

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo desta dissertação será disponibilizado somente a partir de 28/08/2020.

THAÍZ ROSA RIBEIRO

Estudos computacionais e síntese de derivados sulfonamídicos candidatos a inibidores da enzima sn-1-diacilglicerol lipase alfa (DAGL-alfa) para o tratamento da obesidade

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química do Instituto de Química da Universidade Estadual Paulista – Unesp – Campus Araraquara como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Química.

Orientador: Prof. Dr. Nailton Monteiro do Nascimento Júnior

ARARAQUARA – SP

2019

FICHA CATALOGRÁFICA

R484e Ribeiro, Thaiz Rosa
Estudos computacionais e síntese de derivados
sulfonamídicos candidatos a inibidores da enzima sn-1-
diacilglicerol lipase alfa (DAGL-alfa) para o tratamento da
obesidade / Thaiz Rosa Ribeiro. – Araraquara : [s.n.], 2019
124 f. : il.

Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual Paulista,
Instituto de Química
Orientador: Nailton Monteiro do Nascimento Junior

1. Química farmacêutica. 2. Síndrome metabólica.
3. Obesidade. 4. Sulfonamidas. 5. Estudos de validação.
I. Título.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: "Estudos computacionais e síntese de derivados sulfonamídicos candidatos a inibidores da enzima SN-1-diacilglicerol lipase alfa (DAGL-) para o tratamento da obesidade"

AUTORA: THAIZ ROSA RIBEIRO

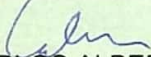
ORIENTADOR: NAILTON MONTEIRO DO NASCIMENTO JUNIOR

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Mestra em QUÍMICA, pela Comissão Examinadora:



Prof. Dr. NAILTON MONTEIRO DO NASCIMENTO JUNIOR
Departamento de Química Orgânica / Instituto de Química - UNESP - Araraquara


Prof.ª Dr.ª ANGELA REGINA ARAUJO
Departamento de Química Orgânica / Instituto de Química - UNESP - Araraquara


Prof. Dr. CARLOS ALBERTO MONTANARI
Departamento de Química e Física Molecular / Instituto de Química - Universidade de São Paulo - USP - São Carlos

Araraquara, 28 de agosto de 2019

DADOS CURRICULARES

DADOS PESSOAIS:

Nome: Thaíz Rosa Ribeiro

Nome em citações bibliográficas: Ribeiro, T. R.

Data de nascimento: 15/01/1994

Naturalidade: Barretos/SP – Brasil

E-mail para contato: gisele1640@hotmail.com

Currículo Lattes: <http://lattes.cnpq.br/7473677929163003>

Endereço profissional: Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” .
Instituto de Química de Araraquara. Departamento de Química Orgânica.
Laboratório de Química Medicinal, Síntese Orgânica e Modelagem Molecular
(LaQMedSOMM). Rua Professor Francisco Degni, 55. CEP: 14800-060.
Araraquara/SP - Brasil.

FORMAÇÃO ACADÊMICA/TITULAÇÃO:

Mestrado em Química – Instituto de Química da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (UNESP IQ-CAr), Araraquara SP. Título da dissertação: Estudos computacionais e síntese de derivados sulfonamídicos candidatos a inibidores da enzima sn-1-diacilglicerol lipase alfa (DAGL-alfa) para o tratamento da obesidade. Orientador: Prof. Dr. Nailton Monteiro do Nascimento Júnior, Bolsa: CNPq.

Graduação em Química – De 2011 a 2014. Bacharelado em química tecnológica – Centro Universitário da Fundação Educacional de Barretos (UNIFEB), Barretos – SP. Orientadora: Prof.^a Dr.^a Ana Flávia Canovas Martinez.

TRABALHOS PUBLICADOS EM ANAIS DE EVENTOS CIENTÍFICOS:

RIBEIRO, T. R.; BATISTA, V. S.; NASCIMENTO-JÚNIOR, N. M. Molecular modeling studies of the *Penicillium Camemberti* Lipase (PCL) enzyme: Docking and validation of bioactive compounds. 41^a Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, **2018**, Foz do Iguaçu - Paraná.

RIBEIRO, T. R.; BATISTA, V. S.; NASCIMENTO JUNIOR, N. M. Estudos de modelagem molecular da enzima *Penicillium Camemberti* Lipase (PCL): ancoragem e validação de compostos bioativos. III Simpósio de Química Medicinal da Unesp, **2018**, São José do Rio Preto – São Paulo.

APRESENTAÇÃO DE TRABALHO E/OU PALESTRA:

RIBEIRO, T. R.; BATISTA, V. S.; NASCIMENTO JUNIOR, N. M. Estudos de modelagem molecular da enzima *Penicillium Camemberti* Lipase (PCL): ancoragem e validação de compostos bioativos. III Simpósio de Química Medicinal da Unesp, **2018**, São José do Rio Preto – São Paulo.

PARTICIPAÇÃO EM EVENTOS CIENTÍFICOS:

III Simpósio de Química Medicinal da Unesp – “Desafios na Pesquisa e Inovação de Antibióticos” (III SIMQUIMED), **2018**. São José do Rio Preto – São Paulo.

PRÊMIOS E TÍTULOS:

Menção Honrosa de terceiro lugar para o trabalho: RIBEIRO, T. R.; BATISTA, V. S.; NASCIMENTO-JÚNIOR, N. M. Estudos de modelagem molecular da enzima *Penicillium Camemberti* Lipase (PCL): ancoragem e validação de compostos bioativos. III Simpósio de Química Medicinal – “Desafios na Pesquisa e Inovação de Antibióticos” (III SIMQUIMED), **2018**. São José do Rio Preto – São Paulo.

DEMAIS ATIVIDADES ACADÊMICAS:

Estágio de Docência UNESP- Curso de Licenciatura em Química, auxiliando na disciplina de Química Orgânica I, supervisionado pelo Prof. Dr. Nailton Monteiro do Nascimento Júnior no ano de **2017**.

ORGANIZAÇÃO DE EVENTO CIENTÍFICO:

Membro da comissão organizadora: Segunda Escola de Modelagem Molecular da Unesp (2ª EMMUnesp), Araraquara/SP, **2019**.

EXPERIÊNCIA PROFISSIONAL:

De ago./2013 a ago./2014. Mariol Industrial Ltda., Av. Mario de Oliveira, Barretos - SP.
Tipo: Indústria; Departamento: Pesquisa e Desenvolvimento; Cargo: Jovem aprendiz.

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar, agradeço a minha família, minha mãe, Gisele Ribeiro, meu irmão João Victor Ribeiro de Oliveira e a minha querida avó Rosa Ribeiro Thomé, por me apoiar, por lutar essa batalha comigo e sempre me incentivar a ir em busca dos meus sonhos. Agradeço também o amor da minha vida, João Victor Biagi Santiago, por tudo que fez e faz, jamais poderei agradecer o suficiente.

Não posso deixar de mencionar meus sogros Maria Emília Biagi Santiago e João Manoel Santiago, que em todos os momentos fizeram com que eu me sentisse uma filha querida, estendendo a mão e me acompanhando nessa caminhada.

Agradeço ao meu orientador, Prof. Dr. Nailton Monteiro do Nascimento Júnior, pela compreensão e paciência, e também pelos conselhos e apoio durante este período. Aos colegas do LaQMedSOMM, Victor de Sousa Batista, Marcelle Alcântara Vieira, por trilhar esta jornada comigo, agradeço pelos conselhos, ideias e discussões durante o desenvolvimento deste projeto.

Agradeço aos meus velhos e novos amigos, Gisele, Denis, Danilo, Karoline e Aline sem vocês esta caminhada seria muito mais difícil.

Aos professores Dr. Luis Octavio Regasini e Dra. Lourdes Campaner dos Santos pelas valiosas contribuições à minha qualificação.

Aos professores Dr. Carlos Alberto Montanari e Dra. Angela Regina Araújo por disponibilizarem seu tempo para a leitura, correção e arguição na minha defesa de dissertação.

A toda equipe de funcionários do Instituto de Química da UNESP de Araraquara, que foram sempre solícitos e prestativos para comigo.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela bolsa de mestrado concedida e à Fundação de Amparo à pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP, Processo 2018/00187-7) pelos recursos fornecidos, possibilitando a conclusão deste trabalho.

EPÍGRAFE

“O mundo é tão imprevisível. As coisas acontecem de repente, inesperadamente. Queremos achar que temos controle da nossa existência. De um jeito temos, de outros não temos. Somos governados por forças do acaso e da coincidência”.

Paul Auster

(ode aos pés)

Ninguém recomeça

Ninguém esquece

Ninguém supera

Não se iluda com as curas instantâneas

A gente só continua

Colocamos um passo na frente do outro

Não precisamos ser fortes

Precisamos ter a força suficiente para esse

Simple movimento

Dessa forma tudo ficará para trás

Não pense muito

Às vezes são os seus pés que irão salvar a sua alma

Eles não esquecerão o caminho percorrido

Zack Magiezi

RESUMO

Segundo dados da Organização Mundial da Saúde, cerca de 13% da população mundial é classificada como obesa (2016). Conseqüentemente, há um elevado gasto em saúde para os cofres públicos e para a população de modo geral, visto que a obesidade é uma doença multifatorial, a qual está diretamente relacionada com doenças cardiometabólicas. O tratamento da obesidade pode ser realizado com reeducação alimentar, atividade física regular e psicoterapia, mas quando há distúrbios metabólicos/psicológicos e/ou elevados riscos cardiometabólicos, se fazem necessárias intervenções medicamentosa e cirúrgica. Uma alternativa aos tratamentos atualmente utilizados é modular o Sistema Endocanabinóide, através da inibição da enzima sn-1-Diacilglicerol lipase α (DAGL- α), principal responsável pela produção de 2-araquidonoilglicerol (2-AG), que é diretamente responsável pela ativação de receptores CB1, que por sua vez, tem como função o controle do apetite, contornando assim os efeitos adversos observados na atuação direta sobre o receptor em questão. No presente projeto de pesquisa foram realizados estudos computacionais e a síntese de novos derivados sulfonamídicos candidatos a inibidores da enzima DAGL- α . A etapa de estudos *in silico* da enzima DAGL- α e dos derivados sulfonamídicos propostos, foi realizada por meio da abordagem SBDD (*structure-based drug design*), visando compreender os requisitos estruturais necessários para a atividade inibitória, uma vez que se busca inibição competitiva, e finalmente a triagem virtual de 84 compostos planejados. Nesse contexto, foi realizada a validação e análise meticulosa do modelo empregando a enzima *Penicillium camemberti* lipase (PCL), dada a indisponibilidade da estrutura cristalográfica de DAGL- α humana, utilizando substâncias da literatura com atividades *in vitro* conhecidas. Após avaliação das quatro funções de pontuação pertencentes ao programa GOLD (GoldScore, ChemScore, ChemPLP e ASP), observou-se que a função ASP forneceu a predição de interações com potencial capacidade de discernir ligantes ativos e inativos, propiciando a seleção de 8 compostos com promissora atividade inibitória frente à enzima DAGL- α para a etapa de síntese. Dentre eles, 3 substâncias foram obtidas com elevado grau de pureza através de uma única etapa e os outros 2 compostos por meio de 4 etapas de reação, envolvendo irradiação por micro-ondas na última etapa.

Palavras-chave: Obesidade; DAGL- α ; Sulfonamidas; Receptor CB1; Sistema Endocanabinóide; Ancoragem Molecular; Triagem virtual; Planejamento Racional e Síntese.

ABSTRACT

According to the World Health Organization (WHO), ca. 13% of the world population can be classified as obese (2016). Consequently, the government expenses regarding to health of population are high, because obesity is a multifactorial disease, which is directly related with cardiometabolic diseases. The treatment of obesity can be conducted through changes in food intake, practice of physical activities regularly and psychotherapy, however when metabolic or psychological disturbs and/or increased cardiometabolic risks, approaches related with the use of drugs and/or surgery are required. An alternative to replace the current treatments is the modulation of the Endocannabinoid System, through the inhibition of the sn-1-diacylglycerol lipase alpha (DAGL- α), the main character for the production of 2-arachidonoylglycerol (2-AG), which is directly responsible by the activation of CB1 receptors. Then, the modulation of CB1 can control appetite, avoiding deleterious effects observed when bioactive compounds modulate CB1 directly. In this research project were performed computational studies and synthesis of novel sulfonamide candidate inhibitors of the enzyme DAGL- α . The step of an *in silico* study of DAGL- α and bioactive compounds retrieved from literature was performed by SBDD approach (structure-based drug design), to understand the required structural features for the inhibitory activity, followed by Structure Based Virtual Screening (SBVS) of the novel designed derivatives. In this context, the validation and detailed assessment of a *in silico* model is necessary, by using Penicillium Camemberti lipase (PCL), because of the unavailability of the crystallographic structure of human DAGL- α . After assessing the four scoring functions belonging to the GOLD program (GoldScore, ChemScore, ChemPLP and ASP), it was observed that ASP scoring function provided the prediction of interactions with potential ability to discriminate active and inactive ligands, allowing the selection of 8 compounds with promising inhibitory activity against the DAGL- α enzyme for the synthesis step. Among them, 3 substances were obtained with a high degree of purity through a single step and the other 2 compounds were obtained by 4 reaction steps, involving microwave irradiation in the last step.

Keywords: Obesity; DAGL- α ; Sulfonamides; CB1 receptor; Endocannabinoid System; Molecular Docking; Virtual Screening; Planning and Synthesis.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Diagrama das reações enzimáticas catabólicas envolvendo glicose e frutose.....	21
Figura 2 - Estrutura tridimensional da leptina (12) (PDB ID 1AX8) à esquerda e modelo teórico da estrutura tridimensional da grelina (13) (PDB ID 1P7X), à direita.....	23
Figura 3 – Estruturas químicas dos neurotransmissores serotonina (14) e ácido gama-aminobutírico (GABA) (15) e do peptídeo-1 semelhante ao glucagon (GLP-1) (16)	24
Figura 4 – Estruturas químicas, constantes de afinidade e concentração inibitória de alguns dos fármacos registrados no Brasil para o tratamento da obesidade, segundo a ANVISA.....	26
Figura 5 – Fórmula estrutural e constante de afinidade do fármaco Rimonabanto (21)	28
Figura 6 – Estruturas químicas e constantes de afinidade de um dos compostos presentes na Cannabis sativa, Δ^9 -THC (22) e dos endocanabinóides, AEA (23) e 2-AG (24)	30
Figura 7 – Esquema ilustrando a formação e degradação dos endocanabinóides.....	31
Figura 8 – Mecanismo geral de catálise de lipase.....	33
Figura 9 – Estruturas químicas com padrão estrutural sulfonamídico com atividade inibitória frente a enzima DAGL- α	35
Figura 10 – Modelo farmacofórico rudimentar, demonstrando os principais pontos de interação entre os derivados sulfonamídicos e a enzima DAGL- α , obtido através do modelo por homologia desenvolvido por Chupak <i>et al.</i>	36
Figura 11 – Fluxograma das etapas em uma abordagem SBDD.....	37
Figura 12 – Ligante co-cristalizado na estrutura de MAGL-humano PDB ID: 3PE6 (em laranja) e pose de ancoragem validada por redocagem (em ciano)	38
Figura 13 – Representação das interações obtidas através do modelo por homologia desenvolvido utilizando lipase de <i>thermomyces lanuginosa</i> (humicola) em complexo com ácido oleico (PDB ID:1GT6)	41
Figura 14 – Estruturas químicas de substâncias com atividade frente à enzima DAGL- α	43
Figura 15 – Representação das estruturas químicas das 84 substâncias de padrão estrutural sulfonamídico planejadas (Séries A e B) e seus respectivos análogos simplificados, SM A e SM B	44

