

1 – INTRODUÇÃO

No ano de 1981, o Centro de Controle de Doenças (CDC) observou um aumento no consumo de pentamidina nos Estados Unidos da América, devido a um agravamento nos casos de pneumonia, como o *Pneumocystis carinii*, infecções oportunistas extremamente raras (CENTER FOR DISEASE CONTROL, 1982). Após várias pesquisas, as infecções oportunistas (Sarcoma de Kaposi, meningites, tumores malignos secundários, entre outras) apresentaram um denominador comum, a diminuição das defesas imunológicas do organismo. Esta nova síndrome foi batizada em 1982 como Aids, Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (SOUZA & ALMEIDA, 2003). As pesquisas epidemiológicas revelaram que esta síndrome se transmitia por via sexual e sanguínea e que existe um período de latência assintomático mais ou menos longo entre a infecção e a declaração eventual da AIDS (SOUZA & ALMEIDA, 2003). 33% das pessoas infectadas desenvolveram a Aids no período de até 11 anos (GRMEK & CHENOWETH, 1991). Depois de 1981, a doença se propagou de maneira epidêmica com uma progressão exponencial.

As modificações genéticas do agente patogênico e/ou modificações dos meios de vida social (revolução sexual dos anos 60 - 70, toxicômanos e movimentos populacionais na África, entre outros) seriam a origem do desenvolvimento da epidemia. A partir de 1981, o número de pessoas soropositivas que desenvolveu a Aids foi de 1,5 milhões, onde 90% destes morreram (CHIN et al, 1992).

O vírus responsável pela síndrome foi denominado HIV (vírus da imunodeficiência adquirida humana) (GALLO et al, 1984) dois tipos de vírus foram isolados, o HIV-1 e o HIV-2, respectivamente em 1983 e 1986. O HIV-1 é mais difundido por todo o mundo e, o HIV-2 é encontrado essencialmente no leste da África.

O vírus HIV é um retrovírus pertencente à família dos lentivírus (JOHNSON et al, 1989). A particularidade fundamental dos retrovírus reside na sua expressão genética, seu genoma é constituído de RNA, que é copiado no curso da replicação do vírus na dupla hélice do DNA pró-viral, graças a uma enzima viral associada ao vírus: a transcriptase reversa. Este provírus pode se inserir no DNA da célula hospedeira (núcleo celular) e se multiplicar desviando a máquina celular para obter seu produto.

Em 1992, segundo uma estimativa da OMS (Organização Mundial da Saúde) havia de 8 a 12 milhões de pessoas infectadas (soropositivas).

A segunda característica do vírus HIV reside na natureza de suas células alvo: ele ataca de maneira quase que exclusiva os glóbulos brancos, os linfócitos T₄ e os macrófagos, os quais agem essencialmente nas respostas imunológicas específicas contra os agentes infecciosos. A Aids se manifesta pela diminuição progressiva dos linfócitos feitos na infecção das células alvo pelo HIV ou pela formação de "syncytias", que são células gigantes e não funcionais provenientes da fusão das células T₄ infectadas com as células sãs. Abaixo de certo valor (200 T₄/ milímetro de sangue, no lugar de 1000 em geral), o déficit imunológico resulta em um doente com menor capacidade de se defender contra germes, bactérias ou vírus que em geral são inofensivos ou poucos virulentos. Ao inverso dos linfócitos T₄ os macrófagos não são destruídos pelo HIV e podem até servir de reservatório para o vírus no corpo humano, eles são também capazes de transportar o vírus até o cérebro, ultrapassando a barreira hemato-encefálica alcançando o sistema nervoso central. A fim de lutar contra este vírus, duas estratégias são possíveis (DE CLERCQ, 1992):

1) Neutralização do vírus livre e/ou as células onde eles se proliferam: função da vacina;

2) Bloqueio do ciclo replicativo do vírus, via sua destruição: função da quimioterapia.

Infelizmente, apesar dos numerosos esforços para compreender a característica patogênica do HIV e para o desenvolvimento de uma vacina, nenhum sucesso até o momento foi obtido. Entretanto, a descoberta de uma vacina em nossos dias não salvará os 41 milhões (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2004) de pessoas infectadas no mundo e susceptíveis de desenvolver a Aids. A quimioterapia é uma aproximação mais direta que necessita igualmente do desenvolvimento de enormes esforços a fim de se compreender melhor o mecanismo de replicação do vírus e de definir alvos bioquímicos para interagir sobre o vírus HIV através de agentes quimioterápicos.

Dentre os grandes tipos de inibidores da transcriptase reversa (inibidores nucleosídicos e não-nucleosídicos) serão estudados nesse trabalho detalhadamente a viabilização da síntese de análogos acíclicos, cíclicos e prodrogas do AZT (**1**), para que nossa contribuição na pesquisa de novos agentes anti-HIV se insira no estudo dessa classe de medicamentos.

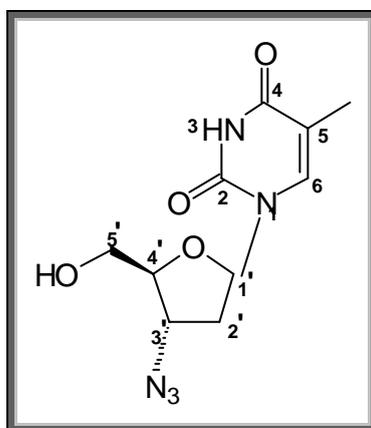


Figura 1 - AZT

Portanto nesse trabalho serão estudados a síntese e análise dos análogos acíclicos do AZT (**27 a e b**), (**30 a e b**) e (**34 a e b a e b**), (pág. 05) baseando-se nos trabalhos realizados por Neenam et al, 1996, de clivagem oxidativa em nucleosídeos;

a síntese e análise de análogos cíclicos do AZT **(68)** e **(70)** (pág. 05), baseando-se nos princípios das reações radicalares em nucleosídeos (ERDNAN et al, 1992), além da síntese do AZT **(1)** (pág. 05) por uma nova rota sintética e, enfim, a síntese e análise das prodrogas por meio de compostos químicos lipofílicos como a bixina, natural do urucum, e o ácido oléico, a fim de obter **(73)** e **(74)** (pág. 05), através de estudos realizados por AGRAWAL & BANDARA, 1995.

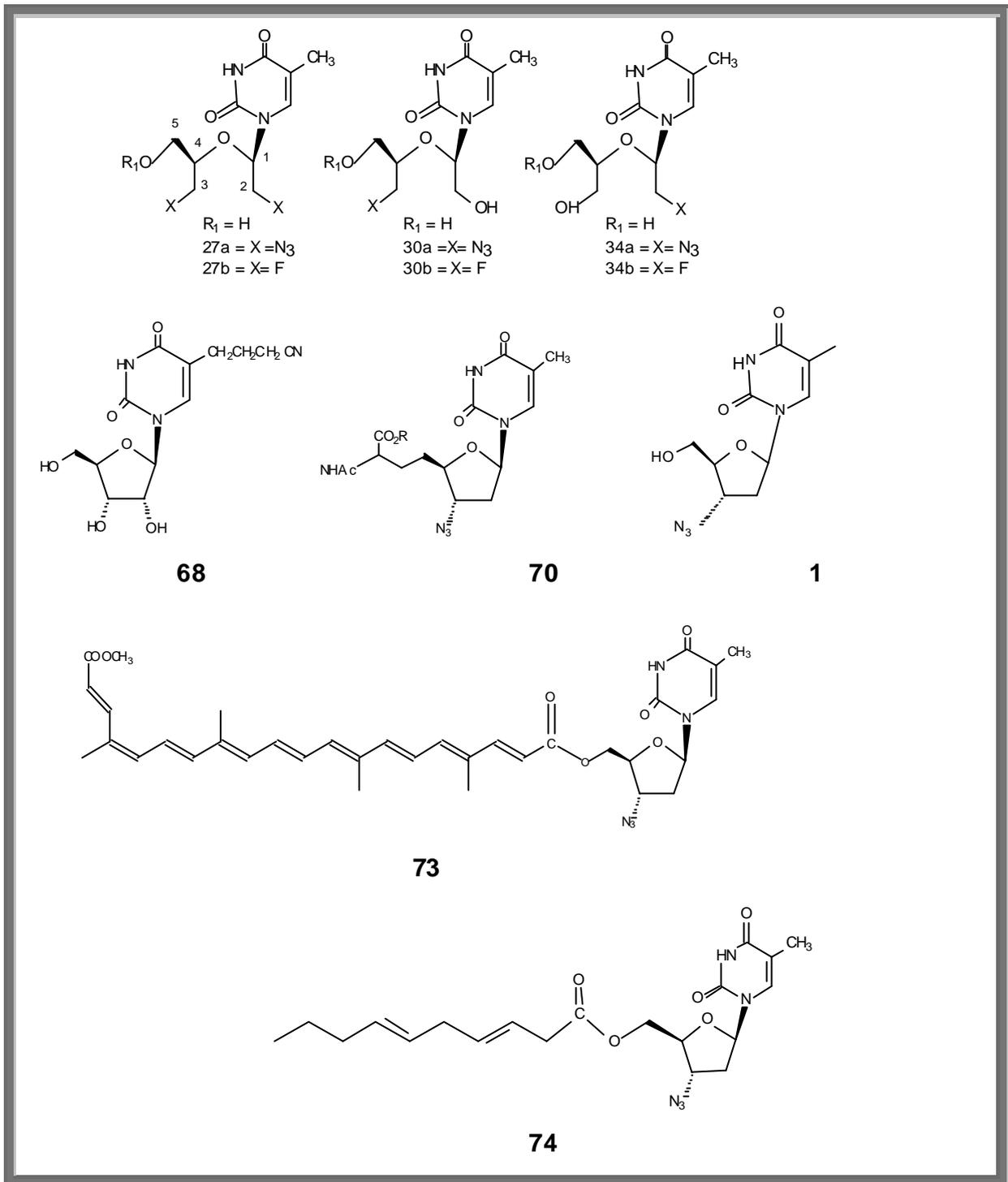


Figura 2 – Substâncias alvo

2 - REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 - A BIOGRAFIA DO HIV

O primeiro caso de AIDS foi identificado em 1979, após descrições de casos de Sarcoma de Kaposi (CENTER FOR DISEASE CONTROL, 1981; FRIEDMAN-KIEN, 1981) e pneumonia por *Pneumocystis carinii* (CENTER FOR DISEASE CONTROL, 1981; GOTTLIEB et al, 1983; JAFFE et al, 1983) em homossexuais masculinos previamente saudáveis na Califórnia e em Nova York. O vírus do HIV foi identificado pela primeira vez em 1983/84 por cientistas do National Câncer Institute (EUA) e do Instituto Pasteur (França). Estes pesquisadores desenvolveram um teste para determinar a presença dos anticorpos no sangue e conseguiram investigar a origem e modos de transmissão da doença.

