

CELSO YASSUO OKADA JUNIOR

Planejamento e síntese de novos candidatos  
a inibidores da enzima sn-1-diacilglicerol  
lipase alfa (DAGL- $\alpha$ )

Araraquara-SP

2017

**CELSO YASSUO OKADA JUNIOR**

**Planejamento e síntese de novos candidatos a  
inibidores da enzima sn-1-diacilglicerol lipase alfa  
(DAGL- $\alpha$ )**

Versão original

Dissertação apresentada ao Instituto de Química da Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", para obtenção do título de Mestre em Ciências pelo Programa de Pós-graduação em Química

Área de concentração: Química Orgânica

Versão corrigida contendo as alterações solicitadas pela comissão julgadora em 21 de Fevereiro de 2017. A versão original encontra-se em acervo reservado na Biblioteca do IQ-Unesp e na Biblioteca Digital de Teses e Dissertações da Unesp.

Orientador: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Vanderlan S. Bolzani

Coorientador: Prof. Dr. Nailton M. Nascimento-Júnior

Araraquara-SP

2017

FICHA CATALOGRÁFICA

O41p Okada Junior, Celso Yassuo  
Planejamento e síntese de novos candidatos a inibidores da enzima sn-1-diacilglicerol lipase alfa (DAGL-alfa) / Celso Yassuo Okada Junior. – Araraquara : [s.n.], 2017  
132 f. : il.

Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual Paulista, Instituto de Química  
Orientador: Vanderlan da Silva Bolzani  
Coorientador: Nailton Monteiro do Nascimento Júnior

1. Obesidade. 2. Endocanabinóides. 3. Síndrome metabólica. 4. Síntese orgânica. 5. Resistência à insulina.  
I. Título.

# CELSO YASSUO OKADA JUNIOR

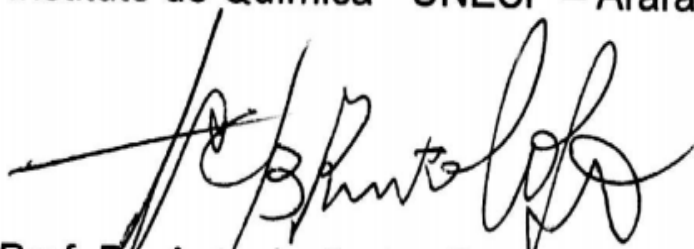
Dissertação apresentada ao Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Química.

Araraquara, 21 de fevereiro de 2017.

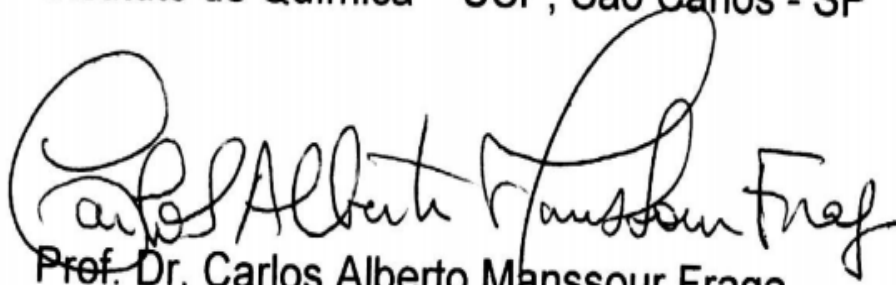
## BANCA EXAMINADORA



Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Vanderlan da Silva Bolzani  
Instituto de Química - UNESP – Araraquara - SP



Prof. Dr. Antonio Carlos Bender Burtoloso  
Instituto de Química – USP, São Carlos - SP



Prof. Dr. Carlos Alberto Manssour Fraga  
Instituto de Química – UFRJ, Rio de Janeiro - RJ

*Dedico este trabalho aos meus pais: Celso Yassuo Okada e Sônia Cristina Jorge Okada*

## Agradecimentos

Agradeço primeiramente aos meus pais, Celso Yassuo Okada e Sonia Cristina Jorge Okada pelo apoio aos estudos, pelos princípios fornecidos, pela filosofia de vida apresentada e pela dedicação aos filhos. Agradeço meu irmão Lucas Okada pelas perguntas feitas sobre meu trabalho de pesquisa. Ao meu irmão César Yugo Okada pela ajuda na manipulação do software de escrita científica Latex, bem como pelas discussões sobre ciência. Destaco que sem o suporte familiar a carreira acadêmica não seria uma realidade.

Agradeço ao instituto de química da Unesp de Araraquara por fornecer toda a infraestrutura necessária para o desenvolvimento da dissertação de mestrado. Especificamente, gostaria de agradecer as pessoas que fornecem vida a este instituto.

Agradeço à orientadora Vanderlan Bolzani pela motivação no progresso na carreira acadêmica, mesmo em tempos de crise financeira, estrutural e política da academia. Agradeço o suporte dado para participação no congresso internacional: The Brazilian Symposium on Medicinal Chemistry (oitava edição). Agradeço também sua influência política para aquisição de diversos equipamentos para o instituto de química da Unesp de Araraquara.

Agradeço ao Coorientador Prof. Dr. Nailton Nascimento-Júnior pelo exemplar profissional que demonstra ser, pelas correções linha a linha dos documentos enviados (qualificação e dissertação), por apresentar uma proposta de pesquisa viável para ser executada em um ano e pela aquisição dos reagentes necessários para completar a síntese da série planejada. Agradeço também aos ensinamentos de química orgânica experimental e teórica.

Agradeço ao doutorando Gustavo Claro Monteiro por todo o conhecimento de química orgânica experimental fornecido ao longo de um ano de bancada e pela ajuda no desenvolvimento do aparato para hidrogenação, agradeço também o esforço realizado na estruturação e organização do laboratório de química. Agradeço ao colega de laboratório João Bruno Prattes pelas conversas sobre política e ciência, agradeço também o compartilhamento de sua experiência no mercado de trabalho.

Agradeço ao doutorando Antonio Fernández pelo exemplar profissional que é. Agradeço por todo o conhecimento compartilhado, pelos ensinamentos de cromatografia, lavagem de vidrarias correta, organização do laboratório e de química como um todo. Agradeço a ótima referência que você é pra minha carreira profissional.

Agradeço ao suporte fornecido pela biblioteca do IQ-Unesp, em especial à Maria Isabel Uthman Sitta pelo auxílio na estruturação das referências.

Agradeço aos técnicos de laboratório pela eficiência no trabalho: João e Juliana.

Agradeço aos técnicos de RMN – Dr. Nilvado e Dr.<sup>a</sup> Lucinéia pela ajuda na aquisição dos espectros bidimensionais (HMBC e HSQC).

Agradeço aos porteiros e seguranças da Unesp pelo tratamento honesto e digno.

Por fim, agradeço ao CNPq pela fornecimento da bolsa de mestrado.

No geral, agradeço à todos que participaram desta jornada de dois anos!

Grato, Celso Yassuo Okada Junior

*”Uma resposta nunca merece uma reverência, mesmo quando esta for inteligente e correta.  
A resposta é sempre um trecho do caminho que está atrás de você. Apenas uma pergunta  
pode apontar o caminho para frente”  
(Jostein Garder: 1997)*

## Resumo

OKADA, C. Y. J. **Planejamento e síntese de novos candidatos a inibidores da enzima sn-1-Diacilglicerol Lipase alfa (DAGL- $\alpha$ )**: 2017. 131 f. Dissertação (Mestrado em Ciências)–Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" (Unesp), 2017.

A obesidade tem sido relatada como um processo inflamatório em decorrência da presença de tecido adiposo visceral, promovendo a resistência à insulina, devido a isso, a obesidade é capaz de desencadear um conjunto de doenças. Dentre as formas de tratamento da obesidade, a reeducação alimentar, atividade física regular e psicoterapia são as mais recomendadas. O presente projeto de pesquisa tem como objetivo o planejamento, síntese e caracterização de novos candidatos a fármacos com padrão estrutural ftalimídico para o tratamento da obesidade, por meio da inibição da enzima sn-1-Diacilglicerol Lipase  $\alpha$  (DAGL- $\alpha$ ), esta enzima é responsável pela produção do sinalizador lipídico 2-araquidonoilglicerol (2-AG), que é diretamente responsável pela modulação de receptores canabinoides do subtipo CB<sub>1</sub>. Nota-se em pacientes obesos elevada quantidade de 2-AG, dado que sugere uma possível explicação para o descontrole da saciedade alimentar, além disso, observa-se que modulações geradas por antagonistas ao receptor CB<sub>1</sub> foram capazes de reduzir a resistência à insulina e a obesidade, todavia, efeitos colaterais como: depressão profunda e descontrole emocional foram relatados. Nesta perspectiva, a estratégia adotada neste trabalho consistiu em inibir a enzima que catalisa a síntese de 2-AG, para isso, foi utilizado o planejamento racional de fármacos adotando-se o ligante sintetizado pelo grupo de pesquisa da universidade de Leiden, ao qual foi relatada atividade biológica promissora frente à enzima DAGL- $\alpha$ . No presente projeto de pesquisa foi possível desenvolver uma rota sintética de quatro etapas, e com isso, sintetizar 12 derivados ftalimídicos que foram enviados para a universidade de Leiden em colaboração científica com o professor Dr. Mário Van der Stelt para execução dos testes de inibição enzimática. Dentro do contexto do CIBFar foram realizados testes biológicos paralelos perante as doenças negligenciadas e o câncer. Os resultados para o derivado CYOJ4 foram promissores para a malária e câncer de mama, proporcionando novas perspectivas para futuros trabalhos.

**Palavras-chaves:** Tratamento da obesidade. Ftalimidias. DAGL- $\alpha$ . 2-araquidonoilglicerol

## Abstract

Obesity has been highlighted as an inflammatory process, this association has been evidenced by visceral adipose tissue. The physiologic response of the inflammation promotes problems in the homeostatic control of food intake. In addition, obesity and metabolic syndrome are capable of triggering a group of disease. Here, we promote the planning, synthesis, and characterization of a novel drug candidate with a phthalimide structural standard for the treatment of obesity, by inhibiting the enzyme sn-1-Diacylglycerol Lipase  $\alpha$  (DAGL- $\alpha$ ). This protein is responsible for the production of the 2-arachidonoylglycerol a lipid marker (2-AG), which is directly associated with the modulation of cannabinoid receptors called CB1. In obese patients there is a high plasma level of 2-AG, it suggests a possible explanation for high food intake, in addition, has been observed that modulations generated by antagonists to the CB1 receptor were able to reduce insulin resistance and obesity, however, side effects such as profound depression and change in emotional responses were reported. In this perspective, the strategy used in this project was to inhibit the enzyme that catalyzes the synthesis of 2-AG, for this, the rational drug planning has adopted with the ligand synthesized by the research group of the University of Leiden, which show a biological activity promising against the DAGL- $\alpha$  enzyme. In this research project has been possible to develop a synthetic route of four steps, and synthesize 12 phthalimide derivatives which were sent to the university of Leiden in scientific collaboration with the professor Dr. Mario Van Der Stelt to carry out the tests of enzymatic inhibition. Within the context of CIBFar, parallel biological tests have been carried out in the tropical diseases and cancer. The results were promising for malaria and breast cancer, providing novel perspectives for future projects.

**Keywords:** Phthalimides. Obesity. DAGL- $\alpha$ . CB1. 2AG. Insulin resistance

## Lista de figuras

- Figura 1 – Utilização de RMN para maior precisão na diferenciação do tecido adiposo visceral e subcutâneo. Destaca-se que o espectro de RMN foi obtido teoricamente, utilizando o software MestreNova 6.0 . . . . . 25
- Figura 2 – Visão geral dos problemas gerados pela obesidade e síndrome metabólica. Destaca-se que 1-HOMA-IR insulina de jejum (mUI/ml) e glicose (mmol/l), 2-Huang, P. 2009. 3-TG=Triglicerol (Huang, P. 2009); 4 – High density lipoproteins (Huang, P. 2009); 5 - (Huang, P. 2009); 6- (Janssen, F. 2016). . . . . 27
- Figura 3 – Tecido adiposo sendo alvo do sistema imunológico, como resultado há aumento da secreção de substâncias inflamatórias como PAI-1 (Plasminogen activator inhibitor-1 ou inibidor do plasminogênio), TNF- $\alpha$ , leptina, resistina, IL-6 (Interleucina-6) e ANGPTL-2 (Angiopietin-like protein-2 ou proteína similar à angiopietina). . . . . 31
- Figura 4 – Explicação do fenômeno cíclico que ocorre em obesos, fato que justifica a dificuldade na atenuação da ingestão alimentar, observa-se que é a integração entre neurônios que possuem os receptores de POMC e NPY juntamente com hormônios que participam do descontrole neuroquímico em obesos. O sinal (+) indica produção e (-) atenuação na produção do hormônio. . . . . 34
- Figura 5 – Estruturas químicas dos fármacos adotados para o tratamento da obesidade. . . . . 36
- Figura 6 – A população de neurônios com receptores POMC e NPY-AgRP localizados no hipotálamo. Destaca-se que a população POMC e AgRP-NPY são capazes de interagirem com grelina, leptina e insulina. A fisiopatologia neuroquímica da obesidade desencadeada é intensificada pelo processo inflamatório hiperativo decorrente do tecido adiposo visceral. (+) - Intensificação da resposta do receptor e (-) atenuação . . . . . 39
- Figura 7 – Estruturas químicas de substâncias com efeito agonista inverso ou antagonista dos receptores hormonais de grelina . . . . . 40
- Figura 8 – Compostos com capacidade de ação agonista frente aos receptores da leptina . . . . . 42

Figura 9 – Moléculas com capacidade de ação antagonista perante os receptores NPY	43
Figura 10 – Estruturas de compostos com ação agonista do receptor MC4R . . . . .	45
Figura 11 – Estruturas com ação nos receptores ligados ao controle da resistência à insulina . . . . .	46
Figura 12 – Ação do sistema endocanabinóide no processo de controle da liberação de neurotransmissores contribuindo para a plasticidade neuroquímica. Destaca-se que o sinal (-) indica atenuação da resposta . . . . .	49
Figura 13 – Moléculas com ação nos receptores CB1 e CB2. Destaque maior para os receptores CB1 e para antagonista a este receptor . . . . .	51
Figura 14 – Moléculas candidatas a fármacos com ação inibitória na enzima DAGL- $\alpha$ e $\beta$ . . . . .	54
Figura 15 – Moléculas candidatas a fármacos com ação inibitória frente às enzimas DAGL $\alpha$ e $\beta$ . . . . .	56
Figura 16 – Planejamento estrutural dos derivados ftalimídicos . . . . .	59
Figura 17 – Análise retrossintética para obtenção dos derivados ftalimídicos <b>54</b> e <b>55</b>	60
Figura 18 – Rota sintética com quatro etapas . . . . .	61
Figura 19 – Reação de desidratação do ácido 3-nitroftálico ( <b>60</b> ), adaptado de La- wrence, A. W. (1920). . . . .	63
Figura 20 – Reação de redução do grupo nitro de <b>61</b> para aquisição de <b>58</b> . . . . .	64
Figura 21 – Reação de formação da imida cíclica <b>55c</b> . . . . .	65
Figura 22 – Reação de alquilação de <b>55c</b> para aquisição do composto <b>54c</b> . . . . .	65
Figura 23 – Reação de formação da ftalimida, partindo-se da anilina . . . . .	67
Figura 24 – Reação de formação da ftalimida, partindo-se da anilina . . . . .	67
Figura 25 – Reação de formação da ftalimida, partindo-se da para-metoxi-anilina .	68
Figura 26 – Reação de alquilação da ftalimida para-metoxi-anilina . . . . .	69
Figura 27 – Reação de formação da ftalimida com a para-cloroanilina . . . . .	70
Figura 28 – Reação de formação da ftalimida com a para-cloroanilina com a amina alquilada . . . . .	71
Figura 29 – Reação de formação da ftalimida com a para-trifluormetil-anilina . . . . .	71
Figura 30 – Reação de formação da ftalimida com a para-trifluormetilssubstituída alquilada via substituição nucleofílica bimolecular . . . . .	72
Figura 31 – Reação de formação da ftalimida com a para-metil-anilina . . . . .	73
Figura 32 – Reação de formação da ftalimida com a para-metil-anilina . . . . .	73

Figura 33 – Esquema de obtenção do anidrido 3-nitroftálico a partir do ácido 3-nitroftálico adaptado de (NANDHIKONDA; HEAGY, 2010). . . . .	75
Figura 34 – Representação da cromatoplaça obtida. Coloração do produto ( <b>61</b> ) é azulada em 254 nm e o material de partida ( <b>60</b> ) tem coloração roxa em 254 nm. MM corresponde à massa molecular em unidades de massa atômica (u). . . . .	77
Figura 35 – Mecanismo proposto para a formação do anidrido ftálico . . . . .	78
Figura 36 – Espectro de infravermelho do anidrido 3-nitroftálico ( <b>61</b> ) processado com o programa Origin 8 . . . . .	78
Figura 37 – Ampliação do espectro de RMN de $^1\text{H}$ obtido em $\text{DMSO-}d_6$ em 300 MHz para o composto <b>15</b> . . . . .	79
Figura 38 – Esquema reacional comparando o rendimento entre o grupo nitro e amino. . . . .	80
Figura 39 – Esquemas reacionais para as metodologias envolvendo a redução do grupo nitro . . . . .	81
Figura 40 – Esquema reacional da etapa 2 . . . . .	82
Figura 41 – Proposta do mecanismo de hidrólise do anidrido amino-ftálico. . . . .	83
Figura 42 – Proposta dos principais intermediários pelo qual o material de partida deve passar para chegar no produto <b>58</b> . Há possibilidade de formação de água na reação por isso utilizou-se sulfato de sódio como sal secante. . . . .	84
Figura 43 – Cromatoplaça obtida após processo de purificação. Em $R_f$ de 0,50 se encontra o produto <b>58</b> , que em 254 nm se mostra azul intenso. Destaca-se que o produto <b>58</b> possui $R_f$ maior do que o material de partida ( <b>61</b> ) . . . . .	85
Figura 44 – Espectro de IV do anidrido 3-aminoftálico ( <b>58</b> ) processado com o software Origin 8. . . . .	85
Figura 45 – Ampliação do espectro de RMN de $^1\text{H}$ obtido em $\text{DMSO-}d_6$ em 300 MHz. . . . .	86
Figura 46 – Reação comparativa para deinição da etapa 3 da rota sintética. . . . .	87
Figura 47 – Reação de obtenção da imida cíclica ( <b>55c</b> ), caracterizada como a terceira etapa reacional em virtude do maior rendimento global . . . . .	87
Figura 48 – Mecanismo proposto para a formação do anidrido ftálico . . . . .	89
Figura 49 – Espectro de IV processado com o software Origin 8 para a estrutura ( <b>55c</b> ) denominada de 3-amino- <i>N</i> -( <i>p</i> -nitrofenil)-ftalimida. . . . .	90

Figura 50 – Ampliação do espectro de RMN de $^1\text{H}$ em DMSO- $d_6$ (300 MHz) da ftalimida ( <b>55c</b> ) . . . . .	91
Figura 51 – Ampliação do espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ obtido para a ftalimida ( <b>55c</b> ) em solvente DMSO- $d_6$ (75MHz) . . . . .	92
Figura 52 – Metodologias adotadas para alquilação da amina. . . . .	93
Figura 53 – Ampliação do espectro de RMN de $^1\text{H}$ em DMSO- $d_6$ (300MHz) para verificar a efetividade do uso da base de Lewis. . . . .	95
Figura 54 – Proposta de mecanismo de reação para formação do composto( <b>54c</b> ) . . . . .	97
Figura 55 – Espectro de IV para a molécula inédita ( <b>54c</b> ) processado com o programa Origin 8 . . . . .	98
Figura 56 – Ampliação do espectro de RMN de $^1\text{H}$ realizado em clorofórmio deuterado ( $\text{CDCl}_3$ ) em 300MHz. . . . .	99
Figura 57 – Ampliação do espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ obtido para a ftalimida ( <b>54c</b> ) em solvente DMSO- $d_6$ (75MHz) . . . . .	99
Figura 58 – Ampliação do espectro bidimensional HSQC na região de 6,7 a 7 ppm realizado em $\text{CDCl}_3$ em 300 MHz para $^1\text{H}$ e 75 MHz para $^{13}\text{C}$ . . . . .	100
Figura 59 – Ampliação do espectro bidimensional HMBC na região de 6,7 a 7,2 ppm realizado em $\text{CDCl}_3$ em 300 MHz para $^1\text{H}$ e 75 MHz para $^{13}\text{C}$ . . . . .	101
Figura 60 – Síntese dos compostos com padrão estrutural ftalimídico. Observam-se variações estruturais e eletrônicas, destaca-se que há grupos doadores, neutros e aceptores de elétrons . . . . .	102
Figura 61 – Inferência proposta no trabalho em concordância com os trabalhos da literatura. A primeira metodologia é apresentada por (FHID et al., 2015). A segunda é proposta por (SIM et al., 2009) . . . . .	104
Figura 62 – Possível justificativa dos dados experimentais apresentados na tabela 1	105
Figura 63 – Metodologia proposta por (MARTÍNEZ-MONTERO et al., 2015) evidenciando que o caráter básico é fundamental para esta reação ter bons rendimentos . . . . .	106
Figura 64 – Ampliação do espectro de RMN de $^1\text{H}$ realizado em clorofórmio deuterado ( $\text{CDCl}_3$ ) em 300 MHz para o composto <b>54a</b> , CYOJ4.1 . . . . .	107
Figura 65 – Ampliação do espectro de RMN de $^1\text{H}$ realizado em clorofórmio deuterado ( $\text{CDCl}_3$ ) em 300 MHz para o composto <b>54d</b> , CYOJ4.2 . . . . .	107

Figura 66 – Ampliação do espectro de RMN de $^1\text{H}$ realizado em clorofórmio deuterado ( $\text{CDCl}_3$ ) em 300 MHz para o composto <b>54b</b> , CYOJ4.3 . . . . .	108
Figura 67 – Ampliação do espectro de RMN de $^1\text{H}$ realizado em clorofórmio deuterado ( $\text{CDCl}_3$ ) em 300 MHz para o composto <b>54e</b> , CYOJ4.4 . . . . .	108
Figura 68 – Ampliação do espectro de RMN de $^1\text{H}$ realizado em clorofórmio deuterado ( $\text{CDCl}_3$ ) em 300 MHz para o composto <b>54f</b> , CYOJ4.5 . . . . .	109
Figura 69 – Avaliação da atividade e da seletividade in vitro dos compostos CYOJ3, CYOJ3.1, CYOJ4 e CYOJ4.1. O gráfico da esquerda mostra a inibição dos compostos em uma concentração de 10 $\mu\text{M}$ em células HEK293T, utilizando como substrato o ligante <i>para</i> -nitrofenilbutirato. Destaca-se que os testes foram realizados em células cerebrais de rato . . . . .	111
Figura 70 – Substâncias com similaridade estrutural que justifica a atividade frente ao câncer de mama . . . . .	113

## Lista de tabelas

- Tabela 1 – Tabela de correlação entre rendimento, tempo e constante básica. 1- Anilina *para*-funcionalizada, 2- Os valores da constante básica foram obtidos através de cálculos de equilíbrio químico, para isso, adotou-se como origem os valores de pKa obtidos no Sci-Finder para cada anilina funcionalizada. 3- Tempo da reação quantificado em horas. 4- Destaca-se que o sinal (\*) indica que o resultado obtido é a porcentagem de conversão, isso em decorrência do fato do espectro de RMN demonstrar impurezas. . . . . 103
- Tabela 2 – Dados experimentais para a quarta etapa da rota sintética. 1- Tempo quantificado em horas; 2- rendimento calculado após processo de purificação e 3- Constante básica calculada a partir dos dados de pKa obtidos pelo Sci-Finder. Destaca-se que (\*\*\*) indica que o valor não é determinado, visto que a molécula é inédita . . . . . 104
- Tabela 3 – Dados obtidos para a ação de CYOJ4 contra o parasita isolado de *P. falciparum-3d7*. Destaca-se que (\*) implica em dados de concentração inibitória em micro molar com erros de 8 unidades e 0,006 para CYOJ4 e cloroquina respectivamente. Os testes foram feitos em DMSO e (\*\*) significa dose letal em DMSO com concentração em micro molar. (\*\*\*) IS implica em índice de seletividade e matematicamente corresponde a razão entre concentração inibitória e dose letal . . . . . 112
- Tabela 4 – Dados adquiridos após 72 horas de incubação, observa-se em porcentagem o valor da inibição do crescimento celular da linhagem de MCF-7. I.C. corresponde a Inibição do crescimento em porcentagem. . . . . 113

## Lista de abreviaturas e siglas

DAGL	Diacil glicerol lipase
CCD	Cromatografia em camada delgada
CCF	Cromatografia em camada fina
IMC	Índice de massa corporal
OMS	Organização mundial de saúde
RMN	Ressonância magnética nuclear
HDL	High density lipoprotein ou lipoproteína de alta densidade
LDL	Low density lipoprotein ou lipoproteína de baixa densidade
VLDL	Very low density lipoprotein ou lipoproteína de muito baixa densidade
CRP	C-reactive protein ou proteína C reativa
TLR	Toll like receptor ou receptor "Toll Like"
AGEs	Advanced glycation end products ou produtos finais de glicação avançada
RAGE	Receptor for advanced glycation products ou receptor para produto final de glicação
PAI	Plasminogen activator inhibitor ou Plasminogênio inibidor
TNF	Tumor necrose factor ou Fator de necrose tumoral
ANGPL	Angiopietin-like protein ou proteína do tipo angiopoietina
MF	Mitofusina
POMC	Proopiomelanecortin ou proopiomelanocortina
NPY	Neuropeptídeo Y
AgRp	Agouti-related protein ou proteína (neuropeptídeo) relacionada ao Agouti

MC1-R	Receptor de Melanocortina
AG	Aracdonoilglicerol
FDA	Food drug administration
CB	Receptor Canabinóide

## Lista de símbolos

$\Gamma$	Letra grega Gama
$\Lambda$	Lambda
$\zeta$	Letra grega minúscula zeta
$\in$	Pertence

## SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO . . . . .	23
1.1	Definições Gerais sobre a obesidade e seu diagnóstico	23
1.2	Impacto econômico da obesidade no Brasil e no mundo	27
1.3	O que causa a obesidade? . . . . .	28
1.4	Fisiopatologia da obesidade – Processo inflamatório e aspectos neuroquímicos no controle da fome . . . . .	31
1.5	O tratamento farmacológico da obesidade - Arsenal terapêutico atual e novas abordagens . . . . .	35
1.6	O mapa do problema neuroquímico . . . . .	38
1.6.1	Receptores de Grelina . . . . .	38
1.6.2	Receptores de Leptina . . . . .	42
1.6.3	Receptores NPY . . . . .	43
1.6.4	Receptor MC4R . . . . .	44
1.6.5	Alvos biológicos que controlam a resistência à insulina . .	45
1.7	O sistema endocanabinóide no tratamento da fome e da obesidade . . . . .	46
1.8	A enzima DAGL- $\alpha$ como alvo no tratamento da obesidade . . . . .	52
2	OBJETIVOS . . . . .	58
2.1	Geral . . . . .	58
2.2	Específicos . . . . .	58
3	PLANEJAMENTO ESTRUTURAL . . . . .	59
4	ANÁLISE RETROSSINTÉTICA . . . . .	60
5	MATERIAIS E MÉTODOS . . . . .	61
5.1	Rota sintética adotada para obtenção do derivado ftalimídico (54c) . . . . .	61
5.2	Purificação dos produtos e monitoramento do andamento das reações . . . . .	61

5.3	Caracterização com técnicas espectroscópicas . . . . .	62
5.4	Determinação da pureza das moléculas obtidas . . . . .	62
5.5	Estimativa dos valores de LogP e pKa . . . . .	62
5.6	Metodologias para obtenção dos derivados ftalimídicos	63
5.6.1	Metodologia para obtenção do anidrido 3-nitroftálico (61)	63
5.6.2	Reação de hidrogenação do grupo nitro para obtenção do anidrido 3-aminoftálico (58) . . . . .	64
5.6.3	Reação para obtenção do composto 3-amino- <i>N</i> -( <i>p</i> -nitrofenil)- ftalimida (55c) - CYOJ3 . . . . .	64
5.6.4	Reação para obtenção do nitroderivado (54c) - CYOJ4 .	65
5.6.5	Reação para obtenção do derivado ftalimídico de Anilina (55a) - CYOJ3.1 . . . . .	66
5.6.6	Reação para a obtenção de 4-(benzilamino)-2-fenilisoindolina- 1,3-diona (54a) - CYOJ4.1 . . . . .	67
5.6.7	Reação para obtenção da ftalimida com o grupo metoxila- Síntese de 4-amino-2-(4-metoxifenil)isoindolina-1,3-diona (55d) - CYOJ3.2 . . . . .	68
5.6.8	Reação para obtenção de 4-(benzilamino)-2-(4-metoxifenil) isoindolina-1,3-diona) (54d) - CYOJ4.2 . . . . .	69
5.6.9	Reação para obtenção do 4-amino-2-(4-clorofenil)isoindolina- 1,3-diona (55b) - CYOJ3.3 . . . . .	69
5.6.10	Reação para obtenção do 4-(benzilamino)-2- 4-clorofenil)- isoindolina-1,3-diona (54b) - CYOJ4.3 . . . . .	70
5.6.11	Reação para obtenção do 4-amino-2-4-trifluorometil-fenil isoindolina-1,3-diona (55e)-CYOJ3.4 . . . . .	71
5.6.12	Reação para obtenção de 4-benzilamino-2-(4-(trifluorometil)fenil) isoindolina-1,3-diona (54e) - CYOJ4.4 . . . . .	72
5.6.13	Reação para obtenção de 4-amino-2-( <i>p</i> -toluil) isoindolina- 1,3-diona (55f) - CYOJ3.5 . . . . .	72
5.6.14	Reação para obtenção de 4-(benzilamino)-2-( <i>p</i> -toluil) isoindolina- 1,3-diona (54f) - CYOJ4.5 . . . . .	73
6	RESULTADOS E DISCUSSÃO - Parte Química .	75

6.1	Primeira etapa da rota sintética planejada – Síntese do anidrido nitroftálico (61) . . . . .	75
6.2	Segunda etapa - Redução do anidrido 3-nitroftálico (61) . . . . .	80
6.3	Terceira etapa - Síntese da Ftalimida (55c) . . . . .	87
6.4	Quarta etapa - Reação de alquilação da ftalimida para obtenção de (54c) . . . . .	92
6.5	Aplicação da rota sintética definida - Variações estruturais . . . . .	102
7	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO - Parte Biológica</b>	110
7.1	Testes biológicos frente à enzima DAGL- $\alpha$ . . . . .	110
7.2	Testes biológicos paralelos - CIBFAR e doenças negligenciadas . . . . .	111
7.3	Testes biológicos paralelos - Câncer de Mama . . . . .	112
8	<b>CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS</b> . . . . .	114
	<b>REFERÊNCIAS</b> . . . . .	115
	Apêndice A–RMN de $^1\text{H}$ em $\text{CDCl}_3$ e 300 MHz para 55a . . . . .	122
	Apêndice B–RMN de $^1\text{H}$ em $\text{CDCl}_3$ e 300 MHz para 55b . . . . .	123
	Apêndice C–RMN de $^{13}\text{C}$ realizado e $\text{CDCl}_3$ em 75 MHz para 55b . . . . .	124
	Apêndice D–RMN de $^{13}\text{C}$ realizado e $\text{CDCl}_3$ em 75 MHz para 54b . . . . .	125
	Apêndice E–RMN de $^1\text{H}$ em $\text{CDCl}_3$ e 300 MHz para 55d . . . . .	126
	Apêndice F–RMN de $^1\text{H}$ em $\text{CDCl}_3$ e 300 MHz para 55e . . . . .	127

Apêndice G–RMN de $^1\text{H}$ em $\text{CDCl}_3$ e 300 MHz para 55f . . . . .	128
Apêndice H–Mapa conceitual: Sistema nervoso cen- tral . . . . .	129
Apêndice I – Mapa conceitual: Obesidade . . . . .	130
Apêndice J – Mapa conceitual: Sistema endoca- nabinóide . . . . .	131

# 1 INTRODUÇÃO

Neste capítulo serão abordados os aspectos neuroquímicos decorrentes da obesidade, bem como os alvos biológicos adotados para o tratamento desta doença. Será enfatizado o alvo DAGL- $\alpha$  e os recentes estudos de compostos com potencial de inibição desta enzima.

## 1.1 Definições Gerais sobre a obesidade e seu diagnóstico

A obesidade é compreendida como o aumento da massa de tecido adiposo em virtude do desequilíbrio entre gasto energético e ingestão calórica. Recentes estudos têm mostrado que este distúrbio energético é causado principalmente por células do tecido adiposo, sendo estas capazes de desencadear um processo inflamatório que promove a síndrome metabólica e o descontrole alimentar (VELLOSO; SANDE-LEE, 2012). Quantitativamente, a obesidade é uma doença evidenciada pelo índice de massa corporal (IMC) acima de 30. Este índice é obtido pela razão entre o peso em quilogramas (Kg) dividido pela altura, em metros ao quadrado. Segundo a organização mundial da saúde (OMS) em 2014 foi constatado que havia 39% da população mundial adulta com mais de 18 anos acima do peso (IMC>25). Ademais, foi relatado pela OMS que em 2014 havia em média 13% da população mundial acima de 18 anos com IMC>30 (KRUGER et al., 2015).

Dados da OMS mostram que em 2015 havia 54,1% da população brasileira acima do peso ideal (IMC>25). Neste mesmo estudo, foi constatado que a obesidade (IMC>30) tem afetado 20% da população brasileira. Adicionalmente, nos EUA 33% da população é obesa. Dessa forma, pode-se inferir que a obesidade é uma epidemia do século atual (KRUGER et al., 2015).

Deve-se frisar que o uso do IMC possui limitações, visto que não é capaz de quantificar a porcentagem de tecido adiposo em determinado corpo, ademais, não há correlação entre o aumento do IMC e a presença de diabetes tipo II, entretanto, há correlações entre gordura visceral, diabetes tipo II e síndrome metabólica. Dessa forma, nota-se que a comunidade científica tem selecionado diferentes metodologias para diagnosticar a obesidade com maior precisão. A medida da porcentagem de gordura é uma abordagem capaz de quantificar a porcentagem de tecido adiposo através da submersão do corpo humano em água, valores acima de 25% de gordura corporal em homens e 35% em mulheres são considerados problemáticos para a saúde (AGARWAL; BILLS; LIGHT, 2010).

Outra abordagem que complementa a limitação do uso do IMC é a medida da circunferência abdominal, com esta quantificação pode-se inferir que há elevada correlação entre o expressivo valor da circunferência abdominal com doenças cardíacas, síndrome metabólica e diabetes tipo II. Considera-se que indivíduos com circunferência abdominal maiores do que 102 cm para homens ou 88 cm para mulheres são considerados obesos (CHUMLEA et al., 2009).

O uso de técnicas de obtenção de imagens para o diagnóstico mais efetivo da obesidade tem sido feita com tomografia computadorizada e RMN (Ressonância Magnética Nuclear). Destaca-se nesta abordagem que o tempo de aquisição de informações relevantes é baixo e as precisões das imagens permitem diferenciar um tecido adiposo visceral de um subcutâneo. Deve-se frisar que, valores acima de  $130 \text{ cm}^2$  de gordura visceral tem sido correlacionados com distúrbios metabólicos de glicose (intolerância à glicose) e lipídeos (diminuição de HDL e aumento de LDL, bem como aumento de ácidos graxos na corrente sanguínea), favorecendo a síndrome metabólica e a obesidade (PALLADINO; KF; TUCUNDUVA, 2011).

A presença de tecido adiposo visceral (presente dentro de órgãos) é capaz de alterar a fisiologia e promover diversas enfermidades. A apneia do sono é uma doença associada à um processo inflamatório, juntamente com a presença de tecido adiposo visceral, estes fatores são capazes de causar o colapso das vias aéreas superiores, dificultando o processo de expansão e contração do diafragma, conseqüentemente perturbando o sono e a qualidade de vida de pacientes obesos (PETTA et al., 2015).

A doença hepática gordurosa e não alcoólica (Esteatose hepática) tem sofrido drástico aumento na população, nos últimos anos houve aumento de 30%, esta difusão se deve a ação da obesidade e da síndrome metabólica. Através do diagnóstico de imagens, torna-se possível visualizar a presença de tecido adiposo visceral no fígado, este fato é capaz de desencadear processos inflamatórios. Os primeiros estágios dos problemas gerados pela obesidade ao fígado são as elevadas taxas de lipídeos no plasma sanguíneo, como consequência, haverá um desequilíbrio e acúmulo de triglicerídeos neste órgão. Posteriormente, a quantidade de substâncias pró-inflamatórias aumentam, isto promove a inflamação do fígado. O processo inflamatório acelera um estado de cirrose e aumento da probabilidade de carcinoma do fígado, comprometendo seu funcionamento (DIETRICH; HELLERBRAND, 2014). A figura 1 torna evidente o tecido adiposo visceral.



A presença de lipomas (tumores benignos provenientes do acúmulo do tecido adiposo visceral) têm sido relatada frequentemente em obesos que estão em estado inflamatório crônico por mais de três décadas, este relato pode explicar a intensificação de câncer de fígado, mama e endométrio em pacientes obesos (ZAVAN et al., 2015). Além disso, destaca-se que os níveis de leptina elevado e de CRP (C-reactive protein ou proteína C reativa) em obesos estão sendo correlacionados com o aumento da incidência de câncer do ovário e de mama em virtude das alterações imunológicas desencadeadas pelo processo inflamatório crônico (WULANINGSIH et al., 2015).

Nota-se em geral que pessoas portadoras da obesidade possuem uma elevada taxa de triglicerídeos na corrente sanguínea, processo gerado pela atenuação da quantidade de HDL (High density lipoprotein) e aumento de LDL (Low density lipoprotein) plasmático. Este desequilíbrio nas quantidades de lipoproteínas plasmáticas é capaz de aumentar o risco de doenças cardíacas. Destaca-se que o LDL possui a tendência de recrutar macrófagos para dentro das artérias, contribuindo para intensificação do estado inflamatório e hipersensibilidade do sistema imune. Em contraste, o HDL tem sido relatado pela literatura como uma lipoproteína capaz de agir intensificando ações anti-inflamatórias, suprimindo a quantidade de IL-1Beta, atenuando a ação recrutadora do macrófago e assim, contribuindo para a vasoproteção da artéria. Em contraste, nota-se em obesos um aumento da oxidação de HDL, como resultado haverá favorecimento do estado pró-inflamatório e aumento da probabilidade de evolução de doenças cardíacas como aterosclerose e hipertensão arterial (THACKER et al., 2016).

Os mediadores bioquímicos (substâncias inflamatórias e adipocitocinas) são relatados como os principais causadores da aceleração do processo degenerativo de articulações, cartilagens e ligamentos, dessa forma, intensificando a presença de osteoartrite. Trabalhos recentes mostram que há intrínseca relação com osteoartrite de joelho com a obesidade (RAI et al., 2013).

As doenças de Parkinson e Alzheimer são consideradas neurodegenerativas. Destaca-se que danos nos vasos sanguíneos cerebrais são constatados em pessoas obesas e que apresentam elevada concentração de colesterol plasmático devido ao processo inflamatório desencadeado pela síndrome metabólica. Em decorrência a este processo, aumentam-se as correlações entre obesidade, diabetes tipo II e síndrome metabólica com a degeneração do sistema nervoso central, devido aos danos nos vasos sanguíneos cerebrais (KANNAN;

HETTIARACHCHY; MAHEDEVAN, 2012). A figura 2 representa a obesidade como centro de diversas doenças (síndrome metabólica é o conjunto de doenças geradas pela obesidade).

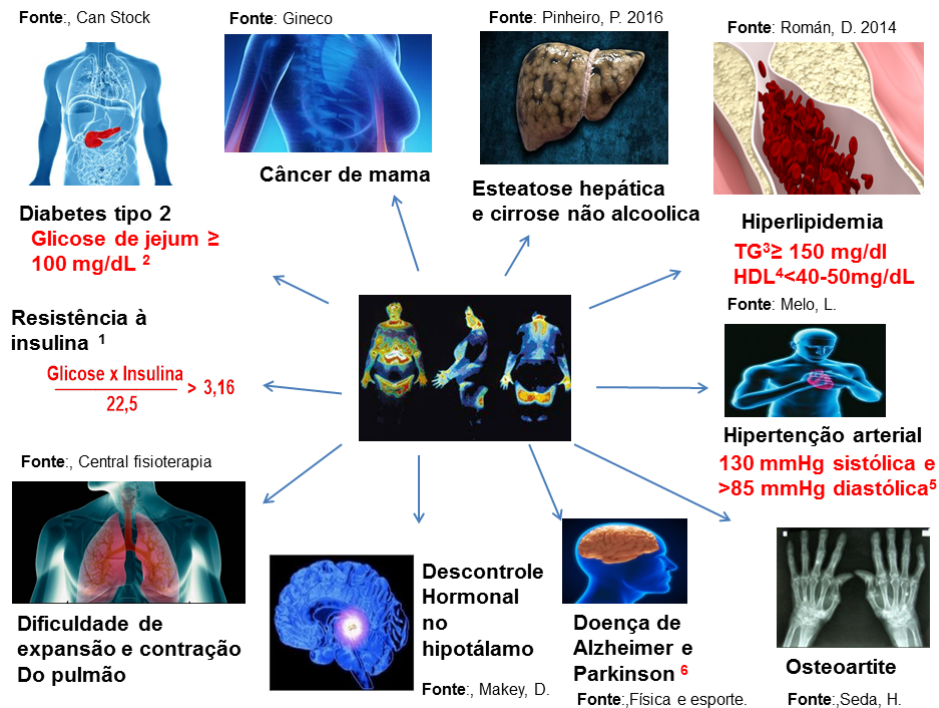


Figura 2 – Visão geral dos problemas gerados pela obesidade e síndrome metabólica. Destaca-se que 1-HOMA-IR insulina de jejum (mUI/ml) e glicose (mmol/l), 2-Huang, P. 2009. 3-TG=Triglicerol (Huang, P. 2009); 4 – High density lipoproteins (Huang, P. 2009); 5 - (Huang, P. 2009); 6- (Janssen, F. 2016).

Fonte: Adaptado de Huang, P. 2009 e Janssen, F. 2016

## 1.2 Impacto econômico da obesidade no Brasil e no mundo

Segundo a OMS a obesidade está entre as oito doenças mais difundidas na sociedade global. A elevada quantidade de pessoas com o diagnóstico de obesidade e síndrome metabólica tem sofrido aumento expressivo, como resultado, os gastos de países com saúde pública (direta ou indiretamente relacionados à obesidade) têm sofrido aumento nas últimas décadas (BAHIA; ARAÚJO, 2014).

Estima-se que o gasto anual em saúde pública nos EUA com a obesidade corresponde a 215 bilhões de dólares. Este valor é a soma dos gastos indiretos como: perda de produtividade, incapacidade precoce, aceleração da aposentadoria, morte, bem como os gastos diretos, sendo eles: o tratamento de doenças provocadas pela obesidade (HAMMOND; LEVINE, 2010). Na Alemanha o custo total da obesidade foi de 0,47 a 0,61% do

PIB, enquanto que na Inglaterra, o custo com problemas diretamente relacionados com a obesidade foram de 3,23 bilhões de euros em 2007. No Brasil, em 2010 foi constatado que os gastos totais com a obesidade foram da ordem de 0,09% do PIB em 2010 (BAHIA; ARAÚJO, 2014). Dados de 2014 mostram que o Brasil tem aumentado os gastos diretos e indiretos com a obesidade, pois houve um aumento de 0,09% para 2,4% do PIB Brasileiro (DOBBS et al., 2014).

### 1.3 O que causa a obesidade?

Existem três hipóteses que explicam a causa da obesidade. A hipótese genética a ambiental e a inflamatória. Os fatores ambientais atuais sofreram transformações significativas em virtude dos avanços tecnológicos, como resultado, houve em grande parte das civilizações do mundo: Maior acessibilidade à alimentos, elevada densidade energética em produtos alimentares, maior comodidade e menor gasto energético diário em decorrência de equipamentos tecnológicos que substituem a ação humana, aumento da palatabilidade dos alimentos, bem como a expressiva intensificação da quantidade de carboidratos (principalmente frutose) em alimentos industrializados. O aumento de frutose se deve ao processo de produção ser economicamente viável para as indústrias (BARREIROS, 2005).

A frutose é um carboidrato presente em frutas. Estima-se que grande parte das frutas possui em média 1 a 2% de frutose. O poder adoçante da frutose corresponde a 1,7 vezes ao da sacarose. Quimicamente, a frutose é isômero de função orgânica da glicose, ambos os carboidratos possuem a mesma massa e fórmula molecular, diferindo na presença da cetona (encontrada na frutose) e aldeído (presente na glicose). Metabolicamente a frutose não necessita da ação da insulina para ultrapassar a bicamada de fosfolípido, além disso, existe elevada diferença entre o metabolismo da frutose e da glicose no fígado, isso em decorrência da ausência da enzima hexokinase nas células hepáticas, logo a via bioquímica sofrida pela frutose difere da glicose apenas no fígado (DAS, 2015).

Observa-se nas células hepáticas que não há produção de frutose 6-fosfato, mas sim de frutose 1-fosfato. A presença da frutose fosforilada no carbono (C-1) faz com que haja a supressão da via glicolítica em virtude da presença de enzimas denominadas aldolases, estas aumentam a produção de ATP e citrato, proporcionando maior quantidade de ácidos graxos na corrente sanguínea. Nesta perspectiva, nota-se que grande parte da frutose é transformada em ácido graxo e glicerol devido à ação metabólica do fígado. Ademais,

deve-se frisar que a frutose necessita ser ingerida cerca de duas vezes em quantidade maior do que glicose para obter os mesmos níveis energéticos, isto se deve ao fato da glicose ser a principal fonte energética para o cérebro e tecidos periféricos na obtenção de energia, enquanto que a frutose estimula vias bioquímicas alternativas que não culminam com a produção energética tão eficiente (BARREIROS, 2005).