Figura 16 – Representação das estruturas químicas dos grupos substituintes propostos para modificações estruturais.....	45
Figura 17 – Tríade catalítica (S145, H259 e D199), demonstrando o átomo de referência utilizado em destaque.....	47
Figura 18 – Rota sintética demonstrando as 4 etapas para obtenção de 87 e 89	49
Figura 19 – Reação de formação do cloridrato do éster metílico da L-prolina (85)	49
Figura 20 – Reação de obtenção da sulfonamida 54 , a partir do cloridrato do éster metílico da L-prolina.....	50
Figura 21 – Reação de hidrólise do grupo éster, para a obtenção da sulfonamida 53	51
Figura 22 – Reação de formação do produto final 87 , proveniente da <i>p</i> -anisidina.....	52
Figura 23 – Reação de formação do produto final 89 , proveniente da <i>o</i> -metoxi- <i>p</i> -nitroanilina.....	53
Figura 24 – Reação de formação da sulfonamida 92 , adaptado de Elgaher, <i>et al</i> , 2016....	54
Figura 25 – Reação de formação da sulfonamida 93 , adaptado de Kloeckner <i>et al</i> , 2014.....	54
Figura 26 – Reação de formação da sulfonamida 96 e 97 , adaptado de Dutra <i>et al</i> , 2014.....	55
Figura 27 – Reação de formação da sulfonamida 99 , adaptado de Laha <i>et al</i> , 2014.....	56
Figura 28 – Estrutura cristalográfica de <i>Penicillium Camembertii</i> lipase (PDB ID 5CH8). Demonstrando a tríade catalítica em destaque (S145, H259 e D199)	58
Figura 29 – Sobreposição da sequência primária das lipases PCL (PDB 5CH8) e DAGL- α humana, com identificação da posição dos resíduos conservados ou homólogos.....	60
Figura 30 – Gráfico de Ramachandram para a estrutura cristalográfica de <i>Penicillium Camembertii</i> lipase (PDB ID 5CH8)	61
Figura 31 – Representação da melhor pose de docking obtida com a função ASP de uma estrutura classificada como ‘Ativa’ com $CI_{50} = 302$ nM, indicando as interações com os resíduos-chave da enzima PCL.....	62
Figura 32 – Compostos sulfonamídicos selecionados com base nos estudos <i>in silico</i> , como candidatos a ligantes da enzima sn-1 DAGL- α	64
Figura 33 – Sobreposição das melhores poses obtidas para os 8 derivados sulfonamídicos (laranja) triados para a etapa de síntese.....	65

Figura 34 – a) Vista superior e b) Vista lateral da sobreposição das melhores poses de docking obtidas para as substâncias 87 e 89 ; c) Representação da melhor pose de docking obtida com a função ASP da estrutura 87 e da d) estrutura 89	66
Figura 35 – a) Representação da melhor pose de docking obtida com a função ASP da estrutura 92 e da b) estrutura 93	67
Figura 36 – a) Representação da melhor pose de docking obtida com a função ASP da estrutura 96 , b) da estrutura 97 e da c) estrutura 100	68
Figura 37 – Representação da melhor pose de docking obtida com a função ASP da estrutura 99	69
Figura 38 – Reação de obtenção do cloridrato de éster metílico da L-prolina (85)	69
Figura 39 – Espectro de RMN ¹ H obtido para cloridrato de éster metílico da L-prolina; solvente: DMSO-d ₆ , 600 MHz.....	70
Figura 40 – Espectro de RMN DEPT-Q obtido para cloridrato de éster metílico da L-prolina; solvente: DMSO-d ₆ , 150 MHz.....	71
Figura 41 – Mecanismo proposto para a formação do cloridrato de éster metílico da L-prolina.....	72
Figura 42 – Representação da cromatoplaça obtida para o cloridrato de éster metílico da L-prolina (85), utilizando ácido fosfomolibdico como revelador químico.....	73
Figura 43 – Reação de obtenção da sulfonamida 54 , a partir do cloridrato do éster metílico da L-prolina (85)	73
Figura 44 – Representação da cromatoplaça obtida para a reação de obtenção da sulfonamida 54 , a partir do cloridrato de éster metílico da L-prolina (85), utilizando ácido fosfomolibdico como revelador químico.....	74
Figura 45 – Espectros de RMN ¹ H e DEPT-Q obtidos para a sulfonamida 54 ; solvente: DMSO-d ₆ , 600 MHz para ¹ H e 150 MHz para DEPT-Q.....	75
Figura 46 – Reação de hidrólise do grupo éster, para a obtenção da carboxi sulfonamida 53	76
Figura 47 – Mecanismo proposto para a formação da carboxi sulfonamida 53	76
Figura 48 – Espectro de Infravermelho, ATR, cm ⁻¹ da sulfonamida 53	77
Figura 49 – Reação de formação do produto final 87 , proveniente da <i>p</i> -anisidina.....	77
Figura 50 – Reação de formação do produto final 89 , proveniente da <i>o</i> -metoxi- <i>p</i> -nitroanilina.....	78

Figura 51 – Representação da cromatoplaça obtida, após purificação da sulfonamida 89	79
Figura 52 – Mecanismo proposto para a formação da sulfonamida 89	79
Figura 53 – Reação de formação da sulfonamida 92	80
Figura 54 – Reação de formação da sulfonamida 93	81
Figura 55 – Reação de formação da sulfonamida 99	81
Figura 56 – Mecanismo proposto para a formação das sulfonamidas 92, 93 e 99	82
Figura 57 – Reação de formação da sulfonamida 96 e 97	82
Figura 58 – Mecanismo proposto para a formação das sulfonamidas 96 e 97	83

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Classificação dos níveis limites dos componentes da síndrome metabólica.....	19
Tabela 2 – Classificação dos valores de atividade das substâncias obtidas da literatura.....	46
Tabela 3 – Demonstrativo das porcentagens de interações, por resíduo, para classificação das substâncias da literatura, referentes a função ASP.....	63
Tabela 4 – Interações previstas para os 8 derivados sulfonamídicos selecionados para a etapa de síntese.....	64

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

2-AG: 2-araquidonoil-glicerol

3D-QSAR: *tridimensional quantitative structure-activity relationship*

5-HT₁₋₇: Receptores de serotonina (de 1 a 7)

5-HT_{2C}: Receptores de serotonina 2C

AEA: Anandamida

AgRp: Proteína relacionada ao Agouti (do inglês, *Agouti-related protein*)

ANVISA: Agência Nacional de Vigilância Sanitária

Arc: Núcleo arqueado do hipotálamo

ATP-III: Painel de tratamento adulto III (do inglês, *Adult Treatment Panel III*)

CB: Receptor canabinoide

CCD: Cromatografia em camada delgada

DAGL: Diacilglicerol lipase

FDA: *Food and Drug Administration*

GABA_A e GABA_B: Receptores de ácido gama-aminobutírico A e B

GLP-1: Peptídeo-1 semelhante ao glucagon

GPCR: Receptores acoplados à proteína G

HDL: Lipoproteína de alta densidade (do inglês, *High-density lipoprotein*)

IBGE: Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística

IMC: Índice de massa corporal

InsR: Receptores de insulina

LepR-b: Receptores de leptina

NCEP: Programa Nacional de Educação sobre o Colesterol (do inglês, *National Cholesterol Education Program*)

NPY: Neuropeptídeo Y

OMS: Organização Mundial de Saúde

PFK: Enzima fosfofrutokinase

PNS: Pesquisa Nacional de Saúde

POMC: Pro-opiomelanocortina (do inglês, *Proopiomelanecortin*)

RMN: Ressonância magnética nuclear

SEC: Sistema endocanabinóide

SNC: Sistema nervoso central

SNRI: Inibidor de recaptção de serotonina e noradrenalina

Δ^9 -THC: Δ^9 -tetrahydrocannabinol

LBDD: Design de fármacos baseado no ligante (do inglês, *ligand-based drug design*)

SBDD: Design de fármacos baseado na estrutura do receptor (do inglês, *structure-based drug design*)

CLAE: Cromatografia Líquida de Alta Eficiência

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	18
1.1 OBESIDADE: DADOS ESTATÍSTICOS E DIAGNÓSTICO.....	18
1.2 CAUSAS E FISIOPATOLOGIA DA OBESIDADE.....	20
1.3 O TRATAMENTO MEDICAMENTOSO.....	25
1.4 O SISTEMA ENDOCANABINÓIDE NO CONTEXTO DO CONTROLE DO APETITE.....	29
1.5 A ENZIMA DAGL- α COMO ALVO PARA O TRATAMENTO DA OBESIDADE.....	32
1.6 SULFONAMIDAS COM ATIVIDADE INIBITÓRIA FRENTE À DAGL- α	34
1.7 MODELAGEM MOLECULAR NO CONTEXTO DA QUÍMICA MEDICINAL.....	36
1.7.1 ESTUDOS COMPUTACIONAIS APLICADOS À ENZIMA DAGL- α	40
2. OBJETIVO.....	42
3. PLANEJAMENTO ESTRUTURAL.....	42
4. METODOLOGIA.....	45
4.1 ANCORAGEM MOLECULAR DA ENZIMA <i>PENICILLIUM CAMEMBERTTI</i> LIPASE (PCL).....	45
4.2 METODOLOGIA PARA OBTENÇÃO DOS DERIVADOS SULFONAMÍDICOS...48	
4.2.1 ROTA SINTÉTICA PARA OBTENÇÃO DOS DERIVADOS SULFONAMÍDICOS 87 e 89 – Série A.....	48
4.2.1.1 Metodologia para obtenção do cloridrato do éster metílico da L-prolina.....	49
4.2.1.2 Metodologia para obtenção do intermediário 54.....	50
4.2.1.3 Metodologia para obtenção da <i>p</i> -toluenosulfonil L-prolina (53)	51
4.2.1.4 Metodologia para obtenção do derivado sulfonamídico 87.....	52
4.2.1.5 Metodologia para obtenção do derivado sulfonamídico 89.....	53
4.2.2 METODOLOGIA PARA OBTENÇÃO DO DERIVADO SULFONAMÍDICO 92 – SÉRIE B.....	54
4.2.3 METODOLOGIA PARA OBTENÇÃO DO DERIVADO SULFONAMÍDICO 93 – SÉRIE B.....	54
4.2.4 METODOLOGIA PARA OBTENÇÃO DO DERIVADO SULFONAMÍDICO 96 e 97 – SÉRIE B.....	55

4.2.5 METODOLOGIA PARA OBTENÇÃO DO DERIVADO SULFONAMÍDICO 99 – SÉRIE B.....	56
4.3 MATERIAIS E MÉTODOS.....	57
4.4 CARACTERIZAÇÃO COM TÉCNICAS ESPECTROSCÓPICAS.....	57
4.5 DETERMINAÇÃO DA PUREZA DAS MOLÉCULAS OBTIDAS.....	57
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	58
5.1 ANCORAGEM MOLECULAR COM ENZIMA <i>PENICILLIUM CAMEMBERTTI</i> LIPASE (PCL).....	58
5.2 COMPOSTOS SELECIONADOS PARA A ETAPA DE SÍNTESE COM BASE NOS ESTUDOS <i>IN SILICO</i>	63
5.3 SÍNTESE, MECANISMOS E ELUCIDAÇÃO ESTRUTURAL DOS DERIVADOS SULFONAMÍDICOS.....	69
5.3.1 PRIMEIRA ETAPA - Obtenção do éster metílico da L-prolina na forma de cloridrato (85)	69
5.3.2 SEGUNDA ETAPA - Obtenção da sulfonamida 54, a partir do cloridrato do éster metílico da L-prolina.....	73
5.3.3 TERCEIRA ETAPA - Obtenção da <i>p</i> -toluenosulfonil L-prolina (53)	76
5.3.4 OBTENÇÃO DO DERIVADO SULFONAMÍDICO 87, proveniente da <i>p</i> -anisidina.....	77
5.3.5 OBTENÇÃO DO DERIVADO SULFONAMÍDICO 89, proveniente da <i>o</i> -metoxi- <i>p</i> -nitroanilina.....	78
5.3.6 OBTENÇÃO DO DERIVADO SULFONAMÍDICO 92 – SÉRIE B.....	80
5.3.7 OBTENÇÃO DO DERIVADO SULFONAMÍDICO 93 – SÉRIE B.....	81
5.3.8 OBTENÇÃO DO DERIVADO SULFONAMÍDICO 99 – SÉRIE B.....	81
5.3.9 OBTENÇÃO DO DERIVADO SULFONAMÍDICO 96 e 97 – SÉRIE B.....	82
6. CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS.....	84
7. REFERÊNCIAS.....	85
8. ANEXOS.....	94

1. INTRODUÇÃO

1.1 OBESIDADE: DADOS ESTATÍSTICOS E DIAGNÓSTICO

A obesidade pode ser definida como o acúmulo de tecido adiposo de forma anormal ou excessiva, gerado por meio do desequilíbrio energético entre o consumo e o gasto de calorias, que implica no surgimento de inflamação crônica, acarretando em riscos à saúde, incluindo distúrbios como a síndrome metabólica, doenças cardiovasculares, entre outras comorbidades.^{1,2} Seu diagnóstico pode ser feito, a princípio, pelo cálculo do índice de massa corporal (IMC), obtido através da razão entre a massa corporal e o quadrado da altura (Kg/m^2). Conforme proposto pela Organização Mundial de Saúde (OMS) na classificação internacional para adultos, caracteriza-se como obesidade valores de IMC acima de 30.³

Outro método igualmente difundido é a medida da circunferência abdominal que, juntamente com o IMC, traz uma interpretação mais concisa dos níveis de gordura corporal,⁴ uma vez que os valores de referência utilizados para avaliação de riscos cardiometabólicos dependem da distribuição da gordura corporal, bem como do gênero do indivíduo; para o masculino, valores acima de 102 cm apresentam risco elevado; para o feminino, valores acima de 88 cm apresentam alto risco, segundo o Programa Nacional de Educação sobre o Colesterol (NCEP) – Painel de tratamentos para adultos III (ATP-III).^{5,6} Existem ainda outros métodos de avaliação, como a pesagem hidrostática, ultrassonografia, técnicas de imagem, como ressonância magnética, tomografia computadorizada. Contudo, estas técnicas se mostram limitadas quanto à prática clínica e apresentam custo elevado para a sua constante aplicabilidade.⁴

Segundo a OMS, em 2016, mais de 1,9 bilhão de adultos tinham excesso de peso, sendo mais de 650 milhões de obesos, perfazendo um total de 13% da população mundial.² No Brasil, dados obtidos através da Pesquisa Nacional de Saúde (PNS), disponibilizados em 2015 pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), estimam que mais da metade da população brasileira apresenta sobrepeso (56,9%), enquanto que desse total 20,8% é obesa.⁷

Em decorrência do aumento no número de indivíduos com excesso de peso e obesidade, aumentam-se os gastos em saúde, especialmente com medicamentos e planos de saúde. Essa elevação nos gastos pode estar relacionada diretamente à

obesidade, bem como às doenças associadas.⁸ De acordo com Bahia *et al.*, no período entre 2008 e 2010, os gastos totais por ano no Brasil com todas as doenças relacionadas ao sobrepeso e a obesidade foram de US\$ 2,1 bilhões, sendo US\$ 1,4 bilhão, devido a internações e US\$ 679 milhões devido a procedimentos ambulatoriais.⁹ Os impactos econômicos da obesidade vão muito além do tratamento da doença em si e estão interligados com vários outros fatores, como tratamento de doenças crônicas não transmissíveis, infecciosas e doenças psiquiátricas, além daquela diretamente ligada a obesidade, denominada síndrome metabólica.

A obesidade traz inúmeros impactos associados ao acúmulo de gorduras, como doenças respiratórias, metabólicas, neurológicas, renais, além de um transtorno complexo representado por um conjunto de fatores de riscos cardiovasculares, relacionados ao depósito central de gordura e a resistência à insulina, conhecida como síndrome metabólica.⁵ A **Tabela 1**, demonstra mais detalhadamente a relação entre os componentes que caracterizam a síndrome metabólica e seus níveis limites, segundo o Programa Nacional de Educação sobre o Colesterol – Painel de tratamentos para adultos III, disponibilizado pela Associação Brasileira de Cardiologia.

