

RESSALVA

Atendendo solicitação da autora, o texto completo desta **Dissertação** será disponibilizado somente a partir de 31/08/2025.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"

Faculdade de Ciências Farmacêuticas

Campus de Araraquara

Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas



**Modelagem molecular e síntese de inibidores de histona
deacetilase-3 (HDAC-3), planejados como agentes
reversores de latência do HIV**

Lívia da Rocha Fernandes

Orientador: Prof. Dr. Jean Leandro dos Santos

**Araraquara- SP
2023**



Síntese e avaliação de modificadores epigenéticos como agentes reversores de latência do vírus HIV

Lívia da Rocha Fernandes

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, Área de Pesquisa e Desenvolvimento de Fármacos e Medicamentos, para obtenção do título de Mestre Ciências Farmacêuticas.

Orientador(a): Prof. Dr. Jean Leandro dos Santos

Araraquara- SP
2023

F237m Fernandes, Lívia da Rocha.
Modelagem molecular e síntese de inibidores de histona deacetilase-3 (HDAC-3), planejados como agentes reversores de latência do HIV / Lívia da Rocha Fernandes. – Araraquara: [S.n.], 2023.
170 f. : il.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual Paulista. "Júlio de Mesquita Filho". Faculdade de Ciências Farmacêuticas. Programa de Pós Graduação em Ciências Farmacêuticas. Área de Pesquisa e Desenvolvimento de Fármacos e Medicamentos.

Orientador: Jean Leandro dos Santos.

1. HIV. 2. Agentes Reversores de Latência. 3. Pró-fármaco. 4. Inibidor de HDAC-3. 5. Sistema linfático. 6. Reservatório HIV. 7. Cura funcional. I. Santos, Jean Leandro dos, orient. II. Título.

Diretoria do Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação - Faculdade de Ciências Farmacêuticas
UNESP - Campus de Araraquara

CAPES: 33004030078P6
Esta ficha não pode ser modificada

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: Síntese e avaliação de modificadores epigenéticos como agentes reversores de latência do vírus HIV

AUTORA: LÍVIA DA ROCHA FERNANDES

ORIENTADOR: JEAN LEANDRO DOS SANTOS

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Mestre em Ciências Farmacêuticas, área: Pesquisa e Desenvolvimento de Fármacos e Medicamentos pela Comissão Examinadora:

Prof. Dr. JEAN LEANDRO DOS SANTOS (Participação Presencial)
Departamento de Farmacos e Medicamentos / Faculdade de Ciências Farmacêuticas do Campus de Araraquara da Unesp

Prof. Dr. RICARDO SOBHE DIAZ (Participação Virtual)
Departamento de Medicina da Disciplina de Doenças Infecciosas e Parasitárias da UNIFESP

Profa. Dra. CHUNG MAN CHIN (Participação Presencial)
Departamento de Fármacos e Medicamentos / Faculdade de Ciências Farmacêuticas do Campus de Araraquara da Unesp

Araraquara, 31 de agosto de 2023

RESUMO

Ainda que mais de 40 anos da descoberta do vírus da imunodeficiência humana (HIV), tenham se passado, e avanços significativos tenham sido conquistados, a exemplo do aumento na expectativa de vida dos pacientes vivendo com HIV, a infecção ainda se mantém incurável. Em 2019, estimou-se que o número de pessoas infectadas era de cerca 37,9 milhões no mundo, das quais 24,5 milhões tinham acesso a terapia antirretroviral (TARV). A TARV reduz efetivamente a carga viral, mas não elimina o vírus, que permanece latente em células T CD4+ podendo ser reativado com a interrupção do tratamento. Nesse contexto, abordagens terapêuticas visando a cura funcional são urgentes. Dentre essas, a estratégia “*kick-and-kill*”, visa esgotar o reservatório viral pela reativação do HIV latente por agentes reversores latência (ARL) (*kick*), e eliminação de células infectadas por efeitos citopáticos, resposta imunológica ou associação a compostos que induzam a eliminação do vírus reativado (*kill*). A hipótese é que a combinação dessa nova estratégia associada ao tratamento contínuo com a TARV impeça que o vírus reativado consiga infectar células saudáveis, podendo ser um novo caminho a ser explorado para a eliminação dos reservatórios celulares latentes do vírus. A perpetuação do vírus nestes reservatórios e em baixo estado de replicação é um dos grandes desafios para sua completa eliminação a fim de atingir a cura funcional. Dentre os reservatórios de HIV, os linfonodos constituem o exemplo mais conhecido, por conterem grande quantidade de linfócitos T CD4+ e outras células imunes. Dentre os ARL, aqueles que atuam por mecanismos epigenéticos parecem ser promissores, dos quais se destacam os inibidores de histona deacetilase (HDAC). Dessa maneira, este estudo visa planejar e sintetizar novos potenciais inibidores de histona deacetilase-3 como candidatos a ARL para o HIV, direcionados aos linfonodos por meio da estratégia da latenciação de fármacos. Assim, por meio de estudos de modelagem molecular foram planejadas uma série de compostos, que foram divididos em duas séries, a saber: série A (*cap* amina), e série B (*cap* metil-amina). No total, foram sintetizados 21 compostos, dos quais 13 são intermediários; e 6 são produtos finais. Destes finais, 2 são pertencentes a série A, e 4 pertencentes a série B. Todos os compostos foram caracterizados por métodos analíticos como ressonância magnética nuclear (RMN) e infravermelho (IV). Os produtos finais foram obtidos em rendimentos globais que variaram de 2-15% (2% (**3b**); 3% (**2a**); 6% (**4b**); 10% (**19**); 14% (**1a**); 15% (**23**)).

Palavras-chave: HIV, Agentes Reversores de Latência, pró-fármaco, inibidor de HDAC-3, sistema linfático, reservatório HIV, cura funcional.

ABSTRACT

Although more than 40 years have passed since the discovery of the human immunodeficiency virus (HIV), and significant advances have been achieved, such as the increase in life expectancy of patients living with HIV, the infection remains incurable. In 2019, the number of infected people was estimated to be around 37.9 million worldwide, of which 24.5 million had access to antiretroviral therapy (ART). ART effectively reduces viral load, but does not eliminate the virus, which remains latent in CD4⁺ T cells and can be reactivated when treatment is interrupted. In this context, therapeutic approaches aiming at a functional cure are urgently needed. Among these, the "kick-and-kill" strategy aims to deplete the latent viral reservoir by reactivating latent HIV by latency-reversing agents (LRA) (kick), and eliminating infected cells by cytopathic effects, immune response, or association with compounds that induce elimination of the reactivated virus (kill). The hypothesis is that the combination of this new strategy associated with continuous treatment with ART prevents the reactivated virus from infecting healthy cells and may be a new path to be explored for the elimination of latent cellular reservoirs of the virus. The perpetuation of the virus in these reservoirs and in a low state of replication is one of the major challenges for its complete elimination in order to achieve a functional cure. Among the HIV reservoirs, the lymph nodes are the best-known example, because they contain large numbers of CD4⁺ T lymphocytes and other immune cells. Among the ARLs, those that act through epigenetic mechanisms seem to be promising, of which the histone deacetylase inhibitors (HDAC) stand out. Thus, this study aims to design and synthesize new potential histone deacetylase-3 inhibitors as candidate ARLs for HIV, targeting lymph nodes through the strategy of drug latention. Thus, through molecular modeling studies, a series of compounds were planned, which were divided into two series, namely: series A (cap amine), and series B (cap methyl-amine). In total, 21 compounds were synthesized, of which 13 are intermediates; and 6 are final products. Of these endings, 2 belong to the A series, and 4 belong to the B series. All compounds were characterized by analytical methods such as nuclear magnetic resonance (NMR) and infrared (IR). Final products were obtained in overall yields ranging from 2-15% (2% (**3b**); 3% (**2a**); 6% (**4b**); 10% (**19**); 14% (**1a**); 15% (**23**)).

Keywords: HIV, Latency Reversing Agents, prodrug, HDAC-3 inhibitor, lymphatic system, HIV reservoir, functional cure.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Ciclo viral do HIV e uso da TARV.	14
Figura 2 - Esquema da estratégia "kick-and-kill". Na etapa Kick, ocorre a expressão gênica do vírus HIV-1 latente pela estratégia epigenética. Na etapa Kill, as células reativadas são destruídas pelo próprio sistema imune, TARV, vacinas, entre outros....	16
Figura 3 – a) Pró-fármaco 7, derivado éster lipofílico ativado do lopinavir planejado por Qin et al., 2021 (Qin et al., 2021).....	21
Figura 4 - Planejamento estrutural dos conjugados HDAC3i-lipídeos como ARL.	24
Figura 5 - Planejamento sintético das séries A e B.	27
Figura 6 - Síntese dos intermediários (8a), (8b), (8c).	29
Figura 7 - Síntese do intermediário (11).	30
Figura 8 - Síntese do intermediário (12).	31
Figura 9 - Síntese do intermediário (13a).	32
Figura 10 - Síntese do composto final (2a).	33
Figura 11 - Síntese do composto final (1a).	34
Figura 12 - Síntese do intermediário (16a).	35
Figura 13 - Síntese do intermediário (16b).	37
Figura 14 - Síntese do intermediário (16c).	38
Figura 15 - Síntese do intermediário (17b).	39
Figura 16 - Síntese do intermediário (24).	40
Figura 17 - Síntese do composto intermediário (25).	41
Figura 18 - Síntese do intermediário (26).	42
Figura 19 - Síntese do composto final (4b).	43
Figura 20 - Síntese do composto final (3b).	44
Figura 21 - Síntese do composto final (19).	45
Figura 22 - Síntese do composto (23).	46
Figura 23 - Substituições moleculares para ancoragem molecular.	47
Figura 24 - Ancoragem molecular dos compostos com amina como grupo cap (18), (19) derivados de BRD3308. a) Mostra ancoragem molecular em 3D, onde é possível ver a interação com Zn ²⁺ e a distância em angstrom (Å), em relação ao nitrogênio do grupo amina livre (doação de H) e oxigênio da carbonila da amida (quelação) no núcleo benzamida. b) Mostra a ancoragem molecular em 2D, com as interações específicas entre ligante e aminoácido, cuja cadeia é representada como uma linha preta conectando os resíduos. Os resíduos que estão presentes, mas não têm uma linha traçada para uma interação, estão envolvidos em interações hidrofóbicas inespecíficas com o ligante (SCHRÖDINGER, 2018e).	53
Figura 25 - Ancoragem molecular dos compostos com amina como grupo cap (22), (23), derivados de CI-994. a) Mostra ancoragem molecular em 3D, onde é possível ver a interação com Zn ²⁺ e a distância em angstrom (Å), em relação ao nitrogênio do grupo amina livre (doação de H) e oxigênio da carbonila da amida (quelação) no núcleo benzamida. b) Mostra a ancoragem molecular em 2D, com as interações específicas entre ligante e aminoácido, cuja cadeia é representada como uma linha preta conectando os resíduos. Os resíduos que estão presentes, mas não têm uma linha traçada para uma interação, estão envolvidos em interações hidrofóbicas inespecíficas com o ligante (SCHRÖDINGER, 2018e).	54
Figura 26 - Mecanismo de acoplamento por HATU, entre grupo amina livre e função ácido carboxílico, para formação de amida. Adaptado de Carpino et al., 2000; Han; Kim, 2024; e Hopper, 2007.	56