A AIDS foi identificada praticamente, ao mesmo tempo na América do Norte e na África. Não há evidências de que a origem da pandemia tenha ocorrido na África ou que fosse endêmica nesse continente, antes de sua eclosão. A maior parte dos cientistas admite que o HIV é originário de primatas, tendo de alguma maneira, se transmitido para a espécie humana. O vírus da imunodeficiência dos Símios, como o SIV (causa doença semelhante à AIDS em algumas espécies de macacos), isolado do macaco *Rhesus* e do macaco *Mangabey* é intimamente relacionado com o HIV-2. A semelhança entre o HIV-2 e o SIV é tal que é provável que esses vírus tenham evoluído em épocas recentes a partir de um ancestral comum. Especula-se que o SIV tenha infectado o homem há cerca de 30 a 40 anos e evoluído para o HIV-2. São relatados casos de infecção humana após exposição ocupacional ao SIV, com soroconversão indistinguível da infecção por HIV-2 e com persistência do vírus. Outra evidência é a de um primata (*Pan troglodytes troglodytes*), na África Central, que apresenta um tipo de SIV, cujo genoma é intimamente ligado ao HIV-1, mais do que qualquer retrovírus de origem símia conhecido, podendo ser considerado subtipo do mesmo vírus. Inclusive anticorpos encontrados nesse primata são capazes de

reagirem com as proteínas do HIV-1. A transmissão inicial de retrovírus de primatas, a saber, SIV, para o homem, o que explicaria a origem da AIDS, pode ter ocorrido de várias maneiras. Primatas, em geral, devem ser considerados potenciais transmissores de retrovírus ao homem. O risco potencial de contaminação com primatas já está presente por ocasião da captura (mordidas, escoriações, etc.), ou quaisquer contatos com seu sangue, o que poderia explicar alguns casos de infecção humana, esporádicas, na África. Entretanto, coincidentemente, a pandemia de AIDS acompanhou a utilização em larga escala, de primatas em experimentação biológica, inclusive xenotransplantes (rim, fígado, coração) de primatas, principalmente chimpanzés, para o homem foram realizados e, alguns pacientes em coma hepático foram tratados com perfusão de seu sangue em fígado de chimpanzés, ou mesmo, circulação cruzada com primatas.

Recentemente, durante a VII Conferência sobre retrovírus e Infecções oportunistas (Chicago, EUA, 2000), novos elementos sobre a provável conexão com chimpanzés foram apresentados, demonstrando que diferentes subespécies de chimpanzés são portadores de vírus análogos ao HIV. O estudo de amostras de tecidos de um chimpanzé, armazenado há mais de 10 anos e que, na época apresentava anticorpos para o HIV-1, quando em cativeiro nos Estados Unidos, revelou a presença do mesmo vírus.

Tais vírus podem estar presentes em chimpanzés há milhares de anos e aparentemente não causarem doença nesses animais, provavelmente por pressão seletiva, em que animais suscetíveis foram sendo eliminados, restando os resistentes. É possível que, pelo menos três transmissões independentes, de chimpanzés para homem, tenham ocorrido, o que explica os três grupos principais de HIV-1. Uma vez que ocorreram as contaminações, vários fatores da sociedade humana, tais como, promiscuidade sexual, hemodíálises, uso de drogas injetáveis, transfusões de sangue e hemoderivados, etc., provocaram a eclosão da epidemia, agravada pela transmissão vertical materno-fetal.

2.2 - DADOS DA AIDS

O Brasil tem, aproximadamente, 600 mil portadores de HIV. Dentre esses, incluem-se pessoas que já desenvolveram AIDS e excluem-se os óbitos. Desde o início da década de 80 até dezembro de 2003, o Ministério da Saúde notificou 310.310 casos de AIDS no Brasil. Desse total, 220.783 foram verificados em homens e 89.527 em mulheres (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2004).

Os últimos dados do Ministério da Saúde apontam uma redução de 26% no número de casos registrados: de 30 mil novos casos em 1988 para 22 mil em 2003.

A desaceleração da epidemia, no entanto, não está ocorrendo com a mesma velocidade na região sul. Nos estados desta região estão 49.970 casos de AIDS, uma incidência de 8,5 casos para cada 100 mil habitantes. Desde 2001, o sul ultrapassou o Sudeste em registro de novos casos. Na região Sudeste a incidência é de 7,5 com 13.079 ocorrências.

As regiões Sudeste e Sul concentram 84,8% dos casos. Dos 100 municípios com maior número de casos de Aids, mais de 80 deles estão nestas regiões.

A taxa de mortalidade por Aids no país vem mostrando uma tendência de estabilização desde 1999, com média de 6,3 óbitos por 1 mil habitantes nos últimos três anos. Essa tendência começou a apresentar uma queda significativa a partir de 1996, quando o governo brasileiro introduziu a política de distribuição de medicamentos anti-retrovirais pelo Sistema Único de Saúde (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2004).

A queda na mortalidade é duas vezes maior entre os homens do que entre as mulheres. Entre elas, a mortalidade caiu apenas no Sudeste e Centro-Oeste. No Norte, Nordeste e Sul, a mortalidade entre as mulheres continua aumentando. A

região mais preocupante é a região Norte, onde o aumento foi de 45,2% (DST/Aids, 2004).

2.3 - MORFOLOGIA E ORGANIZAÇÃO GENÔMICA DO HIV

O HIV está entre os lentivírus, gênero pertencente à família *Retroviridae*, que inclui um grande número de diferentes vírus que causam infecção em animais (AMATO et al, 1996). Retrovírus são vírus RNA que através da enzima DNA-polimerase RNA-dependente (transcriptase reversa – TR) são capazes de copiar seu genoma de RNA em uma dupla fita de DNA e integrar-se ao genoma da célula hospedeira. Possuem em comum o fato de infectarem primariamente células do sistema nervoso central e imunológico. Podemos classificar o HIV em dois tipos (1 e 2), sendo que o HIV-1 é subdividido em três grupos: M (Major), O (Outlier) e N (New). O grupo M do HIV-1 representa a maior parte da pandemia e atualmente já foram descritos 10 subtipos de A até J. No Brasil, pelo menos quatro subtipos foram encontrados até o momento (B, C, D e F).

O HIV é um vírus esférico, de aproximadamente 100 nm de diâmetro, envelopado apresentando na superfície uma membrana lipídica oriunda da membrana externa da célula do hospedeiro e duas glicoproteínas (gp 41 e gp 120). Internamente a essa membrana está a matriz protéica, formada pela proteína p17 e capsídeo viral de forma cônica composto pela proteína p24. O material genético, assim como o RNA_t e as enzimas necessárias para os primeiros eventos da replicação viral, encontram-se dentro do capsídeo viral. O genoma do HIV, de aproximadamente 10 kb, contém nove genes e duas regiões denominadas LTR (Long Terminal Repeats), onde estão presentes elementos de controle para integração, transcrição e poliadenilação dos RNA mensageiros (CULLEN, 1991; POLI et al,1993). Os genes podem ser divididos em dois grupos: os que codificam proteínas estruturais (gag, pol e env), e os que codificam proteínas não estruturais (tat, rev, nef, vif, vpu, vpr e vpx). O gene *gag* (antígeno do grupo) codifica a

matrizprotéica (MA ou p17), o capsídeo viral (CA ou p24) e as proteínas nucleares (NC ou p6 e p9). O gene *pol* (polimerase) codifica as enzimas virais: transcriptase reversa (RT ou p51/p66), que também possui atividade Rnase H (PR ou p10) e integrase (IN ou p32). O gene *env* (envelope) codifica uma proteína que é clivada dando origem a glicoproteína da membrana (TM ou gp41) e a glicoproteína de superfície (SU ou gp120) (CULLEN et al, 1991; HO et al, 1987; MADHOK et al, 1987).

Os genes não-estruturais são divididos em regulatórios (*tat*, *rev*, *nef*), que são necessários para a replicação viral *in vitro* e em genes acessórios (*vif*, *vpu*, *vpr* e *vpx*), que não são essenciais. O gene *tat* ou p14 é um transativador da transcrição, o *rev* ou p 19 atua no processamento, transporte e tradução dos RNA mensageiros (transativador pós transcricional) o *vif* ou p23 atua na maturação da proteína do envelope (fator de infectividade), o *vpu* ou p15 atua na replicação viral, o *nef* ou p27 parece diminuir a expressão de CD4 na superfície (função controversa na literatura; pode reduzir ou aumentar a replicação viral) e o *vpx* ou p16 atua precocemente no ciclo da replicação viral e está presente somente no HIV-2.

2.4 - CICLO CELULAR

A infecção do HIV dá-se pela ligação de alta afinidade da gp120 do vírus com o receptor na superfície da célula (molécula CD4). A entrada ocorre através da fusão do vírus com a membrana da célula, mediada pela gp41. Porém a molécula de CD4 não é o único receptor de HIV, sendo seus co-receptores, as moléculas CXCR4, quando em linfócitos, e CCR5 quando em macrófagos (ALBERTS et al, 1997).

Após a entrada na célula, o RNA é convertido a DNA pelas enzimas transcriptase reversa e ribonuclease-H. Essa reação ocorre no citoplasma nas primeiras seis horas de infecção. A fita dupla de DNA, assim formada, é integrada de

forma randômica ao genoma do hospedeiro através da enzima integrase. Uma vez integrado, o DNA viral permanece na célula enquanto ela está viva.

A enzima transcriptase reversa DNA polimerase, enzima do HIV, é responsável pela transcrição das cadeias de RNA infectivas destes vírus em moléculas de DNA complementares que integram no genoma da célula hospedeira (os vírus tumorais de RNA são membros de uma ampla classe de vírus conhecidos como retrovírus, e são assim chamados porque, como parte do seu ciclo de vida normal, eles revertem o processo normal no qual o DNA é transcrito em RNA).

A transcriptase reversa é um DNA polimerase incomum que usa tanto o RNA quanto o DNA como molde, esta enzima é codificada pelo retrovírus de RNA e é empacotada dentro de cada capsídeo viral durante a produção de novas partículas virais. Quando a fita de RNA simples do retrovírus entra na célula, a transcriptase reversa que entra junto com o capsídeo faz primeiro uma cópia de DNA a partir da fita de RNA par formar uma hélice híbrida DNA-RNA, que é então usada pela mesma enzima para fazer uma dupla hélice com duas fitas de DNA. As duas extremidades da molécula linear de DNA viral são reconhecidas por uma integrase codificada pelo vírus que catalisa a inserção de DNA viral em qualquer sítio no cromossomo da célula hospedeira.

A etapa seguinte do processo infeccioso é a transcrição do DNA viral integrado pela RNA polimerase da célula hospedeira, produzindo numerosas moléculas de RNA viral idênticas à do genoma original infectado.

Finalmente, estas moléculas de RNA são traduzidas para produzir as proteínas do capsídeo, do envelope e transcriptase reversa, que são montadas com o RNA em novas partículas de vírus envelopados, que brotam da membrana plasmática.

O DNA viral na célula estimula a síntese de novas proteínas virais, mas que não são essenciais para multiplicação viral.

Existem duas características do HIV que o torna especialmente letal. Primeiro, mata os linfócitos T que infectam, como fazem a maior parte dos outros retrovírus, sendo que as células T são vitalmente importantes para a defesa humana contra infecções. A segunda característica é que o provírus tem uma tendência de se manter no estado latente nos cromossomos da célula infectada sem produzir vírus até ser ativado por um evento raro desconhecido, esta capacidade de se esconder complica enormemente qualquer tentativa de tratamento da infecção com drogas antivirais.

Muito da pesquisa atual em Aids tem como objetivo a compreensão do ciclo de vida do HIV. A seqüência completa de nucleotídeo de RNA viral já foi determinada, possibilitando a identificação e o estudo de cada uma das proteínas que ele codifica. A estrutura tridimensional da sua transcriptase reversa está sendo utilizada para ajudar o desenho de novas drogas que inibem a enzima. As proteínas celulares e virais controlam a expressão gênica do HIV. Inicialmente, apenas as proteínas *tat*, *ver* e *nef* são sintetizadas, sendo a seguir sintetizadas as proteínas precursoras de *gag* e *pol*, tornado a partícula viral madura e capaz de infectar uma nova célula.

A replicação viral ocorre principalmente nos órgãos linfóides, na região perifolicular dos centros germinativos. A meia-vida da partícula viral no plasma é de seis horas e são produzidas cerca de 10⁹ a 10¹⁰ partículas virais por dia.

A transcriptase reversa é um dos mecanismos responsáveis pela variabilidade genética do HIV, uma vez que incorpora erroneamente em torno de 4 a 10 bases em cada ciclo de replicação. Como o HIV tem 104 pares de bases em seu genoma, ocorre uma substituição nucleotídica por genoma por ciclo replicativo, fazendo com que sua população contenha pouco ou nenhum genoma idêntico no hospedeiro (ALBERTS et al, 1997).