Tabela 1: Classificação dos níveis limites dos componentes da síndrome metabólica.¹⁰

Componentes da síndrome metabólica segundo NCEP-ATP III	
Componentes	Níveis
Circunferência abdominal	Homens: > 102 cm / Mulheres: > 88 cm
Triglicerídeos	≥ 150 mg/dL
Colesterol HDL	Homens: < 40 mg/dL / Mulheres: < 50 mg/dL
Pressão arterial	≥ 130/85 mmHg
Glicemia de jejum	≥ 110 mg/dL

Esse transtorno é caracterizado principalmente pela resistência à insulina, que juntamente com dois ou mais componentes listados na **Tabela 1**, aumentam o risco cardiometabólico, bastante evidenciado em indivíduos obesos.^{5,10}

A insulina tem demonstrado ser um importante regulador da homeostase energética e do metabolismo lipídico. Além disso, ela se encontra em níveis altíssimos em indivíduos obesos (hiperinsulinemia), evidenciando, nesse caso, a incapacidade desse hormônio de promover o metabolismo natural de glicose,^{11,12} bem como

aumento da produção hepática desse açúcar e alteração no metabolismo de lipídeos e proteínas.¹¹

Há, ainda, um efeito pró-aterogênico causado pela hiperinsulinemia,¹¹ que pode ser exacerbado pela diminuição dos níveis de Colesterol HDL (*High-density lipoprotein*), uma vez que essa lipoproteína plasmática parece afetar potencialmente as vias de inflamação de vários componentes-chave do complexo macromolecular denominado inflamassoma, diminuindo sua expressão por meio da inibição da sua ativação, mostrando que o HDL em altos níveis, pode prevenir doenças cardiovasculares, como aterosclerose (enrijecimento das artérias) e hipertensão arterial.^{13,14}

Altos níveis de triglicérides parecem alterar de maneira significativa o risco de doenças cardiovasculares, aumentando-o, principalmente em associação com baixos níveis de HDL.¹⁵ Além disso, essa classe de lipoproteínas parece estar relacionada com doenças no fígado, como esteatose hepática¹⁶ e aumento dos níveis séricos de insulina.

Ademais, encontram-se ainda diversas comorbidades associadas ao excesso de peso, como diabetes tipo 2, dislipidemia, apneia do sono, alterações ósseas, entre outras,⁴ que devem ser acompanhadas e analisadas juntamente com a perda ou aumento de peso, pois estes fatores podem influenciar na resposta terapêutica, bem como na qualidade de vida do indivíduo.

1.2 CAUSAS E FISIOPATOLOGIA DA OBESIDADE

Dentre as hipóteses levantadas para explicar a causa da obesidade, tem-se os fatores genéticos e os fatores ambientais, destacando-se o estilo de vida e os hábitos alimentares, além de fatores emocionais.⁴

Globalmente, tem havido aumento da ingestão de alimentos industrializados altamente calóricos e ricos em gordura e aumento considerável na inatividade física devido à natureza cada vez mais sedentária de muitas formas de trabalho, mudança de modos de transporte e aumento da urbanização, o que fez com que a prevalência mundial da obesidade quase triplicasse entre 1975 e 2016.²

Um dos fatores relacionados a esse fenômeno é o aumento da ingestão de frutose, carboidrato metabolizado pelo fígado em uma via distinta a da glicose (**Figura 1**).

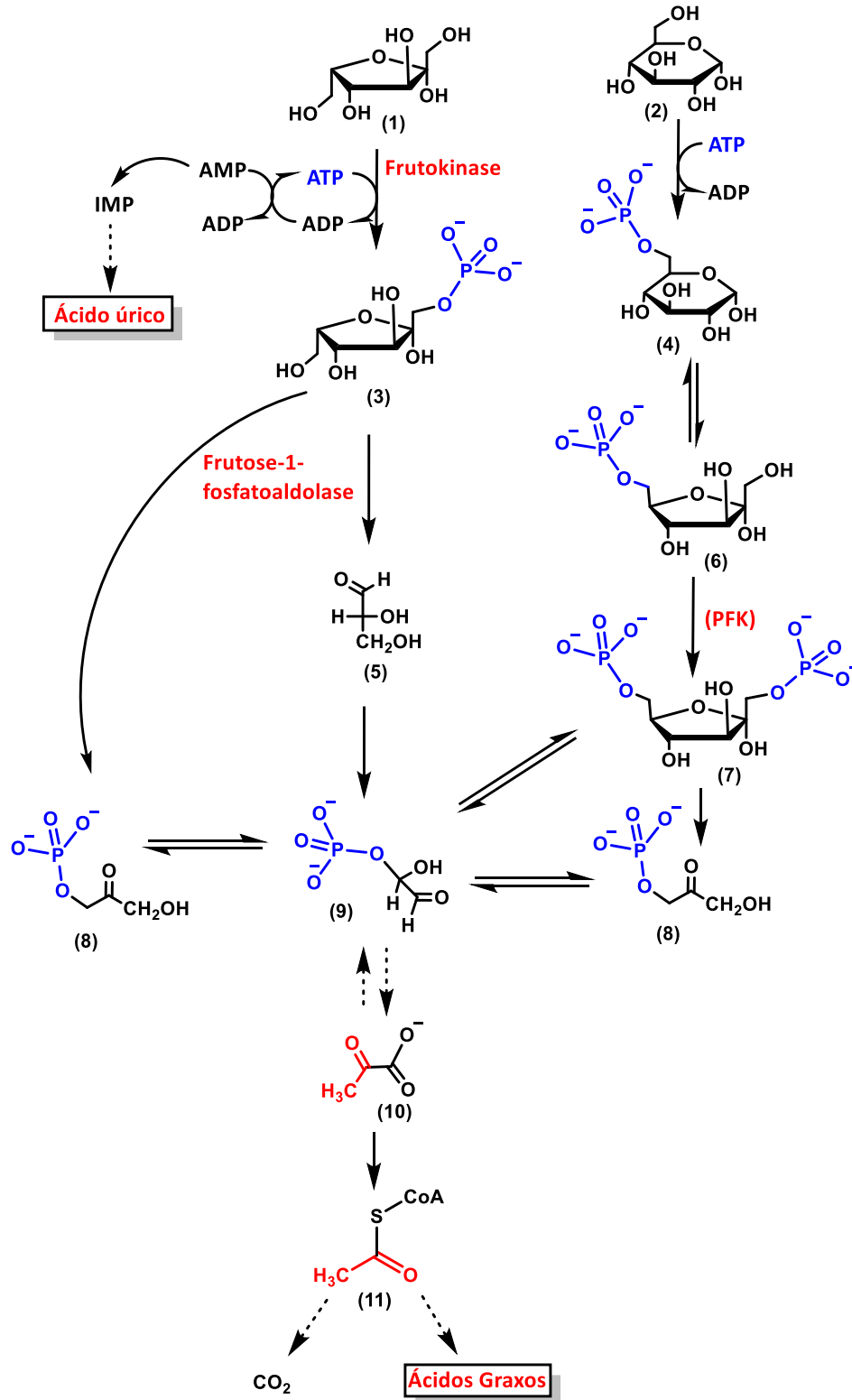


Figura 1: Diagrama das reações enzimáticas catabólicas envolvendo glicose e frutose.^{17,18}

Setas tracejadas indicam múltiplas etapas.

Nesta via, demonstrada pela **Figura 1**, nota-se a diferença entre o metabolismo da frutose **(1)** e da glicose **(2)**, principalmente pelas reações enzimáticas que ocorrem nas etapas iniciais. Sendo, assim como a glicose, metabolizada no fígado, a frutose é convertida em frutose-1-fosfato **(3)** pela enzima frutoquinase (ou frutokinase), que é então dividida em gliceraldeído **(5)**, convertido para gliceraldeído-3-fosfato **(9)** e depois em fosfato de di-hidroxiacetona **(8)**, pela frutose-1-fosfatoaldolase, ambos são mandados para diversas vias metabólicas, podendo formar substratos energéticos como, glicose, glicogênio, ácidos graxos, entre outros. Ocorre também a formação de maior quantidade de piruvato **(10)**, já que os processos de metabolização da frutose contornam o principal agente limitante da glicólise, a enzima fosfofrutokinase (PFK), o que pode estimular a lipogênese hepática e posteriormente a produção de ácidos graxos (triglicerídeos), levando à dislipidemia, um fator de risco comum e proeminente para doenças cardiovasculares. Além disso, a elevada absorção e fosforilação da frutose podem levar à diminuição de fosfato intracelular, ocasionando em aumento da produção de ácido úrico, componente bastante presente em complicações metabólicas. Essas discrepâncias no metabolismo hepático da frutose podem sobrecarregar o fígado, ocasionar acúmulo de gordura nos adipócitos, contribuindo para a resistência à insulina, aparecimento de inflamações crônicas, aumento do nível de lipídeos no sangue (hiperlipidemia) e posteriormente no desenvolvimento de doenças metabólicas.^{17,19,20,21,22}

Além do desequilíbrio metabólico, também se pode citar os desequilíbrios neuroquímicos. Pois, além de modular comportamentos e emoções, o Sistema nervoso central (SNC), principalmente o hipotálamo, está intimamente ligado a homeostase do balanço energético, interagindo com tecidos periféricos, como pâncreas, fígado, tecido adiposo e intestino,²³ de onde partem sinalizadores periféricos, como insulina e leptina, para levarem informações ao SNC, considerando o estado energético do organismo.^{12,24} Mais especificamente no núcleo arqueado do hipotálamo (Arc), se encontram duas populações neuronais responsáveis pela expressão de neuropeptídeos com efeito direto na homeostase do consumo e gasto de energia, os anorexígenos (POMC) e os orexígenos (AgRP e NPY). Destaca-se ainda, a interação existente da leptina **(12)** (**Figura 2**) e insulina com esse sistema de neurônios, mediada pelos receptores LepR-b e InsR, favorecendo a produção de neuropeptídeos que agem nos receptores AgRP/NPY, por meio da baixa expressão

da insulina, aumentando a orexia, enquanto o hormônio peptídico leptina **(12)** estimula a atividade de POMC, diminuindo o apetite.^{24,25}

Hormônio peptídico composto por 167 resíduos de aminoácidos, descoberto em 1994,²⁶ a leptina **(12)** (**Figura 2**) ou proteína *ob*, produzida majoritariamente no tecido adiposo, apresenta importante papel na regulação do balanço energético, agindo como sinalizador periférico, indicando ao hipotálamo²⁷ o decréscimo da fome após a ingestão de alimentos. Contudo, nos indivíduos obesos esse processo não ocorre, sendo consequência da resistência à leptina. Conhecida como hiperleptinemia, a resistência à leptina indica a falha na sinalização desse peptídeo, uma vez que se encontra expresso em níveis superiores nesses indivíduos, sem a esperada anorexia, proveniente dessa expressão.¹² Mutações no gene receptor de leptina, responsável por transmitir o sinal de ligação com a mesma para dentro da célula - LepR-b ou Ob-Rb - com o intuito de suprimir sua expressão, indicaram aumento considerável no tecido adiposo de ratos, levantando-se a hipótese do gene *ob-ob* (nome derivado do conjunto de ratos *ob/ob* com comprovada deficiência de leptina),^{28,29} pois a leptina não participa somente na regulação da ingestão de alimentos como um fator de saciedade, mas também no gasto energético, uma vez que em animais que apresentam deficiência no gene *ob*, observa-se um conjunto de sintomas e manifestações clínicas semelhante à obesidade.³⁰

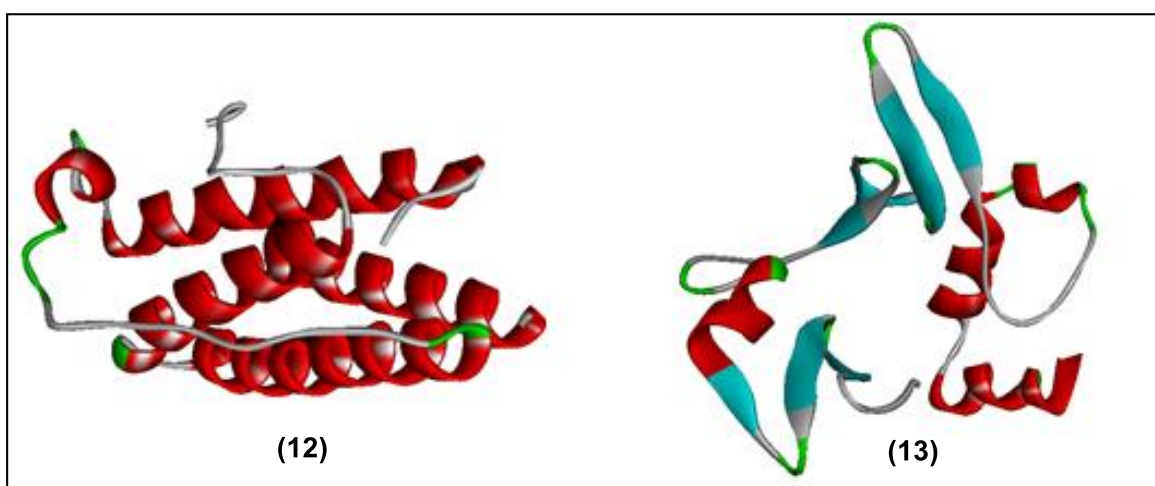


Figura 2: Estrutura tridimensional da leptina **(12)** (PDB ID 1AX8) à esquerda e modelo teórico da estrutura tridimensional da grelina **(13)** (PDB ID 1P7X), à direita.

Outro importante peptídeo associado à regulação e controle do balanço energético é a grelina **(13)** (**Figura 2**), que age de forma oposta e complementar a leptina, sendo sintetizada principalmente no estômago.^{31,32} Tschop e colaboradores

descobriram, em 2000, que a grelina não atuava somente como ligante endógeno do receptor do secretagogo do hormônio do crescimento, mas também como regulador da ingestão de alimentos, peso corporal, adiposidade e metabolismo energético.³³ Posteriormente, foram descritos vários sistemas a níveis central e periférico modulados por esse importante hormônio peptídico, tais como: estimulação da motilidade intestinal e secreção ácida gástrica, modulação do sono, sensação gustativa, regulação do metabolismo da glicose, modulação do estresse, ansiedade, além de melhoria das funções cardiovasculares, como vasodilatação e contratilidade cardíaca.³⁴

Envolvendo diversos circuitos neurais, a grelina inibe, no Arc, a atividade dos neurônios que estimulam POMC, enquanto aumenta a atividade dos neurônios que expressam AgRP/NPY, sendo demonstrado por Chen e colaboradores a importância desses orexígenos no comportamento alimentar.^{35,36} Além do Arc, outros locais do hipotálamo são afetados pela ação da grelina, alterando o balanço energético. Um deles, demonstrado por Kola e colaboradores, é a liberação de endocanabinóides, juntamente com o acréscimo da atividade da proteína cinase ativada por AMP (adenosina monofosfato) hipotalâmica (AMPK), tendo o receptor canabinóide CB1 envolvido. Ademais os dados fornecidos por esse estudo sugerem que a interação entre a grelina e o sistema endocanabinóide (SEC) é determinante para o efeito indutor de apetite.^{34,37}

Há também outros importantes sistemas com neurotransmissores e hormônios, atuando de modo a inibir ou exacerbar o ganho de peso. Dentre eles podem-se citar a serotonina **(14)**,³⁸ o ácido gama-aminobutírico (GABA) **(15)**,³⁹ o peptídeo-1 semelhante ao glucagon (GLP-1) **(16)**,⁴⁰ representados na **Figura 3**.

