



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, Livia da Rocha.

Modelagem molecular e síntese de inibidores de histona deacetilase-3 (HDAC-3), planejados como agentes reversores de latência do HIV / Livia 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 Mestra 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 Ciencias Farmaceuticas do Campus de Araraquara da Unesp

Prof. Dr. RICARDO SOBHIE 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 (quelção) 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 (quelção) 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 (quelção) 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*-dimetilimínio

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 *Crosstraing* 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 a 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

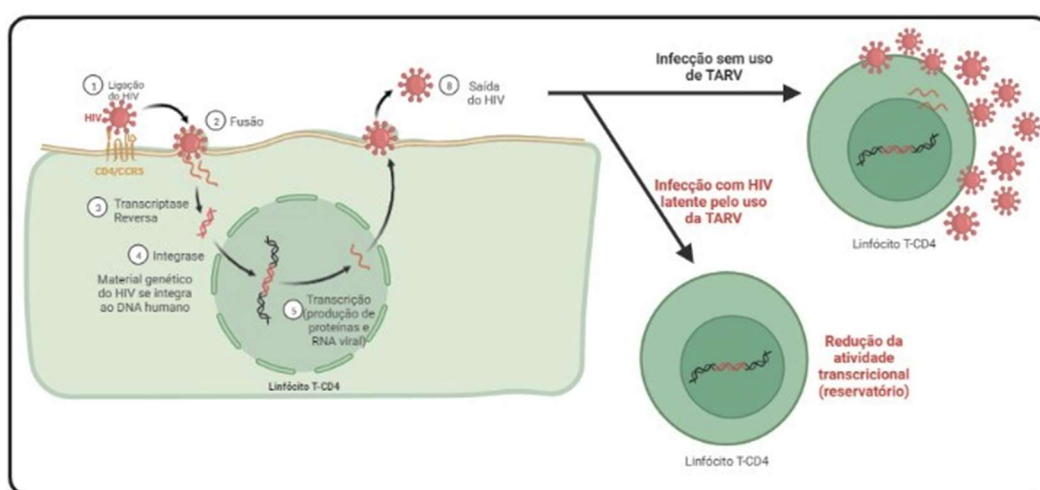
1.1 O HIV e os desafios para a alcançar a cura funcional

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).

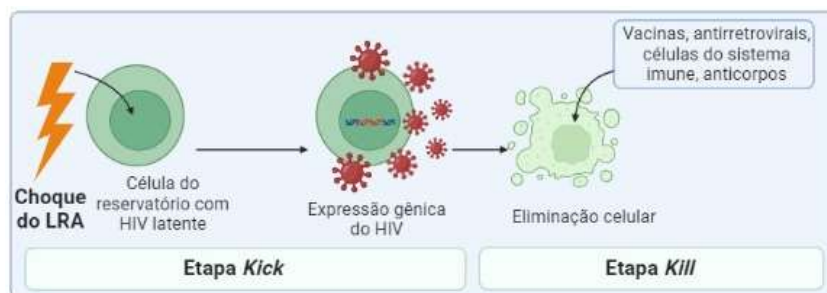
Por outro lado, o ensaio padrão atual, chamado de ensaio de crescimento viral, consegue medir a replicação do provírus competentes e visa estimular a reversão da latência em células T CD4+ infectadas pelo HIV. Este ensaio envolve: a) ativação de células T CD4+ por incubação com anticorpos anti-CD28/CD3 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 investigados 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 $>50 \text{ mg/mL}$ 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 consequentemente não adentram diretamente no sistema sanguíneo, alcançando diretamente o sistema linfático.

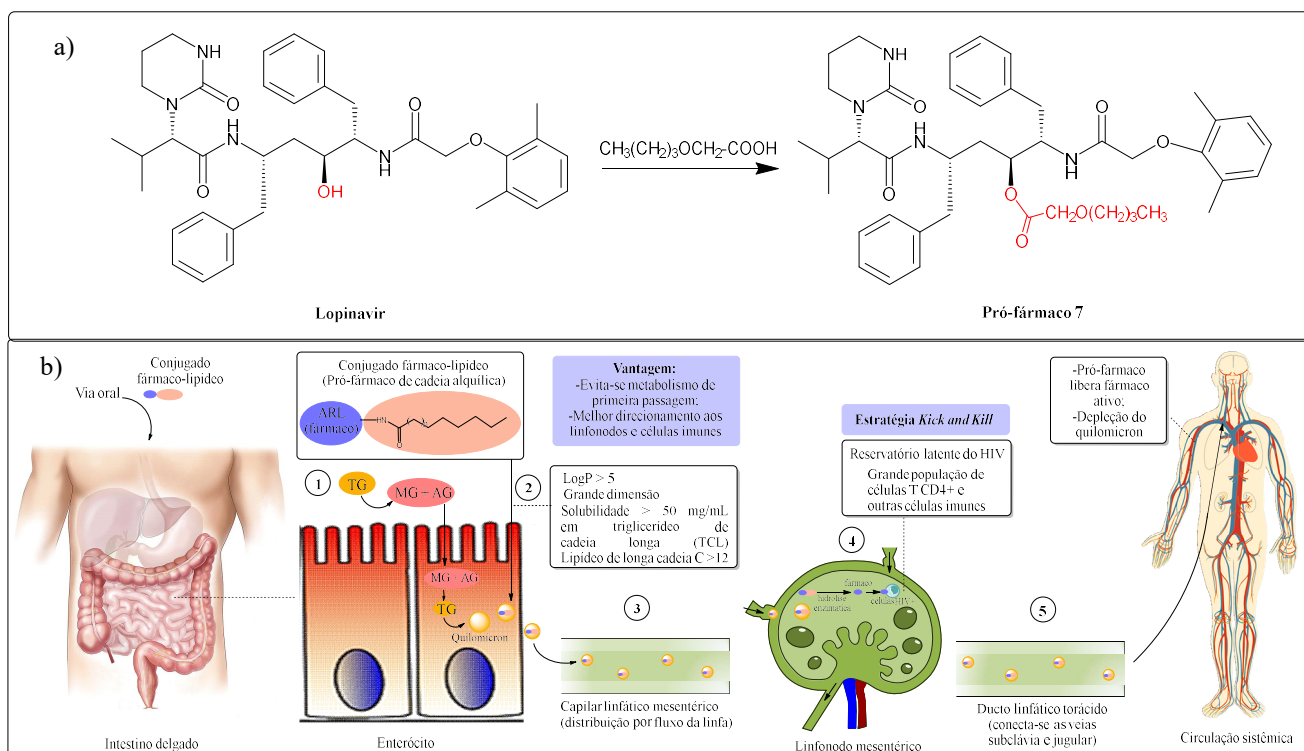
Uma das grandes vantagens desse tipo de transporte é que se torna possível evitar o metabolismo de primeira passagem. O alcance do sistema linfático se dá pela re-esterificação dos triglicerídeos, a partir de suas hidrólises no intestino delgado por lipases pancreáticas. Esse, resulta em metabólitos (2-monoglicérideos 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 exocitado 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.

1.5 Planejamento estrutural de novos compostos ALR inibidores de HDAC-3 conjugado com lipídeos

Dentre os HDACi seletivos para classe I, a classe das 2-amino-benzamidas representam estruturas privilegiadas capazes de interagir com o átomo de zinco (Zn^{2+}) presente no sítio ativo das HDAC-1, 2 e 3 (ARCHIN et al., 2009; KEEDY et al., 2009; ROCHE; BERTRAND, 2016). Trabalhos anteriores do grupo de pesquisa Lapdesf-Unesp demonstraram que a presença de uma subunidade tiofeno ou 4-fluor-fenil é capaz de ocupar o bolsão hidrofóbico de 14 Å presente na HDAC-2, conferindo seletividade às mesmas (LOPES et al., 2021).

O tratamento com tacedidina de células U1 infectadas com HIV demonstrou que o composto foi capaz de induzir a produção de HIV-1 com valores de EC_{50} de 0,93 μM e um índice de seletividade de 15,5. Além de sua atividade superior em comparação com vorinostat e romidepsina, foi observado menor efeito citotóxico com uso de tacedinalina (CI-994), uma vez que o vorinostat, da mesma forma que a romidepsina apresentou índices de seletividade foi de 0,65 (HUANG et al., 2018).

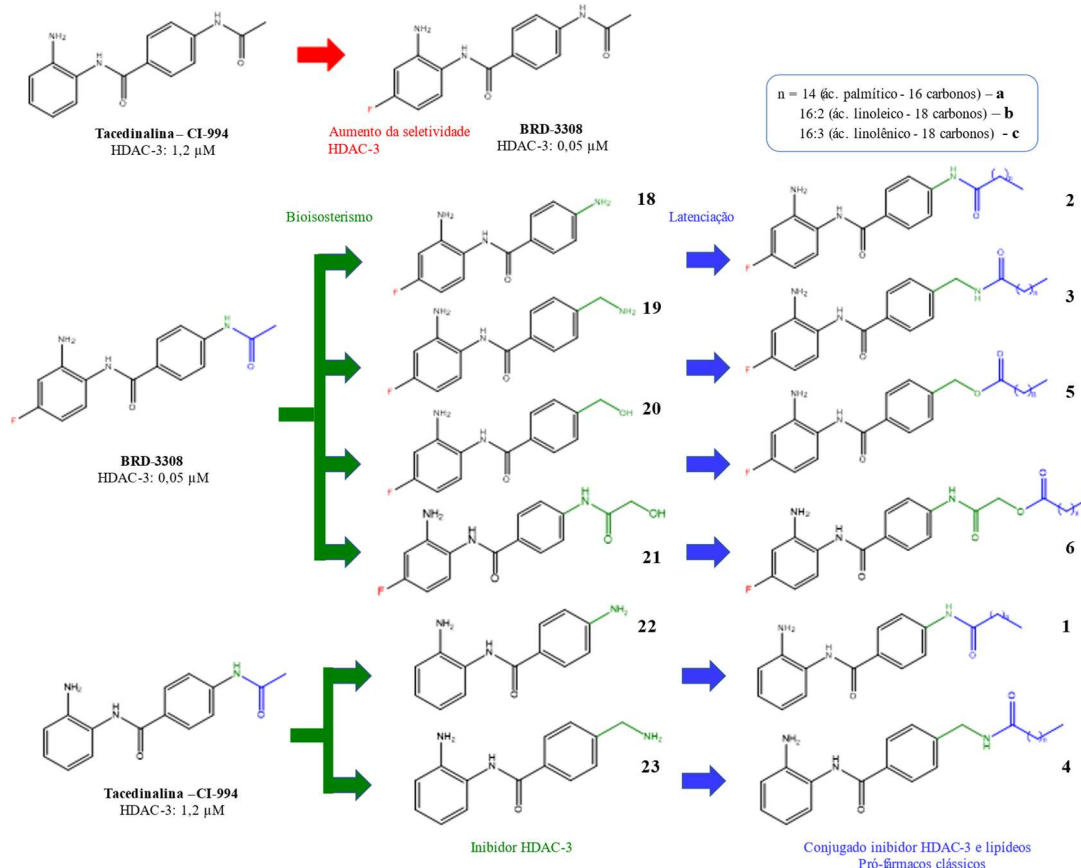
A tacedinalina (CI-994) apresenta valores de IC_{50} de 0,9; 0,9; 1,2 e $>20 \mu M$ para HDACs 1, 2, 3 e 8, respectivamente. A substituição bioisostérica do hidrogênio por flúor levou ao derivado BRD3308 cujos valores de IC_{50} para HDACs 1, 2, 3 e 8 foram de 1,2; 1,3; 0,05 e $>20 \mu M$, respectivamente. A presença do flúor nessa posição confere seletividade à HDAC-3. No processo para caracterização da importância da seletividade entre as isoformas da HDAC para ativação de latência de HIV foi demonstrado que inibidores seletivos HDAC 1 e 2 não demonstraram atividade na ativação do HIV latente (LIU et al., 2020; METHOT et al., 2014; YU et al., 2021). Dessa forma, neste trabalho planejou-se inibidores seletivos HDAC-3 baseados na estrutura do BRD3308 e CI-994 como novos ARL. O desenho dos novos inibidores foi assistido por modelagem molecular a fim de orientar padrões estruturais de substituição mais adequados na interação com o alvo.

Além disso, os novos inibidores HDAC-3 foram conjugados a ácidos graxos comuns da dieta, que agirão como transportadores para direcionar os inibidores ao sistema linfático pelo caminho fisiológico de absorção dos lipídios da dieta pela via intestinal linfática, permitindo maior concentração de ARL nos linfonodos. Ácidos graxos são componentes da dieta conhecidos por melhorar o risco cardio-metabólico e modular as respostas imunológicas, podendo oferecer benefício durante a terapia.

O ácido graxo saturado palmítico é encontrado na dieta (ex. óleo de palma) e produzido endogenamente no organismo, sendo o principal componente das gorduras do leite humano e componente essencial de membranas celulares. Os ácidos graxos poliinsaturados essenciais linoleico (ômega-6; n-6) e linolênico (ômega-3; n-3) só podem ser obtidos pela dieta e são alongados e dessaturados através de vias enzimáticas compartilhadas para produzir ácidos graxos poliinsaturados de cadeia longa (PUFAs) que são cruciais para o crescimento, desenvolvimento e manutenção da homeostase celular. Em estudo entre mulheres grávidas na Tanzânia, níveis mais altos de ácidos graxos n-6 no leite materno foram associados à redução da disseminação do HIV e a um menor risco de transmissão do HIV de mãe para filho (AGOSTONI; MORENO; SHAMIR, 2016; FATTORE; FANELLI, 2013; JAIN et al., 2019; KABAGAMBE et al., 2016; QIN et al., 2021).

Assim, o planejamento estrutural dos novos ARL (Figura 4), consistiu na exploração da cavidade 11 Å pela funcionalização da cadeia lateral do inibidor de HDAC-3 denominado BRD 3308 pela presença de grupo NH_2 e OH. Além disso, também exploramos estes mesmos padrões de substituição para derivados de CI-994 visando a funcionalização da cadeia lateral para ocupar a cavidade 11 Å com a presença do grupo NH_2 . As informações quanto ao padrão de substituição foram identificadas nos estudos de ancoragem molecular. Os grupos funcionais álcool e aminados compostos (**18-23**) foram acoplados com os ácidos graxos dietários a fim de obter os produtos finais (**1-6**) (Figura 4).

Figura 4 - Planejamento estrutural dos conjugados HDAC3i-lipídeos como ARL.



Fonte: autoria própria, 2023.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Planejar e sintetizar potenciais inibidores de histona deacetilase-3 como candidatos a agentes de reversão de latência do HIV, direcionados aos linfonodos, que promovam reativação eficiente para estratégia *'kick and kill'*.

2.2 Objetivos específicos

- Modelagem molecular utilizando a ancoragem molecular para selecionar os análogos de BRD3308 e CI-994 contendo os espaçadores mais adequados para serem utilizados no acoplamento com ácidos graxos.
- Síntese, isolamento, caracterização estrutural por métodos analíticos das moléculas selecionadas.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Modelagem molecular

Os experimentos de ancoragem molecular foram realizados utilizando o software Maestro[®] 2018-4. Para este estudo, as estruturas cristalográficas da HDAC-3 foram obtidas no banco de dados PDB (*Protein Data Bank*), 4A69 com resolução de 2,06 Å para HDAC-3 e, posteriormente, importadas para o software isoladamente, sendo preparadas para o estudo de ancoragem molecular utilizando a função *Protein Preparation Wizard*. O seguinte protocolo foi executado: (i) remoção das moléculas de água; (ii) adição de átomos de hidrogênio; (iii) preenchimento de cadeias laterais incompletas; (iv) minimização de energia utilizando o campo de força OPLS3. A caixa de interação (“grid”) foi definida pelo *Receptor Grid Generation*, com dimensões de 10 Å x 10 Å x 10 Å (SCHRÖDINGER, 2018a, 2018b). Após a conclusão do preparo das proteínas, os ligantes foram desenhados e importados no formato SDF para o software Maestro[®] e foram preparados pela função *Ligand Preparation* (LigPrep), a fim de realizar a minimização de energia utilizando campo de força OPLS3, e obter a simulação dos possíveis estados de ionização em pH 7 ± 2 (SCHRÖDINGER, 2018c). Na função *Glide Ligand Docking* (*Ligand Docking*), inseriu-se como tipo de restrição de receptor, a coordenação com o metal Zn^{2+} , e executou-se o *docking* entre os ligantes preparados e a enzima HDAC-3, com 500 poses em precisão SP (*standart precision*), verificando-se assim, a melhor conformação, *docking score* e as interações em 2D (*Ligand Interaction Diagram panel*) e 3D (SCHRÖDINGER, 2018d).

3.2 Planejamento da metodologia sintética para obtenção dos compostos finais derivados de 2-amino benzamida

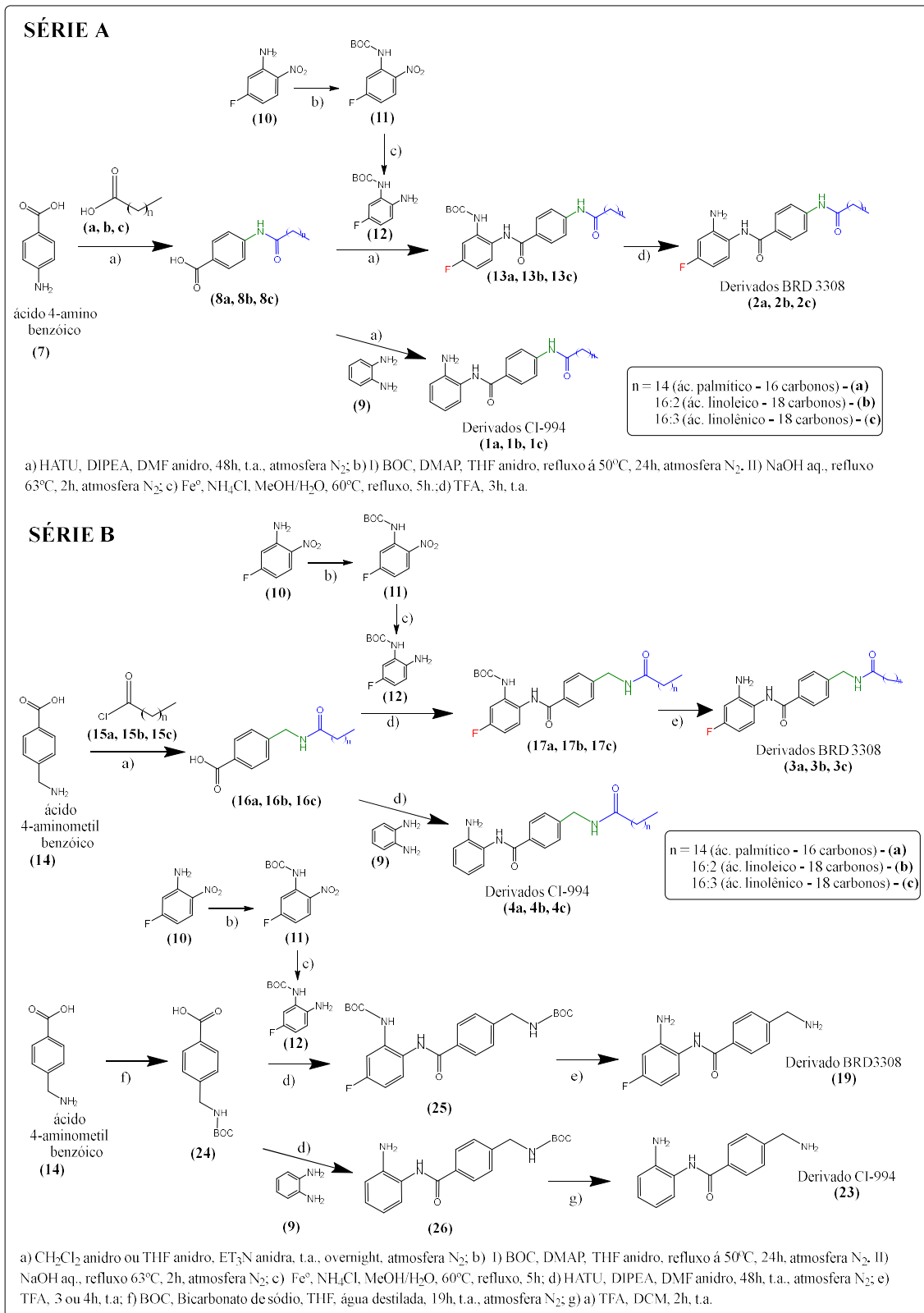
A Figura 5 representa a rota sintética explorada para obtenção dos compostos descritos nessa dissertação. Os produtos finais foram divididos em série A e série B, sendo que ambos apresentam a função amida formada por meio do tratamento dos ácidos graxos com as aminas. A série A consistiu nos compostos finais contendo amina como espaçador ligado ao ácido graxo, enquanto a série B consistiu nos compostos com metil-amina ligada ao ácido graxo (Figura 5). Os compostos (2a) e (2c) da série A, e (1a) e (1c) da série B, já foram sintetizados pelo grupo Lapdesf, entretanto, propôs-se uma otimização da síntese com redução das etapas sintéticas. Tanto a rota A, quanto a rota B exploram a síntese convergente.

A primeira etapa da reação consistiu na obtenção do intermediário amida acoplado aos ácidos graxos obtidos comercialmente. Posteriormente, a função ácido carboxílico foi tratada com as aril-aminas (**9** ou **12**) utilizando o agente acoplante HATU em meio contendo solvente polar aprótico. Para os compostos **13a-c** contendo o grupo protector *Boc*, foi realizado o tratamento com ácido trifluoracético para remoção deste grupo protetor levando aos compostos **2a-c**.

Para os produtos finais da série B que não possuem ácido graxo, isto é, os compostos (**19**) e (**23**), inicialmente tratou-se a função ácido carboxílico do intermediário (**24**) contendo grupo protetor *BOC*, com as aril-aminas (**9** ou **12**) utilizando o acoplante HATU e solvente polar aprótico, para obter os intermediários amidas (**25**) e (**26**). Para os compostos (**25**) e (**26**) contendo o grupo protetor *Boc*, realizou-se o tratamento com ácido trifluoroacético para remoção deste grupo protetor levando aos compostos (**19**) e (**23**).

Baseado nos estudos de ancoragem molecular, neste estudo priorizamos os compostos inéditos da série B, pois estes demonstraram valores de *docking score* mais promissores.

Figura 5 - Planejamento sintético das séries A e B.



Fonte: autoria própria, 2023.

3.3 Caracterização por métodos analíticos

3.3.1. Faixa de Fusão: as faixas de fusão dos compostos foram determinadas em triplicata, sem correção, em aparelho de ponto de fusão capilar *Melting Point Apparatus* SMP3, Stuart Scientific®.

3.3.2. Espectrofotometria de absorção no infravermelho (IV): os espectros de absorção no IV, na região de 4.000 a 400 cm^{-1} , foram obtidos em pastilhas de KBr em um espectrofotômetro IR Prestige-21, Shimadzu®.

3.3.3. Espectrometria de RMN ^1H e RMN ^{13}C : os espectros de RMN ^{13}C e ^1H unidimensionais foram realizados no Instituto de Química (UNESP-Araraquara), utilizando-se um espectrômetro de 600 MHz (^1H) e 150 MHz (^{13}C) - Bruker Avancer III HD 600 (14, 1 T). As amostras foram solubilizadas em DMSO deuterado – D6; composto (3b) utilizou-se CDCl_3 deuterado. A multiplicidade dos sinais foi atribuída como: simpleto (s), duplete (d), duplo duplete (dd), duplo duplo duplete (ddd), duplo duplo duplo duplete (dddd), tripleto (t), triplo duplete (td), triplo tripleto (tt), quadruplete (q), quarteto de duplete (qd), quintuplete (p) multiplete (m).

3.4 Métodos de purificação

3.4.1 Biotage® Isolera™

A purificação dos compostos obtidos foi realizada por meio de cromatografia com o uso do Biotage® Isolera™, utilizando a coluna Biotage® SNAP ULTRA 10g ou 25g (fase estacionária: sílica esférica HP-Sphere 25 μm), por método isocrático ou gradiente utilizando acetato de etila e hexano como eluentes, diferentes fluxos e limites de detecção especificados na metodologia de cada composto, e detecção no comprimento de onda fixo em 254 nm.

3.4.2 Cromatografia de coluna

A purificação dos compostos obtidos foi realizada através de cromatografia em coluna com uso de sílica flash (tamanho de partícula 40-60 μm) como fase estacionária, e fase móvel em modo isocrático utilizando acetato de etila e hexano como eluentes, com altura e diâmetro especificados na metodologia de cada composto.

3.4.2 Cromatografia em camada delgada preparativa

A purificação dos compostos obtidos foi realizada através de cromatografia em coluna com uso de sílica flash (tamanho de partícula 40-60 μm) como fase estacionária, e fase móvel em modo isocrático utilizando acetato de etila e hexano como eluentes, com espaçamento de 0,5 cm entre as amostras e extremidades horizontais, e 1 cm das extremidades verticais. Utilizada somente em compostos com pequenas massas para purificação.

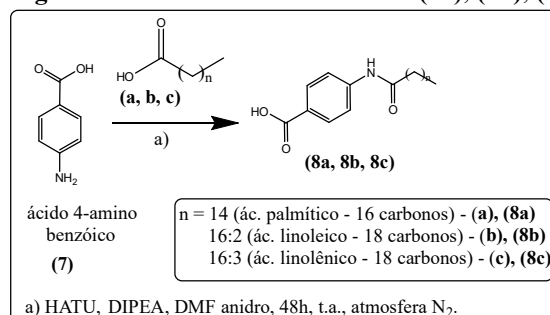
3.5 Metodologia de síntese para obtenção dos compostos

3.5.1 Síntese dos compostos da série A

3.5.1.1 Síntese dos compostos intermediários (8a), (8b) e (8c)

O acoplamento dos ácidos graxos (**a**, **b**, **c**) com o ácido 4-aminobenzóico (**7**) utilizando o HATU como o agente acoplante levou à formação dos intermediários (**8a**), (**8b**), (**8c**), conforme representado na Figura 6. O procedimento geral para preparação destes compostos está descrito a seguir.

Figura 6 - Síntese dos intermediários (**8a**), (**8b**), (**8c**).



Fonte: autoria própria, 2023.

Procedimentos gerais

Em uma solução de 1 eq. mol^{-1} de ácido palmítico (**a**) (2,9 mmol, 740 mg), ou linoleico (**b**) (2,9 mmol, 810 mg, 898 μL), ou ácido linolênico (**c**) (2,9 mmol, 800 mg, 860 μL), em 5 mL DMF anidro adicionou-se 1 eq. mol^{-1} de HATU e 1 eq. mol^{-1} de DIPEA. As reações foram mantidas sob agitação em temperatura ambiente por 30 minutos, em atmosfera inerte de N_2 . Em seguida, adicionou ao meio uma quantidade de 400 mg (2,9 mmol) de ácido 4-aminobenzoico (**7**). As reações foram mantidas por 48h em atmosfera inerte de N_2 . O acompanhamento da reação foi feito por cromatografia em camada delgada (CCD), utilizando eluição (6:4) acetato de etila: hexano como fase móvel e revelação sob luz ultravioleta (254nm) e ninidrina.

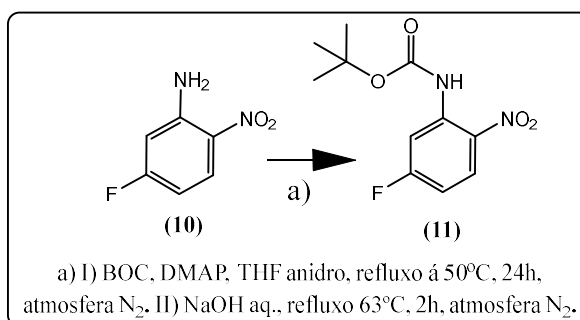
Para o meio reacional contendo como reagente o ácido palmítico (**a**) foi observado formação de precipitado branco, que foi extraído e purificado a vácuo com acetato de etila, levando a formação do um produto puro (**8a**), sólido branco, com 88% de rendimento.

Já o meio reacional contendo os ácidos graxos (**b**) ou (**c**) foi diluído em 60 mL de acetato de etila para extração líquido/líquido. A fase orgânica foi lavada duas vezes com 60 mL de água destilada e com uso de solução saturada de cloreto de sódio (*brine*). Em seguida, a fase orgânica foi seca com sulfato de sódio anidro e filtrada. O solvente orgânico foi evaporado a pressão reduzida e o sólido (*crude*) foi purificado por cromatografia com uso de Biotage® Isolera™, utilizando a coluna BIOTAGE® SNAP ULTRA 25g (HP-Sphere 25 µM), em método isocrático de fase móvel (6:4) acetato de etila: hexano, início do limiar UV (*UV start threshold*) 35 mAU, fluxo 10 mL/min (**8b**) e fluxo de 20 mL/min (**8c**), levando a formação do produto puro (**8b**), sólido branco, ou (**8c**), sólido amarelo claro, com rendimentos de 15% e 16%, respectivamente.

3.5.1.2 Síntese do composto intermediário *tert*-butil (5-fluoro-2-nitrofenil)carbamato - (11) (adaptado de TIAN; XIE; LIAO, 2020).

Para proteção da amina primária do reagente (**10**) ocorreu o tratamento usando di-carbonato de di-*tert*-butila (BOC-anidrido), o que permitiu a obtenção do intermediário (**11**). A Figura 7 representa o método de obtenção do composto (**11**).

Figura 7 - Síntese do intermediário (**11**).



Fonte: autoria própria, 2023.

Procedimento

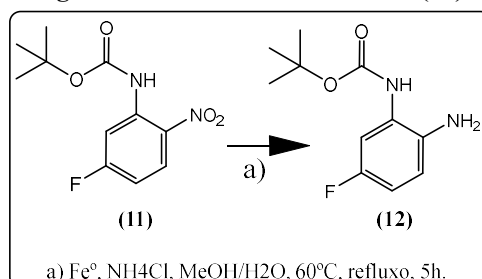
Em uma solução contendo 200 mg de 5-fluoro-2-nitroanilina (**10**) (1,2 mmol), e 1,5 eq. mol⁻¹ de di-carbonato de di-*tert*-butila (BOC) (1,8 mmol, 390 mg, 410 µL) em

10 mL THF anidro adicionou-se 0,2 eq. mol⁻¹ de 4-dimetilaminopiridina (DMAP). A reação permaneceu sob agitação e refluxo a 50°C por 24h em atmosfera inerte N₂. Após, foram adicionados 10 eq. mol⁻¹ de NaOH (12 mmol, 480 mg) diluído em água (2 mL) por 2h a 63°C sob agitação e refluxo em atmosfera N₂. Essa segunda etapa é realizada para remover uma segunda proteção BOC observada. O acompanhamento da reação foi realizado por cromatografia em camada delgada (CCD), utilizando eluição (9:1) hexano: acetato de etila como fase móvel e visualizado sob luz ultravioleta (254 nm). Após reação com a base, o meio reacional foi evaporado a pressão reduzida para eliminação de THF e, em seguida, foi diluído com 60 mL de acetato de etila para extração líquido/líquido. A fase orgânica foi lavada duas vezes com 60 mL de água destilada e com uso de solução de cloreto de sódio saturado (*brine*). A fase orgânica foi seca com sulfato de sódio anidro, e em seguida, filtrada a vácuo. Após evaporação do solvente orgânico, o produto foi purificado por cromatografia com uso de Biotage® Isolera™, utilizando a coluna BIOTAGE® SNAP ULTRA 10g (HP-Sphere 25 μM), fluxo de 18 mL/min, início do limiar UV (*UV start threshold*) 30 mAU, em método isocrático de fase móvel (9:1) hexano: acetato de etila. O produto foi obtido como sólido amarelo com rendimento de 42%.

3.5.1.3 Síntese do composto intermediário *tert*-butil (2-amino-5-fluorofenil)carbamato - (12)

O grupo nitroaromático (11) foi reduzido à respectiva arilamina (12) usando cloreto de amônio e ferro metálico me meio contendo como mistura de solventes água e metanol (Figura 8).

Figura 8 - Síntese do intermediário (12).



Fonte: autoria própria, 2023.

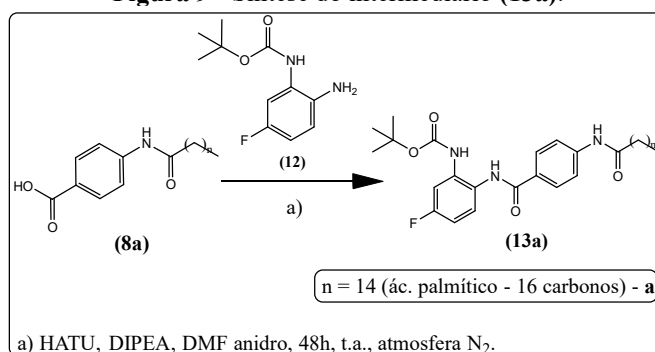
Procedimento

Foi adicionado a um balão conectado ao condensador de refluxo 287 mg (1,12 mmol) de *tert*-butil (5-fluoro-2-nitrofenil)carbamato (**11**), e 4 eq. mol⁻¹ de ferro metálico (Fe⁰) (4,48 mmol, 250 mg), 5 eq. mol⁻¹ de cloreto de amônio (NH₄Cl) e uma mistura de solventes MeOH/H₂O (7:2, 9 mL). A reação permaneceu sob agitação e refluxo a 60°C por 5h. O acompanhamento da reação foi feito por cromatografia em camada delgada (CCD), utilizando como eluição (7:3) hexano: acetato de etila como fase móvel. As CCDs foram observadas sob luz ultravioleta (254nm) e reveladas com ninidrina. Ao término da reação, filtrou-se a vácuo usando celite, para remoção de ferro (0). Em seguida, o meio reacional foi evaporado sob pressão reduzida para eliminação de MeOH e diluído em 60 mL de acetato de etila para extração líquido/líquido. A fase orgânica foi lavada duas vezes com 60 mL de água destilada e com uso de solução de cloreto de sódio saturado (*brine*). A fase orgânica foi seca com sulfato de sódio anidro, e em seguida, filtrada a vácuo (LOPES, 2020). Após evaporação do solvente orgânico, o produto foi purificado por cromatografia com uso de Biotage® Isolera™, utilizando a coluna BIOTAGE® SNAP ULTRA 25g (HP-Sphere 25 µM), em método isocrático de fase móvel (7:3) hexano: acetato de etila, início do limiar UV (*UV start threshold*) 35 mAU, fluxo 20 mL/min. O produto foi obtido como sólido marrom, com 54% de rendimento.

3.5.1.4 Síntese do composto intermediário (13a)

O acoplamento do intermediário (**8a**), derivado do ácido palmítico (**a**), com a arilamina (**12**), foi realizada com uso de agente acoplante HATU em meio contendo dimetilformamida como solvente e DIPEA como base. A reação foi conduzida sob atmosfera de nitrogênio (Figura 9).

Figura 9 - Síntese do intermediário (13a).



Fonte: autoria própria, 2023.

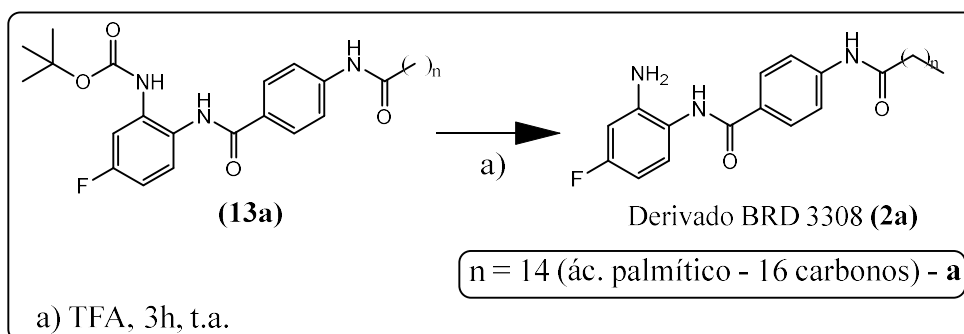
Procedimento

Em um balão de 25 mL foram adicionados 1 eq. mol⁻¹ de intermediário (**8a**) (0,22 mmol, 82 mg), 1 eq. mol⁻¹ de HATU, 1 eq. mol⁻¹ de DIPEA e 3 mL de DMF anidro. A reação foi mantida sob agitação em temperatura ambiente por 30 minutos, em atmosfera inerte de N₂. Em seguida, adicionou-se 50 mg de tert-butil (2-amino-5-fluorofenil)carbamato (**12**) (0,22 mmol). A reação foi mantida sob agitação por 48h em atmosfera inerte de N₂. O acompanhamento da reação foi feito por cromatografia em camada delgada (CCD), utilizando eluição (7:3) hexano: acetato de etila como fase móvel. As CCDs foram observadas sob luz ultravioleta (254nm) e reveladas com ninidrina. Ao término da reação. Após, o meio reacional foi diluído em 60 mL de acetato de etila para extração líquido/líquido. A fase orgânica foi lavada duas vezes com 60 mL de água destilada e com uso de solução de cloreto de sódio saturado (*brine*). A fase orgânica foi seca com sulfato de sódio anidro, e em seguida, filtrada a vácuo. Após evaporação do solvente orgânico, o produto foi purificado por cromatografia com uso de Biotage® Isolera™, utilizando a coluna BIOTAGE® SNAP ULTRA 10g (HP-Sphere 25 μM), em método isocrático de fase móvel (7:3) hexano: acetato de etila, início do limiar UV (*UV start threshold*) 35 mAU, fluxo de 5mL/min. O produto foi obtido como sólido vinho com 26% de rendimento.

3.5.1.5 Síntese do composto final (**2a**)

A remoção do grupo protetor BOC usando ácido trifluoracético (TFA) levou a obtenção do composto final (**2a**) (Figura 10).

Figura 10 - Síntese do composto final (**2a**).



Fonte: autoria própria, 2023.

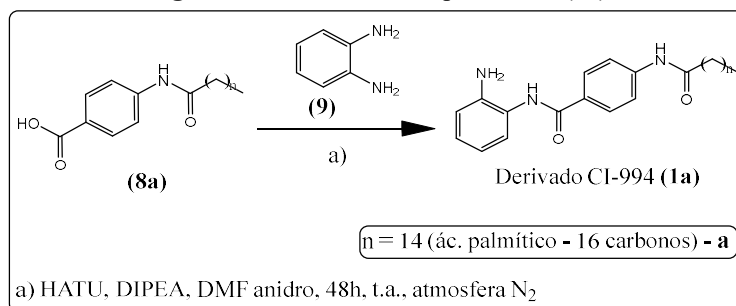
Procedimento

Em um balão de 25 mL foram adicionados 26,7 mg (0,045 mmol) do intermediário (**13a**) e ácido trifluoroacético (TFA), 226 eq. mol⁻¹. A reação foi mantida sob agitação em temperatura ambiente por 3h. O acompanhamento da reação foi feito por cromatografia em camada delgada (CCD), utilizando eluição (6:4) acetato de etila: hexano como fase móvel. As CCDs foram observadas sob luz ultravioleta (254nm) e reveladas com ninidrina. Ao término da reação. Após, o meio reacional foi diluído em 60 mL de acetato de etila para extração líquido/líquido. A fase orgânica foi lavada duas vezes com 60 mL de água destilada e com uso de solução saturada de bicarbonato de sódio para neutralizar o excesso de ácido. A fase orgânica foi seca com sulfato de sódio anidro, e em seguida, filtrada (LOPES, 2020). Após evaporação do solvente orgânico, o produto foi purificado por cromatografia com uso de Biotage® Isolera™, utilizando a coluna BIOTAGE® SNAP ULTRA 10g (HP-Sphere 25 µM), em método isocrático de fase móvel (6:4) acetato de etila: hexano, início do limiar UV (*UV start threshold*) 2mA, fluxo de 4mL/min. O produto foi obtido como sólido laranja claro, com 24% de rendimento. O rendimento global foi de 3% obtido pela multiplicação dos rendimentos parciais de cada etapa.

3.5.1.6 Síntese do composto final (**1a**)

O acoplamento do reagente *o*-fenilenodiamina (**9**), com o intermediário (**8a**), derivado do ácido palmítico (**a**), foi realizada com uso de agente acoplante HATU em meio contendo dimetilformamida como solvente e DIPEA como base. A reação foi conduzida sob atmosfera de nitrogênio levando a formação do composto **1a** (Figura 11).

Figura 11 - Síntese do composto final (1a**).**



Fonte: autoria própria, 2023.

Procedimento

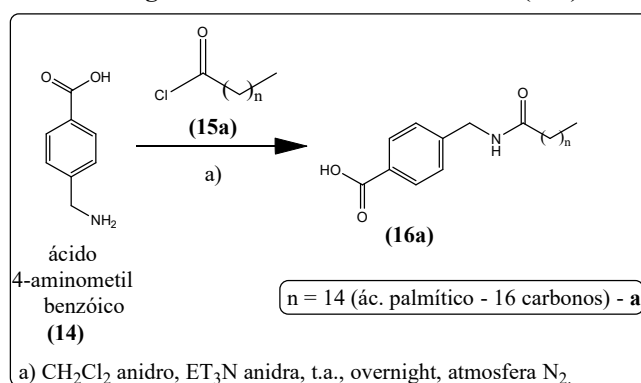
Em um balão de 25 mL foram adicionados 1 eq. mol⁻¹ de intermediário **(8a)** (0,46 mmol, 170 mg), 1 eq. mol⁻¹ de HATU, 3 mL de DMF anidro e 1 eq. mol⁻¹ de DIPEA. A reação foi mantida sob agitação em temperatura ambiente por 30 minutos, em atmosfera inerte de N₂. Em seguida, adicionou-se 50 mg (0,46 mmol) de *o*-fenilenodiamina **(9)**. A reação foi mantida sob agitação por 48h em atmosfera inerte de N₂. O acompanhamento da reação foi feito por cromatografia em camada delgada (CCD), utilizando eluição (7:3) acetato de etila: hexano como fase móvel. As CCDs foram observadas sob luz ultravioleta (254nm) e reveladas com ninidrina. Ao término da reação. Após, o meio reacional foi diluído em 60 mL de acetato de etila para extração líquido/líquido. A fase orgânica foi lavada duas vezes com 60 mL de água destilada e com uso de solução de cloreto de sódio saturado (*brine*). A fase orgânica foi seca com sulfato de sódio anidro, e em seguida, filtrada a vácuo. Após evaporação do solvente orgânico, o produto foi purificado por cromatografia de coluna de bancada de 17 cm de altura e 3 cm de diâmetro, em método isocrático de fase móvel (7:3) acetato de etila: hexano, levando a formação de um produto sólido de cor bege com 16% de rendimento. O rendimento global foi de 14%.

3.5.2 Síntese dos compostos da série B

3.5.2.1 Síntese do composto intermediário (16a)

O acoplamento do cloreto de palmitoila **(15a)** obtido comercialmente com o reagente ácido 4-(aminometil)benzóico **(14)**, em meio reacional contendo como solvente diclorometano anidro e trietilamina. A reação foi conduzida sob atmosfera de nitrogênio levando a formação do composto **(16a)** (Figura 12).

Figura 12 - Síntese do intermediário **(16a)**.



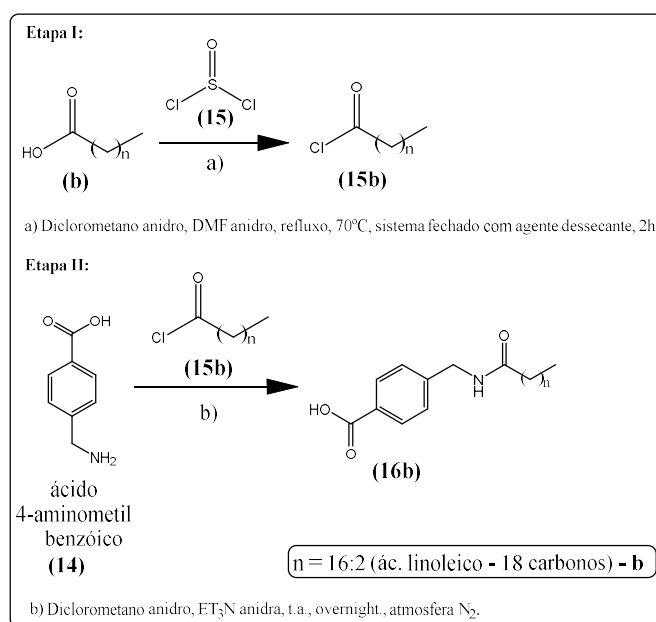
Fonte: autoria própria, 2023.

Procedimento

Em um balão de 25 mL resfriado em banho de gelo e contendo 2 mL de diclorometano anidro foram adicionados 1 eq. mol⁻¹ de ácido 4-(aminometil) benzóico (**14**) (0,3 mmol, 82,4 mg) 2 eq. mol⁻¹ de trietilamina e 92 µL cloreto de palmitoíla (83 mg; 0,3 mmol) (**15a**). A reação foi mantida sob agitação, em temperatura ambiente, overnight (8h) em atmosfera inerte de N₂. O acompanhamento da reação foi feito por cromatografia em camada delgada (CCD), utilizando eluição (6:4) hexano: acetato de etila como fase móvel. As CCDs foram observadas sob luz ultravioleta (254nm) e reveladas com ninidrina. Após, o meio reacional foi diluído em 60 mL de acetato de etila para extração líquido/líquido. A fase orgânica foi lavada duas vezes com 40 mL de solução saturada de cloreto de amônio (NH₄Cl), uso de 30 mL de *brine* e seca com sulfato de sódio anidro. Em seguida, foi filtrada (REN et al., 2017). Após evaporação do solvente orgânico, o produto foi purificado por cromatografia com uso de Biotage® Isolera™, utilizando a coluna BIOTAGE® SNAP ULTRA 10g (HP-Sphere 25 µM), em método gradiente, com as fases móveis (6:4) hexano: acetato de etila (3 CV), (5:5) hexano: acetato de etila (5 CV) e (6:4) acetato de etila: hexano (8 CV), fluxo de 5mL/min., início do limiar UV (*UV start threshold*) 2 mAU. O produto foi obtido como sólido branco, com 11% de rendimento.

3.5.2.2 Síntese dos compostos intermediários (15b) e (16b)

Explorando o acoplamento por meio de reações *one pot*, foi utilizado como reagentes o ácido graxo linoleico (**b**), que foi convertido ao respectivo cloreto de acila (**15b**) (etapa I) (Figura 13). O acoplamento de (**15b**) com o reagente ácido 4-(aminometil) benzoico (**14**), foi conduzido em meio reacional contendo como solvente diclorometano anidro e trietilamina. A reação foi realizada sob atmosfera de nitrogênio levando a formação do composto (**16b**) (Figura 13).

Figura 13 - Síntese do intermediário (16b).

Fonte: autoria própria, 2023.

Procedimento

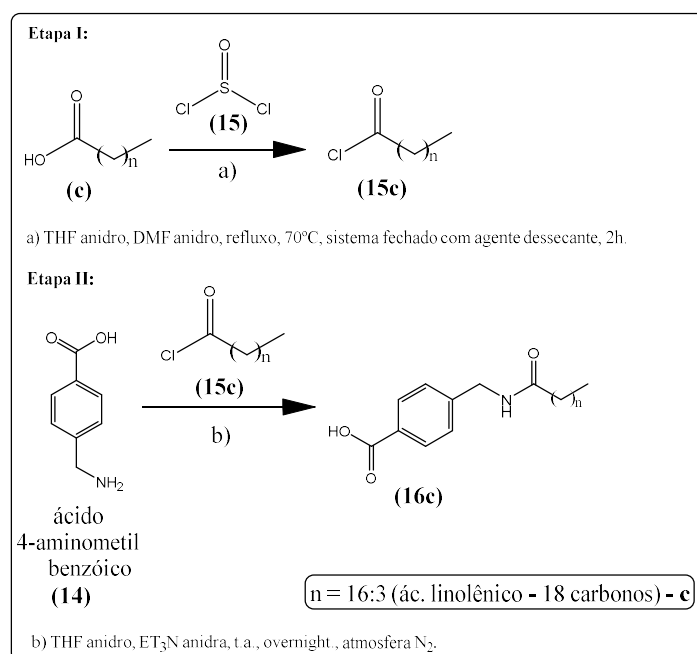
Para etapa I, em um balão de 25 mL conectado a um condensado de refluxo foram adicionados 227 μL de ácido linoleico (200 mg; 0,71 mmol) **(c)**, 2 mL de diclorometano anidro, 3 gotas de DMF anidro e 2 eq. mol^{-1} de cloreto de tionila **(15)**. A reação foi mantida sob agitação, em refluxo a 70°C por 2h, em sistema fechado com sílica gel como agente dessecante para evitar umidade (PATRA et al., 2016). Após (etapa II), foi adicionado ao meio gota a gota em banho de gelo uma mistura contendo 1 eq. mol^{-1} ácido 4-(aminometil) benzóico **(14)** (0,71 mmol, 100 mg), 2mL de diclorometano anidro e 2 eq. mol^{-1} de trietilamina. A reação foi mantida sob agitação, em temperatura ambiente, *overnight* (8h), em atmosfera inerte de N_2 (REN et al., 2017). O acompanhamento da reação foi feito por cromatografia em camada delgada (CCD), utilizando eluição (5:5) hexano: acetato de etila como fase móvel. As CCDs foram observadas sob luz ultravioleta (254nm) e reveladas com ninidrina. Após, o meio reacional foi diluído em 30 mL de solução saturada de cloreto de amônio (NH_4Cl), para extração líquido/líquido. A fase aquosa foi lavada três vezes com 10 mL de acetato de etila, uso de *brine* e seca com sulfato de sódio anidro. Em seguida, foi filtrada. Após evaporação do solvente orgânico, o produto foi purificado por cromatografia com uso de Biotage® Isolera™, utilizando a coluna BIOTAGE® SNAP ULTRA 10g (HP-Sphere 25 μM), em método isocrático, com a fases móvel (6:4) hexano: acetato de etila,

fluxo de 5mL/min., início do limiar UV (*UV start threshold*) 20 mAU. O produto foi obtido como sólido amarelo claro, com 23% de rendimento.

3.5.2.3 Síntese dos compostos intermediários (15c) e (16c)

Explorando o acoplamento por meio de reações *one pot*, foi utilizado como reagentes os ácido graxo linolênico (**c**), que foi convertido ao respectivo cloreto de acila (**15c**) (etapa I) (Figura 14). O acoplamento de (**15c**) com o reagente ácido 4-(aminometil) benzoico (**14**), foi conduzido em meio reacional contendo como solvente tetraidrofurano anidro e trietilamina. A reação foi realizada sob atmosfera de nitrogênio levando a formação do composto (**16c**) (Figura 14).

Figura 14 - Síntese do intermediário (16c).



Fonte: autoria própria, 2023.

Procedimento

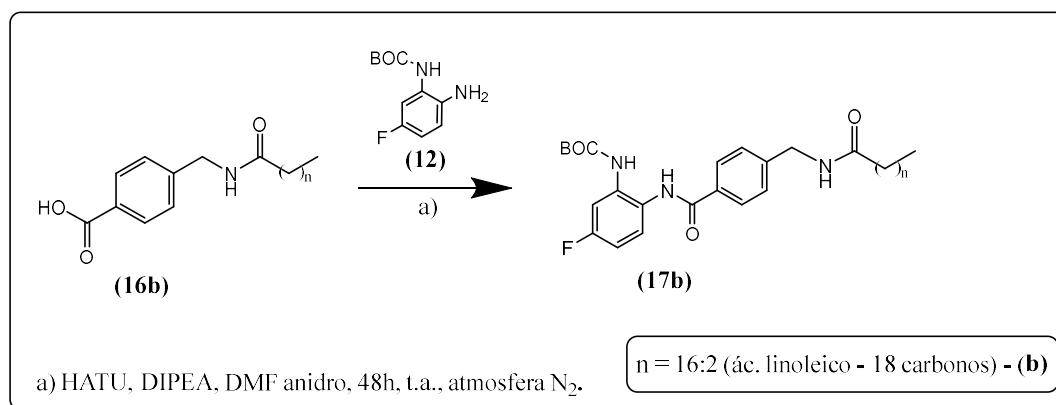
Para etapa I, em um balão de 25 mL conectado a um condensado de refluxo foram adicionados 217 µL de ácido linolênico (200 mg; 0,71 mmol) (**c**), 3 mL de THF anidro, 3 gotas de DMF anidro e 2 eq. mol⁻¹ de cloreto de tionila (**15**). A reação foi mantida sob agitação, em refluxo a 70°C por 2h, em sistema fechado com sílica gel como agente dessecante para evitar umidade (PATRA et al., 2016). Após (etapa II) foi adicionado ao meio gota a gota em banho de gelo uma mistura contendo 1 eq. mol⁻¹ ácido 4-(aminometil) benzoico (**14**) (0,71 mmol, 108,5 mg), 2mL de THF anidro e 8 eq. mol⁻¹ de trietilamina. A reação foi mantida sob agitação, em temperatura ambiente,

overnight (8h), em atmosfera inerte de N₂ (REN et al., 2017). O acompanhamento da reação foi feito por cromatografia em camada delgada (CCD), utilizando eluição (5:5) hexano: acetato de etila como fase móvel. As CCDs foram observadas sob luz ultravioleta (254nm) e reveladas com ninidrina. Ao término da reação o meio reacional foi diluído em 20 mL de acetato de etila para extração líquido/líquido. A fase orgânica foi lavada duas vezes com 60 mL de água destilada e HCl 37% para ajustar para pH ácido (pH 4-6), uso de 30 mL de solução saturada de cloreto de sódio (*brine*) e seca com sulfato de sódio anidro. Em seguida, foi filtrada a vácuo. Após evaporação do solvente orgânico, o produto foi purificado por cromatografia com uso de Biotage® Isolera™, utilizando a coluna BIOTAGE® SNAP ULTRA 10g (HP-Sphere 25 µM), em método isocrático, com as fases móveis (5:5) hexano: acetato de etila, início do limiar UV (*UV start threshold*) 20 mAU, fluxo de 5mL/min., O produto foi obtido como sólido branco com 4% de rendimento.

3.5.2.4 Síntese do composto intermediário (17b)

O acoplamento do intermediário (17b), derivado do ácido linoleico (b), com a arilamina (12), foi realizado com uso de agente acoplante HATU em meio contendo dimetilformamida como solvente e DIPEA como base. A reação foi conduzida sob atmosfera de nitrogênio (Figura 15).

Figura 15 - Síntese do intermediário (17b).



Fonte: autoria própria, 2023.

Procedimento

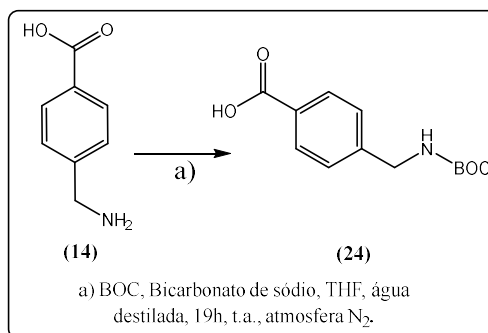
Em um balão de 10 mL foram adicionados 92 mg (0,40 mmol) de intermediário (16b), 1 eq. mol⁻¹ de HATU (155,2 mg), 1 eq. mol⁻¹ de DIPEA (70 µL) e 3 mL de DMF anidro. A reação foi mantida sob agitação em temperatura ambiente por 30 minutos, em

atmosfera inerte de N₂. Em seguida, adicionou-se 1 eq. mol⁻¹ de tert-butil (2-amino-5-fluorofenil)carbamato (**12**) (169 mg). A reação foi mantida sob agitação por 48h em atmosfera inerte de N₂. O acompanhamento da reação foi feito por cromatografia em camada delgada (CCD), utilizando eluição (5:5) hexano: acetato de etila como fase móvel. As CCDs foram observadas sob luz ultravioleta (254nm) e reveladas com ninidrina. Ao término da reação. Após, o meio reacional foi diluído em 60 mL de acetato de etila para extração líquido/líquido. A fase orgânica foi lavada duas vezes com 60 mL de água destilada e com uso de solução de cloreto de sódio saturado (*brine*). A fase orgânica foi seca com sulfato de sódio anidro, e em seguida, filtrada. Após evaporação do solvente orgânico, o produto foi purificado por cromatografia de coluna, em método isocrático de fase móvel (6:4) hexano: acetato de etila, altura de 15cm com diâmetro de 2,8 cm. O produto foi obtido como sólido marrom escuro com 42% de rendimento.

3.5.2.5 Síntese do composto intermediário (**24**) - 4-(((tert-butoxicarbonil)amino)metil) ácido benzoico

Para proteção da amina primária do reagente (**14**) ocorreu o tratamento usando di-carbonato de di-terc-butila (BOC-anidrido), o que permitiu a obtenção do intermediário (**24**). A Figura 16 representa o método de obtenção do composto (**24**).

Figura 16 - Síntese do intermediário (24**).**



Fonte: autoria própria, 2023.

