectros de RMN  $^1\text{H}$  (Anexo 5, Pág. 5) e RMN  $^{13}\text{C}$  (Anexo 6, Pág. 6), respectivamente.

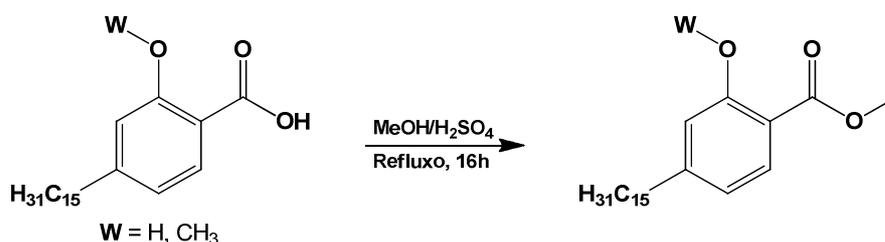
De posse dos aldeídos – LDT77 (**30**) e LDT220 (**31**) – estes foram oxidados com clorito de sódio em DMSO (SANTOS e MAGALHÃES, 1999) aos seus respectivos ácidos carboxílicos LDT380 (**28**) e LDT407 (**32**), obtidos como sólidos brancos cristalinos em rendimento de 89% e 92%.



O grupo carboxila de LDT380 (**28**) foi identificado pelos sinais em 11,04 ppm e 174,9 ppm em seus espectros de RMN  $^1\text{H}$  (Anexo 8, Pág. 8) e RMN  $^{13}\text{C}$

(Anexo 9, Pág. 9). A ligação de hidrogênio intramolecular do sistema salicílico foi observada em 11,79 ppm no espectro de RMN  $^1\text{H}$  (Anexo 8, Pág. 8). Adicionalmente, a presença de absorção em  $1654\text{ cm}^{-1}$  no infravermelho (Anexo 7, Pág. 7), referente ao estiramento da carbonila do grupo carboxila corroborou a caracterização do ácido isoanacárdico LDT380 (**28**). Por sua vez, LDT407 (**32**) foi identificado pelos deslocamentos químicos referentes aos grupos metoxila em 4,06 ppm (RMN  $^1\text{H}$ , Anexo 11, Pág. 11) e 56,7 ppm (RMN  $^{13}\text{C}$ , Anexo 12, Pág. 12); e carboxila 165,7 ppm (RMN  $^{13}\text{C}$ , Anexo 12, Pág. 12). A presença de absorção em  $1610\text{ cm}^{-1}$  no infravermelho (Anexo 10, Pág. 10), referente à carboxila corroborou a caracterização do LDT407 (**32**).

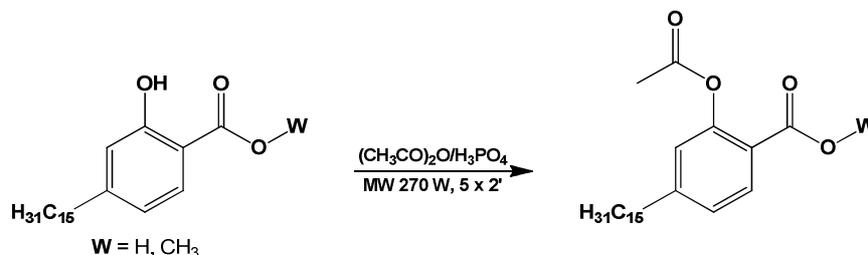
Por meio da esterificação de Fisher do derivado LDT380 (**28**) – com metanol e catálise com ácido sulfúrico – foram obtidos os ésteres metílicos LDT381 (**33**) e LDT382 (**34**) como sólidos brancos em rendimentos de 95% e 92%, respectivamente.



O grupo metila do éster derivado LDT381 (**33**) foi caracterizado pelos deslocamentos químicos em 3,94 ppm e 52,3 ppm em seus espectros de RMN  $^1\text{H}$  (Anexo 17, Pág. 17) e RMN  $^{13}\text{C}$  (Anexo 18, Pág. 18). A presença do sinal em 10,72 ppm no espectro de RMN  $^1\text{H}$  (Anexo 17, Pág. 17) indica a presença de ligação de hidrogênio intramolecular entre o hidrogênio da hidroxila fenólica e o oxigênio da carbonila. Adicionalmente, a presença de absorção em  $1686\text{ cm}^{-1}$  no infravermelho (Anexo 16, Pág. 16), referente à carbonila ( $\nu_{\text{C=O}}$ ) corroborou a caracterização do LDT381 (**33**).

A caracterização do mesmo grupo funcional para o éster LDT382 (**34**) foi realizada por meio dos sinais em 3,90 ppm (RMN  $^1\text{H}$ , Anexo 20, Pág. 20) e 52,0 ppm (RMN  $^{13}\text{C}$ , Anexo 21, Pág. 21). A presença de absorção em  $1702\text{ cm}^{-1}$  no infravermelho (Anexo 19, Pág. 19), referente ao grupo carbometoxila corroborou a caracterização do LDT382 (**34**).

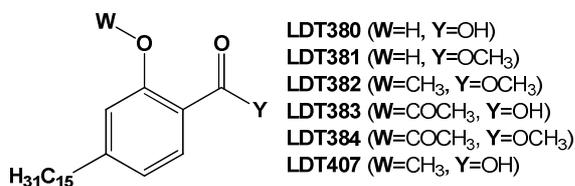
O procedimento de acetilação dos derivados LDT380 (**28**) e LDT381 (**33**) foi realizado com anidrido acético sob catálise de ácido fosfórico em forno de microondas convencional, levando à obtenção dos respectivos acetóxiderivados LDT383 (**35**) e LDT384 (**36**) em rendimentos de 80% e 88%.



Na análise espectroscópica para o derivado LDT383 (**35**), a metila do grupo acetila foi identificada pelos deslocamentos químicos em 2,54 ppm (RMN  $^1\text{H}$ , Anexo **14**, Pág. 14) e 22,2 ppm (RMN  $^{13}\text{C}$ , Anexo **15**, Pág. 15), enquanto o grupo carbonila foi assinalado ao sinal em 168,4 ppm em RMN  $^{13}\text{C}$  (Anexo **15**, Pág. 15). A presença de absorções em  $1763\text{ cm}^{-1}$  e  $1685\text{ cm}^{-1}$  no infravermelho (Anexo **13**, Pág. 13), referente às carbonilas corroborou a caracterização do derivado-alvo. Por sua vez, o grupo acetila do derivado LDT384 (**36**) foi caracterizado pela presença de sinais em 2,35 ppm em RMN  $^1\text{H}$  (Anexo **23**, Pág. 23) bem como 21,2 ppm e 165,1 ppm em RMN  $^{13}\text{C}$  (Anexo **24**, Pág. 24). Os grupos carbonilas dos ésteres foram relacionados às absorções em  $1764\text{ cm}^{-1}$  e  $1721\text{ cm}^{-1}$  no infravermelho (Anexo **22**, Pág. 22).

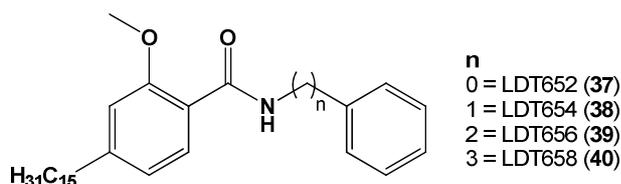
O resumo dos principais sinais que caracterizaram os compostos LDT380 (**28**), LDT381 (**33**), LDT382 (**34**), LDT383 (**35**), LDT384 (**36**) e LDT407 (**32**) em seus espectros de RMN  $^1\text{H}$  e RMN  $^{13}\text{C}$  estão dispostos na Tabela **2**.

**Tabela 2** – Principais deslocamentos químicos de RMN  $^1\text{H}$  e RMN  $^{13}\text{C}$  para a caracterização da série dos derivados 2-acetóxi, hidróxi e metoxiácidos ou metilésteres

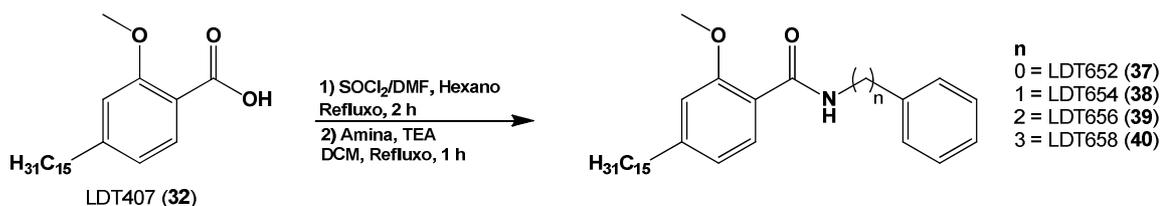


RMN	Grupos	RMN $^1\text{H}$ / RMN $^{13}\text{C}$ (ppm, Piridina ou CDCl <sub>3</sub> )					
		LDT380 (28)	LDT381 (33)	LDT382 (34)	LDT383 (35)	LDT384 (36)	LDT407 (32)
$^1\text{H}$	Ar	6,89-8,25	6,71-7,73	6,77-7,74	7,27-8,40	6,92-7,94	6,85-8,07
$^{13}\text{C}$		113,2- 163,5	110,2- 161,8	112,3- 159,6	123,7- 152,6	120,4- 151,0	111,8- 158,3
$^1\text{H}$	$\text{C}_{15}\text{H}_{31}$ (1-15)	0,89-2,63	0,89-2,59	0,89-2,62	0,92-2,67	0,89-2,65	0,88-2,66
$^{13}\text{C}$		14,8-36,8	14,3-36,4	14,3-36,5	15,1-36,5	14,3-35,9	14,3-36,5
$^1\text{H}$	ArCOOH / ArCOOCH <sub>3</sub>	--	--	--	--	--	--
$^{13}\text{C}$		174,9	170,8	166,8	171,1	170,0	165,7
$^1\text{H}$	ArCOOCH <sub>3</sub>	--	3,94	3,90	--	3,86	--
$^{13}\text{C}$		--	52,3	52,0	--	52,2	--
$^1\text{H}$	ArOCH <sub>3</sub>	--	--	3,87	--	--	4,07
$^{13}\text{C}$		--	--	56,1	--	--	56,7
$^1\text{H}$	ArOCOCH <sub>3</sub>	--	--	--	2,54	2,35	--
$^{13}\text{C}$		--	--	--	168,4	165,1	--

### Série dos Derivados Amídicos

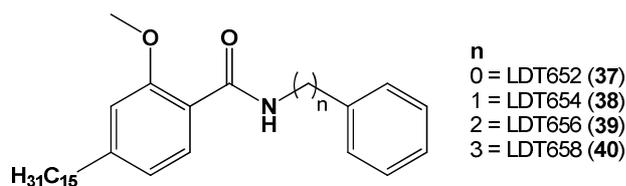


Os derivados amídicos foram obtidos a partir da reação do ácido LDT407 (32) com  $\text{SOCl}_2/\text{DMF}$  sob refluxo em hexano (CHANDREGOWDA, KUSH e REDDY, 2009) para formação do cloreto de acila correspondente. Em seguida o cloreto de ácido intermediário, não isolado, foi adicionado à solução das respectivas aminas em diclorometano na presença de TEA, levando à obtenção das 2-metóxi-4-pentadecilbenzilamidas (LDT652, LDT654, LDT656 e LDT658), caracterizadas por diferentes unidades metilênicas (0, 1, 2 ou 3) entre o grupo carbamoila e o anel aromático. As amidas-alvo foram obtidas como sólidos brancos em rendimentos que variaram de 89% a 93%.



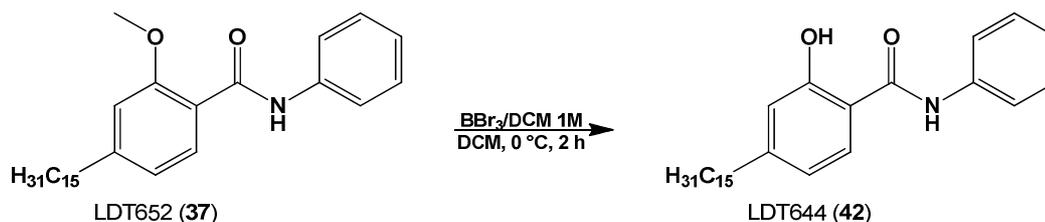
As amidas foram caracterizadas pelos deslocamentos químicos referentes aos anéis aromáticos, grupos metoxila e metilênicos. Nos espectros de RMN  $^1\text{H}$  (Anexos **26**, **29**, **32** e **35**, págs. 26, 29, 32 e 35), os anéis aromáticos foram evidenciados pelos sinais entre 6,73 ppm e 8,20 ppm; os grupos metoxila entre 3,82 ppm e 4,05 ppm; e os grupos metilenos – nas aralquilamidas – entre 1,96 ppm e 4,69 ppm. Estas subunidades foram confirmadas nos espectros de RMN  $^{13}\text{C}$  (Anexo **27**, **30**, **33** e **36**, págs. 27, 30, 33 e 36), pelos assinalamentos entre 111,4 ppm e 157,7 ppm; 55,7 ppm e 56,3 ppm; e 31,2 e 43,8 ppm, respectivamente. Os grupos carbamoíla foram identificados por sinais referentes ao grupo NH entre 7,90 ppm e 9,81 ppm; e carbonila entre 163,5 ppm e 165,6 ppm. Adicionalmente, as absorções no infravermelho (Anexos **25**, **28**, **31** e **34**, págs. 25, 28, 31 e 34) entre  $3362\text{ cm}^{-1}$  e  $3403\text{ cm}^{-1}$  referentes às amidas secundárias contribuíram para a caracterização das 2-metóxi-4-pentadecilamidas **37-40**. Um resumo dos principais sinais que caracterizam as amidas-alvo está ilustrado na Tabela 3.

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



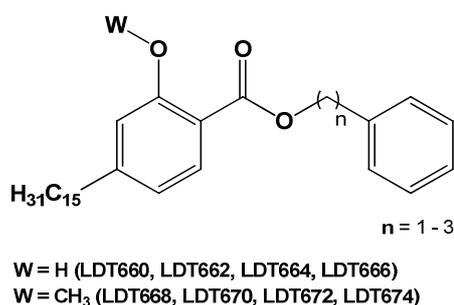
RMN	Grupos	RMN $^1\text{H}$ / RMN $^{13}\text{C}$ (ppm, $\text{CDCl}_3$ )			
		LDT652 (37)	LDT654 (38)	LDT656 (39)	LDT658 (40)
$^1\text{H}$	Ar''	7,12-7,69	7,26-7,36	7,27-7,35	7,18-7,33
$^{13}\text{C}$		120,6-138,8	127,3-139,2	126,5-139,7	125,9-141,7
$^1\text{H}$	ArOCH <sub>3</sub>	4,05	3,91	3,71-3,82 (m)	3,96
$^{13}\text{C}$		56,3	56,0	55,7	55,9
$^1\text{H}$	ArCONHAr	9,81	8,17	7,90	7,89
$^1\text{H}$	ArCONH(CH <sub>2</sub> ) <sub>n</sub> Ar	--	4,69	2,94 / 3,71-3,82	1,96 / 2,73 / 3,50
$^{13}\text{C}$		--	43,8	35,9 / 40,9	31,2 / 31,4 / 39,2
$^{13}\text{C}$	ArCONH(CH <sub>2</sub> ) <sub>n</sub> Ar	163,5	165,6	165,5	165,4

A partir da 2-metóxiamida LDT652 (**37**) foi realizada a reação de *O*-desmetilação na presença de solução 1M de  $\text{BBr}_3$  em diclorometano à temperatura ambiente, por 6 horas, levando à obtenção da 2-hidróxi amida LDT644 (**42**) como um sólido branco em rendimento de 80%. A *O*-desmetilação foi confirmada em CCD por meio da diminuição de  $R_f$  (0,48 - Hex 70%:AcOEt 30%) e identificação do grupo fenol por revelação com  $\text{FeCl}_3$ .

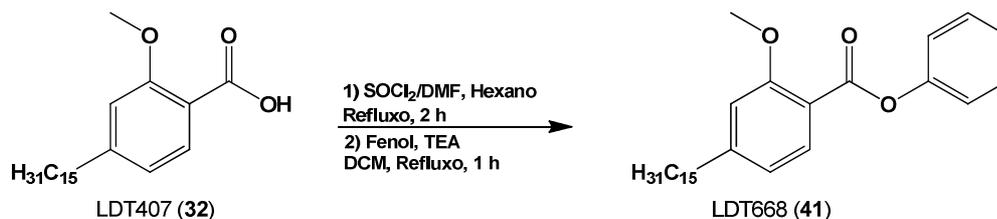


A amida foi caracterizada pela ausência de sinal referente ao grupo metoxila em 4,05 ppm em RMN  $^1\text{H}$  (Anexos **50**, pág. 50) e 56,3 ppm em RMN  $^{13}\text{C}$  (Anexos **51**, págs. 51), bem como pela evidencia do grupo hidroxila – em ligação de hidrogênio intramolecular – como simpleto em 11,12 ppm em RMN  $^1\text{H}$ . Adicionalmente, a absorção na região do infravermelho (Anexos **49**, págs. 49) em  $3327\text{ cm}^{-1}$  referente ao grupo hidroxila corrobora a elucidação estrutural para este composto.

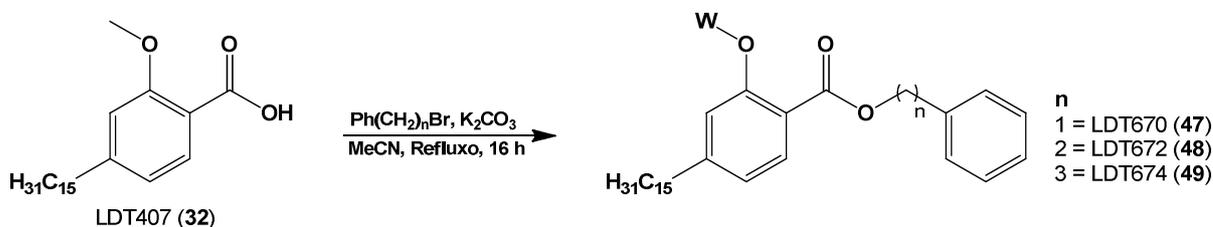
### Série dos Derivados Ésteres



De acordo com estudo desenvolvido por Alves (2015), a série dos ésteres foi iniciada pela síntese do derivado LDT668 (**41**) a partir do ácido LDT407 (**32**) via protocolo com  $\text{SOCl}_2$  e DMF, obtenção do intermediário cloreto de ácido e reação com fenol. O derivado foi obtido como sólido branco em rendimento de 80%.

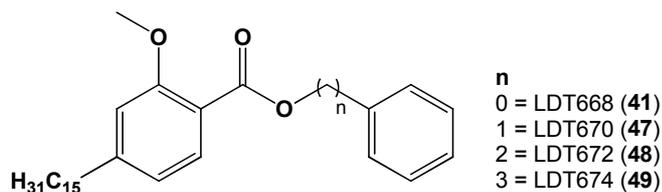


Os demais 2-metóxiésteres benzílico, fenetílico e 3-fenilpropílico foram obtidos como sólidos brancos e em rendimentos que variaram de 82% a 97% pela reação do ácido LDT407 (**32**) com brometos de araquila (brometo de benzila, bromoetilbenzeno e bromopropilbenzeno) na presença de carbonato de potássio em acetonitrila, em condições de refluxo por 16 horas.



Os derivados 2-metóxiésteres foram caracterizados pelos deslocamentos químicos referentes aos anéis aromáticos bem como aos grupos metoxila e metilênicos. Nos espectros de RMN  $^1\text{H}$  (Anexos **38**, **41**, **44** e **47**, págs. 38, 41, 44 e 47), os anéis aromáticos foram evidenciados pelos sinais entre 6,78 ppm e 7,98 ppm; os grupos metoxila entre 3,89 ppm e 3,95 ppm; e os grupos metilenos – nas araquilamidas – entre 2,04 e 5,35 ppm. Estas subunidades foram confirmadas nos espectros de RMN  $^{13}\text{C}$  (Anexo **39**, **42**, **45** e **48**, págs. 39, 42, 45 e 48), pelos assinalamentos entre 112,3 ppm e 160,4 ppm; 56,1 ppm e 56,2 ppm; e 32,5 ppm e 66,4 ppm, respectivamente. Os grupos carbonila foram identificados entre 164,5 ppm e 166,4 ppm. Adicionalmente, as absorções no infravermelho (Anexos **37**, **40**, **43** e **46**, págs. 37, 40, 43 e 46) entre  $1725\text{ cm}^{-1}$  e  $1729\text{ cm}^{-1}$  referentes às carbonilas dos ésteres contribuíram para a caracterização dos 2-metóxi-4-pentadecilésteres **41**, **47-49**. Um resumo dos principais sinais que caracterizam os 2'-metoxiésteres está ilustrado na Tabela 4.

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

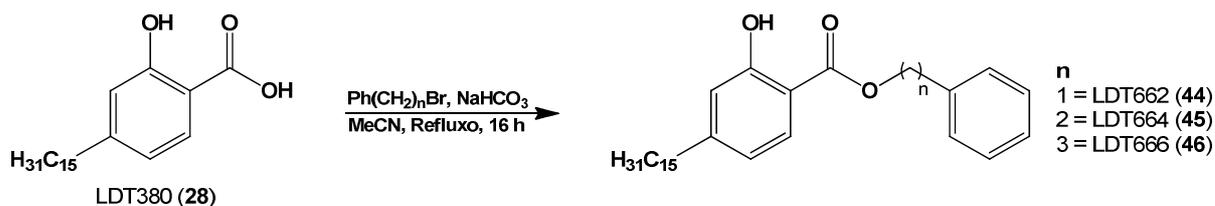


RMN	Grupos	RMN $^1\text{H}$ / RMN $^{13}\text{C}$ (ppm, $\text{CDCl}_3$ )			
		LDT668 (41)	LDT670 (47)	LDT672 (48)	LDT674 (49)
$^1\text{H}$	Ar''	7,20-7,42	7,31-7,47	7,26-7,33	7,21-7,33
$^{13}\text{C}$		122,1-151,3	128,1-136,6	126,7-138,4	126,1-141,6
$^1\text{H}$	ArOCH <sub>3</sub>	3,95	3,92	3,89	3,93
$^{13}\text{C}$		56,2	56,1	56,1	56,1
$^{13}\text{C}$	ArCOOAr	164,5	165,9	166,2	166,4
$^1\text{H}$	ArCOO(CH <sub>2</sub> ) <sub>n</sub> Ar	--	5,35	3,08 / 4,51	2,04-2,14 (m) / 2,81 / 4,32
$^{13}\text{C}$		--	66,4	35,4 / 65,3	30,6 / 32,5 / 64,0

Dando continuidade ao planejamento sintético, a síntese dos 2'-hidroxiésteres foi realizada por duas metodologias: *O*-desmetilação – para o derivado LDT668 (41) – e *O*-alquilação regioespecífica com brometos de araquila na presença de bicarbonato de sódio. Neste sentido, para a síntese do derivado LDT660 (43), o 2-metoxiéster LDT668 (41) foi submetido ao mesmo protocolo de *O*-desmetilação realizado para a síntese da 2-hidróxiamida LDT644 (42), o qual foi obtido como um sólido branco em rendimento de 98%.



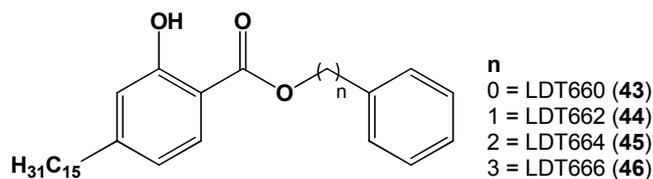
Por sua vez, os derivado LDT662 (44), LDT664 (45) e LDT666 (46) foram obtidos – como sólidos brancos e em rendimentos que variaram de 78% a 98% – a partir da reação do ácido LDT407 (32) com os respectivos brometos de araquila na presença de bicarbonato de sódio.



O éster LDT660 (**43**) foi caracterizado pela ausência de sinal referente ao grupo metoxila em 3,95 ppm em RMN  $^1\text{H}$  (Anexos **53**, pág. 53) e 56,2 em RMN  $^{13}\text{C}$  (Anexos **54**, págs. 54), bem como pela evidencia do grupo hidroxila – em ligação de hidrogênio intramolecular – como simpleto em 10,48 ppm em RMN  $^1\text{H}$ . Adicionalmente, a absorção na região do infravermelho (Anexos **52**, págs. 52) em  $3430\text{ cm}^{-1}$  referente ao grupo hidroxila corroborou para a elucidação estrutural do éster-alvo.

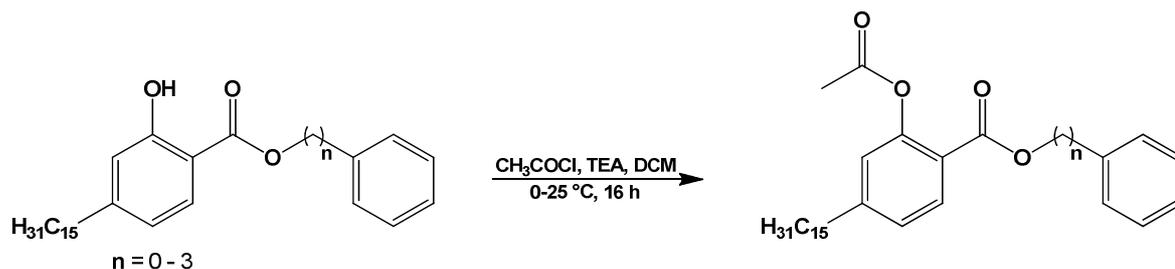
Os 2-hidroxiaralquilésteres **44**, **45** e **46** foram caracterizados pela presença dos deslocamentos químicos entre 2,13 ppm e 5,39 ppm e 6,71 ppm e 7,99 ppm em RMN  $^1\text{H}$  (Anexos **56**, **59** e **62**, pág. 56, 59 e 62) referentes aos grupos metilenos e anéis aromáticos, confirmados pelos sinais entre 30,3 ppm e 66,9 ppm e 109,7 ppm e 162,5 ppm nos espectros de RMN  $^{13}\text{C}$  (Anexos **57**, **60** e **63**, pág. 57, 60 e 63). Adicionalmente, os grupos hidroxila – em ligação intramolecular com a carbonila do éster – foram evidenciados como simpletos entre 10,70 ppm e 10,80 ppm em RMN  $^1\text{H}$ . As absorções em torno de  $3430\text{ cm}^{-1}$  (Anexos **55**, **58** e **61**, págs. 55, 58 e 61) corroboram a presença da hidroxila fenólica na caracterização desses compostos. Um resumo dos principais sinais que caracterizam os 2-hidroxiésteres está ilustrado na Tabela 5.

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



RMN	Grupos	RMN $^1\text{H}$ / RMN $^{13}\text{C}$ (ppm, $\text{CDCl}_3$ )			
		LDT660 (43)	LDT662 (44)	LDT664 (45)	LDT666 (46)
$^1\text{H}$	Ar''	7,20-7,49	7,27-7,48	7,27-7,38	7,21-7,34
$^{13}\text{C}$		121,9-150,5	128,4-135,7	126,9-137,8	126,3-141,1
$^{13}\text{C}$	ArCOOAr	169,1	165,6	170,3	170,4
$^1\text{H}$	ArCOO(CH $_2$ ) $_n$ Ar	--	5,39	3,10 / 4,56	2,13 / 2,81 / 4,36
$^{13}\text{C}$		--	66,9	35,4 / 65,8	30,3 / 32,4 / 64,6

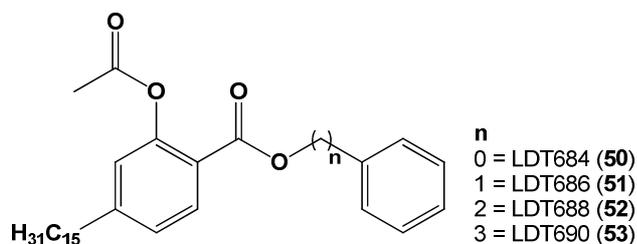
Diferentemente do procedimento de acetilação – com anidrido acético e catálise de ácido fosfórico em forno de micro-ondas convencional – empregado para os derivados LDT380 (**28**) e LDT381 (**33**), a metodologia para a obtenção dos 2-acetóxiderivados foi realizada com cloreto de acetila na presença de TEA em diclorometano à temperatura ambiente. Os derivados LDT684 (**50**), LDT686 (**51**), LDT688 (**52**) e LDT690 (**53**) foram obtidos como sólidos brancos em rendimentos que variaram de 78% a 85%.



Os grupos acetila dos 2-acetoxiésteres LDT684 (**50**), LDT686 (**51**), LDT688 (**52**) e LDT690 (**53**) foram caracterizados pelos deslocamentos químicos que variaram entre 2,13 ppm e 2,35 em RMN  $^1\text{H}$  (Anexos **65**, **68**, **71** e **74**, Pág. 65, 68, 71 e 74) e entre 20,90 ppm e 21,3 ppm em RMN  $^{13}\text{C}$  (Anexos **66**, **69**, **72** e **75**, Pág. 66, 69, 72 e 75) referentes à metila. Os grupos carbonila foram assinalados por meio do sinal entre 163,2 e 164,7 ppm em RMN  $^{13}\text{C}$  (Anexo **66**, **69**, **72** e **75**, Pág. 66, 69, 72 e 75) referente à carbonila bem como às absorções em  $1763\text{ cm}^{-1}$  e  $1773\text{ cm}^{-1}$  nos espectros no infravermelho (Anexos **64**, **67**, **70** e **73**, Pág. 64, 67, 70 e 73). Um

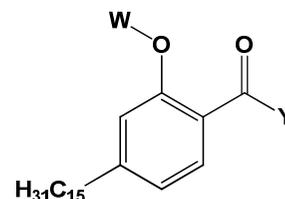
resumo dos principais sinais que caracterizam os 2-acetoxiésteres está ilustrado na Tabela 6.

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



RMN	Grupos	RMN $^1\text{H}$ / RMN $^{13}\text{C}$ (ppm, $\text{CDCl}_3$ )			
		LDT684 (50)	LDT686 (51)	LDT688 (52)	LDT690 (53)
$^1\text{H}$	Ar''	7,16-7,46	7,36-7,44	7,25-7,37	7,18-7,34
$^{13}\text{C}$		126,5-150,9	128,6-135,9	126,8-137,9	126,3-141,3
$^1\text{H}$	ArOCOCH $_3$	2,31	2,13	2,30	2,35
$^{13}\text{C}$		21,2	20,9	21,2	21,3
$^{13}\text{C}$	ArCOOAr	169,9	169,9	169,9	169,9
$^1\text{H}$	ArCOO(CH $_2$ ) $_n$ Ar	--	5,30	3,06 / 4,49	2,03-2,13 (m) / 2,77 / 4,30
$^{13}\text{C}$		--	67,0	35,4 / 65,6	30,5 / 32,5 / 64,5

As características químicas, rendimentos e ponto de fusão de todos os compostos sintetizados estão ilustrados nas tabelas **7**, **8** e **9**.

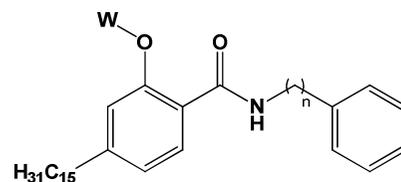


**Tabela 7** – Características químicas, rendimentos e ponto de fusão da série acetóxi, hidróxi e metoxiácidos ou metilésteres

Derivado	W	Y	Rf	MM (g/mol)	FM	Rend. (%)	p.f. (°C)	LogP	LogD (pH 7,4)	LogS (pH 7,4)	pKa	PSA (Å <sup>2</sup> )
LDT77	H	H	0,73 (Hex <sub>50%</sub> :DCM <sub>50%</sub> )	332,52	C <sub>22</sub> H <sub>36</sub> O <sub>2</sub>	90	48,0-50,0	9,51	*	- 8,46	8,3	37,3
LDT220	CH <sub>3</sub>	H	0,55 (Hex <sub>50%</sub> :DCM <sub>50%</sub> )	346,55	C <sub>23</sub> H <sub>38</sub> O <sub>2</sub>	80	39,0-41,0	9,61	*	- 8,56	**	26,3
LDT380	H	OH	0,67 (Hex <sub>50%</sub> :AcOEt <sub>50%</sub> )	348,27	C <sub>22</sub> H <sub>36</sub> O <sub>3</sub>	89	91,9-93,9	*	6,48	- 5,62	3,2	57,5
LDT407	CH <sub>3</sub>	OH	0,51 (Hex <sub>10%</sub> :DCM <sub>90%</sub> )	362,55	C <sub>23</sub> H <sub>38</sub> O <sub>3</sub>	92	72,8-74,8	*	6,65	- 5,71	4,2	46,5
LDT381	H	CH <sub>3</sub>	0,57 (Hex <sub>50%</sub> :DCM <sub>50%</sub> )	362,55	C <sub>23</sub> H <sub>38</sub> O <sub>3</sub>	95	40,6-42,6	10,13	*	- 8,72	9,9	46,5
LDT382	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	0,55 (Hex <sub>50%</sub> :DCM <sub>50%</sub> )	376,57	C <sub>24</sub> H <sub>40</sub> O <sub>3</sub>	92	31,5-33,5	9,94	*	- 8,65	**	35,5
LDT383	Ac	OH	0,62 (Hex <sub>50%</sub> :AcOEt <sub>50%</sub> )	390,56	C <sub>24</sub> H <sub>38</sub> O <sub>4</sub>	80	103,4-105,4	*	6,29	- 5,11	3,6	63,6
LDT384	Ac	OCH <sub>3</sub>	0,67 (Hex <sub>80%</sub> :AcOEt <sub>20%</sub> )	404,58	C <sub>25</sub> H <sub>40</sub> O <sub>4</sub>	88	53,3-55,3	9,37	*	- 8,28	**	52,6

\* Não calculado; \*\* Não possui.

MM: Massa Molecular em g/mol. FM: Fórmula Molecular. Rf: Fator de Retenção. p.f. (°C): Ponto de Fusão. Rend. %: Rendimento.

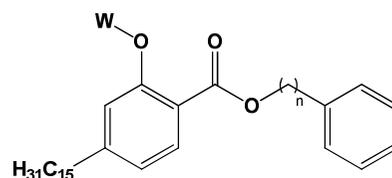


**Tabela 8** – Características químicas, rendimentos e ponto de fusão dos derivados da série dos derivados amídicos

Derivado	W	n	Rf	MM (g/mol)	FM	Rend. (%)	p.f. (°C)	LogP	LogS (pH 7,4)	pKa	PSA (Å <sup>2</sup> )
LDT644	H	0	0,48 (Hex <sub>70%</sub> :AcOEt <sub>30%</sub> )	423,63	C <sub>28</sub> H <sub>41</sub> NO <sub>2</sub>	80	115,6-117,6	11,17	- 9,09	7,2	49,3
LDT652	CH <sub>3</sub>	0	0,59 (Hex <sub>80%</sub> :AcOEt <sub>20%</sub> )	437,66	C <sub>29</sub> H <sub>43</sub> NO <sub>2</sub>	90	46,9-48,9	10,25	- 9,47	13,7	38,3
LDT654	CH <sub>3</sub>	1	0,60 (Hex <sub>90%</sub> :AcOEt <sub>10%</sub> )	451,68	C <sub>30</sub> H <sub>45</sub> NO <sub>2</sub>	93	50,8-52,8	10,66	- 9,45	15,0	38,3
LDT656	CH <sub>3</sub>	2	0,62 (Hex <sub>80%</sub> :AcOEt <sub>20%</sub> )	465,71	C <sub>31</sub> H <sub>47</sub> NO <sub>2</sub>	91	60,3-62,3	10,59	- 9,97	14,7	38,3
LDT658	CH <sub>3</sub>	3	0,63 (Hex <sub>80%</sub> :AcOEt <sub>20%</sub> )	479,74	C <sub>32</sub> H <sub>49</sub> NO <sub>2</sub>	89	56,5-58,5	11,20	- 9,99	14,9	38,3

\*Não calculado.

MM: Massa Molecular em g/mol. FM: Fórmula Molecular. Rf: Fator de Retenção. p.f. (°C): Ponto de Fusão. Rend. %: Rendimento.



**Tabela 9** – Características químicas, rendimentos e ponto de fusão dos derivados da série dos derivados ésteres

Derivado	W	n	Rf	MM (g/mol)	FM	Rend. (%)	p.f. (°C)	LogP	LogS (pH 7,4)	pKa	PSA (Å <sup>2</sup> )
LDT660	H	0	0,58 (Hex <sub>50%</sub> :DCM <sub>50%</sub> )	424,62	C <sub>28</sub> H <sub>40</sub> NO <sub>3</sub>	98	37,1-39,1	11,45	- 9,64	8,8	46,5
LDT662	H	1	0,52 (Hex <sub>50%</sub> :DCM <sub>50%</sub> )	438,64	C <sub>29</sub> H <sub>42</sub> O <sub>3</sub>	98	40,1-42,1	11,91	- 9,67	8,1	46,5
LDT664	H	2	0,50 (Hex <sub>50%</sub> :DCM <sub>50%</sub> )	452,67	C <sub>30</sub> H <sub>44</sub> O <sub>3</sub>	82	42,9-44,9	12,16	- 9,95	8,0	46,5
LDT666	H	3	0,49 (Hex <sub>50%</sub> :DCM <sub>50%</sub> )	466,70	C <sub>31</sub> H <sub>46</sub> O <sub>3</sub>	78	***	12,74	- 9,96	8,1	46,5
LDT668	CH <sub>3</sub>	0	0,58 (Hex <sub>25%</sub> :DCM <sub>75%</sub> )	438,64	C <sub>29</sub> H <sub>42</sub> NO <sub>3</sub>	81	47,4-49,4	11,22	- 9,63	**	35,5
LDT670	CH <sub>3</sub>	1	0,40 (Hex <sub>50%</sub> :DCM <sub>50%</sub> )	452,67	C <sub>30</sub> H <sub>44</sub> O <sub>3</sub>	97	34,3-36,3	11,71	- 9,74	**	35,5
LDT672	CH <sub>3</sub>	2	0,47 (Hex <sub>50%</sub> :DCM <sub>50%</sub> )	466,70	C <sub>31</sub> H <sub>46</sub> O <sub>3</sub>	82	36,8-38,8	11,96	- 10,00	**	35,5
LDT674	CH <sub>3</sub>	3	0,51 (Hex <sub>50%</sub> :DCM <sub>50%</sub> )	480,72	C <sub>32</sub> H <sub>48</sub> O <sub>3</sub>	82	33,0-35,0	12,54	- 10,30	**	35,5
LDT684	Ac	0	0,53 (Hex <sub>50%</sub> :DCM <sub>50%</sub> )	466,65	C <sub>30</sub> H <sub>42</sub> O <sub>4</sub>	85	62,4-64,4	10,78	- 9,60	**	52,6
LDT686	Ac	1	0,46 (Hex <sub>50%</sub> :DCM <sub>50%</sub> )	480,68	C <sub>31</sub> H <sub>44</sub> O <sub>4</sub>	81	45,1-47,1	11,14	- 9,81	**	52,6
LDT688	Ac	2	0,33 (Hex <sub>50%</sub> :DCM <sub>50%</sub> )	494,71	C <sub>32</sub> H <sub>46</sub> O <sub>4</sub>	78	41,1-43,1	11,39	- 10,10	**	52,6
LDT690	Ac	3	0,47 (Hex <sub>50%</sub> :DCM <sub>50%</sub> )	508,73	C <sub>33</sub> H <sub>48</sub> O <sub>4</sub>	79	41,5-43,5	11,97	- 10,30	**	52,6

\*Não Calculado. \*\*Não possui. \*\*\*Composto líquido

MM: Massa Molecular em g/mol. FM: Fórmula Molecular. Rf: Fator de Retenção. p.f. (°C): Ponto de Fusão. Rend. %: Rendimento.

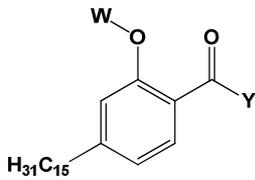
## 7.2 AVALIAÇÃO *IN VITRO*

A avaliação do perfil biológico dos compostos-alvo frente às enzimas p300 e GCN5 foi realizada pelo grupo do Prof. Masoud Vedadi do *Structural Genomics Consortium* (SGC) da Universidade de Toronto. Os derivados-alvo foram avaliados à 10, 30 and 100  $\mu\text{M}$ , considerando experimentos em triplicata.

### Avaliação Frente à Enzima p300

Para a primeira série de compostos – que compreende o ácido isoanacárdico LDT380 (**28**), seu éster metílico LDT381 (**33**) e os respectivos derivados metóxisubstituídos (LDT407 (**32**) e LDT382 (**34**)) e acetóxisubstituídos (LDT383 (**35**) e LDT384 (**36**)) de ambos – foram realizados dois ensaios em diferentes datas. Em concentração de triagem (*screening*) à 30  $\mu\text{M}$  e 100  $\mu\text{M}$ , os derivados LDT380 (**28**), LDT383 (**35**), e LDT407 (**32**) apresentaram atividade inibitória da enzima p300 acima de 50%, enquanto os ésteres-derivados LDT381 (**33**), LDT382 (**34**) e LDT384 (**36**) perfil abaixo de 50% ou não foram capazes de inibir a enzima. Para os derivados ativos foram determinadas as concentrações inibitórias ( $\text{IC}_{50}$ ) apresentadas na Tabela 10.

**Tabela 10** - Valores de  $\text{IC}_{50}$  para os derivados **28**, **32-36**



LDT380 (W=H, Y=OH)  
 LDT381 (W=H, Y=OCH<sub>3</sub>)  
 LDT382 (W=CH<sub>3</sub>, Y=OCH<sub>3</sub>)  
 LDT383 (W=COCH<sub>3</sub>, Y=OH)  
 LDT384 (W=COCH<sub>3</sub>, Y=OCH<sub>3</sub>)  
 LDT407 (W=CH<sub>3</sub>, Y=OH)

Derivado	% Inibição p300 <sup>a</sup>	% Inibição p300 <sup>b</sup>	$\text{IC}_{50}$ ( $\mu\text{M}$ ) <sup>c</sup>	$\text{IC}_{50}$ ( $\mu\text{M}$ ) <sup>c</sup>	LogP	LogD (pH 7,4)	LogS (pH 7,4)	pKa	PSA ( $\text{\AA}^2$ )
LDT380 ( <b>28</b> )	82	90	51	27	9,96	6,48	-5,62	3,2	57,5
LDT383 ( <b>35</b> )	75	80	11	34	9,09	6,23	-5,11	3,6	63,6
LDT407 ( <b>32</b> )	62	95	14	33	9,39	6,45	-5,71	4,2	46,5
LDT381 ( <b>33</b> )	--	--	--	--	10,13	--	-8,72	9,9	46,5
LDT382 ( <b>34</b> )	--	--	--	--	9,94	--	-8,65	--	35,5
LDT384 ( <b>36</b> )	--	--	--	--	9,37	--	-8,28	--	52,6

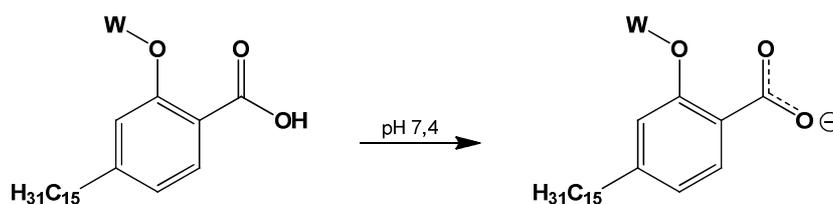
a. 30  $\mu\text{M}$ ; b. 100  $\mu\text{M}$ ; c. 1,5 a 100  $\mu\text{M}$ ;

## Relações Estrutura-Atividade

### Série 1 – Derivados do ácido isoanacárdico (LDT380, **28**)

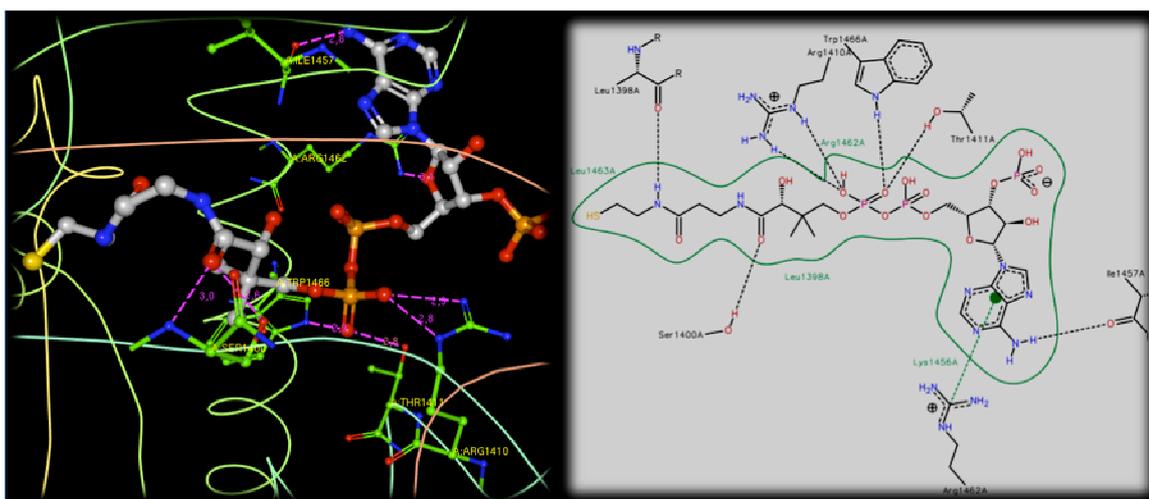
O LogS é o descritor relacionado à solubilidade (S, mol/L) de compostos orgânicos em água. Valores de LogS acima de -1 estão associados a moléculas polares que apresentam baixa permeabilidade à membrana na ausência de transporte ativo (SMITH, WATERBEEMD e WALKER, 2006; PEIXOTO, 2010). De maneira geral, os compostos-alvo apresentaram baixa solubilidade em concentrações elevadas nas soluções estoque e condições empregadas nos experimentos. Esta característica dificulta o estabelecimento de relações entre a estrutura química e a atividade biológica, uma vez que não se pode afirmar que são inativos, apenas não tiveram seus perfis biológicos determinados. Os dados teóricos referentes à solubilidade – obtidos pelo Programa Percepta/ACD Labs, versão 2014 – revelaram que os derivados ativos LDT380 (**28**), LDT383 (**35**) e LDT407 (**32**) apresentaram LogS entre -5,71 e -5,11 em pH 7,4. Do contrário, os ésteres-derivados LDT381 (**33**), LDT382 (**34**) e LDT384 (**36**) apresentaram valores que variaram entre -8,72 e -8,28 para este descritor. Neste contexto, observamos que os derivados ácidos apresentam solubilidade pelo menos mil vezes maior que os derivados ésteres.

Outro parâmetro avaliado teoricamente foi a identificação do percentual de moléculas ionizadas, na forma de aniôn (carboxilato), a partir dos dados teóricos de pKa em função do pH dos experimentos estabelecido em 7,4. Neste sentido, os valores de pKa (entre 3,2 e 4,2) apresentados pelos derivados LDT380 (**28**), LDT383 (**35**) e LDT407 (**32**) indicam que 99,9% de suas moléculas estarão na forma de íon carboxilato (Figura 15).



**Figura 15:** Íon carboxilato gerado em pH 7,4

Considerando os aspectos farmacodinâmicos, o grupo carboxilato pode ser reconhecido pela biomacromolécula por meio de interações íon-íon ou íon-dipolo. Especificamente no caso da enzima p300, esta subunidade tende a interagir com o aminoácido argina 1410 (R1410) – responsável pelo reconhecimento de um a dois íons fosfato da Acetil-CoA – por interações do tipo íon-íon (ânion-cátion) ou íon-dipolo (ânion-dipolo positivo) (Figura 16). Esses tipos de reconhecimentos moleculares encontrados para os ácidos não são possíveis para os ésteres, os quais podem ser reconhecidos pelo alvo por meio de interações íon-dipolo (dipolo negativo-cátion) ou dipolo-dipolo (ligação de hidrogênio). Considerando que a presença do grupo carboxilato é essencial para a observação do perfil inibitório frente à p300, esta subunidade é considerada como grupo farmacofórico para esta classe de compostos.