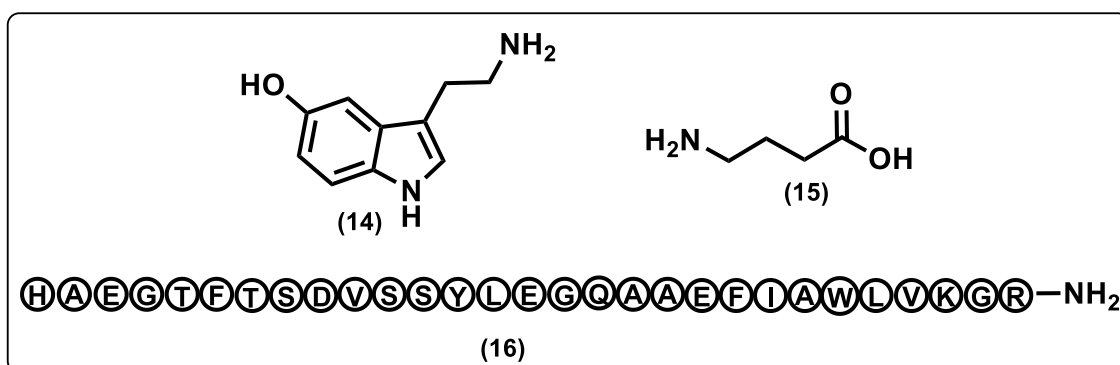


Figura 3: Estruturas químicas dos neurotransmissores serotonina **(14)**, ácido gama-aminobutírico (GABA) **(15)** e do peptídeo-1 semelhante ao glucagon (GLP-1) **(16)**.

Os efeitos mediados pela serotonina **(14)**, provém de 14 subtipos diferentes de receptores, classificados em sete famílias principais, 5-HT₁₋₇.⁴¹ Graças a estudos com agonistas que aumentam a liberação pré-sináptica de serotonina e bloqueiam sua recaptação, foi possível validar os receptores de serotonina 5-HT_{2C} como alvos farmacológicos para controle de apetite e subsequente perda de peso, já que sua expressão parece estar restrita ao SNC.^{41,42} Além disso, existe forte interação entre AgRP/NPY e 5-HT, indicando baixos níveis desse sistema de neurônios, após tratamento com agonistas desse receptor específico,⁴³ acarretando na redução do apetite e consequentemente na perda de peso.

O neurotransmissor inibitório predominante no SNC, conhecido como GABA **(15)**, atua em dois tipos de receptores: receptores GABA_A ionotrópicos (GABA_ARs), localizados principalmente nos neurônios pós-sinápticos e receptores metabotrópicos GABA_B (GABA_BRs), que desempenham, assim como o próprio neurotransmissor, papel importante na homeostase energética, principalmente pelo fato dos neurônios AgRP e POMC serem GABAérgicos e interagirem fortemente com outros hormônios, como a leptina. Visto que, esse hormônio peptídico estimula a ação dos neurônios POMC, reduzindo a liberação de GABA dos neurônios AgRP.^{39,44}

O peptídeo-1 semelhante ao glucagon (GLP-1) **(16)** é um hormônio incretina,⁴⁵ liberado predominantemente do intestino delgado em resposta à ingestão de alimentos. Além de reduzir as glicemias (de jejum e pós-prandial) e aumentar a secreção de insulina dependente de glicose, o GLP-1 demonstrou inibir a secreção de glucagon e o lento esvaziamento gástrico. Além disso, estudos não clínicos e clínicos demonstraram aumento da saciedade, redução da ingestão alimentar e subsequente redução no peso corporal após a administração de GLP-1, levando a investigações sobre o seu potencial para o tratamento da obesidade.^{45,46}

1.3 O TRATAMENTO MEDICAMENTOSO

Existem inúmeras abordagens recomendadas para o tratamento e prevenção da obesidade, dentre elas se destaca o tratamento convencional, que se baseia em alterações comportamentais relacionadas aos hábitos alimentares, a exercícios voltados ao aumento do gasto calórico (incluindo atividade física regular), psicoterapia e reeducação alimentar, juntamente com orientações nutricionais focadas na ingestão

de alimentos mais saudáveis, mas há casos onde não se obtêm resultados adequados com as abordagens supracitadas, sendo necessária a busca por alternativas e tratamentos mais rigorosos.

Uma das alternativas, conhecida como intervenção terciária, é a cirurgia bariátrica,⁴ aplicada a indivíduos em estágios mais graves, com IMC igual ou maior que 40 Kg/m², associada a comorbidades cardiovasculares com altos níveis de mortalidade que, após rigorosa avaliação, pode ser eventualmente melhorada com a perda de peso induzida cirurgicamente. Ademais, esse tipo de intervenção também pode englobar um regime mais rígido de refeições com baixíssimas calorias, além da utilização de medicamentos antiobesidade.⁴

Existem ainda situações onde as intervenções cirúrgicas e as dietas de baixas calorias não são aplicáveis, tornando a medicação o único recurso disponível ao indivíduo obeso. Segundo a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), em 2017, os quatro fármacos registrados para o tratamento da obesidade no Brasil eram sibutramina (17), orlistat (18), lorcaserina (19) e o peptídeo liraglutida (20),⁴⁷ ilustrados pela **Figura 4**.

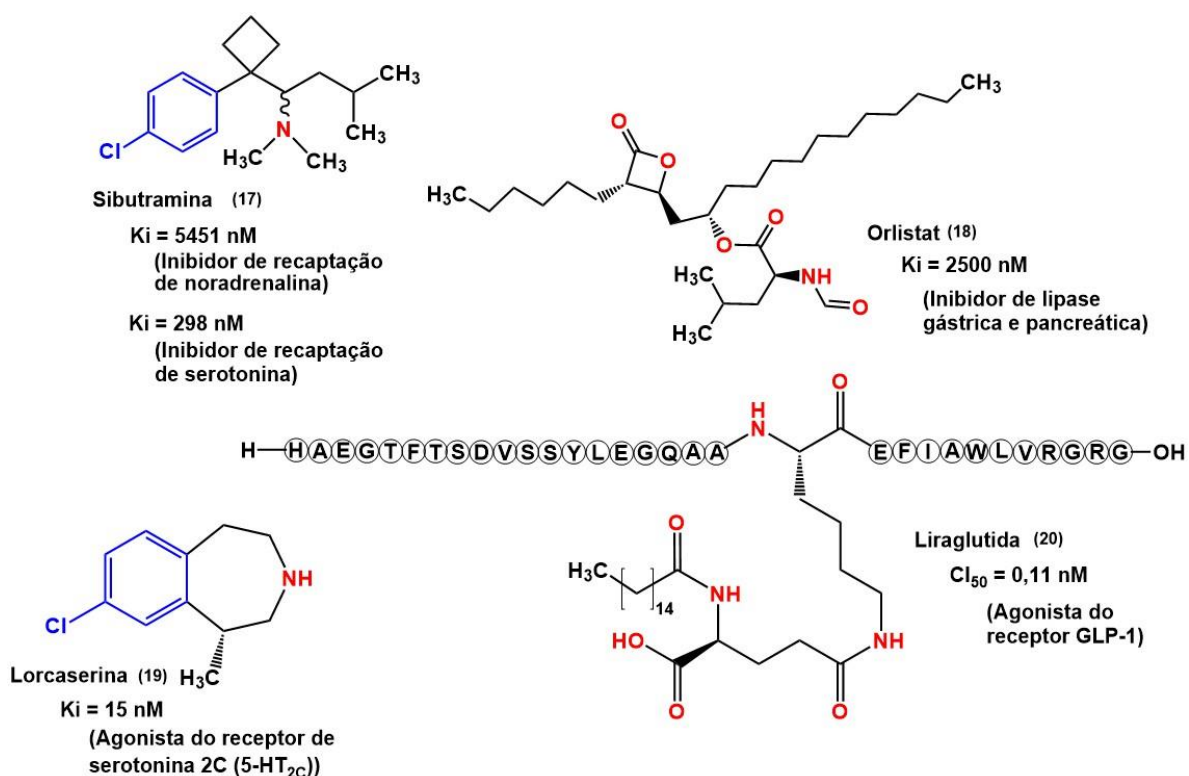


Figura 4: Estruturas químicas, constantes de afinidade e concentração inibitória de alguns dos fármacos registrados no Brasil para o tratamento da obesidade, segundo a ANVISA.⁴⁷

A sibutramina (**17**), foi sintetizada pela primeira vez em 1980, inicialmente voltada para uso como antidepressivo, agindo como inibidor de recaptação de serotonina e noradrenalina (SNRI), permitindo que esses neurotransmissores permaneçam na fenda sináptica, promovendo a sensação de saciedade.^{48,49} Aprovada pela Food and Drug Administration (FDA) em 1997, a sibutramina não causa dependência psíquica nem química, contudo seu uso não deve ser recomendado para pacientes obesos com doenças cardiovasculares e deve ser feito com monitoramento constante a pacientes que apresentam hipertensão arterial.^{4,49} Efeitos colaterais comumente relatados são, insônia, náusea, boca seca e constipação.⁵⁰

Aprovado em 1999 pela FDA, o orlistat (**18**) (THL – tetraidrolipstatina) age focado na redução da medida da circunferência abdominal e conseqüentemente na diminuição dos riscos de doenças cardiometabólicas. Sua utilização é muitas vezes associada a problemas gastrointestinais, como descarga de gordura, flatulência excessiva e urgência fecal, devido principalmente ao seu mecanismo de ação, além da redução de absorção de vitaminas lipossolúveis, sendo necessária a administração concomitante com multivitamínicos durante seu tratamento a longo prazo.^{4,51}

Agonista do receptor de serotonina 2C (5-HT_{2C}), a lorcaserina (**19**), aprovada pelo FDA em 2012, demonstrou eficácia no tratamento da obesidade,⁵² por meio da ativação desses receptores, através do sistema de neurônios POMC e AgRP/NPY,^{42,43} além da diminuição dos níveis de colesterol total e triglicérides.⁴² Contudo, estudos de Fase 3 mostraram que efeitos colaterais como náusea, cefaleia e tontura estão entre os mais comuns e sua incidência aumenta consideravelmente em doses supraterapêuticas.^{42,52}

Indicada para indivíduos obesos ou com IMC >27 kg/m² com comorbidades, a liraglutida (**20**) leva a melhoria considerável de parâmetros glicêmicos, pressão arterial e níveis lipídicos, com conseqüente redução de riscos cardiovasculares, assim como aumento da qualidade de vida, uma vez que sua administração é indicada em conjunto com modificação de estilo de vida, como dietas mais saudáveis e exercícios físicos. A liraglutida é um análogo de GLP-1 com uma sequência de aminoácidos com 97% de homologia em relação ao GLP-1 nativo, divergindo apenas pela substituição do resíduo de lisina (Lys, K) pelo aminoácido arginina (Arg, R) na posição 34 e na adição de ácido glutâmico, juntamente com uma extensa cadeia carbônica (16 carbonos) após o aminoácido K26.^{53,54} Foi inicialmente desenvolvida para controle glicêmico do

diabetes, se mostrando mais tarde bastante eficaz para a diminuição do peso corporal, independente do aumento anormal de glicose no sangue, além de reduzir o risco dessa doença metabólica associada à obesidade, sendo aprovada pelo FDA em 2014 para essa finalidade. Mesmo sendo muito bem tolerada, seus efeitos adversos mais reportados são gastrointestinais, como náusea, diarreia e constipação, que podem ser mitigados com a alteração da dose ingerida.^{4,46}

Outro fármaco importante, utilizado como agente antiobesidade, foi o rimonabanto **(21)** (**Figura 5**), aprovado em 2006 pelo FDA, sendo o primeiro bloqueador do receptor CB1, com alta afinidade para o mesmo e potencial redução da ingestão alimentar, medida da circunferência abdominal e níveis de colesterol e triglicerídeos. Contudo, seus efeitos adversos mais frequentes são: náusea, tontura, diarreia, insônia e principalmente distúrbios psiquiátricos, incluindo depressão e ansiedade, podendo levar a descontinuação de seu uso.^{50,51,55}

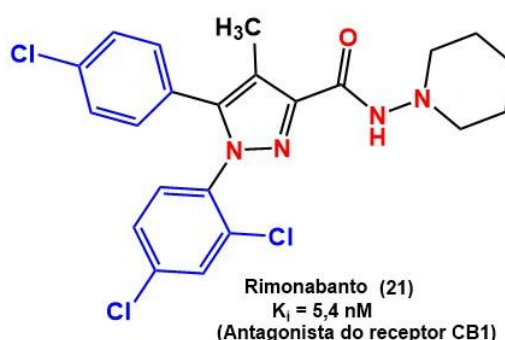


Figura 5: Fórmula estrutural e constante de afinidade do fármaco Rimonabanto **(21)**.⁵⁶

Devido aos graves efeitos colaterais relacionados aos fármacos citados, intensificam-se as buscas por novas alternativas terapêuticas que possam reduzir o peso corporal e/ou minimizar os fatores de risco cardiometabólicos para o tratamento da obesidade. Neste contexto, a modulação do Sistema Endocanabinóide afetando indiretamente o receptor CB1, por meio da inibição da enzima sn-1-Diacilglicerol lipase alfa (DAGL- α), apresenta-se como uma estratégia promissora para essa finalidade.

1.4 O SISTEMA ENDOCANABINÓIDE NO CONTEXTO DO CONTROLE DO APETITE

Após o isolamento e caracterização do principal componente psicoativo da *Cannabis sativa*, o Δ^9 -tetrahydrocannabinol (Δ^9 -THC) (**22**), em 1964, por Gaoni e Mechoulam,⁵⁷ deu-se início, de forma intensiva, aos esforços para a compreensão de sua atividade, através de seu mecanismo de ação e consequente entendimento do sistema ao qual ele afeta. O sistema endocanabinóide (SEC) é constituído então, por dois receptores principais acoplados à proteína G (GPCR): (a) CB1, descoberto em 1988,⁵⁸ principal alvo farmacológico do Δ^9 -THC,⁵⁹ expresso principalmente nos terminais pré-sinápticos em várias regiões, incluindo tronco encefálico, hipocampo, córtex, diencéfalo, mesencéfalo, hipotálamo e cerebelo, regulando ainda a liberação dos neurotransmissores, glutamato, ácido gama-aminobutírico (GABA), acetilcolina, norepinefrina, entre outros,^{60,61} sendo o receptor mais abundante acoplado à proteína G no cérebro⁶² e (b) CB2, descoberto em 1993⁶³ e cuja expressão é predominante nas células do sistema imune, sendo recentemente encontrado também no cérebro, especialmente nas células da micróglia.⁶⁴ Os receptores CB1 e CB2 em humanos compartilham 44% da identidade global de aminoácidos e possuem sete hélices transmembranares. Em suas regiões transmembranares, a identidade sequencial passa a 68%.^{62,65}

A ativação de CB1 e CB2 é mediada por dois ligantes endógenos, araquidonoil-etanolamida (também conhecido como anandamida) (AEA) (**23**) e 2-araquidonoil-glicerol (2-AG) (**24**), que são considerados os principais endocanabinóides (ECs).⁶⁶

O primeiro endocanabinóide descoberto foi a AEA, em 1922 por Devane e colaboradores e seu nome vem da palavra sânscrita “Ananda” (felicidade interna),⁶² uma vez que AEA exerce um efeito modulador no circuito de recompensa, agindo como uma substância endógena auto-administrada pelo cérebro semelhante à *Cannabis*, além de desempenhar importante papel nos efeitos de drogas de abuso, incluindo não-cannabinóides. Pertencente à subclasse conhecida como *N*-acetiletanolaminas (NAEs), a AEA (assim como Δ^9 -THC) ativa receptores CBs com baixa eficácia intrínseca (agonista parcial). Já o 2-AG, que pertence à subclasse de monoacilgliceróis (MAGs), apresenta-se como agonista pleno dos receptores CBs,

com elevados níveis teciduais e celulares, encontrando-se em níveis de 10 a 100 vezes maiores do que a AEA.⁶²

