

## RESSALVA

Atendendo solicitação do(a)  
autor(a), o texto completo desta tese  
será disponibilizado somente a partir  
de 20/12/2019.

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

"JULIO DE MESQUITA FILHO"

FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

CÂMPUS DE ARARAQUARA

Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas

PLANEJAMENTO, SÍNTESE E AVALIAÇÃO FARMACOLÓGICA DE NOVOS  
COMPOSTOS HÍBRIDOS DERIVADOS DE RESVERATROL E BEZAFIBRATO  
ÚTEIS AO TRATAMENTO DA DISLIPIDEMIA

LUIZ ANTONIO DUTRA

ORIENTADOR: Prof. Dr. Jean Leandro dos Santos

COORIENTADOR: Prof. Dr. Rafael V. C. Guido

ARARAQUARA-SP

2017

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

"JULIO DE MESQUITA FILHO"

FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

CÂMPUS DE ARARAQUARA

PLANEJAMENTO, SÍNTESE E AVALIAÇÃO FARMACOLÓGICA DE NOVOS  
COMPOSTOS HÍBRIDOS DERIVADOS DE RESVERATROL E BEZAFIBRATO  
ÚTEIS AO TRATAMENTO DA DISLIPIDEMIA

LUIZ ANTONIO DUTRA

Tese apresentada ao Programa de Pós- Graduação em Ciências Farmacêuticas, Área de Pesquisa e Desenvolvimento de Fármacos e Medicamentos, da Faculdade de Ciências Farmacêuticas, UNESP, como parte dos requisitos para obtenção do Título de Doutor em Ciências Farmacêuticas.

ORIENTADOR: Prof. Dr. Jean Leandro dos Santos

COORIENTADOR: Prof. Dr. Rafael V. C. Guido

ARARAQUARA - SP

2017

## CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA TESE: PLANEJAMENTO, SÍNTESE E AVALIAÇÃO FARMACOLÓGICA DE NOVOS COMPOSTOS DERIVADOS DE RESVERATROL ÚTEIS AO TRATAMENTO DA DISLIPIDEMIA

AUTOR: LUIZ ANTONIO DUTRA

ORIENTADOR: JEAN LEANDRO DOS SANTOS

COORIENTADOR: RAFAEL VICTORIO CARVALHO GUIDO

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de Doutor em CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS, área de conhecimento: SEM ÁREA DE CONHECIMENTO pela Comissão Examinadora:



Prof. Dr. JEAN LEANDRO DOS SANTOS

Depto de Farmacos e Medicamentos / Faculdade de Ciências Farmacêuticas – Araraquara-UNESP



Profa Dra. ANGELICA AMORIM AMATO

Farmácia / Faculdade de Ciências da Saúde – Universidade de Brasília



Profa. Dra. IVONE CARVALHO

Depto de Ciências Farmacêuticas / Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto da USP



Prof. Dr. ROBERTO PARISE FILHO

Depto de Farmácia / Faculdade de Ciências Farmacêuticas - Universidade de São Paulo



Profa. Dra. CHUNG MAN CHIN

Depto de Farmacos e Medicamentos / Faculdade de Ciências Farmacêuticas – Araraquara-UNESP

Araraquara, 20 de Dezembro de 2017

## DEDICATÓRIA

*Dedico este trabalho ao meu Pai, Valdecir Dutra, que nos deixou este ano (26/09/2017). Ele sempre me apoiou durante toda a jornada da Pós-Graduação e tinha muito orgulho da minha carreira científica.*

## AGRADECIMENTOS

Ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas pela oportunidade do Doutorado.

Ao meu orientador Prof. Dr. Jean Leandro dos Santos pela confiança depositada em tomada de decisões, e pela amizade gerada por todos esses anos.

Ao meu Coorientador Prof. Dr. Rafael V. C. Guido pelo apoio nos estudos de docking molecular.

Ao Prof. Dr. Stefan Knapp pela oportunidade em realizar o Doutorado Sanduíche no *Structural Genomics Consortium* (SGC) na Goethe University, Frankfurt am Main, Alemanha.

À Fapesp pela concessão da Bolsa de Doutorado no País (Processo 2014/03945-9) e Bolsa de Estágio de Pesquisa no Exterior – BEPE (Processo 2015/21271-8).

A todos os colaboradores deste trabalho: Dr. Marisa Passarelli (USP), Fabiane Dias Ferreira (USP), Profa. Dra. Angélica Amorim Amato (UNB) e Dra. Mariella Lacerda (UNB).

A todos os colegas de laboratório que sempre estiveram presentes nos momentos de felicidade e tristeza com as reações orgânicas: Gabriel, Thaís, Aline, Guilherme, Diego, Rafael, Cauê, Karina, Juliana, Johnny, Gabriela, Beatriz, Mateus, Marcella e Daniela.

À minha esposa Isabel Duarte Coutinho por estar sempre ao meu lado nos melhores e difíceis momentos durante este período.

Às minhas filhas gêmeas Carina e Clarice que nos enchem de alegria todos os dias.

Aos meus pais, Valdecir e Cleuza, e meu irmão Maurício pelo apoio e carinho.

## RESUMO

A dislipidemia causada por hipertrigliceridemia e baixo HDL-C é um marcador de risco para a progressão da aterosclerose e doenças cardiovasculares. Os receptores PPARs são fatores de transcrição que controlam a expressão de genes envolvidos no metabolismo de lipídios e glicose. A ativação de PPAR- $\alpha$  aumenta a expressão gênica de apoA1 e LPL contribuindo para o aumento de HDL-C e redução de TG, respectivamente. Através da hibridação molecular entre fibratos e resveratrol, nós planejamos e sintetizamos novos agonistas de PPAR- $\alpha$ . O novos compostos híbridos ativaram os receptores PPAR- $\alpha/\gamma$  na faixa de nM, com destaque para o composto (*E*)-2-metil-2-(4-fenoxiestireno)propanoamida (**5b**). O composto **5b** foi mais eficiente que o bezafibrato ( $EC_{50}= 18000nM$ ) na ativação de PPARs, com valor de  $EC_{50}= 28nM$  para PPAR- $\alpha$  e  $EC_{50}= 69nM$  para PPAR- $\gamma$ . Ainda, **5b** ocupou o sítio ativo de PPAR- $\alpha$  mostrando interação polar com His 440 além de ser estabilizado por interações hidrofóbicas. Além disso, **5b** aumentou o efluxo de colesterol em macrófagos em 20% e 20,8% mediado por HDL e apoA1 respectivamente. **5b** não mostrou valores significativos no na diferenciação de adipócitos, concluindo que não há acúmulo de TG no tecido adiposo, o qual é o principal efeito adverso das tiazolidinedionas.

Palavras-chave: Resveratrol. Fibratos. PPARs. Dislipidemia.

## ABSTRACT

Dyslipidemia caused by hypertriglyceridemia and low HDL-C is a marker of risk for the progression of atherosclerosis and cardiovascular diseases. Receptors PPARs are transcription factors that control the expression genes involved in lipid and glucose metabolism. The PPAR- $\alpha$  activation increases gene expression of apoA1 and LPL contributing to elevation of HDL-C and reduction of TG. Considering, molecular hybridization between fibrates and resveratrol, we designed and synthesized new PPAR- $\alpha$  agonists. The novel compounds were able to activate both PPAR- $\alpha/\gamma$  in the nM range, highlighting **5b** with EC<sub>50</sub> value of 28nM for PPAR- $\alpha$  and 69nM for PPAR- $\gamma$ . Furthermore, **5b** occupied the active site of PPAR- $\alpha$  showing polar interaction with His 440 and it was stabilized by hydrophobic interactions. In addition, **5b** was able to remove cholesterol from cells around 20% cholesterol efflux led by HDL and 20.8% by apoA1 in macrophages bone marrow line. Compound **5b** did not show significant values in the differentiation of adipocytes. Then, there is no accumulation of TG in adipose tissue, which is the main adverse effect of thiazolidinediones.

Keywords: Resveratrol. Fibrates. PPARs. Dyslipidemia.