**Figura 16:** Sítio ativo da p300 com Acetil-CoA  
Fonte: Adaptado de PDB, Launch RCSB - Ligand Explorer 4PZR

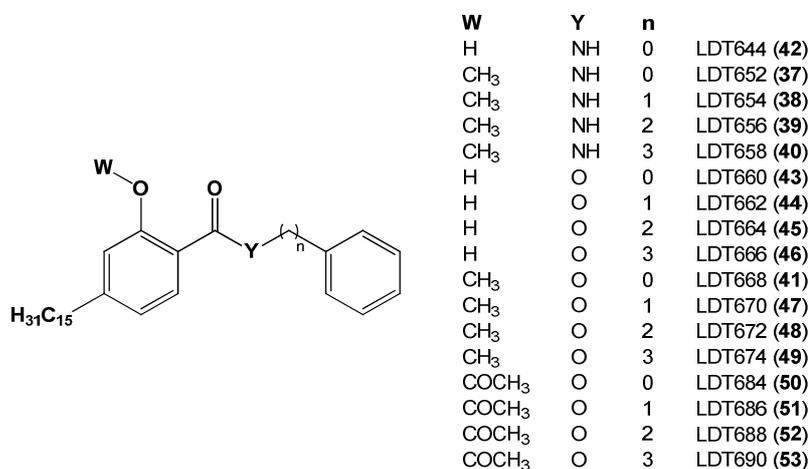
A atividade dos derivados ácidos frente à enzima p300 pode ainda ser modulada pelo padrão de substituição na hidroxila fenólica destes compostos. Desta forma LDT380 (**28**) – que apresenta sistema salicílico com ligação de hidrogênio intramolecular – e seus derivados metoxila LDT407 (**32**) e acetoxila LDT383 (**35**) podem ser reconhecidos pelo aminoácido R1410 por meio de interações íon-dipolo e dipolo-dipolo a partir de seus dipolos negativos ou grupos aceptores de ligação de hidrogênio (ALH).

A área de superfície polar (PSA) está relacionada aos átomos capazes de realizar interações polares e baseada no somatório das superfícies destes átomos,

particularmente oxigênio e nitrogênio. Valores de PSA menores que  $70 \text{ \AA}^2$  são considerados ideais para fármacos administrados por via oral. Os derivados ativos LDT380 (**28**), LDT383 (**35**) e LDT407 (**32**) apresentaram valores de PSA entre  $46,5 \text{ \AA}^2$  e  $63,6 \text{ \AA}^2$ , e, portanto, atendem a este critério. Entretanto, a racionalização da participação deste descritor no perfil de atividade necessita de novos ensaios em face dos valores contrastante de  $IC_{50}$  nos experimentos realizados.

### Séries 2 e 3 – Aralquilamidas e Aralquilésteres

As amidas e ésteres que compõem os compostos das séries 2 e 3 (Figura 17) – assim como os ésteres da série 1 – foram inativos ou apresentaram percentual de inibição máximo de 10% à  $100 \mu\text{M}$ . Considerando que estes compostos não formam espécies ânionicas no pH dos experimentos, estes resultados corroboram a relevância da subunidade carboxila – na forma de íon carboxilato – como grupo farmacofórico, reforçando a presença de interações do tipo íon-íon ou íon-dipolo entre o ligante e aminoácidos complementares no sitio ativo da p300.



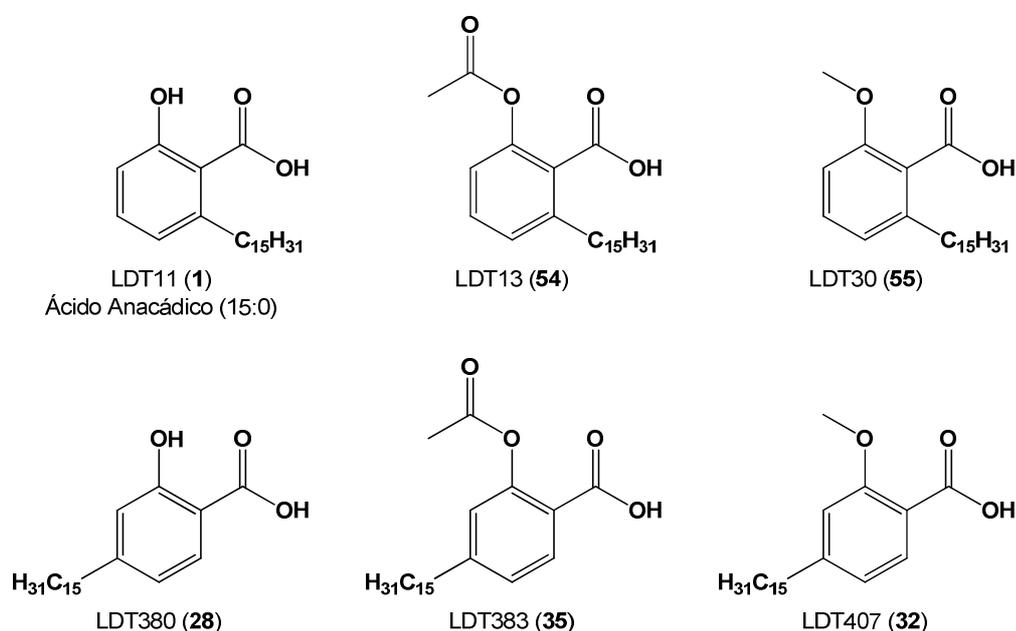
**Figura 17.** Compostos amídicos e ésteres das séries 2 e 3.

Os valores de LogS – que refletem a baixa solubilidade destes compostos – aliados aos elevados valores de LogP – entre 10,25 e 11,20 para as amidas e 10,78 e 12,74 para os ésteres – sugerem que estes derivados devem interagir primariamente com regiões hidrofóbicas da enzima. Do contrário, a existência do íon carboxilato em LDT380 (**28**), LDT383 (**35**), e LDT407 (**32**), diminui a hidrofobicidade

destes compostos, refletida pelo descritor  $\text{LogD}_{7.4}$  – indicador do comportamento de compostos na biofase aquosa – com valores entre 6,23 e 6,48.

### Comparação com os Derivados Ativos do Ácido Anacárdico (ALVES, 2015)

A série dos derivados do ácido isoanacárdico (LDT380, **28**) foi planejada com o objetivo de verificar a influência do grupo carboxílico na posição *para* à cadeia pentadecila – menor empedimento estérico – em comparação ao perfil inibitório do ácido anacárdico (LDT11, **1**) e seus derivados (Figura 18) desenvolvidos por Alves (2015).



**Figura 18:** Derivado ativos dos ácidos anacárdico e isoanacárdico

A principal diferença observada entre os regioisômeros foi a menor solubilidade dos derivados do ácido isoanacárdico, tanto nos procedimentos de síntese, purificação e obtenção dos espectros de RMN, quanto nos experimentos frente à enzima p300. Neste caso, o perfil de atividade dos compostos poderá ser influenciado por esta propriedade.

Considerando os valores de  $\text{IC}_{50}$  referentes ao perfil inibitório frente à p300 (Tabela 11), os derivados ativos das séries análogas apresentaram atividades semelhantes, independente do acesso ao íon carboxilato pela enzima e perfil de solubilidade dos compostos.

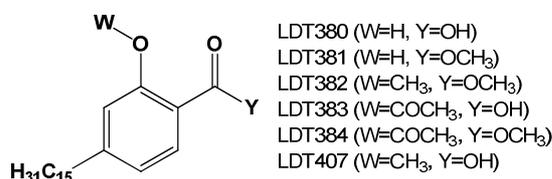
**Tabela 11** - Valores de IC<sub>50</sub> para derivados dos ácidos anacárdico e isoanacárdico frente à p300

Derivado	IC <sub>50</sub> (μM) <sup>a</sup>	IC <sub>50</sub> (μM) <sup>b</sup>	Derivado	IC <sub>50</sub> (μM) <sup>a</sup>	IC <sub>50</sub> (μM) <sup>b</sup>
LDT380 ( <b>28</b> )	51	27	LDT11 ( <b>1</b> )	--	21
LDT383 ( <b>35</b> )	13	34	LDT13 ( <b>54</b> )	13	20
LDT407 ( <b>32</b> )	14	33	LDT30 ( <b>55</b> )	--	15

a. 1<sup>o</sup> experimento (1,5 a 100 μM); b. 2<sup>o</sup> experimento (1,5 a 100 μM);

### Avaliação Frente à Enzima GCN5L2

Os derivados da primeira série foram avaliados frente à enzima GCN5 à 100 μM. Semelhante aos resultados encontrados para p300, os derivados LDT380 (**28**), LDT383 (**35**), e LDT407 (**32**) apresentaram atividade inibitória da enzima superior a 50%. Por sua vez, os ésteres-derivados LDT381 (**33**), LDT382 (**34**) e LDT384 (**36**) apresentaram perfil inibitório inferior a 50%. Para os derivados ativos foram determinadas as concentrações inibitórias (IC<sub>50</sub>) apresentadas na Tabela 12.

**Tabela 12** - Valores de IC<sub>50</sub> para os derivados **28**, **32-36**

Derivado	% Inibição GCN5 <sup>a</sup>	% Inibição GCN5 <sup>b</sup>	IC <sub>50</sub> (μM) <sup>c</sup>	LogP	LogD (pH 7,4)	LogS (pH 7,4)	pKa	PSA (Å <sup>2</sup> )
LDT380 ( <b>28</b> )	55	95	61	9,96	6,48	-5,62	3,2	57,5
LDT383 ( <b>35</b> )	65	90	48	9,09	6,23	-5,11	3,6	63,6
LDT407 ( <b>32</b> )	72	95	25	9,39	6,45	-5,71	4,2	46,5
LDT381 ( <b>33</b> )	--	--	--	10,13	--	-8,72	9,9	46,5
LDT382 ( <b>34</b> )	--	--	--	9,94	--	-8,65	--	35,5
LDT384 ( <b>36</b> )	--	--	--	9,37	--	-8,28	--	52,6

a. 30 μM; b. 100 μM; c. 1,5 a 100 μM;

## Relações Estrutura-Atividade

### Série 1 – Derivados do ácido isoanacárdico (LDT380, **28**)

A análise da relação entre a estrutura e as propriedades dos derivados – baseadas nos descritores LogS, PSA, LogP e LogD – já foi descrita anteriormente para a enzima p300, e, da mesma forma, não foram estabelecidas correlações com estes parâmetros físico-químicos.

Entretanto, vale destacar que a utilização de pH 9,5 nos experimentos tem implicações nas espécies ionizadas bem como na estabilidade dos derivados acetilados. Neste sentido, LDT383 (**35**) pode sofrer hidrólise no meio reacional transformando-se em LDT380 (**28**). Este por sua vez, além de ter 99,99% de suas moléculas na forma de íon carboxilato, poderá apresentar-se na forma de diânion com formação do íon fenolato. Se considerarmos o pKa para o grupo fenol em torno de 10, 75% das moléculas estarão na forma dianiônica (Figura 19).

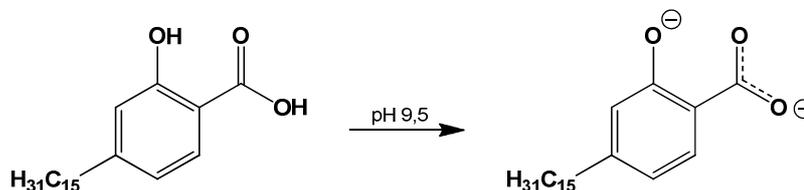
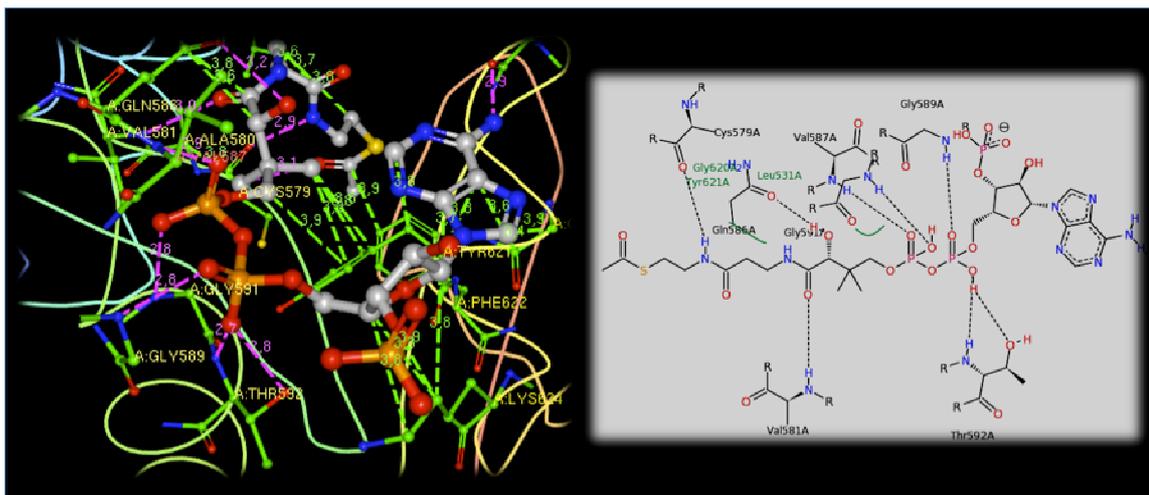


Figura 19: Íons carboxilato e fenolato gerados em pH 9,5

De acordo com os dados do *Protein Data Bank* (PDB) para p300 (4PZR) e GCN5 (1Z4R) cristalizadas com Acetil-CoA (Figura 20), o sítio de reconhecimento molecular das enzimas diferem particularmente pela substituição do resíduo de arginina 1410 pelo de lisina 624 bem como pelas interações via cadeia lateral (p300) e *backbone* (GCN5).



**Figura 20:** Sítio ativo da GCN5 com Acetil-CoA  
 Fonte: Adaptado de PDB, Launch RCSB - Ligand Explorer 1Z4R

No caso da enzima p300, dois íons fosfatos da Ac-CoA podem ser reconhecidos pela R1410 por meio de interações íon-íon ou íon-dipolo. O terceiro íon fosfato – que faz ligação com o ácido pantotênico – além de interagir com R1410, é reconhecido pelos resíduos W1466 e T1411 via ligação de hidrogênio. Por sua vez, sítio ativo da GCN5, o íon fosfato ligado à ribose da Ac-CoA – o primeiro dos três – interage com o resíduo K624 por interação íon-íon, enquanto o terceiro íon fosfato é reconhecido pelos resíduos de valina 587 e glicina 589, que ainda revela uma região de reconhecimento hidrofóbico na enzima.

Os grupos carboxilato e fenolato em LDT380 (**28**) podem mimetizar as interações dos íons fosfatos, sendo, portanto, reconhecidos pela GCN5 de forma similar à Ac-CoA. Por sua vez, o 2-metoxiácido LDT407 (**32**) – que possui apenas um ânion: íon carboxilato – pode ser reconhecido pela K624 (íon-íon), enquanto o grupo metoxila (ALH) apresenta complementaridade com os resíduos V587 e G589 via interações hidrofóbicas além da ligação de hidrogênio com o *backbone* destes aminoácidos. Adicionalmente, ainda que o derivado 2-hidroxiéster LDT381 (**33**) possa formar o íon fenolato nas condições experimentais (pH 9,5), este ânion não é suficiente para inibir a enzima. Desta forma, os resultados confirmam que o grupo carboxilato é farmacofórico para a atividade frente à GCN5.

### Séries 2 e 3 – Aralquilamidas e Aralquilésteres

As amidas e ésteres que compõem os compostos das séries 2 e 3 (Figura 17) – assim como os ésteres da série 1 – apresentaram percentual de inibição máximo entre 5% e 10% à 30  $\mu\text{M}$  e foram inativos ou ativadores da enzima à 100  $\mu\text{M}$ . A ausência do íon carboxilato e a inclusão de grupos aromáticos e hidrofóbicos favorecem interações com regiões similares da enzima, sem interferência na sua atividade acetiladora.

### Comparação com os Derivados Ativos do Ácido Anacárdico

Considerando os valores de  $\text{IC}_{50}$  referentes ao perfil inibitório frente à GCN5 (Tabela 13), os derivados ativos da série do ácido anacárdico apresentaram ligeira melhor atividade que os regioanálogos. Esta diferença pode estar relacionada à menor solubilidade destes compostos, especialmente à 100  $\mu\text{M}$ .

**Tabela 13** - Valores de  $\text{IC}_{50}$  para derivados dos ácidos anacárdico e isoanacárdico frente à GCN5

Derivado	Estrutura	$\text{IC}_{50}$ ( $\mu\text{M}$ ) <sup>a</sup>	Derivado	Estrutura	$\text{IC}_{50}$ ( $\mu\text{M}$ ) <sup>a</sup>
LDT380 (28)		61	LDT11 (1)		12
LDT383 (35)		48	LDT13 (54)		10
LDT407 (32)		25	LDT30 (55)		5

a. 1,5 a 100  $\mu\text{M}$ ;

## ***Conclusões e Perspectivas***

---

## 8 CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS

---

Neste trabalho foram sintetizados 25 derivados tendo como produto de partida o cardanol saturado (LDT10, **29**) visando a obtenção do ácido isoanacárdico (LDT380, **28**) e derivados. Os compostos foram obtidos utilizando reações clássicas *i.e.* formilação regioespecífica, *O*-alquilação e *O*-desalquilação, acetilação, esterificação e amidação por meio de aquecimento convencional ou radiação micro-ondas, em rendimentos que variaram de 78% a 98%, cujas estruturas foram elucidadas por espectroscopias de ressonância magnética nuclear de hidrogênio e carbono-13 e no infravermelho.

A avaliação da atividade inibitória *in vitro* dos compostos-alvo frente à enzima p300 revelou que os derivados ácidos LDT380 (**28**), LDT383 (**35**) e LDT407 (**32**) inibiram a atividade enzimática entre 62% e 82% à 30  $\mu\text{M}$ , e entre 80% e 95% à 100  $\mu\text{M}$ . Para estes compostos foram determinados diferentes valores de  $\text{IC}_{50}$  em dois experimentos: 51,0  $\mu\text{M}$  e 27,0  $\mu\text{M}$  (**17**); 11,0  $\mu\text{M}$  e 34,0  $\mu\text{M}$  (**21**); e 14,0  $\mu\text{M}$  e 33,0  $\mu\text{M}$  (**18**). A ausência de atividade para as aralquilamidas e aralquilésteres pode estar relacionada à baixa solubilidade dos compostos nas condições experimentais empregadas.

As relações entre a estrutura química e atividade biológica – baseadas nos dados fisico-químicos teóricos de  $\log S$ ,  $\log P$  e  $\log D$  – revelaram a importância das subunidades polares para o reconhecimento molecular pela enzima. Desta forma, a menor hidrofobicidade dos derivados LDT380 (**28**), LDT383 (**35**) e LDT407 (**32**), regidos pelo  $\log D$ , distingue os derivados ativos dos inativos.

O reconhecimento molecular pelo sítio ativo da enzima foi relacionado às interações do íon carboxilato com o resíduo R1410 da p300 por interações do tipo íon-íon (ânion-cátion) ou íon-dipolo (ânion-dipolo positivo); enquanto os substituintes hidroxila, metoxila e acetoxila na posição 2 dos derivados ativos podem ser reconhecidos pelo aminoácido R1410 por meio de interações íon-dipolo e dipolo-dipolo a partir de seus dipolos negativos ou grupos aceptores de ligação de hidrogênio (ALH).

A comparação entre as atividades inibitórias para as séries regioisoméricas revelou que os compostos apresentam perfis semelhantes,

independente do acesso ao íon carboxilato pela enzima e solubilidade dos compostos.

A avaliação da atividade inibitória *in vitro* dos compostos-alvo frente à enzima GCN5 revelou que os derivados ácidos LDT380 (**28**), LDT383 (**35**) e LDT407 (**32**) inibiram a atividade enzimática entre 55% e 72% à 30  $\mu\text{M}$ , e entre 90% e 95% à 100  $\mu\text{M}$ . Para estes compostos foram determinados os valores de  $\text{IC}_{50}$ : 61,0  $\mu\text{M}$  (**28**); 48,0  $\mu\text{M}$  (**35**); e 25,0  $\mu\text{M}$  (**32**). As amidas e ésteres (séries 2 e 3) apresentaram percentual de inibição máximo entre 5% e 10% à 30  $\mu\text{M}$  e foram inativos ou ativadores da enzima à 100  $\mu\text{M}$ .

Diferentemente das condições experimentais empregadas para os estudos frente à p300, a utilização de pH 9,5 altera a estabilidade dos derivados acetilados bem como possibilita a presença de carboxilatos e fenolatos (espécies dianiônicas) em torno de 75% das moléculas estudadas.

Nossos pressupostos teóricos sugerem que o derivado LDT380 (**28**) será reconhecido pelo resíduo K624 por interação íon-íon, bem como pelo *backbone* de V587 e G589 por interações do tipo íon-dipolo. Para o derivado monoaniônico LDT407 (**32**), os resíduos V587 e G589 podem reconhecer a subunidade 2-metoxila por interações hidrofóbicas complementares à ligação de hidrogênio com o *backbone* destes aminoácidos, além da interação eletrostática com K624.

Como perspectivas para este trabalho estão a confirmação dos resultados por meio de estudos ortogonais, determinação do mecanismo de ação baseado na cinética de inibição, avaliação *in vitro* e posteriormente *in vivo* quanto à modulação da atividade NF- $\kappa\text{B}$ , avaliação *in vivo* das séries das amidas e ésteres para confirmação do perfil anti-inflamatório, planejamento de novos derivados e otimização das metodologias sintéticas.

## ***Referências***

---

ABCD. Associação Brasileira de Colite Ulcerativa e Doença de Crohn. 2014. Disponível em: <<http://abcd.org.br>>. Acesso em: Jan. 2015.

ADAM. **Animated Dissection of Anatomy for Medicine**. Suite and Healthcare Products. Disponível em: <<http://www.adam.com/>>. Acesso em: Mar. 2014.

ADCOCK, I. M. et al. Epigenetic regulation of airway inflammation. **Current Opinion in Immunology**. Vol. 19, p. 694–700. Reino Unido, 2007.

AFIFY, M.; SAYED, M.; ELHAMMADY, A.. Clinical utility of biochemical markers in ulcerative colitis among Egyptian patients. **Journal Of American Science**. Vol.6, p. 146-155. Egito (Banha), 2010.

ALVES, P. S. A. **Síntese e Avaliação Biológica de Novos Agentes Anti-inflamatórios Planejados a Partir do Ácido Anacárdico**. Dissertação (Mestrado). 2015. 121 f. Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, Universidade de Brasília. Brasília, 2015.

ANDERSEN, V. et al. Diet and risk of inflammatory bowel disease. **Digestive and Liver Disease**. Vol. 44, p. 185-194. Dinamarca, 2012.

ANWAR, H. F. **Application of an *ortho*-Formylation Reaction in One-pot Procedures and Natural Product Syntheses**. Tese (Doutorado). Department of Pharmaceutical Chemistry, School of Pharmacy, Faculty of Mathematics and Natural Sciences. University of Oslo. 2009

ARAÚJO, G. L. de S. et al. Análise Histológica e Histoquímica de Fatores Prognósticos em Pacientes com Retocolite Ulcerativa. **Revista Brasileira de Coloproctologia**. Vol. 29, p. 7-14. Recife, 2009.

ASAKURA, H.; SUGIMURA, K. HLA, Antineutrophil Cytoplasmic Autoantibody, and Heterogeneity in Ulcerative Colitis. **Gastroenterology**. Vol. 108, n. 2. 1995.

ATHANASAKOS, A., et al. Inflammatory bowel disease — the role of cross-sectional imaging techniques in the investigation of the small bowel. **Insights Into Imaging**. Dez. 2014.

BACH, S. P.; MORTENSEN, N. J. Ileal pouch surgery for ulcerative colitis. **World Journal Of Gastroenterology**. Vol. 13, p. 3288-3300. Beijing, 2007.

BALDIN JÚNIOR, A. **Estudo clínico patológico e da expressão da proteína p53 nas displasias associadas à retocolite ulcerativa.** 2005. 63 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Microbiologia, Parasitologia e Patologia, Departamento de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Paraná. Curitiba, 2005.

BARNES, P. J.; ADCOCK, I. M.; ITO, K. Histone acetylation and deacetylation: importance in inflammatory lung diseases. **European Respiratory Journal.** Vol. 25, p. 552-563. Londres, 2005.

BLOBEL, G. A. CBP and p300: versatile coregulators with important roles in hematopoietic gene expression. **Journal of Leukocyte Biology.** Vol. 71, p. 545–556. Filadélfia, 2002.

BJARNASON, I e MACPHERSON, A. J. S. Intestinal Toxicity of Non-steroidal and Anti-inflammatory Drugs. **Pharmacology and Therapeutics.** Vol. 62, p. 145-157. Londres, 1994.

BJORKMAN, D. J. Nonsteroidal Anti-inflammatory Drug-Induced Gastrointestinal Injury. **American Journal of Medicine.** Vol. 101, Supl. 1A, p. 25S-32S. Utah, 1996.

BOLOGNESI, M. L. et al. MTDL Design Strategy in the Context of Alzheimer's Disease: From Lipocrine to Memoquin and Beyond. **Current Pharmaceutical Design.** Vol. 15, p. 601-613. Bolonha, 2009.

BONIZZI, G. e KARIN, M. The two NF- $\kappa$ B activation pathways and their role in innate and adaptive immunity. **Trends in Immunology.** Vol. 25, n. 6, p. 280-288. Califórnia, 2004.

BRADLEY, J. R. TNF-mediated inflammatory disease. **Journal of Pathology.** Vol. 214, p. 149-160. Cambridge, 2008.

CAMPIERE, M. et al. Treatment of Ulcerative Colitis with high-dose 5-aminosalicylic acid enemas. **The Lancet.** Bolonha, 1981.

CARMO, C. V. do. **Avaliação dos níveis de estresse oxidativo ao DNA e expressão tecidual da proteína p53 na mucosa cólica de segmentos providos e desprovidos de trânsito fecal:** estudo experimental em ratos. 2010. 91 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Ciências da Saúde, Departamento de Ciências da Saúde, Universidade São Francisco. Bragança Paulista, 2010.

CHAN, H. M. e LA THANGUE, N. B. p300/CBP proteins: HATs for transcriptional bridges and scaffolds. **Journal of Cell Science**. Vol. 114, n. 13, p. 2363-2373. Glasgow, 2001

CHANDEL, S.; PRAKASH, A.; MEDHI, B. Current scenario in inflammatory bowel disease: Drug development prospects. **Pharmacological Reports**. Vol. 67, p. 224–229. Índia, 2015

CHANDREGOWDA, V.; KUSH, A.; REDDY, G. C. Synthesis of benzamide derivatives of anacardic acid and their cytotoxic activity. **European Journal of Medicinal Chemistry**. Vol. 44, p. 2711-2719. Índia, 2009.

CIPOLLA, G. et al. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs and inflammatory bowel disease: current perspectives. **Pharmacological Research**. Vol. 46, n. 1, p. 1-6. Bologna, 2002.

CLARKE, D. L. et al. PKC $\beta$ II Augments NF- $\kappa$ B-Dependent Transcription at the CCL11 Promoter via p300/CBP-Associated Factor Recruitment and Histone H4 Acetylation. **The Journal of Immunology**. Vol. 181, p. 3503-3514. Nottingham, 2008.

COCCIA, M. et al. IL-1 $\beta$  mediates chronic intestinal inflammation by promoting the accumulation of IL-17A secreting innate lymphoid cells and CD4<sup>+</sup> Th17 cells. **The Journal of Experimental Medicine**. Vol. 209, n. 9, p. 1595-1609. Inglaterra, 2012.

COSTI, R. et al. Cinnamoyl Compounds as Simple Molecules tha inhibit p300 Histone Acetyltransferase. **Journal of Medicinal Chemistry**. Vol. 50, p. 1973-1977. Itália, 2007

CUI, L. et al. The anti-inflammation effect of baicalin on experimental colitis through inhibiting TLR4/NF- $\kappa$ B pathway activation. **International Immunopharmacology**. Vol. 23, p. 294-303. China, 2014.

CURRAIS, A. Ageing and inflammation – A central role for mitochondria in brain health and disease. **Ageing Research Reviews**. Vol. 21, p. 30-42. EUA, 2015.

DANCY, B. M.; COLE, P. A. Protein Lysine Acetylation by p300/CBP. **Chemical Reviews**. EUA, 2015.

DANESE, S.; SANS, M.; FIOCCHI, C. Inflammatory bowel disease: the role of environmental factors. **Autoimmunity Reviews**. Vol. 3, p. 394-400. Ohio, 2004.

DEKKER, F. J. e HAISMA, H. J. Histone acetyl transferases as emerging drug targets. **Drug Discovery Today**. Vol. 14, n. 19/20, p. 942-948. Groninga, 2009.

DHANESHWAR, S. S., *et al*, Colon-specific mutual amide prodrugs of 4-aminosalicylic acid for their mitigating effect on experimental colitis in rats. **European Journal of Medicinal Chemistry**. Vol. 44, p. 131-142. Índia, 2009.

DOHI, T. et al. Pathological activation of canonical nuclear-factor  $\kappa$ B by synergy of tumor necrosis factor  $\alpha$  and TNF-like weak inducer of apoptosis in mouse acute colitis. **Cytokine**. Vol. 69, p. 14-21. Japão, 2014.

DOU, W. et al. Mangiferin attenuates the symptoms of dextran sulfate sodium-induced colitis in mice via NF- $\kappa$ B and MAPK signaling inactivation. **International Immunopharmacology**. Vol. 23, p. 170-178. China, 2014.

EBERT, E. C. et al. Autoantibodies against human tropomyosin isoform 5 in ulcerative colitis destroys colonic epithelial cells through antibody and complement-mediated lysis. **Cellular Immunology**. Vol. 244, p. 43-49. Iowa, EUA, 2006.

ELGUETA, R. et al. Molecular mechanism and function of CD40/CD40L engagement in the immune system. **Immunological Reviews**. Vol. 229, n. 1, p. 1-31. Dartmouth, 2009.

EKBOM, A; MONTGOMERY, S. M. Environmental risk factors (excluding tobacco and microorganisms): critical analysis of old and new hypotheses. **Best Practice & Research Clinical Gastroenterology**. Vol. 18, n. 3, p. 497-508. Suécia, 2004.

FABRIS, F. M. **Avaliação do conteúdo e padrão de expressão da proteína B-catenina na mucosa cólica com e sem trânsito intestinal: estudo experimental em ratos.** 2011. 99 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Ciências da Saúde, Departamento de Ciências da Saúde, Universidade São Francisco. Bragança Paulista, 2011.

FDEZ-MORERA, J. L. et al. MHC Class I Chain-Related Gene A Transmembrane Polymorphism Modulates the Extension of Ulcerative Colitis. **Human Immunology**. Vol. 64, p. 816-822. Espanha, 2003.

FEAKINS, R. M. Ulcerative colitis or Crohn's disease? Pitfalls and problems. **Histopathology**. Vol. 64, p. 317-335. Londres, 2014.

FERGUSON, L. R. et al. Genes, diet and inflammatory bowel disease. **Mutation Research**. Vol. 622, p. 70-83. Nova Zelândia. 2007.

FERREIRA, F. et al. Megacólon Tóxico como Manifestação Inaugural de Colite Ulcerosa. **Jornal Português de Gastreenterologia**. Vol. 18. Jul/Ago. São Paulo, 2011

FIGUEIREDO, A. A. et al. Colite ulcerativa inespecífica em crianças e adolescentes: análise de casuística. **Revista Brasileira de Saúde Materno Infantil**. Vol. 4, n. 3, p. 309-315. Recife, 2004.

FRANCO, D. G. Fator de Transcrição Nuclear kappa B no Sistema Nervoso Central: do Fisiológico ao Patológico. **Revista da Biologia**. Vol. 4, p. 35-39. São Paulo, 2010.

FREIRE, A. C. Liberação específica de fármacos no cólon por via oral. II - Tipos de sistemas utilizados. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**. Vol. 42, n. 3, p. 337-355. Coimbra, 2006.

FRERS, R. A. K. et al. Psoriasis and cardiovascular risk: Immune-mediated crosstalk between metabolic, vascular and autoimmune inflammation. **IJC Metabolic & Endocrine**. Vol. 6, p. 43-54. Buenos Aires, 2015.

FRUET, A. C. **Avaliação da atividade da fibra alimentar de *Typha angustifolia* L. e de seus efeitos sinérgicos com a prednisolona no modelo de colite ulcerativa induzida por ácido trinitrobenzenosulfônico em ratos**. 2010. 70 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Ciências Biológicas, Departamento de Farmacologia, Universidade Estadual Paulista. Botucatu, 2010.

GAMPER, A. M. e ROEDER, R. G. Multivalent Binding of p53 to the STAGA Complex Mediates Coactivator Recruitment after UV Damage. **Molecular and Cellular Biology**. Vol. 28, n. 8, p. 2517-2527. Nova Iorque, 2008.

GENG, X. et al. Tropomyosin Isoforms in Intestinal Mucosa: Production of Autoantibodies to Tropomyosin Isoforms in Ulcerative Colitis. **Gastroenterology**. Vol. 114, p. 912-922. Itália, 1998.

GHIZZONI, M. et al. Improved inhibition of the histone acetyltransferase PCAF by an anacardic acid derivative. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**. Vol. 18, p. 5826-5834. Amsterdã, 2010.

GHIZZONI, M. et al. Histone acetyltransferases are crucial regulators in NF- $\kappa$ B mediated inflammation. **Drug Discovery Today**. Vol. 16, n. 11/12, p. 504-511. Groninga, 2011.

GOODMAN, R. H. e SMOLIK, S. CBP/p300 in cell growth, transformation, and development. **Genes & Development**. Vol. 14, p. 1553-1577. Oregon, 2000

GREEN, I. V. et al. Design and evaluation of anacardic acid derivatives as anticavity agents. **European Journal of Medicinal Chemistry**. Vol. 43, p. 1315-1320. Califórnia, 2008.

GREEN, I. V. et al. Molecular design of anti-MRSA agents based on the anacardic acid scaffold. **Bioorganic and Medicinal Chemistry**. Vol. 15, p. 6236-6241. Califórnia, 2007.

GUDKOV, A. V.; GUROVA, K. V.; KOMAROVA, E. A. Inflammation and p53: A Tale of Two Stresses. **Genes & Cancer**. Vol. 2, n. 4, p. 503-516. Nova Iorque, 2011.

GUIMARÃES, L. P. de M; YOSHIDA, E. M. P. Doença de Crohn e retocolite ulcerativa inespecífica: alexitimia e adaptação. **Psicologia: Teoria e Prática**. Vol. 10, p. 52-63. Campinas, 2008.

GUTIERREZ, H. e DAVIES, A. M. Regulation of neural process growth, elaboration and structural plasticity by NF- $\kappa$ B. **Trends in Neurosciences**. Vol. 34, n. 6, p. 316-325. México, 2011.

HARA, D. B. **Estudo dos mecanismos envolvidos nas respostas contráteis induzidas por agonistas B<sub>1</sub> e B<sub>2</sub> para as cininas em cólons de camundongos: influência da colite induzida por TNBS**. 2007. 191 f. Tese (Doutorado) - Curso de Farmacologia, Departamento de Farmacologia do Centro de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis, 2007.

HASAN, S.; HOTTIGER, M. O. Histone acetyl transferases: a role in DNA repair and DNA replication. **Journal of Molecular Medicine**. Vol. 80, p. 463-474. Suíça, 2002.

HASSAN, A. H. et al. Function and Selectivity of Bromodomains in Anchoring Chromatin-Modifying Complexes to Promoter Nucleosomes. **Cell**. Vol. 111, p. 369-379. Pennsylvania, 2002.

HASSAN, G. S., SOLIMAN, G. A., Design, synthesis and anti-ulcerogenic effect of some of furo-salicylic acid derivatives on acetic acid-induced ulcerative colitis. **European Journal of Medicinal Chemistry**. Vol. 45, p. 4104-4112. Egito, 2010.

HAWKINS, C e HANKS, G, W. The Gastroduodenal Toxicity of Nonsteroidal Anti-Inflammatory Drugs. A Review of the Literature. **Journal of Pain and Symptom Management**. Vol. 20, n. 2, p. 140-151. 2000.

HOFSLÖKKEN, N. U. e SKATTEBOL, L. Convenient Method for the *ortho*-Formylation of Phenols. **Acta Chemica Scandinavica**. Vol. 53, p. 258-262. Noruega, 1999.

HORVATH, K, et al. The involvement of heme oxygenase-1 activity in the therapeutic actions of 5-aminosalicylic acid in rat colitis. **European Journal of Pharmacology**. Vol. 581, p. 315–23. Londres, 2008.

HVIID, A.; SVANSTROM, H; FRISCH, F. Environmental risk factors for inflammatory bowel disease: microbes, diet, and the appendix. **Gastroenterology**. Vol. 60, p. 49-54. Inglaterra, 2011.

IMHOF, A. et al. Acetylation of general transcription factors by histone acetyltransferases. **Current Biology**. Vol. 7, p. 689-692. Maryland, 1997.

INGRAM, J. R. et al. A Randomized Trial of Nicotine Enemas for Active Ulcerative Colitis. **Clinical Gastroenterology and Hepatology**. Vol. 3, p. 1107-1114. Reino Unido, 2005a.

INGRAM, J. R. et al. Plasma fibrinogen in ulcerative colitis: The effect of disease activity and nicotine therapy in a randomised controlled trial. **Digestive and Liver Disease**. Vol. 37, p. 832-837. Reino Unido, 2005b.

JIANG, J. et al. Investigation of the Acetylation Mechanism by GCN5 Histone Acetyltransferase. **PLoS ONE**. Vol. 7, n. 5, p. 1-13. China, 2012.

JIE, Q. et al. Anti-allergic and anti-inflammatory properties of a potent histamine H1 receptor antagonist, desloratadine citrate disodium injection, and its anti-

inflammatory mechanism on EA.hy926 endothelial cells. **European Journal of Pharmacology**. Vol. 754, p. 1-10. China, 2015.

JOWETT, S. L. et al. Dietary beliefs of people with ulcerative colitis and their effect on relapse and nutrient intake. **Clinical Nutrition**. Vol. 23, p. 161-170. Reino Unido, 2004.

JURACH, M. T. **Expressão do p53 e relação clínico-patológica no adenocarcinoma de reto**. 2003. 97 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Medicina, Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, 2003.

KALKHOVEN, E. CBP and p300: HATs for different occasions. **Biochemical Pharmacology**. Vol. 68, p. 1145–1155. Holanda, 2004.

KALTSCHMIDT, B.; WIDERA, D. e KALTSCHMIDT, C. Signaling via NF- $\kappa$ B in the nervous system. **Biochimica et Biophysica Acta**. Vol. 1745, p. 287-299. Alemanha, 2005.

KELLERMAYER, R. Epigenetics and the developmental origins of inflammatory bowel diseases. **Canadian Journal of Gastroenterology and Hepatology**. Vol. 26, n. 12, p. 909-915. Texas, 2012.

KHAN, S. N. e KHAN, A. U. Role of histone acetylation in cell physiology and diseases: An update. **Clinica Chimica Acta**. Vol. 411, p. 1401-1411. Índia, 2010.

KHAN, S. et al. Anti-hyperalgesic and anti-allodynic activities of capillariesin via suppression of inflammatory signaling in animal model. **Journal of Ethnopharmacology**. Vol. 152, p. 478–486. Coréia, 2014.

KHAN, S. et al. Mechanism underlying anti-hyperalgesic and anti-allodynic properties of anomalin in both acute and chronic inflammatory pain models in mice through inhibition of NF- $\kappa$ B, MAPKs and CREB signaling cascades. **European Journal of Pharmacology**. Vol. 718, p. 448–458. República da Coréia, 2013.

KIKUCHI, H.; ITOH, J e FUKUDA, S. Chronic nicotine stimulation modulates the immune response of mucosal T cells to Th1-dominant pattern via nAChR by upregulation of Th1-specific transcriptional factor. **Neuroscience Letters**. Vol. 432, p. 217-221. Japão, 2007.

KIKUCHI, H. et al. GCN5 Regulates the Superoxide-Generating System in Leukocytes Via Controlling gp91-phox Gene Expression. **The Journal of Immunology**. Vol. 186, p. 3015–3022. Japão, 2011;

KIM, J. *et al.*, Structure-activity relationship of salicylic acid derivatives on inhibition of TNF- $\alpha$  dependent NF $\kappa$ B activity: Implication on anti-inflammatory effect of N-(5-chlorosalicyloyl)phenethylamine against experimental colitis. **European Journal of Medicinal Chemistry**. Vol. 48, p. 36-44. República da Coréia, 2012.

KIM, N. et al. IL-1 $\beta$ -specific recruitment of GCN5 histone acetyltransferase induces the release of PAF1 from chromatin for the de-repression of inflammatory response genes. **Nucleic Acids Research**. Vol. 41, n. 8, p. 4495-4506. República da Coréia, 2013.

KIM, S. et al. Abdominopelvic inflammatory myofibroblastic tumor that metastasized to the vertebrae and liver: A case report and review of the literature. **Gynecologic Oncology Reports**. Vol. 12, p. 9–12. Rochester, 2015.

KIM, Y. H., et al. Inhibition of cell proliferation and invasion in a human colon cancer cell line by 5-aminosalicylic acid. **Digestive and Liver Disease**. Vol. 41, p. 328–37. República da Coréia, 2009.

KIRSNER, J. B. Historical origins of current IBD concepts. **World Journal of Gastroenterology**. Vol. 7, n. 2, p. 175-184. China, 2001.

KOEBERLE, A. e WERZ, O. Multi-target approach for natural products in inflammation. **Drug Discovery Today**. Vol. 19, n. 12, p. 1871-1882. Alemanha, 2014.

KOELINK, P. J., et al. 5-Aminosalicylic acid inhibits TGF- $\beta$ 1 signalling in colorectal cancer cells. **Cancer Lett**. Vol. 287, p. 82–90. Países Baixos, 2010.

KORNBLUTH, A.; SACHAR, D. B. Ulcerative Colitis Practice Guidelines in Adults: American College of Gastroenterology, Practice Parameters Committee. **The American Journal of Gastroenterology**. Vol. 105, p. 500-523. Nova Iorque, 2010.

KUMAR, A. et al. Nuclear factor  $\kappa$ B: its role in health and disease. **Journal of Molecular Medicine**. Vol. 82, p. 434-448. Houston, 2004.

KUO, M.; ALLIS, C. D. Roles of histone Acetyltransferases and deacetylases

in gene regulation. **BioEssays**. Vol. 20, p. 615–626. Nova Iorque, 1998.

LAKATOS, L e LAKATOS, P. L. Is the incidence and prevalence of inflammatory bowel diseases increasing in Eastern Europe ?. **Postgraduate Medical Journal**. Vol. 82, p. 332–337. Hungria, 2006.

LANG, S. E. e HEARING, P. The adenovirus E1A oncoprotein recruits the cellular TRRAP/GCN5 histone acetyltransferase complex. **Oncogene**. Vol. 22, p. 2836–2841. Stony Brook, 2003.

LARRICK, J. W. e WRIGHT, S. C. Cytotoxic Mechanism of tumor necrosis factor  $\alpha$ . **FASEB Journal**. Vol. 4, p. 3215-3223. Califórnia, 1990.

LEAL, R. F. et al. Atividade Inflamatória em Mucosa de Reservatório Ileal na Polipose Adenomatosa Familiar e Retocolite Ulcerativa Inespecífica: Avaliação da Expressão de TNF- $\alpha$  e IL-1 $\beta$ , e da Ativação NF- $\kappa$ B. **Revista Brasileira de Coloproctologia**. Vol. 26, p. 399-405. Campinas, 2006.

LEÓN, R.; GARCIA, A. G.; MARCO-COTELLES, J. Recent Advances in the Multitarget-Directed Ligands Approach for the Treatment of Alzheimer's Disease. **Medicinal Research Reviews**. Vol. 33, n. 1, p. 139--189. Madri, 2013.

LEON-BOENIG, G. de, et al. The Crystal Structure of the Catalytic Domain of the NF- $\kappa$ B Inducing Kinase Reveals a Narrow but Flexible Active Site. **Structure**. Vol. 20, p. 1704-1714. Califórnia, 2012.

LEVENSTEIN, S. et al. Stress and Exacerbation in Ulcerative Colitis: A Prospective Study of Patients Enrolled in Remission. **The American Journal of Gastroenterology**. Vol. 95, n. 5, p. 1213-1220. Roma, 2000.

LI, K. et al. Inhibiting NF- $\kappa$ B-inducing kinase (NIK): Discovery, structure-based design, synthesis, structure–activity relationship, and co-crystal structures. **Bioorganic and Medicine Chemistry Letters**. Vol. 23, p. 1238-1244. Califórnia, 2013.

LI, Q., VERMA, I. M. NF- $\kappa$ B regulation in the immune system. **Nature Reviews Immunology**. Vol. 2, p. 725-734. Califórnia, 2002.

LIMA, J. M. P. de; LAPA, P. Diferentes Técnicas de Imagiologia: Medicina Nuclear. In: PISCO, João Martins. **Imagiologia Básica: Texto e Atlas**. 2. ed, cap. 1, p. 1-10. Lisboa: Lidel, 2009.

LIU, J. et al. Structure of the Nuclear Factor  $\kappa$ B-inducing Kinase (NIK) Kinase Domain Reveals a Constitutively Active Conformation. **The Journal of Biological Chemistry**. Vol. 287, n. 33, p. 27326-27334. Califórnia, 2012.

LIU, X. et al. STAGA Recruits Mediator to the MYC Oncoprotein To Stimulate Transcription and Cell Proliferation. **Molecular and Cellular Biology**. Vol. 28, n. 1, p. 108-121. California, 2008.

LONGO, D. L. et al. **Harrison's Principles of Internal Medicine**. 18 ed. Massachusetts, 2012.

LYAKHOVICH, A., Interaction of mesalazine (5-ASA) with translational initiation factors eIF4 partially explains 5-ASA anti-inflammatory and anti-neoplastic activities. **Medicinal Chemistry**. Vol. 7, p. 92–8. Singapura, 2011.

MACHADO, M. C. P. et al. Perfil Imunoistoquímico das Proteínas p53 e Ki67 em Pacientes com Retocolite Ulcerativa Inespecífica. **Revista Brasileira de Coloproctologia**. Vol. 30, p. 183-190. Recife, 2010.

MALDAUN, D. **Retocolite ulcerativa no idoso: sintoma, evolução e a influência das emoções**. Campinas, SP: Editora Alínea, 2007.

MARCHI, P. et al. Concentrated grape juice (G8000TM) reduces immunoexpression of iNOS, TNF-alpha, COX-2 and DNA damage on 2,4,6-trinitrobenzene sulfonic acid-induced-colitis. **Environmental Toxicology and Pharmacology**. Vol. 37, p. 819-827. Santos, 2014.

MAWDSLEY, J. E. et al. The Effect of Acute Psychologic Stress on Systemic and Rectal Mucosal Measures of Inflammation in Ulcerative Colitis. **Gastroenterology**. Vol. 131, p. 410-419. Londres, 2006.

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

MEFFERT, M. K. e BALTIMORE, D. Physiological functions for brain NF- $\kappa$ B. **Trends in Neurosciences**. Vol. 28, n. 1, p. 37-43. Pasadena, 2005.

MEIER, J e STURM, A. Current treatment of ulcerative colitis. **World Journal of Gastroenterology**. Vol. 17, n. 27, p. 3204-3212. Japão, 2011.

MORAIS et al. Biologically based QSARs: study of cardanol derivatives on interaction with *Saccharomyces cerevisiae*. **International Journal of Pharmaceutics**. Vol. 66, p. 107-110. Reino Unido, 1990.

MUJTABA, S. et al. Structural Mechanism of the Bromodomain of the Coactivator CBP in p53 Transcriptional Activation. **Molecular Cell**. Vol. 13, p. 251-263. Illinois, 2004.

MULDER, D. J. et al. A tale of two diseases: The history of inflammatory bowel disease. **Journal of Crohn's and Colitis**. Vol. 8, p. 341-348. Canadá, 2014.

NAGY, Z. e TORA, L. Distinct GCN5/PCAF-containing complexes function as co-activators and are involved in transcription factor and global histone acetylation. **Oncogene**. Vol. 26, p. 5341–5357. França, 2007.

NEUMAN, M. G e NANAU, R. M. Inflammatory bowel disease: role of diet, microbiota, life style. **Translational Research**. Vol. 160, p. 29-44. Canadá, 2012.

NIKFAR, S. et al. Systematic Review and Meta-Analysis of the Efficacy and Tolerability of Nicotine Preparations in Active Ulcerative Colitis. **Clinical Therapeutics**. Vol. 32, n. 14. Iran, 2010.

NUNES, P. M. F. B. B. **Contribuição para o conhecimento da cancerigénese na colite ulcerosa de longa evolução**. 2009. 164 f. Tese (Doutorado) - Curso de Medicina, Departamento de Anatomia Patológica da Faculdade de Medicina, Universidade de Lisboa. Lisboa, 2009.

NUNES, G. A. **Utilização do ácido anacárdico e do cardanol como substratos para a reação de metátese e preparação de xantonas e tioxantonas**. 2014. 90f. Dissertação (Mestrado). Programa de Pós-Graduação em Química, Fundação Universidade Federal do Mato Grosso do Sul. Campo Grande, 2014.

NUNEZ, C. et al. Genetic Markers Linked to Rheumatoid Arthritis Are also Strongly Associated with Articular Manifestations in Ulcerative Colitis Patients. **Human Immunology**. Vol. 67, p. 324–330. Espanha, 2006.

OISHI, H. et al. An hGCN5/TRRAP Histone Acetyltransferase Complex Co-activates BRCA1 Transactivation Function through Histone Modification. **The Journal of Biological Chemistry**. Vol. 281, n. 1, p. 20-26. Japão, 2006.

OLIVEIRA, F. M.; EMERICK, A. P. do C.; SOARES, E. G. Aspectos epidemiológicos das doenças intestinais inflamatórias na macrorregião de saúde leste do Estado de Minas Gerais. **Ciência & Saúde Coletiva**. Vol. 15, p. 1031-1037. Cajazeiras, 2010.