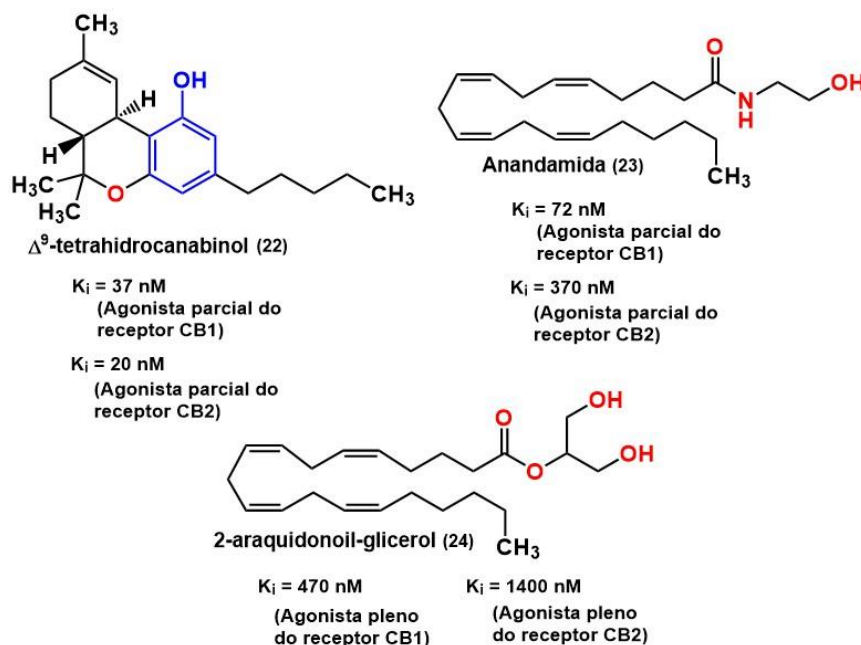


Figura 6: Estruturas químicas e constantes de afinidade de um dos compostos presentes na *Cannabis sativa*, Δ^9 -THC (22) e dos endocanabinóides, AEA (23) e 2-AG (24).⁶¹⁻⁶⁹

Ademais, o SEC é constituído por enzimas de produção, transporte e degradação dos endocanabinóides, como *N*-aciltransferase (NAT), *N*-araquidonoil-fosfatidil-etanolamina Fosfolipase D (NAPE-PLD), Fosfolipase C (PLC), Diacilglicerol lipase (DAGL), Amida hidrolase de ácido graxo (FAAH) e Monoacilglicerol lipase (MAGL), representando pontos de extrema importância para a regulação dos níveis teciduais dos ligantes endógenos, uma vez que não há maneira de armazená-los de forma estável em vesículas sinápticas e não há vias neuronais canabinóides conhecidas, levando o sistema a agir sob demanda, sintetizando os endocanabinóides após despolarização celular dependente de Ca^{2+} ou estimulação do receptor canabinóide.^{61,62,65}

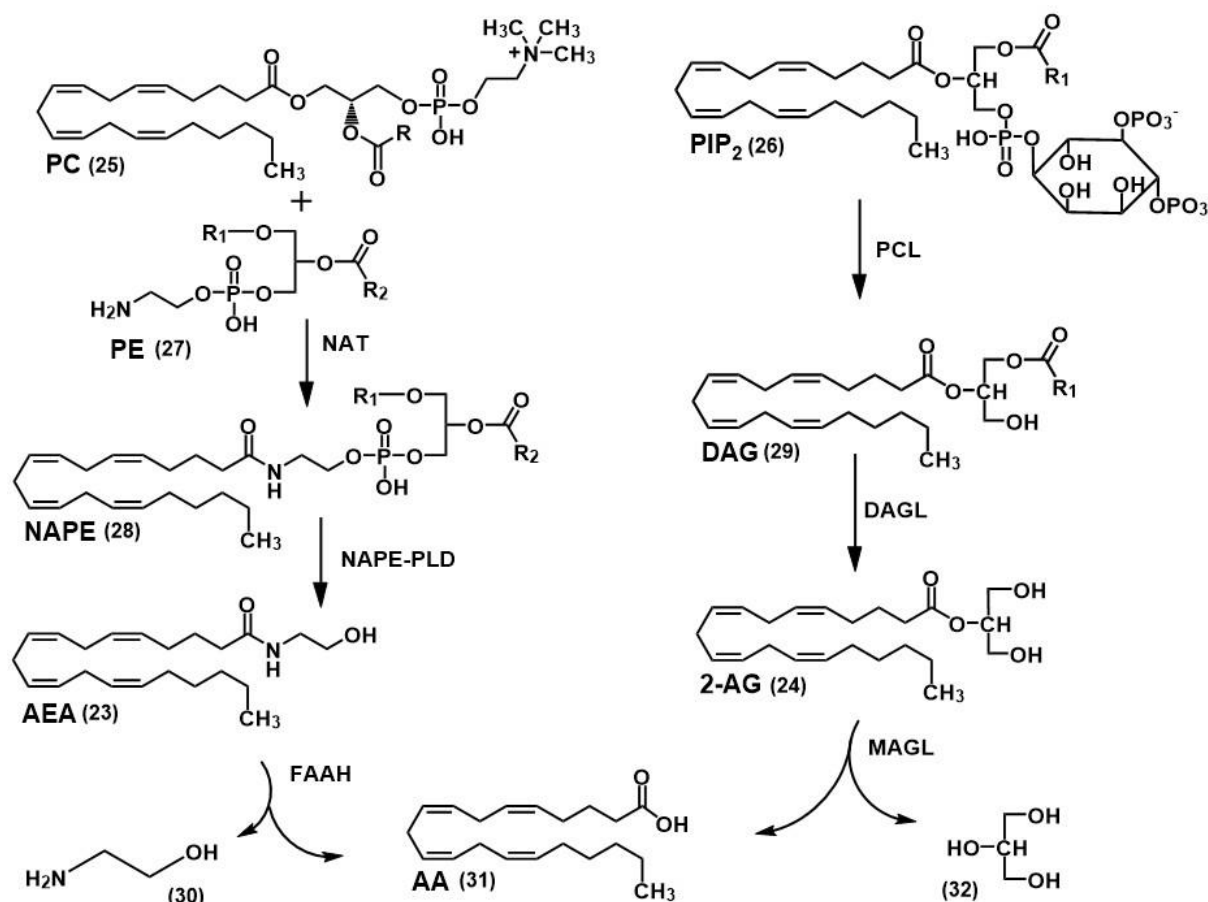


Figura 7: Esquema ilustrando a formação e degradação dos endocanabinóides.^{61,62,65}

Os endocanabinóides são formados a partir de precursores de fosfolipídios, como demonstrado na **Figura 7**. Na via de obtenção de AEA (**23**), Fosfatidilcolina (PC) (**25**) e Fosfatidiletanolamina (PE) (**27**) sofrem transferência enzimática catalisada pela enzima NAT, na qual o grupo acil é substituído pelo grupo amino, formando *N*-araquidonoil-fosfatidil-etanolamina (NAPE) (**28**). Essa última é então hidrolisada a AEA (**23**), pela NAPE-PLD. Já a via de obtenção de 2-AG (**24**) se inicia pela hidrólise de 2-araquidonoil-fosfatidilinositol 4,5-bisfosfato (PIP₂) (**26**) catalisada pela enzima PLC, resultando na formação de diacilglicerol (DAG) (**29**), que é mais tarde desacilado pela DAGL específica para *sn*-1 (numeração estereoespecífica – *sn* – utilizada para diferenciar os três carbonos da subunidade do glicerol, numerando-se de cima para baixo), para finalmente produzir 2-AG (**24**).^{61,62}

Como já mencionado, os endocanabinóides são produzidos sob demanda e não há como armazená-los, de forma que, após a sua produção e sinalização, são rapidamente metabolizados por enzimas de degradação, tais como FAAH, que divide

AEA em ácido araquidônico (AA) **(31)** livre e etanolamina **(30)** e MAGL, que hidrolisa 2-AG também em AA e glicerol **(32)**.^{61,62,65}

Mediante as múltiplas conexões neurais e endócrinas, atribuídas a elevada interação dos ligantes endógenos e dos receptores CBs com outros meios moduláveis, observa-se que o SEC participa de inúmeras vias fisiológicas de regulação, estando envolvido em algumas das principais funções básicas do corpo humano, afetando a fisiologia e patologia do sistema nervoso central (SNC) e periférico,⁷⁰ por meio de sua participação em vários processos como aprendizagem e memória, desenvolvimento neuronal, nocicepção ou algesia, inflamação, regulação do apetite, digestão, amamentação, metabolismo, balanço energético, termogênese, motilidade, ciclo vigília-sono, regulação do estresse, emoções e dependência química.⁶⁶

Com enfoque direcionado ao controle de apetite, o SEC é um caminho de sinalização clinicamente comprovado para o balanço energético,⁷¹ uma vez que há estreita relação entre o SEC e os neuropeptídeos orexigenos (AgRP e NPY), visto que a modulação de CB1 (em neurônios glutamatérgicos ou GABAérgicos) pode inervar esses neuropeptídeos.⁷² Ademais, os níveis de 2-AG são elevados no hipotálamo com o aumento da produção de grelina em jejum e reduzidos quando há acréscimo dos hormônios promotores da saciedade, como a leptina.⁷² Dessa forma, pode-se prever que, alterações nos níveis de grelina e leptina modulam a liberação de determinados mediadores orexigênicos e anorexigênicos, bem como ocorre com o estímulo dos receptores CB1.^{72,73,74}

1.5 A ENZIMA DAGL- α COMO ALVO PARA O TRATAMENTO DA OBESIDADE

Uma alternativa aos tratamentos atuais no combate a obesidade, seria atuar no sistema endocanabinóide, através da inibição da enzima sn-1-Diacilglicerol lipase α (DAGL- α). As enzimas DAGL são proteínas de membrana intracelulares com múltiplos domínios, que possuem como uma de suas funções catalisar a conversão de diacilglicerol (DAG) em 2-araquidonoilglicerol (2-AG), substância endógena que age seletivamente como agonista do receptor canabinóide CB1.^{75,76} Elas pertencem à grande família das serina-hidrolases, com a típica dobra α/β hidrolase e a tríade

catalítica Ser-His-Asp.⁷¹ Existem duas isoformas conhecidas: sn-1-Diacilglicerol lipase α e sn-1-Diacilglicerol lipase β (DAGL- β).⁷⁵ A DAGL- α se encontra, majoritariamente, no sistema nervoso central (SNC) e é a principal responsável pela síntese de 2-AG no tecido nervoso, enquanto que DAGL- β está presente em maior quantidade nos órgãos periféricos.^{75,77} São enzimas de 1042 e 672 resíduos de aminoácidos, respectivamente, possuindo quatro domínios transmembranares, separados por loops curtos, pouco conservados. Apresenta um conjunto central de oito cadeias de β -folhas, bilateralmente ligadas por Ligações de Hidrogênio, conectadas através de α -hélices e loops, bem como contendo espaçamento crítico da tríade catalítica (serina, aspartato e histidina) dentro de um sítio ativo hidrofóbico.^{78,79}

A atividade da enzima DAGL- α (**Figura 8**), como todas as lipases, se dá pela catálise da conversão de diacilgliceróis (DAG) em monoacilgliceróis (2-AG), através da desprotonação da serina (**33**), tornando-a mais nucleofílica, para o posterior ataque ao grupo carbonila do substrato **34**, formando assim um intermediário acil-enzima tetraédrico (**35**). Após isso, um nucleófilo (**37**) (como H₂O por exemplo) ataca a enzima acilada resultando no produto metabolizado **38** e na regeneração do sítio catalítico (**40**).^{80,81}

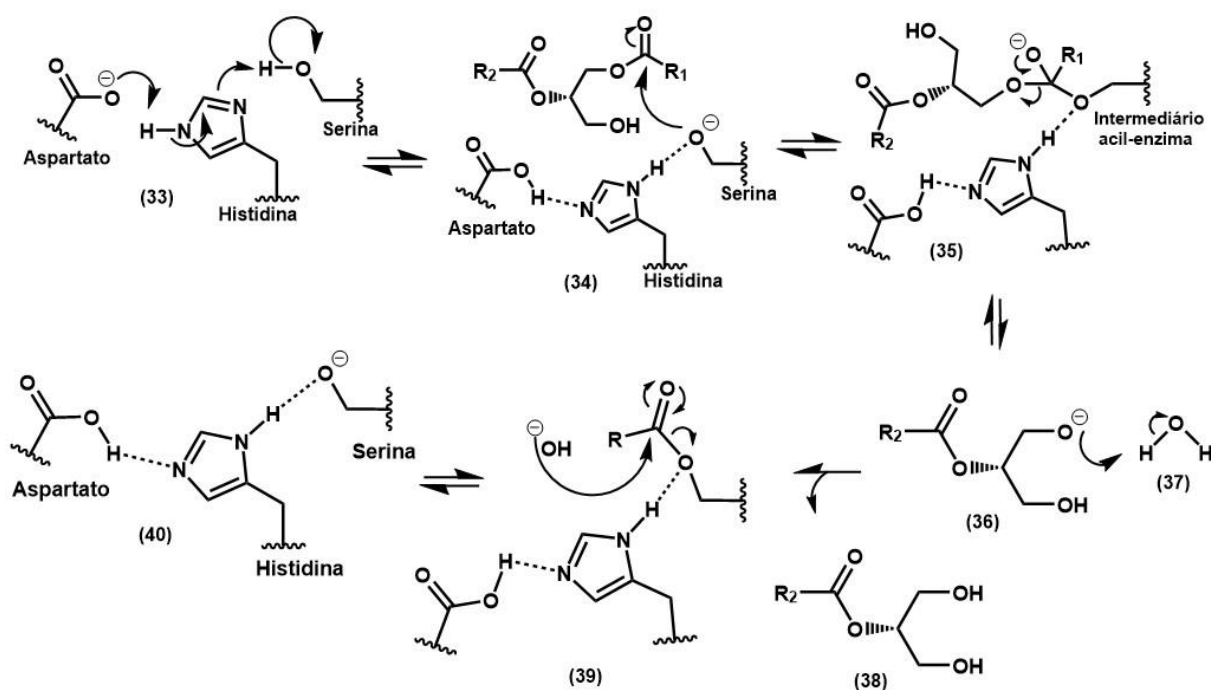


Figura 8: Mecanismo geral de catálise de lipase.^{80,81}

Recentes descobertas apontam que a inibição de DAGL- α pode ser benéfica no tratamento de distúrbios metabólicos, tais como obesidade e suas doenças recorrentes,⁷¹ uma vez que modular CB1 diretamente, como já mencionado, devido seus efeitos colaterais exacerbados, se tornou uma alternativa inviável.