Salienta-se que a frutose tem demonstrado comportamento pró-inflamatório e sua metabolização no fígado faz com que grande porcentagem de ácido graxo e glicerol sejam gerados. Os elevados níveis plasmáticos de ácido graxo e glicerol desencadeiam hiperlipidemia, hiperinsulinemia, hiperleptinemia, hipoadiponectinemia bem como aumento de ácido úrico e de lipoproteínas do tipo VLDL (Very Low Density Lipoprotein ou lipoproteína de muito baixa densidade), em seguida, o estágio inflamatório crônico é estendido para o hipotálamo. Tem-se observado que a presença de ácidos graxos na corrente sanguínea é capaz de intensificar o processo inflamatório no sistema nervoso central (SNC), pois há uma homologia entre ácidos graxos e padrões estruturais da parede celular de bactérias gram negativas que fazem com que o receptor Toll like (TLR-4, sistema imune inato) favoreça o processo inflamatório no hipotálamo, causando o descontrole na ingestão alimentar (BOTEZELLI et al., 2016).

A presença de elevada quantidade de carboidratos na corrente sanguínea, provocada pela presença excessiva de frutose e glicose em alimentos industrializados está sendo correlacionada com o aumento de produtos avançados de glicação, cuja sigla em inglês corresponde a AGEs (Advanced glycation end products ou produtos finais de glicação avançada) (FERREIRA et al., 2010). Os produtos avançados de glicação são capazes de gerar danos celulares, alterar a sinalização de moléculas extracelulares e modificar proteínas ou lipídeos plasmáticos. A albumina-AGE é uma albumina plasmática modificada e a interação de Albumina-AGE com RAGE (Receptor for advanced glycation end product ou receptor para produto final de glicação) intensifica a ação de macrófagos induzindo um estado inflamatório (aumento da sensibilidade do sistema imune). Estudos recentes em ratos sugerem que a ativação de receptores RAGE promoveu a hipertrofia de células adiposas pela ativação de M1-macrófago causando a resistência à insulina, dessa forma, observa-se que a presença demasiada de carboidratos na corrente sanguínea é capaz de promover um estado inflamatório que irá culminar com o descontrole da ingestão alimentar (SON et al., 2016).

O hormônio proteico de 167 aminoácidos denominado de leptina, descoberto em 1994, exerce um papel importante na genética da obesidade. Mutações no gene receptor da leptina foram realizadas em ratos de modo a suprimir a produção dos receptores de leptina, como resultado houve considerável aumento do tecido adiposo de ratos, devido a estes fato experimental, o gene *ob-ob* foi denominado como o gene da obesidade. A hipótese do gene *ob-ob* tem se fortalecido, pois observa-se que pessoas com mutações genéticas no receptor de leptina são obesas, visto que não possuem a sinalização para cessar a alimentação (IWAKURA et al., 2016).

A leptina é capaz de interagir com o sistema imune adaptativo e inato, destaca-se que o excesso de leptina desencadeia um processo de estimulação da proliferação de monócitos, macrófagos, células dendríticas e células Natural Killer, outro aspecto relevante é que a presença demasiada de leptina na corrente sanguínea induz a ativação de células dos linfócitos T bem como a produção de citosinas pró-inflamatória, ademais, nota-se em pacientes obesos que os níveis plasmáticos de leptina é elevado em decorrência da elevada quantidade de tecido adiposo. Todos estes efeitos promovidos pela leptina se devem ao fato da semelhança de sua estrutura tridimensional proteica com a IL-6. Como resultado da ativação do sistema imune as células do tecido adiposo são infiltradas por macrófagos, levando a uma inflamação crônica (WENSVEEN et al., 2015).

O processo de inflamação se inicia quando o tecido adiposo visceral é formado. O tecido adiposo periférico tem baixa lipólise, elevada capacidade de armazenar gordura e elevada sensibilidade à insulina. O tecido adiposo abdominal (visceral) tem baixa capacidade de armazenar gordura, alta lipólise e baixa sensibilidade à insulina, bem como maior capacidade de interagir com o sistema imune e desencadear um processo inflamatório crônico. O tecido adiposo visceral produz leptina em elevada quantidade, este hormônio é capaz de intensificar a ação de células do sistema imune (proteína pró-inflamatória). Em virtude da presença de células imunes (macrófagos) no tecido adiposo haverá a hipertrofia do adipócito. Posteriormente, a necrose é induzida em virtude da dificuldade de captação de oxigênio presente na corrente sanguínea, isto se deve a presença de macrófagos (M1) na região periférica da célula (CARVALHO; SAAD, 2013).

O eixo S100  $\beta$ -RAGE é ativado pela albumina-AGE em decorrência da elevada quantidade de glicose na corrente sanguínea. Como consequência, haverá uma hipersensibilidade do sistema imune, com isso haverá macrófagos M1 em elevada quantidade no tecido

adiposo visceral, desencadeando um processo inflamatório crônico. (SON et al., 2016). A figura 3 destaca a ação do sistema imune na inflamação de células adiposas.

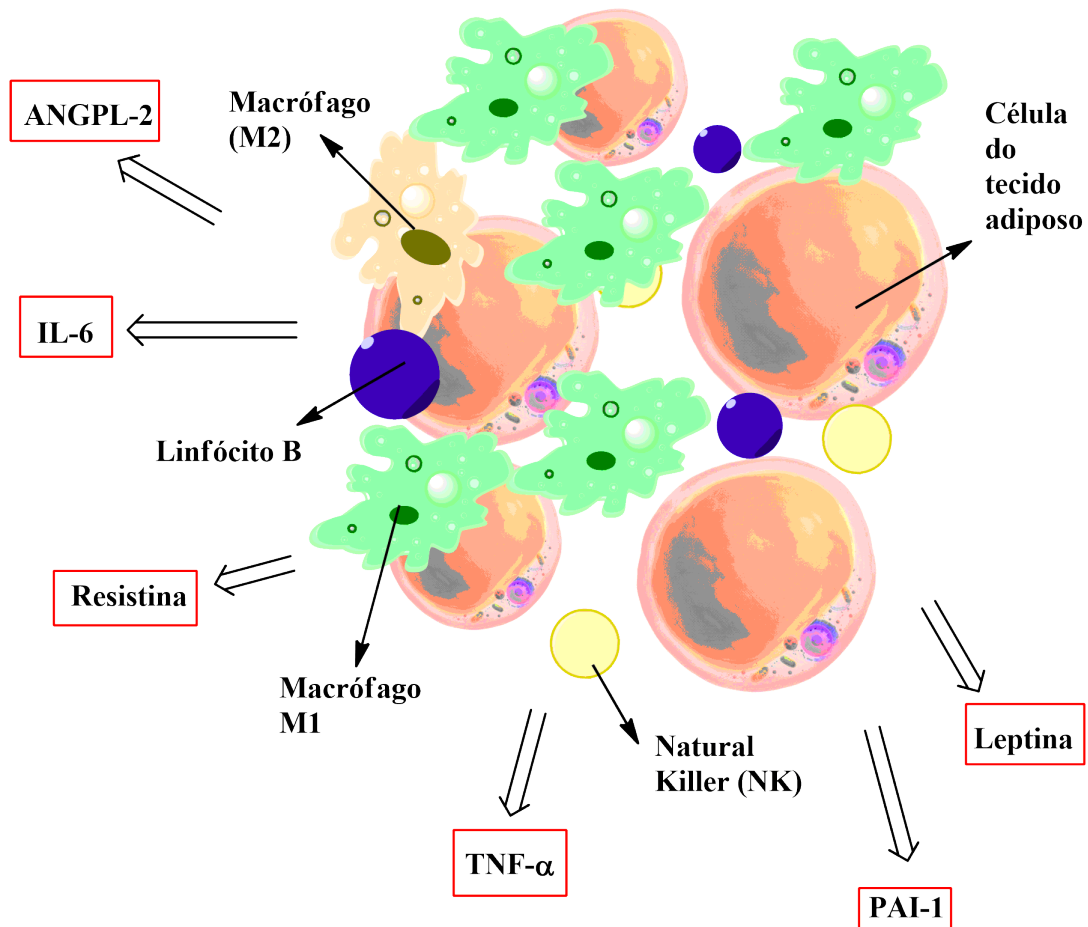


Figura 3 – Tecido adiposo sendo alvo do sistema imunológico, como resultado há aumento da secreção de substâncias inflamatórias como PAI-1 (Plasminogen activator inhibitor-1 ou inibidor do plasminogênio), TNF- $\alpha$ , leptina, resistina, IL-6 (Interleucina-6) e ANGPL-2 (Angiopietin-like protein-2 ou proteína similar à angiopietina).

Fonte: Adaptado de Sestan, M. 2015

#### 1.4 Fisiopatologia da obesidade – Processo inflamatório e aspectos neuroquímicos no controle da fome

O sistema imunológico humano necessitou de aproximadamente 2 milhões de anos para atingir sua efetividade. A ação do sistema imune se resume a proteção contra patógenos (bactérias, fungos, protozoários e moléculas xenobióticas), limpeza e reparação de tecido, bem como remoção de células anormais (FERRANTE, 2013).

A composição do sistema imune é estabelecida por células brancas produzidas pela medula óssea (macrófagos e linfócitos) e proteínas denominadas anticorpos (glicoproteínas produzida por células do sistema imune). A integração destas entidades permitem a ação inata e adaptativa do sistema imunológico. Recentes descobertas evidenciam que as células do tecido adiposo têm extensa relação com as células do sistema imune, visto que o adipócito de obeso possui excesso de macrófagos. Esta intrínseca relação é herdada do processo evolutivo, pois há seres vivos que possuem um tecido de sustentação capaz de agir também como célula imunológica (AMPEM et al., 2015).

Atualmente o tecido adiposo tem sido visto como um órgão endócrino que exerce diversas funções fisiológicas, contrariando a visão simplista de depósito de triacilglicerol. Estima-se que os adipócitos produzem cerca de 50 moléculas sinalizadoras que integram o sistema endócrino, contribuindo para a homeostase fisiológica. O traço evolutivo que promove a intensa relação do sistema imune com os adipócitos é fortalecido quando se analisa um dos papéis da leptina, hormônio que age ativando a proliferação de células do sistema imune (macrófagos, monócitos, células dendríticas e linfócitos T). Uma plausível explicação para a ativação do sistema imune pela leptina se deve ao fato da homologia com a estrutura molecular da interleucina-6 (IL-6)(WENSVEEN et al., 2015).

Além da leptina, sabe-se que o hormônio adiponectina tem como função prevenir a hiperativação do sistema imune, reduzindo a disponibilidade de macrófagos e linfócitos. O rompimento da homeostase entre leptina e adiponectina provoca o processo inflamatório e desencadeia alterações fisiológicas que culminam com a síndrome metabólica, a obesidade e a diabetes tipo II. A ruptura da homeostase é decorrente da elevada quantidade de tecido adiposo armazenado, como resultado haverá aumento da excreção de leptina e diminuição da adiponectina (AMPEM et al., 2015).

Seguindo esta linha de pensamento, dados experimentais mostram que no plasma sanguíneo de pacientes obesos há elevados níveis de leptina (fato que sugere resistência à leptina), atenuação dos níveis de adiponectina, e aumento de resistina. Ademais, observa-se que a concentração de insulina é elevada, levando ao fortalecimento da hipótese de resistência à insulina. A nível celular, nota-se que em pacientes obesos há uma diminuição na capacidade de fusão mitocondrial, uma possível explicação para este relato é a redução da proteína Mitofusina-2 (MF-2). Observa-se que a diminuição na expressão da proteína MF-2 proporciona uma mitocôndria pequena e um aumento na produção de espécies reativas de oxigênio, promovendo a resistência à insulina (VIA; JEFFREY, 2014).

A resistência à insulina tem sido reportada como uma das fontes causadoras da resistência à leptina. O aumento da expressão de leptina é capaz de promover atenuação da ingestão alimentar e diminuir a atividade física, conseqüentemente haverá redução nos gastos energéticos (THACKER et al., 2016). Dessa forma, a presença de substâncias que desempenham um papel pró-inflamatório prevalece sobre substâncias endógenas anti-inflamatórias, este desequilíbrio se deve a elevada sensibilidade do sistema imune, especificamente na ação de macrófagos M1. Em decorrência de um estado pró-inflamatório haverá desequilíbrio hormonal no controle neuroquímico alimentar na região do hipotálamo de obesos, como consequência, pessoas obesas estão em constante estado anabólico, promovendo o desenvolvimento de células adiposas, estas são alvos do sistema imune hiperativo, provocando um ciclo de difícil reversão devido ao excesso de insulina decorrente da elevada glicemia em obesos, dessa forma, descontrolando a sinalização neuroquímica. Observa-se que há fármacos capazes de agir no controle da resistência à insulina poderão ser uma estratégia de ação farmacológica interessante, visto que o estado anabolizante é atenuado (THACKER et al., 2016). A figura 4 representa o problema gerado nas redes neurais.

O hipotálamo ocupa um volume de 5 ml e sua composição neural é de suma importância para o controle da fome. Duas populações de neurônios agem no balanço energético exercido pelo hipotálamo, estas são: Pró-ópiomelanecortin (POMC), neurônio que exerce ação anorexígena, portanto possui a capacidade de diminuir a fome. A população de neurônios antagônica à esta é denominada de Neuropeptídeos-Y (NPY) e Agouti-related protein ou proteína relacionada ao Agouti (AgRP), pois são neurônios que possuem receptores para estes neuropeptídeos, destaca-se que estes neurônios executam ação orexigênica, dessa forma desencadeia uma resposta que culmina com a fome excessiva (DENIS et al., 2014).

O favorecimento de um estado inflamatório crônico em obesos é capaz de desequilibrar a ingestão alimentar em virtude de mudanças no sistema de neurônios POMC-NPY/AgRP, intensificando o consumo desenfreado de alimentos e inibindo o controle da ingestão alimentar. Estudos mostraram que suprimindo receptores POMC o controle da ingestão alimentar não foi possível, além disso, pessoas com deficiência no gene que expressa o receptor MC4R, possuem tendência a serem obesos. Os neurônios NPY-AgRP liberam peptídeos denominados de AgRP e Neuropeptide Y, estes agem como agonista inverso dos receptores de melanocortina, como resultado, haverá a supressão de POMC e

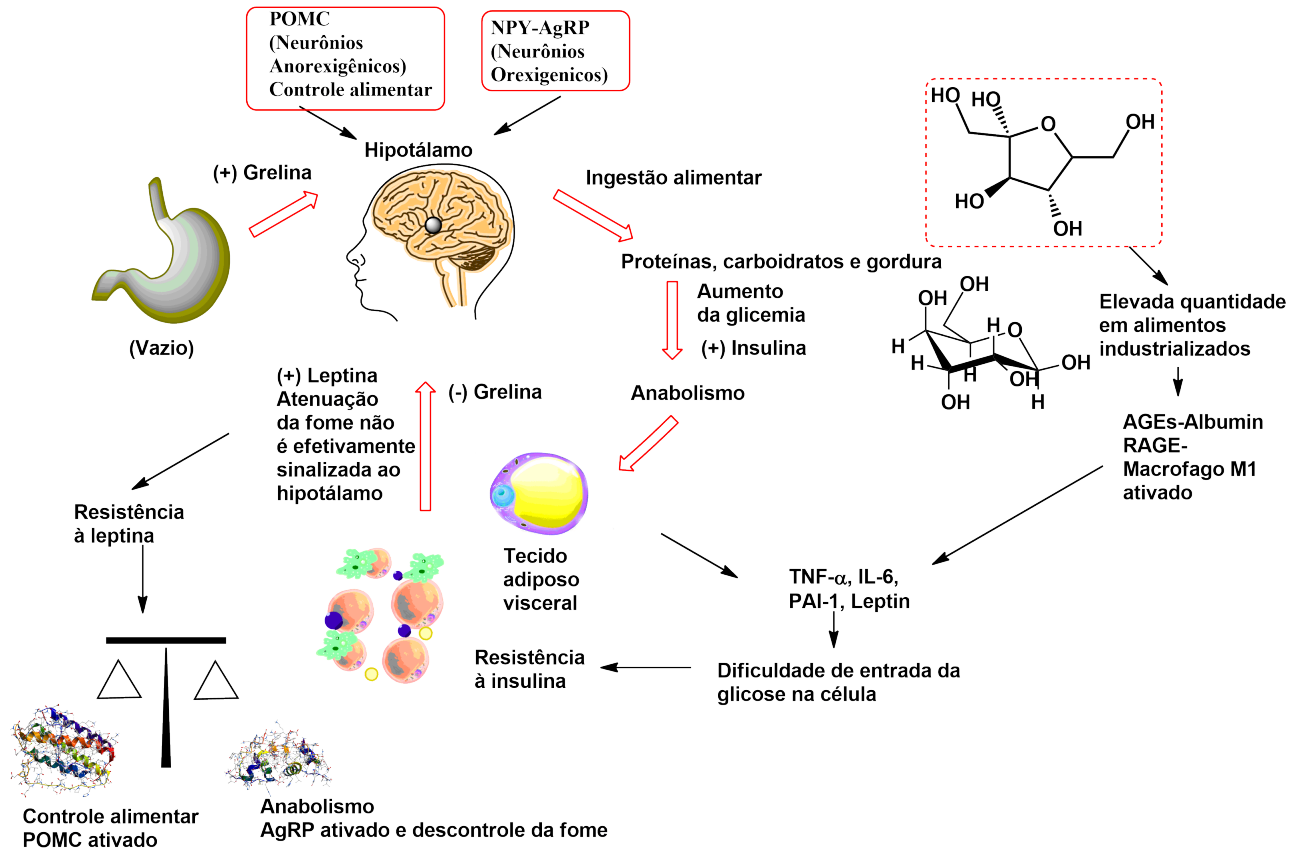


Figura 4 – Explicação do fenômeno cíclico que ocorre em obesos, fato que justifica a dificuldade na atenuação da ingestão alimentar, observa-se que é a integração entre neurônios que possuem os receptores de POMC e NPY juntamente com hormônios que participam do descontrole neuroquímico em obesos. O sinal (+) indica produção e (-) atenuação na produção do hormônio.

Fonte: Autor, utilizando o software ChemBioDraw 8

o estado orexigênico prevalece sobre o anorexigênico, dificultando o controle da ingestão alimentar (PEDROSO et al., 2014).

NPY é um neuropeptídeo de 36 aminoácidos que quando presente no hipotálamo age no controle da ingestão alimentar e no metabolismo de lipídeos, destaca-se que NPY desencadeia um processo de ganho de tecido adiposo e intensificação na ingestão alimentar. A deficiência deste neuropeptídeo proporciona lipólise e aumento de ácido graxo livre, culminando com a evolução no quadro de síndrome metabólica (PARK et al., 2014).

A fome é controlada neuroquimicamente pelo composto  $\alpha$ -MSH (Melanocortina), este se liga ao receptor MC4R (Melanocortin 4-Receptor ou receptor de melanocortina-4) promovendo o catabolismo metabólico, proporcionando a diminuição da massa corporal,

controlando a ingestão alimentar e favorecendo a termogênese de tecido adiposo marrom (MONGE-ROFFARELLO et al., 2014).

Deve-se destacar que a insulina e a leptina possuem interação com o sistema de neurônios NPY-AgRP e POMC. Sabe-se que a insulina é capaz de favorecer a produção de peptídeos que agem nos receptores AgRP, enquanto que a leptina não possui esta capacidade. Além disso, observa-se que a leptina estimula a atividade de POMC, como resultado haverá a produção de hormônios melanócitos, estes suprimem a liberação de AgRP (GUSTAVSSON et al., 2016).

Recentes descobertas destacam que o sistema endocanabinoide está relacionado com a obesidade. O sistema endocanabinoide é composto por receptores transmembranares (presentes no SNC e nas células musculares, hepáticas e adiposas), enzimas e substâncias endógenas que agem no controle da ingestão alimentar, no controle emocional (humor e ansiedade) e na integração do sistema imune. Nota-se em pacientes obesos que há hiperatividade do sistema endocanabinoide, pois 2-AG (2-aracdoglicerol, substância endógena) está em elevada quantidade no plasma sanguíneo e age como agonista do receptor CB1 (MASTINU et al., 2012).

Destaca-se que a ativação do sistema endocanabinoide por 2-AG induz a produção de grelina, este hormônio favorece a ação de AgRP e NPY em detrimento de POMC, promovendo a ingestão alimentar descontrolada (MAZIER et al., 2015).

## **1.5 O tratamento farmacológico da obesidade - Arsenal terapêutico atual e novas abordagens**

O arsenal terapêutico para o tratamento da obesidade pode ser organizado em três vertentes: fármacos termogênicos, anorexígenos e de controle absorptivo de gordura. Dentre os medicamentos utilizados para o tratamento da obesidade, destaca-se o orlistat **(1)**, que é responsável por inibir a atuação das lipases no tubo intestinal, a lorcaserina **(2)**, que tem propriedades serotoninérgicas, ferretina **(3)** e topiramato **(4)**, atuando na inibição do apetite, naltrexona **(5)** e bupropiona **(6)** agindo na regulação central e periférica do apetite (KUMAR; DAHIYA, 2015).

Devido a uma série de efeitos colaterais potencialmente associados aos medicamentos antiobesidade empregados na terapêutica atual, juntamente com o elevado número de pacientes que não obtém sucesso com as terapias disponíveis, vários grupos de pesquisa

têm buscado novos alvos terapêuticos e novas substâncias para o tratamento da obesidade. Destacam-se como exemplos os receptores canabinoides do subtipo CB1 e a enzima sn-1-Diacilglicerol Lipase  $\alpha$  (DAGL- $\alpha$ ) como promissores alvos biológicos (JANSSEN et al., 2014). A figura 5 enfatiza as moléculas.

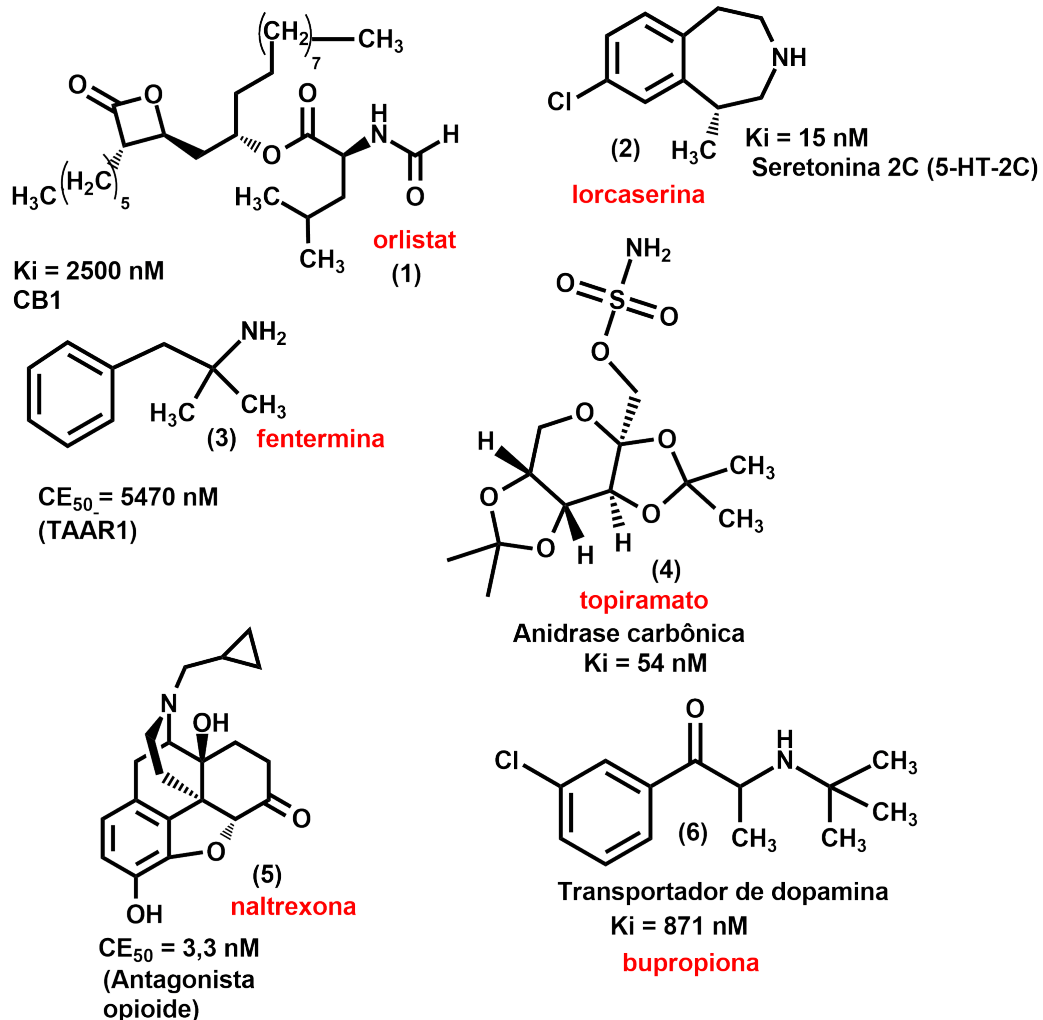


Figura 5 – Estruturas químicas dos fármacos adotados para o tratamento da obesidade.

**Fonte:** orlistat (1) (J. Med. Chem. 2008), Lorcaserina (2) (Bioorg. Med. Chem.,2013), Ferfermina (3) (Bioorg. Med.Chem.,2013), Topiramato (4) (Bioorg. Med. Chem. Lett. 2005) , Naltrexona (5) (Bioorg. Med. Chem. Lett., 2009) e Bupropiona (6) (J. Med. Chem., 2009).

O fármaco orlistat (1) foi aprovado em 1999 pelo Food and Drug Administration (FDA) para uso oral. Esta substância age diminuindo a absorção sistêmica de triacilglicerol através da inibição da lipase gastrointestinal e pancreática. Como consequência, há o bloqueio da reação catalítica de hidrólise de triglicérides em ácidos graxos e glicerol. Dessa forma, haverá aumento na excreção de triacilglicerol, visto que este não será metabolizado. Estudos publicados por Sanjay e colaboradores apontam que existe um aumento de 30 %

no processo de excreção fecal da gordura ingerida. Além disso, o fármaco **(1)** tem sido utilizado como antagonista de CB1 em estudos *in vitro* (SANJAY et al., 2013).

A lorcaserina **(2)** é um fármaco que se caracteriza como serotoninérgico, portanto sua ação se resume a aumentar a saciedade e o gasto calórico. Destaca-se que o alvo 5HT-2C (5-hidroxitriptamina-serotonina) tem sido intensamente explorado para o tratamento da obesidade, todavia, efeitos colaterais como hipertensão foram diagnosticados em sua modulação. Existe correlação entre serotonina e os neurônios do hipotálamo NPY/AgRP, bem como POMC. O mecanismo de ação da lorcaserina **(2)** consiste no comportamento agonista frente ao receptor 5HT-2C, como resultado haverá aumento da atividade de neurônios POMC, logo, aumento de MSH e o controle da fome será efetivado (VOIGT; FINK, 2015).

A fentermina **(3)** foi aprovada em 1959 pelo FDA e deste então tem sido um dos fármacos mais adotados para o tratamento da obesidade nos Estados Unidos. O uso do fármaco fentermina **(3)** geralmente ocorre em conjunto com topiramato **(4)**. O modo de ação de **3** é similar a anfetamina, logo age como inibidor da recaptação da adrenalina, como consequência, irá existir maior concentração deste neurotransmissor na fenda sináptica resultando no efeito de gasto energético e redução alimentar (ZHANG; WANG, 2012). Ademais, **(3)** age no alvo TAAR1 (Trace amine-associated receptor 1) esta é uma proteína acoplada a proteína G, a ação agonista à este receptor promove diminuição da ingestão alimentar e aumento da sensibilidade à insulina (RAAB et al., 2016).

Constata-se na literatura que agonistas dos receptores de GABA são efetivos no aumento do consumo alimentar (KRASHES et al., 2013). O fármaco Topiramato **(4)** tem como mecanismo de ação inibir a enzima anidrase carbônica, bem como inativar os canais de sódio através da diminuição do neurotransmissor GABA, diminuindo a fome (ISIDRO; CORDIDO, 2010).

Os fármacos naltrexona **(5)** e bupropiona **(6)** são utilizados em conjunto e comercializados como Contrave (Produto registrado). O fármaco **6** tem como mecanismo de ação inibir a recaptação de dopamina e noradrenalina, conseqüentemente, a concentração de ambos neurotransmissores estará elevada na fenda sináptica, logo haverá diminuição da fome, aumento da saciedade e intensificação da atividade física (PATEL, 2015). O fármaco **5** tem capacidade de agir como antagonista do receptor de opióide, promovendo uma diminuição de ingestão alimentar (PATEL, 2015). Deve-se frisar também que **5** e **6**

prolongam a atividade dos neurônios POMC promovendo efeito de sinergismo que culmina com a inibição da fome (CLAPPER et al., 2013).

## 1.6 O mapa do problema neuroquímico

O desequilíbrio neuroquímico provocado pela obesidade torna o processo de redução de massa corporal complexo, entretanto, uma via para auxiliar na resolução deste problema global é agir sob o controle da ingestão alimentar, visto que com isso pode-se reduzir o ganho de tecido adiposo, potencializando a reversão do estado inflamatório pelo qual está situado o paciente obeso. Compreendendo a fisiopatologia relacionada com a neuroquímica cerebral em obesos pode-se encontrar novos alvos biológicos. A figura 6 representa o mapa do problema neuroquímico que irá nortear o desenvolvimento de novos fármacos para o controle da obesidade.

### 1.6.1 Receptores de Grelina

Uma das abordagens farmacológicas atuais para tratar a obesidade consiste em utilizar antagonista ou agonistas inverso dos receptores de grelina. Um dos receptores deste hormônio proteico é acoplado com a proteína G e é denominado de receptor 1A (GHS-R1A). O mecanismo de ação do uso de antagonista ou agonista inverso dos receptores da grelina consiste em fornecer uma resposta contrária ao agonista endógeno grelina. O hormônio proteico grelina possui a capacidade de suprimir POMC e favorecer NPY-AgRP, como resultado o estado anoréxico é suprimido pelo estado orexigênico. Com o uso de agonistas inversos ou antagonistas haverá o efeito contrário, logo prevalência do sistema POMC sobre NPY-AgRP e controle da fome, prevalecendo o estado anoréxico (CAMERON; BHATTACHARYA; LOOMIS, 2014).

A figura 7 destaca as substâncias capazes de agirem nos receptores hormonais de grelina. A estrutura (7) apresenta capacidade de agir como antagonista ou agonista inverso nos receptores de grelina, além disso, encontra-se atualmente em estágio clínico de avaliação farmacológica (KONG et al., 2016).

O composto (11) foi desenvolvido pela Merck e apresentou capacidade de redução de 52% da ingestão alimentar em ratos, essa efetividade se deve a sua ação agonista inversa nos receptores de grelina. Estudos relataram que a amina é um grupo farmacofórico, sendo

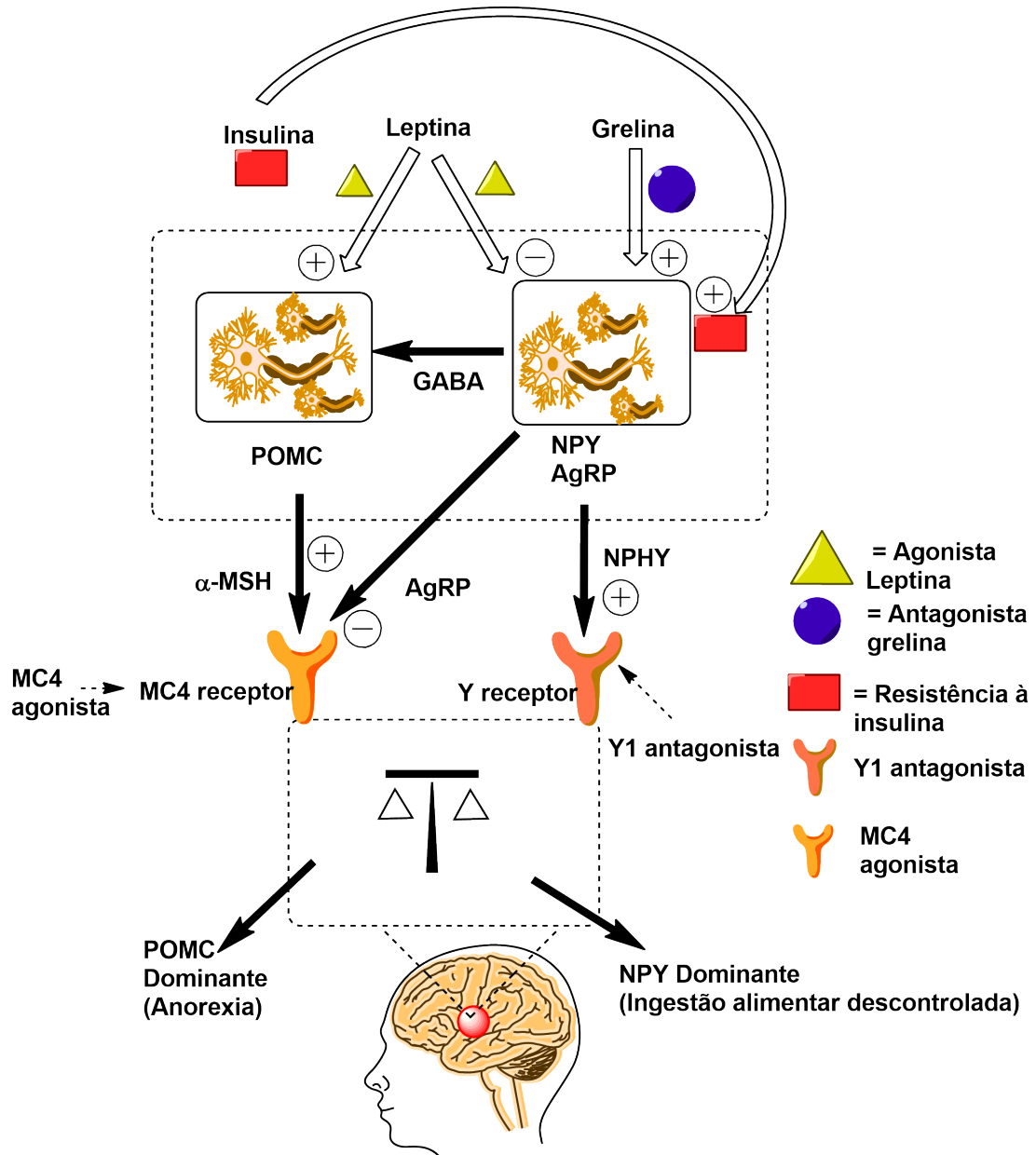


Figura 6 – A população de neurônios com receptores POMC e NPY-AgRP localizados no hipotálamo. Destaca-se que a população POMC e AgRP-NPY são capazes de interagir com grelina, leptina e insulina. A fisiopatologia neuroquímica da obesidade desencadeada é intensificada pelo processo inflamatório hiperativo decorrente do tecido adiposo visceral. (+) - Intensificação da resposta do receptor e (-) atenuação

Fonte: Autor, utilizando o software Chemdraw 8.0

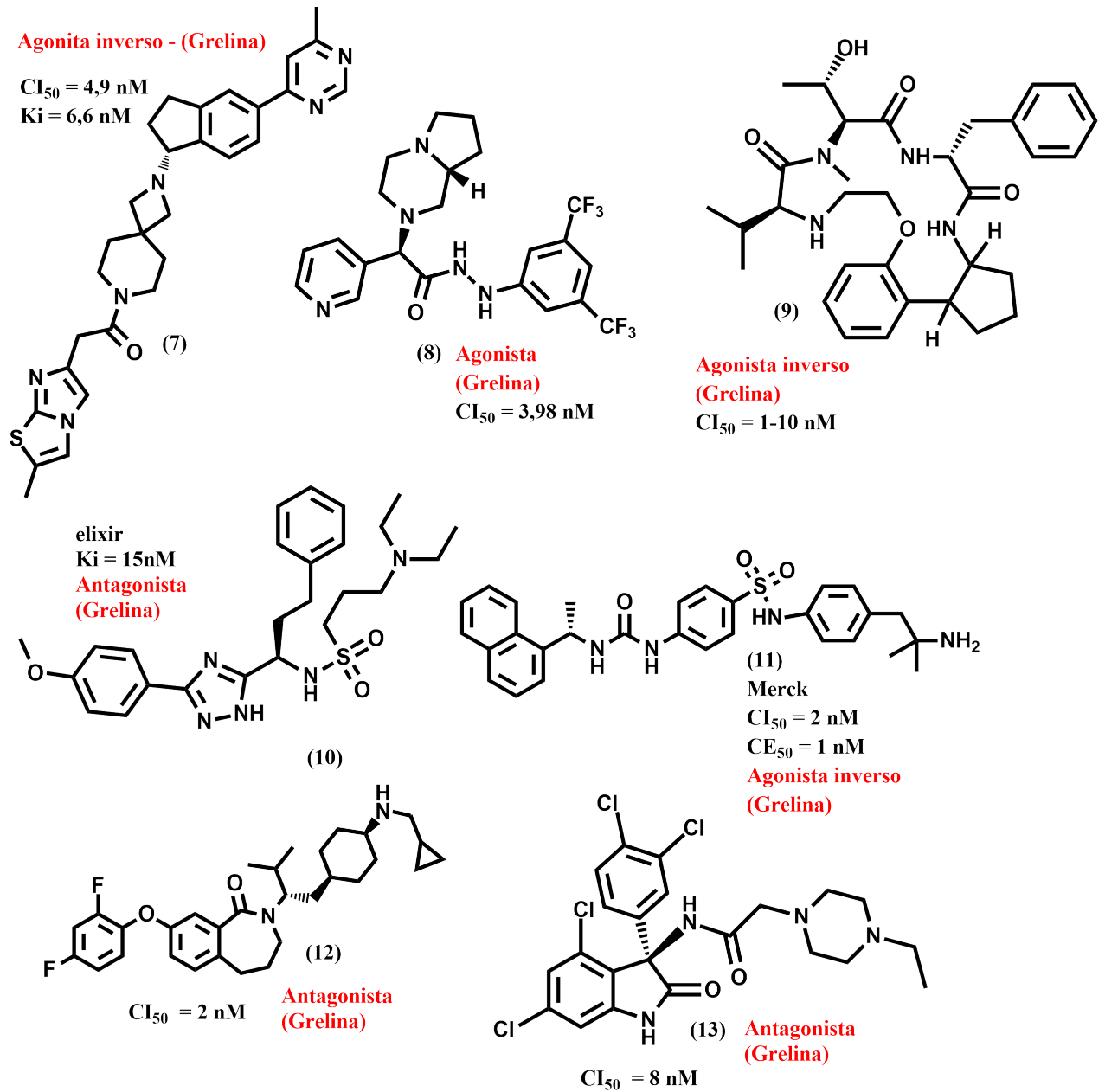


Figura 7 – Estruturas químicas de substâncias com efeito agonista inverso ou antagonista dos receptores hormonais de grelina

Fonte: Adaptado de CAMERON; BHATTACHARYA; LOOMIS, (2014)

fundamental que esta amina seja primária. A presença de aminas secundárias e terciárias favorecem efeitos colaterais relacionados com os receptores adrenérgicos  $\beta$ -3, foi constatado que com a presença da amina primária não houve interação com receptor adrenérgico, devido a redução do efeito estereoquímico, bem como atenuação nas interações do tipo Van der Waals (CAMERON; BHATTACHARYA; LOOMIS, 2014).

A indústria farmacêutica Novartis desenvolveu uma série de sulfonamidas que agem como antagonista do receptor de grelina promovendo diminuição do consumo alimentar e aumento da sensibilidade à insulina, causando diminuição de tecido adiposo em 50% com 56 dias de uso oral. A estrutura **10** foi projetada pela indústria farmacêutica Alixir (Índia). A indústria farmacêutica Amgen propôs a amida **12** com elevada seletividade aos receptores de grelina, agindo como antagonista pleno. Os autores descobriram que a presença de subunidades atenuadoras de efeito estérico, bem como retiradores de elétrons favorecem a estabilidade metabólica do fármaco, resultando em biodisponibilidade de 39% para uso oral. A indústria farmacêutica inglesa GSK desenvolveu o fármaco **8** que age como agonista dos receptores de grelina, favorecendo o consumo alimentar e ganho de peso para pacientes com anorexia. Este fato fortalece a hipótese de que a grelina tem um papel fundamental no controle da ingestão alimentar agindo no circuito neural do hipotálamo (CAMERON; BHATTACHARYA; LOOMIS, 2014).

A indústria farmacêutica Tranzyme desenvolveu derivados de macrociclos. Destaca-se a estrutura **9** como a mais promissora. O mecanismo de ação deste candidato a fármaco consiste em agir como agonista inverso dos receptores de grelina. Foi relatado que com a ingestão oral em ratos durante 14 dias houve decréscimo de ingestão alimentar, diminuição da glicemia, da insulina e do glucagon, bem como redução de ácidos graxos livres. O composto **13** foi proposto pela empresa Sanofi. Seu mecanismo de ação consiste em reduzir a ingestão alimentar, bem como atenuar os níveis de glicose no plasma sanguíneo, isso através da ação antagonista em relação aos receptores de grelina (CAMERON; BHATTACHARYA; LOOMIS, 2014).

O uso de agonista inverso do receptor de grelina no sistema nervoso central favorece um estado anoréxico, todavia, há relatos de efeitos colaterais relacionados à ansiedade, depressão, alterações no sono e formação de memória, indicando que é necessário a busca por novos alvos biológicos (SZAKÁCS et al., 2015).

## 1.6.2 Receptores de Leptina

Uma possível abordagem para o tratamento da obesidade consiste em utilizar agonistas aos receptores de leptina, visto que este hormônio proteico favorece a atividade das redes neurais do hipotálamo com receptores de POMC em detrimento de ativações nas redes neurais contendo os receptores AgRP-NPY, como resposta irá ocorrer a saciedade. Os principais receptores da leptina são provenientes do gene Ob (gene da obesidade) e ObR (gene do diabetes), que expressam os receptores de leptina, ObRa e ObRb estes são receptores transmembranares (OTVOS et al., 2008).

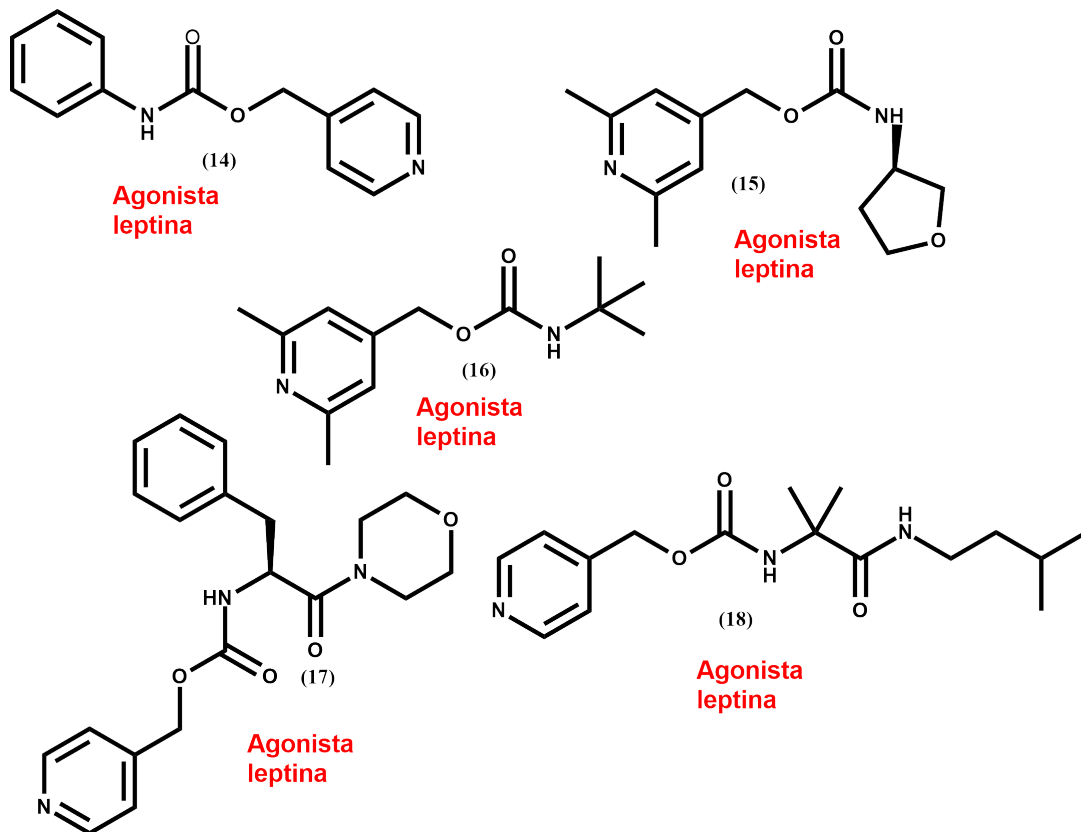


Figura 8 – Compostos com capacidade de ação agonista frente aos receptores da leptina

**Fonte:** Adaptado de OTVOS et al., (2008). Destaca-se que os valores de concentração inibitória estão registrados na patente sul coreana, e o acesso ao conteúdo da patente não foi possível.

Destaca-se que o uso de agonistas dos receptores de leptina não tem correspondido às expectativas, sendo a resistência à leptina o principal argumento para explicar este fato (OTVOS et al., 2008). A figura 8 representa as substâncias que agem sob os receptores da leptina.

### 1.6.3 Receptores NPY

O neuropeptídeo Y (NPY) localizado no hipotálamo é capaz de gerar aumento da ingestão alimentar intensificando a atividade de neurônios AgRP-NPY e suprimindo a ação neural de POMC, conseqüentemente haverá aumento do tecido adiposo. Recentes pesquisas têm mostrado que o uso de antagonistas ao receptor NPY pode ser uma alternativa para o tratamento da obesidade, visto que a deficiência de NPY causa redução de adipócitos, aumento da termogênese e intensificação da lipólise (VOIGT; FINK, 2015). A figura 9 representa as compostos capazes de agirem sob os receptores NPY como antagonistas.