**SUMÁRIO**

1. INTRODUÇÃO.....	13
1.2 REVISÃO DA LITERATURA.....	15
1.2.1 METABOLISMO DE LIPÍDIOS .....	16
1.2.1.1 Lipoproteína de Baixa Densidade (LDL) .....	16
1.2.1.2 Lipoproteína de Alta Densidade (HDL) .....	17
1.2.1.3 Triglicerídeos (TG).....	19
1.2.3 ATEROSCLEROSE E DESENVOLVIMENTO DE DOENÇAS CARDIOVASCULARES .....	19
1.2.4 RECEPTORES PPARS COMO ALVO NO TRATAMENTO DA DISLIPIDEMIA .....	20
2. OBJETIVOS .....	26
2.1. OBJETIVO GERAL.....	26
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	26
3. MATERIAL E MÉTODO .....	26
3.1 MATERIAL .....	26
3.2 MÉTODOS ANALÍTICOS .....	27
3.2.1 Cromatografia em Camada Delgada (CCD).....	27
3.2.2 Cromatografia em Coluna de Fase Normal (CC-FN) .....	27
3.2.3 Cromatografia Líquida de Alta Eficiência Analítica.....	27
3.2.4 Cromatografia Líquida de Alta Eficiência Preparativa .....	27
3.2.5 Ressonância Magnética Nuclear (RMN).....	27
3.2.6 Espectrofotometria na região do Infravermelho .....	28
3.3 PLANEJAMENTO ESTRUTURAL .....	28
3.4 METODOLOGIA SINTÉTICA .....	30
3.4.1 Síntese do intermediário 1b .....	31
3.4.2 Síntese do intermediário 2b .....	32
3.4.3 Síntese dos compostos híbridos finais.....	33
3.5 ENSAIO DE TRANSFEÇÃO E GENE REPÓRTER .....	35
3.6 AVALIAÇÃO DO EFLUXO DE COLESTEROL.....	36
3.7 ENSAIO DE DIFERENCIAÇÃO DE ADIPÓCITOS .....	37
3.8 DOCAGEM MOLECULAR .....	38
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	39
4.1 SÍNTESE DO INTERMEDIÁRIO 1B .....	39
4.2 SÍNTESE DO INTERMEDIÁRIO 2B .....	40
4.4 IDENTIFICAÇÃO ESTRUTURAL.....	46
4.4.1 Intermediário 1a .....	46
4.4.2 Intermediário 1b.....	46
4.4.3 2-bromo-2-dimetil-buatanoamida .....	47
4.4.4 Intermediário 2b.....	47
4.4.5 Compostos híbridos finais .....	48
4.5 ATIVIDADE AGONISTA EM PPAR- $\alpha/\gamma$ .....	55
4.6 MODO DE LIGAÇÃO DE 5B EM PPAR- $\alpha/\gamma$ .....	57
4.7 EFLUXO DE COLESTEROL EM MACRÓFAGOS.....	59
5. CONCLUSÃO .....	62
REFERÊNCIAS .....	63
APÊNDICE.....	68

**Lista de Figuras**

Figura 1. Transporte reverso de colesterol em tecidos e macrófagos.....	18
Figura 2. Efeitos biológicos e estruturais após ativação dos receptores PPARs (autoria própria).....	22
Figura 3. Estrutura química de fibratos, resveratrol e CTM como agonistas de PPARs .....	25
Figura 4. Modo de ligação do resveratrol no sítio ativo de PPAR- $\gamma$ em comparação com o agonista CTM ...	29
Figura 5. Mecanismo de reação do intermediário 1a .....	40
Figura 6. Estrutura química dos compostos híbridos 4a-f e 5a-f.....	45
Figura 7. Principais correlações no mapa de contorno de HMBC para o composto 5f .....	48
Figura 8. Principais correlações no mapa de contorno de HMBC para o composto 4a.....	49
Figura 9. Principais correlações no mapa de contorno de HMBC para o composto 4b .....	50
Figura 10. Principais correlações no mapa de contorno de HMBC para o composto 4c.....	50
Figura 11. Principais correlações no mapa de contorno de HMBC para o composto 4d .....	51
Figura 12. Principais correlações no mapa de contorno de HMBC para o composto 4e.....	51
Figura 13. Estrutura química do composto 4f.....	52
Figura 14. Principais correlações no mapa de contorno de HMBC para o composto 5a.....	52
Figura 15. Principais correlações no mapa de contorno de HMBC para o composto 5b .....	53
Figura 16. Principais correlações no mapa de contorno de HMBC para o composto 5c.....	53
Figura 17. Principais correlações no mapa de contorno de HMBC para o composto 5d .....	54
Figura 18. Principais correlações no mapa de contorno de HMBC para o composto 5e.....	54
Figura 19. Curva de dose-resposta para os agonistas 5b e 5f em PPAR- $\alpha$ e PPAR- $\gamma$ . .....	56
Figura 20. Modo de ligação de 5b em PPAR- $\alpha/\gamma$ . .....	58
Figura 21. Percentagem do efluxo de colesterol determinado pelos para os compostos <b>4a-f</b> e <b>5a-f</b> . .....	60
Figura 22. Indução da diferenciação de adipócitos por 5b.....	62

## Lista de Tabelas

Tabela 1. Funções biológicas proveniente da ativação de PPARs.....	21
Tabela 2. Otimização sintética para os compostos híbridos finais .....	43
Tabela 3. Valores de EC <sub>50</sub> para os novos agonistas de PPAR- $\alpha/\gamma$ .....	56

---

**Lista de Esquemas**

Esquema 1. Planejamento estrutural das moléculas híbridas de fibratos.....	30
Esquema 2. Esquema geral de síntese para os compostos híbridos 4a-f e 5a-f. ....	31
Esquema 3. Esquema geral para a síntese do intermediário 2a. ....	31
Esquema 4. Esquema geral para a síntese do intermediário 2b. ....	32
Esquema 5. Esquema geral para síntese dos compostos híbridos finais.....	34
Esquema 6. Etapas de formação de um carbocátion.....	39
Esquema 7. Mecanismo de hidrólise de éster para formação do intermediário 2a.....	40
Esquema 8. Mecanismo de reação do cloreto de acila, propionamida e 2b.....	41
Esquema 9. Mecanismo de reação de Heck na obtenção de compostos ( <i>E</i> ).....	44

## LISTA DE ABREVIATURAS

- ABCA1 - Transportador cassete de ligação a ATP-1
- ACAT – Acil-CoA-colesterol-aciltransferase
- apoA1 – Apolipoproteína A1
- apoB100 - Apolipoproteína B100
- CETP – Proteína de transferência de éster de colesterol
- CDCl<sub>3</sub> – Clorofórmio deuterado
- CPK - Creatinofosfoquinase
- DCV – Doenças cardiovasculares
- eNOS – Óxido nítrico sintase endotelial
- HDL – Lipoproteína de alta densidade
- HMG-CoA - 3-hidroxi-3-metil-glutaril-CoA
- HMG-CoA - 3-hidroxi-3-metil-glutaril-CoA redutase
- LCAT - Lecitina-colesterol-aciltransferase
- IDL – Lipoproteína de densidade intermediária
- LDL – Lipoproteína de baixa densidade
- LDL-R – Receptores de LDL
- LPL – Lipoproteína de lipase
- LRT – Lipoproteínas ricas em triglicerídeos
- PPAR- $\alpha$  – Receptores ativadores da proliferação de peroxissomos- $\alpha$
- PPAR- $\gamma$  – Receptores ativadores da proliferação de peroxissomos-  $\gamma$
- RXR – Receptores retinóide X
- SR-BI – receptores de varredura BI
- TG – Triglicerídeos
- TRC – Transporte reverso de colesterol
- TNF- $\alpha$  – Fator de necrose tumoral-  $\alpha$
- VCAM-1 – Moléculas de adesão endotelial
- VLDL – Lipoproteína de muita baixa densidade

## 1. INTRODUÇÃO

A dislipidemia é definida como uma desregulação dos níveis lipídicos no plasma, sendo considerada como principal fator de risco no desenvolvimento de doenças cardiovasculares causadas (DCV) por aterosclerose. DCV recorrente por aterosclerose como doenças isquêmicas e acidente vascular cerebral são líderes em causas de morte em todo o mundo (NAGHAVI et al., 2015).

Aumento dos níveis plasmáticos de colesterol bem como elevadas concentrações de lipoproteína de baixa densidade (LDL-C) dão início ao processo de depósito desses lipídios na camada das artérias, conhecido como aterosclerose. Esta doença é um processo inflamatório que envolve as células espumosas que se depositam na camada íntima das artérias. Além de LDL-C, lipoproteínas ricas em triglicerídeos como VLDL, IDL e quilomicrons também contribuem no desenvolvimento de aterosclerose (LIBBY, P.; RIDKER, P. M.; HANSSON, 2011).

Diminuição nas concentrações de lipoproteína de alta densidade (HDL) aceleram o desenvolvimento de DCV. A HDL apresenta propriedade antiaterogênica porque realiza o transporte reverso de colesterol (TRC) de tecidos e placas ateroscleróticas para depuração no fígado. Concentrações normais de HDL-C (>40mg/dL para homens e >50mg/dL para mulheres) leva a redução de placa aterosclerótica promovendo proteção a eventos cardíacos (KINGWELL et al., 2014).