2.5 - ATIVIDADE ANTI-HIV

Os nucleosídeos possuem uma funcionalidade latente, que é metabolicamente ou quimicamente transformada para a molécula da droga ativa. Os tipos de ativação geralmente envolvem ativação por oxidação, por redução ou por fosforilação.

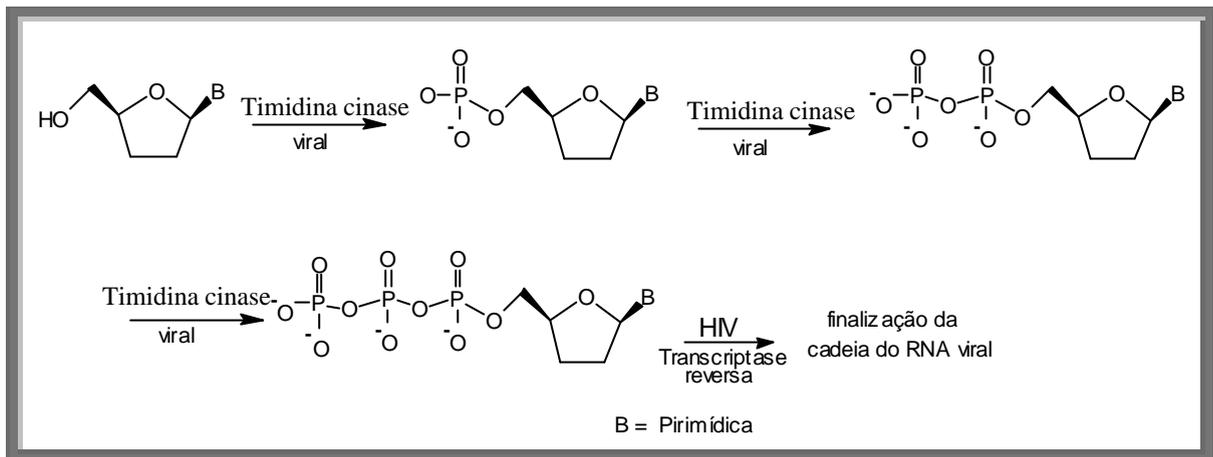
Dentre esses, oxidação é comumente vista, pois existe um número de enzimas endogenosas que podem levar à essas transformações. A ativação por redução não é muito comum, além de existirem poucas enzimas redutoras. A fosforilação pode ser largamente explorada no desenvolvimento de agentes antivirais, e muitos estão disponíveis atualmente dependendo deste tipo de ativação.

A abundância de enzimas oxidante no organismo tem feito este tipo de bioativação uma rota comum. As isoenzimas do citocromo P-450 são capazes de oxidar uma variedade de funções, produzindo, geralmente, compostos mais polares.

A fosforilação é uma função metabólica comum do organismo, que é usada como um meio de produção de alta energia das ligações fosfodiéster, como aquelas presentes no ATP e no GTP. O organismo usa então essas moléculas altamente enérgicas para fosforilar outras moléculas, ativando-as assim. Normalmente, a fosforilação introduz um grupo de saída, que pode ser deslocado por um nucleófilo substituinte. Isto é visto na síntese do DNA e do RNA, em que os nucleotídeos são adicionados ao C-3' de uma cadeia crescente do DNA ou do RNA.

A fosforilação é comumente observada na bioativação de agentes antivirais. Estes agentes são nucleosídeos, que podem ser convertidos a nucleotídeos que possuem atividade. Os agentes antivirais interrompem a síntese ou a função do DNA ou do RNA viral, e isso é geralmente acompanhado pela conversão ao trifosfato. Desde que células normais são também envolvidas na síntese do DNA ou do RNA, compostos são convertidos a trifosfatos, a forma ativa, em maiores quantidades nas células infectadas que nas células normais. Conseqüentemente, os nucleosídeos que possuem maior afinidade para enzimas cinases virais do que para as enzimas virais humanas são desejáveis e possuem uma ótima toxicidade seletiva.

Os inibidores nucleosídicos devem ser então trifosforilados (quando passam a se chamar nucleotídeos), pelas enzimas cinases, para apresentarem uma atividade anti-HIV, como é mostrado no Esquema 1 (LIN et al, 1987).



Esquema 1 – Atividade anti-HIV dos inibidores nucleosídicos.

Para os análogos pirimidínicos, as enzimas se denominam timidina cinase para a monofosforilação e timidilato cinase para a difosforilação e trifosforilação.

As diferenças de atividade anti-HIV observadas entre os inibidores nucleosídicos devem-se principalmente a maior ou menor facilidade com que estas substâncias são trifosforiladas pelas enzimas celulares (TRINH et al, 1994).

Por outro lado, os inibidores nucleosídicos devem ser bons substratos para as cinases celulares e ser suficientemente diferente dos substratos naturais para serem bons inibidores específicos da transcriptase reversa.

2.6 - MECANISMO DE AÇÃO

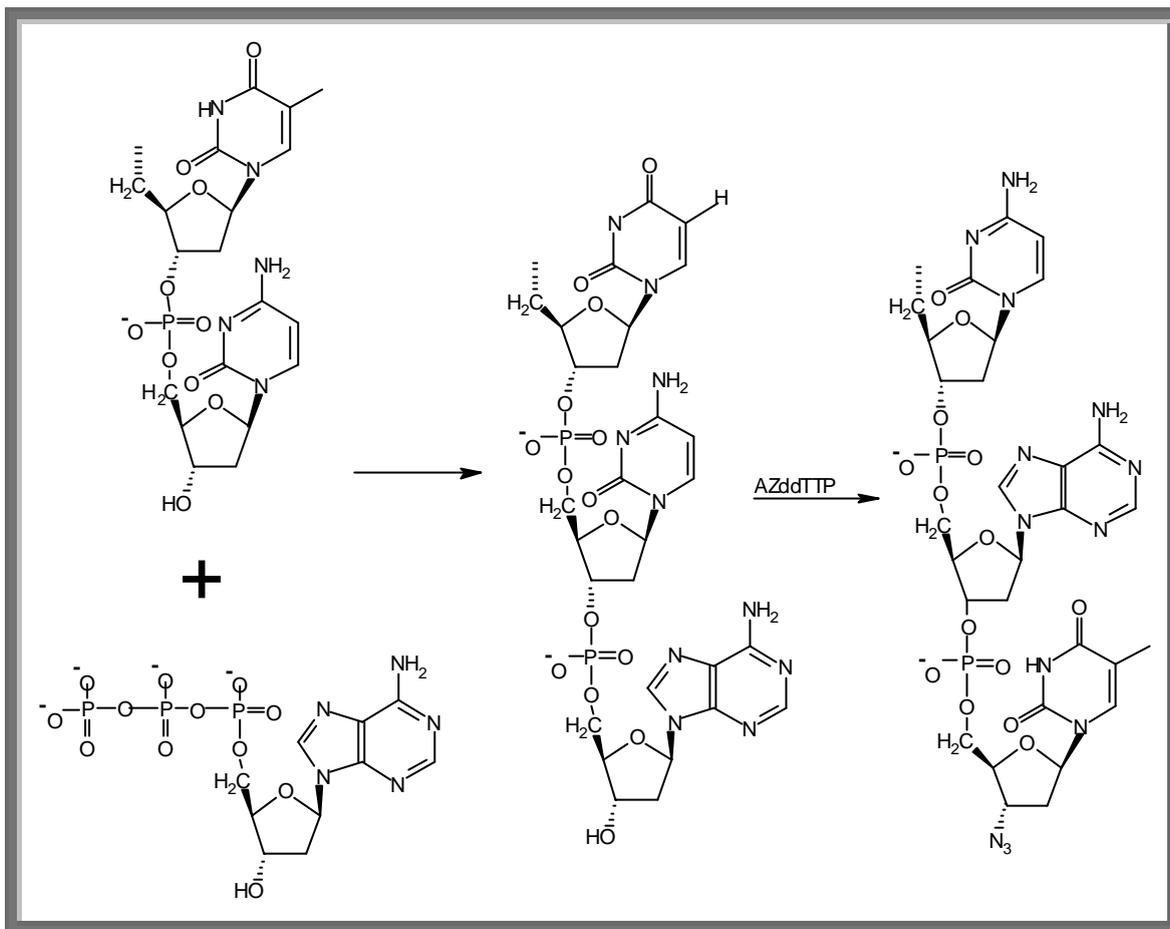
O mecanismo exato dos inibidores nucleosídicos não foi claramente estabelecido, porém na literatura ocorre que, o nucleosídeo entra na célula, onde é fosforilado. Em células infectadas por vírus, essa fosforilação é acompanhada preferencialmente pela enzima timidina cinase, o AZT será um melhor substrato para a enzima viral do que para a enzima humana correspondente (WILSON & GISVOLD'S, 1988).

Conseqüentemente, a droga é ativada em maiores proporções em células infectadas viralmente e consegue algum nível de toxicidade seletiva, embora essa seletividade seja mais baixa, significativa toxicidade em células normais também podem ocorrer. Uma vez que a droga é fosforilada a trifosfato, isto pode inibir a síntese do DNA de vários meios, incluindo a inibição da DNA polimerase viral e incorporação do DNA, resultando em pareamento da base incorreto que inibe a habilidade de DNA para transcrição reversa.

O mecanismo de ação pode ser exemplificado pela zidovudina, que é um agente antivirótico altamente ativo *in vitro* contra retrovírus, inclusive o HIV. Entretanto, este fármaco é inativo contra o vírus em sua forma natural, portanto, deve ser fosforilado no interior das células afetadas e não afetadas pela timidina cinase em zidovudina monofosfato. Esta se converte em difosfato, pela ação da timidilato cinase e então é convertida em trifosfato de zidovudina que age como um inibidor da transcriptase reversa virótica e seu substrato. A formação do DNA virótico adicional é bloqueada pela incorporação do trifosfato de zidovudina na cadeia e no término subsequente da cadeia. Os nucleosídeos trifosforilados da zidovudina não apresentam o grupo hidroxila em C-3', o qual assegura a ligação fosfodiéster com o novo nucleosídeo. Como o vírus não pode diferenciar esta "falha", a síntese do DNA viral é finalizada. Os inibidores são denominados "terminadores de cadeia" (Esquema 2, pág. 17). A competição do trifosfato de zidovudina pela transcriptase reversa do HIV é aproximadamente 100 vezes maior do que para DNA a-polimerase

celular. A dose necessária para causar 95% de inibição viral é abaixo de $1\mu\text{mol/L}$ (SANDSRTOM & OBERG, 1993 a e b).

As drogas antivirais servem como um substrato para enzimas fosforiladoras encontradas no vírus, e a espécie fosforilada é o agente ativo antiviral. A espécie ativa antiviral é incorporada ao DNA viral, interrompendo a replicação viral e então produzindo o efeito antiviral. Essas drogas não são fosforiladas em células humanas, e por isso a droga é específica para aqueles lugares que serve como substrato para fosforilação das enzimas. Uma das exigências discutidas anteriormente para o sistema de absorção foi a razão de entrada e saída própria para os nucleosídeos e as espécies de drogas ativas. As propriedades físico-químicas das prodrogas e seus derivados fosforilados deveriam sugerir uma razão apropriada de entrada e saída para o local específico. A prodroga é prontamente capaz de penetrar no vírus, e a polaridade crescente dos derivados fosforilados deveria servir para reter as espécies dentro do vírus. A polaridade crescente e a penetração viral das espécies fosforiladas ativas provavelmente reduzem alguma toxicidade humana que pode estar associada com essas espécies ativas.



Esquema 2 – Mecanismo de ação dos inibidores nucleosídicos.

2.7 - MEDICAMENTOS ANTI-RETROVIRAIS

Embora a AIDS seja uma moléstia incurável, combinações de fármacos com propriedades antivirais, podem estender e dar qualidade à vida dos pacientes.