Procedimento

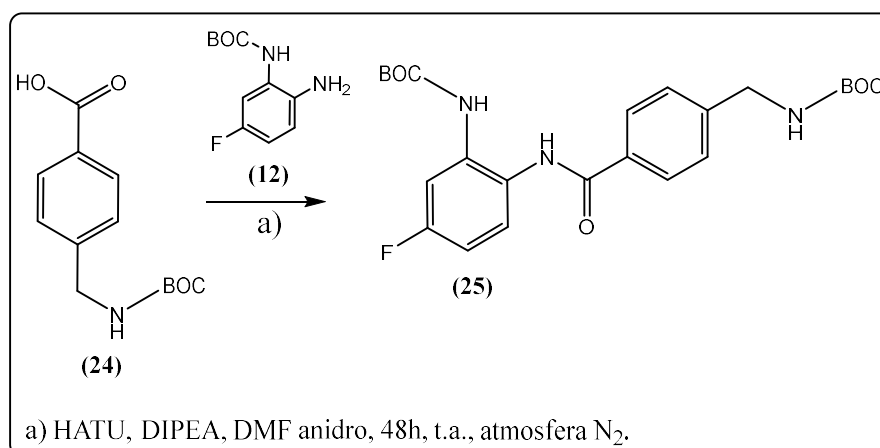
Em um balão de 10 mL adicionou-se 400 mg ácido 4-(aminometil) benzóico (**14**) (2,64 mmol) em uma solução contendo THF e água destilada (1:1) e 3 eq. mol⁻¹ de bicarbonato de sódio (667 mg, 7,93 mmol) solubilizado em água destilada (500-1000 µL), em temperatura ambiente e atmosfera inerte N₂ por 30 minutos. Após, foi

adicionado no mesmo sistema reacional 2 eq. mol⁻¹ de BOC-anidrido (5,29 mmol, 1,15 g, 1,2 mL), por 19h (*overnight*). O acompanhamento da reação foi realizado por cromatografia em camada delgada (CCD), utilizando eluição (7:3) acetato de etila: hexano como fase móvel e visualizado sob luz ultravioleta (254 nm). Em seguida, adicionou-se HCl 1M ao meio reacional até que alcançasse pH 3 e ocorresse a separação de fases. A fase aquosa ácida foi lavada três vezes com 30 mL de acetato de etila. Após, a fase orgânica foi seca com sulfato de sódio anidro e filtrada (GAWEL et al., 2020). Após evaporação do solvente orgânico, o produto foi purificado por cromatografia de coluna com altura de 15 cm e diâmetro de 9,4 cm, com uso de fase móvel (7:3) acetato de etila: hexano. O produto foi obtido como sólido branco com rendimento de 50%.

3.5.2.6 Síntese do composto intermediário (25)

O acoplamento do intermediário (24), com a arilamina (12), foi realizado com uso de agente acoplante HATU em meio contendo dimetilformamida como solvente e DIPEA como base. A reação foi conduzida sob atmosfera de nitrogênio (Figura 17).

Figura 17 - Síntese do composto intermediário (25).



Fonte: autoria própria, 2023.

Procedimento

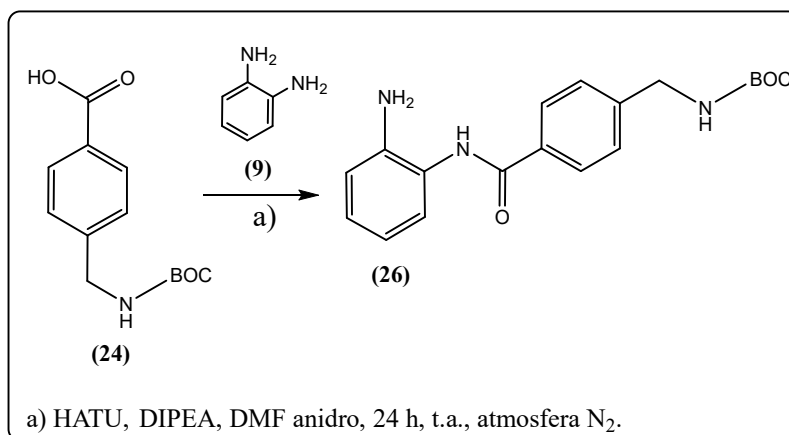
Em um balão de 10 mL foram adicionados 29,2 mg (0,11 mmol) de intermediário (24), 1 eq. mol⁻¹ de HATU (44,3 mg), 1 eq. mol⁻¹ de DIPEA (20,2 μL) e 3 mL de DMF anidro. A reação foi mantida sob agitação em temperatura ambiente por 30 minutos, em atmosfera inerte de N₂. Em seguida, adicionou-se 1 eq. mol⁻¹ de tert-butil (2-amino-5-fluorofenil)carbamato (12) (48,2 mg) e 1 mL de DMF. A reação foi mantida sob agitação por 48h em atmosfera inerte de N₂. O acompanhamento da reação foi feito por cromatografia em camada delgada (CCD), utilizando eluição (5:5) hexano: acetato

de etila como fase móvel. As CCDs foram observadas sob luz ultravioleta (254nm) e reveladas com ninidrina. Ao término da reação. Após, o meio reacional foi diluído em 30 mL de acetato de etila para extração líquido/líquido. A fase orgânica foi lavada duas vezes com 30 mL de água destilada e com uso de solução de cloreto de sódio saturado (*brine*). A fase orgânica foi seca com sulfato de sódio anidro, e em seguida, filtrada. Após evaporação do solvente orgânico, o produto foi purificado por cromatografia de coluna, em método isocrático de fase móvel (7:3) hexano: acetato de etila, altura de 15cm com diâmetro de 2,5 cm. O produto foi obtido como semi-sólido marrom escuro com 61% de rendimento.

3.5.2.7 Síntese do composto intermediário (26)

O acoplamento do intermediário (24), com o reagente *o*-fenilenodiamina (9), foi realizado com uso de agente acoplante HATU em meio contendo dimetilformamida como solvente e DIPEA como base. A reação foi conduzida sob atmosfera de nitrogênio (Figura 18).

Figura 18 - Síntese do intermediário (26).



Fonte: autoria própria, 2023.

Procedimento

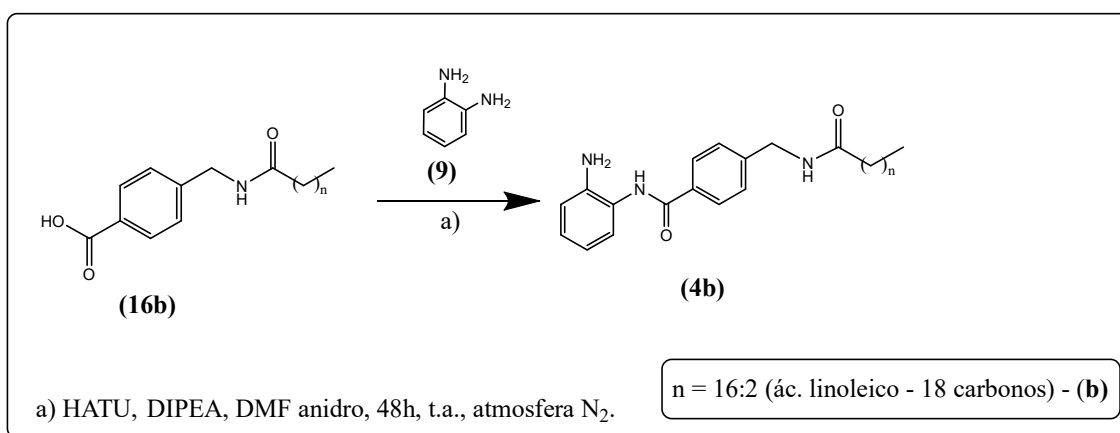
Em um balão de 10 mL foram adicionados 200 mg (0,79 mmol) de intermediário (24), 1 eq. mol⁻¹ de HATU (300 mg), 1 eq. mol⁻¹ de DIPEA (138,6 µL) e 3 mL de DMF anidro. A reação foi mantida sob agitação em temperatura ambiente por 30 minutos, em atmosfera inerte de N₂. Em seguida, adicionou-se 1,4 eq. mol⁻¹ de *o*-fenilenodiamina (9) (120 mg; 0,79 mmol) e 1 mL de DMF. A reação foi mantida sob agitação por 24h em atmosfera inerte de N₂ (GRIGG; INMAN; PACKHAM, 2013). O acompanhamento da reação foi feito por cromatografia em camada delgada (CCD), utilizando eluição (5:5)

hexano: acetato de etila como fase móvel. As CCDs foram observadas sob luz ultravioleta (254nm) e reveladas com ninidrina. Ao término da reação, o meio reacional foi diluído em 30 mL de acetato de etila para extração líquido/líquido. A fase orgânica foi lavada duas vezes com 30 mL de água destilada e com uso de solução de cloreto de sódio saturado (*brine*). A fase orgânica foi seca com sulfato de sódio anidro, e em seguida, filtrada. Após evaporação do solvente orgânico, o produto foi purificado por cromatografia de coluna, em método isocrático de fase móvel (7:3) acetato de etila: hexano, altura de 20 cm com diâmetro de 5 cm. O produto foi obtido como sólido amarelo claro com 88% de rendimento.

3.5.2.8 Síntese do composto final (4b)

O acoplamento do reagente o-fenilenodiamina (**9**), com o intermediário (**16b**), derivado do ácido linoleico (**b**), foi realizada com uso de agente acoplante HATU em meio contendo dimetilformamida como solvente e DIPEA como base. A reação foi conduzida sob atmosfera de nitrogênio levando a formação do composto **4b** (Figura 19).

Figura 19 - Síntese do composto final (**4b**).



Fonte: autoria própria, 2023.

Procedimento

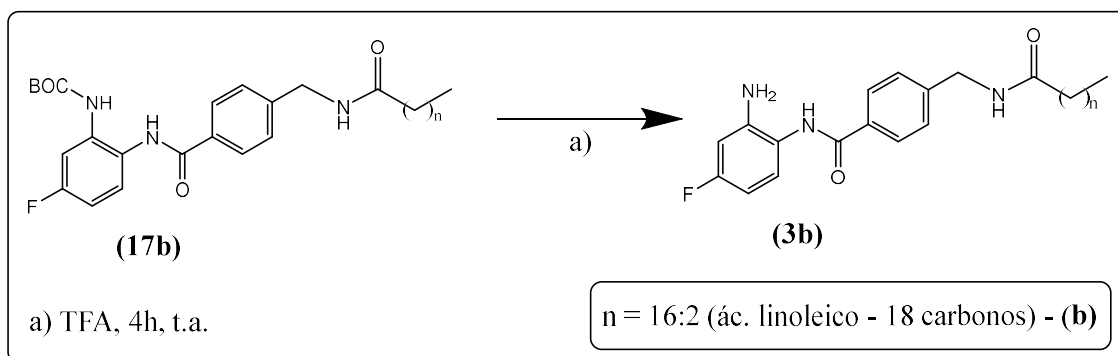
Em um balão de 10 mL foram adicionados **9b**, 2 mg (0,40 mmol) de intermediário (**16b**), 1 eq. mol⁻¹ de HATU (154,7 mg), 1 eq. mol⁻¹ de DIPEA (71 µL) e 3 mL de DMF anidro. A reação foi mantida sob agitação em temperatura ambiente por 30 minutos, em atmosfera inerte de N₂. Em seguida, adicionou-se 1,4 eq. mol⁻¹ de o-fenilenodiamina (**9**), (0, 56 mmol; 61, 6 mg). A reação foi mantida sob agitação por 48h em atmosfera inerte de N₂ (GRIGG; INMAN; PACKHAM, 2013). O acompanhamento

da reação foi feito por cromatografia em camada delgada (CCD), utilizando eluição (5:5) hexano: acetato de etila como fase móvel. As CCDs foram observadas sob luz ultravioleta (254nm) e reveladas com ninidrina. Ao término da reação o meio reacional foi diluído em 30 mL de acetato de etila para extração líquido/líquido. A fase orgânica foi lavada três vezes com 30 mL de água destilada e com uso de solução de cloreto de sódio saturado (*brine*). A fase orgânica foi seca com sulfato de sódio anidro, e em seguida, filtrada. Após evaporação do solvente orgânico, o produto foi purificado por cromatografia de coluna, em método isocrático de fase móvel (9:1) acetato de etila: hexano, com altura de 20 cm e diâmetro de 5 cm. O produto foi obtido como sólido laranja claro com 27% de rendimento. O rendimento global foi de 6%.

3.5.2.9 Síntese do composto final (3b)

A remoção do grupo protetor BOC usando ácido trifluoroacético (TFA) levou a obtenção do composto final (3a) (Figura 20).

Figura 20 - Síntese do composto final (3b).



Fonte: autoria própria, 2023.

Procedimento

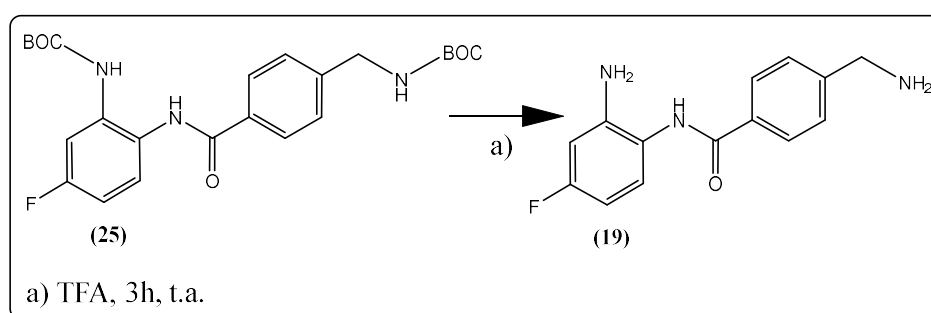
Em um balão de 10 mL foram adicionados 66,6 mg (0,10 mmol) do intermediário (17b) e ácido trifluoroacético (TFA), 226 eq. mol⁻¹. A reação foi mantida sob agitação em temperatura ambiente por 3h. O acompanhamento da reação foi feito por cromatografia em camada delgada (CCD), utilizando eluição (5:5) acetato de etila: hexano como fase móvel. As CCDs foram observadas sob luz ultravioleta (254nm) e reveladas com ninidrina (LOPES, 2020). Ao término da reação. Após, o meio reacional foi diluído em 30 mL de acetato de etila para extração líquido/líquido. A fase orgânica foi lavada três vezes com 30 mL de solução saturada de bicarbonato de sódio para

neutralizar o excesso de ácido. A fase orgânica foi seca com sulfato de sódio anidro, e em seguida, filtrada. Após evaporação do solvente orgânico, o produto foi purificado por cromatografia em camada delgada preparativa, em método isocrático de fase móvel (7:3) acetato de etila: hexano. O produto foi obtido como sólido amarelo claro, com 32% de rendimento. O rendimento global foi de 2%.

3.5.2.10 Síntese do composto final (19)

A remoção do grupo protetor BOC usando ácido trifluoracético (TFA) levou a obtenção do composto final (19) (Figura 21).

Figura 21 - Síntese do composto final (19).



Fonte: autoria própria, 2023.

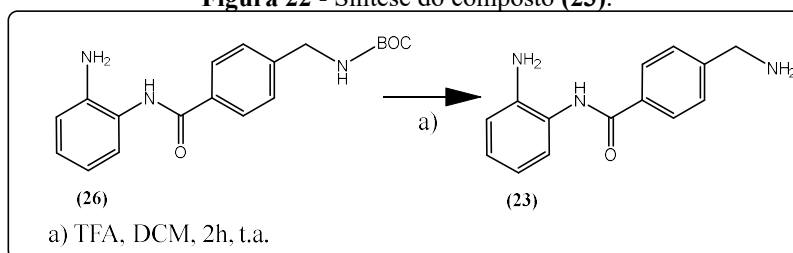
Procedimento

Em um balão de 5 mL foram adicionados 22 mg (0,049 mmol) do intermediário (25) e ácido trifluoroacético (TFA), 226 eq. mol⁻¹. A reação foi mantida sob agitação em temperatura ambiente por 3h. O acompanhamento da reação foi feito por cromatografia em camada delgada (CCD), utilizando eluição (7:3) hexano: acetato de etila como fase móvel. As CCDs foram observadas sob luz ultravioleta (254nm) e reveladas com ninidrina (LOPES, 2020). Após, o meio reacional foi diluído em 30 mL de acetato de etila para extração líquido/líquido. A fase orgânica foi lavada duas vezes com 30 mL de solução saturada de bicarbonato de sódio para neutralizar o excesso de ácido. A fase orgânica foi seca com sulfato de sódio anidro, e em seguida, filtrada. O produto foi obtido como semi-sólido marrom escuro, com 60% de rendimento. O rendimento global foi de 10%.

3.5.2.11 Síntese do composto final (23)

A remoção do grupo protetor BOC usando ácido trifluoracético (TFA) levou a obtenção do composto final (23) (Figura 22).

Figura 22 - Síntese do composto (23).



Fonte: autoria própria, 2023.

Procedimento

Em um balão de 10 mL foram adicionados 100 mg (0,29 mmol) do intermediário (26) e 1 mL de diclorometano em banho de gelo. Em seguida adicionou-se ácido trifluoroacético (TFA), 22,2 eq. mol⁻¹ mantendo-se em banho de gelo por 15 minutos. A reação foi mantida sob agitação em temperatura ambiente por 2h (GRIGG; INMAN; PACKHAM, 2013). O acompanhamento da reação foi feito por cromatografia em camada delgada (CCD), utilizando eluição (7:3) acetato de etila: hexano como fase móvel. As CCDs foram observadas sob luz ultravioleta (254nm) e reveladas com ninidrina. Após, o meio reacional foi diluído em 30 mL de diclorometano para extração líquido/líquido. A fase orgânica foi lavada duas vezes com 30 mL de solução saturada de bicarbonato de sódio para neutralizar o excesso de ácido. A fase orgânica foi seca com sulfato de sódio anidro, e em seguida, filtrada. O produto foi obtido como sólido amarelo claro, com 33% de rendimento. O rendimento global foi de 15%.

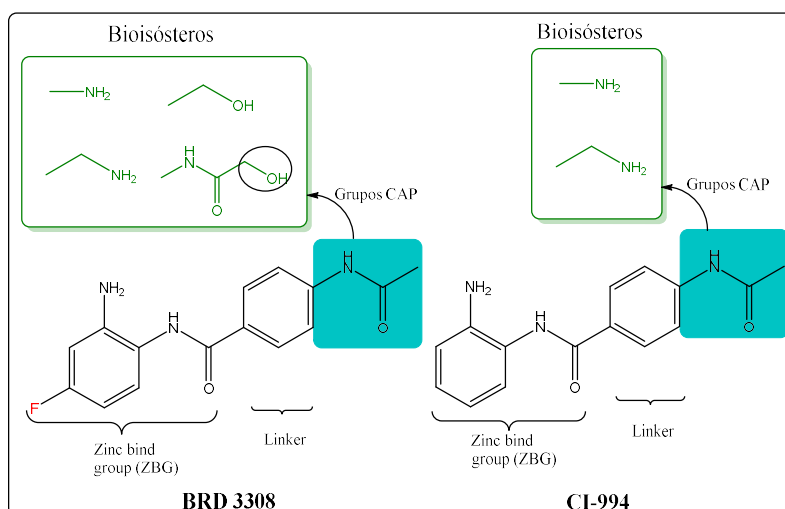
4. RESULTADOS E DISCUSSÕES

4.1 Modelagem molecular

O processo de ancoragem molecular “*docking*” envolve a predição da conformação e orientação do ligante (ou posicionamento) dentro de um determinado sítio de ligação. Neste âmbito, a função *docking score* é fundamental, auxiliando o software de *docking* a explorar eficientemente a distância de ligação de um ligante. Ademais, pode estimar por funções de ranqueamento e as forças envolvidas na interação ligante-alvo (CHENG et al., 2012; GARCÍA-ORTEGÓN et al., 2022; KITCHEN et al., 2004).

Os compostos planejados, com as respectivas modificações, podem ser vistos na Figura 23.

Figura 23 - Substituições moleculares para ancoragem molecular.



Fonte: autoria própria, 2023.

Um inibidor de HDAC-3 contém três subunidades farmacofóricas: 1) grupos de ligação ao zinco (*zinc binding group* - ZBG), que está localizado no sítio de ligação das HDAC classe 1, onde os mais fortes são o ácido hidroxâmico e as benzamidas ou o-aminoanilidas; (2) espaçadores (*linkers*) ligados ao ZBG e que estão atrelados à uma cavidade hidrofóbica que mimetiza a cadeia lateral da lisina; (3) e um grupo de reconhecimento de superfície hidrofóbica, chamado *cap*, que interage com o sítio de ligação da superfície externa da enzima. Conforme pode-se observar na Figura 23, neste trabalho explorou-se o grupo benzamida como ZBG, um grupo aril como *linker* e diferentes grupos caps visando a atividade inibitória da HDAC-3 (SARKAR et al., 2020).

Os *dockings scores* variaram entre -6 a -9 Kcal/mol, como pode ser visto na Tabela 1. Entre os compostos mais promissores nos estudos de ancoragem podemos destacar o composto **(22)** (DS: -9,566 Kcal/mol), e o composto **(20)** (DS: -9,208 Kcal/mol). Os compostos **(22)** e **(20)** apresentaram-se com valores aparentemente mais promissores que os compostos padrões CI-994 (DS: -9,013 Kcal/mol), e BRD 3308 (DS: -8,850 Kcal/mol) (Tabela 1).

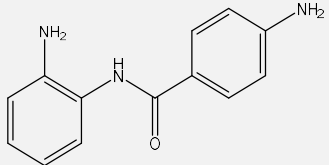
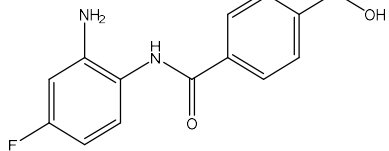
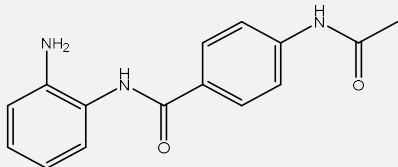
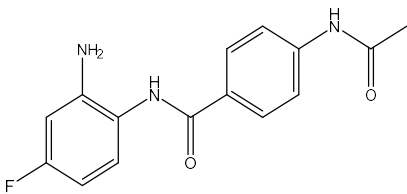
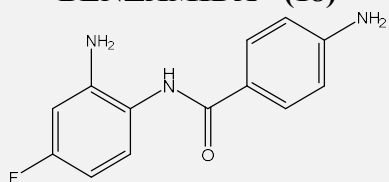
Dados da literatura sugerem que a substituição do hidrogênio pelo flúor em posição *para* do grupamento benzamida do composto CI-994, promove maior seletividade para a HDAC-3. Routholla et al., 2021, realizaram a ancoragem molecular com a molécula CI-994 e derivados, utilizando o software Maestro em precisão extra (XP – *extra precision*), onde o CI-994 mostrou um glide score de -5,977 Kcal/mol. Nos estudos de inibição enzimática contra HDAC-3 foi encontrado valor de $IC_{50} = 0.902 \mu M$ usando células HeLa (ROUTHOLLA et al., 2021). Assim, todos compostos testados com *glide scores* (*docking scores*) em SP, apesar de não comparáveis a precisão XP, mostraram valores mais negativos que o CI-994 da literatura, mostrando encaixe favorável no sítio ativo da enzima e probabilidade de inibição da enzima.

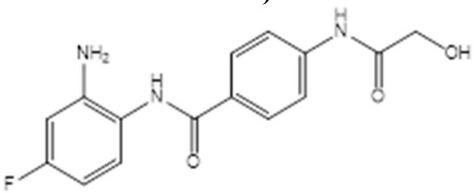
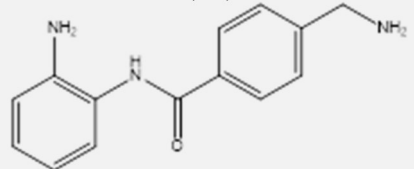
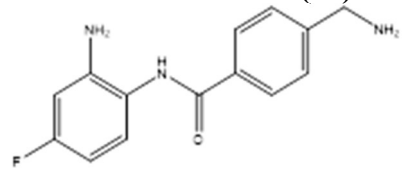
Ao contrário da HDAC-1 e 2, a HDAC-3 não possui uma cavidade interna de 14 Å e possui uma tirosina 107 no lugar da serina 118 neste domínio de ligação catalítica. Esta tirosina causa impedimento estérico ao bolsão de 14 Å, e induz o rotâmero de Leu 133 de HDAC-3 a ser 0,73 Å deslocado em relação a posição semelhante de Leu 144 na HDAC-2. Assim, limita os graus de liberdade rotacionais da cadeia lateral de isobutil de Leu133, permitindo o desenho de inibidores seletivos à isoforma HDAC-3. Dessa maneira, a HDAC-3 suporta grupos menos volumosos (de menor raio atômico), como substituintes em C-4 (em *para*) no anel *orto*-aminoanilida do CI-994, como hidrogênio e flúor (raio atômico 20% maior que H), devido a um efeito estérico. O flúor é estericamente menos volumoso e não altera a Leu 133, já grupos mais volumosos como a metila são estericamente mais exigentes, e provocam o movimento em Leu 133 da HDAC-3, diminuindo a atividade inibitória.

Ademais, o flúor, atuando como eletroatrator, alterou eletronicamente a posição levando a menor densidade eletrônica (pKa BRD 3308: 2,33) em C-4 quando comparado ao hidrogênio (pKa CI-994: 3,33). Este átomo atua protegendo o sítio vulnerável à metabolização e aumento do tempo de residência na HDAC-3 ($T_{1/2}$: 79 min.) como observado por Wagner e colaboradores (2016) (WAGNER et al., 2016). Portanto, nos compostos **(18)**, **(19)**, **(20)**, **(21)**, verificou-se que a ocupação da região

para da benzamida no sítio ativo da HDAC-3, com um grupamento flúor, pode trazer efeitos benéficos a serem explorados no planejamento dos novos inibidores (Figuras 24 e 25).

Tabela 1 - Docking scores dos compostos planejados para síntese e de seus compostos referência, CI-994 e BRD 3308.

COMPOSTO	DOCKING SCORE HDAC-3 (KCAL/MOL)
4-AMINO-N-(2-AMINOFENIL) BENZAMIDA – (22) 	-9,566
N-(2-AMINO-4-FLUOROFENIL)-4-(HIDROXIMETIL) BENZAMIDA - (20) 	-9,208
4-ACETAMIDO-N-(2-AMINOFENIL) BENZAMIDA – CI-994 	-9,013
4-ACETAMIDO-N-(2-AMINO-4-FLUOROFENIL) BENZAMIDA – BRD 3308 	-8,850
4-AMINO-N-(2-AMINO-4-FLUOROFENIL) BENZAMIDA - (18) 	-8,369

N-(2-AMINO-4-FLUOROFENIL)-4-(2-HIDROXIACETAMIDO) BENZAMIDA – (21)	-8,363
	-7,611
4-(AMINOMETIL)-N-(2-AMINOFENIL) BENZAMIDA – (23)	-6,954
	
N-(2-AMINO-4-FLUOROFENIL)-4-(AMINOMETIL) BENZAMIDA – (19)	
	

Fonte: autoria própria, 2023.

A Tabela 2 mostra as principais interações específicas dos compostos com os resíduos de aminoácidos do sítio ativo, incluindo o zinco do sítio catalítico.

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.

		Compostos seletivos (derivados BRD 3308)				Compostos não- seletivos (derivados CI-994)		BRD- 33008	CI-994
		(18)	(19)	(20)	(21)	(22)	(23)		
Quelação com Zinco		X	X	X	X	X	X	X	X
Cavidade interna	Histidina 134	X	X	X	X	X	X	X	X
HDAC-3	Histidina 135		X						
	Glicina 143	X	X	X	X	X	X	X	X
	Asparagina 170	X		X	X	X	X	X	X

Túnel	Fenilalanina	X	X		X	X	X		X
hidrofóbico	144								
HDAC-3	Fenilalanina				X				
	200								
	Histidina				X		X		
	172								
Cavidade	Asparagina	X	X	X		X	X	X	
externa	93								
HDAC-3									

X = Presença de interação; Espaços em branco = ausência de interação específica.

Fonte: autoria própria, 2023.

Na tabela 2, pode-se observar que as interações específicas comuns entre todos os compostos são ligações hidrogênio do grupo amino e amida do núcleo benzamida com os aminoácidos Histina 134 e Glicina 143, respectivamente, localizados na cavidade interna da enzima, o que está de acordo com trabalhos previamente descritos (ADHIKARI; JHA; GHOSH, 2021). A maior parte das moléculas **(18-19)**, **(21-23)** e **CI-994**, mostrou interação $\pi - \pi$ *stacking* pelo seu *linker* fenil com o túnel hidrofóbico da enzima, este *linker* aril contribui com maior hidrofobicidade e interação com HDAC-3 (SARKAR et al., 2020). Os compostos que possuem grupo amina como *cap*, e que são maioria **(18-19)**, **(22-23)**, mostraram interações do tipo ligação hidrogênio com Asparagina 93 na cavidade externa. Assim, verificou-se que as estruturas: núcleo amino-benzamida, *linker* fenil e grupo amina como *cap*, corroboram para um encaixe favorável com a enzima.

Todos os compostos estavam coordenados com íon Zn^{2+} (Tabela 2; Figuras 24 e 25), estando envolvidos com essa interação o nitrogênio da amina aromática e oxigênio da carbonila da amida do núcleo benzamida, na cavidade interna da HDAC-3. Este tipo de interação está de acordo com aquela descrita por Sarkar e colaboradores (SARKAR et al., 2020).

Os derivados não-seletivos contra HDAC-3 de CI-994 **(22)** e **(23)** (Tabela 2; Figura 25), mostram em comum as interações do tipo ligação hidrogênio, com os aminoácidos Histidina 134, Glicina 143 e Asparagina 170 na cavidade interna da enzima e o arranjo empilhado com interações $\pi - \pi$ ($\pi - \pi$ *stacking*) entre o anel aromático de Fenilalanina 144 e o anel aromático do *linker* dos compostos **(22)** e **(23)**. Essas interações são as mesmas encontradas para o composto **CI-994**. A única diferença

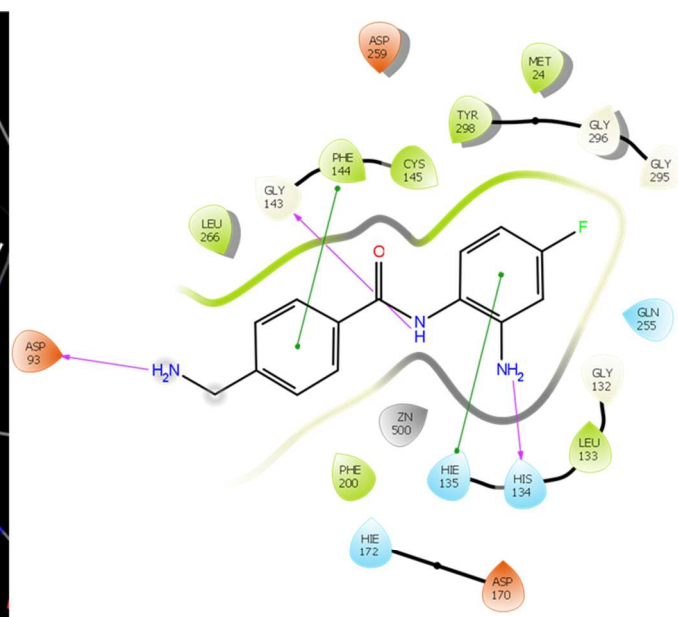
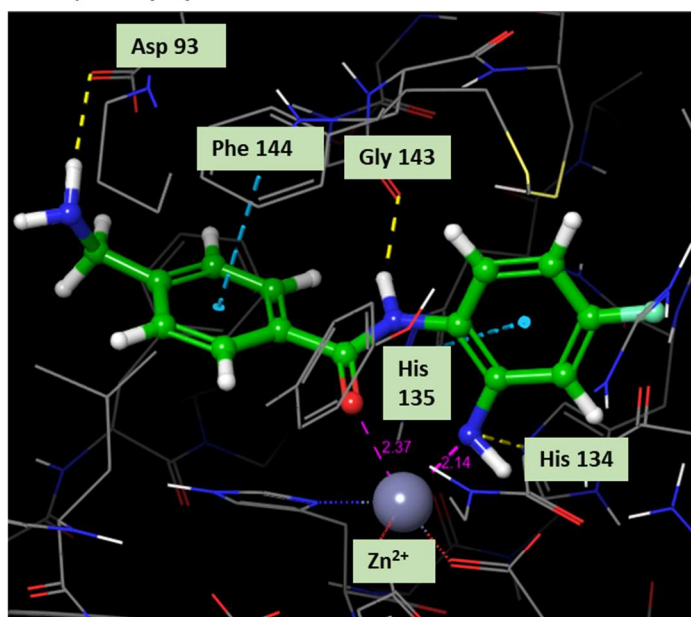
observada entre (22) e (23) e o **CI-994** e que os compostos apresentam uma ligação de ligação hidrogênio com Asparagina 93 na cavidade externa da enzima pelo *cap* amina terminal, situação não encontrada para o **CI-994**.

Os derivados (18 - 21) (Tabela 2; Figura 24) mostraram em comum com **BRD-3308** as interações de hidrogênio envolvendo a Histidina 134 e Glicina 143 com os grupos amino e amida da subunidade 2-amino-benzamida. O composto (19) apresentou interação $\pi - \pi$ *stacking* entre o anel aromático da benzamida com Histidina 135. No túnel hidrofóbico da HDAC-3, os compostos (18), (19), (21), mostraram a interação $\pi - \pi$ *stacking* entre o anel aromático de Fenilalanina 144 e o anel aromático *linker* das moléculas, ao contrário do composto referência **BRD-3308** e seu derivado (20), que não mostraram essa interação. O composto (21) teve seu *linker* fenil, interagindo também com Fenilalanina 200 e Histina 172 do túnel. Na cavidade externa da enzima, o *cap* contendo as aminas dos compostos (18) e (19) e hidroxila do composto (20) fizeram interações de hidrogênio com Asparagina 93, estando de acordo com o composto referência **BRD-3308**. Como diferencial, o composto (21) mostrou uma ligação hidrogênio com Histidina 172.

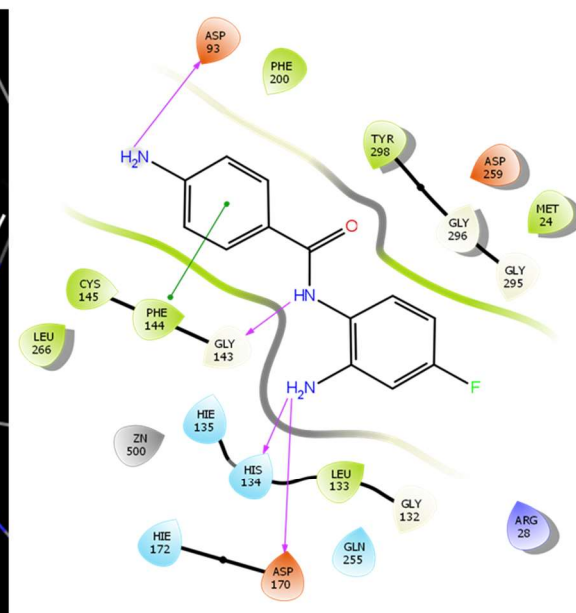
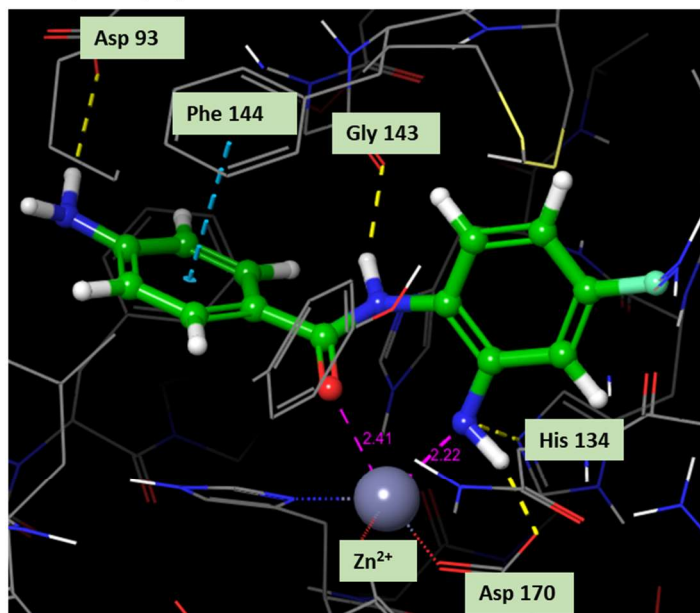
Para conjugação com os lipídeos (ácido palmítico, linoleico e linolênico) teríamos compostos contendo a função a éster (20-21) ou amida (18, 19, 22 e 23). A principal diferença entre essas duas ligações diz respeito a estabilidade da função amida comparada aos ésteres, sendo este um fator importante para a escolha dos compostos (18, 19, 22 e 23) para as próximas etapas do estudo (DERUITER, 2005a, 2005b; GUPTA et al., 2009; IRBY; DU; LI, 2017). A função amina desses compostos, como previamente comentado, mostram interações mais favoráveis o que reflete nos melhores valores de *docking score*. Vale mencionar, que apesar de serem pró-fármacos também realizamos o ancoramento molecular com os compostos conjugados aos lipídeos. Foi encontrado comportamento similar em termos das principais interações encontradas nesses conjugados comparados aos compostos (18-23) aqui descritos. Em todos eles o lipídeo presente no *cap* esteve exposto (Apêndice B, Tabelas 27 e 28, Figuras 61 e 62).

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 (quelatação) 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,

Composto (**19**)



Composto (**18**)



- Charged (negative)
- Charged (positive)
- Glycine
- Hydrophobic
- Metal

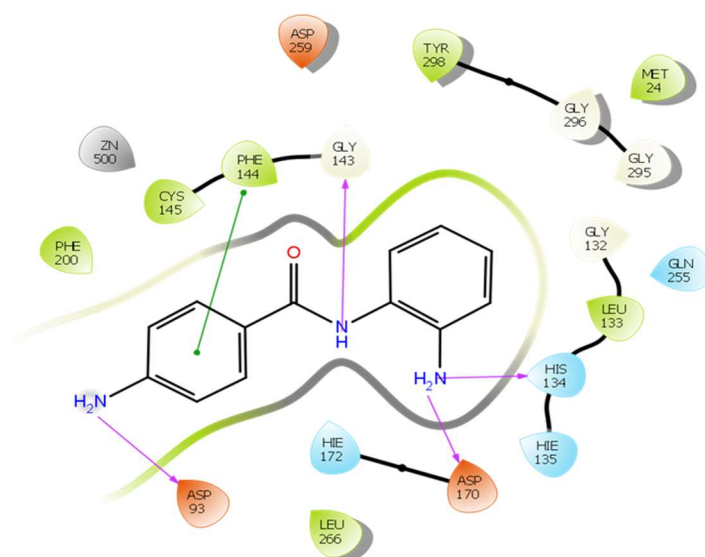
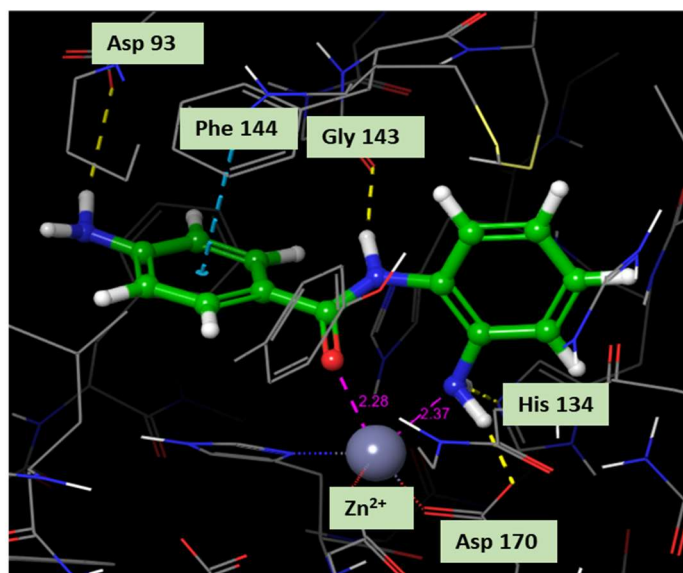
- Polar
- Unspecified residue
- Water
- Hydration site
- Hydration site (displaced)
- Distance
- H-bond
- Metal coordination
- Pi-Pi stacking
- Pi-cation

- Salt bridge
- Solvent exposure

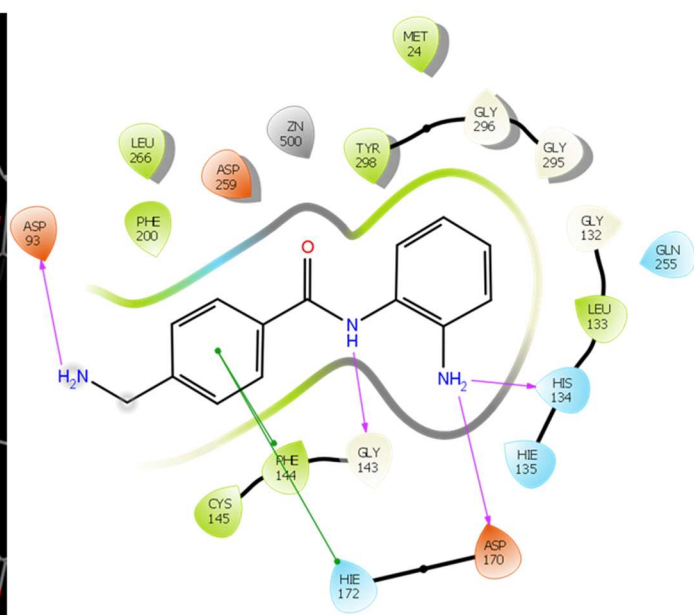
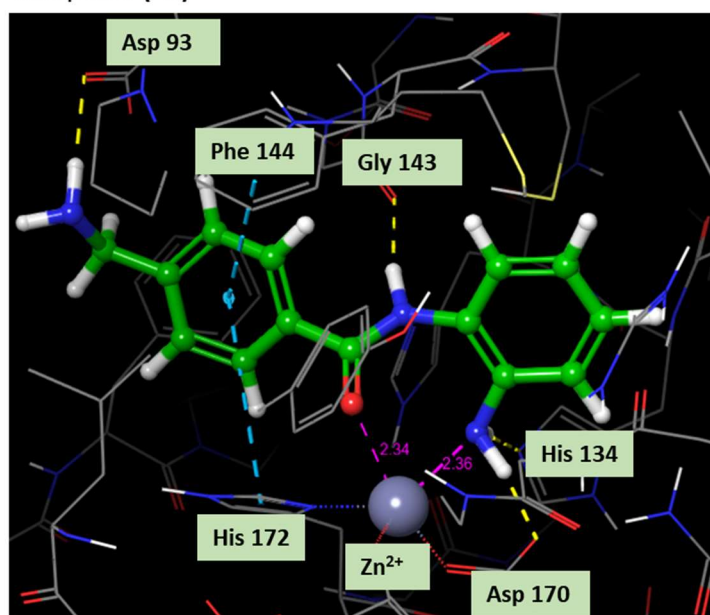
Fonte: autoria própria, 2023.

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).

Composto (**22**)



Composto (**23**)



- | | | | |
|--|---|--|--|
| ● Charged (negative) | ● Polar | --- Distance | --- Salt bridge |
| ● Charged (positive) | ● Unspecified residue | --- H-bond | ○ Solvent exposure |
| ● Glycine | ● Water | --- Metal coordination | |
| ● Hydrophobic | X Hydration site | ● Pi-Pi stacking | |
| ● Metal | X Hydration site (displaced) | ● Pi-cation | |

Fonte: autoria própria, 2023.

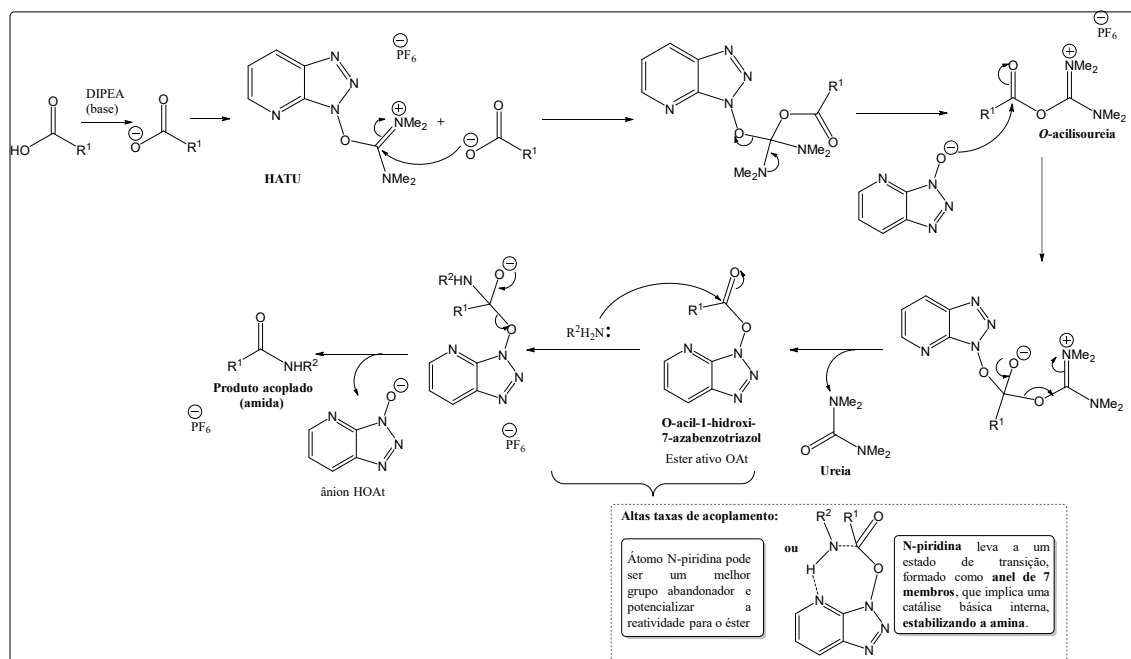
4.2 Síntese e caracterização dos compostos da série A

4.2.1 Síntese e caracterização dos intermediários (8a), (8b), (8c)

Os intermediários amida (**8a-8c**) foram obtidos pelo mesmo método sintético explorando reações de acoplamento em que o agente acoplante HATU e o HOAt foram usados em associação. As reações de acoplamento envolvem condições mais brandas para formação de ésteres e amidas, e são úteis em compostos polifuncionalizados que tenham grupamentos sensíveis/lábeis a meios muito ácidos, gerado no meio quando se utiliza agentes clorantes, por exemplo. Na presença de agentes acoplantes, a primeira etapa das reações de acoplamento envolve a ativação do grupo ácido carboxílico com o grupo ativante na presença de base (ex. diisopropiletilamina - DIPEA). A base selecionada não deve ser nucleofílica, e ter força suficiente para desprotonar o ácido carboxílico inicial.

O mecanismo para formação de ésteres ou amidas usando HATU é mostrada na Figura 17. Comparada somente ao uso com HOBt, o uso do HATU como agente acoplante permite maiores taxas de acoplamento. Acredita-se que isto se deva ao átomo de nitrogênio da piridina ser responsável por estabilizar a amina que será acoplada por meio de uma catálise básica interna imposta por um estado de transição cíclica formado por um anel de 7 membros; ou que se deva ao nitrogênio da piridina, com suas propriedades de retirar elétrons, poder ser um melhor grupo abandonador e assim potencializar a reatividade para o ester *O*-acil (Figura 26) (BACHEM AG, 2019; CARPINO et al., 2000; EL-FAHAM; ALBERICIO, 2011; HAN; KIM, 2004).

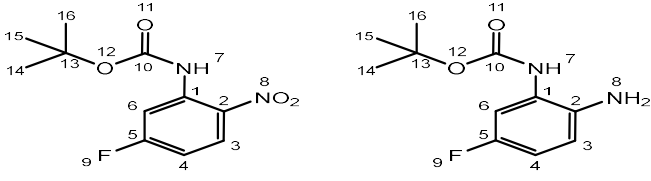
Nas reações realizadas planejou-se acoplar o ácido 4-amino benzóico (**7**) (PABA), com os ácidos graxos dietários (**a**, **b**, **c**), contendo a função ácido carboxílico. Nesse caso, ocorre um ataque nucleofílico de um grupo carboxilato (ânion de um ácido carboxílico), ao carbono com amina protonada do urônio do HATU, retirando HOAt (principal sal de urônio), e formando o cátion *O*-acilisourea. O ânion hidroxila de HOAt ataca a carboxila do cátion *O*-acilisourea, retirando ureia e formando *O*-acil-1-hidroxi-7-azabenzotriazol, um ester ativo do HOAt. Por fim, a amina nucleofílica ataca o carbono da carbonila do ester ativo OAt, retirando HOAt e resultando no grupo amida (Figura 26) (HOPPER, 2007).



Os rendimentos obtidos nas reações de acoplamento para formação de **8a-c** foram de 15 a 88% (Tabela 5). No acoplamento com o ácido palmítico, que não possui insaturação, observamos maiores rendimentos. Para os derivados **8b** e **8c** foram obtidos rendimentos de 15% e 16%, respectivamente.

A caracterização estrutural dos intermediários **8a-c** foi realizada por espectrofotometria na região do infravermelho (IV) e de Ressonância Magnética Nuclear (RMN) de ^1H e ^{13}C . A Tabela 3 mostra as características físico-químicas de cada composto e os valores de estiramentos axiais e deformações angulares no IV. Já a Tabela 4 mostra os deslocamentos químicos e as constantes dos intermediários por RMN de ^1H e ^{13}C .

Tabela 3 – Características físico-químicas e valores de absorção no infravermelho dos intermediários (8a), (8b), (8c).

			
	n = 14 (ác. palmítico – 16 carbonos)	n = 16:2 (ác. linoleico – 18 carbonos)	n = 16:3 (ác. linolênico – 18 carbonos)
	(8a)	(8b)	(8c)
Características físico-químicas			
Rendimento	88%	15%	16%
Faixa de fusão	223 – 226 °C	165 – 170 °C	115 – 120 °C
Aspecto	Sólido branco	Sólido branco	Sólido amarelo claro
Valores de absorção no infravermelho			
Grupo funcional	Número de onda (cm⁻¹)	Número de onda (cm⁻¹)	Número de onda (cm⁻¹)
ν N-H amina aromática	3331,07	3315,63	3315,63
δ N-H amina aromática	1591,27	1521,84	1521,84
ν C=O amida	1666,50	1666,50	1666,50
ν C=C aromáticos	1606,70	1608,63	1608,63
ν C-N amina aromática	1300,02	1321,24-1301,95	1321,24-1301,95
ν C=O ác. carboxílico	1666,50	1697,36-1666,50	1699,29-1666,50
ν O-H ác. carboxílico	2922,16	2926,01	2929,87
δ -(CH₂)_n n ≥ 7	719,45	725,23	725,23

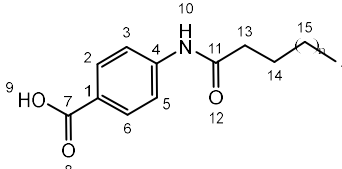
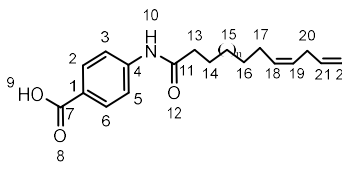
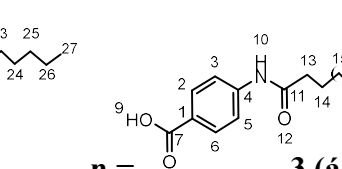
ν = estiramento; δ = deformação angular.

Fonte: autoria própria, 2023.

No espectro IV destes compostos (Tabela 3), verificou-se de modo semelhante nestes conjugados: o estiramento da ligação N-H da amida na região em 3331,07 (8a), e 3315,63 cm⁻¹ (8b, 8c), e as deformações angulares entre 1591,27 (8a) e 1521,84 cm⁻¹ (8b, 8c) (banda amida II). O estiramento C=O (banda I da amida) mostrou-se sobreposta a carbonila do ácido carboxílico em 1666,50 cm⁻¹ (8a, 8b, 8c). A ligação C-N pode ser visualizada em 1300,02 cm⁻¹ (8a) e entre 1321,24-1301,95 cm⁻¹ (8b, 8c). Já a presença de ácido carboxílico é visualizada pelos estiramentos de C=O em 16650 cm⁻¹ (8a), 1697,36-1666,50 cm⁻¹ (8b) e 1699,29 cm⁻¹ (8c), uma vez que carbonilas de ácidos carboxílicos com grupo fenil possuem estiramento entre 1685-1666 cm⁻¹; e pela ligação O-H intensa e larga entre 2922,16 (8a), 2926,01 (8b) e 2922,16 (8c) cm⁻¹. Os estiramentos C=C dos aromáticos são observados entre 1608,63 e 1606,10 cm⁻¹. O estiramento C-H, como deformação angular, é observado em torno de 720 cm⁻¹ (SILVERSTEIN, 2019).

Os resultados do RMN corroboram com as vibrações encontradas na análise de infravermelho, como se pode observar na Tabela 4.

Tabela 4 – Deslocamentos químicos e RMN ^1H e ^{13}C dos intermediários **(8a)**, **(8b)**, **(8c)**.

 n = 12 (ác. palmítico – 16 carbonos) (8a)  n = 3 (ác. linoleico – 18 carbonos) (8b)  n = 3 (ác. linolênico – 18 carbonos) (8c)						
Posição	δ ^1H	δ ^{13}C	δ ^1H	δ ^{13}C	δ ^1H	δ ^{13}C
1	-	124,91	-	124,91	-	125,57
2 e 6	7,86 (d, J = 8,8 Hz, 2H)	130,34	7,87 (d, J = 8,7 Hz, 2H)	130,35	7,87 (d, J = 8,8 Hz, 2H)	128,39
3 e 5	7,69 (d, J = 8,8 Hz, 2H)	118,20	7,70 (d, J = 8,7 Hz, 2H)	118,20	7,69 (d, J = 8,7 Hz, 2H)	118,65
4	-	143,34	-	143,36	-	143,69
7	-	171,82	-	171,81	-	172,26
8	-	-	-	-	-	-
9	-	-	-	-	-	-
10	10,15 (s, 1H)	-	10,16 (s, 1H)	-	10,16 (s, 1H)	-
11	-	166,96	-	166,97	-	167,99
12	-	-	-	-	-	-
13	2,32 (t, J = 7,4 Hz, 2H)	36,49	2,33 (t, J = 7,4 Hz, 2H)	36,50	2,33 (t, J = 7,5 Hz, 2H)	36,93
14	1,57 (p, J = 7,3 Hz, 2H)	24,97	1,58 (m, J = 7,2 Hz, 2H)	24,50	1,58 (m, 2H) Coalescência	24,92
15	1,26 (m, 24H) Coalescência	(10 sinais) 31,30; 29,06; 29,04; 29,01; 28,98; 28,90; 28,76; 28,72; 28,62; 22,10		29,02 28,74 28,55		28,98 34,09 31,72
16	0,85 (t, J = 6,9 Hz, 2H)	13,96		28,68	-	29,42
15 e 16	-	-	-	-	1,25 (m, 8H) Coalescência	-
15, 16, 24, 25, 26	-	-	1,27 (m, 14H) Coalescência	-	-	-
17			-	25,23	-	27,06

17 e 23	-	-	2,01 (m, 4H) Coalescência	-	-	-
17 e 26	-	-	-	-	2,02 (m, 4H) Coalescência	-
18			-	129,73	-	130,79
18, 19, 21 e 22	-	-	5,32 (dddd, J = 14,4; 12,6; 7,1; 3,1; 1,6 Hz, 4H)	-	-	-
18, 19, 21, 22, 24 e 25	-	-	-	-	5, 33 (m, 6H) Coalescência	-
19			-	127,78	-	128,00
20			2,73 (t, J = 7,0 Hz, 2H)	24,99	-	24,92
20 e 23	-	-	-	-	2, 76 (m, 4H) Coalescência	-
21			-	127,76	-	128,21
22			-	129,75	-	128,35
23			-	26,62	-	25,65
24			-	30,91	-	127,43
25			-	33,67	-	131,94
26			-	21,98	-	20,49
27			0,84 (m, 3H)	13,93	0,92 (t, J = 7,5 Hz, 3H)	14,56

Fonte: autoria própria, 2023.

Na Tabela 4, destacam-se os sinais da amida presente nas três estruturas na posição 10 com deslocamento químico em 10,15 ppm, como simpletos e integração de 1H. Os hidrogênios aromáticos são equivalentes e caracterizados como dupletos nas posições 2 e 6 com deslocamentos em 7,86 ppm (**8a**, **8b**) e 7,87 (**8c**) com integração de 2H e $J = 8,8$ Hz para (**8a**, **8c**), $J = 8,7$ Hz para (**8b**), indicando acoplamento com o hidrogênio do anel na posição 3 ou 5. Os hidrogênios aromáticos das posições 3 e 5 são equivalentes e mostraram deslocamentos em 7,69 (**8a**, **8c**) e 7,70 ppm (**8b**), caracterizados como duplete com integração de 2H, com $J = 8,8$ Hz para (**8a**) e $J = 8,7$ Hz para (**8b**, **8c**) indicando o acoplamento com hidrogênio do anel da posição 2 ou 6. Os hidrogênios do carbono alfa adjacente a carbonila da amida na posição 13 de (**8a**, **8b**, **8c**), mostraram deslocamentos em 2,32 ppm (**8a**) e 2,33 ppm (**8b**, **8c**), caracterizados como tripletos com integração de 2H, (**8a**, **8b**) e (**8c**) mostraram $J = 7,4$ Hz e $J = 7,5$ Hz, respectivamente, indicando que ocorre um acoplamento com hidrogênio do carbono beta vizinho. Os hidrogênios dos carbonos beta adjacente a carbonila da amida na posição 14 de (**8a**, **8b**, **8c**), mostraram deslocamentos em 1,58

ppm caracterizado como multipletos (**8a** – quintupletos) com integração de 2H, (**8a**) e (**8b**) mostraram $J = 7,3$ Hz e $J = 7,2$ Hz, respectivamente, indicando acoplamento com hidrogênio de carbono vizinho, em (**8c**) houve coalescência com deslocamentos entre 1,56 – 1,61 ppm. A posição 15 de (**8a**) indica os demais hidrogênios da cadeia alifática, com deslocamentos em 1,26 ppm, caracterizado como multipletos, com integração de 24H, e coalescência entre 1,19 – 1,31 ppm; e a posição 16 indica os hidrogênios do grupo metil com deslocamento em 0,85 ppm, $J = 6,9$ Hz, integrando com 2H.