Figura 27 - Mecanismo de proteção da amina primária por di-tert-butil dicarbonato (Boc ₂ O), do reagente inicial para os derivados seletivos de BRD3308. Adaptado de Ngan Thi Kim Mai, 2015.	63
Figura 28 - Mecanismo de redução do nitroaromático (11) para amina primária (12) por mecanismo de Bechamp. Adaptado de Popat; Padhiyar, 2013; Z. Wang, 2010.	64
Figura 29 - Influência de nucleofilicidade em orto-fenilenodiamina e esquema das etapas sintéticas de (13a), (1a) e (2a).	69
Figura 30 - Mecanismo da desproteção BOC por TFA, do intermediário (13a) para gerar o composto final (2a).	70
Figura 31 - Esquemas das etapas sintéticas de (16a – 16c).	78
Figura 32 - Etapa I da reação one pot para gerar os intermediários (16b e 16c). Mecanismo da conversão de ácido carboxílico graxo (b e c) em cloretos de acila graxos (15b e 15c) pelo uso de DMF como catalisador.	79
Figura 33 - Etapa II da reação one pot para gerar os intermediários (16a, 16b e 16c). Mecanismo da acilação da amina primária do ácido 4-(aminometil) benzóico (PAMBA) (14), com uso de cloreto de acila graxo (15a, 15b e 15c), utilizando base em excesso, formando a amida (16a, 16b e 16c).	80
Figura 34 - Síntese dos compostos (17b) e (4b).	84
Figura 35 - Síntese do composto final (3b).	89
Figura 36 - Síntese do intermediário (24).	93
Figura 37 - Mecanismo de proteção de amina por BOC-anidrido e uso de base do intermediário (24).	94
Figura 38 - Esquema das sínteses dos intermediários (25 e 26).	97
Figura 39 - Síntese dos compostos (19 e 23).	101
Figura 40 - Espectros de infravermelho dos compostos (a,b,c)	114
Figura 41 - Espectro de RMN ¹ H de (a).	115
Figura 42 - Espectro de RMN ¹³ C de (a).	115
Figura 43 - Espectro de RMN ¹ H de (b).	116
Figura 44 - Espectro de RMN ¹³ C de (b).	116
Figura 45 - Espectro de RMN ¹ H de (c).	117
Figura 46 - Espectro de RMN ¹³ C de (c).	117
Figura 47 - Espectro de infravermelho de (7).	118
Figura 48 - Espectros de RMN ¹ H de (7).	119
Figura 49 - Espectro de RMN ¹³ C de (7).	119
Figura 50 - Espectro de infravermelho de (9).	120
Figura 51 - Espectro de RMN de ¹ H de (9).	121
Figura 52 - Espectro de RMN ¹³ C de (9).	121
Figura 53 - Espectro de infravermelho de (10).	122
Figura 54 - Espectros de RMN de ¹ H de (10).	123
Figura 55 - Espectro de RMN ¹³ C de (10).	123
Figura 56 - Espectro infravermelho de (14).	124
Figura 57 - Espectro de RMN ¹ H de (14).	125
Figura 58 - Espectro de RMN ¹³ C de (14).	126
Figura 59 - Espectros de infravermelho de (15a).	127
Figura 60 - Espectro de RMN de ¹ H de (15a).	127
Figura 61 - Ancoragem molecular dos compostos com função amina conjugados a lipídeos que mostraram melhores valores de <i>docking score</i> (4b) e (1a), derivados de CI-994. a) Mostra ancoragem molecular em 3D, onde é possível ver a interação com Zn ²⁺ e a distância em angstrom (Å), em relação ao nitrogênio do grupo amina livre (doação de H) e oxigênio da carbonila da amida (quelação) no núcleo benzamida. b) Mostra a	

ancoragem molecular em 2D, com as interações específicas entre ligante e aminoácido, cuja cadeia é representada como uma linha preta conectando os resíduos. Os resíduos que estão presentes, mas não têm uma linha traçada para uma interação, estão envolvidos em interações hidrofóbicas inespecíficas com o ligante (SCHRÖDINGER, 2018e).	131
Figura 62 - Ancoragem molecular dos compostos com função amina conjugados a lipídeos que mostraram melhores valores de docking score (2b) e (2c), derivados de BRD3308. a) Mostra ancoragem molecular em 3D, onde é possível ver a interação com Zn^{2+} e a distância em angstrom (Å), em relação ao nitrogênio do grupo amina livre (doação de H) e oxigênio da carbonila da amida (quelação) no núcleo benzamida. b) Mostra a ancoragem molecular em 2D, com as interações específicas entre ligante e aminoácido, cuja cadeia é representada como uma linha preta conectando os resíduos. Os resíduos que estão presentes, mas não têm uma linha traçada para uma interação, estão envolvidos em interações hidrofóbicas inespecíficas com o ligante (SCHRÖDINGER, 2018e).	132
Figura 63 - Espectros de infravermelho de (8a , 8b , 8c).	133
Figura 64 - Espectro de RMN 1H de (8a).	134
Figura 65 - Espectro de RMN ^{13}C de (8a).	134
Figura 67 - Espectro de RMN ^{13}C de (8b).	135
Figura 66 - Espectro de RMN 1H de (8b).	135
Figura 68 - Espectro de RMN 1H de (8c).	136
Figura 69 - Espectro de RMN ^{13}C de (8c).	136
Figura 70 - Espectro de infravermelho de (11).	137
Figura 71 - Espectro de RMN 1H de (11).	137
Figura 72 - Espectro de RMN ^{13}C de (11).	138
Figura 73 - Espectro de infravermelho de (12).	138
Figura 74 - Espectro de RMN 1H de (12).	139
Figura 75 - Espectro RMN ^{13}C de (12).	139
Figura 76 - Espectro infravermelho de (13a).	140
Figura 77 - Espectro de RMN 1H de (13a).	140
Figura 78 - Espectro de RMN ^{13}C de (13a).	141
Figura 79 - Espectro de infravermelho de (1a).	141
Figura 80 - Espectro de RMN 1H de (1a).	142
Figura 81 - Espectro de RMN ^{13}C de (1a).	142
Figura 82 - Espectro de infravermelho de (2a).	143
Figura 83 - Espectro de RMN 1H de (2a).	143
Figura 84 - Espectro de RMN ^{13}C de (2a).	144
Figura 85 - Espectros de infravermelho de (16a e 16b).	145
Figura 86 - Espectro RMN 1H de (16a).	145
Figura 87 - Espectro de RMN ^{13}C de (16a).	146
Figura 88 - Espectro de RMN 1H de (16b).	146
Figura 89 - Espectro de RMN ^{13}C de (16b).	147
Figura 90 - Espectro de RMN 1H de (16c).	147
Figura 91 - Espectro de RMN ^{13}C de (16c).	148
Figura 92 - Espectro de infravermelho de (17b).	148
Figura 93 - Espectro de RMN 1H de (17b).	149
Figura 94 - Espectro de ^{13}C de (17b).	149
Figura 95 - Espectro de infravermelho de (3b).	150
Figura 96 - Espectro de RMN 1H de (3b).	150
Figura 97 - Espectro de RMN de ^{13}C de (3b).	151

Figura 98 - Mapa de contorno de HMBC de (3b)	151
Figura 99 - Espectro de infravermelho de (4b)	152
Figura 100 - Espectro de RMN de ^1H de (4b)	152
Figura 101 - Espectro de ^{13}C de (4b)	153
Figura 102 - Mapa de contorno de HMBC de (4b)	153
Figura 103 - Espectro de infravermelho de (24)	154
Figura 104 - Espectro de RMN ^1H de (24)	154
Figura 105 - Espectro de RMN ^{13}C de (24)	155
Figura 106 - Espectro de infravermelho de (25)	155
Figura 107 - Espectro de RMN ^1H de (25)	156
Figura 108 - Espectro de RMN ^{13}C de (25)	156
Figura 109 - Espectro de infravermelho de (26)	157
Figura 110 - Espectro de RMN ^1H de (26)	157
Figura 111 - Espectro de RMN ^{13}C de (26)	158
Figura 112 - Espectro de infravermelho de (19)	158
Figura 113 - Espectro de RMN ^1H de (19)	159
Figura 114 - Espectro de RMN ^{13}C de (19)	159
Figura 115 - Mapa de contorno de HMBC de (19)	160
Figura 116 - Espectro de infravermelho de (23)	160
Figura 117 - Espectro de RMN ^1H de (23)	161
Figura 118 - Espectro de RMN ^{13}C de (23)	161
Figura 119 - Mapa de contorno de HMBC de (23)	162