Desde a descoberta do HIV, um grande número de fármacos vem sendo identificados por apresentarem atividade anti-retroviral *in vitro* (MITSUYA et al, 1990; VOGT & HIRSCH, 1986). Até hoje, o maior número de informações sobre terapêutica

específica contra HIV concentrou-se na classe de fármacos análogos de nucleosídeos que inibem a transcriptase reversa, principalmente a zidovudina **(1)**, a didadosina **(5)**, a zalcitabina **(3)** e a estavudina **(2)** (Figura 3, pág. 26).

Na tabela abaixo (Tabela 01) podem ser vistos os medicamentos anti-retrovirais disponíveis no mercado para o tratamento da Aids (MS, 2004).

Tabela 01 – Medicamentos Anti-retrovirais: Apresentação, Nome genérico, Sigla, Posologia, Aprovação do FDA.

Classe	Nome genérico	Sigla	Apresentação	Posologia	Aprovação
IRTN (Inibidor De Transcriptase Reversa Nucleosídeo)	Zidovudina	AZT	cápsula 100 mg	300mg (2xdia) ou 200mg3xdia	Março,1987
	Stavudina	d4T	Cápsula 30 e 40mg	=60kg;;40mg 2xdia <60kg;30mg 2xdia	Junho,1994
	Zalcitabina	ddC	Comprimido 0,75mg	0,75mg 3xdia	Junho,1992
	Lamivudina	3TC	Comprimido 150mg	150mg 2x dia ou 300mg 1xdia <50kg;2mg/kg 2xdia	Setembro, 1997

Tabela 01 - Continuação

	Didadosina	ddl	Comprimidos tamponados 25 e 100mg	=60kg; 200mg 2xdia ou 400mg 1xdia	Outubro, 1991
	Abacavir	ABC	Comprimido 300mg	300mg 2xdia	Novembro, 2000
	Tenofovir	TNF	Comprimido 300mg	300mg dia	Outubro, 2001
	Emtricitabina	FTC	_____	_____	Agosto, 2004
IRTNN (Inibidor de Transcriptase Reversa não nucleosídeo)	Nevirapina	NVP	Comprimido 200mg	200mg 2xdia inicial	Junho, 1996
	Delaviridina	DLV	Comprimido 100mg	400mg 3xdia	Abril, 1997
	Efavirenz	EFV	Cápsulas 600mg	600mg 1xdia	Setembro, 1998
IP (Inibidor de Protease)	Saquinavir	SQV	Cápsula 200mg	Associado com RTV SQV 1000mg 2xdia + RTV 100mg 2xdia ou SQV 400mg 2x dia + RTV 400mg 2x dia ou SQV 1200mg 3x dia Associado com LPV: SQV 1000mg 2xdia + LPV 400	

Tabela 01 - Continuação

Classe	Nome genérico	Sigla	Apresentação	Posologia	Aprovação
IP (Inibidor De Protease)	Lopinavir	LPV	Cápsula 133,3/ 33,3 mg	400/100mg (3 cápsulas) 2x dia associado com EFV ou NVP: 533/ 133mg (4 cápsulas) 2xdia associado com SQV: 400/ 100mg (3 cápsulas) + 1000mg SQV 2xdia	Setembro, 2000
	Atazanavir	ATZ	Cápsulas 150 e 200mg	400mg 1x dia ou associado ao RTV AZT 300mg + RTV 100mg 1xdia 100mg 2xdia ou APV 1200 mg + RTV 200mg 1xdia Ou APV 1200 mg 2xdia	Junho,2003

A procura por fármacos efetivos no combate à infecção pelo HIV fundamenta-se no entendimento do ciclo celular do vírus. É compreendendo cada passo da replicação viral que se podem direcionar novas estratégias para combater a infecção.

A utilização de terapia combinada de anti-retrovirais (ARV), vem mostrando resultados positivos em todos os países nos quais os pacientes infectados pelo HIV tem tido acesso a esses medicamentos (CHEQUER et al, 2001). Atualmente, no Brasil, cerca de 90.000 pacientes recebem ARV da Rede pública de saúde (95% adultos e 5% crianças) (CHEQUER et al, 2001).

O primeiro anti-retroviral distribuído na rede pública foi a Zidovudina (AZT). Em setembro de 1988, já estavam disponíveis na Rede Pública comprimidos ou cápsulas de Didanosina (ddI), Zalcitabina (ddC), lamivudina (3TC), Estavudina (d4T), Nevirapina, Delaviradina, Saquinavir, Idinavir, Ritonavir, Nelfinavir e a Zidovudina injetável (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 1999).

Todos estes fármacos previnem a reprodução do vírus deixando o progresso da doença mais lento. O vírus do HIV freqüentemente desenvolve resistência a todos esse medicamentos, quando empregados isoladamente, após um período que varia de poucos dias a anos, dependendo do fármaco e do paciente (MARKOWITZ et al, 1996).

Uma estratégia terapêutica muito promissora para combater a AIDS é combinar dois inibidores de protease, e/ou um inibidor da transcriptase reversa não análogos de nucleosídeos e pelo menos dois inibidores da transcriptase reversa análogos de nucleosídeos (AYMARD et al, 2000; MARTINDALE & REYNOLDS, 1996).

A tabela a seguir (Tabela 02) indica, de acordo com os parâmetros do Ministério da Saúde, 2004, as combinações mais adequadas para terapia anti-retroviral (ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD, 2004).

Tabela 02 – Medicamentos e combinações preferenciais.

Grupo farmacológico	Opção 1	Opção 2
2 IRTN	AZT + 3TC	d4T + 3TC
IRTNN	EFV	NVP
IP	LPV ou ATV	NFV + SQV

2.8 - A ZIDOVUDINA

A zidovudina foi primeiramente sintetizada por HORWITZ et al, 1964 e foi descrita como um fármaco antineoplásico. Sua atividade anti-retroviral foi descoberta por OSTERTAG et al 1974, no entanto, seu efeito inibitório contra o HIV foi aprovado em 1985, por MITSUYA et al, 1985. A zidovudina foi o primeiro medicamento empregado no tratamento da Aids, que comprovadamente proporcionou benefícios clínicos importantes, estando disponível desde 1987 (GOODMAN et al, 1996) logo após a observação de sua atividade anti-retroviral *in vitro* (YARCHOAN et al, 1989). No entanto, a zidovudina só começou a ser produzida no Brasil em 1993 (CHEQUER et al, 2001). A zidovudina é uma substância antivirótica sistêmica indicada como fármaco preferencial no tratamento da Aids. É precursora da terapia anti-retroviral e integrante fundamental da terapia combinada de fármacos correntemente utilizados (BRONKER et al, 1990; LANGTRY & CAMPOLIRICHARDS, 1989; TAN & BOUDINOT, 2000).

Vários estudos mostraram a eficácia clínica da zidovudina no prolongamento da sobrevida média e no aumento do período livre do aparecimento de doenças oportunistas em pacientes com HIV ou com sintomas constitucionais sem doenças oportunistas (CREAGH-KIRK et al, 1988; FISCHL et al, 1989; GRAHAM et al, 1992; MOORE et al, 1991), freqüentemente em associação com profilaxia para pneumonia por *Pneumocystis carinii*. A partir destes dados, ficou evidente o benefício da zidovudina quando administrada em pacientes que já apresentavam sintomas constitucionais ou doenças oportunistas, o que geralmente ocorre quando a contagem de linfócitos CD4 está abaixo de 200 células/mm³ (OMS, 1998). Porém, a indicação do emprego da zidovudina em pacientes com linfócitos CD4 entre 200 a 500 células/mm³ que são assintomáticos é ainda campo de grande controvérsias (OMS, 1998).

A monoterapia com AZT não é indicada, pois o fármaco apenas inibe a infecção de novas células, enquanto que a produção de novos vírus e a imunossupressão

não são afetadas. Além disso, LARDER et al, 1989, documentaram que a resistência pode desenvolver depois de um período longo de tratamento (mais que um ano).

- FARMACOCINÉTICA

A zidovudina é bem absorvida no intestino, em todos os níveis de doses, e em estudos, a biodisponibilidade encontrada foi de 69% a 70%, mas isso difere grandemente entre cada paciente. A zidovudina entra na célula por difusão passiva e apresenta meia-vida plasmática de 1 hora, mas a meia-vida intracelular é em torno de 3 a 4 horas (HENRY et al, 1988; KUSTER et al, 1991; McLEOD et al, 1992). A taxa de absorção renal da zidovudina excede muito as taxa de absorção renal da creatinina, indicando que significativa secreção tubular se faz presente. O 5'-glicuronídeo de zidovudina é o principal metabólito, tanto no plasma como na urina e é responsável por mais ou menos 50% a 80% da dose eliminada pela via renal. Nenhum outro metabólito foi detectado. Os níveis de zidovudina no líquido cefalorraquidiano apresentaram uma média de mais ou menos 50% dos níveis plasmáticos correspondentes, após a administração de doses sucessivas. A ligação a proteínas plasmáticas é relativamente baixa (34-38%) e assim, as interações do fármaco, envolvendo o deslocamento do local de ligação, são imprevisíveis (KLECKER et al, 1987). Deve ser administrada preferencialmente sem alimentos ou com alimentos não gordurosos.

- INDICAÇÕES TERAPEUTICAS

A zidovudina é indicada para pacientes assintomáticos ou com sintomas leves de infecção pelo vírus HIV e pacientes com a síndrome da imunodeficiência humana adquirida. A evidência de sua eficácia foi demonstrada em pacientes com AIDS, o quais se recuperam de seus primeiros episódios de pneumonia por *Pneumocystis carinii*, dentro de 4 meses e em pacientes com ARC, com sinais múltiplos de infecção pelo HIV, inclusive candidíase mucocutânea, perda de peso, linfadenopatia e febre inexplicável.

Maiores benefícios são obtidos quando a medicação é administrada antes que os pacientes atinjam a fase avançada da doença.

- CONTRA-INDICAÇÕES

É contra-indicada em pacientes que potencialmente apresentam hipersensibilidade a zidovudina.

Não deve ser administrada à pacientes com neutrófilos periféricos inferiores a 750 por mm^3 ou hemoglobina inferior a 7,5 g/dL e recém-nascidos com hiperbilirrubinemia que requerem tratamento com fototerapia.

A relação risco/benefício deve ser cuidadosamente avaliada na presença de depressão da medula óssea, deficiência de ácido fólico ou de vitamina B12, de comprometimento hepático e disfunção renal.

A zidovudina atravessa parcialmente a placenta e atinge concentrações fetais similares àquelas observadas em adultos. Por este motivo, só deve ser usado durante a gravidez se o benefício para a mãe justificar o possível risco para o feto. A administração à gestante soropositiva diminui a incidência de AIDS em recém-nascidos.

Não se conhece ainda se a zidovudina é excretada no leite materno, por este motivo, recomenda-se que as pacientes em tratamento com este medicamento não amamentem ao seio, a menos que a mãe e filho estejam infectados pelo HIV.

2.9 - INIBIDORES DE TRANSCRIPTASE REVERSA

Os fármacos utilizados com melhores resultados até o momento são os que inibem a ação da enzima transcriptase reversa. Apesar de exercerem ação parcial,

são capazes de diminuir a carga viral, melhorar sintomas clínicos, retardar a progressão da doença e prolongar a sobrevivência de pacientes com Aids.

Apesar dos agentes inibidores transcriptase reversa apresentarem um mecanismo de ação comum, os agentes anti-retrovirais diferem substancialmente quanto às vias de ativação intracelular e perfis toxicológicos (GOODMAN et al, 1996).

Estes fármacos são divididos em dois grupos: análogos de nucleosídeos e os não-análogos de nucleosídeos.

2.9.1 - INIBIDORES DA TRANSCRIPTASE REVERSA ANÁLOGOS DE NUCLEOSÍDEOS

Os análogos de nucleosídeos foram a primeira classe de fármacos que demonstraram atividade anti-retroviral em pacientes tratados (BALINT, 2001).

Atuam colocando-se como “falsos nucleosídeos” na formação da molécula de DNA pela transcriptase reversa. Quando ocupam lugar de um verdadeiro nucleosídeo na formação da molécula do DNA viral, impedem que um novo nucleosídeo se ligue, interrompendo o processo. Por isso, têm a característica de serem inibidores competitivos.