Embora as estatinas sejam consideradas fármacos de primeira escolha para o tratamento da dislipidemia, estas apresentam pouca eficácia no aumento de HDL-C e redução de TG. Interessantemente, a ativação de receptores ativados por proliferadores de peroxissomos (PPARs) está diretamente relacionado com o metabolismo de lipídios, principalmente na regulação de TG e HDL-C (ASCUNCE et al., 2012; TENENBAUM; FISMAN, 2012).

Os PPARs estão envolvidos no controle do metabolismo de lipídios, da glicose e inflamação. PPAR- $\alpha$  expressa genes de apoA1 (principal apolipoproteína que constitui a estrutura de HDL) no fígado, o qual é um receptor de colesterol durante o TRC. ApoA1 capta colesterol através dos transportadores ABCA1 no fígado e intestino para formar HDL-C. Esta lipoproteína juntamente com apoA1 também promovem efluxo de colesterol de células espumosas pelos transportes ABCA1 e ABCG1 na membrana celular de macrófagos, levando a regressão de placa aterosclerótica (KINGWELL et al., 2014; TENENBAUM; FISMAN, 2012).

A ativação de PPAR- $\alpha$  expressa genes de lipoproteína lipase (LPL). A LPL degrada TG de VLDL, IDL e quilomicrons em ácidos graxos livres que serão utilizados como fonte de energia pelo tecido muscular ou depositados no tecido adiposo na forma de TG. A aumentada atividade LPL por

PPAR- $\alpha$  reduz concentrações de TG plasmática, diminuindo a progressão de placa aterosclerótica e riscos cardiovasculares. Os fibratos são fármacos agonistas PPAR- $\alpha$  disponíveis na terapêutica para o tratamento da dislipidemia. Os fibratos reduzem concentrações de TG e elevam HDL-C através da expressão gênica de LPL e apoA1, respectivamente (TALAYERO; SACKS, 2011; TOTH, 2016). A busca por novas terapias capazes de aumentar a concentração de HDL-C plasmático ainda é um desafio no cenário da Química Farmacêutica e Medicinal, uma vez que os fibratos são únicos fármacos disponíveis para redução de TG e aumento de HDL-C utilizados no tratamento da dislipidemia.

Alguns compostos agonistas de PPAR têm sido descritos na literatura, dentre os quais se destaca o resveratrol. Este é um produto natural encontrado em plantas, a exemplo da *Vitis vinefera* (videira). Diversos benefícios cardioprotetores têm sido descritos com o uso de resveratrol, como por exemplo, efeito antioxidante, vasodilatador, antiagregante plaquetário e modulador lipídico (NAKATA; TAKAHASHI; INOUE, 2012). Estudos mostram que resveratrol é um agonista de PPAR- $\alpha$  capaz de aumentar a expressão de genes de ABCA1 e promover efluxo de colesterol em macrófagos (BERROUGUI et al., 2009; NAKATA; TAKAHASHI; INOUE, 2012). O resveratrol aumenta concentrações de HDL-C e reduz concentrações de LDL e TG (MIURA; MIURA; YAGASAKI, 2003). Diante destes benefícios, resveratrol é um interessante protótipo para o desenvolvimento de novos compostos moduladores lipídicos através da atividade agonista de PPAR- $\alpha$ .

Neste trabalho foram planejados novos agonistas de PPAR- $\alpha$  utilizando a abordagem de hibridização molecular. Esta abordagem visa à união de estruturas biologicamente ativas para a obtenção de uma nova entidade química com potência superior aos compostos de origem. Diante dos benefícios observados pelo resveratrol na modulação lipídica, foram sintetizados híbridos baseados na estrutura química deste protótipo e dos fibratos. Esta abordagem pode permitir a obtenção de fármacos mais seguros e efetivos para o aumento de HDL-C e redução de TG.

## 1.2 Revisão da literatura

As doenças cardiovasculares (DCV) como infarto do miocárdio, acidente vascular cerebral e hipertensão arterial ainda são as principais causas de morte no mundo. Por ano, aproximadamente um terço das mortes em adultos em todo o mundo é devido DCV(ASCUNCE et al., 2012). Dados estatísticos mostram que as DCV ainda representam a terceira maior causa de morte em todo mundo, seguido por HIV/AIDS e câncer. No período de 1990-2013 as mortes por DCV recuaram -21,9%, enquanto HIV/AIDS -23,0%, e câncer -14,0%(NAGHAVI et al., 2015).

No ano de 2007, por exemplo, ocorreram no Brasil cerca de 308.866 óbitos por doenças circulatórias. Em 2009, foi registrado 91.970 internações no SUS por DCV, resultando em um custo de R\$165.461.644,33(SBC; SBH; SBN, 2010). Em países como os Estados Unidos as DCV constituem também sério problema de Saúde Pública. Naquele país, 19 milhões de pessoas apresentam DCV, sendo que 6,5 milhões desenvolvem acidente vascular encefálico (ASCUNCE et al., 2012).

Dentre todas as DCV, aquelas causadas por aterosclerose, a exemplo de doenças isquêmicas (infarto do miocárdio e doenças cérebro vasculares) representam 46% de mortes em homens e 38% em mulheres(WORLD ORGANIZATION. WORLD HEART FEDERATION. WORLD STROKE ORGANIZATION, 2011). Altas taxas de mortalidade observadas por doenças isquêmicas refletem em alto investimento por indústrias farmacêuticas no desenvolvimento de novos fármacos. Dados de 2011 mostram que os fármacos reguladores de lipídios estão em segundo lugar no âmbito de valores investidos para pesquisa, chegando a \$36 bilhões de dólares. Somente a atorvastatina (Lipitor<sup>®</sup>) em 2009 rendeu a Pfizer \$12,5 bilhões de dólares (LEDFORD, 2011).

A dislipidemia é definida como alterações multifatoriais ou genéticas no metabolismo de lipoproteínas, a exemplo de LDL-C, VLDL/IDL e HDL-C. A dislipidemia é o principal fator de risco para o desenvolvimento de aterosclerose e conseqüentemente o surgimento de eventos isquêmicos (BIBBINS-DOMINGO et al., 2016).

De acordo com tipo de alteração dos níveis séricos de lipídios plasmáticos, a dislipidemia pode ser classificada em quatro tipos: *Hipercolesterolemia isolada*- elevação isolada do LDL ( $\geq 160$  mg/dL); *Hipertrigliceridemia* - elevação isolada dos triglicérides (TG) ( $\geq 150$  mg/dL), o qual aumenta o volume de partículas ricas em TG como VLDL, IDL e quilomícrons; *Hiperlipidemia mista* - valores aumentados de LDL-C ( $\geq 160$  mg/dL) e TG ( $\geq 150$  mg/dL); *HDL-C baixo* - redução do HDL-C (homens  $<40$  mg/dL e mulheres  $<50$  mg/dL) isolada ou em associação com aumento de LDL ou de TG (ANVISA, 2011).

A seguir, descrevemos o metabolismo de lipídios detalhando a importância de cada lipoproteína para o desenvolvimento de aterosclerose.



## 1.2.1 Metabolismo de lipídios

### 1.2.1.1 Lipoproteína de Baixa Densidade (LDL)

O colesterol é uma molécula orgânica pertencente à classe dos esteróis contendo uma hidroxila livre em sua estrutura química. O colesterol é o principal componente das membranas celulares além de ser precursor na biossíntese da vitamina D, hormônios e sais biliares. O colesterol pode ser adquirido pela dieta, mas todas as células do corpo produzem colesterol, sendo grande parte biossintetizado no fígado. A etapa crucial para a formação do colesterol é a conversão de HMG-CoA em mevalonato, o qual é catalisado por HMG-CoA redutase para a formação de colesterol intracelular (Figura 1). Após o colesterol segue diferentes caminhos: **1)** o colesterol formado em tecido extra-hepático é utilizado para compor membranas, formação de hormônios e armazenamento (após esterificação pela acil-CoA-colesterol-aciltransferase-ACAT); **2)** o colesterol hepático é esterificado pela ACAT e transportado no plasma até os tecidos por lipoproteínas de baixa densidade (LDL-C) (NELSON; COX, 2011).

A LDL circulante é reconhecida por receptores de LDL (LDL-R) encontrados na superfície celular e transferidos para o interior da célula, evento conhecido como endocitose. Os ésteres de colesterol no interior celular são hidrolisados em colesterol livre, e os LDL-R retornam à superfície para atuar novamente na captação de LDL. Níveis ideais de colesterol intracelular regulam a sua biossíntese inibindo a atividade da HMG-CoA redutase. Altos níveis de colesterol intracelulares ativam ACAT, que aumentam a formação de ésteres de colesterol para armazenamento. Níveis de colesterol aumentados na célula inibem a transcrição do gene que codifica o LDL-R, o qual reduz a produção do receptor e a captação de LDL plasmática, levando ao estado de hipercolesterolemia (NELSON; COX, 2011).