1.6 SULFONAMIDAS COM ATIVIDADE INIBITÓRIA FRENTE À DAGL- α

Atualmente, diferentes classes de inibidores da enzima DAGL- α vem sendo reportadas, uma das mais promissoras são as sulfonamidas. Janssen *et al*, reportaram a importância da subunidade sulfonamídica, capaz de orientar a posição espacial dos ligantes na região catalítica da enzima, bem como a importância de halogêneos ligados diretamente ao anel aromático da extremidade da molécula, como no composto **41**, apresentando menor valor de concentração inibitória quando comparado com moléculas similares. Além disso, a presença de um doador/aceptor de ligação de hidrogênio, como ácido carboxílico, demonstrado na região A (**Figura 9**), se mostrou essencial para a atividade do composto **43**.⁷⁵ Pois, quando modificado e adicionado um grupo éster no lugar, ocorre perda da atividade, como pode ser observado para o composto **45**.⁷⁵ Ademais, os anéis aromáticos ocupam, separadamente, bolsões hidrofóbicos abertos, ilustrado no composto **42** alterando a atividade conforme são variados seus substituintes, bem como modificando sua posição (*orto*, *meta* ou *para*), como demonstrado pela região B, no composto **44** em relação ao composto **43**.⁸²

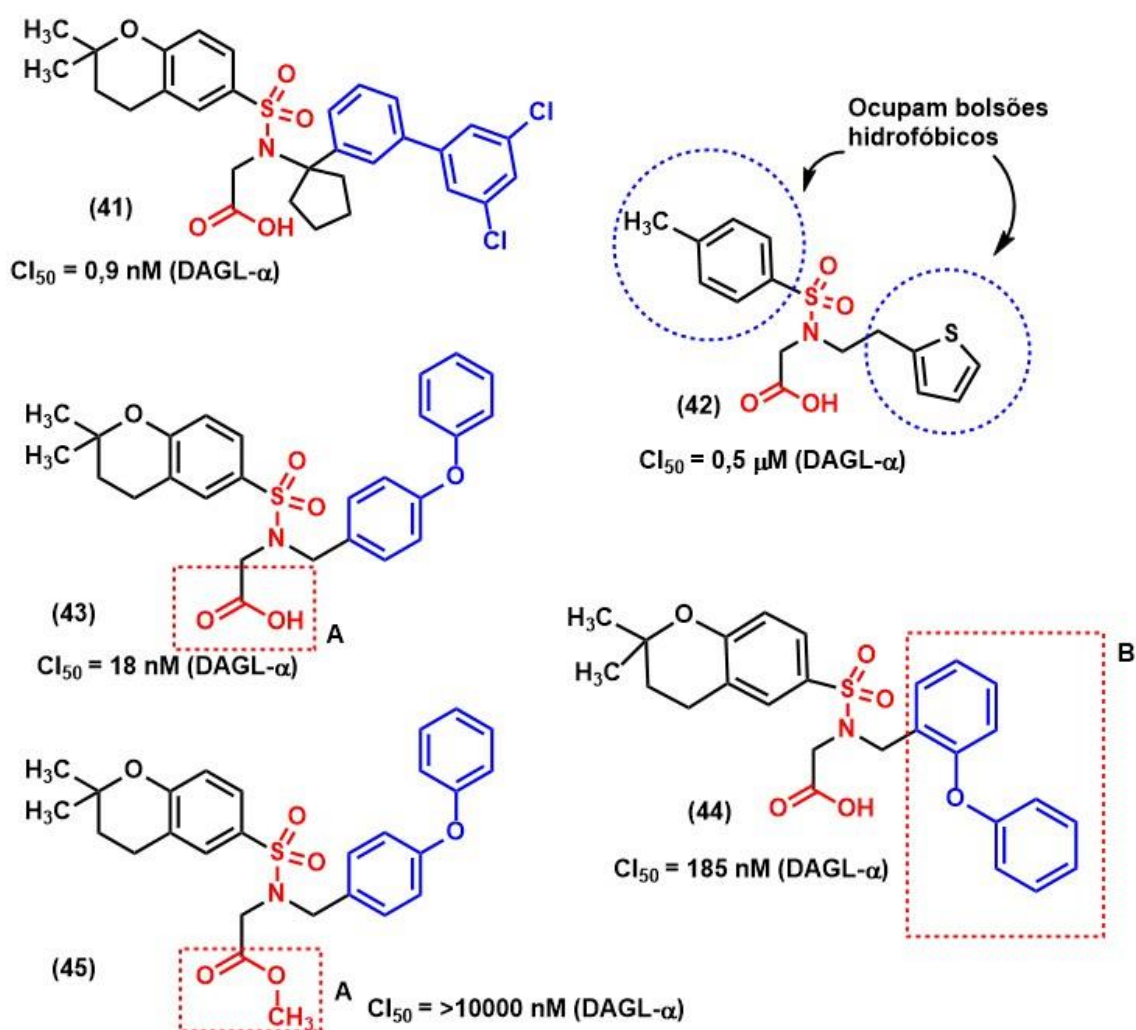


Figura 9: Estruturas químicas com padrão estrutural sulfonamídico com atividade inibitória frente a enzima DAGL- α .^{75,82,83}

Por meio de estudos computacionais, Chupak *et al*, descreveram um modelo farmacofórico rudimentar (**Figura 10**), para tentar explicar os principais pontos de potencial interação entre os derivados sulfonamídicos e a enzima DAGL- α , por meio do modelo por homologia desenvolvido (seção 1.7.1). Nele, é possível observar a importância da presença de subunidades aromáticas ligadas diretamente ao enxofre e ligadas através de um espaçador metileno ao nitrogênio.⁸²

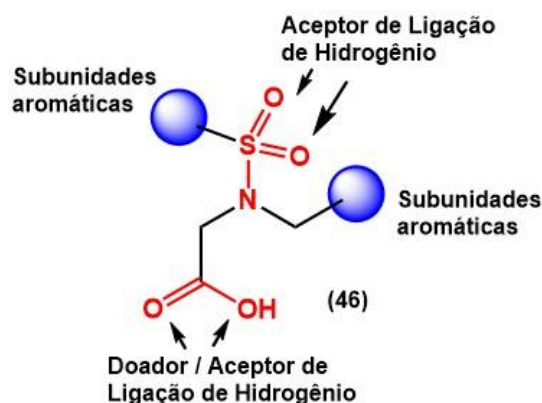


Figura 10: Modelo farmacofórico rudimentar, demonstrando os principais pontos de interação entre os derivados sulfonamídicos e a enzima DAGL- α , obtido através do modelo por homologia desenvolvido por Chupak *et al.* **Fonte:** Adaptado de Chupak *et al.*, 2016.⁸²

1.7 MODELAGEM MOLECULAR NO CONTEXTO DA QUÍMICA MEDICINAL

A modelagem molecular tem papel fundamental nos estudos dirigidos à compreensão das interações entre a biomacromolécula e ligantes bioativos, além de propiciar a triagem virtual de novos compostos planejados de modo consistente, reduzindo o tempo e o custo destinados à busca por novos candidatos à fármacos.⁸⁴

Por meio desse estudo, é possível trabalhar em duas vertentes: seja por meio da estrutura do ligante (LBDD do inglês: *ligand-based drug design*) ou por meio da estrutura do receptor (SBDD do inglês: *structure-based drug design*).⁸⁵ No primeiro caso, o estudo se baseia na estrutura de uma molécula (ligante) e na ausência de informações tridimensionais disponíveis para o receptor/enzima.⁸⁶ No segundo, utiliza-se macromoléculas (receptores ou enzimas) já conhecidas, obtidas experimentalmente, ou construídas por meio de modelagem comparativa.⁸⁵

Dentro do estudo de SBDD, o *docking*, ou ancoragem molecular, é uma ferramenta amplamente difundida no planejamento racional de fármacos, que tem como objetivo, prever a orientação e a conformação de um ligante dentro de um sítio de ligação em um receptor ou enzima.^{87,88} Pode ser aplicado na triagem virtual de novas moléculas, na otimização de compostos com afinidade já descrita pelo alvo de interesse e auxiliar no entendimento das características do reconhecimento molecular, a fim de proporcionar de maneira assertiva o direcionamento da seleção de compostos a serem futuramente sintetizados.⁸⁹ Na **Figura 11** é apresentado um fluxograma das principais etapas na abordagem SBDD.

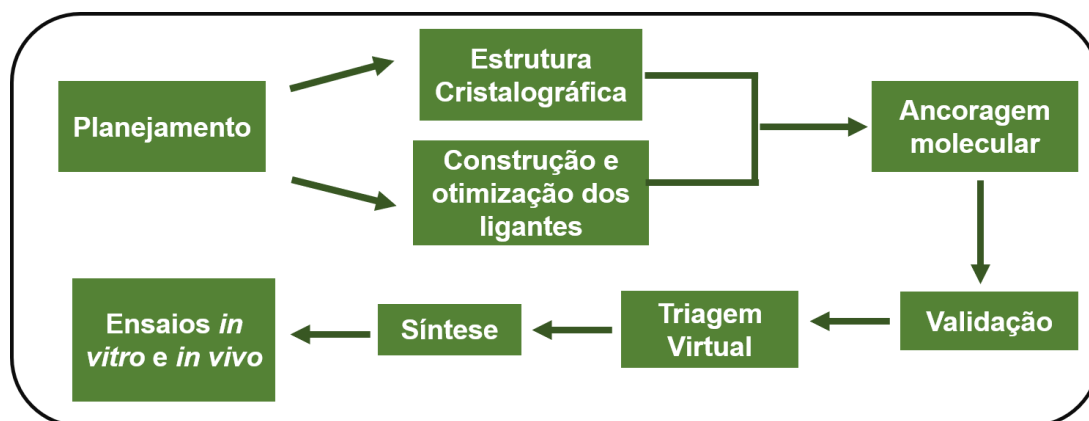


Figura 11: Fluxograma das etapas em uma abordagem SBDD.⁸⁵

Na triagem virtual baseada na estrutura do receptor ou enzima, é ancorado um conjunto de moléculas em um sítio de ligação previamente selecionado e validado, aliada à previsão do modo de ligação (conformação e orientação). A validação pode ser feita por meio de redocagem (*redocking*), onde o ligante presente na proteína de interesse (receptor ou enzima) é virtualmente removido do sítio ao qual foi co-cristalizado e é recolocado pelo programa, por meio das condições calculadas para a melhor orientação possível do ligante no sítio.⁸⁹ Sendo então avaliada a concordância entre a posição obtida pelo programa e a orientação previamente encontrada experimentalmente. Na **Figura 12** é demonstrado um exemplo de redocagem bem-sucedido, ilustrando uma interação hidrofóbica (π -alquil) entre H269 e o ligante co-cristalizado, sendo mantida após a redocagem.

Outras abordagens de validação geralmente utilizadas são: curva característica de operação do receptor (*receiver operating characteristic curve*, ROC) e relação estrutura-atividade quantitativa tridimensional (*tridimensional quantitative structure-activity relationship*, 3D-QSAR).⁸⁹ A primeira validação, curva ROC, avalia a capacidade do programa de ancoragem utilizado de discernir ligantes ativos e inativos, de modo a plotar a curva levando em consideração os falsos positivos, falsos negativos e os ligantes classificados corretamente.⁹⁰ Já a validação conhecida como 3D-QSAR, avalia o protocolo de ancoragem quanto ao alinhamento de uma série de ligantes com atividade relatada para o receptor, de modo que seja possível descrever quantitativamente as variações dessa atividade, por meio de fatores relacionados a estrutura tridimensional desses ligantes. Sendo possível construir modelos

estatísticos que liguem a atividade biológica às propriedades moleculares dessa série de ligantes para posterior previsão da atividade de novos compostos.⁹¹

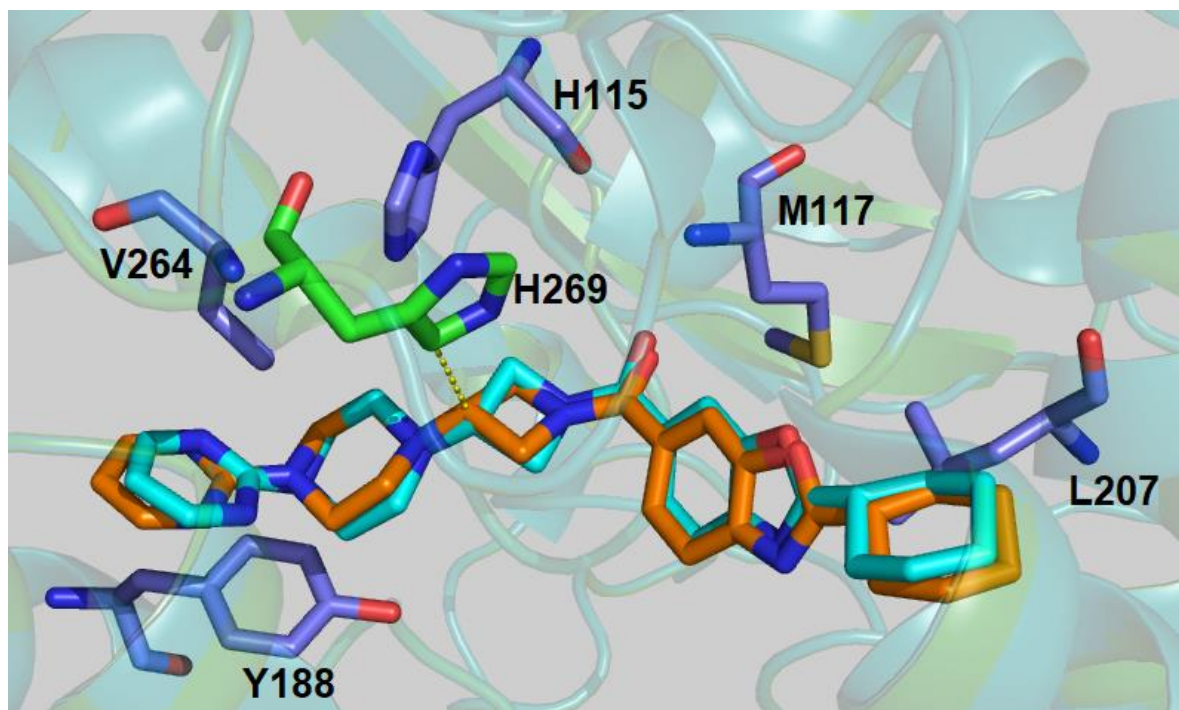


Figura 12: Ligante co-cristalizado na estrutura da MAGL-humana (PDB ID: 3PE6) (em laranja) e pose de ancoragem obtida por redocagem (em ciano), RMSD = 0,6232. Átomos de hidrogênio foram omitidos para maior clareza.

Cada metodologia de validação deve ser avaliada, dependendo da finalidade desejada para o protocolo a ser validado, bem como os parâmetros, vantagens e desvantagens de aplicação. Assim, para uma abordagem onde não há ligantes co-cristalizados na proteína de interesse, nem um extenso banco de dados de ligantes ativos para a proteína em questão, se faz necessária a validação com ligantes da literatura. Para isso, utiliza-se ligantes com atividade comprovada frente ao receptor e um conjunto de compostos inativos encontrados na literatura científica e pede-se para o programa classificá-los. Assim é possível avaliar a confiabilidade das funções de pontuação em diferenciar àqueles compostos mais promissores na etapa que se segue (triagem virtual). Alternativamente, após a classificação, pode-se utilizar a curva ROC, como análise pós-ancoragem,⁹² como uma ferramenta de aprimoramento do protocolo, mas nem sempre se faz necessário essa abordagem adicional.