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - <i>Docking scores</i> dos compostos planejados para síntese e de seus compostos referência, CI-994 e BRD 3308.....	49
Tabela 2 - Observação de presença da coordenação com zinco e as interações específicas dos resíduos aminoácidos da HDAC-3 com os compostos planejados e seus compostos referência, CI-994 e BRD 3308.....	50
Tabela 3 – Características físico-químicas e valores de absorção no infravermelho dos intermediários (8a) , (8b) , (8c)	57
Tabela 4 – Deslocamentos químicos e RMN ^1H e ^{13}C dos intermediários (8a) , (8b) , (8c)	58
Tabela 5 – Características físico-químicas e valores de absorção no infravermelho dos intermediários (11) , (12) para os derivados seletivos de BRD-3308.	65
Tabela 6 – Deslocamentos químicos e RMN ^1H e ^{13}C dos intermediários (11) e (12)	66
Tabela 7 – Características físico-químicas e valores de absorção no infravermelho do intermediário (13a) e finais (1a – 2a)	70
Tabela 8 – Deslocamentos químicos e RMN ^1H e ^{13}C do intermediário (13a) e finais (1a, 2a)	72
Tabela 9 – Características físico-químicas e valores de absorção no infravermelho dos intermediários (16a e 16b)	80
Tabela 10 – Deslocamentos químicos e RMN ^1H e ^{13}C dos intermediários (16a, 16b, 16c)	81
Tabela 11 - Características físico-químicas e valores de absorção no infravermelho do intermediário (17b) e final (4b)	85
Tabela 12 - Deslocamentos químicos e RMN ^1H e ^{13}C do intermediário (17b) e final (4b)	86
Tabela 13 - Características físico-químicas e valores de absorção no infravermelho do composto final (3b)	90
Tabela 14 - Deslocamentos químicos e RMN ^1H e ^{13}C do composto final (3b)	91
Tabela 15 - Características físico-químicas e valores de absorção no infravermelho do composto final (24)	94
Tabela 16 - Deslocamentos químicos e RMN ^1H e ^{13}C do intermediário (24)	95

Tabela 17 - Características físico-químicas e valores de absorção no infravermelho dos intermediários (25) e (26)	98
Tabela 18 - Deslocamentos químicos e RMN ^1H e ^{13}C do intermediário (25 e 26)	99
Tabela 19 - Características físico-químicas e valores de absorção no infravermelho dos compostos finais (19) e (23)	102
Tabela 20 - Deslocamentos químicos e RMN ^1H e ^{13}C dos compostos finais (19 e 23)	103
Tabela 21 - Características físico-químicas e valores de absorção no infravermelho (IV), do ácido palmítico (a) , ácido linoleico (b) , ácido linolênico (c)	113
Tabela 22 - Características físico-químicas e valores de absorção no infravermelho (IV), do ácido 4 – aminobenzóico (7)	118
Tabela 23 - Características físico-químicas e valores de absorção no infravermelho (IV), de orto-fenilenodiamina (9)	120
Tabela 24 - Características físico-químicas e valores de absorção no infravermelho (IV), de 5-fluoro-2-nitroanilina (10)	122
Tabela 25 – Características físico-químicas e valores de absorção no infravermelho (IV), do ácido-4-(aminometil) benzóico (14)	124
Tabela 26 - Características físico-químicas e valores de absorção no infravermelho (IV), do cloreto de palmitoíla (15a)	126
Tabela 27 - Docking scores dos compostos com função amina conjugados a lipídeos planejados para síntese e de seus compostos referência, CI-994 e BRD 3308.	128
Tabela 28 - Observação de presença de quelação com zinco e interações específicas dos resíduos aminoácidos da proteína HDAC-3, com os compostos com função amina conjugados a lipídeos planejados e seus compostos referência, CI-994 e BRD 3308.	130

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

Å - Angstrom

ARL - Agente Reversor de Latência

ART - do inglês, *Antiretroviral Therapy*; em português: Terapia Antiretroviral (TARV).

AG – Ácido graxo

BOC - Di-carbonato de di-terc-butila

BRD3308 - 4-acetamido-N-(2-amino-4-fluorofenil)benzamida

Cátion cloroímínio - reagente de Vielsmeier - *N,N*-dimetilímínio

CCD - Cromatografia em Camada Delgada

Células U1 - do inglês, *Cellosaurus cell line* U1/HIV-1

CI-994 - Tacedinalina

CLAE - Cromatógrafo Líquido de Alta Eficiência

DCM- Diclorometano

Ddl - Didanosina

DIPEA - *N,N*-diisopropiletilamina

DMAP - 4-dimetilaminopiridina

DMCC - Cloreto de Dimetilcarbamoil

DMF - *N,N*-dimetilformamida

DMSO - Dimetilsulfóxido

DNA - Ácido Desoxirribonucleico

D- duplete

Dd – duplo duplete

Ddd – duplo duplo duplete

Dddd – duplo duplo duplo duplete

DS - do inglês, *Docking Score*

ELISA - do inglês, Enzyme-Linked Immunosorbent Assay

FDA - do inglês, Food and Drug Administration

Fe⁰ - Ferro metálico

Fe²⁺ - Ferro como íon ferroso

HATU - do inglês, 1-[Bis(dimethylamino)methylene]-1H-1,2,3-triazolo[4,5-b]pyridinium 3-oxide hexafluorophosphate

HCl - Ácido Clorídrico
HDAC - Enzima Histona Deacetilase
HDACi - Inibidor de Histona Deacetilase
HEVs - Vênulas Endoteliais Elevadas
HIV - Vírus da Imunodeficiência Humana
HOAt – 1-Hidróxi-7-azabenzotriazol
IC₅₀ - Concentração inibitória em 50%
IV - Espectrofotometria de absorção na região do infravermelho
Ka - Constante de Dissociação Ácida
KBr - Brometo de potássio
Lapdesf - Laboratório de Pesquisa e Desenvolvimento de Fármacos
Leu - Leucina
LigPrep - do inglês, *Ligand Preparation*
LogP - Coeficiente de Partição
LTR: do inglês Long Terminal Repeat
MeOH – Metanol
M – Multiplete
P - quintuplete
PABA - Ácido 4-amino benzoico ou ácido *p*-amino benzoico
PAMBA - Ácido 4-(aminometil) benzoico ou ácido *p*-(aminometil) benzoico
PBMC - Célula mononuclear do sangue periférico
PDB - do inglês, *Protein Data Bank*
PHA - Fitohemaglutinina
PKC - Proteína quinase C
PUFAs - Ácidos Graxos Poliinsaturados de Cadeia Longa
qPCR - PCR em tempo real
Q- quadruplete
Qd - quarteto de duplete
RMN - Ressonância Magnética Nuclear
RNA - Ácido Ribonucleico
SAHA - vorinostat
S - Simpleto
SNC - Sistema Nervoso Central
TARV - Terapia Antirretroviral

TCL - Triglicérideo de Cadeia Longa

TFA - Ácido Trifluoroacético

TG - Triglicerídeo

THF - Tetraidrofurano

TLR - do inglês, *Toll-like receptor*

T – Tripleto

Td - Triplo duplete

Tt – Triplo tripleto

UV-VIS - Espectrofotometria na região do Ultravioleta-Visível

ZBG - do inglês, *Zinc Binding Group*

AGRADECIMENTOS

Á Deus por ter me guiado e me protegido nesta caminhada.

Ao meu orientador pela confiança, compreensão, e por todo o amparo que me ofereceu nesta pesquisa, me ajudando a superar as dificuldades nas reações e escritas, tirando minhas dúvidas sempre que podia, e por ter me aceitado como aluna, mesmo sem ter experiência com síntese orgânica além das disciplinas. Jamais vou esquecer a ajuda que tive nas reações e para analisar os espectros de RMN.

Aos meus amigos do grupo Lapdesf, pela convivência e por toda a ajuda no aprendizado de todos os experimentos que realizei, e a escuta quando as reações e purificações não davam certo.

Aos meus pais e ao Raphael, que sempre estiveram do meu lado mesmo longe, nos bons e maus momentos, me ajudando no momento que mais precisei, e acreditando em mim nesta pesquisa. Agradeço também ao meu irmão e minha cunhada pela convivência, todo o acolhimento e pelas ajudas sempre que precisei.

A minha amiga Cecília, que sou extremamente grata, pela nossa amizade, nossas conversas e noite de jogos, a ajuda em descobrir o programa de pós-graduação, e também na minha partida para Araraquara e minha estadia.

Ao meu grupo de *Crosstraining* por cada treino que participamos, que ajudava o dia de trabalho ser muito melhor.

Á todos os que me ajudaram nessa trajetória.

Á Capes pela bolsa concedida, processo nº 88887.625820/2021-00.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	13
1.1 O HIV e os desafios para alcançar a cura funcional	13
1.2 A estratégia ‘Kick and Kill’	15
1.3 Inibidores de HDAC como ARL	17
1.4 O direcionamento de fármacos ao sistema linfático	19
1.5 Planejamento estrutural de novos compostos ALR inibidores de HDAC-3 conjugado com lipídeos	22
2. OBJETIVOS	24
2.1 Objetivo geral	24
2.2 Objetivos específicos	24
3. MATERIAL E MÉTODOS	25
3.1 Modelagem molecular	25
3.2 Planejamento da metodologia sintética para obtenção dos compostos finais derivados de 2-amino benzamida	25
3.3 Caracterização por métodos analíticos	28
3.3.1. Faixa de Fusão.	28
3.3.2. Espectrofotometria de absorção no infravermelho (IV)	28
3.3.3. Espectrometria de RMN ¹H e RMN ¹³C	28
3.4 Métodos de purificação	28
3.4.1 Biotage® IsoleraTM	28
3.4.2 Cromatografia de coluna	28
3.4.2 Cromatografia em camada delgada preparativa	29
3.5 Metodologia de sintética para obtenção dos compostos	29
3.5.1 Síntese dos compostos da série A	29
3.5.1.1 Síntese dos compostos intermediários (8a), (8b), (8c)	29
3.5.1.2 Síntese do composto intermediário <i>terc-butil (5-fluoro-2-nitrofenil)carbamato</i> - (11)	30

3.5.1.3 Síntese do composto intermediário <i>tert</i> -butil (2-amino-5-fluorofenil)carbamato - (12)	31
3.5.1.4 Síntese do composto intermediário (13a)	32
3.5.1.5 Síntese do composto final (2a)	33
3.5.1.6 Síntese do composto final (1a)	34
3.5.2 Síntese dos compostos da série B	35
3.5.2.1 Síntese do composto intermediário (16a)	35
3.5.2.2 Síntese dos compostos intermediários (15b) e (16b)	36
3.5.2.3 Síntese dos compostos intermediários (15c) e (16c)	38
3.5.2.4 Síntese do composto intermediário (17b)	39
3.5.2.5 Síntese do composto intermediário (24) - 4-(((<i>tert</i> -butoxicarbonil)amino)metil) ácido benzoico	40
3.5.2.6 Síntese do composto intermediário (25)	41
3.5.2.7 Síntese do composto intermediário (26)	42
3.5.2.8 Síntese do composto final (4b)	43
3.5.2.9 Síntese do composto final (3b)	44
3.5.2.10 Síntese do composto final (19)	45
3.5.2.11 Síntese do composto final (23)	45
4. RESULTADOS E DISCUSSÕES	47
4.1 Modelagem molecular	47
4.2 Síntese e caracterização dos compostos da série A	55
4.2.1 Síntese e caracterização dos intermediários (8a), (8b), (8c)	55
4.2.2 Síntese e caracterização dos intermediários (11), (12), para os derivados seletivos de BRD-3308	62
4.2.3 Síntese e caracterização do intermediário (13a) e compostos finais (1a), (2a)	68
4.3 Síntese e caracterização dos compostos da série B	78
4.3.1 Síntese e caracterização dos intermediários (16a, 16b e (16c)	78