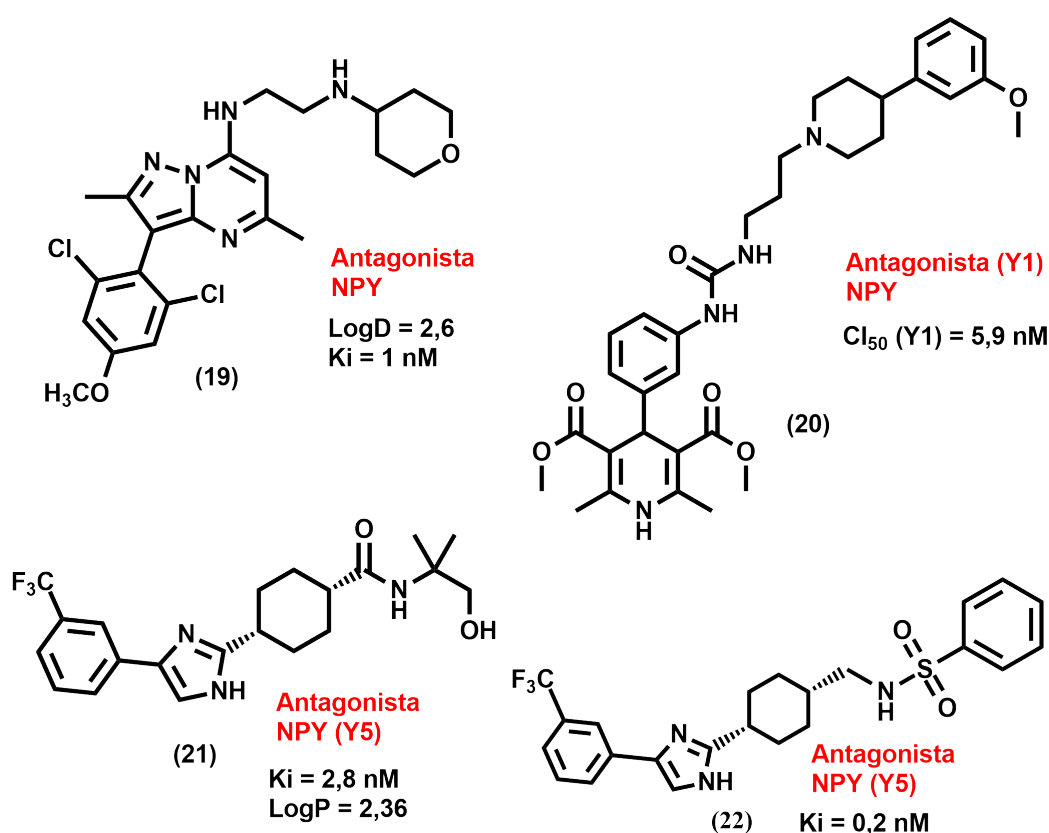


Figura 9 – Moléculas com capacidade de ação antagonista perante os receptores NPY

Fonte: Adaptado de BLUM; ZHENG, (2004) e GRIFFITH et al., (2011)

Griffith e colaboradores propuseram em estudos de estrutura e atividade o composto (19) com ação antagonista do receptor de NPY (especificamente o receptor Y1R) resultando em diminuição modesta na ingestão alimentar (GRIFFITH et al., 2011). Na estrutura (21) e (22) foram constatados que a presença de grupos retiradores de elétrons são primordiais para a atividade no receptor Y5, além disso, a amina do imidazol deve ter o N-H livre

para exercer sua atividade, visto que foi observado que quando o nitrogênio foi alquilado a interação com o receptor Y5 era fortemente atenuada (BLUM; ZHENG, 2004).

Em contraste com os expressivos valores de atividade biológica, destaca-se que efeitos colaterais foram diagnosticados em decorrência da modulação do receptor NPY. A estrutura **20**, demonstrou efeitos colaterais em virtude da interação com proteínas transmembranares carreadoras de  $\text{Ca}^{2+}$ , provocando uma diminuição drástica na ingestão de água pelo paciente obeso (ANTAL-ZIMANYI et al., 2008).

#### 1.6.4 Receptor MC4R

Uma vertente para o tratamento da obesidade consiste em adotar moléculas capazes de agirem como agonista do receptor transmembranar acoplado com proteína G denominado de receptor de melanocortina, estes receptores se encontram em maior quantidade no hipotálamo. Deve-se frisar que quando houve a supressão do receptor MC4R em ratos foi constatado aumento de tecido adiposo, hiperlipidemia, hiperinsulinemia e esteatose hepática (CAI; NYBERG; HRUBY, 2009). Logo, nota-se que adotando um ligante que tenha a capacidade de atuar como agonista do receptor MC4R efeitos positivos no tratamento da obesidade podem ser obtidos (NI et al., 2009).

As substâncias endógenas que atuam nos receptores MC4R são denominadas de  $\alpha$ -MSH ( $\alpha$ -melanocyte stimulating hormone),  $\gamma$ -MSH,  $\beta$ -endorfina e hormônio adrenal corticotrópico. As substâncias foram planejadas baseando-se no grupo farmacofórico de substâncias endógenas, como resultado, chegou-se na estrutura **(25)** mostrada pela figura 10 como uma das mais promissoras para a modulação do receptor MC4R. As estruturas **(23)** e **(24)** promoveram relevante diminuição da ingestão alimentar por 6 horas de jejum. A estrutura **(26)** se mostrou seletiva em ratos e gerou uma diminuição no tecido adiposo armazenado durante 4 dias de uso contínuo. A estrutura **(27)** apresentou melhor biodisponibilidade do que **(26)** (EMMERSON et al., 2007).

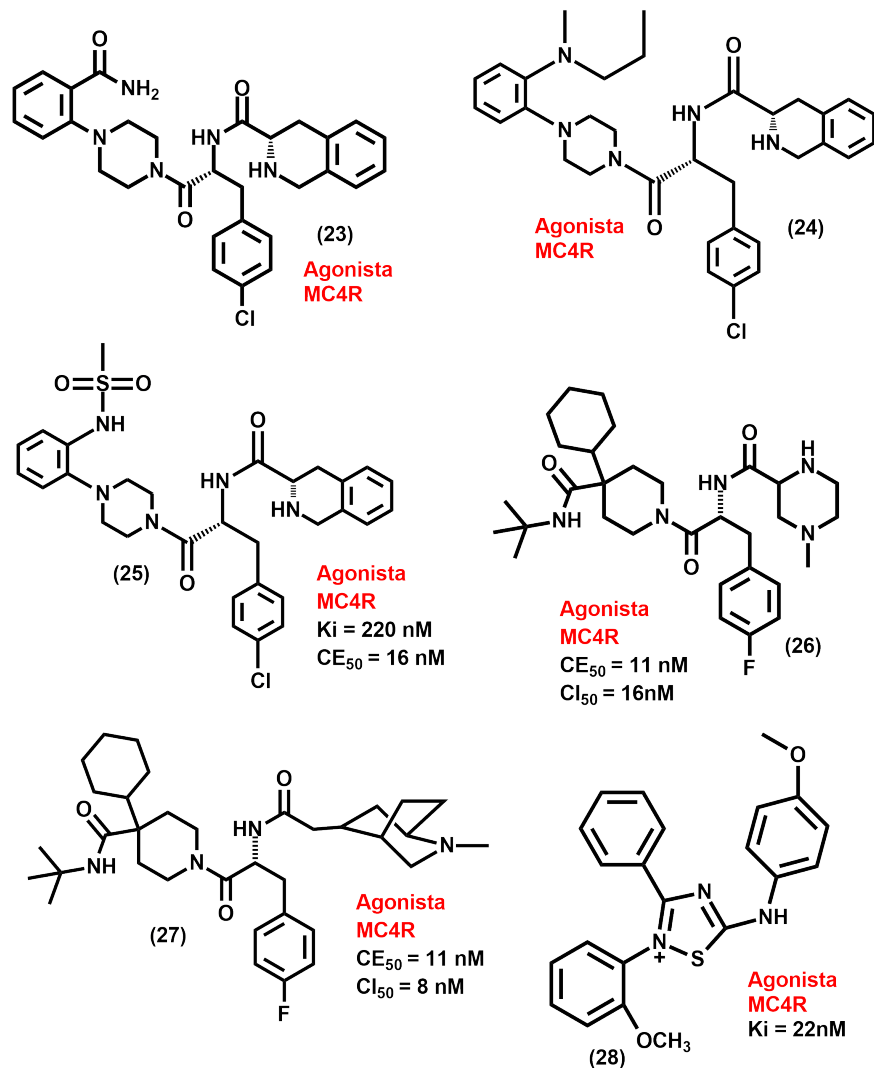


Figura 10 – Estruturas de compostos com ação agonista do receptor MC4R

Fonte: Adaptado de EMMERSON et al., (2007)

### 1.6.5 Alvos biológicos que controlam a resistência à insulina

Uma das formas de controlar a resistência à insulina é utilizando agonistas dos receptores de adiponectina, visto que este peptídeo tem ação anti-diabética, anti-termogênica, e promove o aumento da oxidação de ácidos graxos livres, bem como redução dos níveis de TAG (Triacilglicerol) no plasma sanguíneo, além de redução na resistência à insulina e na expressão de macrófagos do tipo M, atenuando a hipersensibilidade do sistema imune, contribuindo para a diminuição do estado inflamatório (OKADA-IWABU et al., 2013).

O candidato a fármaco **29** caracteriza-se como agonista dos receptores AdipoR1 e AdipoR2. O endógeno adiponectina quando se liga ao receptor R1 ativa a expressão de AMPK (Activated protein Kinase) promovendo o aumento da oxidação de ácidos graxos,

además, quando a adiponectina se liga ao receptor R2 ativa a via PPAR (Peroxisomas proliferador activado receptor) promovendo a ação anti-diabética. Destaca-se que **29** foi capaz de reduzir a gliconeogênese e a presença de proteínas pró-inflamatórias como TNF- $\alpha$ , contribuindo para o combate contra a resistência à insulina, a figura 11 representa as estruturas químicas (OKADA-IWABU et al., 2013).

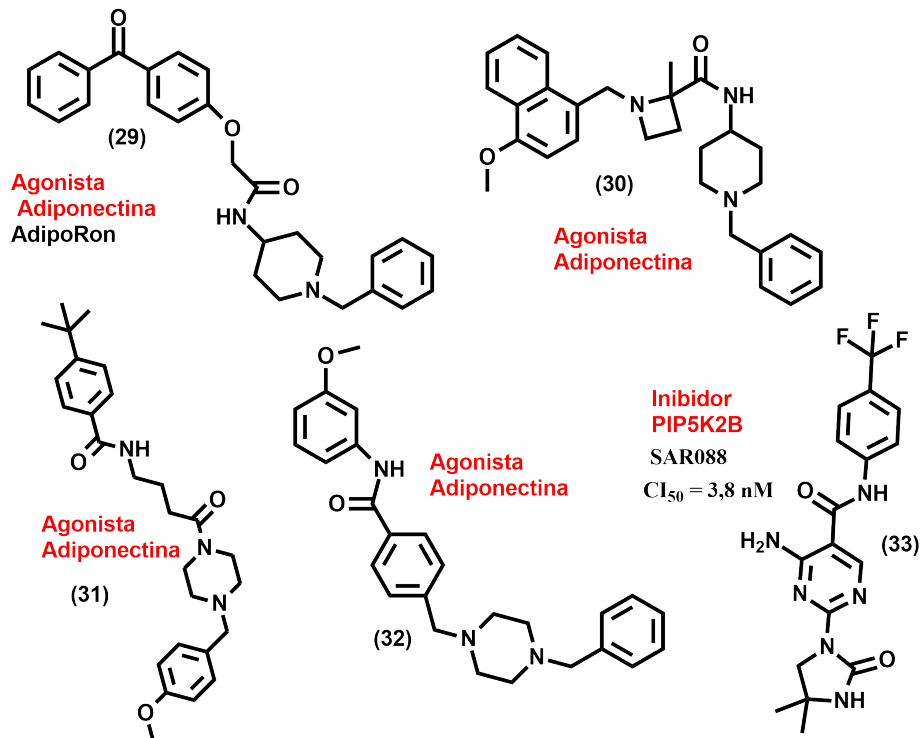


Figura 11 – Estruturas com ação nos receptores ligados ao controle da resistência à insulina

Fonte: Adaptado de VOSS et al., (2014) e OKADA-IWABU et al., (2013)

Uma abordagem alternativa para o tratamento da resistência à insulina consiste em agir no alvo que não ativa efetivamente PI3K. A enzima PIP5K2B quando inibida, resultou na redução dos níveis de glicose plasmática em ratos, contribuindo para a melhora na sensibilidade à insulina. O candidato a fármaco **30** foi capaz de agir contra a resistência à insulina (VOSS et al., 2014).

## 1.7 O sistema endocanabinoide no tratamento da fome e da obesidade

Historicamente, o sistema endocanabinoide (SEC) foi elucidado pelo estudo de mais de 60 moléculas extraídas da planta *Cannabis sativa*. Na década de 70 foi realizada a elucidação estrutural bem como a definição da configuração absoluta de uma série de

substâncias mais ativas presentes no extrato de *Cannabis sativa*. A molécula mais ativa presente no extrato foi denominada de  $\Delta^9$ -Tetrahydrocannabinol, com isso foi possível encontrar os receptores, as substâncias endógenas e as enzimas que compõem o sistema endocanabinóide (HANU; MECHOULAM, 2010).

O SEC é constituído por um conjunto de neuromoduladores (substâncias endógenas), receptores transmembranares acoplados a proteínas G, neuroproteínas, bem como enzimas que agem na degradação de substâncias endógenas que participam como agonistas ou antagonistas nos receptores biológicos. As principais substâncias endógenas que compõem o sistema endocanabinóide são AEA (anandamida) e 2-AG (aracdonoilglicerol). Ambos compostos são biossintetizados partindo-se do ácido araquidônico e esta síntese é feita sob demanda, visto que AEA (Age geralmente no receptor CB2 e em órgãos periféricos) e 2-AG (Age com maior frequência no receptor CB1 e no sistema nervoso central) agem na inibição da liberação de neurotransmissores, logo, quando produzidas exercem suas respectivas ações nos receptores CB1 e CB2 e posteriormente são rapidamente degradadas por enzimas específicas, sendo FAAH (Fatty acid amide hydrolase) responsável pela degradação de AEA e MAGL (Monoacylglycerol lipase) agindo na degradação de 2-AG (MAZIER et al., 2015).

Os receptores endocanabinóides conhecidos são CB1 e CB2, ambos estão localizados no sistema nervoso central e em órgãos periféricos como pâncreas, músculo, tecido adiposo e célula hepática, bem como em nervos periféricos terminais, no timo e em células do sistema imune. Todavia, destaca-se que grande parte dos receptores CB1 e CB2 estão localizados no hipotálamo (IANNOTTI et al., 2013). Os receptores endocanabinóides são caracterizados por serem transmembranares e acoplados à proteína G com 3 loops intracelulares, possuindo no meio intracelular a subunidade C-terminal e no meio extracelular a subunidade NH<sub>2</sub> terminal (SHARMA et al., 2014).

A ativação do sistema endocanabinóide promove a inibição de Adenil ciclase e canais de Ca<sup>2+</sup>, como consequência, haverá diminuição na conversão de ATP em cAMP (ciclo adenosine monophosphate), gerando redução na atividade da proteína kinase A (PKA), promovendo uma atenuação da fosforilação de canais de K<sup>+</sup>, como resultado haverá aumento de K<sup>+</sup> fora das células pré-sinápticas. Em consequência da redução da fosforilação e aumento de K<sup>+</sup> externo ao neurônio pré-sináptico será desencadeada a diminuição do influxo de Ca<sup>2+</sup> no axônio terminal e posterior decréscimo da excitabilidade neural, causando a diminuição da liberação de neurotransmissores (LUIS et al., 2011).

A grelina e a leptina são as principais neuroproteínas que interagem com o sistema endocanabinóide e estão relacionadas com o sistema neural POMC/NPY-AgRP, juntamente com a obesidade. Destaca-se que a leptina é capaz de diminuir os níveis de endocanabinóides endógenos agonistas dos receptores CB1 no hipotálamo, resultando em diminuição da ingestão alimentar, enquanto que quando o sistema endocanabinóide é ativado por ação de agonista há a produção de grelina, este é um hormônio que favorece o estado orexigênico, promovendo a ingestão alimentar descontrolada (MAZIER et al., 2015).

O sistema endocanabinóide, tem sido um alvo intensamente explorado para a busca de novos compostos bioativos para tratamento da obesidade. Este sistema é de suma importância para manter e reestabelecer funções fisiológicas, dentre elas a neurotransmissão de sinais, a plasticidade sináptica, transmissão da dor e o balanço energético (IANNOTTI et al., 2013).

Estudos evidenciam que há relações entre o sistema endocanabinóide, obesidade e síndrome metabólica. Os receptores CB1 exercem papel fundamental nesta associação de interferência, pois experimentos realizados por Massa et al. (2005), Rodrigues et al. (2000) e Matias et al. (2004) foram capazes de mostrar que o tratamento com antagonista do receptor CB1 foi efetivo no aumento da sensibilidade à insulina, na diminuição da lipogênese, na estimulação da termogênese e no aumento da oxidação da glicose. Ademais, foi constatado que em pacientes obesos os níveis de substâncias relacionadas ao sistema endocanabinóide é drasticamente alterado, sendo que esta alteração tem como principal característica a elevação de substâncias que agem como agonistas de CB1 (CRESPILLO et al., 2011). A figura 12 ilustra os componentes do sistema endocanabinóide.

Devido ao fato dos receptores CB1 possuírem uma parte da sequência de aminoácidos com  $\text{NH}_2$  no meio extracelular, observa-se aumento de AGEs, que desencadeia a hiperatividade do sistema imune, causando a lineração de proteínas pró-inflamatórias como:  $\text{TNF-}\alpha$  e  $\text{IL-1}\beta$ , favorecendo o estado inflamatório e alterando o equilíbrio fisiológico que os receptores CB1 modulam. Logo, nota-se que há fortalecimento da hipótese de que o aumento de carboidratos nos alimentos intensifica processos inflamatórios e os receptores CB1 participam deste processo (RAJESH et al., 2012).

Destaca-se que quando o sistema endocanabinóide é ativado em nosso cérebro ocorre o aumento de ingestão alimentar, em consequência, no tecido adiposo, haverá ativação dos receptores canabinóides que promovem aumento de lipases lipoproteicas e de substâncias inflamatórias como  $\text{TNF-}\alpha$  e  $\text{IL-6}$ , bem como atenuação nos níveis de

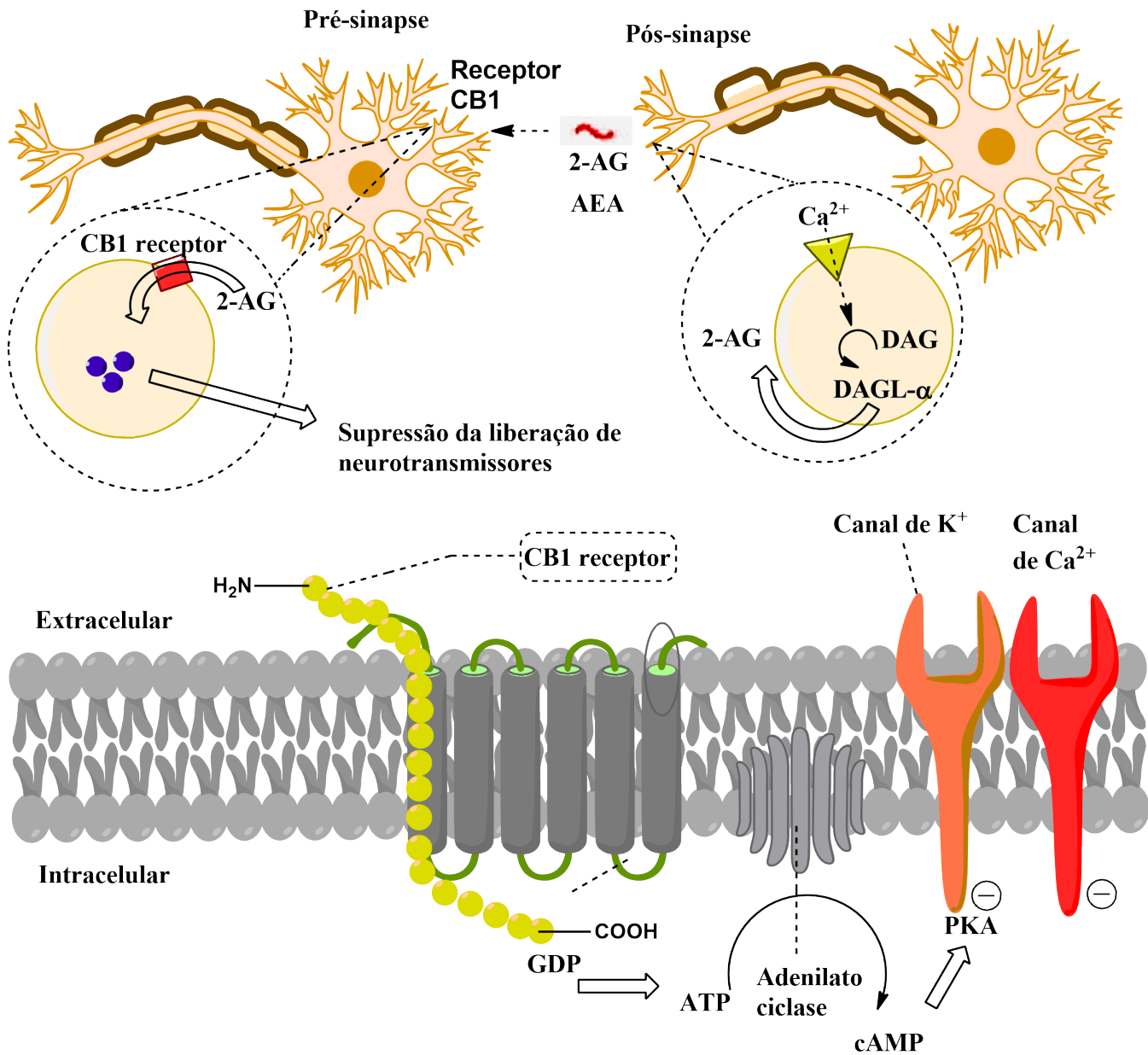


Figura 12 – Ação do sistema endocanabinóide no processo de controle da liberação de neurotransmissores contribuindo para a plasticidade neuroquímica. Destaca-se que o sinal (-) indica atenuação da resposta

Fonte: Adaptado de JANSSEN; MARIO, (2016), HANU; MECHOULAM, (2010) e MAZIER et al., (2015)

adiponectina. Ademais, nas células hepáticas ocorre aumento de: enzimas lipogênicas, ácidos graxos livres, vLDL e diminuição da tolerância a glicose, conseqüentemente, nas células musculares nota-se diminuição da sensibilidade à insulina levando a um estado de síndrome metabólica (SHARMA et al., 2014).

Em contraste, foi observado que o uso de agonistas inverso de CB1 gerou diminuição do ganho de peso e queda na ingestão alimentar, dessa forma, pode-se inferir que uma molécula com capacidade de intensificar a resposta deste receptor irá desencadear um processo de síndrome metabólica (resistência à insulina) e obesidade, enquanto que moléculas com capacidade de agirem como antagonista ou agonista inverso podem contribuir para o tratamento contra a obesidade (CRESPILLO et al., 2011).

A figura 13 representa os candidatos a fármacos que agem nos receptores CB1. Destaca-se a estrutura **(34)** que age como antagonista do receptor CB1. Este fármaco provocou em pacientes obesos, diminuição de peso, atenuação da resistência à insulina, redução dos níveis de triglicerídeos e de LDL, além de aumento de HDL e adiponectina (MASTINU et al., 2012). A ação de rimonabant no sistema nervoso caracterizou-se pela ação ativadora do sistema POMC e CART, em contraste, diminuição de ações dos neurônios NPY, promovendo um controle da ingestão alimentar (RORATO et al., 2013). Apesar da aprovação da agência europeia de fármacos em 2006, este não foi aprovado pelo FDA e em 2008 foi banido pela agência européia devido a efeitos colaterais como náusea, vômito, depressão profunda, alterações humorais, descontrole emocional e stress elevado (MOREIRA; GRIEB; LUTZ, 2009).

O composto **35** foi proposto com base no fato de que a maioria dos efeitos colaterais eram decorrentes da ação de **34** no SNC, logo foi proposto um derivado do rimonabant incapaz de atravessar a membrana hematoencefálica, fazendo com que **35** fosse capaz de agir apenas nos receptores periféricos de CB1, conseqüentemente, os efeitos colaterais de depressão profunda e instabilidade emocional foram reduzidos drasticamente. Com a finalidade de reverter o efeito colateral no sistema nervoso central o composto **37** foi proposto, notou-se a especificidade desta estrutura na ação em CB1 através de tomografia. A estrutura **40** se mostrou a mais específica ao receptor CB1 em decorrência do bromo mimetizando o cloro e também devido ao bromo ligado diretamente ao anel aromático. A estrutura **41** se mostrou efetiva sendo antagonista do receptor CB2 (SHARMA et al., 2014).

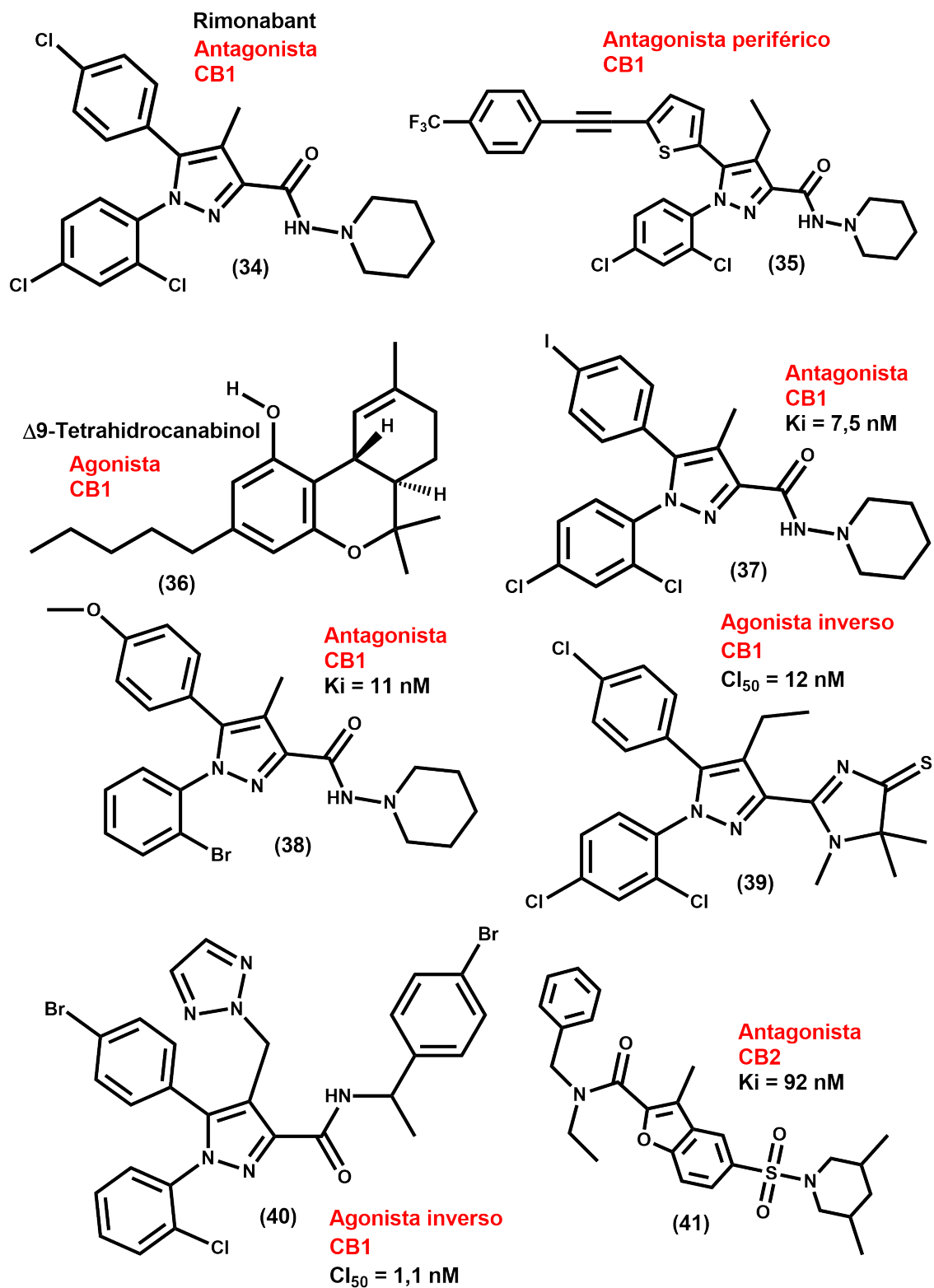


Figura 13 – Moléculas com ação nos receptores CB1 e CB2. Destaque maior para os receptores CB1 e para antagonista a este receptor

## 1.8 A enzima DAGL- $\alpha$ como alvo no tratamento da obesidade

Os lipídeos possuem a função de armazenamento energético, construção de membranas semipermeáveis e sinalização molecular. A enzima DAGL- $\alpha$  e  $\beta$  possuem como uma de suas ações, catalisarem a conversão de DAG (Diacilglicerol) para 2-MAG (Monoacilglicerol). A origem de DAG e MAG é proveniente de TG (triglicerídeos) e sabe-se que TG são transformados em glicerol e ácidos graxos quando hidrolisados sucessivas vezes. A enzima ATGL (Adipose triglyceri lipase) hidrolisa TG em DAG, posteriormente, a lipase DAGL- $\alpha$  hidrolisa DAG em MAG e ácido araquidônico (2-AG). Observa-se que as lipases estão correlacionadas com a homeostase de lipídeos nos adipócitos, músculos e células hepáticas, bem como com a regulação de insulina produzida pelas células  $\beta$  do pâncreas. Dessa forma, nota-se que as enzimas DAGL- $\alpha$  e  $\beta$  são importantes no controle dos níveis plasmáticos de lipídeos e de insulina e portanto são fundamentais no controle da obesidade e síndrome metabólica (IGLESIAS et al., 2015).

Doenças como obesidade, Alzheimer e Parkinson possuem como fator comum as alterações no sistema endocanabinóide, estas são decorrentes de elevada concentração de substâncias endógenas com ação nos receptores do tipo CB1 e CB2. A alteração da concentração no sistema nervoso central e periférico de 2AG e AEA é capaz de modificar a plasticidade do sistema nervoso central, intensificando os sintomas das respectivas doenças. Observa-se que a enzima DAGL- $\alpha$  possui um papel fundamental na biossíntese de 2AG, através da hidrólise de DAG (BISOGNO et al., 2013).

A enzima DAGL- $\alpha$  pertence à classe das hidrolases e contém o aminoácido serina como primordial para exercer sua função enzimática. Observa-se além disso a presença da tríade catalítica de aminoácidos: Ser-His-Asp são fundamentais para execução da catálise na ruptura da ligação do éster. A enzima DAGL possui duas isoformas conhecidas até o momento, elas são denominadas de DAGL- $\alpha$  e DAGL- $\beta$ . Os aspectos que diferenciam estas isoformas são fornecidos pela localização majoritária no corpo e pelo comprimento da sequência de aminoácidos na subunidade C-terminal (GARCÍA et al., 2014). Em nosso cérebro localizam-se majoritariamente enzimas DAGL- $\alpha$ , enquanto, que nos órgãos periféricos encontra-se em maior quantidade DAGL- $\beta$ . Destaca-se também que a isoforma  $\alpha$  possui cadeia lateral extensa com subunidade C-terminal, isso não está presente em  $\beta$  (JANSSEN; MARIO, 2016).

Em decorrência do fato da enzima DAGL- $\alpha$  estar em maior quantidade nos neurônios pós-sinápticos (dendritos), esta enzima é capaz de gerar 2-AG no hipotálamo, este endógeno funciona como um mensageiro retrógrado que modula a plasticidade sináptica, inibindo a produção de neurotransmissores como GABA e glutamato, provocando a diminuição da excitabilidade neural. Deve-se frisar que diversas funções neurológicas estão relacionadas com a plasticidade do sistema neural: A dor, o apetite, e a memória estão relacionados ao sistema endocanabinóide, com participação importante da enzima DAGL (JANSSEN et al., 2014).

2AG é capaz de agir como agonista do receptor CB1, conseqüentemente irá proporcionar o descontrole da ingestão alimentar, resistência à insulina, resistência à leptina, aumento de ácido graxo livre no plasma sanguíneo e diminuição da adiponectina, promovendo a presença de substâncias pró-inflamatórias, desencadeando a síndrome metabólica e a obesidade (SINGH et al., 2016). Observa-se que 2-AG é produzido sob demanda, e é degradado rapidamente por MAGL (monoacilglicerol lipase) gerando o ácido araquidônico, posteriormente, este ácido graxo pode ser convertido por ação da enzima ciclo-oxigena se em prostaglandina, sendo esta molécula uma substância pró-inflamatória, contribuindo para a inflamação do hipotálamo e resistência à leptina que culmina com o desequilíbrio fisiológico (JANSSEN et al., 2015).

Deve-se enfatizar que recentes candidatos a fármacos foram propostos para agirem na inibição da enzima DAGL- $\alpha$  e benefícios foram descobertos em pessoas portadoras de Alzheimer, Parkinson e obesidade. Resultados mostram que em ratos sem a presença das enzimas DAGL- $\alpha$  e  $\beta$  houve a redução de 80% a 50% na produção de 2-AG, resultando na atenuação da ingestão alimentar em ratos (KOHNZ; NOMURA, 2014).

Modular CB1 diretamente tem se mostrado efetivo no controle da obesidade, todavia, efeitos colaterais foram registrados devido a alterações alostéricas, estes efeitos são: Depressão, descontrole emocional, vômitos excessivos e dores de cabeça, dessa forma, a inibição da enzima DAGL- $\alpha$  é uma alternativa viável (ZOERNER et al., 2014).

Encontra-se na literatura derivados fluorofosfonados que inibem a enzima DAGL- $\alpha$ . A estrutura **42** mostrado pela figura 14 se mostrou efetiva em ensaios in vitro, porém quando testada in vivo não apresentou efeitos positivos. A possível explicação se deve a baixa estabilidade química e baixo poder de penetração na membrana plasmática. As estruturas **43** e **44** se mostraram efetivas no controle da ingestão de alimentos gordurosos, bem como valores promissores de concentração inibitória (BISOGNO et al., 2013). A estrutura

**45** se mostrou pouca específica e quando em elevada concentração foi capaz de inibir outras lipases, gerando ineficácia a este candidato a fármaco. A estrutura **46** foi capaz de inibir DAGL- $\beta$  mais especificamente do que DAGL- $\alpha$ , mostrando relativa seletividade (KOHNZ; NOMURA, 2014).

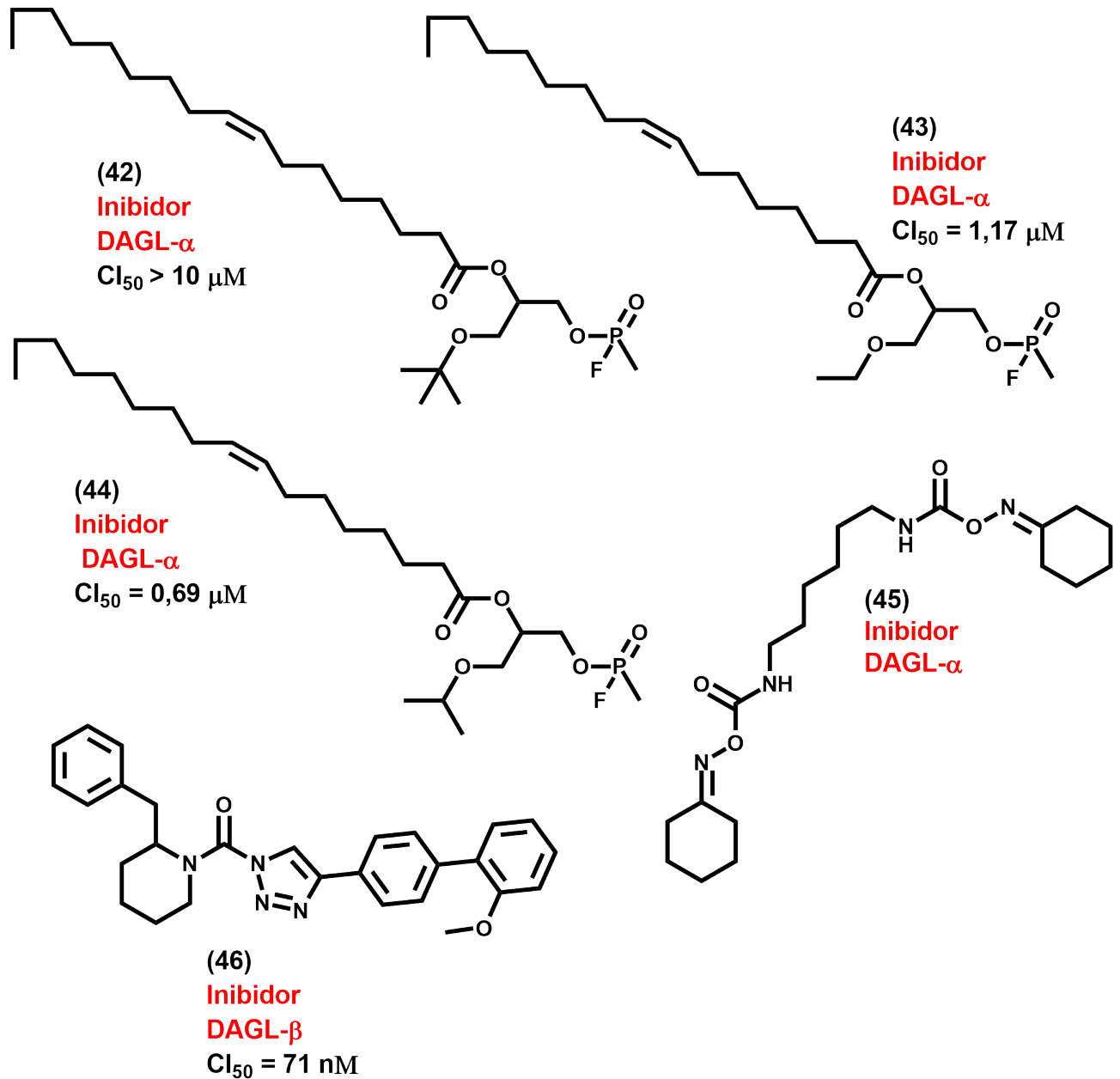


Figura 14 – Moléculas candidatas a fármacos com ação inibitória na enzima DAGL- $\alpha$  e  $\beta$

Fonte: Adaptado de KOHNZ; NOMURA, (2014)

Em 2014 foram publicadas os compostos de derivados sulfonamídicos para a inibição da enzima DAGL- $\alpha$ . A mais promissora foi a estrutura **47**, destacada pela figura 15. Através de estudos de estrutura e atividade foi possível observar que a orientação espacial

dada pelo agrupamento sulfonoamida é de suma importância para a posição espacial dos substituintes na região catalítica da enzima. Destaca-se que na região A, grupos doadores ou aceptores de elétrons podem estar presentes, este dado sugere que as interações que regem esta subunidade da molécula com a do sítio catalítico da enzima são do tipo Van der Waals. Enfatiza-se que a presença de ácido carboxílico na região B foi importante para a atividade biológica do composto **47**. Através de estudos de ancoramento molecular por homologia com a estrutura cristalográfica PDB ID:1GT6 foi sugerido que podem haver interações do tipo ligação de hidrogênio entre a região B e a (Ser472), bem como uma aproximação elevada entre a região B e (His650) (JANSSEN et al., 2014).

No ano de 2015 foram propostos compostos com padrão estrutural ceto-heterocíclo. A estrutura **49** se mostrou promissora para a inibição de DAGL- $\alpha$  e FAAH e a presença do nitrogênio básico em oxazolopyridine (B) foi fundamental para a atividade biológica. Na região A da molécula **49** foi constatada a possibilidade de haver interações de ligação de hidrogênio com um aminoácido, provavelmente (His650). Na estrutura **49** observou-se um aumento na potência do candidato a fármaco em virtude do aumento da cadeia carbônica lateral (A), aumentando o valor de logP, conseqüentemente intensificando o poder de penetração na barreira hematoencefálica (JANSSEN et al., 2015).

No ano de 2016 foram apresentadas duas novas sulfonamidas com capacidade dual de inibição de ambas isoformas de DAGL. Entretanto, **50** mostrou-se potencialmente tóxico, devido a semelhança estrutural com bifenilamina, houve a otimização para a estrutura **51**. Que apresentou boas condições farmacocinéticas. Estudos mostram que orlistat age também como antagonista do receptor do sistema endocanabinóide, a estrutura **52** mostra a alteração da ramificação iso-butil (presente no orlistat) sendo substituída por s-butil, gerando um candidato a fármaco mais potente diante das enzimas DAGL- $\alpha$  e  $\beta$  (JANSSEN; MARIO, 2016).

Dessa forma, podemos inferir que a obesidade é uma doença capaz de intensificar uma gama de patologias. Pode-se considerar que é a epidemia do século, visto que é uma das oito doenças mais difundidas no mundo segundo a OMS. Diversos países possuem impactos negativos em suas respectivas economias, visto que há gastos elevados no tratamento direto e indireto dos problemas gerados pela obesidade. A causa genética da obesidade pode ser visualizada como não primordial para o aumento expressivo de casos de obesidade no mundo, dessa forma, os aspectos ambientais foram de suma importância para o atual cenário da obesidade como uma epidemia. A presença de uma dieta rica em carboidratos

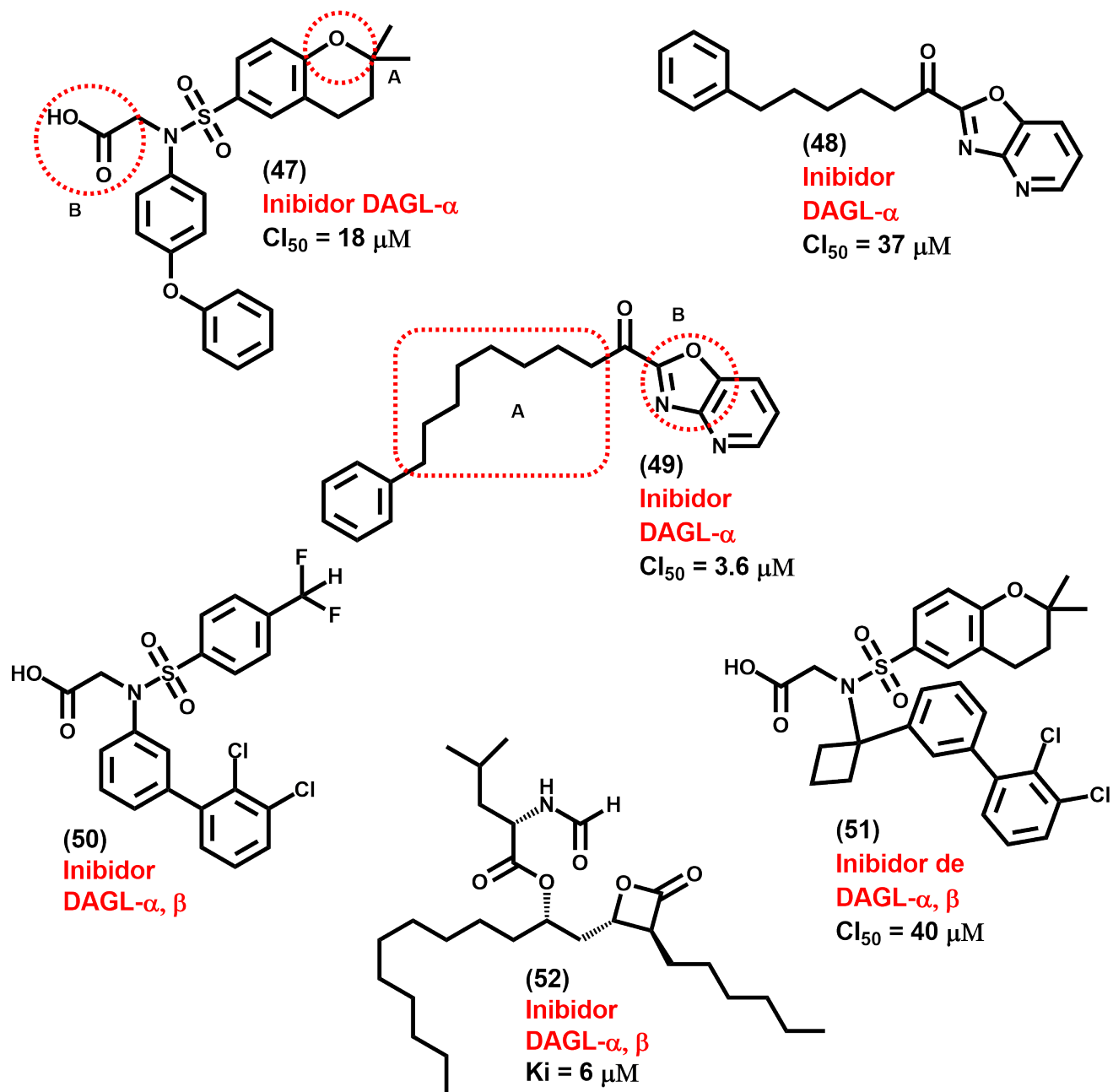


Figura 15 – Moléculas candidatas a fármacos com ação inibitória frente às enzimas DAGL  $\alpha$  e  $\beta$

Fonte: Adaptado de JANSSEN; MARIO, (2016)

fez com que os níveis de frutose e glicose no sangue sofressem drásticos aumentos, como consequência, a concentração de insulina é elevada, logo, processos bioquímicos anabólicos são favorecidos e inicia-se a formação de células do tecido adiposo.

Os adipócitos possuem traços evolutivos de células do sistema imune, logo, são capazes de intensificar processos inflamatórios, ademais, destaca-se que a dieta rica em carboidratos confere maior probabilidade de reações de glicação ocorrerem, como consequência há maior tendência de processos inflamatórios ocorrerem provocando resistência à insulina, que se resume a dificuldade de entrada da glicose em decorrência da presença de macrófagos. Sugere-se neste trabalho de pesquisa que a resistência à insulina pode promover a resistência à leptina, desencadeando os variados problemas da obesidade.