O *docking*, fornece uma classificação (*Score*) das moléculas ancoradas, através da melhor posição obtida no cálculo.^{85,87,88} Esta classificação não pode ser

usada como o único critério para triagem de moléculas promissoras, devendo ser combinada com outros métodos de avaliação, como as interações observadas entre as moléculas e os resíduos-chave dos aminoácidos do sítio ativo, assim como a orientação e a conformação observadas.^{85,93}

Para isso, é necessária a aplicação de funções de pontuação que estimem a variação de energia dos complexos ligante-proteína, previstos pelo programa de ancoragem, por meio da avaliação de fenômenos físico-químicos envolvidos na ligação desses complexos. Essas funções podem ser classificadas em três grupos: funções baseadas no campo de força, empíricas e baseadas em conhecimento (*knowledge-based*).^{85,94}

As funções de pontuação baseadas no campo de força estimam a energia de ligação somando as contribuições de termos físicos para interações atômicas, como interações eletrostáticas, van der Waals, alongamento de ligação e flexão de ângulo das ligações químicas. Este tipo de função de pontuação aplica um método *ab initio* para calcular a energia associada a cada termo, o que pode ser considerada uma vantagem, já que ela pode ser continuamente aperfeiçoada conforme novos campos de força, métodos quânticos e modelos de solvatação são desenvolvidos nos campos teóricos. Contudo, o resultado não tem sido tão adequado, mesmo quando teorias de níveis altíssimos são aplicadas, uma vez que a predição de energia livre se mostra de extrema de complexidade. Alguns exemplos de funções de pontuação baseadas em campo de força são: DOCK, AutoDock, GoldScore, dentre outras.^{85,94-96}

Uma segunda abordagem utilizada para avaliar a energia de ligação do complexo ligante-receptor é a função de pontuação empírica. Para tanto, consideram-se termos de ligações de hidrogênio, interações iônicas e apolares, de van der Waals, eletrostáticas, bem como efeitos de hidrofobicidade e entropia. Uma das vantagens deste tipo de função, além de serem consideravelmente mais rápidas do que as de campo de força, é a simplicidade de seus termos, possibilitando seu ajuste através da adição, remoção ou modificação dos mesmos, permitindo a solução de problemas mais específicos. Contudo, a capacidade preditiva dessa função, por ser empírica, depende da qualidade e consistência dos dados de afinidade reportados na literatura, levando às dificuldades na construção de funções mais eficientes. A função de pontuação LUDI foi o primeiro exemplo de uma função empírica. Outras funções de pontuação empíricas são GlideScore, ChemScore, ChemPLP.^{85,94-96}

As funções de pontuação baseadas em conhecimento, aplicam-se em termos matemáticos baseados na frequência de ocorrência de um contato específico, indicando se essa interação é energeticamente favorável ou não. Ou seja, a pontuação é calculada favorecendo contatos preferenciais e penalizando interações repulsivas. Como essas funções não dependem da reprodução de afinidades de ligação (métodos empíricos) ou de cálculos *ab initio* (métodos de campo de força), elas oferecem um equilíbrio adequado entre precisão e velocidade. Além disso, buscam apontar implicitamente os fatores energéticos do reconhecimento molecular através dos potenciais em pares. Contudo, a definição de um estado inicial onde a interação entre os pares é inexistente é um dos maiores desafios relacionados à construção dessas funções, uma vez que não existe sistema físico real onde essa condição seja observada, sendo então necessárias aproximações que podem comprometer a qualidade do resultado. DrugScore, ITScore e ASP são exemplos de funções de pontuação baseadas em conhecimento.^{85,94-96}

1.7.1 ESTUDOS COMPUTACIONAIS APLICADOS À ENZIMA DAGL- α

Vários estudos já foram executados, visando compreender a atividade de alguns ligantes frente à enzima DAGL- α . Contudo, como não há estrutura cristalográfica disponível para ela, estudos com modelagem molecular comparativa foram realizados para essa finalidade. Todas as enzimas aplicadas possuem a mesma tríade catalítica (Ser-His-Asp) e a mesma dobra α/β hidrolase presente na DAGL- α .^{75,82,97,98}

Baggelaar e colaboradores utilizaram, com o intuito de gerar um modelo farmacofórico inicial, a estrutura cristalográfica do domínio tioesterase da sintase de ácidos graxos humanos (PDB ID: 2PX6). Nela se encontra co-cristalizado o ligante THL, sendo ligado covalentemente à serina catalítica, por meio de seu grupo carbonila da subunidade lactona. Usando esse modelo, foi testado, *in silico*, um conjunto de inibidores de lipase comercialmente disponíveis. Após isso, desenvolveu-se um modelo computacional por modelagem molecular comparativa, visando compreender como ocorriam as interações entre os ligantes com atividade e a enzima huDAGL- α . Para tanto, utilizou-se a estrutura cristalográfica mutante (S146A) da lipase de *thermomyces lanuginosa* (*humicola*) lipase em complexo com ácido oleico (PDB

ID:1GT6).⁹⁷ Outros estudos foram desenvolvidos, utilizando a mesma estrutura cristalográfica como base para a construção de uma estrutura tridimensional da proteína por modelagem molecular comparativa e mesmo usando classes de compostos distintos, como sulfonamidas e α -cetoheterociclos, foi constatado a importância da presença de um doador/aceptor de ligação de hidrogênio (como ácido carboxílico), interagindo com a serina ou a histidina catalítica. Ademais, os ligantes podem ser direcionados pelos resíduos de L410, V526 e I529, criando bolsões hidrofóbicos próximos à tríade catalítica.^{75,82,97,98} Na **Figura 13**, observa-se uma representação das interações obtidas através do modelo por homologia desenvolvido por Janssen *et al*, dentre as interações observadas, destaca-se a ligação de hidrogênio realizada entre o hidrogênio da hidroxila da cadeia lateral da S472 e o oxigênio do ácido carboxílico, destaca-se ainda a interação cátion- π entre o nitrogênio da cadeia lateral da H650 e o anel aromático ligado por espaçador metilênico ao nitrogênio sulfonamídico, além do empilhamento- π observado entre a Y303 e o anel aromático da extremidade da estrutura.

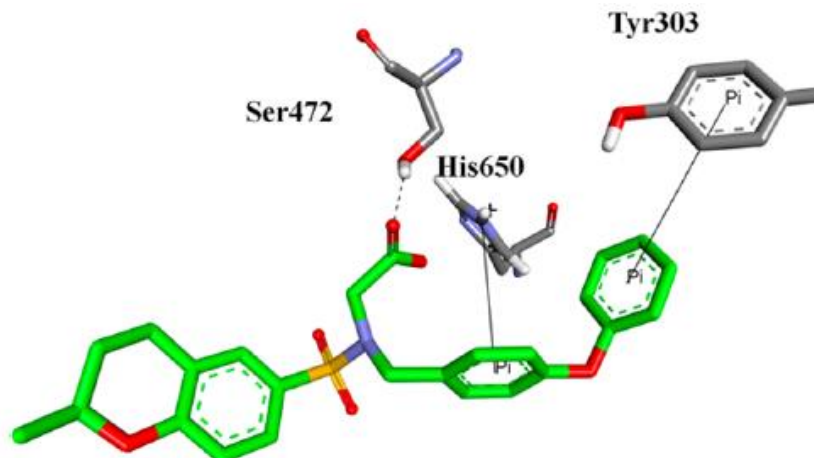


Figura 13: Representação das interações obtidas através do modelo por homologia desenvolvido a partir da lipase de *thermomyces lanuginosa (humicola)* em complexo com ácido oleico (PDB ID:1GT6). **Fonte:** Adaptado de Janssen *et al.*, 2014.⁷⁵

6. CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS

O modelo *in silico* obtido por meio de modelagem molecular para a enzima PCL foi apropriadamente validado, analisado e empregado na triagem virtual das substâncias propostas, apresentando a função de pontuação (ASP) com capacidade de diferenciar ligantes ativos e inativos, propiciando de forma adequada a seleção de 8 derivados sulfonamidicos promissores à inibição da enzima DAGL- α .

Destes, 5 compostos foram obtidos com bons rendimentos de reação. Dois desses compostos, foram obtidos em 4 etapas, com rendimentos globais de 9% e 18%, para **87** e **89**, respectivamente. Já os outros 3 compostos foram obtidos em 1 etapa, com rendimentos de 41%, 82% e 94% para **96**, **99** e **92**, respectivamente, sendo necessária a aplicação de purificação por CLAE para dois dos cinco produtos obtidos.

Os ligantes obtidos em grau de pureza acima de 95%, serão enviados para a Universidade de Leiden, com a colaboração do professor Dr. Mario van der Stelt, onde serão realizados testes bioquímicos a fim de avaliar a atividade inibitória frente a enzima DAGL- α humana. Paralelamente, serão enviados à Universidade Federal de Goiás, com a colaboração da Professora Dr^a Mônica Rodrigues Ferreira Machado, onde serão administrados em ensaios de teratogenicidade e obesidade, em modelos de *zebra fish*.

O modelo *in silico* desenvolvido neste trabalho pode ser utilizado na triagem de novos ligantes com subunidades sulfonamídicas para inibição da enzima DAGL- α , bem como no direcionamento de novos estudos aplicados ao entendimento dos complexos ligante-enzima.

7. REFERÊNCIAS

1. WORLD HEALTH ORGANIZATION 2011. Waist circumference and waist–hip ratio: report of a WHO expert consultation, Geneva, 8–11, December 2008.
2. WORLD HEALTH ORGANIZATION – WHO. News. Fact sheets. Detail. **Obesity and overweight**. Disponível em: <<https://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight>>Acessado em: 20/08/19.
3. WORLD HEALTH ORGANIZATION – WHO. **Global Database on Body Mass Index**. BMI classification. Disponível em: <http://apps.who.int/bmi/index.jsp?intro-Page=intro_3.html> Acessado em: julho de 2019.
4. Associação Brasileira para o Estudo da Obesidade e da Síndrome Metabólica – ABESO. Diretrizes brasileiras de obesidade, 4a. ed., São Paulo - SP, 2016.
5. SOCIEDADE BRASILEIRA DE CARDIOLOGIA *et al.* I Diretriz brasileira de diagnóstico e tratamento da síndrome metabólica. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 84, n. supl. 1, p. 3-28, 2005.
6. AMARAL, O. PEREIRA, C. Obesidade da genética ao ambiente. **Millenium-Journal of Education, Technologies, and Health**, n. 34, p. 311-322, 2016.
7. **Pesquisa nacional de saúde: 2013: ciclos de vida: Brasil e grandes regiões** / IBGE, Coordenação de Trabalho e Rendimento – Rio de Janeiro: IBGE, 2015. 92 p.
8. CANELLA, D. S.; NOVAES, H. M. D.; LEVY, R. B. Influência do excesso de peso e da obesidade nos gastos em saúde nos domicílios brasileiros. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 31, n. 11, p. 2331-2341, 2015.
9. BAHIA, L. et al. The costs of overweight and obesity-related diseases in the Brazilian public health system: cross-sectional study. **BioMed Central Public Health**, v. 12, n. 1, p. 440, 2012.
10. EXPERT PANEL ON DETECTION, Evaluation et al. Executive summary of the third report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) expert panel on detection, evaluation, and treatment of high blood cholesterol in adults (Adult Treatment Panel III). **JAMA**, v. 285, n. 19, p. 2486, 2001.
11. WANG, C. C. L.; GOALSTONE, M. L.; DRAZNIN, B. Molecular mechanisms of insulin resistance that impact cardiovascular biology. **Diabetes**, v. 53, n. 11, p. 2735-2740, 2004.
12. VARELA, L.; HORVATH, T. L. Leptin and insulin pathways in POMC and AgRP neurons that modulate energy balance and glucose homeostasis. **EMBO Reports**, v. 13, n. 12, p. 1079-1086, 2012.
13. THACKER, S. G. et al. High-density lipoprotein reduces inflammation from cholesterol crystals by inhibiting inflammasome activation. **Immunology**, v. 149, n. 3, p. 306-319, 2016.

14. RADER, D. J.; HOVINGH, G. K. HDL and cardiovascular disease. **The Lancet**, v. 384, n. 9943, p. 618-625, 2014.
15. BUDOFF, M. Triglycerides and triglyceride-rich lipoproteins in the causal pathway of cardiovascular disease. **The American Journal of Cardiology**, v. 118, n. 1, p. 138-145, 2016.
16. BOULLART, A. C. I.; DE GRAAF, J.; STALENHOF, A. F. Serum triglycerides and risk of cardiovascular disease. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular and Cell Biology of Lipids**, v. 1821, n. 5, p. 867-875, 2012.
17. MALIK, V. S.; HU, F. B. Fructose and cardiometabolic health: what the evidence from sugar-sweetened beverages tells us. **Journal of the American College of Cardiology**, v. 66, n. 14, p. 1615-1624, 2015.
18. JENSEN, T. et al. Fructose and sugar: A major mediator of non-alcoholic fatty liver disease. **Journal of Hepatology**, v. 68, n. 5, p. 1063-1075, 2018.
19. VOET, D.; VOET, J. G.; PRATT, C. W. **Fundamentos de Bioquímica: A Vida em Nível Molecular**. 4a. ed., Artmed Editora: Porto Alegre, 2014.
20. BOTEZELLI, J. D.; DE MOURA, R. F.; ROSSI, C. A.; DALIA, R. A.; CAMBRI, L. T.; ROSTOM DE MELLO, M. A. Consumo de frutose e exercício físico, impacto na síndrome metabólica. **Motriz: Revista de Educação Física** 2010, 16, 231.
21. BASCIANO, H.; FEDERICO, L.; ADELI, K. Fructose, insulin resistance, and metabolic dyslipidemia. **Nutrition & Metabolism** 2005, 2, 5.
22. HERMAN, M. A.; SAMUEL, V. T. The sweet path to metabolic demise: fructose and lipid synthesis. **Trends in Endocrinology & Metabolism**, v. 27, n. 10, p. 719-730, 2016.
23. DELINT-RAMIREZ, I. et al. Genetic obesity alters recruitment of TANK-binding kinase 1 and AKT into hypothalamic lipid rafts domains. **Neurochemistry International**, v. 80, p. 23-32, 2015.
24. DE BONA SCHRAIBER, R. et al. Diet-induced obesity causes hypothalamic neurochemistry alterations in Swiss mice. **Metabolic Brain Disease**, v. 34, n. 2, p. 565-573, 2019.
25. OKADA-JÚNIOR, C. Y. Planejamento e síntese de novos candidatos a inibidores da enzima sn-1-diacilglicerol lipase alfa (DAGL- α). 2017. Tese de Doutorado. Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho".
26. ZHANG, Y. et al. Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. **Nature**, v. 372, n. 6505, p. 425, 1994.
27. OGAWA, Y. et al. Molecular cloning of rat obese cDNA and augmented gene expression in genetically obese Zucker fatty (fa/fa) rats. **The Journal of Clinical Investigation**, v. 96, n. 3, p. 1647-1652, 1995.
28. IWAKURA, H. et al. Establishment of leptin-responsive cell lines from adult mouse hypothalamus. **PLoS One**, v. 11, n. 2, 2016.

29. NEGRÃO, A. B.; LICINIO, J. Leptina: o diálogo entre adipócitos e neurônios. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, v. 44, n. 3, p. 205-214, 2000.
30. KORACH-ANDRE, M. et al. Relationship between visceral adiposity and intramyocellular lipid content in two rat models of insulin resistance. **American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism**, v. 288, n. 1, p. E106-E116, 2005.
31. RITZE, Y. et al. Gastric ghrelin, GOAT, leptin, and leptinR expression as well as peripheral serotonin are dysregulated in humans with obesity. **Neurogastroenterology & Motility**, v. 28, n. 6, p. 806-815, 2016.
32. SCHERMA, M. et al. Brain activity of anandamide: a rewarding bliss?. **Acta Pharmacologica Sinica**, v. 40, n. 3, p. 309, 2019.
33. TSCHÖP, M.; SMILEY, D. L.; HEIMAN, M. L. Ghrelin induces adiposity in rodents. **Nature**, v. 407, n. 6806, p. 908, 2000.
34. MÜLLER, T. D. et al. Ghrelin. **Molecular Metabolism**, v. 4, n. 6, p. 437-460, 2015.
35. CHEN, H. Y. et al. Orexigenic action of peripheral ghrelin is mediated by neuropeptide Y and agouti-related protein. **Endocrinology**, v. 145, n. 6, p. 2607-2612, 2004.
36. VERHULST, P. J. et al. Role of ghrelin in the relationship between hyperphagia and accelerated gastric emptying in diabetic mice. **Gastroenterology**, v. 135, n. 4, p. 1267-1276, 2008.
37. KOLA, B. et al. The orexigenic effect of ghrelin is mediated through central activation of the endogenous cannabinoid system. **PloS one**, v. 3, n. 3, p. e1797, 2008.
38. WATANABE, H. et al. Serotonin improves high fat diet induced obesity in mice. **PLoS One**, v. 11, n. 1, p. e0147143, 2016.
39. TONG, Q. et al. Synaptic release of GABA by AgRP neurons is required for normal regulation of energy balance. **Nature Neuroscience**, v. 11, n. 9, p. 998, 2008.
40. FERNÁNDEZ-GARCÍA, J. C.; COLOMO, N.; TINAHONES, F. J. Effects of GLP-1 receptor agonists on carbohydrate metabolism control. **Medicina Clinica**, v. 143, p. 18-22, 2014.
41. ANDREWS, M. D. et al. Pyrimido [4, 5-d] azepines as potent and selective 5-HT_{2C} receptor agonists: Design, synthesis, and evaluation of PF-3246799 as a treatment for urinary incontinence. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 21, n. 9, p. 2715-2720, 2011.
42. SMITH, S. R. et al. Multicenter, placebo-controlled trial of lorcaserin for weight management. **New England Journal of Medicine**, v. 363, n. 3, p. 245-256, 2010.