4.3.2 Síntese do composto intermediário (17b) e composto final (4b).....	84
4.3.3 Síntese do composto final (3b).....	89
4.3.4 Síntese do intermediário (24)	93
4.3.6 Síntese dos intermediários (25 e 26).....	96
4.3.7 Síntese dos compostos finais (19 e 23)	101
5. CONCLUSÕES.....	105
REFERÊNCIAS	107
APENDICE A – CARACTERIZAÇÃO DOS REAGENTES.....	113
1. Ácidos graxos palmítico (a), linoleico (b) e linolênico (c).....	113
2. Ácido 4 – aminobenzóico (PABA) (7)	118
3. <i>Orto</i> -Fenilenodiamina (9).....	120
4. 5-fluoro-2-nitroanilina (10).....	122
5. Ácido-4-(aminometil) benzóico – (PAMBA) (14).....	124
6. Cloreto de palmitoila (15a)	126
APENDICE B – MODELAGEM MOLECULAR DOS COMPOSTOS COM FUNÇÃO AMINA CONJUGADOS A LÍPIDEOS	128
APENDICE C – ESPECTROS DE INFRAVERMELHO E RMN DOS COMPOSTOS SINTETIZADOS.....	133
SÉRIE A.....	133
1. Intermediários (8a), (8b), (8c).....	133
2. Intermediário (11)	137
3. Intermediário (12)	138
4. Intermediário (13a)	140
5. Composto final (1a)	141
6. Composto final (2a)	143
SÉRIE B.....	144
1. Intermediários (16a, 16b, 16c).....	144
2. Intermediário (17b)	148
3. Composto final (3b)	150

4. Composto final (4b)	152
5. Intermediário (24)	154
6. Intermediário (25)	155
7. Intermediário (26)	157
8. Composto final (19)	158
9. Composto final (23)	160

1. INTRODUÇÃO

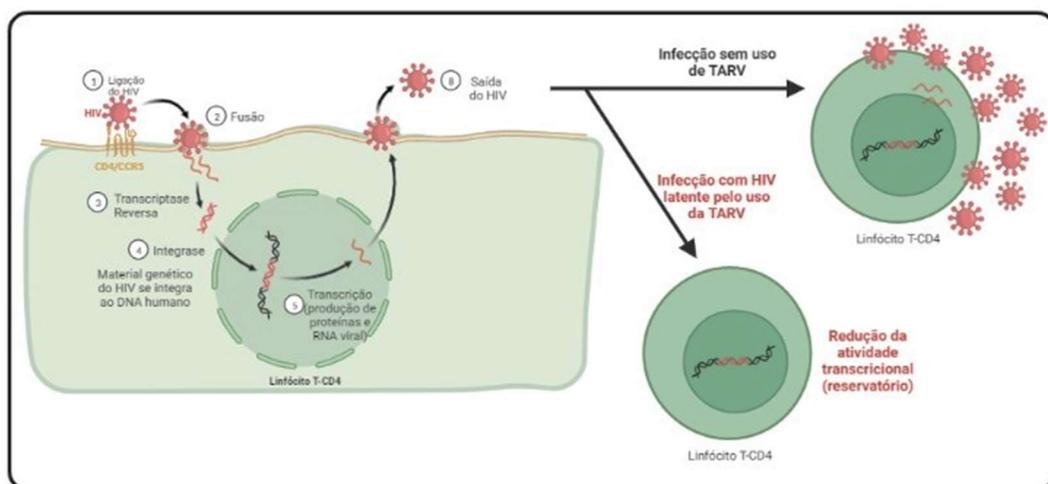
1.1 O HIV e os desafios para alcançar a cura funcional

O tratamento da infecção pelo Vírus da Imunodeficiência Humana (HIV) sofreu significativa transformação nos últimos anos com o uso da Terapia Antirretroviral (TARV), melhorando o prognóstico da infecção pelo HIV de uma doença altamente letal para uma doença crônica controlável. Apesar desses avanços, a doença ainda permanece incurável afligindo milhões de pessoas em todo o mundo. Em 2019, foi estimado que cerca de 37,9 milhões de pessoas viviam com HIV em todo o mundo, entre as quais, apenas 24,5 milhões tiveram acesso à terapia antirretroviral (UNAIDS, 2020).

Apesar da eficácia da TARV, a persistência da inflamação induzida pelo vírus, a falta de uma resposta imune eficaz dos pacientes imunossuprimidos e a manutenção do reservatório de HIV são os atuais desafios que precisam ser superados. O reservatório latente é entendido como um santuário oculto do HIV que não é reconhecido pelo sistema imunológico e não é afetado pela TARV. Este reservatório é estabelecido após algumas células T CD4⁺ ativadas que contêm o DNA proviral se diferenciarem em células de memória em repouso com redução da atividade transcricional. Fatores relacionados ao hospedeiro (ou seja, modificações epigenéticas, regulação dos mecanismos de transcrição) mantêm o provírus em um estado quiescente. Após a ativação das células T, uma pequena quantidade do genoma do HIV mantém baixos níveis de replicação, resultando na produção de vírions. A maioria do reservatório contém provírus defeituosos devido a modificações no genoma do HIV que ocorrem durante o processo de transcrição reversa. No entanto, uma pequena fração do genoma de HIV viável pode ser ativada a partir do reservatório, resultando em viremia detectável após uma interrupção na TARV (Figura 1) (BRUNER et al., 2019).

Mesmo em pacientes com HIV-RNA indetectável no plasma, o reservatório latente é mantido devido à proliferação homeostática em resposta à interleucina-7 (IL-7) e a expansão clonal das células T CD4⁺ de memória de longa duração. Embora essas células exibam uma redução da expressão de co-receptores para HIV e diminuição do processo de transcrição reversa, é possível que o vírus possa infectar as células T CD4⁺ de memória via contato célula a célula ou diretamente (AGOSTO et al., 2018). Esta característica indesejável mantém o reservatório de HIV mesmo após longos períodos de tratamentos, representando um grande obstáculo na eliminação do vírus (SILICIANO et al., 2003; SILICIANO; GREENE, 2011).

O reservatório de HIV é mantido em um estado ativo não apenas por linfócitos, mas também por células como macrófagos e células dendríticas plasmocitodes. Os macrófagos mantêm o HIV escondido do reconhecimento pelo sistema imunológico, enquanto facilita sua entrada em vários órgãos e tecidos como o Sistema Nervoso Central (SNC) e os linfonodos, semeando assim o vírus e afetando sua eliminação completa (WONG; JAWOROWSKI; HEARPS, 2019). Através do sistema linfático, pela drenagem do excesso de líquido intersticial, os linfócitos T CD4+ de memória são encaminhados aos tecidos linfoides e lá armazenados para futuras respostas imunológicas. As células dendríticas e macrófagos também são drenados pelo sistema linfático, adentrando-se nos tecidos linfoides. As células dendríticas contribuem com a difusão do HIV, apresentando natureza migratória e capacidade de recrutar numerosos linfócitos T, promovendo sua proliferação para o tecido linfoide (DE SCHEERDER et al., 2019). Já os macrófagos, por serem insensíveis ao efeito citopático do vírus e apresentar elevado tempo de vida, apresentam alta carga viral nos repositórios linfoides (DE SCHEERDER et al., 2019). Além dos aspectos anatômicos, o alcance do sistema linfático pelos antivirais apresenta dificuldade farmacocinéticas relacionadas a baixa disponibilidade e o alto metabolismo de primeira passagem (DE SCHEERDER et al., 2019; JAWOROWSKI; HEARPS, 2019).



Fonte: autoria própria; BioRender, 2023.

A caracterização e quantificação de sítios anatômicos contendo reservatórios do HIV é um grande desafio científico na busca pela cura funcional. As técnicas para medir o tamanho e a distribuição de reservatórios latentes enfrentam alguns obstáculos,

como a identificação de provírus replicadores competentes, como por exemplo, os ensaios de quantificação do DNA total do HIV-1 por qPCR, e DNA HIV integrado (BELOUKAS et al., 2009; BRADY et al., 2013; ROSENBLOOM et al., 2015).

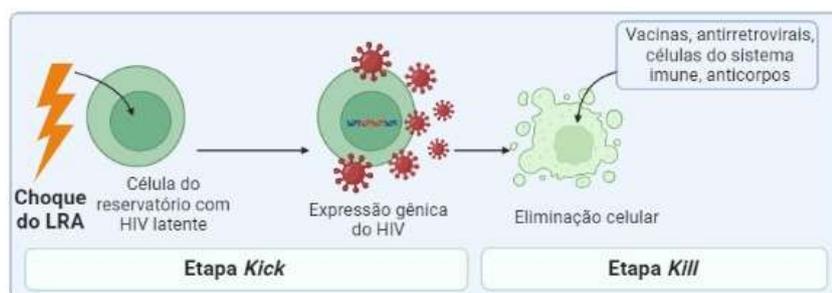
Por outro lado, o ensaio padrão atual, chamado de ensaio de crescimento viral, consegue medir a replicação do provírus competentes e visa estimular a reversão da latência em células T CD4+ infectadas pelo HIV. Este ensaio envolve: a) ativação de células T CD4+ por incubação com anticorpos anti-CD28/CD3 ou adição de fitohemaglutinina (PHA) e PBMC depletados de células T CD8+; b) células de doadores HIV-negativos incubadas com células infectadas para permitir o crescimento viral; c) verificação de replicação por ELISA e quantificação de células positivas pela detecção de capsídeo p24; d) distribuição de Poisson para determinar a frequência de células latentes infectadas com o provírus intacto. O ensaio subestima o tamanho do reservatório latente, uma vez que outras células também podem conter provírus competente (ROSENBLOOM et al., 2015).