Na hipercolesterolemia familiar os níveis de colesterol plasmático são extremamente elevados e há o desenvolvimento de aterosclerose na infância. A doença é caracterizada por mutações no gene que codifica o receptor de LDL (LDL-R); mutações também são observadas no gene *APOB* que codifica apolipoproteína B-100 (Apo B-100), diminuindo a afinidade pelo LDL-R. Nesses indivíduos, a captação de colesterol plasmático mediado por LDL-R celular não ocorre, podendo ocorrer um acúmulo de colesterol no plasma, contribuindo para o desenvolvimento de aterosclerose acelerada (BRASILEIRA, 2012).

Alguns fármacos são disponíveis como terapia na redução das concentrações de LDL-C, a exemplo das estatinas e inibidores de PCSK9. As estatinas são inibidores de HMG-CoA redutase levando a inibição da biossíntese de colesterol hepática e aumento da expressão de receptores de LDL (LDL-R), e conseqüentemente diminuição de LDL-C circulante (MANSI et al., 2013). A proteína convertase subtilisina/kexina tipo 9 (PCSK9) é uma proteína expressa em diversos

tecidos que degrada receptores de LDL (LDL-R) na superfície celular, inibindo desta forma a absorção de colesterol pelas células. No entanto, o bloqueio de PCSK9 por inibidores (evolocumab, bococizumab, and alirocumab) promovem a reciclagem de LDL-R celular reduzindo LDL-C plasmático (LAMBERT et al., 2012).

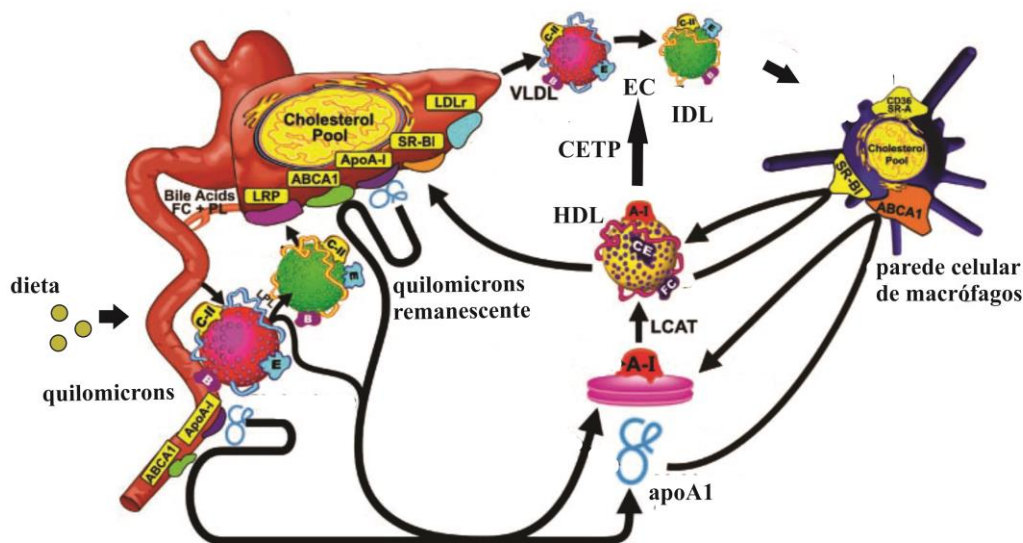
### 1.2.1.2 Lipoproteína de Alta Densidade (HDL)

A lipoproteína de alta densidade (HDL) contém em sua estrutura diversas apolipoproteínas, como apoA-1, apoC-I, apoC-II, apoC-III e outras, além da enzima lecitina-colesterol-aciltransferase (LCAT) que catalisa a formação de ésteres de colesterol. A HDL participa do processo conhecido como transporte reverso de colesterol (TRC). O processo de TRC remove lipídios (colesterol livre e éster de colesterol) principalmente do fígado, intestino e tecido adiposo através dos *transportadores cassete de ligação a ATP-1* (ABCA-1) para formação de HDL-C (BREWER, 2004; HEINECKE, 2012). A apoA-1 é biossintetizada no fígado sendo a principal apolipoproteína que compõe a estrutura de HDL. O efluxo de colesterol por ABCA-1 é captado por apoA-1 e leva à formação da chamado pré-HDL (ou HDL nascente). Após a esterificação de colesterol livre por LCAT se tem a formação da  $\alpha$ -HDL, que transporta os ésteres de colesterol para excreção no fígado (Figura 1). Em macrófagos aterogênicos (células espumosas que compõem placa aterosclerótica) o TRC é mediado por HDL através do transportador ABCG1 e receptores SR-BI (receptores de varredura-BI), além de apoA1 (ABCA1) (CHOI et al., 2017; JOY; HEGELE, 2008).

A HDL é considerada antiaterogênica por diminuir riscos de evento cardiovascular devido o TRC, o qual leva a regressão de placa aterosclerótica. Pacientes com concentrações de HDL < 35 mg/dL estão mais propensos a eventos isquêmicos do que aqueles que apresentam concentrações séricas > 60 mg/dL (BALLANTYNE et al., 1999). Pacientes com Síndrome Coronária Aguda apresentam menor formação de  $\alpha$ -HDL e estão mais predispostos a eventos cardiovasculares (TIAN et al., 2014). Estudos realizados *in vivo* mostraram que a infusão direta de apoA-1 em ratos aumenta o TRC e níveis plasmáticos de  $\alpha$ -HDL, além de reduzir placas ateroscleróticas (HUANG et al., 2014). Alguns fármacos são disponíveis para o tratamento da dislipidemia devido baixo HDL-C, a exemplo dos fibratos e niacina. Esses compostos aumentam a expressão gênica de apoA1 no fígado e elevando HDL-C plasmático após ativação dos receptores ativadores da proliferação por peroxissomos-alfa (PPAR- $\alpha$ ) (HENNUYER et al., 2005).

Outros fármacos têm recebido atenção para o tratamento de dislipidemia ocasionado por baixo HDL-C, como a exemplo da niacina. O possível mecanismo da niacina envolve a inibição de lipoproteínas lipase (LPL), reduzindo a hidrólise de triglicerídeos no tecido adiposo. O resultado final é uma menor concentração de ácidos graxos livre na corrente sanguínea, diminuindo a

biossíntese de VLDL e IDL com aumento de HDL-C. Estes aumentos de HDL-C provem da ação da proteína de transferência de éster de colesterol (CETP) (DE MARIA; MOREIRA, 2011). Esta proteína tem como função a transferência de colesterol de lipoproteínas ricas em TG (VLDL e IDL) para HDL. Um estudo realizado recentemente em pacientes com baixo HDL-C e altas concentrações de TG, mostrou que niacina não apresentou benefícios quanto à prevenção de eventos cardíacos (CHOI et al., 2017). A CETP por muitos anos têm sido investigada como alvo terapêutico no aumento de HDL-C. No entanto, diversos compostos foram planejados como candidatos a fármacos, entre eles torcetrapibe, anacetrapibe, dalcetrapibe, e evacetrapibe. Grande parcela desses compostos tiveram seus estudos clínicos interrompidos devido causas de morte e complicações cardíacas. Atualmente apenas o anacetrapibe encontra-se em fase clínica III (MULLARD, 2015).



**Figura 1.** Transporte reverso de colesterol em tecidos e macrófagos (adaptado de BREWER, 2004 e HEINECKE, 2012). apoA1 (biossíntese no fígado) age como receptor de colesterol proveniente de fígado e intestino através do transportador ABCA1 levando à formação de HDL-C, a qual transporta colesterol para degradação no fígado. HDL-C e apoA1 também agem como aceptores de colesterol em células espumosas (componente de placa aterosclerótica) através de ABCA1, ABCG1 e SR-BI respectivamente. A CETP transfere éster de colesterol de HDL para VLDL e IDL, tornando estas lipoproteínas aterogênicas, diminuindo a eficiência de HDL no processo de TRC.

### 1.2.1.3 Triglicerídeos (TG)

Os triglicerídeos (TG) podem ser obtidos por duas vias, a exógena através da dieta, e endógena por biossíntese no fígado. Durante uma dieta lipídica os TGs são absorvidos por enterócitos e transportados por quilomicrons até o fígado para degradação. Durante este percurso os TGs são hidrolisados por lipoproteínas lipases (LPL) originando ácidos graxos livres e quilomicrons remanescente. Os ácidos graxos são utilizados pelo músculo esquelético como fonte de energia, ou também armazenado no tecido adiposo. Os TG em quilomicrons remanescentes são degradados pelo fígado em ácidos graxos (TALAYERO; SACKS, 2011; TOTH, 2016).