Observa-se que o controle neuroquímico da saciedade é uma via interessante no controle da obesidade. Acredita-se que a modulação da fome é uma possibilidade viável de tratamento, visto que com esta vertente pode-se evitar a formação de novas células adiposas viscerais capazes de intensificarem processos inflamatórios crônico. O alvo CB1 se mostrou promissor no controle da fome, porém, efeitos colaterais fizeram deste alvo uma alternativa inviável. DAGL- $\alpha$  passou a ser a uma valiosa alternativa enzimática para o controle do processo de ingestão alimentar, visto que é capaz de agir contra a resistência à insulina e contra a inflamação desencadeada por tecidos adiposos viscerais, dessa forma podendo contribuir para a reversão do estado inflamatório e de descontrole alimentar.

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 Geral

- Planejamento estrutural e síntese de 12 derivados de padrão estrutural ftalimídico, baseando-se na estrutura de um protótipo proposto por Jassen e colaboradores, com atividade inibitória frente à enzima sn-1-Diacil glicerol Lipase  $\alpha$  (DAGL- $\alpha$ ).

### 2.2 Específicos

- Definição de uma rota sintética viável para obtenção dos derivados ftalimídicos planejados;
- Avaliação farmacológica e análise da relação estrutura atividade frente à enzima DAGL- $\alpha$ .

### 3 PLANEJAMENTO ESTRUTURAL

O planejamento estrutural dos compostos de padrão estrutural ftalimídico se baseia no trabalho de Janssen e colaboradores (2014), conforme podemos observar na figura 16

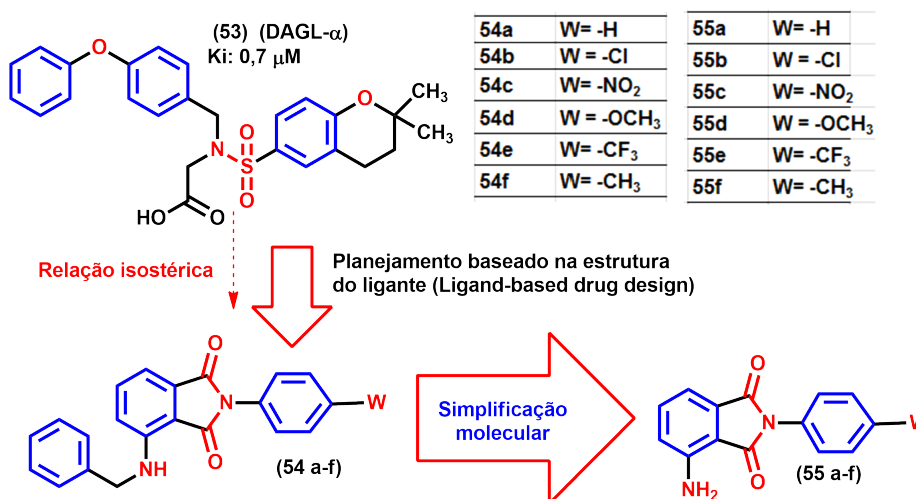


Figura 16 – Planejamento estrutural dos derivados ftalimídicos

Fonte: Adaptado de JANSSEN et al., (2015)

O planejamento estrutural foi realizado a partir da sulfonamida **53**. Destaca-se que as três subunidades aromáticas em azul foram mantidas nos derivados ftalimídicos **54 a-f**. Ademais, visualiza-se em vermelho uma relação de isosterismo não clássico entre as funções orgânicas sulfonamida e imida cíclica (Ftalimida).

Os sítios aceptores de ligação de hidrogênio na molécula **53**, destacados em vermelho, foram mantidos nos 12 derivados ftalimídicos. Variações estruturais representadas pela letra W foram propostas com o objetivo de verificar o comportamento de grupos retiradores e doadores de elétrons frente à atividade na DAGL- $\alpha$ , bem como averiguar os efeitos estéricos gerado pelos substituintes. Além disso, as variações estruturais foram utilizadas para aumentar o número de sítios aceptores de ligação de hidrogênio nos derivados ftalimídicos (**54c**, **54d** e **54e**). Portanto, os critério para a escolha dos substituintes W foram a acessibilidade das anilinas obtidas comercialmente, a possibilidade de variações estéreo-eletrônicas, bem como a oportunidade de visualizar alterações na atividade biológica frente à presença de grupos aceptores de ligação de hidrogênio.

Posteriormente, foi utilizada a estratégia de simplificação molecular com a justificativa de analisar a importância do grupo benzila para a atividade biológica, dessa forma, sete derivados ftalimídicos simplificados (**55a-f**) foram propostos.

## 4 ANÁLISE RETROSSINTÉTICA

Por meio da desconexão da ligação C-N em **54** foi possível obter os precursores **55** e **56**. Em seguida, duas desconexões simultâneas das ligações C-N em **55** resultaram nos equivalentes sintéticos **57** e **58**. Por fim, duas interconversões de grupos funcionais (IGF) sucessivas foram executadas para obter o reagente **60**.

A figura 17 representa a análise retrossintética. Deve-se enfatizar que as variações estruturais serão obtidas com o uso das anilinas *para* funcionalizadas (**57a-f**). Outro aspecto importante é que o material de partida **60** se caracteriza como sendo barato, acessível e quimicamente estável.

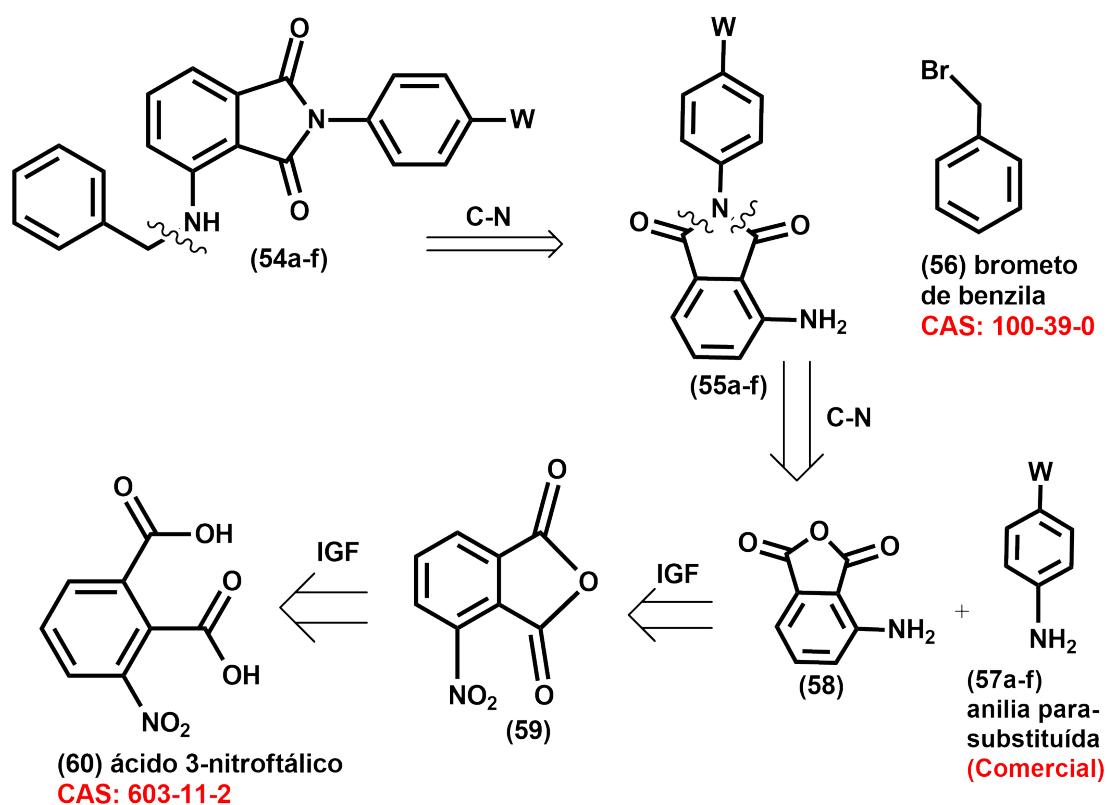


Figura 17 – Análise retrossintética para obtenção dos derivados ftalimídicos **54** e **55**

## 5 MATERIAIS E MÉTODOS

### 5.1 Rota sintética adotada para obtenção do derivado ftalimídico (54c)

A síntese do derivado ftalimídico **54c** iniciou-se com o ácido 3-nitroftálico **69** sendo submetido a refluxo em anidrido acético por 16 horas. O anidrido 3-nitroftálico obtido (**61**) sofreu hidrogenação catalítica com carbono impregnado com paládio (3%) resultando em **58**. O produto da redução, o anidrido 3-aminoftálico (**58**) foi colocado em refluxo por 7,5 horas em ácido acético glacial e *p*-nitroanilina (**57c**). Para finalizar a rota sintética, o composto 3-amino-*N*-(*p*-nitrofenil)-ftalimida (**55c**) foi solubilizado em DMF (Dimetilformamida), juntamente com brometo de benzila (**56**), para a formação do composto (**54c**). A figura 18 representa as quatro etapas reacionais.

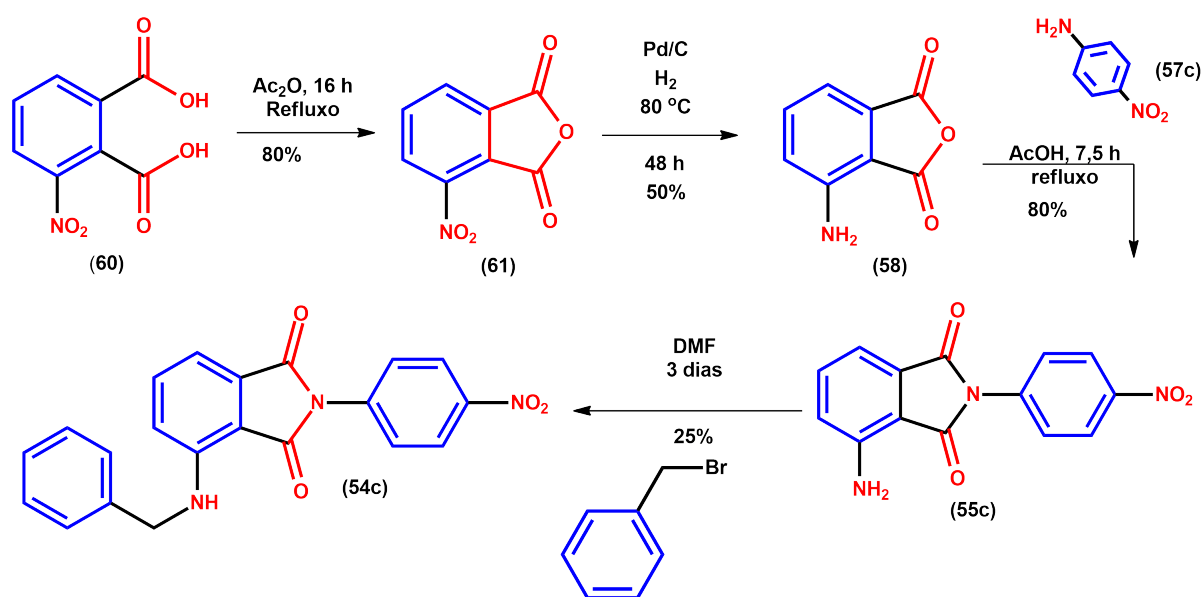


Figura 18 – Rota sintética com quatro etapas

### 5.2 Purificação dos produtos e monitoramento do andamento das reações

Para purificação dos compostos obtidos em escala de 90 a 500 mg foi necessária à aplicação de cromatografia em coluna em sílica gel (Sigma Aldrich, tamanho de partícula 0,040–0,063 mm e diâmetro de poro de 6 nm). Para as separações em escala de 50 a 80

mg foi utilizada a cromatografia em camada delgada preparativa, as placas de sílica gel possuíam indicador de fluorescência UV<sub>254nm</sub>, tamanho de partícula de 5-50  $\mu m$

O monitoramento das reações ocorreu com aplicação da cromatografia em camada fina (CCF) em placas com reveladores sensíveis a radiações de 254  $nm$  e 365  $nm$

### 5.3 Caracterização com técnicas espectroscópicas

Os espectros de RMN de  $^1H$  e  $^{13}C$  foram obtidos no espectrômetro de RMN Varian INOVA operando em frequência de 300  $MHz$  para os núcleos de hidrogênio e 75  $MHz$  para os átomos de carbono ( $^{13}C$ ). Para obtenção dos espectros de infravermelho foi utilizado o equipamento FT-IV da Vertex-70 com detector DLaTGS, com o modo ATR selecionado. Para processamento dos dados de infravermelho foi selecionado o software Origin 8. Os espectros de RMN foram processados com o software MestreNova 6.0.2 e para facilitar a discussão dos resultados, os espectros das moléculas apresentam a estrutura numerada. A numeração adotada está em concordância com a ordem das reações orgânicas utilizadas na rota sintética e com o princípio da IUPAC de menor numeração para substituintes em anel aromático.

### 5.4 Determinação da pureza das moléculas obtidas

Foi utilizado o cromatógrafo líquido shimadzu, bombas modelo LC-20AT, com detector de arranjo de diodos UV-DAD modelo SPD-M20-A, injetor automático modelo SIL-20A, comunicador modelo CBM 20A e a aquisição de dados foram realizadas com o software LC Solution versão 1.23-SP. A coluna utilizada foi da marca Phenomenex C-18, com dimensões de 250 $mm$  x 4,6 $mm$ .

### 5.5 Estimativa dos valores de LogP e pKa

Para determinação de logP e pKa das moléculas apresentadas no trabalho foi necessário acessar o site do Scifinder, em seguida, na barra de ferramentas localizada à esquerda, selecionou-se “Chemical Structure”. Ao desenhar as moléculas de interesse, foi escolhida a opção “Key Physical properties” e posteriormente, clicou-se no CAS da substância. Uma nova página foi aberta, nesta, selecionamos a opção “Predicted properties”

e “Chemical”. Com este procedimento foi possível obter os valores de LogP e pKa. Deve-se frisar que os valores foram calculados utilizando o software ACD LABs (Advanced Chemistry Development (ACD/Labs) com a versão 11.02.

## 5.6 Metodologias para obtenção dos derivados ftalimídicos

### 5.6.1 Metodologia para obtenção do anidrido 3-nitroftálico (61)

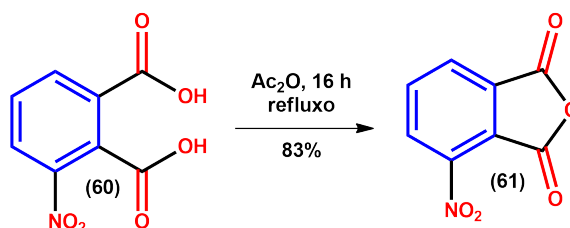


Figura 19 – Reação de desidratação do ácido 3-nitroftálico (60), adaptado de Lawrance, A. W. (1920).

Foram utilizados 300,5 mg (1,42 mmol) de ácido 3-nitroftálico (60) e 2 mL de anidrido acético. A mistura reacional foi adicionada em um balão de 5 mL e submetida a refluxo por 16 horas. O isolamento iniciou-se com a adição de acetato de etila para remoção do excesso de ácido acético formado no meio reacional sob pressão reduzida, este processo foi repetido cinco vezes. Posteriormente, uma solução saturada de bicarbonato de sódio (pH calculado em 9 utilizando a solubilidade e o valor de Ka) foi preparada para a realização da extração quimicamente ativa. A fase orgânica foi coletada e submetida a uma nova extração com solução saturada de NaCl (brine).

Ao final, a fase orgânica foi seca com sulfato de sódio anidro e o solvente foi removido sob pressão reduzida. Um sólido marrom foi obtido em rendimento de 83%; PF= 170-172 °C,  $R_f = 0,15$  em 80% (AcOEt:Hexano).

**RMN de <sup>1</sup>H a 300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub> (δ-ppm):** 8,4 (1H, dd,  $J^3 = 8,2$  Hz,  $J^4 = 0,2$  Hz); 8,32 (1H, d,  $J^3 = 7,8$  Hz) e 7,86 (1H, t,  $J^3 = 8,1$  Hz). **IV (ATR, cm<sup>-1</sup>):** 3104, 1853, 1743, 1783, 1543, 1343 e 894.

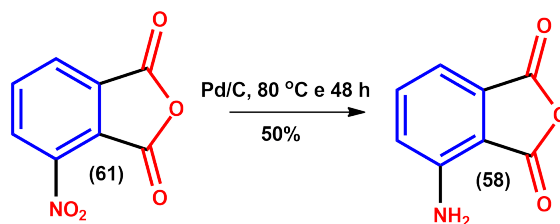


Figura 20 – Reação de redução do grupo nitro de **61** para aquisição de **58**

### 5.6.2 Reação de hidrogenação do grupo nitro para obtenção do anidrido 3-aminoftálico (**58**)

300 mg de anidrido 3-nitroftálico (**61**) foram adicionados em um balão de 50 mL, juntamente com 400 mg de catalisador de Pd-C (3%, Sigma Aldrich) e 400 mg de sulfato de sódio. Foi adicionado ao sistema o agitador magnético e em seguida 2 mL de dioxano anidro (Sigma Aldrich). Posteriormente o sistema reacional foi saturado com atmosfera inerte (N<sub>2</sub> e Ar).

Após saturação com atmosfera inerte o sistema foi lacrado e submetido a temperatura na faixa de 76 a 80 °C. Em seguida, o hidrogênio foi injetado em fluxo contínuo, com pressão de 1,75 *Psi*. O sistema foi submetido a estas condições por 48 horas.

O processo de purificação se iniciou com filtração a vácuo sendo o mineral celite utilizado como auxiliar filtrante. Posteriormente, o acetato de etila foi utilizado para remoção do solvente dioxano, para isso foram necessárias cinco adições de 10 mL de acetato de etila e remoção da mistura dos solventes no rotaevaporador. O produto foi purificado por cromatografia em coluna, para isso, utilizou-se como eluente 6:3 (AcOEt:Hexano). Ao final do processo um sólido amarelo foi obtido com rendimento de 50 %. PF= 188-190 °C e R<sub>f</sub>= 0,15 em 2:1 (AcOEt:Hexano).

RMN de <sup>1</sup>H a 300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub> (δ- ppm): 7,57 (1H, t, J<sup>3</sup>= 8,2 Hz); 7,10 (2H, dd, J<sup>3</sup>= 7,7 Hz e J<sup>4</sup>= 5,8 Hz) e 6,81 (1H, s). IV (ATR, cm<sup>-1</sup>): 3452, 3342, 1753, 1300 e 1250.

### 5.6.3 Reação para obtenção do composto 3-amino-*N*-(*p*-nitrofenil)-ftalimida (**55c**) - CYOJ3

140 mg (0,85 mmol) de anidrido 3-aminoftálico (**58**) foram adicionados em um balão de reação de 10 mL, juntamente com 137 mg (0,99 mmol) de *para*-nitroanilina (**57c**).

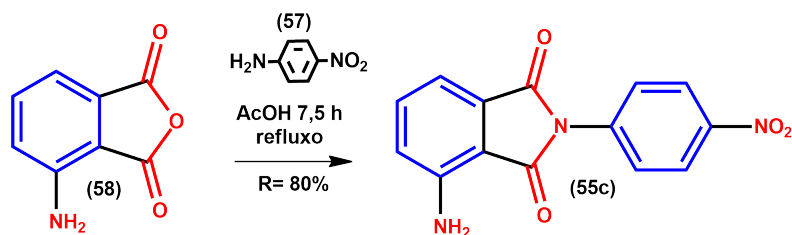


Figura 21 – Reação de formação da imida cíclica **55c**

Ambos sólidos foram dissolvidos em 5,3 mL de ácido acético glacial. Para evitar ebulição descontrolada no refluxo foi adicionado o agitador magnético, em seguida o sistema foi submetido a refluxo por 7,5 horas.

O processo de purificação se iniciou com adição de 2,5 ml de água destilada (MiliQ) e em seguida 2,5 ml de uma solução saturada de bicarbonato de sódio. O sólido formado foi filtrado sob pressão reduzida com o uso de funil de Büchner e em seguida foi direcionado para a bomba de alto vácuo para completa secagem. O rendimento foi de 80%. O Sólido obtido se apresentou com cor amarela escura.  $R_f = 0,73$  (8:2 AcOEt:Hexano).

**RMN de  $^1\text{H}$  a 300 MHz, DMSO- $d_6$  ( $\delta$ - ppm):** 8,37(1H, d,  $J^3 = 9,1$  Hz); 7,79 (1H, d,  $J^3 = 9,1$  Hz), 7,52 (1H, t,  $J^3 = 8,1$  Hz), 7,08 (1H, t,  $J^3 = 7,3$  Hz) e 6,64 (1H, s).

**RMN de  $^{13}\text{C}$  a 75 MHz, DMSO- $d_6$  ( $\delta$ - ppm):** 147,65 (q); 108,9 (q); 132,12 (q); 111,74; 136,13; 122,27; 166,9 (q); 168,06 (q); 138,52; 127,74; 124,54; 146,2; 124,2 e 127,03.

**IV (ATR,  $\text{cm}^{-1}$ ):** 3482, 3372, 1703 e 1333.

#### 5.6.4 Reação para obtenção do nitroderivado (**54c**) - CYOJ4

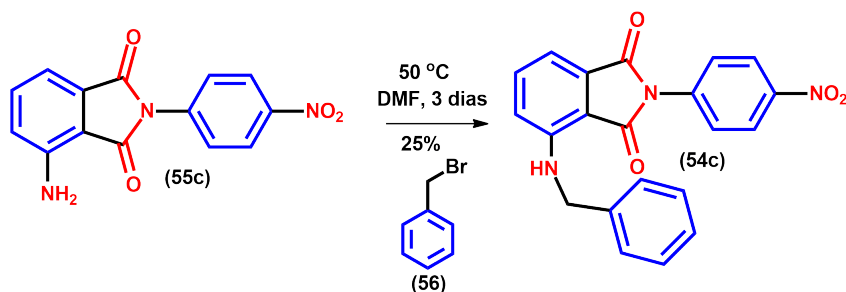


Figura 22 – Reação de alquilação de **55c** para aquisição do composto **54c**

Inicialmente 101,6 mg (0,35 mmol) de 3-amino-*N*-(*p*-nitrofenil)-ftalimida (**55c**) e 47,3 mg (0,65 mmol) de bicarbonato de sódio foram pesados e inseridos em um balão de 5 mL. Posteriormente, foram adicionados 1,5 mL de DMF. O sistema foi submetido a um

banho de óleo e aquecido até 50 °C. Após 4 horas, sob agitação constante foram inseridos 0,03 mL (0,25 mmol) de brometo de benzila, este foi adicionado gota a gota.

O processo de purificação iniciou-se após 72 horas de reação, após completo consumo do material de partida constatado por CCF. Foi adicionada 5 ml de água destilada e a presença de um sólido foi evidenciada, este foi filtrado em funil de Büchner. O produto foi purificado por cromatografia em coluna com o eluente 5:5 (AcOEt:Hexano).

O produto obtido (**54c**) caracterizou-se como um sólido de coloração amarela, bem como granulometria fina. O rendimento foi de 25%,  $R_f = 0,54$  em 6:4 (Hexano:AcOEt).

**RMN de  $^1\text{H}$  a 300 MHz,  $\text{CDCl}_3$  ( $\delta$ - ppm):** 8,37 (1H, d,  $J^3 = 9,2$  Hz); 7,78 (1H, d,  $J^3 = 9,2$  Hz); 7,59-7,49 (1H, m); 7,28 (3H, m); 6,93 (1H, d,  $J^3 = 8,5$  Hz) e 4,58 (1H, d,  $J^3 = 5,9$  Hz).

**RMN de  $^{13}\text{C}$  a 75 MHz,  $\text{CDCl}_3$  ( $\delta$ - ppm):** 147,65 (q); 108,9 (q); 132,12 (q); 111,74; 136,14; 122,27; 166,9 (q); 168,06 (q); 137,87; 126,01; 124,14; 146,0; 124,1; 127,03; 46,79; 137,8 (q); 126,94; 128,96; 127,75; 128,96 e 126,94.

**IV (ATR,  $\text{cm}^{-1}$ ):** 3394, 1711 e 1333.

### 5.6.5 Reação para obtenção do derivado ftalimídico de Anilina (**55a**) - C<sub>Y</sub>OJ3.1

Adicionou-se em um balão de 10 ml, 100 mg de anidrido 3-aminoftálico juntamente com 0,06 ml de anilina coletada em uma seringa de capacidade total equivalente a 1 ml. Posteriormente, foram adicionado 4 ml de ácido acético glacial. O sistema reacional foi acoplado a um condensador e um sistema de refluxo foi montado. O tempo de refluxo foi de 5,5 horas, após este tempo de refluxo o sistema foi colocado em banho de gelo e um precipitado branco foi constatado. O sólido formado em solução possuía uma cor amarelo-mostarda quando isolado, entretanto, em solução, aparentava-se branco.

Para o processo de isolamento, foram adicionados 5 ml de água destilada resfriada, a adição ocorreu de forma lenta. Posteriormente, 5 ml de uma solução saturada de bicarbonato de sódio foi adicionada, isto com o objetivo de aumentar a polaridade da fase aquosa de modo a favorecer moléculas orgânicas se deslocarem para a fase orgânica preferencialmente. Notou-se que houve liberação de  $\text{CO}_2$ , devido a isto, evitou-se adicionar rapidamente o  $\text{NaHCO}_3$ . O precipitado formado foi filtrado com funil de Büchner e seco em bomba de alto vácuo.

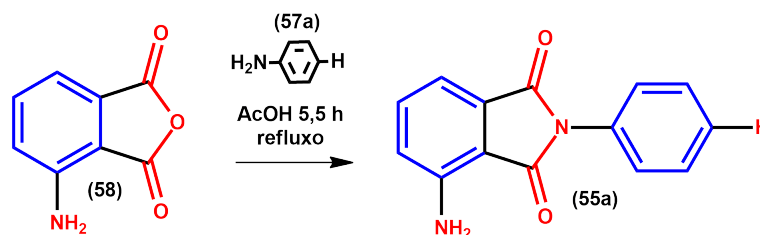


Figura 23 – Reação de formação da ftalimida, partindo-se da anilina

RMN de  $^1\text{H}$  a 300 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$  ( $\delta$ - ppm): 7,06 (1H, t,  $J^3 = 7,3$  Hz); 7,39-7,47 (3H, Multipeto); 7,47-7,53 (3H, Multipeto) e 6,56 (2H, s).

### 5.6.6 Reação para a obtenção de 4-(benzilamino)-2-fenilisoindolina-1,3-diona (54a) - CYOJ4.1

Em um balão de reação de 10 ml foram pesados 57,8 mg de bicarbonato de sódio e 82 mg de 3-amino-*N*-fenil-ftalimida (0,34 mmol), ambos forma dissolvidos em 2 ml de DMF, em seguida 0,03 ml (0,30 mmol) de brometo de benzila foi adicionado ao meio reacional lentamente. Foi constatado que a coloração inicial da solução era amarela e com o decorrer do tempo passou a apresentar traços verdes. A temperatura foi controlada em 50 °C e o tempo de reação foi de 72 horas até consumo total de brometo de benzila constatado via CCD.

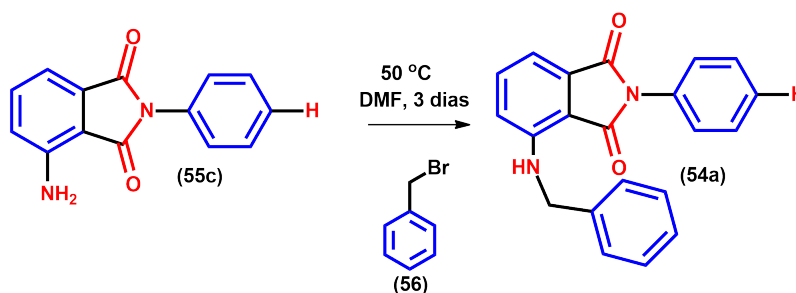


Figura 24 – Reação de formação da ftalimida, partindo-se da anilina

O processo de isolamento iniciou-se com adição de água destilada (5 ml) e uso do acetato de etila como solvente extrator, a fase orgânica foi coletada e uma solução saturada de NaCl foi utilizada para retirar resíduo de água na fase orgânica, além disso, utilizou-se sulfato de sódio seguido de remoção do solvente por rotaevaporador. Finalmente, o líquido proveniente da rotaevaporação foi colunado com eluente 8,5:1,5 (Hexano:AcOEt). Ao final do processo, um sólido amarelo intenso foi obtido. Destaca-se que houve dificuldade para

solificação do composto, porém quando resfriado a 0 °C por 2 dias foi possível constatar a formação do sólido. O valor de conversão desta reação foi de 19%. Destaca-se que quando dissolvido em clorofórmio apresenta acentuada fluorescência.

**RMN de  $^1\text{H}$  a 300 MHz,  $\text{CDCl}_3$  ( $\delta$ - ppm):** 8,37 (1H, d,  $J^3 = 9,2$  Hz); 7,78 (1H, d,  $J^3 = 9,2$  Hz); 7,59-7,49 (1H, m); 7,28 (3H, m); 6,93 (1H, d,  $J^3 = 8,5$  Hz) e 4,58 (1H, d,  $J^3 = 5,9$  Hz).

### 5.6.7 Reação para obtenção da ftalimida com o grupo metoxila- Síntese de 4-amino-2-(4-metoxifenil)isoindolina-1,3-diona (55d) - CYOJ3.2

Em um balão de reação de 5 ml foram adicionados 28 mg de anidrido-3-aminoftálico (0,176 mmol) e 42,56 mg de parametoxi-anilina (0,345 mmol), ambos os sólidos foram dissolvidos em 2 ml de ácido acético glacial. A mistura reacional formada era heterogênea e com coloração marrom. O sistema foi submetido a refluxo por 10 horas. Posteriormente ao refluxo, iniciou-se o processo de isolamento com resfriamento do balão e adição de 5 ml de água destilada, foi observado a formação de precipitado amarelo cor de palha, este sólido foi filtrado com funil de Büchner e seco em bomba de alto vácuo (75% de conversão). A fase aquosa apresentou cor violeta e foi extraída com acetato de etila, em seguida a fase orgânica foi submetida a extração com solução saturada de NaCl e posteriormente sulfato de sódio. Ao final do processo de isolamento, utilizou-se o rotaevaporador para remoção do acetato de etila. A coluna foi utilizada para purificação do sólido amarelo palha formado, para isso, adotou-se como eluente 8:1:1 (Hexano:AcOEt:CHCl<sub>3</sub>).

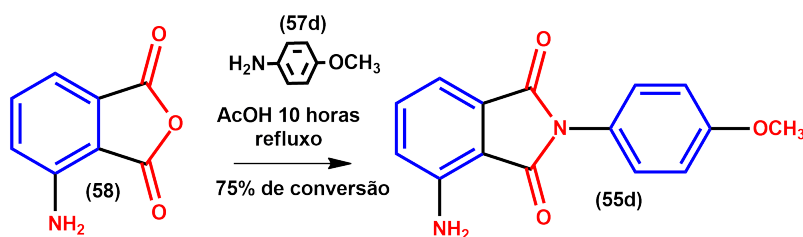


Figura 25 – Reação de formação da ftalimida, partindo-se da para-metoxi-anilina

**RMN de  $^1\text{H}$  a 300 MHz,  $\text{CHCl}_3$  ( $\delta$ - ppm):** 3,8 (3H,s); 5,32(2H,s); 6,92(1H, d,  $J^3 = 8,29$  Hz), 7,03 (2H, dd,  $J^3 = 8,9$  Hz); 7,24-7,35 (4H, Multiplete) e 7,49 (1H, t, 7,6 Hz).

### 5.6.8 Reação para obtenção de 4-(benzilamino)-2-(4-metoxifenil) isoindolina-1,3-diona (54d) - CYOJ4.2

74 mg de ftalimida metoxilada (**55d**) (0,175 mmol) foram adicionadas em um frasco de reação de 10 ml, juntamente com 46,33 mg de bicarbonato de sódio (0,55 mmol). Ambos sólidos foram dissolvidos em 3 ml de DMF, em seguida 40  $\mu$ L de brometo de benzila (0,33 mmol) foram adicionados com uma micropipeta e posteriormente o sistema foi submetido a atmosfera inerte. Após 15 horas de reação foi realizada CCD e observado que havia ocorrido o total consumo do brometo de benzila, dessa forma, iniciou-se o processo de isolamento com adição de água destilada. Foi registrada a formação de precipitado amarelo mostarda, este foi filtrado com funil de Büchner, a fase aquosa foi extraída com acetato de etila e colunada com eluente 9:1 (Hexano:AcOEt). O rendimento da reação foi de 7%.

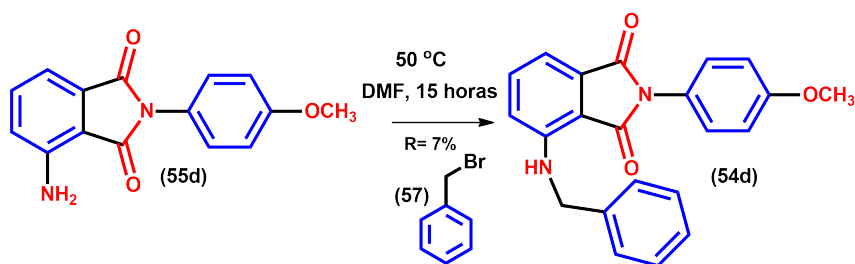


Figura 26 – Reação de alquilação da ftalimida para-metoxi-anilina

**RMN de <sup>1</sup>H a 300 MHz, CDCl<sub>3</sub> ( $\delta$ - ppm):** 3,86 (3H, s); 4,56 (2H, d,  $J^3 = 5,8$  Hz); 5,11 (1H, s); 6,87 (1H, d,  $J^3 = 7,4$  Hz); 7,02 (2H, d,  $J^3 = 9,4$  Hz); 7,19 (1H, d,  $J^3 = 6$  Hz); 7,27-7,38 (7H, Multiplete) e 7,45 (1H, t,  $J^3 = 7,2$ Hz).

### 5.6.9 Reação para obtenção do 4-amino-2-(4-clorofenil)isoindolina-1,3-diona (55b) - CYOJ3.3

33 mg de para-cloroanilina (0,258 mmol, sólido branco) foram dissolvidas em 1,5 ml de ácido acético, juntamente com 31,7 mg de 3-anidrido 3-aminoftálico (0,194 mmol). O sistema foi submetido a refluxo por 10 horas. Posteriormente, adicionou-se água destilada e em seguida gotas de bicarbonato de sódio (5 ml). O precipitado formado foi filtrado em funil de Büchner e em seguida encaminhado para a bomba de alto vácuo para secagem. A fase aquosa foi extraída com acetato de etila, em seguida extraída com solução saturada de NaCl, seguido de adição de sulfato de sódio e finalmente secagem na bomba

de alto vácuo. O sólido formado foi submetido a coluna cromatográfica com eluente 6:3:1 (Hexano:Diclorometano:Clorofórmio). O rendimento da reação foi de 22,30%.

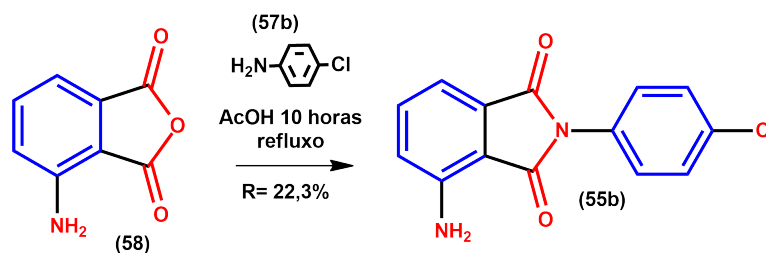


Figura 27 – Reação de formação da ftalimida com a para-cloroanilina

**RMN de  $^1\text{H}$  a 300 MHz,  $\text{CHCl}_3$  ( $\delta$ - ppm):** 5,33 (1H, s); 6,92 (1H, d,  $J^3 = 8,4$  Hz); 7,24 (1H, d,  $J^3 = 9,3$  Hz), 7,38-7,45 (4H, Multipleteo), 7,48 (1H, d,  $J^3 = 9\text{Hz}$ ).

**RMN de  $^{13}\text{C}$  a 75 MHz,  $\text{CDCl}_3$  ( $\delta$ - ppm):** 110,7(q); 113; 135; 121,37; 130,3 (q); 133,24 (q); 133,48 (q); 167 (q); 168 (q); 145; 127,6 (2C) e 129,2 (2C).

#### 5.6.10 Reação para obtenção do 4-(benzilamino)-2-(4-clorofenil)-isoindolina-1,3-diona (54b) - CYOJ4.3

O frasco de reação de 5 ml foi seco para retirar toda a água, para isso utilizou-se o secador com emissão de vapor com temperatura elevada o banho foi preparado e estabilizado em 50 °C, o bicarbonato de sódio (17,48 mg) foi seco em mulfa a 140 °C e resfriado em dissecador com bomba de alto vácuo e colocado no balão de reação, juntamente com 37 mg de cloroftalimida (**55b**) (0,13 mmol).

O brometo de benzila (10,4  $\mu\text{L}$ , 0,1 mmol) foi adicionado em 1 ml de DMF sob atmosfera inerte. A reação foi processada em 17 horas sob atmosfera inerte. A purificação iniciou-se com adição de água destilada, posteriormente uma extração com acetato de etila foi realizada. Uma solução saturada de NaCl foi adotada para o efeito salting-out seguida da adição de sulfato de sódio como agente secante. A fase orgânica foi concentrada com o uso do rotaevaporador e um sólido amarelo foi obtido. Este sólido foi submetido a cromatografia em coluna com eluente 7:2:1 (Hexano: Clorofórmio: AcOEt). O rendimento do processo foi de 19 %.

**RMN de  $^1\text{H}$  a 300 MHz,  $\text{CHCl}_3$  ( $\delta$ - ppm):** 4,45 (2H, d,  $J^3 = 6\text{Hz}$ ); 4,54 (1H, s); 6,78 (2H, d,  $J^3 = 8,7$  Hz); 7,09 (1H, d,  $J^3 = 7,1$  Hz) e 7,17-7,42 (9H, Multipleteo).

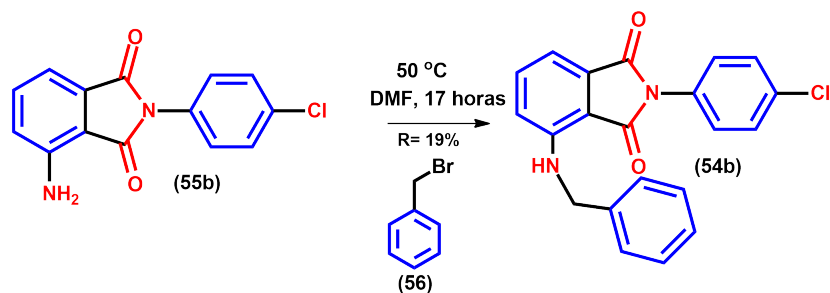


Figura 28 – Reação de formação da ftalimida com a para-cloroanilina com a amina alquilada

RMN de  $^{13}\text{C}$  a 75 MHz,  $\text{CDCl}_3$  ( $\delta$ - ppm): 146,77; 111,94; 136,22; 117,07; 136,14; 122,27; 167,24; 169,3; 132,33; 127,56; 124,13; 133,4; 124,13; 127,5; 46,7; 137,6; 127,6; 128,9; 127,7; 128,9; 127,6.

### 5.6.11 Reação para obtenção do 4-amino-2-(4-trifluorometil-fenil)isoindolin-1,3-diona (55e)-CYOJ3.4

20 mg de anidrido 3-aminoftálico (0,12 mmol) foram misturados com 21,33 mg de trifluorometilanilina (0,13 mmol). Ambos sólidos foram dissolvidos em 2,5 ml de ácido acético glacial. O sistema foi submetido à refluxo por 19 horas. Posteriormente, utilizou-se água e 2,5 ml de bicarbonato de sódio, o precipitado amarelo formado foi filtrado em funil de Büchner e purificado com cromatografia em coluna, com eluente 6:3:1 (Hexano:Diclorometano:Clorofórmio). O rendimento da reação foi de 12%.

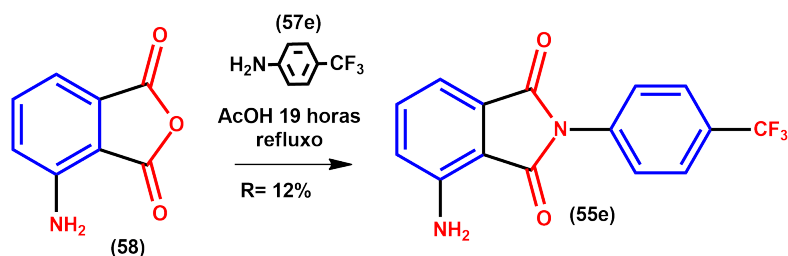


Figura 29 – Reação de formação da ftalimida com a para-trifluorometilanilina

RMN de  $^1\text{H}$  a 300 MHz,  $\text{CDCl}_3$  ( $\delta$ - ppm): 5,36 (2H, s); 6,93 (1H, d,  $J^3=8,8$  Hz); 7,28 (1H, d,  $J^3=6$ Hz); 7,51 (1H, ta,  $J^3=6$  Hz); 7,63 (2H, d,  $J^3=8$  Hz) e 7,75 (2H, d,  $J^3=8,3$  Hz).

### 5.6.12 Reação para obtenção de 4-benzilamino-2-(4-(trifluorometil)fenil) isoindolina-1,3-diona (54e) - CYOJ4.4

100 mg de ftalimida trifluormetilssubstituída (0,326 mmol) foram misturadas com 42,2 mg de bicarbonato de sódio em um balão de 10 ml. Ambos sólidos foram dissolvidos em 1 ml de DMF e submetidos a atmosfera inerte. 25,3  $\mu$ L de brometo de benzila (0,257 mmol) foram coletados com micropipeta e transferidos para o sistema inerte. Após 24 horas de reação com temperatura controlada em 50 °C o sistema foi resfriado a 0 °C e após 7 horas foi adicionado 5 ml de água destilada, houve a formação de precipitado amarelo intenso, este foi filtrado em funil de Büchner, enquanto que a fase aquosa foi extraída com acetato de etila e posteriormente lavada com solução saturada de NaCl, juntamente com a adição de sal secante (sulfato de sódio), ao final foi solidificada no rotaevaporador. O sólido formado foi colunado com eluente 7:2:1 (Hexano:Clorofórmio:AcOEt), com rendimento de 4%.

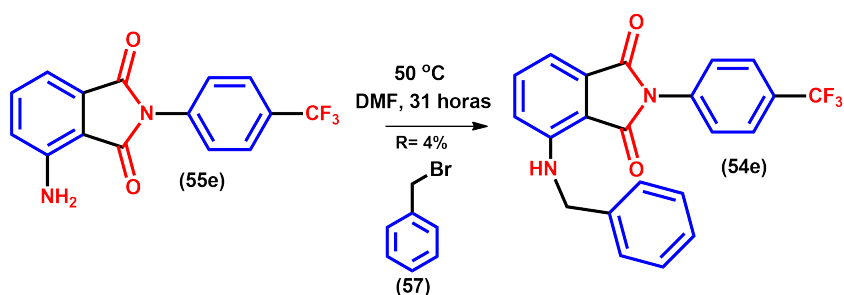


Figura 30 – Reação de formação da ftalimida com a para-trifluormetilssubstituída alquilada via substituição nucleofílica bimolecular

RMN de  $^1\text{H}$  a 300 MHz,  $\text{CDCl}_3$  ( $\delta$ - ppm): 4,57 (2H, d,  $J^3 = 6$  Hz); 4,66 (1H, s); 6,91 (2H, da,  $J^3 = 8,7$  Hz); 7,22 (1H, da,  $J^3 = 7,6$  Hz); 7,28-7,39 (4H, Multipleteo); 7,52 (1H, ta,  $J^3 = 7,6$  Hz); 7,65 (2H, da,  $J^3 = 7,9$  Hz) e 7,78 (2H, da,  $J^3 = 8$  Hz)

### 5.6.13 Reação para obtenção de 4-amino-2-(*p*-toluil) isoindolina-1,3-diona (55f) - CYOJ3.5

50 mg de anidrido 3-aminoftálico (0,30 mmol) foi pesado em um balão de reação de 5 ml, juntamente com 65,68 mg de metil-anilina (0,61 mmol), ambos foram dissolvidos em 1,8 ml de ácido acético glacial e o sistema reacional foi submetido a refluxo por 7 horas. Posteriormente, o sistema foi resfriado e 2,5 ml de água destilada foi adicionada. O

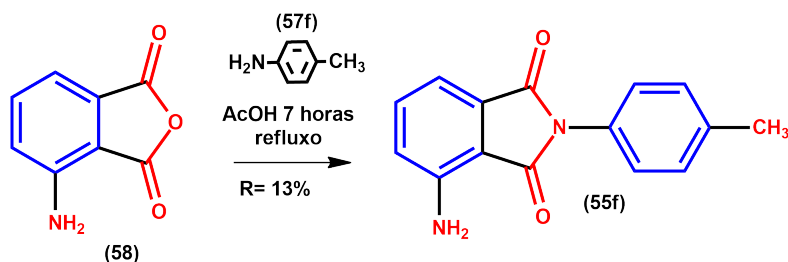


Figura 31 – Reação de formação da ftalimida com a para-metil-anilina

precipitado formado foi filtrado e colunado com eluente 7:2:1 (Hexano: AcOEt:CHCl<sub>3</sub>). O rendimento foi de 13%.

**RMN de <sup>1</sup>H a 300 MHz, CDCl<sub>3</sub> (δ- ppm):** 5,33 (2H, s); 6,91 (1H, d, J<sup>3</sup>= 8,8 Hz); 7,26 (2H, d, J<sup>3</sup>= 6Hz); 7,47 (2H, ta, J<sup>3</sup>= 6 Hz); 7,62 (1H, d, J<sup>3</sup>= 8 Hz) e 7,75 (1H, ta, J<sup>3</sup>= 8,3 Hz).