O transplante de células-tronco alogênicas de doadores CCR5 Δ 32 / Δ 32 aparecem como uma abordagem promissora, uma vez que dois pacientes (os chamados pacientes de Berlim e Londres) submetidos a este procedimento não demonstraram rebote viral após a interrupção do tratamento (GUPTA et al., 2019). Embora esta estratégia não seja disponível para todos os pacientes, os dados sugerem que a erradicação ou silenciamento do reservatório do HIV latente pode ser um caminho potencial na direção da cura funcional. Entre as estratégias atuais que buscam a cura do HIV, as seguintes abordagens são notáveis: *'block and lock'*, *'kick and kill'*, edição de genes e vacinação (GUPTA et al., 2019).

1.2 A estratégia *'Kick and Kill'*

A abordagem denominada *"kick and kill"* (também conhecida como *"shock and kill"*) visa esgotar o reservatório latente de HIV em duas etapas (Figura 2). Na etapa de *'kick'*, os agentes reversores de latência (ARL) induzem a expressão do gene do HIV e o surgimento do vírus a partir do reservatório celular. Posteriormente, o sistema imunológico reconhece o brotamento vírus, e ativa a toxicidade induzida por células de linfócitos T ou ocorre efeito citopático contra o vírus, esgotando o reservatório (*kill*) (CILLO; MELLORS, 2016; DEEKS et al., 2012).

Figura 2 - Esquema da estratégia "kick-and-kill". Na etapa *Kick*, ocorre a expressão gênica do vírus HIV-1 latente pela estratégia epigenética. Na etapa *Kill*, as células reativadas são destruídas pelo próprio sistema imune, TARV, vacinas, entre outros.



Fonte: autoria própria; BioRender.com, 2023.

Para indivíduos imunossuprimidos em TARV por longos períodos, a baixa citotoxicidade induzida por células T contra o HIV é um problema na eliminação completa do vírus. Portanto, estratégias que visam a eliminação do reservatório após sua ativação, como vacinas terapêuticas, são úteis no restabelecimento da citotoxicidade das células T contra o vírus (Figura 2) (CHOMONT et al., 2018). Várias estratégias estão sendo investigadas para descobrir agentes eficazes e seguros para a etapa de 'kill'. Entre estes agentes, vacinas, anticorpos monoclonais e abordagens que visam aumentar a eficácia da citotoxicidade induzida por linfócitos T parece ser a mais bem sucedida (KIM; ANDERSON; LEWIN, 2018; THORLUND et al., 2017).

A fim de eliminar o reservatório de HIV, é imperativo identificar um ARL ideal que deve ser amplamente eficaz para ativar todos os reservatórios latentes ocultos que contêm o vírus competente, sem induzir efeitos tóxicos ou ativação imune inadequada no hospedeiro (ABNER; JORDAN, 2019; RASMUSSEN; TOLSTRUP; SØGAARD, 2016; XING; SILICIANO, 2013). De acordo com seu modo de ação, os ARL podem ser classificados em os seguintes cinco grupos distintos: a) modificadores pós-tradução de histonas; b) moduladores da cromatina não histona; c) agonistas da proteína quinase C (PKC); d) agonistas de receptor toll-like (TLR); e e) estimuladores de receptor extracelular (ABNER; JORDAN, 2019; RASMUSSEN; TOLSTRUP; SØGAARD, 2016; XING; SILICIANO, 2013). Nesse trabalho, visa-se a investigação do papel de modificadores pós-tradução de histonas, especificamente por meio da inibição da enzima histona deacetilase (HDAC).

1.3 Inibidores de HDAC como ARL

A modificação das caudas de histonas de nucleossomos contendo HIV integrado permite a reativação do estágio latente, sendo uma abordagem promissora para descoberta de novos agentes *'kill'*. Histonas deacetilases (HDACs) são uma família de enzimas epigenéticas que representam os principais alvos para a atuação de ARL potenciais por meio de modificações pós-tradução de histonas.

As histonas deacetilases atuam através da clivagem de um resíduo de acetil na cauda da lisina nas histonas e estão envolvidas na remodelação da cromatina, mantendo assim o equilíbrio dinâmico da acetilação. A deacetilação de proteínas histonas e não histonas altera a conformação da cromatina e a expressão genética. O processo de acetilação enfraquece a interação com o DNA, permitindo acesso a fatores de transcrição, enquanto a deacetilação realizada por HDACs confere uma carga positiva no grupo ϵ -amino da lisina das histonas, fortalecendo a interação DNA-histona, que por sua vez suprime a transcrição do gene. O processo de acetilação/deacetilação também expõe superfícies de encaixe de proteínas, que modula a ligação de ativadores ou repressores da transcrição do gene. Assim, a hiperacetilação e a hipoacetilação de histonas está associada à expressão e repressão de genes, que induz interferências em diversas vias biológicas, como as relacionadas ao crescimento, transdução de sinal e morte de células (BERTRAND, 2010).

Altos níveis de deacetilação nas histonas foram correlacionados com várias doenças e inibidores de HDAC (HDACi), como vorinostat (1) (também conhecido como SAHA), romidepsina (2) e panobinostat (3), foram aprovados pelo *Food and Drug Administration* (FDA) para o tratamento de neoplasias hematológicas (BERTRAND, 2010; VAN LINT et al., 1996). As HDAC são divididas em quatro classes principais: classe I (HDACs 1, 2, 3, 8); classe IIa (HDACs 4, 5, 7, 9); classe IIb (HDACs 6, 10); classe III (SIRT1–7); e classe IV (HDAC 11) (ROCHE; BERTRAND, 2016).

HDACs classe I, representados por HDAC 1, 2 e 3, são dependentes do íon Zn^{2+} , sendo recrutadas para o LTR do HIV-1 em modelos celulares de latência e são expressas nos núcleos de células T CD4⁺ latentes do reservatório. A inibição seletiva dessas isoformas HDAC em modelos celulares demonstraram uma ativação eficiente do LTR do HIV em comparação com outras isoformas (ARCHIN et al., 2009; KEEDY et al., 2009). Alguns estudos também sugeriram que a inibição de HDAC 3 é a etapa preliminar na promoção da reativação efetiva isoformas (ARCHIN et al., 2009; KEEDY

et al., 2009). Ao comparar a eficiência para induzir crescimento viral em células T CD4⁺ em repouso, MKR12, um inibidor seletivo de HDAC 1 e 2, demonstrou atividade inferior em comparação com MRK 13, um inibidor de HDAC 1, 2 e 3 (ARCHIN et al., 2009). Assim, a compreensão da base estrutural para a seletividade HDAC é crucial para planejamento de fármacos a fim evitar efeitos “off target” (ARCHIN et al., 2009; KEEDY et al., 2009; ROCHE; BERTRAND, 2016).

Um dos primeiros relatos sobre o potencial de inibidores de HDAC (HDACi) em induzir a expressão gênica de HIV foi descrito para butirato de sódio. Este HDACi fraco ativou o (*Long Terminal Repeat*) LTR do HIV em plasmídeos quiméricos em curva dose resposta curva linear de até 8 mM. Em outro estudo, células latentes infectadas com HIV foram tratadas com dois HDACi distintos: trapoxina (4) e tricostatina (5). Observou-se que ambos os fármacos induziram a ativação transcricional do promotor de HIV-1 e aumentou os níveis do vírus. Além disso, a curva dose-resposta mostrou uma relação clara entre a expressão gênica do HIV e os níveis de acetilação das histonas nas células infectadas tratadas com cada uma desses compostos (VAN LINT et al., 1996). Apesar destes resultados interessantes, todos os ensaios foram conduzidos usando modelos *in vitro*, e a necessidade de verificar esses efeitos em pacientes infectados reais levou à condução dos ensaios clínicos. (LALANNE et al., 2007; VAN LINT et al., 1996)

A prova de conceito de que HDACi ativava os reservatórios latentes de HIV foi descrito em um estudo clínico limitado, no qual quatro pacientes vivendo com HIV em TARV foram tratados com ácido valpróico (6) em doses que variam de 500-750 mg (duas vezes ao dia por três meses). Neste estudo, a TARV foi intensificada com 90 µg de enfuvirtida (duas vezes ao dia por 4–6 semanas) para prevenir a propagação do vírus. Os pesquisadores observaram que o número de células latentes diminuiu após o tratamento com ácido valpróico como resultado da ativação de reservatórios latentes de HIV, demonstrando o papel de HDACi em humanos infectados pelo HIV (HUANG et al., 2018).

Em 2012, o potencial do vorinostat na abordagem de ‘*kick and kill*’, especialmente na etapa de ‘*kick*’, foi demonstrado. Um dos primeiros estudos que descreve a capacidade do vorinostat para induzir a expressão do RNA de HIV-1 foi realizada em células T CD4⁺ em repouso de pacientes cuja viremia foi suprimida anteriormente por TARV. Nesse estudo, houve aumento da expressão de RNA do HIV, em níveis 4,8 vezes maiores do que o controle negativo (ARCHIN et al., 2012). Outros

estudos também confirmaram resultados semelhantes usando diferentes regimes de tratamento (ARCHIN et al., 2017).

1.4 Latenciação e o direcionamento de fármacos ao sistema linfático

O termo latenciação refere-se a estratégia de modificação molecular em que há conversão de fármacos à pró-fármacos. Estes, mediante processos enzimáticos e não enzimáticos *in vivo* liberam o fármaco original, podendo inclusive ser próximo ao local de ação quando desejado. Os pró-fármacos podem ser classificados de acordo com Wermuth, 1984, em: a) clássicos: o fármaco ativo está ligado a um carreador farmacologicamente inativo e necessita ser biotransformado para ser liberado; b) bioprecusores: não possuem um grupo carreador e precisam ser biotransformados para serem farmacologicamente ativos; c) mistos: são similares ao mesmo tempo aos pró-fármacos clássicos e bioprecusores, sendo uma molécula inerte, onde o carreador necessita ser biotransformado antes de liberar o fármaco; d) mútuos: possuem um grupo carreador farmacologicamente ativo ligado ao fármaco; e) dirigidos: possuem um carreador específico ligado ao fármaco, que interage especificamente com receptores ou enzimas do sítio ativo, melhorando a seletividade. O uso de pró-fármacos visa remediar desafios biofarmacêuticos, farmacodinâmicos e farmacocinéticos, como baixa estabilidade química, limitações de solubilidade, metabolismo e toxicidade, para que se tenha melhorias da biodisponibilidade e efeito terapêutico, promovendo uma maior eficácia e segurança do fármaco (CHUNG; FERREIRA, 1999; MARKOVIC; BENSHABAT; DAHAN, 2020; SANCHES; FERREIRA, 2020). Neste trabalho explorou-se a estratégia de pró-fármacos clássicos.