Seguindo a via endógena, na presença de glicerol-3-fosfato, os ácidos graxos são convertidos em TGs os quais são transportados na corrente sanguínea por lipoproteínas de muita alta densidade (VLDL). As VLDLs são degradadas em lipoproteína de densidade intermediária (IDL), LDL e ácidos graxos por ação das LPLs. Estudos mostram que lipoproteínas remanescentes ricas em TGs contribuem para a formação de placa aterosclerótica (TALAYERO; SACKS, 2011; TOTH, 2016).

No tratamento de hipertrigliceridemia, os fibratos são potentes redutores de TG plasmático. Os fibratos expressam genes de LPL, aumentando a atividade dessa lipoproteína. Esse efeito contribui com a hidrólise do TG em ácido graxo nas partículas de VLDL/IDL (HENNUYER et al., 2005). Alvos terapêuticos como diacilglicerol acil-transferase-2 (DGAT2) têm sido investigados para redução de TG. A DGAT2 catalisa a etapa de biossíntese de TG através da esterificação de diacilglicerol na presença de acil-CoA. Promissores inibidores de DAGT2 têm sido planejados e alguns compostos como o pradigastat se encontra em fase clínica III (FUTATSUGI et al., 2015).

### 1.2.3 Aterosclerose e desenvolvimento de doenças cardiovasculares

O aumento dos níveis séricos de LDL plasmático está diretamente relacionado com o desenvolvimento de aterosclerose, uma doença inflamatória crônica caracterizada pelo acúmulo de lipídios na camada íntima das artérias (CHARO; TAUB, 2011). O processo inflamatório se inicia com a migração de monócitos circulantes para camada íntima através de moléculas de adesão endotelial (VCAM-1). Os monócitos se diferenciam em macrófagos, que fagocitam LDL oxidadas (LDL<sub>ox</sub>), transformando-se em células espumosas (*foam cells*) que são depositadas na parede de artérias iniciando o processo de formação de placa aterosclerótica. As células espumosas secretam TNF- $\alpha$  e interleucina 1- $\beta$  que promovem aumento da expressão de molécula de adesão vascular celular -1 (VCAM-1), dando início ao processo inflamatório crônico (LIBBY, 2002; LIBBY; RIDKER; HANSSON, 2011).

Assim como a LDL-C, as lipoproteínas remanescentes ricas em TG (VLDL, IDL e quilomicrons) são fagocitadas por macrófagos levando a formação de células espumosas, as quais contribuem para formação e progressão de placa aterosclerótica. A hidrólise de lipoproteínas ricas em triglicerídeos (LRT) resulta em altas concentrações de ácidos graxos oxidados, os quais aumentam a expressão de citocinas pró-inflamatórias levando a inflamação endotelial. Por outro lado, as LRT aumentam a expressão de VCAM-1 endotelial recrutando monócitos para o endotélio e a resposta inflamatória na formação de células espumosas (TOTH, 2016).

Diante de um estado de hipertrigliceridemia que contribui para a formação de placa aterosclerótica, concentrações de HDL-C são reduzidas por ação da CETP. Efeitos antiaterogênicos de HDL como inibição da oxidação de LDL-C e redução da expressão de VCAM-1 endotelial são diminuídos. Além disso, a redução do processo de TRC de células espumosas também reduz, acelerando a formação e progressão de placa aterosclerótica (TOTH, 2016).

O crescente acúmulo de células espumosas na íntima das artérias se estende para outras camadas diminuindo seu calibre ou podendo acarretar na ruptura da placa aterosclerótica. Após o rompimento do endotélio há o extravasamento do conteúdo da placa para a circulação que pode levar a formação de trombo através do processo de agregação plaquetária. A formação de trombo no local da lesão endotelial interrompe o fluxo sanguíneo em artérias, levando ao desenvolvimento de doenças cardiovasculares como infarto do miocárdio e doenças cerebrovasculares (LIBBY, 2011).

#### **1.2.4 Receptores PPARs como alvo no tratamento da dislipidemia**

Os receptores ativadores da proliferação de peroxissomos (PPARs) são fatores de transcrição e membros da família dos receptores nucleares. A ativação dos receptores PPARs dispara a expressão/silenciamento de genes envolvidos em diversas respostas biológicas como inflamação, regulação do metabolismo lipídico e da glicose. Três isoformas de PPARs são possíveis, como PPAR- $\alpha$ , PPAR- $\beta$  e PPAR- $\gamma$ , e as diversas respostas a partir da ativação deles estão apresentadas na tabela 1 (KOTA; HUANG; ROUFOGALIS, 2005).

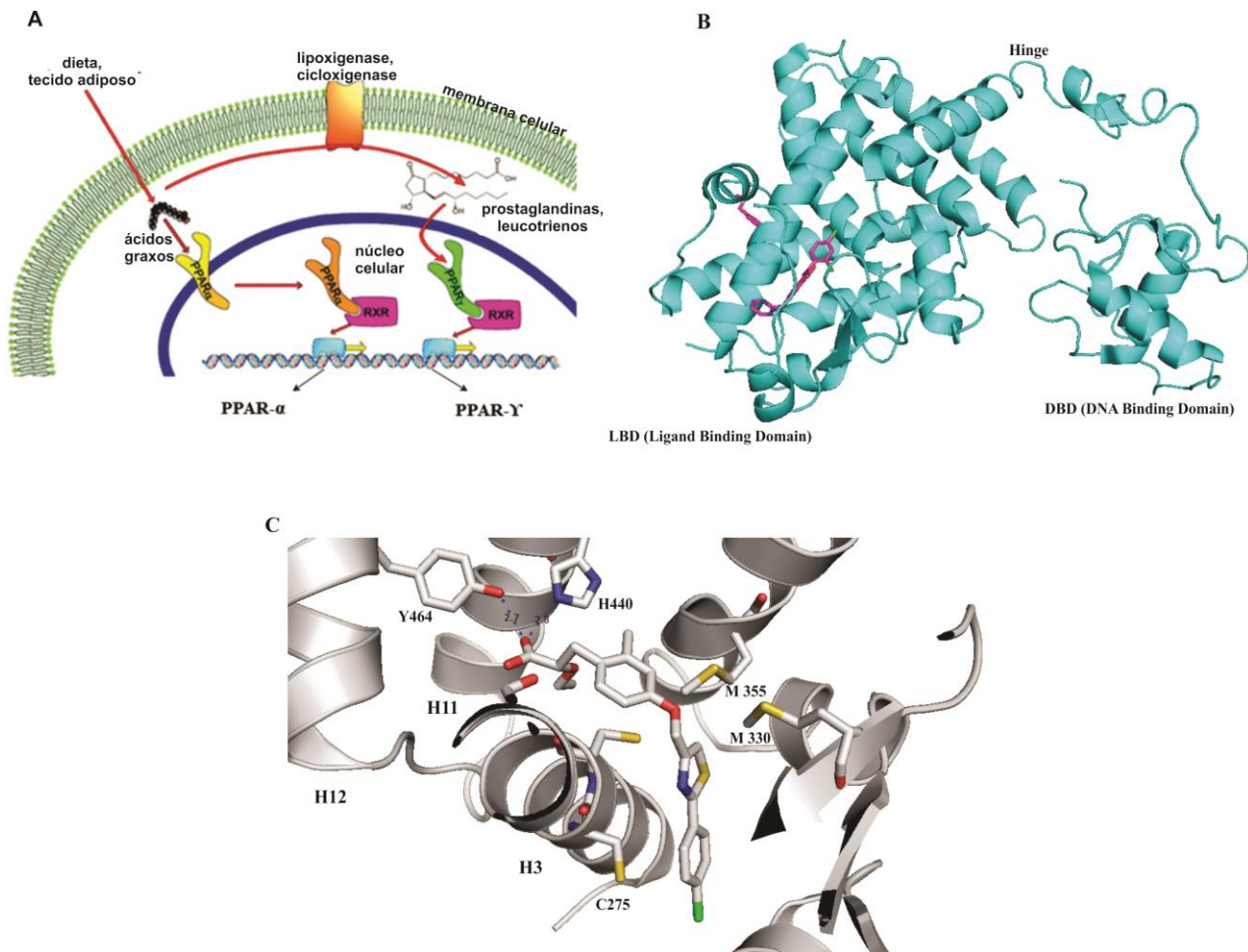
**Tabela 1.** Funções biológicas proveniente da ativação de PPARs

PPAR- $\alpha$	PPAR- $\beta$	PPAR- $\gamma$
↑ oxidação de ácidos graxos	↑ oxidação de ácidos graxos	↓ citocinas pró-inflamatórias
↑ apoA-1	↑ oxidação de ácidos graxos	↑ ABCA-1
↑ LPL	↑ HDL	↓ NF- $\kappa$ B
↑ ABCA-1		↑ captação de glicose
↓ citocinas pró-inflamatórias		↑ glicogênio
↑ HDL		↓ resistência a insulina
↓ LDL		
↓ triglicerídeos		

O controle da expressão gênica pelos receptores PPARs no núcleo celular é dependente de um ligante, ou seja, um agonista endógeno (oxisteróis) ou exógeno (molécula de origem natural ou sintética) o qual reconhece a estrutura do receptor para desencadear uma resposta. NO núcleo celular, os PPARs formam um heterodímero com os receptores A ativação do receptor por um agonista leva ao recrutamento de coativadores com por exemplo o receptor X retinóide (RXR). O complexo formado entre PPAR+ligante+RXR reconhece sequências de DNA conhecidas como elementos responsivos proliferadores de peroxissomos (PPREs) para então conduzir a regulação da expressão gênica (Figura 2A) (BERGER; MOLLER, 2002; BERNARDES et al., 2013; CHANDRA et al., 2009).