Porém, a transcriptase reversa possui grande capacidade de mutação. Com o passar do tempo, ocorre alteração de sua estrutura nos sítios de ligação dos análogos de nucleosídeos, sobrevivendo então a resistência (OMS, 1998).

Os medicamentos da transcriptase reversa, análogos de nucleosídeos incluem a Zidovudina (AZT ou retrovir) **(1)**, d4T (stavudina) **(2)**, ddC (zalcitabina) **(3)**, 3TC (lamivudina) **(4)**, ddI (didanosina) **(5)**, ABC (abacavir) **(6)**, Tenofovir **(7)**, e o mais

atual, Emtricitabina (FTC) **(8)**. Também são utilizadas as combinações: Trizivir (AZT, 3TC, ABC) e Combivir (AZT, 3TC) (DEF, 2000, MERCK INDEX, 1996) (Figura 3).

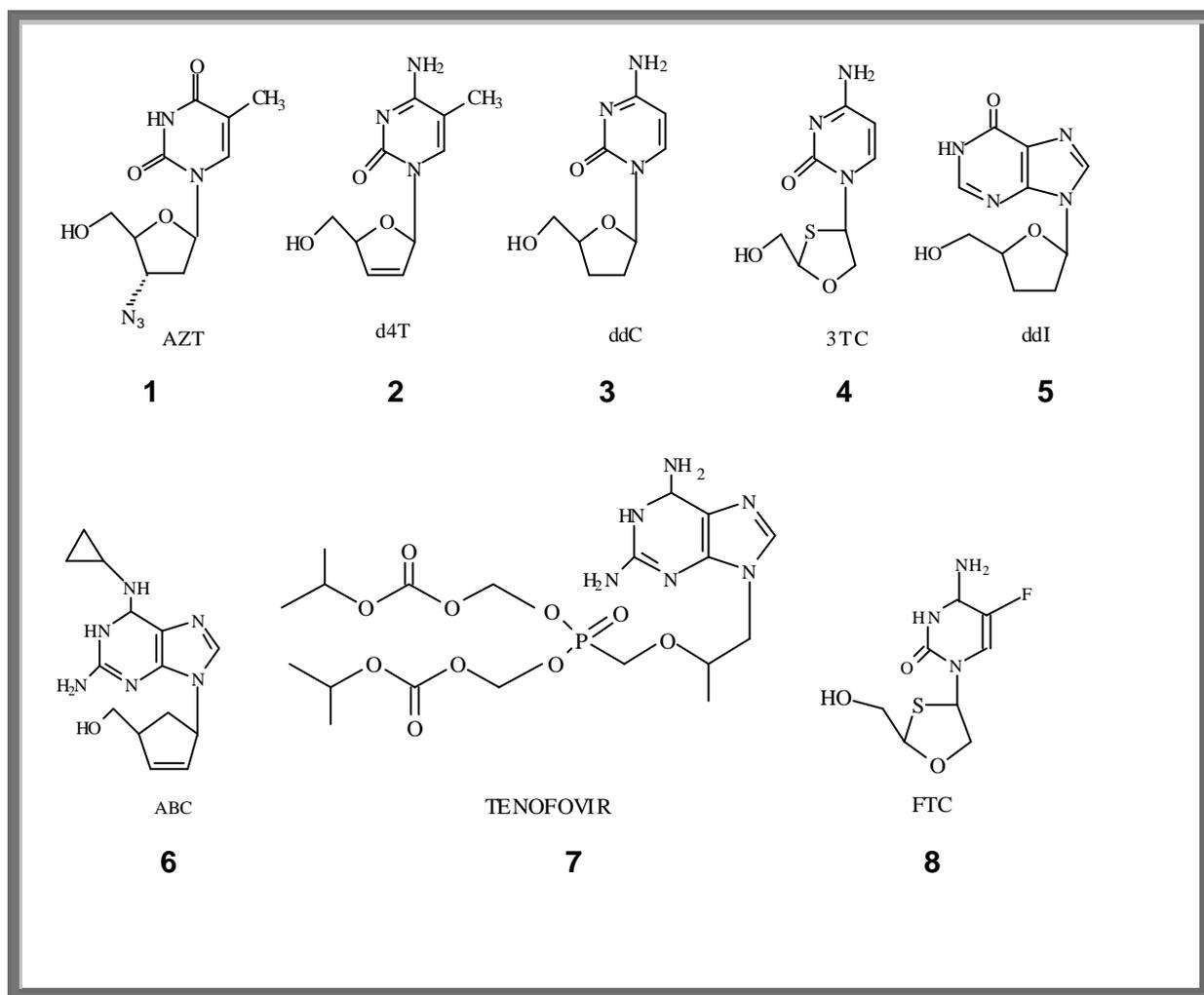
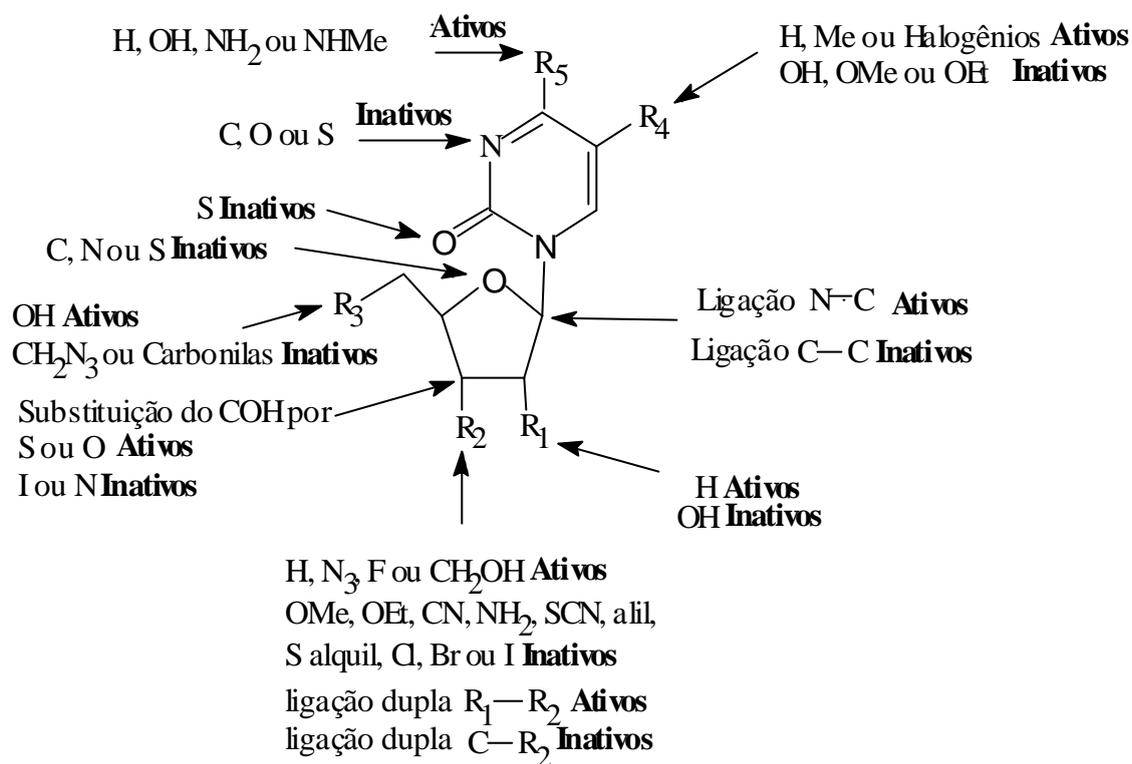
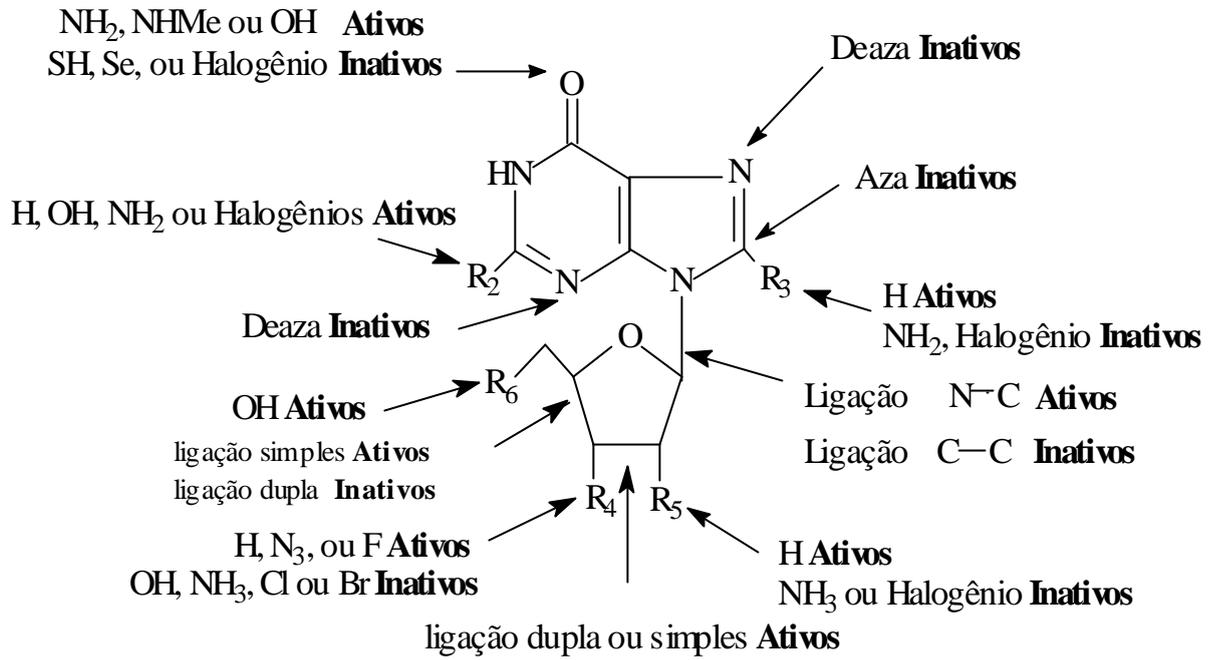


Figura 3 - Inibidores da Transcriptase Reversa Análogos de Nucleosídeos.

Após a descoberta do AZT como anti-HIV, inúmeros análogos foram sintetizados com o objetivo de se obter fármacos mais eficazes. Devido a este amplo estudo estrutura-atividade (SAR = “Structure Activity Relationship”) foram identificados posições e grupos farmacofóricos e toxicofóricos (SOUZA & ALMEIDA, 2003).



Esquema 3 - Para Bases Nitrogenadas Pirimidínicas: Citosina, Timina e Uracila.



Esquema 4 - Para Bases Nitrogenadas Purínicas: Adenosina Guanina

2.9.2 - Inibidores da Transcriptase Reversa Não Análogos de Nucleosídicos

Diferem dos análogos de nucleosídeos por inibirem a transcriptase reversa não competitivamente, bloqueando a reação química de duplicação da molécula de RNA viral pela transcriptase reversa sem interferir na ligação dos nucleosídeos (SPENCE et al, 1995). Não atuam contra o HIV-2 ou outras retrovíroses animais (KOPP et al, 1991; STARNES & CHENG, 1989).

Os inibidores de transcriptase reversa, não nucleosídicos incluem Nevirapina (NVP) **(9)**, Delavirdina (DLV) **(10)**, Efavirenz (EFV) **(11)** (DEF, 2000; MERCK, 1996).