OLIVEIRA, L. M. de F.; COY, C. S. R.; LEAL, R. F. **Estudo da expressão de TLR4 em mucosa de reservatórios ileais de doentes operados por retocolite ulcerativa inespecífica**. Universidade Estadual de Campinas. Campinas, 2012.

PAIM, S. M. M. et al. Características dos portadores de retocolite ulcerativa cujos sintomas se iniciaram após os 50 anos de idade. **Gastroenterologia e Endoscopia Digestiva**. Vol. 28, p. 73-77. São Paulo, 2009.

PAIVA, N. M. de. **Expressão de TLR2, TLR4 e p-JNK em Mucosa de Reservatórios Ileais de Doentes Operados por Retocolite Ulcerativa Inespecífica e Polipose Adenomatosa Familiar**. 2011. 169 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Fisiopatologia Cirúrgica, Departamento de Faculdade de Ciências Médicas, Universidade Estadual de Campinas. Campinas, 2011.

PAL, S. et al. Chronic inflammation and cancer: potential chemoprevention through nuclear factor kappa B and p53 mutual antagonism. **Journal of Inflammation**. Vol. 11, n. 23, p. 1-28. Índia, 2014.

PARAMASHIVAPPA, R. et al. Novel Method for Isolation of Major Phenolic Constituents from Cashew (*Anacardium occidentale* L.) Nut Shell Liquid. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. Vol. 49, p. 2548-2551. Índia, 2001.

PARAMASHIVAPPA, R. et al. Synthesis of Sildenafil Analogues from Anacardic Acid and Their Phosphodiesterase-5 Inhibition **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. Vol. 50, p. 7709-7713. Índia, 2002.

PARAMASHIVAPPA, R. et al. Design, Synthesis and Biological Evaluation of Benzimidazole/Benzothiazole and Benzoxazole Derivatives as Cyclooxygenase Inhibitors. **Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters**. Vol. 13, p. 657-660. Índia, 2003.

PAUL, A.T.; GOHIL, V.M.; BHUTANI, K.K. Modulating TNF- $\alpha$  signaling with natural products. **Drug Discovery Today**. Vol. 11, p. 725-732. Índia, 2006.

PEIXOTO, E. P. **Previsão da solubilidade de fármacos orgânicos em água, baseado na relação quantitativa entre estrutura molecular in silico**. Dissertação (Mestrado). 2010. 55 f. Anápolis: Universidade Estadual de Goiás, Unidade Universitária de Ciências Exatas e Tecnológicas, Pró-reitoria de Pesquisa e Pós-graduação em Ciências Moleculares; 2010.

PETRONILHO, F. C. **Efeito do peptídeo liberador de gastrina na resposta inflamatória local e sistêmica: envolvimento na sinalização do receptor Toll-like 4**. 2010. 151 f. Tese (Doutorado) - Curso de Bioquímica, Instituto de Ciências Básicas da Saúde, Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, 2010.

PINHO, M. A Biologia Molecular das Doenças Inflamatórias Intestinais. **Revista Brasileira de Coloproctologia**. Vol. 28, p. 119-123. Joinville, 2008.

PIRAT, C. *et al*, Targeting Peroxisome Proliferator-Activated Receptors (PPARs): Development of Modulators. **Journal of Medicinal Chemistry**. Vol. 55, p. 4027-4061. França, 2012.

PORTELA, A. e ESTELLER, M. Epigenetic modifications and human disease. **Nature Biotechnology**. Vol. 28, n. 10, p. 1057-1068. Barcelona, 2010.

PRINCE, A. *et al*. Nutritional problems in inflammatory bowel disease: The patient perspective. **Journal of Crohn's and Colitis**. Vol. 5, p. 443-450. Londres, 2011.

PULLAN, R. D. *et al*. Transdermal Nicotine for Active Ulcerative Colitis. **The New England Journal of Medicine**. Vol. 330, p. 811-815. Nova Inglaterra, 1994.

RADOVANOVIĆ-DINIĆ, B. Clinical Extraintestinal manifestations of Ulcerative Colitis. **Medicine and Biology**. Vol. 10, p. 139-144. Niš, 2003.

RAHBAR, A.; BOSTROM, L. e SODERBERG-NAUCLER, C. Detection of cytotoxic CD13-specific autoantibodies in sera from patients with ulcerative colitis and Crohn's disease. **Journal of Autoimmunity**. Vol. 26, p. 155-164. Suécia, 2006.

RANGEL, J. L. *et al*. **Análise de Cólon por Imageamento no Infravermelho**. XIV Encontro Latino Americano de Iniciação Científica e X Encontro Latino Americano de Pós-Graduação – Universidade do Vale do Paraíba. Paraíba, 2010.

RAO, B. S. e PALANISAMY, A. Monofunctional benzoxazine from cardanol for bio-composite applications. **Reactive and Functional Polymers**. Vol. 71, p. 148-154. Índia, 2011.

RAPOSO, F. A. Q. **Doença Inflamatória Intestinal**. 2008. 122 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Medicina, Faculdade de Ciências da Saúde, Universidade da Beira Interior. Covilhã, 2008.

RAWASHDEH, B. et al. Unusual presentation of a giant benign inflammatory polyp in the upper esophagus. **International Journal of Surgery Case Reports**. Vol. 6, p. 206–209. Arizona, 2015.

RIFAI, M. A. et al. sRAGE, inflammation, and risk of atrial fibrillation: results from the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study. **Journal of Diabetes and Its Complications**. Vol. 29, p. 180-185. Minnessota, 2015.

ROELFSEMA, J. H. e PETERS, D. J. M. Rubinstein–Taybi syndrome: clinical and molecular overview. **Expert Reviews in Molecular Medicine**. Vol. 9, n. 23, p. 1-16. Holanda, 2007

ROESSNER, A. et al. Oxidative stress in ulcerative colitis-associated carcinogenesis. **Pathology – Research and Practice**. Vol. 204, p. 511-524. Alemanha, 2008.

ROTH, S. Y.; DENU, J. M.; ALLIS, C. D. Histone acetyltransferases. **Annual Review of Biochemistry**. Vol. 70, p. 81–120. Virginia, 2001.

RUIZ, P. A. et al. Quercetin Inhibits TNF-Induced NF- $\kappa$ B Transcription Factor Recruitment to Proinflammatory Gene Promoters in Murine Intestinal Epithelial Cells. **The Journal of Nutrition**. Vol. 137, p. 1208–1215. Alemanha, 2007.

SALEEM, U. et al. Anti-nociceptive, anti-inflammatory and anti-pyretic activities of latex and leaves methanol extract of *Euphorbia helioscopia*. **Asian Pacific Journal of Tropical Disease**. Vol. 5, n. 4, p. 322-328. Paquistão, 2015.

SANDBORN, W. J. Nicotine Therapy for Ulcerative Colitis: A Review of Rationale, Mechanisms, Pharmacology, and Clinical Results. **The American Journal of Gastroenterology**. Vol. 94, n. 5, p. 1161-1171. Minnesota, 1999.

SANTOS, M. A. M. dos. **Novas Abordagens Terapêuticas na Colite Ulcerosa**. 2011. 36 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Medicina, Departamento de Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar, Universidade do Porto. Porto, 2011.

SANTOS, M. L. e MAGALHÃES, G. C. de. Utilisation of Cashew Nut Shell Liquid from *Anacardium occidentale* as Starting Material for Organic Synthesis: A Novel Route to Lasiodiplodin from Cardols. **Journal of Brazilian Chemical Society**. Vol. 10, n. 1, p. 13-20. Brasília, 1999.

SCARPIGNATO, C e HUNT, R. H. Nonsteroidal Antiinflammatory Drug-Related Injury to the Gastrointestinal Tract: Clinical Picture, Pathogenesis, and Prevention. **Gastroenterology Clinics of North American**. Vol. 39, p. 433-464. Itália, 2010.

SMITH, D. A.; WATERBEEMD, H.; WALKER, D. K. **Pharmacokinetics and Metabolism in Drug Design**. 2ª edição. Weinheim: Willey-VCH Verlag GmbH & Co, 2006.

SILVA, B. C. et al. Epidemiology, demographic characteristics and prognostic predictors of ulcerative colitis. **World Journal of Gastroenterology**. Vol. 20, n. 28, p. 9458-9467. Bahia, 2014.

SIVARAM, G. et al. Macrophage migration inhibitory factor, Toll-like receptor 4, and CD14 polymorphisms with altered expression levels in patients with ulcerative colitis. **Human Immunology**. Vol. 73, p. 201-205. Índia, 2012.

SOUZA, M. M. de, et al. Perfil Epidemiológico dos Pacientes Portadores de Doença Inflamatória Intestinal do Estado de Mato Grosso. **Revista Brasileira de Coloproctologia**. Vol. 28, p. 324-328. Cuiabá, 2008.

SPEYBROECK, L. V. From Epigenesis to Epigenetics. **Annals of the New York Academy of Sciences**. Vol. 981, p. 61-81. Bélgica, 2002.

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

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

SUN, H. et al. Histone acetyltransferase activity of p300 enhances the activation of IL-12 p40 promoter. **Molecular Immunology**. Vol. 41, p. 1241–1246. China, 2004.

SUNG, B., *et al.* Anacardic acid (6-nonadecyl salicylic acid), an inhibitor of histone acetyltransferase, suppresses expression of NF- $\kappa$ B-regulated gene products involved in cell survival, proliferation, invasion and inflammation through inhibition of I $\kappa$ B $\alpha$  kinase, leading to potentiation of apoptosis. **Blood**. Vol. 11, n. 10, p. 4880-4891. Houston, 2008.

SVARTZ, M. The treatment of 124 cases of ulcerative colitis with salazopyrine and attempts of desensibilization in cases of hypersensitiveness to sulfa. **Acta Medica Scandinavica**. Vol. 131, p. 465-472. 1948.

SVARTZ, N. The treatment of rheumatic polyarthritis with acid azo compounds. **Rheumatism**. Vol. 4, p. 190-185. 1948.

TANAKA, K., et al Control of I $\kappa$ B $\alpha$  proteolysis by the ubiquitin-proteasome pathway. **Biochimie**. Vol, 83, p. 351-356. Japão, 2001.

TAO, Z. e GHOSH, G. Understanding NIK Regulation from Its Structure. **Structure**. Vol. 20, p. 1615-1617. Califórnia, 2012.

THAKUR, J. K.; YADAV, A; YADAV, G. Molecular recognition by the KIX domain and its role in gene regulation. **Nucleic Acids Research**. Índia, 2013.

THU, Y. M. e RICHMOND, A. NF- $\kappa$ B inducing kinase: A key regulator in the immune system and in câncer. **Cytokine & Growth Factor Reviews**. Vol. 21, p. 213-226. Tennessee, 2010.

TOMAR, D. e SINGH, R. TRIM family proteins: emerging class of RING E3 ligases as regulator of NF- $\kappa$ B pathway. **Biology of the Cell**. Vol. 107, p. 22-40. Índia, 2015.

TORONTO. **Structural Genomics Consortium – SGC**. Procedimentos de Síntese, Purificação e Caracterização de p300 (<http://www.thesgc.org/structures/3i3j>) e GNC5 (<http://www.thesgc.org/structures/3d7c>). Toronto, 2015.

TREVISAN, M. T. S. et al. Characterization of alkyl phenols in cashew(*Anacardium occidentale*) products and assay of their antioxidant capacity. **Food and Chemical Toxicology**. Vol. 44, p. 188-197. Alemanha, 2006.

TSAPROUNI, L. G. et al. Differential patterns of histone acetylation in inflammatory bowel diseases. *Journal of Inflammation*. **Journal of Inflammation**. Vol. 8, n. 1, p. 1-12. Reino Unido, 2011.

TYMAN, J. H. P. e IDDENTEN, S. J. A. The synthesis of oxime reagents from natural and semi-synthetic phenolic lipid and alkanolic acid resources for the solvent recovery of copper(II). **Journal of Chemical Technology and Biotechnology**. Vol. 80, p. 1319-1328. Reino Unido, 2005

USA. United States of America. Crohn's & Colitis Foundation of America. **Diagnosing Crohn's Disease and Ulcerative Colitis**. Nova Iorque, 2010.

VALLE, Y. et al. Circulating TNFR1 and TNFR2 levels correlated with the disease activity score (DAS28) in rheumatoid arthritis. **Scandinavian Journal of Rheumatology**. Vol. 38, p. 332-335. México, 2009.

WALDNER, M. J. e NEURATH, M. F. Mechanisms of Immune Signaling in Colitis-Associated Cancer. **Cell Mol Gastroenterol Hepatol**. Vol. 1, p. 6-16. Alemanha, 2015.

WANG, Y. et al. Proanthocyanidins from grape seeds modulates the nuclear factor-kappa B signal transduction pathways in rats with TNBS-induced recurrent ulcerative colitis. **International Immunopharmacology**. Vol. 11, p. 1620-1627. China, 2011.

WEI, X. et al. The suppressive effect of triptolide on chronic colitis and TNF- $\alpha$ /TNFR2 signal pathway in interleukin-10 deficient mice. **Clinical Immunology**. Vol. 129, p. 211-218. China, 2008.

WGO. **World Gastroenterology Organisation**. Global Guidelines. Inflammatory bowel disease: a global perspective. Junho 2009.

WILSON, T. J. **Associação dos genes KIR e HLA classe I na doença de Crohn, retocolite ulcerativa e grupo de controle em população caucasóide brasileira**. 2010. 48 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Ciências Médicas, Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, 2010.

WU, J. **Development of Inhibitors and Assay Methods for Histone Acetyltransferases**. 2011. 153 f. Dissertação (Doutorado) – Departamento de Química, Universidade do Estado da Geórgia. Geórgia, 2011.

XIAO, W. Advances in NF- $\kappa$ B Signaling Transduction and Transcription. **Cellular and Molecular Immunology**. Vol. 1, n. 6, p. 425-435. China, 2004

YAMAMOTO-FURUSHO, J. K. et al. Clinical and Genetic Heterogeneity in Mexican Patients With Ulcerative Colitis. **Human Immunology**. Vol. 64, p. 119–123. México, 2003.

YAMAMOTO-FURUSHO, J. K. et al. Polymorphisms in the promoter region of tumor necrosis factor alpha (TNF- $\alpha$ ) and the HLA-DRB1 locus in Mexican Mestizo patients with ulcerative colitis. **Immunology Letters**. Vol. 95, p. 31-35. México, 2004.

YAN, F., POLK, D. B., Aminosalicilic acid inhibits I $\kappa$ B kinase alpha phosphorylation of I $\kappa$ B $\alpha$  in mouse intestinal epithelial cells. **The Journal of Biological Chemistry**. Vol. 274, p. 36631-36636. Tennessee, 1999a.

YAN, F., POLK, D. B. Aminosalicilic Acid Inhibits I $\kappa$ B Kinase  $\alpha$  Phosphorylation of I $\kappa$ B $\alpha$  in Mouse Intestinal Epithelial Cells. **Gastroenterology**. Vol. 116, n. 3, p. 602-609. Tennessee, 1999b.

YANG, X. Lysine acetylation and the bromodomain: a new partnership for signaling. **BioEssays**. Vol. 26, p. 1076-1087. Canadá, 2004.

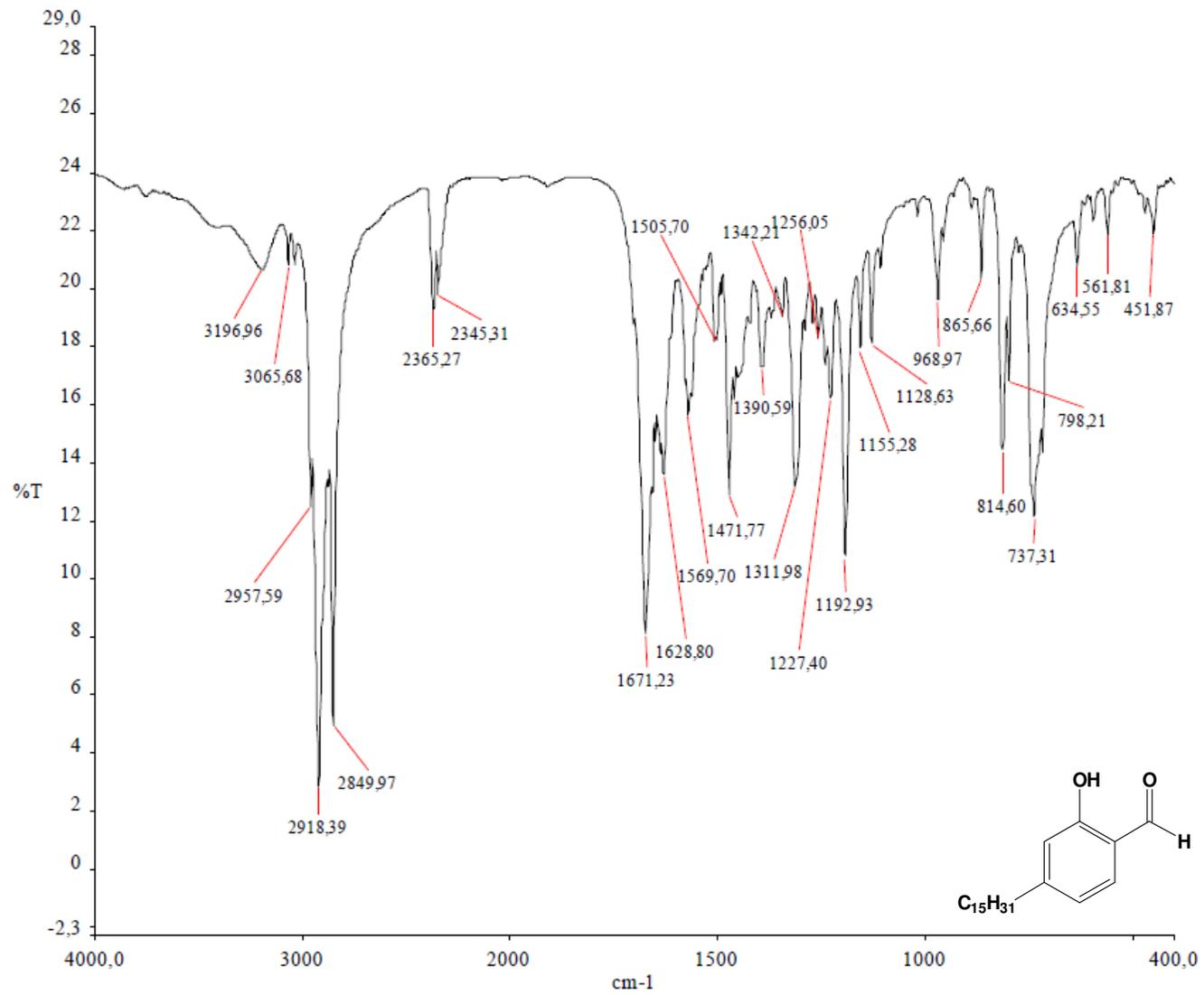
YIN, B. et al. Blocking TNF- $\alpha$  by combination of TNF- $\alpha$ - and TNFR-binding cyclic peptide ameliorates the severity of TNBS-induced colitis in rats. **European Journal of Pharmacology**. Vol. 656, p. 119-124. China, 2011.

ZHANG, H. et al.  $\gamma$ -Glutamyl cysteine and  $\gamma$ -glutamyl valine inhibit TNF- $\alpha$  signaling in intestinal epithelial cells and reduce inflammation in a mouse model of colitis via allosteric activation of the calcium-sensing receptor. **Biochimica et Biophysica Acta**. Vol. xxx, p. xxx–xxx. Canadá, 2015

ZHANG, J. et al. Paeoniflorin abrogates DSS-induced colitis via a TLR4-dependent pathway. American Journal of Physiology - **Gastrointestinal and Liver Physiology**. Vol. 306, p. G27-G36. China, 2014.

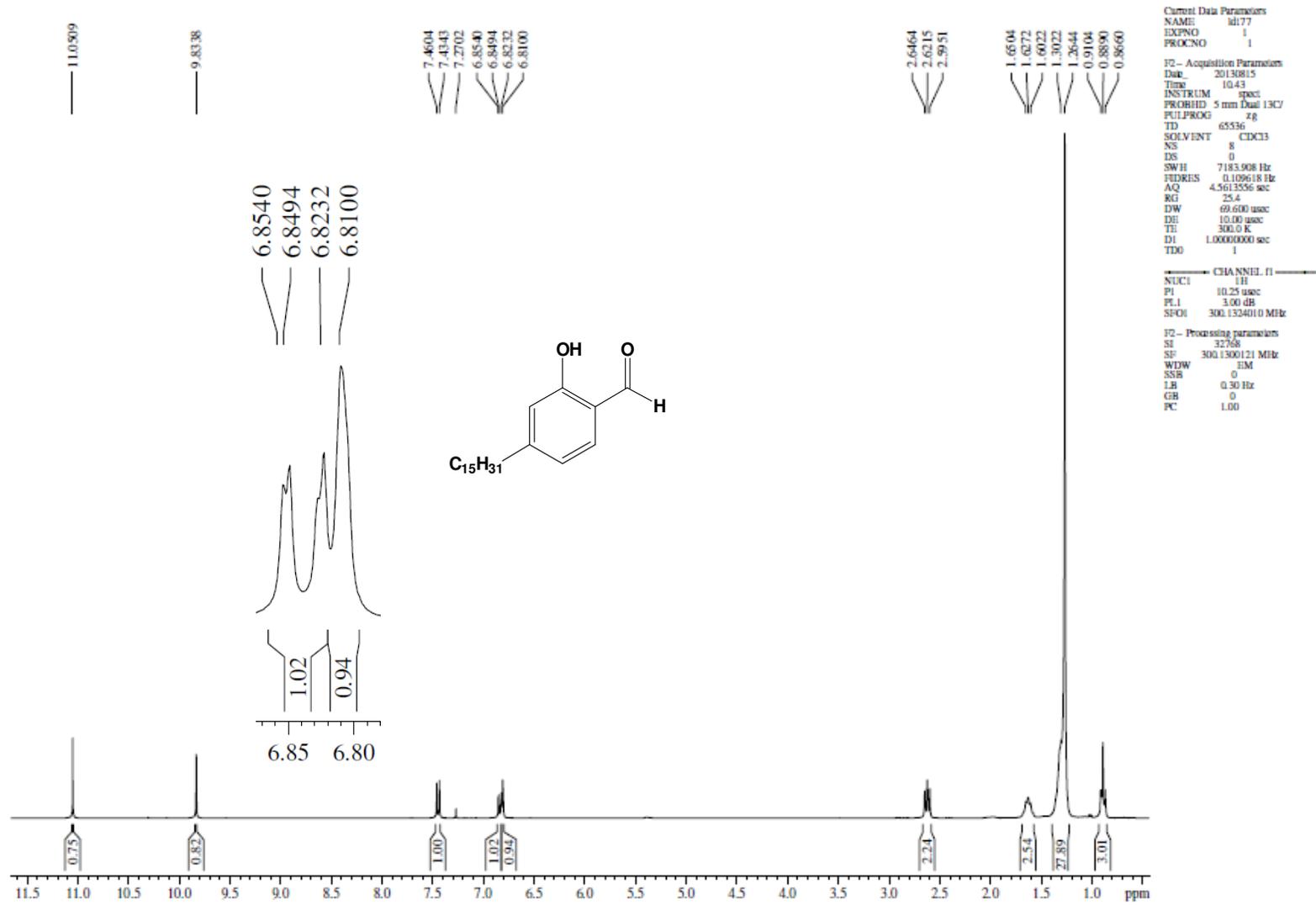


## Anexo 1

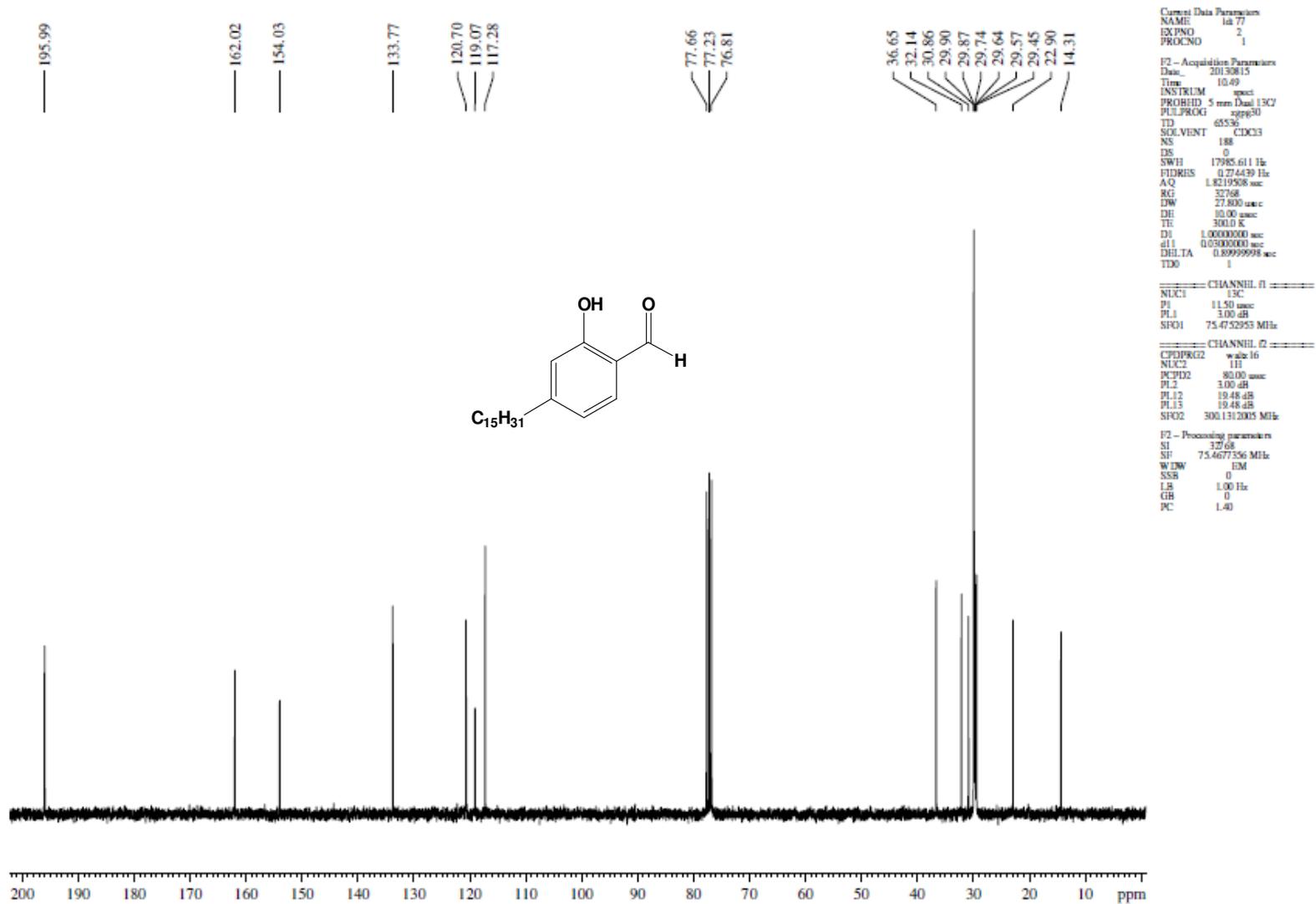


*Espectro no Infravermelho (cm<sup>-1</sup>, KBr) – LDT 77*

## Anexo 2

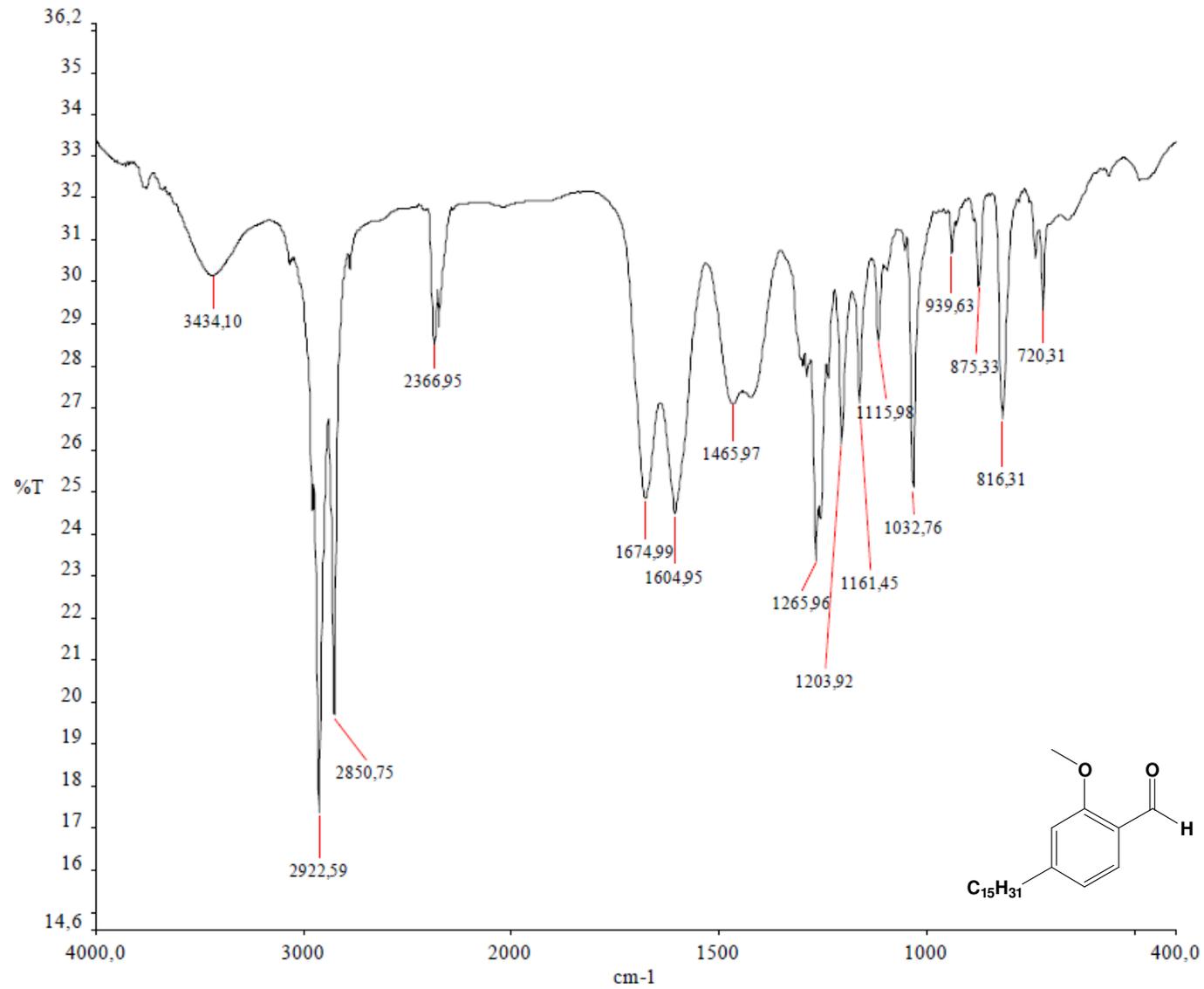
Espectro de RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) – LDT 77

## Anexo 3



*Espectro de RMN <sup>13</sup>C (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>) – LDT 77*

## Anexo 4

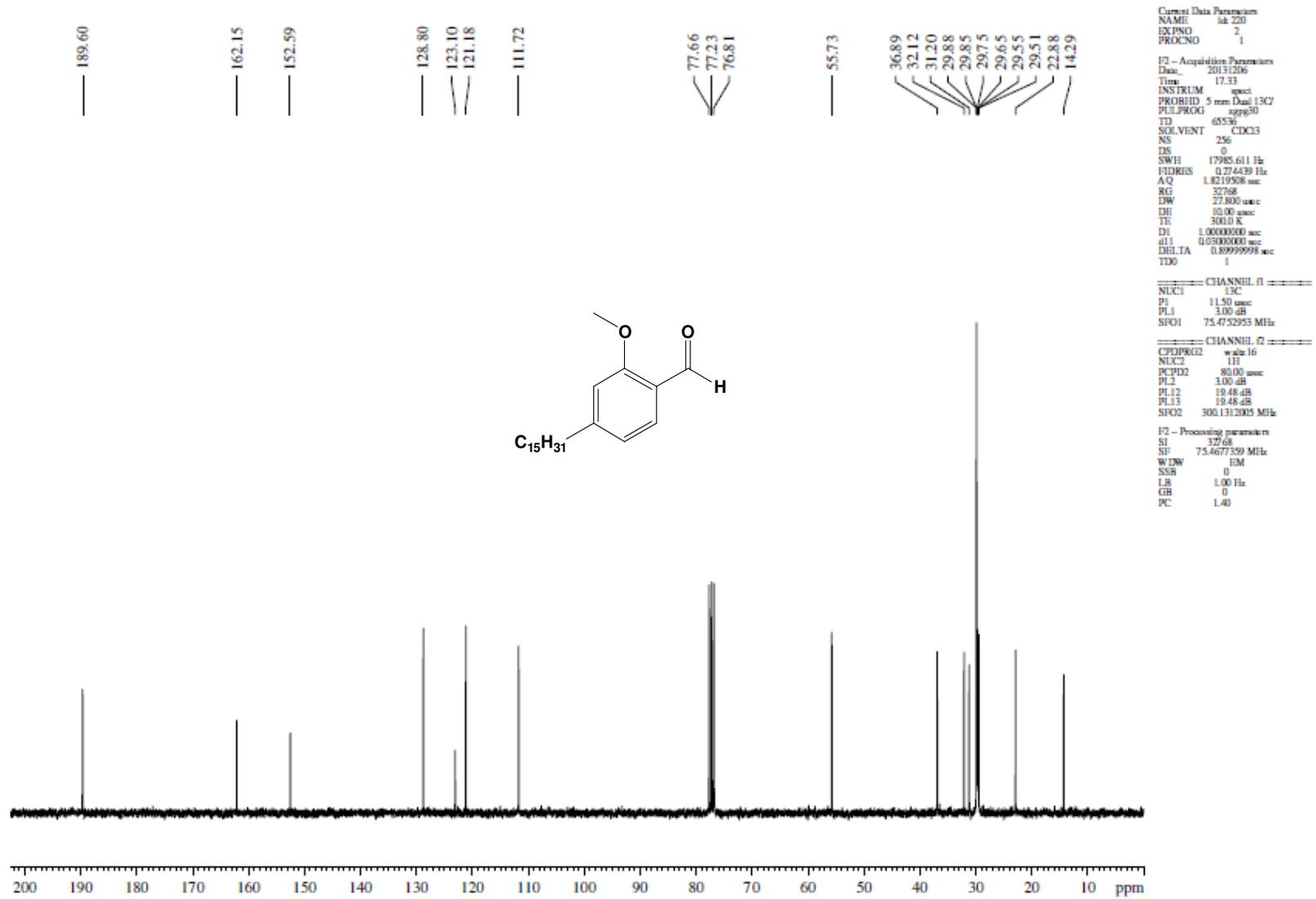


*Espectro no Infravermelho (cm<sup>-1</sup>, KBr) – LDT 220*

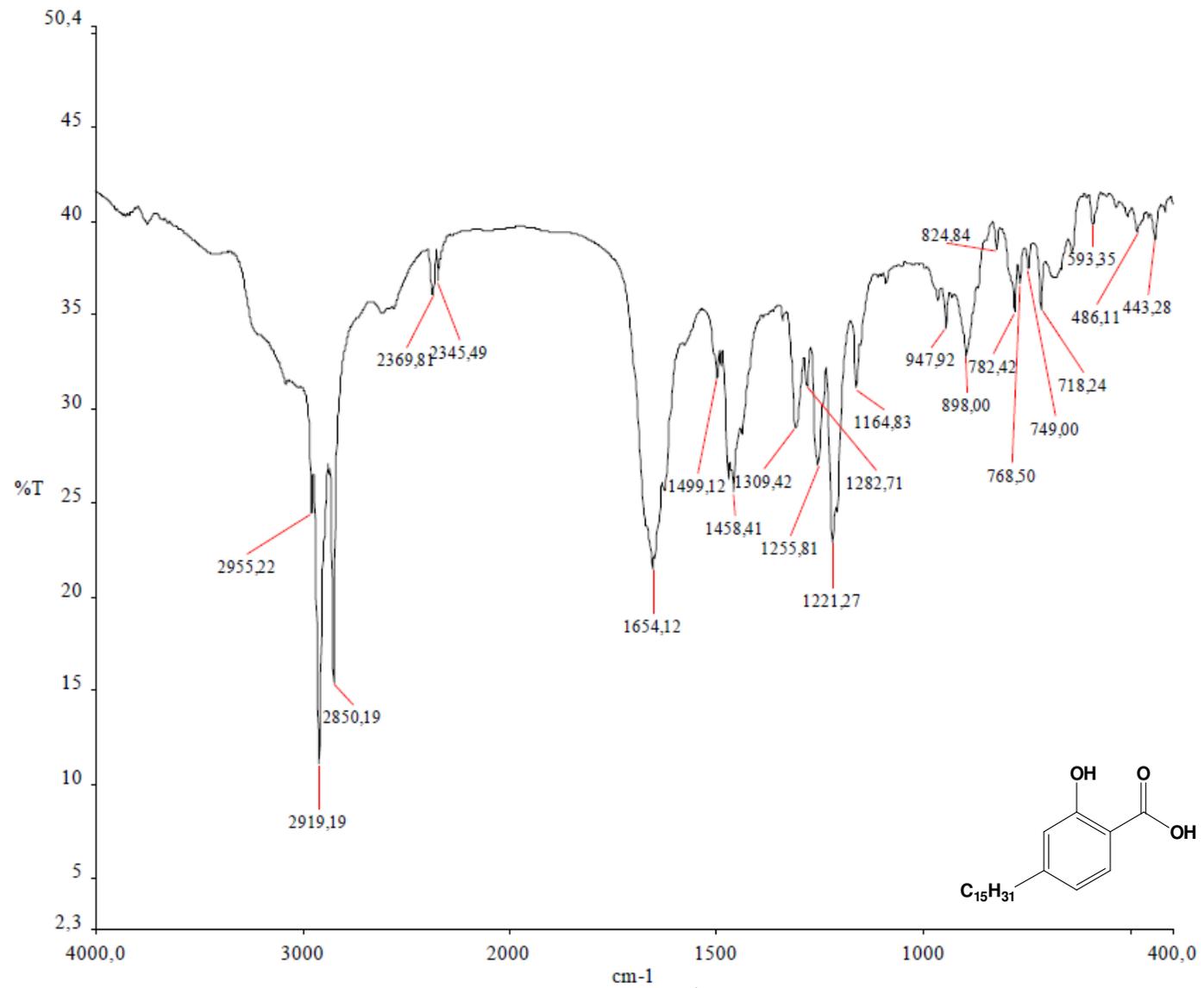
## Anexo 5

Espectro de RMN  $^1H$  (300 MHz,  $CDCl_3$ ) – LDT 220

## Anexo 6

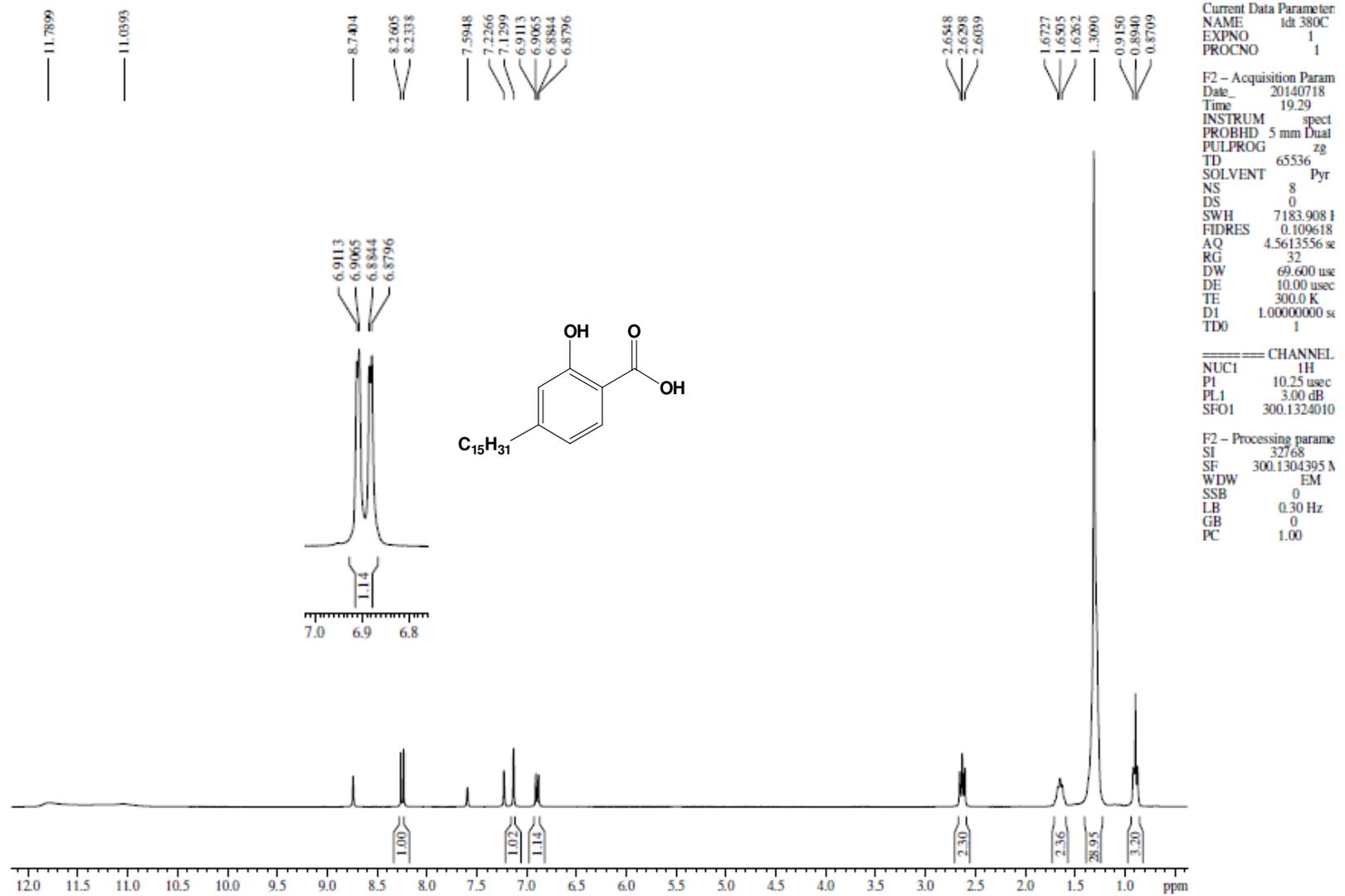
Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) – LDT 220

## Anexo 7

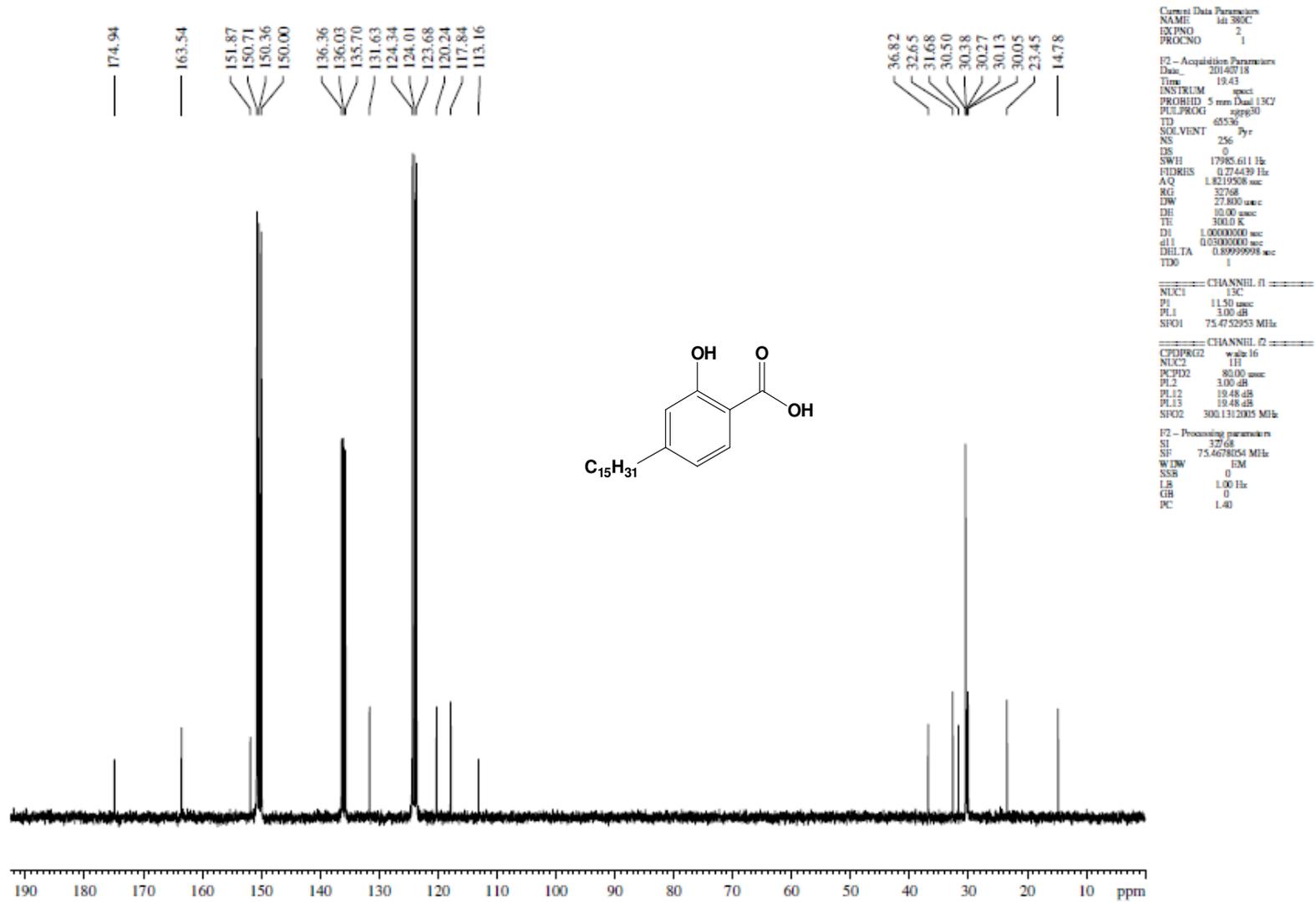


*Espectro no Infravermelho (cm<sup>-1</sup>, KBr) – LDT 380*

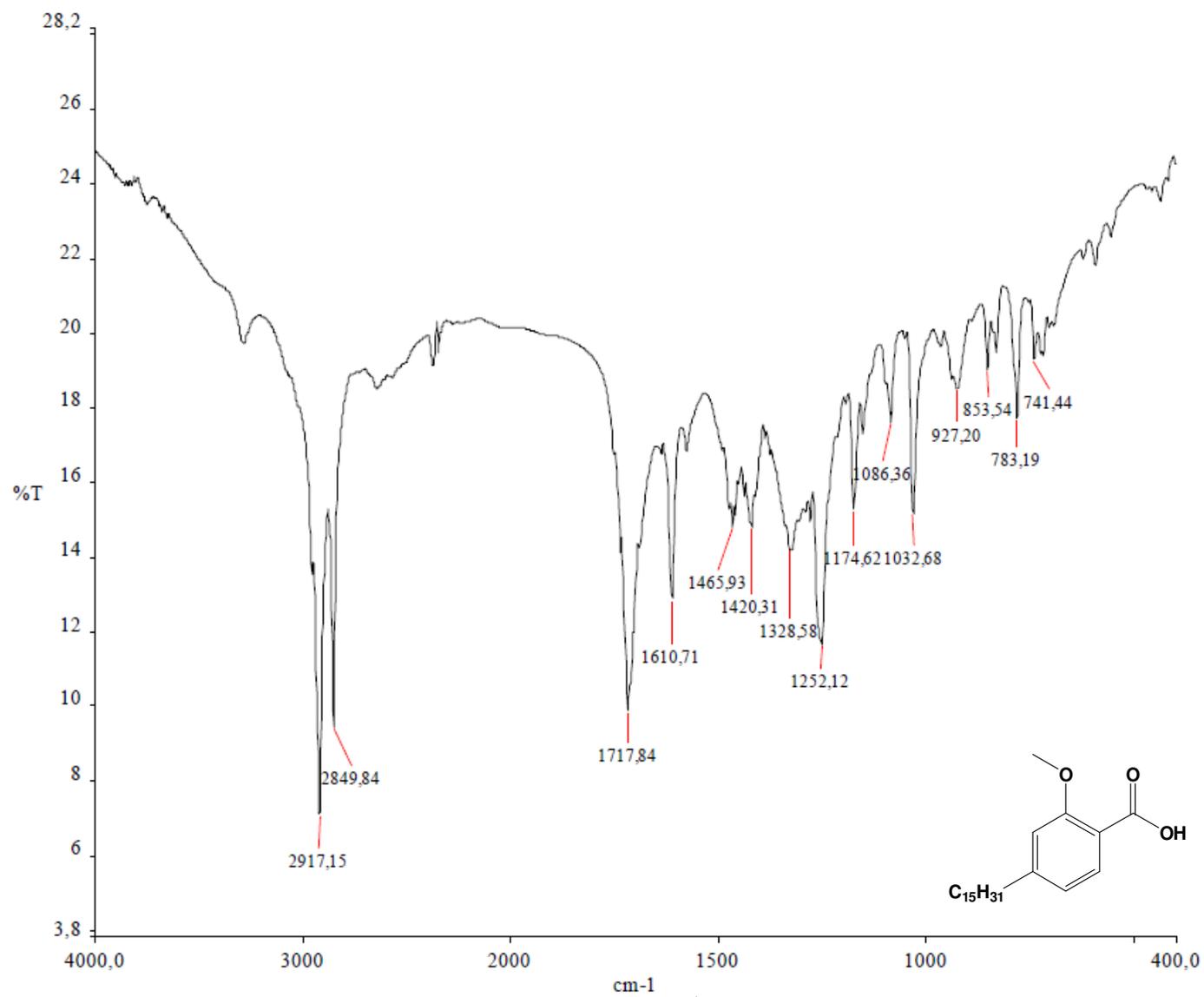
## Anexo 8

Espectro de RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, Piridina) – LDT 380