Estruturalmente os receptores PPARs são compostos por duas principais regiões, como o domínio de ligação ao DNA (*DNA binding domain* – DBD): esta região é responsável por reconhecer as sequências de DNA para iniciar a transcrição gênica; e o domínio de ligação do ligante ou sítio ativo (*ligand binding domain* – LBD). Análise tridimensional das estruturas químicas de fibratos ligados ao receptor tem oferecido uma melhor compreensão do modo de ativação de PPAR- $\alpha$  e as alterações provocadas na região C-terminal (AF2) (Samarasinghe, et al., 2009). O complexo cristalográfico do PPAR- $\alpha$  o fibrato **CTM** indica interações importantes que estabilizam o modo de ligação, entre elas, destaca-se as ligações de hidrogênio entre o substituinte ácido carboxílico e os resíduos Tyr464 e His440 (Figura 2c). O fibrato **CTM** também é estabilizado por interações hidrofóbicas através de resíduos de metionina e cisteína no sítio ativo de PPAR- $\alpha$  (Figura 2c). A ligação de hidrogênio com a Tyr464 é importante para a manutenção da proteína na sua conformação ativa, pois a conformação fechada dessa hélice é essencial para o

recrutamento de coativadores e início da transcrição (BÉNDARDEAU et al., 2009)(CHANDRA et al., 2009; DOS SANTOS et al., 2015).



**Figura 2.** Efeitos biológicos e estruturais após ativação dos receptores PPARs (autoria própria). **A**, ativação de PPARs e início da transcrição gênica no núcleo celular (adaptado de BERGER; MOLLER, 2002; **B**, conformação ativa da estrutura de PPARs na forma fechada; **C**, modo de interação do fibrato CTM com o receptor PPAR- $\alpha$ . Código PDB 3FEI. H3, Hélice 3. H5, Hélice 5. H12, Hélice 12. Y464, tirosina 464. H440, histidina 440.

O PPAR- $\alpha$  é expressado em diversos tecidos como fígado, coração, rins, células endoteliais e macrófagos, e sua ativação está diretamente relacionada com a modulação lipídica, principalmente com a regulação de HDL-C, TG e oxidação de ácidos graxos. No núcleo de células hepáticas, a ativação de PPAR- $\alpha$  eleva a expressão de genes para biossíntese de apoA-1. Ainda em células hepáticas e do intestino, a ativação de PPAR- $\alpha$  conduz a transcrição gênica dos receptores- $\alpha$  X do fígado (LXR- $\alpha$ ), que aumentam a expressão dos transportadores ABCA-1 da membrana celular elevando o efluxo de colesterol daquelas células (KOTA; HUANG; ROUFOGALIS, 2005). Por esses mecanismos, o efeito agonista de PPAR- $\alpha$  contribui para biossíntese de HDL ativando o transporte reverso de colesterol a promovendo a regressão de placa aterosclerótica e prevenções ao

sistema cardiovascular (TENENBAUM; FISMAN, 2012). Estudos *in vitro* mostram que agonistas de PPARs inibem a expressão de TNF- $\alpha$ , uma citocina pró-aterogênica que aumenta a expressão de VCAM-1 endotelial levando ao recrutamento de monócitos durante o processo de formação de placa (JIANG; TING; SEED, 1998).

Os fibratos são os únicos fármacos agonistas de PPAR- $\alpha$  disponíveis na terapêutica atualmente desde a descoberta destes receptores na década de 60. Esses compostos aumentam a expressão gênica de apoA1 e dos transportadores ABCA1, conduzindo ao efluxo de colesterol de células espumosas e promovendo a elevação dos níveis de HDL. Entre os fibratos disponíveis atualmente encontram-se o ciprofibrato, bezafibrato, fenofibrato e genfibrozila (TENENBAUM; FISMAN, 2012).

Estudos clínicos mostraram que bezafibrato é o mais efetivo no tratamento de níveis reduzidos de HDL e hipertrigliceridemia. A administração deste composto em camundongos elevou os níveis de HDL em 56% e diminuiu TG em 69%, além da redução de placa aterosclerótica (Inaba et al., 2008). Estudos clínicos em humanos relataram aumento de HDL em 28-29%, redução de TG em 40-55% e também regressão de placa aterosclerótica (AYAORI et al., 2008; DUEZT et al., 2002).

A ativação de PPAR- $\alpha$  por fibratos estimula a atividade da LPL que aumenta a hidrólise de triglicerídeos em lipoproteínas circulantes. A terapia com fibratos pode ser realizada em monoterapia para o tratamento de baixo HDL e hipertrigliceridemia, ou em combinação com estatinas para o tratamento de hiperlipidemia mista ou baixo HDL associado com elevações de LDL. Estudos mostraram que combinações de fibratos/estatinas são mais eficientes na redução de TG e aumento de HDL quando comparada em monoterapia com estatinas. Porém, a terapia com fibratos é limitada devido aos efeitos colaterais como miopatia e rabdomiólise, que são mais significantes quando combinados com estatinas (TENENBAUM; FISMAN, 2012). Tais efeitos colaterais podem ser diagnosticados através da dosagem dos níveis plasmáticos de creatinafosfoquinase (CPK), uma enzima que catalisa a formação de fosfocreatina, utilizada no tecido muscular como fonte de energia (GOLDENBERG; BENDERLY; GOLDBOURT, 2008).

O resveratrol é um composto natural pertencente à classe dos polifenóis classificado quimicamente como 3,5,4'-trihidroxiestilbeno, podendo ser encontrado principalmente nas sementes dos frutos de *Vitis vinifera* (videira). Este composto é encontrado naturalmente sob duas formas isoméricas, *E* e *Z*, sendo que diversos estudos têm demonstrado os benefícios de (*E*)-resveratrol à saúde, como antioxidante, quimiopreventivo, anti-inflamatório, antifúngico, antiagregante plaquetário e vasodilatador (ASENSI et al., 2002).

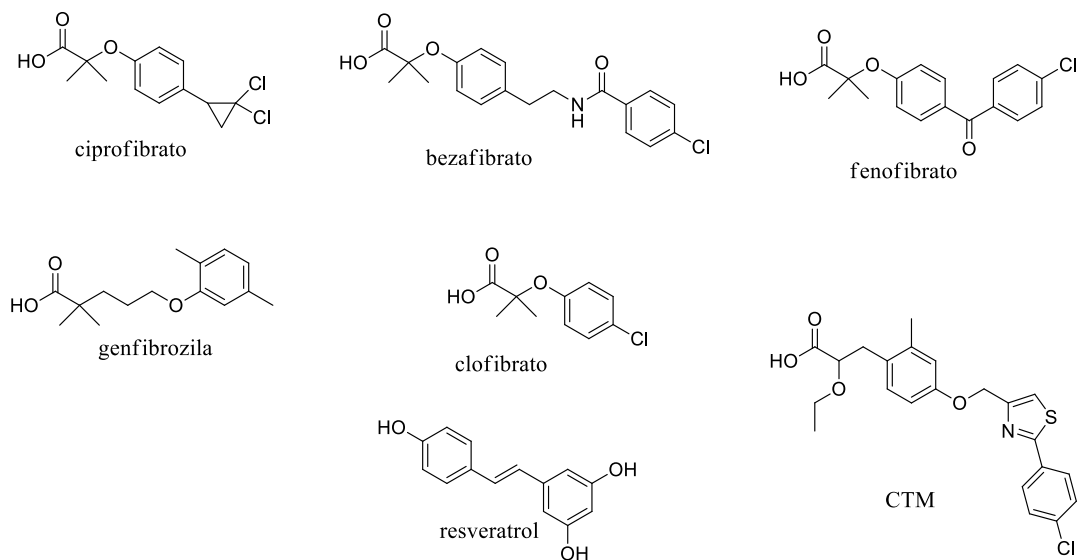


O (*E*)-resveratrol têm sido relatado como um composto com propriedades preventivas de complicações relacionadas às DCV e aterosclerose devido sua capacidade de modular o metabolismo lipídico. Este composto ativa PPAR- $\alpha$ , promove aumento da expressão do transportador ABCA-1 em macrófagos e contribuiu para o efluxo de colesterol em células espumosas na formação de HDL. Resultados de Miura e colaboradores (2003) mostraram que ratos tratados por via oral com resveratrol tiveram aumento de HDL e redução de LDL/triglicérides. Estudos mostraram que coelhos tratados com (*E*)-resveratrol (2mg/kg) apresentaram redução de placa aterosclerótica com inibição na expressão de citocinas pro-inflamatórias e VCAM-1 endotelial, além de reduzir em até 34% os eventos cardiovasculares como infarto do miocárdio (MATOS et al., 2012)(MIURA; MIURA; YAGASAKI, 2003).