Em (**8b**) as posições 15 (cadeia alifática), 16 e 24 (carbonos beta as insaturações) e 25 e 26 (carbonos beta e alfa ao metil), juntas mostraram um deslocamento 1,27 ppm, caracterizado como multipletos com integração de 14H, com coalescência entre 1,18 – 1,35 ppm. As posições 17 e 23 mostram os hidrogênios dos carbonos alfa as insaturações, com deslocamento em 2,01 ppm, caracterizado como multipletos, com integração de 4H, e com coalescência entre 1,97 – 2,05 ppm. Posições 18, 19, 21 e 22 correspondem aos hidrogênios dos 4 carbonos insaturados, que correspondem a um duplo duplo duplo duplo em 5,32 ppm, com integração de 4H e $J = 14,4; 12,6; 7,1; 3,1; 1,6$ Hz. Posição 20 corresponde ao hidrogênio do carbono alfa entre as 2 insaturações, com deslocamento em 2,73 ppm, caracterizado como um tripleto, $J = 7,0$ Hz, com integração de 2H, e a posição 27 mostra os hidrogênios do grupo metil, como um multipletos com deslocamento de 0,84 ppm, com integração de 3H.

Em (**8c**) as posições 15 (cadeia alifática) e 16 (carbono beta a insaturação), mostraram deslocamentos em 1,25 ppm, caracterizado como multipletos, com integração de 8H, e coalescência com deslocamentos entre 1,08 – 1,35 ppm. Posições 17 e 26 correspondem aos hidrogênios de 2 carbonos alfas as insaturações, com deslocamento em 2,02 ppm, com integração de 4H, e sinais coalescendo entre 1,99 – 2,05 ppm. Posições 18, 19, 21, 22, 24 e 25, correspondem aos hidrogênios dos 6 carbonos insaturados, que correspondem a um multipletos em 5,33 ppm, com integração de 6 hidrogênios, e sinais coalescendo entre 5,29 – 5,37 ppm. Posições 20 e 23 correspondem aos hidrogênios de 2 carbonos alfas entre as insaturações, com deslocamento em 2,76 ppm, caracterizado como um multipletos, com integração de 4H, e sinais coalescendo 2,71 – 2,80 ppm. A posição 27 reflete os hidrogênios do grupo metil, com deslocamento em 0,92 ppm, caracterizado como tripleto, $J = 7,5$ Hz, com integração de 3H.

Na análise de ^{13}C , em **(8a)**, verifica-se 4 carbonos quaternários localizados nas posições 1 (carbono do anel aromático ligado ao ácido carboxílico), 4 (carbono anel aromático ligado a amida), 7 (carbono do ácido carboxílico), 11 (carbono carbonila da amida), com deslocamentos químicos em 124,91; 143,34; 171,82 e 166,96 ppm, respectivamente, estes valores são altos devido suas proximidades de átomos eletronegativos, como o da posição 7, muito próximo a um grupo ácido carboxílico (mais eletronegativo dentre os outros). Carbonos do anel aromático nas posições 2 e 6, como equivalentes, com deslocamento em 130,34 ppm; e posições 3 e 5, também equivalentes, com deslocamento em 118, 20 ppm. Carbonos alfa e beta a carbonila da amida, nas posições 13 e 14, com deslocamentos em 36,49 e 24,97 ppm. Carbono do grupo metil na posição 16 com deslocamento em 13,96 ppm e carbonos da cadeia alifática representados pela posição 15, com deslocamentos que variaram entre 22,10 e 31,30 ppm, com apenas 10 sinais, onde supõe-se que os 2 sinais restantes estejam sobrepostos entre estes.

Em **(8b)** na análise de carbono verifica-se 4 carbonos quaternários localizados nas posições 1 (carbono do anel aromático ligado ao ácido carboxílico), 4 (carbono anel aromático ligado a amida), 7 (carbono do ácido carboxílico), 11 (carbono carbonila da amida), com deslocamentos químicos em 124,91; 143,36; 171,81 e 166,97 ppm, respectivamente. Carbonos do anel aromático nas posições 2 e 6 como equivalentes com deslocamento em 130,35 ppm, como simpleto; e nas posições 3 e 5 como equivalentes com deslocamento em 118,20 ppm, como simpleto. Carbonos alfa e beta a carbonila da amida, nas posições 13 e 14, com deslocamentos em 36, 50 e 24, 50 ppm. Carbonos alfa as insaturações nas posições 17, 20 e 23 com deslocamentos em 25, 23; 24, 99 e 26, 62 ppm, respectivamente. Carbonos beta as insaturações nas posições 16 e 24 com deslocamentos em 28, 68 e 30 ,91 ppm respectivamente. Carbonos das insaturações nas posições 18 e 19, 21 e 22, com deslocamentos em 129,73; 127,78 e 127,76 e 129,75 ppm, respectivamente. Carbono alfa ao metil na posição 26 com deslocamento em 21,98 ppm. Carbono do grupo metil na posição 27 com deslocamento em 13,93 ppm. Carbonos da cadeia alifática localizados na posição 15 com deslocamento entre 28,55 e 29,02 ppm.

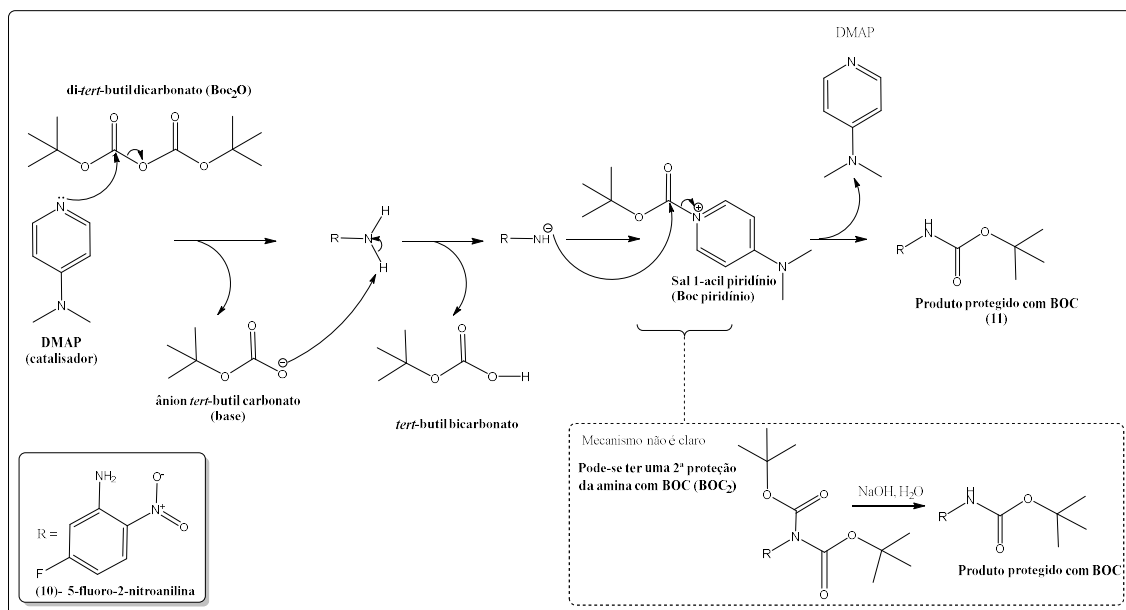
Em **(8c)**, verifica-se 4 carbonos quaternários localizados nas posições 1 (carbono do anel aromático ligado ao ácido carboxílico), 4 (carbono anel aromático ligado a amida), 7 (carbono do ácido carboxílico), 11 (carbono carbonila da amida), com deslocamentos químicos em 125,57; 143,69; 172,26 e 167,99 ppm, respectivamente.

Carbonos do anel aromático nas posições 2 e 6 como equivalentes com deslocamento em 128,39 ppm; e nas posições 3 e 5 como equivalentes com deslocamento em 118,65 ppm. Carbonos alfa e beta a carbonila da amida, nas posições 13 e 14, com deslocamentos em 36,93 e 24,92 ppm. Carbonos alfa as insaturações nas posições 17, 20, 23 e 26 com deslocamentos em 27,06; 24,92; 25,65 e 20,49 ppm, respectivamente. Carbono beta a insaturação na posição 16 com deslocamento em 29,42 ppm. Carbonos das insaturações nas posições 18 e 19, 21 e 22, 24 e 25, com deslocamentos em 130,79; 128; 128,21; 128,35; 127,43 e 131,94 ppm. Carbono do grupo metil na posição 27 com deslocamento em 14,56 ppm. Carbonos da cadeia alifática localizados na posição 15 com deslocamento entre 28,98 e 31,72 ppm.

4.2.2 Síntese e caracterização dos intermediários (11), (12), para os derivados seletivos de BRD-3308

Para os intermediários (11) e (12) foram realizadas duas etapas principais: a) proteção utilizando o reagente Boc-anidrido; e b) redução do grupo nitro-aromático. Para obtenção do (11), protegeu-se a amina primária do reagente inicial 5-fluoro-2-nitroanilina (10), com di-*tert*-butil-dicarbonato (Boc_2O) na presença de DMAP (4-dimetilaminopiridina), que nessa condição reacional atua como catalisador nucleofílico. O mecanismo ainda não está completamente elucidado, mas foi proposto que o DMAP ataca o carbono da carbonila do di-*tert*-butil dicarbonato (Boc_2O), formando o sal 1-acil piridínio e o ânion *tert*-butil carbonato (grupo abandonador). Em uma etapa posterior, a amina ataca o carbono da carbonila do Boc-piridínio resultando na saída do DMAP. O anion *tert*-butil carbonato age como uma base desprotonando a amina protonada, formando *tert*-butil bicarbonato. A amina protonada ataca o sal Boc-piridínio, promovendo uma acilação formando a amina protegida (11) e resultando na saída de DMAP (Figura 27) (BASEL; HASSNER, 2000; NGAN THI KIM MAI, 2015). Como um segundo produto, pode-se ter uma “dupla proteção” da amina/amida, o que não é desejável, e por isso, realizou-se uma desproteção com solução aquosa básica, com base em dados anteriores do laboratório.

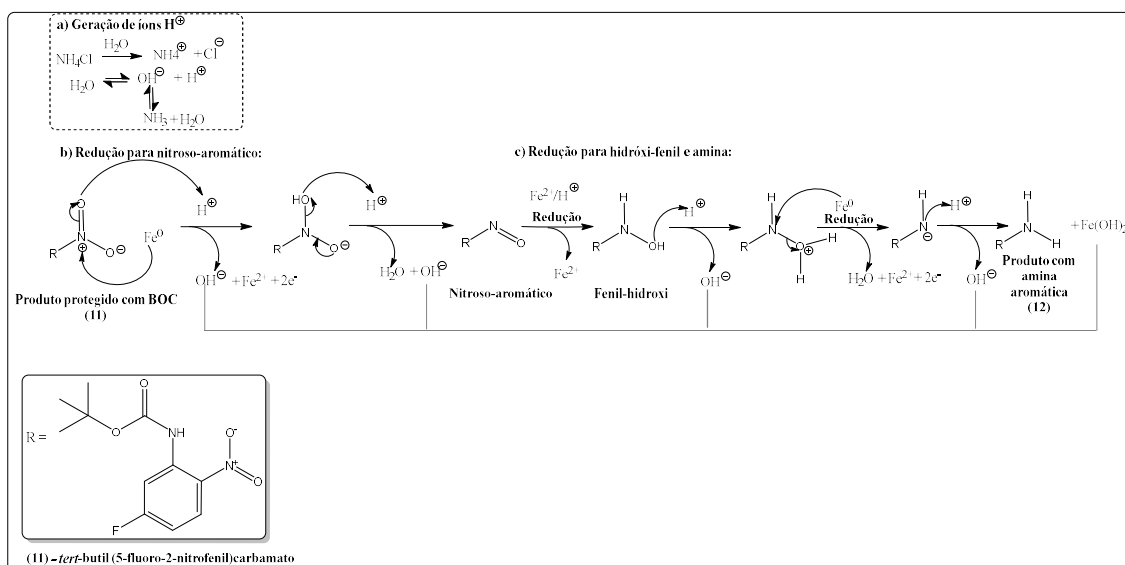
Figura 27 - Mecanismo de proteção da amina primária por di-*tert*-butil dicarbonato (Boc_2O), do reagente inicial para os derivados seletivos de BRD3308. Adaptado de Ngan Thi Kim Mai, 2015.



Fonte: NGAN THI KIM MAI, 2015.

Com a amina protegida (11) realizou-se a redução do NO_2 em NH_2 (12), pela reação de Bechamp. O mecanismo dessa reação é mostrado na Figura 28, e envolve: a) geração de íons H^+ por reação água-ácido, que vão resultar no grupo amina do nitroaromático; b) redução para nitroso-aromático, por sua adsorção na superfície de Fe^0 (ferro zero valência), reação na superfície e dessorção dos produtos do ferro para o meio reacional; c) redução por reação de H^+ com o nitroso-aromático, resultando em hidroxifenil e redução deste a amina. O Fe sofre oxidação fornecendo os elétrons necessários para a redução, resultando em Fe^{2+} (perdendo 2 elétrons), que depois reage com íon OH^- da água para formar $\text{Fe}(\text{OH})_2$, que proporciona a superfície para adsorção e redução (POPAT; PADHIYAR, 2013).

Figura 28 - Mecanismo de redução do nitroaromático (11) para amina primária (12) por mecanismo de Bechamp. Adaptado de Popat; Padhiyar, 2013; Z. Wang, 2010.

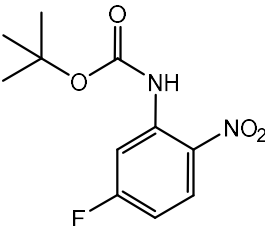
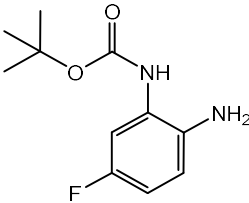


Fonte: POPAT; PADHIYAR, 2013; Z. WANG, 2010.

A reação de proteção a amina primária por grupo BOC mostrou um rendimento de 42%, sendo similar ao descrito por Tian e colaboradores (2020), que encontraram valores de rendimento variando de 55-65%. Em paralelo, o rendimento obtido para a redução do grupo nitroaromático foi de 54%, semelhante ao descrito por Lopes, 2020, que descreveu rendimentos entre 40-47%. Portanto, os rendimentos foram satisfatórios, mostrando que os métodos sintéticos utilizados são adequados.

Foi realizada por espectrofotometria na região do infravermelho (IV) e de Ressonância Magnética Nuclear (RMN) de ^1H e ^{13}C . A Tabela 5 mostra as características físico-químicas de cada composto e os valores dos estiramentos axiais e deformações angulares caracterizados por espectrofotometria na região do infravermelho. A Tabela 6 mostra os deslocamentos químicos e as constantes dos intermediários por RMN.

Tabela 5 – Características físico-químicas e valores de absorção no infravermelho dos intermediários (11), (12) para os derivados seletivos de BRD-3308.

 (11)  (12)		
Características físico-químicas		
Rendimento	42%	54%
Faixa de fusão	87 – 89 °C	88 – 92 °C
Aspecto	Sólido amarelo	Sólido marrom
Valores de absorção no infravermelho		
Grupo funcional	Número de onda (cm ⁻¹)	Número de onda (cm ⁻¹)
ν N-H aminas aromáticas	3360	3296,35
δ N-H aminas aromáticas	1587,42	1608,63-1533,41
ν C-N aminas aromáticas	1336,67	1282,66
ν C=O ester	1732,08	1678,07
ν C-O ester	1141,86	1157,29
(C-C(=O)-O)	assimétrico	assimétrico
ν C=C aromáticos	1624,06	1635,64
ν N=O nitroaromático	1508,33 assim.	-
ν C-N nitroaromático	875,68	-

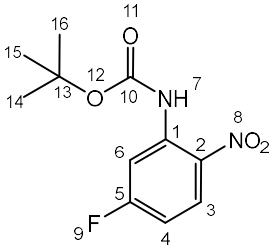
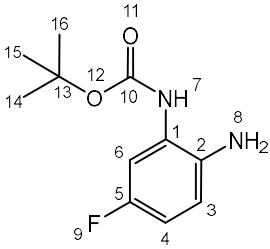
ν = estiramento; δ = deformação angular.

Fonte: autoria própria, 2023.

No espectro IV destes compostos (Tabela 5), verificou-se de modo semelhante nestes intermediários: a presença do grupo BOC pela presença das bandas características de éster em C=O com um estiramento alifático em 1732,08 (11) e 1678,07 (12) cm⁻¹. Além disso, visualiza-se o estiramento C-O caracterizada por um estiramento assimétrico em 1141,86 (11) e 1157,29 (12) cm⁻¹. Aminas aromáticas identificadas pelo estiramento de N-H em 3360 (11) e 3296,35 (12) cm⁻¹, e deformação angular em 1587,42 (11) e entre 1608,63-1533,41 (12) cm⁻¹. Observa-se ainda, o estiramento C-N entre 1336,67 (11) e 1282,66 (12) cm⁻¹. Os estiramentos C=C dos aromáticos são visualizados em entre 1624,06 (11) e 1635,64 (12). Como diferencial, (11) apresenta o grupo nitroaromático pela banda N=O em 1508,33 e C-N em 875,68 cm⁻¹.

Os resultados do RMN corroboram com as vibrações encontradas na análise de infravermelho, conforme visto na Tabela 6.

Tabela 6 – Deslocamentos químicos e RMN ^1H e ^{13}C dos intermediários **(11)** e **(12)**.

 (11)  (12)				
Posição	$\delta \text{ } ^1\text{H}$	$\delta \text{ } ^{13}\text{C}$	$\delta \text{ } ^1\text{H}$	$\delta \text{ } ^{13}\text{C}$
1	-	135,73	-	125,81
2	-	151,82	-	136,42
3	8,13 (dd, $J = 9,3, 5,8$ Hz, 1H)	128,44	-	116,00
4	7,13(ddd, $J = 9,3, 7,5, 2,8$ Hz, 1H)	108,33	-	-
3 e 4	-	-	6,65 (dd, $J = 7,0, 1,7$ Hz, 2H)	-
4 e 6	-	-	-	110,42
5	-	165,65	-	154,77
6	7,68 (dd, $J = 10,9, 2,8$ Hz, 1H)	110,70	7,19 (d, $J = 11,0$ Hz, 1H)	-
7	9,74 (s, 1H)	-	8,40 (s, 1H)	-
8	-	-	4,76 (s, 2H)	-
9	-	-	-	-
10	-	163,58	-	153,23
11	-	-	-	-
12	-	-	-	-
13	-	81,14	-	79,23
14, 15 e 16	1,46 (s, 9H)	27,70	1,46 (s, 9H)	28,09

Fonte: autoria própria, 2023.

Na Tabela 6, destacam-se os sinais na posição 7, referindo-se ao hidrogênio da amida adjacente ao grupo BOC com deslocamentos em 9,74 ppm **(11)** e 8,40 ppm **(12)**, caracterizados como simpleto com integração de 1H. Os hidrogênios dos grupos metil do grupamento BOC protetor nas posições 14, 15 e 16 em **(11)** e **(12)**, são simétricos e equivalentes, com deslocamentos em 1,46 ppm, caracterizados como simpletos, com integração de 6H.

Em **(11)** as posições 3, 4 e 6 referem-se aos hidrogênios do anel aromático. O hidrogênio na posição 3 mostrou um deslocamento de 8,13 ppm, caracterizado como um duplo duplete e $J = 9,3; 5,8$ Hz, indicando acoplamento com hidrogênio adjacente

do anel na posição 4 em *orto*, o grupo nitro eletronegativo próximo a esta posição desblinda este hidrogênio, atraindo-o (efeito indutivo), e deixando-o exposto a um maior campo magnético efetivo, sendo necessária uma maior frequência para que entre em ressonância, e por isso, seu valor de deslocamento é maior que os demais hidrogênios aromáticos, além disso, o efeito de ressonância também desblinda o ^1H , devido a deslocalização de elétrons e contribui para um valor de deslocamento maior (SILVA et al., 2008). O hidrogênio na posição 4 mostrou um deslocamento de 7,13 ppm, caracterizado como duplo duplo duplete, com integração de 1H, e $J = 9,3, 7,5; 2,8$ Hz, indicando acoplamento com hidrogênio adjacente no anel em *orto*, na posição 3, e *meta* na posição 6. O hidrogênio na posição 6 mostrou um deslocamento de 7,68 ppm, caracterizado como um duplo duplete, com integração de 1H, e $J = 10,9; 2,8$ Hz, indicando acoplamento com hidrogênio da amida em *orto*, na posição 7, e em *meta* com o hidrogênio na posição 4, o maior deslocamento também se deve a proximidade do átomo eletronegativos flúor e efeito de ressonância.

Em (12) as posições 3, 4 e 6 também se referem aos hidrogênios do anel aromático. Os hidrogênios das posições 3 e 4 são equivalentes, com deslocamento em 6,65 ppm, caracterizado como duplo duplete com integração de 2H, e $J = 7,0; 1,7$ Hz, indicando acoplamento em *orto* entre si e acoplamento da posição 4 com o hidrogênio em *meta* da posição 6. O hidrogênio na posição 6 mostrou um deslocamento de 7,19 ppm, caracterizado como um duplete, com integração de 1H, e $J = 11,0$ Hz, indicando acoplamento com hidrogênio em *orto* da amida (posição 7). No composto (12) também se observa os hidrogênios da amina primária, com deslocamento de 4,76 ppm, caracterizado como um simpleto, com integração de 2H.

Na análise de C^{13} , dos compostos (11) e (12) observa-se 5 carbonos quaternários localizados nas posições 1, 2, 5, 10, 13, com deslocamentos para (11) em: 135,73; 151,80; 165,65; 163,58; 81,14 ppm, respectivamente; e para (12) em: 125,81; 136,42; 154,77; 153,23; 79,23 ppm, respectivamente. As posições 14, 15 e 16 referem-se aos carbonos dos grupos metil do BOC protetor com deslocamentos em 27,70 para (11) e 28,09 (12).

As posições 3, 4 e 6 referem-se aos carbonos do anel aromático dos compostos (11) e (12). Em (11) os carbonos de 3, 4 e 6 mostraram um deslocamento de 128,44 ppm, 108,33 e 110,70 ppm, respectivamente. Em (12) o carbono da posição 3 mostrou um deslocamento de 116 ppm, por sua proximidade ao grupo nitro eletronegativo, e os carbonos das posições 4 e 6 se mostraram equivalentes, com deslocamento em 110,42

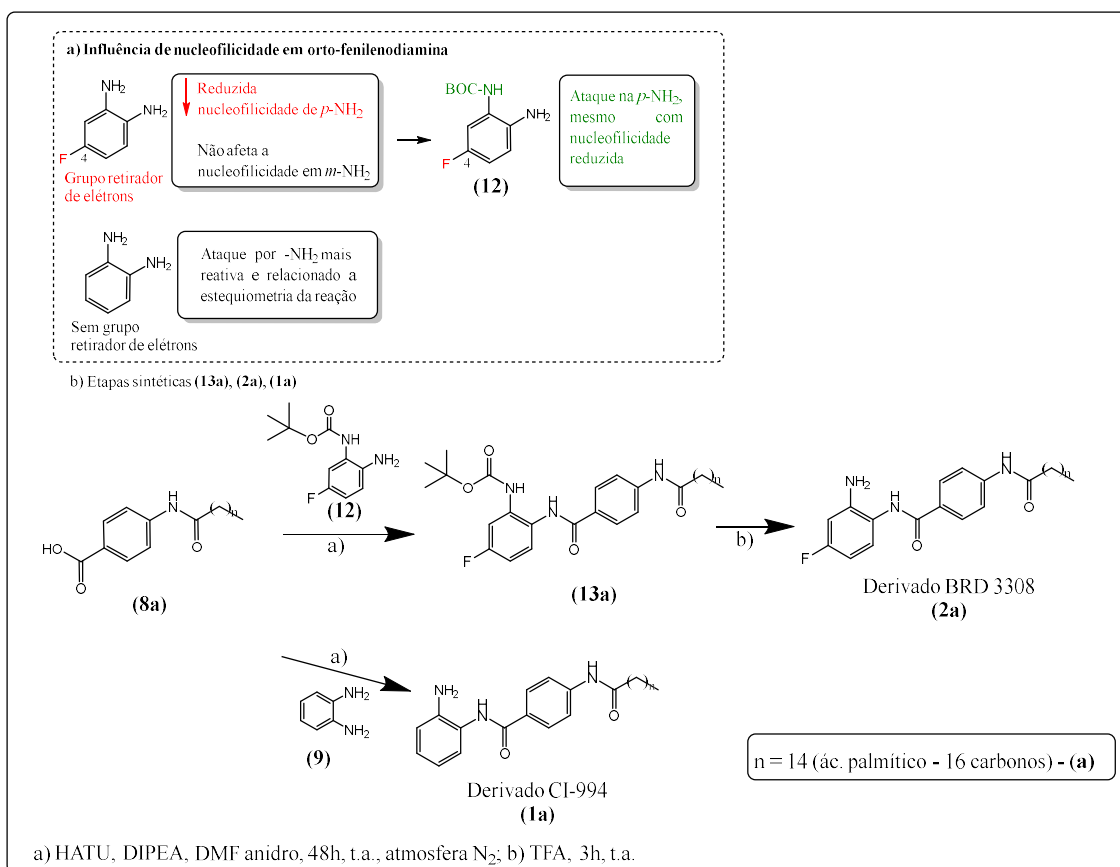
ppm, por suas proximidades ao átomo eletronegativo de flúor, sendo caracterizado como um duplete.

4.2.3 Síntese e caracterização do intermediário (13a) e compostos finais (1a), (2a)

A Figura 29 mostra as principais reações realizadas para obtenção dos produtos finais desejados. A obtenção do intermediário (13a) e do composto final (1a), foi conduzida de forma similar ao acoplamento descrito para os intermediários (8a-8c) (item 4.2.1.1) e por isso não serão novamente apresentados aqui.

No acoplamento para gerar o intermediário (13a), o átomo de flúor presente na posição-4 (*para* em relação a amina) em (12) é um halogênio eletronegativo retirador de elétrons por efeito indutivo, e como tal reduz a nucleofilicidade de *para*-NH₂ (em relação ao flúor) e não afeta a nucleofilicidade de *meta*-NH₂ (em relação ao flúor). Assim, com a *meta*-NH₂ (em relação ao flúor) protegida por BOC, a *para*-NH₂ (em relação ao flúor), mesmo com nucleofilicidade reduzida, realiza o ataque no carbono da carbonila do éster ativo de HATU (Figura 26 e 29). Em contrapartida, a diamina (9), não sofreu proteção por BOC, já que não contém nenhum outro grupo doador ou retirador no anel aromático, para obter o final (1a), assim, no acoplamento, a carbonila do éster ativo de HATU é atacada por uma das aminas (Figura 26 e 29) (CASTILLO-AGUILERA et al., 2020; SMART, 2001).

Figura 29 - Influência de nucleofilicidade em *orto*-fenilenodiamina e esquema das etapas sintéticas de **(13a)**, **(1a)** e **(2a)**.



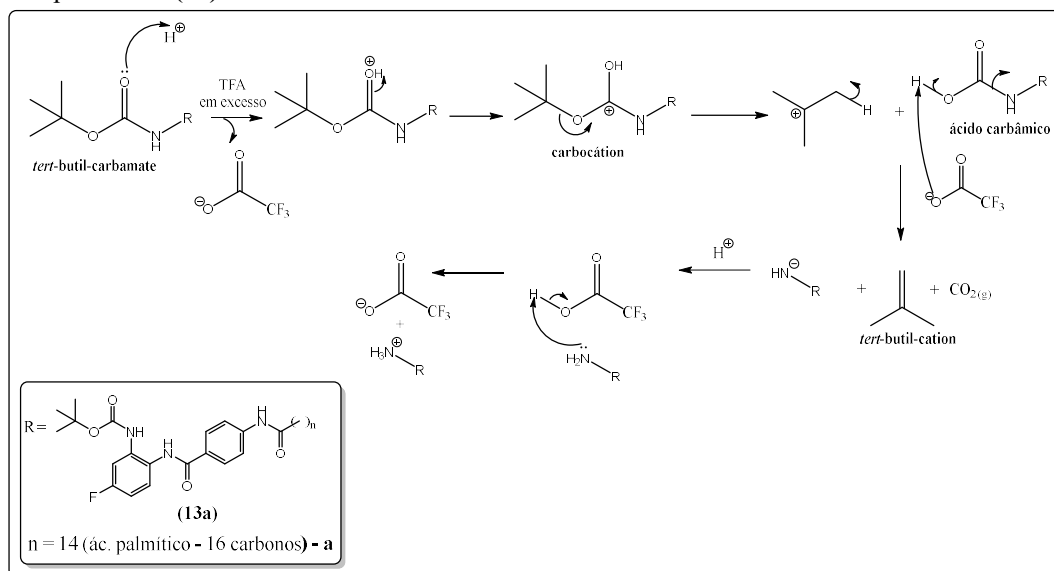
Fonte: autoria própria, 2023.

Os rendimentos obtidos para o intermediário **(13a)**, e o composto final **(1a)**, foram de 26 e 16%, respectivamente. Esses dados sugerem que o HATU, como agente acoplante, foi eficaz para a formação dos conjugados resultando nas amidas. Os baixos rendimentos observados ocorrem pelo impedimento estérico gerado pela longa cadeia volumosa de 16 carbonos do ácido graxo palmítico **(a)**. Além disso, **(13a)** possui um grupo BOC na posição *orto* em relação as aminas primárias, também ocasionando impedimento estérico. A remoção do grupo BOC de **(2a)** mostrou um rendimento de 24%, sendo o TFA em excesso um método eficaz para o obter o produto. O rendimento global para os compostos finais **(1a)** e **(2a)** foi de 14 e 3%, evidenciando que as metodologias utilizadas foram razoáveis.

O mecanismo para a desproteção de grupo BOC do produto final **(2a)** (Figura 30), consistiu no uso de excesso do ácido fraco trifluoroacético (TFA), envolvendo: a) protonação do *tert*-butil-carbamato por TFA; b) formação do carbocation; c) eliminação do grupo *t*-butil e formação de ácido carbâmico por sua perda; d) descarboxilação (desprotonação) do ácido carbâmico pelo ácido trifluoroacético (TFA), liberando a

amina livre e dióxido de carbono; d) protonação da amina em condições ácidas; e) formação da amina livre e sal de TFA (RACHEL VICTORIA KERR, 2020; SURYA K. DE., 2021).

Figura 30 - Mecanismo da desproteção BOC por TFA, do intermediário **(13a)** para gerar o composto final **(2a)**.



Fonte: RACHEL VICTORIA KERR, 2020; SURYA K. DE., 2021.

A caracterização estrutural do intermediário **(13a)** e compostos finais **(1a – 2a)**, foi realizada por IV e de RMN ¹H e ¹³C. A Tabela 7 mostra as características físico-químicas de cada composto e os valores de absorção de infravermelho, e a Tabela 8 mostra os deslocamentos químicos e as constantes dos intermediários por RMN.

Tabela 7 – Características físico-químicas e valores de absorção no infravermelho do intermediário **(13a)** e finais **(1a – 2a)**.

	 n = 14 (ác. palmítico – 16 carbonos) (13a)	 n = 14 (ác. palmítico – 16 carbonos) (2a)*	 n = 14 (ác. palmítico – 16 carbonos) (1a)
Características físico-químicas			
Rendimento percentual	26%	24%	16%
Rendimento global	-	47%	52%

Faixa de fusão	160 – 165 °C	160 – 168 °C	175 – 180 °C
Aspecto	Sólido vinho	Sólido laranja claro	Sólido bege
Valores de absorção no infravermelho			
Grupo funcional	Número de onda (cm⁻¹)	Número de onda (cm⁻¹)	Número de onda (cm⁻¹)
ν N-H aminas aromáticas	3383,14	3305,99	3307,92
δ N-H aminas aromáticas	1568,13	1519,91	1521,84
ν C-N aminas aromáticas	1402,25	1261,45	1328,95-1313,52
ν C=O amida	1633,71	1660,71	1658,78
ν C=O ester	1737,86	-	-
ν C-O ester	1101,35	-	-
(C-C(=O)-O) assimétrico			
ν C=C aromáticos	1614,42	1614,42	1608,63
δ -(CH ₂) _N - n $\geq$ 7	719,45	719,45	719,45

ν = estiramento; δ = deformação angular.

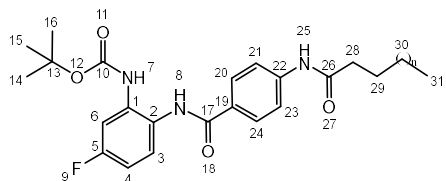
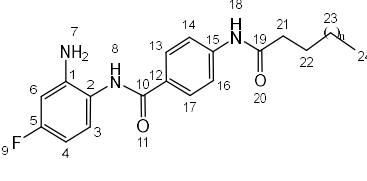
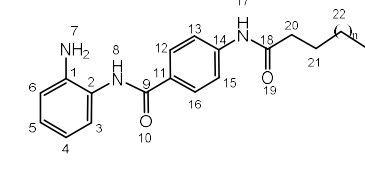
*Espectro com impurezas.

Fonte: autoria própria, 2023.

No espectro IV destes compostos (Tabela 7), verificou-se de modo semelhante nestes intermediários: o grupo amida por meio da banda C=O (banda amida I) como estiramento em 1633,71 (**13a**), 1660,71 (**2a**) e 1658,78 (**1a**) cm⁻¹, e da banda N-H (banda amida II) com deformação angular em 1568,13 (**13a**) 1519,91 (**2a**), e 1521,84 cm⁻¹ (**1a**). As aminas aromáticas podem ser visualizadas pelo estiramento da banda N-H em 3383,14 (**13a**), 3305,99 (**2a**), e 3307,92 cm⁻¹ (**1a**), e os estiramentos C-N em 1402,25 (**13a**), 1261,45 (**2a**), 1328,95-1313,52 (**1a**). O estiramento C=C dos aromáticos são observadas em 1614,42 (**13a**, **2a**) e 1608,63 cm⁻¹ (**1a**). Já os estiramentos C-H são observados como deformação angular em 719,45 cm⁻¹ (**13a**, **2a**, **1a**). Como diferencial o grupo éster presente em (**13a**), foi identificado pela banda C=O em estiramento em 1737,86 cm⁻¹, e pela vibração assimétrica mais importante de C-O, vista como estiramento em 1101,35 cm⁻¹.

Os resultados do RMN corroboram com as vibrações encontradas na análise de infravermelho, como se pode observar na Tabela 8.

Tabela 8 – Deslocamentos químicos e RMN ^1H e ^{13}C do intermediário (**13a**) e finais (**1a**, **2a**).

						
n = 12 (ác. palmítico – 16 carbonos) (13a)	n = 12 (ác. palmítico – 16 carbonos) (2a)*	n = 12 (ác. palmítico – 16 carbonos) (1a)				
Posição	δ ^1H	δ ^{13}C	δ ^1H	δ ^{13}C	δ ^1H	δ ^{13}C
1	-	129,56	-	113,54	-	123,12
2	-	126,44	-	104,45	-	126,25
3		139,61	6,54 (dd, J = 11,2; 2,9 Hz, 1H)	121,12	7,15 (d, J = 7,8 Hz, 1H)	115,89
3, 4	6,66 (m, 2H) Coalescência	-	-	-	-	-
4	-	129,16	6,35 (d, J = 3,0 Hz, 1H)	101,85	6,59 (td, J = 7,5 Hz; 1,5 Hz, 1H)	115,76
5	-	164,62	-	142,27	6,96 (dd, 1H) Coalescência	125,96
6	7,20 (d, J = 11,0 Hz, 1H)	127,38	7,09 (d, J = 2,3 Hz, 1H)	69,43	6,78 (dd, J = 8,0; 1,5 Hz, 1H)	118,58
7	8,41 (s, 1H)	-	5,19 (s, 2H)	-	4,87 (s, 2H)	-
8	10,17 (s, 1H)	-	10,12 (s, 1H)	-	10,12 (s, 1H)	-
9	-	-	-	-	-	171,31
10	-	153,94	-	172,61	-	-
11	-	-	-	-	-	123,12
12	-	-	-	99,03	-	-
12 e 16	-	-	-	-	7,93 (d, J = 8,4 Hz, 2H)	128,25
13	-	79,43	-	-	-	-
13 e 15	-	-	-	-	7,70 (d, J = 8,7 Hz, 2H)	117,68
13 e 17	-	-	7,92 (dd, J = 8,4 Hz, 2H)	128,55	-	-
14	-	-	-	-	-	141,75
14 e 16	-	-	7,69 (dd, J = 8,7 Hz, 2H)	117,93	-	-
14, 15 e 16	1,47 (s, 9H)	36,37	-	-	-	-
15	-	-	-	119,32	-	-
16	-	-	-	-	-	-

17	-	170,05	-	-	9,55 (s, 1H)	-
18	-	-	9, 48 (s, 1H)	-	-	142,74
19	-	121,69	-	158,71	-	-
20	-	-	-	-	2,33 (t, $J=7,4$ Hz, 2H)	36,09
20 e 24	7,92 (m, 2H) Coalescência	140,08	-	-	-	-
21	-	-	2, 33 (t, $J=7,4$ Hz, 2H)	50,76	1,59 (m, $J=7,4$ Hz, 2H)	21,71
21 e 23	7,73 (d, $J=8,8$ Hz, 2H)	129,69	-	-	-	-
22	-	153,06	1, 59 (m, 2H) Coalescência	24,37	1,26 (m, 24H) Coalescência	24,60 33,22 28,23 28,54 28,28 28,41 30,91 28,62 28,66 28,33 34,98 19,71
23	-	-	1, 23 (s, 24H)	24,81 36,35 28,54 31,18 28,59 28,80 33,54 28,89 28,93 28,67 45,99 21,99	0,85 (t, $J=6,9$ Hz, 3H)	13,59
24			0, 85 (t, $J=6,9$ Hz, 3H)	13,86	-	-
25	9,71 (s, 1H)	-	-	-	-	-
26	-	166,16	-	-	-	-
27	-	-	-	-	-	-
28	2,34 (t, $J=7,4$ Hz, 2H)	121,80	-	-	-	-
29	1,59 (p, $J=7,8$ Hz, 2H)	35,31	-	-	-	-
30	1,24 (d, $J=5,8$ Hz, 24H)	40,04 40,12 42,70 40,18 40,45 90,63	-	-	-	-

		47,87				
		51,91				
		40,42				
		121,61				
		25,40				
31	0,85 (t, $J = 6,9$ Hz, 3H)	14,72	-	-	-	-

RMN com impurezas.

Fonte: autoria própria, 2023.

Nas análises de ^1H observou-se em comum nos compostos (**13a**), (**2a**), (**1a**), o sinal do hidrogênio da amida na posição 8, com deslocamentos de 10,17 (**13a**) e 10,12 ppm (**2a**, **1a**), caracterizados como simpletos com integração de 1H. Assim como, o sinal da amida da posição 25 (**13a**), 18 (**2a**), 17 (**1a**), com deslocamentos de 9,71; 9,48 e 9,55 ppm, respectivamente, caracterizados com simpletos com integração de 1H. Os hidrogênios do grupo metil terminal da cadeia alifática, em (**13a**) na posição 31, (**2a**) na posição 24, e (**1a**) na posição 23, mostraram deslocamento de 0,85 ppm, caracterizado como um tripleto com integração de 3H, (**13a**), (**2a**), e (**1a**) mostraram $J = 6,9$ Hz, indicando acoplamento com os hidrogênios do carbono adjacente da cadeia alifática.

Em (**13a**) as posições 3 e 4 do anel aromático foram caracterizadas como multipletos, com integração de 2H, com deslocamento de 6,66 ppm, onde os sinais coalesceram com deslocamentos entre 6,64 – 6,67 ppm. O hidrogênio da posição 6 do anel mostrou um deslocamento de 7,20 ppm caracterizado como um duplete, com integração de 1H, e $J = 11,0$ Hz, indicando acoplamento em *orto* com o hidrogênio da amida na posição 7, este maior deslocamento dentre os ^1H do anel se deve ao efeito de ressonância e ao efeito indutivo do átomo eletronegativo flúor próximo, que desblindam este ^1H . A posição 7 refere-se ao hidrogênio da amida do grupo BOC protetor, que mostrou um deslocamento de 8,41 ppm, caracterizado como simpleto, com integração de 1H. As posições 14, 15 e 16 mostram os hidrogênios dos grupos metil do grupo BOC protetor, que se mostraram simétricos e equivalentes, com deslocamento de 1,47 ppm, caracterizado como um simpleto com integração de 9H. Os hidrogênios das posições 20 e 24 do anel aromático, mostraram-se equivalentes com um acoplamento de 7,92 ppm, caracterizado como duplete, com integração de 2H, que mostrou coalescência entre 7,86 – 7,97 ppm. As posições 21 e 23 mostraram hidrogênios do anel equivalentes com deslocamento de 7,73 ppm, caracterizado como um duplete, com integração de 2H, e $J = 8,8$ Hz, indicando acoplamento em *orto* com o hidrogênio da amida na posição 25. A

posição 28 refere-se ao hidrogênio do carbono alfa a carbonila da amida da cadeia alifática, com deslocamento de 2,34 ppm, caracterizado como um tripleto, com integração de 2H, e $J = 7,4$ Hz, indicando acoplamento com hidrogênios do carbono beta vizinho. A posição em 29 refere-se ao carbono beta a carbonila da amida da cadeia alifática, com deslocamento de 1,59 ppm caracterizado como um quintupletto, com integração de 2H, e $J = 7,8$ Hz, indicando acoplamento com os hidrogênios dos 2 carbonos adjacentes. A posição 30 refere-se aos hidrogênios da longa cadeia carbônica de 12 carbonos, que mostrou deslocamento de 1,24 ppm, caracterizado como dupletto, com integração de 24H e $J = 5,8$ Hz, indicando acoplamentos entre estes hidrogênios.

Em (2a), o hidrogênio na posição 3, mostrou um deslocamento de 6,54 ppm caracterizado como um duplo dupletto, com integração de 1H, e $J = 11,2; 2,9$ Hz, indicando que ocorre um acoplamento em *orto* com o hidrogênio da posição 4 e um acoplamento em *meta* com os hidrogênios da amina primária. O hidrogênio da posição 4 no anel mostrou deslocamento de 6,35 ppm, caracterizado como dupletto, com hidrogênio de 1H e $J = 3,0$ Hz, indicando acoplamento em *meta* com o hidrogênio da posição 6 do anel. O hidrogênio na posição 6 do anel mostrou deslocamento de 7,09 ppm, caracterizado como um dupletto, com integração de 1H, e $J = 2,3$ Hz, indicando acoplamento em *meta* com o hidrogênio do anel na posição 4. A posição 7 refere-se ao hidrogênio da amina primária do anel, que mostrou um deslocamento de 5,19 ppm, caracterizado como um simpleto, com integração de 2H. Os hidrogênios nas posições 13 e 17 do anel, são equivalentes e mostraram deslocamento de 7,92 ppm, caracterizado como duplo dupletto, com integração de 2H, e $J = 8,4$ Hz, mostrando acoplamento com o hidrogênio da posição 14 ou 16 do anel. Em paralelo, os hidrogênios nas posições 14 e 16 do anel são equivalentes com deslocamento de 7,69 ppm, com integração de 2 hidrogênios e $J = 8,7$ Hz, mostrando acoplamento com hidrogênio da posição 13 ou 17 do anel. O hidrogênio do carbono alfa á carbonila da amida da cadeia alifática, na posição 21, mostrou um deslocamento de 2,33 ppm, caracterizado como um tripleto, com integração de 2H, e $J = 7,4$ Hz mostrando um acoplamento com os hidrogênios do carbono beta adjacente. O carbono beta da cadeia alifática em relação a amida, na posição 22, mostrou um deslocamento de 1,59 ppm, caracterizado como multipletto, com integração de 2H, e que mostrou sinais de coalescência entre 1,56 – 1,62 ppm. A longa cadeia alifática de 12 carbonos, na posição 23 mostrou um deslocamento de 1,23 ppm, caracterizado como um simpleto com integração de 24H.

Em **(1a)** o hidrogênio na posição 3, mostrou um deslocamento de 7,15 ppm caracterizado como um duplete, com integração de 1H, e $J = 7,8$ Hz, indicando que ocorre um acoplamento em *orto* com o hidrogênio da posição 4, este maior deslocamento deve a este ^1H está mais desblindado que os demais do anel, por sua proximidade ao grupo amida eletronegativo (efeito indutivo) e efeito de ressonância. O hidrogênio da posição 4 no anel mostrou deslocamento de 6,59 ppm, caracterizado como triplo duplete, com hidrogênio de 1H e $J = 7,5$ Hz; 1,5 Hz, indicando acoplamento em *orto* com o hidrogênio da posição 3 do anel e em meta com o hidrogênio da posição 6 do anel. O hidrogênio na posição 5 do anel mostrou um deslocamento de 6,96 ppm, caracterizado como duplo duplete, com integração de 1H, com sinais coalescendo entre 6,93 – 6,99 ppm. O hidrogênio na posição 6 do anel mostrou deslocamento de 6,78 ppm, caracterizado como um duplo duplete, com integração de 1H, e $J = 8,0$; 1,5 Hz, indicando acoplamento em *orto* com o hidrogênio do anel na posição 5 e meta com o hidrogênio da posição 4. A posição 7 refere-se aos hidrogênios da amina primária do anel, que mostrou um deslocamento de 4,87 ppm, caracterizado como um simpleto, com integração de 2H. Os hidrogênios nas posições 12 e 16 do anel, são equivalentes e mostraram deslocamento de 7,93 ppm, caracterizado como duplete, com integração de 2H, e $J = 8,4$ Hz, indicando acoplamento com o hidrogênio do anel na posição 13 ou 15. Em paralelo, os hidrogênios nas posições 13 e 15 do anel são equivalentes com deslocamento de 7,70 ppm, com integração de 2 hidrogênios e $J = 8,7$ Hz, indicando acoplamento com o hidrogênio do anel na posição 12 ou 16. O hidrogênio do carbono alfa á carbonila da amida da cadeia alifática, na posição 20, mostrou um deslocamento de 2,33 ppm, caracterizado como um tripleto, com integração de 2H, e $J = 7,4$ Hz mostrando um acoplamento com os hidrogênios do carbono beta adjacente. O carbono beta da cadeia alifática em relação a amida, na posição 22, mostrou um deslocamento de 1,59 ppm, caracterizado como multiplete, com integração de 2H, e $J = 7,4$ Hz. A longa cadeia alifática de 12 carbonos, na posição 22 mostrou um deslocamento de 1,26 ppm, caracterizado como um multiplete com integração de 24H, e coalescência entre 0,92 – 1,47 ppm.

Na análise de ^{13}C , **(13a)** mostrou 9 carbonos quaternários nas posições, 1, 2, 5, 10, 13, 17, 19, 22, e 26, com deslocamentos em: 129,56; 126,44; 164,62; 153,94; 79,43; 170,05; 121,69; 153,06; e 166,16 ppm, respectivamente. No composto **(2a)** verificou-se a presença de 7 carbonos quaternários, nas posições 1, 2, 5, 10, 12, 15 e 19, que mostraram deslocamentos de 113,54; 104,45; 142,27; 172,61; 99,03; 119,32; 158,71

ppm. No composto (**1a**) verificou-se 6 carbonos quaternários, nas posições 1, 2, 9, 11, 14 e 18, que mostraram deslocamentos de 123,12; 126,25; 171,31; 123,12; 141,75; e 142,74 ppm.

Em (**13a**) os carbonos do 1º anel aromático nas posições 3, 4 e 6, mostraram deslocamentos de 139,61; 129,16 e 127,38 ppm. Os carbonos do grupo BOC protetor nas posições 14, 15 e 16 são simétricos, equivalentes, e mostraram um único deslocamento de 36,37 ppm. Os carbonos do 2º anel aromático nas posições 20 e 24 são equivalentes e mostraram um deslocamento de 140,08 ppm; assim como os das posições 21 e 23, também equivalentes, com deslocamento de 129,69 ppm. O carbono alfa da cadeia alifática em relação a amida, na posição 28, mostrou um deslocamento de 121,80 ppm; e o carbono beta, na posição 29, mostrou um deslocamento de 35,31 ppm. Os demais 12 carbonos da cadeia alifática, identificados pela posição 30, mostraram deslocamentos entre 25,40 a 121,61 ppm com sobreposição de 1 sinal dos carbonos. O carbono metil da cadeia alifática, na posição 31, mostrou um deslocamento de 14,72 ppm.

Em (**2a**) os carbonos do 1º anel aromático nas posições 3, 4 e 6, mostraram deslocamentos de 121,12; 101,85 e 69,43 ppm. Os carbonos do 2º anel aromático nas posições 13 e 17 são equivalentes e mostraram um deslocamento de 128,55 ppm; assim como os das posições 14 e 16 também equivalentes com deslocamento em 117,93 ppm. O carbono alfa da cadeia alifática em relação a amida, na posição 21, mostrou um deslocamento de 50,76 ppm; e o carbono beta, na posição 22, mostrou um deslocamento de 24,37 ppm. Os demais 12 carbonos da cadeia alifática, identificados pela posição 23, mostraram deslocamentos entre 21,99 a 45,99 ppm. O carbono metil da cadeia alifática, na posição 24, mostrou um deslocamento de 13,86 ppm.

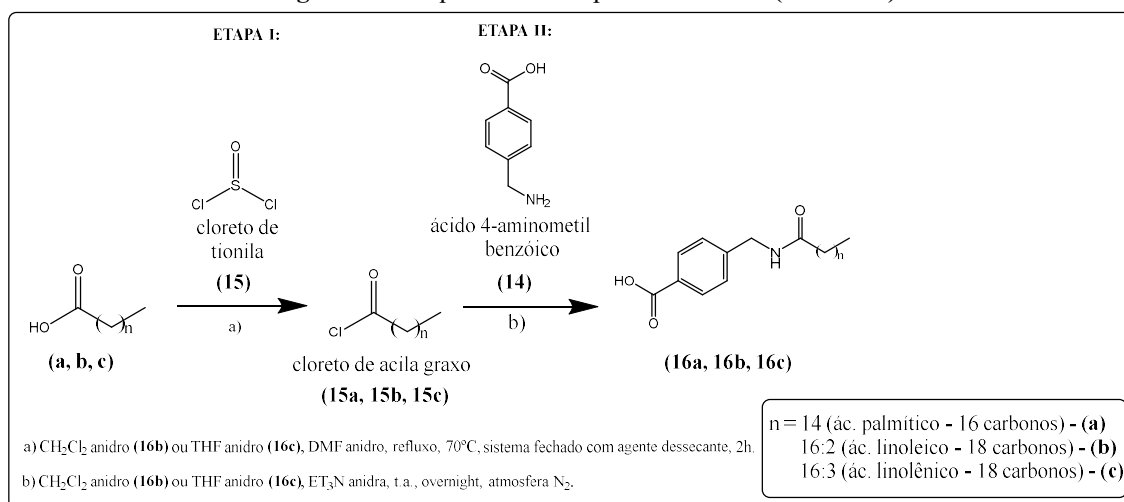
Em (**1a**) os carbonos do 1º anel aromático nas posições 3, 4, 5 e 6, mostraram deslocamentos de 115,89; 115,76; 125,96 e 118,58 ppm. Os carbonos do 2º anel aromático nas posições 12 e 16 são equivalentes e mostraram um deslocamento de 128,25 ppm; assim como os das posições 13 e 15 também equivalentes com deslocamento em 117,68 ppm. O carbono alfa da cadeia alifática em relação a amida, na posição 20, mostrou um deslocamento de 36,09 ppm; e o carbono beta, na posição 21, mostrou um deslocamento de 21,71 ppm. Os demais 12 carbonos da cadeia alifática, identificados pela posição 22, mostraram deslocamentos entre 19,1 a 34,98 ppm. O carbono metil da cadeia alifática, na posição 23, mostrou um deslocamento de 13,59 ppm.

4.3 Síntese e caracterização dos compostos da série B

4.3.1 Síntese e caracterização dos intermediários (16a, 16b e (16c)

Para a síntese dos intermediários (**16a**, **16b**, **16c**) planejou-se uma preparação *one pot*, onde em uma primeira etapa obteve-se o cloreto de acila do ácido graxo (**15a-15c**). Após, em uma segunda etapa, obteve-se os ácidos graxos conjugados intermediários (**16a-16c**), pelo acoplamento dos cloretos de acila (**15a-15c**) com ácido-4-(aminometil) benzoico (**14**) (PAMBA) (Figura 31).

Figura 31 - Esquemas das etapas sintéticas de (**16a – 16c**).



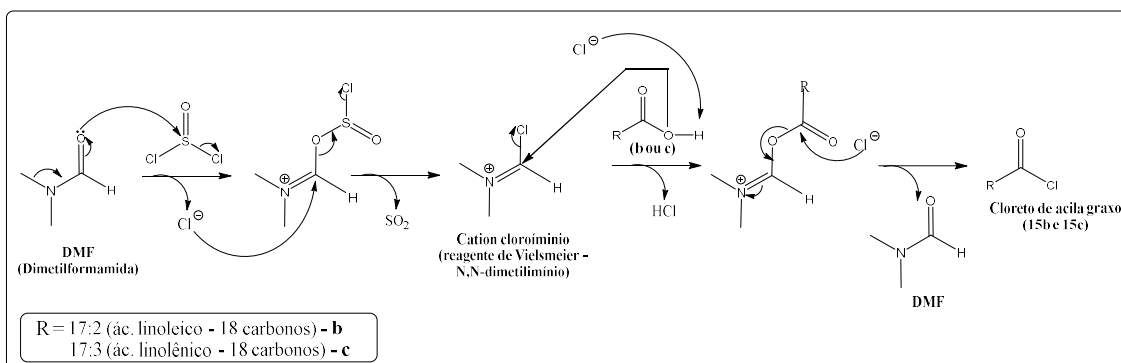
Fonte: autoria própria, 2023.

O rendimento obtido para (**16a**) foi de 11%, (**16b**) de 23%, e para (**16c**) de 4%, sendo este último insatisfatório e com muitas impurezas vistas na análise do espectro de RMN, mesmo com a tentativa de purificação por cromatografia. Os compostos (**16a**) e (**16b**) apresentaram melhores solubilidades no solvente diclorometano, enquanto para (**16c**) a melhor solubilidade foi encontrada para o solvente THF. Acredita-se que a baixa solubilidade de (**16c**) possa ser o fator limitante do baixo rendimento observado. Além disso, os métodos utilizados proporcionam rendimentos baixos, devido o cloreto de acila ser um composto instável com rápida degradação.

Na etapa I, o ácido carboxílico é tratado com excesso de cloreto de tionila em presença de solvente inerte, THF ou DCM, até a completa conversão ao cloreto de acila. O excesso de cloreto de tionila é removido por evaporação a pressão reduzida. Como,

representado na Figura 32, o DMF, age como agente catalisador reagindo com cloreto de tionila para gerar o cátion cloroíminio (reagente de Vielsmeier – *N,N*-dimetilimínio). O ataque do ácido carboxílico no cátion, forma um intermediário, que ao reagir com o cloreto na carbonila forma o ácido halogênico e regenera o DMF. (ALAN R. KATRITZKY, CHARLES WAYNE REES, CHRISTOPHER J. MOODY, 2003; CARON, 2020).

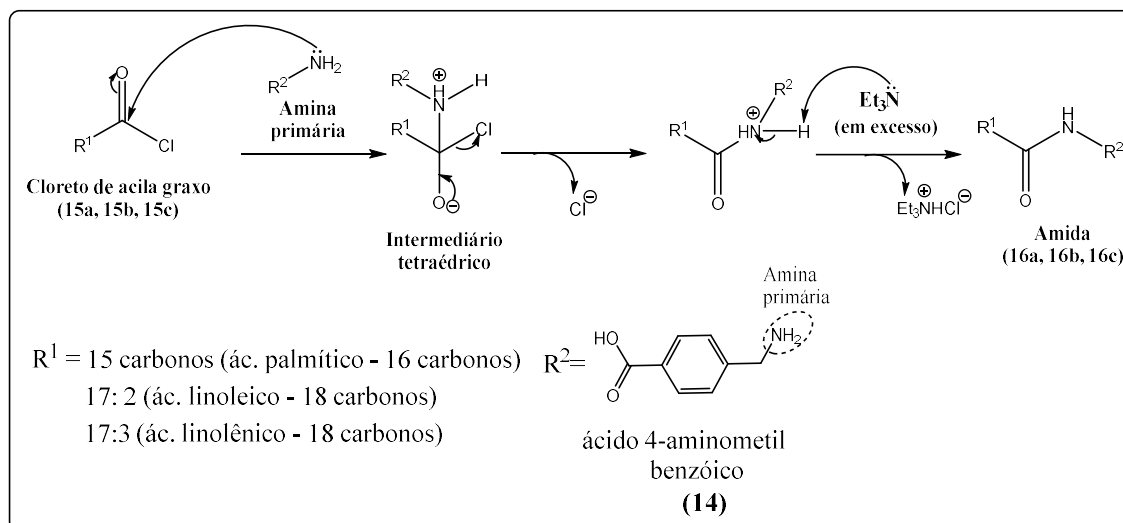
Figura 32 - Etapa I da reação *one pot* para gerar os intermediários (**16b** e **16c**). Mecanismo da conversão de ácido carboxílico graxo (**b** e **c**) em cloretos de acila graxos (**15b** e **15c**) pelo uso de DMF como catalisador.



Fonte: ALAN R. KATRITZKY, CHARLES WAYNE REES, CHRISTOPHER J. MOODY, 2003.

Na etapa II, para a formação da amida, realiza-se a acilação de amina de (**14**) pelo mecanismo disposto na figura 33, onde ocorre: a) reação do cloreto de acila graxo (derivado ácido – (**15a**, **15b** e **15c**)) com a amina primária, pelo ataque desta amina nucleófila no carbono carbonila do cloreto de acila, eliminando o íon cloreto e criando a ligação C-N em um intermediário tetraédrico; b) a base em excesso (excesso de amina, pelo uso de trietilamina) desprotona o sal de amônio (cátion) formando a amida (produto final – (**16a**, **16b** e **16c**)), e o íon cloreto reage com o íon trimetilamônio, formando o sal cloreto de trimetilamônio. Este é método mais eficiente para a formação de amidas, devido a estabilização conjugativa do par de eletrons solitario do nitrogênio (KATRITZKY et al., 2003).

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**).



Fonte: (KATRITZKY et al., 2003).