O direcionamento de fármacos ao sistema linfático explora características físico-químicas dos conjugados fármaco-lipídeo desejáveis. Os compostos bioativos conjugados a uma subunidade lipídica, como por exemplos ácidos graxos, glicerídeos ou fosfolipídios, apresentam aumento da lipossolubilidade. Durante o metabolismo lipídico, os fármacos lipofílicos podem ser organizados e empacotados em lipoproteínas intestinais na forma de quilomícrons e, finalmente secretados na linfa mesentérica, alcançando a circulação sistêmica através do ducto linfático torácico (Figura 3) (LALANNE et al., 2007).

Diversos estudos mostraram que compostos altamente lipofílicos com características físico-químicas apropriadas ($\text{Log } D_{7.4} > 5$, $\text{Log } P > 5$, partículas de grandes dimensões, solubilidade >50 mg/mL em triglicérido de cadeia longa (TCL)) têm um transporte linfático intestinal significativo quando administrados por via oral

com alimentação rica em lipídios. Os anti-retrovirais, por exemplo, quando absorvidos pelos vasos linfáticos intestinais são envolvidos em vesículas lipídicas no enterócito e transportados pelo fluxo de linfa para o linfonodo, sendo distribuídos conforme os padrões de fluxo da linfa. Os anti-retrovirais lipofílicos são mais suscetíveis a perfundir pelo meio do linfonodo, onde a densidade celular é alta e a taxa de fluídos é baixa.

Qin e colaboradores (2021) sintetizaram um pró-fármaco éster lipofílico ativado do lopinavir, chamado de pró-fármaco 7 (Figura 3), cujo éster liga-se a uma curta cadeia lipofílica alifática que possui um oxigênio e que levou a melhorias na entrega do lopinavir comparado aos outros compostos planejados no estudo. Os pesquisadores identificaram liberação eficiente do lopinavir na linfa e nos linfonodos mesentéricos (reservatório viral) em estudo de biodistribuição realizado em ratos após administração oral do composto (QIN et al., 2021; SCHOLZ; KASHUBA, 2021).

Lalanne e colaboradores sintetizaram pró-fármacos glicerolipídicos derivados de didanosina (ddI) e mostraram que os compostos apresentavam atividade biológica promissora contra o HIV em cultura de células ativadas PBMC infectadas por HIV-1-LAI, onde o ensaio teve o intuito de verificar se o pró-fármaco seria capaz de entregar ddI na célula somente pela atividade antiviral (LALANNE et al., 2007). Atividade essa, devido ao melhor alcance do sistema linfático, ou, sobre o repositório viral latente, uma vez que esses fármacos, por serem altamente lipofílicos e de longa cadeia não são passíveis da captação pela mucosa intestinal e conseqüentemente não adentram diretamente no sistema sanguíneo, alcançando diretamente o sistema linfático.

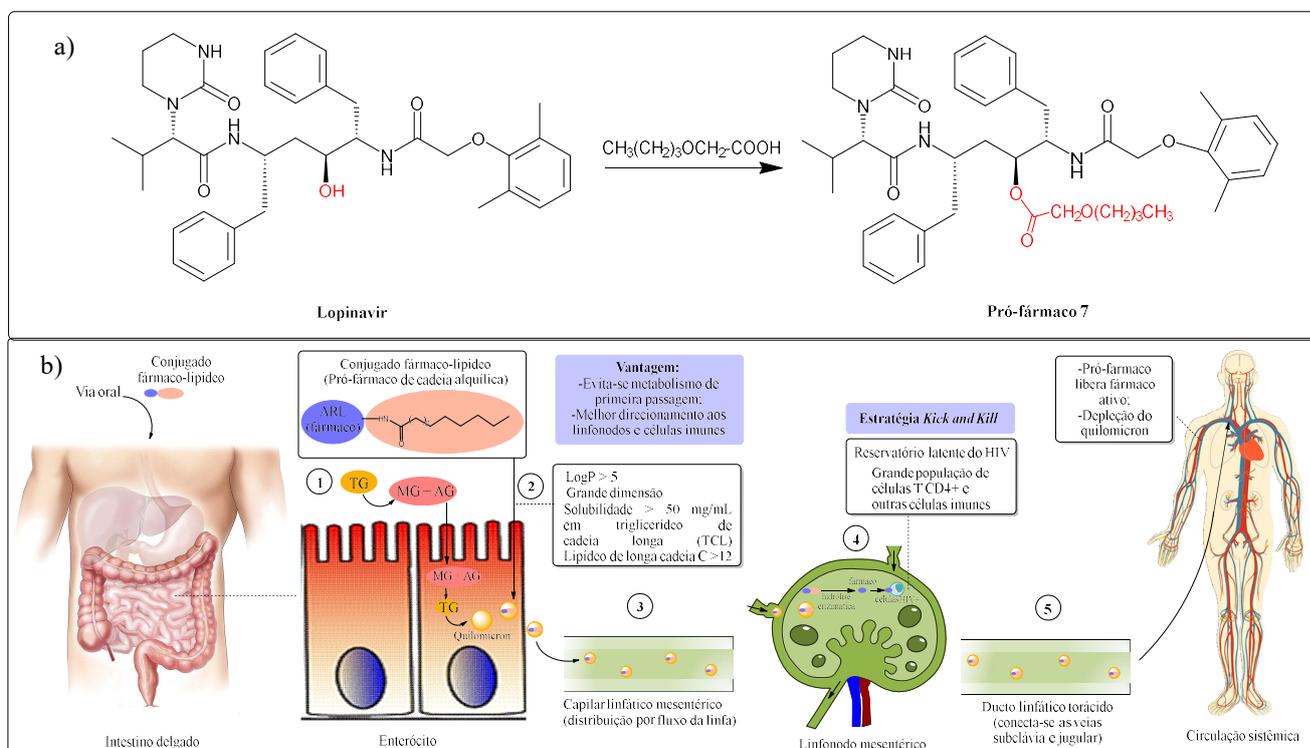
Uma das grandes vantagens desse tipo de transporte é que se torna possível evitar o metabolismo de primeira passagem. O alcance do sistema linfático se dá pela re-esterificação dos triglicerídeos, a partir de suas hidrólises no intestino delgado por lipases pancreáticas. Esse, resulta em metabólitos (2-monoglicérides e ácidos graxos) que são absorvidos pelos enterócitos e re-esterificados em triglicerídeos, posteriormente organizados em quilomícrons, podendo ser secretados na linfa mesentérica (LALANNE et al., 2007).

Os linfonodos são tecidos onde repetidamente verifica-se RNA e DNA viral em primatas não humanos, ratos humanizados e humanos na terapia anti-retroviral, sendo centrais na patologia do HIV, contendo grandes populações de células T CD4⁺ e outras células imunes organizadas em regiões específicas do tecido que facilitam a resposta imune. O HIV propaga-se para linfonodos regionais dentro de 3-6 dias devido à sua grande população alvo de células T CD4⁺ e tráfico constante de células por

vênulas endoteliais elevadas (HEVs) e vasos linfáticos e a disseminação sistêmica ocorre dentro 6–25 dias.

Este reservatório pode se manter por duas teorias durante a terapia antirretroviral: baixos níveis de replicação viral, ou expansão clonal de células T CD4+ latentes infectadas. A inibição incompleta da replicação viral nos linfonodos pode se dever a baixa concentração de antirretroviral neste tecido em comparação ao plasma. Enquanto na expansão clonal, as células T CD4+ são infectadas antes da terapia antirretroviral, e então tornam-se latentes; quando o tratamento é iniciado estas células infectadas latentes podem sofrer uma proliferação, expandindo-se clonalmente em células com idênticas sequencias virais, que podem se mover dos linfonodos para sangue e outros tecidos (SCHOLZ; KASHUBA, 2021).

Figura 3 – a) Pró-fármaco 7, derivado éster lipofílico ativado do lopinavir planejado por Qin et al., 2021 (Qin et al., 2021). b) Lipídios da dieta (TG) e pró-fármacos lipofílicos acessam o sistema linfático por absorção no enterócito e a circulação sistêmica na forma de quilomícrons, locais onde os fármacos ativos planejados neste estudo (ARL) como pró-fármacos, exercem seu efeito reversor de latência do HIV. 1) Triglicerídeos (TG) são hidrolisados no intestino delgado por lipases pancreáticas, resultando nos metabólicos ácidos graxos (AG) e monoglicerídeos (MG), que são absorvidos nos enterócitos e re-esterificados em TG que se organizam em quilomícrons. 2) Pró-fármacos altamente lipofílicos se ligam ao quilomícron. 3) Pró-fármaco empacotado em quilomícron é excitado do enterócito e transportado para os linfonodos pelos capilares linfáticos mesentéricos de acordo com o fluxo da linfa, sendo distribuídos conforme os padrões de fluxo da linfa. 4) Pró-fármaco libera fármaco por hidrólise enzimática (ex. amidase) da função amida, exercendo seu efeito farmacológico na linfa e linfonodos mesentéricos. 5) Pró-fármaco empacotado em quilomícron através do ducto linfático torácico alcança a circulação sistêmica, onde o quilomícron é



Fonte: autoria própria, 2023.

5. CONCLUSÕES

Neste estudo, foram realizados estudos de modelagem molecular, que permitiram identificar padrões estruturais necessários para interação com HDAC-3, como por exemplo, a função amina no grupo *cap* que mostrou interações mais favoráveis a HDAC-3, a presença do átomo de flúor na posição 4, o substituinte arilalquílico capaz de interagir com aminoácidos hidrofóbicos no túnel interno da HDAC-3 e a subunidade 2-aminobenzamida quelante do átomo de zinco presente no sítio ativo do alvo. Os estudos dos valores de *docking score*, que variaram de -6 a -9 Kcal/mol, permitiram identificar 6 possíveis compostos promissores que foram sintetizados quimicamente.

Estes compostos foram divididos em duas séries, a saber: a) série A (2 compostos) e B (2 compostos), todas ligadas a ácidos graxos para direcionamento aos linfonodos. Assim, foram sintetizados ao todo 21 compostos, incluindo 6 compostos finais (2 da série A derivados do ácido palmítico, e 4 da série B com e sem cadeia alquílica derivada do ácido linoleico); e 13 intermediários (6 da série A e 7 da série B). Os rendimentos globais dos compostos finais variaram de 2 a 15%.