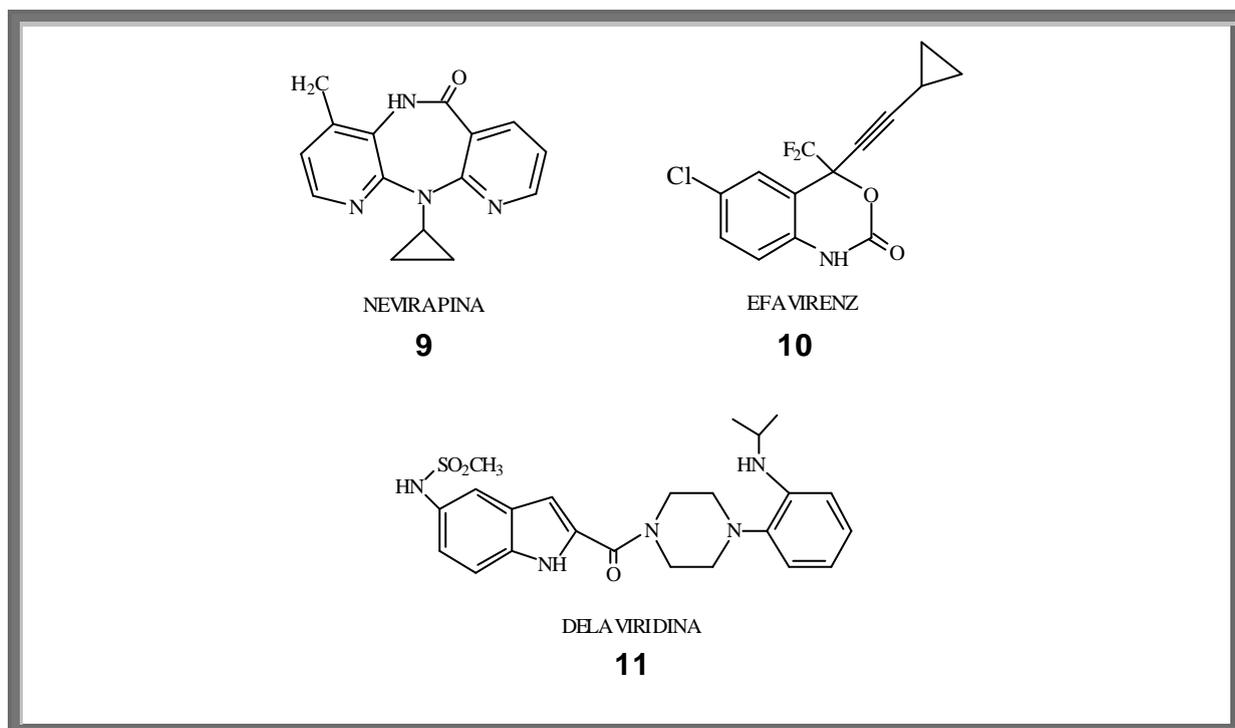


Figura 4 - Inibidores da Transcriptase Reversa Não Análogos de Nucleosídicos

2.9.3 - Inibidores de Protease

No final de 1995, após diversas pesquisas, foi liberada para uso esta nova classe de medicamentos. Esses fármacos atuam na inibição da protease, enzima responsável por clivar a poliproteína codificada pelos genes *gag* e *pol*, formada no ribossomo da célula hospedeira. É essencial para consolidação da replicação viral, já que a região *pol* é a transcriptase reversa e a *gag*, a proteína p24, levando à formação de partículas virais defectivas, incapazes de montar outro vírus completo.

Os inibidores de protease incluem o Saquinavir (SQV) **(12)**, Indinavir (IDV) **(13)**, Ritonavir (RTV) **(14)**, Nelfinavir (NFV) **(15)**, Amprenavir (APV) **(16)**, Lopinavir (LPV) **(17)**, Atazanavir (TAZ) **(18)** (DEF, 2000; MERCK, 1996) (Figura 05, pág.31).

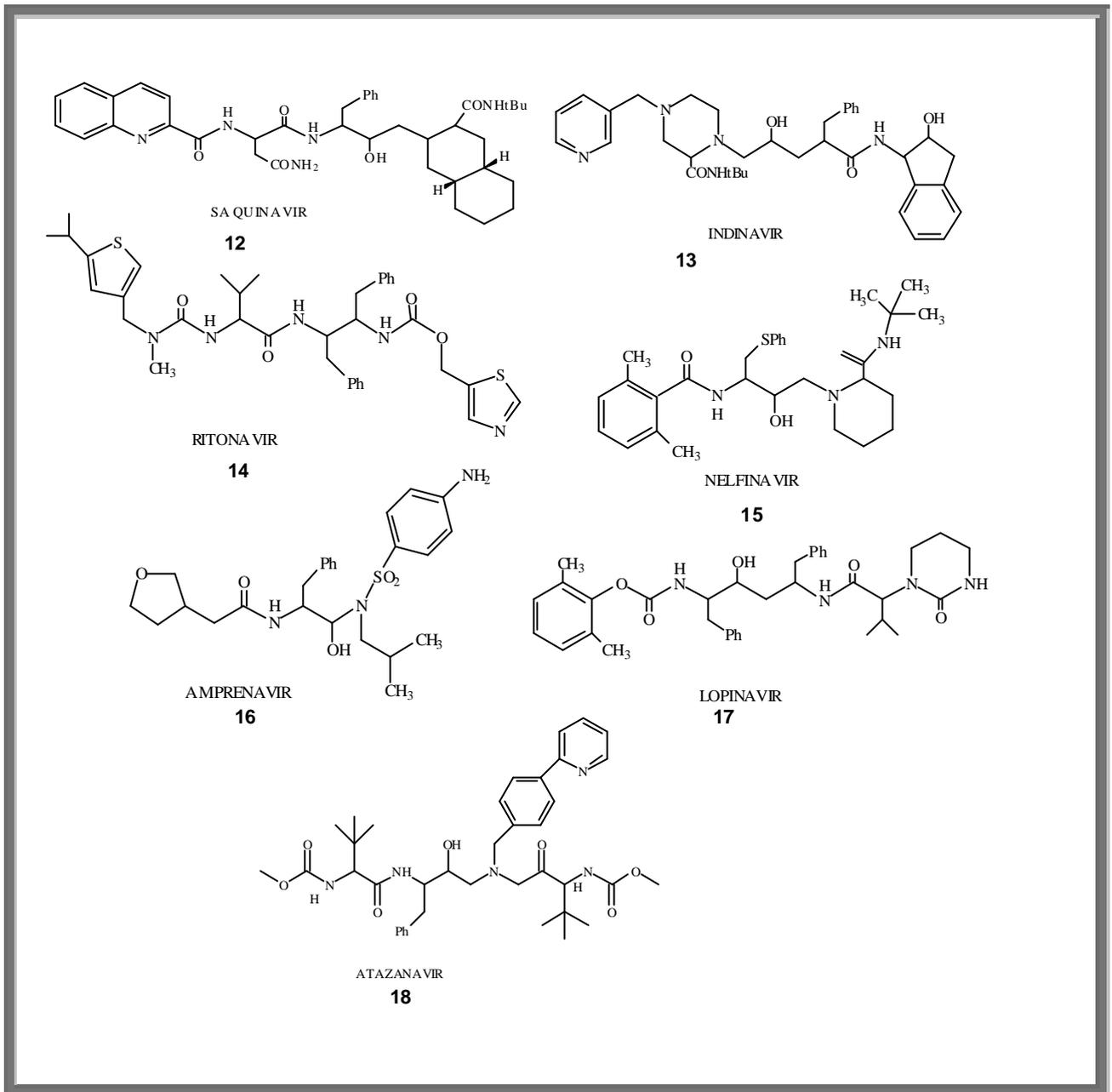


Figura 5 - Inibidores de Protease

3 - Objetivos

O presente projeto se divide em quatro partes: síntese de análogos cíclicos e acíclicos do AZT, obtenção de uma nova rota do AZT e algumas prodrogas do AZT.

3.1- Objetivos Gerais:

I - Realizar a síntese de análogos cíclicos e acíclicos do AZT, nova rota sintética do AZT e algumas de suas prodrogas.

II - Dominar rotina de trabalho com compostos polares.

3.2 - Objetivos específicos:

3.2.1 - Realizar a síntese dos análogos acíclicos do AZT **(27 a e b)**, **(30 a e b)** e **(34 a)** através de reações regioseletivas.

3.2.2 - Realizar uma nova rota de síntese para o AZT **(1)**.

3.2.3 - Realizar a síntese dos análogos cíclicos do AZT **(68)** e **(70)**, modificados respectivamente na porção carboidrato e na base, via reações radicalares.

3.2.4 - Realizar a síntese de Prodrogas do AZT, tendo como cadeia lateral a bixina **(71)** e o ácido oléico **(72)**.

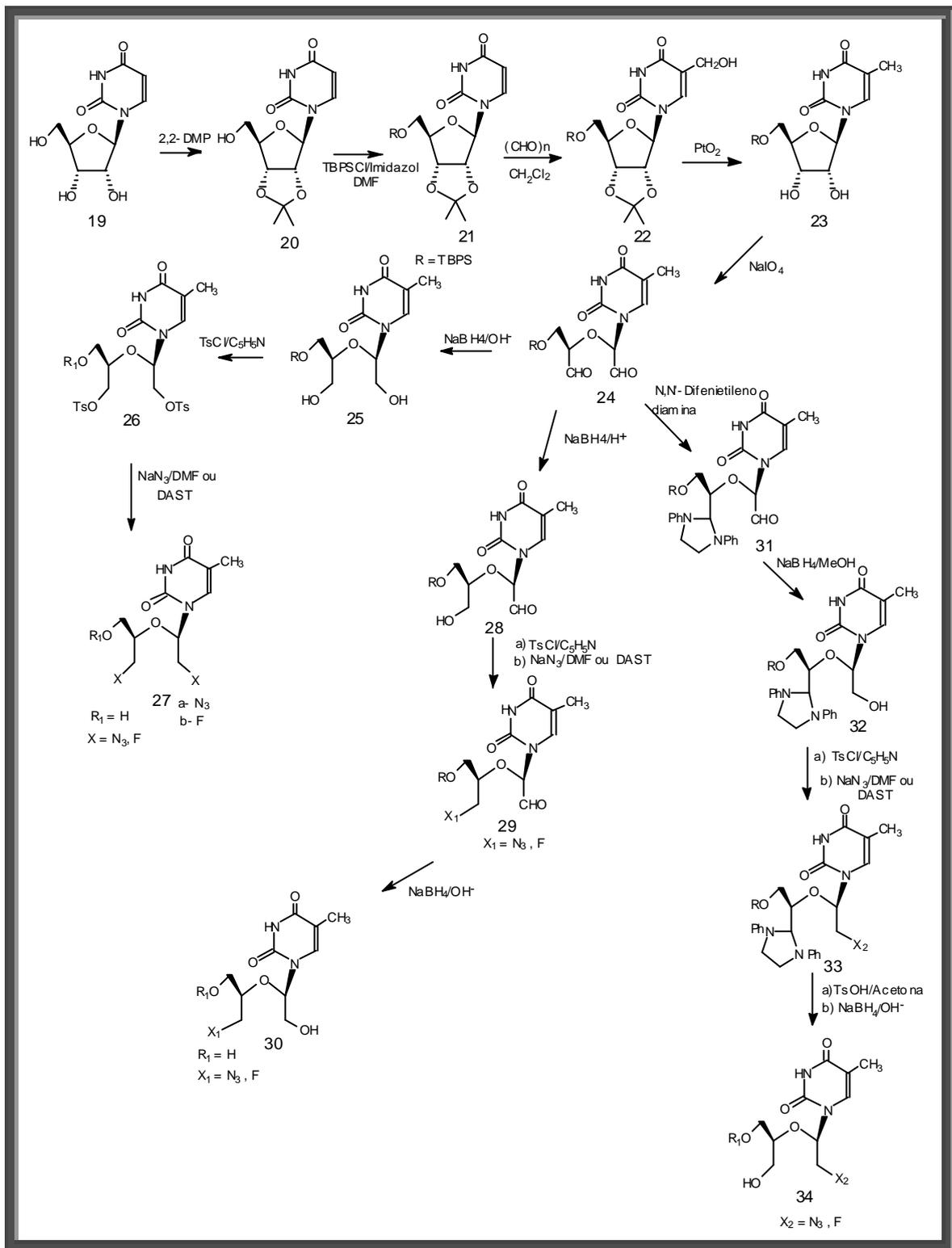
4 – Planejamento Sintético

4.1 - Estratégias de Síntese de Análogos Acíclicos do AZT.