A caracterização estrutural do intermediário (**16a** e **16b**), foi realizada por espectrofotometria na região do infravermelho (IV) e de RMN ^1H e ^{13}C . Até o momento, o intermediário (**16c**), ainda não foi caracterizado estruturalmente por IV, devido ausência de massa. A Tabela 9 mostra as características físico-químicas de cada composto e os valores de absorção de infravermelho dos intermediários (**16a** e **16b**). A Tabela 10 mostra os deslocamentos químicos e as constantes do intermediário por RMN de (**16a**, **16b** e **16c**).

Tabela 9 – Características físico-químicas e valores de absorção no infravermelho dos intermediários (**16a** e **16b**).

 n = 14 (ác. palmítico – 16 carbonos) (16a) n = 16 (ác. linoleico – 18 carbonos) (16b)		
Características físico-químicas		
Rendimento	11%	23%
Faixa de fusão	120 – 135 °C	-
Aspecto	Sólido branco	Semissólido amarelo claro
Valores de absorção no infravermelho		
Grupo funcional	Número de onda (cm⁻¹)	Número de onda (cm⁻¹)

ν N-H amida alifática	3296,35	3292,49
δ N-H amida alifática (banda II)	1539,20	1533,41
ν C=O amida alifática (banda I)	1714,72	1683,86
ν C=C aromáticos	1641,42	1639,49
ν C-N amida alifática	1288,45	1323,17
ν C=O ác. carboxílico	1714,72	1683,86
ν O-H ác. carboxílico	2920,23	2927,94
δ -(CH ₂) _N - n $\geq$ 7	719,45	721,38

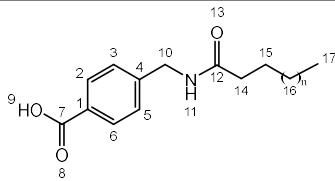
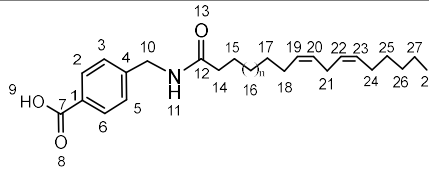
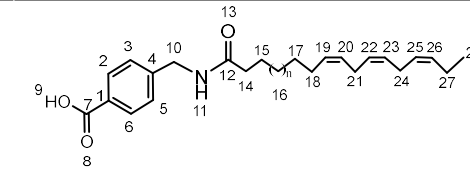
ν = estiramento; δ = deformação angular.

Fonte: autoria própria, 2023.

No espectro IV dos compostos (**16a** e **16b**) (Tabela 9), verificou-se: o grupo amida, C=O (banda amida I), como estiramento em 1714,72 cm⁻¹ (**16a**), 1683,86 cm⁻¹ (**16b**), e banda N-H (banda amida II) com deformação angular em 1539, 20 cm⁻¹ (**16a**), 1533,41 cm⁻¹ (**16b**). Aminas alifáticas vistas pelo estiramento da banda N-H em 3296,35 cm⁻¹ (**16a**), 3292, 49 cm⁻¹ (**16b**), banda C-N como estiramento em 1288,45 cm⁻¹ (**16a**), 1323, 17 cm⁻¹, e a deformação angular da banda N-H. Os estiramentos C=C dos aromáticos ocorrem como estiramentos em 1641,42 cm⁻¹ (**16a**), 1639, 49 cm⁻¹ (**16b**). Já o estiramento C-H aparece como deformação angular em 719,45 cm⁻¹ (**16a**), 721,38 cm⁻¹. A presença do grupo ácido carboxílico é identificada pela banda C=O em 1714,72 cm⁻¹ (**16a**), 1683,86 cm⁻¹ (**16b**).

Os resultados do RMN corroboram com as vibrações encontradas na análise de infravermelho dos compostos (**16a** e **16b**), como se pode ver na Tabela 10.

Tabela 10 – Deslocamentos químicos e RMN ¹H e ¹³C dos intermediários (**16a**, **16b**, **16c**).

						
n = 12 (ác. palmítico – 16 carbonos) (16a)	n = 3 (ác. linoleico – 18 carbonos) (16b)	n = 3 (ác. linolênico – 18 carbonos) (16c)*				
Posição	δ ¹H	δ ¹³C	δ ¹H	δ ¹³C	δ ¹H	δ ¹³C
1	-	145,14	-	129,20	-	145,04
2 e 6	7,88 (t, <i>J</i> = 8,6 Hz, 2H)	129,49	7,89 (d, <i>J</i> = 7,9 Hz, 2H)	129,73	7,89 (dd, <i>J</i> = 14,8; 7,8 Hz, 2H)	129,49
3 e 5	7,35 (dd, <i>J</i> = 11,9; 8,0 Hz, 2H)	127,28	7,34 (d, <i>J</i> = 8,0 Hz, 2H)	127,11	7,44 (dd, <i>J</i> = 8,3; 6,4 Hz, 2H)	127,30

4	-	167,35	-	144,98	-	165,03
7	-	172,47	-	167,17	-	167,22
8	-	-	-	-	-	-
9	-	-	-	-	-	-
10	4,36 (m, 2H) Coalescência	41,91	4,32 (d, $J = 6,0$ Hz, 2H)	41,76	4,31 (d, $J = 6,0$ Hz, 2H)	144,37
11	9, 65 (s, 1H)	-	8,38 (t, $J = 6,1$ Hz, 1H)	-	10, 09 (s, 1H)	-
12	-	174,68	-	172,32	-	172,36
13	-	-	-	-	-	-
14	2,18 (tt, $J = 25,8; 7,4$ Hz, 2H)	35,46	5,33 (m, 2H) Coalescência	35,30	2,14 (t, $J = 7,3$ Hz, 2H)	138,14
15	1,49 (m, $J = 21,8; 7,4$ Hz, 2H)	24,66	-	26,62	1,51 (m, 2H) Coalescência	29,04
15, 16, 17, 18, 21, 24, 25, 26, 27	-	-	1,25 (m, 24 H) Coalescência	-	-	-
16	1,23 (s, 24H)	25,43 32,20 28,71 29,14 28,72 28,90 31,46 29,17 29,21 24,87 33,82 22,26	-	28,62 28,99 28,61	-	41,90 118,38 113,79
17	0,85 (t, $J = 3, 4$ Hz, 3H)	14,13	-	28,70	-	42,65
16 e 17	-	-	-	-	1,24 (d, $J = 12,2$ Hz, 8H)	-
18	-	-	-	26,72	-	35,34
18 e 27	-	-	-	-	2,01 (m, 4H) Coalescência	-
19	-	-	-	129,32	-	129,54
19 e 20	-	-	2,14 (q, 2H)	-	-	-
19, 20, 22, 23, 25, 26	-	-	-	-	5,33 (m, 6H) Coalescência	-
20	-	-	-	127,76	-	128,08
21	-	-	-	25,26	-	28,61
21, 24	-	-	-	-	2,82 (m, 4H) Coalescência	-

22	-	-	-	127,74	-	128,19
22 e 23	-	-	2,02 (q, J = 6,9 Hz, 2H)	-		
23	-	-	-	129,70	-	123,39
24	-	-	-	28,56	-	28,66
25	-	-	-	30,88	-	127,17
26	-	-	-	41,76	-	132,57
27	-	-	-	21,95	-	25,31
28	-	-	0,85 (t, J = 7.0 Hz, 3H)	13,91	0,85 (m, 3H) Coalescência	30,74

* RMN com impurezas.

Fonte: autoria própria, 2023.

Na análise de ^1H em (**16a**, **16b** e **16c**), os principais grupos que indicam a ocorrência do acoplamento são: anel aromático derivado do ácido 4-(aminometil)benzoico; amida; cadeia alquílica derivada do ácido palmítico e insaturações derivadas do ácido linoleico e linolênico.

A presença do anel aromático é indicada pelos hidrogênios nas posições equivalentes 2 e 6 e 3 e 5. Sendo os hidrogênios das posições 2 e 6 equivalentes, com deslocamentos de 7,88 ppm (**16a**) e 7,89 ppm (**16b** e **16c**), estes podem caracterizados como tripleto, duplete e duplo duplete respectivamente, integrando para 2 hidrogênios e com constante de acoplamento de $J = 7,8 - 14,8$ Hz indicando acoplamento em *orto* com os hidrogênios das posições 3 e 5. Os hidrogênios 3 e 5 também são equivalentes, com deslocamentos de 7,35 (**16a**), 7,34 (**16b**) e 7,44 (**16c**) ppm, caracterizados como duplo duplete (**16a**, **16c**) e duplete (**16b**), integração de 2 hidrogênios e $J = 6,4 - 11,9$ Hz, indicando acoplamento com hidrogênios das posições 2 e 6.

A presença da amida é indicada pelo hidrogênio na posição 11, com integração de 1 hidrogênio e deslocamentos de 9,65 (**16a**), 8,38 (**16b**) e 10,09 ppm (**16c**), onde (**16a** e **16c**) caracterizaram-se como simpletos, e (**16b**) caracterizou-se como tripleto com $J = 6,1$ Hz sugerindo o acoplamento em *orto* com os hidrogênios na posição 10 (adjacentes).

A cadeia alquílica derivada do ácido palmítico em (**16a**), é indicada pelos hidrogênios na posição 16, com deslocamento de 1,23 ppm e integração de 24 hidrogênios. Em (**16b** e **16c**), as insaturações derivadas da cadeia graxa do ácido linoleico e linolênico, são indicadas em (**16b**) pelos hidrogênios nas posições 19 e 20 (equivalentes), e 22 e 23 (equivalentes), com integração de 2 hidrogênios e deslocamentos de 2,14 e 2,02 ppm respectivamente, ambos caracterizados como

quadrupletos; e em **(16c)** pelos hidrogênios nas posições 19 e 20; 22 e 23 e 25 e 26, que são equivalentes entre si, e mostraram deslocamento de 5,33 ppm, caracterizado como multipeto, com integração de 6H, ocorrendo coalescência entre 5, 27 – 5,39 ppm.

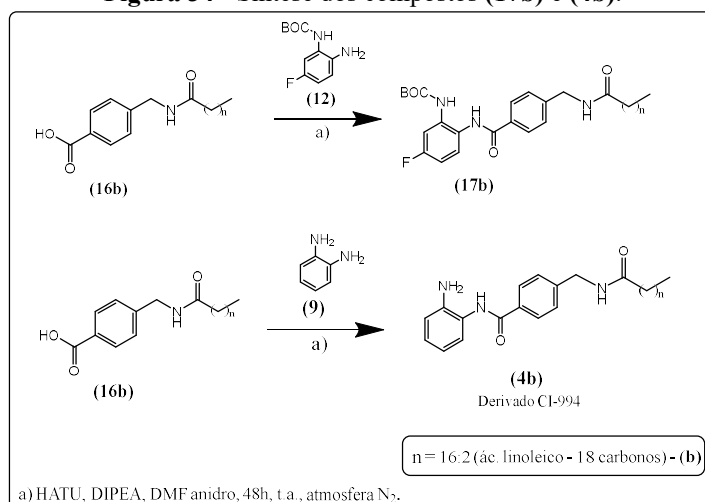
Na análise dos espectros de ^{13}C , observou-se principalmente em comum a presença dos 4 carbonos quaternários, indicados pelas posições 1, 4, 7 e 12, com deslocamentos, respectivamente, em: **(16a)**: 145,14; 167,35; 172,47; e 174,68 ppm; **(16b)**: 129,20; 144,98; 167,17 e 172,32 ppm; **(16c)**: 145,04; 165,03; 167,22 e 172,36 ppm.

4.3.2 Síntese do composto intermediário (17b) e composto final (4b)

A obtenção do intermediário **(17b)** e do composto final **(4b)**, um derivado do CI-994, foi conduzida de forma similar ao acoplamento descrito para os intermediários **(8a-8c)** (item 4.2.1) e **(13a)** (item 4.3.3) e por isso não serão novamente apresentados aqui.

Dessa maneira, para se gerar **(17b)**, planejou-se acoplar o intermediário graxo derivado do ácido 4-(aminometil) benzóico (PAMBA), **(16b)**, contendo a função ácido carboxílico, com a arilamina que possui o átomo de flúor presente na posição-4 (*para* em relação a amina) **(12)**, resultando no grupo amida (Figura 34). Em contrapartida, para gerar o produto final **(4b)**, como diferencial utilizou-se a arilamina sem flúor para o acoplando, resultando do grupo amida. O mecanismo está descrito na Figura 26 (item 4.2.1).

Figura 34 - Síntese dos compostos (17b) e (4b).



Fonte: autoria própria, 2023.

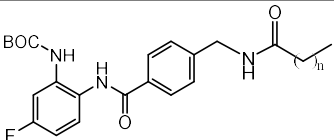
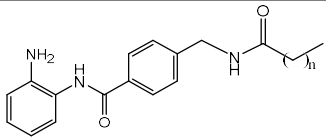
Assim, como foi descrito para gerar o intermediário **(13a)**, o átomo de flúor presente na posição *para* em relação a amina em **(12)** é um átomo retirador de elétrons

por efeito indutivo, o que reduz a nucleofilicidade desta posição. Por outro lado, esse efeito não afeta a nucleofilicidade na posição *meta*-NH₂, sendo assim, foi necessária a proteção dessa posição com grupo Boc-anidrido.

Para obter **(4b)**, contendo duas aril minas **(9)**, optou-se por realizar a reação sem a proteção e tentar trabalhar com controle da estequiometria. Assim, trabalhou-se com excesso da *o*-fenilenodiamina **(9)** na proporção de 1,4 eq. mol⁻¹, e 1 eq. mol⁻¹ do acoplante HATU em relação ao intermediário graxo.

O rendimento para **(17b)** foi de 42% e para **(4b)** foi de 27%, sendo razoáveis devido o impedimento estérico gerado pela longa cadeia alquílica derivada do ácido linoleico e também pelo grupo BOC da arilamina **(12)**. O rendimento global para obter o final **(4b)** foi de 6%. A caracterização estrutural do intermediário **(17b)** e do final **(4b)**, se deu por espectros de infravermelho (IV) e de RMN ¹H e ¹³C. A Tabela 11 mostra as características físico-químicas de cada composto e seus os valores de absorção de infravermelho. A Tabela 12 mostra os deslocamentos químicos e as constantes de **(17b e 4b)** por RMN.

Tabela 11 - Características físico-químicas e valores de absorção no infravermelho do intermediário **(17b)** e final **(4b)**.

 n = 16:2 (ác. linoleico – 18 carbonos) (17b)  n = 16:2 (ác. linoleico – 18 carbonos) (4b)		
Características físico-químicas		
Rendimento	42%	27%
Faixa de fusão	–	154 – 168 °C
Aspecto	Semissólido marrom	Sólido laranja claro
Valores de absorção no infravermelho		
Grupo funcional	Número de onda (cm ⁻¹)	Número de onda (cm ⁻¹)
v N-H amida	3444,87	3311,78
δ N-H amida (banda II)	1539,20	1527,62
v C=O amida (banda I)	1653,00	1639,49
v C=O ester	1653,00	-
v C-O ester	1159,22	-
(C-C(=O)-O)	assimétrico	
v C=C aromáticos	1616,36	1602,85
v C-N amida	1276,88	1305,81
δ -(CH₂)_N- n ≥ 7	725,23	744,52

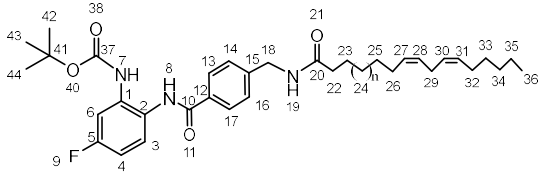
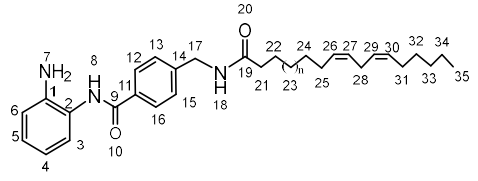
v = estiramento; δ = deformação angular.

Fonte: autoria própria, 2023.

No espectro IV destes compostos (Tabela 11), verificou-se de modo semelhante nestes intermediários: o grupo amida, banda C=O (banda amida I), como estiramento em 1653,00 (**17b**) e 1639,49 cm^{-1} (**2b**), e a banda N-H (banda amida II) com deformação angular em 1539,20 (**17b**) e 1527,62 cm^{-1} (**2b**). As aminas aromáticas podem ser visualizadas pelo estiramento da banda N-H em 3383,14 (**17b**) e 3305,99 cm^{-1} (**2b**), e os estiramentos C-N em 1276,88 (**17b**) e 1305,81 cm^{-1} (**2b**). O estiramento C=C dos aromáticos são observadas em 1616,36 (**17b**) e 1602,85 cm^{-1} (**2b**). Já os estiramentos C-H são observados como deformação angular em 725,23 (**17b**) e 744,52 cm^{-1} (**2b**). Como diferencial o grupo éster presente em (**17b**), foi identificado pela banda C=O em estiramento em 1653,00 cm^{-1} sobrepondo a banda I da amida, e pela vibração assimétrica mais importante de C-O, vista como estiramento em 1159,22 cm^{-1} .

Os resultados do RMN corroboram com as vibrações encontradas na análise de infravermelho dos compostos (**17b** e **4b**), como se pode ver na Tabela 12.

Tabela 12 - Deslocamentos químicos e RMN ^1H e ^{13}C do intermediário (**17b**) e final (**4b**).

					
n = 3 (ác. linoleico – 18 carbonos) (17b)			n = 3 (ác. linoleico – 18 carbonos) (4b)		
Posição	δ ^1H	δ ^{13}C	δ ^1H	δ ^{13}C	
1	-	134,29	-	143,10	
2	-	125,16	-	127,75	
3	-	110,39	7,17 (m, 1H) Coalescência	126,45	
3, 4	6,94 (m, 2H) Coalescência	-	-	-	
4	-	109,37	6,60 (td, $J = 7,5, 1,5$ Hz, 1H)	126,64	
5	-	160,44	6,97 (td, $J = 7,6, 1,6$ Hz, 1H)	133,13	
6	7,47 (ddd, $J = 26,3, 10,0, 4,6$ Hz, 1H)	80,27	6,79 (dd, $J = 8,0, 1,4$ Hz, 1H)	123,35	
7	9,79 (s, 1H)	-	4,33 (s, 2H)	-	
8	8,77 (s, 1H)	-	9,63 (s, 1H)	-	
9	-	-	-	165,09	

10	-	165,67	-	-
11	-	-	-	133,03
12	-	132,64	-	-
12 e 16	-	-	7,93 (d, $J = 7,9$ Hz, 2H)	127,77
13	-	128,43	-	-
13 e 15	-	-	7,36 (d, $J = 8,0$ Hz, 2H)	126,84
13 e 17	7,89 (d, $J = 7,9$ Hz, 2H)	-	-	-
14 e 16	7,37 (d, $J = 8,0$ Hz, 2H)	128,37	-	-
15	-	144,06	-	-
16	-	-	-	-
17	-	127,13	4,33 (d, $J = 6,0$ Hz, 2H)	41,72
18	4,32 (d, $J = 6,0$ Hz, 2H)	35,48	8,38 (t, $J = 6,0$ Hz, 2H)	-
19	8,42 (t, $J = 6,1$ Hz, 1H)	-	-	172,26
20	-	172,59	-	-
21	-	-	2,15 (t, $J = 7,4$ Hz, 2H)	36,35
22	1,52 (q, $J = 7,1, 6,6$ Hz, 2H)	31,02	1,53 (p, $J = 7,2$ Hz, 2H)	25,22
23	-	25,45	-	29,02 28,64 26,63
23, 24, 31, 32, 33	-	-	1,27 (m, 16H)	-
24	-	28,14 28,76 28,70	-	28,71
25	-	28,84	-	26,60
25 e 30	-	-	2,02 (qd, $J = 7,8, 7,3, 2,8$ Hz, 4H)	-
23, 24, 25, 33, 34, 35, 42, 43, 44	1,25 (m, 25H) Coalescência	-	-	-
26	-	26,73	-	129,72
26, 27, 29, 30	-	-	5,33 (m, 4H)	-
26 e 32	2,07 (m, 2H) Coalescência	-	-	-
27	-	-	-	116,15
27 e 31	-	129,85	-	-
28	-	-	2,74 (t, $J = 6,7$ Hz, 2H)	25,30

28 e 30	-	127,91	-	-
27, 28, 30, 31	5,31 (ddd, $J = 14,4, 10,7, 8,1$ Hz, 4H)	-	-	-
29	2,71 (t, 2H)	25,35	-	116,27
30	-	-	-	129,75
31	-	-	-	26,63
32	-	26,76	-	28,57
33	-	29,14	-	30,89
34	-	30,84	-	21,96
35	-	22,10	0,86 (t, 2H)	13,92
36	0,83 (t, $J = 6,8$ Hz, 3H)	14,06	-	-

Fonte: autoria própria, 2023.

Na análise de ^1H em **(17b e 4b)**, os principais grupos que indicam a ocorrência do acoplamento são: amina **(4b)**; amidas; anel aromático derivado das aril aminas; anel aromático do intermediário **(16b)**; insaturações da cadeia alquílica derivada do ácido linoleico.

A presença das amidas em **(17b)** é indicada pelos hidrogênios nas posições 7, 8 e 19, onde 7 e 8 são caracterizados como simpletos com deslocamentos de 9,79 e 8,77 ppm com integração de 1 hidrogênio, onde 7 indica a existência do grupamento BOC por estar mais desblindado devido sua maior proximidade do fluor; e 19 mostrou-se como um tripleto com deslocamento de 8,42 ppm. Em **(4b)** as amidas são indicadas pelos hidrogênios nas posições 8 e 18, com deslocamentos respectivamente de, 9,63 ppm como simpleto e 8,38 ppm, ambos com integração de 1 hidrogênio. 19 **(17b)** e 18 **(4b)**, mostraram-se como tripletos devido acoplamento com os hidrogênios adjacentes de 18 **(17b)** e 17 **(4b)**, $J = 6,1$ Hz e $J = 6,0$ Hz. Como diferencial **(4b)** possui uma amina livre indicada pelo hidrogênio na posição 7, com deslocamento de 4,33 ppm, integração de 2 hidrogênios caracterizado como simpleto.

A presença do anel aromático derivado das aril aminas é indicada pelos hidrogênios nas posições 3, 4, 6 e em **(4b)** também na posição 5. Em **(17b)** 3 e 4 são equivalentes com deslocamento de 6,94 ppm, caracterizado como multipeto e integração de 2 hidrogênios; enquanto 6, mostrou um deslocamento de 7,47 ppm, caracterizado como duplo duplo dupeto, relativo a seu acoplamento com o flúor, com $J = 26,3$ Hz; em *orto* com a amida, $J = 10,0$ Hz, e por fim acoplamento em *meta* com o hidrogênio em 4, $J = 4,6$ Hz. Em **(4b)** 3, 4, 5 e 6, mostraram deslocamentos respectivamente de 7,17 ppm (m, 2h), 6,60 (td, $J = 7.5, 1.5$ Hz), 6,97 (td, $J = 7.6, 1.6$ Hz, 1H), 6,79 (dd, $J = 8.0, 1.4$ Hz, 1H), ambos com integração de 1 hidrogênio; onde 3

por estar mais desblindado devido sua proximidade da amida em 7, está mais deslocado e como multipeto pode estar acoplado a este hidrogênio.

A presença do anel aromático derivado de **(16b)** é indicada em **(17b)** pelos pares de hidrogênios nas posições 13 e 17; 14 e 16; e em **(4b)**, pelos pares nas posições 12 e 16; 13 e 15. Estes pares de mostraram-se equivalentes, com integração de 2 hidrogênios e acoplamentos em *orto* com o hidrogênio adjacente no anel.

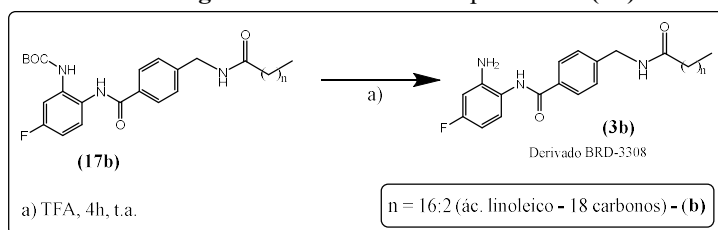
As insaturações derivadas da cadeia alquílica do ácido linoleico, são indicadas pelos hidrogênios nas posições em **(17b)** 27,28, 30 e 31; e em **(4b)** 26, 27, 29 e 30. Nestes dois compostos, todos estes hidrogênios mostraram-se equivalentes, em **(17b)** com integração de 4 hidrogênios, deslocamento de 5,31 ppm, como duplo duplo dupeto, e $J = 14,4, 10,7, 8,1$ Hz, indicando acoplamentos em *orto* entre si; e em **(4b)** com integração de 4 hidrogênios, deslocamento de 5,33 ppm, e caracterizado como multipeto hipoteticamente devido os acoplamentos entre seus hidrogênios.

Na análise dos espectros de ^{13}C , observou-se principalmente em comum a presença dos carbonos quaternários, indicados pelas 9 posições em **(17b)** em 1, 2, 5, 10, 12, 15, 20, 37 e 41, com respectivos deslocamentos em 134,29; 125,16; 160,44; 165,67; 132,64; 144,06; 172,59; 153,15; 41,85 ppm; e em **(4b)** pelas 6 posições em 1, 2, 9, 11, 14 e 19, com respectivos deslocamentos em 143,10; 127,75; 165,09; 133,03; 143,37; 172,26 ppm.

4.3.3 Síntese do composto final (3b)

A remoção do grupo BOC de **(17b)** foi realizada em meio contendo excesso do ácido trifluoroacético (TFA), levando ao composto final **(3b)** (Figura 35 - derivado do BRD-3308). O método foi semelhante ao utilizado para o composto **(2a)**, cujo mecanismo está descrito no item 4.2.3, e dessa maneira não será descrito aqui.

Figura 35 - Síntese do composto final (3b).

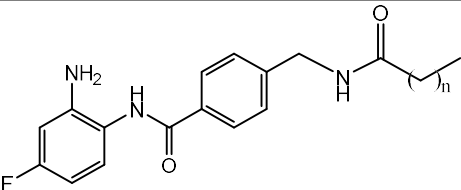


Fonte: autoria própria, 2023.

A reação mostrou um rendimento razoável de 32%, sugerindo que a desproteção com TFA em excesso pode ser um método utilizado para o obter o produto **(3b)**. Para

este produto final o rendimento global observado foi de 2%. A caracterização estrutural do final (**3b**), se deu por espectrofotometria na região do infravermelho (IV) e de RMN ^1H e ^{13}C . A Tabela 13 mostra suas características físico-químicas e seus os valores de absorção na região do infravermelho. A Tabela 12 mostra os deslocamentos químicos e as constantes de (**3b**) por RMN.

Tabela 13 - Características físico-químicas e valores de absorção no infravermelho do composto final (**3b**).

 n = 16:2 (ác. linoleico – 18 carbonos) (3b)*	
Características físico-químicas	
Rendimento	32%
Faixa de fusão	165-188°C
Aspecto	Sólido amarelo claro
Valores de absorção no infravermelho	
Grupo funcional	Número de onda (cm ⁻¹)
ν N-H amida	3273,20
δ N-H amida (banda II)	1541,12
ν C=O amida (banda I)	1653,00
ν C=C aromáticos	1558,48
ν C-N amida	1384,89
δ -(CH ₂) _n - n $\geq$ 7	725,23

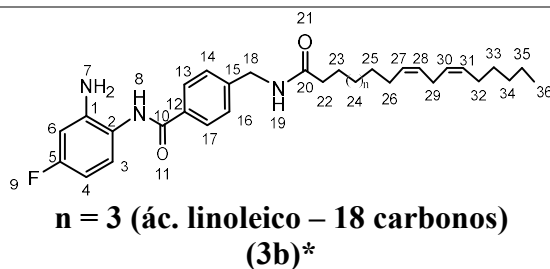
ν = estiramento; δ = deformação angular.

*Espectro com impurezas.

Fonte: autoria própria, 2023.

No espectro IV destes compostos (Tabela 13), verificou-se: grupo amida, banda C=O (banda amida I), como estiramento em 1653,00 cm⁻¹, e banda N-H (banda amida II) com deformação angular em 1541,12 cm⁻¹. As amins podem ser visualizadas pelo estiramento da banda N-H em 3273,20 cm⁻¹, e os estiramentos C-N em 1384,89 cm⁻¹. O estiramento C=C dos aromáticos são observadas em 1558,48 cm⁻¹. Já os estiramentos C-H são observados como deformação angular em 725,23 cm⁻¹.

Os resultados do RMN corroboram com as vibrações encontradas na análise de infravermelho do composto (**3b**), como se pode ver na Tabela 14.

Tabela 14 - Deslocamentos químicos e RMN ^1H e ^{13}C do composto final (**3b**).

Posição	δ ^1H	δ ^{13}C
1	-	157,56
2	-	133,12
3	6,53 (m, 1H) Coalescência	126,86
4	4,52 (d, $J = 6,0$ Hz, 2H)	126,04
5	-	173,68
6	5,05 (s, 1H)	122,63
7	5,84 (s, 2H)	-
8	7,69 (s, 1H)	-
9	-	-
10	-	165,78
11	-	-
12	-	162,94
13	-	-
13 e 17	7,86 (d, $J = 7,9$ Hz, 2H)	128,12
14 e 16	7,39 (d, $J = 7,9$ Hz, 2H)	127,85
15	-	162,73
16	-	-
17	-	-
18	3,64 (m, 2H) Coalescência	43,24
19	7,19 (t, $J = 7,2$ Hz, 1H)	-
20	-	191,96
21	-	-
22	2,76 (m, 2H) Coalescência	36,89
23	-	27,25
23, 26, 32	2,28 (m, 6H) Coalescência	-
24	-	29,86
25	-	30,19
24, 25, 33, 34, 35	1,25 (m, 14H) Coalescência	-
26	-	29,40
27	-	134,29
27, 28, 30, 31	5,41 (m, 4H) Coalescência	-

28	-	127,45
29	2, 99 (m, 2H) Coalescência	32,08
30	-	127,35
31	-	133,59
32	-	29,29
33	-	30,24
34	-	31,56
35	-	25,86
36	0,88 (t, 3H)	14,27

*RMN com impurezas

Fonte: autoria própria, 2023.

Na análise de ^1H em **(3b)**, os principais grupos que indicam a presença do produto desejado são: amina; amidas; anel aromático derivado da aril amina **(12)**; anel aromático do intermediário **(16b)**; e insaturações da cadeia alquílica derivada do ácido linoleico.

A presença da amina é indicada pelo hidrogênio na posição 7, com deslocamento de 5,84 ppm, integração de 2 hidrogênios, caracterizado como um simpleto, indicando assim a retirada de sua proteção por anidrido-BOC. As amidas são indicadas pelos hidrogênios nas posições 8 e 19, ambos com integração de 1 hidrogênio, onde 8 mostrou um deslocamento de 7,69 ppm como simpleto e 19 mostrou-se como tripleto com deslocamento de 7,19 ppm, devido acoplamento em *orto* aos 2 hidrogênios da posição 18 ($J = 7,2$ Hz).

O anel aromático derivado da aril amina **(12)**, é indicado pelos hidrogênios nas posições 3, 4 e 6, cada um com integração de 1 hidrogênio. 3 mostrou-se como um multiplete com deslocamento de 6,54 ppm, devido sua proximidade a amida deixando-o mais desblindado e provável acoplamento com hidrogênio da amida. 4 mostrou-se como um duplete com deslocamento de 4,52 ppm, $J = 6,0$ Hz, indicando acoplamento *orto* com 3; 6 mostrou-se como simpleto, com deslocamento de 5,05 ppm.

O anel aromático derivado do intermediário **(16b)**, é indicado pelos pares hidrogênios nas posições 13 e 17; e 14 e 16. Estes pares mostraram-se equivalentes, com integração de 2 hidrogênios cada, onde 13 e 17 mostrou um deslocamento de 7,86 ppm, caracterizado como duplete devido $J = 7,9$ Hz, indicando acoplamento em *orto* com os hidrogênios de 14 ou 16; 14 e 16 mostrou um deslocamento de 7,39 ppm, como

um duplete relativo a acoplamento em *orto* com os hidrogênios do anel 13 ou 17, devido $J = 7,9$ Hz.

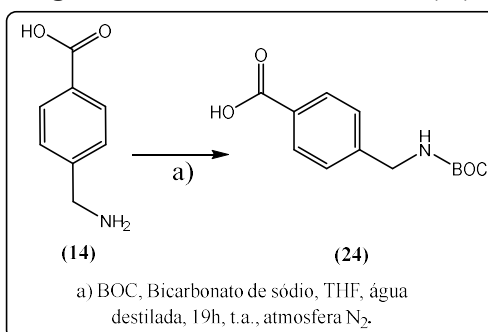
As insaturações da cadeia alquílica derivada do ácido linoleico são indicadas pelos hidrogênios nas posições 27, 28, 30 e 31, que se mostraram equivalentes com deslocamento de 5,41 ppm, como multiplete e integração de 4 hidrogênios.

Na análise dos espectros de ^{13}C , observou-se principalmente a presença dos carbonos quaternários, indicado pelas posições 1, 2, 5, 10, 12, 15 e 20, com respectivos deslocamentos em 157,56; 133,12; 173,68; 165,78; 162,94; 162,73 e 191,96 ppm.

4.3.4 Síntese do intermediário (24)

A obtenção do intermediário 24, consistiu no tratamento da amina primária de (14) em solução aquosa, com BOC-anidrido em presença de base fraca bicarbonato de sódio (GAWEL et al., 2020; ZHANG, 2017). A Figura 36 representa o método de obtenção do composto (24).

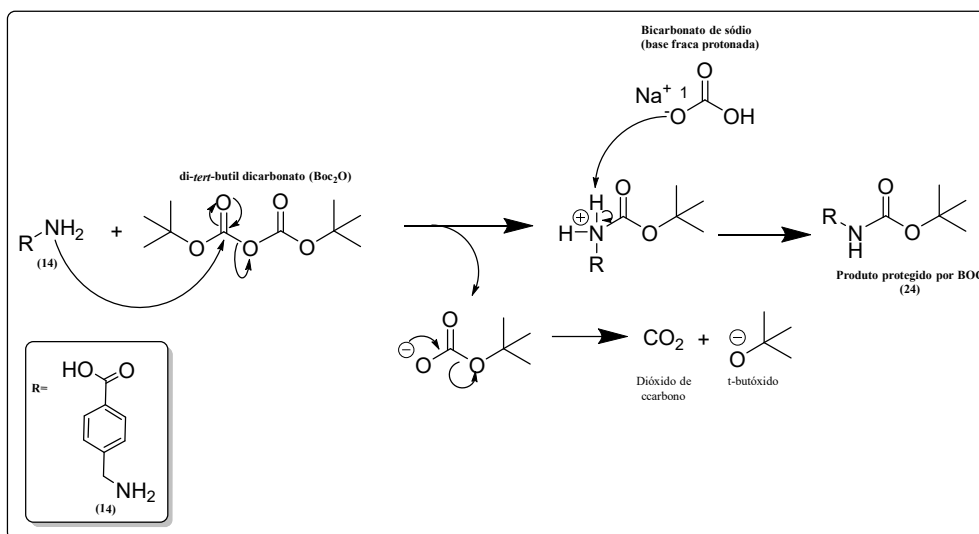
Figura 36 - Síntese do intermediário (24).



Fonte: autoria própria, 2023.

O mecanismo desta reação resulta no grupo *N-Boc* carbamato. Assim, inicialmente a amina primária ataca a carbonila do di-*tert*-butil dicarbonato (Boc_2O), promovendo uma acilação, formando a amina protegida protonada, e resultando em *t*-butil carbonato que se cliva em gás dióxido de carbono e *t*-butóxido. Por fim, a base desprotona a amina protonada, levando a formação da amina protegida (CHEMISTRY, 2023). A Figura 37 ilustra o mecanismo.

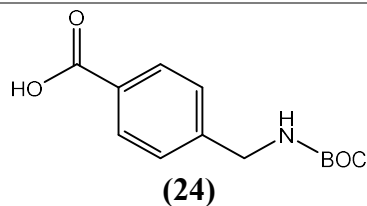
Figura 37 - Mecanismo de proteção de amina por BOC-anidrido e uso de base do intermediário (24).



Fonte: Chemistry, 2023.

A reação mostrou um rendimento de 50%, sendo este um método eficiente para o obter o produto. A caracterização estrutural do intermediário (24), se deu por espectros de infravermelho (IV) e de RMN ^1H e ^{13}C . A Tabela 14 mostra suas características físico-químicas e seus os valores de absorção de infravermelho. A Tabela 15 mostra os deslocamentos químicos e as constantes de (24) por RMN.

Tabela 15 - Características físico-químicas e valores de absorção no infravermelho do composto final (24).



Características físico-químicas	
Rendimento	50%
Faixa de fusão	140 – 166 °C
Aspecto	Sólido branco
Valores de absorção no infravermelho	
Grupo funcional	Número de onda (cm ⁻¹)
ν N-H amina aromática	3356,14
δ N-H amina aromática	1508,33
ν C=O amida, ác carboxílico, ester	1685,79
ν C=C aromáticos	1612,49
ν C-N amina aromática	1323,17
ν O-H ác. carboxílico	2981,95
ν C-O ester; (C-C(=O)-O)	1168,86 assimétrico

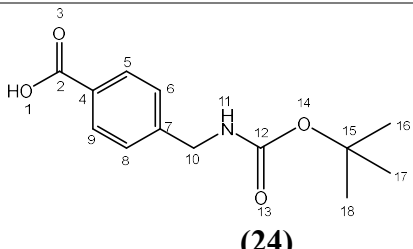
ν = estiramento; δ = deformação angular.

Fonte: autoria própria, 2023.

No espectro IV destes compostos (Tabela 15), verificou-se de modo semelhante nestes intermediários: o grupo amida por meio da banda C=O (banda amida I) como estiramento em $1685,79\text{ cm}^{-1}$, e da banda N-H (banda amida II) com deformação angular em $1508,33\text{ cm}^{-1}$. As aminas aromáticas podem ser visualizadas pelo estiramento da banda N-H em $3356,14\text{ cm}^{-1}$, e os estiramentos C-N em $1323,17\text{ cm}^{-1}$. O estiramento C=C do anel aromáticos é observado em $1612,49\text{ cm}^{-1}$. O grupo éster relativo ao BOC, foi identificado pela banda C=O em estiramento em $1685,79\text{ cm}^{-1}$ sobrepondo a banda I da amida, e pela vibração assimétrica mais importante de C-O, vista como estiramento em $1168,86\text{ cm}^{-1}$. Enquanto a função ácido carboxílico, é vista pela banda C=O também sobrepondo a banda I da amida e éster, em $1685,79\text{ cm}^{-1}$ e pela banda O-H vista como estiramento largo em $2981,95\text{ cm}^{-1}$.

Os resultados do RMN corroboram com as vibrações encontradas na análise de infravermelho do composto **(3b)**, como se pode ver na Tabela 16.

Tabela 16 - Deslocamentos químicos e RMN ^1H e ^{13}C do intermediário **(24)**.

 (24)		
Posição	$\delta\ ^1\text{H}$	$\delta\ ^{13}\text{C}$
1	-	-
2	-	173,48
3	-	-
4	-	145,33
5	-	-
5 e 9	7,89 (d, $J = 8,2\text{ Hz}$, 2H)	126,89
6	-	-
6 e 8	7,34 (d, $J = 8,0\text{ Hz}$, 2H)	129,37
7	-	77, 97
8	-	-
9	-	-
10	4,18 (d, $J = 6,2\text{ Hz}$, 2H)	43,21
11	7,47 (t, $J = 6,2\text{ Hz}$, 1H)	-
12	-	167,24
13	-	-
14	-	-

15	-	77,97
16	-	-
16, 17 e 18	1, 39 (s, 9H)	28,24
17	-	-
18	-	-

Fonte: autoria própria, 2023.

Na análise de ^1H em **(24)**, os principais grupos que indicam a ocorrência do acoplamento são: amidas (advinda do acoplamento com grupo BOC); anel aromático derivado de **(14)**; e hidrogênios do grupo BOC.

A presença da amida é indicada pelo hidrogênio na posição 11, com deslocamento em 7,47 ppm, caracterizado como tripleto por acoplamento com os hidrogênios adjacentes em 10 devido $J = 6,2$ Hz, e integração de 1 hidrogênio.

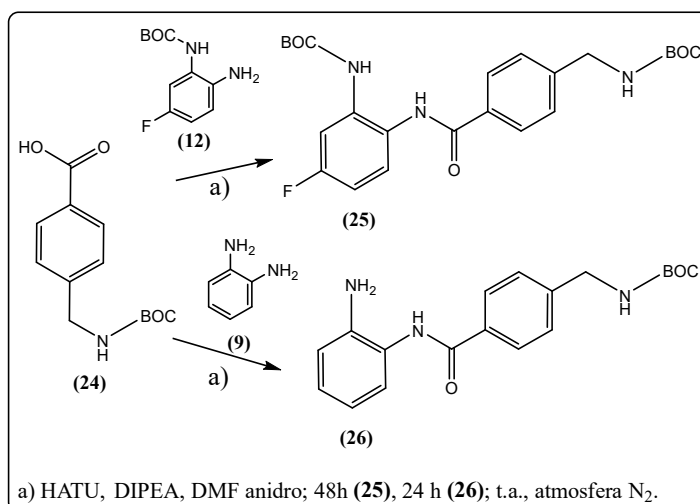
A presença do anel aromático é indicada pelos pares hidrogênios equivalentes nas posições 5 e 9; e 6 e 8. Estes pares de hidrogênios mostraram respectivos deslocamentos em 7,89 e 7,34 ppm, integração de 2 hidrogênios, caracterizados como dupletos e com acoplamento em *orto* com o par de hidrogênios adjacentes do anel, $J = 8,2$ e 8,0 Hz.

A presença dos hidrogênios referentes ao grupo BOC, é indicada pelas posições 16, 17 e 18. Estes hidrogênios foram equivalentes com deslocamento em 1,39 ppm, e integração de 9 hidrogênios.

4.3.6 Síntese dos intermediários (25 e 26)

A obtenção dos intermediários **(25 e 26)**, foi conduzida de forma similar ao acoplamento descrito para os intermediários **(8a-8c)** (item 4.2.1) e **(13a)** (item 4.3.3), por uso do acoplante HATU e base DIPEA e por isso não serão novamente apresentados aqui.

Dessa maneira, para se gerar **(25 e 26)**, acoplou-se a função ácido carboxílico do intermediário derivado do ácido 4-(aminometil) benzóico (PAMBA) **(24)**, cuja amina está protegida por grupo BOC, com as arilaminas sem **(9)** e com flúor **(12)**, resultando no grupo amida (Figura 38). O mecanismo está descrito na Figura 26 (item 4.2.1).

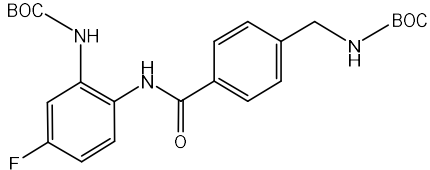
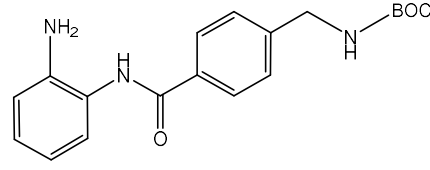
Figura 38 - Esquema das sínteses dos intermediários **(25 e 26)**.

Fonte: autoria própria, 2023.

As reações mostraram rendimentos de 61% **(25)** e 88% **(26)**, mostrando a eficiência do uso de HATU e DIPEA para acoplamento de formação de amidas, **(25)** mostrou um menor rendimento devido os dois reagentes **(12 e 24)** possuírem o grupo BOC ocasionando impedimento estérico. Além disso, da mesma maneira citada em reações anteriores, para obter **(25)** a proteção na arilamina em *meta* em **(12)**, foi necessária para o acoplamento ocorrer na amina em *para* em relação ao flúor, que por ser um grupo retirador de elétrons reduz a nucleofilicidade da *para*-NH₂. Além disso **(24)** teve sua amina também protegida por BOC, para evitar o impedimento estérico na reação de reagentes com aminas livres e inclusive evitar um possível acoplamento da amina primária da metil-amina **(14)** com seu próprio grupo ácido carboxílico formando amida indesejada. Em **(9)** a proteção não era requerida uma vez que sua proporção levemente em excesso 1,4 eq. mol⁻¹ em relação a **(24)** leva a formação da amida almejada.

A caracterização estrutural dos intermediários **(25 e 26)**, se deu por espectros de infravermelho (IV) e de RMN ¹H e ¹³C. A Tabela 17 mostra suas características físico-químicas e seus os valores de absorção de infravermelho. A Tabela 18 mostra os deslocamentos químicos e as constantes de **(25 e 26)** por RMN.

Tabela 17 - Características físico-químicas e valores de absorção no infravermelho dos intermediários (25). e (26).

 (25)  (26)		
Características físico-químicas		
Rendimento	61%	82%
Faixa de fusão	–	103 – 160 °C
Aspecto	Semissólido marrom escuro	Sólido amarelo claro
Valores de absorção no infravermelho		
Grupo funcional	Número de onda (cm ⁻¹)	Número de onda (cm ⁻¹)
ν N-H amina aromática	3329,14	3340,71
δ N-H amina aromática	1525,69	1525,69
ν C=O amida	1697,36	1685,79
ν C=O ester	1697,36	1685,79
ν C=C aromáticos	1614,42	1622,33
ν C-N amina aromática	1278,81	1267,23
ν C-O ester (C-C(=O)-O)	1159,22	1166,93

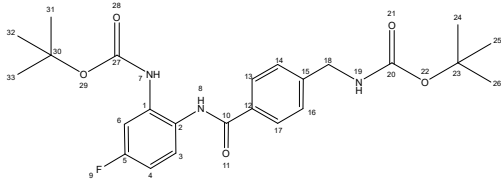
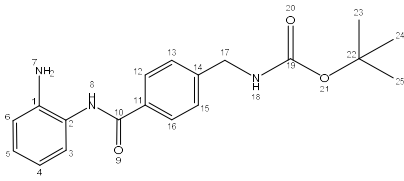
ν = estiramento; δ = deformação angular.

Fonte: autoria própria, 2023.

No espectro IV destes compostos (Tabela 17), verificou-se de modo semelhante nestes intermediários: o grupo amida, banda C=O (banda amida I), com estiramento em 1697,36 cm⁻¹ (25) e 1685,79 cm⁻¹ (26), e banda N-H (banda amida II) com deformação angular em 1525,69 cm⁻¹ (25) e (26). As aminas aromáticas podem ser visualizadas pelo estiramento da banda N-H em 3329,14 cm⁻¹ (25) e 3340,71 cm⁻¹ (26), e os estiramentos C-N em 1278,81 cm⁻¹ (25) e 1267,23 cm⁻¹ (26). O estiramento C=C do anel aromáticos é observado em 1614,42 cm⁻¹ (25) e 1622,33 cm⁻¹ (26). O grupo éster relativo ao BOC, foi identificado pela banda C=O em estiramento em 1697,36 cm⁻¹ (25) e 1685,79 cm⁻¹ (26) sobrepondo a banda I da amida, e pela vibração assimétrica mais importante de C-O, vista como estiramento em 1159,22 cm⁻¹ (25) e 1166,93 cm⁻¹ (26).

Os resultados do RMN corroboram com as vibrações encontradas na análise de infravermelho dos compostos (25 e 26), como se pode ver na Tabela 18.

Tabela 18 - Deslocamentos químicos e RMN ^1H e ^{13}C do intermediário (25 e 26).

 (25)  (26)				
Posição	δ ^1H	δ ^{13}C	δ ^1H	δ ^{13}C
1	-	132,95	-	143,10
2	-	128,77	-	126,45
3	-	125,49	7,48 (t, $J = 6,3$ Hz, 1H)	-
4	-	110,74	6,98 (m, 1H) Coalescência	-
3 e 4	7,37 (d, $J = 8,0$ Hz, 2H)	-	-	116,14
5	-	160,79	7,17 (m, 1H) Coalescência	116,28
6	6,96 (td, $J = 8,4, 3,0$ Hz, 1H)	109,69	6,79 (dd, $J = 8,0, 1,5$ Hz, 1H)	123,36
7	8,73 (s, 1H)	-	4,88 (s, 2H)	-
8	9,75 (s, 1H)	-	9,62 (s, 1H)	-
9	-	-	-	-
10	-	166,09	-	165,17
11	-	-	-	133,03
12	-	134,65	-	-
12 e 16	-	-	7,93 (d, $J = 7,9$ Hz, 2H)	127,78
13 e 15	-	-	7,36 (d, $J = 7,9$ Hz, 2H)	126,64
13 e 17	7,89 (d, $J = 7,9$ Hz, 2H)	128,20	-	-
14 e 16	7,45 (m, 2H) Coalescência	127,26	-	-
14	-	-	-	143,74
15	-	144,77	-	-
17	-	-	4,20 (d, $J = 6,2$ Hz, 2H)	43,17
18	4,18 (d, $J = 6,2$ Hz, 1H)	43,61	6,61 (td, $J = 7,5, 1,4$ Hz, 1H)	-
19	8,44 (s, 1H)	-	-	155,83
20	-	156,34	-	-
21	-	-	-	-
22	-	-	-	77,94
23	-	78,52	-	-
23, 24 e 25	-	-	1,41 (s, 9H)	28,24
24, 25 e 26	1,43 (s, 9H)	28,68	-	-
30	-	80,64	-	-

31, 32 e 33	1,38 (s, 9H)	28,43	-	-
--------------------	--------------	-------	---	---

Fonte: autoria própria, 2023.

Na análise de ^1H em **(25 e 26)**, os principais grupos que indicam a ocorrência do acoplamento são: amina **(26)**, amidas; anéis aromáticos derivados das arilaminas **(9 e 12)** e da metil-amina **(24)**.

A amina primária presente somente em **(26)** é indicada pela posição 7, com deslocamento de 4,88 ppm, caracterizado como simpleto e integração de 2 hidrogênios.

A presença das amidas é indicada em **(25)** pelos hidrogênios nas posições 7 (indicação de acoplamento com grupo BOC), 8 (indicação de acoplamento com **(24)**), e 19 (indicação de acoplamento com grupo BOC advindo de **(24)**), com respectivos deslocamentos em 8,73; 9,75 e 8,44 ppm, ambos caracterizados como simpletos com integração de 1 hidrogênio. Em **(26)** a amida é indicada pelos hidrogênios nas posições 8 e 18, com deslocamentos de 9,62 e 6,61 ppm, ambos com integração de 1 hidrogênio, onde 8 (indica acoplamento com **(24)**) se mostrou como simpleto e 18 (que sugere o acoplamento com o grupo BOC advindo de **(24)**), como triplo duplete, $J = 7,5, 1,4$ Hz, devido acoplamento com os hidrogênios de 17.

O anel aromático derivado das arilaminas em **(25)** é indicado pelos hidrogênios nas posições 3, 4 e 6, onde 3 e 4 foram equivalentes com deslocamento de 7,37 ppm, como duplete, $J = 8,0$ Hz indicando acoplamento com hidrogênio adjacente, e integração de 2 hidrogênios; 6 mostrou um deslocamento de 6,96 ppm, com integração de 1 hidrogenio, como triplo duplete, devido acoplamento com o flúor em 9 e hidrogênio da amida em 7. Em **(26)** o anel é indicado pelos hidrogênios nas posições 3, 4, 5 e 6, cada um com integração de 1 hidrogenio e deslocamentos de 7,48; 6,98; 7,17 e 6,79 ppm, onde especialmente 3 se mostrou como um tripleto indicando acoplamento em *orto* com hidrogênio 5 do anel ($J = 6,3$ Hz); e 6 se mostrou como duplo duplete devido acoplamento *orto* com o hidrogênio 4 do anel ($J = 8,0$ Hz) e *para* com hidrogênio 6 ($J = 1,5$ Hz).

O anel aromático derivado da metil-amina **(24)** é indicado em **(25)** pelos pares hidrogênios nas posições 13 e 17; e 14 e 16; e em **(26)** pelos pares 12 e 16; e 13 e 15. Os hidrogênios de cada par mostraram-se equivalentes, cada par com integração de 2 hidrogênios. Em **(25)** 13 e 17 mostraram um deslocamento de 7,89 ppm, como duplete com acoplamento em *orto* com um dos hidrogênios do par adjacente do anel ($J = 7,9$ Hz); e 14 e 16 mostraram deslocamento de 7,45 ppm, como multiplete. Em **(26)** 12 e

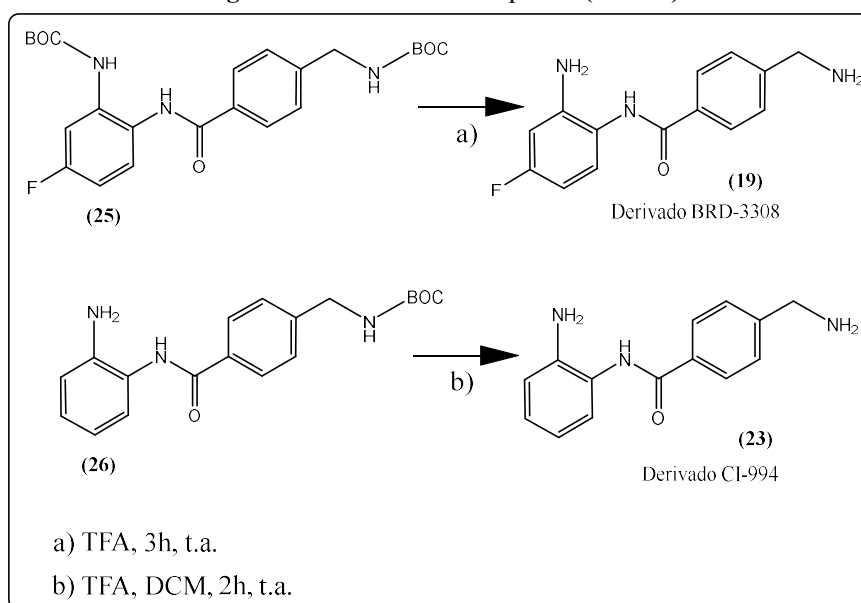
16; e 13 e 15. mostraram respectivos deslocamentos de 7,93 ppm e 7,36 ppm, cada par acoplando em *orto* ($J = 7,9$ Hz), com um dos hidrogênios do par adjacente no anel.

Na análise de ^{13}C foi possível verificar principalmente a presença dos 10 carbonos quaternários em **(25)** nas posições 1, 2, 5, 10, 12, 15, 20, 23, 27 e 30, com deslocamentos em: 132,95; 128,77; 160,79; 166,09; 134,65; 144,77; 156,34; 78,52; 153,48 e 80,64 ppm. Em **(26)** verificou-se os 7 carbonos quaternários em: 143,10; 126,45; 165,17; 133,03; 143,74; 155,83 e 77,94.

4.3.7 Síntese dos compostos finais (19 e 23)

A remoção do grupo BOC de **(25 e 26)** consistiu no uso de excesso do ácido trifluoroacético (TFA), levando aos compostos finais **(19 e 23)** (Figura 39), onde **(19)** deriva-se do BRD-3308, que é seletivo para HDAC-3; e **(23)** derivado do CI-994, não seletivo para a HDAC-3. O método foi semelhante ao utilizado para o composto **(2a)**, cujo mecanismo está descrito no item 4.2.3 (Figura 30), e dessa maneira não será descrito aqui.

Figura 39 - Síntese dos compostos (19 e 23).



Fonte: autoria própria, 2023.

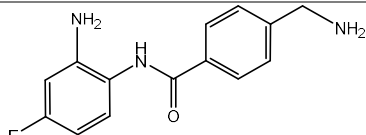
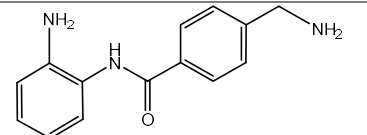
As reações mostraram rendimentos de 60% **(19)** e 33% **(23)**, mostrando o TFA como agente razoável para a remoção do grupo BOC. Estes rendimentos devem-se ao impedimento estérico causado pelo grupo BOC. Em particular, **(23)** mostrou baixa

solubilidade em TFA, fator agravante para o rendimento, assim, foi necessário uso de diclorometano e adição do TFA em banho de gelo devido reação exotérmica.

O rendimento global, envolvendo todas as etapas anteriores, para obter **(19)** e **(23)** foi de 10 e 15%, respectivamente.

A caracterização estrutural dos compostos finais **(19 e 23)**, foi realizada por espectrofotometria na região do infravermelho (IV) e de RMN ^1H e ^{13}C . A Tabela 19 mostra suas características físico-químicas e seus os valores de absorção de infravermelho. A Tabela 20 mostra os deslocamentos químicos e as constantes de **(19 e 23)** por RMN.

Tabela 19 - Características físico-químicas e valores de absorção no infravermelho dos compostos finais **(19)** e **(23)**.

 (19)*	 (23)*	
Características físico-químicas		
Rendimento	60%	33%
Faixa de fusão	—	—
Aspecto	Semissólido marrom escuro	Semissólido amarelo claro
Valores de absorção no infravermelho		
Grupo funcional	Número de onda (cm ⁻¹)	Número de onda (cm ⁻¹)
ν N-H amina aromática	3444,87	3446,79
δ N-H amina aromática	1514,12	1494,83
ν C=O amida	1683,86	1647,21
ν C=C aromáticos	1633,71	1616,35
ν C-N amina aromática	1207,47	1136,07

ν = estiramento; δ = deformação angular.

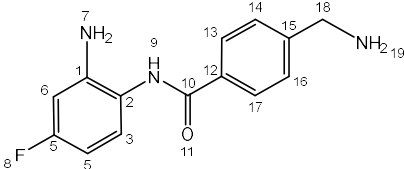
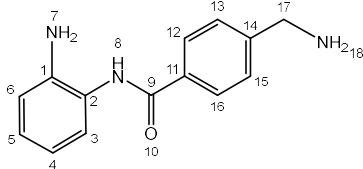
*Espectro com impurezas.

Fonte: autoria própria, 2023.