## Anexo 9

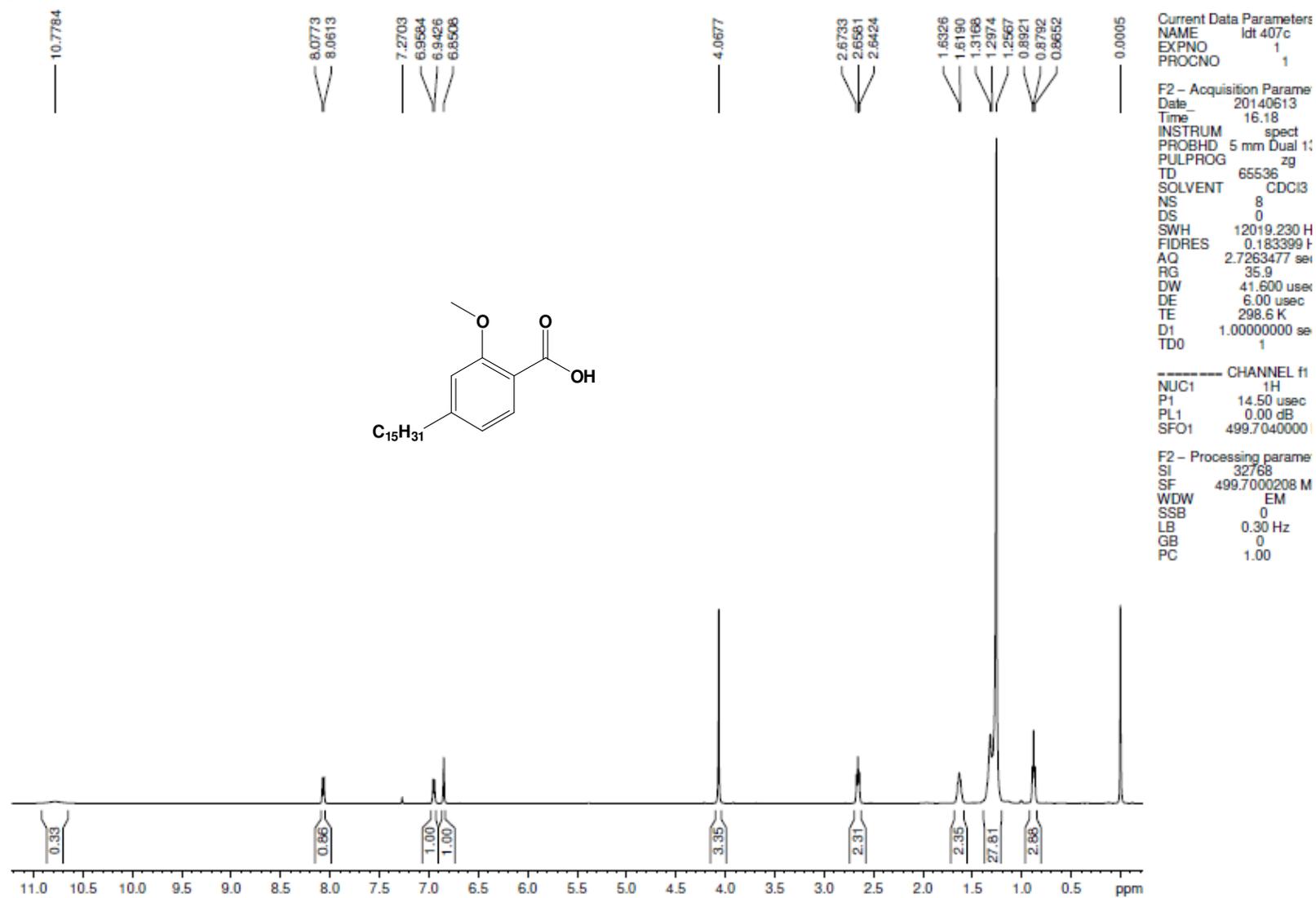
Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (75 MHz, Piridina) – LDT 380

## Anexo 10

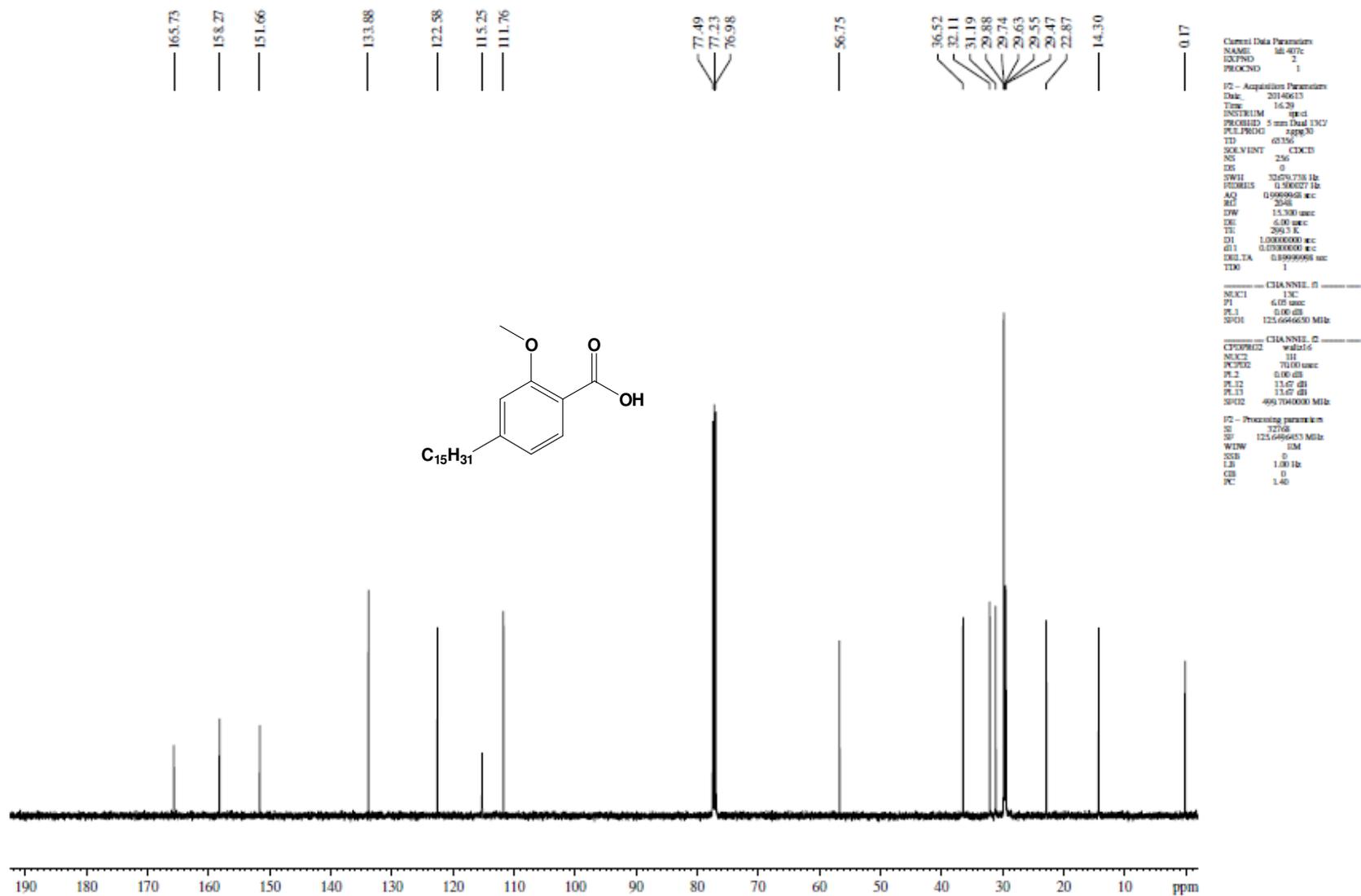


*Espectro no Infravermelho (cm<sup>-1</sup>, KBr) – LDT 407*

## Anexo 11

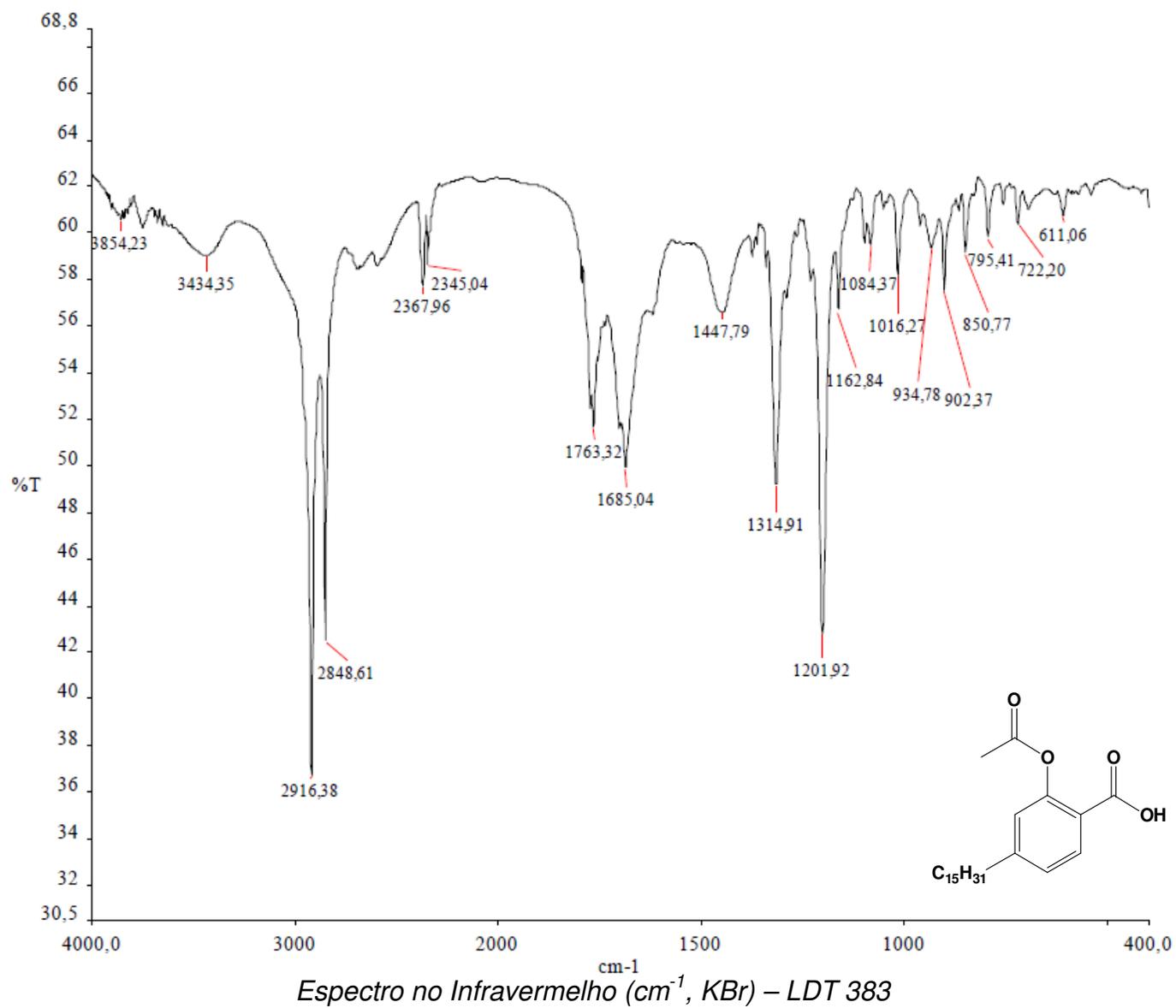
Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) – LDT 407

## Anexo 12

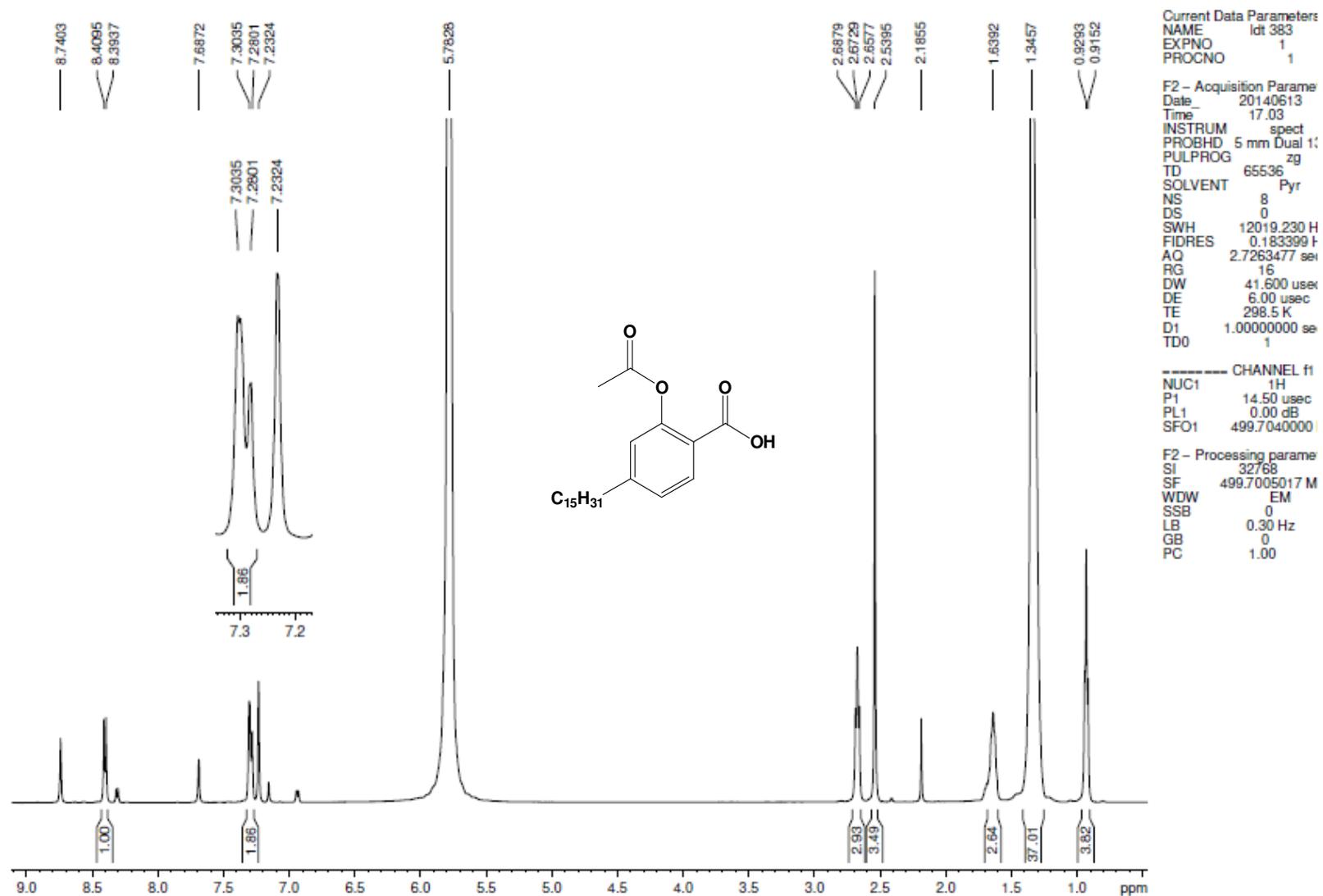


*Espectro de RMN <sup>13</sup>C (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>) – LDT 407*

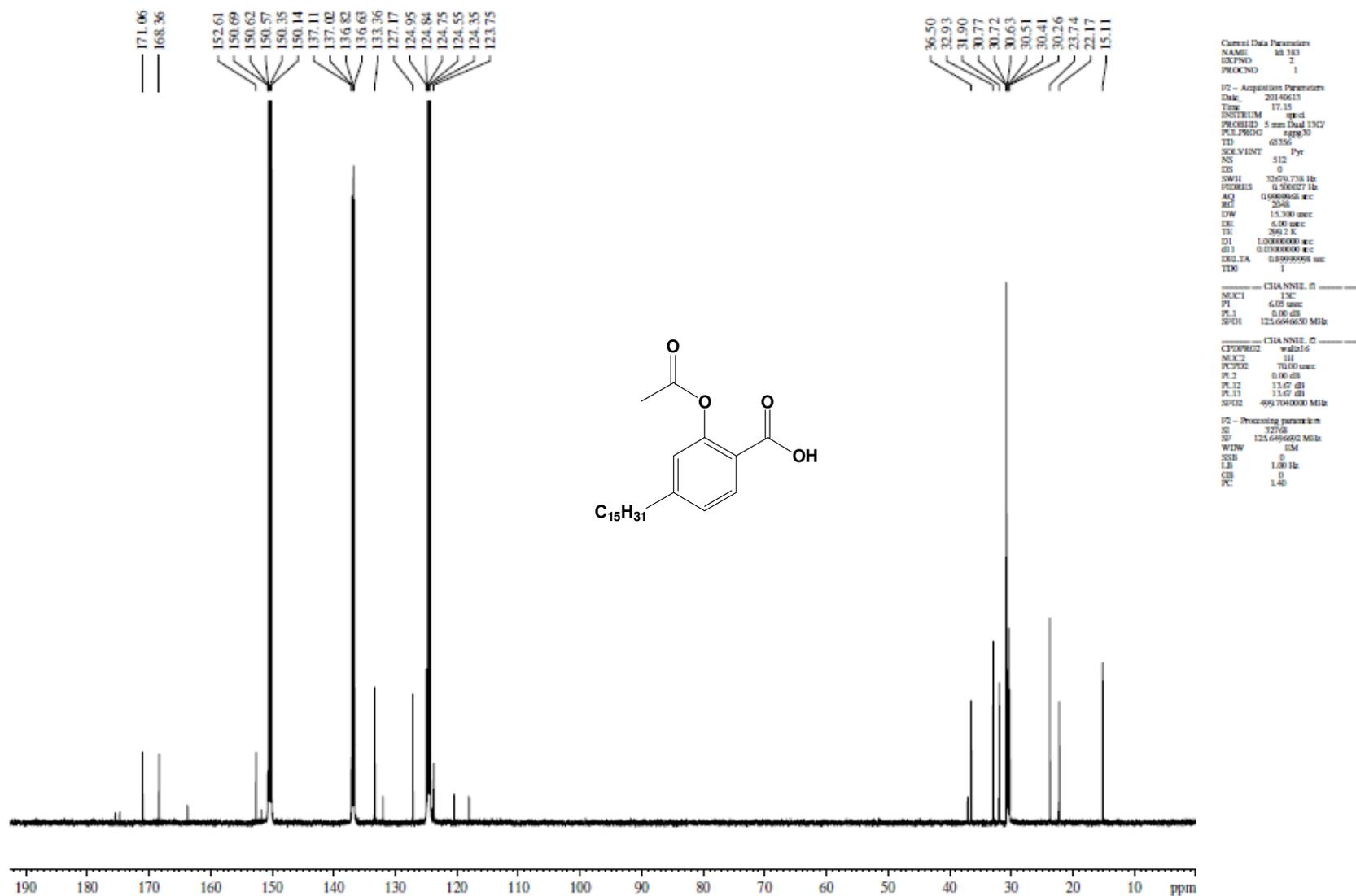
## Anexo 13



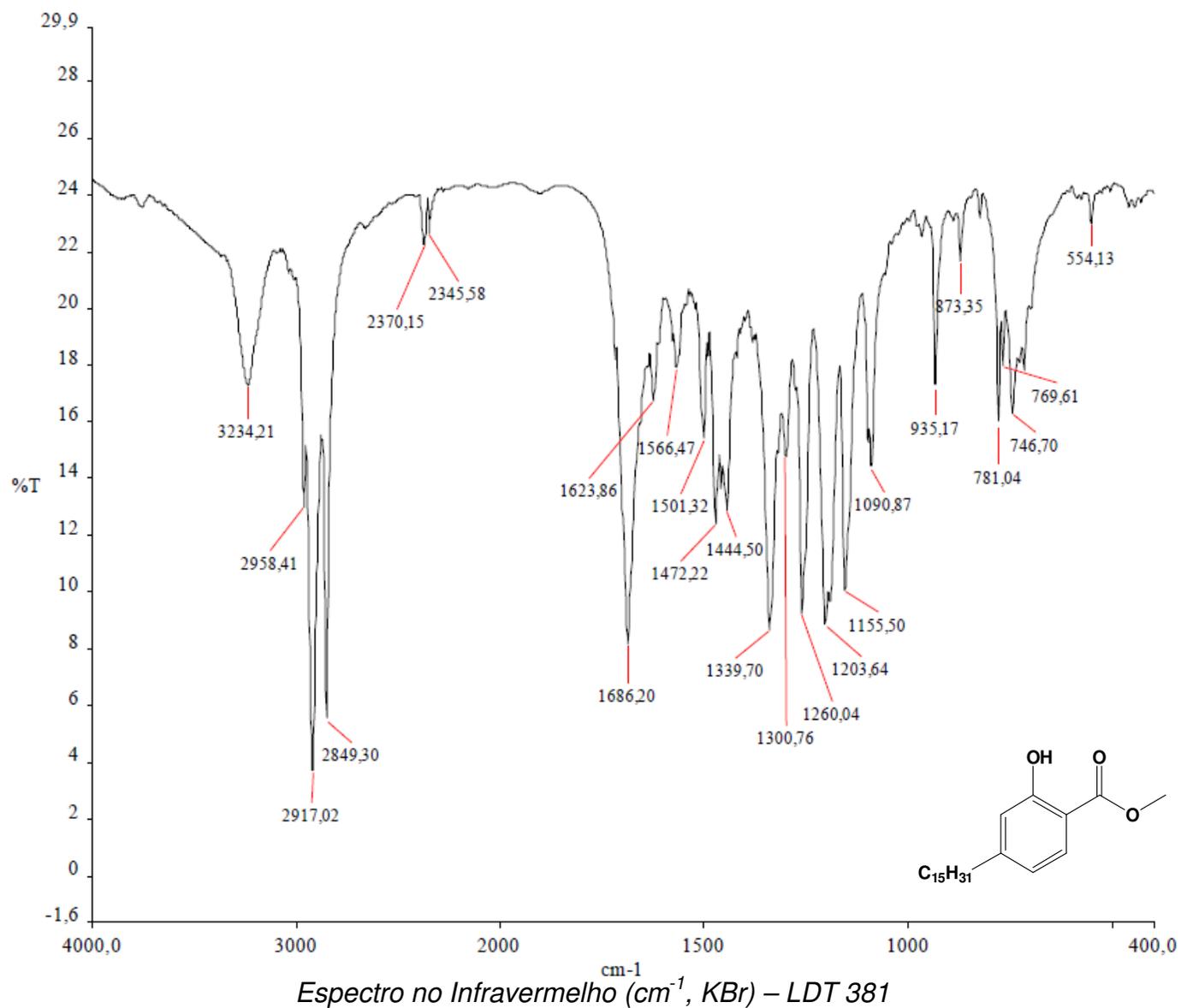
## Anexo 14

Espectro de RMN <sup>1</sup>H (500 MHz, Piridina) – LDT 383

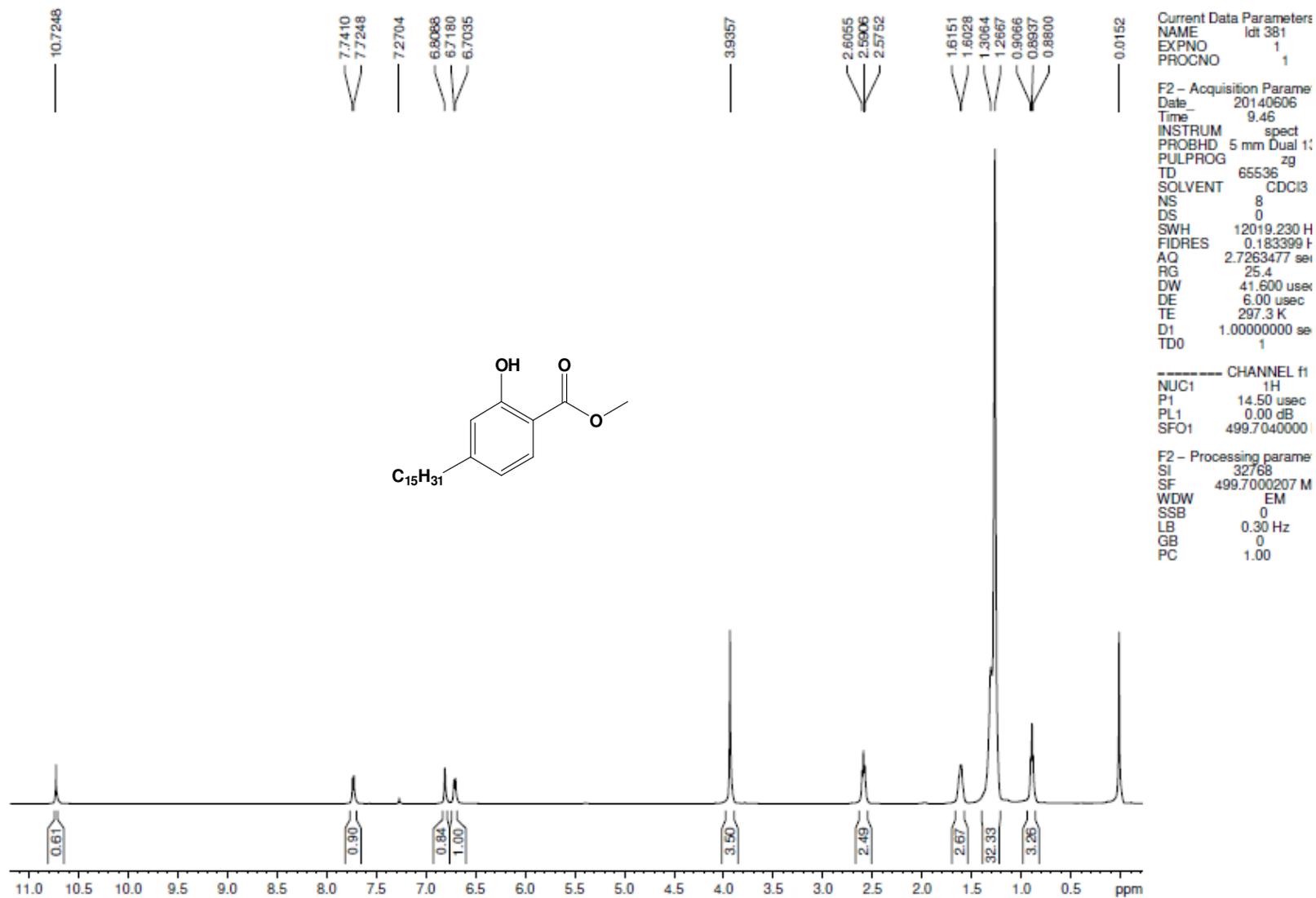
## Anexo 15

Espectro de RMN  $^{13}C$  (125 MHz, Piridina) – LDT 383

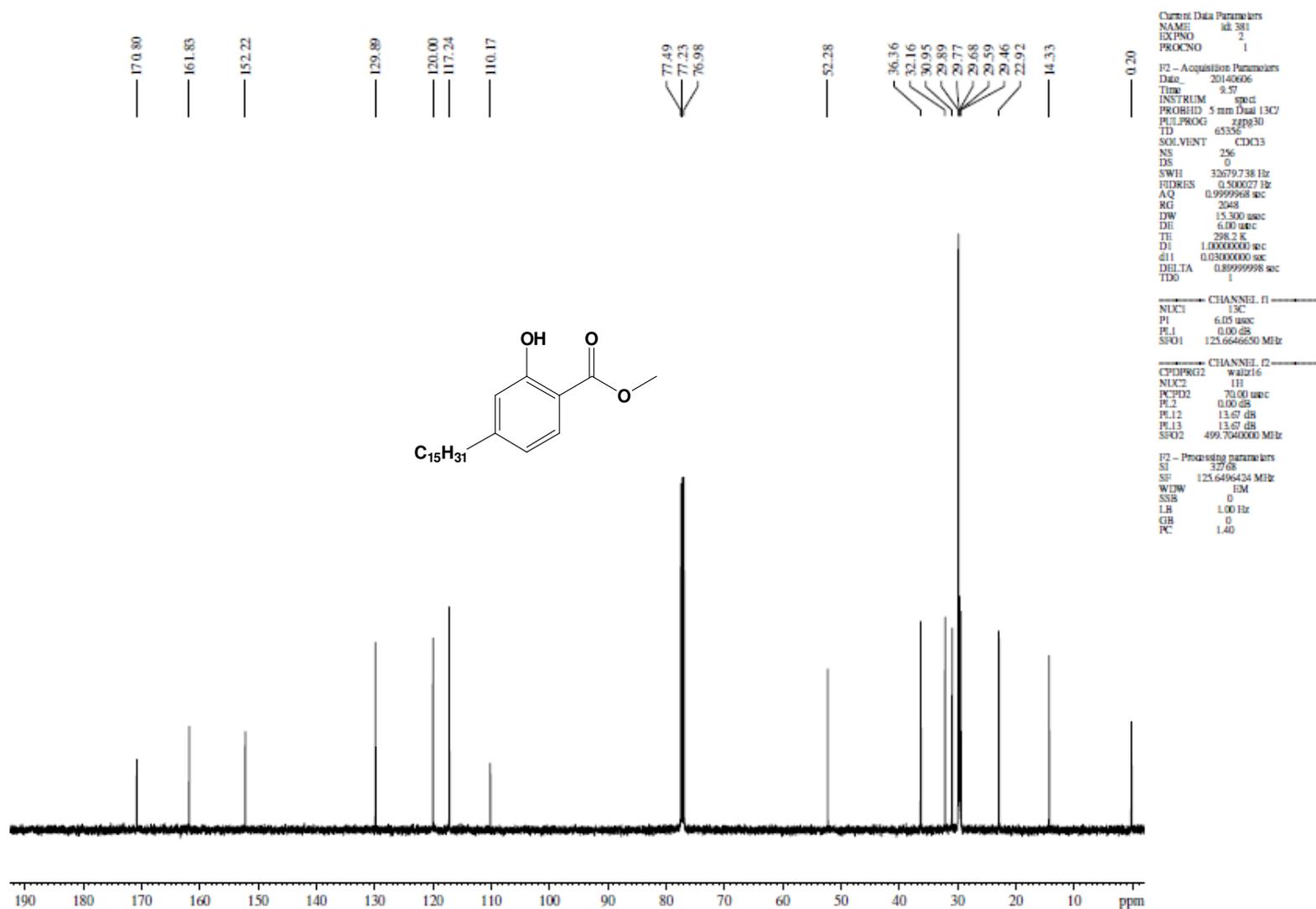
## Anexo 16



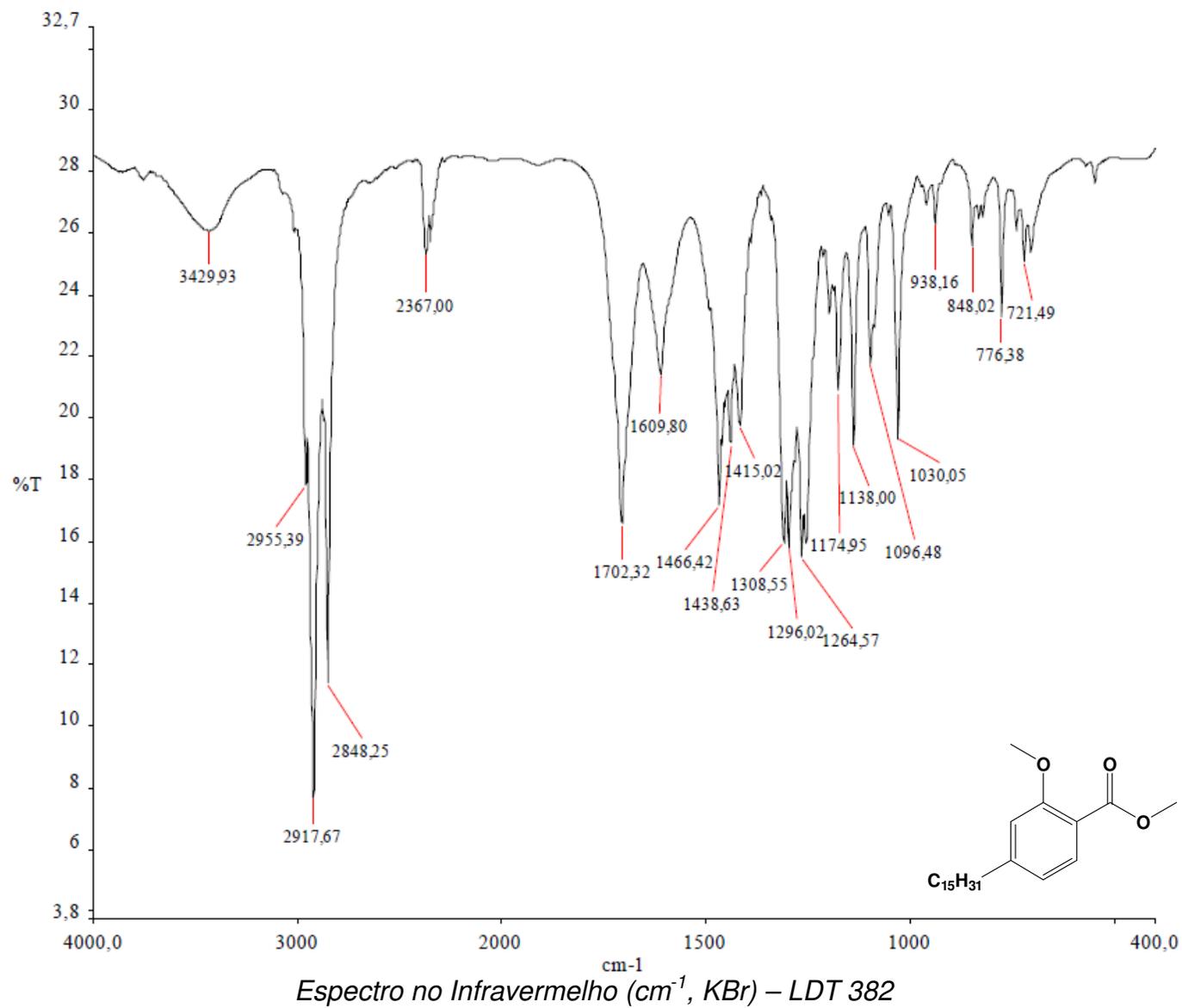
## Anexo 17

Espectro de RMN <sup>1</sup>H (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) – LDT 381