Na série A, os intermediários iniciais conjugados aos ácidos palmítico, linoleico e linolênico (**8a**, **8b**, **8c**), mostraram rendimentos de 15-88%; os intermediários com amina protegida por grupo BOC (**11** e **12**), mostraram rendimentos de 42-54%; o intermediário final conjugado ao ácido palmítico (**13a**) mostrou um rendimento de 26%; e os 2 compostos finais conjugados ao ácido palmítico (**1a** e **2a**), mostraram rendimentos globais de 47-52%. Estes dois finais, tiveram suas sínteses otimizadas com relação as suas sínteses já realizadas no laboratório, proporcionando assim, uma nova rota sintética com menos etapas e melhores rendimentos.

Na série B, os intermediários iniciais conjugados aos ácidos palmítico, linoleico e linolênico (**16a**, **16b** e **16c**), mostraram rendimentos de 4-23%; intermediário com

amina protegida (**24**) mostrou um rendimento de 50%; intermediários finais mostraram rendimentos de 42-88%. Todos estes compostos foram caracterizados por IV e RMN, com exceção do intermediário da série B (**16c**), um conjugado ao ácido linolênico, que devido ausência de massa, realizou-se apenas o RMN.

A rota sintética convergente planejada e executada foi eficiente para obter os compostos finais planejados, abrangendo os potenciais pró-fármacos. Demonstrou-se o HATU e DIPEA como ótimos agentes para a síntese de peptídeos (amidas), acoplando todos os reagentes visados, incluindo os que levam a impedimentos estéricos como os de longa cadeia alquílica graxa e os que possuem grupo BOC protetor. O uso do grupo anidrido-BOC para proteção de aminas foi uma estratégia adequada para promover os acoplamentos, onde tanto sua realização com uso de catalisador, quanto somente com a base foram efetivas; o uso da estratégia *one pot* evitou uma etapa e permitiu a obtenção direta de um intermediário, facilitando o seguimento da rota sintética; o uso de TFA embora tenha levado a rendimentos razoáveis, foi satisfatório em retirar o grupo BOC protetora das aminas. Assim, todos os métodos sintéticos desenvolvidos permitiram a obtenção dos compostos desejados. Em estudos futuros se pretende avaliar a atividade desses compostos e a cinética de liberação dos compostos, principalmente sua capacidade de atingir e se concentrar nos linfonodos.

REFERÊNCIAS

- ABNER, E.; JORDAN, A. HIV “shock and kill” therapy: In need of revision. **Antiviral Research**, v. 166, p. 19–34, Jun. 2019.
- ADHIKARI, N.; JHA, T.; GHOSH, B. Dissecting Histone Deacetylase 3 in Multiple Disease Conditions: Selective Inhibition as a Promising Therapeutic Strategy. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 64, n. 13, p. 8827–8869, 8 Jul. 2021.
- AGOSTO, L. M. et al. HIV-1-Infected CD4+ T Cells Facilitate Latent Infection of Resting CD4+ T Cells through Cell-Cell Contact. **Cell Reports**, v. 24, n. 8, p. 2088–2100, Aug. 2018.
- AGOSTONI, C.; MORENO, L.; SHAMIR, R. Palmitic Acid and Health: Introduction. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 56, n. 12, p. 1941–1942, 9 Sep. 2016.
- ALAN R. KATRITZKY, CHARLES WAYNE REES, CHRISTOPHER J. MOODY, O. M.-C. **Comprehensive Organic Functional Group Transformations, Volume 5 Synthesis: Carbon with Two Attached Heteroatoms with at Least One Carbon-to-Heteroatom Multiple Link**. Japão: Elsevier Science, 2003.
- ARCHIN, N. M. et al. Expression of latent human immunodeficiency type 1 is induced by novel and selective histone deacetylase inhibitors. **AIDS**, v. 23, n. 14, p. 1799–1806, 10 Sep. 2009.
- ARCHIN, N. M. et al. Administration of vorinostat disrupts HIV-1 latency in patients on antiretroviral therapy. **Nature**, v. 487, n. 7408, p. 482–485, 26 Jul. 2012.
- ARCHIN, N. M. et al. Interval dosing with the HDAC inhibitor vorinostat effectively reverses HIV latency. **Journal of Clinical Investigation**, v. 127, n. 8, p. 3126–3135, 17 Jul. 2017.
- BACHEM AG. **Coupling reagents Bachem**. Bubendorf, Suíça: Global Marketing, Bachem AG, 2019.
- BASEL, Y.; HASSNER, A. Di- tert -butyl Dicarboxylate and 4-(Dimethylamino)pyridine Revisited. Their Reactions with Amines and Alcohols 1. **The Journal of Organic Chemistry**, v. 65, n. 20, p. 6368–6380, 1 Oct. 2000.
- BELOUKAS, A. et al. Development and Assessment of a Multiplex Real-Time PCR Assay for Quantification of Human Immunodeficiency Virus Type 1 DNA. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 47, n. 7, p. 2194–2199, Jul. 2009.
- BERTRAND, P. Inside HDAC with HDAC inhibitors. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 45, n. 6, p. 2095–2116, Jun. 2010.
- BRADY, T. et al. Quantitation of HIV DNA integration: Effects of differential integration site distributions on Alu-PCR assays. **Journal of Virological Methods**, v. 189, n. 1, p. 53–57, Apr. 2013.
- BRUNER, K. M. et al. A quantitative approach for measuring the reservoir of latent

HIV-1 proviruses. **Nature**, v. 566, n. 7742, p. 120–125, Feb. 2019.

CARON, S. **Practical Synthetic Organic Chemistry: Reactions, Principles, and Techniques**. 2nd. ed. Hoboken, NJ, USA: John Wiley & Sons, 2020.

CARPINO, L. A. et al. Comparison of the Effects of 5- and 6-HOAt on Model Peptide Coupling Reactions Relative to the Cases for the 4- and 7-Isomers, . **Organic Letters**, v. 2, n. 15, p. 2253–2256, 1 Jul. 2000.

CASTILLO-AGUILERA, O. et al. Study of the Effect of Substituents of ortho-Phenylenediamines in the Opening of Lactones and Lactams for Access to Benzimidazol-2-yl Alkanols and Benzimidazol-2-yl Alkylamines. **Synlett**, v. 31, n. 12, p. 1216–1220, 15 Jul. 2020.

CHEMISTRY, C. O. **Boc Protection (Boc2O + Base) Mechanism**. Disponível em: <http://commonorganicchemistry.com/Rxn_Pages/Boc_Protection/Boc_Protection_Boc2O_Base_Mech.htm>.

CHENG, T. et al. Structure-Based Virtual Screening for Drug Discovery: a Problem-Centric Review. **The AAPS Journal**, v. 14, n. 1, p. 133–141, 27 Mar. 2012.

CHOMONT, N. et al. Wake me up before you go. **AIDS**, v. 32, n. 3, p. 293–298, 28 Jan. 2018.

CHUNG, M. C.; FERREIRA, E. I. O processo de latenciação no planejamento de fármacos. **Química Nova**, v. 22, n. 1, p. 75–84, Feb. 1999.

CILLO, A. R.; MELLORS, J. W. Which therapeutic strategy will achieve a cure for HIV-1? **Current Opinion in Virology**, v. 18, p. 14–19, Jun. 2016.

DE SCHEERDER, M.-A. et al. HIV Rebound Is Predominantly Fueled by Genetically Identical Viral Expansions from Diverse Reservoirs. **Cell Host & Microbe**, v. 26, n. 3, p. 347- 358.e7, Sep. 2019.

DEEKS, S. G. et al. Towards an HIV cure: A global scientific strategy. **Nature Reviews Immunology**, v. 12, n. 8, p. 607–614, 20 Aug. 2012.

DERUITER, J. Physicochemical properties of organic medicinal agents: Esters. In: **Principles of Drug Action 1**. [s.l.] Springer, 2005a.

DERUITER, J. Physicochemical properties of organic medicinal agents: Amides. In: **Principles of Drug Action 1**. [s.l.] Springer, 2005b.

EL-FAHAM, A.; ALBERICIO, F. Peptide Coupling Reagents, More than a Letter Soup. **Chemical Reviews**, v. 111, n. 11, p. 6557–6602, 9 Nov. 2011.

FATTORE, E.; FANELLI, R. Palm oil and palmitic acid: a review on cardiovascular effects and carcinogenicity. **International Journal of Food Sciences and Nutrition**, v. 64, n. 5, p. 648–659, 14 Aug. 2013.

GARCÍA-ORTEGÓN, M. et al. DOCKSTRING: Easy Molecular Docking Yields Better Benchmarks for Ligand Design. **Journal of Chemical Information and**

Modeling, v. 62, n. 15, p. 3486–3502, 8 Aug. 2022.

GAWEL, J. M. et al. PTG-0861: A novel HDAC6-selective inhibitor as a therapeutic strategy in acute myeloid leukaemia. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 201, p. 112411, Sep. 2020.

GRIGG, R. E.; INMAN, M.; PACKHAM, G. **Preparation of N-(2-aminophenyl) benzamide derivatives as histone deacetylase inhibitors**. Patente. United Kingdom, 2013. Disponível em: <<https://patents.google.com/patent/WO2013005049A1/en>>.

GUPTA, D. et al. Chemical and Enzymatic Stability of Amino Acid Prodrugs Containing Methoxy, Ethoxy and Propylene Glycol Linkers. **Molecular Pharmaceutics**, v. 6, n. 5, p. 1604–1611, 5 Oct. 2009.

GUPTA, R. K. et al. HIV-1 remission following CCR5 Δ 32/ Δ 32 haematopoietic stem-cell transplantation. **Nature**, v. 568, n. 7751, p. 244–248, 5 Apr. 2019.

HAN, S.-Y.; KIM, Y.-A. Recent development of peptide coupling reagents in organic synthesis. **Tetrahedron**, v. 60, n. 11, p. 2447–2467, Mar. 2004.

HOPPER, A. V. **Recent developments in polymer research**. 1. ed. New York: Nova Science Publishers, Inc., 2007.

HUANG, L. et al. Elimination of HIV-1 Latently Infected Cells by Gnidimacrin and a Selective HDAC Inhibitor. **ACS Medicinal Chemistry Letters**, v. 9, n. 3, p. 268–273, 8 Mar. 2018.