No espectro IV destes compostos (Tabela 19), verificou-se de modo semelhante nestes intermediários: o grupo amida por meio da banda C=O (banda amida I) com estiramento em $1683,86\text{ cm}^{-1}$ **(19)** e $1647,21\text{ cm}^{-1}$ **(23)**, e da banda N-H (banda amida II) com deformação angular em $1514,12$ **(19)** e $1494,83\text{ cm}^{-1}$ **(23)**. As aminas aromáticas podem ser visualizadas pelo estiramento da banda N-H em $3444,87$ **(19)** e $3446,79\text{ cm}^{-1}$ **(23)**, e os estiramentos C-N em $1207,47\text{ cm}^{-1}$ **(19)** e $1136,07\text{ cm}^{-1}$ **(23)**. O estiramento C=C do anel aromáticos é observado em $1633,71$ **(19)** e $1616,35\text{ cm}^{-1}$ **(23)**.

Os resultados do RMN corroboram com as vibrações encontradas na análise de infravermelho dos compostos **(19 e 23)**, como se pode ver na Tabela 20.

Tabela 20 - Deslocamentos químicos e RMN ^1H e ^{13}C dos compostos finais **(19 e 23)**.

 (19)*			 (23)*		
Posição	δ ^1H	δ ^{13}C	δ ^1H	δ ^{13}C	
1	-	147,00	-	143,63	
2	-	145,58	-	134,23	
3	7,25 (dd, $J = 8,6, 2,5$ Hz, 1H)	128,51	7,17 (d, $J = 7,8$ Hz, 1H)	126,99	
4	6,55 (dd, $J = 11,2, 3,0$ Hz, 1H)	111,88	6,79 (dd, $J = 8,0, 1,5$ Hz, 1H)	127,91	
5	-	158,01	6,98 (m, 1H)	127,30	
6	6,37 (d, $J = 2,8$ Hz, 1H)	101,44	6,61 (dd, $J = 8,8, 7,3$ Hz, 1H)	123,74	
7	5,24 (s, 2H)	-	4,00 (s, 2H)	-	
8	-	-	9,69 (s, 1H)	-	
9	9,64 (s, 1H)	-	-	207,00	
10	-	183,40	-	-	
11	-	-	-	141,89	
12	-	146,25	-	-	
12 e 16	-		8,00 (d, $J = 7,9$ Hz, 2H)	128,36	
13 e 15	-		7,55 (d, $J = 8,0$ Hz, 2H)	116,74	
13 e 17	8,02 (d, $J = 8,1$ Hz, 2H)	138,85	-	-	
14 e 16	7,56 (d, $J = 8,0$ Hz, 2H)	137,65	-	-	
14	-	-	-	165,44	
15	-	154,80	-	-	
17	-	-	3,51 (t, $J = 1,5$ Hz, 2H)	43,70	
18	4,39 (t, $J = 5,6$ Hz, 2H)	9,80	4,90 (s, 2H)	-	
19	4,12 (s, 2H)	-	-	-	

*RMN com impurezas.

Fonte: autoria própria, 2023.

Apesar das tentativas de purificação por cromatografia, os espectros dos dois produtos finais ainda mostraram impurezas devido a formação de alguns subprodutos de difícil separação. Em **(23)**, foi possível verificar resquícios da cadeia alquílica do BOC no ^1H , em 2,09 ppm, como simpleto com integração de 9 hidrogênios, e em ^{13}C , em 29,24 ppm, próximo ao que **(26)** mostrou como cadeia alquílica do BOC; além de deslocamento em 70,26 ppm, que se aproxima do deslocamento do carbono quaternário do grupo BOC de **(26)**. Em **(26)** a cadeia alquílica do BOC é representada nas posições 23, 24 e 25, equivalentes, onde em ^1H , mostraram deslocamento de 1,41 ppm, como simpleto e integração de 9 hidrogênios, e em ^{13}C em 28,24 ppm, além da posição 22 (carbono quaternário do grupo BOC) com deslocamento de 77,94 ppm.

Em **(19 e 23)** os principais grupos em comum que sugerem a obtenção do produto final são: amina; amida; anéis aromáticos derivados das arilaminas **(9 e 12)** e do intermediário **(24)**.

A presença das aminas é indicada pelas posições 7, 18 **(23)** e 19 **(19)**, onde 18 e 19 indicam a ausência do grupo BOC protetor, com respectivos deslocamentos em 4,90 **(23)** e 4,12 **(19)** ppm; e a posição 7 mostrou deslocamentos de 5,24 (em **19**; sugere ausência de BOC) e 4,00 **(23)** ppm, todos como simpletos com integração de 2 hidrogênios.

A presença das amidas é indicada pelas posições 9 **(19)** e 8 **(23)**, com deslocamentos de 9,64 e 9,69 ppm, ambos como simpletos com integração de 1 hidrogênio.

A presença do anel aromático derivado das arilaminas é indicado pelas posições em **(19)** em 3, 4 e 6; em **(23)** em 3, 4, 5 e 6; onde 3 em ambos mostrou o maior deslocamento devido ser mais próximo as amidas e portanto, mais desblindados. Todos com integração de 1 hidrogênio. Em **(19)** 3, 4 e 6 mostraram respectivos deslocamentos em 7,25; 6,55 e 6,37 ppm, onde 3 e 4 são duplo dupletos devido se acoplarem em *meta* e *orto* com o flúor, e 6 um duplete também por se acoplar em *meta* com o flúor ou a amina. **(23)** mostrou respectivos deslocamentos em 7,17; 6,79; 6,98 e 6,61 ppm, como duplete, duplo duplete, multiplete e duplo duplete.

A presença do anel aromático derivado de **(24)**, é indicado pelos pares de hidrogênios: em **(19)** 13 e 17; 14 e 16; e em **(23)** 12 e 16; 13 e 15. Cada par mostrou-se equivalente, com integração de 2 hidrogênios e com acoplamento em *orto* com o par de hidrogênios adjacentes no anel ($J = 7,9$ a $8,1$ Hz). Em **(19)**, 13 e 17 mostrou deslocamento em 8,02 ppm; e 14 e 16 mostrou deslocamento em 7,56 ppm. Em **(23)**, 12

e 16 mostrou deslocamento em 8,00 ppm; e 13 e 15, mostrou deslocamento em 7,55 ppm.

Na análise de ^{13}C foi possível verificar principalmente a presença dos 6 carbonos quaternário de **(19)** e dos 5 carbonos quaternários de **(23)**. Em **(19)** 1, 2, 5, 10, 12 e 15, mostraram deslocamentos em 147,00; 145,58; 158,01; 183,40; 146,25; e 154,80 ppm. Em **(23)** 1, 2, 9, 11 e 14, mostraram deslocamentos em 143,63; 134,23; 207,00; e 141,89; 165,44 ppm.

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-acyl ethanolamine 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.

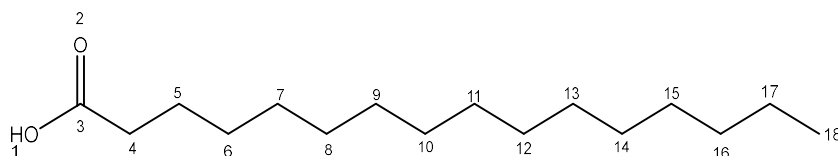
Z. WANG. Béchamp Reduction. In: **Comprehensive Organic Name Reactions and Reagents**. Hoboken, NJ, USA: John Wiley & Sons, Inc., 2010.

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

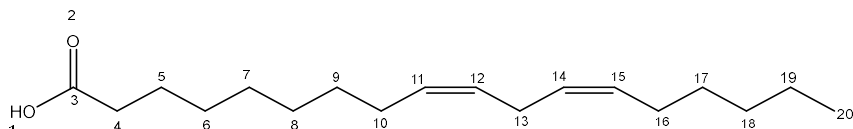
APENDICE A – CARACTERIZAÇÃO DOS REAGENTES

1. Ácidos graxos palmítico (a), linoleico (b) e linolênico (c)

(a) Ácido palmítico



(b) Ácido linoleico



(c) Ácido linolênico

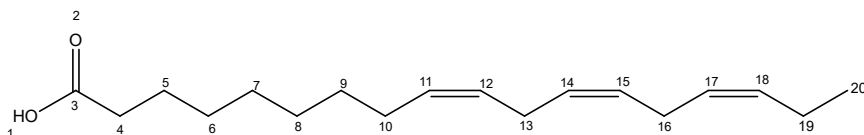


Tabela 21 - Características físico-químicas e valores de absorção no infravermelho (IV), do ácido palmítico (a), ácido linoleico (b), ácido linolênico (c).

	Ácido palmítico (a)	Ácido linoleico (b)	Ácido linolênico (c)
Características físico-químicas			
Faixa de fusão	61 - 70 °C	-	-
Aspecto	Sólido branco	Líquido laranja claro	Líquido amarelo
Valores de absorção no infravermelho			
Grupo funcional	Número de onda (cm⁻¹)	Número de onda (cm⁻¹)	Número de onda (cm⁻¹)
ν C=O ác. carboxílico	1685,79	1708,93	1708,93
ν O-H ác. carboxílico	3095,75 – 2538, 32	3008,95 - 2854,65	3010,89 - 2854,65
δ -(CH ₂) _N - n ≥ 7	719,45	725,23	723,31

ν = estiramento; δ = deformação angular.

Fonte: autoria própria, 2023.

RMN ¹H (600 MHz, DMSO-d₆, ppm):

(a): (1) δ 11,97 (s, 1H), (4) δ 2,17 (t, J = 7.4 Hz, 2H), (5) δ 1,47 (q, J = 7.1 Hz, 2H), (6 - 17) δ 1,23 (s, 24H), (18) δ 0,85 (t, J = 6.9 Hz, 3H).

(b): (1) δ 11,96 (s, 1H), (4) δ 2,17 (t, J = 7.4 Hz, 2H), (5) δ 1,48 (h, J = 8.4 Hz, 2H), (6, 7, 8, 9, 17, 18, 19) 1,26 (m, 14H), (11, 12, 14, 15) δ 5,32 (m, 4H), (13) δ 2,73 (t, J = 6.8 Hz, 2H), (10, 16) 2,01 (q, J = 7.0 Hz, 4H), (20) δ 0,85 (t, J = 6.9 Hz, 3H).

(c): (1) δ 11,96 (s, 1H), (4) 2,18 (d, J = 7.4 Hz, 2H), (5) 1,47 (t, J = 7.3 Hz, 2H), (6, 7, 8, 9) 1,25 (s, 8H), (10, 19) 2,03 (ddd, J = 11.3, 8.4, 5.9 Hz, 4H), (11, 12, 14, 15, 17, 18) δ 5, 32 (m, 6H), (13, 16) 2,77 (t, J = 6.2 Hz, 4H), (20) 0,92 (td, J = 7.6, 1.1 Hz, 3H).

RMN ^{13}C (150 MHz, DMSO- d_6 , ppm):

(a): (3) δ 174,53, (4) δ 33,69, (5) δ 24,52, (6-15) δ 29,06, 29,03, 29,01, 28,93, 28,77, 28,74, 28,57, (16) δ 31,32, (17) δ 22,13, (18) δ 13,98.

(b): (3) δ 174,49, (4) δ 33,69, (5) δ 22,13, (6) δ 28,77, (7) δ 28,59, (8) δ 28,57, (9) δ 28,65, (10) δ 25,24, (11) δ 129,72, (12) δ 127,78, (13) δ 24,52, (14) δ 127,76, (15) δ 129,73, (16) δ 26,65, (17) δ 29,04, (18) δ 30,94, (19) δ 22,02, (20) δ 13,93.

(c): (3) δ 174,53, (4) δ 33,70, (5) δ 24,52, (6) δ 29,01, (7) δ 26,62, (8) δ 28,57, (9) δ 28,54, (10) δ 26,64, (11) δ 129,92, (12) δ 127,58, (13) δ 25,13, (14) δ 127,92, (15) δ 127,97, (16) δ 25,23, (17) δ 127,00, (18) δ 131,52, (19) δ 20,07, (20) δ 14,14.

Figura 40 - Espectros de infravermelho dos compostos (a,b,c)

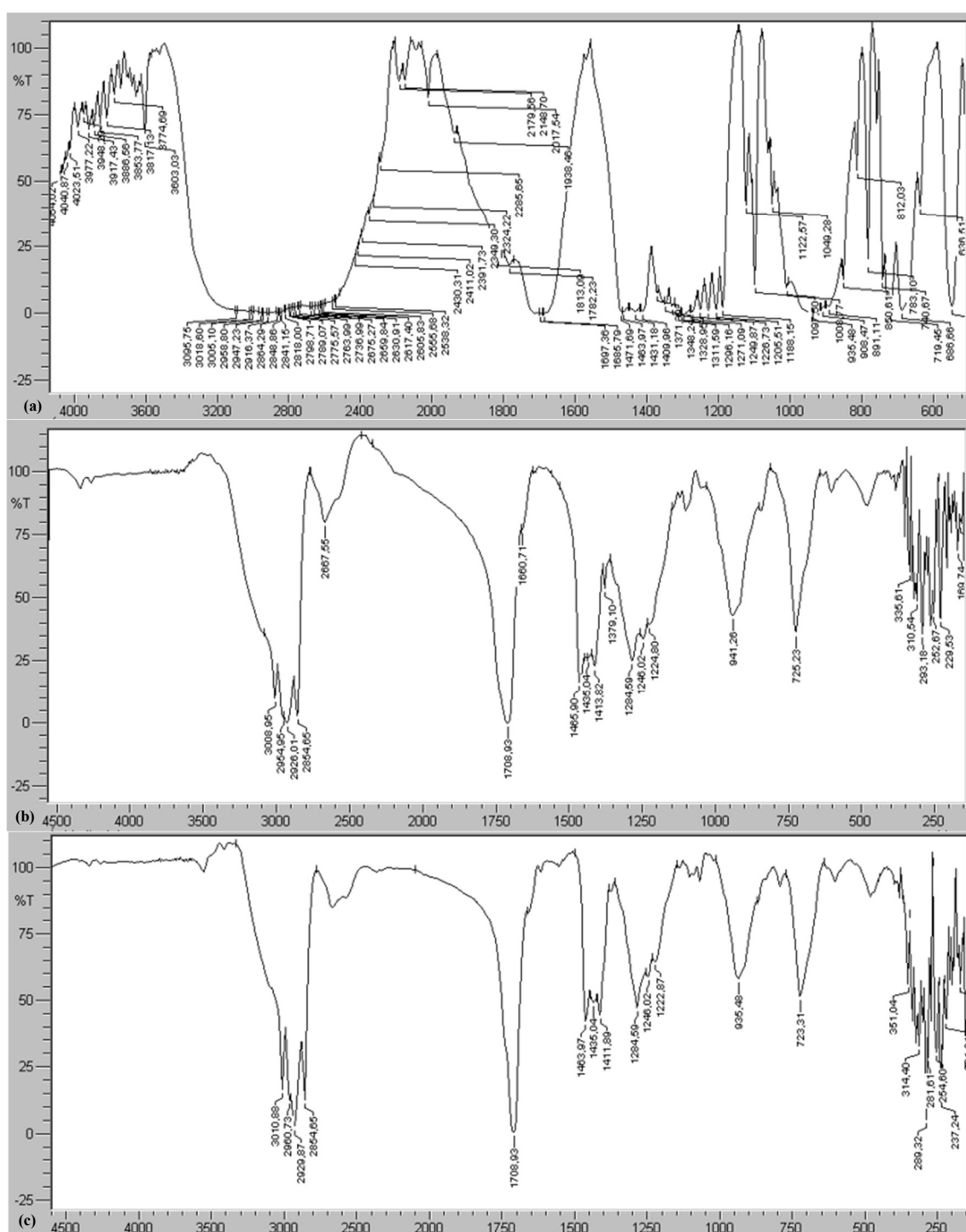


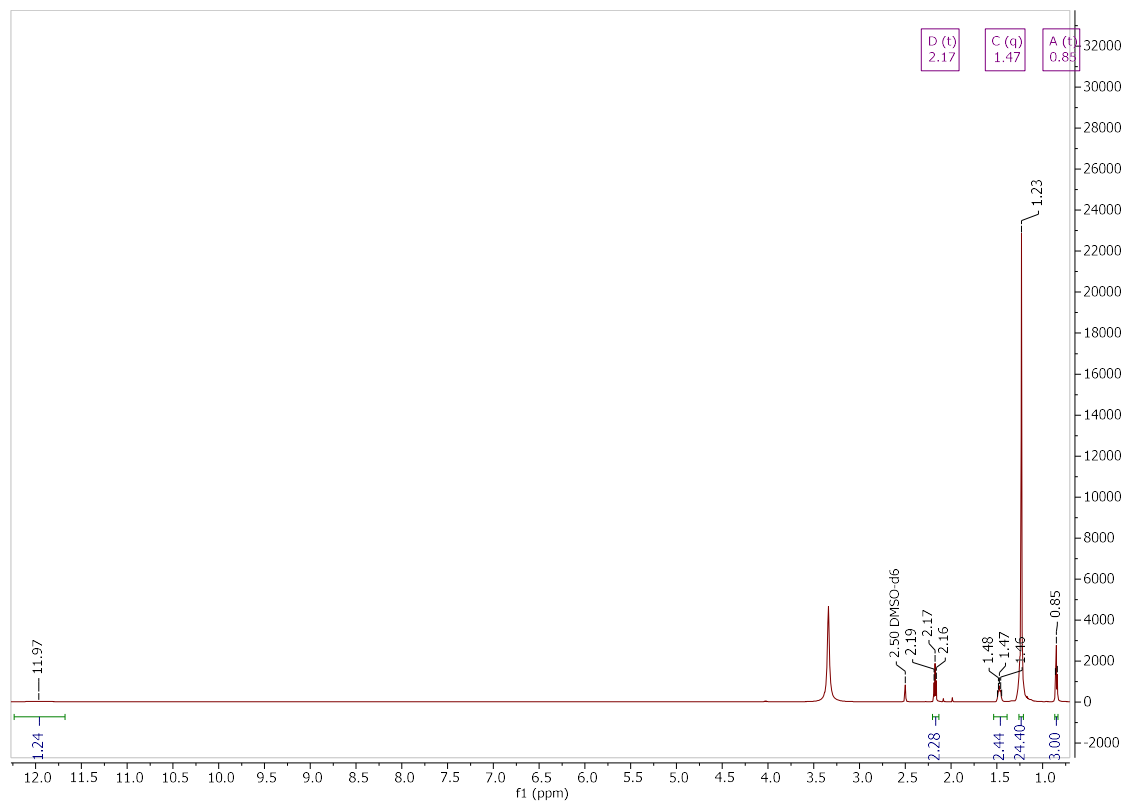
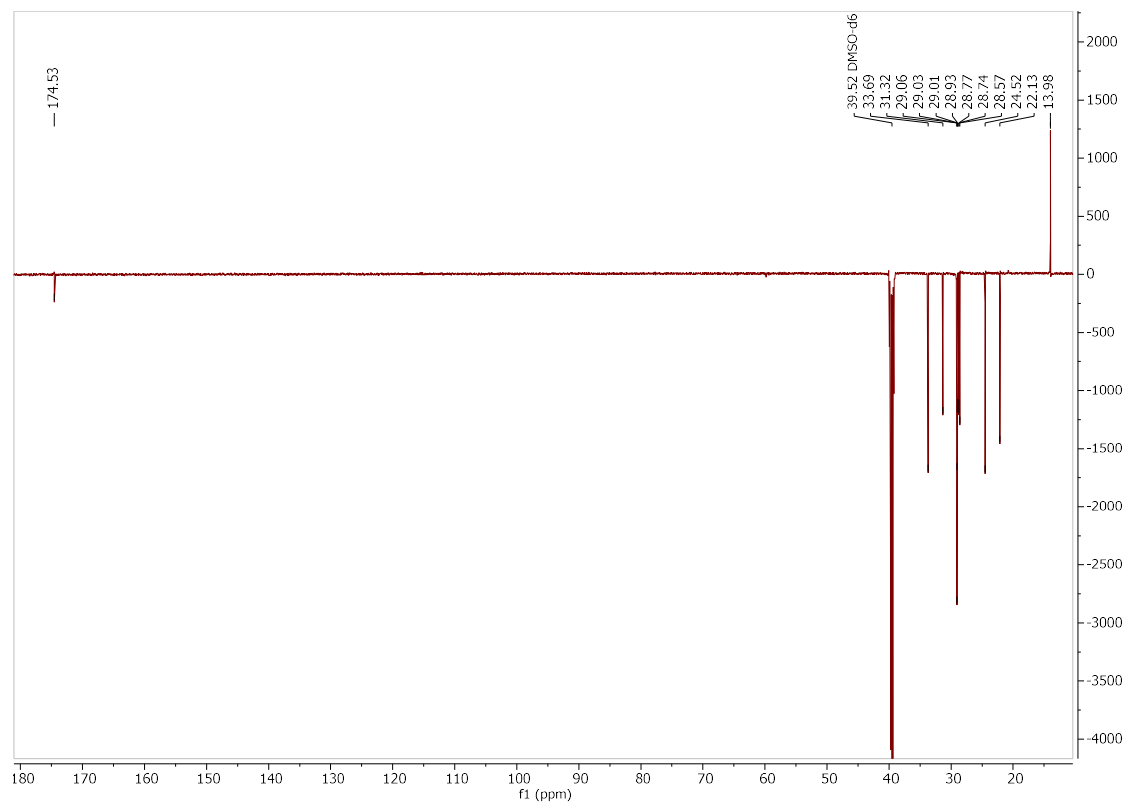
Figura 41 - Espectro de RMN ^1H de (a).Figura 42 - Espectro de RMN ^{13}C de (a).

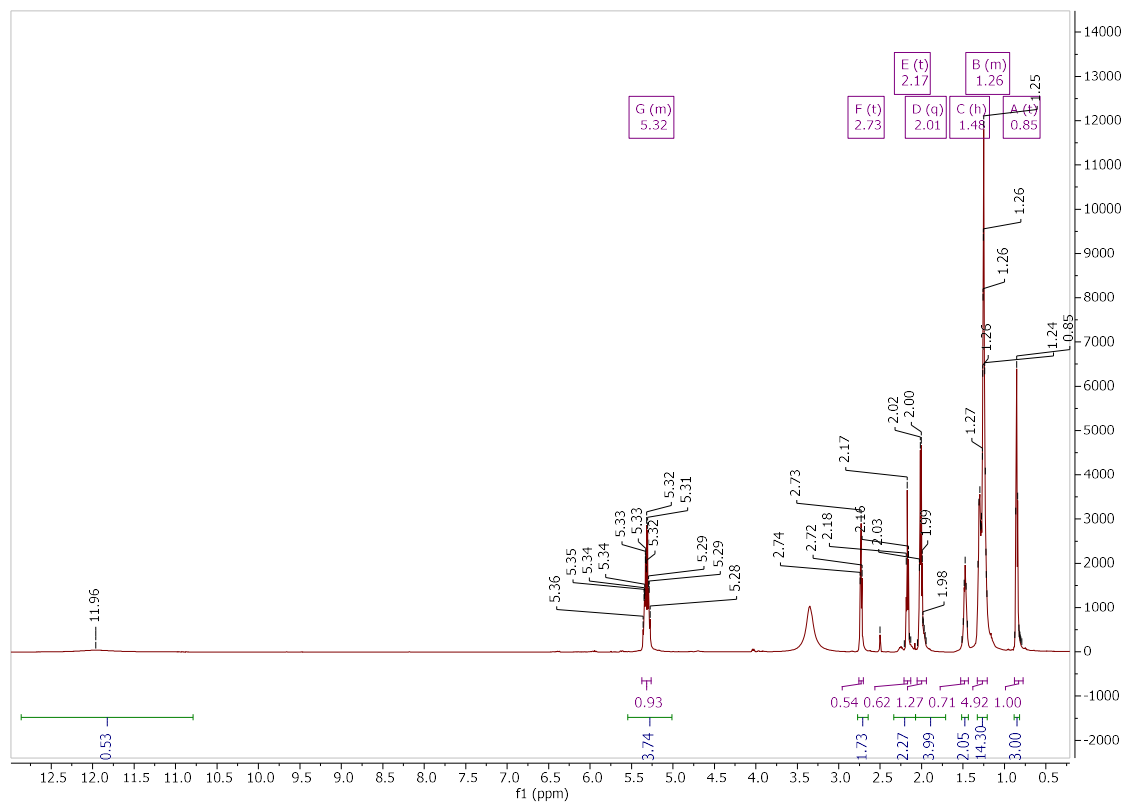
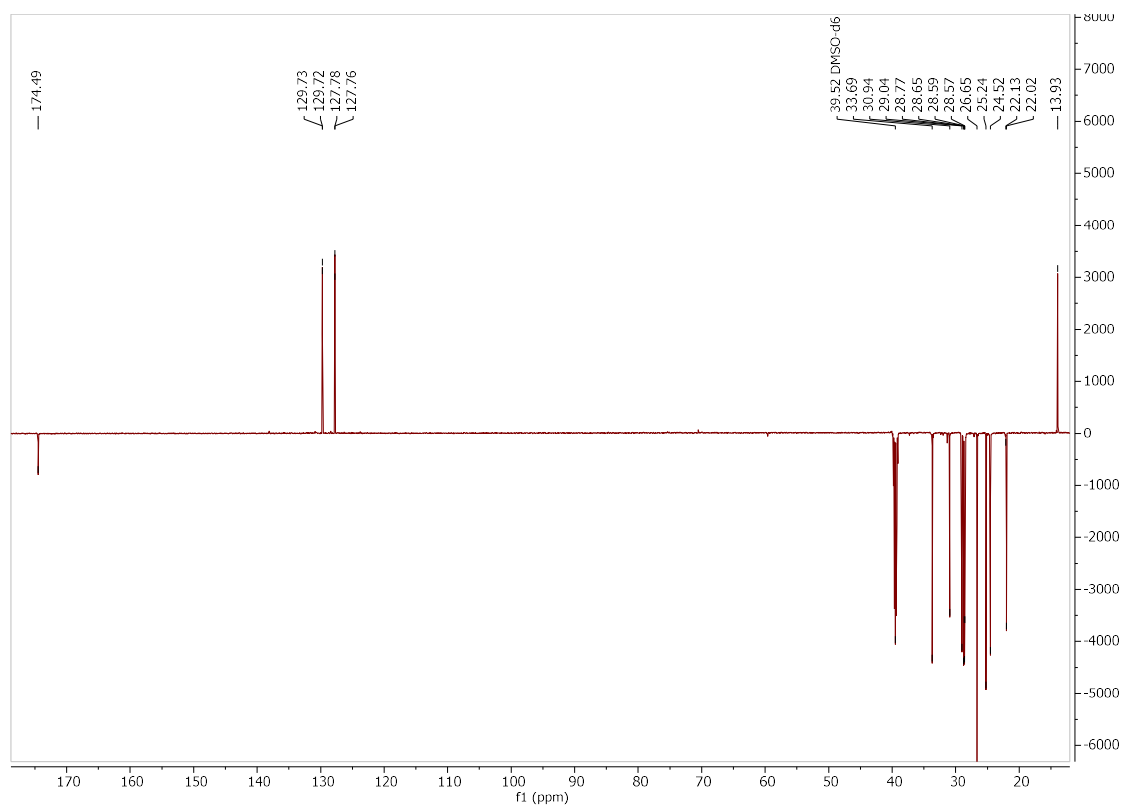
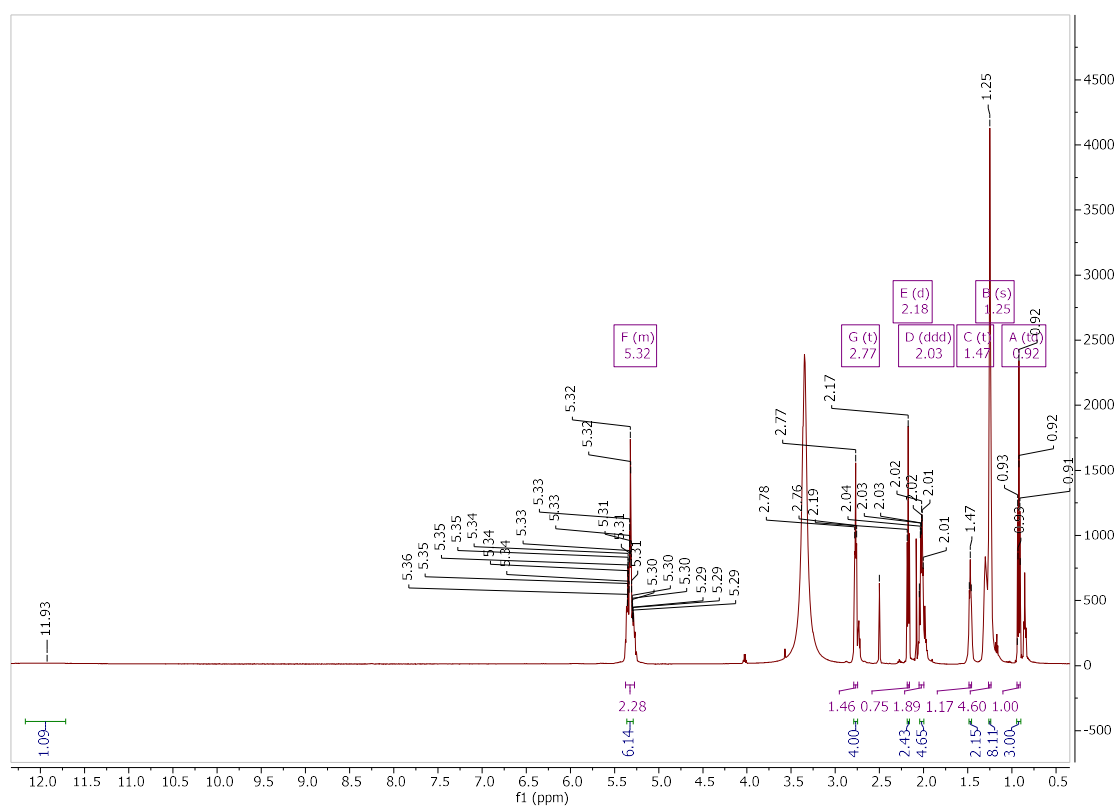
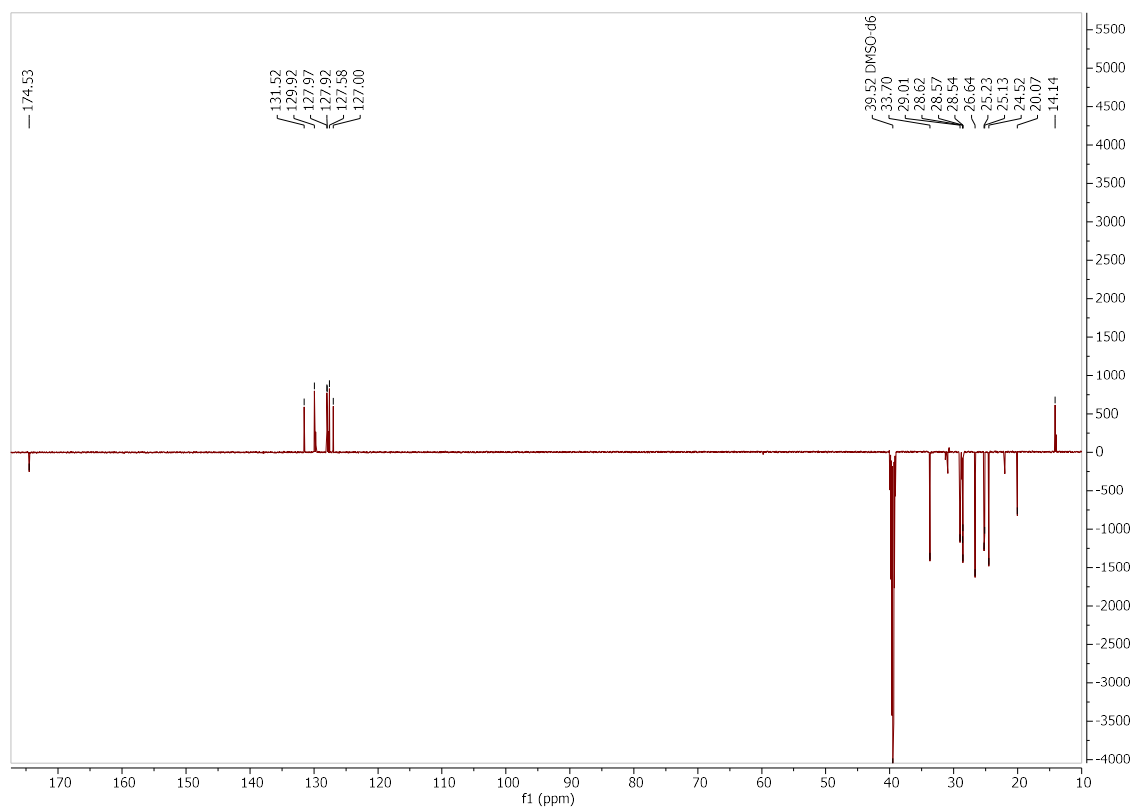
Figura 43 - Espectro de RMN ^1H de (b).Figura 44 - Espectro de RMN ^{13}C de (b).

Figura 45 - Espectro de RMN ^1H de (c).Figura 46 - Espectro de RMN ^{13}C de (c).

2. Ácido 4 – aminobenzóico (PABA) (7)

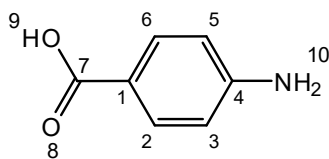


Tabela 22 - Características físico-químicas e valores de absorção no infravermelho (IV), do ácido 4 – aminobenzóico (7).

Ácido 4 – aminobenzóico (7)	
Características físico-químicas	
Faixa de fusão	184 – 188 °C
Aspecto	Sólido branco
Valores de absorção no infravermelho	
Grupo funcional	Número de onda (cm ⁻¹)
ν C-NH ₂ amina aromática	1327,03-1274,95
δ N-H amina aromática	1597,06 sim.
ν N-H amina aromática	3460,30
ν C=C aromáticos	1635,64
ν C=O ác. carboxílico	1685,79
ν O-H ác. carboxílico	3363,86

ν = estiramento; δ = deformação angular.

Fonte: autoria própria, 2023.

RMN ¹H (600 MHz, DMSO-d₆, ppm): (2, 6) δ 7,61 (dd, J = 8.4, 1.5 Hz, 2H), (3, 5) δ 6,54 (m, 2H), (9) 11,96 (s, 1H), (10) δ 5,86 (s, 2H).

RMN ¹³C (150 MHz, DMSO-d₆, ppm): (1) δ 116,79, (3, 5) δ 112,45, (4) δ 153,03, (2, 6) δ 131,11, (7) δ 167,41.

Figura 47 - Espectro de infravermelho de (7).

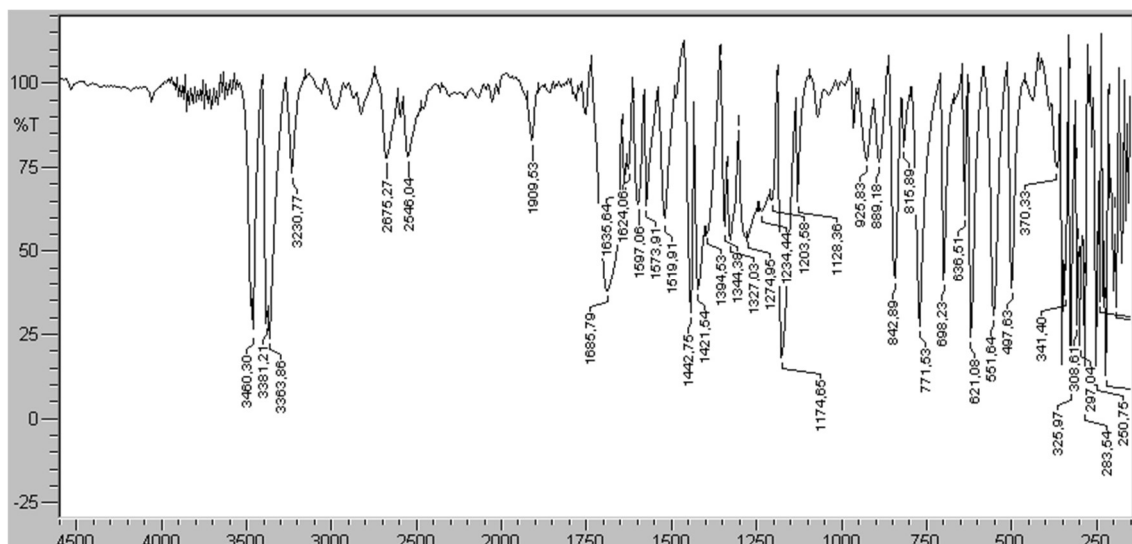


Figura 48 - Espectros de RMN ^1H de (7).

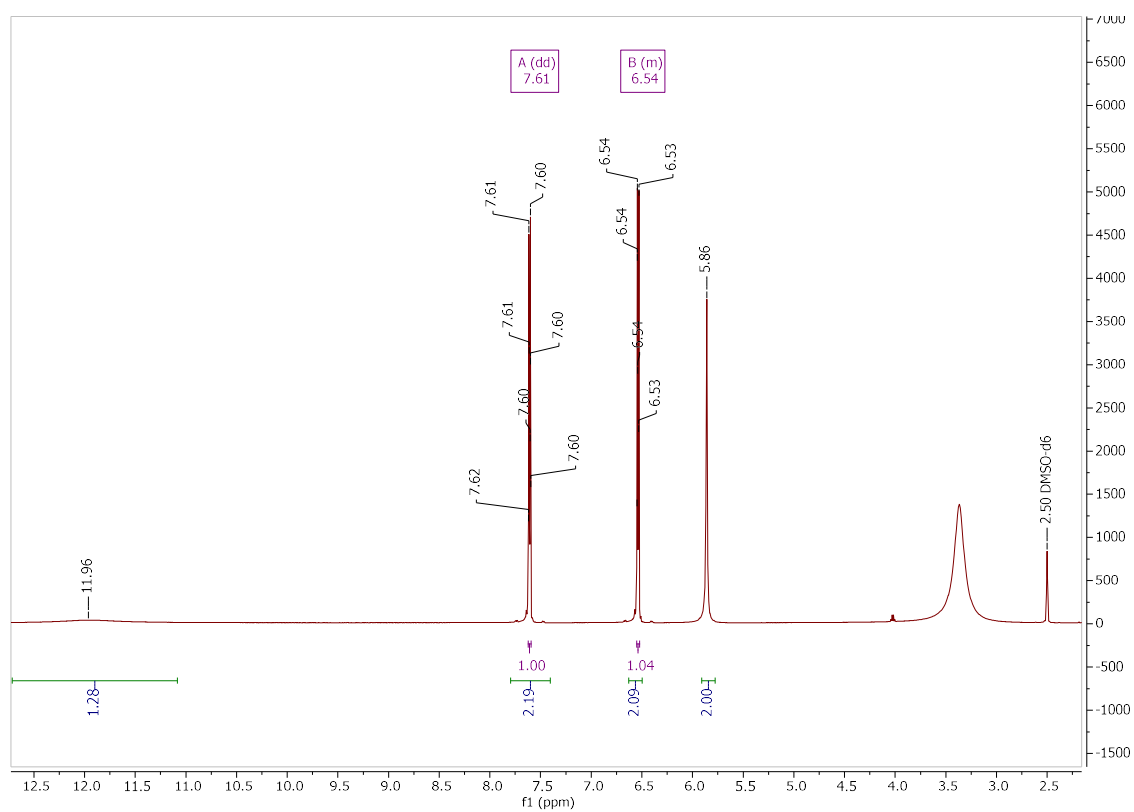
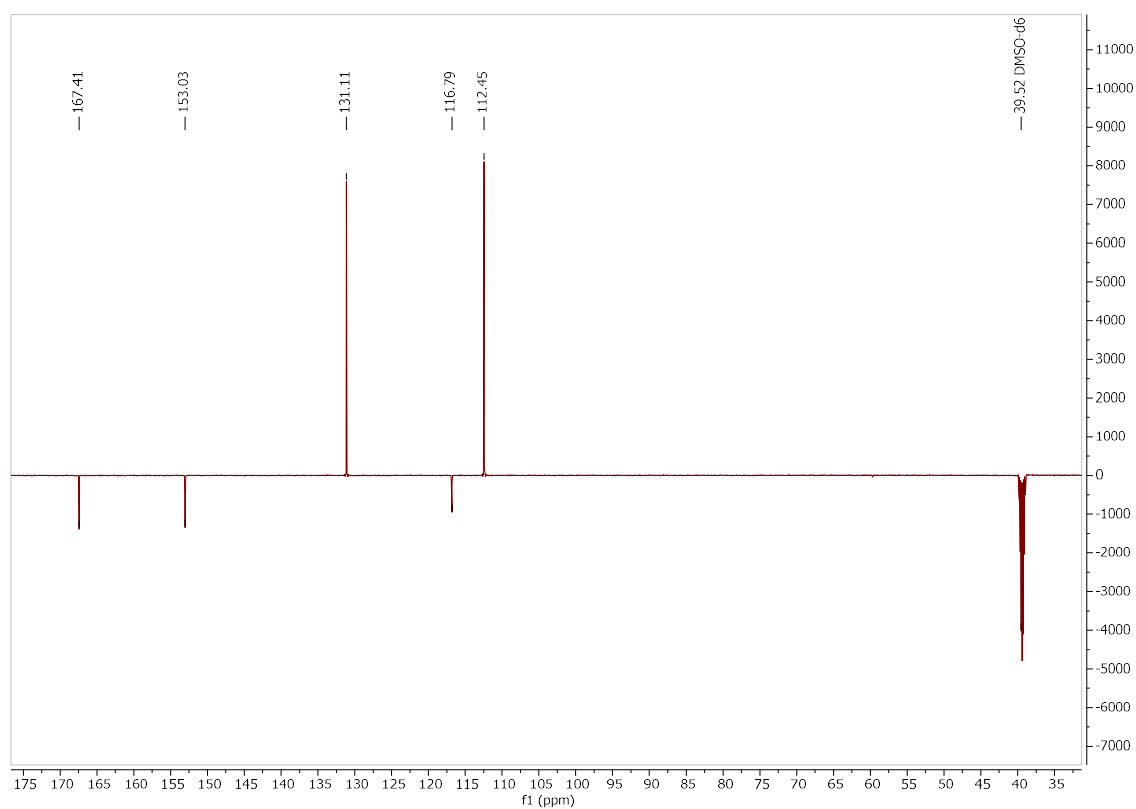


Figura 49 - Espectro de RMN ^{13}C de (7).



3. *Orto*-Fenilenodiamina (9)

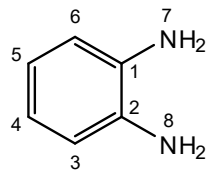


Tabela 23 - Características físico-químicas e valores de absorção no infravermelho (IV), de *orto*-fenilenodiamina (9).

<i>Orto</i> -Fenilenodiamina (9)	
Características físico-químicas	
Faixa de fusão	93 – 106 °C
Aspecto	Sólido branco
Valores de absorção no infravermelho	
Grupo funcional	Número de onda (cm ⁻¹)
ν C-NH2 amina aromática	1335,57-1271,09
δ N-H amina aromática	1589,34 sim.
ν N-H amina aromática	3390,85
ν C=C aromáticos	1627,92

ν = estiramento; δ = deformação angular.

Fonte: autoria própria, 2023.

RMN ¹H (600 MHz, DMSO-d6, ppm): (3, 6) δ 6,36 (dd, *J* = 5.7, 3.4 Hz, 2H), (4, 5) δ 6,49 (dd, *J* = 5.7, 3.5 Hz, 2H), (7, 8) δ 4,37 (s, 4H).

RMN ¹³C (150 MHz, DMSO-d6, ppm): (1, 2) δ 134,94, (3, 6) δ 114,52, (4, 5) δ 117,28.

Figura 50 - Espectro de infravermelho de (9).

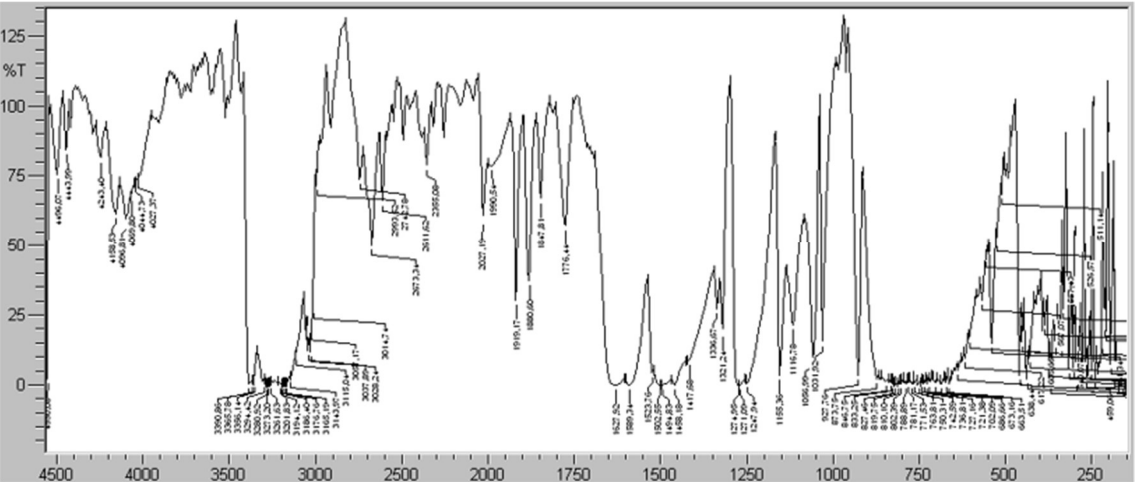
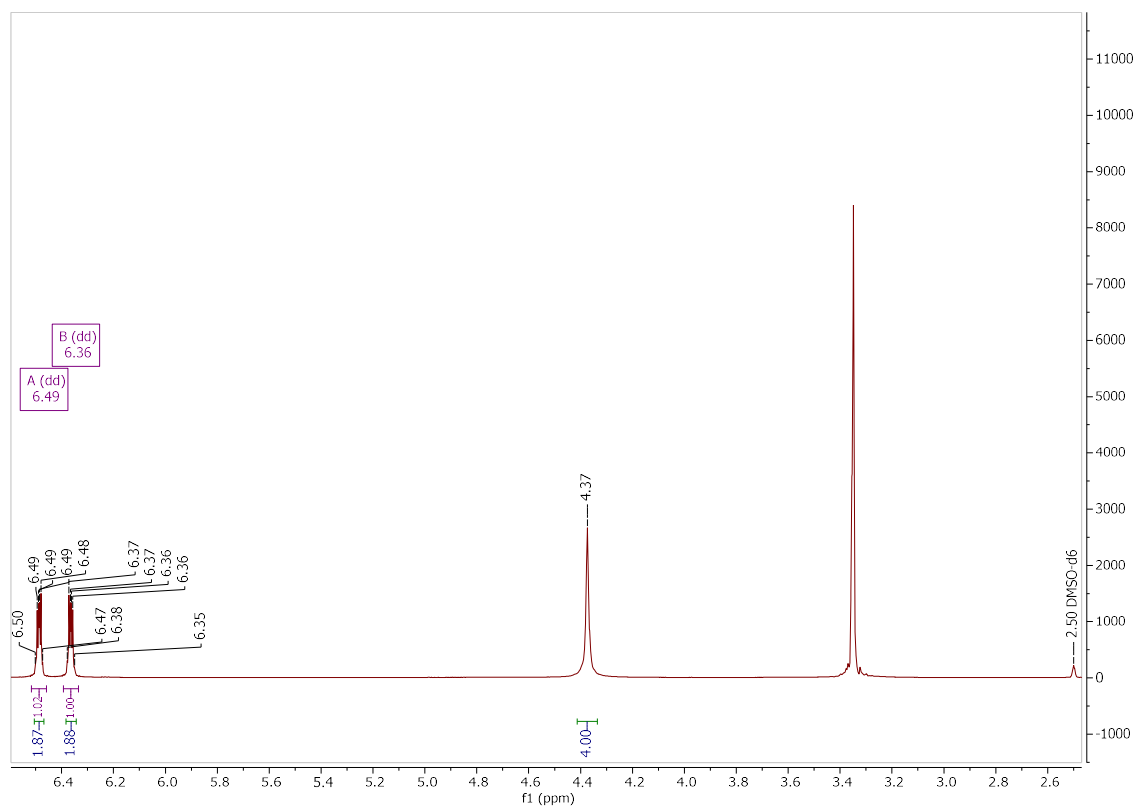
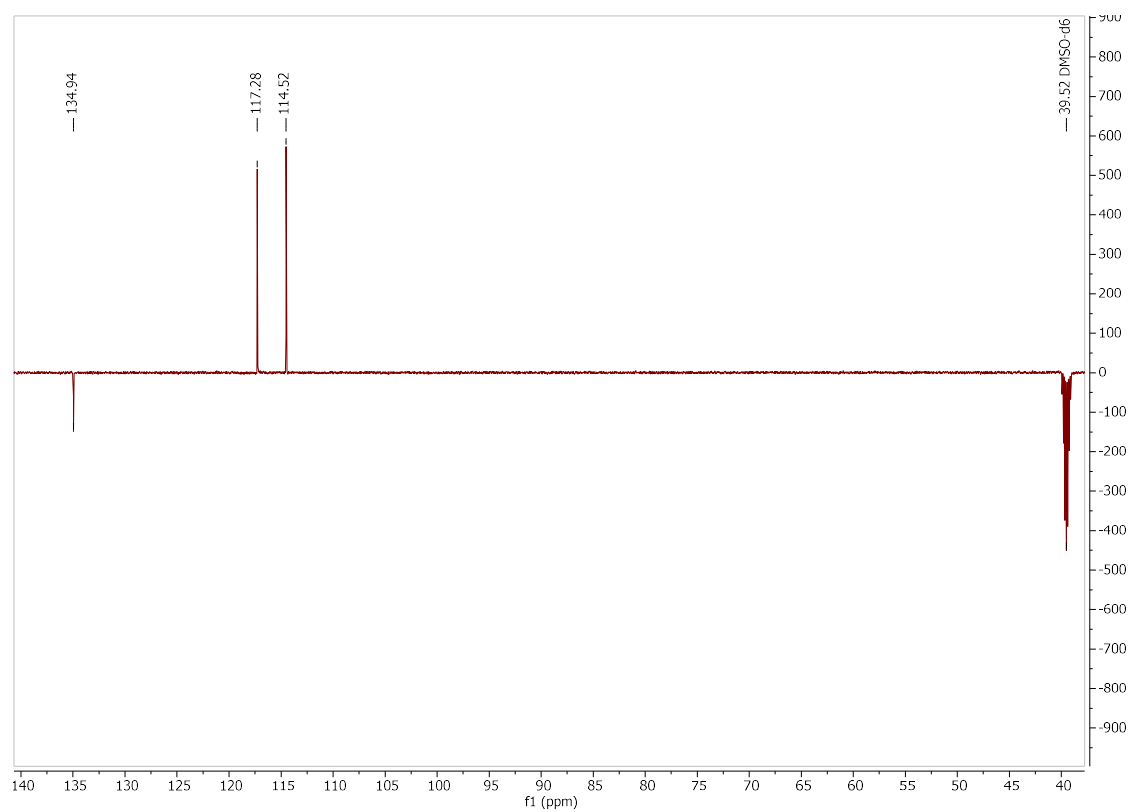


Figura 51 - Espectro de RMN de ^1H de (9).**Figura 52** - Espectro de RMN ^{13}C de (9).

4. 5-fluoro-2-nitroanilina (10)

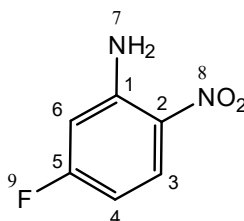


Tabela 24 - Características físico-químicas e valores de absorção no infravermelho (IV), de 5-fluoro-2-nitroanilina (10).

5-fluoro-2-nitroanilina (10)	
Características físico-químicas	
Faixa de fusão	98 – 100 °C
Aspecto	Sólido amarelo
Valores de absorção no infravermelho	
Grupo funcional	Número de onda (cm ⁻¹)
ν C-NH ₂ amina aromática	1334,74-1251,81
δ N-H amina aromática	1639,49 sim.
ν N-H amina aromática	3489,23-3469,94
ν C=C aromáticos	1651,07
ν N=O nitroaromático	1566,20-1504,48 assim.
ν C-N nitroaromático	844,72

ν = estiramento; δ = deformação angular.

Fonte: autoria própria, 2023.

RMN ¹H (600 MHz, DMSO-d₆, ppm): (3) δ 8,06 (dd, J = 9.5, 6.1 Hz, 1H), (4) 6,75, (dd, J = 11.4, 2.8 Hz, 1H), (6) 6,48 (m, 1H), (7) 7, 59 (s, 2H).

RMN ¹³C (150 MHz, DMSO-d₆, ppm): (1) δ 148,28, (2) δ 127,76, (3) δ 129,14, (4) δ 104,36, (5) δ 166,92, (6) δ 103,33.

Figura 53 - Espectro de infravermelho de (10).

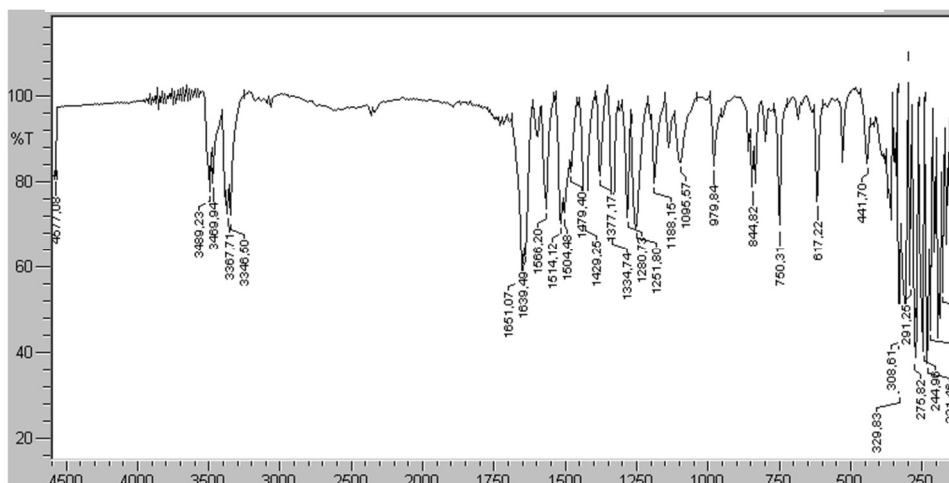
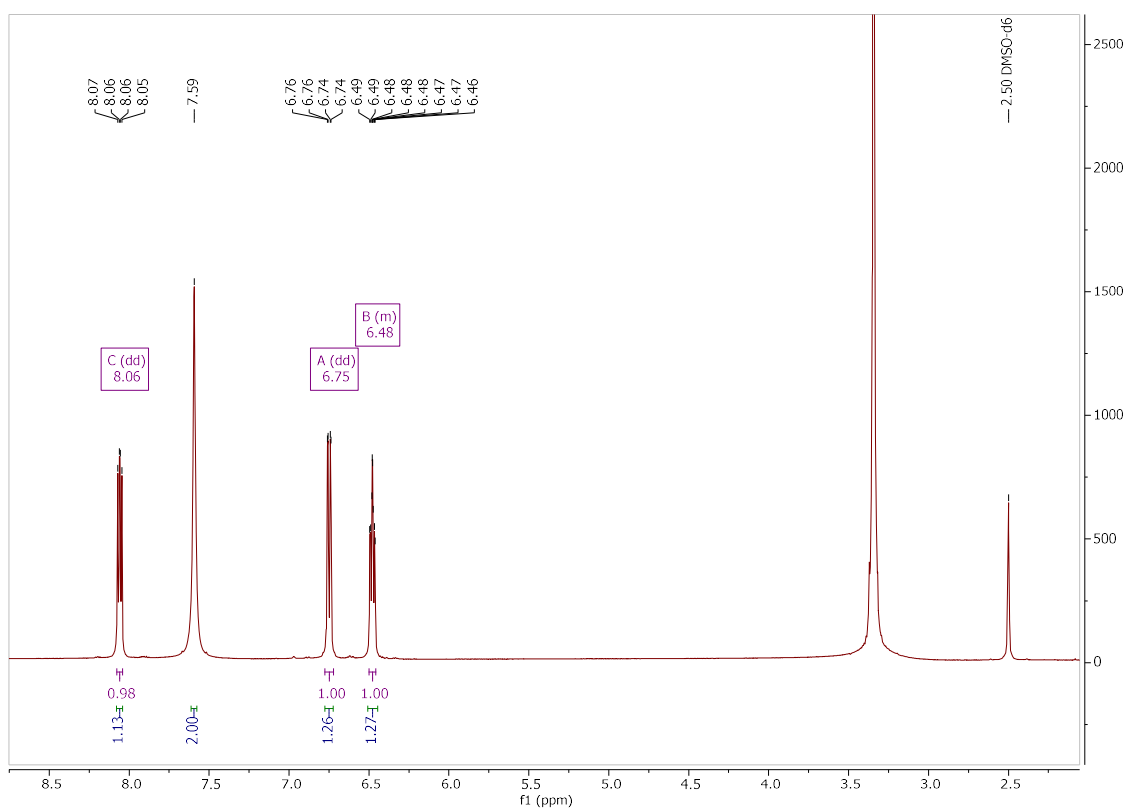
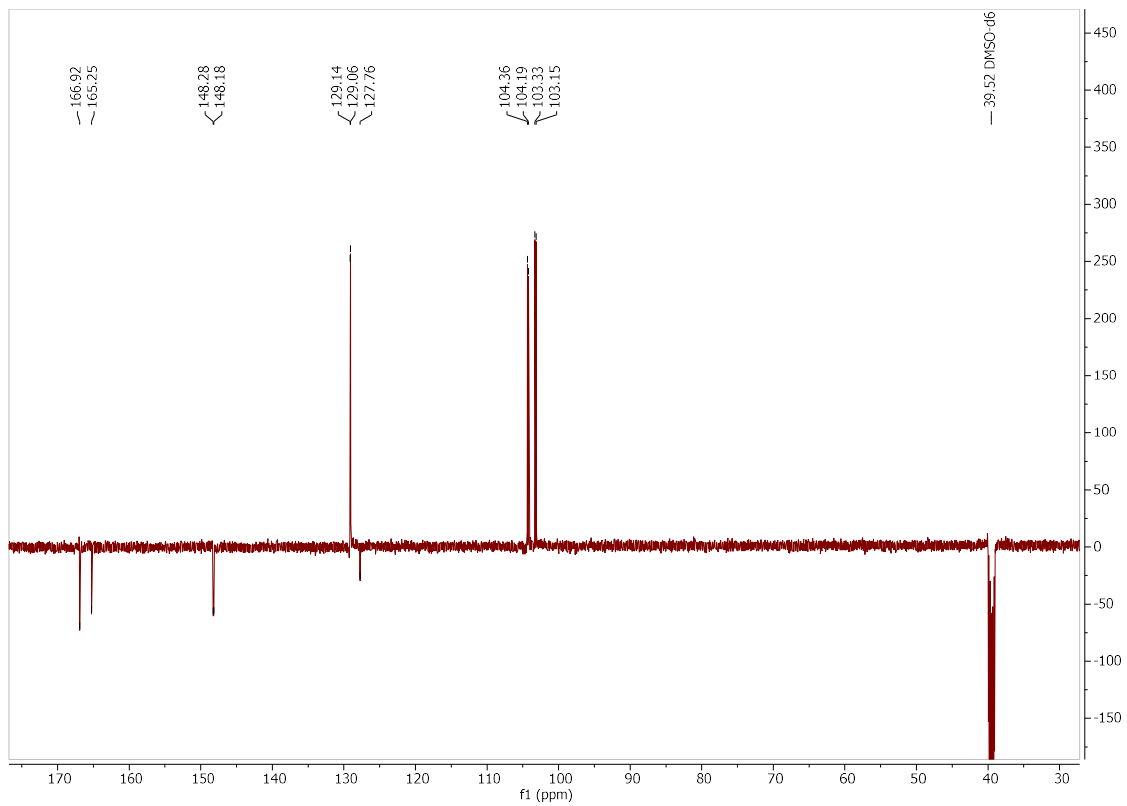


Figura 54 - Espectros de RMN de ^1H de (10).**Figura 55 - Espectro de RMN ^{13}C de (10).**

5. Ácido-4-(aminometil) benzóico – (PAMBA) (14)

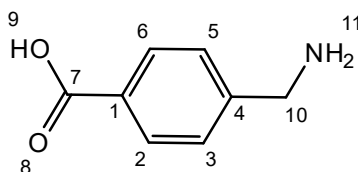


Tabela 25 – Características físico-químicas e valores de absorção no infravermelho (IV), do ácido-4-(aminometil) benzóico (14).