#### 5.6.14 Reação para obtenção de 4-(benzilamino)-2-(*p*-toluil) isoindolina-1,3-diona (54f) - CYOJ4.5

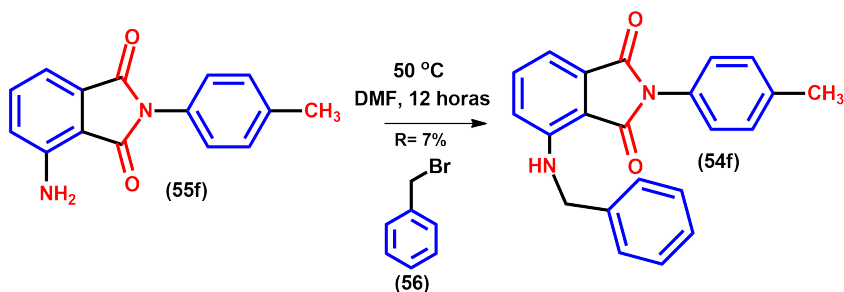


Figura 32 – Reação de formação da ftalimida com a para-metil-anilina

66 mg de ftalimida para-metil funcionalizada (0,261 mmol) foi inserida em um balão de reação de 10 ml, juntamente com 45 mg de bicarbonato de sódio. Ambos foram dissolvidos em 3 ml de DMF e submetidos a atmosfera inerte, bem como, temperatura controlada em 50 °C. 0,0341 ml de brometo de benzila (0,34 mmol) foram adicionados lentamente ao sistema. Após 12 horas de reação houve o consumo total do brometo de benzila diagnosticado por CCD. O sistema foi resfriado e foi adicionado água destilada (2,5 ml). Não houve formação de sólido, logo foi realizada a extração com acetato de etila seguido de nova extração da fase orgânica com solução saturada de NaCl. Posteriormente, adicionou-se sal secante (sulfato de sódio) e filtrou-se para obter apenas a fase orgânica, esta foi direcionada para o rotaevaporador para remoção do solvente orgânico. Aplicou-se

a coluna cromatográfica para purificação com eluente 9:1 (Hexano: AcOEt). O rendimento da reação foi de 7%.

**RMN de  $^1\text{H}$  a 300 MHz,  $\text{CDCl}_3$  ( $\delta$ - ppm):** 2,41 (3H, s); 4,55 (2H, d,  $J^3 = 6\text{Hz}$ ); 6,89 (1H, da,  $J^3 = 8,7\text{ Hz}$ ); 6,9 (1H, ta,  $J^3 = 4,5\text{ Hz}$ ); 7,19 (1H, da,  $J^3 = 7\text{Hz}$ ); 7,27-7,39 (9H, Multipleteo); 7,48 (1H, ta,  $J^3 = 8,7\text{ Hz}$ ).

## 6 RESULTADOS E DISCUSSÃO - Parte Química

Neste capítulo serão discutidas as metodologias sintéticas adotadas para a determinação das quatro etapas reacionais utilizadas na obtenção dos 12 derivados ftalimídicos planejados. Nesta perspectiva, esta sessão abordará o motivo da escolha da metodologia sintética empregada, das explicações teóricas do funcionamento e da não efetividade de metodologias aplicadas para obtenção dos compostos, bem como propostas de mecanismos de reação para cada etapa adotada. Ademais, será destacada a elucidação estrutural dos 12 derivados ftalimídicos, com interpretações de técnicas espectroscópicas como IV e RMN.

### 6.1 Primeira etapa da rota sintética planejada – Síntese do anidrido nitroftálico (61)

Uma das vias para obtenção do anidrido nitroftálico consiste em utilizar o ácido 3-nitroftálico em aquecimento com anidrido acético por 8 horas, em uma temperatura de 235 °C. Posteriormente, como purificação, Boroschek e colaboradores utilizam a recristalização adotando ácido acético glacial. Esta metodologia foi adotada, porém não foi obtido sucesso no processo de recristalização (LAWRANCE, 1920). Outra metodologia foi utilizada, esta consistiu em utilizar uma coluna com eluente acetato de etila e hexano (4:1) (NANDHIKONDA; HEAGY, 2010).

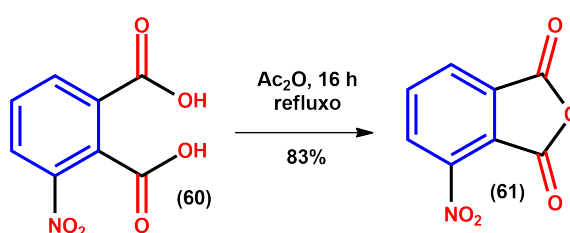


Figura 33 – Esquema de obtenção do anidrido 3-nitroftálico a partir do ácido 3-nitroftálico adaptado de NANDHIKONDA; HEAGY, (2010).

Foi constatado que o aumento do tempo de reação resultou em melhoramento do rendimento, quando o tempo de reação foi de 2 horas o rendimento foi de 11 %, em contraste, com 16 horas de refluxo o rendimento obtido foi de 83 %. Um das justificativas para esta associação entre tempo de reação e rendimento é o fato de haver um maior número de colisões efetivas, logo com orientação adequada e energia cinética suficiente entre as moléculas.

O pH da solução de bicarbonato de sódio adotada no processo de purificação se mostrou uma variável que afeta o rendimento da reação. Deve-se destacar que o pH foi calculado teoricamente utilizando o valor da constante de hidrólise do bicarbonato de sódio. Quando o pH foi de 12,8 o rendimento do processo foi de 60%, enquanto que para pH= 7 o rendimento foi de 80%.

Uma possível justificativa para esta observação se deve ao fato da instabilidade do anel de cinco membros formado pelo anidrido (**61**) em pH alcalino. No relatório da OECD (Organization for economic Co-operation and Development) foi relatado que o anidrido ftálico possui meia-vida de 0,5 a 1 minuto quando em contato com água de pH entre 6,8 a 7,24 (OECD, 2005). Acredita-se que a presença do grupo nitro confere características eletrônicas diferentes para a estrutura **61**, todavia, foi obtido experimentalmente que quando o pH da solução de bicarbonato era maior do que 8, notava-se uma reação exotérmica e formação de um composto iônico de cor branca e sólido, fato que culminava com menor porcentagem de conversão.

Após processo de purificação foi realizada a CCD (Cromatografia em Camada Delgada), o produto obtido **61** teve seu  $R_f$  determinado como sendo 0,30 em eluente (4:1 acetato de etila:hexano). A cromatoplaça obtida está coerente com os valores teóricos de  $\log P$ , pois, a interação do produto com a sílica é menor. Outro fator que explica a maior retenção do material de partida (**60**) é a presença de dois sítios de doação de ligação de hidrogênio e seis regiões aceptoras de ligação de hidrogênio, enquanto que no produto há apenas cinco regiões aceptoras de ligação de hidrogênio. Deve-se destacar que a presença de interações do tipo ligação de hidrogênio entre ácido 3-nitroftálico e a fase estacionária foram capazes de gerar uma marca na cromatoplaça com rastro característico de ácidos carboxílicos. A figura 34 representa a cromatoplaça.

O mecanismo da reação proposto está destacado na figura 35 e inicia-se com a desprotonação de (**60**), este possui dois hidrogênios ácidos com valores  $pK_a$  determinados próximos do anidrido ftálico, sendo eles  $pK_{a1} = 2,8$  e  $pK_{a2} = 5,4$ . O primeiro hidrogênio é mais ácido e será removido pelo par de elétrons do oxigênio carbonílico do anidrido acético (**62**) (OECD, 2005).

O nucleófilo **63** é gerado e a carbonila do anidrido **62** é ativada. Logo, haverá o ataque do nucleófilo ao orbital ( $\pi_{C-O}^*$ )  $Pi$  anti-ligante da carbonila ativada (eletrófilo), esta aproximação ocorre em um ângulo de  $107^\circ$ , denominado de ângulo de Bürgi-Dunitz (CLAYDEN et al., 2001). Uma ligação C-O é formada gerando a molécula **65** que é capaz de

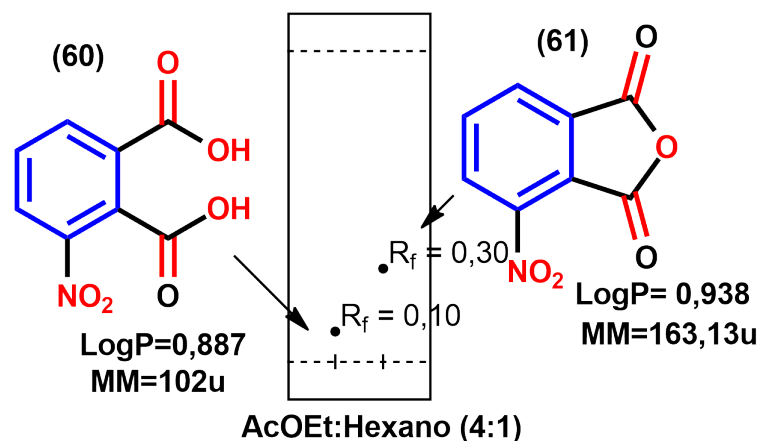


Figura 34 – Representação da cromatoplaça obtida. Coloração do produto **(61)** é azulada em 254 nm e o material de partida **(60)** tem coloração roxa em 254 nm. MM corresponde à massa molecular em unidades de massa atômica (u).

liberar uma molécula de ácido acético **(66)**, para isso os elétrons provenientes do orbital HOMO da carbonila abstraem o próton intramolecularmente. Isso é possível devido ao sistema de seis átomos entre a carbonila e o hidrogênio. Como resultado há a formação da molécula **67**.

Observa-se que a estrutura **67** possui uma carbonila com o grupo acetato como abandonador, este grupo é capaz de estabilizar carga negativa e favorecer o ataque intramolecular do oxigênio. Em sequência, o íon alcóxido **(68)** é formado porém devido ao meio ácido será rapidamente protonado e a carbonila é regenerada, havendo a eliminação do acetato **(69)** e formação do intermediário **70**. Ao final do processo, a estrutura **70** tem seu próton abstraído pelo nucleófilo **69**, resultando na formação do produto de interesse **(61)**.

Para a caracterização do produto anidrido 3-nitroftálico **(61)**, foi feita a análise por espectroscopia do infravermelho (IV), presente na figura 36. Destaca-se neste espectro de infravermelho da molécula **61** o estiramento da ligação N-O localizado em  $1343\text{ cm}^{-1}$  e  $1543\text{ cm}^{-1}$  correspondente ao grupo nitro. Destaca-se em  $1783\text{ cm}^{-1}$  o estiramento referente à carbonila de anidrido. Em  $894\text{ cm}^{-1}$  se observa o estiramento referente a deformação angular fora do plano para a ligação C-H.

O espectro de RMN de  $^1\text{H}$  também foi obtido para elucidação estrutural do composto **61** e está representado na figura 37. Os hidrogênios **H-6** e **H-4** são os mais desblindados devido a presença do grupo funcional nitro, que retira densidade eletrônica por ressonância nas posições *orto* e *para*. Em contraste, o grupo nitro concentra densidade

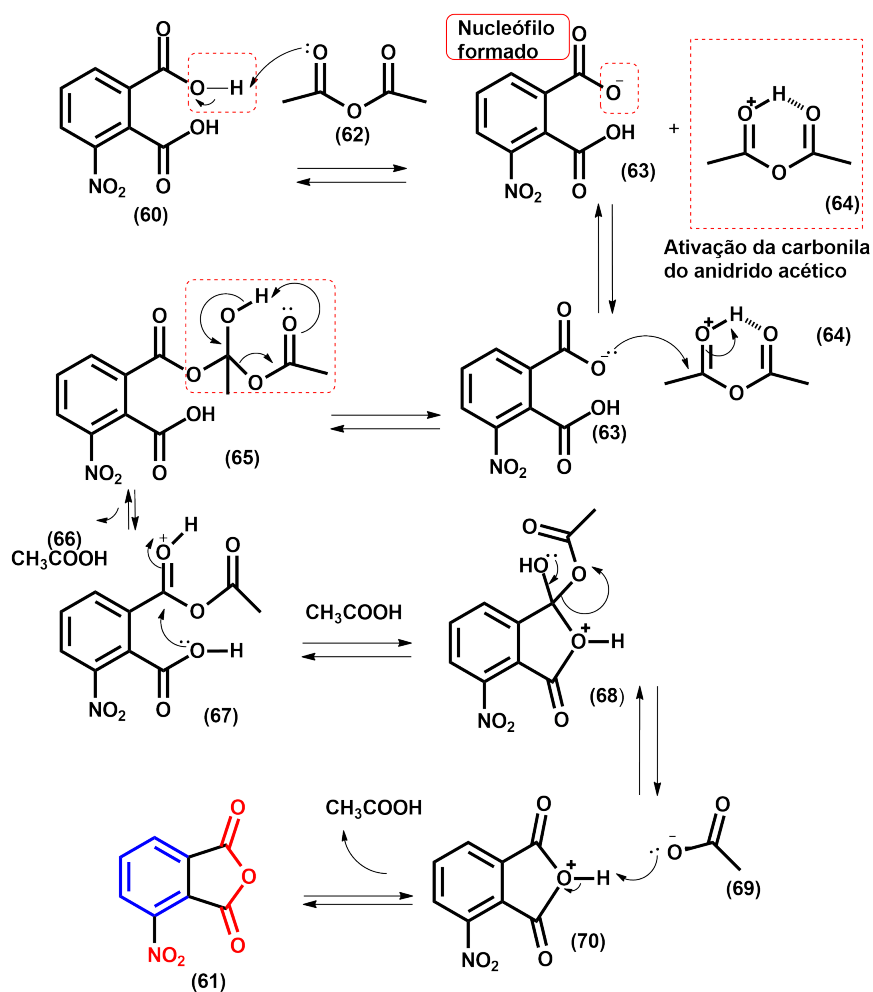


Figura 35 – Mecanismo proposto para a formação do anidrido ftálico

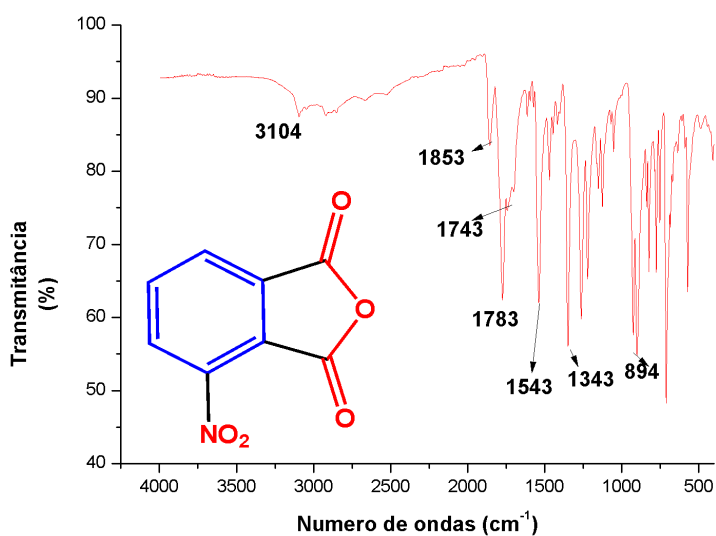


Figura 36 – Espectro de infravermelho do anidrido 3-nitroftálico (61) processado com o programa Origin 8

eletrônica no hidrogênio **H-5**. Em 8,4 ppm encontra-se o hidrogênio **H-4** apresentando maior deslocamento químico em decorrência do efeito de anisotropia diamagnética exercida pela carbonila. A constante de acoplamento para o **H-6** e **H-4** foram de 8,2 Hz e 7,8 Hz respectivamente, ambos valores estão de acordo com o acoplamento  $J^3$  com **H-5** em *orto*.

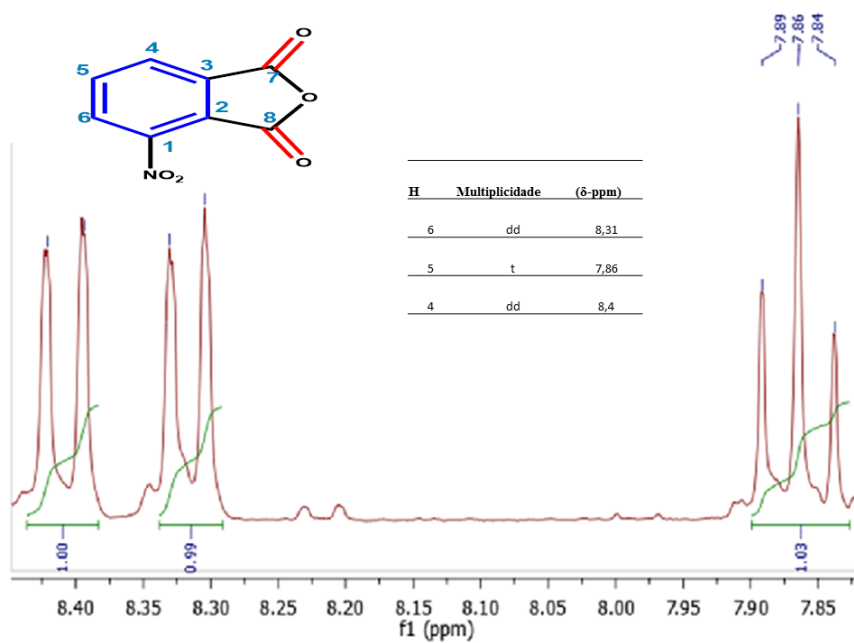


Figura 37 – Ampliação do espectro de RMN de  $^1\text{H}$  obtido em  $\text{DMSO-}d_6$  em 300 MHz para o composto **15**

## 6.2 Segunda etapa - Redução do anidrido 3-nitroftálico (61)

Primeiramente foi testada como segunda etapa reacional a condensação de anéis para formação da ftalimida. Para isso, 100 mg de anidrido 3-aminoftálico foram dissolvidos em ácido acético glacial juntamente com 169 mg de para-cloroanilina. O sistema foi submetido a refluxo por 21 horas e posteriormente foi resfriado com banho de gelo, em seguida, foi adicionado água destilada. Houve a formação de um precipitado amarelo mostarda. Após processo de purificação em coluna com eluente 6:3 (Hexano:AcOEt) o produto foi isolado e o rendimento quantificado em 2%. A figura 38 ilustra as metodologias.

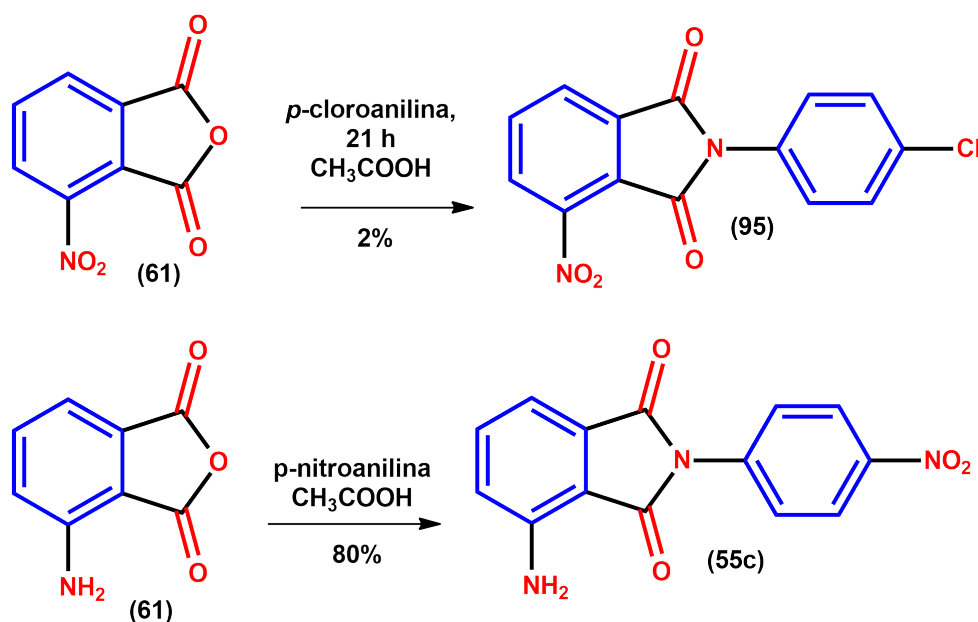


Figura 38 – Esquema reacional comparando o rendimento entre o grupo nitro e amino.

Todavia, foi observado experimentalmente que quando a ftalimida era formada partindo-se do anidrido-3-aminoftálico o rendimento era de 80%. Logo, podemos inferir que a redução do grupo nitro para amino e posterior formação de ftalimida é de suma importância para o aumento do rendimento global. Uma metodologia para a redução do grupo nitro que abordava química verde e apresentava bons rendimentos foi apresentada por Kumar e colaboradores, esta, adotava-se D-glucose (2mmol) como fonte de hidrogênio e KOH (4 mmol) em água e DMSO (1:1,4 ml) o rendimento era de 94 % (KUMAR et al., 2013). Porém, esta metodologia não foi aplicada em virtude da instabilidade do anidrido em água com pH elevado.

Augustine e colaboradores apresentaram a redução do grupo nitro adotando hidrogenador, este aparato fornecia pressão de 5 atm, pela lei de Henry, sabe-se que o aumento da pressão favorece o aumento da solubilidade de um gás em um determinado solvente, justificando assim, o rendimento de 87%. Outras metodologias utilizavam como catalisador o reagente Raney-Niquel com hidrogenador (pressão interna de 5 atm) com rendimentos de 77%, ademais, a metodologia apresentava a recristalização em acetato de etila para purificação do composto, entretanto, esta não foi reprodutível (ELIEL et al., 1955). A figura 39 mostra as metodologias envolvendo o uso do hidrogenador.

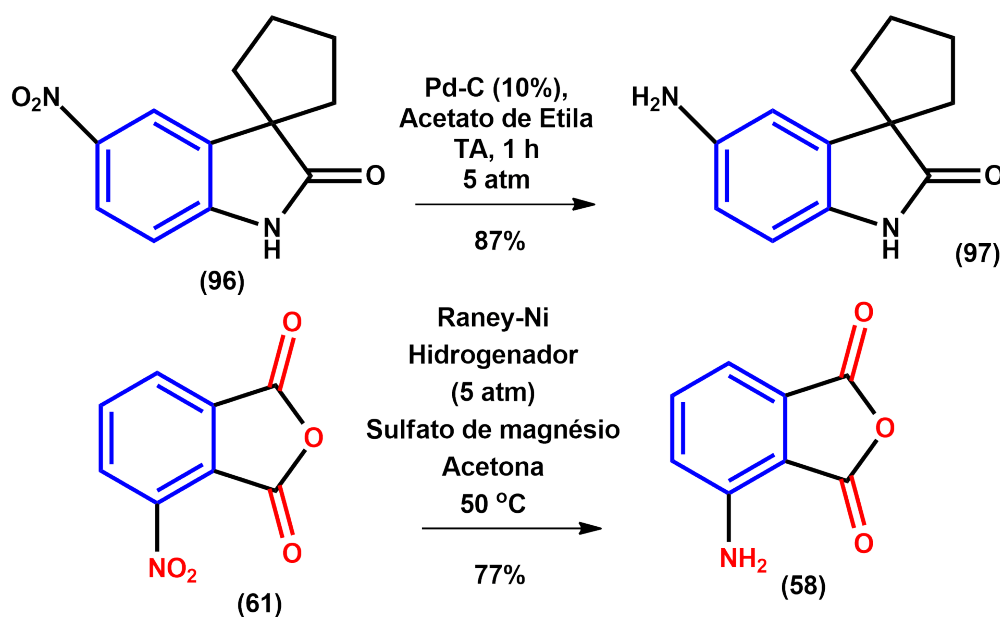


Figura 39 – Esquemas reacionais para as metodologias envolvendo a redução do grupo nitro

Adaptou-se um sistema de hidrogenação visto que não havia a possibilidade de obtenção de um hidrogenador, o sistema adaptado forneceu uma pressão interna de 1,2 atm e foi constatado que com o uso deste aparato as variáveis: tempo de reação, quantidade de catalisador, o solvente adotado, presença de sal secante, bem como a pressão do gás hidrogênio e a temperatura da reação foram correlacionadas com o rendimento da reação de redução do grupo nitro.

Na busca por catalisadores específicos para esta reação foi constatado que óxido de platina, óxido de ródio, paládio, níquel e ferro eram os principais catalisadores adotados na redução do grupo nitro em amino. Houve maior destaque da literatura para o catalisador de ferro, porém, a metodologia adotada utilizava água como solvente, por conta disso não

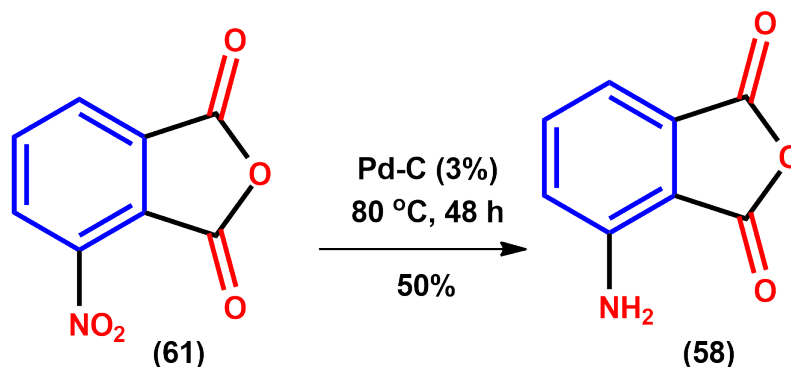


Figura 40 – Esquema reacional da etapa 2

foi aplicada esta metodologia em função da labilidade do anidrido 3-nitroftálico (**61**) em água (HUDLLICKY, 1984).

Iniciou-se a busca do melhor catalisador para o sistema químico em questão (Anidrido cíclico) com o uso do metal Níquel em suspensão aquosa de pH entre 9 a 11 (Raney-Níquel). Afim de verificar a efetividade do catalisador Ni, foram pesados 100 mg de 3-anidrido-nitroftálico e 51,7 mg de sulfato de sódio, ambos foram dissolvidos em 1,2 ml de dioxano. Posteriormente, foi adicionado o catalisador Raney-Níquel. A mistura foi aquecida a uma temperatura de 50 °C em constante agitação, bem como, submetida a um fluxo contínuo de hidrogênio. O rendimento da reação foi de 2%. Uma hipótese que justifica esta observação seria a presença de água com pH alcalino nos poros do metal que seria capaz de contribuir para a hidrólise do anidrido.

Afim de evitar hidrólise do material de partida, o catalisador escolhido foi o Pd-C. Os primeiros experimentos foram realizados com o intuito de verificar a efetividade da reação, para isso, foram utilizados 100 mg de anidrido 3-nitroftálico (**61**), juntamente com 1,5 mL de acetato de etila, 2 mg de sulfato de sódio e 91,5 mg de catalisador Pd/C. Foram utilizadas duas bexigas contendo gás hidrogênio. O tempo de reação foi de 22 horas e a temperatura foi mantida constante em 70 °C. O rendimento para esta metodologia foi de 21%.

Foi constatado que a massa de catalisador é de suma importância para o rendimento da reação, visto que quando a massa de Pd-C (3%) para cada 100 mg de anidrido 3-nitroftálico foi de 33 mg o rendimento foi de 4 %, em contrapartida, quando adotou-se 91,5 mg de Pd-C (3%) o rendimento foi de 21 %.

Com a finalidade de aumentar o rendimento, a reação foi realizada em dioxano anidro como solvente. A metodologia adotada consistiu em misturar 100,1 mg de anidrido

3-nitroftálico (**61**) com 133,34 mg de catalisador Pd-C (3%) em 2 mL de dioxano anidro. A temperatura do sistema reacional se manteve em 70 °C e a pressão do gás hidrogênio foi de 2 kg/cm<sup>2</sup>. O tempo total de reação foi de 23 horas, como resultado, o rendimento obtido foi de 61%. Uma possível justificativa para o melhor rendimento se deve ao fato do acetato de etila conter água residual em sua composição, logo o anidrido (**61**) poderia ter o anel de cinco membros rompido, resultando na formação de subprodutos e reduzindo a taxa de conversão. A figura 41 ilustra uma proposta de mecanismo reacional para a hidrólise.

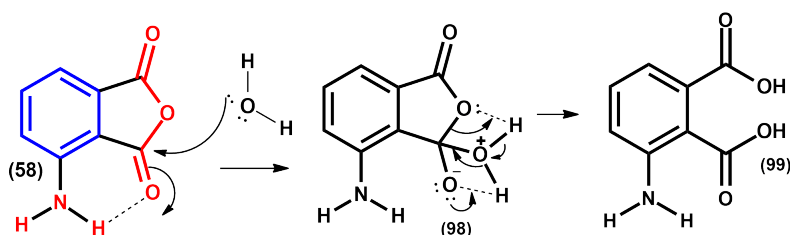


Figura 41 – Proposta do mecanismo de hidrólise do anidrido amino-ftálico.

Visando aumentar a quantidade obtida de anidrido 3-aminofáltico (**58**), a reação teve sua escala ampliada (de 100 para 300 mg). O fator determinante para manter o rendimento na faixa de 60% foram as quantidades do catalisador e o tempo de reação. Destaca-se que em escala ampliada a massa necessária de catalisador Pd-C (3%) foi de 400 mg e o tempo de reação foi de 48 horas para manter o rendimento próximo do obtido com 100 mg de anidrido 3-aminofáltico.

O mecanismo da reação de redução envolvendo o grupo nitro e o hidrogênio ainda é objeto de discussão entre químicos, entretanto, Hudlick e colaboradores propuseram intermediários fundamentais para a redução ocorrer. A proposta envolve a formação do grupo -N=O (semelhante à nitrosamina), posteriormente forma-se -NHOH (semelhante à oxima) e em seguida -NH<sub>2</sub>. A figura 42 mostra as estruturas do mecanismo sugerido.

Aplicando o modelo de intermediários reacionais apresentado por Hudlick, foi possível sugerir um esquema reacional pelo qual o composto **61** deve passar para chegar ao produto de interesse **58**. Sabendo que um catalisador é capaz de orientar colisões efetivas entre moléculas e que o Pd é um metal que tem capacidade de adsorção de hidrogênio elevada, haverá um aumento da disponibilidade de hidrogênio na solução e aumento da velocidade da reação em função da orientação das colisões.

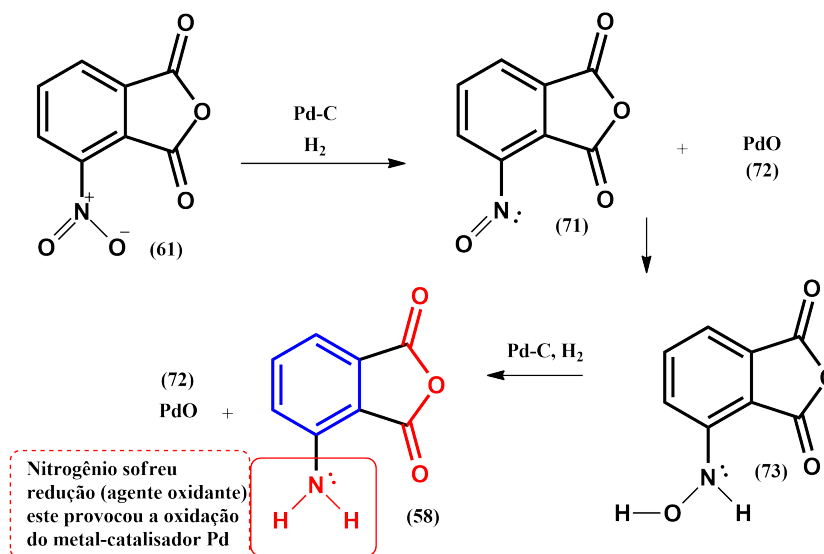


Figura 42 – Proposta dos principais intermediários pelo qual o material de partida deve passar para chegar no produto **58**. Há possibilidade de formação de água na reação por isso utilizou-se sulfato de sódio como sal secante.

Inicialmente o grupo nitro com número de oxidação  $N_{ox} = +3$  é reduzido para NO, presente em **71** e com ( $N_{ox} = +2$ ). O paládio, em virtude de ter caráter metálico é capaz de oxidar (perder elétrons), se transformando em PdO. O composto **71** é reduzido ao **72**, observa-se que o  $N_{ox}$  passa a ser +1. Posteriormente o nitrogênio é reduzido à  $N_{ox} = -2$ .

Afonso e colaboradores (2003) mostraram que o principal resíduo gerado quando se utiliza como catalisador o Pd-C é o óxido de paládio (PdO) e este pode ser reduzido à Pd novamente e disponibilizado para reutilização na reação (AFONSO et al., 2003). Destaca-se também que durante a reação foi observado coloração verde musgo, a qual é relatada na literatura como pertencente ao óxido de paládio.

Após definição da metodologia sintética com o uso de Pd-C(3%) iniciou-se o processo de caracterização do produto. Posteriormente ao processo de purificação com cromatografia em coluna adotando como eluente 6:3 (AcOEt:Hexano) foi obtida a cromatoplaça relatada pela figura 43. uma possível explicação para os diferentes valores de  $R_f$  é decorrente ao fato do grupo amino possuir seu par de elétron pouco disponível para interação com a fase estacionária, visto que há o efeito de doação eletrônica por ressonância ao anel aromático. Ademais, existe a possibilidade de ressonância com a carbonila em *orto* ao grupo amino. Outro fator importante são as cargas formais do nitrogênio (+) e do oxigênio (-) no grupo nitro, contribuindo para interações intermoleculares intensas com a fase estacionária.

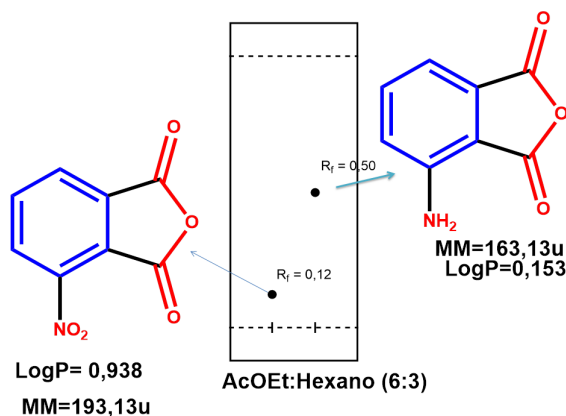


Figura 43 – Cromatoplaça obtida após processo de purificação. Em  $R_f$  de 0,50 se encontra o produto **58**, que em 254 nm se mostra azul intenso. Destaca-se que o produto **58** possui  $R_f$  maior do que o material de partida (61)

No espectro de infravermelho do anidrido aminoftálico (**58**) destaca-se a presença de dois estiramentos: em  $3452\text{ cm}^{-1}$  e  $3342\text{ cm}^{-1}$  correspondentes à amina primária. O estiramento intenso em  $1250\text{ cm}^{-1}$  se refere a ligação C-N. Em  $1753\text{ cm}^{-1}$  visualiza-se o estiramento intenso em decorrência das carbonilas do anidrido.

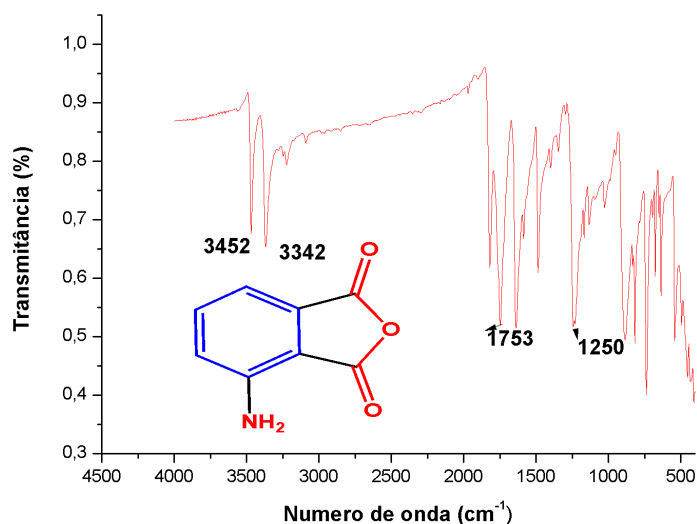


Figura 44 – Espectro de IV do anidrido 3-aminoftálico (**58**) processado com o software Origin 8.

O espectro de RMN de  $^1\text{H}$  difere do material de partida, visto que há uma drástica mudança no deslocamento químico dos sinais referentes aos hidrogênios em decorrência do efeito eletrônico do grupo amina, que doa densidade eletrônica via ressonância ao anel aromático, resultando em maior blindagem nas posições *orto* e *para* em relação ao grupo

amino. Dessa forma, os hidrogênios em **H-6** e **H-4** passam a ser mais blindados do que **H-5**.

Em 6,81 ppm se encontram os hidrogênios do grupo amino, apresentando-se como singlete em virtude de rápida troca intermolecular com o solvente, com isso o acoplamento passa a ser pouco efetivo. A constante de acoplamento para **H-6** foi de 7,7 Hz indicando presença de **H-5** em *orto* ( $J^3$ ). Para **H-4** a constante de acoplamento foi de 8,2 Hz, indicando **H-5** em *orto*.

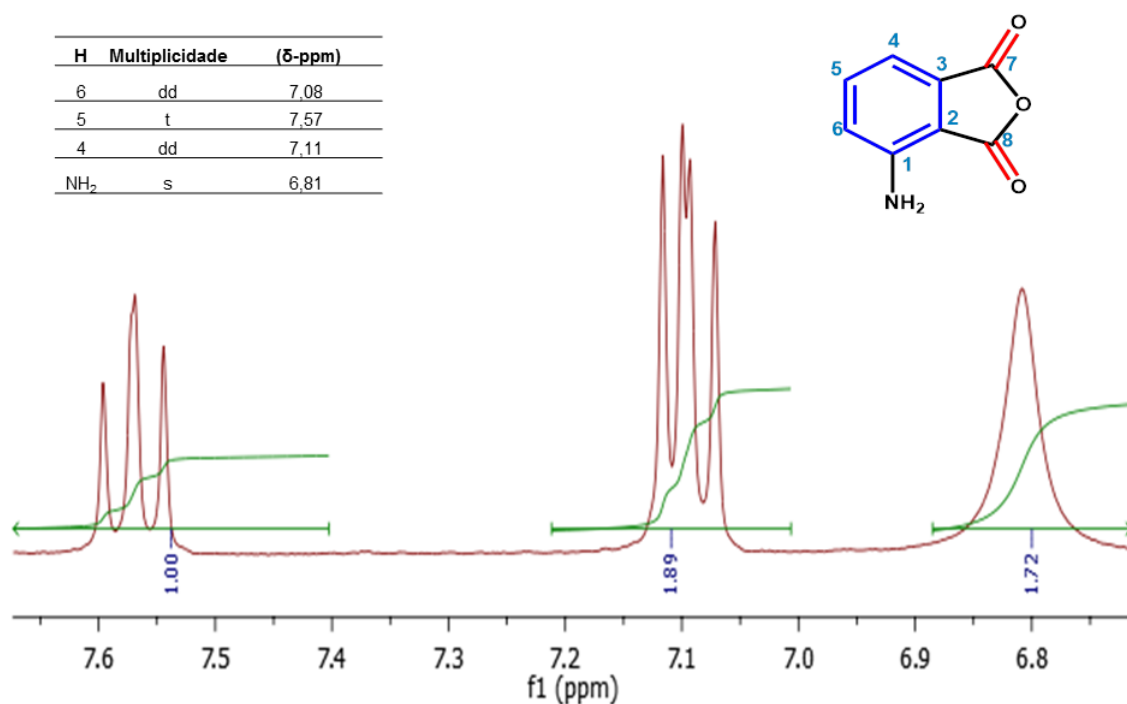


Figura 45 – Ampliação do espectro de RMN de  $^1\text{H}$  obtido em  $\text{DMSO-}d_6$  em 300 MHz.

### 6.3 Terceira etapa - Síntese da Ftalimida (55c)

Foi testada a alquilação do nitrogênio da amina como a terceira etapa do processo sintético. Entretanto, foi notado que o rendimento global do processo é maior quando se alquila a amina na forma de ftalimida **55c** e não na forma de anidrido **58**. Foi observado que a reação de alquilação teve rendimento de 14% quando o substrato era o anidrido 3-aminoftálico (**58**) e 25% quando o material de partida foi o anel de cinco membros com uma imida cíclica (**55c**). A figura 46 ilustra ambas metodologias com seus respectivos rendimentos.

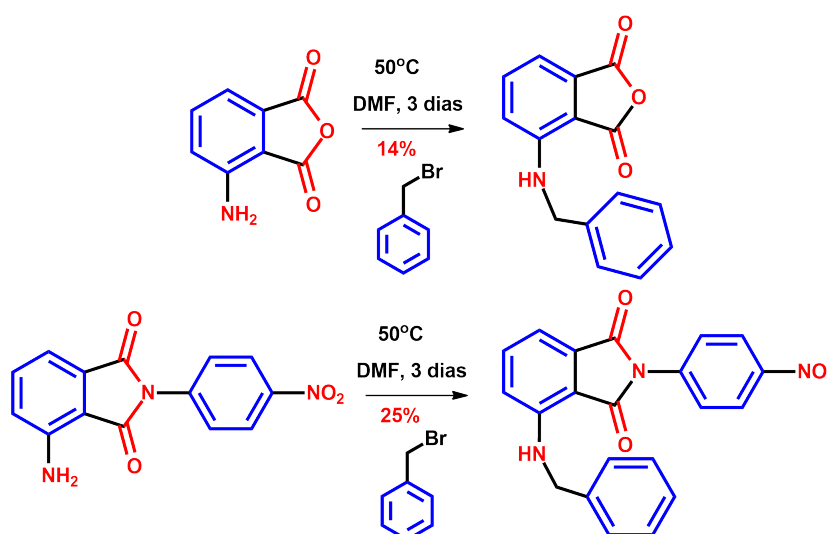


Figura 46 – Reação comparativa para deinição da etapa 3 da rota sintética.

Dessa forma, foi realizado primeiramente a reação de fechamento do anel ftalimídico (Ímida cíclica) e posteriormente a alquilação do composto ftalimídico (**55c**). A metodologia da etapa 3 embasou-se no trabalho publicado por Nascimento-Júnior e colaboradores, no qual mostram que é possível obter ftalimidas adotando refluxo em meio ácido com rendimentos de 70-80% (NASCIMENTO-JÚNIOR et al., 2011).

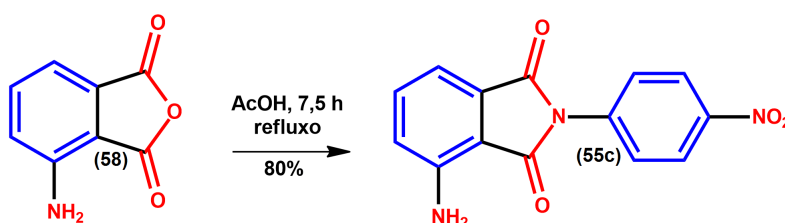


Figura 47 – Reação de obtenção da imida cíclica (**55c**), caracterizada como a terceira etapa reacional em virtude do maior rendimento global

O rendimento da reação de obtenção da imida cíclica (**55c**) se mostrou fortemente influenciada pelo tempo de refluxo. Quando o tempo reacional foi de 5 horas o rendimento foi de 60%, em contraste, quando o tempo foi de 7,5 horas o rendimento foi de 80%. Isso ocorreu em virtude do possível aumento do número de colisões efetivas entre os reagentes, o que resultou na maior quantidade de produto formado. Outro fator importante foi o pH da água destilada usada no processo de purificação, pois observou-se que em solução de bicarbonato de sódio em água com pH= 12,8 (valor calculado teoricamente, adotando a constante de hidrólise do sal) o rendimento do processo foi de 80% e quando empregava-se água destilada com pH= 7 o rendimento foi de 60%.

Uma possível explicação para os diferentes valores de rendimento é em virtude do aumento da polaridade da fase aquosa causada pela adição do bicarbonato de sódio, como resultado, houve maior migração de moléculas do produto que estavam na fase aquosa para a fase orgânica, resultando em uma quantidade maior de produto solubilizado e posteriormente precipitado na fase orgânica. Destaca-se que quando o processo de purificação foi realizado em pH= 7, no momento da filtração à vácuo, foi constatado empregando CCD, que havia produto na fase aquosa, fato que incentivou a adição de bicarbonato no meio reacional.

O mecanismo de reação é retratado pela figura 48 e inicia-se com a ativação da carbonila da estrutura **58** devido a ação do ácido acético glacial(**66**), em consequência da ativação, a eletrofilicidade do carbono carbonílico (LUMO) é intensificada e a *para*-nitroanilina (**57c**) é capaz de agir como base de Lewis (HOMO), ocorre a aproximação em um ângulo específico, denominado de Bürgi-Dunitz ( $107^\circ$ ), originando a estrutura **76**. A carbonila é reconstituída através de um mecanismo concertado em que o íon acetato abstrai o próton e regenera a carbonila, rompendo o anel de cinco membros, gerando a estrutura **77**.

A estrutura **77** tem sua carbonila ativada devido a ação do ácido acético glacial, gerando **78**. Em seguida, ocorre o ataque intramolecular do nitrogênio da amida, reconstituindo o anel de cinco membros, resultando na formação do composto **79**. Um dos fatores que justificam o tempo elevado e o refluxo é o baixo poder nucleófilo do nitrogênio da amida. Além disso, Santiago (2011) mostrou através de cálculos teóricos semi-empíricos com o software Hyperchem que a distância de ligação entre a carbonila e o nitrogênio da amida na conformação mais estável da estrutura (**79**) é de 5 ångström. Ademais, a

orientação geométrica é capaz de contribuir para o ataque do par de elétron proveniente do nitrogênio da amida (SANTIAGO, 2011).