A proposta sintética dos análogos **27 (a e b)**, **30 (a e b)**, **34 (a e b)** é mostrada no esquema 5 . A estratégia geral envolve primeiro a síntese do intermediário **24**. Este último pode ser obtido através em cinco etapas tendo a uridina **19** como material de partida, que por reação de proteção dos grupamentos hidroxilas nas posições C-2', C-3' e C-5' levaria a formação nucleosídeo protegido **21**. Este poderia ser submetido a uma reação de hidroximetilação no C-5, seguida da desproteção dos grupamentos hidroxilas em C-2' e C-3'. O produto formado seria submetido a uma clivagem oxidativa para formação do aldeído **24**. O intermediário chave **24** poderia ser submetido a uma redução em meio básico, levando a formação do diol **25**, que seria submetido a uma reação de substituição por dos grupamentos tosilas nas hidroxilas C-2' e C-3' e após desproteção do grupamento hidroxila em C-5' para formação de **26**. Este último seria submetido a uma reação de substituição nucleofílica (por grupamentos azido (ou flúor) para conduzir a formação dos análogos **27 (a e b)**.

O intermediário chave **24** poderia também ser submetido a uma reação redução seletiva em meio ácido da posição C-2' para formação do derivado **28**. Este último poderia ser submetido a reações de substituição nucleofílica para formação do derivado **29**. O último estágio da síntese consistiria na desproteção e redução da função aldeído C-2' e obtenção dos análogos **30 (a e b)**.

O terceiro caminho sintético parte do intermediário **24**, que poderia ser submetido a reação de proteção seletiva na posição C-3' e posterior redução da função aldeído C-2' para a formação do composto **32**. Este último seria submetido a uma reação de substituição nucleofílica (por grupamentos azido ou flúor) para conduzir a formação dos análogos **33 (a e b)**, que após desproteção da função aldeído, seguida de redução a álcool em C-3', e desproteção também do grupamento hidroxila em C-5', levaria a formação do análogo **34 (a e b)**.



Esquema 5 - Esquema Sintético de síntese de análogos acíclicos do AZT.

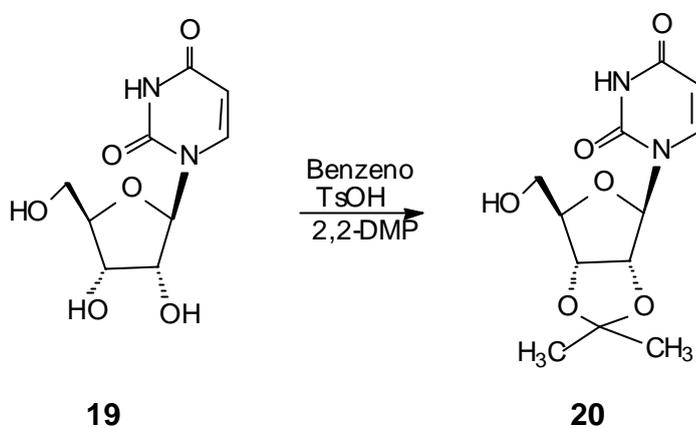
4.1.1 - Discussão e Resultados

A primeira parte desta dissertação trata da síntese de análogos acíclicos do AZT.

A dificuldade de descobrir moléculas de interesse deve-se a necessidade destes compostos antivirais não interromperem o metabolismo das células nas quais os vírus se replicam. De fato este último utiliza o aparelho de replicação da célula hospedeira para traduzir seu DNA e sintetizar suas enzimas: timidina cinase, DNA polimerase e transcriptase reversa, no caso do vírus HIV. Essas enzimas virais servem posteriormente à síntese das proteínas virais.

Nas pesquisas para produzir inibidores terapêuticos do HIV, várias classes de moléculas têm sido investigadas. O desenvolvimento desta área indica que mudanças na parte carboidrato podem ser compatíveis com uma potente atividade viral, inclusive com a utilização de compostos acíclicos, baseando-se nos trabalhos realizados por Neenan et al, através da abertura do anel adenosínico.

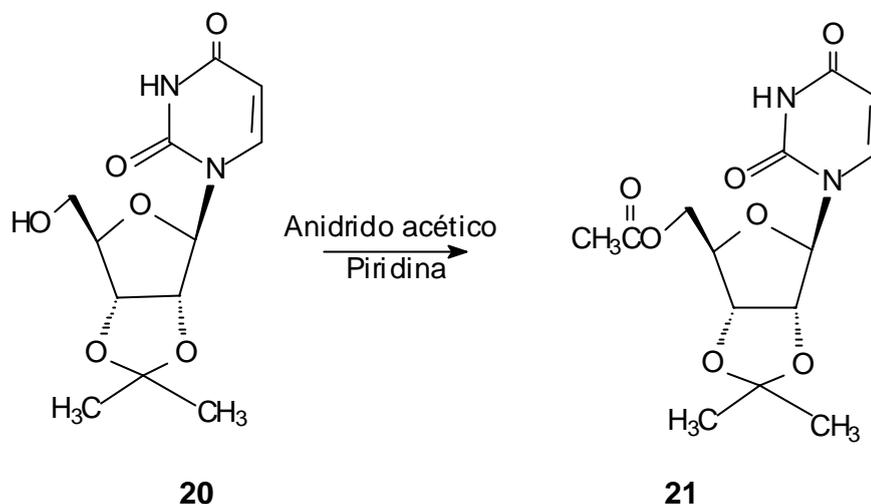
4.1.1.1 - Síntese de 2',3'-O- isopropilideno-2',3'- dideoxi-uridina (**20**) (Esquema 6).



Esquema 6

Iniciamos nosso estudo de síntese dos análogos acíclicos de AZT preparando a 2',3'-isopropilideno dideoxiuridina **20**, através da reação entre a uridina e o 2,2-dimetoxi propano (1,1 eq) e o ácido para toluenosulfônico em quantidades catalíticas tendo como solvente o benzeno à temperatura de refluxo por 4 horas. A reação foi acompanhada por cromatografia em camada delgada de sílica e após purificação o rendimento da reação foi de 75,2 %, o que nos levou a considerar a hipótese de que a solubilidade da uridina no meio reacional dificultou o rendimento quantitativo do nucleosídeo protegido. O produto foi confirmado por seu espectro de RMN¹H, que apresentou sinais a δ 1,61 e 1,36, referentes a dois singletos dos prótons metílicos dos grupos isopropilideno (**Fig. 9, pág. 101**).

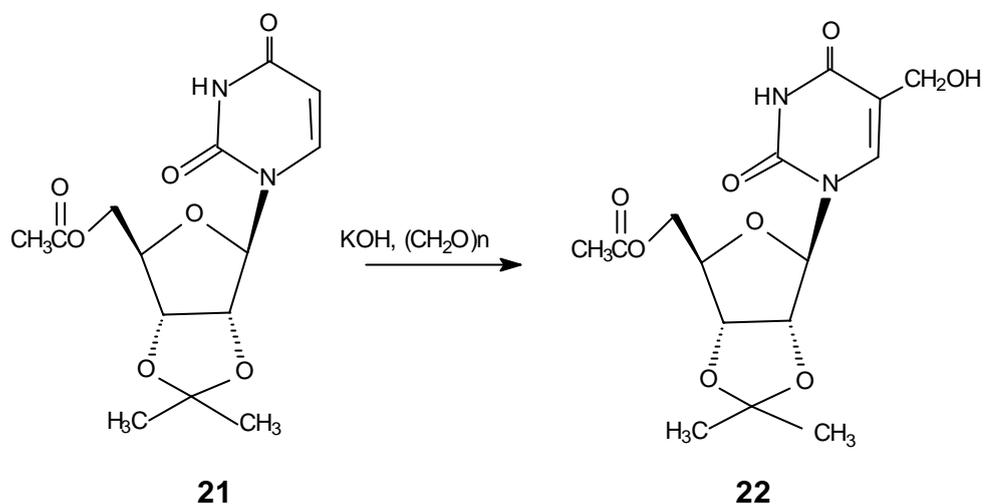
4.1.1.2 - Síntese da 5' – acetil - 2',3' – O – isopropilideno uridina (**21**) (Esquema 7).



Esquema 7

A proteção da isopropilideno uridina **20** com grupo acetato é importante, pois prepara o nucleosídeo para a etapa posterior que é a reação de hidroximetilação. O anidrido acético (5 eq.) foi adicionado a **20** em meio piridínico (5 eq.) à temperatura de 0⁰ C e mantido sob agitação por um período de 3 horas. A reação foi acompanhada por CCDS até o desaparecimento do material de partida. Após purificação obteve-se 78% de rendimento. O produto foi confirmado por seu espectro de RMN-¹H, que apresentou um sinal a δ 2,17 relativo aos hidrogênios metílicos do grupo acetato (**Fig. 10** , **pág. 102**).

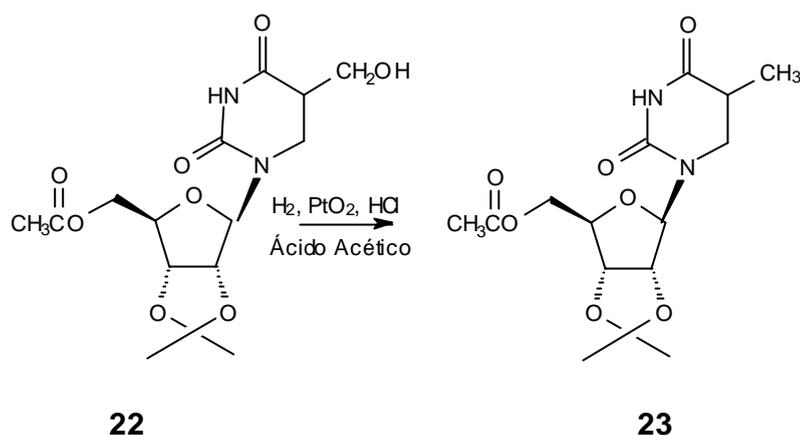
4.1.1.3 - Síntese da 5-hidroximetil - 5' - acetil - 2',3' - O - isopropilideno uridina (**22**) (Esquema 8).



Esquema 8

A tentativa de conversão direta ao produto hidroximetilênico da 5' - acetil - 2',3' - O - isopropilideno uridina **22** (adição de grupo hidroximetilênico na base pirimidínica), utilizando paraformaldeído (1 eq) e solução aquosa de hidróxido de potássio à temperatura de 50°C, com agitação por 24 horas conduziu a formação do 5 - hidroximetil - 5' - acetil - 2',3' - O - isopropilideno uridina **22**, que após purificação forneceu o rendimento de 55%. O 5 - hidroximetil - 5' - acetil - 2',3' - O - isopropilideno uridina teve sua estrutura confirmada por seu espectro de RMN-¹H onde observa - se sinal a δ 2,00 referente aos hidrogênios hidroximetilênicos (**Fig. 11, pág. 103**).

4.1.1.4 - Síntese da 5 - metil - 2',3' - O - isopropilideno - 5' - acetil - uridina (**23**) (Esquema 9).