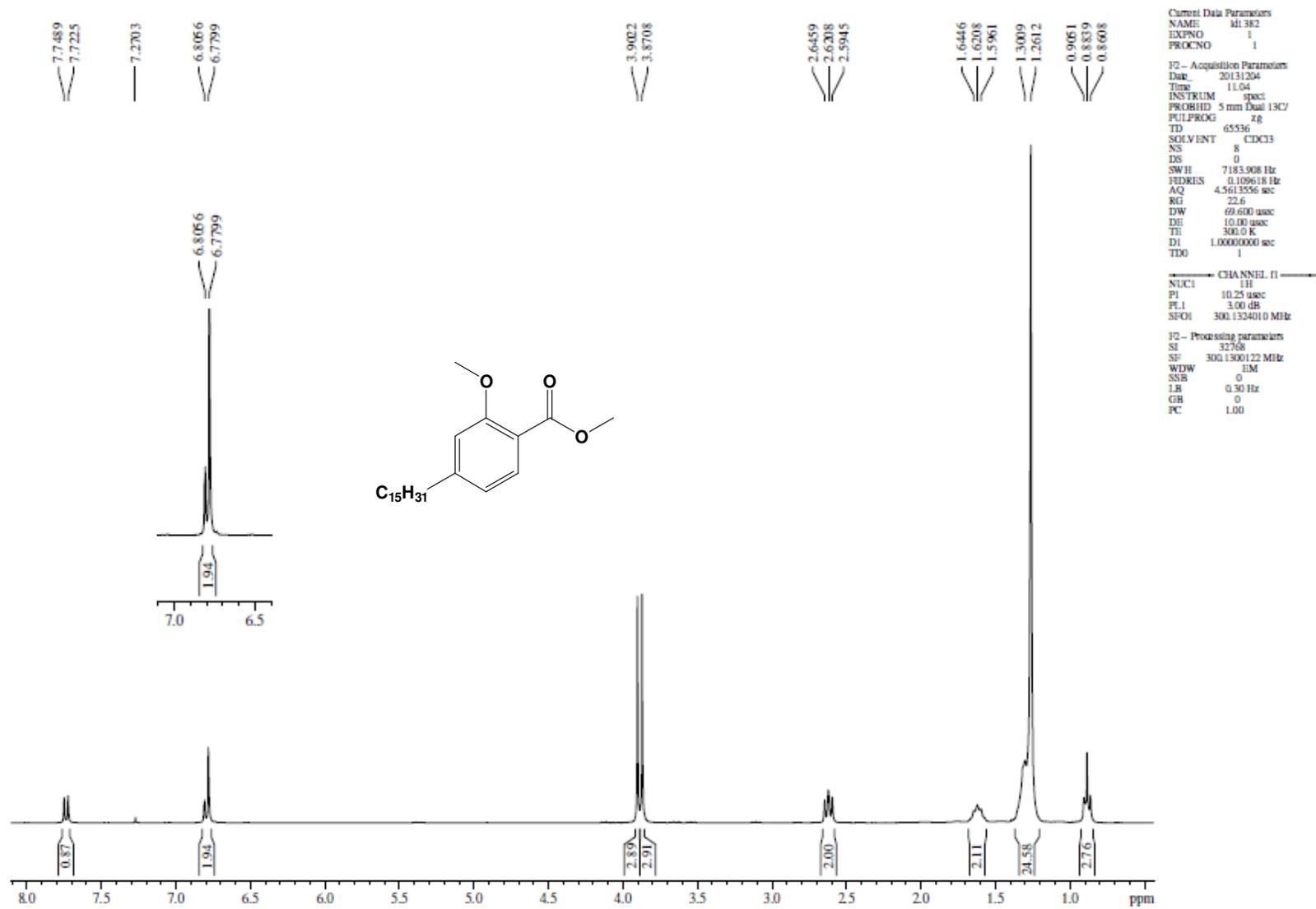
## Anexo 18

Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) – LDT 381

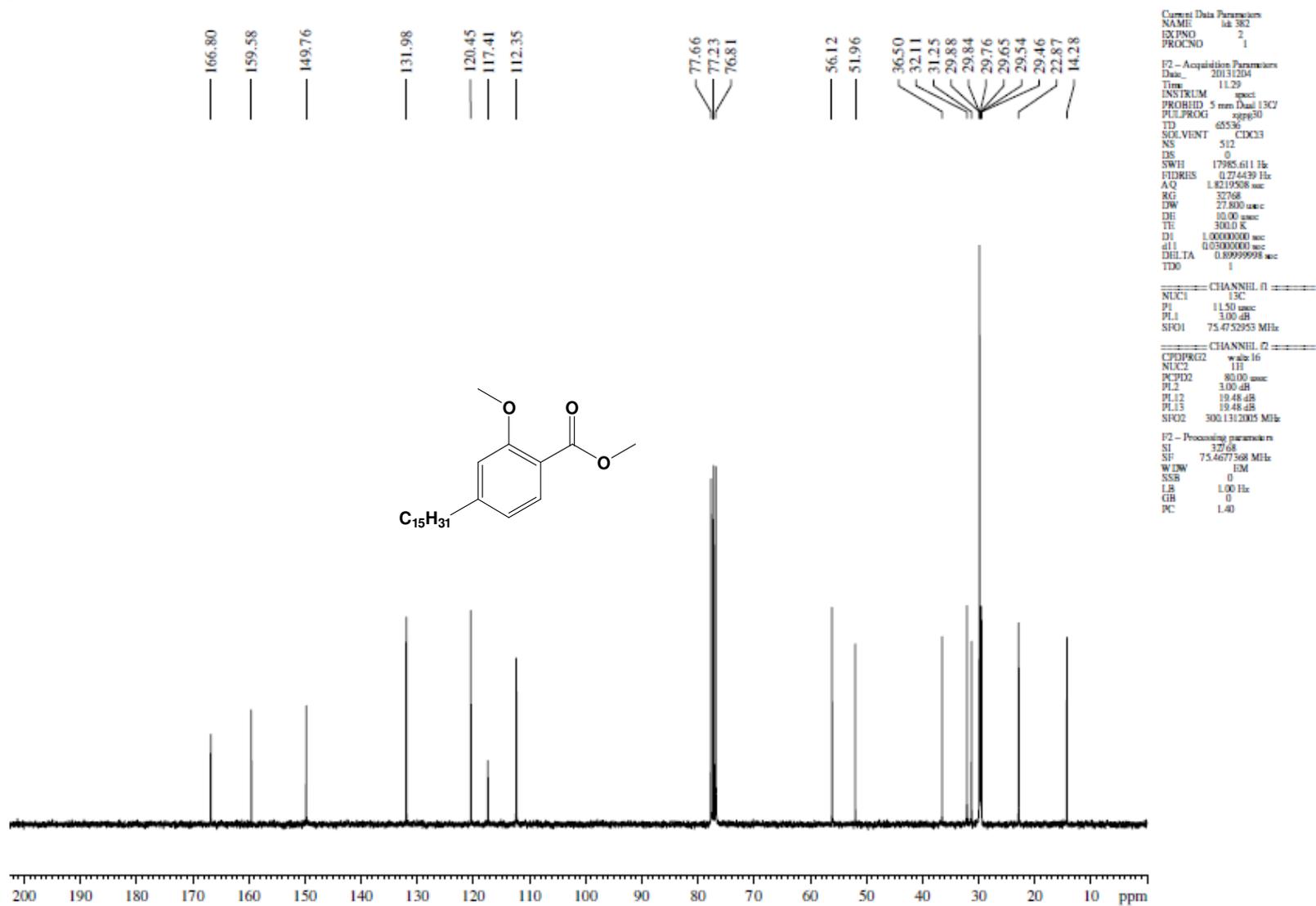
## Anexo 19



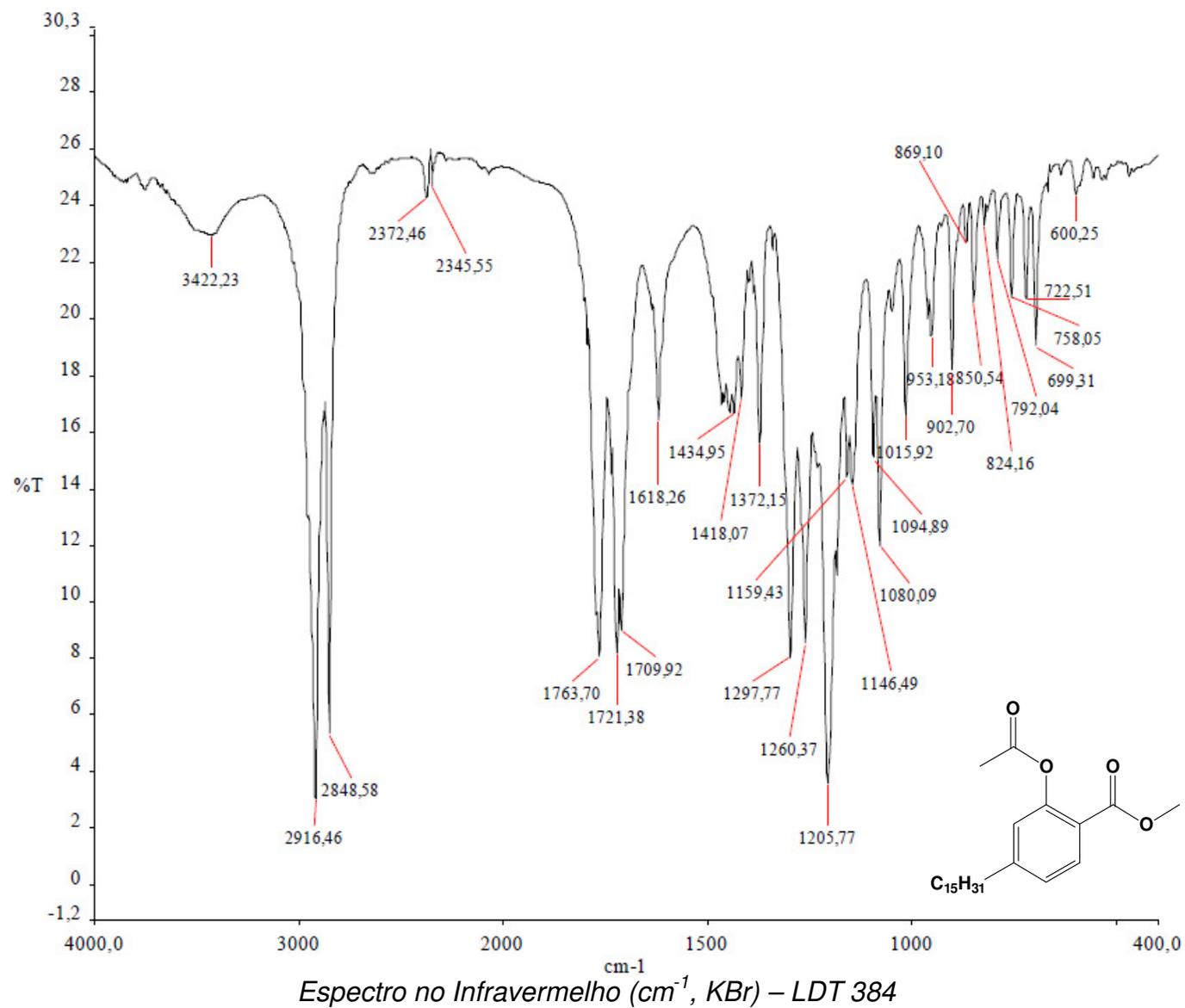
## Anexo 20

Espectro de RMN  $^1H$  (300 MHz,  $CDCl_3$ ) – LDT 382

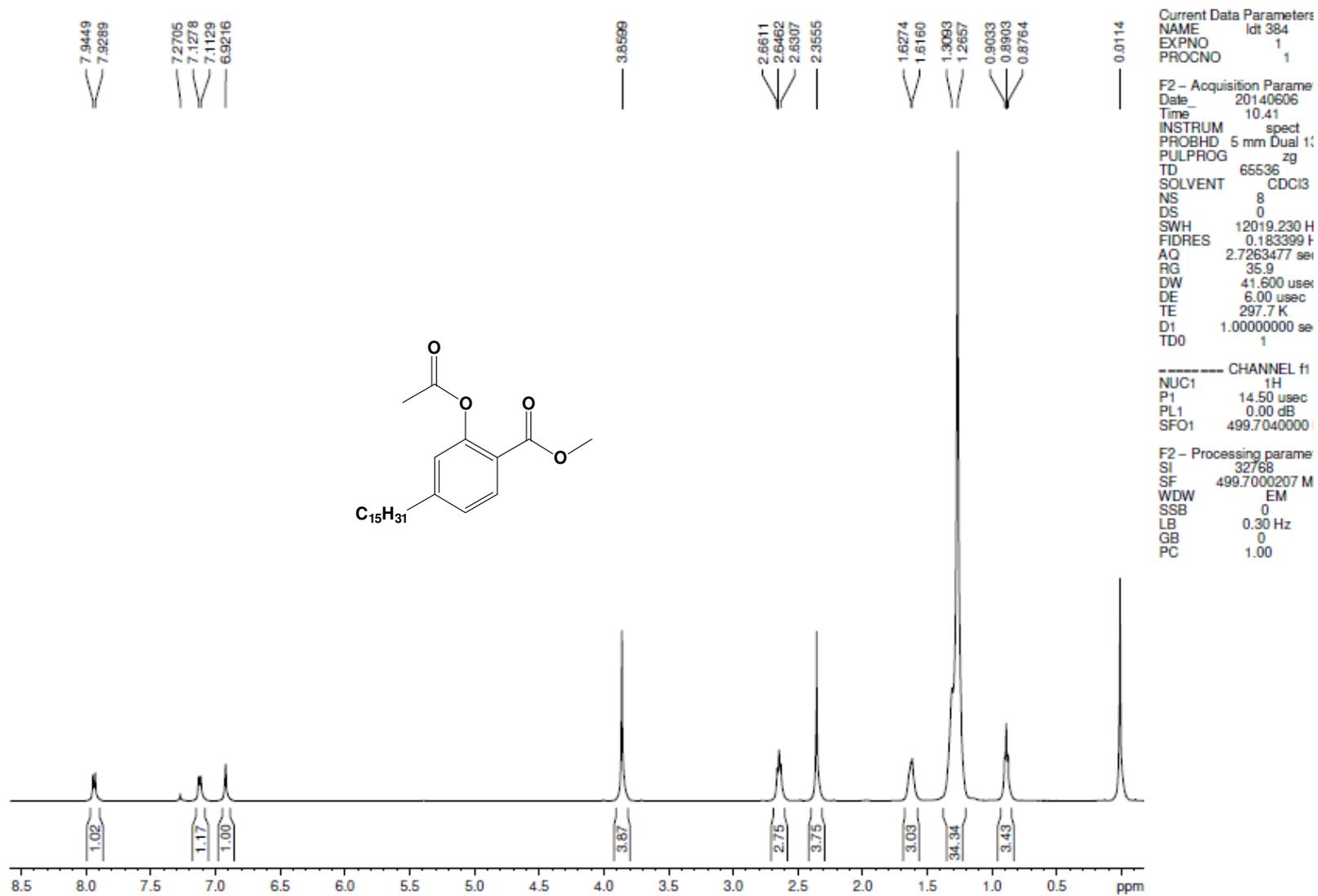
## Anexo 21

Espectro de RMN  $^{13}C$  (75 MHz,  $CDCl_3$ ) – LDT 382

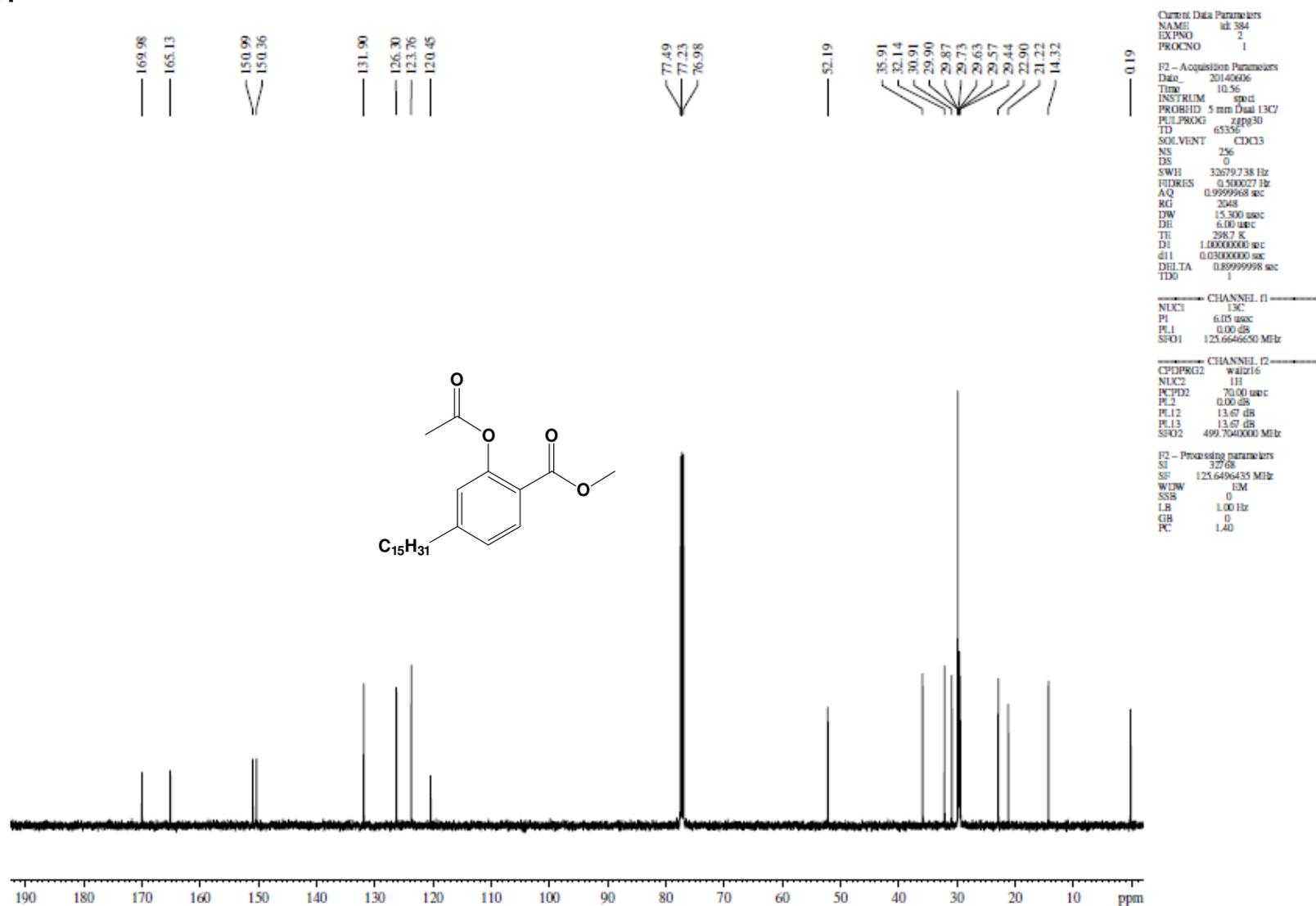
## Anexo 22



## Anexo 23

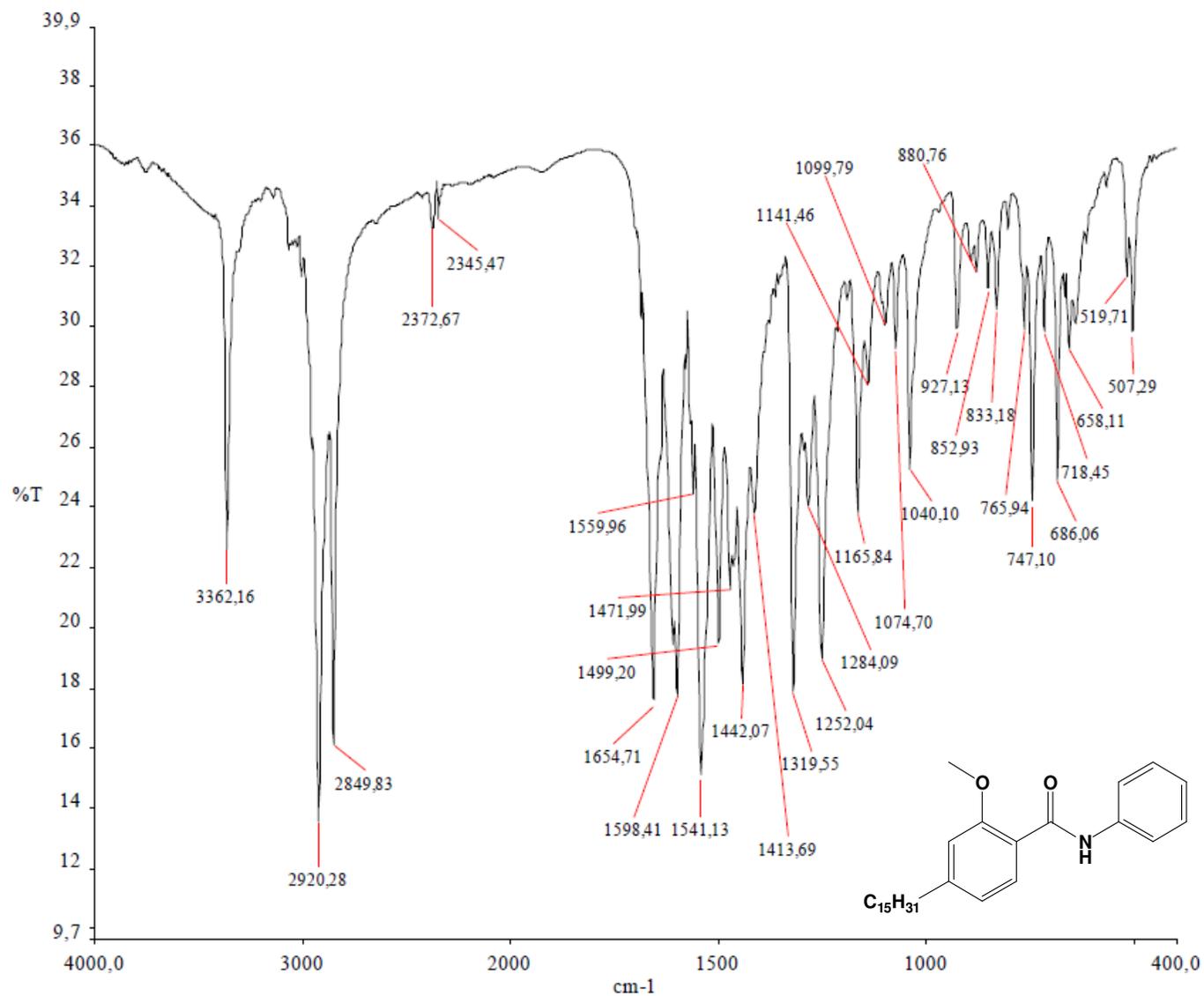
Espectro de RMN <sup>1</sup>H (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) – LDT 384

## Anexo 24



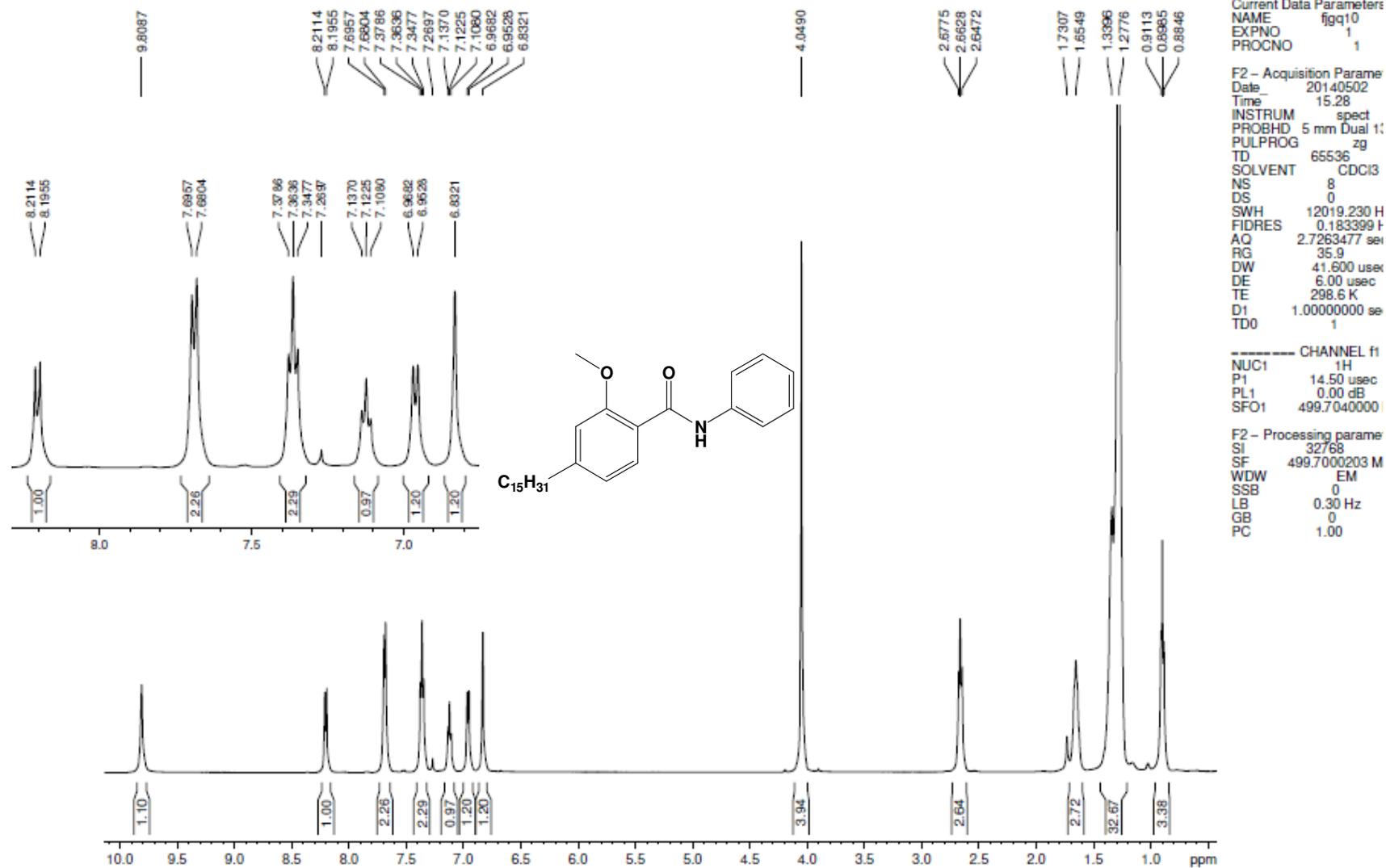
*Espectro de RMN <sup>13</sup>C (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>) – LDT 384*

## Anexo 25

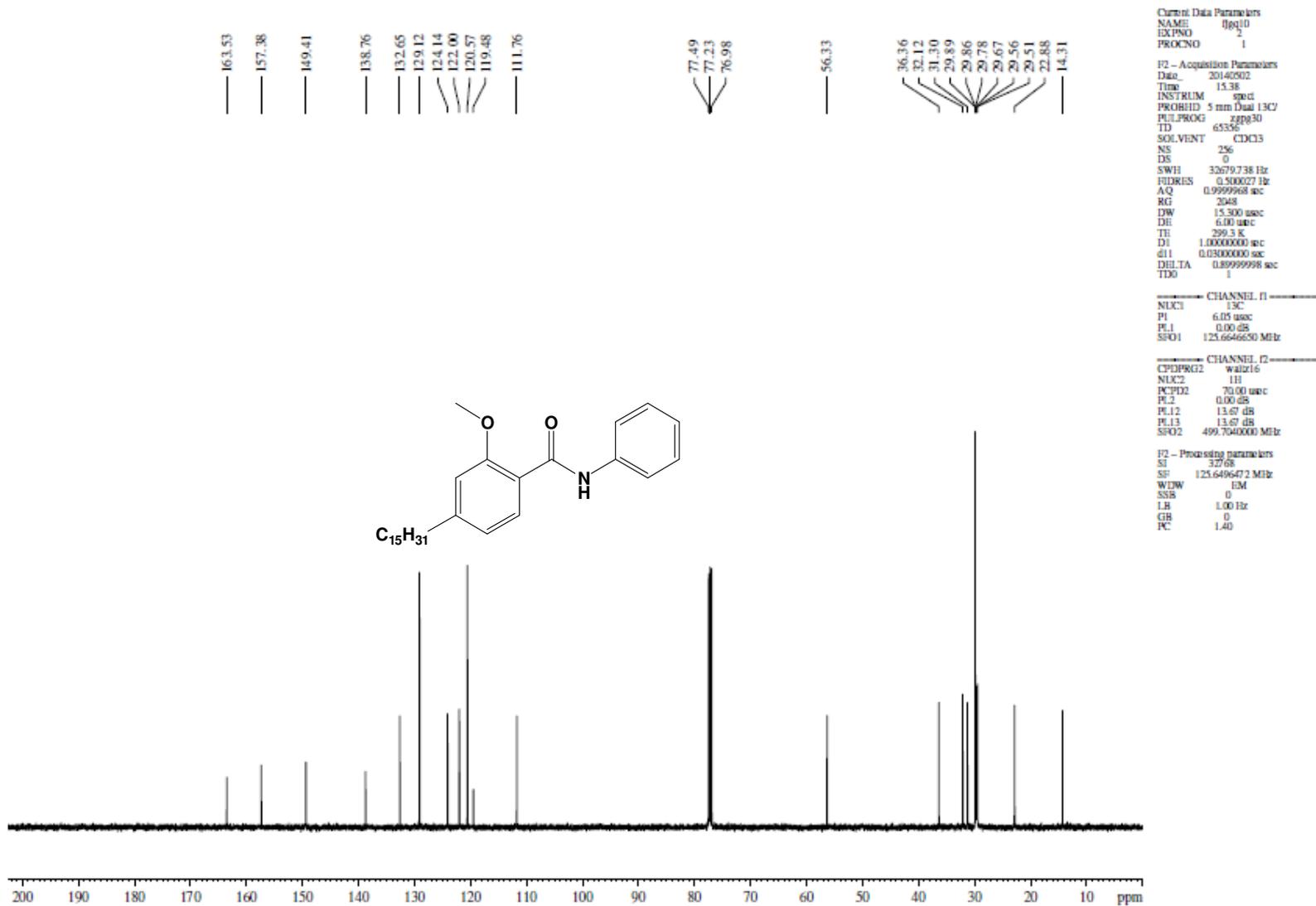


*Espectro no Infravermelho (cm<sup>-1</sup>, KBr) – LDT 652*

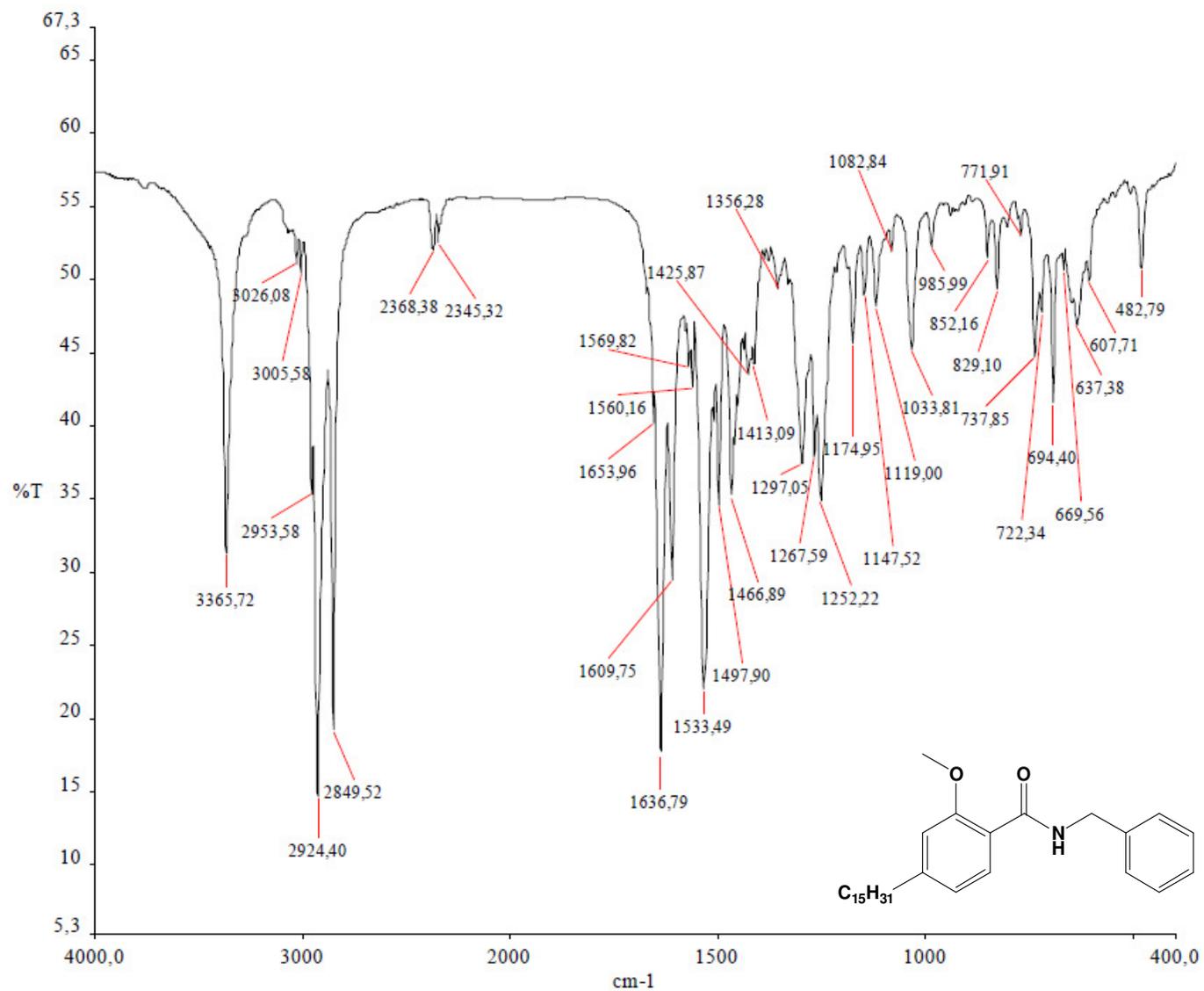
## Anexo 26

Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) – LDT 652

## Anexo 27

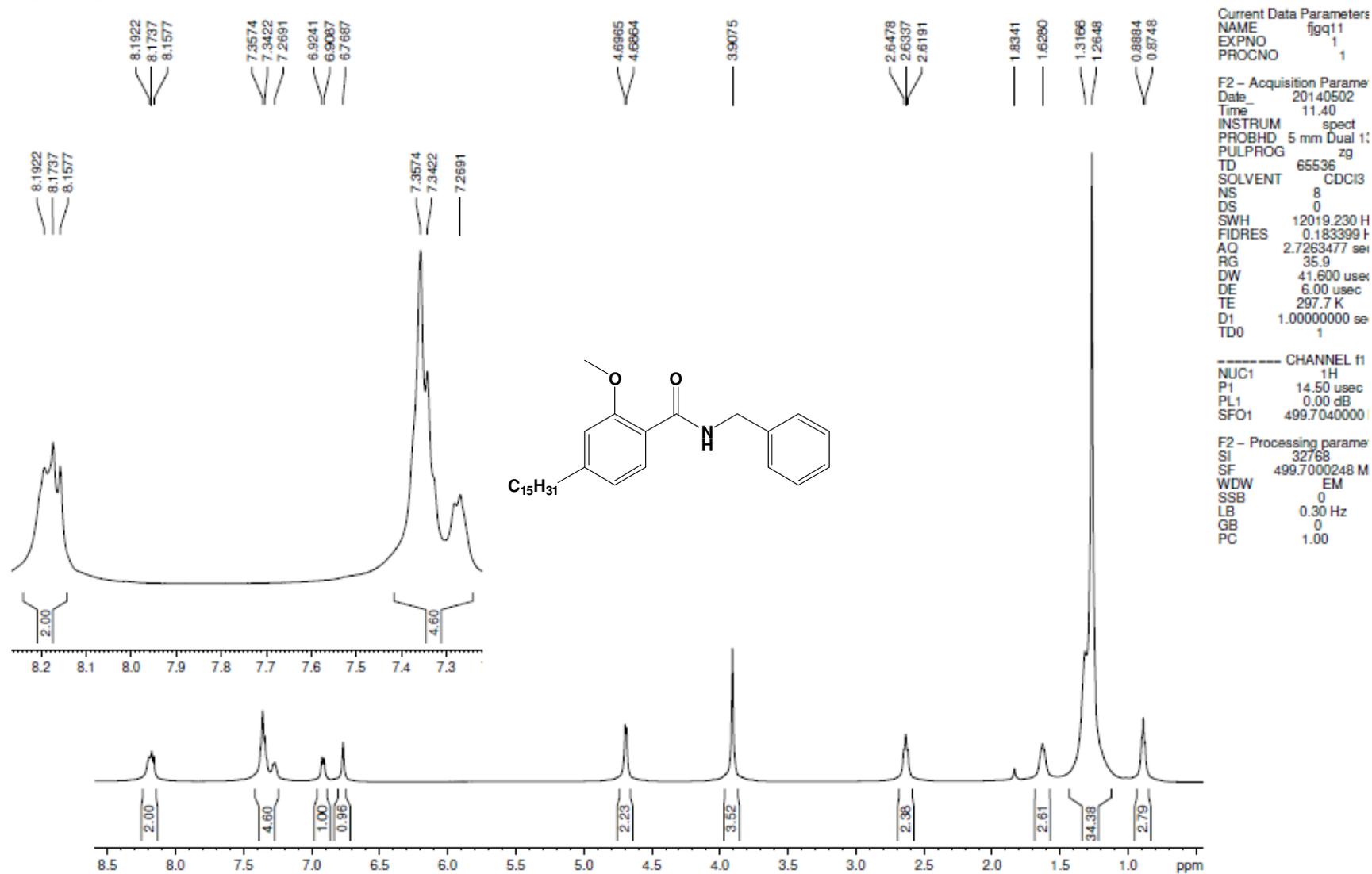
Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) – LDT 652

## Anexo 28

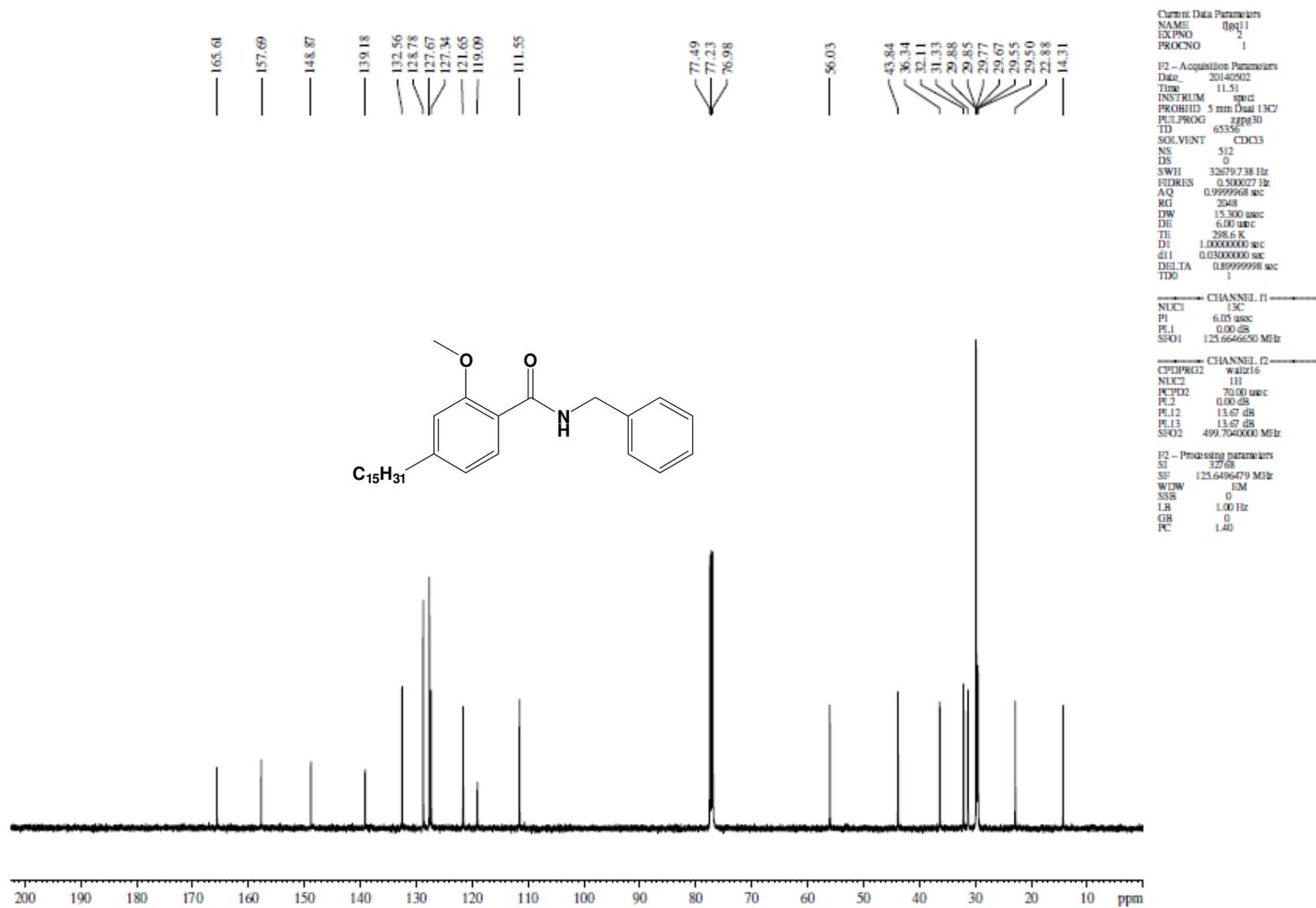


*Espectro no Infravermelho (cm<sup>-1</sup>, KBr) – LDT 654*

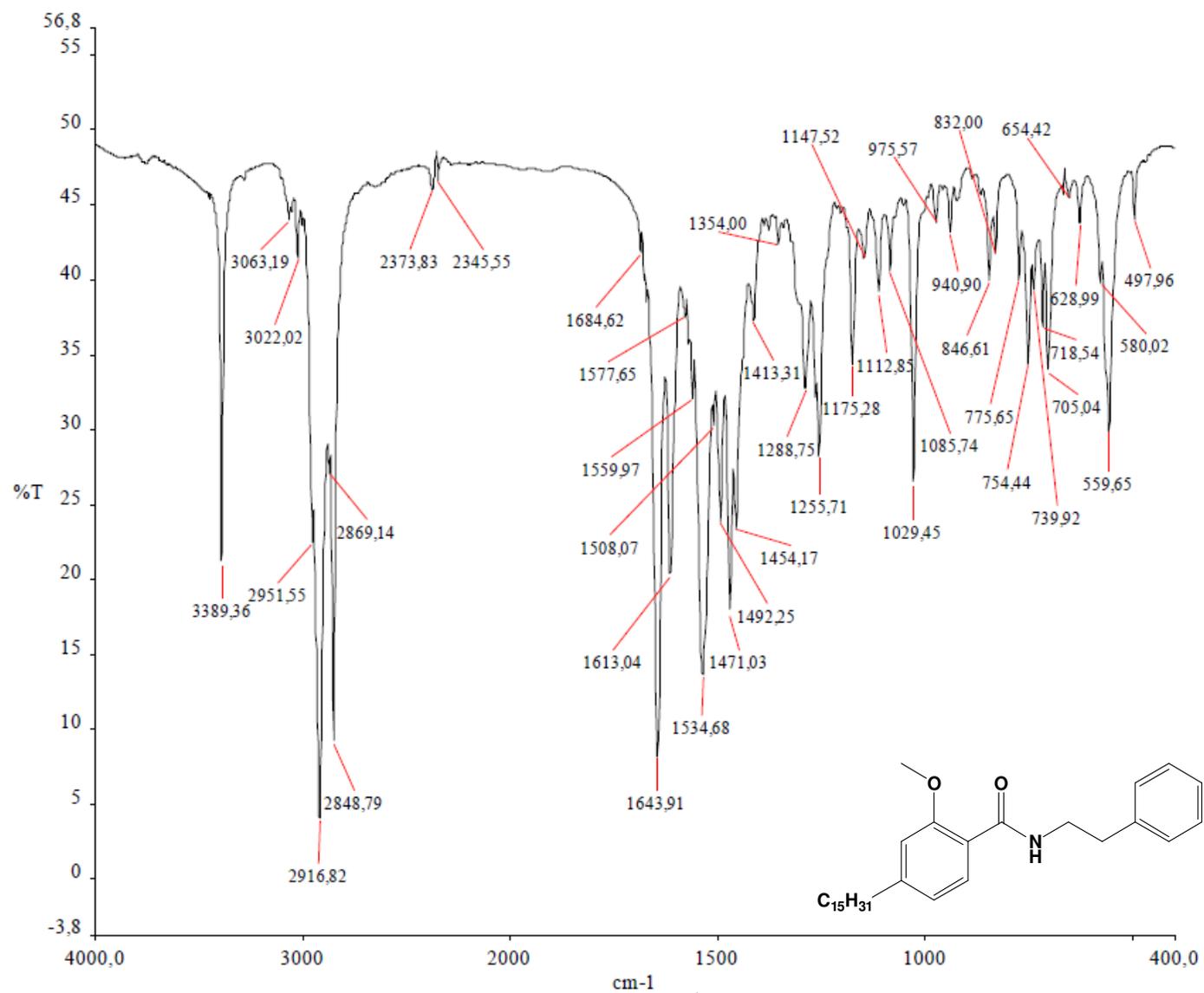
## Anexo 29

Espectro de RMN <sup>1</sup>H (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) – LDT 654

## Anexo 30

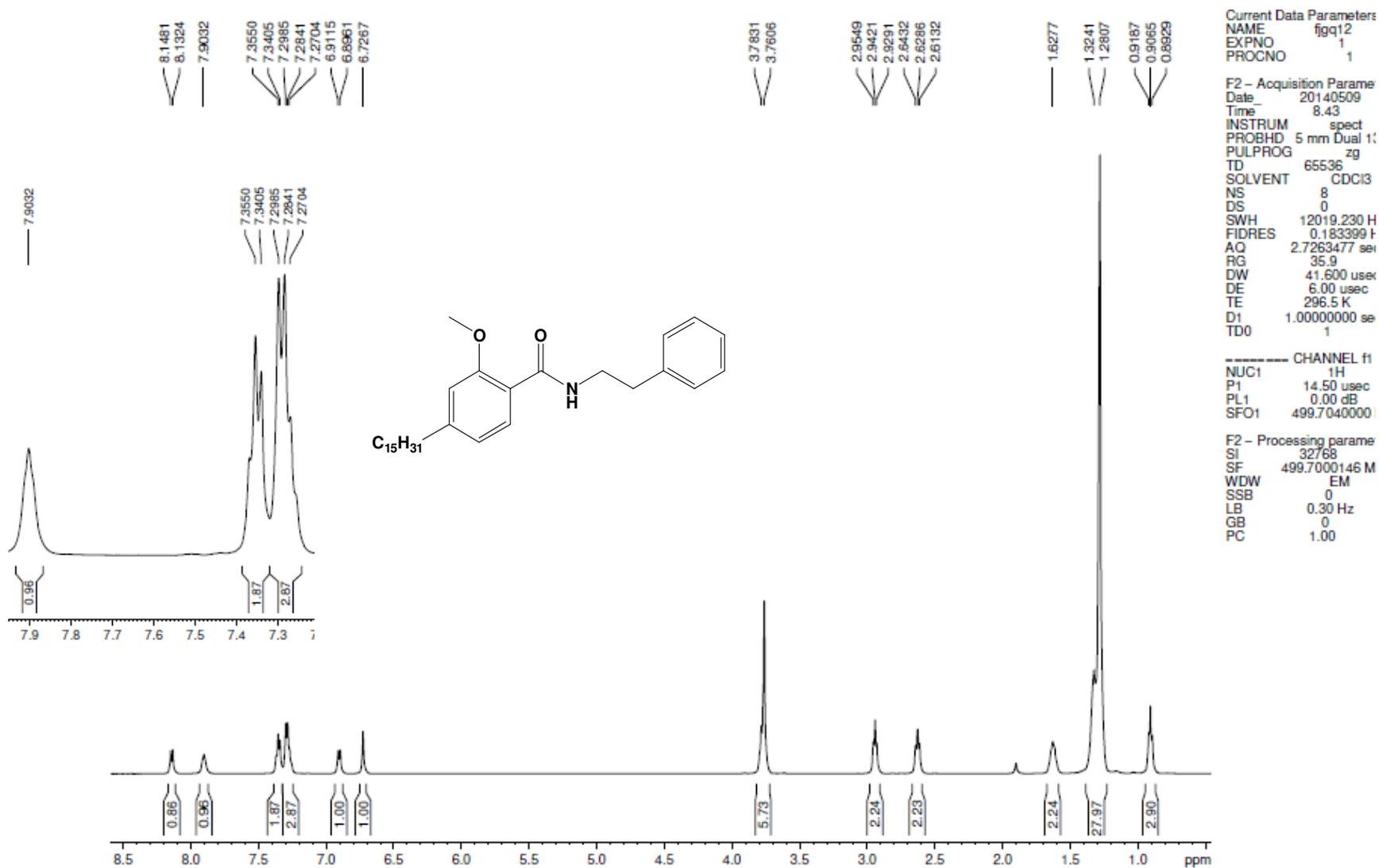
Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) – LDT 654

## Anexo 31

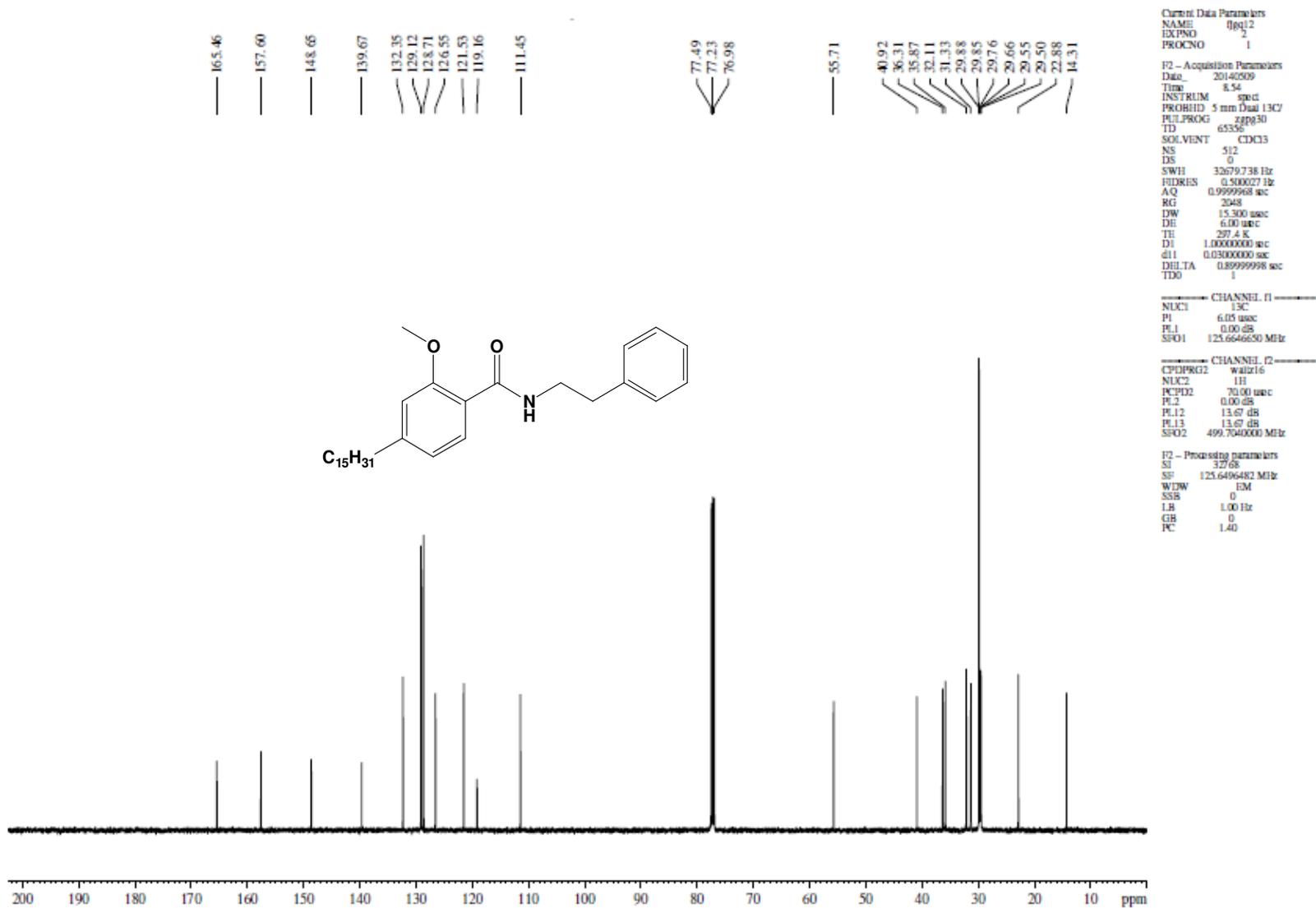


*Espectro no Infravermelho (cm<sup>-1</sup>, KBr) – LDT 656*

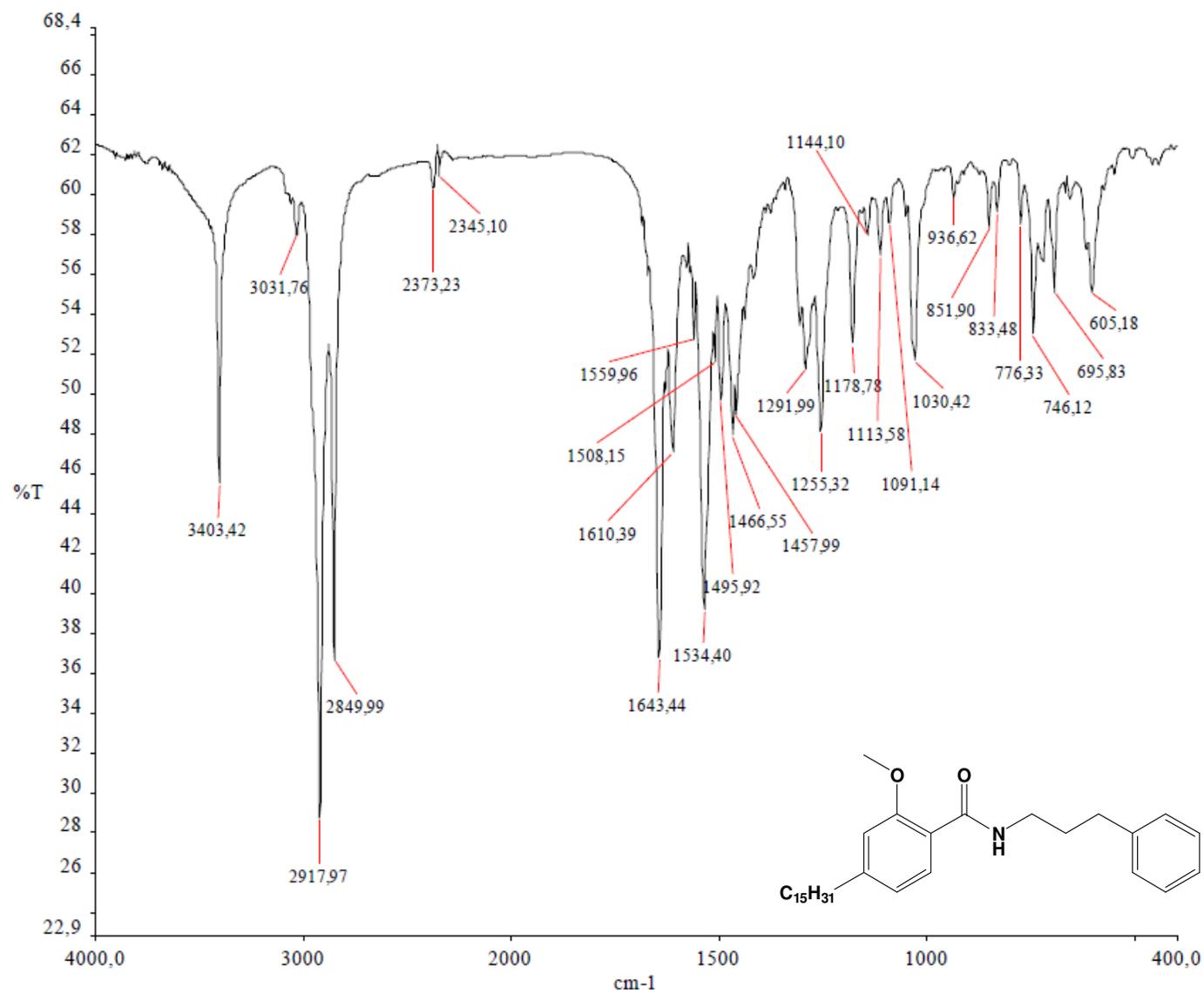
## Anexo 32

Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) – LDT 656

## Anexo 33

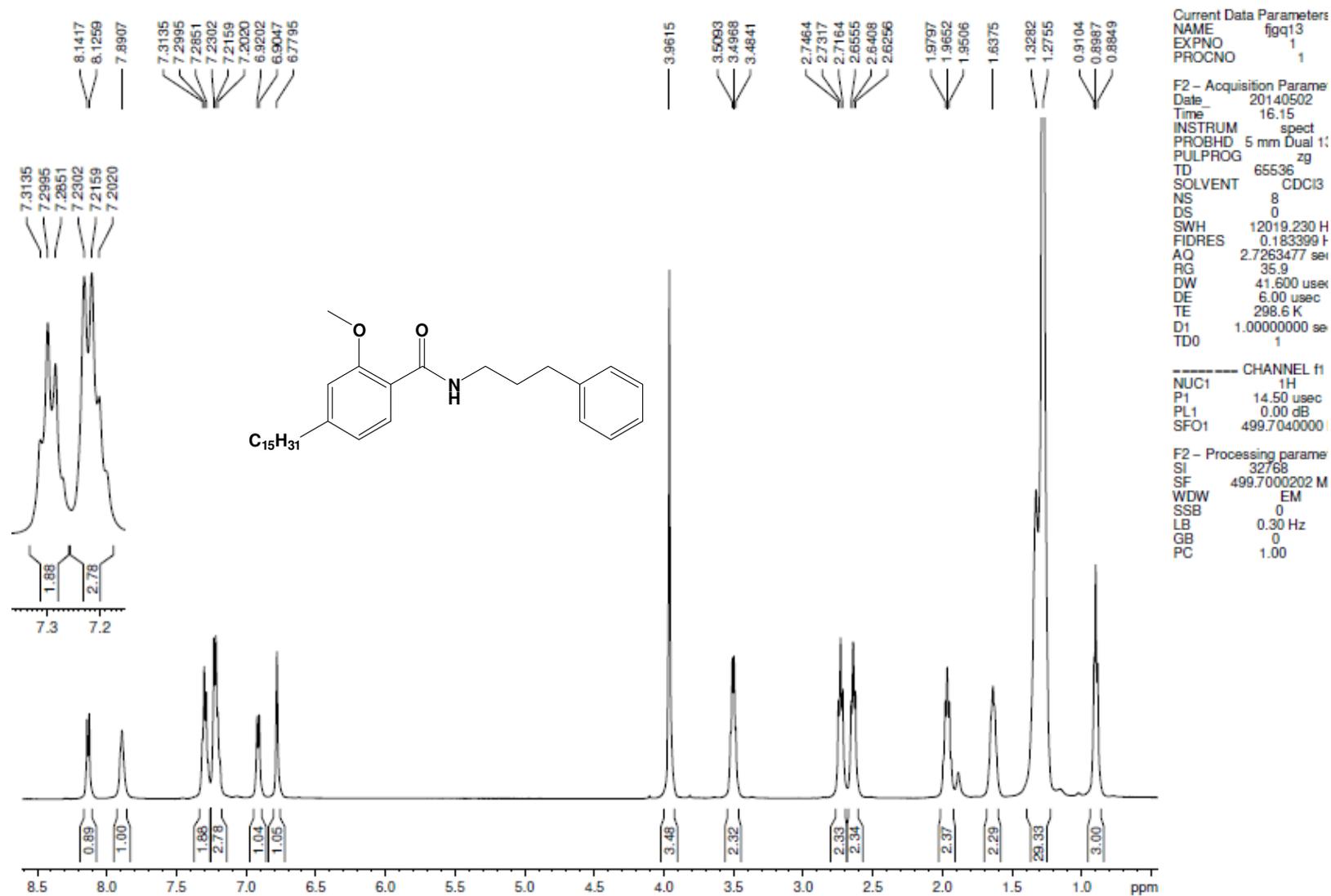
Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) - LDT 656