Ácido-4-(aminometil) benzóico (14)	
Características físico-químicas	
Faixa de fusão	340 – 349 °C
Aspecto	Sólido branco
Valores de absorção no infravermelho	
Grupo funcional	Número de onda (cm ⁻¹)
ν C-NH ₂ amina alifática	1328,95-1300,02
δ N-H amina alifática	1541,12
ν N-H amina alifática	3057,17
ν C=C aromáticos	1587,42
ν C=O ác. carboxílico	1639,49
ν O-H ác. carboxílico	2628,98-2547,97

ν = estiramento; δ = deformação angular.

Fonte: autoria própria, 2023.

RMN ¹H (600 MHz, DMSO-d₆, ppm): (2, 6) δ 7,82 (m, 2H), (3, 5) δ 7,33 (d, J = 7.9 Hz, 2H), (10) δ 4,03 (qd, J = 7.2, 2.0 Hz, 2H), (11) δ 8,46 (s, 2H).

RMN ¹³C (150 MHz, DMSO-d₆, ppm): (1) δ 25,51, (2, 6) δ 30,75, (3, 6) δ 20,82, (4) δ 59,83, (7) δ 69,83, (10) δ 14,14.

Figura 56 - Espectro infravermelho de (14).

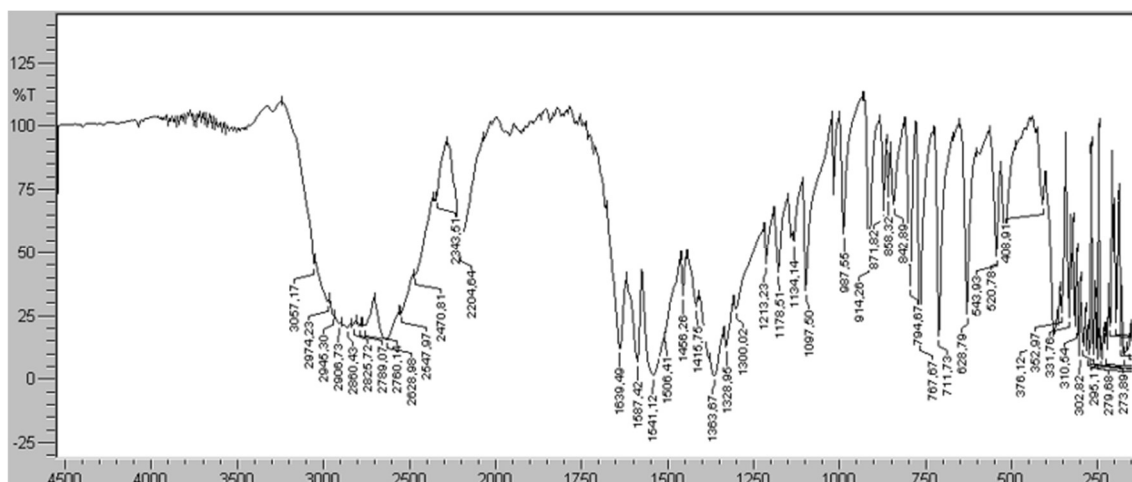


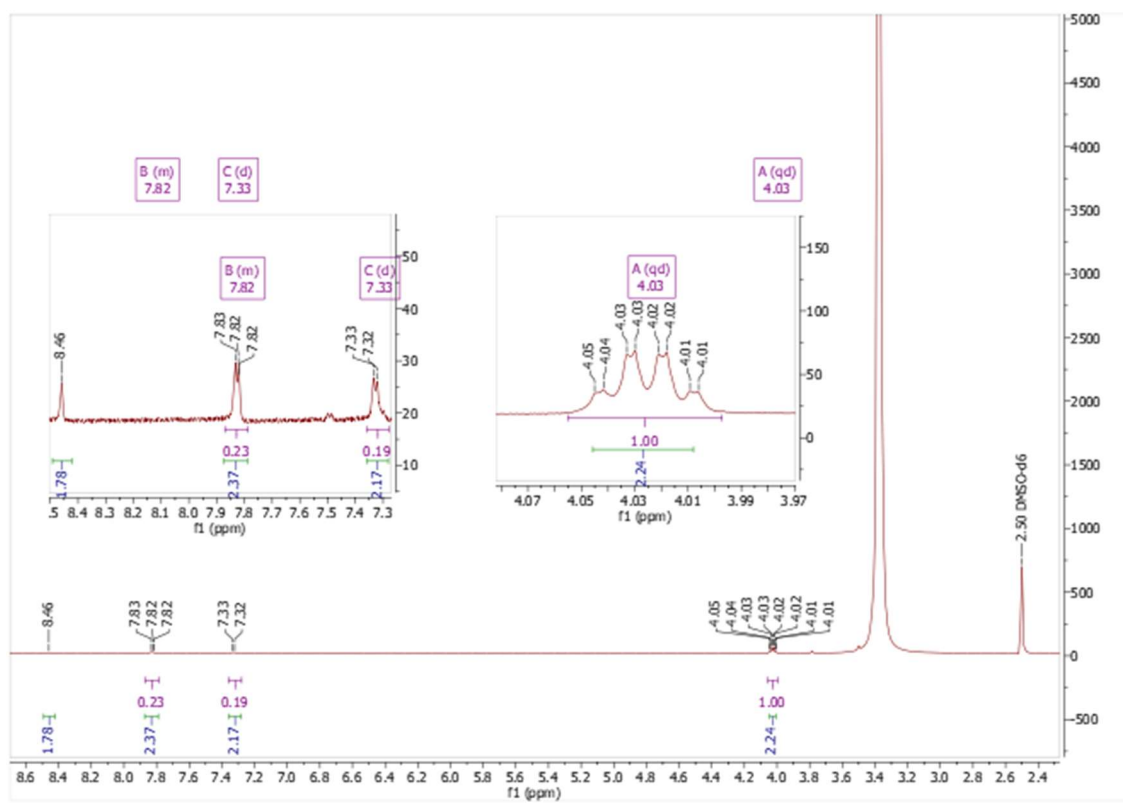
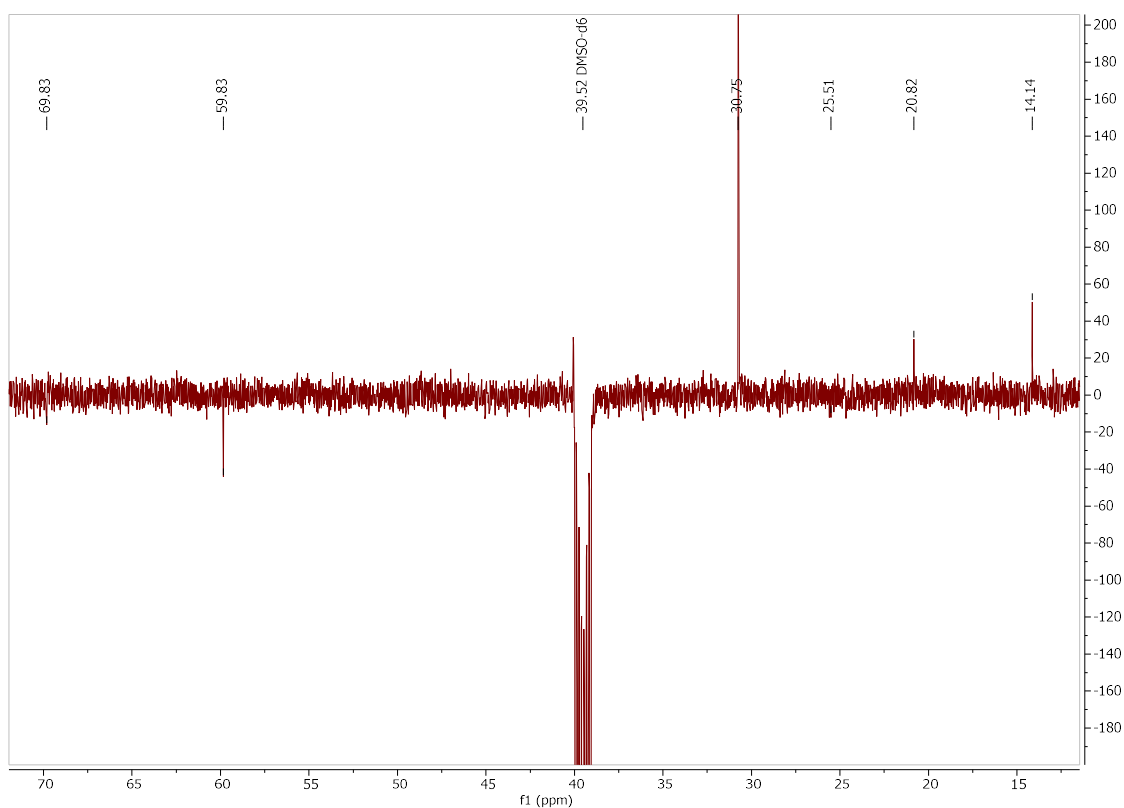
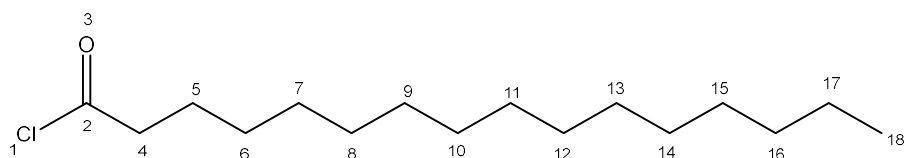
Figura 57 - Espectro de RMN ^1H de (14).

Figura 58 - Espectro de RMN ^{13}C de (14).

6. Cloreto de palmitoila (15a)

**Tabela 26** - Características físico-químicas e valores de absorção no infravermelho (IV), do cloreto de palmitoila (15a).

Cloreto de palmitoila (15a)	
Características físico-químicas	
Aspecto	Líquido incolor
Valores de absorção no infravermelho	
Grupo funcional	Número de onda (cm^{-1})
δ $-(\text{CH}_2)_n$ - $n \geq 7$	719,45
ν $\text{C}=\text{O}$	1703,14
ν $\text{C}-\text{Cl}$	688,59

ν = estiramento; δ = deformação angular.

Fonte: autoria própria, 2023.

RMN ^1H (600 MHz, DMSO- d_6 , ppm): (4) δ 2,17 (t, $J = 7.4$ Hz, 2H), (5) 1,46 (q, $J = 7.1$ Hz, 2H), (6-17) 1,23 (s, 24H), (18) 0,84 (t, $J = 6.9$ Hz, 3H).

Figura 59 - Espectros de infravermelho de (15a).

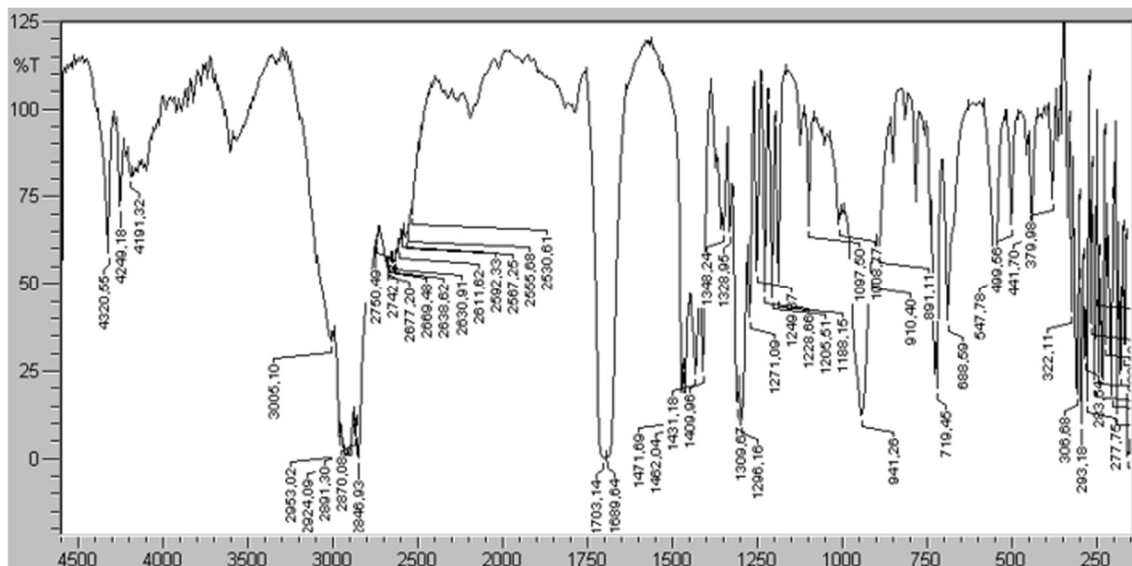
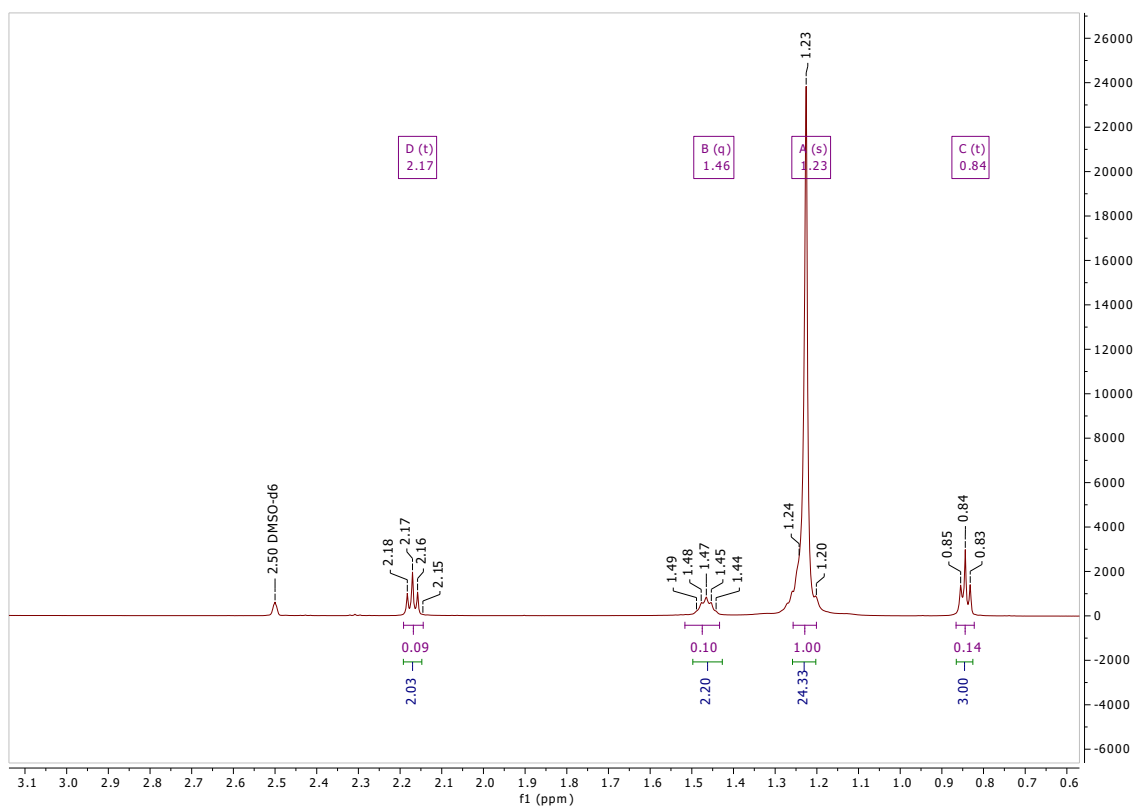
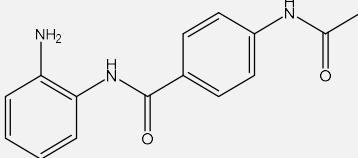
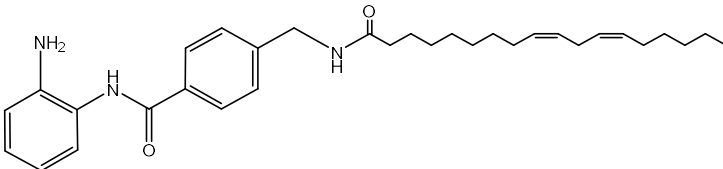
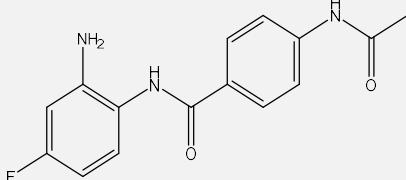
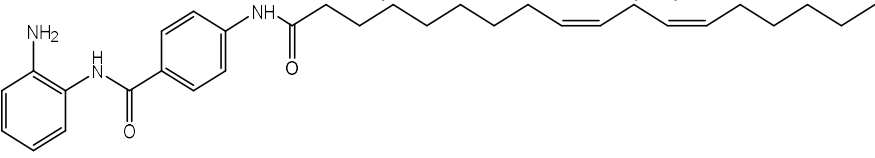
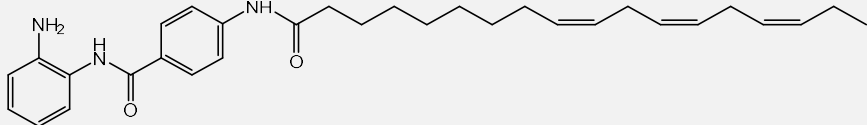


Figura 60 - Espectro de RMN de ^1H de (15a).



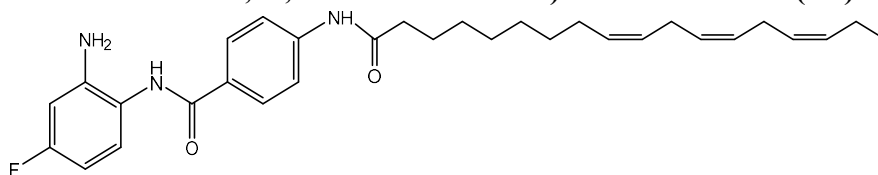
APENDICE B – MODELAGEM MOLECULAR DOS COMPOSTOS COM FUNÇÃO AMINA CONJUGADOS A LÍPIDEOS

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.

COMPOSTO	DOCKING SCORE HDAC-3 (KCAL/MOL)
4-ACETAMIDO-N-(2-AMINOFENIL) BENZAMIDA – CI-994 	-9,013
N-(2-AMINOFENIL)-4-(((9Z,12Z)-OCTADECA-9,12-DIENAMIDO)METIL) BENZAMIDE – (4B) 	-8,916
4-ACETAMIDO-N-(2-AMINO-4-FLUOROFENIL) BENZAMIDA – BRD 3308 	-8,850
N-(2-AMINOFENIL)-4-((9Z,12Z)-OCTADECA-9,12-DIENAMIDO) BENZAMIDA - (1B) 	-8,476
N-(2-AMINOFENIL)-4-((9Z,12Z,15Z)-OCTADECA-9,12,15-TRIENAMIDO) BENZAMIDA - (1C) 	-8,392

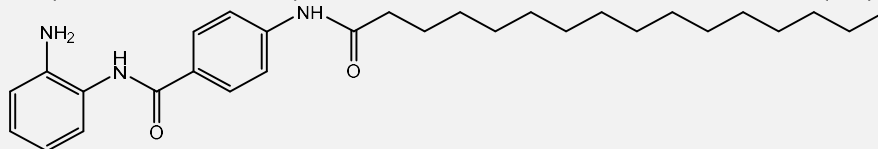
N-(2-AMINO-4-FLUOROFENIL)-4-((9Z,12Z,15Z)-OCTADECA-9,12,15-TRIENAMIDO) BENZAMIDA - (2C)

-8, 392



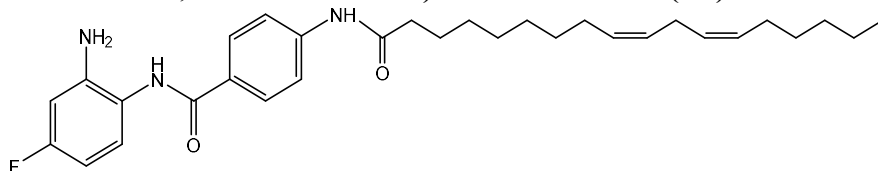
N-(2-AMINOFENIL)-4-PALMITAMIDO BENZAMIDA - (1A)

-8, 371



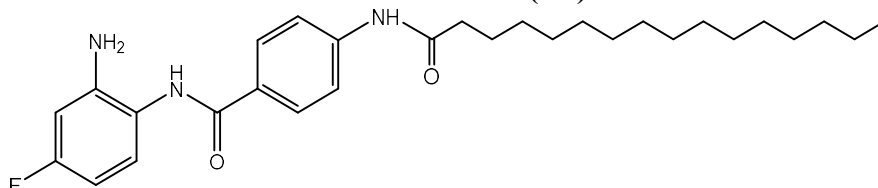
N-(2-AMINO-4-FLUOROFENIL)-4-((9Z,12Z)-OCTADECA-9,12-DIENAMIDO) BENZAMIDA - (2B)

-7, 719



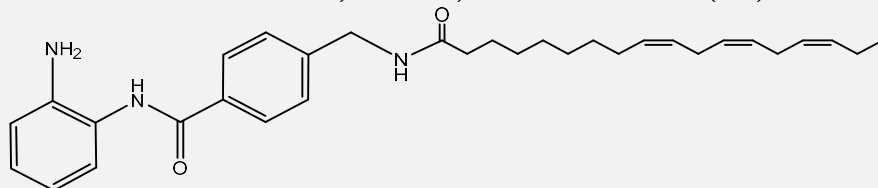
N-(2-AMINO-4-FLUOROFENIL)-4-PALMITAMIDO BENZAMIDA - (2A)

-7, 458



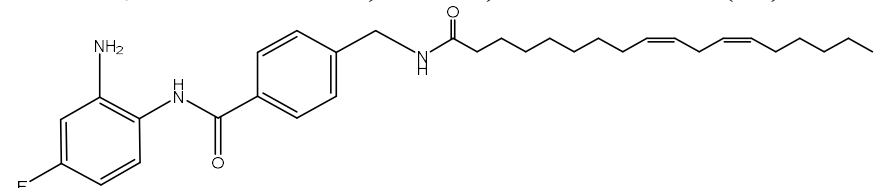
N-(2-AMINOFENIL)-4-(((9Z,12Z,15Z)-OCTADECA-9,12,15-TRIENAMIDO)METIL) BENZAMIDA - (4C)

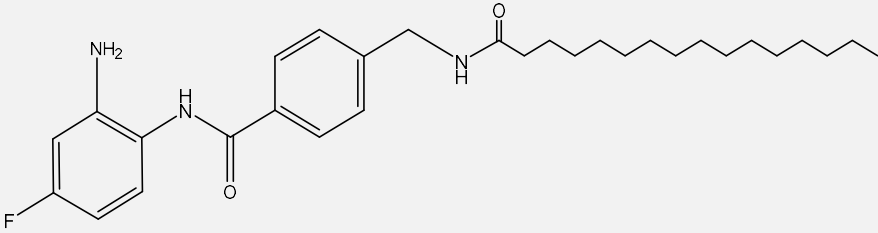
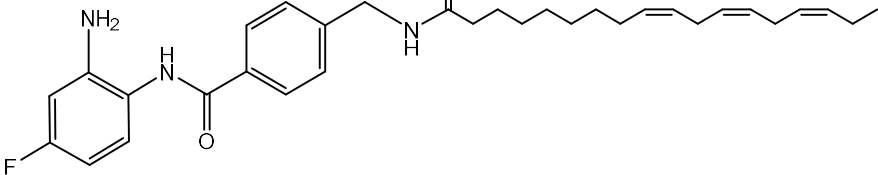
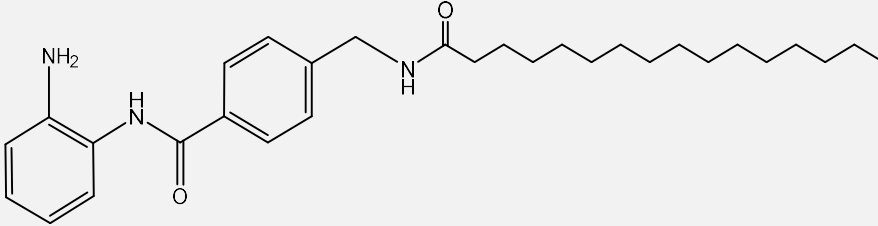
-5, 385



N-(2-AMINO-4-FLUOROFENIL)-4-(((9Z,12Z)-OCTADECA-9,12-DIENAMIDO)METIL) BENZAMIDA- (3B)

-4, 742



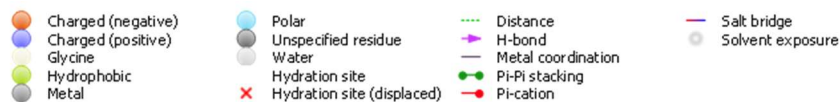
N-(2-AMINO-4-FLUOROFENIL)-4-(PALMITAMIDOMETIL) BENZAMIDA – (3A)* 	-
N-(2-AMINO-4-FLUOROFENIL)-4-(((9Z,12Z,15Z)-OCTADECA-9,12,15-TRIENAMIDO)METIL) BENZAMIDA - (3C)* 	-
N-(2-AMINOFENIL)-4-(PALMITAMIDOMETIL) BENZAMIDE – (4A)* 	-

*Compostos cujo *software* não realizou a ancoragem molecular.
a: ácido palmítico;
b: ácido linoleico;
c: ácido linolênico.

Fonte: autoria própria, 2023.

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.

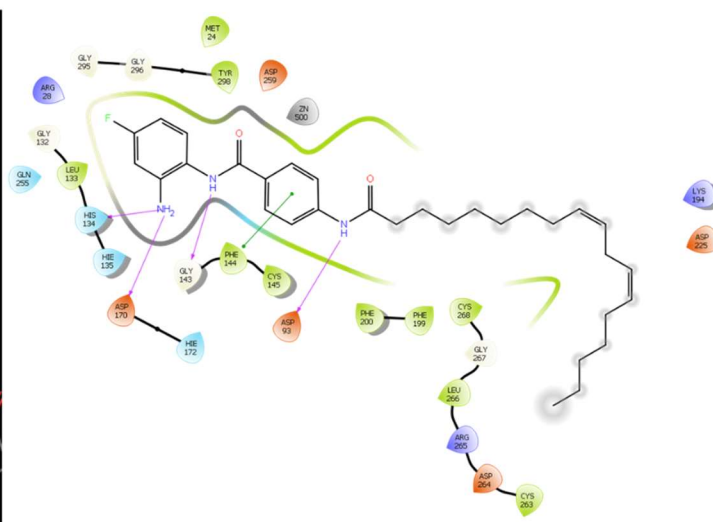
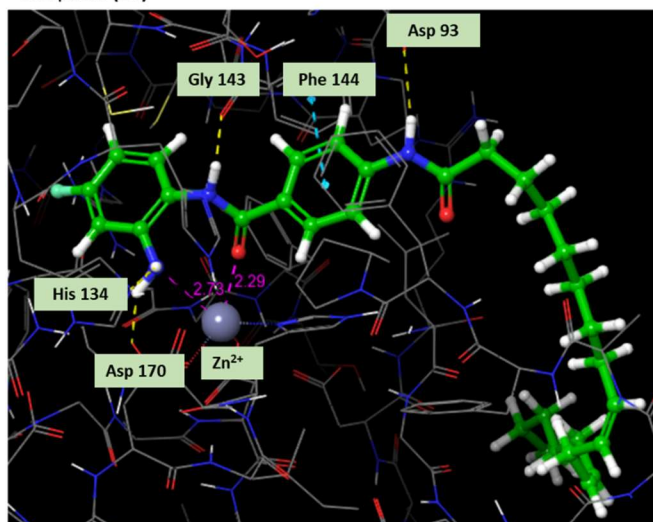
		Compostos seletivos (derivados BRD 3308)						Compostos não- seletivos (derivados CI-994)						BRD- 33008	CI- 994
		(2a)	(2b)	(2c)	(3a)	(3b)	(3c)	(1a)	(1b)	(1c)	(4a)	(4b)	(4c)		
Quelação com Zinco		X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Cavidade interna HDAC-3	Histidina 134	X	X	X		X		X	X	X		X	X	X	X
	Histidina 135			X		X									
	Glicina 143	X	X	X		X		X	X	X		X	X	X	X



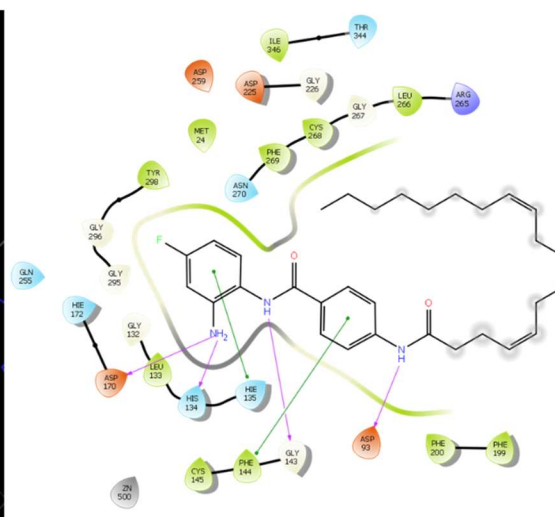
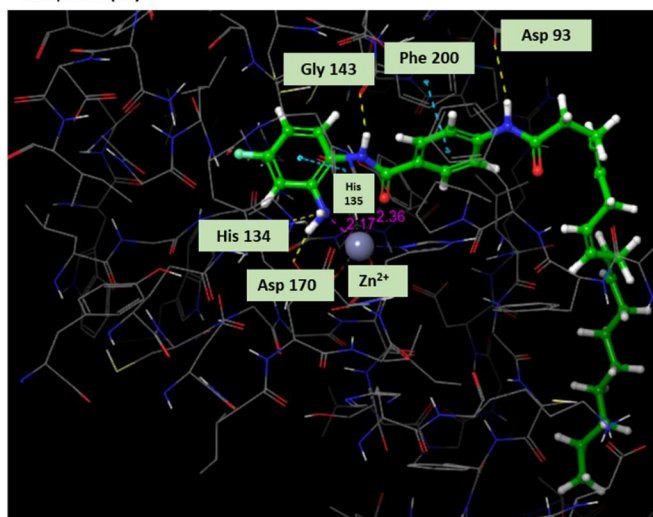
Fonte: autoria própria, 2023.

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 (quelção) 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).

Composto (**2b**)



Composto (**2c**)



Fonte: autoria própria, 2023.

APENDICE C – ESPECTROS DE INFRAVERMELHO E RMN DOS COMPOSTOS SINTETIZADOS

• SÉRIE A:

1. Intermediários (8a), (8b), (8c)

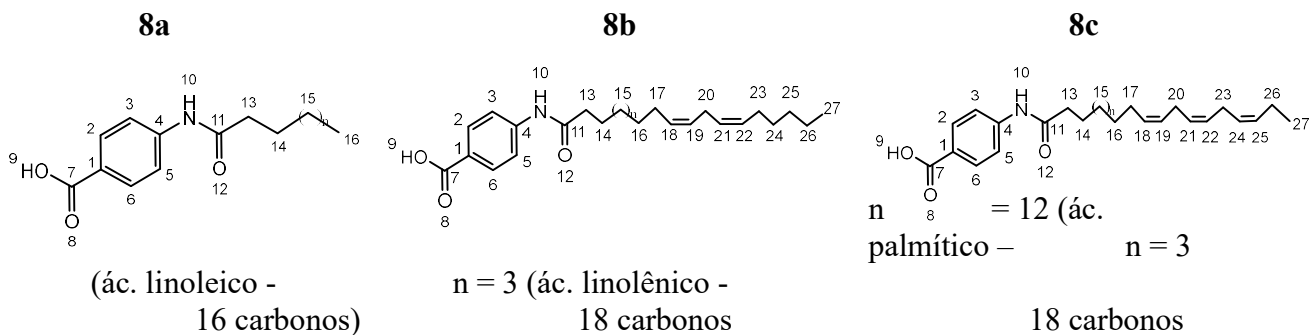


Figura 63 - Espectros de infravermelho de (8a, 8b, 8c).

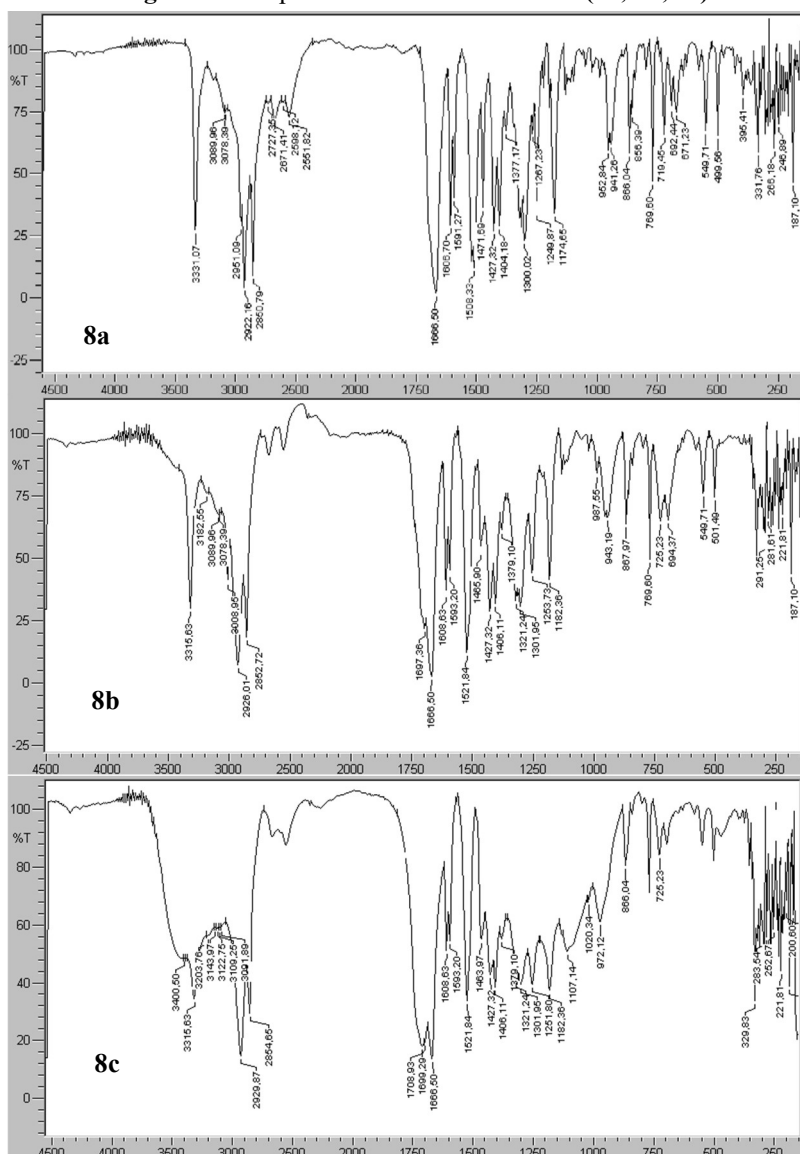


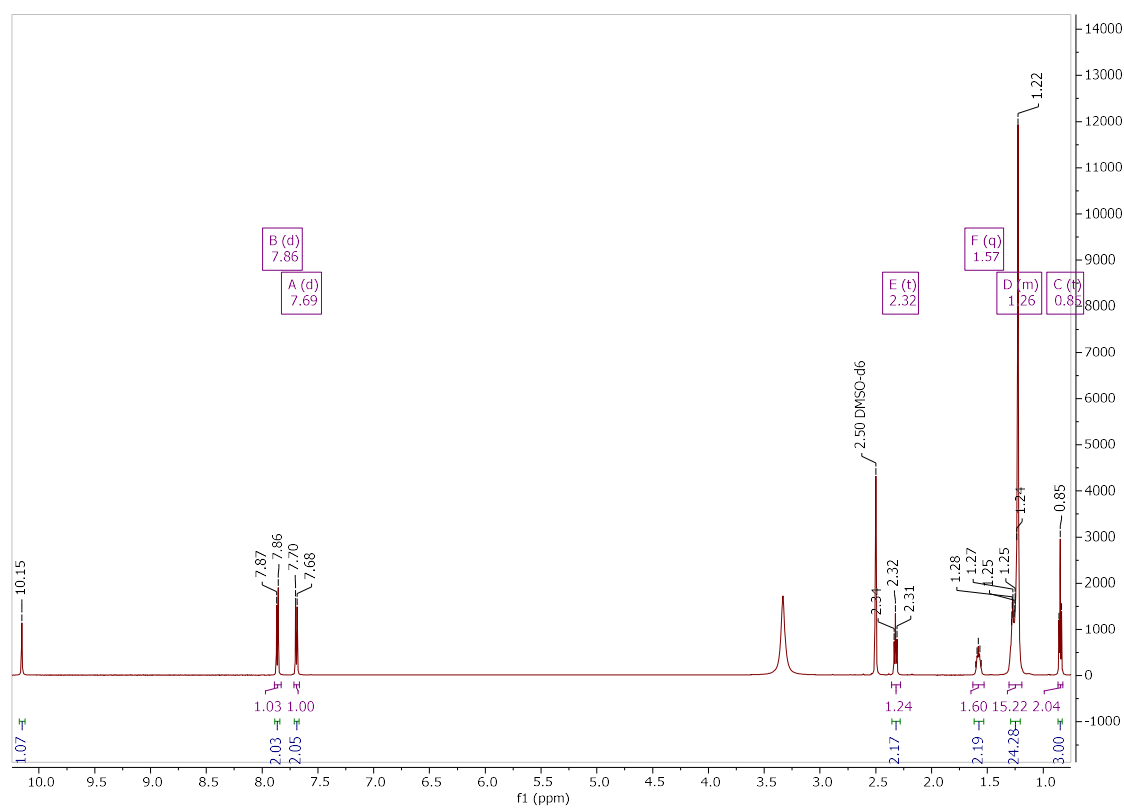
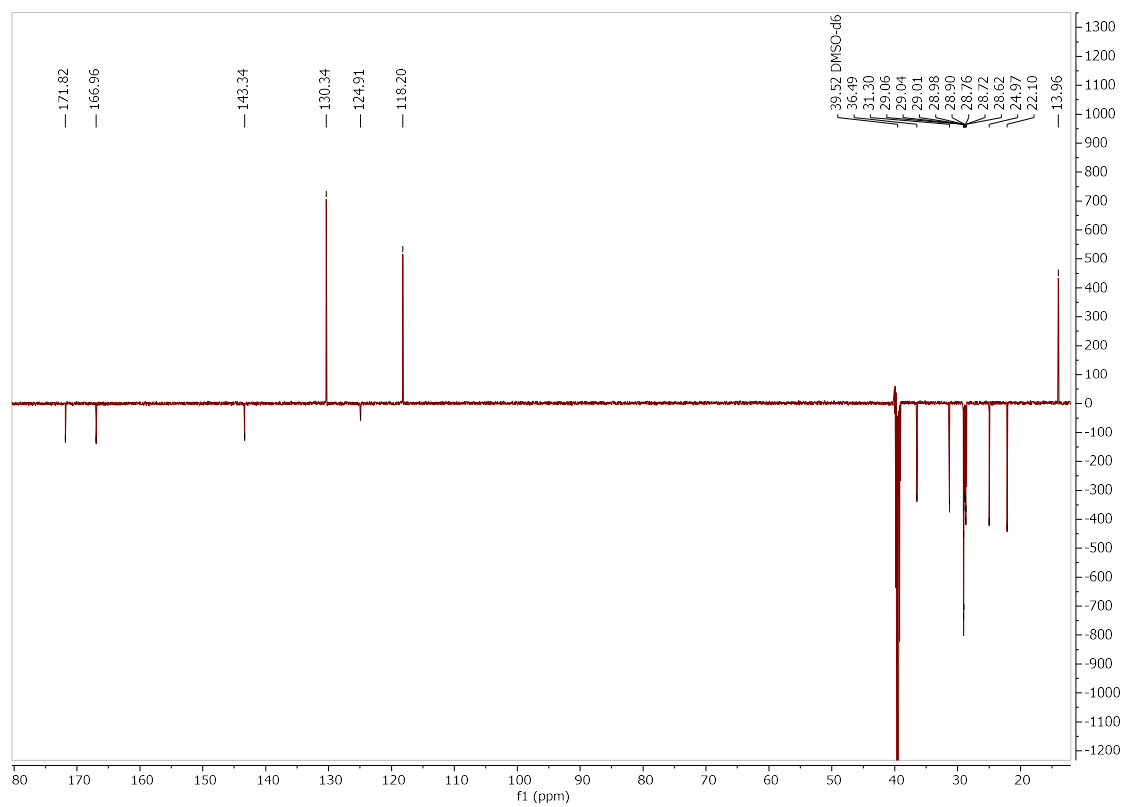
Figura 64 - Espectro de RMN ^1H de (8a).Figura 65 - Espectro de RMN ^{13}C de (8a).

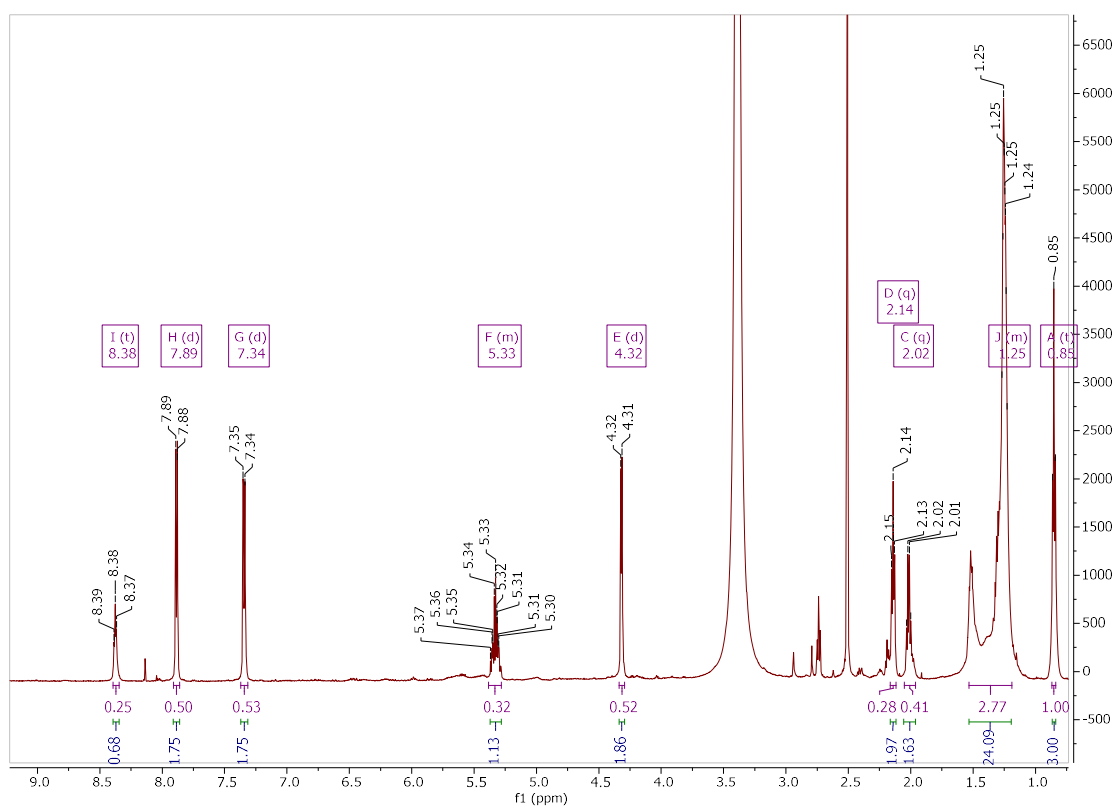
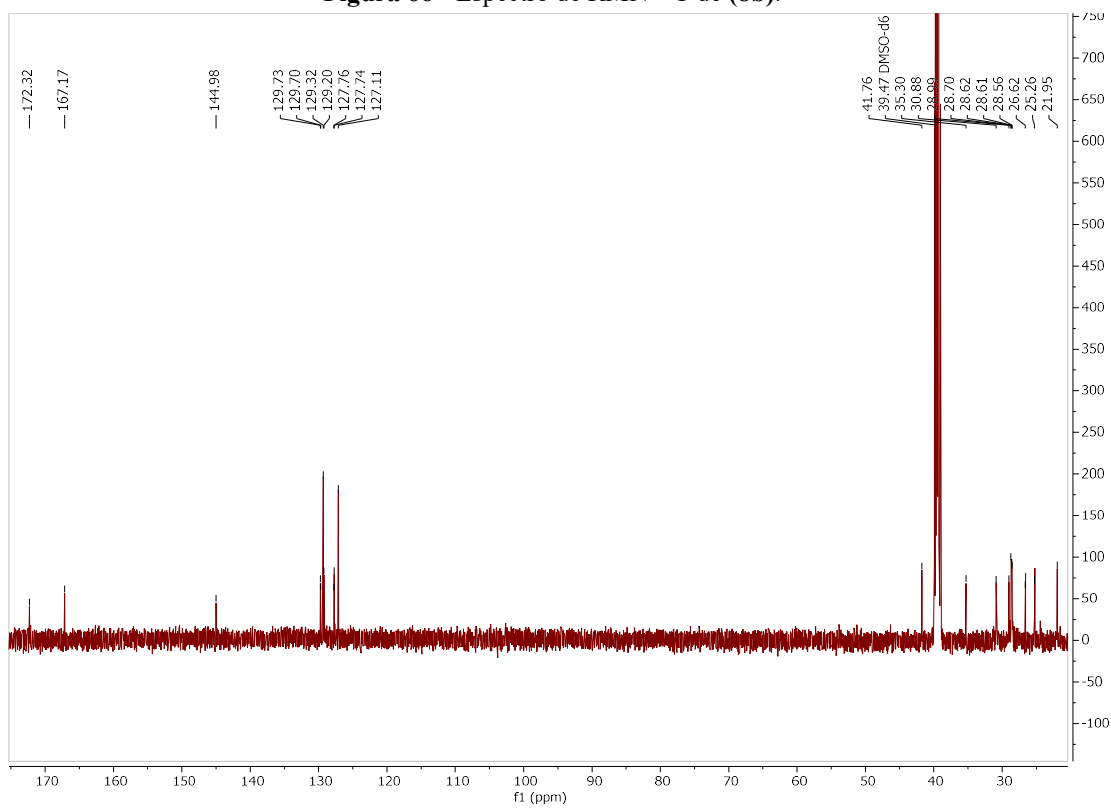
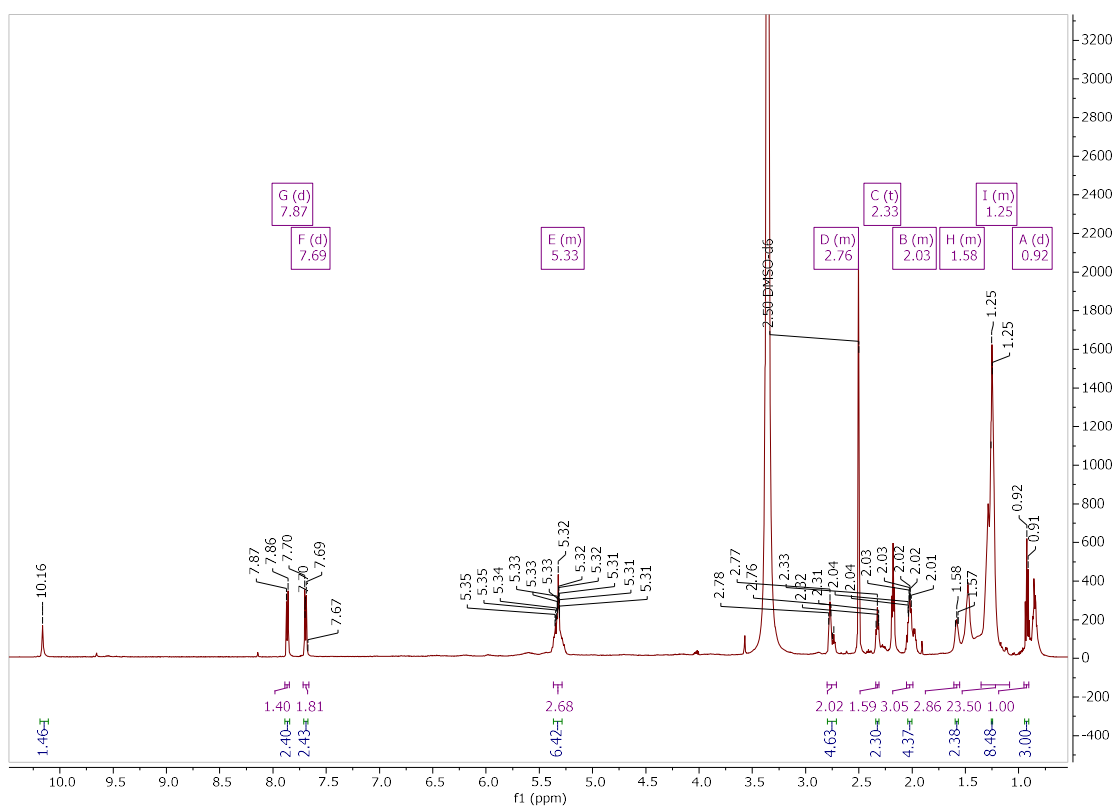
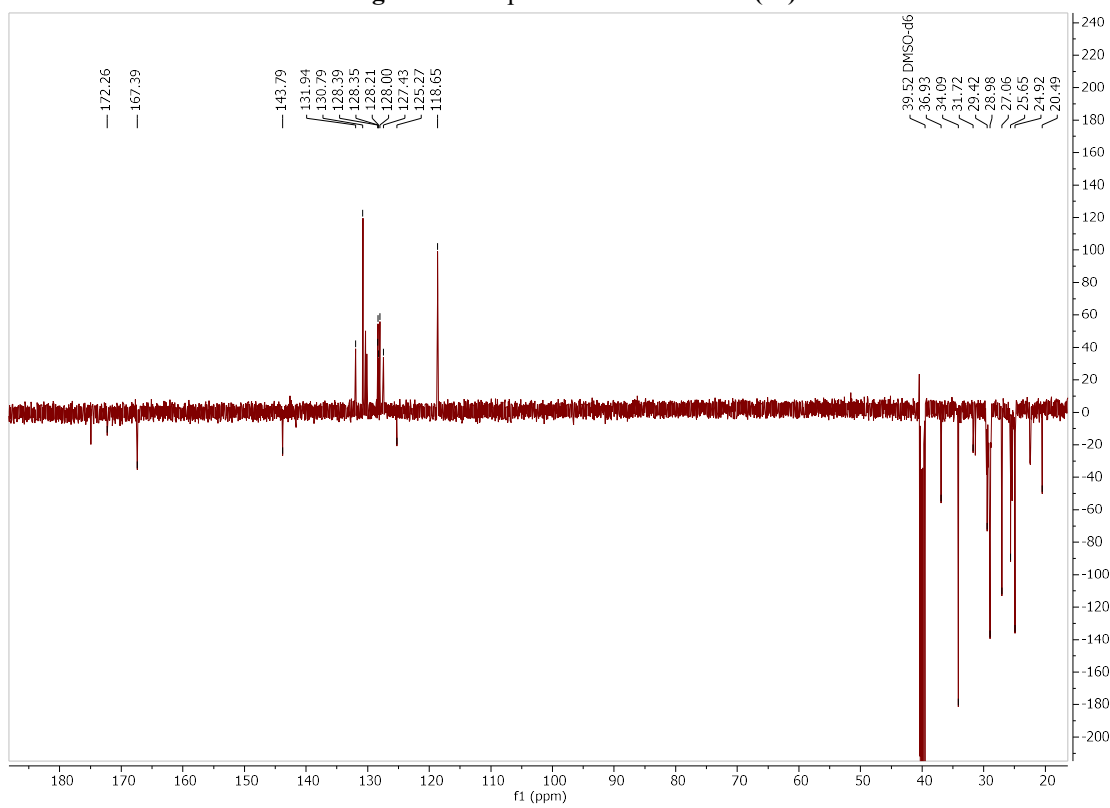
Figura 67 - Espectro de RMN ^1H de (8b).Figura 66 - Espectro de RMN ^{13}C de (8b).

Figura 68 - Espectro de RMN ^1H de (8c).Figura 69 - Espectro de RMN ^{13}C de (8c).

2. Intermediário (11)

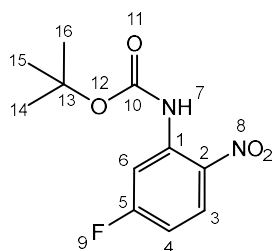


Figura 70 - Espectro de infravermelho de (11).

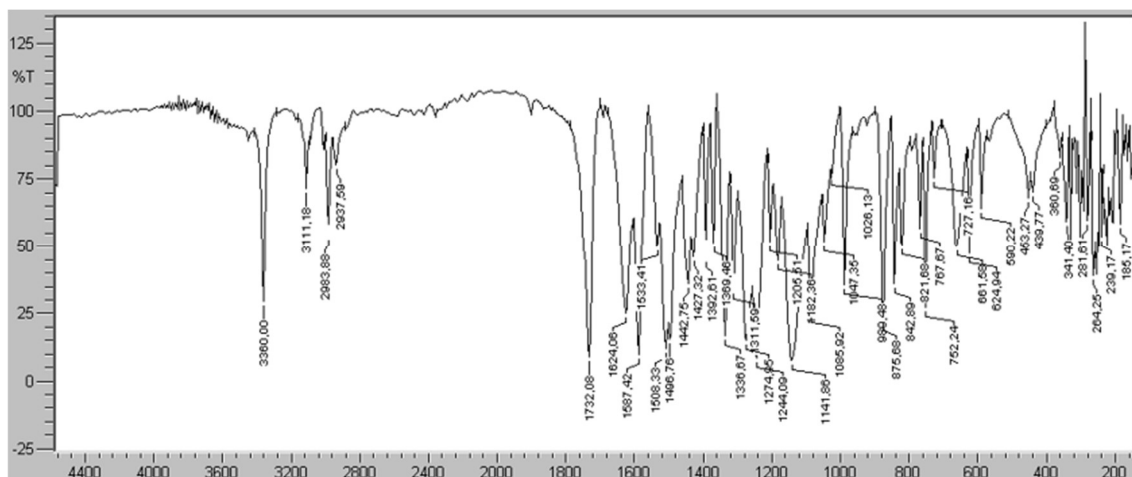


Figura 71 - Espectro de RMN ^1H de (11).