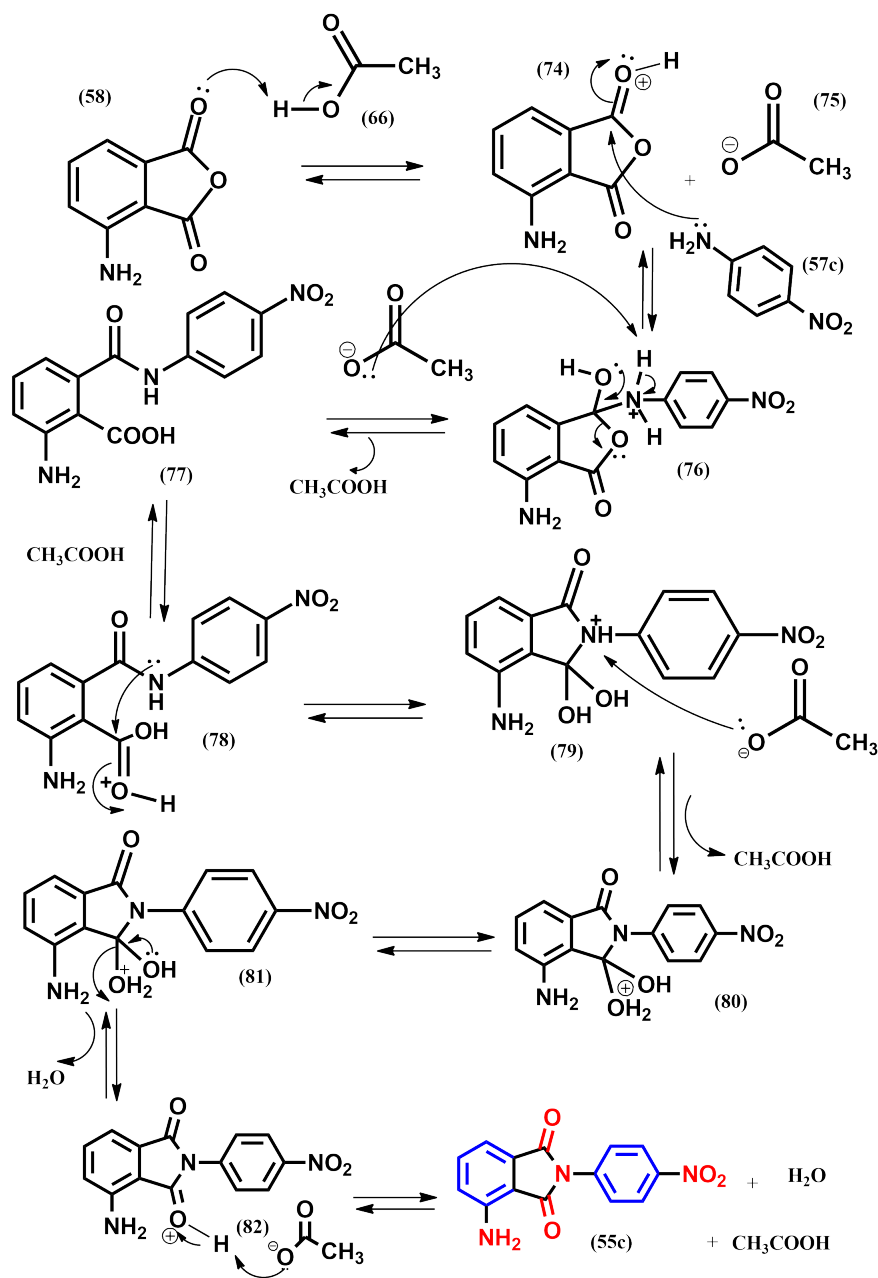


Figura 48 – Mecanismo proposto para a formação do anidrido ftálico

O ácido acético é regenerado devido a desprotonação do intermediário **79**, gerando o intermediário **80** com o nitrogênio desprotonado. A presença do ácido proporciona a formação do composto **81** que possui a água como grupo abandonador, isso favorece a reconstituição da carbonila e a eliminação da água, gerando o intermediário **82**. Finalmente, a carbonila tem seu próton abstraído pelo íon acetato e o composto (**55c**) é formado.

Destaca-se que o sistema de refluxo se demonstrou primordial, haja vista que a estabilidade do anel de cinco membros é baixa, caracterizando-se como um processo endotérmico ( $\Delta H > 0$ ) devido a elevada tensão angular (BARBOSA, 2009). Conseqüentemente, para obter o intermediário **79** e o produto (**55c**), energia deve ser fornecida ao sistema para aumentar o fator entrópico e tornar o processo espontâneo. A figura 48 fornece detalhes do mecanismo de reação proposto (BARBOSA, 2009).

A caracterização molecular se deu início com o espectro de infravermelho para o composto (**55c**), o espectro de infravermelho representado pela figura 49 apresenta com elevada intensidade o estiramento em  $1703\text{ cm}^{-1}$  que corresponde a ligação C-N, característico de imidas. Vale destacar que a intensidade foi extremamente elevada em virtude da presença de duas carbonilas ligadas diretamente ao nitrogênio. Foi conservada a banda que corresponde ao estiramento N-H da amina primária em  $3372$  e  $3482\text{ cm}^{-1}$ . O grupo nitro é reconhecido devido a banda de absorção em  $1333\text{ cm}^{-1}$ .

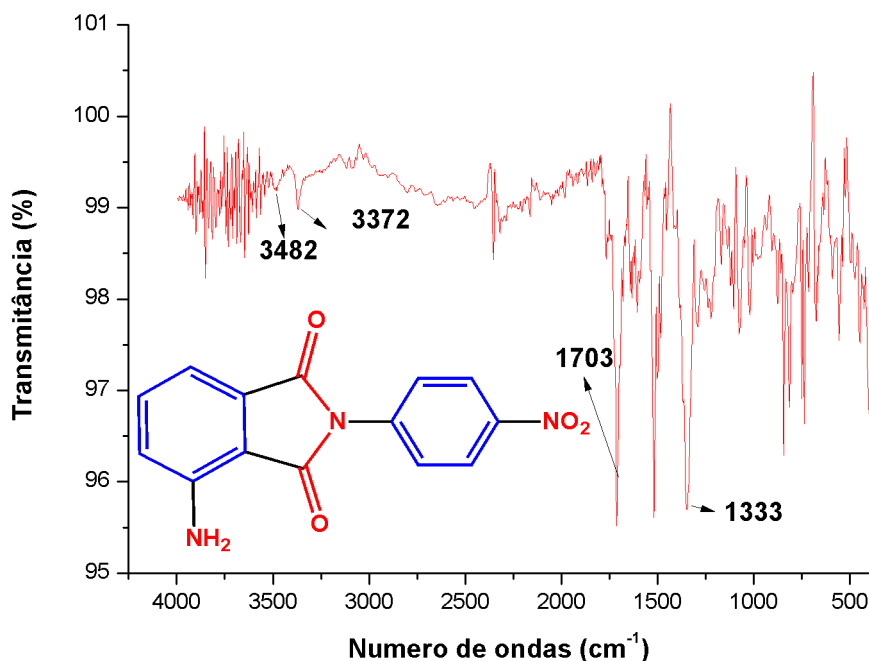


Figura 49 – Espectro de IV processado com o software Origin 8 para a estrutura (**55c**) denominada de 3-amino-*N*-(*p*-nitrofenil)-ftalimida.

O espectro de RMN de  $^1\text{H}$  é representado pela figura 50. Os sinais 7,8 e 8,3 ppm apresentam maior deslocamento químico devido a presença do grupo nitro, que é capaz de retirar densidade eletrônica via ressonância, desativando o anel aromático e,

por consequência, desblindando os hidrogênios. O efeito de desblindagem é maior em **H-11** e **H-13**, pois estes estão em *orto* ao grupo nitro, resultando na retirada de densidade eletrônica e em maior deslocamento químico. Cabe destacar que os hidrogênios **H-11** e **H-13** são quimicamente equivalentes, assim como os hidrogênios **H-10** e **H-14**.

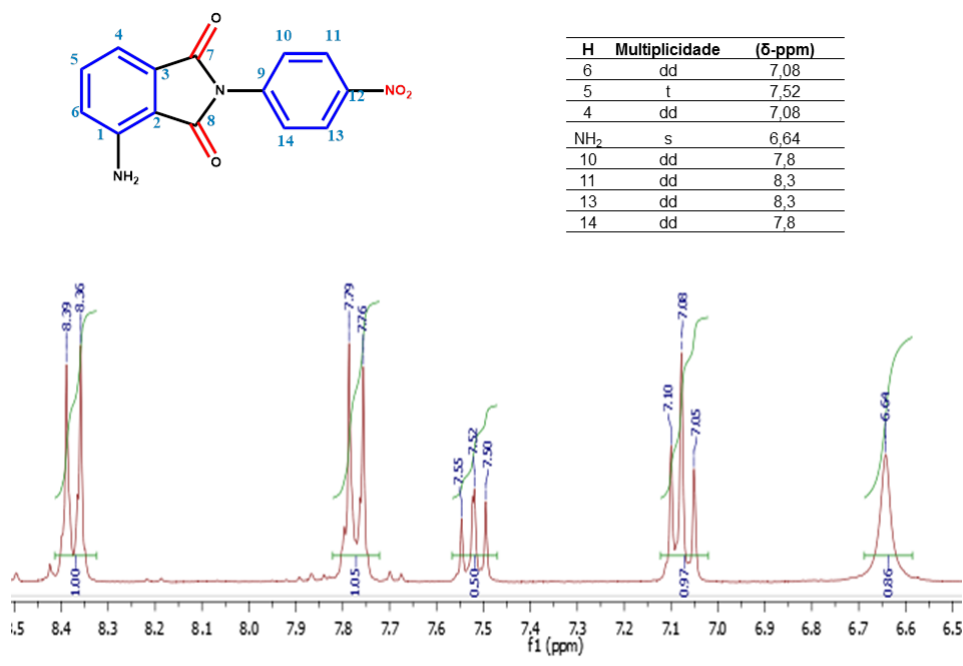


Figura 50 – Ampliação do espectro de RMN de  $^1\text{H}$  em  $\text{DMSO-}d_6$  (300 MHz) da ftalimida (**55c**)

O espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  foi obtido para a devida caracterização estrutural e está representado pela figura 51. O carbono mais blindado corresponde a **C-2**, visto que há doação de elétrons por ressonância pelo nitrogênio da amina. Como resultado os carbonos **C-2**, **C-4** e **C-6** passam a ter um efeito de blindagem maior. O deslocamento químico do **C-2** é o menor, pois além do efeito de doação eletrônica proveniente da função amina, há o efeito de anisotropia diamagnética exercida pela carbonila da ftalimida. O **C-4** está em 111,34 ppm, e em *orto* em relação à amina, adicionalmente, quando comparado ao **C-2** está mais distante do cone de anisotropia diamagnética exercido pela carbonila.

O **C-6** apresenta-se em 122,27 ppm por não sofrer blindagem dos cones da carbonila. Deve-se destacar que o **C-2** tem a menor intensidade do sinal, visto que este é um carbono quaternário, logo o efeito NOE não é intenso. Os sinais mais intenso correspondem a 127,74 e 124,54 ppm, isto se deve ao efeito NOE decorrente da simetria na região da molécula onde se situam os carbonos **C-10**, **C-11**, **C-13** e **C-14**.

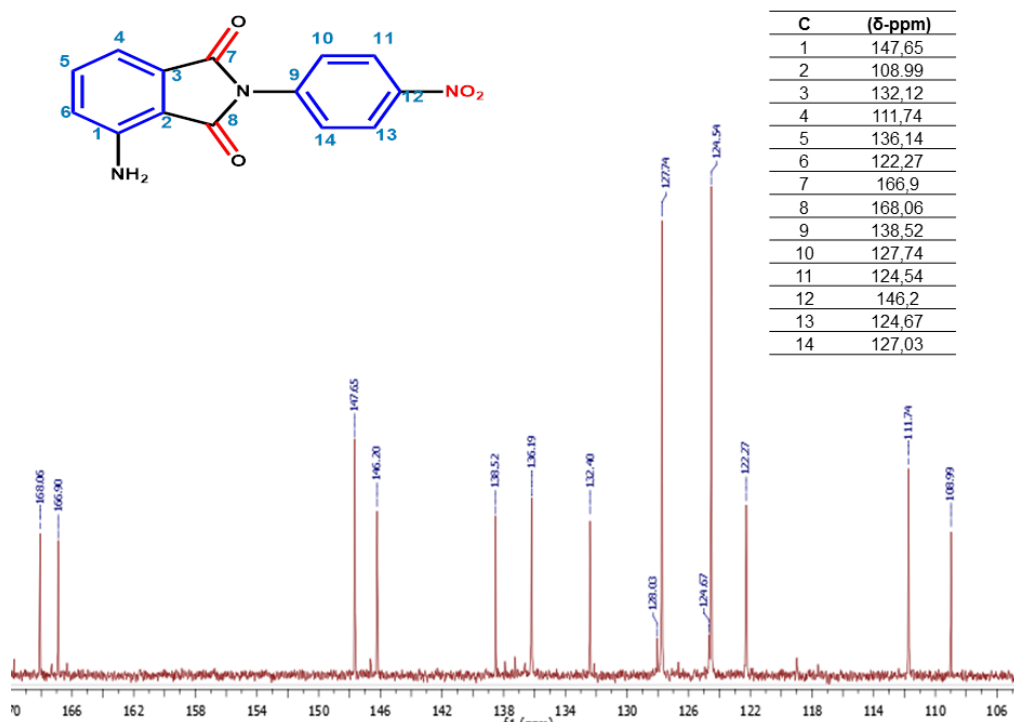


Figura 51 – Ampliação do espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  obtido para a ftalimida (**55c**) em solvente  $\text{DMSO-d}_6$  (75MHz)

Em 132 ppm localiza-se o **C-3** apresentando baixa intensidade devido ao fato de ser quaternário. O **C-5** está em 136 ppm e com maior intensidade do que o **C-3**. Os carbonos **C-7** e **C-8** estão localizados em 166,90 ppm e 168,06 ppm respectivamente. A blindagem maior do **C-8** se deve a maior proximidade com o grupo amino. Os carbonos **C-9** e **C-12** estão localizados em 138,52 ppm e 146,20 ppm respectivamente, isso se deve ao efeito de retirada de elétrons do grupo nitro no **C-12** resultando em maior deslocamento químico.

#### 6.4 Quarta etapa - Reação de alquilação da ftalimida para obtenção de (**54c**)

O principal objetivo da quarta etapa é inserir a subunidade benzila ao nitrogênio da amina presente na ftalimida cíclica (**55c**). Diversas tentativas foram realizadas, o melhor resultado apresentou rendimento de 30%.

Para a reação de alquilação da amina a literatura relatou que o mecanismo desta reação poderia ocorrer tanto por via  $\text{S}_{\text{N}}1$  quanto  $\text{S}_{\text{N}}2$ . Foi escolhida como primeira tentativa a via  $\text{S}_{\text{N}}1$ , devido aos seguintes fatores :

- O nucleófilo se mostrou fraco devido ao fato de haver ressonância com o anel aromático e com a função ímida,
- O brometo de benzila tem um ótimo grupo abandonador, o que facilita a primeira etapa de solvólise,
- O carbocátion benzílico é relativamente estável devido as estruturas canônicas de ressonância.

A metodologia referência adotada para obtenção da alquilação da amina pela via  $S_N1$  embasou-se no trabalho de Kirincich e colaboradores, no qual adotou-se a dietil amina como base de Lewis e dicloroetano como solvente, o rendimento reportado nesta metodologia foi em torno de 91%. (KIRINCICH et al., 2009). Para o reagente do presente projeto de pesquisa, esta metodologia não apresentou efetividade. Yang e colaboradores mostraram ser possível alquilar aminas via  $S_N1$  utilizando etanol como solvente, mas também evidenciaram que utilizando DMF também foi possível obter o produto (104) (YANG et al., 2014). A figura 52 ilustra as metodologias destacadas pela literatura.

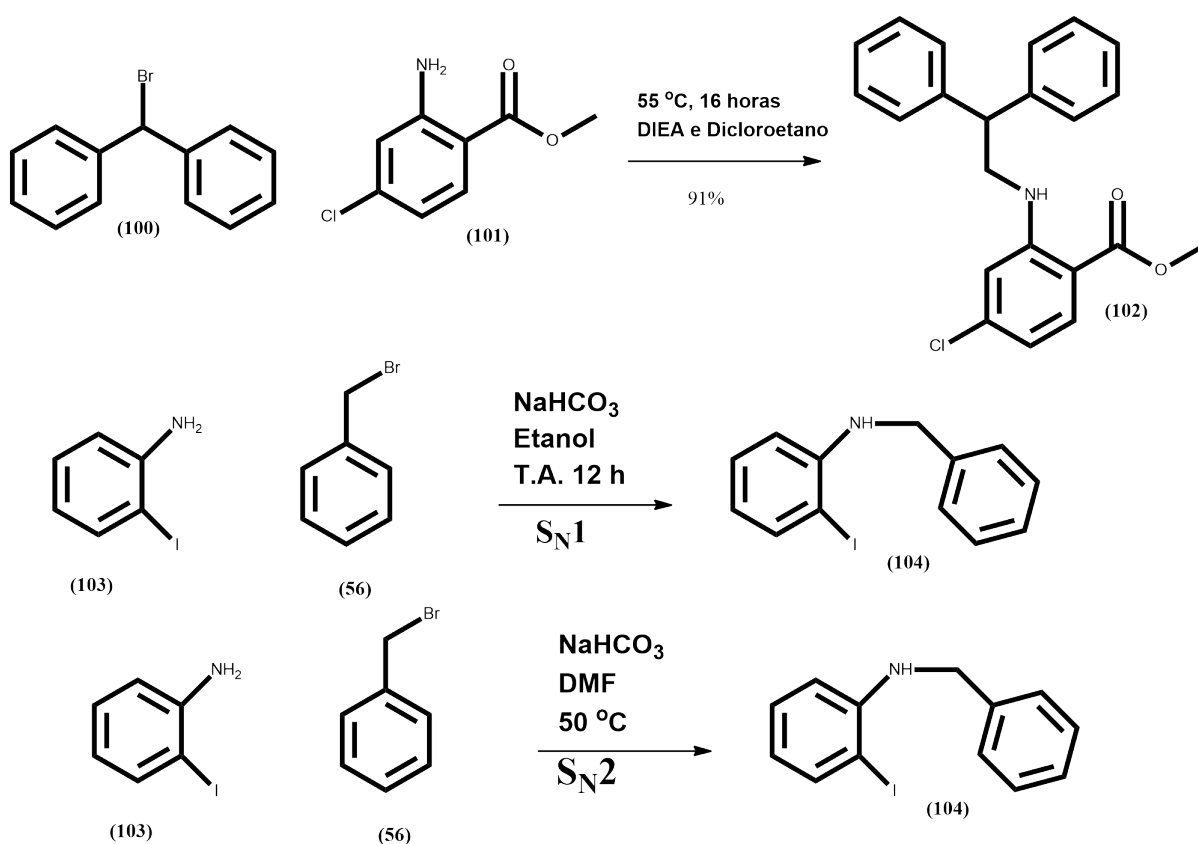


Figura 52 – Metodologias adotadas para alquilação da amina.

A metodologia utilizada para favorecimento do mecanismo por  $S_N1$ , consistiu em adicionar 2 mL de metanol (etanol não foi utilizado devido ao fato de possuir constante dielétrica menor do que o metanol) em um balão de 5 mL, juntamente com 0,03 mL de brometo de benzila e 82 mg de 3-amino-*N*-nitroanilina-ftalimida (**55c**). O tempo de reação foi de 30 horas e foi constatado a presença do produto de interesse empregando a CCD. Entretanto, foi constatado elevado número de subprodutos o que dificultou o processo de separação. Uma possível explicação é a possibilidade de reações paralelas envolvendo o metanol como nucleófilo.

A metodologia  $S_N2$  foi testada e as primeiras tentativas consistiram em encontrar a melhor base de Lewis para o sistema reacional, visto que no mecanismo  $S_N2$  é necessário ocorrer a desprotonação do nitrogênio da estrutura (**85**) representada na figura 54. Primeiramente foi testado o carbonato de potássio, e o solvente adotado foi DMF, sendo este polar e aprótico. Após 7 horas de reação foi realizada CCD e foram observados 6 valores de  $R_f$  diferentes, indicando que provavelmente houve ruptura do anel de 5 membros contendo a função anidrido em **61**.

Em seguida, a trietilamina foi utilizada como base de Lewis. Por ser uma base relativamente fraca e completamente solúvel em diclorometano (solvente polar e aprótico). Após 1 hora de reação a CCD foi realizada e foi constatada a presença de 6 valores diferentes de  $R_f$ , indicando, possivelmente, a formação de subprodutos e abertura da ftalimida.

Devido a elevada instabilidade do anel de cinco membros **61** decorrente do caráter eletrófilo da carbonila, a busca por uma base mais fraca do que carbonato de potássio e trietilamina culminou com a tentativa de utilizar bicarbonato de sódio. O valor de  $K_b$  é  $2,24 \times 10^{-8}$ , cerca de 10000 vezes mais fraca do que as bases utilizadas.

A metodologia adotada consistiu em misturar 23,4 mg de anidrido 3-aminoftálico com 0,01 mL de brometo de benzila e 18,53 mg de bicarbonato de sódio. O sistema foi lacrado com atmosfera inerte ( $N_2$  e Ar) e aquecido a 50 °C. Após 9 horas de reação o processo de purificação foi realizado e o rendimento foi de 14,3%. A figura 53 representa o espectro de RMN de  $^1H$  feito para comprovar o funcionamento da metodologia, evidenciando que o uso do bicarbonato de sódio não promoveu a ruptura do anel de cinco membros.

Neste espectro em 4,57 ppm destaca-se o sinal do metileno ( $-CH_2$ ). A multiplicidade tende para um dubleto em virtude do acoplamento com o hidrogênio do grupo amino. Em

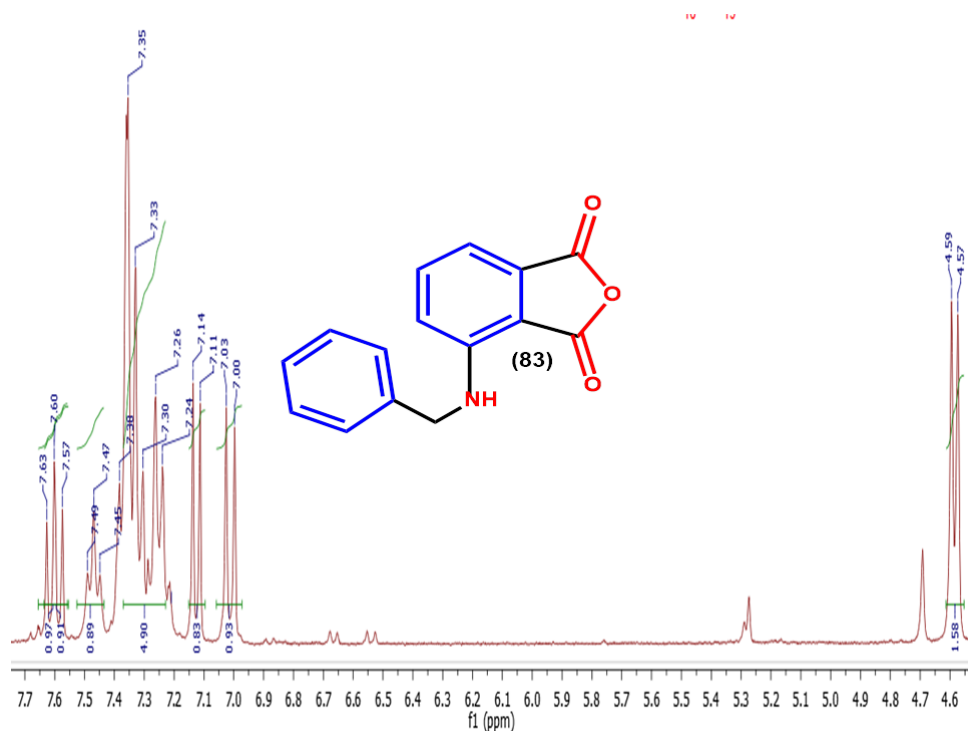


Figura 53 – Ampliação do espectro de RMN de  $^1\text{H}$  em  $\text{DMSO-d}_6$  (300MHz) para verificar a efetividade do uso da base de Lewis.

7,5 ppm nota-se a presença do hidrogênio ligado diretamente ao nitrogênio. Observa-se um tripleto em decorrência do acoplamento com o  $\text{CH}_2$ .

Na região de hidrogênios aromáticos há 8 hidrogênios. 5 hidrogênios são provenientes do brometo de benzila (**10**) e 3 hidrogênios oriundos do anidrido 3-amino ftálico (**58**). O mais blindado dos hidrogênios da região de aromáticos corresponde ao sinal de 7 ppm equivalente ao hidrogênio localizado na posição *orto* em relação ao grupo amino, isso em decorrência do efeito de doação de elétrons via ressonância deste grupo.

Na região de 7,3 a 7,4 ppm se localiza o multipletto decorrente dos 5 hidrogênios do anel aromático proveniente do brometo de benzila. Destaca-se que um deles está fortemente blindado devido ao efeito da anisotropia diamagnética exercida pela carbonila. Em 7,6 ppm encontra-se o hidrogênio mais desblindado, este se deve a posição *meta* em relação ao grupo amino, dessa forma, não há densidade eletrônica nesta posição. Em 7,5 ppm destaca-se o dubleto de dubleto do hidrogênio em para ao grupo amino.

A metodologia com o uso do bicarbonato de sódio como base foi adotada com a molécula **54c** visto que a estabilidade química da ímida é maior, pois o caráter eletrófilo da carbonila é atenuado pela ressonância com o nitrogênio. Nesta metodologia foi utilizado o brometo de benzila como limitante da reação devido ao fato de haver competição

entre o produto formado (amina secundária) e o material de partida (amina primária). A literatura relata que existe um maior caráter básico de aminas secundárias frente as primárias (CLAYDEN et al., 2001).

Quando o brometo de benzila é colocado em excesso, o monitoramento com CCF revela a presença de um novo valor de  $R_f$  acima do produto de interesse. Uma possível explicação seria a presença da amina dialquilada, visto que seu caráter apolar aumenta, conseqüentemente, interagindo menos com a sílica e mais com o eluente, aumentando seu valor de  $R_f$ . Deve-se frisar que o valor de  $R_f$  acima do produto de interesse foi encontrando em maior quantidade na via  $S_N1$ .

A metodologia  $S_N2$  foi repetida novamente, visto que apresentou-se mais eficiente do que  $S_N1$ . Nesta repetição houve aumento do tempo de reação e o brometo de benzila foi utilizado como limitante, além disso, a sua adição ocorreu lentamente, estas alterações resultaram em um rendimento de 30%.

Com a finalidade de aumentar a produção do composto (**54c**), a escala foi ampliada (de 100 mg para 200 mg de material de partida **55c**). Foram utilizados 207 mg de (**55c**) e 200,6 mg de bicarbonato de sódio, ambos foram dissolvidos em 5 mL de DMF e o sistema foi submetido a temperatura de 50 °C, posteriormente, 0,063 mL de brometo de benzila foi adicionado gota a gota. Com a ampliação das quantidades dos reagentes, decidiu-se aumentar o tempo de reação para 47 horas, visando aumentar a conversão. Entretanto, o rendimento foi de apenas 17%.

Um mecanismo para a reação de alquilação do grupo amino foi proposto e mostrado pela figura 54. A interação entre HOMO-LUMO ocorre quando o par de elétron do nitrogênio (**55c**) ataca o orbital sigma anti-ligante da ligação C-Br (**56**), como resultado, forma-se o estado de transição **84**. O bromo é um ametal que tem ótima habilidade de agir como grupo abandonador, isso em consequência de apresentar volume atômico e alta polarizabilidade, possibilitando-o estabilizar bem a carga negativa. O íon bicarbonato age abstraindo o próton do nitrogênio em (**85**), gerando o composto (**54c**).

A figura 55 representa o espectro de IV. Destaca-se no espectro de IV o estiramento com elevada intensidade de absorção em 1711  $\text{cm}^{-1}$  correspondente C=O de imidas cíclicas. Ressalta-se também em 1331  $\text{cm}^{-1}$  a presença do estiramento da ligação N=O. Em 3394  $\text{cm}^{-1}$  se observa o estiramento correspondente a deformação da ligação N-H.

RMN de  $^1\text{H}$  obtido para (**54c**) é representado pela figura 56 Os hidrogênios em 4,58 ppm **H-15** possuem multiplicidade de dubleto em função do acoplamento  $J^3$  com o

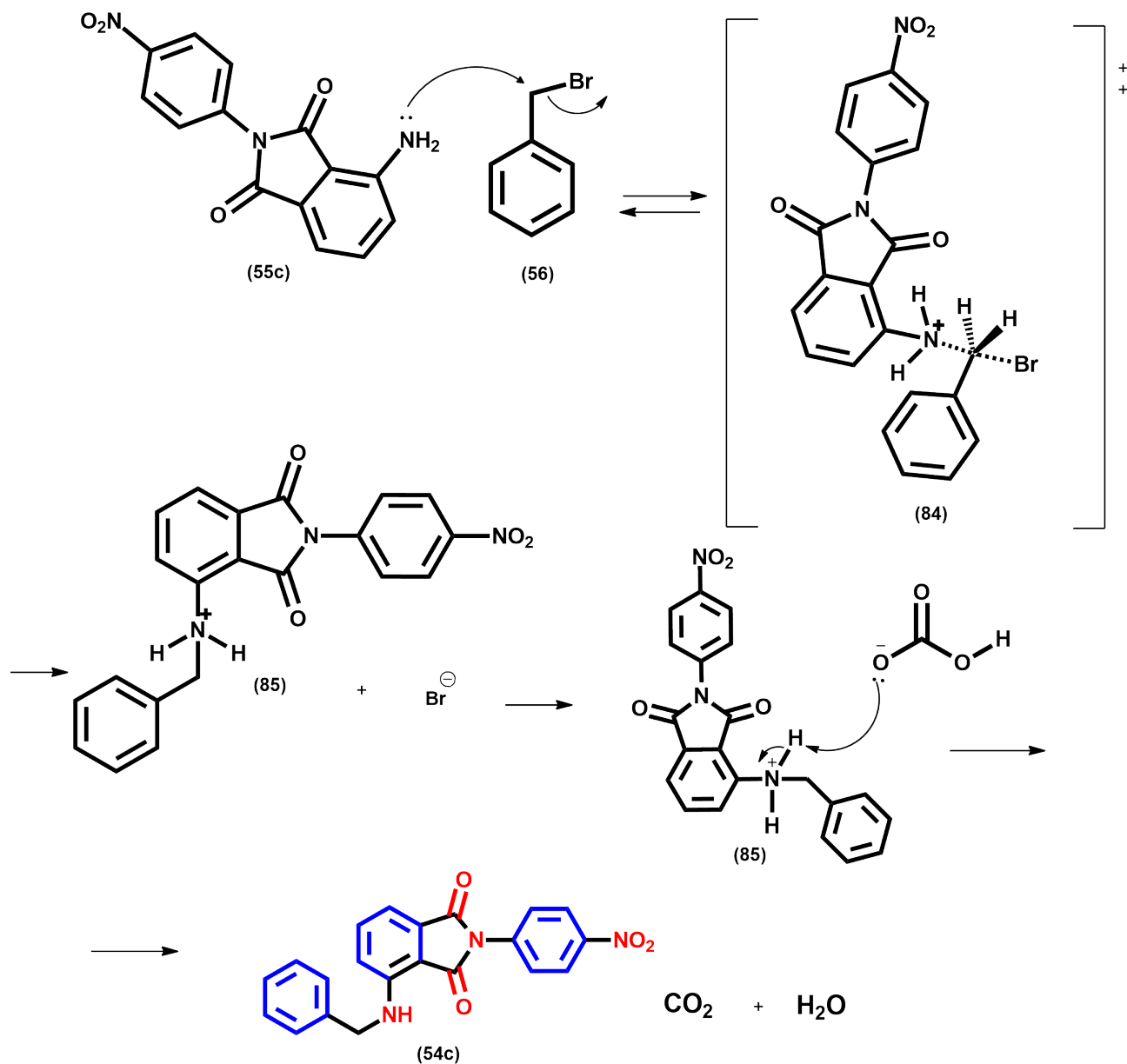


Figura 54 – Proposta de mecanismo de reação para formação do composto(54c)

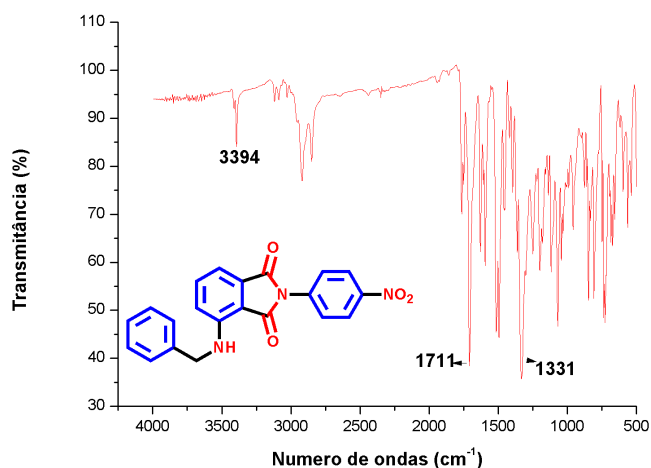


Figura 55 – Espectro de IV para a molécula inédita (**54c**) processado com o programa Origin 8

hidrogênio da amina e estão fortemente blindados pelo efeito de anisotropia diamagnética exercida pelo anel aromático. Em 6,94 ppm localiza-se o hidrogênio **H-4** e sua blindagem se deve ao efeito de doação eletrônica do grupo amina orientando elétrons na posição *orto* e para. Os hidrogênios em 7,8 ppm correspondem ao **H-10** e **H-14** que estão localizados em uma região simétrica da molécula (entre a imida cíclica e o grupo nitro), dessa forma, são magnéticamente equivalentes.

Os hidrogênios **H-11** e **H-13** presentes em 8,3 ppm também são magnéticamente equivalentes, porém possuem maior deslocamento químico devido ao fato de estarem na posição *orto* em relação ao grupo nitro, que retira densidade eletrônica do anel aromático.

Na região de 7,56 a 7,22 ppm estão localizados os cinco hidrogênios aromáticos oriundos do brometo de benzila, bem como os hidrogênios **H-5** e **H-6**. A integral fornece o valor de 8 em virtude da preseça do hidrogênio do clorofórmio.

O RMN de  $^{13}\text{C}$  foi obtido em clorofórmio deuterado e é detalhado pela figura 57. Destaca-se que há 21 sinais, o que está coerente com o número de átomos de carbono do produto (**54c**). Em 146,06 ppm situa-se um carbono quaternário **C-12**, sua intensidade é pequena devido ao efeito NOE. Além disso, este carbono é desblindado devido a presença do grupo nitro que age retirando densidade eletrônica.

Em 137,87 ppm encontra-se o **C-9** o qual possui baixa intensidade em seu sinal por consequência do efeito NOE. A blindagem deste carbono se deve a anisotropia diamagnética das carbonilas. Em 126,94 ppm se observam os carbonos **C-10** e **C-14**. Em 126,01 ppm

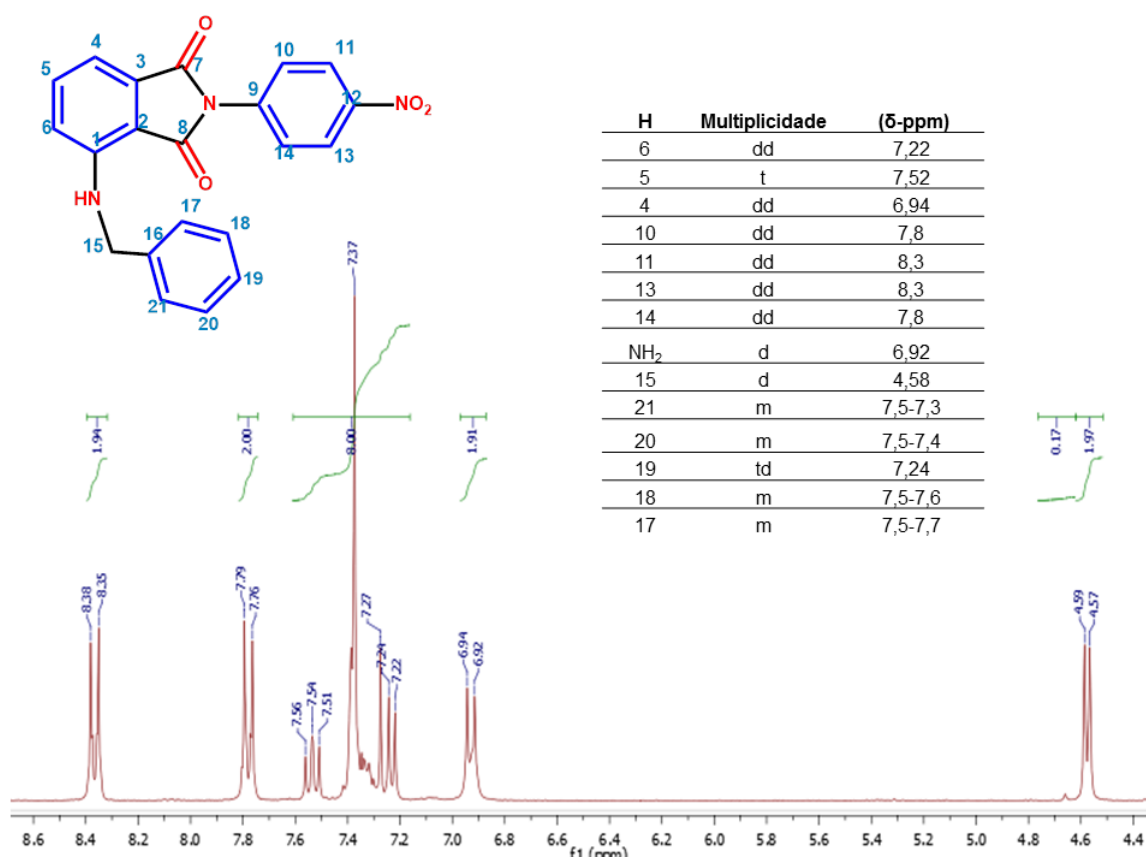


Figura 56 – Ampliação do espectro de RMN de  $^1\text{H}$  realizado em clorofórmio deuterado ( $\text{CDCl}_3$ ) em 300MHz.

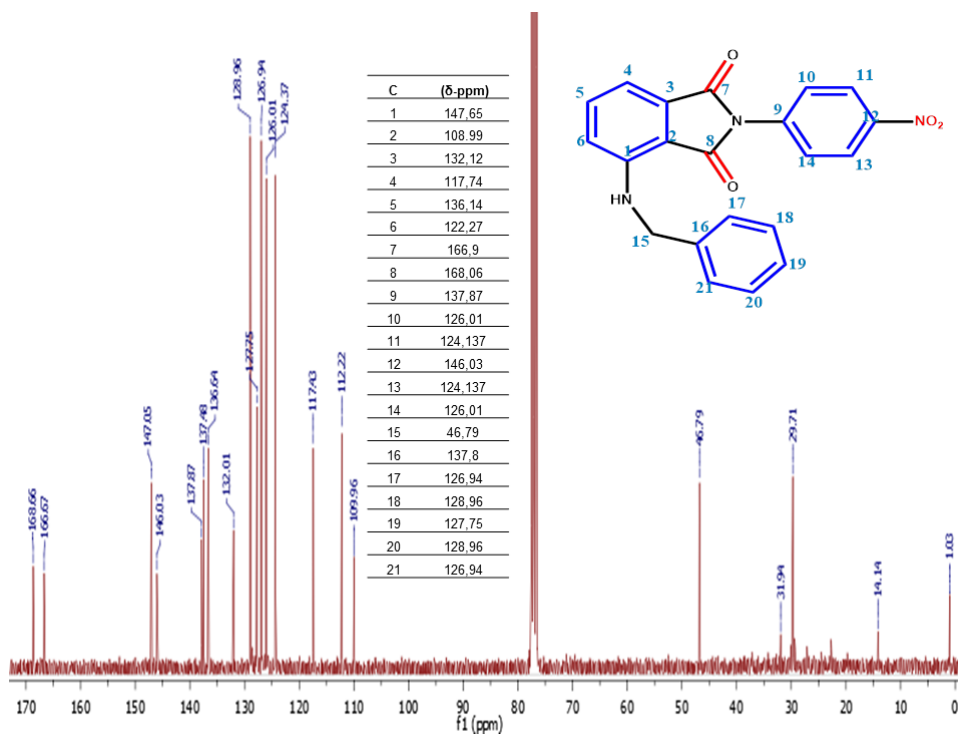


Figura 57 – Ampliação do espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  obtido para a ftalimida (54c) em solvente  $\text{DMSO-d}_6$  (75MHz)

temos os carbonos **C-11** e **C-13**. Um importante sinal corresponde ao carbono **C-15** em 46,79 ppm, possuindo elevada intensidade devido a presença de dois hidrogênios que contribuem para o efeito NOE. O carbono **C-16** é quaternário e sua intensidade é baixa.

Os carbonos **C-17** e **C-21** apresentam elevada similaridade em seus valores de deslocamento químico, isso em virtude da livre rotação do carbono  $sp_3$  **C-15**, resultando em um ambiente químico similar para ambos. Os carbonos **C-18** e **C-20**, localizados em 128,96 ppm, apresentam o mesmo efeito descrito anteriormente. O carbono **C-19** se localiza em 127,75 ppm.

Ressalta-se que a posição exata do hidrogênio da amina não foi possível definir apenas com RMN de  $^1H$  e  $^{13}C$ . A literatura afirma que a posição dos hidrogênios do grupo amino, varia de acordo com a temperatura, o solvente e o pH (PAVIA et al., 2009).

O espectro bidimensional de RMN do tipo HSQC demonstra a correlação entre átomos de  $^1H$  e átomos de  $^{13}C$  de uma ligação ( $J^1$ ). Foi constatado que não há acoplamento direto do hidrogênio da amina (7,16 ppm) com átomos de carbono, ademais, foi possível definir quais são os carbonos quaternários, visto que não é observada correlação direta no espectro de HSQC destacado pela figura 58.

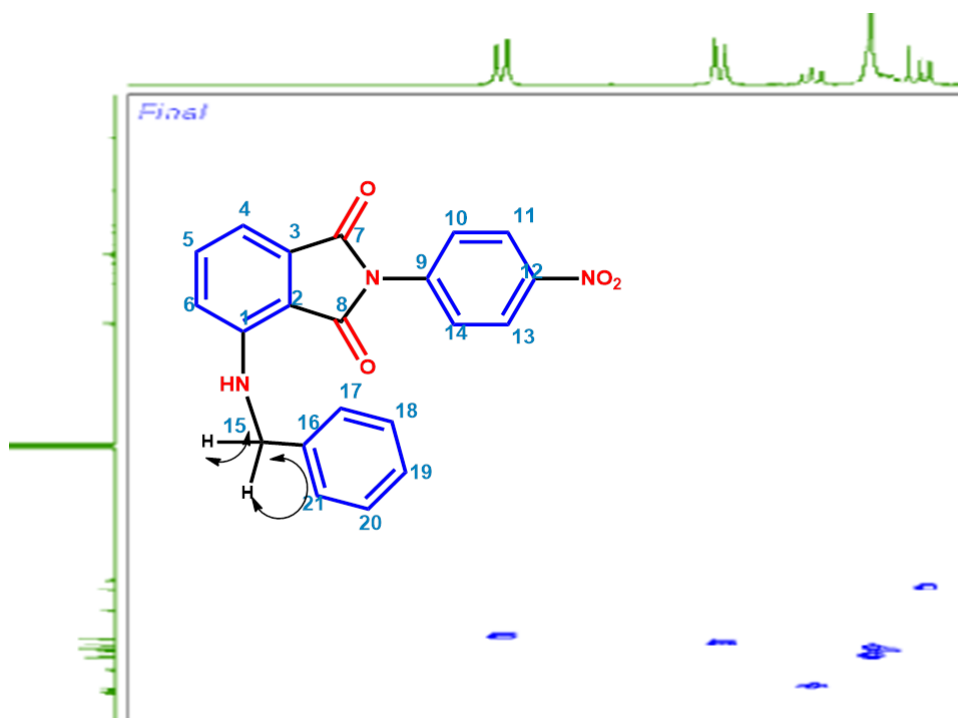


Figura 58 – Ampliação do espectro bidimensional HSQC na região de 6,7 a 7 ppm realizado em  $CDCl_3$  em 300 MHz para  $^1H$  e 75 MHz para  $^{13}C$ .

O espectro bidimensional de HMBC é capaz de evidenciar correlações a longa distância entre C e H. O espectro de HMBC mostra que há correlações do sinal em 7,16 ppm (amina) com **C-16**, **C-2**, **C-21** e **C-17**. Isso evidencia a posição exata do sinal da amina, tornando a caracterização da estrutura inédita completa.

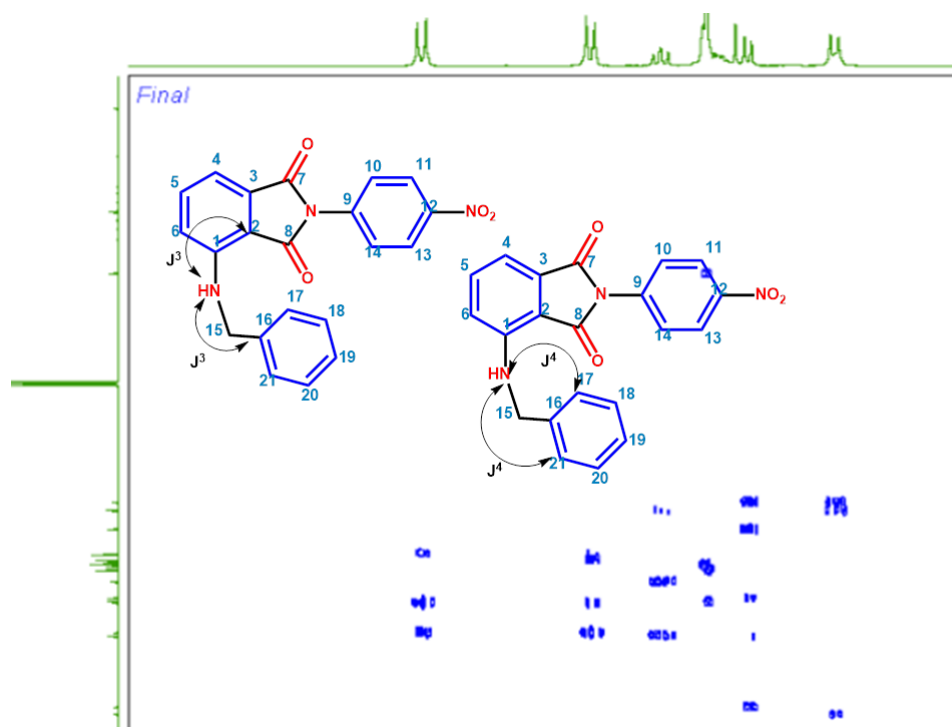


Figura 59 – Ampliação do espectro bidimensional HMBC na região de 6,7 a 7,2 ppm realizado em  $\text{CDCl}_3$  em 300 MHz para  $^1\text{H}$  e 75 MHz para  $^{13}\text{C}$ .