## Anexo 34

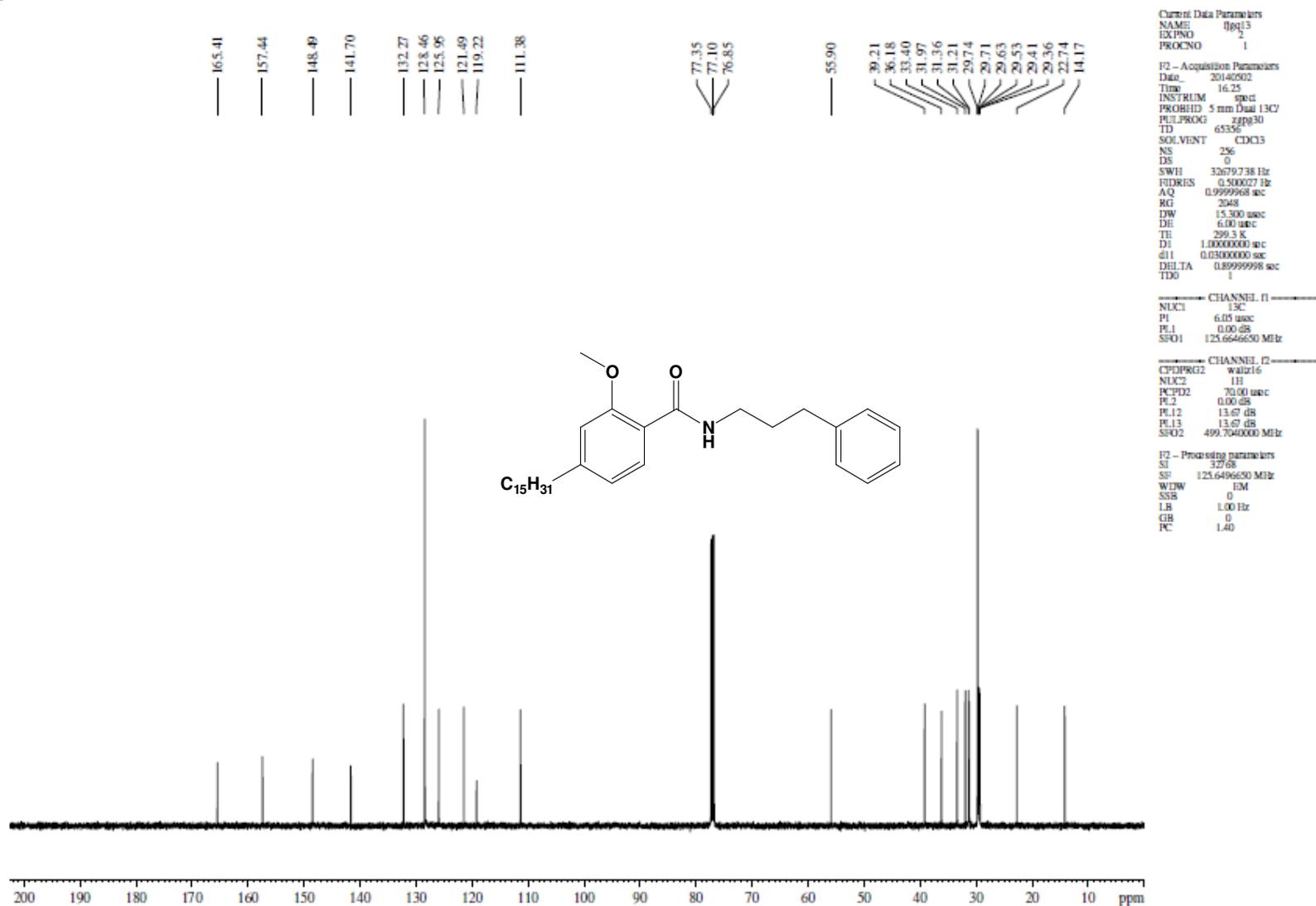


*Espectro no Infravermelho (cm<sup>-1</sup>, KBr) – LDT 658*

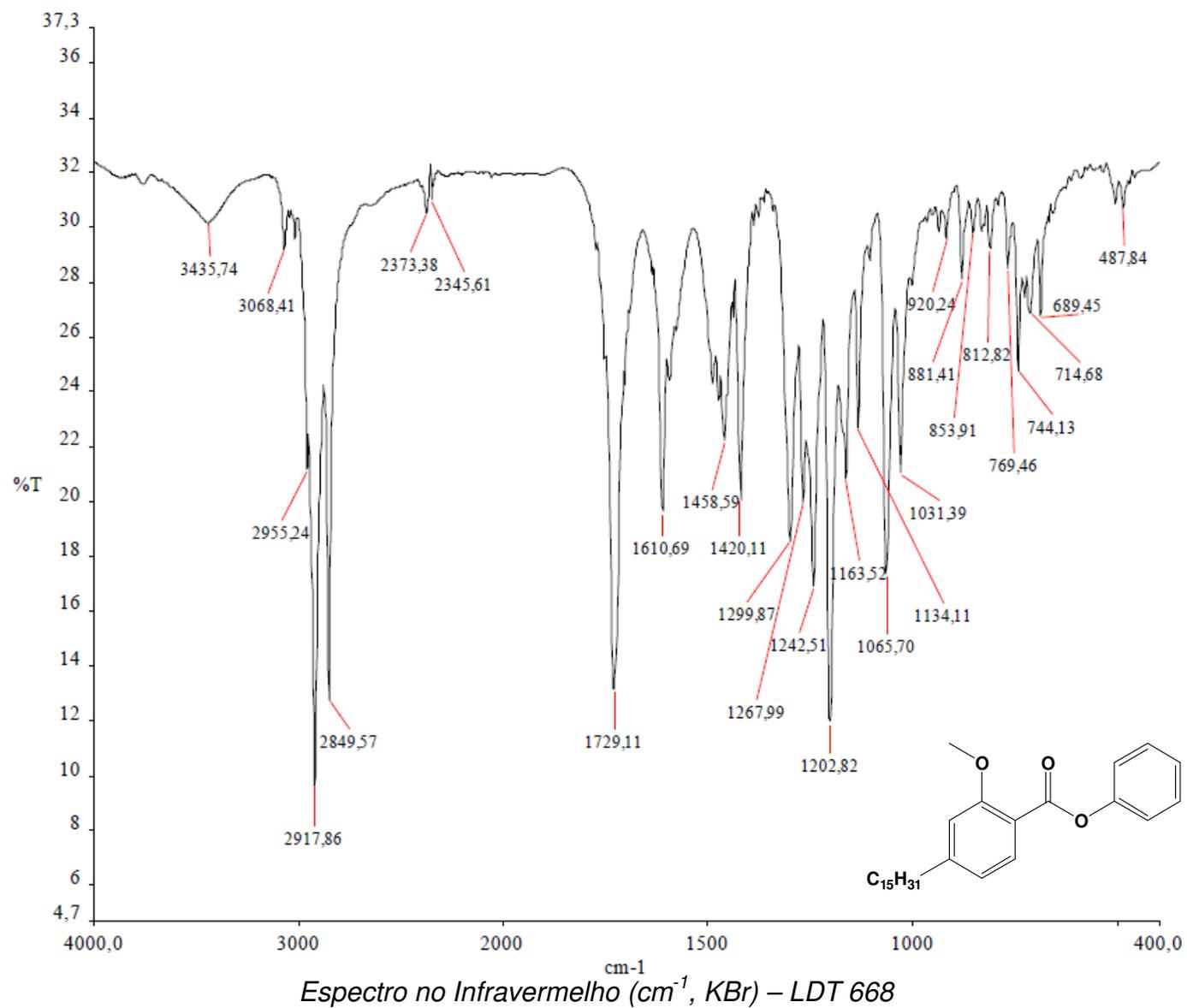
## Anexo 35

Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) – LDT 658

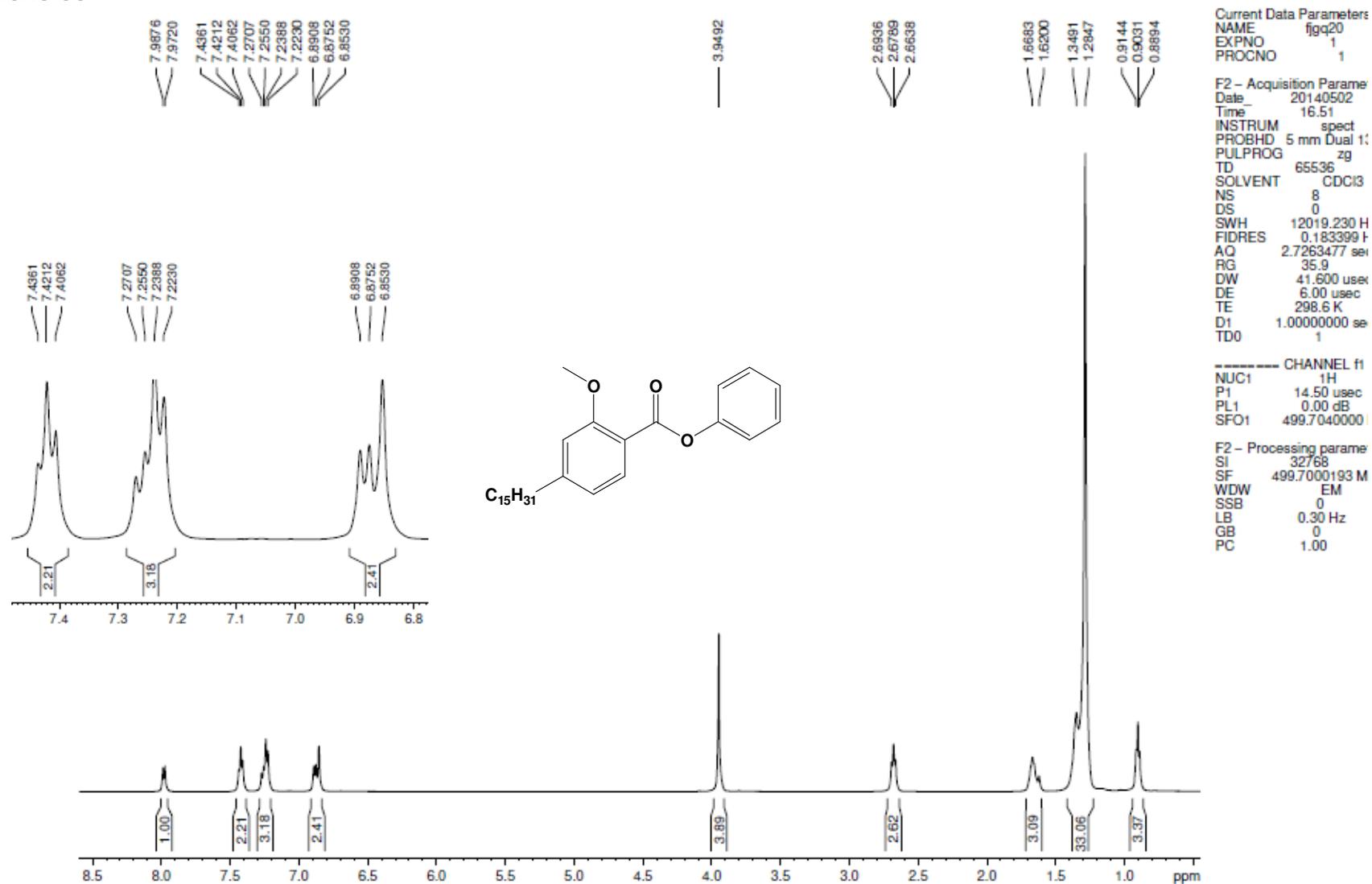
## Anexo 36

Espectro de RMN <sup>13</sup>C (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>) – LDT 658

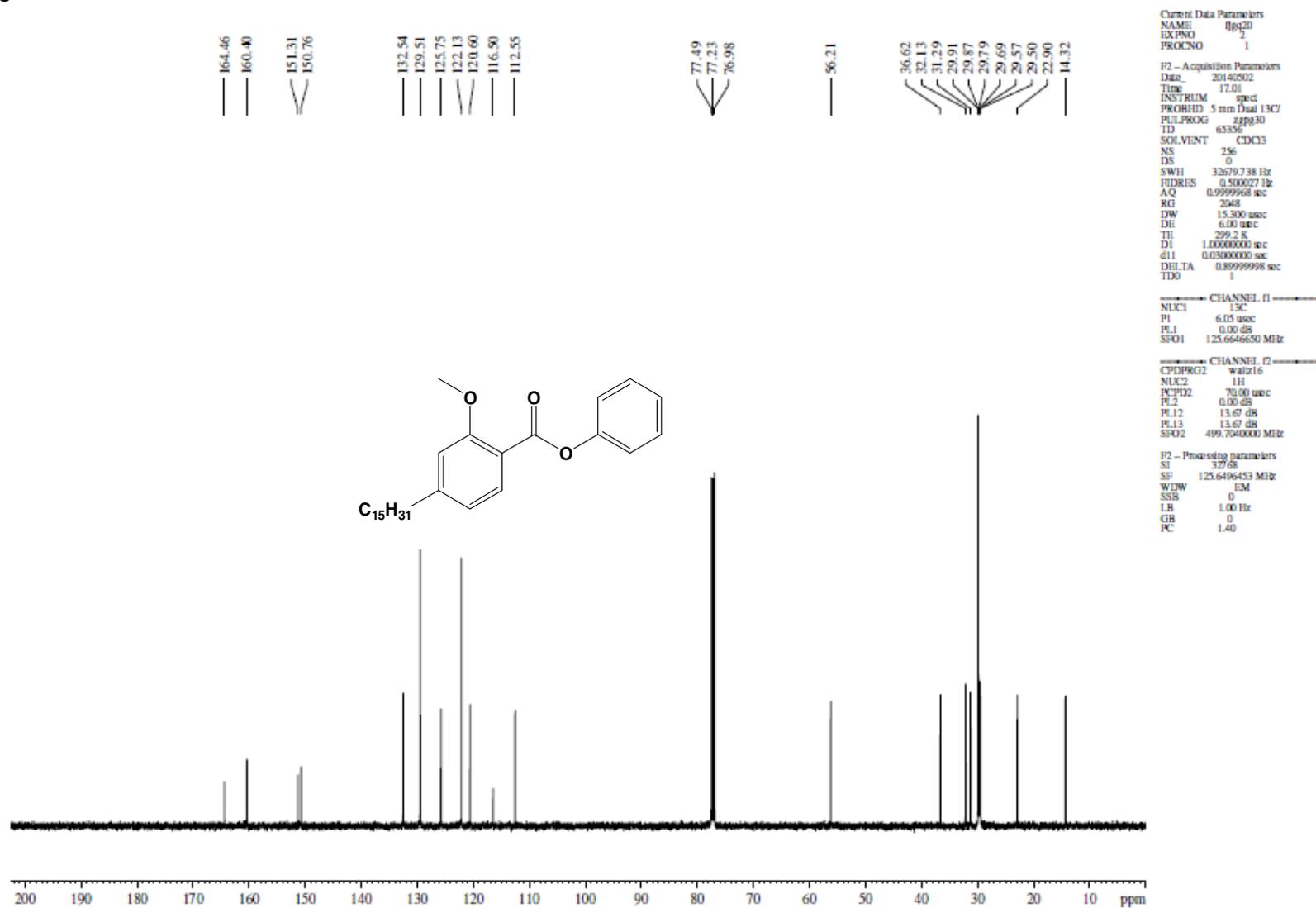
## Anexo 37



## Anexo 38

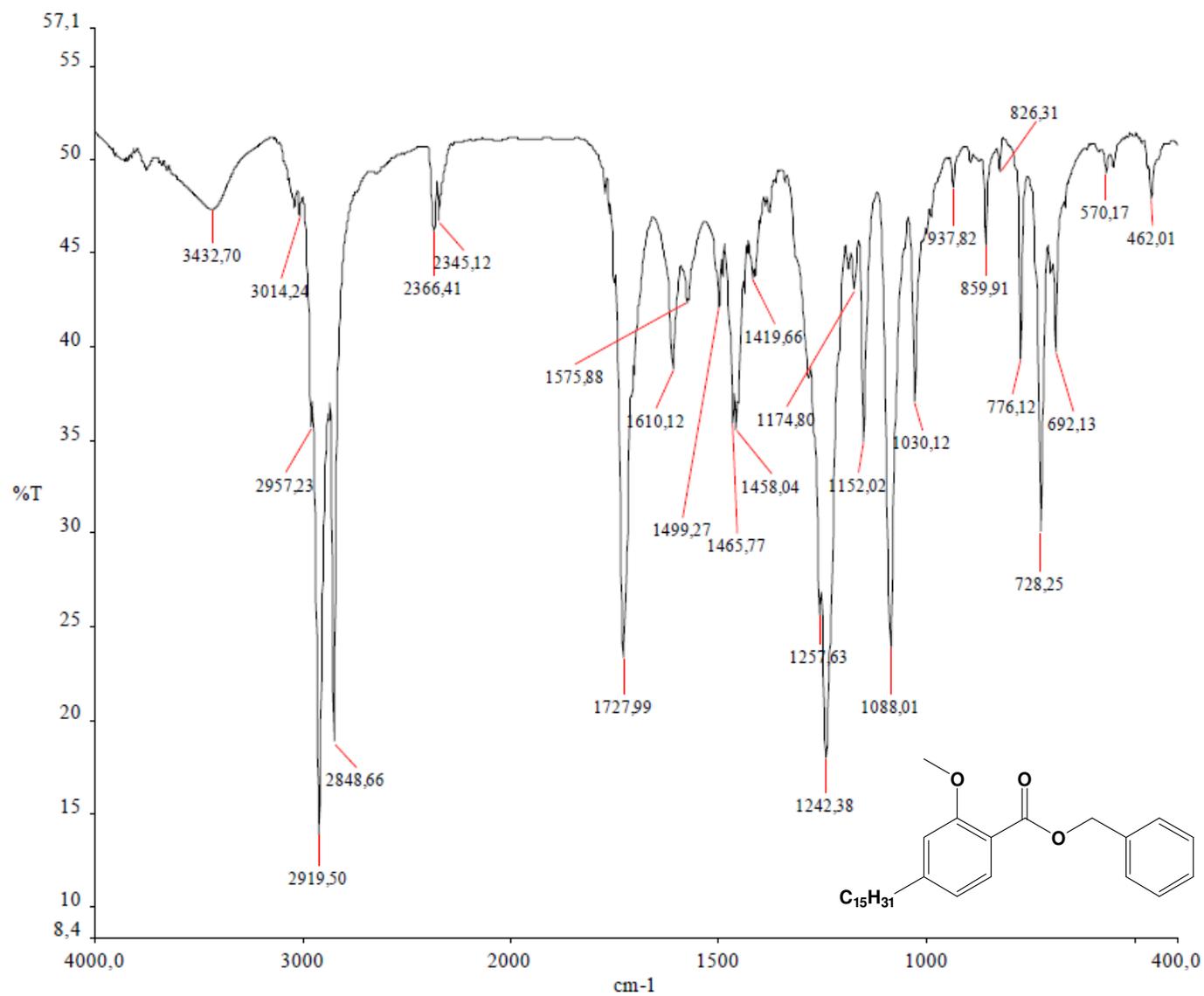
Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) – LDT 668

## Anexo 39

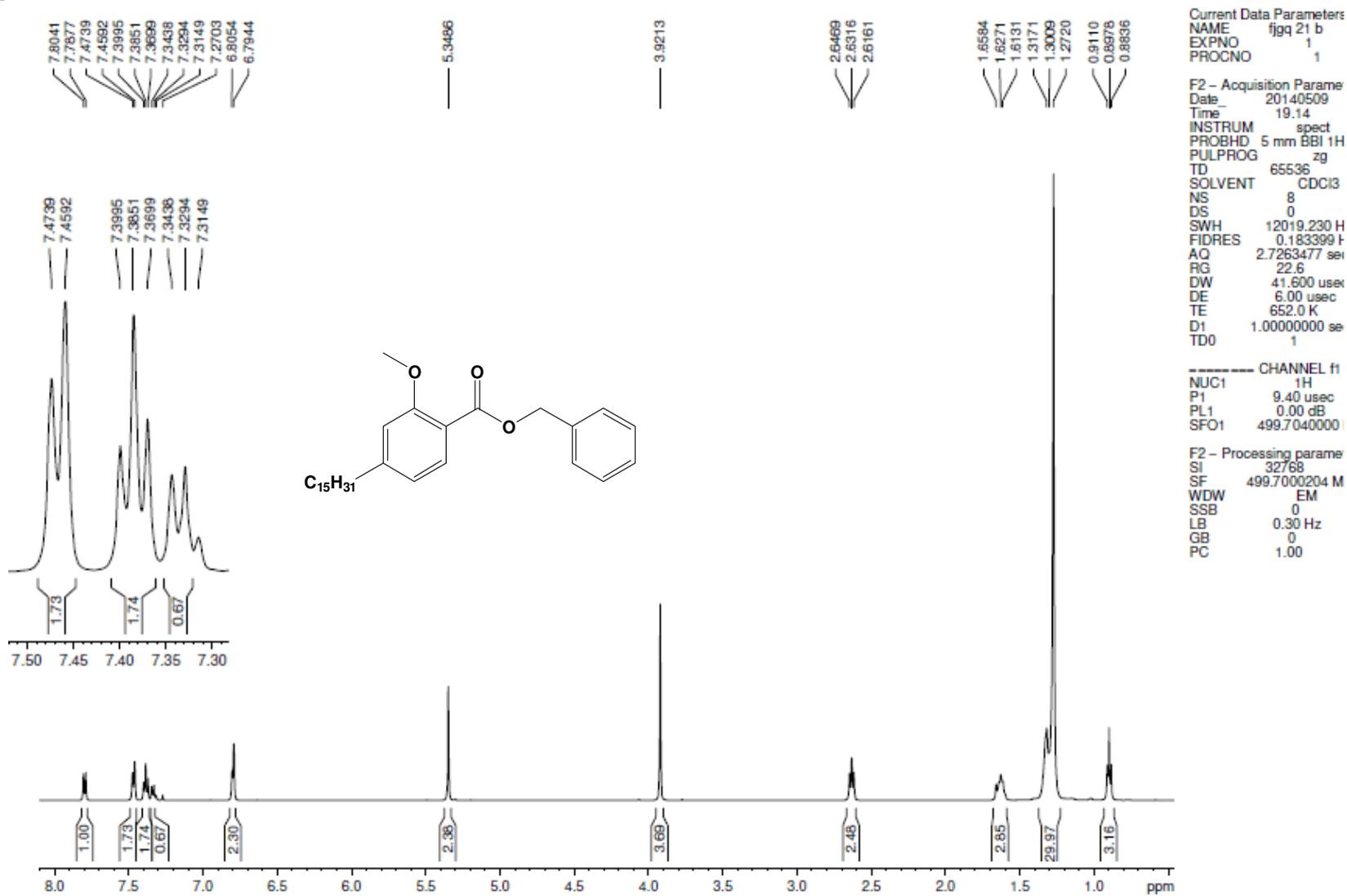


*Spectro de RMN <sup>13</sup>C (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>) – LDT 668*

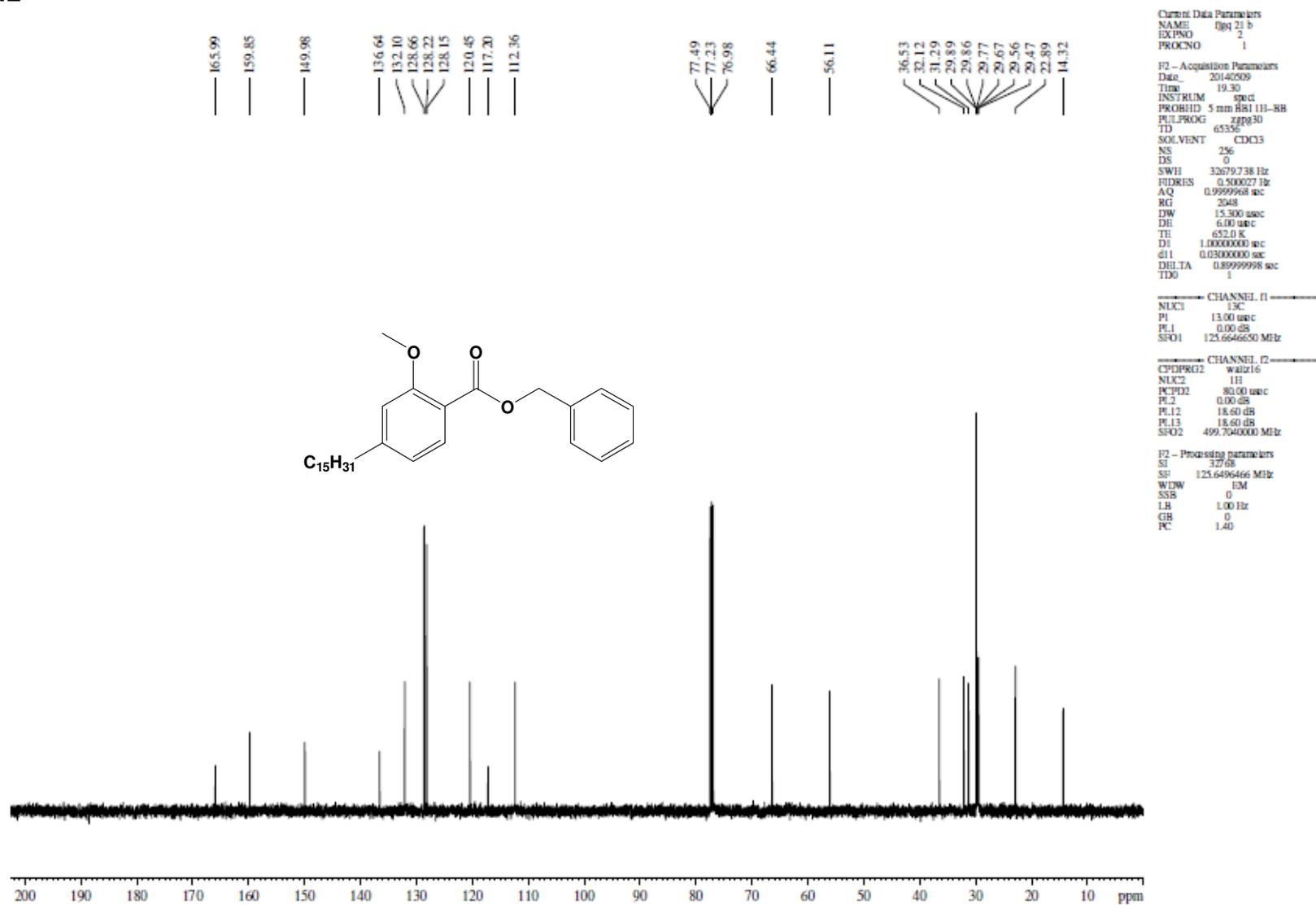
## Anexo 40



## Anexo 41

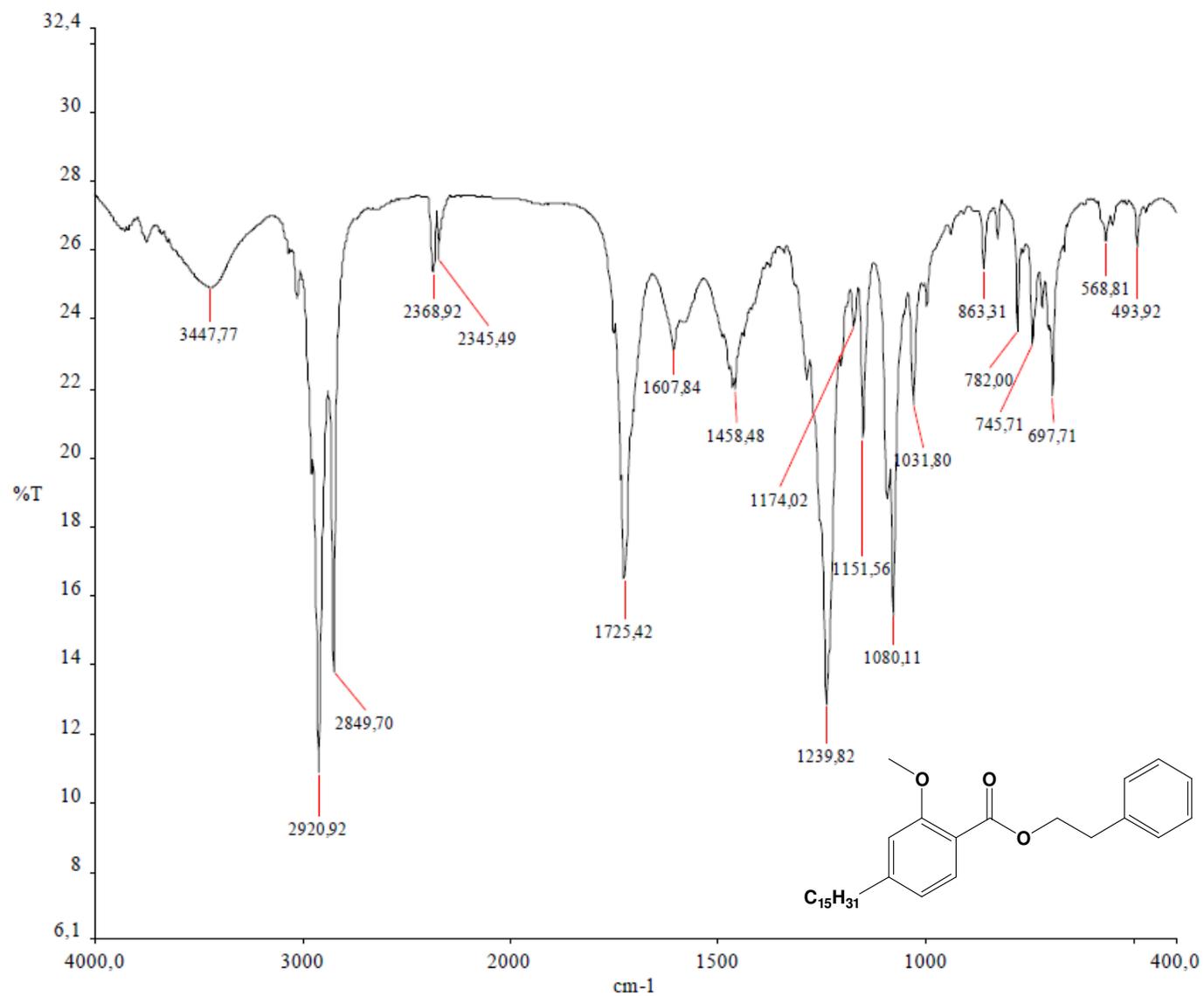
Espectro de RMN <sup>1</sup>H (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) – LDT 670

## Anexo 42

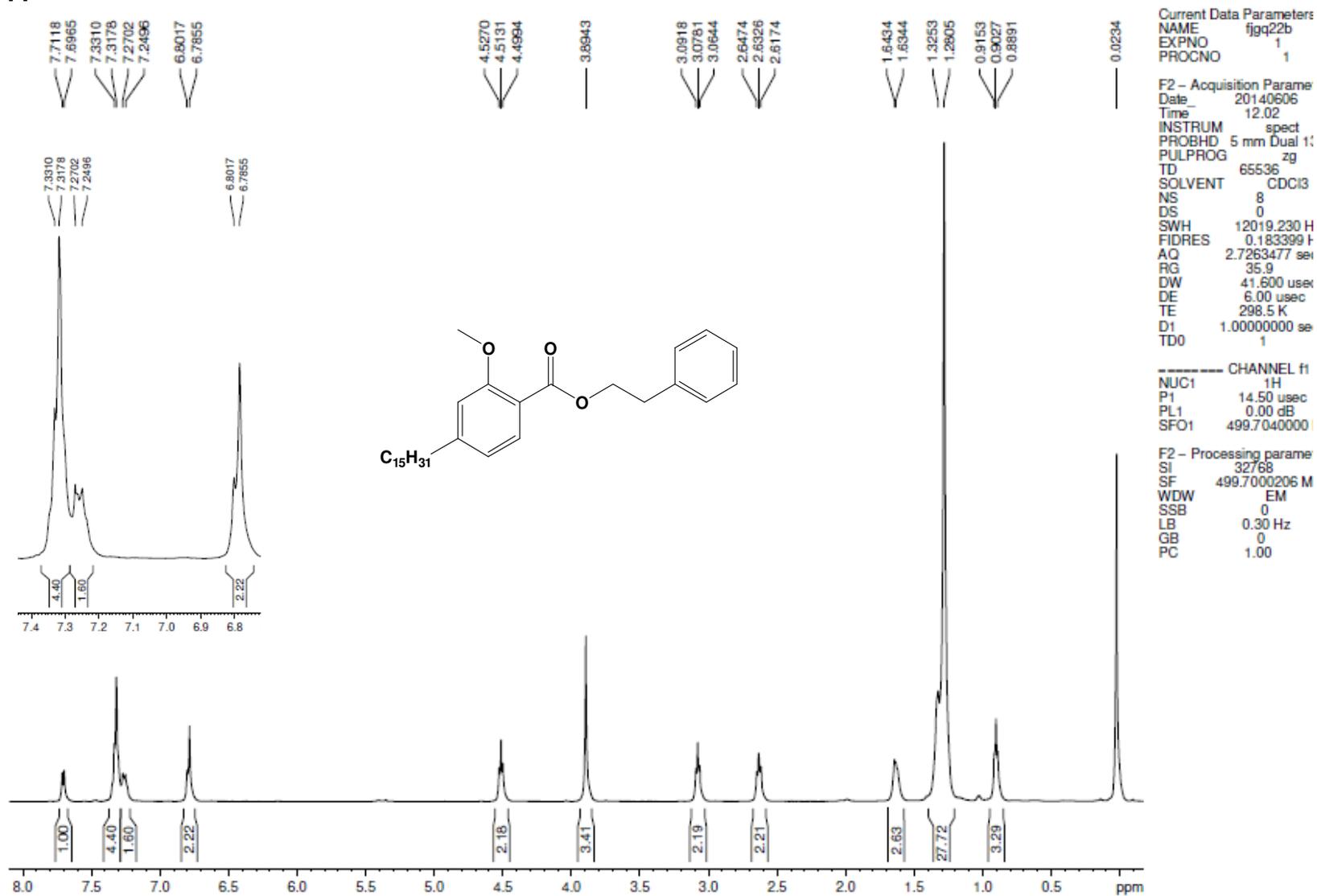


*Espectro de RMN <sup>13</sup>C (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>) – LDT 670*

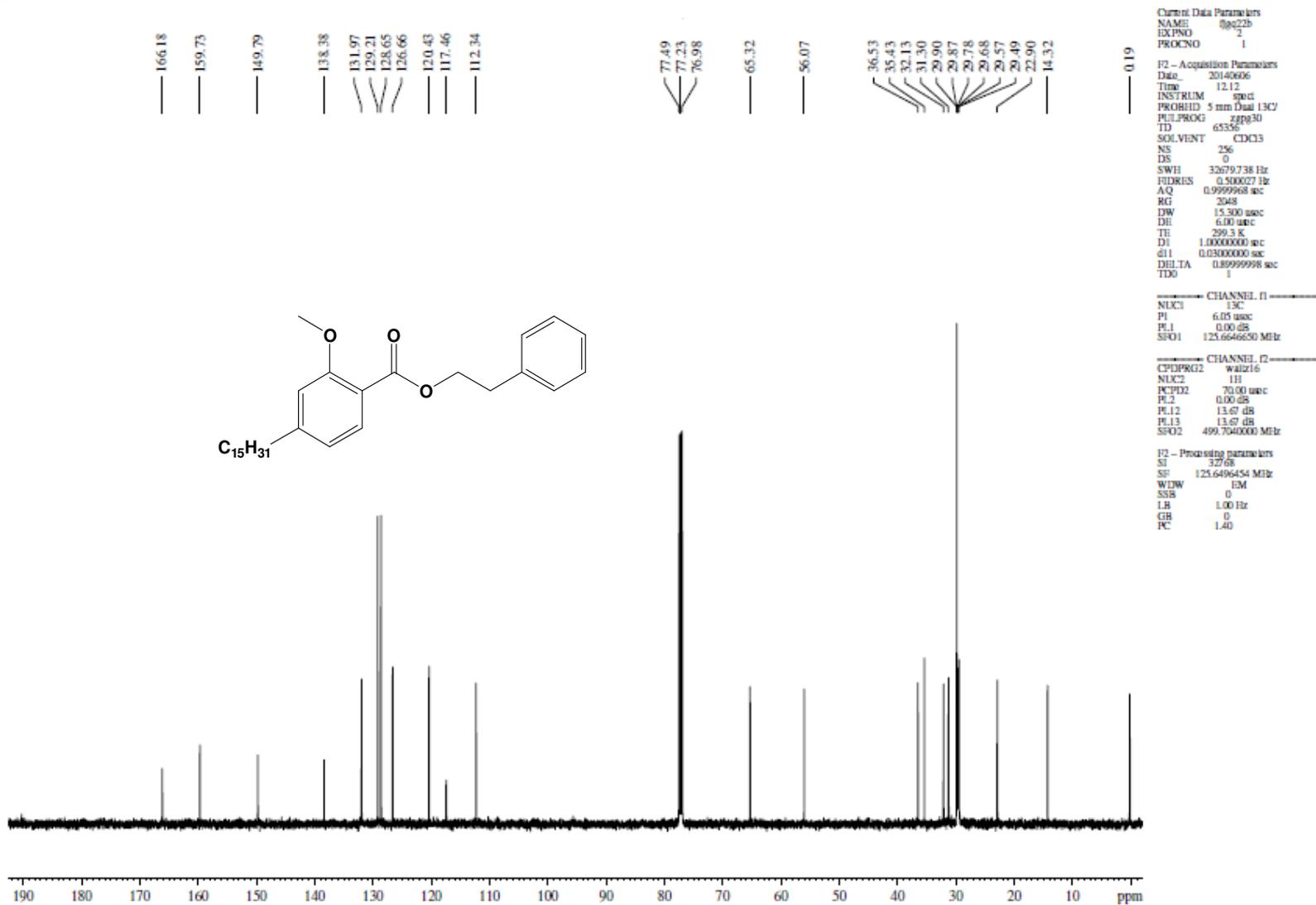
## Anexo 43



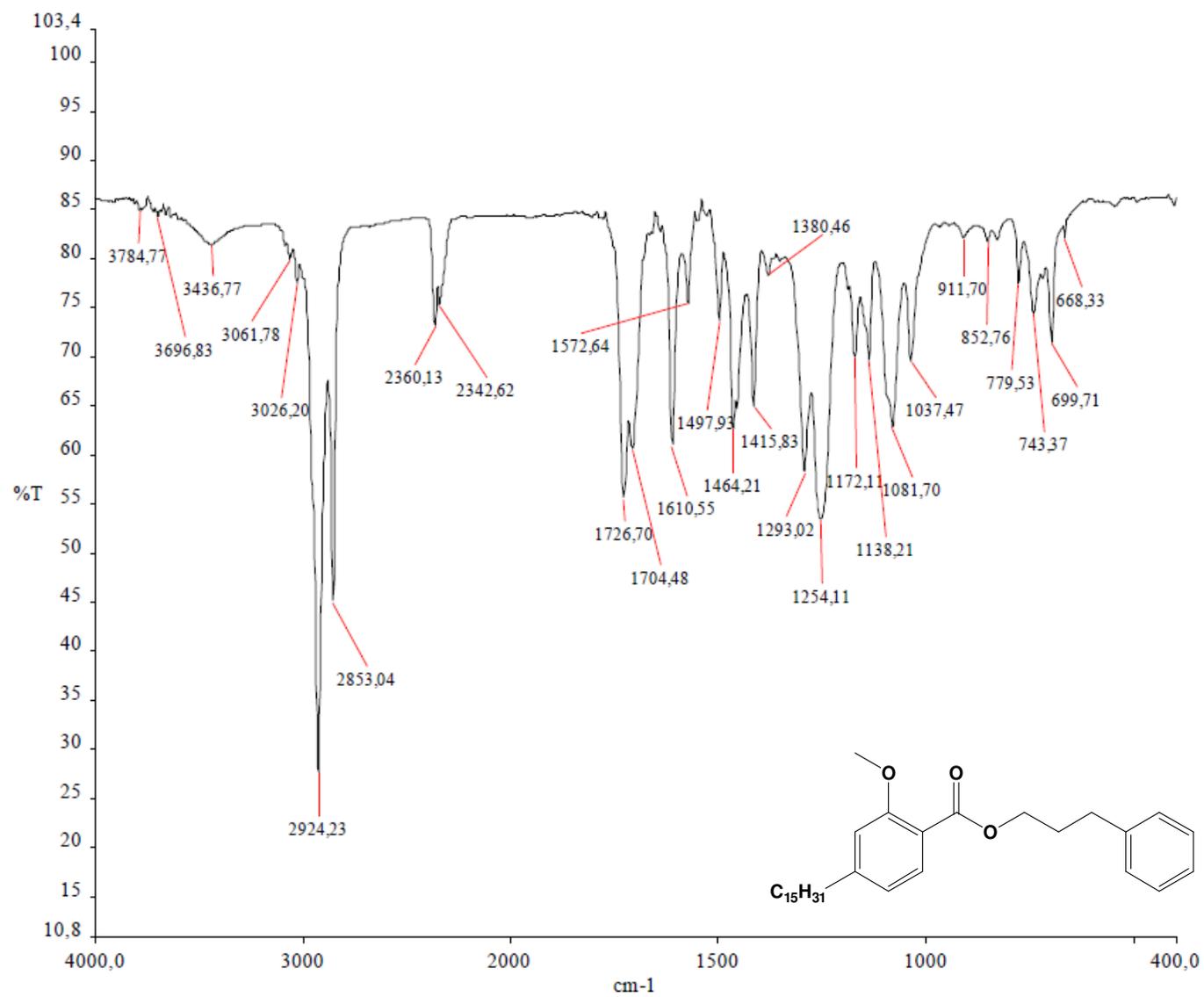
## Anexo 44

Espectro de RMN  $^1H$  (500 MHz,  $CDCl_3$ ) – LDT 672

## Anexo 45

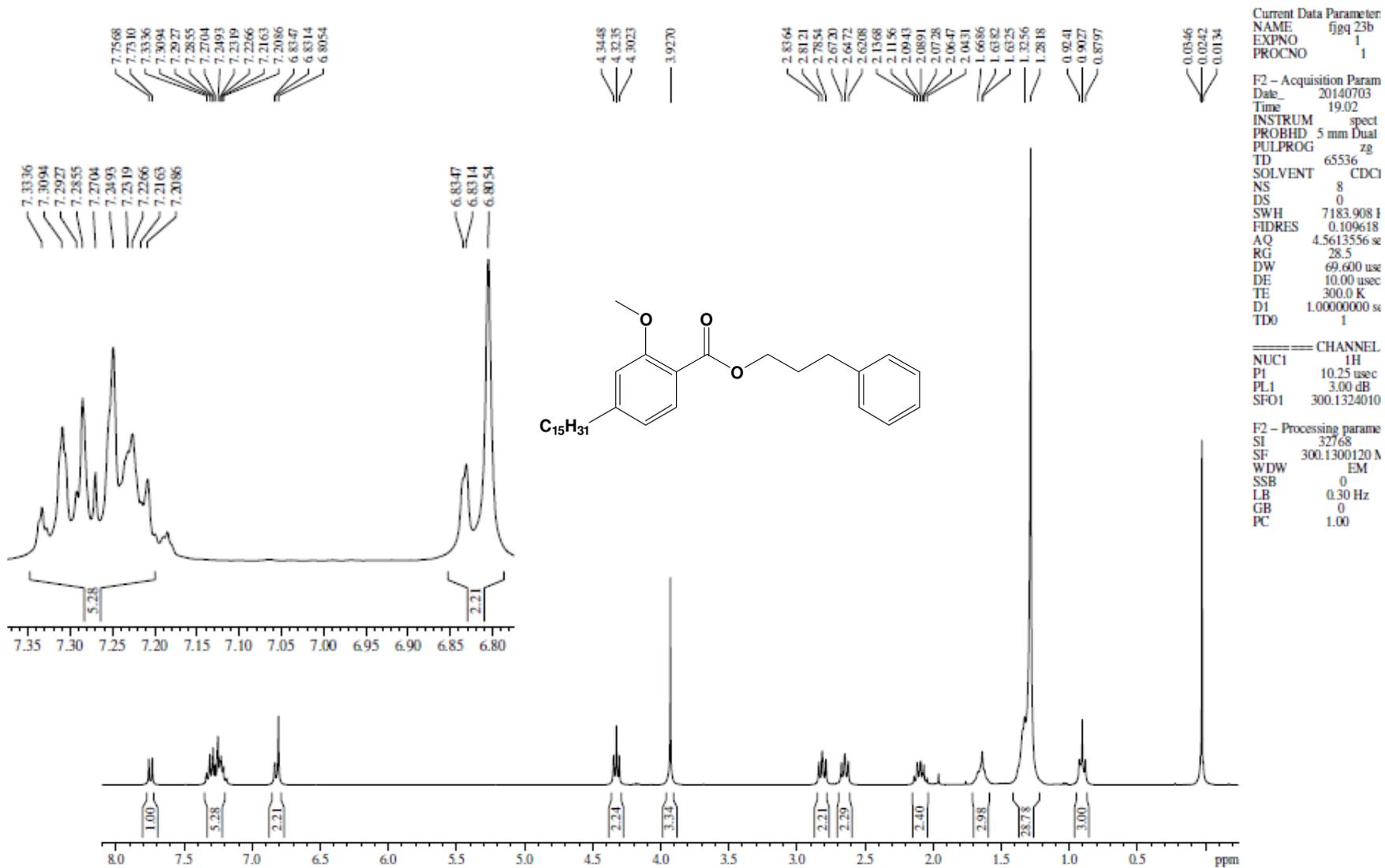
Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) - LDT 672