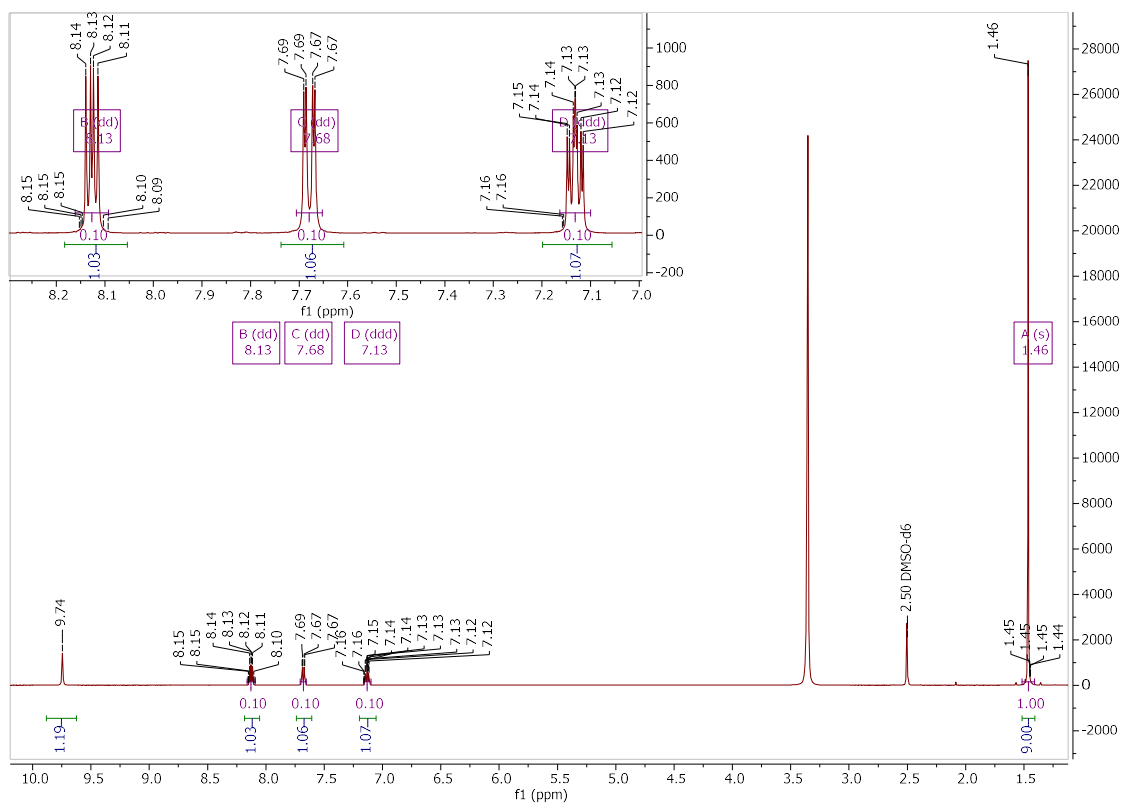
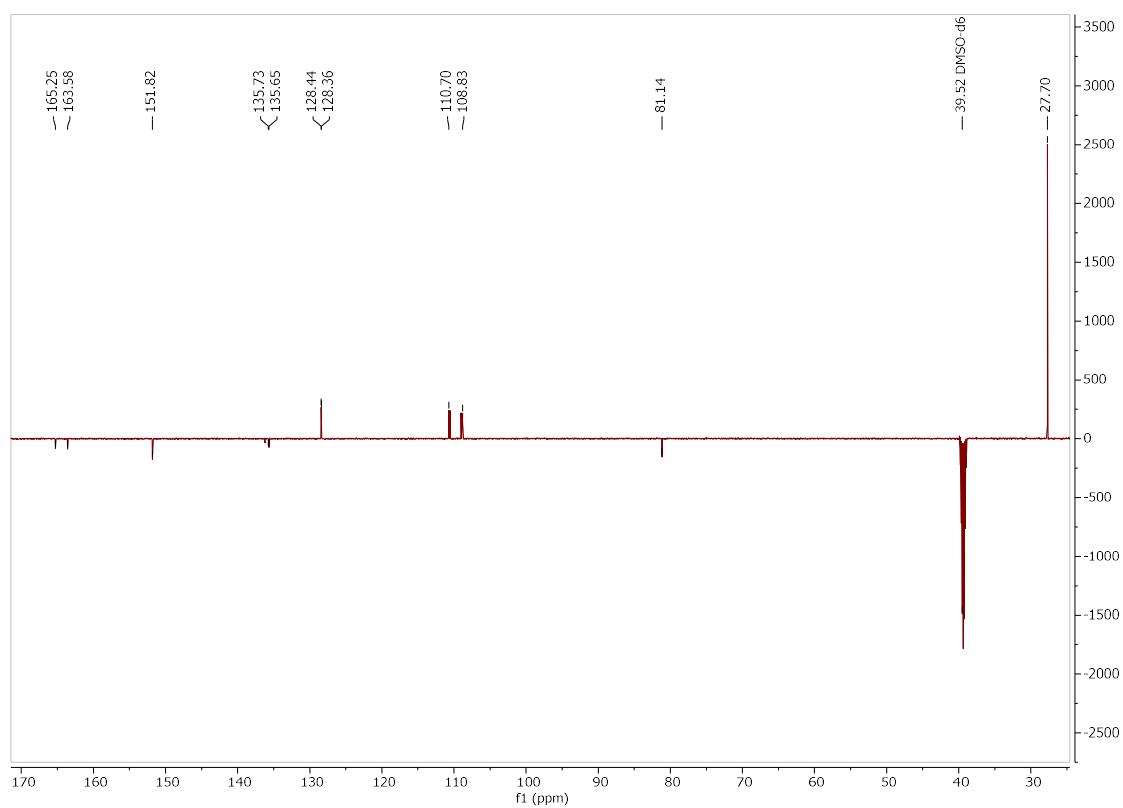


Figura 72 - Espectro de RMN ^{13}C de (11).



3. Intermediário (12)

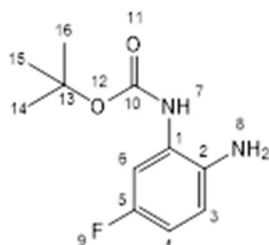


Figura 73 - Espectro de infravermelho de (12).

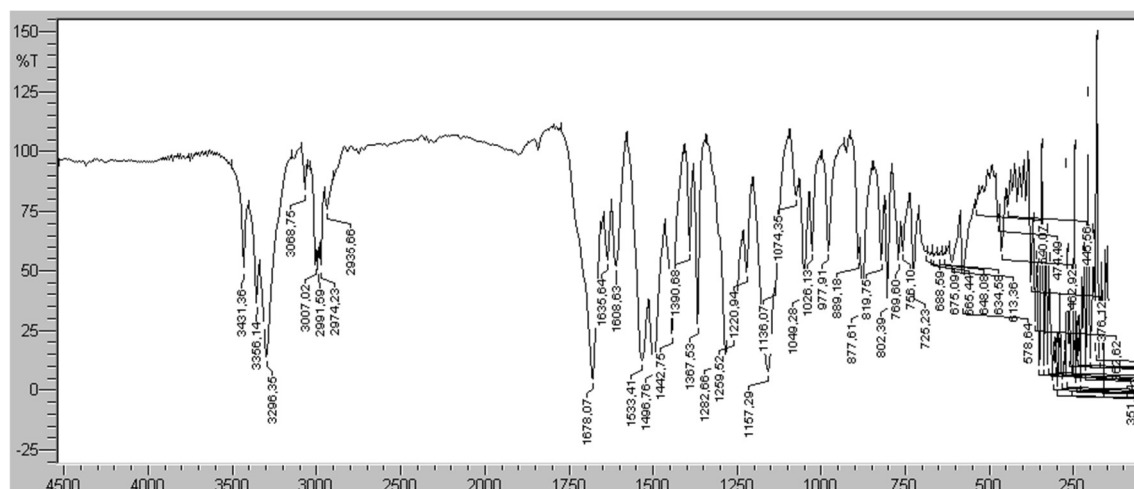


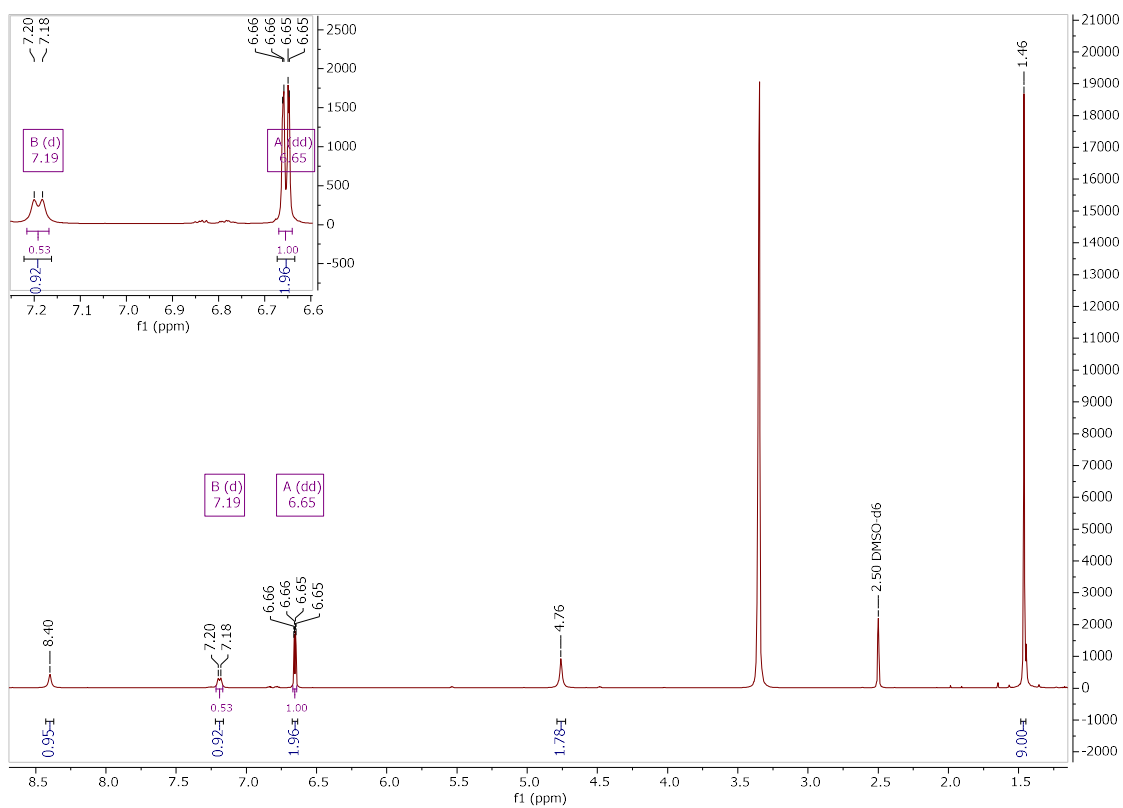
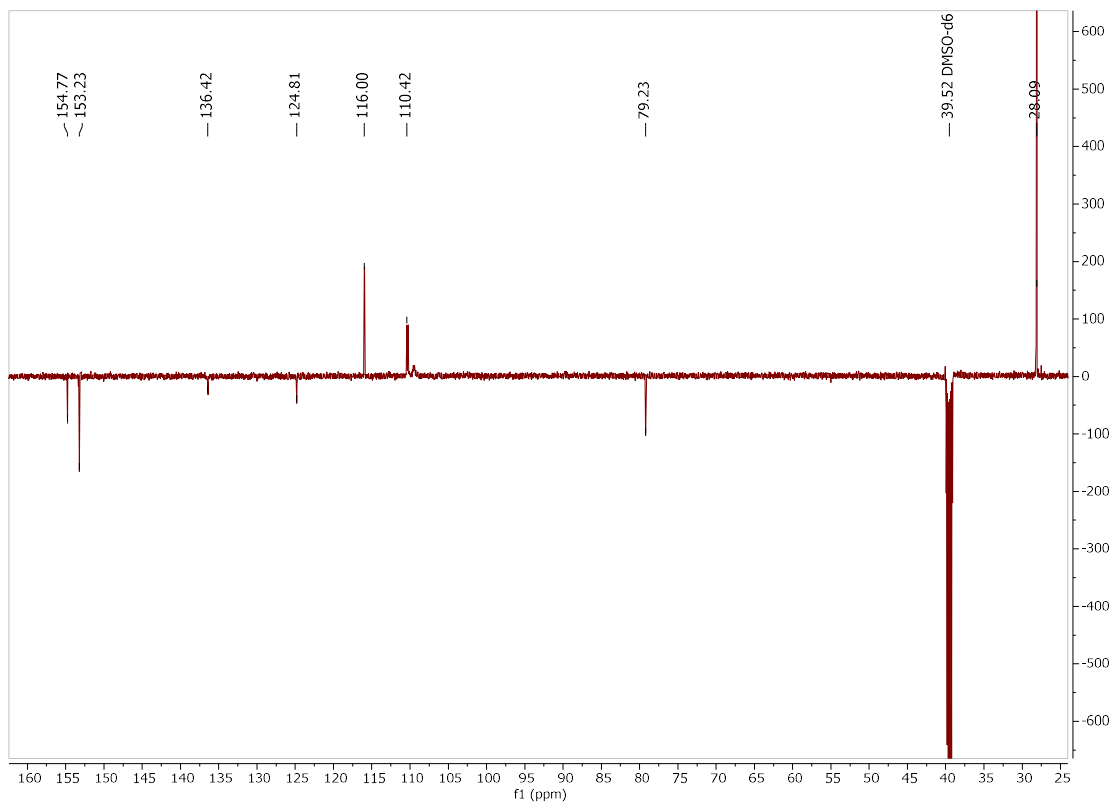
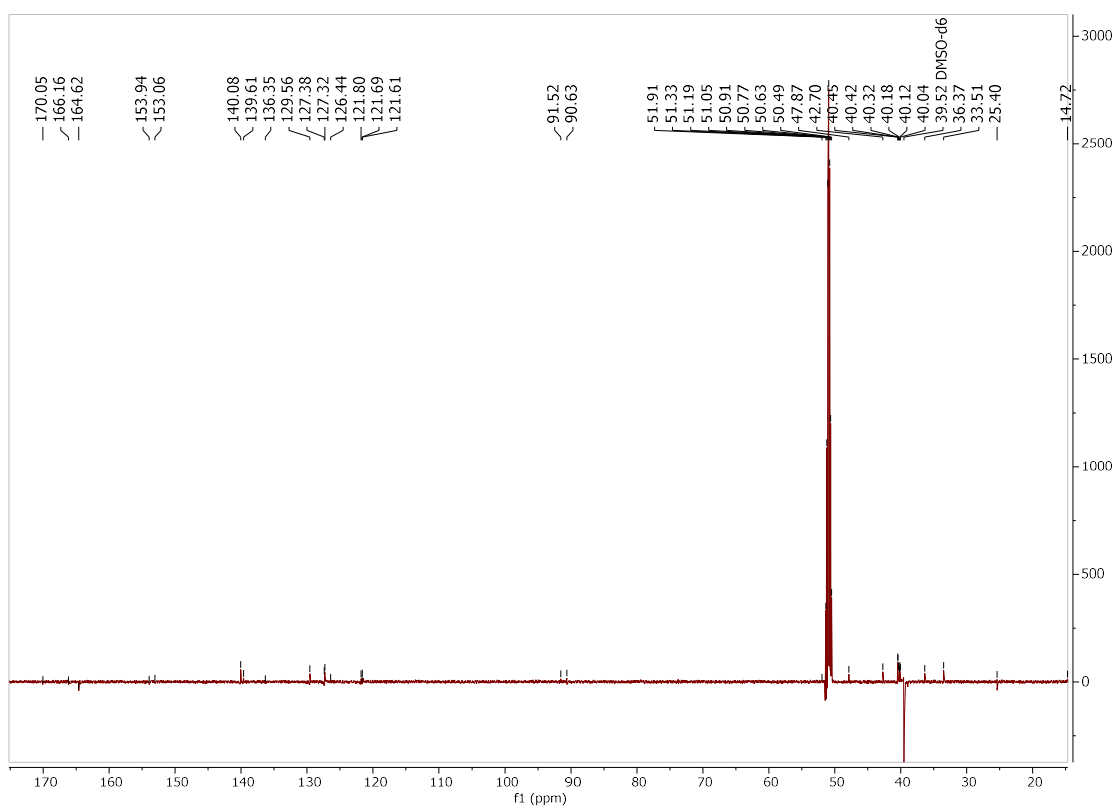
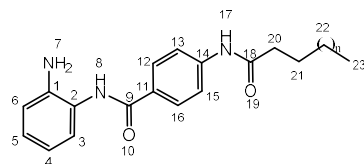
Figura 74 - Espectro de RMN ^1H de (12).Figura 75 - Espectro RMN ^{13}C de (12).



Figura 78 - Espectro de RMN ^{13}C de (13a).

5. Composto final (1a)



$n = 12$ (ác. palmítico – 16 carbonos)

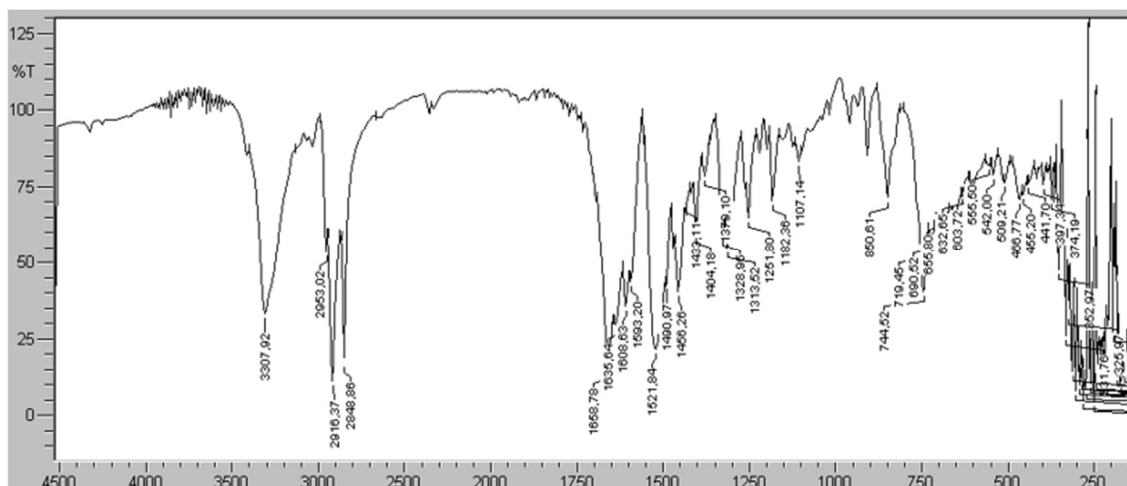
Figura 79 - Espectro de infravermelho de (1a).

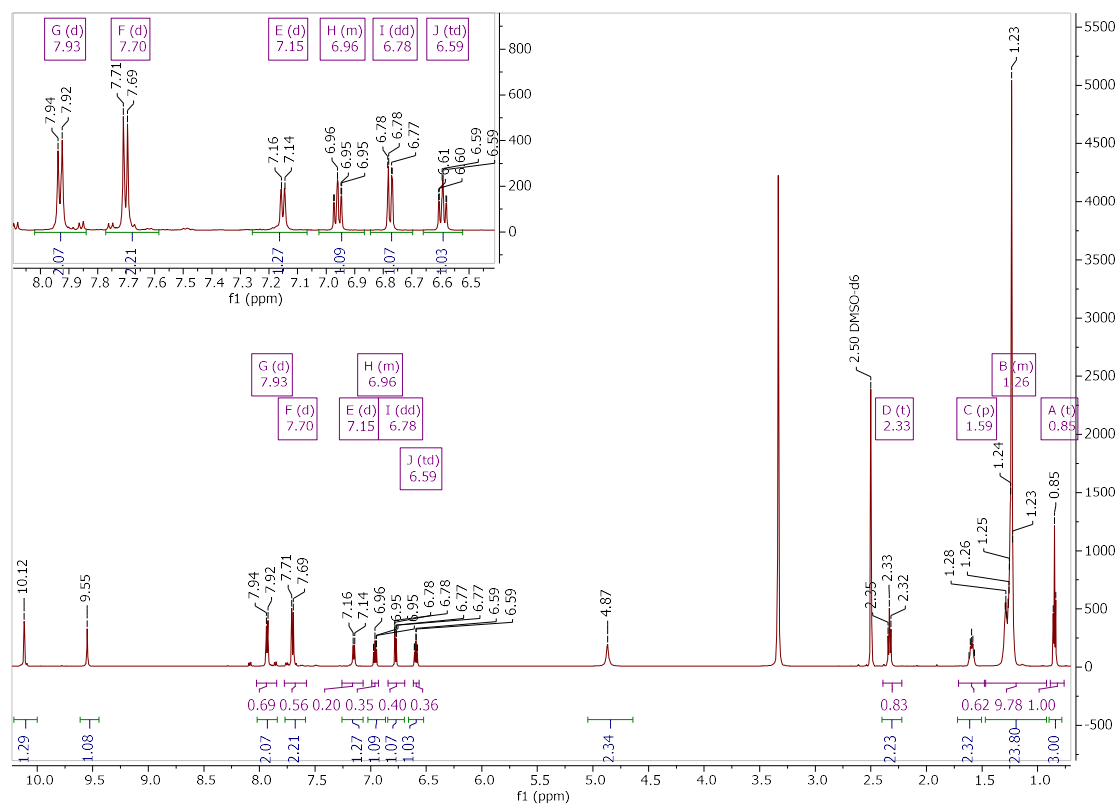
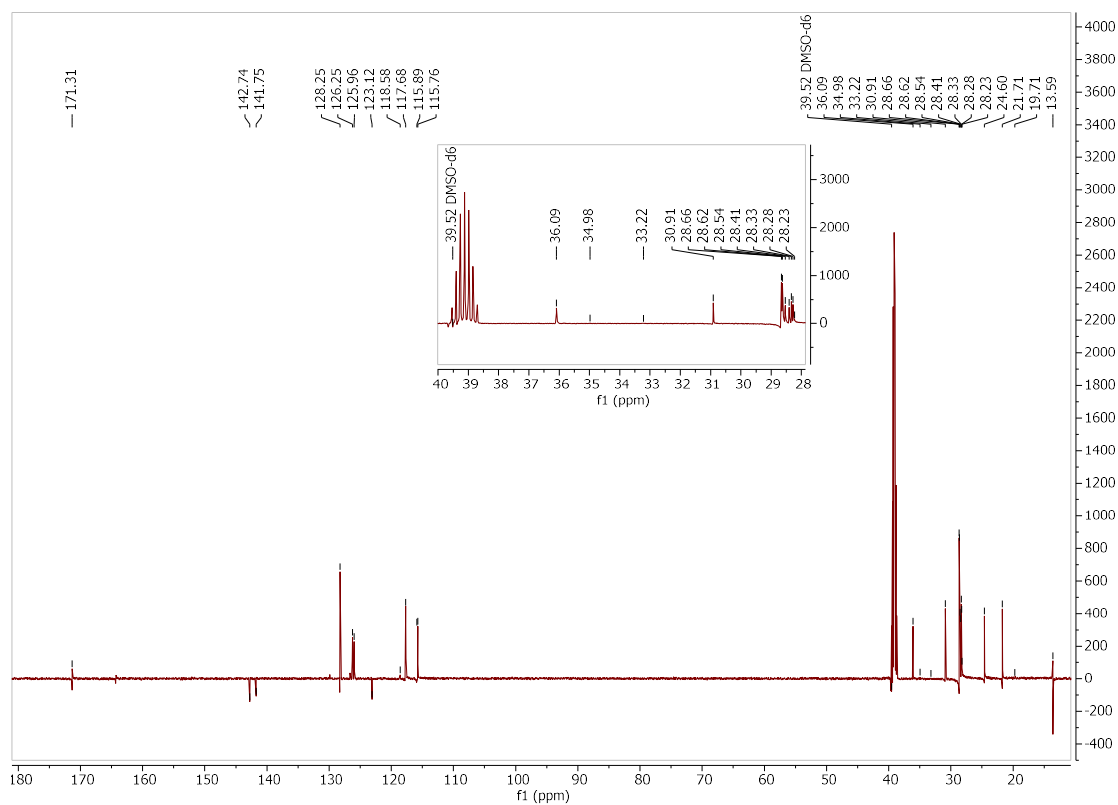
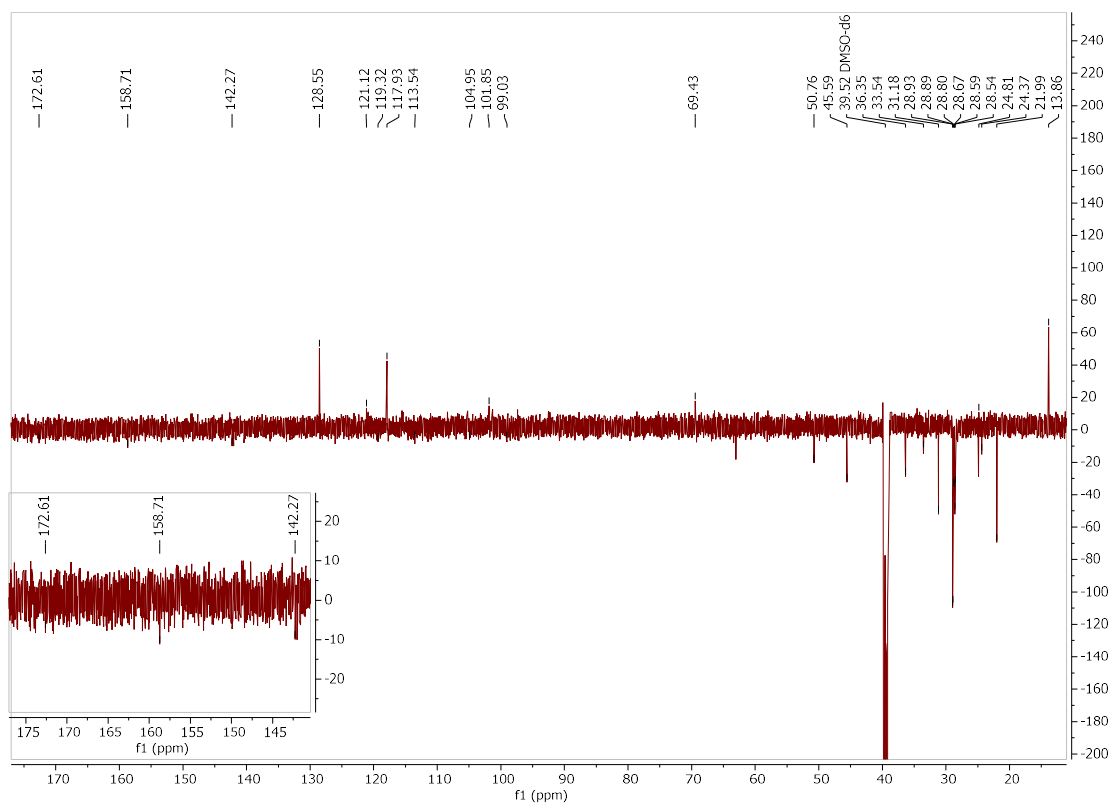
Figura 80 - Espectro de RMN ^1H de (1a).Figura 81 - Espectro de RMN ^{13}C de (1a).

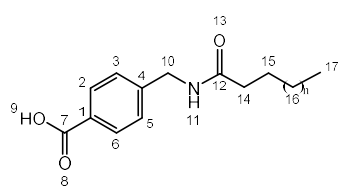


Figura 84 - Espectro de RMN ^{13}C de (2a).

SÉRIE B

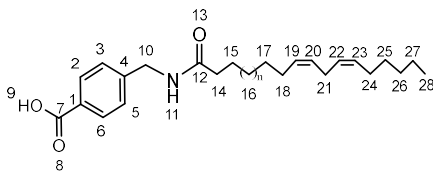
1. Intermediários (16a, 16b, 16c)

16a



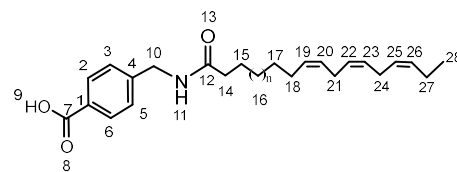
$n = 12$ (ác. palmítico –
16 carbonos)

16b



$n = 3$ (ác. linoleico -
18 carbonos)

16c



$n = 3$ (ác. linolênico -
18 carbonos)

Figura 85 - Espectros de infravermelho de (16a e 16b).

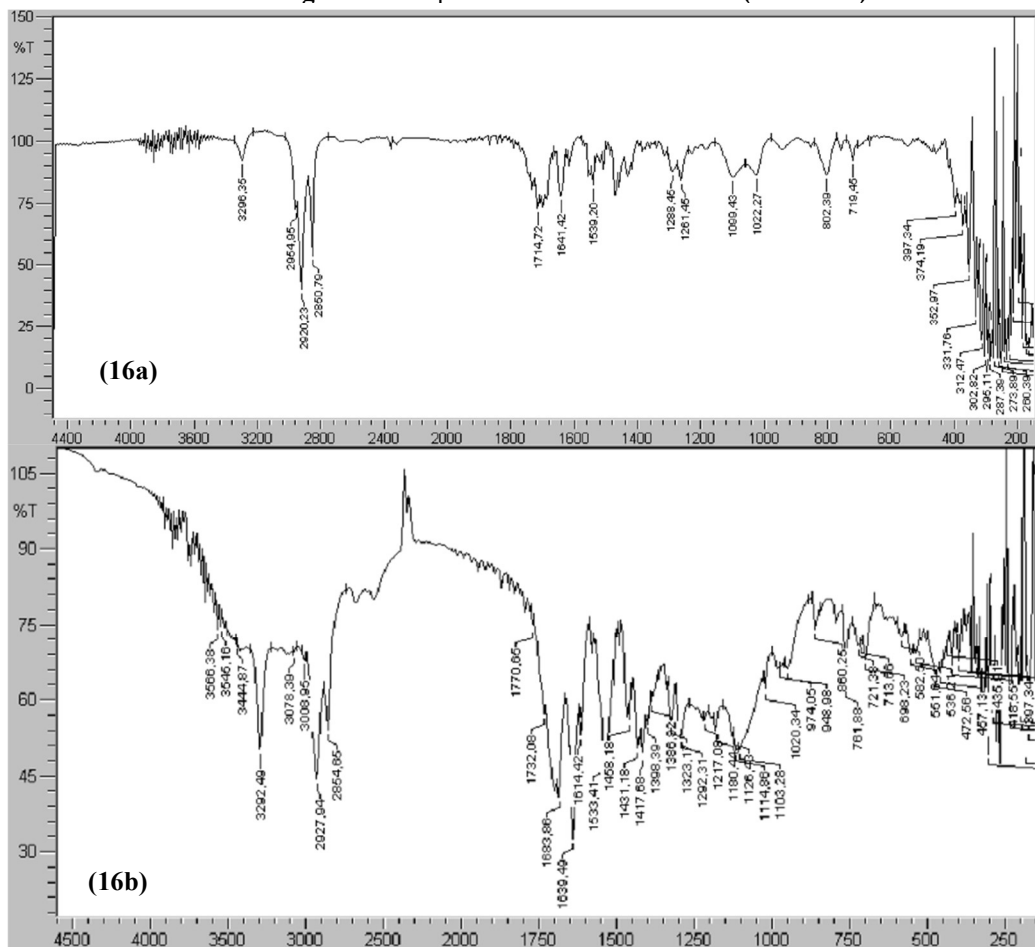
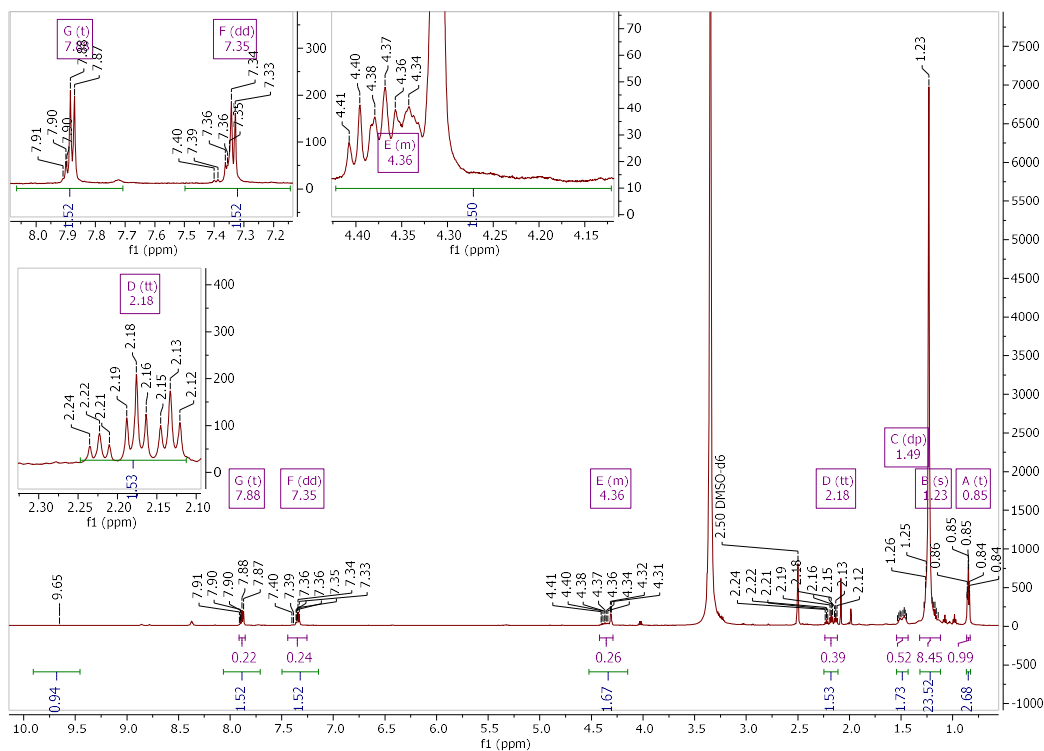
Figura 86 - Espectro RMN ^1H de (16a).

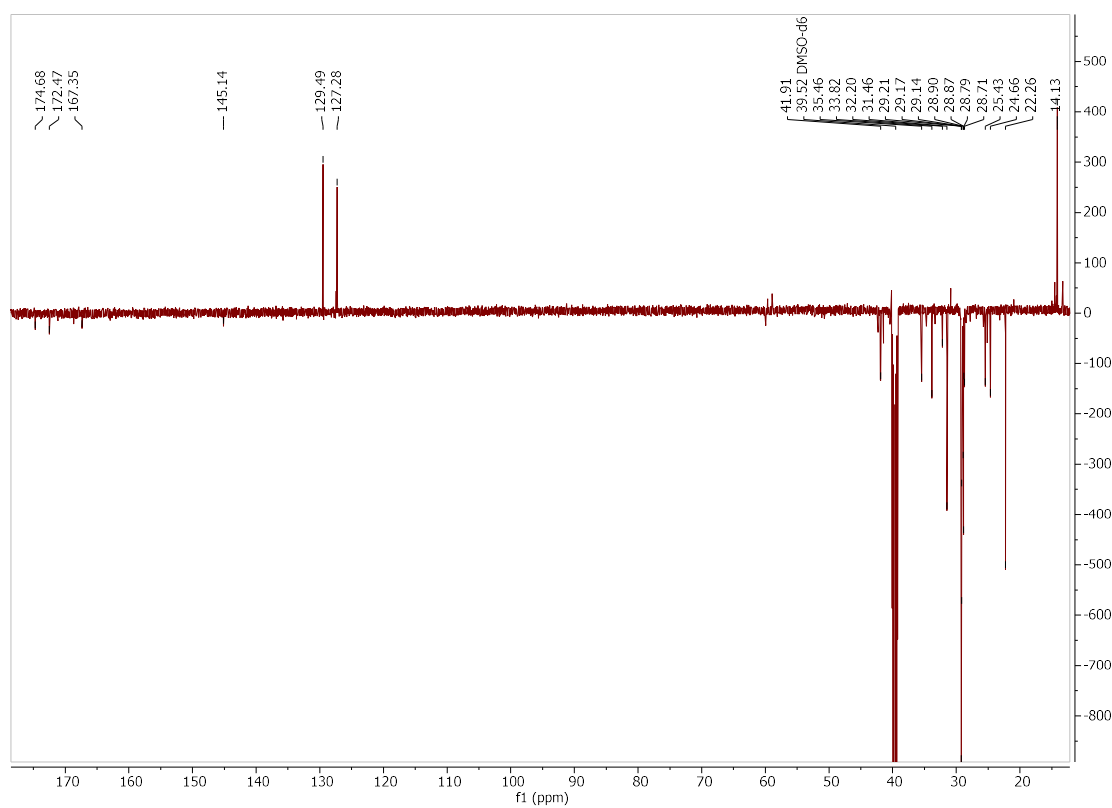
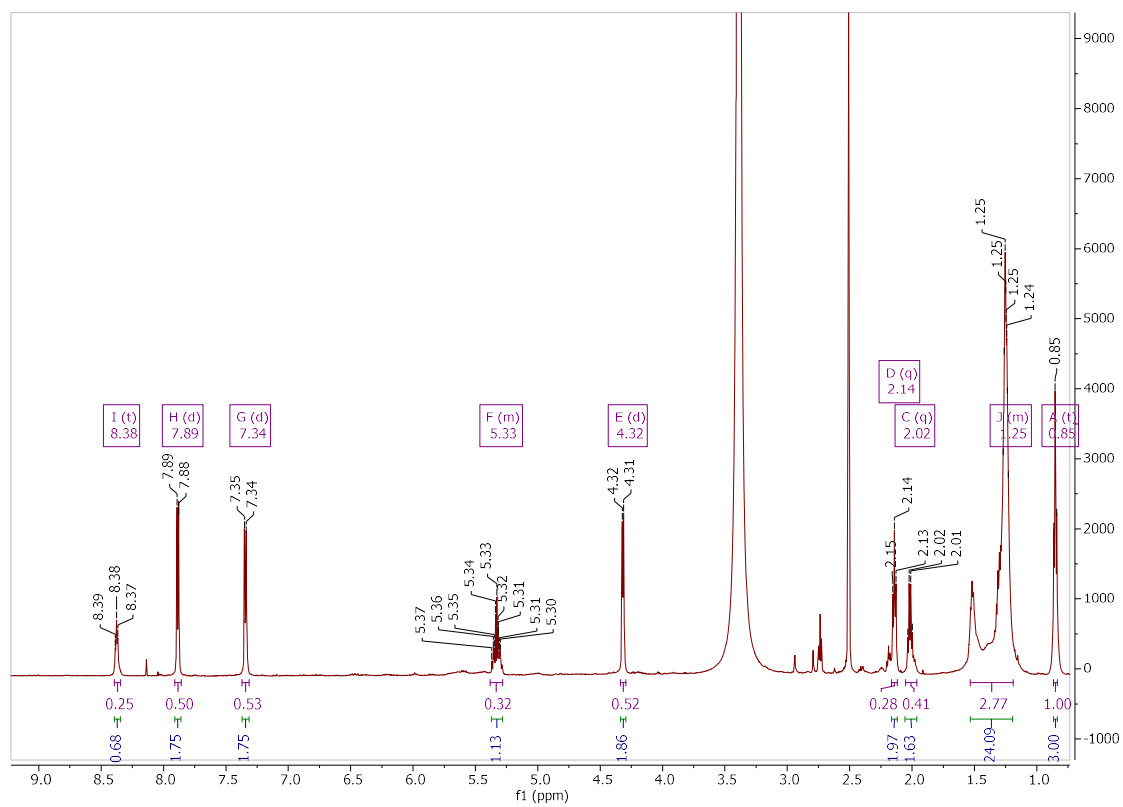
Figura 87 - Espectro de RMN ^{13}C de (16a).Figura 88 - Espectro de RMN ^1H de (16b).

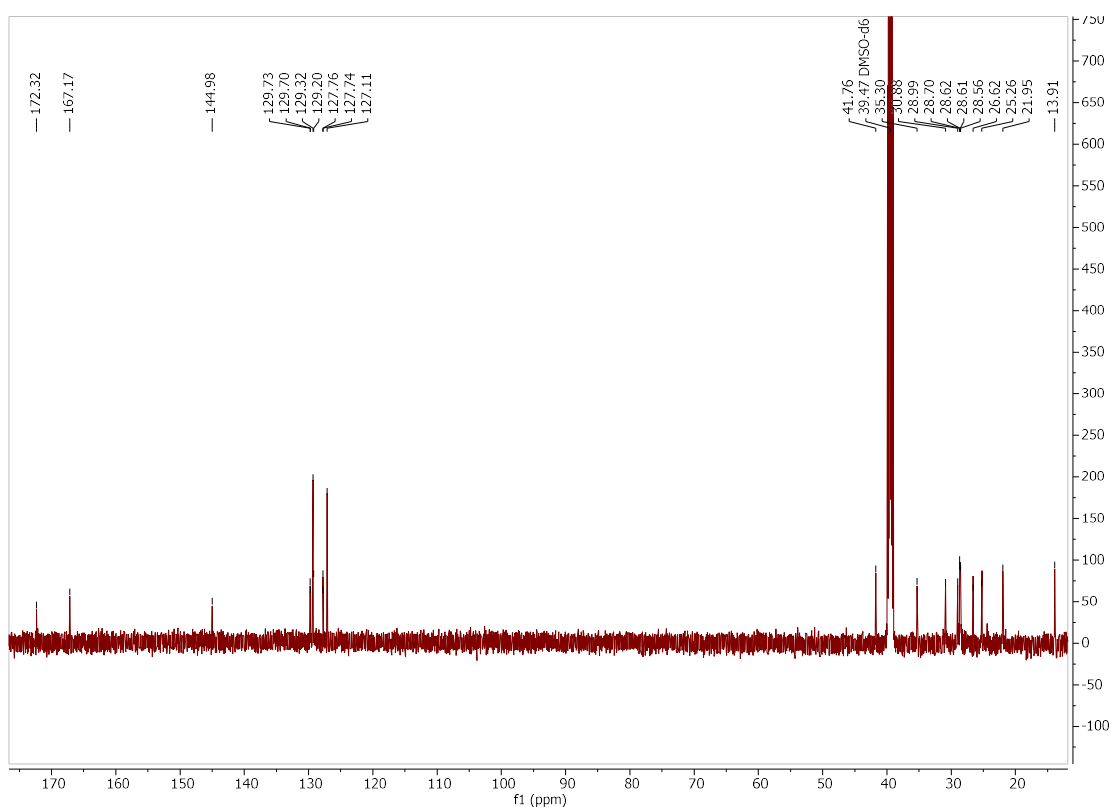
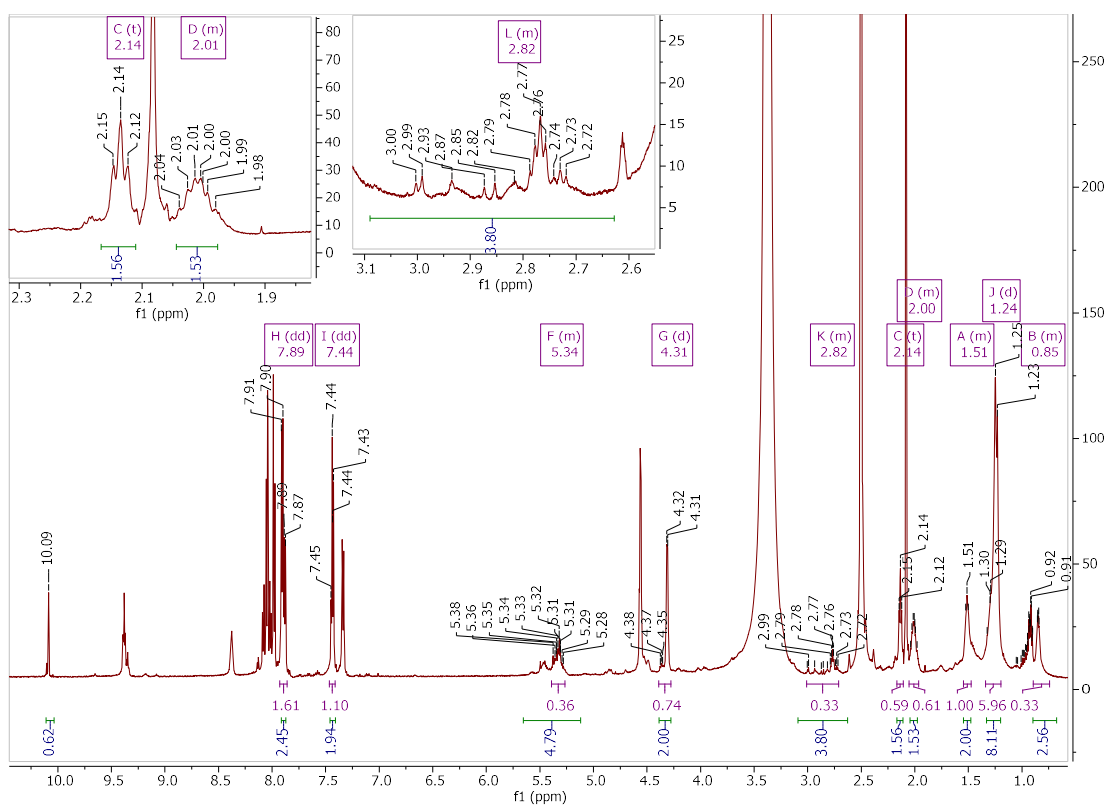
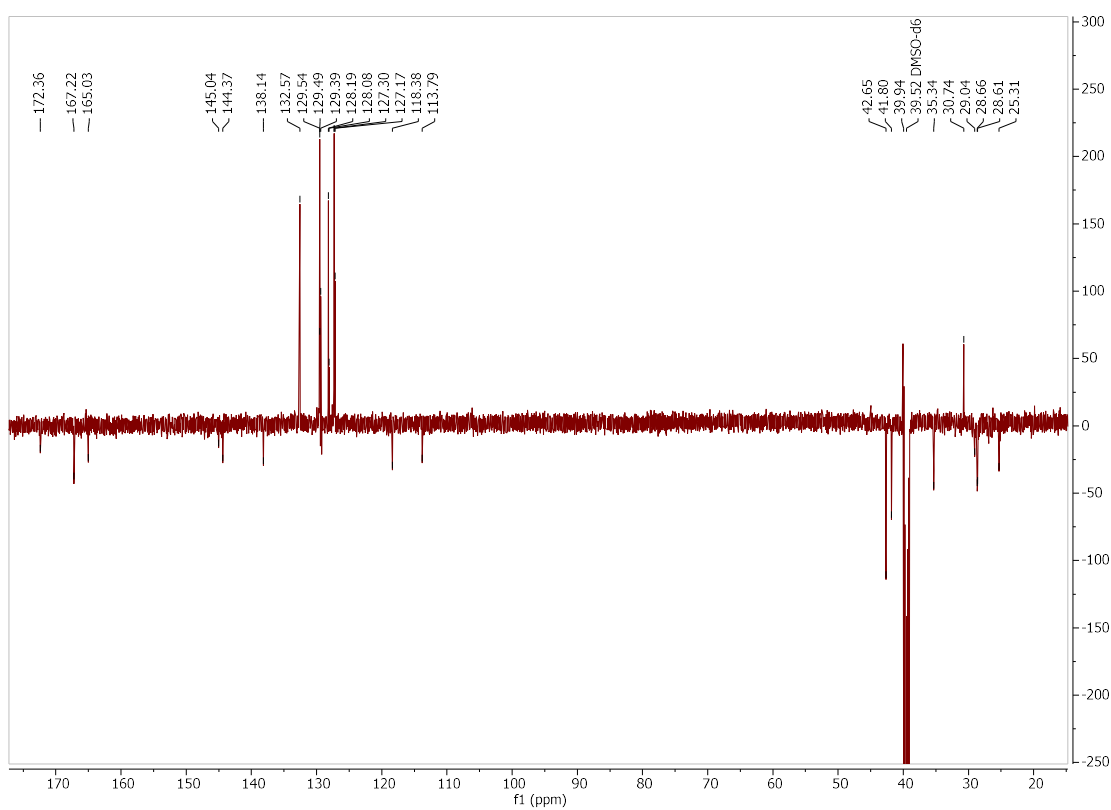
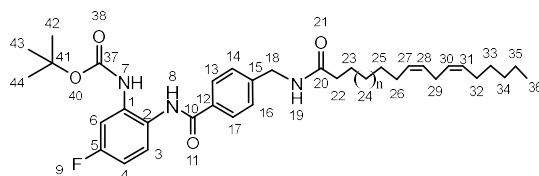
Figura 89 - Espectro de RMN ^{13}C de (16b).Figura 90 - Espectro de RMN ^1H de (16c).

Figura 91 - Espectro de RMN ^{13}C de (16c).



2. Intermediário (17b)



$n = 3$ (ác. linoleico – 18 carbonos)

Figura 92 - Espectro de infravermelho de (17b).

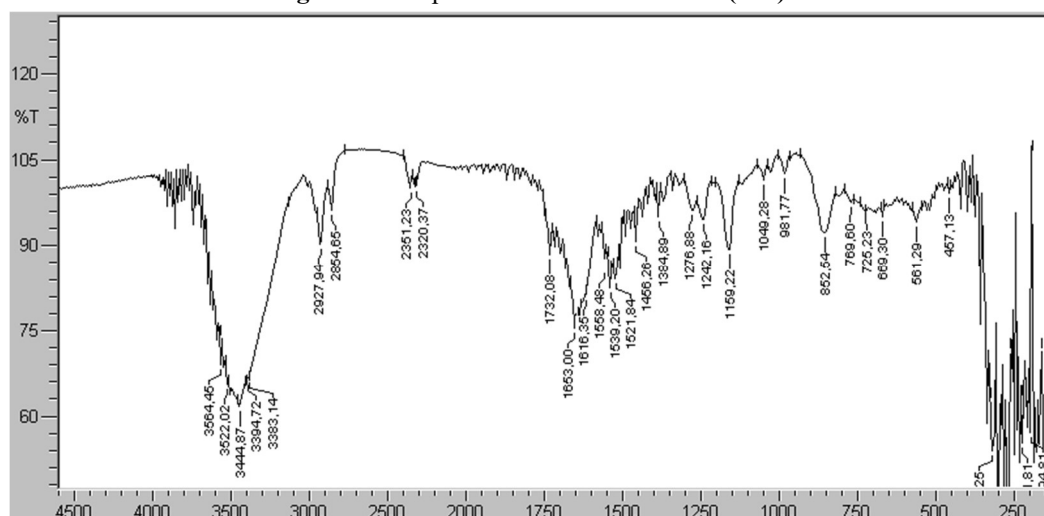


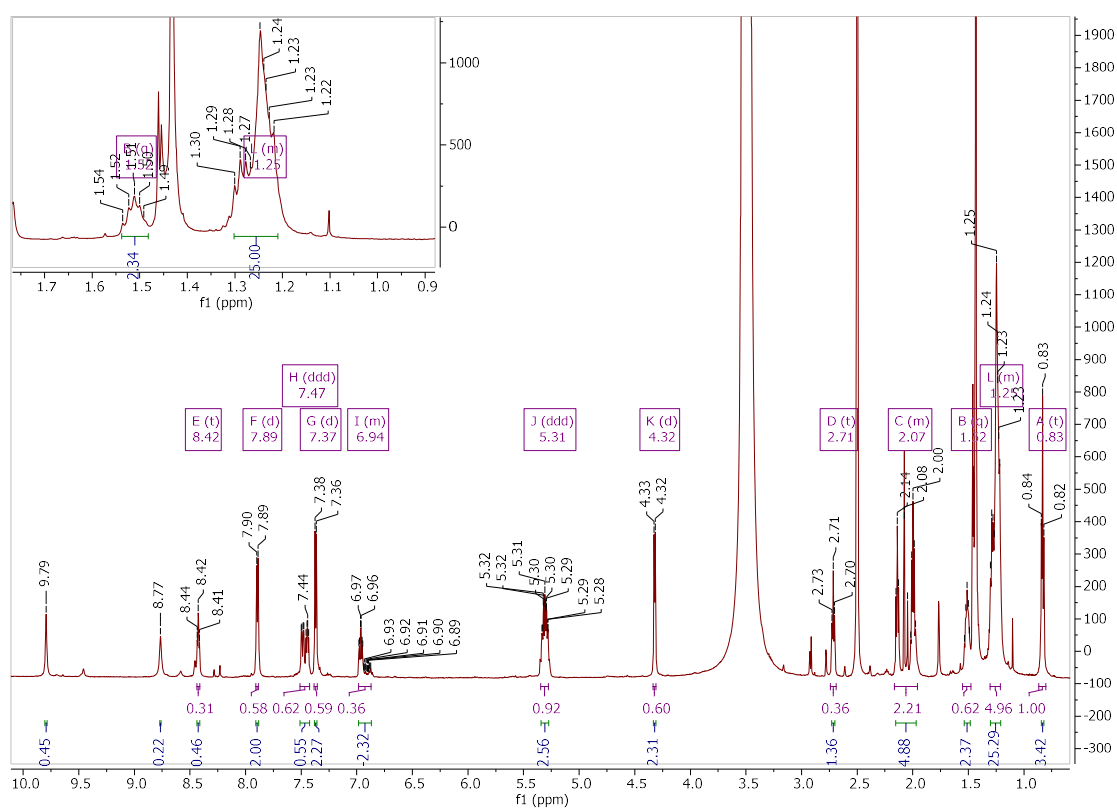
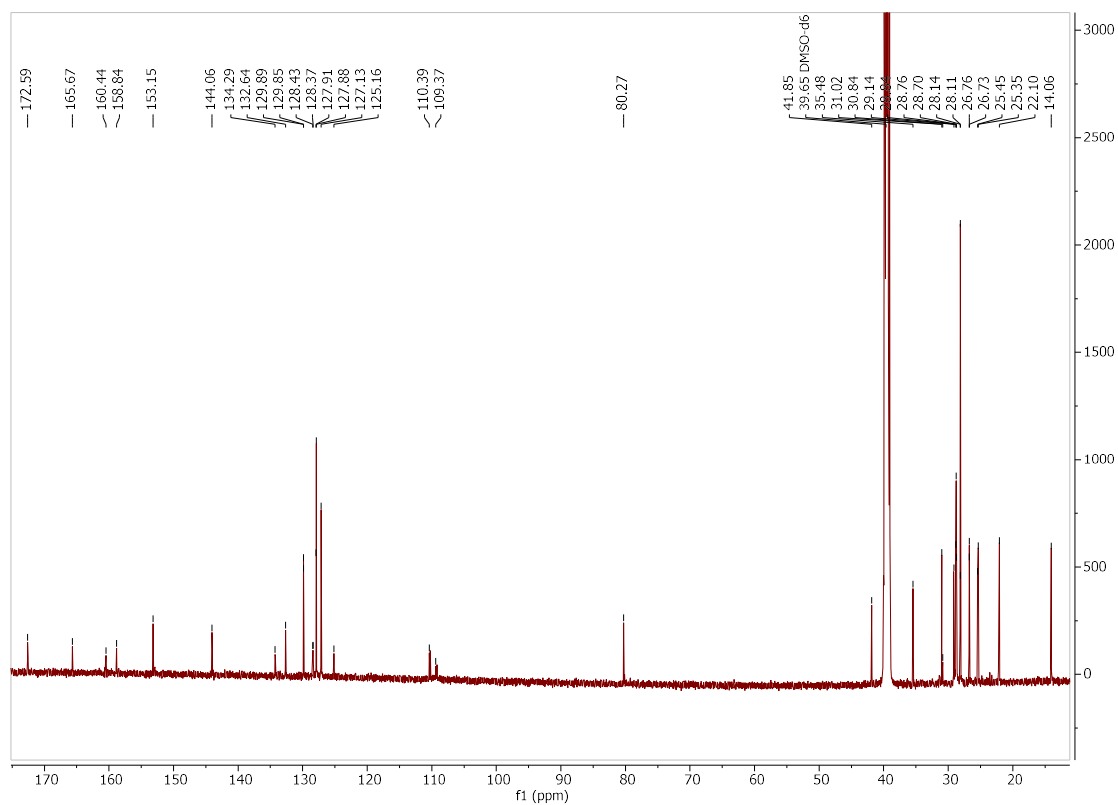
Figura 93 - Espectro de RMN ^1H de (17b).Figura 94 - Espectro de ^{13}C de (17b).



Figura 97 - Espectro de RMN de ^{13}C de (3b).