## 6.5 Aplicação da rota sintética definida - Variações estruturais

Com a rota sintética definida foi possível sintetizar 12 compostos com padrão estrutural ftalimídico. A figura 60 representa as substâncias obtidas.

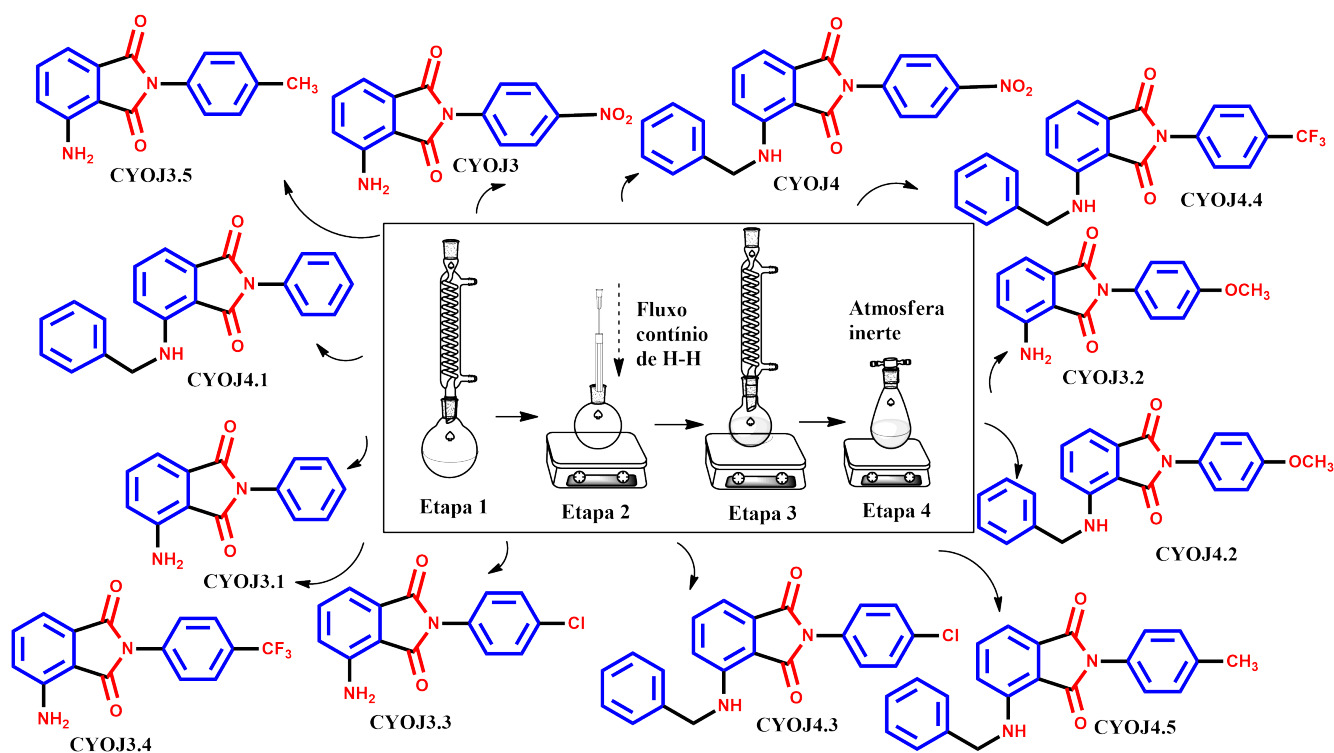


Figura 60 – Síntese dos compostos com padrão estrutural ftalimídico. Observam-se variações estruturais e eletrônicas, destaca-se que há grupos doadores, neutros e aceptores de elétrons

A tabela 1 foi construída para os dados coletados na terceira etapa da rota sintética. Observa-se que o valor da constante básica ( $K_b$ ) está em consonância com a visão proveniente da química orgânica, pois, o caráter básico das aminas aumenta a medida que o par de elétron livre torna-se disponível para a doação, caracterizando-se como uma base de Lewis, portanto, grupos doadores de elétrons são capazes de aumentar o caráter básico da anilina, em contrapartida, grupos retiradores de elétrons promovem aumento no número de estruturas canônicas de ressonância, distribuindo o par de elétron de forma mais eficiente na estrutura, dessa forma, diminuindo o caráter básico da anilina.

Neste trabalho, foi constatado que a reação que apresentou mais dificuldade para ser efetivada na etapa 3 foi com a para-metoxi-anilina, ao passo que a mais trivial foi utilizando a nitro-anilina. Sugere-se que, de acordo com o mecanismo de reação da formação da

Tabela 1 – Tabela de correlação entre rendimento, tempo e constante básica. 1- Anilina *para*-funcionalizada, 2- Os valores da constante básica foram obtidos através de cálculos de equilíbrio químico, para isso, adotou-se como origem os valores de pKa obtidos no Sci-Finder para cada anilina funcionalizada. 3- Tempo da reação quantificado em horas. 4- Destaca-se que o sinal (\*) indica que o resultado obtido é a porcentagem de conversão, isso em decorrência do fato do espectro de RMN demonstrar impurezas.

R-Ph-NH <sub>2</sub> <sup>1</sup>	K <sub>b</sub> <sup>2</sup>	Tempo (h) <sup>3</sup>	Rendimento <sup>4</sup>
R-NO <sub>2</sub>	1,0235x10 <sup>-13</sup>	7,5	80%
R-H	4,0749x10 <sup>-10</sup>	5,5	19%*
R-OCH <sub>3</sub>	1,621x10 <sup>-9</sup>	10	75%*
R-Cl	9,332x10 <sup>-11</sup>	10	22%
R-CF <sub>3</sub>	5,889x10 <sup>-12</sup>	19	12%
R-CH <sub>3</sub>	1,096x10 <sup>-9</sup>	7	13%

ftalimida (etapa 3), a presença de grupos retiradores de elétrons na posição *para* ao grupo amino favorecem o rendimento da reação, pois, apesar do caráter básico diminuir com a presença de grupos retiradores de elétrons, deve-se enfatizar que o meio da reação está ácido, portanto, há a possibilidade de existir maior população de moléculas de anilina, com maior valor de constante básica, protonadas, logo desfavorecendo o ataque na carbonila do anidrido. Dessa forma, observa-se que quanto maior o valor da constante básica, maior é o tempo de reação, visto que o equilíbrio químico entre espécie protonada e desprotonada se desloca com o consumo da população de anilina desprotonada, ao passo que, anilinas com menores valores de constante básica possuem menor população de moléculas protonadas em equilíbrio. Outro aspecto importante é a diferença entre o grupo nitro e trifluor, observamos rendimentos acentuadamente diferente devido ao fato da ressonância prevalecer sobre os efeitos eletrônicos de indução.

Pode-se inferir que a presença de anilinas com grupos retiradores de elétrons favorecem a formação do anel ftalimídico em comparação a grupos doadores de elétrons. Afim de verificar esta hipótese proposta, observou-se na literatura duas reações que corroboram com a hipótese sugerida. A figura 61 destaca ambas metodologias.

Para a etapa 4 foi observado que o valor da constante básica (K<sub>b</sub>) dos derivados ftalimídicos *para* substituídos não foram primordiais para o rendimento da reação de substituição nucleofílica, isso devido ao fato de haver interferência eletrônica pouco intensa pelos grupos doadores, neutros e aceptores de elétrons. Nota-se que os valores de K<sub>b</sub> possuem a mesma ordem de grandeza: 10<sup>-15</sup>, evidenciando o caráter de base fraca dos

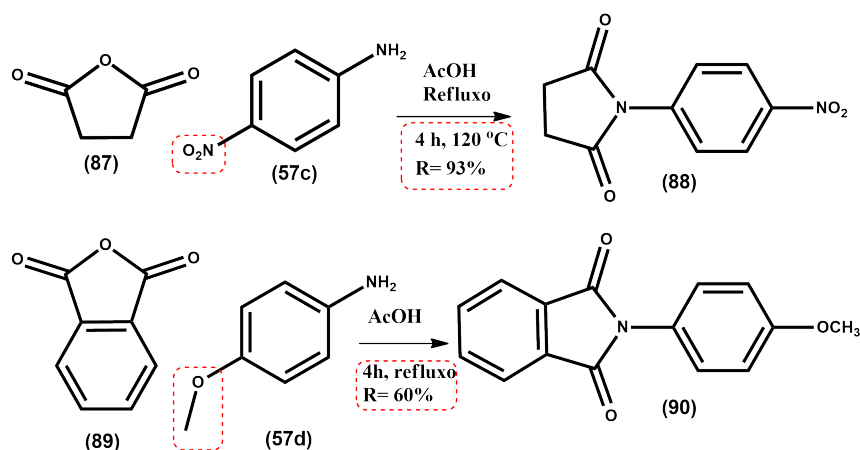


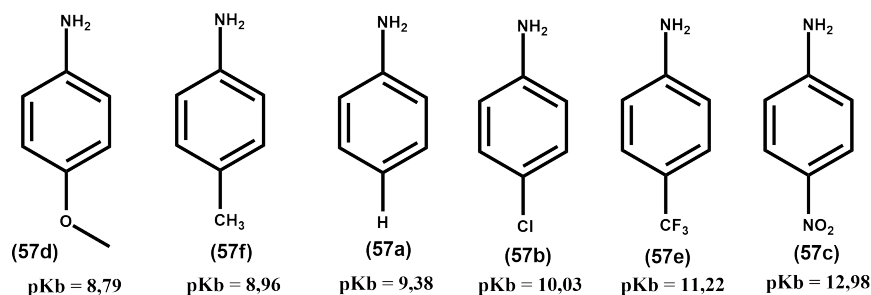
Figura 61 – Inferência proposta no trabalho em concordância com os trabalhos da literatura. A primeira metodologia é apresentada por FHID et al., (2015). A segunda é proposta por SIM et al., (2009)

derivados ftalimídicos. Dessa forma, pode-se inferir que em decorrência do baixo valor de  $K_b$  o rendimento é justificável, ademais, o efeito eletrônico exercido pelos substituintes não afeta drasticamente o caráter básico da amina. A tabela 2 representa os dados obtidos.

Tabela 2 – Dados experimentais para a quarta etapa da rota sintética. 1- Tempo quantificado em horas; 2- rendimento calculado após processo de purificação e 3- Constante básica calculada a partir dos dados de pKa obtidos pelo Sci-Finder. Destaca-se que (\*\*\*) indica que o valor não é determinado, visto que a molécula é inédita

Ftalimida funcionalizada	Tempo <sup>1</sup>	Rendimento <sup>2</sup>	$K_b$ <sup>3</sup>
R-NO <sub>2</sub>	72 h	25%	$1,047 \times 10^{-15}$
R-H	72 h	19%	$1,819 \times 10^{-15}$
R-OCH <sub>3</sub>	15 h	7%	$1,515 \times 10^{-15}$
R-Cl	17 h	19%	$1,47 \times 10^{-15}$
R-CF <sub>3</sub>	31 h	4%	***
R-CH <sub>3</sub>	12 h	7%	$1,149 \times 10^{-14}$

Com a finalidade de averiguar a coerência da hipótese apresentada neste trabalho, da qual, consiste em justificar os baixos rendimentos da reação de alquilação da amina atribuindo principalmente ao motivo de baixo valor da constante básica, foi realizada uma busca com o intuito de verificar se o rendimento da reação de alquilação da amina seria maior com os pares de elétrons do nitrogênio disponíveis para o ataque nucleofílico. Foi constatado na literatura que quando se adotava o reagente 1-feniletilamina (3 mmol) para reagir com o brometo de benzila (3,3 mmol) o rendimento era de 72%. Dessa forma, nota-se que o baixo rendimento desta etapa, se deve, intensamente, a disponibilidade do



Diminuição do caráter básico se deve ao efeito retirador de elétrons das anilinas para-funcionalizadas

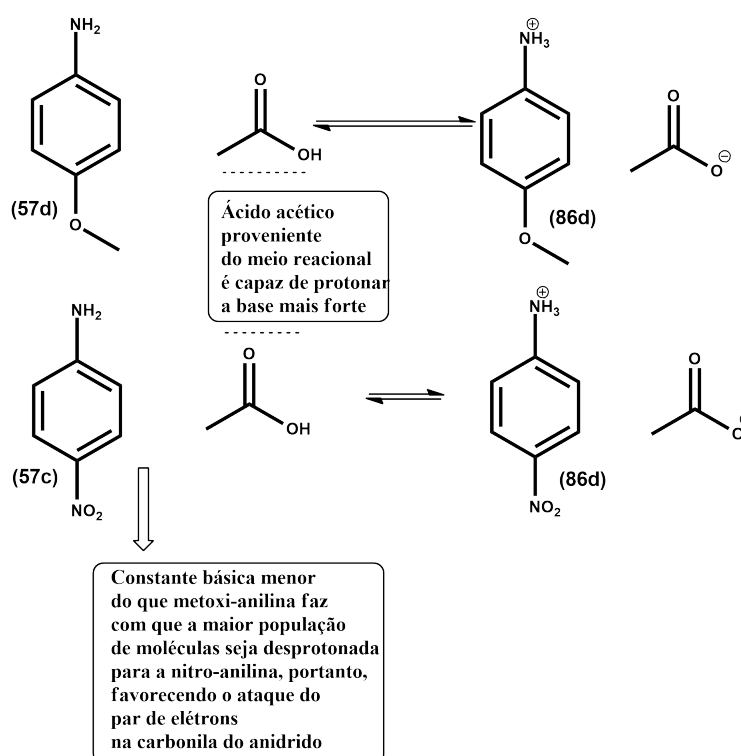


Figura 62 – Possível justificativa dos dados experimentais apresentados na tabela 1

par de elétron para ação como base de Lewis, visto que o valor de  $K_b$  para 1-feniletilamina é de  $9,120 \times 10^{-10}$ , portanto, cerca de 912.000 vezes maior do que o valor de  $K_b$  para as ftalimidas do presente trabalho (MARTÍNEZ-MONTERO et al., 2015).

Ravi e colaboradores estudaram em detalhes o mecanismo e a cinética reacional da benzilamina com diferentes substituintes, tais como metoxi, nitro e metil (0,1 M) reagindo com o brometo de benzila (0,1 M) em metanol em temperatura de 30 °C. A principal conclusão deste trabalho foi que grupos doadores na amina funcionalizada aumentavam a velocidade da reação, enquanto que grupos retiradores diminuíam a velocidade da reação (RAVI et al., 2014). Observa-se que para nosso sistema químico foi observado o mesmo comportamento, visto que, quando houve a presença do grupo nitro na ftalimida o tempo

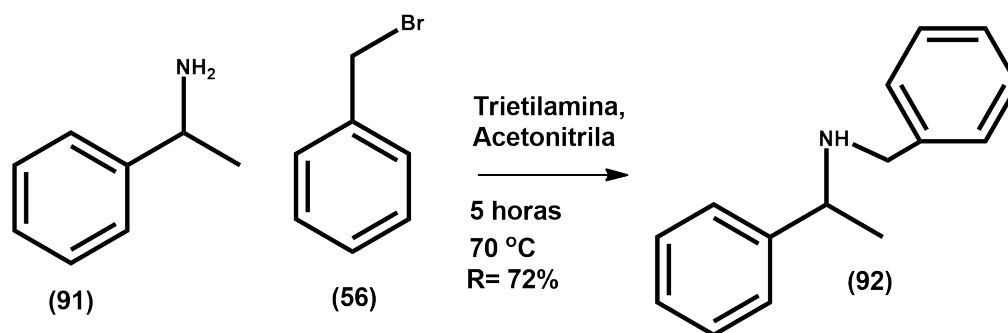


Figura 63 – Metodologia proposta por MARTÍNEZ-MONTERO et al., (2015) evidenciando que o caráter básico é fundamental para esta reação ter bons rendimentos

de reação foi de 72 horas, enquanto que para a ftalimida contendo o grupo metil e o grupo metoxi, o tempo foi de 12 horas e 15 horas, respectivamente.

O efeito eletrônico é a principal variável química presente na série de ftalimidas. Uma possível abordagem para obter informações sobre o efeito eletrônico prevalente em cada estrutura sintetizada é analisar os espectros de RMN de  $^1\text{H}$ . Dessa forma, podemos inferir, através do deslocamento químico o efeito vigente em cada estrutura química inédita sintetizada neste trabalho.

Inicia-se a discussão com o espectro da ftalimida contendo H como substituinte, não observamos acentuada diferença entre os deslocamentos químicos dos hidrogênios **H-10**, **H-14** e **H-11**, **H-13**. Entretanto, para grupos doadores de elétrons, observa-se que o deslocamento químico de **H-10** e **H-14** são maiores do que **H-11** e **H-13**, pois grupos doadores de elétrons orientam carga negativa para regiões *orto* e *para*, logo blindam mais efetivamente **H-11** e **H-13**. Este fenômeno ocorre com R-CH<sub>3</sub> e R-OCH<sub>3</sub> acentuadamente. Quando analisa-se o espectro de R-CF<sub>3</sub> nota-se o inverso, isso implica que temos retirada de elétrons na posição *orto* e *para*, logo, nota-se maior deslocamento químico para **H-11** e **H-13** visto que não estão blindados como **H-10** e **H-14**, este mesmo comportamento é notado no espectro do grupo nitro como substituinte. As figuras 64, 65, 66, 67 e 68 representam os espectros de hidrogênios obtidos para os compostos inéditos.

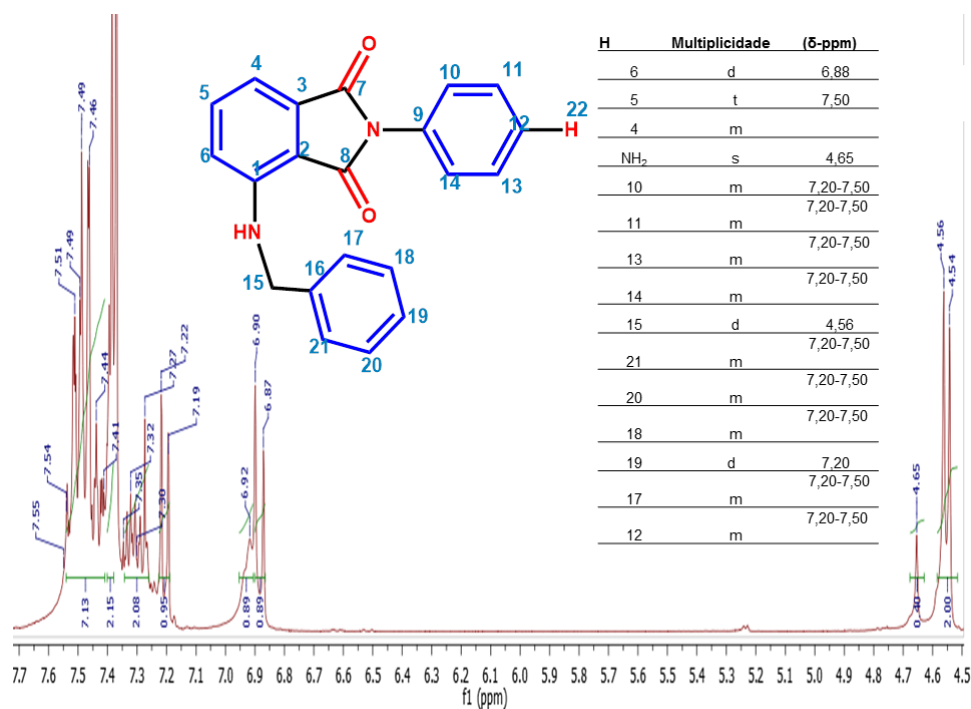


Figura 64 – Ampliação do espectro de RMN de  $^1\text{H}$  realizado em clorofórmio deuterado ( $\text{CDCl}_3$ ) em 300 MHz para o composto **54a**, CYOJ4.1

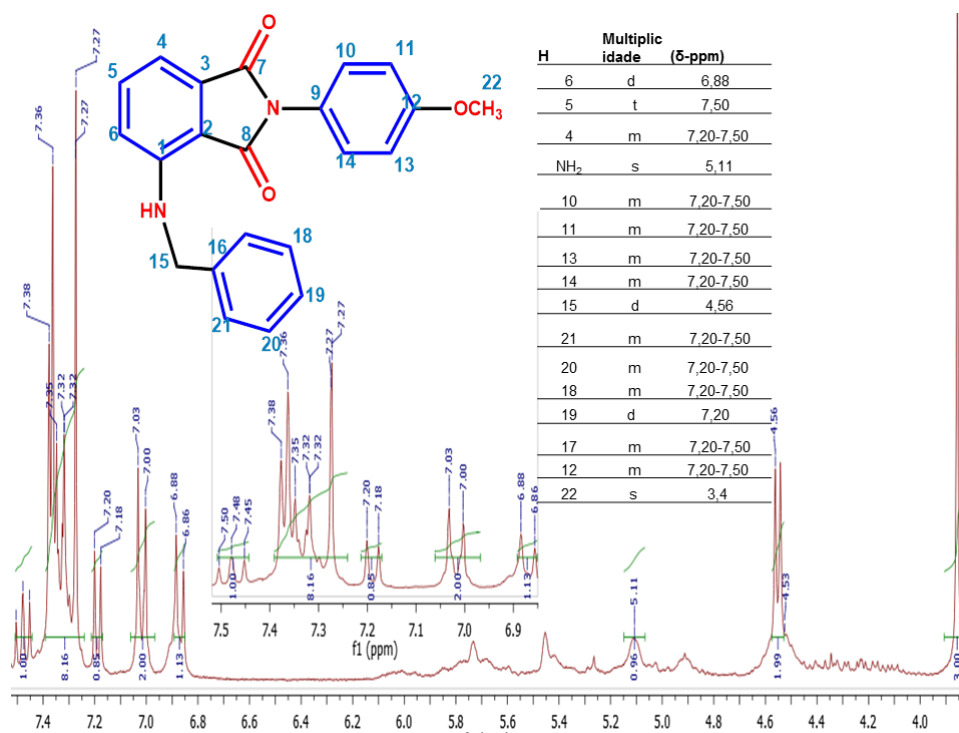


Figura 65 – Ampliação do espectro de RMN de  $^1\text{H}$  realizado em clorofórmio deuterado ( $\text{CDCl}_3$ ) em 300 MHz para o composto **54d**, CYOJ4.2

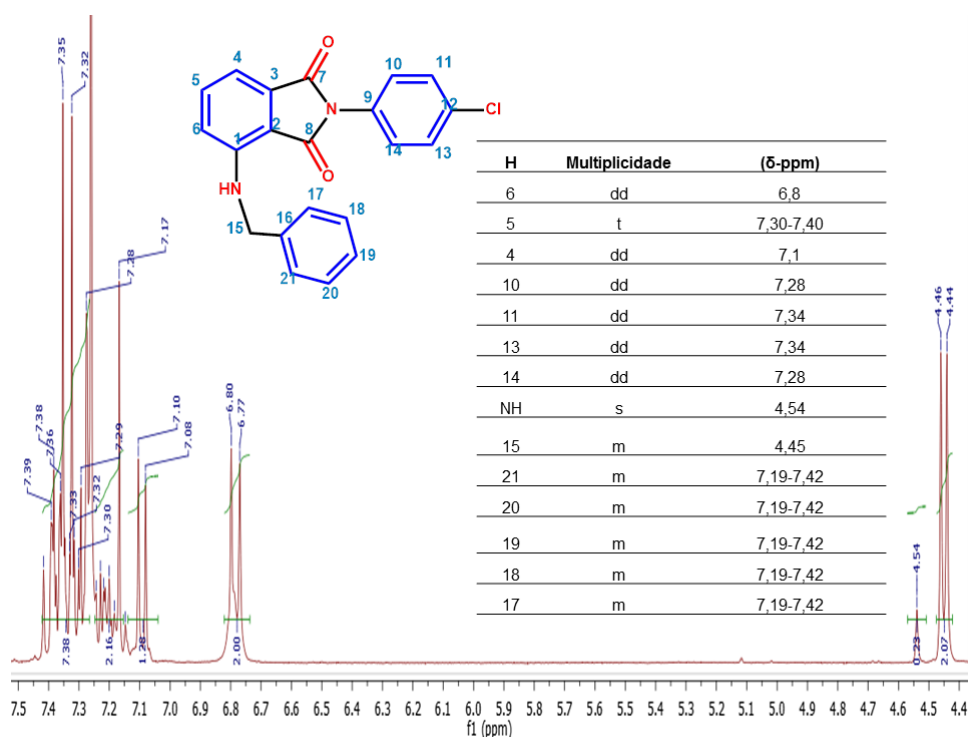


Figura 66 – Ampliação do espectro de RMN de  $^1\text{H}$  realizado em clorofórmio deuterado ( $\text{CDCl}_3$ ) em 300 MHz para o composto **54b**, CYOJ4.3

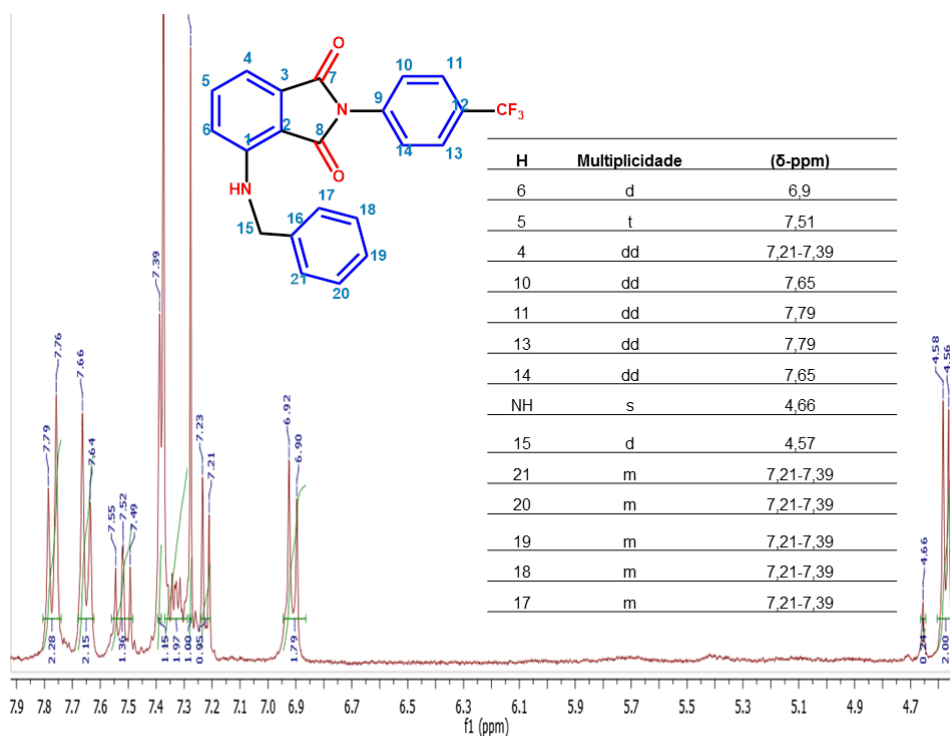


Figura 67 – Ampliação do espectro de RMN de  $^1\text{H}$  realizado em clorofórmio deuterado ( $\text{CDCl}_3$ ) em 300 MHz para o composto **54e**, CYOJ4.4



## 7 RESULTADOS E DISCUSSÃO - Parte Biológica

Neste capítulo serão abordados os testes biológicos realizados com os derivados planejados e sintetizados.

### 7.1 Testes biológicos frente à enzima DAGL- $\alpha$

A enzima DAGL- $\alpha$  é uma enzima intracelular que participa da formação de 2-AG no sistema nervoso central, sabe-se que em obesos o endógeno 2-AG está em quantidade demasiada e contribui para o descontrole alimentar e a síndrome metabólica. Devido ao fato deste alvo biológico ser novo, não há a estrutura cristalográfica desta enzima, entretanto, um modelo farmacofórico foi desenvolvido usando como referência o ligante orlistat. Houve a simulação computacional da tríade catalítica encontrada nas enzimas da família de serina hidrolase pelo PDB-CODE: 2px6, na qual a estrutura cristalográfica havia o ligante orlistat. Com o intuito de avaliar a veracidade do modelo criado foi desenvolvido um teste bioquímico e colorimétrico para quantificar a porcentagem de inibição da enzima hDAGL- $\alpha$ , na qual a atividade biológica foi quantificada pela quantidade de *para*-nitrofenilbutirato (BAGGELAAR et al., 2013).

Em parceria com a universidade de Leiden, foi possível estabelecer colaboração de pesquisa com o grupo do professor Dr. Mário Van der Stelt. Os resultados foram fornecidos pela equipe de pesquisa de Leiden. A figura 69 representa a estrutura dos compostos CYOJ4.1 e CYOJ3.1 enviados para testes de inibição no mês de setembro de 2016.

Como resultado principal, foi observado que o composto CYOJ4.1 apresentou valor de 20% de inibição da enzima hDAGL- $\alpha$ , em concentração de 10  $\mu$ M.

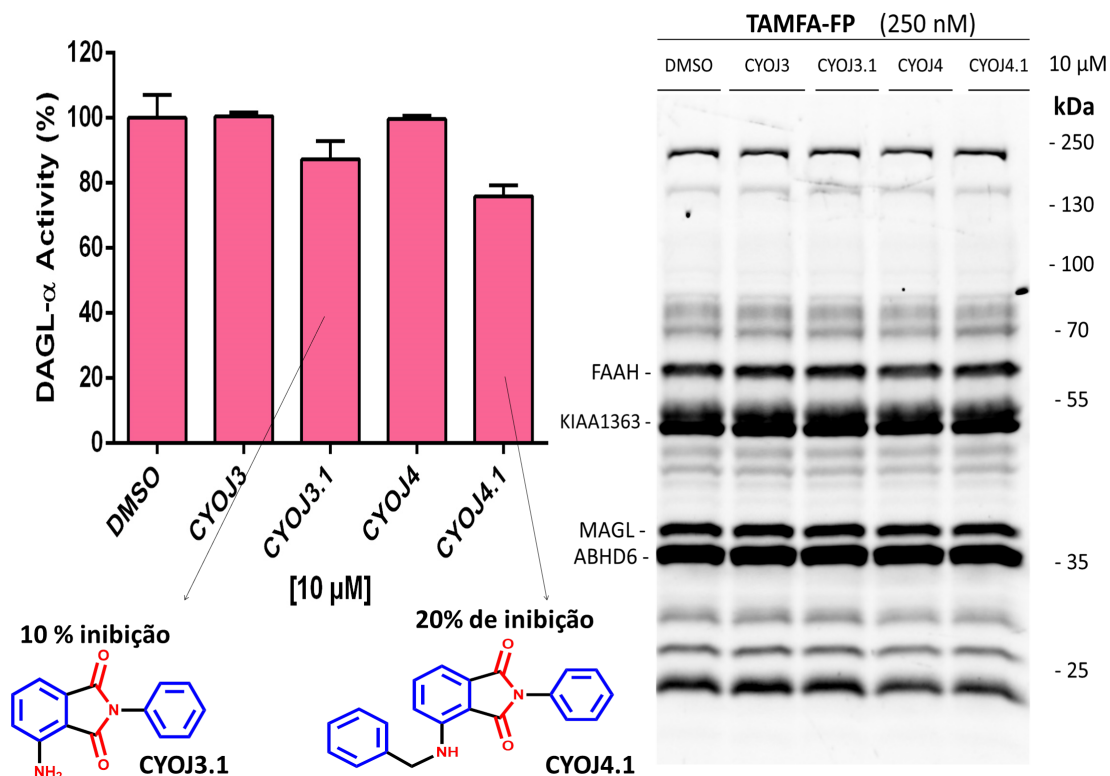


Figura 69 – Avaliação da atividade e da seletividade *in vitro* dos compostos CYOJ3, CYOJ3.1, CYOJ4 e CYOJ4.1. O gráfico da esquerda mostra a inibição dos compostos em uma concentração de 10  $\mu$ M em células HEK293T, utilizando como substrato o ligante *para*-nitrofenilbutirato. Destaca-se que os testes foram realizados em células cerebrais de rato

## 7.2 Testes biológicos paralelos - CIBFAR e doenças negligenciadas

O CEPID (Centro de pesquisa, inovação e difusão) é um centro de pesquisa apoiado pela FAPESP. O CIBFar (Centro de pesquisa e inovação em biodiversidade de fármacos) está inserido em um dos temas de pesquisa do CEPID e é constituído pela integração entre as universidades estaduais IQ-UNICAMP, IQ-Unesp (NUBBE) e USP (Instituto de Física e o instituto de a faculdade de ciências farmacêuticas de Ribeirão preto) com o DQ-UFSCar. O principal objetivo desta integração científica é identificar e selecionar novas entidades químicas com atividade antiparasitária, antibacteriana e anticâncer, para isso, é de suma importância haver integração entre a síntese orgânica, química de produtos naturais, química medicinal e química computacional. A importância da síntese orgânica reside na viabilidade de novas metodologias sintéticas acessíveis, rápidas e baratas. O papel da química de produtos naturais é encontrar plantas Brasileiras com elevada capacidade de fornecer esqueletos moleculares inspiradores frente ao tratamento de doenças e o principal

objetivo da química medicinal consiste em planejar novos ligantes, selecionar o melhor alvo biológico e desenvolver estratégias computacionais que permitam aprimorar um candidato a fármaco, transformando este em uma nova entidade química com capacidade de ação diante das doenças listadas acima.

A malária é causada pela presença do microrganismo parasitário *plasmodium falciparum*, este é capaz de invadir células hospedeira e desencadear os sintomas da malária, que coloca em risco a vida de 1,2 bilhão de pessoas em mais de 100 países no mundo (SOUZA; PADUA; HENRIQUES, 2015).

Os testes biológicos foram realizados pelo grupo de pesquisa da USP-São Carlos pela pesquisadora Dr. Anna Caroline Aguiar e Dr. Rafael Guido. O objetivo foi averiguar a ação antiplasmodial, bem como verificar a ação toxicológica em células hepáticas imortalizadas, para isso testes foram realizados com *P. falciparum-3d7* isolado. A metodologia aplicada para o ensaio biológico foi SYBR GREEN I, esta consiste em quantificar parasitas vivos através da marcação do DNA utilizando o reagente de SYBR, ademais, foi utilizado cloroquina como referência.

Tabela 3 – Dados obtidos para a ação de CYOJ4 contra o parasita isolado de *P. falciparum-3d7*. Destaca-se que (\*) implica em dados de concentração inibitória em micro molar com erros de 8 unidades e 0,006 para CYOJ4 e cloroquina respectivamente. Os testes foram feitos em DMSO e (\*\*) significa dose letal em DMSO com concentração em micro molar. (\*\*\*) IS implica em índice de seletividade e matematicamente corresponde a razão entre concentração inibitória e dose letal

Amostra	IC <sub>50</sub> *	MDL <sub>50</sub> **	IS***	Característica
CYOJ4	22,8	>750	>34	Ativo
Cloroquina	0,033	398	11,818	Ativo

Podemos inferir que há um potencial para ser explorado perante a ação dos derivados ftalimídicos sobre a malária, visto que houve um bom valor de seletividade, ademais, deve-se frisar que futuros testes com os derivados contendo grupos doadores e neutro podem oferecer dados importantes.

### 7.3 Testes biológicos paralelos - Câncer de Mama

O câncer de mama é o tipo de tumor que mais afeta as mulheres no mundo. Estudos recentes mostram que há relação entre o IMC (tecido adiposo) e a presença de câncer de mama (BROOKS et al., 2016). Os testes biológicos foram realizados pelo grupo de pesquisa

da professora Doutora Letícia Lotufo em São Paulo (Laboratório de farmacologia de produtos naturais marinhos). A linhagem de célula utilizada foi MCF-7 para o câncer de mama e o solvente adotado foi DMSO. A tabela 4 mostra os dados obtidos.

Tabela 4 – Dados adquiridos após 72 horas de incubação, observa-se em porcentagem o valor da inibição do crescimento celular da linhagem de MCF-7. I.C. corresponde a Inibição do crescimento em porcentagem.

<b>Amostra</b>	<b>I.C. (%) 50<math>\mu</math>M</b>	<b>I.C. (%) 5<math>\mu</math>M</b>
CYOJ3	90,97	82,56
CYOJ4	99,02	90,67

Destaca-se que há similaridade estrutural com duas moléculas que apresentam capacidade de combater a neoplasia. As estruturas são lenalidomida e talidomida.

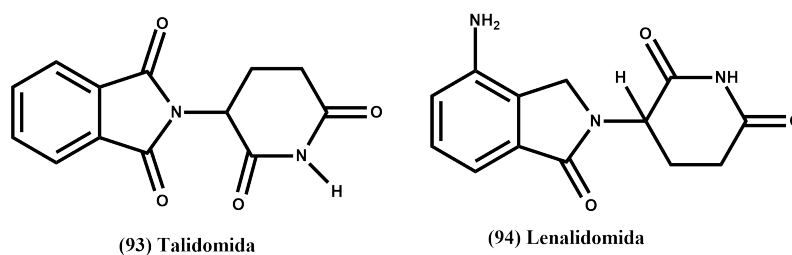


Figura 70 – Substâncias com similaridade estrutural que justifica a atividade frente ao câncer de mama

## 8 CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS

A rota sintética foi realizada em quatro etapas com rendimento global correspondente a 8,6% para o grupo nitro. Deve-se enfatizar que a rota sintética se mostrou efetiva, pois adotando-a foi possível obter 12 derivados ftalimídicos planejados para a inibição da enzima DAGL- $\alpha$ , entretanto, alterações necessitam ser realizadas com o intuito de otimizá-la em relação ao rendimento, uma dessas alterações metodológicas pode ser o uso da amina redutiva na quarta etapa da rota reacional, bem como o uso do iodeto de benzila. Destaca-se também que os baixos rendimentos obtidos nas etapas 3 e 4 se devem, respectivamente, ao solvente adotado e ao baixo valor da constante básica para o ataque nucleofílico da amina, dessa forma, como perspectivas futuras, alterações no solvente da etapa 3 e mudanças estruturais que causem aumento do caráter básico da amina podem ser executadas.

Os resultados biológicos frente à inibição da enzima DAGL- $\alpha$  não foram promissores para grupos retiradores de elétrons, dessa forma, há aumento nas expectativas de maior porcentagem de inibição dos derivados com substituintes doadores de elétrons. É primordial enfatizar que a alquilação da amina com o grupo benzila foi capaz de aumentar a atividade de inibição frente à enzima. Destaca-se também que oito derivados ftalimídicos encontram-se em fase de execução dos testes de inibição enzimática realizados pelo grupo de pesquisa do professor Dr. Mário Van der Stelt.

Como perspectiva futura, notou-se também que há motivo para o aprimoramento estrutural do composto CYOJ4, visto que este se mostrou ativo e seletivo em relação a Malária, ademais, este mesmo composto, apresentou atividade biológica na inibição do crescimento de linhagens cancerígenas de células de mama, dessa forma, estes dados abrem novas possibilidades de futuros projetos de pesquisa em doenças negligenciadas e câncer de mama.

## REFERÊNCIAS

- AFONSO, J. C. et al. Recuperação de metais de catalisadores mássicos e mono metálica. **Química Nova**, v. 26, n. 6, p. 924-930, 2003.
- AGARWAL, R.; BILLS, J. E.; LIGHT, R. P. Diagnosing obesity by body mass index in chronic kidney disease: an explanation for the obesity paradox? **Hypertension**, v. 56, n. 5, p. 893-900, 2010.
- AMPÉM, G. et al. Adipose tissue macrophages in non-rodent mammals: a comparative study. **Cell and Tissue Research**, v. 363, n. 2, p. 461-478, 2015.
- ANTAL-ZIMANYI, I. et al. Pharmacological characterization and appetite suppressive properties of bms-193885, a novel and selective neuropeptide Y1 receptor antagonist. **European Journal of Pharmacology**, v. 590, n. 113, p. 224-232, 2008.
- BAGGELAAR, M. P. et al. Development of an activity-based probe and in silico design reveal highly selective inhibitors for diacylglycerol lipase- $\alpha$  in brain. **Angewandte Chemie International Edition**, v. 52, n. 46, p. 12081-12085, 2013.
- BAHIA, L. R.; ARAÚJO, D. V. Impacto econômico da obesidade no Brasil. **Revista Hospital Universitário Pedro Ernesto**, v. 13, p. 13-17, 2014.
- BARBOSA, M. L. C. **Otimização do protótipo LASSBio-468**: planejamento, síntese e caracterização do perfil anti-inflamatório. 277 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Instituto de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2009.
- BARREIROS, R. Frutose em humanos: efeitos metabólicos, utilização clínica e erros inatos associados. **Revista Nutrição**, v. 18, n. 3, p. 377-389, 2005.
- 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. 784-794, 2013.
- BLUM, C. A.; ZHENG, X. Design, synthesis, and biological evaluation of substituted 2-cyclohexyl-4-phenyl-1H-imidazoles: potent and selective neuropeptide Y5-receptor antagonists. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 47, p. 2318-2325, 2004.
- BOTEZELLI, J. D. et al. Strength training prevents hyperinsulinemia, insulin resistance, and inflammation independent of weight loss in fructose-fed animals. **Scientific Reports**, v. 6, 2016. doi:10.1038/srep31106.
- BROOKS, J. D. et al. Body mass index, weight change, and risk of second primary breast cancer in the wecare study: influence of estrogen receptor status of the first breast cancer. **Cancer Medicine**, v. 5, n. 11, p. 3282-3291, 2016.
- CAI, M.; NYBERG, J.; HRUBY, V. J. Melanotropins as drugs for the treatment of obesity and other feeding disorders: potential and problems. **Current Topics in Medicinal Chemistry**, v. 9, p. 554-563, 2009.
- CAMERON, K. O.; BHATTACHARYA, S. K.; LOOMIS, A. K. Small molecule ghrelin receptor inverse agonists and antagonists. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 57, n. 21, p. 8671-8691, 2014.

- CARVALHO, B. M.; SAAD, A. M. J. Influence of gut microbiota on subclinical inflammation and insulin resistance. **Mediators of Inflammation**, v. 2013, 2013. doi:10.1155/2013/986734.
- CHUMLEA, W. C. et al. Left ventricular mass, abdominal circumference and age: the falls longitudinal study. **The Journal of Nutrition Health and Aging**, v. 13, n. 9, p. 821-825, 2009.
- CLAPPER, J. R. et al. Effects of amylin and bupropion/naltrexone on food intake and body weight are interactive in rodent models. **European Journal of Pharmacology**, v. 698, n. 11, p. 292-298, 2013.
- CLAYDEN, J. et al. Nucleophilic substitution at saturated carbon. In: \_\_\_\_\_. **Organic Chemistry**. Oxford: Oxford University Press, 2001. Chap. 17, p. 407-445.
- CRESPILLO, A. et al. Expression of the cannabinoid system in muscle: effects of a high-fat diet and CB1 receptor blockade. **Biochemistry Journal**, v. 185, p. 175-185, 2011.
- DAS, U. N. Sucrose, fructose, glucose, and their link to metabolic syndrome and cancer. **Nutrition**, v. 31, n. 1, p. 249-257, 2015.
- DENIS, R. G. P. et al. Central orchestration of peripheral nutrient partitioning and substrate utilization: implications for the metabolic syndrome. **Diabetes and Metabolism**, v. 40, n. 12, p. 191-197, 2014.
- DIETRICH, P.; HELLERBRAND, C. Non-alcoholic fatty liver disease, obesity and the metabolic syndrome. **Best Practice & Research Clinical Gastroenterology**, v. 28, n. 4, p. 637-653, 2014.
- DOBBS, R. et al. **Overcoming obesity**: an initial economic analysis. [S.I.]: McKinsey Global Institute, 2014. 120 p.
- ELIEL, E. L. et al. The methyl esters of 3-hydroxyphthalic acid: selective reduction of monomethyl phthalates with lithium aluminum hydride. **Journal of the American Chemical Society**, v. 77, n. 4, p. 5092-5095, 1955.
- EMMERSON, P. J. et al. Melanocortin-4 receptor agonists for the treatment of obesity. **Current Topics in Medicinal Chemistry**, v. 7, n. 11, p. 1121-1130, 2007.
- FERRANTE, A. W. The immune cells in adipose tissue. **Diabetes, Obesity & Metabolism**, v. 15, n. 3, p. 34-38, 2013.
- FERREIRA, L. et al. Diabetes melito: hiperglicemia crônica e suas complicações. **Arquivo Brasileiros de Ciências da Saúde**, v. 36, n. 11, p. 182-188, 2010.
- FHID, O. N. R. et al. Synthesis, analgesic and antiepileptic properties of some novel n-substituted succinimide. **World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences**, v. 4, n. 6, p. 24-34, 2015.
- GARCÍA, G. et al. Nuclear phospholipase c-beta1 and diacylglycerol lipase-alfa in brain cortical neurons. **Advances in Biological Regulation**, v. 54, n. 1, p. 12-23, 2014.