Outro estudo envolvendo a redução de placa aterosclerótica em camundongos mostrou a diminuição da área de lesão em 52% por (*E*)-resveratrol, 40% por atorvastatina e 47% na combinação de ambos. Neste mesmo estudo um segundo mecanismo foi proposto no aumento de HDL envolvendo (*E*)-resveratrol, devido à inibição da proteína de transferência de éster de colesterol (CETP), responsável por transferir ésteres de colesterol para LDL. Camundongos com aumento na expressão de CETP e tratados com resveratrol tiveram elevações nas concentrações de HDL-C plasmático e redução na transferência de éster de colesterol para LDL em 24% (BERBÉE et al., 2013).

Indivíduos obesos receberam tratamento com resveratrol diariamente por duas semanas, e este composto reduziu LDL plasmático em 27% além de diminuir a resistência a insulina. Um possível mecanismo para a redução de LDL por (*E*)-resveratrol é sua regulação na excreção de lipídios (DASH et al., 2013).

O (*E*)-resveratrol reduz lesão aterosclerótica ao inibir a expressão de citocinas pró-inflamatórias (IL-1 $\beta$  e TNF- $\alpha$ ) e por ativação da enzima óxido nítrico sintase endotelial (eNOS). A ativação de eNOS eleva a produção de óxido nítrico (NO), uma molécula simples envolvida em diversos efeitos vasculares, como diminuição da expressão de citocinas, adesão dos monócitos ao endotélio, oxidação de LDL pelo sequestro de radicais livres lipídicos e vasodilatação (Wang et al., 2012). Estudos relataram que pacientes hipertensos tiveram redução da pressão sanguínea quando tratados com resveratrol, devido a ativação de eNOS e modulação do metabolismo de NO (CARRIZZO et al., 2013).



**Figura 3.** Estrutura química de fibratos, resveratrol e CTM como agonistas de PPARs

## 5. CONCLUSÃO

Foi possível realizar a síntese, purificação e caracterização estrutural por RMN de  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  e espectroscopia de absorção na região do infravermelho dos intermediários **1a**, **1b**. Ambos foram obtidos com rendimentos de 16 e 80%, respectivamente. Estes intermediários foram planejados para obtenção da série dos compostos híbridos contendo grupo ácido na estrutura. A partir dos intermediários **1a** e **1b** seis compostos híbridos finais (**4a-f**) foram sintetizados, purificados por CLAE-DAD preparativo, e caracterizados por RMN unidimensional de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ , e bidimensional de HSQC e HMBC, com rendimentos que variaram entre 8-16%.

Os intermediários propionamida e **2b** foram sintetizados, purificados e caracterizados por RMN de  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  e espectroscopia de absorção na região do Infravermelho, com rendimentos de 83 e 32%. Estes intermediários foram planejados para obtenção dos compostos híbridos finais contendo grupo amida na estrutura. A partir dos intermediários propionamida e **2b** seis compostos híbridos (**5a-f**) foram obtidos. Além disso, foi possível realizar uma breve otimização do procedimento sintético para os compostos híbridos finais, para os quais se observou aumento gradativo do rendimento reacional em relação ao aumento do uso de  $\text{Pd}(\text{AcO})_2$ .

Os compostos híbridos **5a-f** apresentaram atividade agonista dual em PPAR- $\alpha/\gamma$  com valores de  $\text{EC}_{50}$  que variaram entre 28nM a 4700nM. O agonista **5b** foi 660x mais potente que o fármaco bezafibrato na ativação de PPAR- $\alpha$ . Este agonista (**5b**) mostrou substancial seletividade para PPAR- $\alpha$  em relação à PPAR- $\gamma$  (2,5x). Estudos de docagem molecular mostram que **5b** se liga no sítio ativo de PPAR $\alpha/\gamma$ , o qual é estabilizado por interações polares e hidrofóbicas.

O novo agonista dual **5b** foi eficaz em promover efluxo de colesterol em macrófagos J777 mediado por HDL (6,5%) e em macrófagos bone marrow mediado por HDL (20%) e ApoA1(20,8%). Esses resultados sugerem que **5b** aumenta o efluxo de colesterol através dos transportadores ABCA1 e ABCG1 na presença de HDL e apoA1.

Apesar de ser um agonista de PPAR- $\gamma$ , interessantemente o composto **5b** não apresentou valores significativos na expressão gênica de Fabp4. Além disso, não promoveu diferenciação de adipócitos de forma significativa comparado à rosiglitazona.

## REFERÊNCIAS

- ANVISA. Dislipidemia. Saúde e Economia. **Saúde e economia**, v. 3, n. 6, p. 1–4, 2011.
- ASCUNCE, R. R. et al. The role of statin therapy for primary prevention: What is the evidence? **Current Atherosclerosis Reports**, v. 14, n. 2, p. 167–174, 2012.
- ASENSI, M. et al. Inhibition of cancer growth by resveratrol is related to its low bioavailability. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 33, n. 3, p. 387–398, 2002.
- AYAORI, M. et al. Effect of bezafibrate therapy on atherosclerotic aortic plaques detected by MRI in dyslipidemic patients with hypertriglyceridemia. **Atherosclerosis**, v. 196, n. 1, p. 425–433, 2008.
- BALLANTYNE, C. M. et al. Influence of low HDL on progression of coronary artery disease and response to fluvastatin therapy. **Circulation**, v. 99, n. 6, p. 736–43, 1999.
- BÉNARDEAU, A. et al. Aleglitazar, a new, potent, and balanced dual PPAR $\alpha/\gamma$  agonist for the treatment of type II diabetes. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 19, n. 9, p. 2468–2473, 2009.
- BERBÉE, J. F. P. et al. Resveratrol protects against atherosclerosis, but does not add to the antiatherogenic effect of atorvastatin, in APOE \* 3-Leiden.CETP mice. **Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 24, n. 8, p. 1423–1430, 2013.
- BERGER, J.; MOLLER, D. E. The Mechanisms of Action of PPARs. **Annual Review of Medicine**, v. 53, n. 1, p. 409–435, 2002.
- BERNARDES, A. et al. Molecular mechanism of peroxisome proliferator-activated receptor  $\alpha$  activation by WY14643: A new mode of ligand recognition and receptor stabilization. **Journal of Molecular Biology**, v. 425, n. 16, p. 2878–2893, 2013.
- BIBBINS-DOMINGO, K. et al. Screening for Lipid Disorders in Children and Adolescents. **JAMA**, v. 316, n. 6, p. 625, 2016.
- BRASILEIRA, S. I D iretriz B rasileira de H ipercolesterolemia F amiliar ( HF ). **Arquivo Brasileiro de Cardiologia**, v. 99, p. 1-28, 2012.
- BREWER, H. B. High-Density Lipoproteins: A New Potential Therapeutic Target for the Prevention of Cardiovascular Disease. **Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology**, v. 24, n. 3, p. 387–391, 2004.

CAREY, F. A.; SUNDBERG, R. J. **Advanced Organic Chemistry Part A: Structure and Mechanisms**: 5 ed. Nova Iorque: Springer, 2007.

CARRIZZO, A. et al. Resveratrol improves vascular function in patients with hypertension and dyslipidemia by modulating NO metabolism. **Hypertension**, v. 62, n. 2, p. 359–366, 2013.

CHANDRA, V. et al. Structure of the intact PPAR- $\gamma$ -RXR- $\alpha$  nuclear receptor complex DNA. **Nature**, v. 456, n. 7220, p. 350–356, 2009.

CHARO, I. F.; TAUB, R. Anti-inflammatory therapeutics for the treatment of atherosclerosis. **Nature Reviews Drug Discovery**, v. 10, n. 5, 365–376, 2011.