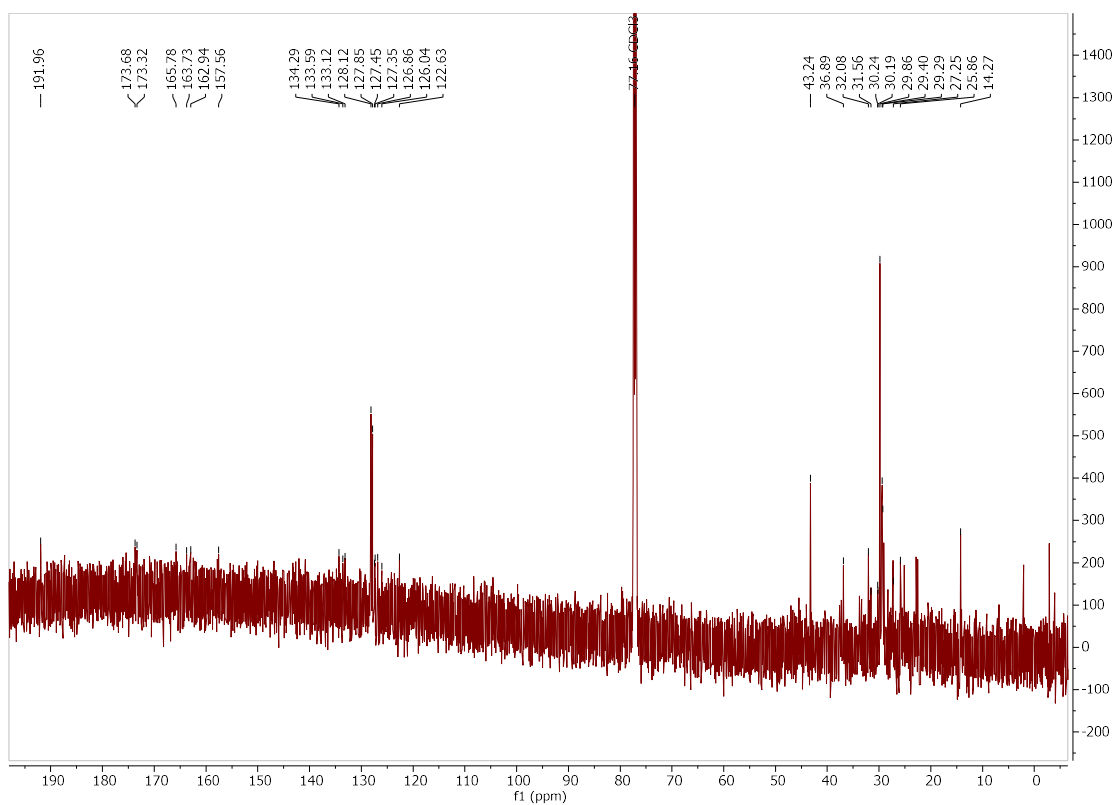
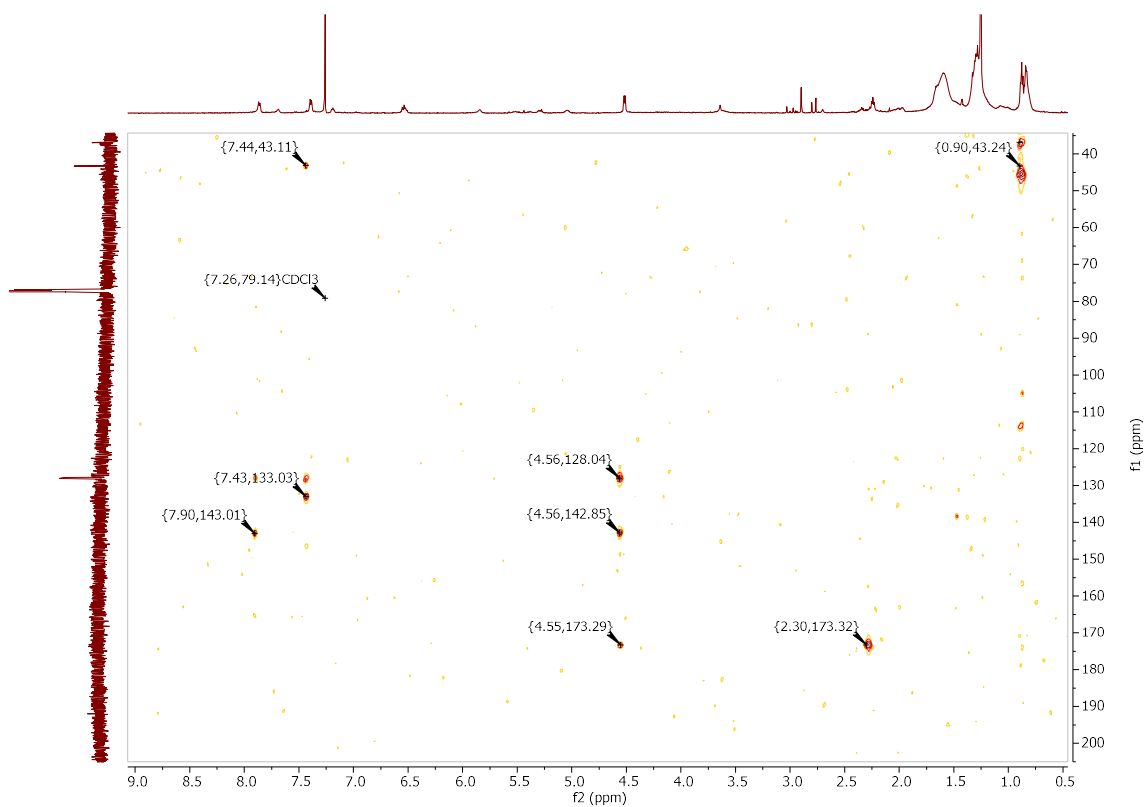
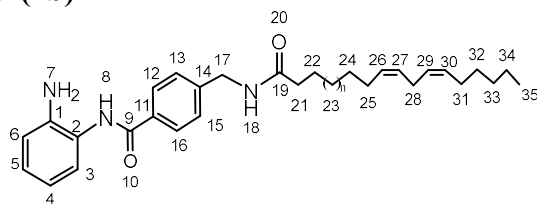


Figura 98 - Mapa de contorno de HMBC de (3b).



4. Composto final (4b)



n = 3 (ác. linoleico – 18 carbonos)

Figura 99 - Espectro de infravermelho de (4b).

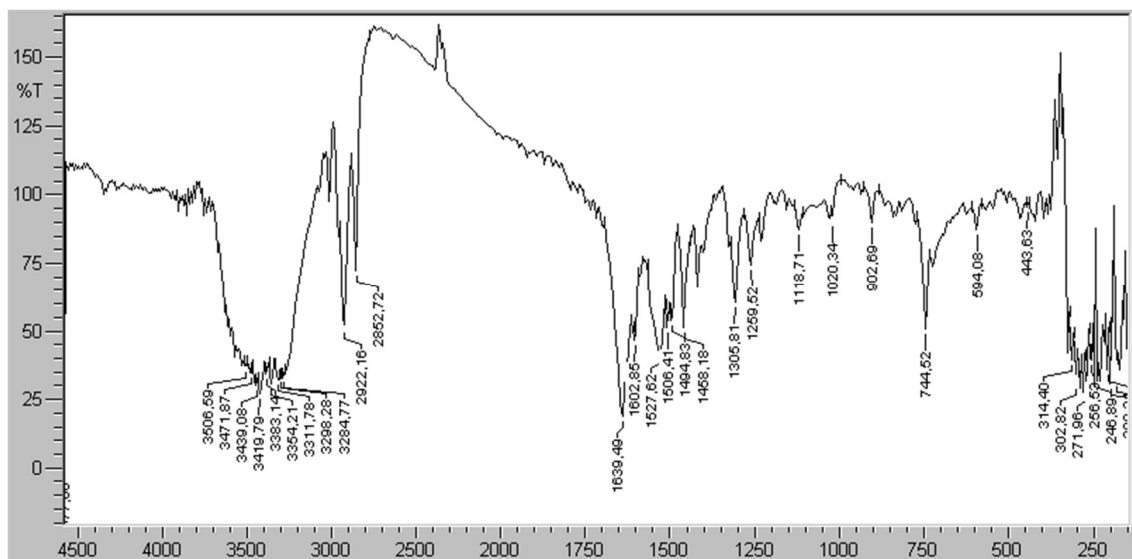


Figura 100 - Espectro de RMN de ^1H de (4b).

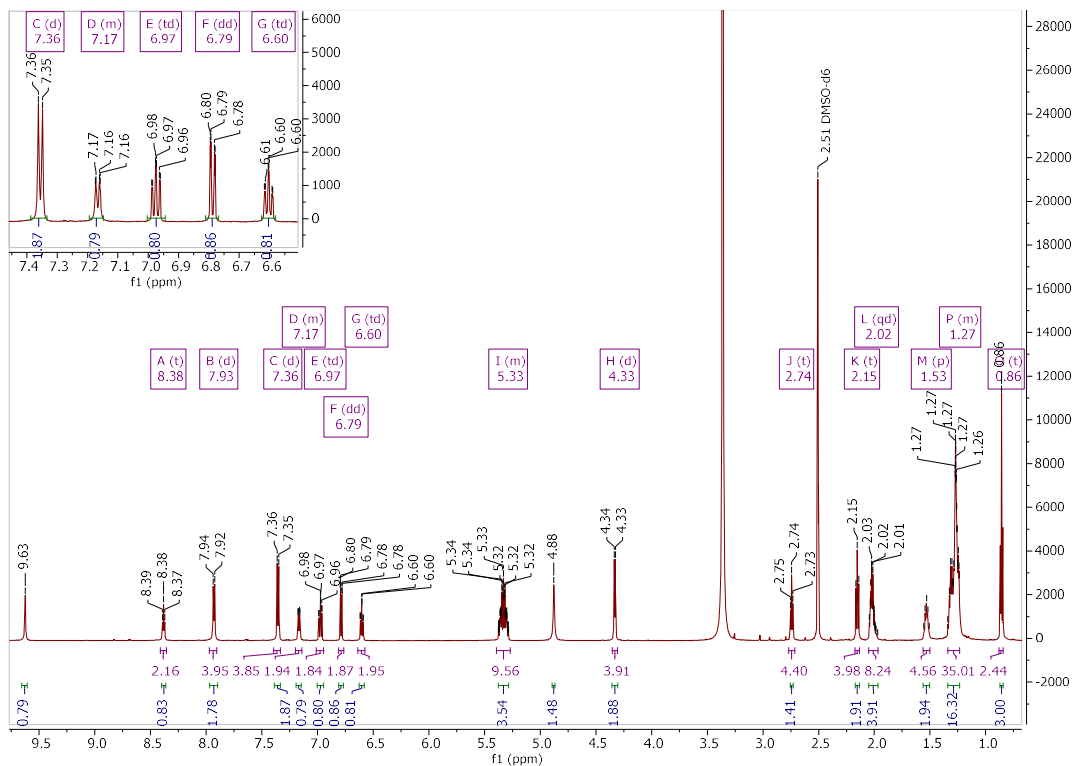


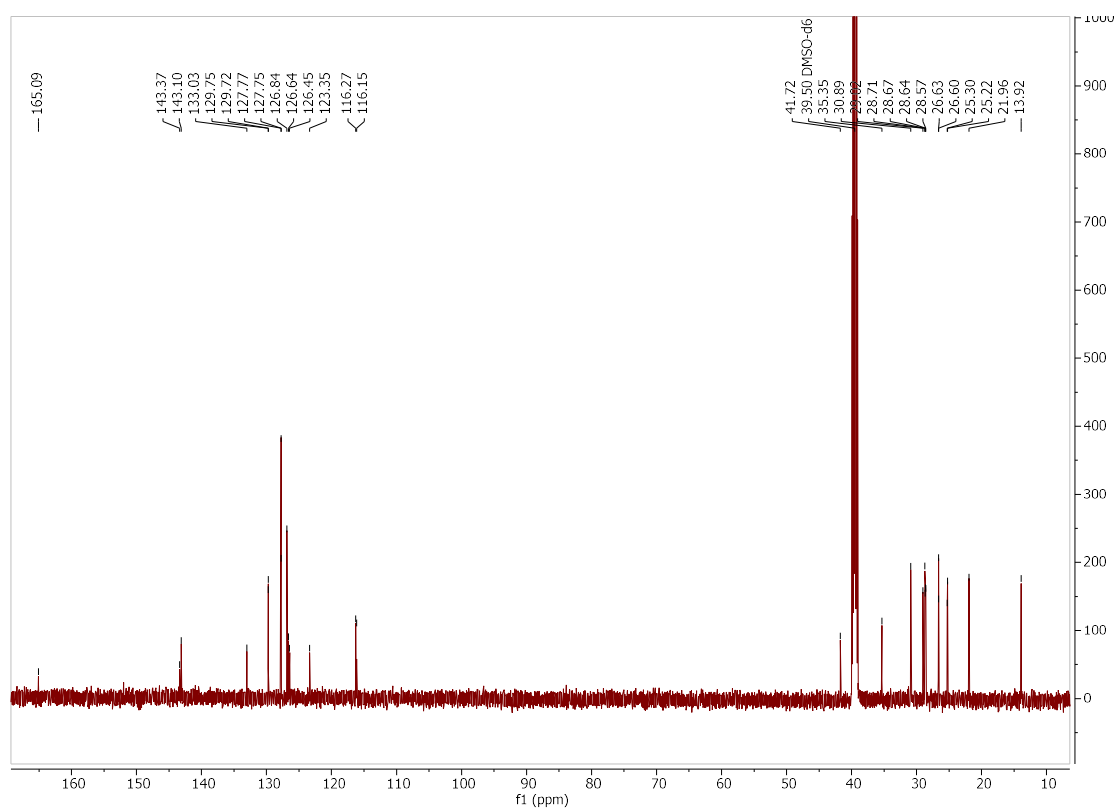
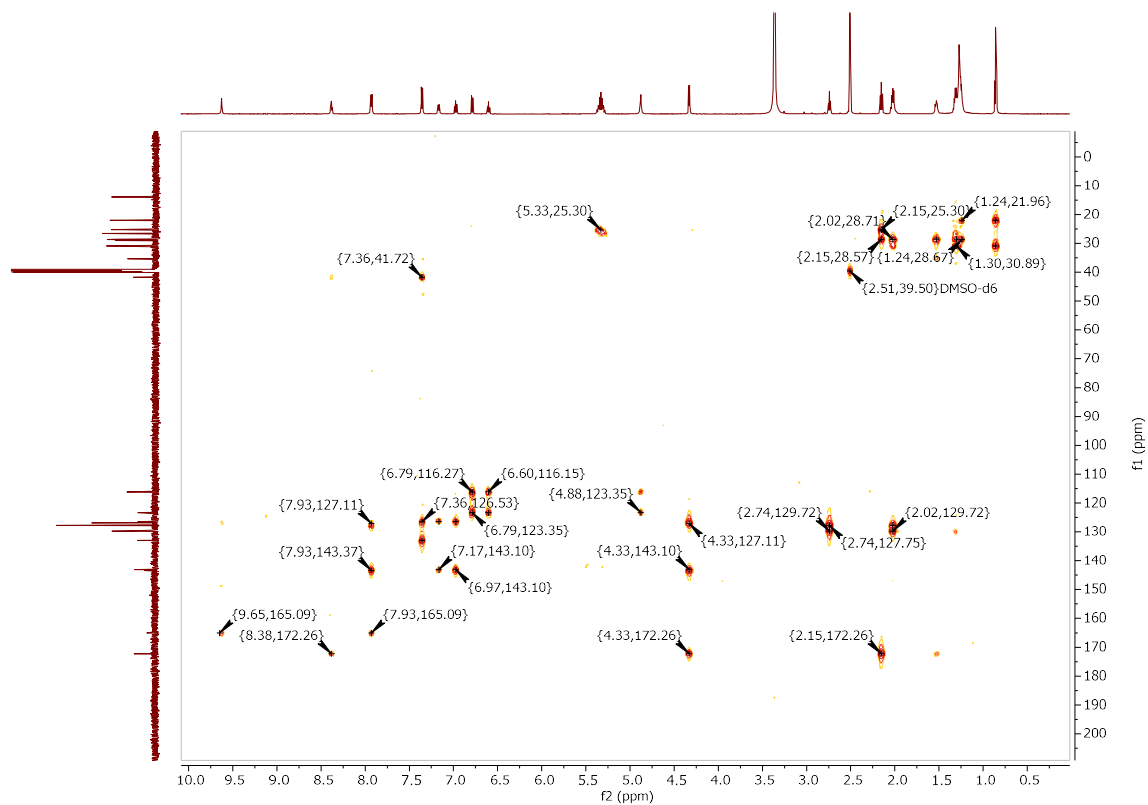
Figura 101 - Espectro de ^{13}C de (4b).

Figura 102 - Mapa de contorno de HMBC de (4b).



5. Intermediário (24)

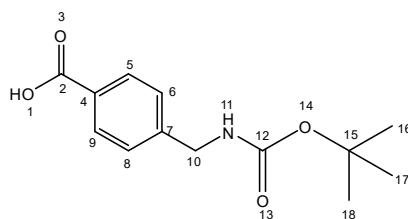


Figura 103 - Espectro de infravermelho de (24).

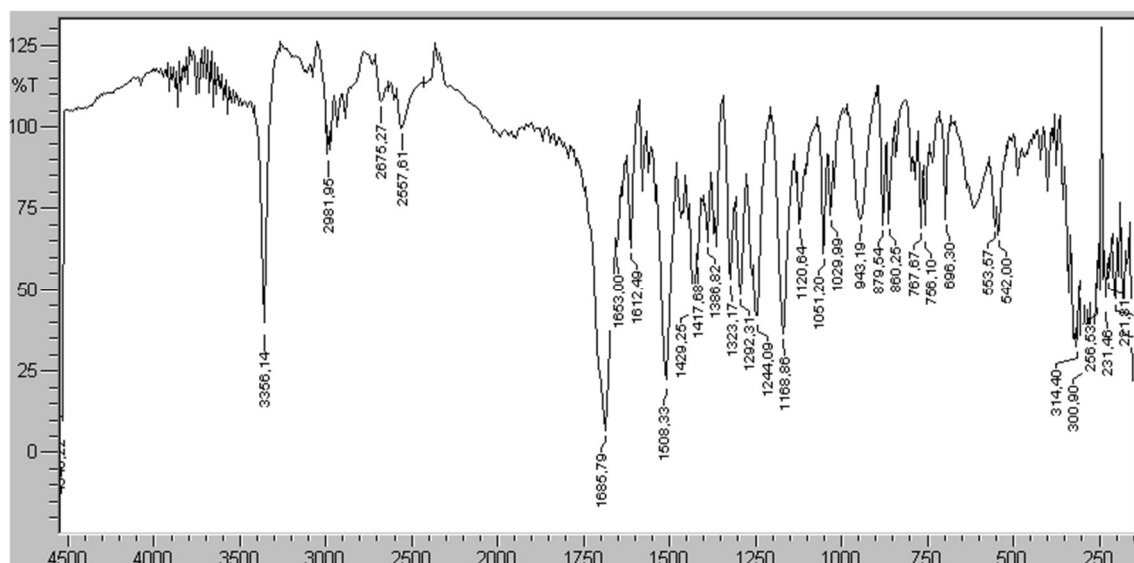


Figura 104 -. Espectro de RMN ^1H de (24).

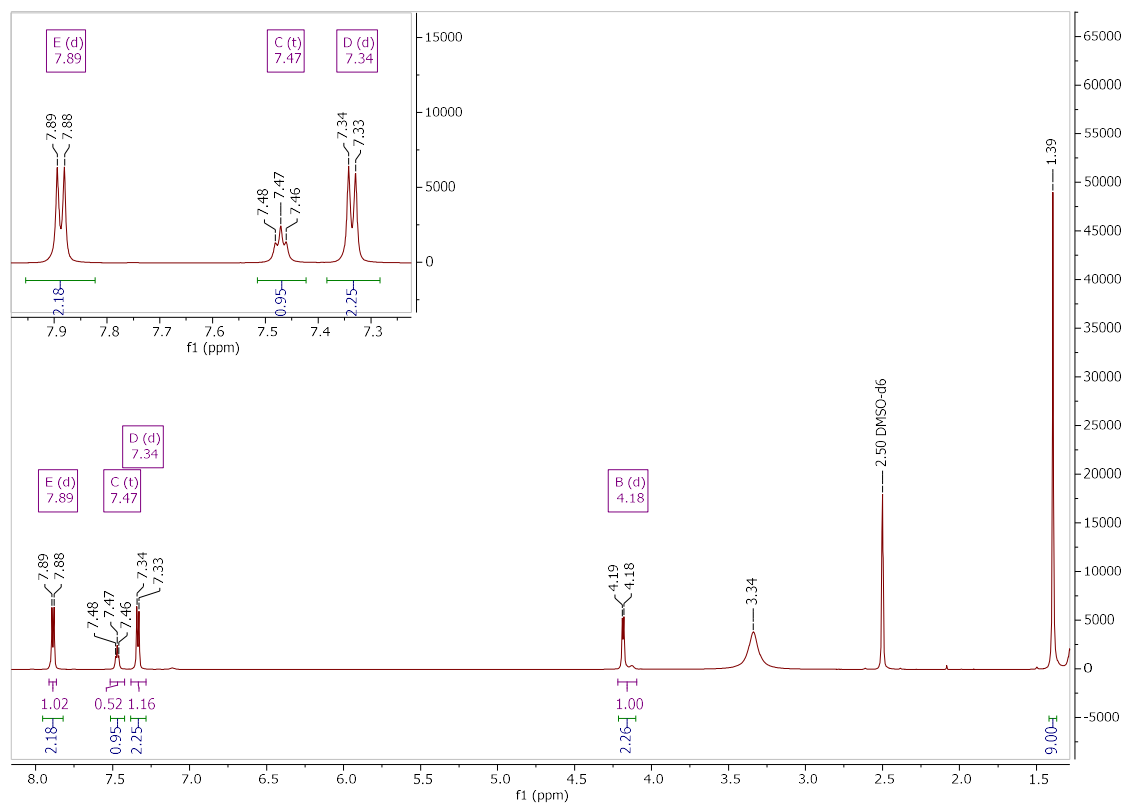
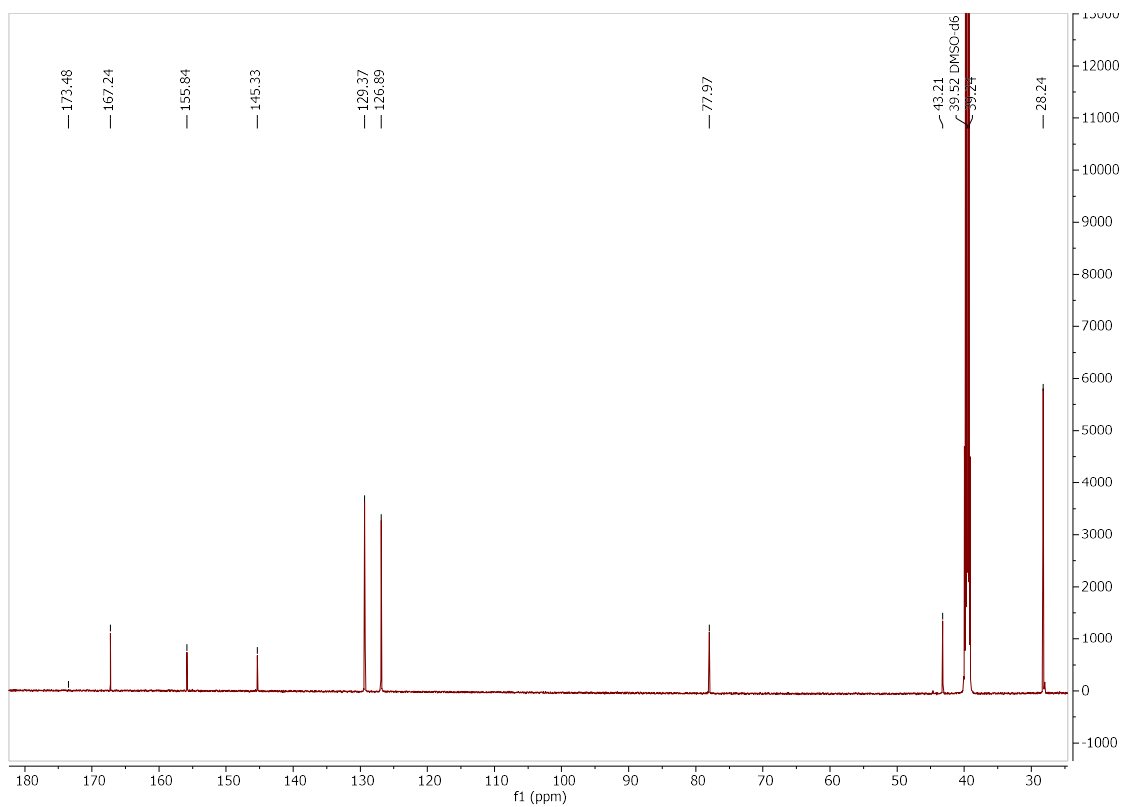


Figura 105 - Espectro de RMN ^{13}C de (24).

6. Intermediário (25)

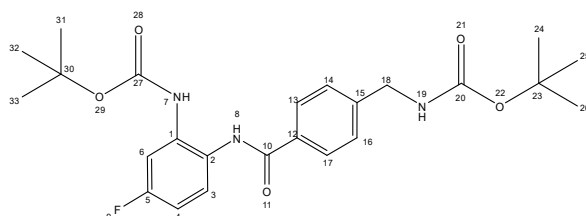


Figura 106 - Espectro de infravermelho de (25).

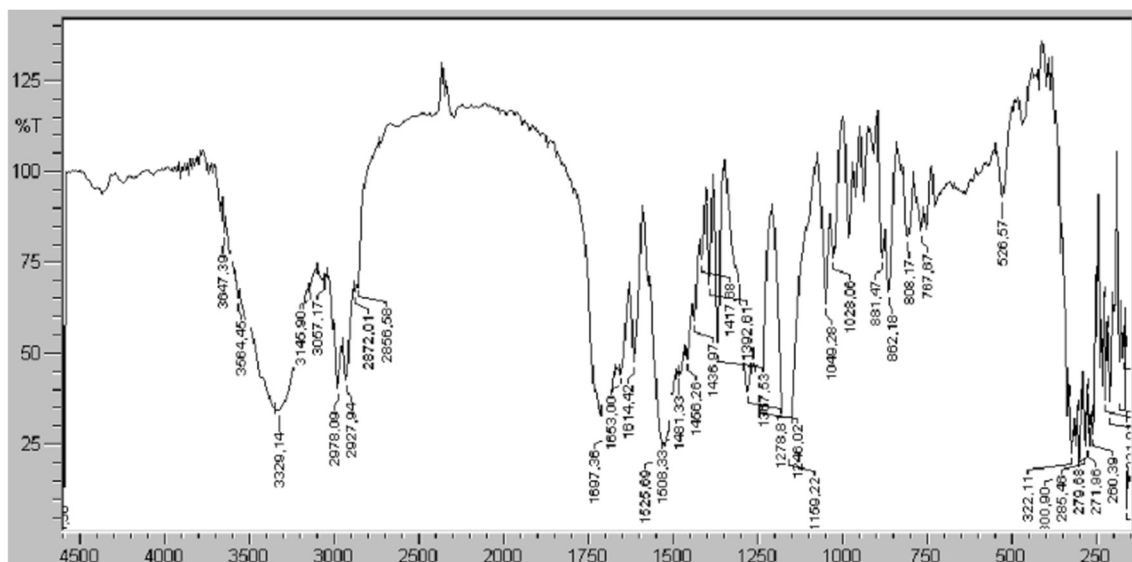
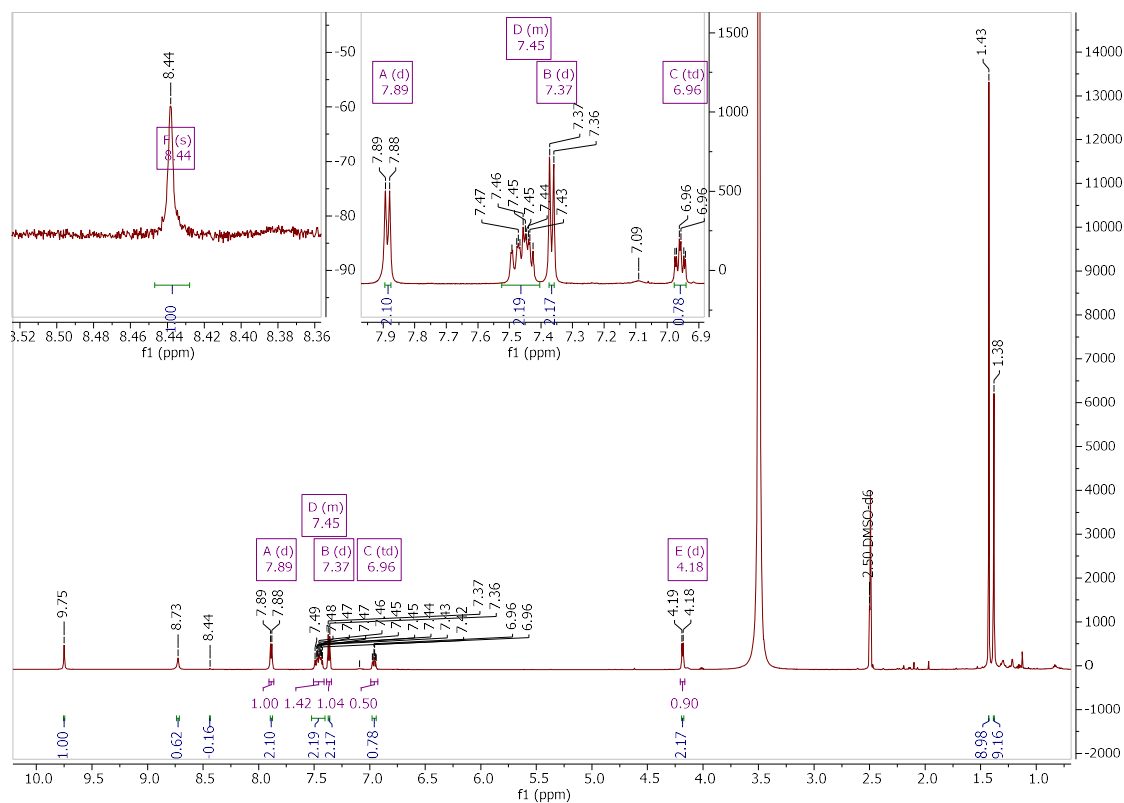
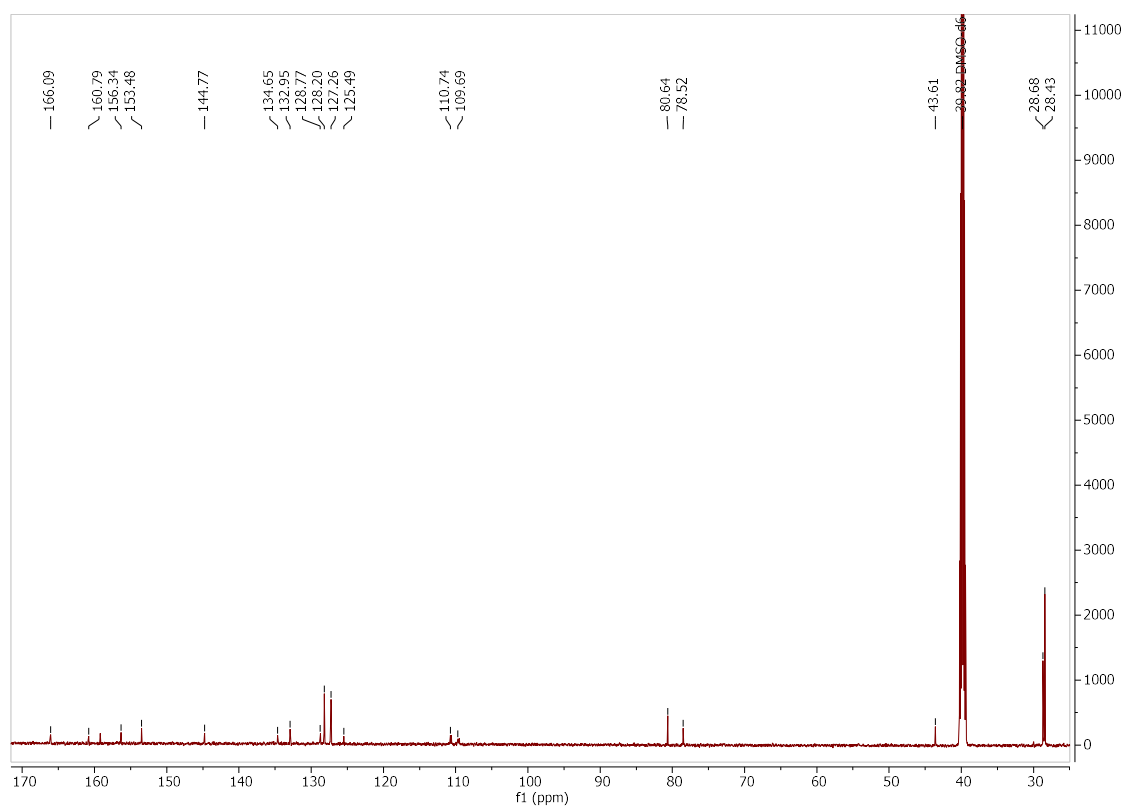


Figura 107 - Espectro de RMN ^1H de (25).Figura 108 - Espectro de RMN ^{13}C de (25).

7. Intermediário (26)

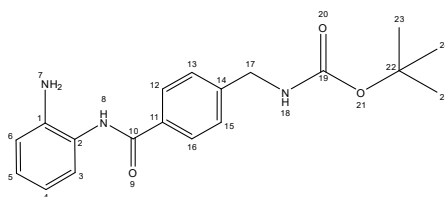


Figura 109 - Espectro de infravermelho de (26).

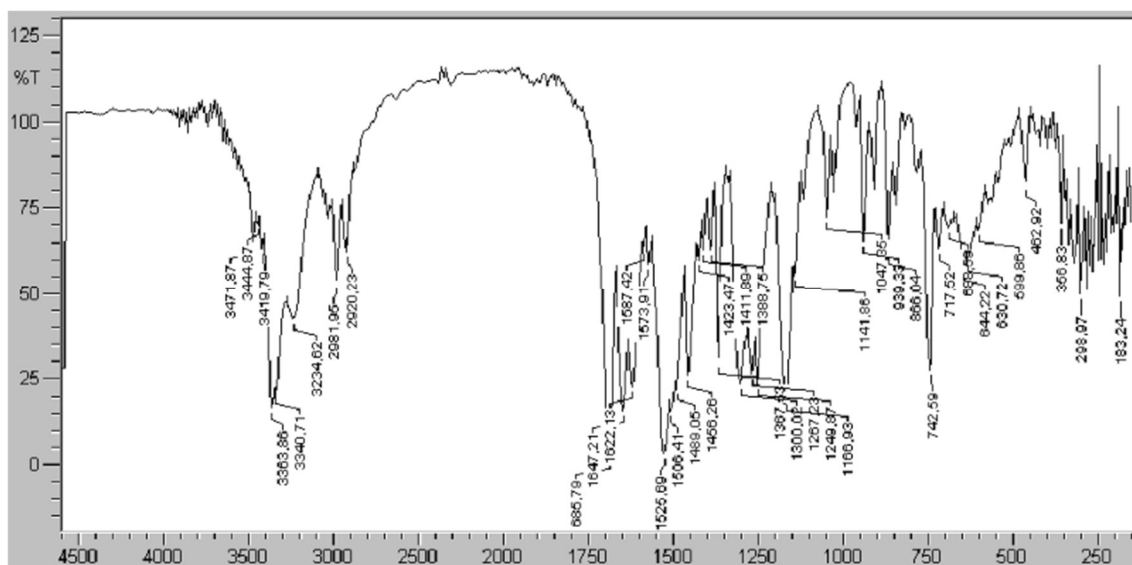


Figura 110 - Espectro de RMN ^1H de (26).

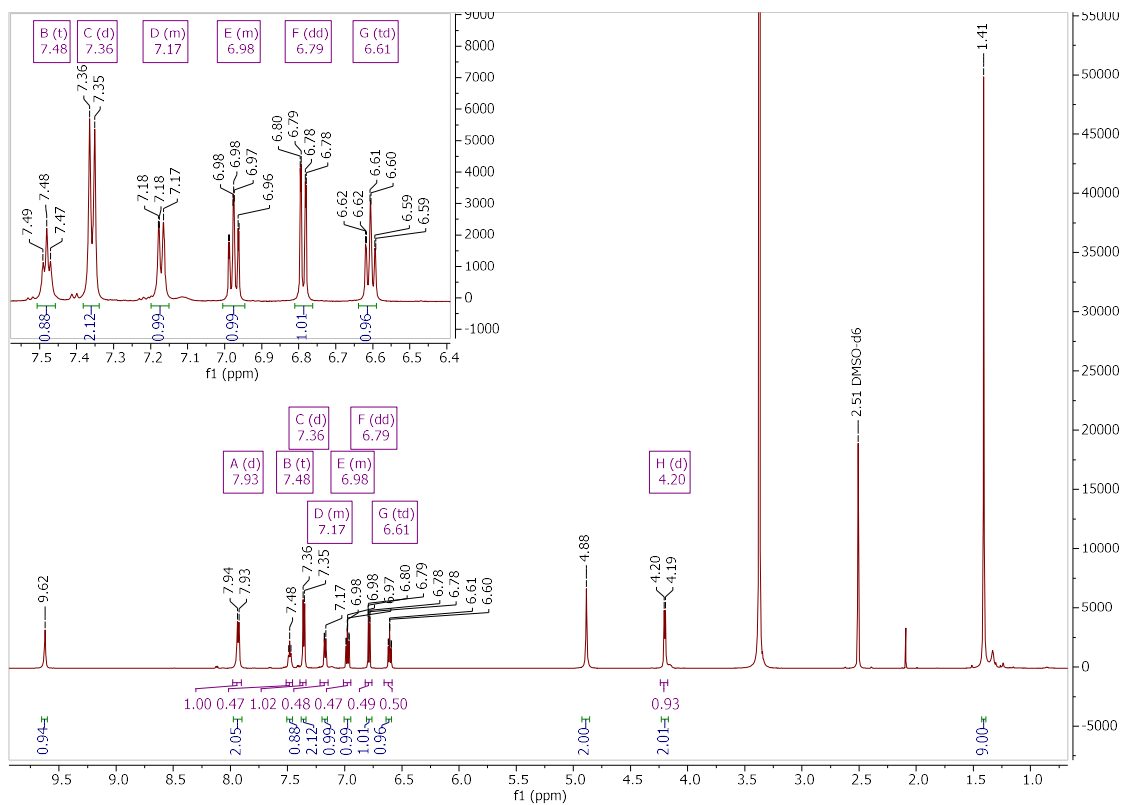
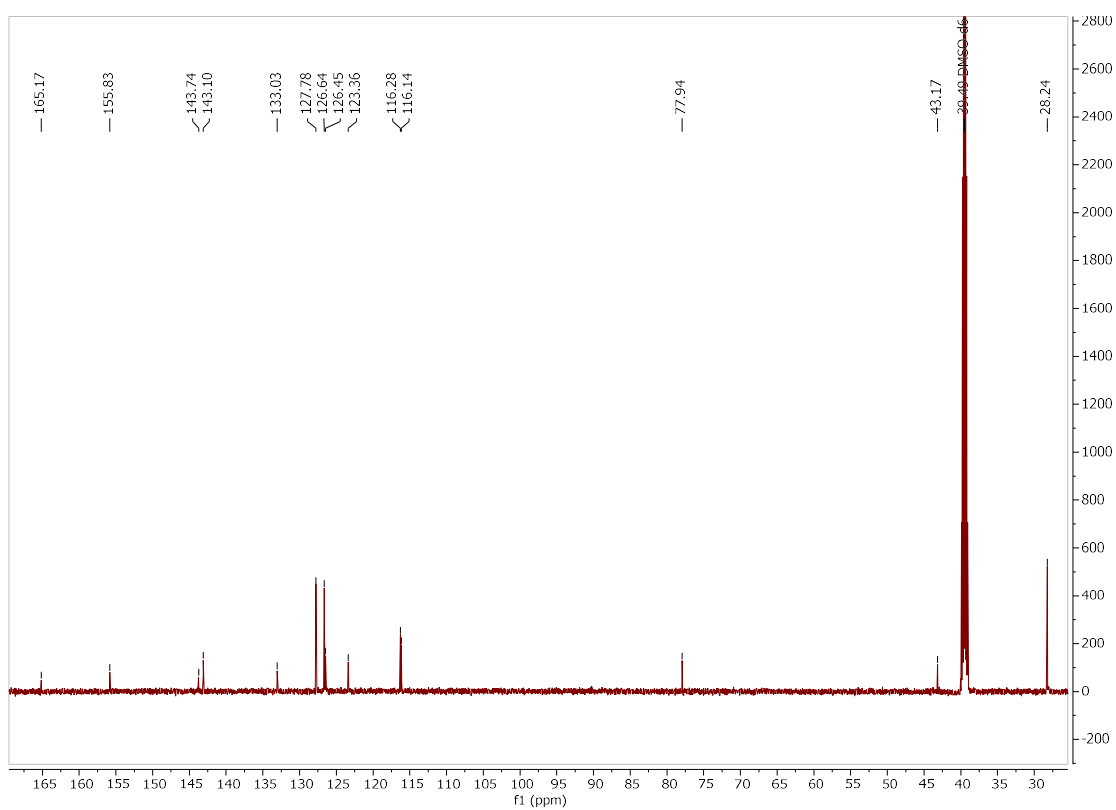


Figura 111 - Espectro de RMN ^{13}C de (26).

8. Composto final (19)

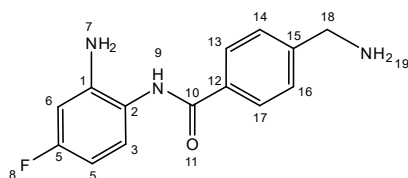
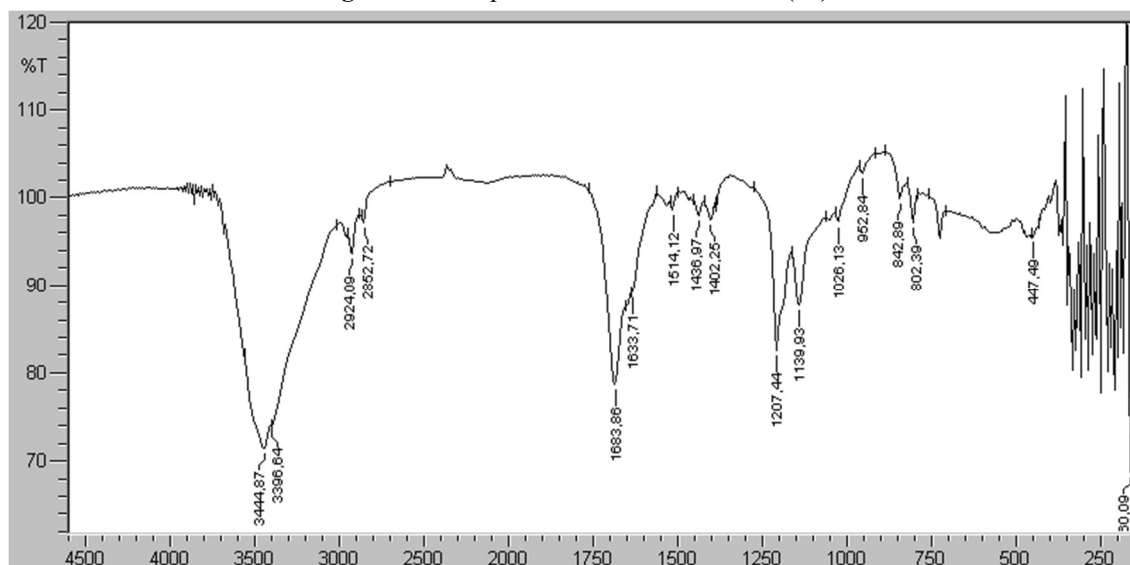
**Figura 112 - Espectro de infravermelho de (19).**

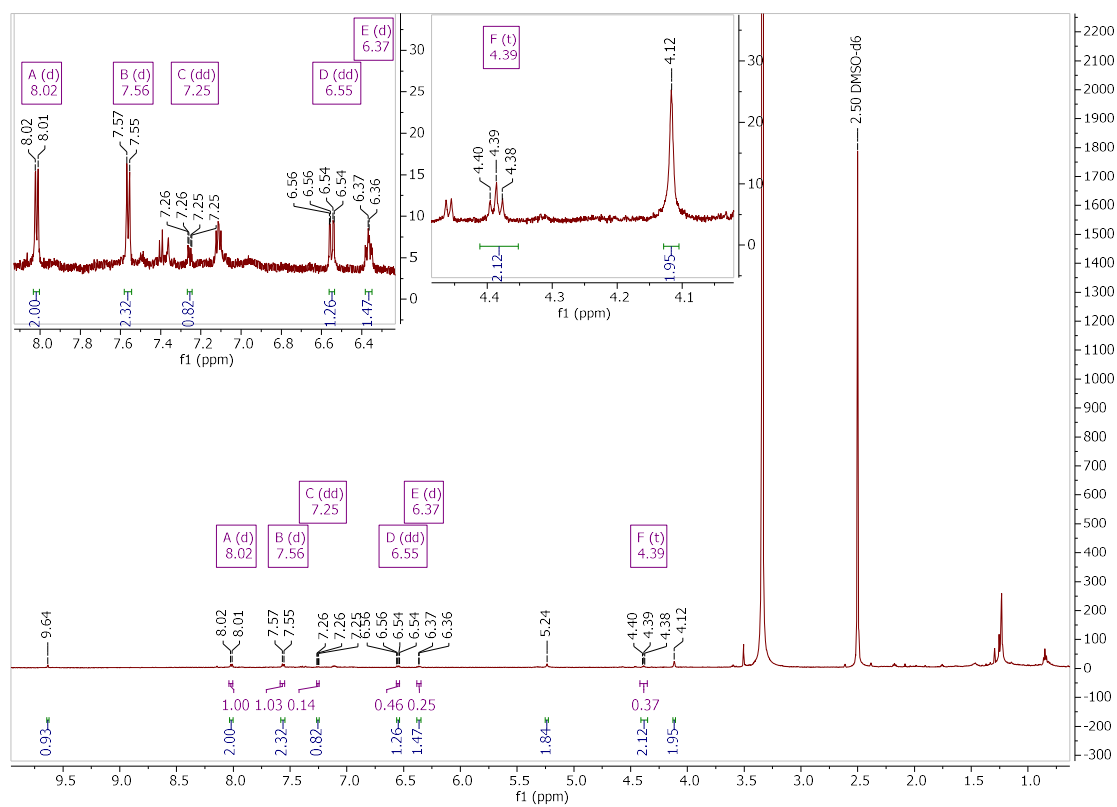
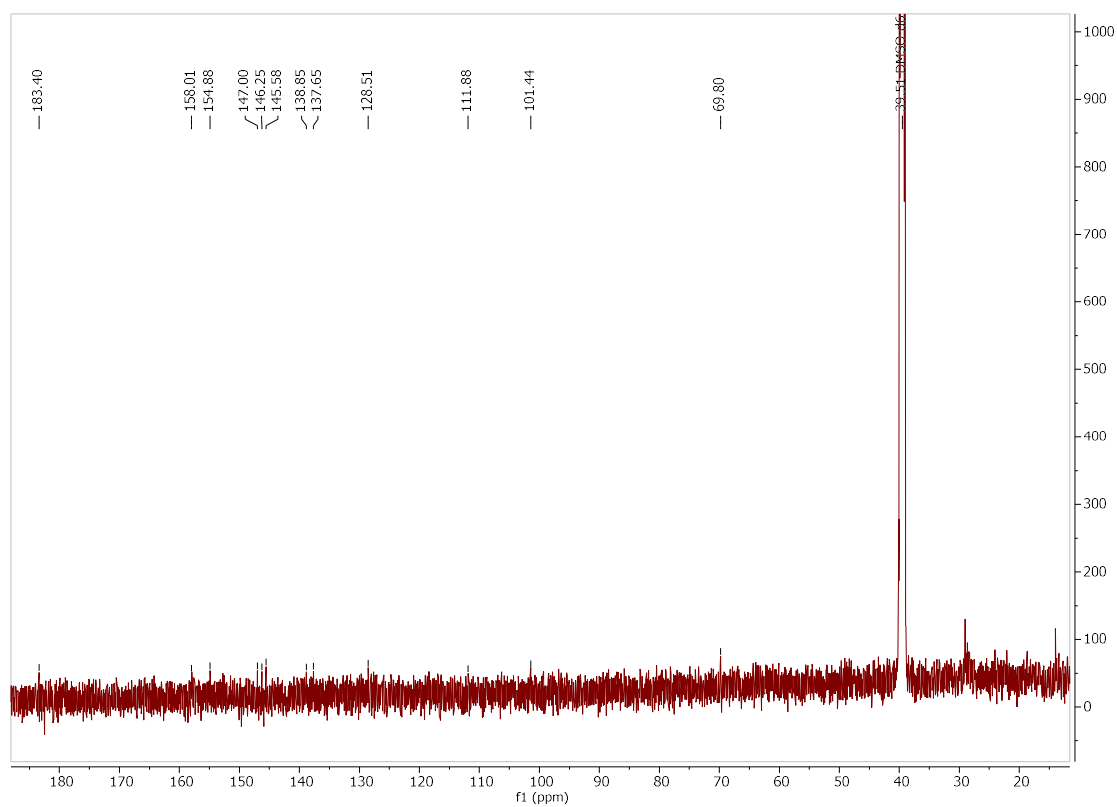
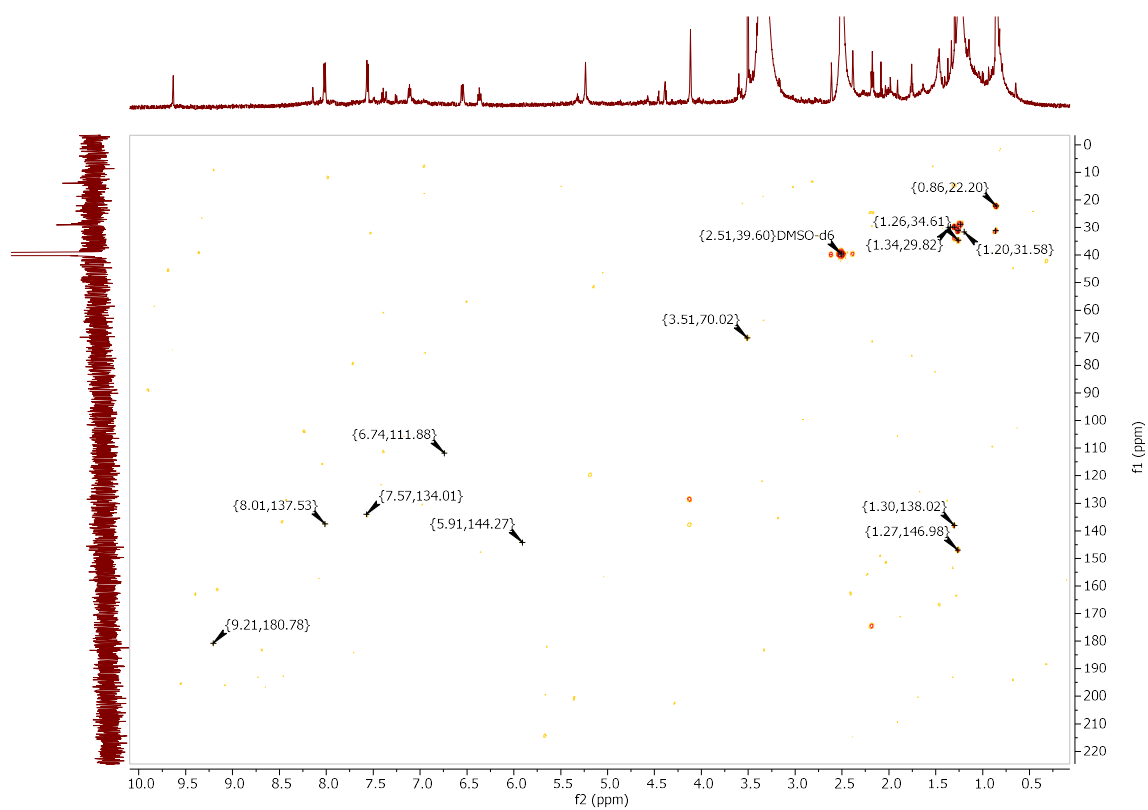
Figura 113 - Espectro de RMN ^1H de (19).Figura 114 - Espectro de RMN ^{13}C de (19).

Figura 115 - Mapa de contorno de HMBC de (19).



9. Composto final (23)

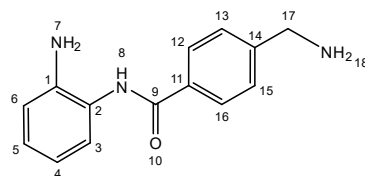


Figura 116 - Espectro de infravermelho de (23).

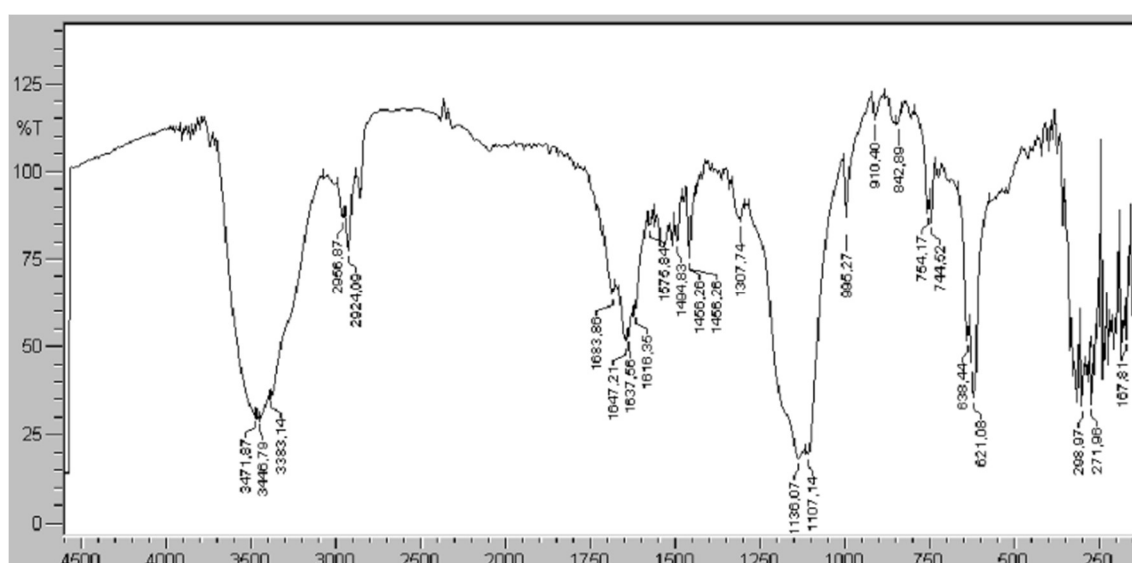


Figura 117 - Espectro de RMN ^1H de (23).

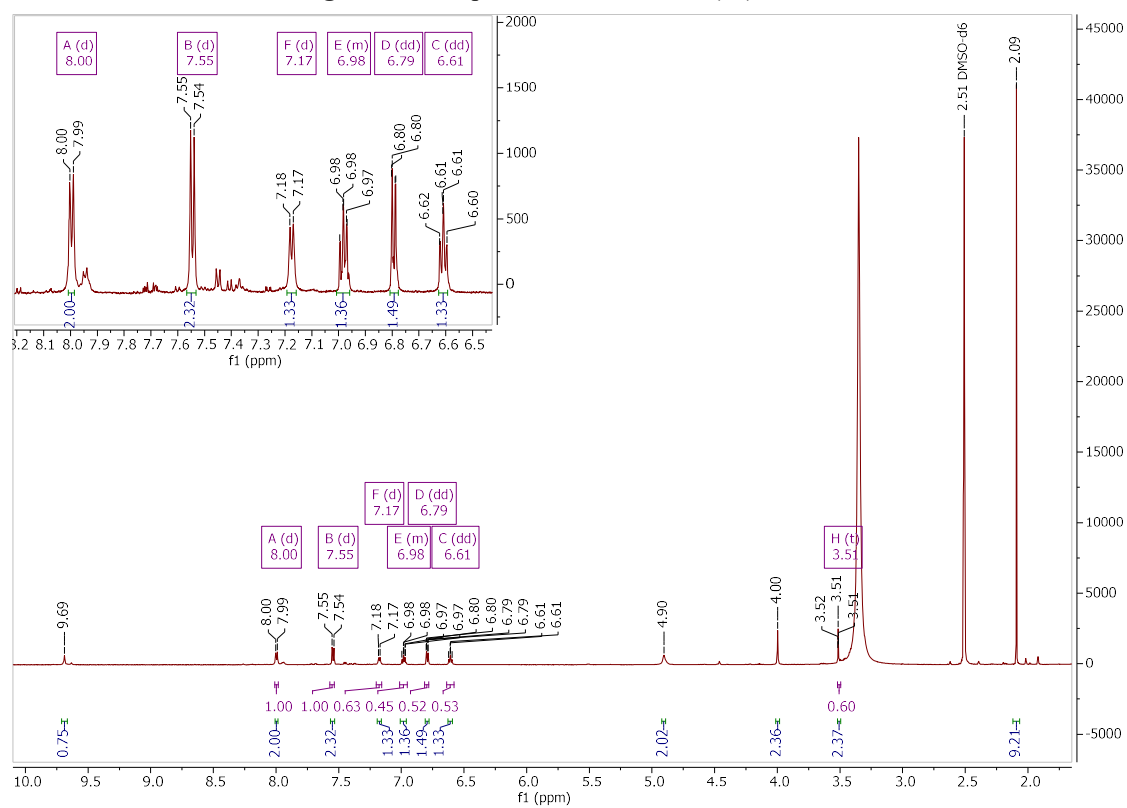


Figura 118 - Espectro de RMN ^{13}C de (23).

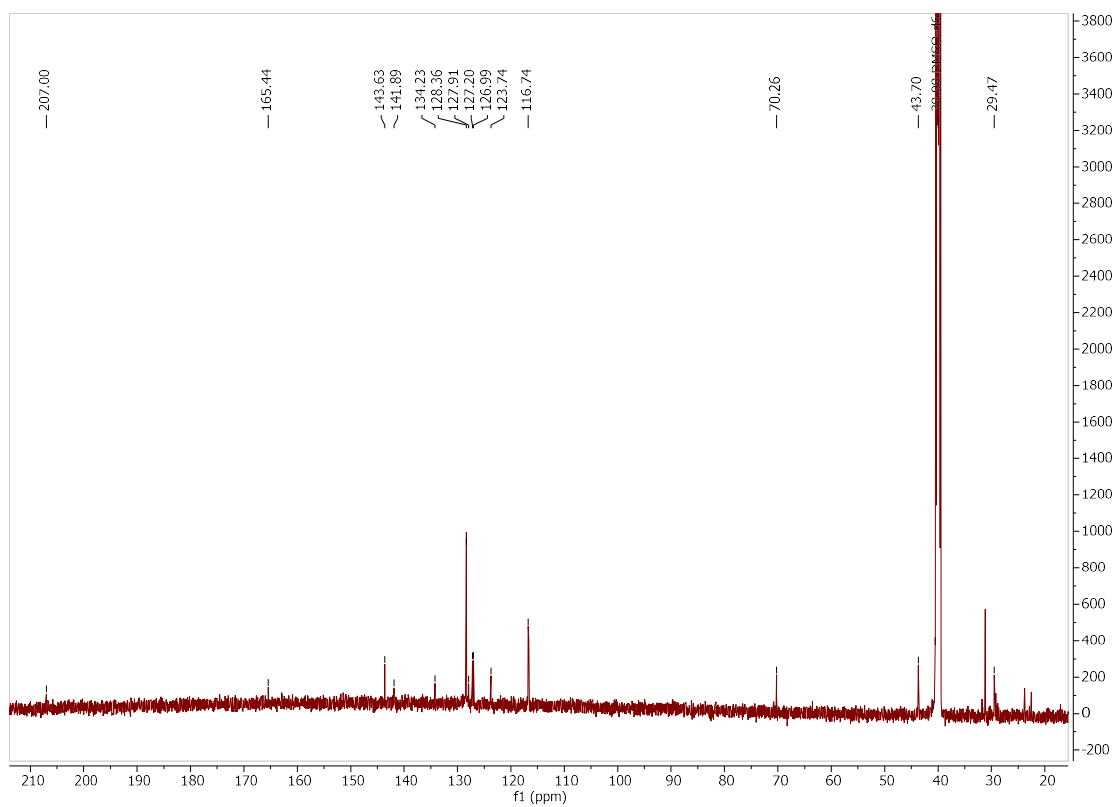


Figura 119 - Mapa de contorno de HMBC de (23).