## Anexo 46

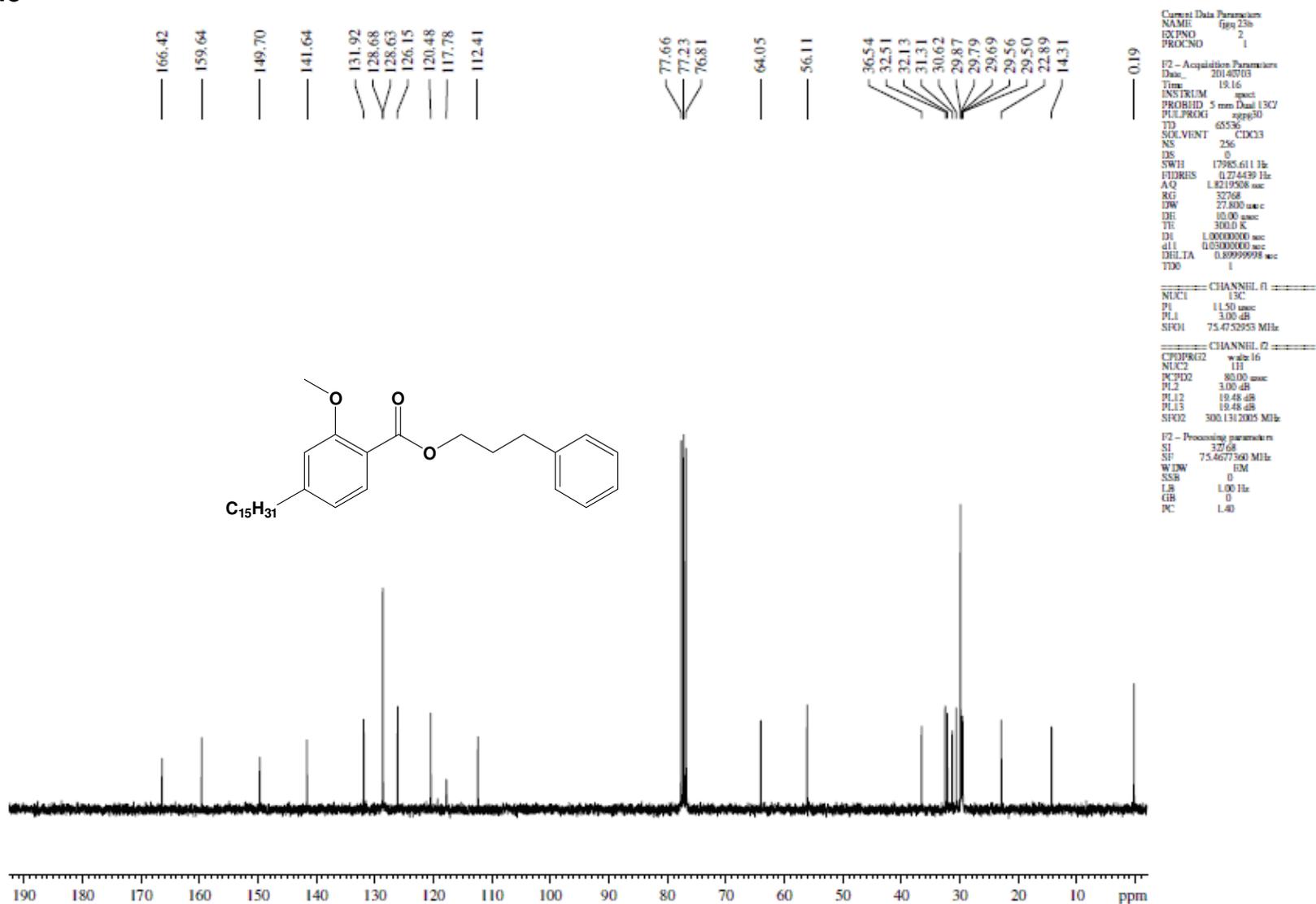


*Espectro no Infravermelho (cm<sup>-1</sup>, KBr) – LDT 674*

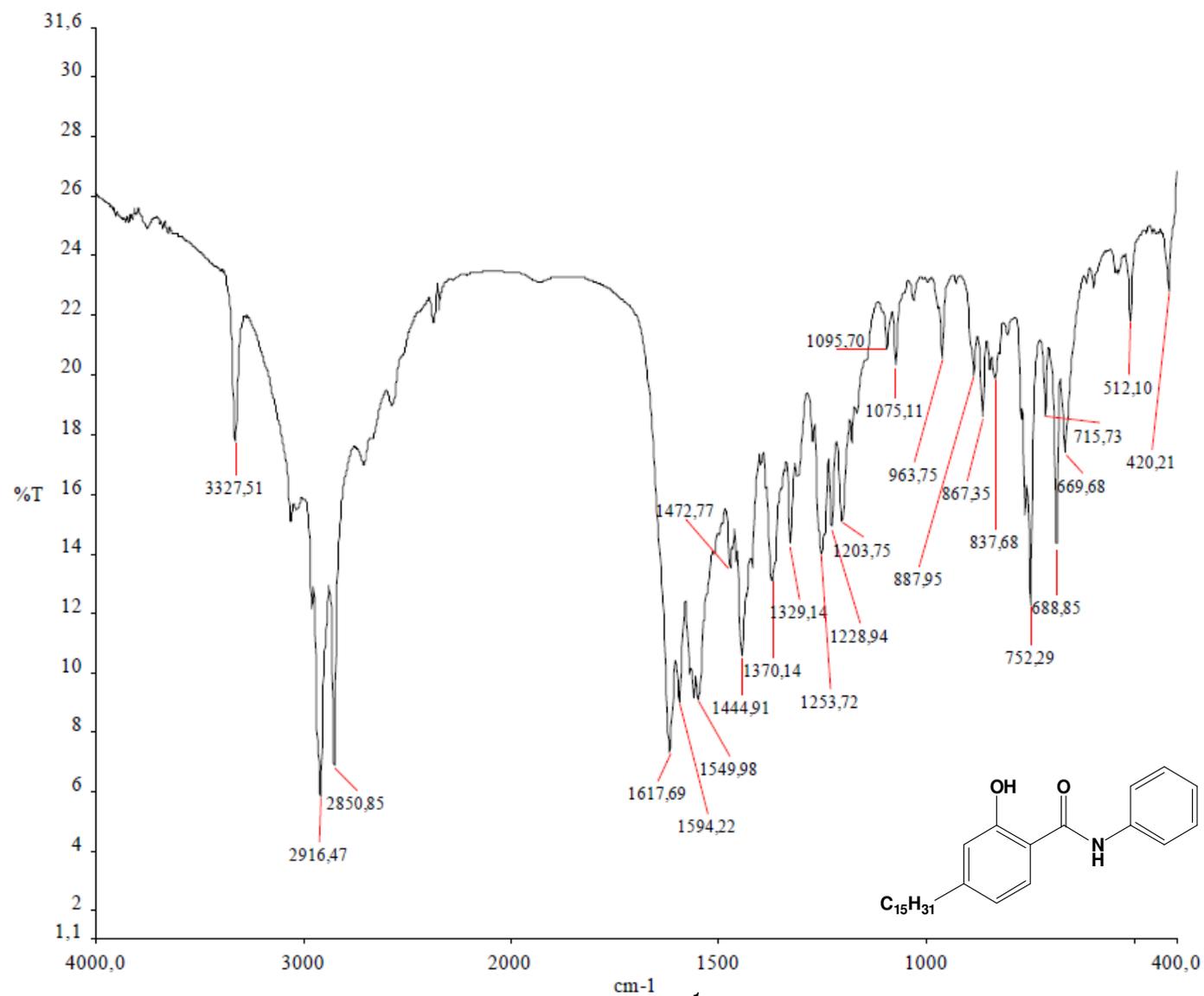
## Anexo 47

Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) – LDT 674

## Anexo 48

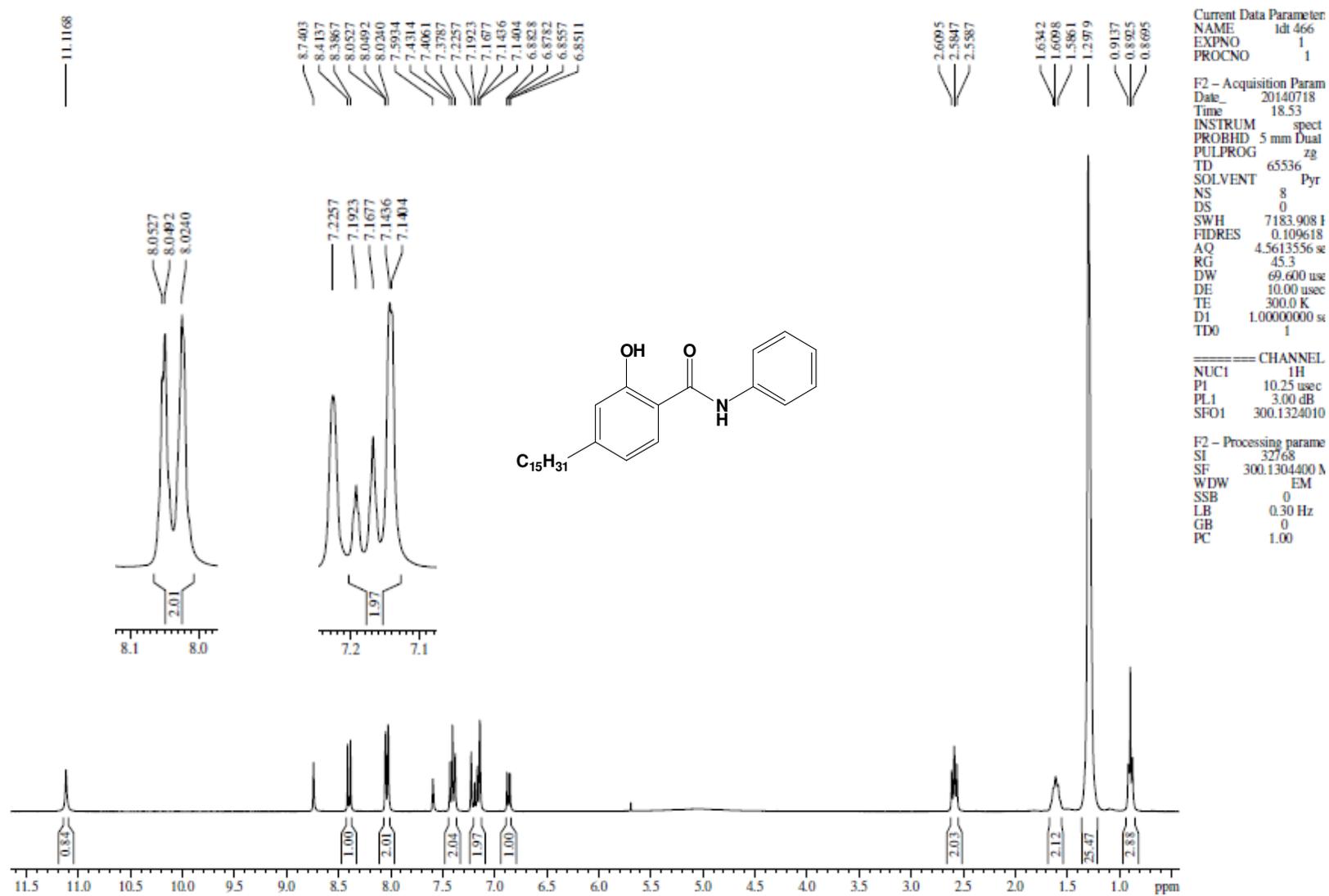
Espectro de RMN <sup>13</sup>C (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>) – LDT 674

## Anexo 49

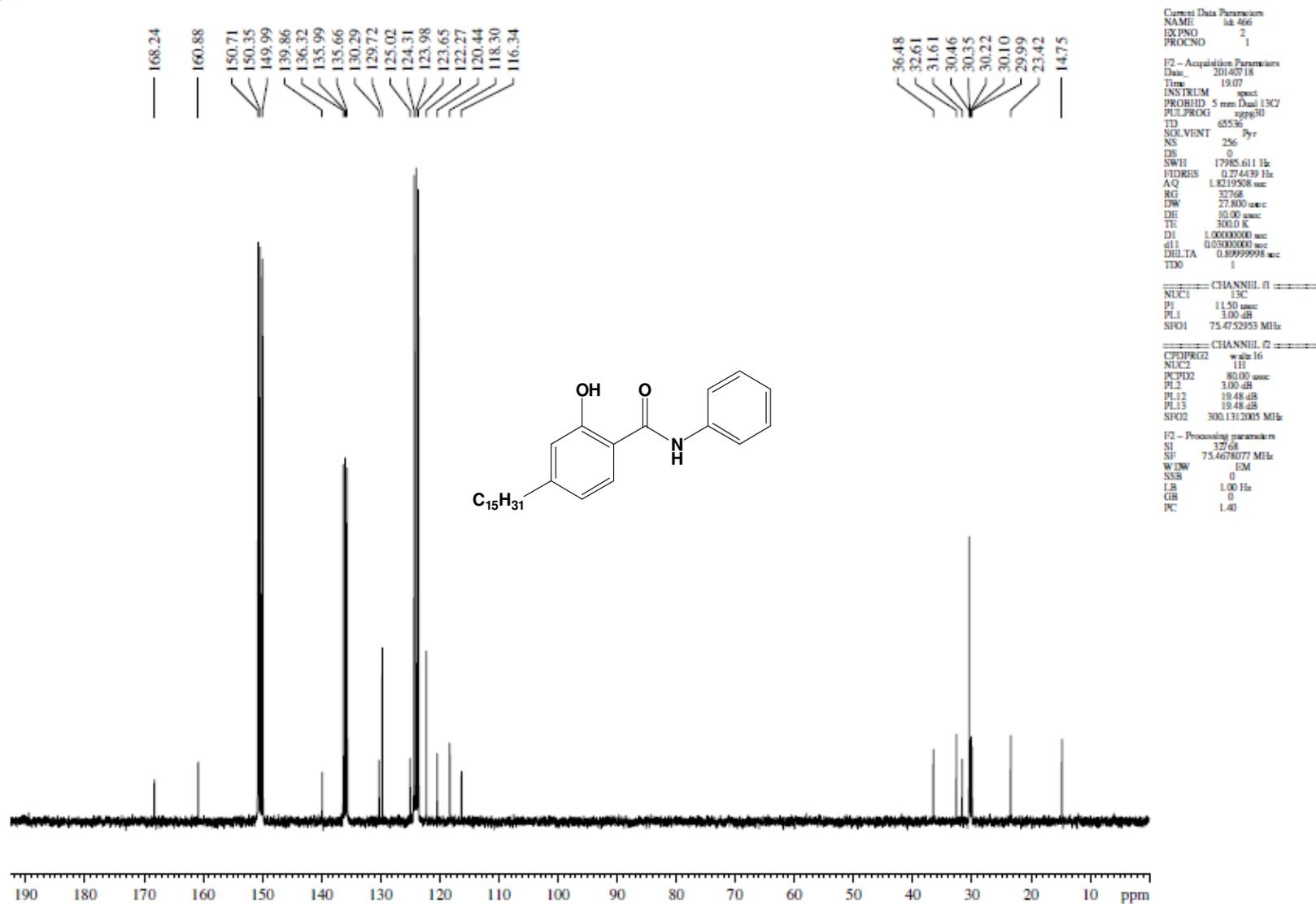


*Espectro no Infravermelho (cm<sup>-1</sup>, KBr) – LDT 644*

## Anexo 50

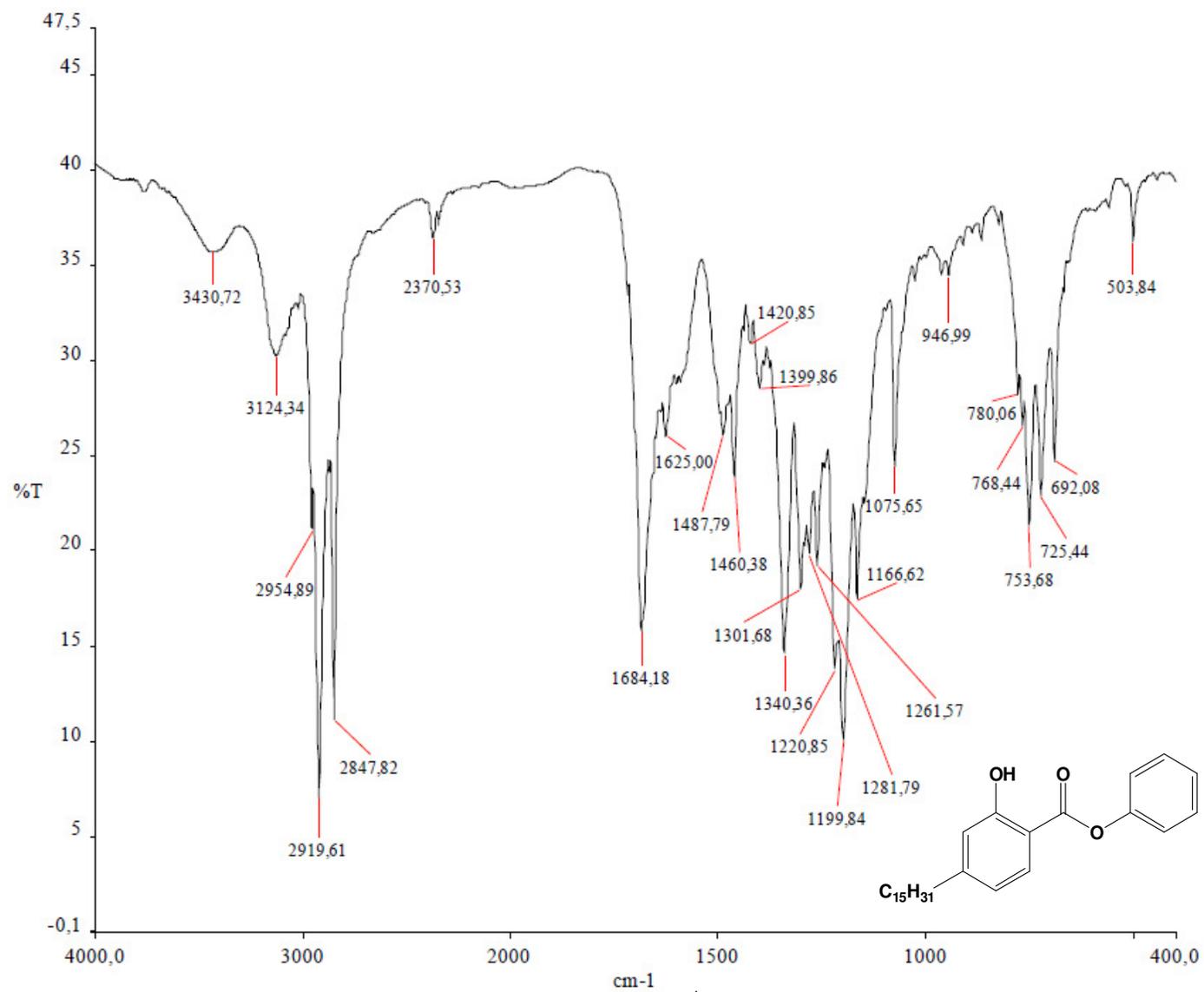
Espectro de RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, Piridina) – LDT 644

## Anexo 51



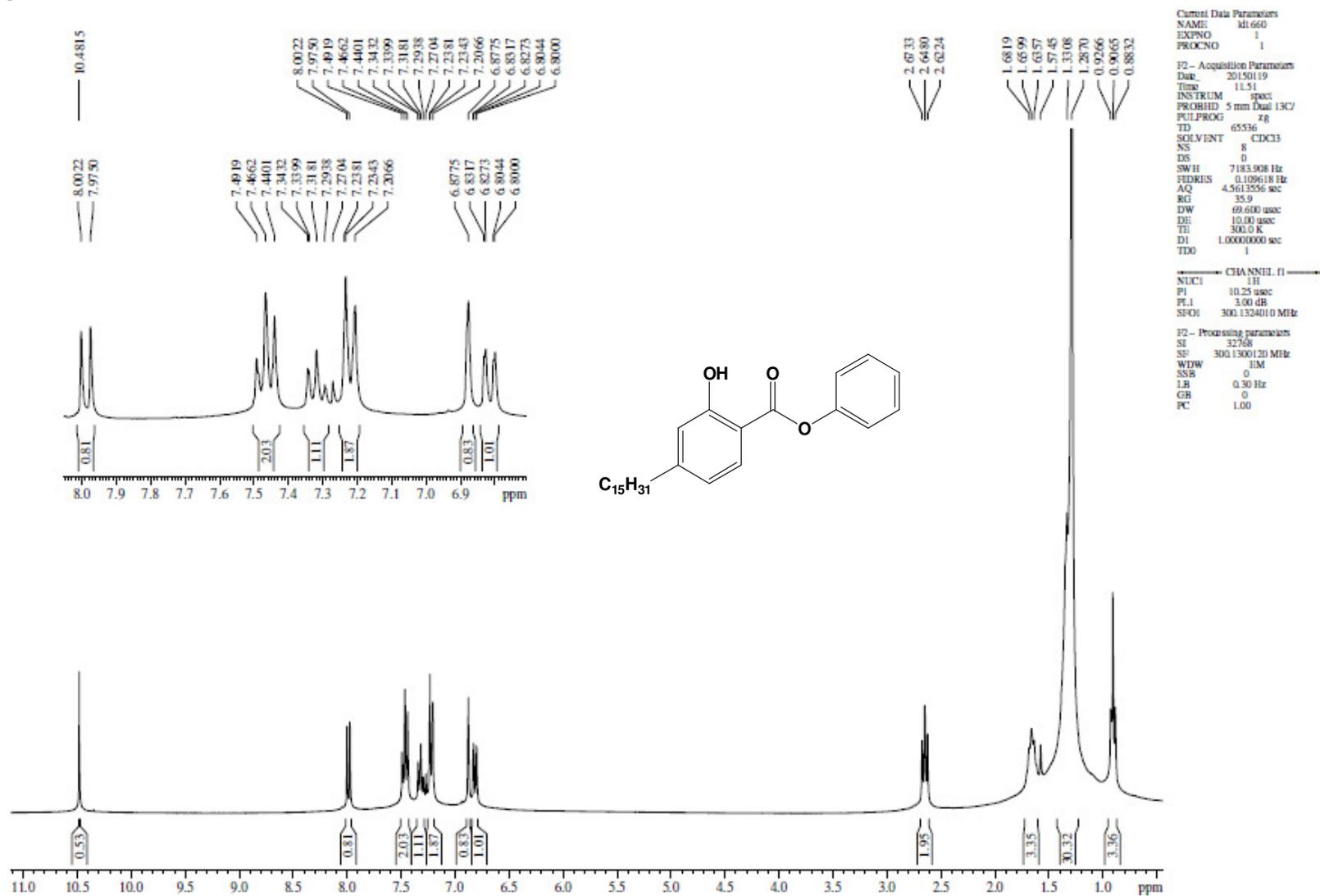
*Espectro de RMN <sup>13</sup>C (75 MHz, Piridina) – LDT 644*

## Anexo 52

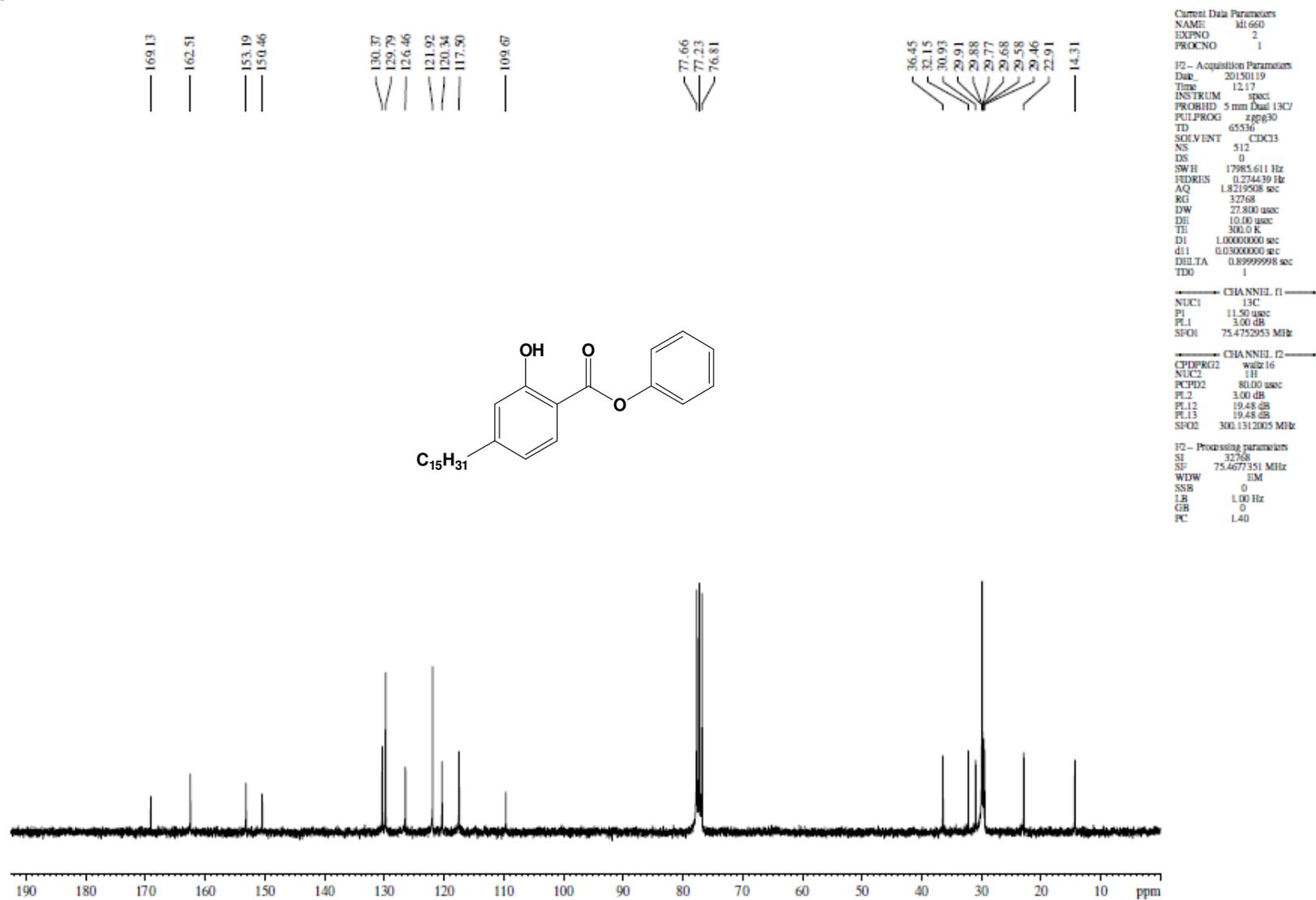


*Espectro no Infravermelho (cm<sup>-1</sup>, KBr) – LDT 660*

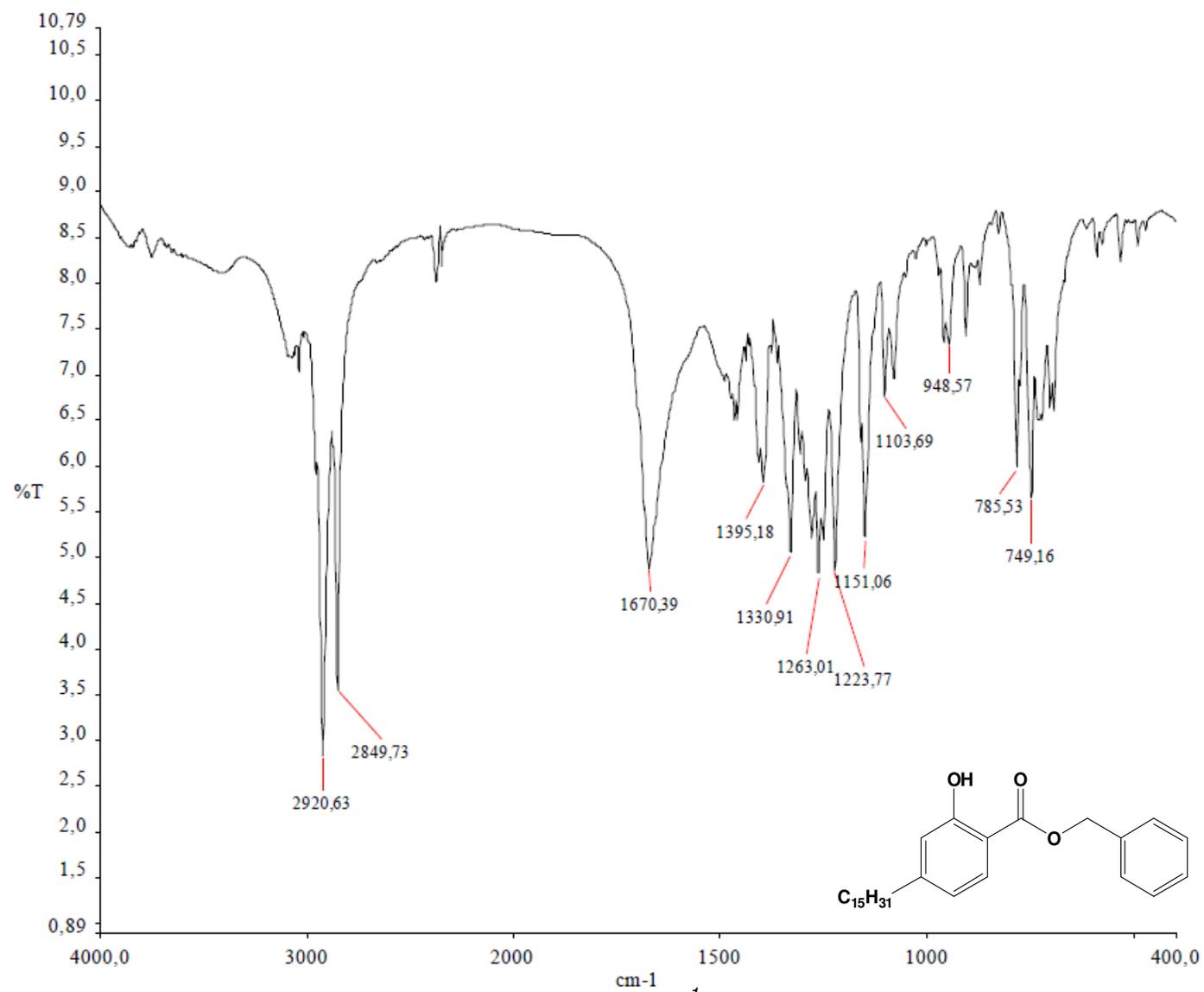
## Anexo 53

Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) – LDT 660

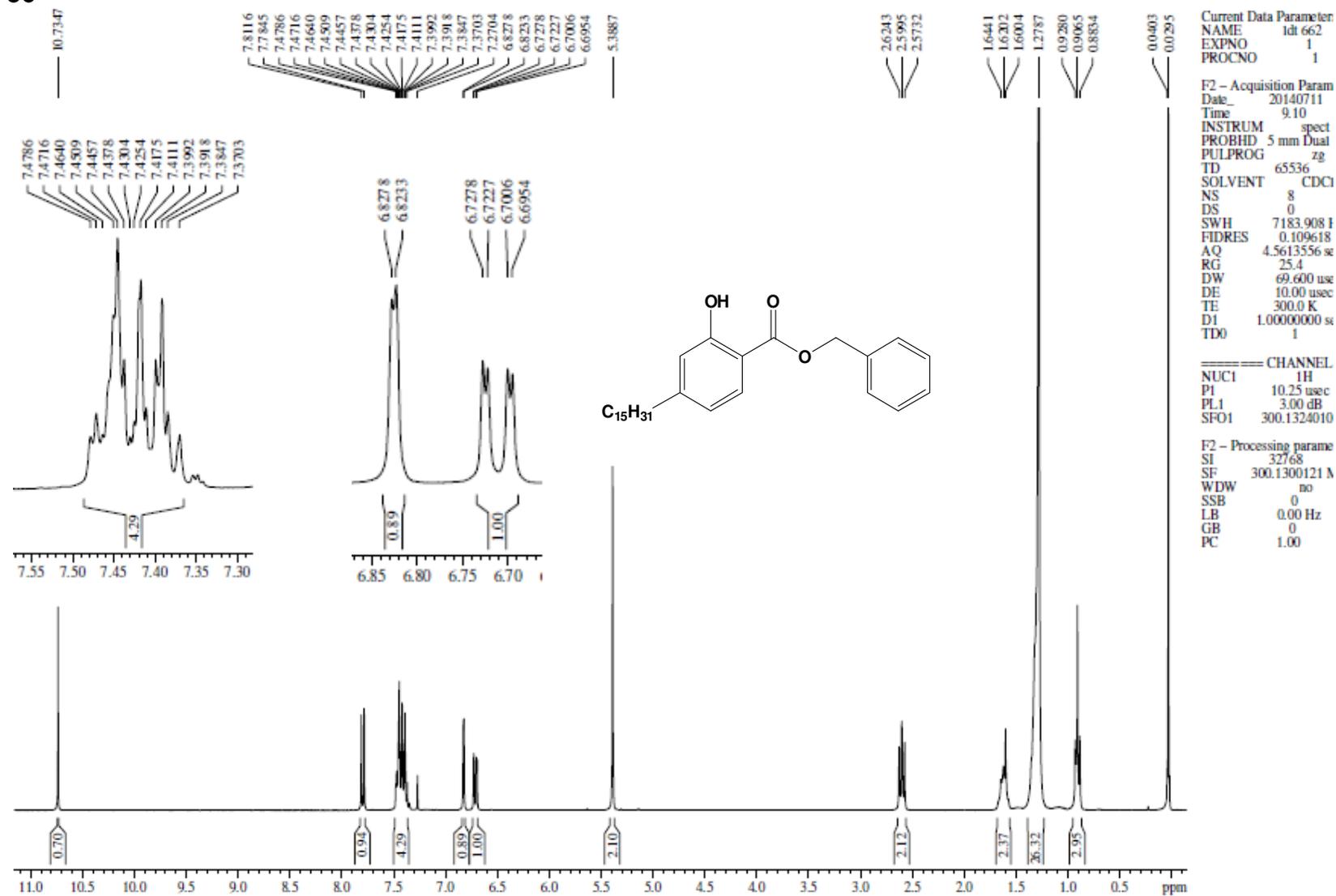
## Anexo 54

Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) – LDT 660

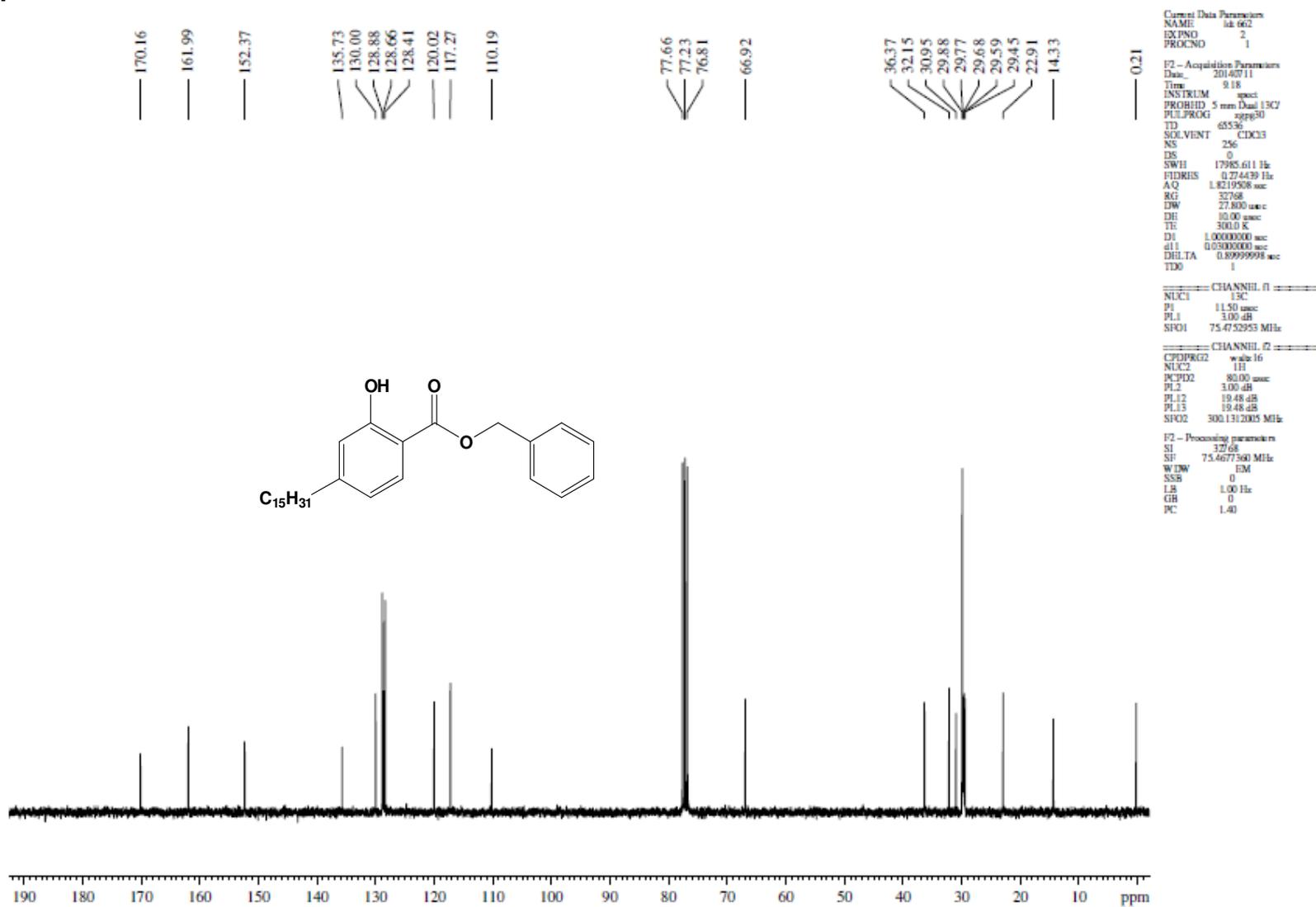
## Anexo 55



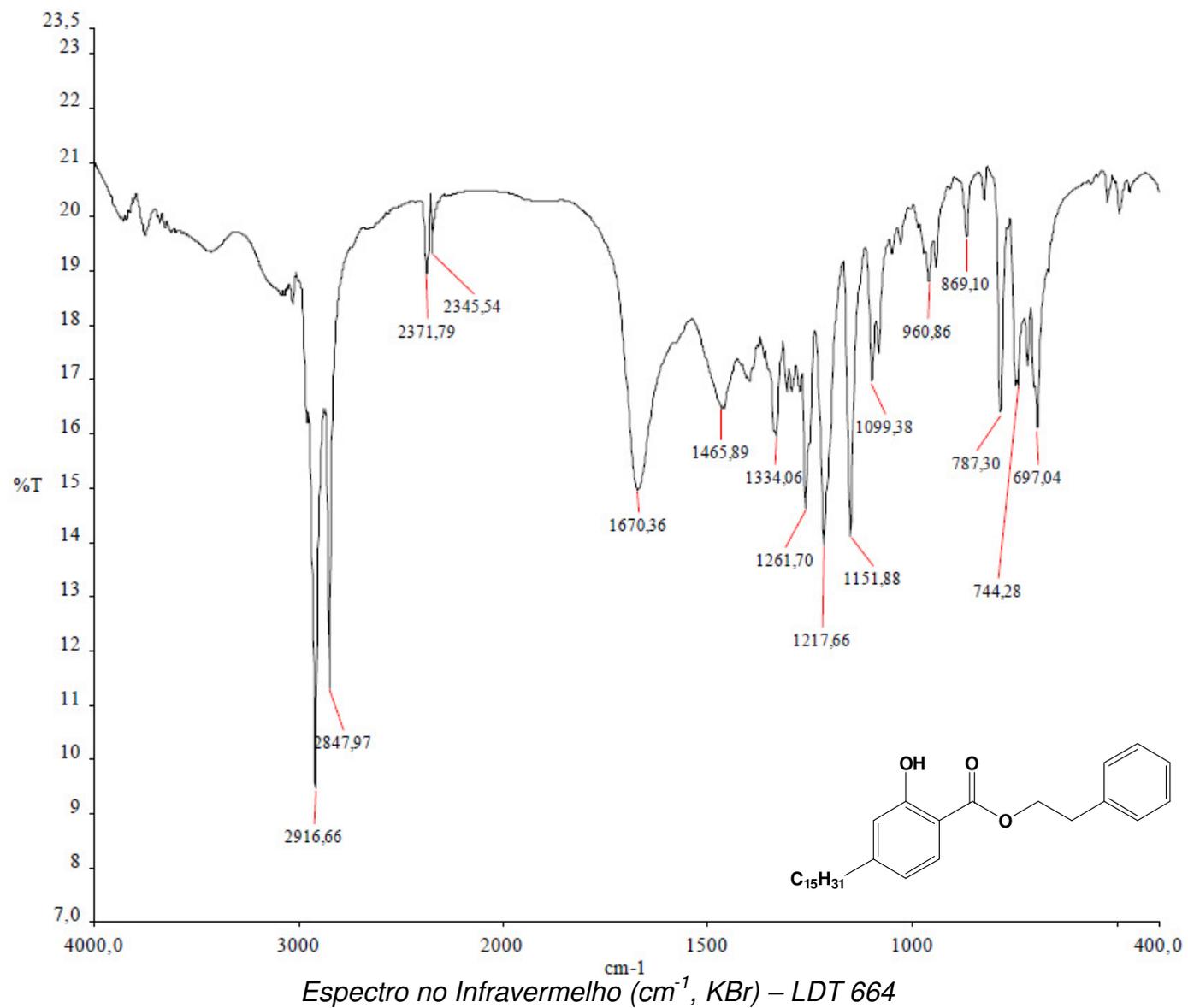
## Anexo 56

Espectro de RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) – LDT 662

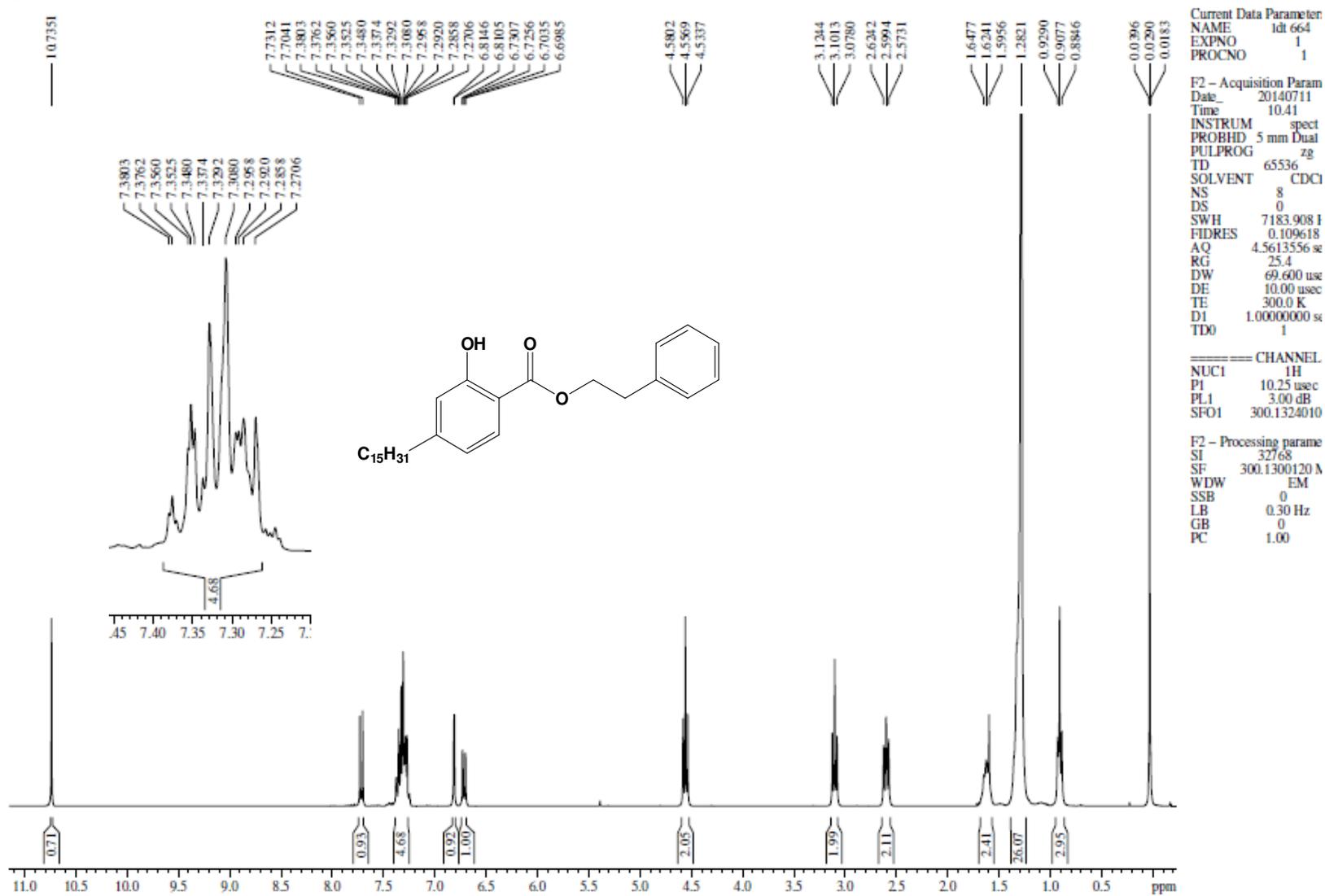
## Anexo 57

Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) – LDT 662

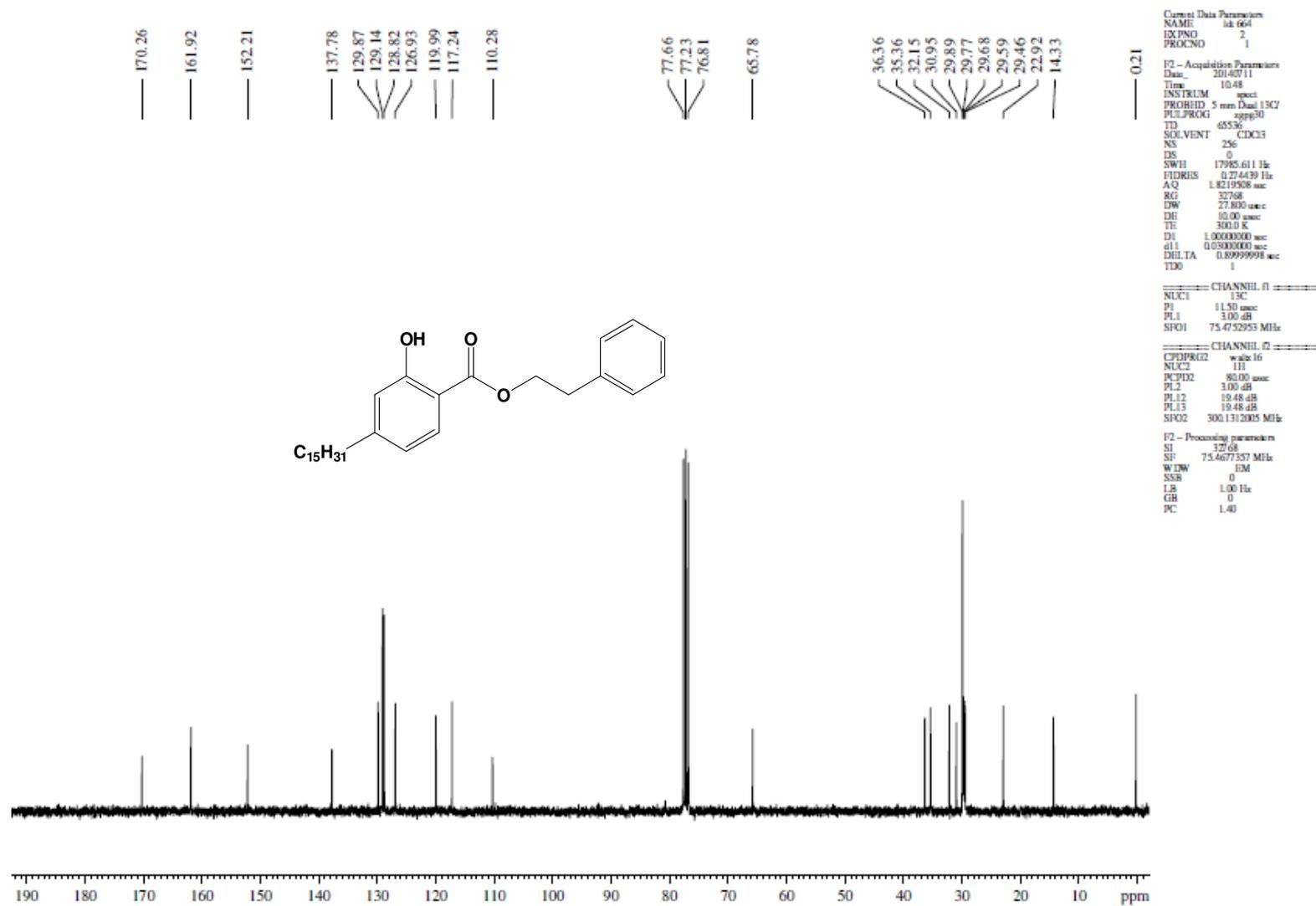
## Anexo 58



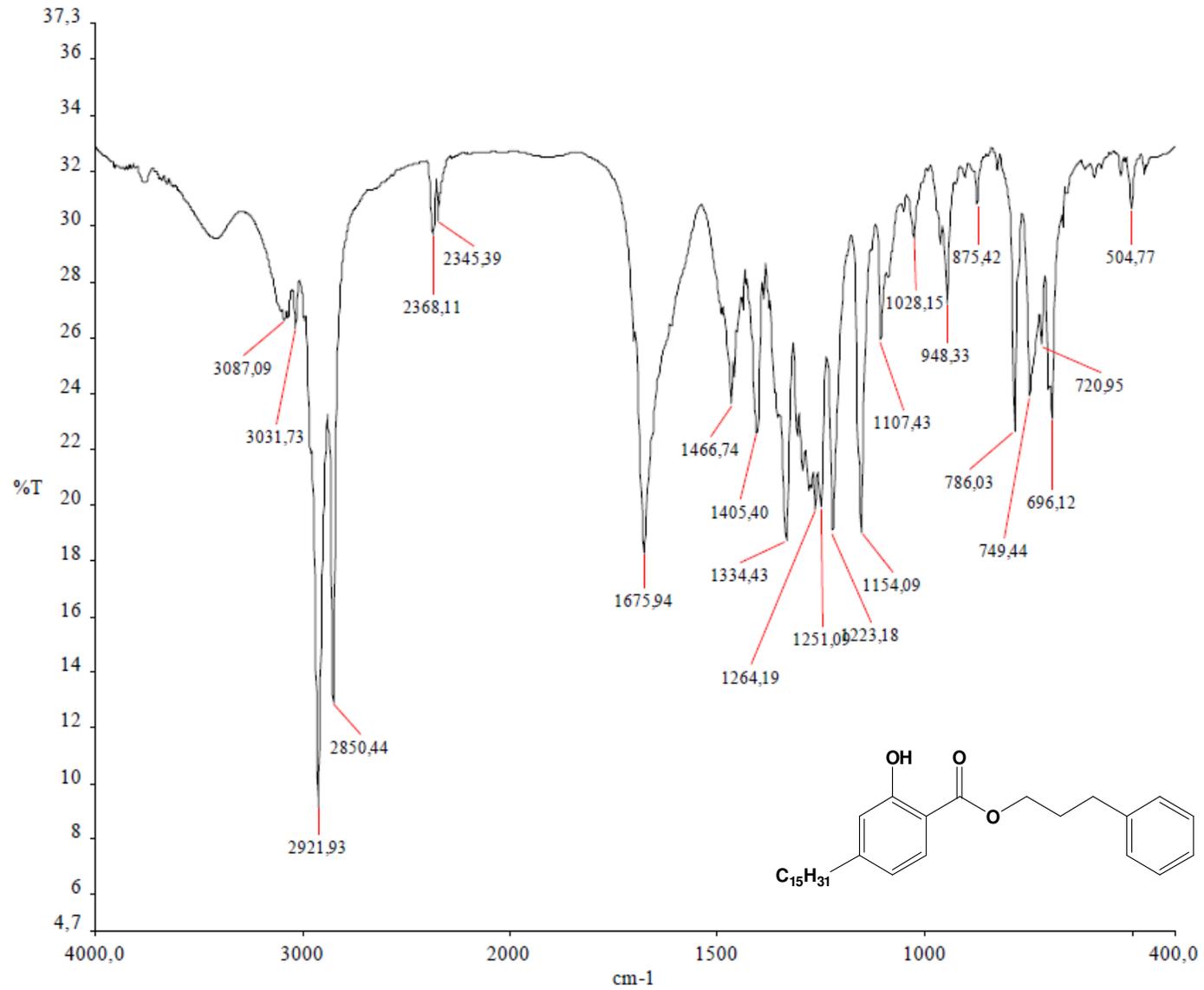
## Anexo 59

Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) – LDT 664

## Anexo 60

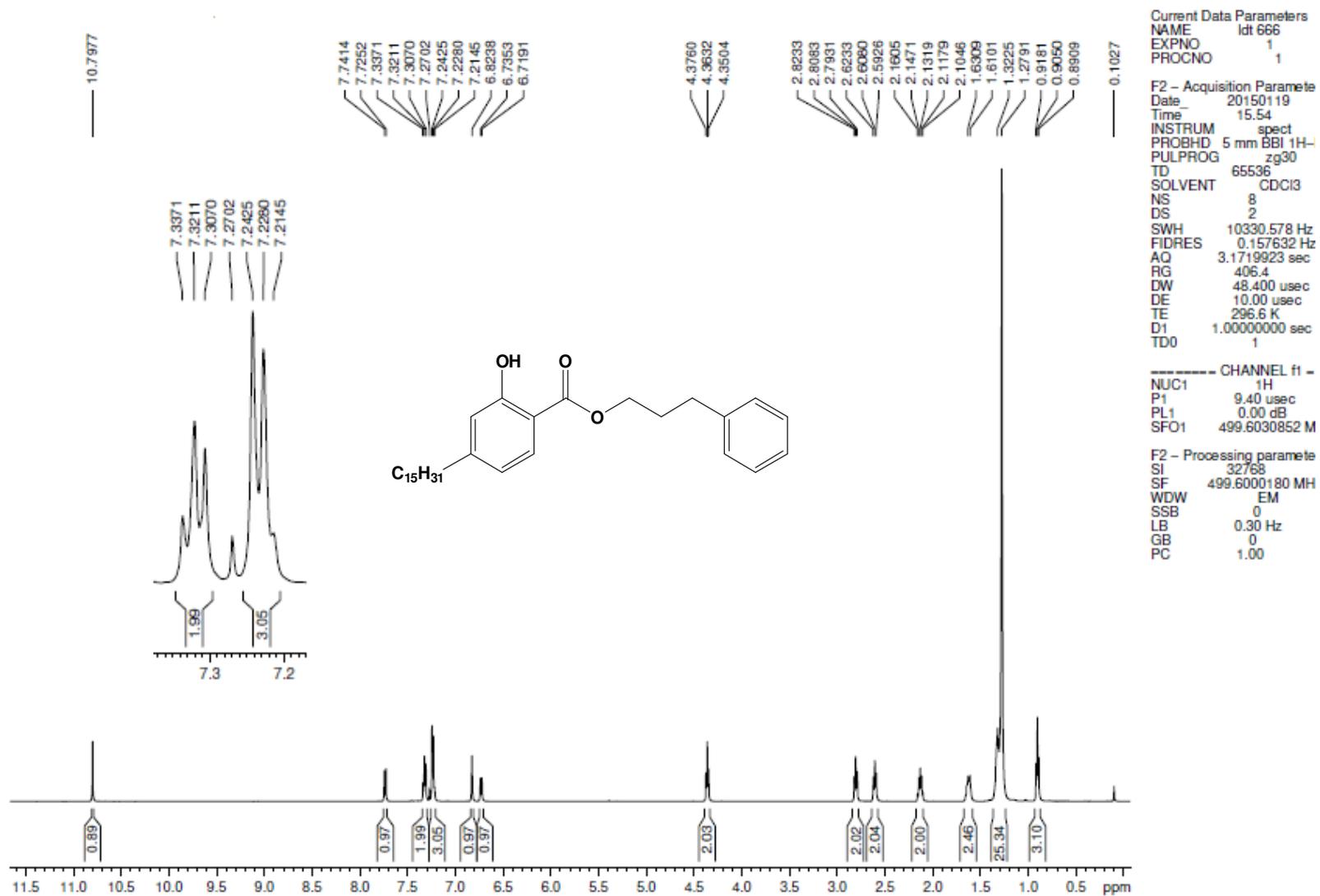
Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) – LDT 664