CHOI, H. Y. et al. High-Density Lipoproteins: Biology, Epidemiology, and Clinical Management. **Canadian Journal of Cardiology**, v. 33, n. 3, p. 325–333, 2017.

DASH, S. et al. High-dose resveratrol treatment for 2 weeks inhibits intestinal and hepatic lipoprotein production in overweight/obese men. **Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology**, v. 33, n. 12, p. 2895–2901, 2013.

DE MARIA, C. A. B.; MOREIRA, R. F. A. A intrigante bioquímica da niacina - Uma revisão crítica. **Química Nova**, v. 34, n. 10, p. 1739–1752, 2011.

DOS SANTOS, J. C. et al. Different binding and recognition modes of GL479, a dual agonist of Peroxisome Proliferator-Activated Receptor. **Journal of Structural Biology**, v. 191, n. 3, p. 332–340, 2015.

DUEZT, H. et al. Reduction of atherosclerosis by the peroxisome proliferator-activated receptor  $\alpha$  agonist fenofibrate in mice. **Journal of Biological Chemistry**, v. 277, n. 50, p. 48051–48057, 2002.

EL-NAHAS, A. M.; CLARK, T. AM1 and PM3 Calculations on the Effect of Substituents on the Stabilities of Carbocations in the Gas Phase and in Solution. **Journal of Organic Chemistry**, v. 60, n. 24, p. 8023–8027, 1995.

FUTATSUGI, K. et al. Discovery and Optimization of Imidazopyridine-Based Inhibitors of Diacylglycerol Acyltransferase 2 (DGAT2). **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 58, n. 18, p. 7173–7185, 2015.

GOLDENBERG, I.; BENDERLY, M.; GOLDBOURT, U. Update on the use of fibrates: Focus on bezafibrate. **Vascular Health and Risk Management**, v. 4, n. 1, p. 131–141, 2008.

GRETHER, U. et al. Design and biological evaluation of novel, balanced dual PPAR $\alpha/\gamma$  agonists.

**ChemMedChem**, v. 4, n. 6, p. 951–956, 2009.

HEINECKE, J. W. The not-so-simple HDL story: A new era for quantifying HDL and cardiovascular risk? **Nature Medicine**, v. 18, n. 9, p. 1346–1347, 2012.

HENNUYER, N. et al. PPAR $\alpha$ , but not PPAR $\gamma$ , activators decrease macrophage-laden atherosclerotic lesions in a nondiabetic mouse model of mixed dyslipidemia. **Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology**, v. 25, n. 9, p. 1897–1902, 2005.

HONG, J. L.; WANG, L. Triethanolamine as an efficient and reusable base, ligand and reaction medium for phosphane-free palladium-catalyzed heck reactions. **European Journal of Organic Chemistry**, n. 22, p. 5099–5102, 2006.

HUANG, Y. et al. An abundant dysfunctional apolipoprotein A1 in human atheroma. **Nature Medicine**, v. 20, n. 2, p. 193–203, 2014.

JIANG, C.; TING, A. T.; SEED, B. PPAR- $\alpha$  agonists inhibit production of monocyte inflammatory cytokines. **Nature**, v. 391, n. 6662, p. 82–86, 1998.

JOY, T.; HEGELE, R. A. Is raising HDL a futile strategy for atheroprotection? **Nature Reviews Drug Discovery**, v. 7, n. 2, p. 143–155, 2008.

KAWASHIRI, M. AKI et al. Impact of bezafibrate and atorvastatin on lipoprotein subclass in patients with type III hyperlipoproteinemia: Result from a crossover study. **Clinica Chimica Acta**, v. 412, n. 11–12, p. 1068–1075, 2011.

KOTA, B. P.; HUANG, T. H. W.; ROUFOGALIS, B. D. An overview on biological mechanisms of PPARs. **Pharmacological Research**, v. 51, n. 2, 85–94, 2005.

LAMBERT, G. et al. The PCSK9 decade. **Journal of Lipid Research**, v. 53, n. 12, p. 2515–2524, 2012.

LEDFORD, H. Blockbuster drugs bows out. **Nature**, v. 480, p. 16–17, 2011.

LI, Y. et al. T2384, a novel antidiabetic agent with unique peroxisome proliferator-activated receptor  $\gamma$  binding properties. **Journal of Biological Chemistry**, v. 283, n. 14, p. 9168–9176, 2008.

LIBBY, P. Inflammation in atherosclerosis. **Nature**, v. 420, n. 6917, p. 868–874, 2002.

LIBBY, P.; RIDKER, P. M.; HANSSON, G. K. Progress and challenges in translating the biology of atherosclerosis. **Nature**, v. 473, n. 7347, p. 317–325, 2011.

MANZI, I. et al. Statins and Musculoskeletal Conditions, Arthropathies, and Injuries. **JAMA Internal Medicine**, v. 173, n. 14, p. 1318, 2013.

MATOS, R. S. et al. Resveratrol provoca efeitos antiaterogênicos em um modelo animal de aterosclerose. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 98, n. 2, p. 136–142, 2012.

MIURA, D.; MIURA, Y.; YAGASAKI, K. Hypolipidemic action of dietary resveratrol, a phytoalexin in grapes and red wine, in hepatoma-bearing rats. **Life Sciences**, v. 73, n. 11, p. 1393–1400, 2003.

MORO, A. V.; CARDOSO, F. S. P.; CORREIA, C. R. D. Heck arylation of styrenes with arenediazonium salts: short, efficient, and stereoselective synthesis of resveratrol, DMU-212, and analogues. **Tetrahedron Letters**, v. 49, n. 39, p. 5668–5671, 2008.

MULLARD, A. CETP set-back, again. **Nature Reviews Drug Discovery**, v. 14, n. 11, p. 739–739, 2015.

NAGHAVI, M. et al. Global, regional, and national age-sex specific all-cause and cause-specific mortality for 240 causes of death, 1990-2013: A systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2013. **The Lancet**, v. 385, n. 9963, p. 117–171, 2015.

NELSON, D. L.; COX, M. M. Princípios de bioquímica de Lehninger Princípios de bioquímica de Lehninger: 6 ed. Porto Alegre: Artmed, 2011.

ROSEN, E. D.; MACDOUGALD, O. A. Adipocyte differentiation from the inside out. **Nature Reviews Molecular Cell Biology**, v. 7, n. 12, p. 885–896, 2006.

SBC, S. B. DE C.; SBH, S. B. DE H.; SBN, S. B. DE N. VI Diretrizes Brasileiras de Hipertensão. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 95, n. 1, p. 1–51, 2010.

SIERRA, M. L. et al. Substituted 2- [(4-Aminomethyl) phenoxy] -2-methylpropionic Acid PPAR $\alpha$  Agonists. 1. Discovery of a Novel Series of Potent HDLc Raising Agents. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 50, p. 685–695, 2007.

SIBERSBÆK, R.; NIELSEN, R.; MANDRUP, S. PPAR $\gamma$  in adipocyte differentiation and metabolism - Novel insights from genome-wide studies. **FEBS Letters**, v. 584, n. 15, p. 3242–3249, 2010.

TALAYERO, B. G.; SACKS, F. M. The role of triglycerides in atherosclerosis. **Current Cardiology Reports**, v. 13, n. 6, p. 544–552, 2011.

TENENBAUM, A.; FISMAN, E. Z. Fibrates are an essential part of modern anti-dyslipidemic arsenal: spotlight on atherogenic dyslipidemia and residual risk reduction. **Cardiovascular Diabetology**, v. 11, n. 1, p. 125, 2012.

TIAN, L. et al. The value and distribution of high-density lipoprotein subclass in patients with acute coronary syndrome. **PLoS ONE**, v. 9, n. 1, 2014.

TOTH, P. P. Triglyceride-rich lipoproteins as a causal factor for cardiovascular disease. **Vascular Health and Risk Management**, v. 12, p. 171–183, 2016.

WEIDNER, J. J. et al. Preparation of N-Aryl-2-hydroxypropionamides from hydroxy aromatic compounds using a one-pot smiles rearrangement procedure. **Tetrahedron**, v. 53, n. 18, p. 6303–6312, 1997.

WERMUTH, C. G. **The Practice of Medicinal Chemistry**: 3 ed. Londres: Elsevier, 2008.

WINSTEIN, S. et al. Salt effects and ion pairs in solvolysis and related reactions. III. Common ion rate depression and exchange of anions during acetolysis. **Journal of the American Chemical Society**, v. 78, n. 2, p. 328–335, 1956.

WORLD ORGANIZATION. WORLD HEART FEDERATION. WORLD STROKE ORGANIZATION. Global Atlas on Cardiovascular disease prevention and control. **Global atlas on cardiovascular disease prevention and control.**, p. 1–66, 2011.