IRBY, D.; DU, C.; LI, F. Lipid–Drug Conjugate for Enhancing Drug Delivery. **Molecular Pharmaceutics**, v. 14, n. 5, p. 1325–1338, 1 May 2017.

JAIN, R. et al. Serum n-6 Fatty Acids are Positively Associated with Growth in 6-to-10-Year Old Ugandan Children Regardless of HIV Status—A Cross-Sectional Study. **Nutrients**, v. 11, n. 6, p. 1268, 4 Jun. 2019.

KABAGAMBE, E. K. et al. Plasma n-6 Fatty Acid Levels Are Associated With CD4 Cell Counts, Hospitalization, and Mortality in HIV-Infected Patients. **JAIDS Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes**, v. 73, n. 5, p. 598–605, 15 Dec. 2016.

KEEDY, K. S. et al. A Limited Group of Class I Histone Deacetylases Acts To Repress Human Immunodeficiency Virus Type 1 Expression. **Journal of Virology**, v. 83, n. 10, p. 4749–4756, 15 May 2009.

KIM, Y.; ANDERSON, J. L.; LEWIN, S. R. Getting the “Kill” into “Shock and Kill”: Strategies to Eliminate Latent HIV. **Cell Host & Microbe**, v. 23, n. 1, p. 14–26, Jan. 2018.

KITCHEN, D. B. et al. Docking and scoring in virtual screening for drug discovery: methods and applications. **Nature Reviews Drug Discovery**, v. 3, n. 11, p. 935–949, Nov. 2004.

LALANNE, M. et al. Synthesis and biological evaluation of two glycerolipidic prodrugs of didanosine for direct lymphatic delivery against HIV. **Bioorganic &**

- Medicinal Chemistry Letters**, v. 17, n. 8, p. 2237–2240, Apr. 2007.
- LIU, J. et al. Discovery of Highly Selective and Potent HDAC3 Inhibitors Based on a 2-Substituted Benzamide Zinc Binding Group. **ACS Medicinal Chemistry Letters**, v. 11, n. 12, p. 2476–2483, 10 Dec. 2020.
- LOPES, J. R. **Planejamento, síntese e avaliação farmacológica de agentes reversores de latência para eliminação de reservatórios celulares do HIV**. [s.l.] Dissertação de Mestrado. Universidade Estadual Paulista. Araraquara, 2020.
- LOPES, J. R. et al. Design and Synthesis of Hybrid Compounds as Epigenetic Modifiers. **Pharmaceuticals**, v. 14, n. 12, p. 1308, 15 Dec. 2021.
- MARKOVIC, M.; BEN-SHABAT, S.; DAHAN, A. Prodrugs for Improved Drug Delivery: Lessons Learned from Recently Developed and Marketed Products. **Pharmaceutics**, v. 12, n. 11, p. 1031, 29 Oct. 2020.
- METHOT, J. L. et al. Delayed and Prolonged Histone Hyperacetylation with a Selective HDAC1/HDAC2 Inhibitor. **ACS Medicinal Chemistry Letters**, v. 5, n. 4, p. 340–345, 10 Apr. 2014.
- NGAN THI KIM MAI. **C-C Bond formation in the purine 8-position by addition of allylmetals**. [s.l.] University of Oslo, 2015.
- PATRA, S. et al. Retracted Article: Creation of ultrasound and temperature-triggered bubble liposomes from economical precursors to enhance the therapeutic efficacy of curcumin in cancer cells. **RSC Advances**, v. 6, n. 88, p. 85473–85485, 2016.
- POPAT, V.; PADHIYAR, N. Kinetic Study of Bechamp Process for P-Nitrotoluene Reduction to P-Toluidine. **International Journal of Chemical Engineering and Applications**, p. 401–405, 2013.
- QIN, C. et al. Targeted delivery of lopinavir to HIV reservoirs in the mesenteric lymphatic system by lipophilic ester prodrug approach. **Journal of Controlled Release**, v. 329, p. 1077–1089, Jan. 2021.
- RACHEL VICTORIA KERR. **Arg-Trp peptidomimetics as inhibitors of the translocase MraY-E protein interaction site**. [s.l.] University of Warwick, 2020.
- RASMUSSEN, T. A.; TOLSTRUP, M.; SØGAARD, O. S. Reversal of Latency as Part of a Cure for HIV-1. **Trends in Microbiology**, v. 24, n. 2, p. 90–97, Feb. 2016.
- REN, J. et al. Design, synthesis, and biological evaluation of oxazolidone derivatives as highly potent N-acylethanolamine acid amidase (NAAA) inhibitors. **RSC Advances**, v. 7, n. 21, p. 12455–12463, 2017.
- ROBERT M. SILVERSTEIN. **Identificação Espectrométrica de Compostos Orgânicos**. 8. ed. E-book: Grupo GEN, 2019.
- ROCHE, J.; BERTRAND, P. Inside HDACs with more selective HDAC inhibitors. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 121, p. 451–483, Oct. 2016.

- ROSENBLOOM, D. I. S. et al. Designing and Interpreting Limiting Dilution Assays: General Principles and Applications to the Latent Reservoir for Human Immunodeficiency Virus-1. **Open Forum Infectious Diseases**, v. 2, n. 4, p. 2015, 1 Dec. 2015.
- ROUTHOLLA, G. et al. Synthesis, biological evaluation, and molecular docking analysis of novel linker-less benzamide based potent and selective HDAC3 inhibitors. **Bioorganic Chemistry**, v. 114, p. 105050, Sep. 2021.
- SANCHES, B. M. A.; FERREIRA, E. I. Systemic delivery techniques based on prodrug design and synthetic materials. In: LAI, W.-F. (Ed.). **Systemic Delivery Technologies in Anti-Aging Medicine: Methods and Applications**. Eletronic book: Springer International Publishing, 2020. p. 511.
- SARKAR, R. et al. Histone deacetylase 3 (HDAC3) inhibitors as anticancer agents: A review. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 192, p. 112171, Apr. 2020.
- SCHOLZ, E. M. B.; KASHUBA, A. D. M. The Lymph Node Reservoir: Physiology, HIV Infection, and Antiretroviral Therapy. **Clinical Pharmacology & Therapeutics**, v. 109, n. 4, p. 918–927, 28 Apr. 2021.
- SCHRÖDINGER. Protein Preparation for Glide. In: **Glide User Manual**. 4. ed. New York: Schrodinger, 2018a.
- SCHRÖDINGER. Receptor Grid Generation. In: **Glide User Manual**. 4. ed. New York: Schrodinger, 2018b.
- SCHRÖDINGER. Ligand Preparation for Glide. In: **Glide User Manual**. 4. ed. New York: Schrodinger, 2018c.
- SCHRÖDINGER. Ligand Docking. In: **Glide User Manual**. 4. ed. New York: Schrodinger, 2018d.
- SCHRÖDINGER. Ligand Interaction Diagram Panel. In: **Maestro Tools Help**. 4. ed. New York: [s.n.].
- SILICIANO, J. D. et al. Long-term follow-up studies confirm the stability of the latent reservoir for HIV-1 in resting CD4+ T cells. **Nature Medicine**, v. 9, n. 6, p. 727–728, 18 Jun. 2003.
- SILICIANO, R. F.; GREENE, W. C. HIV Latency. **Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine**, v. 1, n. 1, p. a007096–a007096, 1 Sep. 2011.
- SILVA, R. B. et al. Do isolamento à síntese da convolutamidina A. **Química Nova**, v. 31, n. 4, p. 924–929, 2008.
- SMART, B. E. Fluorine substituent effects (on bioactivity). **Journal of Fluorine Chemistry**, v. 109, n. 1, p. 3–11, Jun. 2001.
- SURYA K. DE. **Applied Organic Chemistry Reaction Mechanisms and Experimental Procedures in Medicinal Chemistry. Volume 1**. 1. ed. [s.l.] Wiley, 2021.

THORLUND, K. et al. Landscape review of current HIV ‘kick and kill’ cure research - some kicking, not enough killing. **BMC Infectious Diseases**, v. 17, n. 1, p. 595, 29 Dec. 2017.

TIAN, Y.; XIE, Z.; LIAO, C. Design, synthesis and anticancer activities of novel dual poly(ADP-ribose) polymerase-1/histone deacetylase-1 inhibitors. TIAN, Y.; XIE, Z.; LIAO, C. Design, synthesis and anticancer activities of novel dual poly(ADP-ribose) polymerase-1/histone deacetylase. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 30, n. 8, p. 127036, Apr. 2020.

UNAIDS. **Latest global and regional statistics on the status of the AIDS epidemic 2020**. Disponível em: <<https://www.unaids.org/en/resources/fact-sheet>>. Acesso em: 18 apr. 2020.

VAN LINT, C. et al. Transcriptional activation and chromatin remodeling of the HIV-1 promoter in response to histone acetylation. **The EMBO Journal**, v. 15, n. 5, p. 1112–1120, Mar. 1996.

WAGNER, F. F. et al. An Isochemogenic Set of Inhibitors To Define the Therapeutic Potential of Histone Deacetylases in β -Cell Protection. **ACS Chemical Biology**, v. 11, n. 2, p. 363–374, 19 Feb. 2016.

WONG, M. E.; JAWOROWSKI, A.; HEARPS, A. C. The HIV Reservoir in Monocytes and Macrophages. **Frontiers in Immunology**, v. 10, 26 Jun. 2019.

XING, S.; SILICIANO, R. F. Targeting HIV latency: pharmacologic strategies toward eradication. **Drug Discovery Today**, v. 18, n. 11–12, p. 541–551, Jun. 2013.

YU, W. et al. Discovery of Ethyl Ketone-Based Highly Selective HDACs 1, 2, 3 Inhibitors for HIV Latency Reactivation with Minimum Cellular Potency Serum Shift and Reduced hERG Activity. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. ACS Public, n. Article ASAP, p. 10.1021/acs.jmedchem.0c02150, Apr. 2021.

Z. WANG. Béchamp Reduction. In: **Comprehensive Organic Name Reactions and Reagents**. Hoboken, NJ, USA: John Wiley & Sons, Inc., 2010.

ZHANG, H. **Isocyanate-free approach to polyurea/urethane synthesis with di-tert-butyl dicarbamates as monomers**. [s.l.] Eindhoven University Technology, 2017.