43. HALFORD, J. C. G. et al. Serotonin (5-HT) drugs: effects on appetite expression and use for the treatment of obesity. **Current Drug Targets**, v. 6, n. 2, p. 201-213, 2005.
44. ITO, Y. et al. GABA type B receptor signaling in proopiomelanocortin neurons protects against obesity, insulin resistance, and hypothalamic inflammation in male mice on a high-fat diet. **Journal of Neuroscience**, v. 33, n. 43, p. 17166-17173, 2013.
45. Boletim CIM-UFC nº225 (setembro de 2011) – Centro de Informação Sobre Medicamentos da Universidade Federal do Ceará.
46. VAN CAN, J. et al. Effects of the once-daily GLP-1 analog liraglutide on gastric emptying, glycemic parameters, appetite and energy metabolism in obese, non-diabetic adults. **International Journal of Obesity**, v. 38, n. 6, p. 784, 2014.
47. Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA. RSS. Inibidores de apetite. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/rss/-/asset_publisher/Zk4q6UQCj9Pn/content/id/3423550> Acessado em junho de 2019.
48. LUQUE, C. A.; REY, J. A. Sibutramine: a serotonin–norepinephrine reuptake-inhibitor for the treatment of obesity. **Annals of Pharmacotherapy**, v. 33, n. 9, p. 968-978, 1999.
49. SCHEEN, A. J. Sibutramine on cardiovascular outcome. **Diabetes Care**, v. 34, n. Supplement 2, p. S114-S119, 2011.
50. PADWAL, R. S.; MAJUMDAR, S. R. Drug treatments for obesity: orlistat, sibutramine, and rimonabant. **The Lancet**, v. 369, n. 9555, p. 71-77, 2007.
51. SANJAY, D. et al. New drug targets to treat the obesity. **International Journal of Current Research and Review**, v. 5, n. 2, p. 71, 2013.
52. HIGGINS, G. A. et al. Studies to examine potential tolerability differences between the 5-HT_{2C} receptor selective agonists lorcaserin and CP-809101. **ACS Chemical Neuroscience**, v. 8, n. 5, p. 1074-1084, 2017.
53. DRUCKER, D. J.; NAUCK, M. A. The incretin system: glucagon-like peptide-1 receptor agonists and dipeptidyl peptidase-4 inhibitors in type 2 diabetes. **The Lancet**, v. 368, n. 9548, p. 1696-1705, 2006.
54. EVERS, A. et al. Design of novel exendin-based dual glucagon-like peptide 1 (GLP-1)/glucagon receptor agonists. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 60, n. 10, p. 4293-4303, 2017.
55. VAN DIEPEN, H.; SCHLICKER, E.; MICHEL, M. C. Prejunctional and peripheral effects of the cannabinoid CB₁ receptor inverse agonist rimonabant (SR 141716). **Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology**, v. 378, n. 4, p. 345-369, 2008.
56. MUCCIOLI, G. G. et al. 1-Benzhydryl-3-phenylurea and 1-benzhydryl-3-phenylthiourea derivatives: New templates among the CB₁ cannabinoid

- receptor inverse agonists. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 48, n. 23, p. 7486-7490, 2005.
57. GAONI, Y.; MECHOULAM, R. Isolation, structure, and partial synthesis of an active constituent of hashish. **Journal of the American Chemical Society**, v. 86, n. 8, p. 1646-1647, 1964.
 58. DEVANE, W. A. et al. Determination and characterization of a cannabinoid receptor in rat brain. **Molecular Pharmacology**, v. 34, n. 5, p. 605-613, 1988.
 59. MATSUDA, L. A. et al. Structure of a cannabinoid receptor and functional expression of the cloned cDNA. **Nature**, v. 346, n. 6284, p. 561, 1990.
 60. FISAR, Z. Phytocannabinoids and endocannabinoids. **Current Drug Abuse Reviews**, v. 2, n. 1, p. 51-75, 2009.
 61. TSUBOI, K. et al. Endocannabinoids and related N-acylethanolamines: biological activities and metabolism. **Inflammation and Regeneration**, v. 38, n. 1, p. 28, 2018.
 62. SCHERMA, M. et al. Brain activity of anandamide: a rewarding bliss? **Acta Pharmacologica Sinica**, v. 40, n. 3, p. 309, 2019.
 63. MUNRO, S.; THOMAS, K. L.; ABU-SHAAR, M. Molecular characterization of a peripheral receptor for cannabinoids. **Nature**, v. 365, n. 6441, p. 61, 1993.
 64. NÚÑEZ, E. et al. Cannabinoid CB2 receptors are expressed by perivascular microglial cells in the human brain: an immunohistochemical study. **Synapse**, v. 53, n. 4, p. 208-213, 2004.
 65. BASAVARAJAPPA, B. S. Neuropharmacology of the endocannabinoid signaling system-molecular mechanisms, biological actions and synaptic plasticity. **Current Neuropharmacology**, v. 5, n. 2, p. 81-97, 2007.
 66. AIZPURUA-OLAIZOLA, O. et al. Targeting the endocannabinoid system: future therapeutic strategies. **Drug Discovery Today**, v. 22, n. 1, p. 105-110, 2017.
 67. FRANCISCHETTI, E. A.; ABREU, V. G. de; VIRGINIA, G. O sistema endocanabinóide: nova perspectiva no controle de fatores de risco cardiometabólico. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 87, p. 548-558, 2006
 68. BRIZZI, A. et al. Resorcinol-sn-glycerol derivatives: novel 2-arachidonoylglycerol mimetics endowed with high affinity and selectivity for cannabinoid type 1 receptor. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 54, n. 24, p. 8278-8288, 2011.
 69. BRIZZI, A. et al. Structure–affinity relationships and pharmacological characterization of new alkyl-resorcinol cannabinoid receptor ligands: Identification of a dual cannabinoid receptor/TRPA1 channel agonist. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 22, n. 17, p. 4770-4783, 2014.
 70. MACCARRONE, M. et al. Endocannabinoid signaling at the periphery: 50 years after THC. **Trends in Pharmacological Sciences**, v. 36, n. 5, p. 277-296, 2015.

71. JANSSEN, F. J.; VAN DER STELT, M. Inhibitors of diacylglycerol lipases in neurodegenerative and metabolic disorders. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 26, n. 16, p. 3831-3837, 2016.
72. MOROZOV, Y. M. et al. Cannabinoid type 1 receptor-containing axons innervate NPY/AgRP neurons in the mouse arcuate nucleus. **Molecular Metabolism**, v. 6, n. 4, p. 374-381, 2017.
73. SOLOMON, A. et al. Participación del sistema nervioso y del tracto gastrointestinal en la homeostasis energética. **Revista de Medicina de la Universidad de Navarra**, v. 50, n. 1, p. 27, 2016.
74. RIBEIRO, A. G. C. O papel do Sistema Endocannabinóide no comportamento alimentar: Trabalho de Investigação. 2010.
75. JANSSEN, F. J. et al. Discovery of glycine sulfonamides as dual inhibitors of sn-1-diacylglycerol lipase α and α/β -hydrolase domain 6. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 57, n. 15, p. 6610-6622, 2014.
76. DEL CAÑO, G. G. et al. Nuclear phospholipase C- β 1 and diacylglycerol Lipase- α in brain cortical neurons. **Advances in Biological Regulation**, v. 54, p. 12-23, 2014.
77. BISOGNO, T. et al. A novel fluorophosphonate inhibitor of the biosynthesis of the endocannabinoid 2-arachidonoylglycerol with potential anti-obesity effects. **British Journal of Pharmacology**, v. 169, n. 4, p. 784-793, 2013.
78. REISENBERG, M. et al. The diacylglycerol lipases: structure, regulation and roles in and beyond endocannabinoid signalling. **Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences**, v. 367, n. 1607, p. 3264-3275, 2012.
79. PEDICORD, D. L. et al. Molecular characterization and identification of surrogate substrates for diacylglycerol lipase α . **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 411, n. 4, p. 809-814, 2011.
80. REIS, P. et al. Lipases at interfaces: a review. **Advances in Colloid and Interface Science**, v. 147, p. 237-250, 2009.
81. SANT'ANNA, C. M. R.; DOS SANTOS VIANA, A.; DO NASCIMENTO-JÚNIOR, N. M. A semiempirical study of acetylcholine hydrolysis catalyzed by *Drosophila melanogaster* acetylcholinesterase. **Bioorganic Chemistry**, v. 34, n. 2, p. 77-89, 2006.
82. CHUPAK, L. S. et al. Structure activity relationship studies on chemically non-reactive glycine sulfonamide inhibitors of diacylglycerol lipase. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 24, n. 7, p. 1455-1468, 2016.
83. APPIAH, K. K. et al. Identification of Small Molecules That Selectively Inhibit Diacylglycerol Lipase- α Activity. **Journal of Biomolecular Screening**, v. 19, n. 4, p. 595-605, 2014.
84. BARREIRO, E. J.; FRAGA, C. A. M. Química Medicinal: As bases moleculares da ação dos fármacos. 3ª Edição. Porto Alegre, Artmed, 2015.

85. FERREIRA, L. et al. Molecular docking and structure-based drug design strategies. **Molecules**, v. 20, n. 7, p. 13384-13421, 2015.
86. APAROY, P.; KUMAR REDDY, K.; REDDANNA, P. Structure and ligand-based drug design strategies in the development of novel 5-LOX inhibitors. **Current Medicinal Chemistry**, v. 19, n. 22, p. 3763-3778, 2012.
87. YURIEV, E.; RAMSLAND, P. A. Latest developments in molecular docking: 2010–2011 in review. **Journal of Molecular Recognition**, v. 26, n. 5, p. 215-239, 2013.
88. PANTSAR, T.; POSO, A. Binding Affinity via Docking: Fact and Fiction. **Molecules**, v. 23, n. 8, p. 1899, 2018.
89. BATISTA, V. S. & NASCIMENTO-JÚNIOR, N. M. Molecular Docking: Considerations of a Low Cost and Suitable Methodology and Some Successful Applications. **Medicinal & Analytical Chemistry International Journal**, 2 (2018).
90. VERDONK, M. L. et al. Virtual screening using protein– ligand docking: avoiding artificial enrichment. **Journal of Chemical Information and Computer Sciences**, v. 44, n. 3, p. 793-806, 2004.
91. VILAR, S.; COSTANZI, S. Predicting the biological activities through QSAR analysis and docking-based scoring. In: **Membrane Protein Structure and Dynamics**. Humana Press, Totowa, NJ. p. 271-284, 2012.
92. HEVENER, K. E. et al. Validation of molecular docking programs for virtual screening against dihydropteroate synthase. **Journal of Chemical Information and Modeling**, v. 49, n. 2, p. 444-460, 2009.
93. KITCHEN, D. B. et al. Docking and scoring in virtual screening for drug discovery: methods and applications. **Nature Reviews Drug Discovery**, v. 3, n. 11, p. 935, 2004.
94. LIU, J.; WANG, R. Classification of current scoring functions. **Journal of Chemical Information and Modeling**, v. 55, n. 3, p. 475-482, 2015.
95. MENG, X. Y. et al. Molecular docking: a powerful approach for structure-based drug discovery. **Current Computer-Aided Drug Design**, v. 7, n. 2, p. 146-157, 2011.
96. SALMASO, V.; MORO, S. Bridging molecular docking to molecular dynamics in exploring ligand-protein recognition process: an overview. **Frontiers in Pharmacology**, v. 9, 2018.
97. BAGGELAAR, M. P. et al. Development of an activity-based probe and *in silico* design reveal highly selective inhibitors for diacylglycerol lipase- α in brain. **Angewandte Chemie International Edition**, v. 52, n. 46, p. 12081-12085, 2013.
98. JANSSEN, F. J. et al. Comprehensive Analysis of Structure–Activity Relationships of α -Ketoheterocycles as sn-1-Diacylglycerol Lipase α Inhibitors. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 58, n. 24, p. 9742-9753, 2015

99. JOHNSTON, M. et al. Assay and inhibition of diacylglycerol lipase activity. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 22, n. 14, p. 4585-4592, 2012.
100. TANG, Q. et al. Lipase-Driven Epoxidation Is A Two-Stage Synergistic Process. **Chemistry Select**, v. 1, n. 4, p. 836-839, 2016.
101. OKADA-JUNIOR, C. Y. et al. Phthalimide Derivatives with Bioactivity against Plasmodium falciparum: Synthesis, Evaluation, and Computational Studies Involving bc 1 Cytochrome Inhibition. **ACS Omega**, v. 3, n. 8, p. 9424-9430, 2018.
102. PAVLUSHIN, A. V.; MOSHKIN, V. S.; SOSNOVSKIKH, V. Y. A novel diastereoselective α -functionalization of proline with benzaldehydes: synthesis of α -(α -hydroxybenzyl) prolines. **Mendeleev Communications**, v. 27, n. 6, p. 628-630, 2017.
103. CHAUDHURI, S. et al. Highly Stereoselective Syntheses of Proline-Derived Vicinal Amino Alcohols through Grignard Addition onto N-Tosylprolinal. **Synlett**, v. 27, n. 02, p. 215-220, 2016.
104. BERTILSSON, S. K.; ANDERSSON, P. G. A rigid dirhodium (II) carboxylate as an efficient catalyst for the asymmetric cyclopropanation of olefins. **Journal of Organometallic Chemistry**, v. 603, n. 1, p. 13-17, 2000.
105. NASCIMENTO-JÚNIOR, Nailton M. **Planejamento, Síntese e Avaliação Farmacológica de Novos Ligantes de Receptores de Quimiocinas CC e CXc**. 2013. Tese de Doutorado. Universidade Federal do Rio de Janeiro.
106. HU, L. et al. Spiro urea compounds as RSV antiviral compounds. U.S. Patent n. 9,738,652, 22 ago. 2017.
107. ELGAHER, W. A. M. et al. Discovery and structure-based optimization of 2-ureidothiophene-3-carboxylic acids as dual bacterial RNA polymerase and viral reverse transcriptase inhibitors. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 59, n. 15, p. 7212-7222, 2016.
108. KLOECKNER, U.; NACHTSHEIM, B. J. Mild hypervalent iodine mediated oxidative nitration of N-aryl sulfonamides. **Chemical Communications**, v. 50, n. 72, p. 10485-10487, 2014.
109. DUTRA, L. A. et al. Leishmanicidal activities of novel synthetic furoxan and benzofuroxan derivatives. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 58, n. 8, p. 4837-4847, 2014.
110. LAHA, J. K.; JETHAVA, K. P.; DAYAL, N. Palladium-Catalyzed Intramolecular Oxidative Coupling Involving Double C (sp²)-H Bonds for the Synthesis of Annulated Biaryl Sultams. **The Journal of Organic Chemistry**, v. 79, n. 17, p. 8010-8019, 2014.
111. <http://mordred.bioc.cam.ac.uk/~rapper/rampage.php> (Acessado em julho de 2019)

112. METRANGOLO, P. et al. The fluorine atom as a halogen bond donor, viz. a positive site. **CrystEngComm**, v. 13, n. 22, p. 6593-6596, 2011.
113. LI, W. et al. The enhancing effects of group V σ -hole interactions on the F... O halogen bond. **Physical Chemistry Chemical Physics**, v. 16, n. 36, p. 19282-19289, 2014.
114. MENDEZ, L. et al. Looking back, looking forward at halogen bonding in drug discovery. **Molecules**, v. 22, n. 9, p. 1397, 2017.
115. CLAYDEN, J.; GREEVES N.; WARREN S. et al. Organic Chemistry. New York: Oxford University Press, 2000.
116. NASCIMENTO-JÚNIOR, N. M. et al. MAOS and medicinal chemistry: Some important examples from the last years. **Molecules**, v. 16, n. 11, p. 9274-9297, 2011.
117. LIMA, E. C. de et al. DBU as a Catalyst for the Synthesis of Amides via Aminolysis of Methyl Esters. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 22, n. 11, p. 2186-2190, 2011.