- GRIFFITH, D. A. et al. Discovery and evaluation of pyrazolo[1,5- $\alpha$ ]pyrimidines as neuropeptide Y1-receptor antagonists. **Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters**, v. 21, n. 9, p. 2641-2645, 2011.
- GUSTAVSSON, C. et al. Cerebrospinal fluid levels of insulin, leptin, and agouti-related protein in relation to BMI in pregnant women. **Obesity**, v. 24, n. 6, p. 1299-1304, 2016.
- HAMMOND, R. A.; LEVINE, R. The economic impact of obesity in the united states. **Diabetes, Metabolic Syndrome and Obesity**, v. 3, p. 285-295, 2010.
- HANU, L. O.; MECHOULAM, R. Novel natural and synthetic ligands of the endocannabinoid system. **Current Medicinal Chemistry**, v. 17, p. 1341-1359, 2010.
- HUDLLICKY, M. **Reductions in organic chemistry**. Virginia: James Gillison, 1984. v. 1.
- IANNOTTI, F. A. et al. Analysis of the “endocannabinoidome” in peripheral tissues of obese zucker rats. **Prostaglandins Leukotrienes and Essential Fatty Acids**, v. 89, n. 6, p. 127-135, 2013.
- IGLESIAS, J. et al. Simplified assays of lipolysis enzymes for drug discovery and specificity assessment of of known inhibitors. **Journal of Lipid Research**, v. 57, p. 131-141, 2015.
- ISIDRO, M. L.; CORDIDO, F. Approved and off-label uses of obesity medications, and potential new pharmacologic treatment options. **Pharmaceuticals**, v. 3, p. 125-145, 2010.
- IWAKURA, H. et al. Establishment of leptin-responsive cell lines from adult mouse hypothalamus. **PLoS One**, v. 11, n. 2, 2016. doi:10.1371/journal.pone.0148639.
- JANSSEN, F. J. et al. Discovery of glycine sulfonamides as dual inhibitors of sn-1-diacylglycerol lipase  $\alpha$  and  $\alpha$ /beta-hydrolase domain. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 57, n. 15, p. 6610-6622, 2014.
- JANSSEN, F. J. et al. Comprehensive analysis of structure-activity relationships of  $\alpha$ -keto heterocycles as sn-1-diacylglycerol lipase  $\alpha$  inhibitors. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 58, n. 24, p. 9742-9753, 2015.
- JANSSEN, F. J.; MARIO, V. D. S. Inhibitors of diacylglycerol lipases in neurodegenerative and metabolic disorders. **Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters**, v. 26, n. 16, p. 3831-3837, 2016.
- KANNAN, A.; HETTIARACHCHY, N. S.; MAHEDEVAN, M. Peptides derived from rice brain protect cells from obesity and alzheimer’s disease. **International Journal of Biomedical Research**, v. 303, p. 131-135, 2012.
- KIRINCICH, S. J. et al. Benzhydrylquinazolinediones: novel cytosolic phospholipase  $\alpha$ 2- $\alpha$  inhibitors with improved physicochemical properties. **Bioorganic and Medicinal Chemistry**, v. 17, n. 1, p. 4383-4405, 2009.
- KOHNZ, R. A.; NOMURA, D. K. Chemical approaches to therapeutically target the metabolism and signaling of the endocannabinoid 2-aracdonoglycerol and eicosanoids. **Chemical Society Reviews**, v. 43, p. 6859-6869, 2014.

KONG, J. et al. Pharmacological characterization of the first in class clinical candidate PF-05190457: a selective ghrelin receptor competitive antagonist with inverse agonism that increases vagal afferent firing and glucose-dependent insulin secretion ex vivo. **British Journal of Pharmacology**, v. 173, n. 9, p. 1452-1464, 2016.

KRASHES, M. J. et al. Rapid versus delayed stimulation of feeding by the endogenously released AgRP neuron mediators gaba, npy, and agrp. **Cell Metabolism**, v. 18, n. 4, 2013. doi:10.1016/j.cmet.2013.09.009.

KRUGER, H. S. et al. Body mass index cut-points to identify cardiometabolic risk in black south africans. **European Journal of Nutrition**, 2015. doi:10.1007/s00394-015-1069-9.

KUMAR, A.; DAHIYA, N. Drug treatment of obesity: current status and future prospects. **European Journal of Internal Medicine**, v. 26, n. 2, p. 89-94, 2015.

KUMAR, M. et al. Catalyst-free water mediated reduction of nitroarenes using glucose as a hydrogen source. **RSC Advances**, v. 3, n. 3, p. 4894-4898, 2013.

LAWRANCE, W. A. Friedel and crafts reacton-nitro-phthalic anhydrides and acetylaminophthalic anhydrides with benzene and aluminum chloride. **Journal of the American Chemical Society**, v. 42, n. 9, p. 1871-1879, 1920.

LUIS, J. et al. Neurobiology of cannabis: from the endocannabinoid system to cannabis-related disorder. **Jornal Brasileiro de Psiquiatria**, v. 60, n. 2, p. 111-122, 2011.

MARTÍNEZ-MONTERO, L. et al. Broadening the chemical scope of laccases: selective deprotection of n-benzyl groups. **Green Chemistry**, v. 17, n. 3, p. 2794-2798, 2015.

MASTINU, A. et al. NESS038c6, a novel selective CB1 antagonist agent with anti-obesity activity and improved molecular profile. **Behavioural Brain Research**, v. 234, n. 2, p. 192-204, 2012.

MAZIER, W. et al. The endocannabinoid system: pivotal orchestrator of obesity and metabolic disease. **Trends in Endocrinology and Metabolism**, v. 26, n. 10, p. 524-537, 2015.

MONGE-ROFFARELLO, B. et al. The PVH as a site of CB1-mediated stimulation of thermogenesis by mc4r agonism in male rats. **Endocrinology**, v. 155, n. 9, p. 3448-3458, 2014.

MOREIRA, F. A.; GRIEB, M.; LUTZ, B. Central side-effects of therapies based on CB1 cannabinoid receptor agonists and antagonists: focus on anxiety and depression. **Best Practice and Research: Clinical Endocrinology and Metabolism** v. 23, n. 1, p. 133-144, 2009.

NANDHIKONDA, P.; HEAGY, M. D. Dual fluorescent N-aryl-2,3- naphthalimides: applications in ratiometric dna detection and white organic light-emitting devices. **Organic Letters**, v. 12, n. 21, p. 4796-4799, 2010.

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.

- NI, F. et al. N-phosphorylation of amino acids by trimetaphosphate in aqueous solution-learning from prebiotic synthesis. **Green Chemistry**, v. 11, n. 4, p. 569-573, 2009.
- OECD. **Phthalic anhydride CAS: 85-44-9**: SIDS initial assessment report. Paris, 2005. Disponível em: <http://www.inchem.org/documents/sids/sids/85449.pdf>. Acesso em: 08 fev. 2017.
- OKADA-IWABU, M. et al. A small- molecule adipor agonist for type 2 diabetes and short life in obesity. **Nature**, v. 503, n. 7977, p. 493-499, 2013.
- OTVOS, L. et al. Development of a pharmacologically improved peptide agonist of the leptin receptor. **Molecular Cell Research**, v. 1783, n. 10, p. 1745-1754, 2008.
- PALLADINO, M. V.; KF, D.; TUCUNDUVA, M. J. Estudo do índice de massa corpórea por meio da tomografia computadorizada. **Science in Health**, v. 2, n. 1, p. 5-10, 2011.
- PARK, S. et al. Npy antagonism reduces adiposity and attenuates age-related imbalance of adipose tissue metabolism. **The FASEB Journal**, v. 28, n. 12, p. 5337-5348, 2014.
- PATEL, D. Pharmacotherapy for the management of obesity. **Metabolism Clinical and Experimental**, v. 4, p. 1-9, 2015.
- PAVIA, D. L. et al. **Introduction to spectroscopy**. 4th. ed. Belmont: Books-Cole, 2009. 745 p.
- PEDROSO, J. A. B. et al. Inactivation of socs3 in leptin receptor-expressing cells protects mice from diet-induced insulin resistance but does not prevent obesity. **Molecular Metabolism**, v. 3, n. 2014, p. 608-618, 2014.
- PETTA, S. et al. Obstructive sleep apnea is associated with liver damage and atherosclerosis in patients with non-alcoholic fatty liver disease. **PLoS One**, v. 10, n. 12, 2015. doi:10.1371/journal.pone.0142210.
- RAAB, S. et al. Incretin-like effects of small molecule trace amine-associated receptor 1 agonists. **Molecular Metabolism**, v. 5, n. 1, p. 47-56, 2016.
- RAI, M. et al. Relationship of age and body mass index to the expression of obesity and osteoarthritis-related genes in human meniscus. **International Journal of Obesity**, v. 37, n. 9, p. 1238-1246, 2013.
- RAJESH, M. et al. Cannabinoid 1 receptor promotes cardiac dysfunction, oxidative stress, inflammation, and fibrosis in diabetic cardiomyopathy. **Diabetes**, v. 61, n. 3, p. 716-727, 2012.
- RAVI, R. et al. Nucleophilic substitution reactions of meta- and para-substituted benzylamines with benzyl bromide in methanol medium. **International Journal of Chemical Kinetics**, v. 47, n. 10, p. 36-41, 2014.
- RORATO, R. et al. Tolerance to hypophagia induced by prolonged treatment with a CB1 antagonist is related to the reversion of anorexigenic neuropeptide gene expression in the hypothalamus. **Regulatory Peptides**, v. 182, n. 1, p. 12-18, 2013.
- SANJAY, D. et al. New drug target to trat the obesity. **International Journal of Current Research and Review**, v. 5, n. 2, p. 71-82, 2013.

SANTIAGO, V. S. **Síntese e avaliação farmacológica de novos análogos sacarínicos do protótipo antiinflamatório LASSBio-468**. 2011. 125 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Instituto de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2011.

SHARMA, M. K. et al. Prospective therapeutic agents for obesity: molecular modification approaches of centrally and peripherally acting selective cannabinoid 1 receptor antagonists. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 79, n. 4, p. 298-339, 2014.

SIM, Y. L. et al. **Acta Crystallographica Section E**, N-(methoxyphenyl) phthalimide. 2009. doi: 10.1107/S1600536809032838.

SINGH, P. K. et al. A novel live cell assay to measure diacylglycerol lipase  $\alpha$  activity. **Bioscience Reports**, v. 36, n. 3, 2016. doi:10.1042/BSR20160073.

SON, K. H. et al. Age-related accumulation of advanced glycation end-products-albumin, s100beta, and the expressions of advanced glycation end product receptor differ in visceral and subcutaneous fat. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 477, n. 2, p. 271-276, 2016.

SOUZA, M. C.; PADUA, T. A.; HENRIQUES, M. G. Endothelial-leukocyte interaction in severe malaria: beyond the brain. **Mediators of Inflammation**, v. 2015, n. 9, 2015. doi:10.1155/2015/168937.

SZAKÁCS, J. et al. The effect of obestatin on anxiety-like behaviour in mice. **Behavioural Brain Research**, v. 293, n. 7, p. 41-45, 2015.

THACKER, S. G. et al. High-density lipoprotein reduces inflammation from cholesterol crystals by inhibiting inflammasome activation. **Immunology**, v. 149, n. 3, p. 1-13, 2016.

VELLOSO, L.; SANDE-LEE, S. Hypothalamic dysfunction in obesity. **Archives of Endocrinology and Metabolism**, v. 56, n. 6, p. 341-350, 2012.

VIA, M. A.; JEFFREY, I. M. Obesity as a disease. **Current Obesity Report**, v. 3, n. 7, p. 291-297, 2014.

VOIGT, J. P.; FINK, H. Serotonin controlling feeding and satiety. **Behavioural Brain Research**, v. 277, n. 9, p. 14-31, 2015.

VOSS, M. D. et al. Discovery and pharmacological characterization of a novel small molecule inhibitor of phosphatidylinositol-5-phosphate 4-kinase, type ii, beta. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 449, n. 3, p. 327-331, 2014.

WENSVEEN, F. M. et al. Interactions between adipose tissue and the immune system in health and malnutrition. **Seminars in Immunology**, v. 27, n. 11, p. 322-333, 2015.

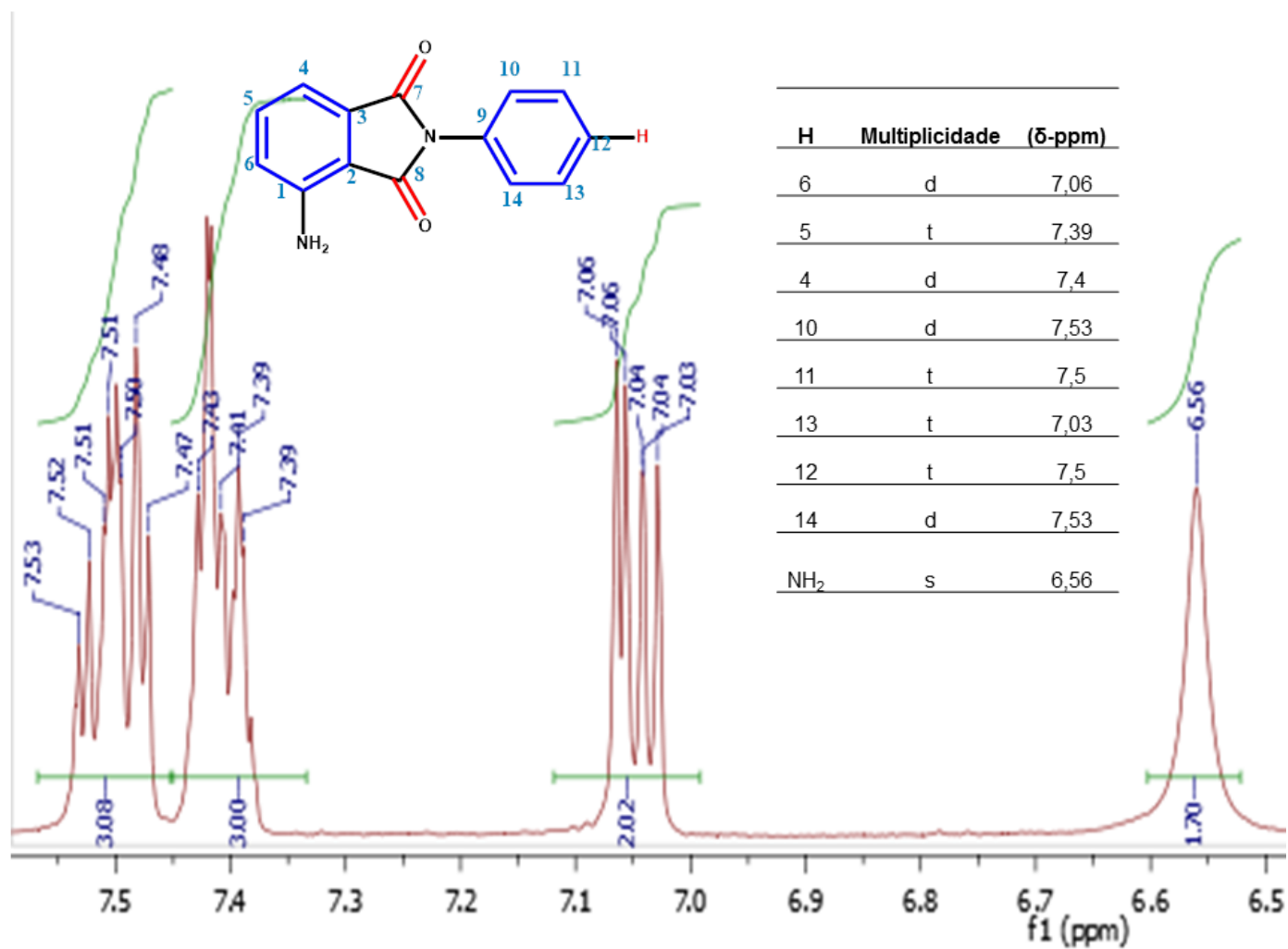
WULANINGSIH, W. et al. Serum leptin, c-reactive protein, and cancer mortality in the NHANES III. **Cancer Medicine**, v. 5, n. 7, p. 120-128, 2015.

YANG, Y. et al. Copper catalyzed three-component synthesis of benzothiazolones from o-iodoanilines, dmf, and potassium sulfide. **RSC Advances**, v. 4, n. 12, p. 6090-6093, 2014.

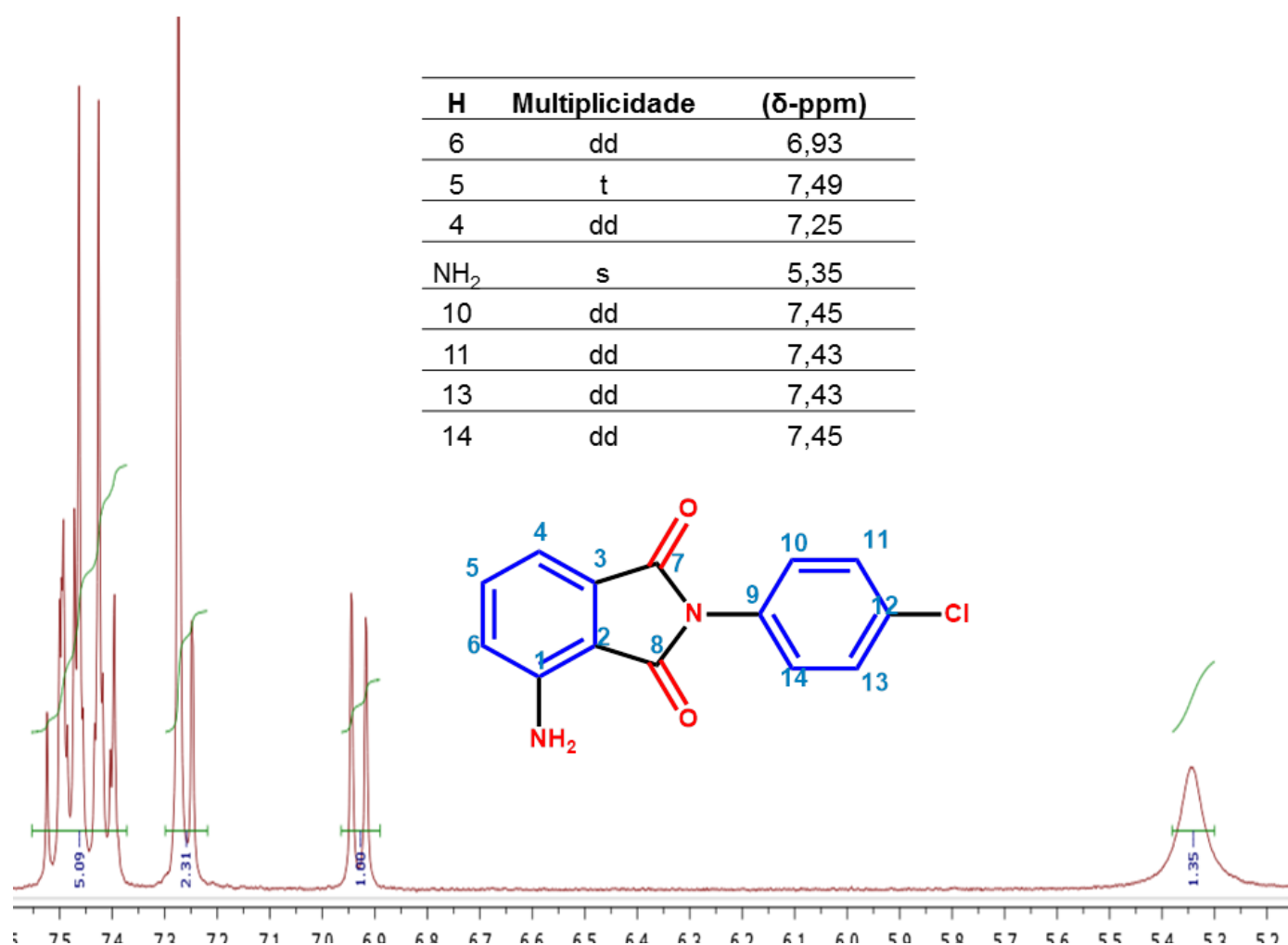
ZAVAN, B. et al. Persistence of CD34 stem marker in human lipoma: searching for cancer stem cells. **Internacional Journal of Biological Sciences**, v. 11, n. 7, p. 1127-1139, 2015.

ZHANG, Z.; WANG, M. Obesity, a health burden of a global nature. **Acta Pharmacologica Sinica**, v. 33, p. 145-147, 2012.

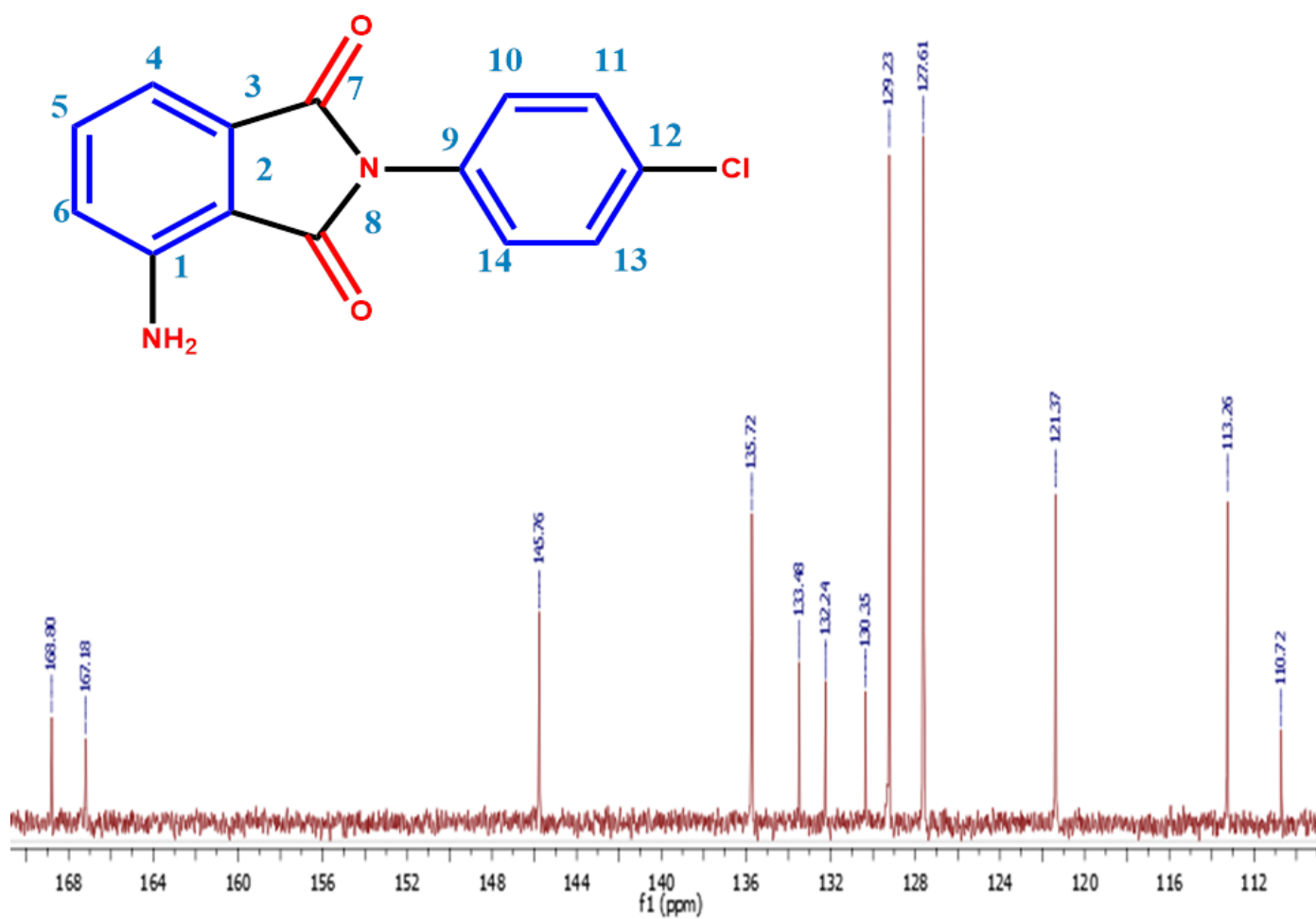
ZOERNER, A. A. et al. Influence of dietary fat intake on the endocannabinoid system in lean and obese subjects. **Obesity Biology and Integrated Physiology**, v. 22, n. 5, p. 70-76, 2014.

Apêndice A – RMN de  $^1\text{H}$  em  $\text{CDCl}_3$  e 300 MHz para 55a

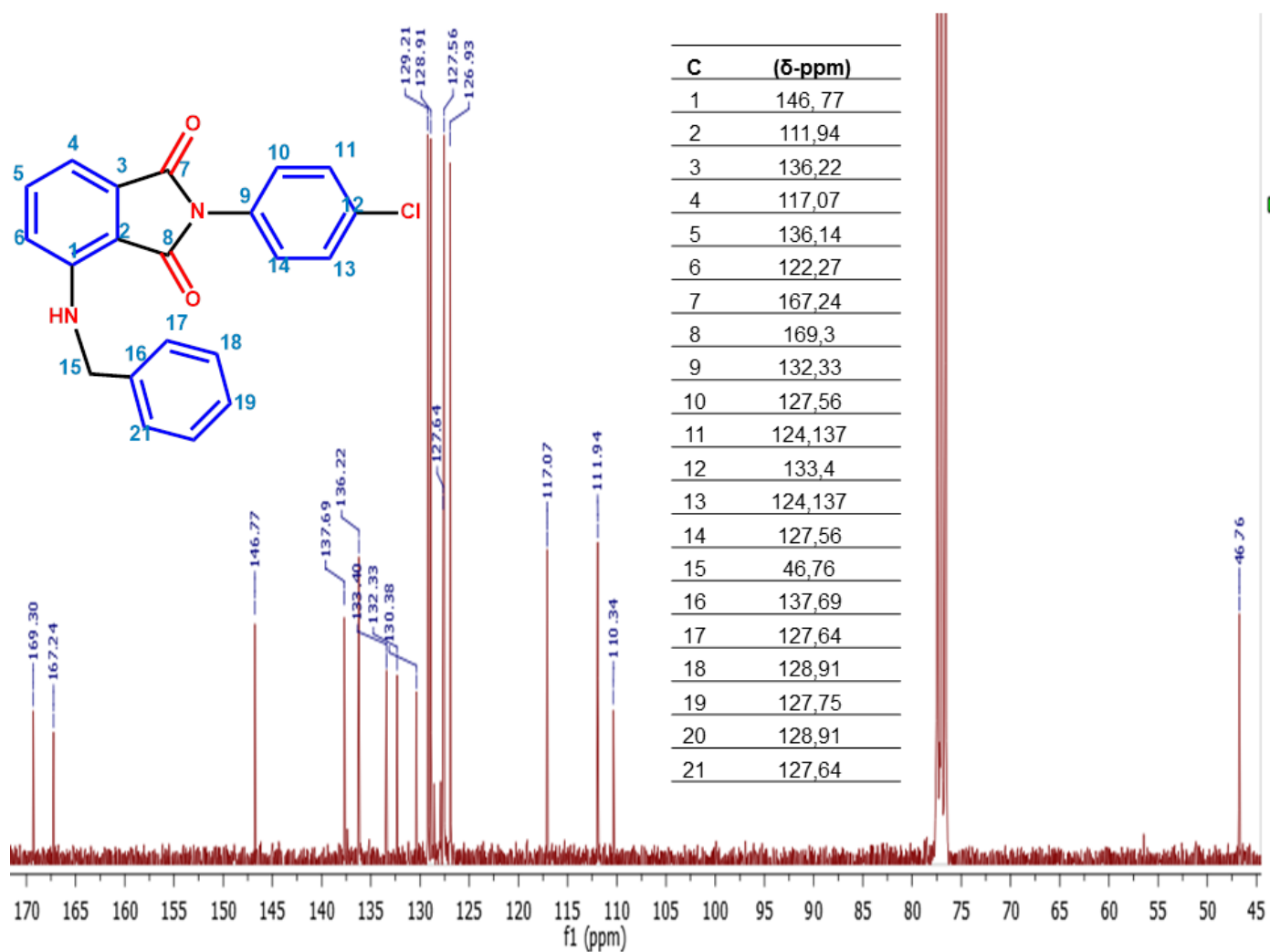
# Apêndice B – RMN de $^1\text{H}$ em $\text{CDCl}_3$ e 300 MHz para 55b

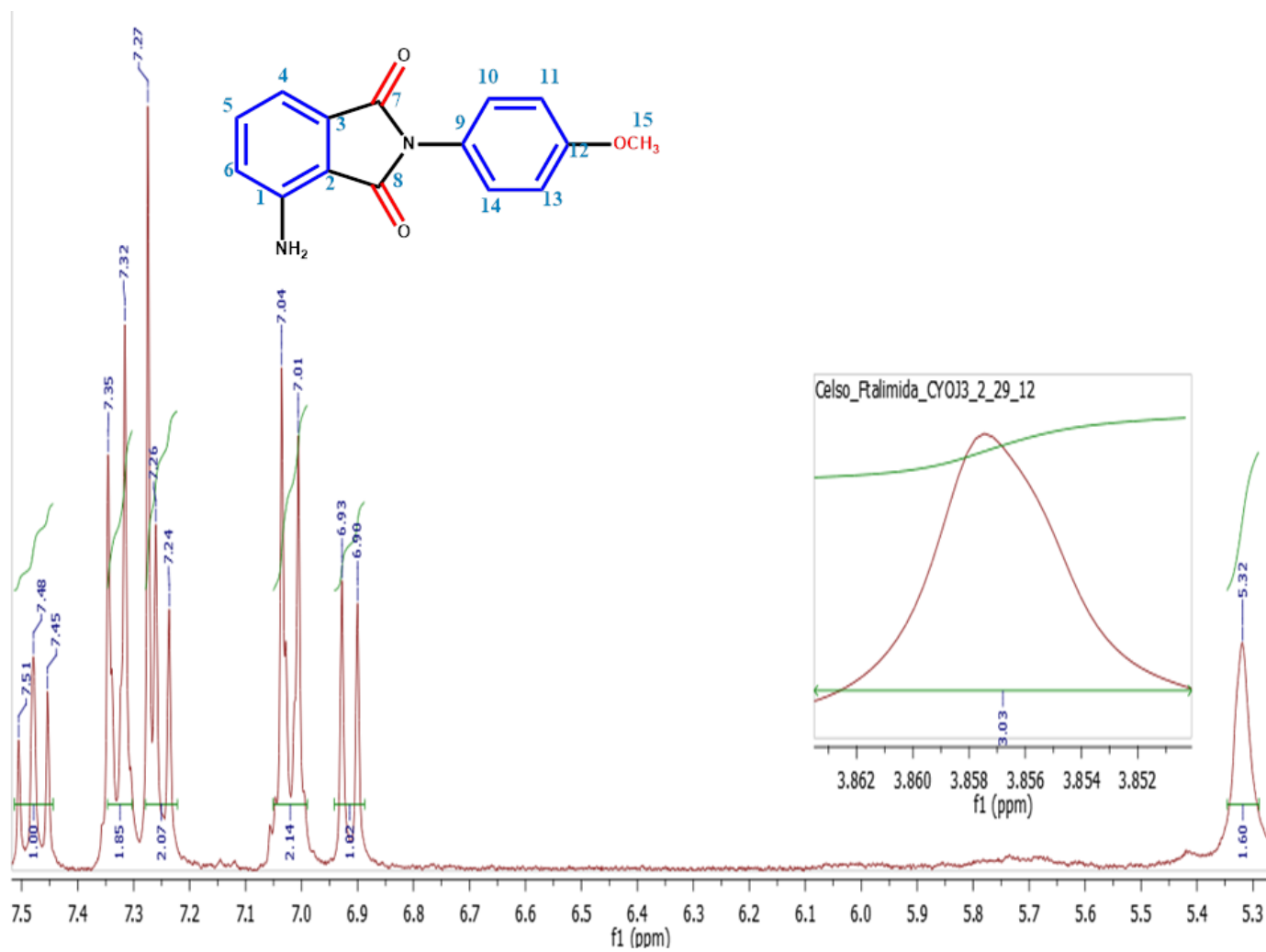


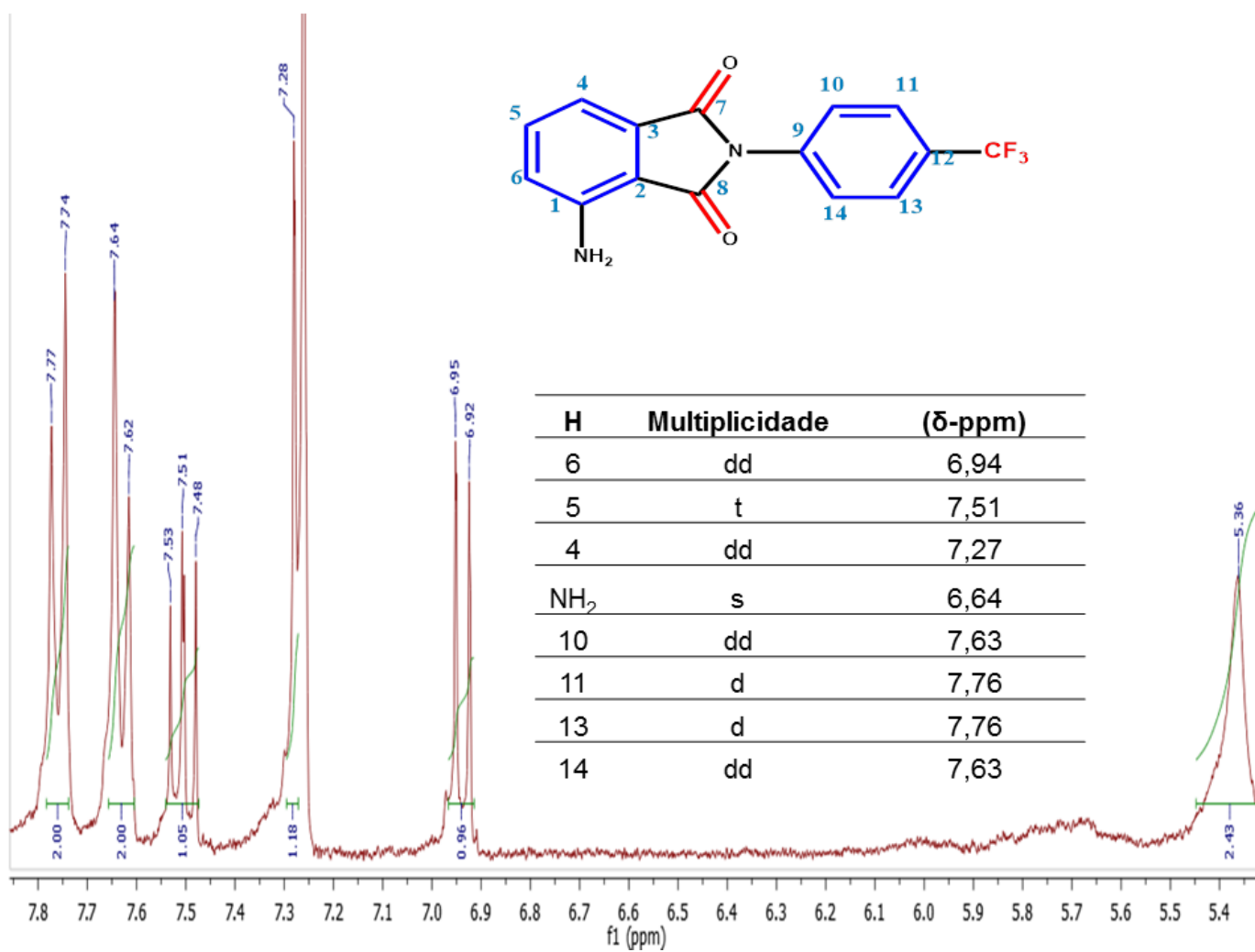
Apêndice C – RMN de  $^{13}\text{C}$  realizado em  $\text{CDCl}_3$  em 75 MHz para 55b

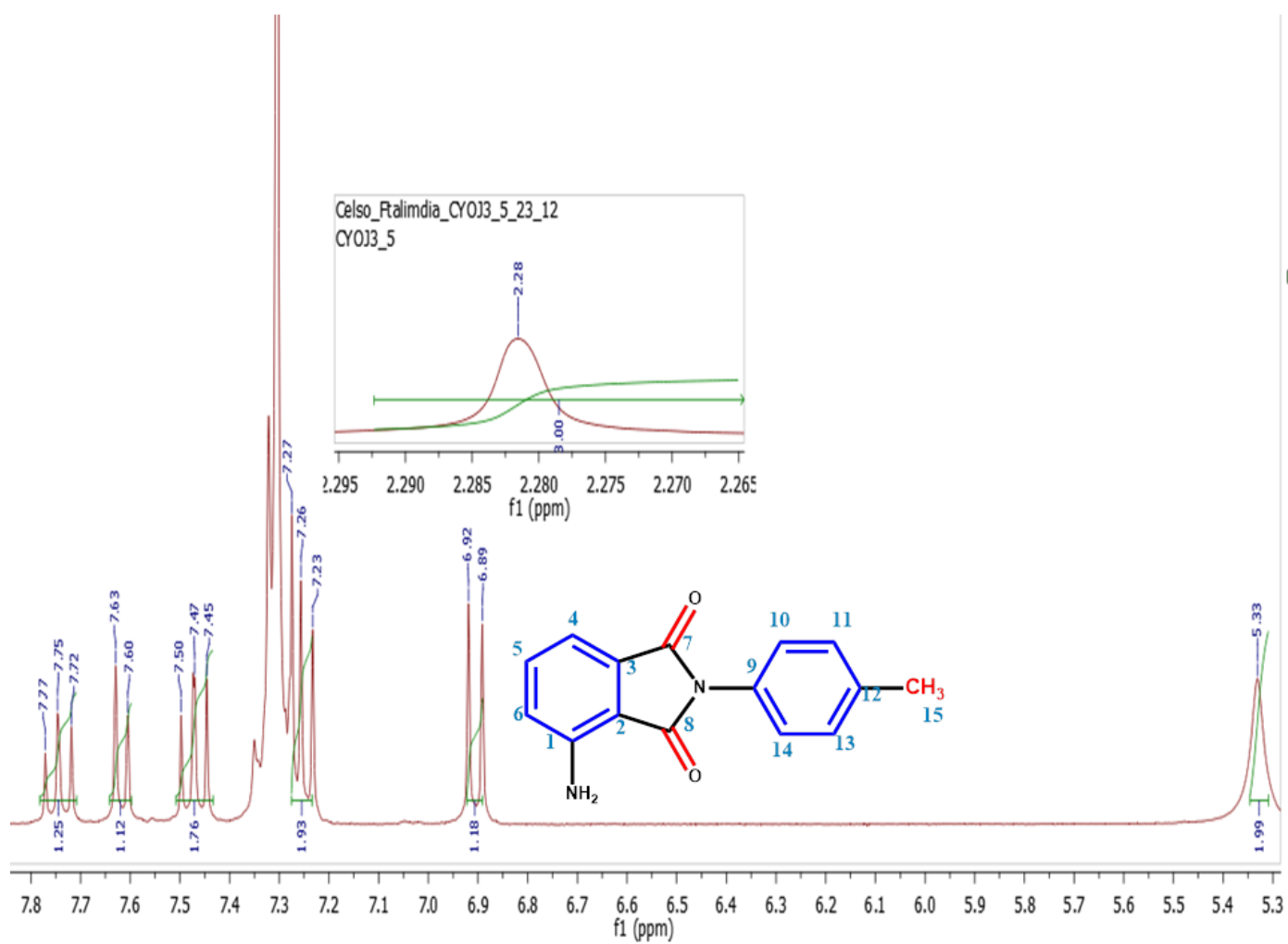


## Apêndice D – RMN de $^{13}\text{C}$ realizado e $\text{CDCl}_3$ em 75 MHz para 54b

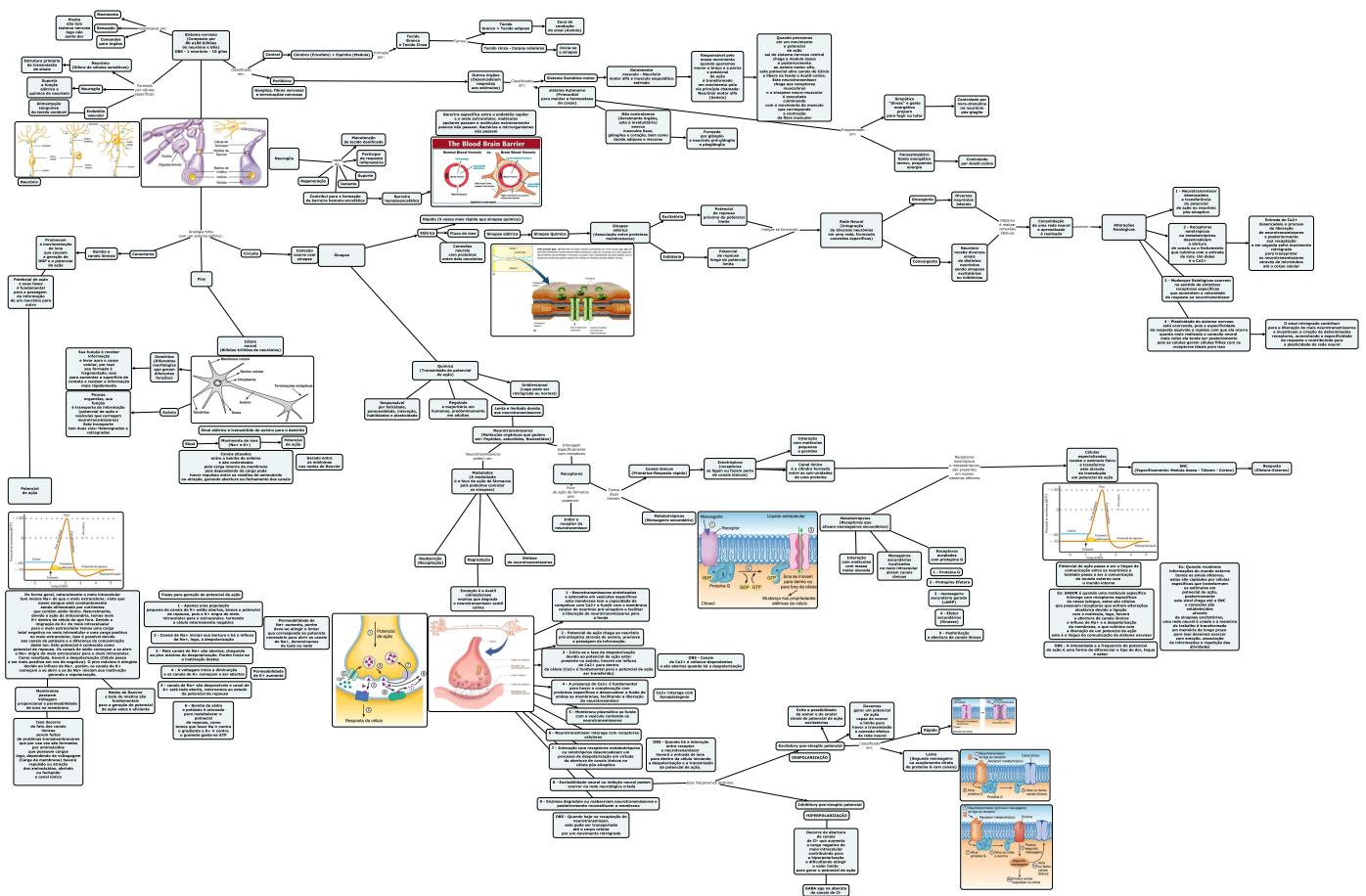


Apêndice E – RMN de  $^1\text{H}$  em  $\text{CDCl}_3$  e 300 MHz para 55d

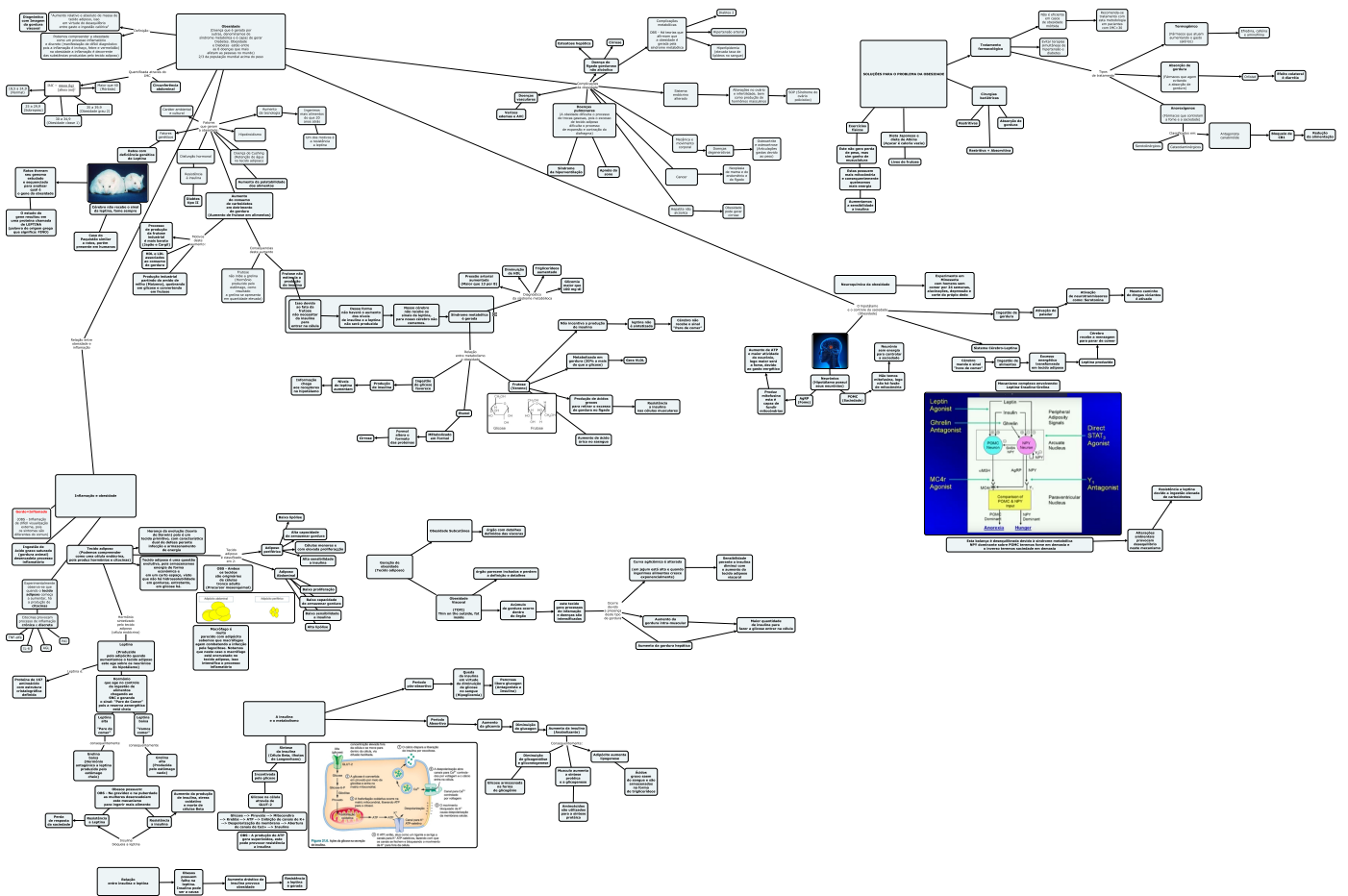
Apêndice F – RMN de  $^1\text{H}$  em  $\text{CDCl}_3$  e 300 MHz para 55e

Apêndice G – RMN de  $^1\text{H}$  em  $\text{CDCl}_3$  e 300 MHz para 55f

# Apêndice H – Mapa conceitual: Sistema nervoso central



# Apêndice I – Mapa conceitual: Obesidade



# Apêndice J – Mapa conceitual: Sistema endocanabinóide