## Anexo 61

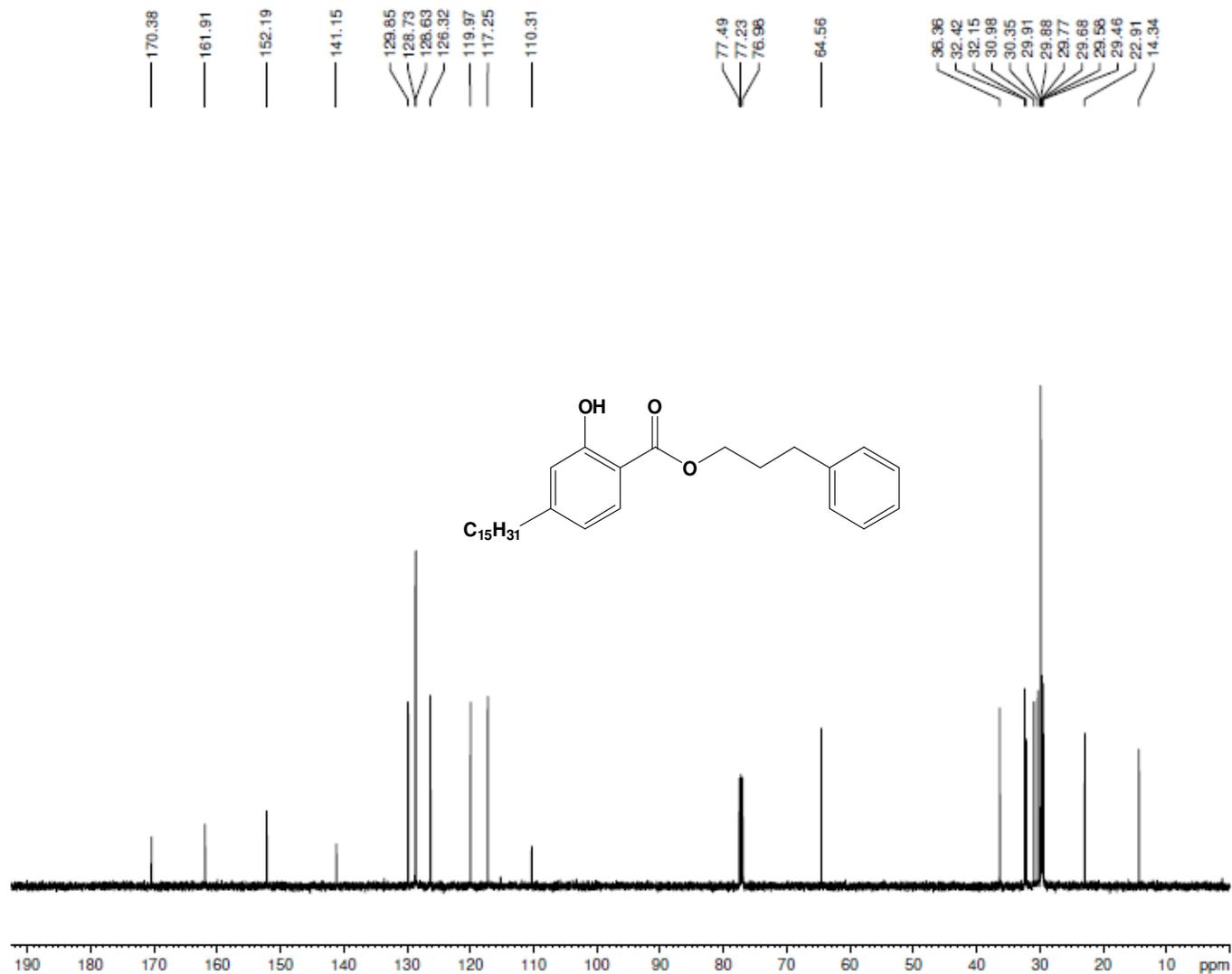


*Espectro no Infravermelho (cm<sup>-1</sup>, Filme) – LDT 666*

## Anexo 62

Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) – LDT 666

## Anexo 63



Current Data Parameters  
 NAME ldt 666  
 EXPNO 2  
 PROCNO 1

F2 - Acquisition Parameters  
 Date\_ 20150119  
 Time\_ 16.22  
 INSTRUM spect  
 PROBHD 5 mm BBI 1H-BB  
 PULPROG zgpg  
 TD 65536  
 SOLVENT CDCl3  
 NS 256  
 DS 4  
 SWH 30030.029 Hz  
 FIDRES 0.458222 Hz  
 AQ 1.0912244 sec  
 RG 32768  
 DW 16.660 usec  
 DE 10.00 usec  
 TE 296.9 K  
 D1 2.00000000 sec  
 d11 0.03000000 sec  
 DELTA 1.99999998 sec  
 TDO 1

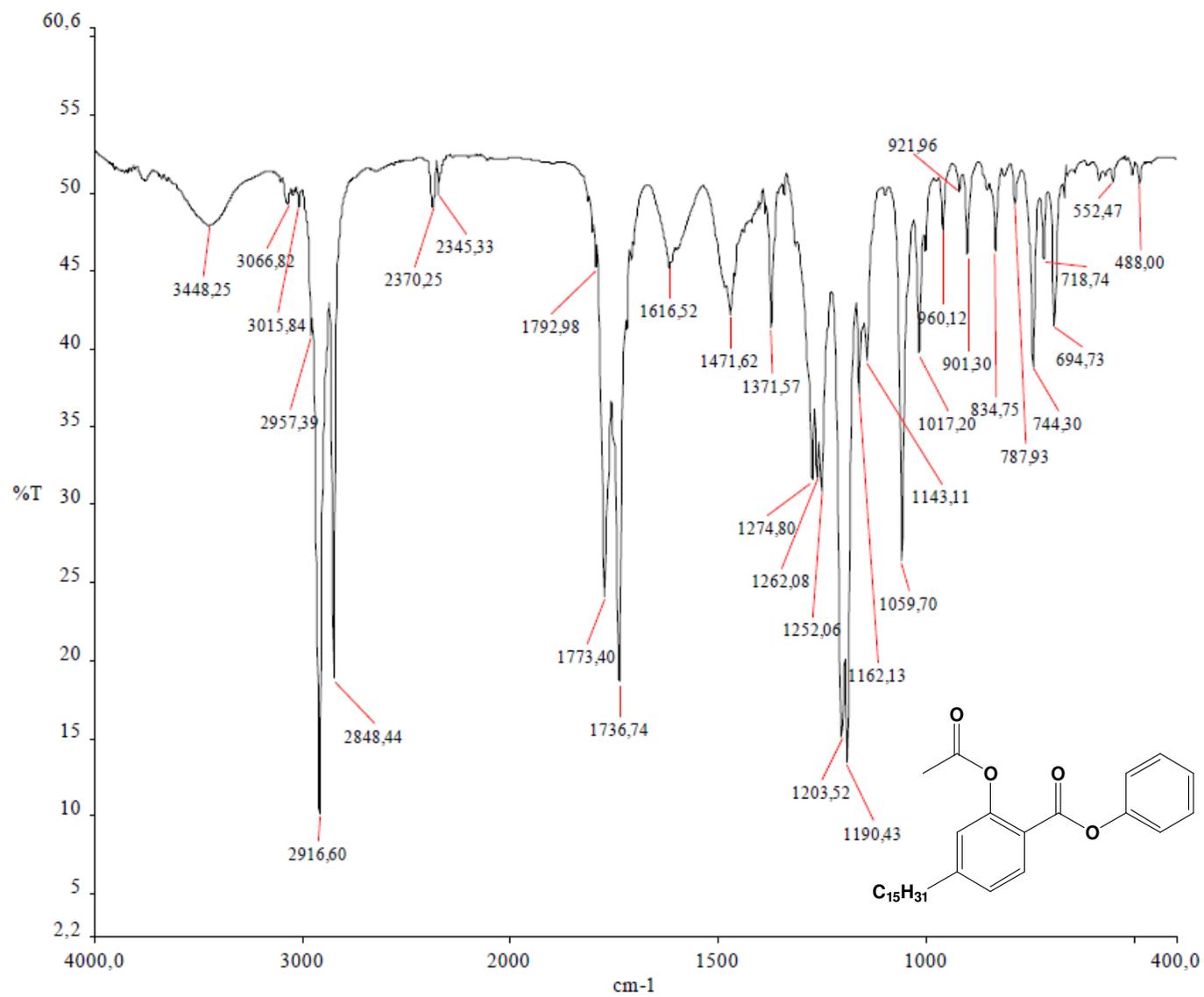
----- CHANNEL f1 -----  
 NUC1  $^{13}\text{C}$   
 P1 13.00 usec  
 PL1 0.00 dB  
 SFO1 125.6370824 MHz

----- CHANNEL f2 -----  
 CPDPRG2 waltz16  
 NUC2  $^1\text{H}$   
 PCPD2 80.00 usec  
 PL2 0.00 dB  
 PL12 18.50 dB  
 PL13 18.50 dB  
 SFO2 499.6019984 MHz

F2 - Processing parameters  
 SI 32768  
 SF 125.6244997 MHz  
 WDW EM  
 SSB 0  
 LB 1.00 Hz  
 GB 0  
 PC 1.40

Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) - LDT 666

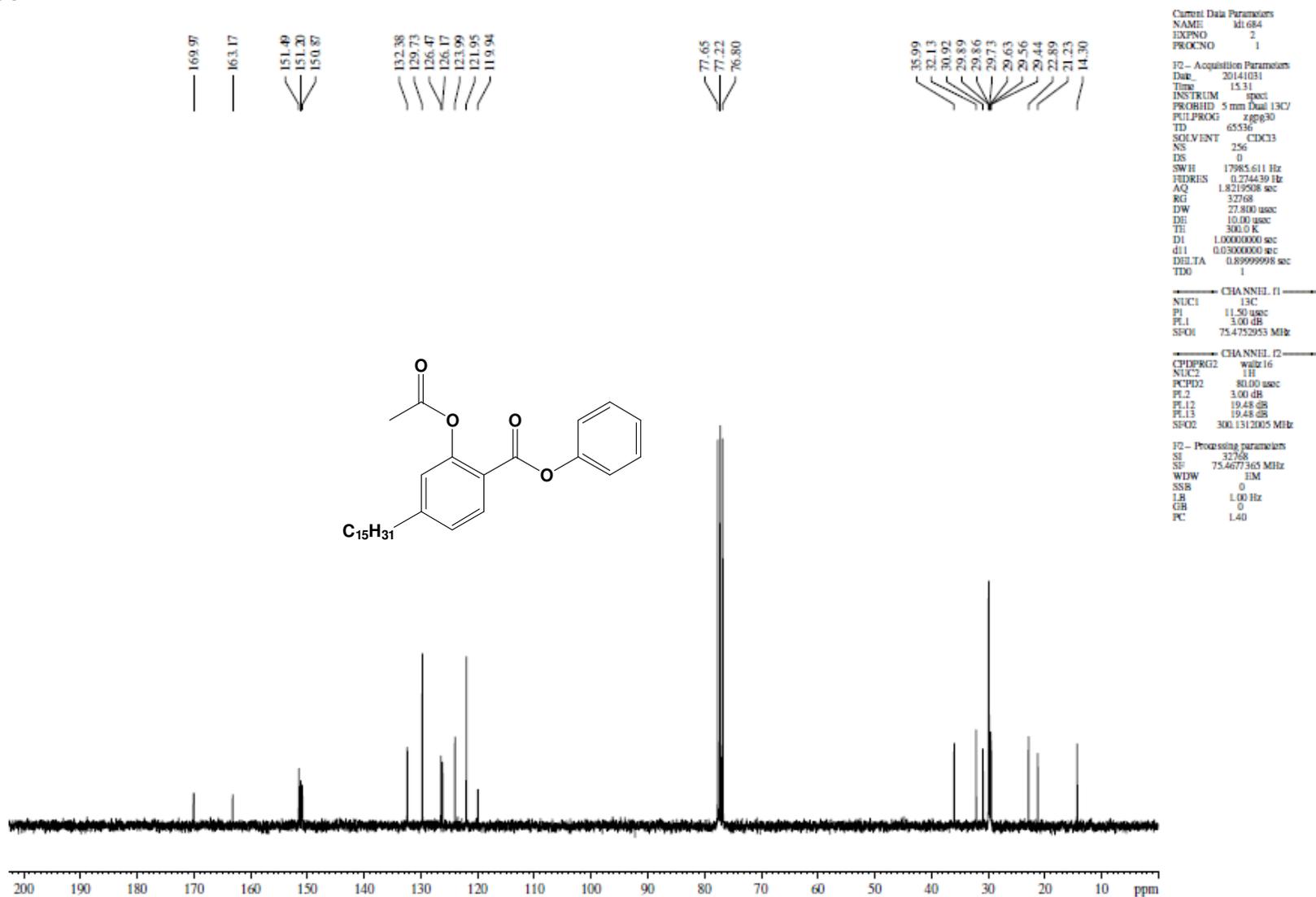
## Anexo 64

Espectro no Infravermelho (cm<sup>-1</sup>, KBr) – LDT 684

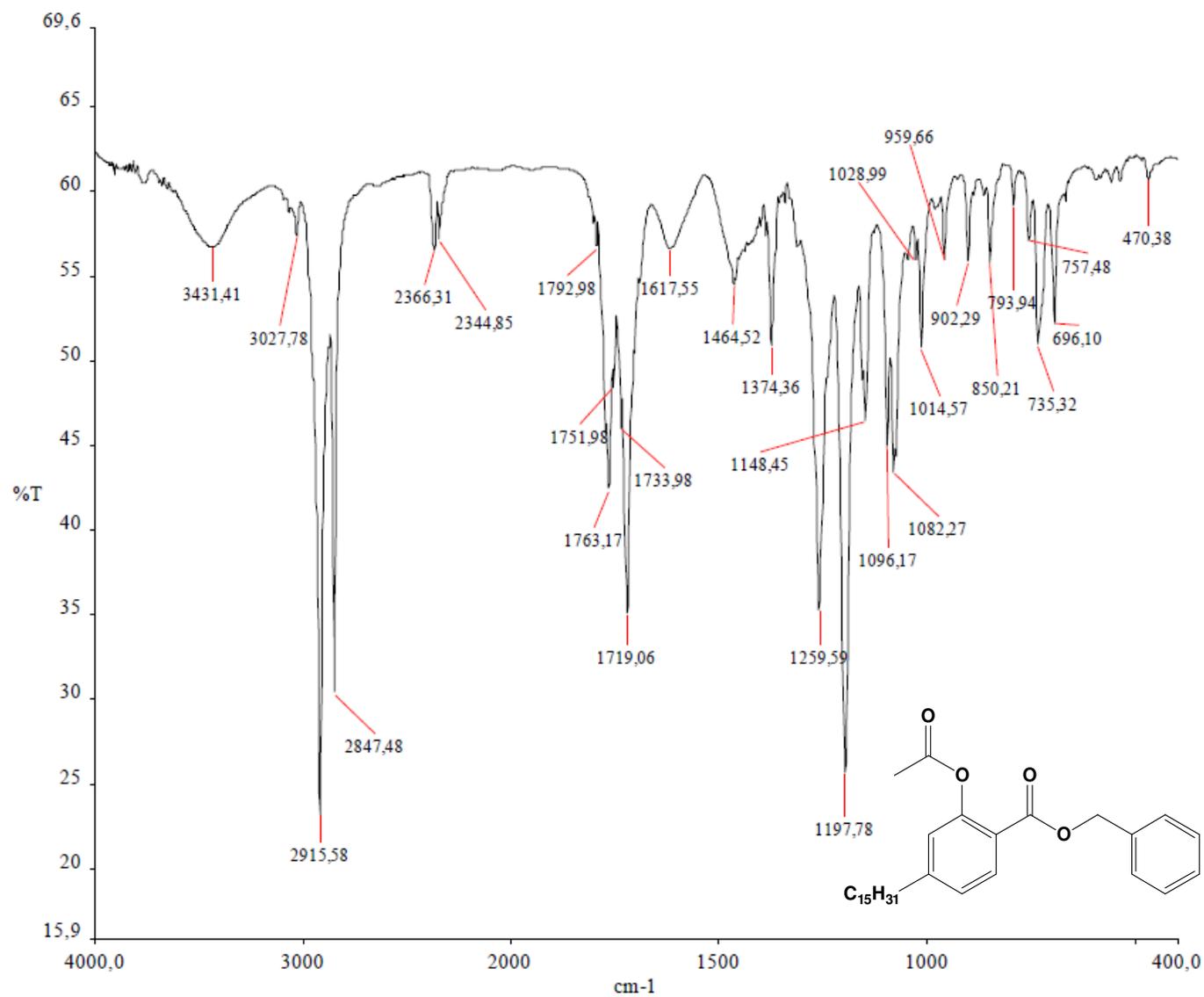
## Anexo 65

Espectro de RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) – LDT 684

## Anexo 66

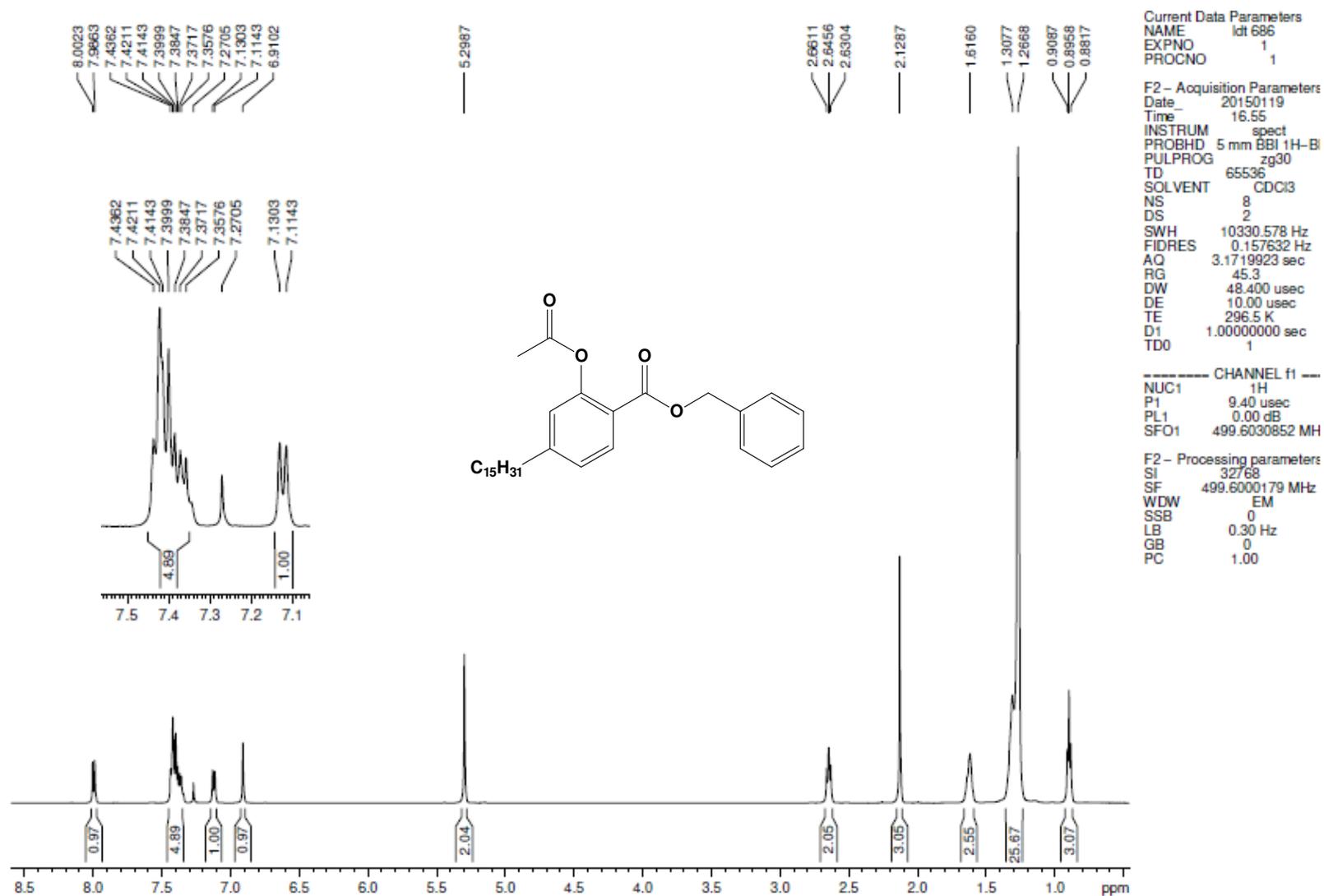
Espectro de RMN  $^{13}C$  (75 MHz,  $CDCl_3$ ) - LDT 684

## Anexo 67

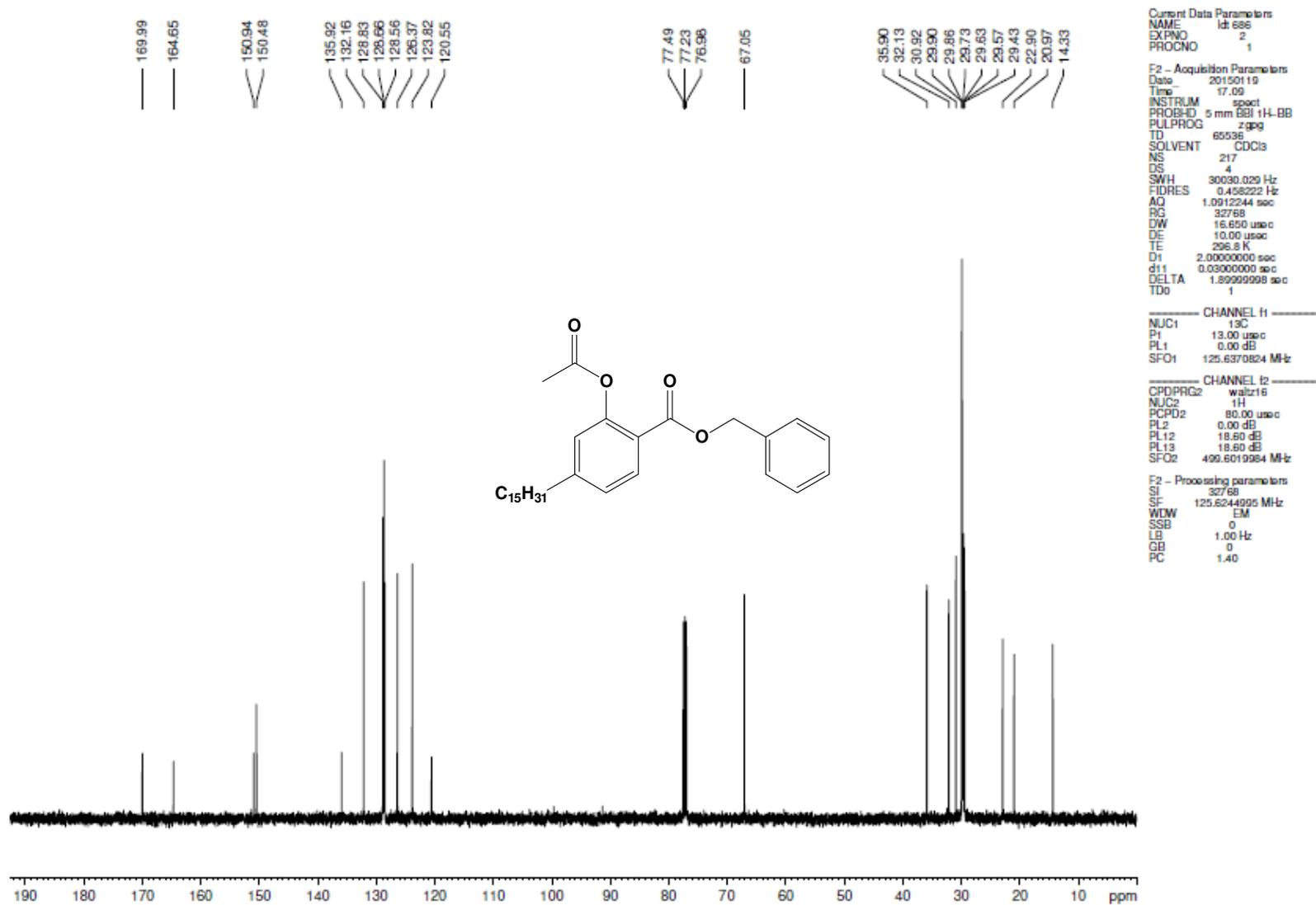


*Espectro no Infravermelho (cm<sup>-1</sup>, KBr) – LDT 686*

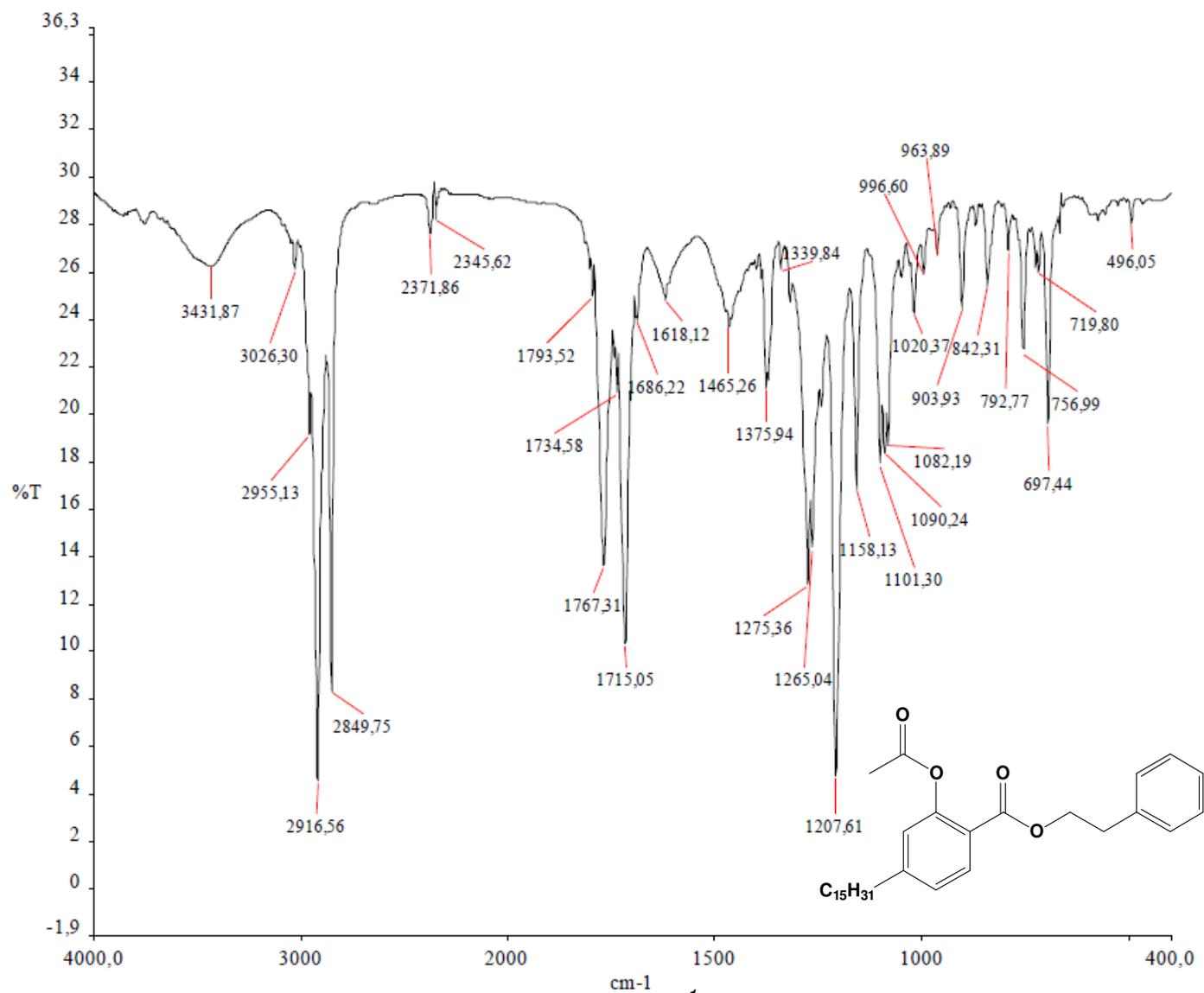
## Anexo 68

Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) – LDT 686

## Anexo 69

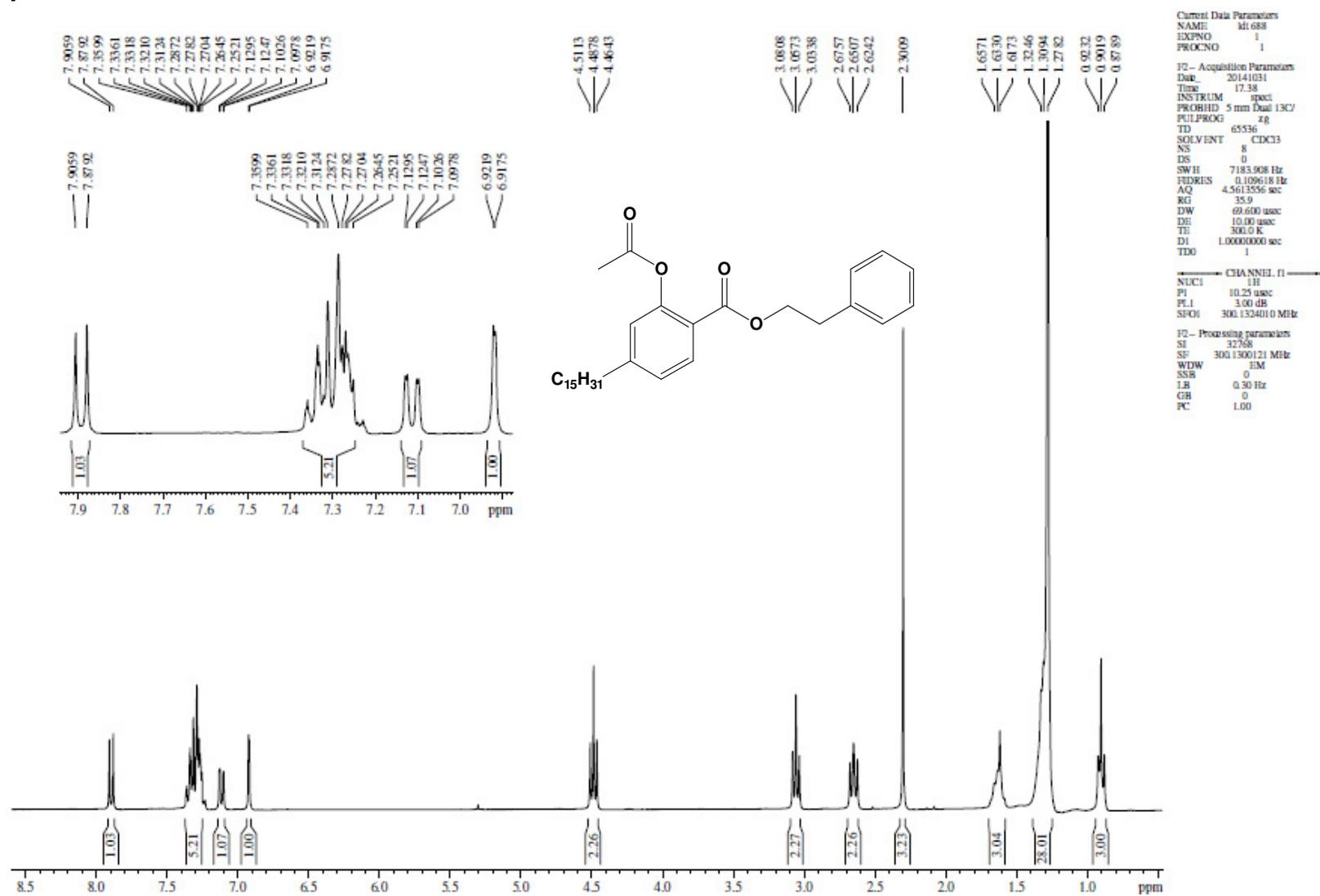


## Anexo 70

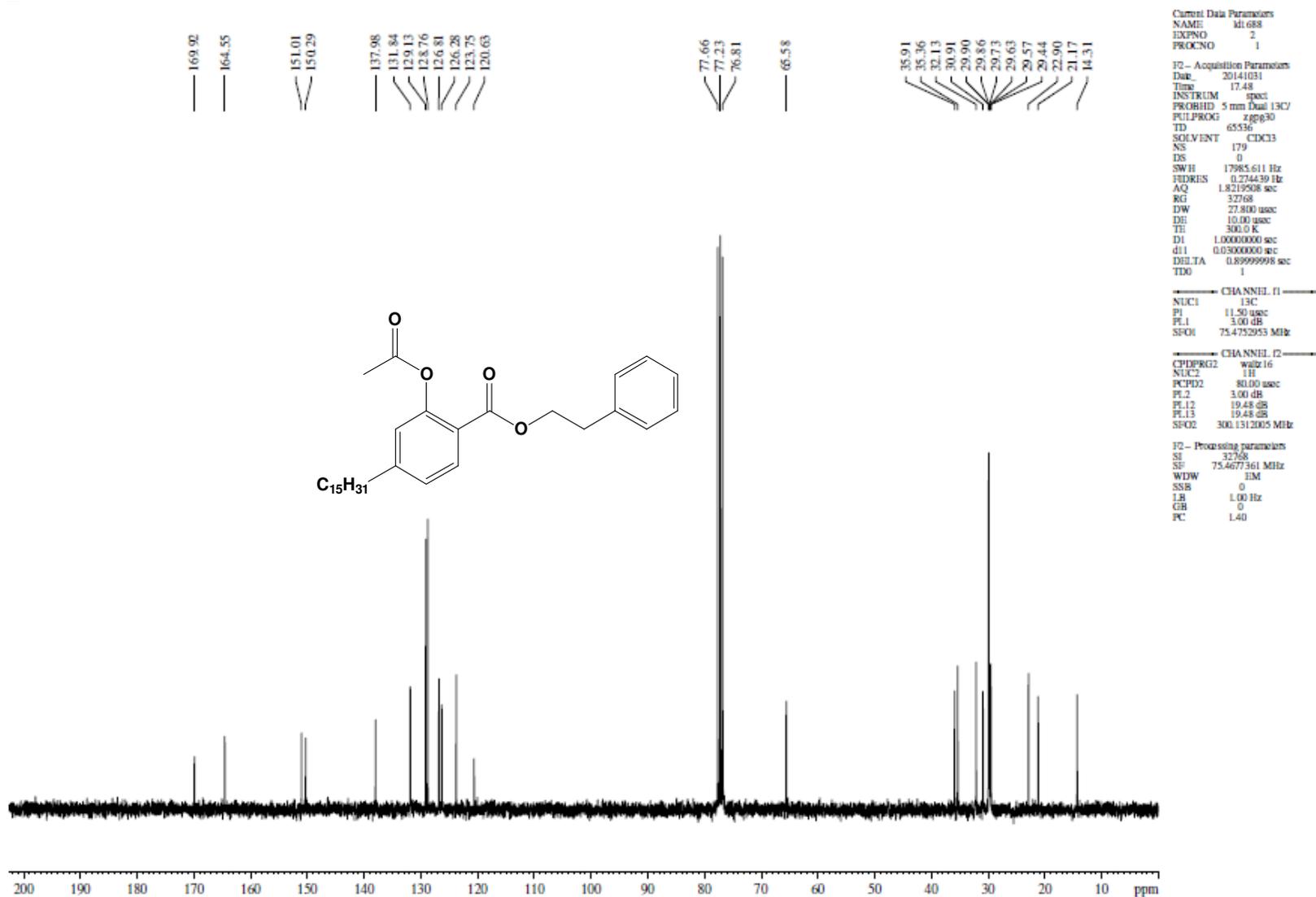


*Espectro no Infravermelho (cm<sup>-1</sup>, KBr) – LDT 688*

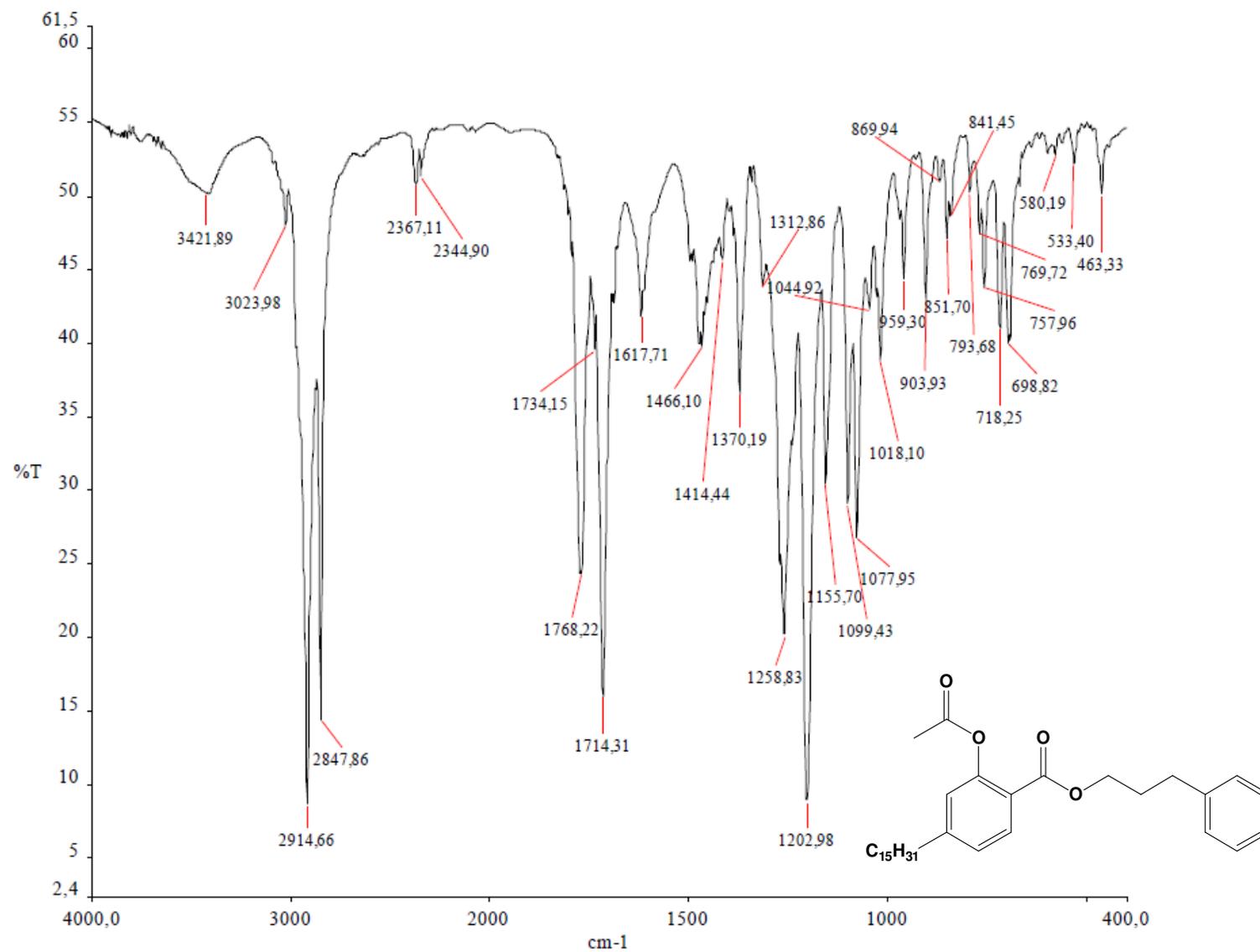
## Anexo 71

Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) – LDT 688

## Anexo 72

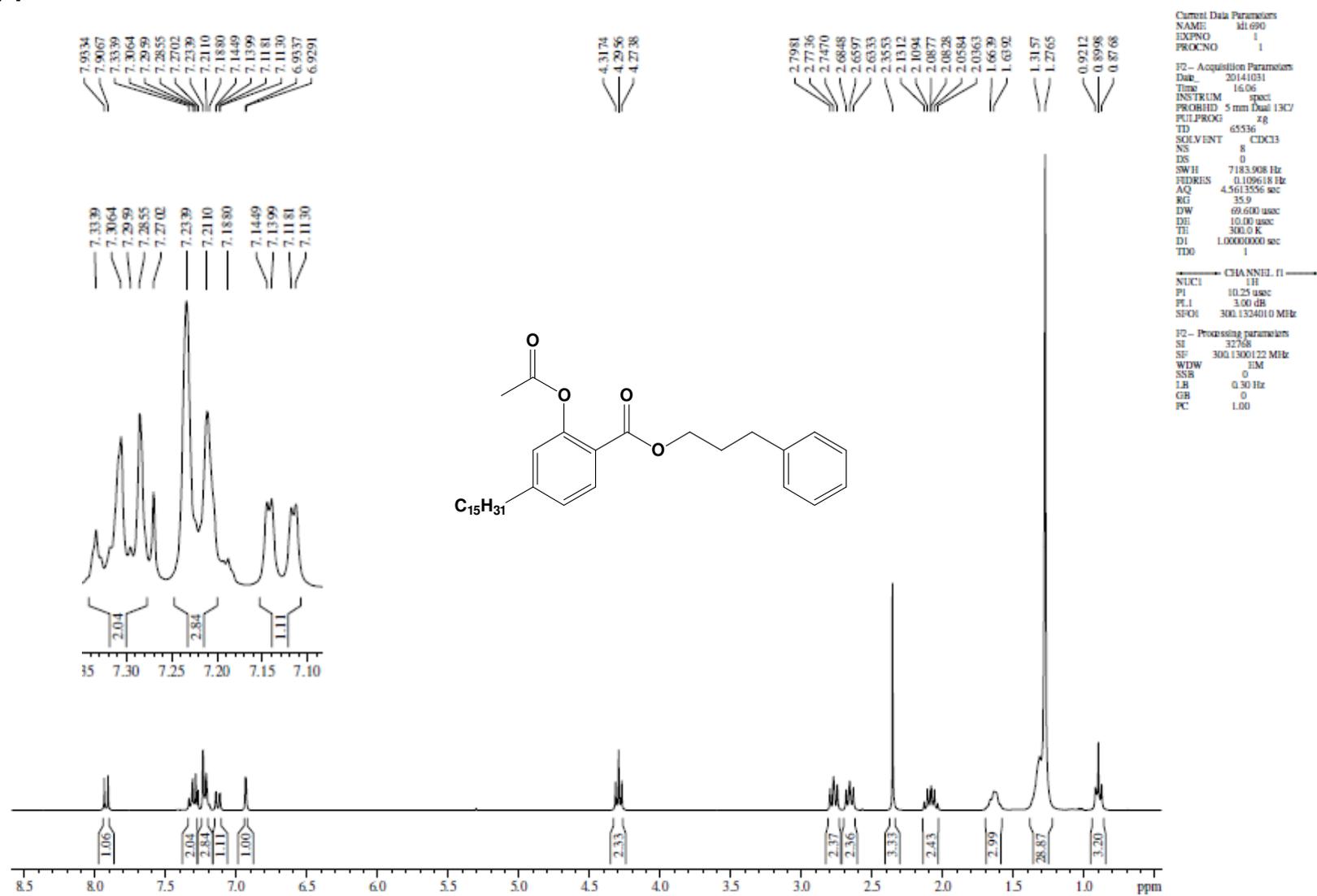
Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) – LDT 688

## Anexo 73

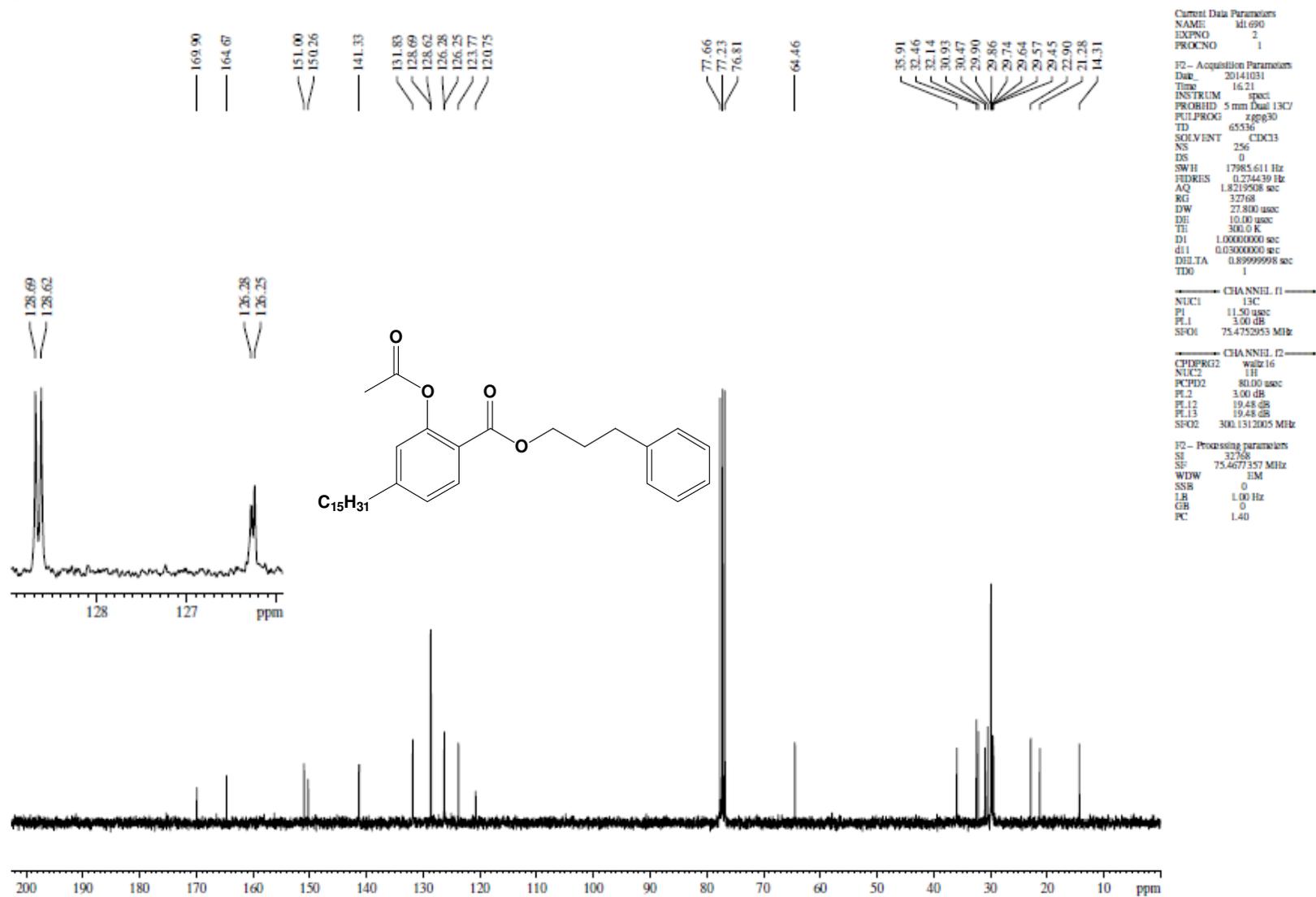


*Espectro no Infravermelho ( $cm^{-1}$ , KBr) – LDT 690*

## Anexo 74

Espectro de RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) – LDT 690

## Anexo 75

Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) – LDT 690