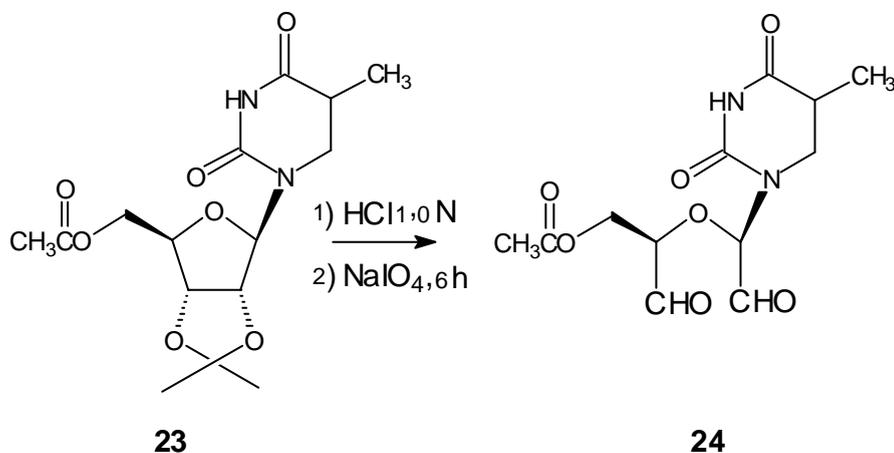
Esquema 9

A etapa subsequente consistiu na redução do grupo hidroximetilênico do nucleosídeo **23**, utilizando óxido de platina (1 eq.), hidrogênio (fluxo contínuo) em acetato de etila, para formação da 5 – metil – 5' – acetil - uridina **24** com 40 % de rendimento. A opção em melhorar o rendimento da reação foi a substituir o acetato de etila por ácido acético glacial conforme procedimento descrito por Sheit et al, 1960, onde o rendimento foi de 60%. O produto foi confirmado por seu espectro em sinal a δ 1,95, referente ao grupamento metila da base pirimídica (Fig. 12, pág. 104).

4.1.1.5 – Clivagem da 5 - metil - 2',3' - O - isopropilideno - 5' - acetil - uridina (**23**)
(Esquema 10).

Antes da reação de clivagem oxidativa em C-2' e C-3', o composto foi submetido a reação de retirada do grupamento isopropilidênico em meio ácido. A desproteção do grupamento isopropilidênico foi realizada em presença de HCl 1,0 N sob agitação por um período de 24 horas. A reação foi acompanhada em CCDS até desaparecimento do material de partida apresentando rendimento de 75%.

Se dois grupos hidroxilas estão colocados em carbonos adjacentes, apresentam propriedades diferentes das dos grupos hidroxilas isolados. As ligações entre dois átomos de carbonos C-2' e C-3' quebram-se facilmente sob ação de agentes oxidantes. O ácido crômico e o íon permanganato levam estes carbonos aos estados de oxidação máxima. Em contraste, o ácido periódico e o tetra acetato de chumbo quebram a ligação C – C mas não oxidam os aldeídos formados (ALLINGER et al, 1976).

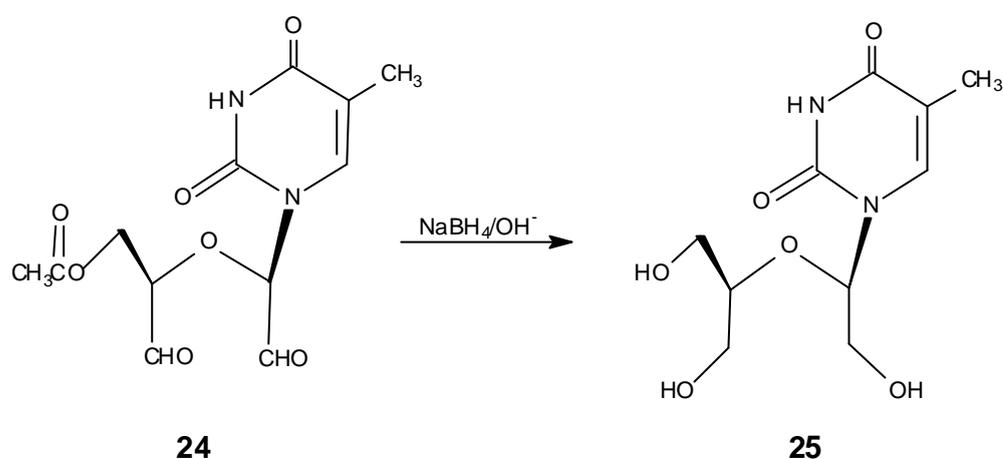


Esquema 10

A etapa de clivagem oxidativa dos grupamentos hidroxila em C-2' e C-3' foi promovida pela adição de solução de meta periodato de sódio 1,0 N por 6 horas. A reação foi acompanhada por cromatografia em camada delgada de sílica e o produto foi purificado com 54% de rendimento. A melhora do rendimento desta reação foi

obtida através da utilização da resina IRA-120 altamente ácida para troca dos íons iodato (IO_3^-) e para facilitar a purificação do dialdeído **24**. O produto foi confirmado por seu espectro de RMN- ^1H que apresentou dois sinais a δ 9,21 e δ 9,24, referentes aos prótons aldeídicos (**Figura 13, pág. 105**).

4.1.1.6 - Síntese da 2' - hidroxí - 2', 3' -seco - timidina (**25**) (**Esquema 11**).



Esquema 11

A redução das carbonilas do aldeído **24**, sem controle da seletividade da reação foi efetuada utilizando NaBH_4 em meio básico, seguindo o procedimento descrito por Neenan et al, 1996. A reação foi acompanhada por CCDS e o produto foi purificado com rendimento de 40%. As condições básicas do meio reacional conduziram ao produto **25**. O produto foi confirmado por seu espectro de RMN- ^1H que apresentou três sinais a δ 3,83, δ 4,10 e δ 4,15 referentes aos grupos hidroxilas (**Fig. 14, pág. 106**).

4.1.2 – Conclusão

As reações descritas neste primeiro capítulo conduziram à obtenção da 2',3' - seco - timidina . Esta substância foi obtida em seis etapas, tendo a uridina **19** como material de partida. Esta foi submetida à reação de proteção dos grupamentos hidroxilas em C-2' e C-3' (**20**) e posterior proteção do grupo hidroxila em C-5' com agente acetato (**21**). O composto **21** obtido foi submetido a reação de hidroximetilação e redução em presença de óxido de platina para obtenção do análogo de timidina **22** desprotegido nas posições C- 2' e C-3'. A reação de clivagem oxidativa de **23** conduziu ao aldeído **24** intermediário chave para as reações regioselectivas. A reação de redução dos grupamentos aldeídico foi realizada com boridreto de sódio em meio básico para conduzir ao triol **25**. O baixo rendimento apresentado na etapa de obtenção do aldeído **24** impossibilitou-nos a continuidade desta síntese, visando à obtenção do azido **27**.

Durante este trabalho foi possível a síntese de seis substâncias, das quais uma é inédita **25** e possibilitou o domínio de técnicas reacionais com vistas a otimizar rendimentos para as sínteses regioselectivas resultantes.

4.2 - Estratégias de síntese de uma nova rota para obtenção do AZT.

O objetivo de se criar uma nova rota sintética para obtenção do AZT está direcionado primeiro, em diminuir o número de etapas, através de uma via mais direta e, segundo, em aumentar o rendimento global da reação.

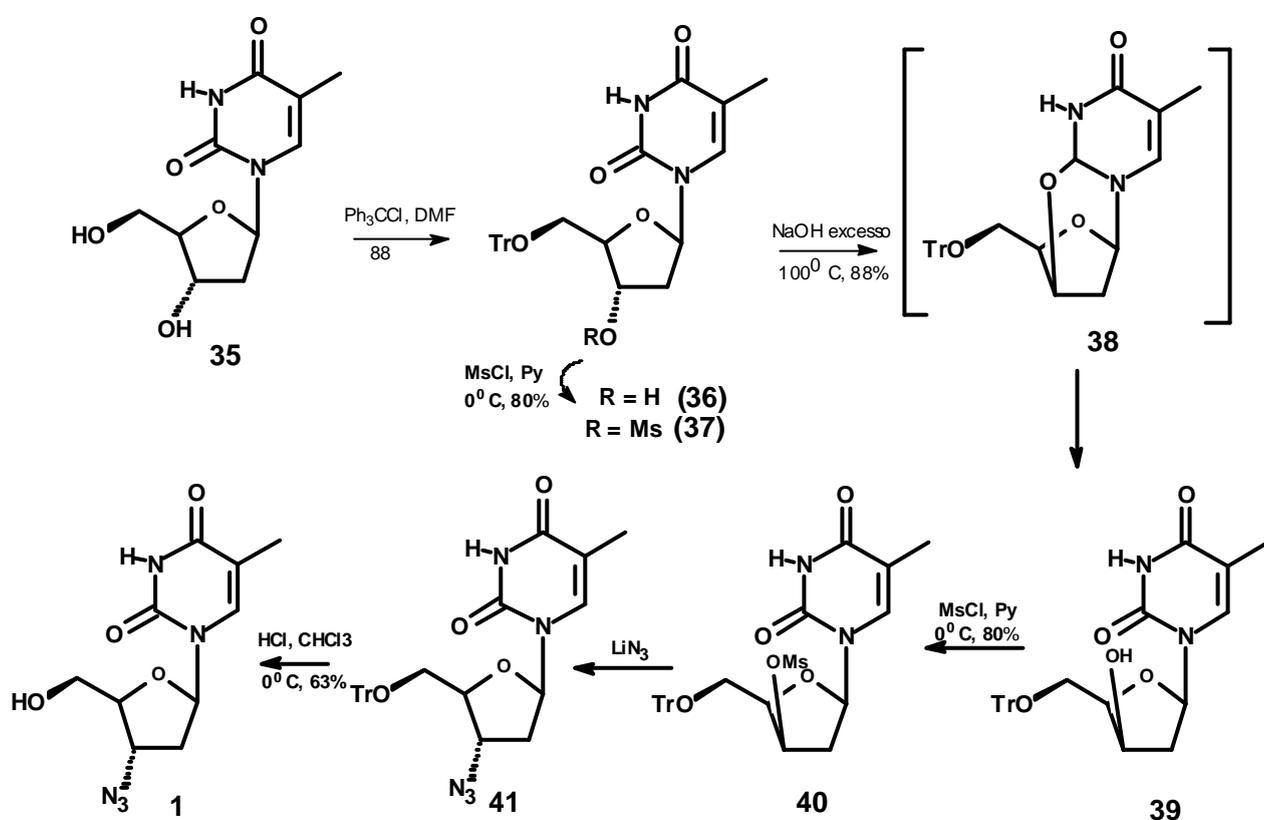
O AZT foi sintetizado pela primeira vez por HORWITZ et al, 1964, na Fundação de Câncer de Michigan, e avaliado quanto a sua atividade anti cancerígena. No início dos anos 70, a atividade antiviral do AZT sobre o retrovírus de ratos foi relatada, colocando assim em evidência o mecanismo de ação do AZT como terminador de cadeia do DNA e como inibidor competitivo da timidina cinase. Os resultados

permaneceram obscuros durante anos porque nenhum retrovírus humano patogênico havia sido identificado. A descoberta do HIV-1 em 1983 conduziu naturalmente em novembro de 1984 os pesquisadores da Universidade de Duke, USA, em colaboração com os laboratórios Burroughs - Wellcome (BW), a testarem o AZT sobre ratos portadores do HIV-1: a atividade antiviral do AZT sobre o retrovírus humano foi então descoberta em fevereiro de 1985. Os testes clínicos foram rapidamente realizados conduzindo a comercialização do AZT pelos laboratórios BW em 1987.

A comunidade científica colaborou em grande parte na síntese original do AZT e foram desenvolvidas novas vias de acessos aos 2',3' - dideoxynucleosídeos intermediários importantes para o desenvolvimento de uma terapia antiviral.

- Sínteses a partir da timidina

A síntese original de HORWITZ et al, 1964, do AZT (SOUZA & ALMEIDA, 2003).¹ foi realizada em seis etapas a partir da timidina **35**, com um rendimento global de 30% (Esquema 12, pág. 44). Sua aproximação necessita da introdução do grupamento azido na posição C-3' na mesma estereoquímica do álcool inicial. Esta transformação é acompanhada por uma dupla inversão na posição C-3' da timidina **35**.



Rendimento global: 30%.

Esquema 12 – Síntese do AZT em seis etapas.

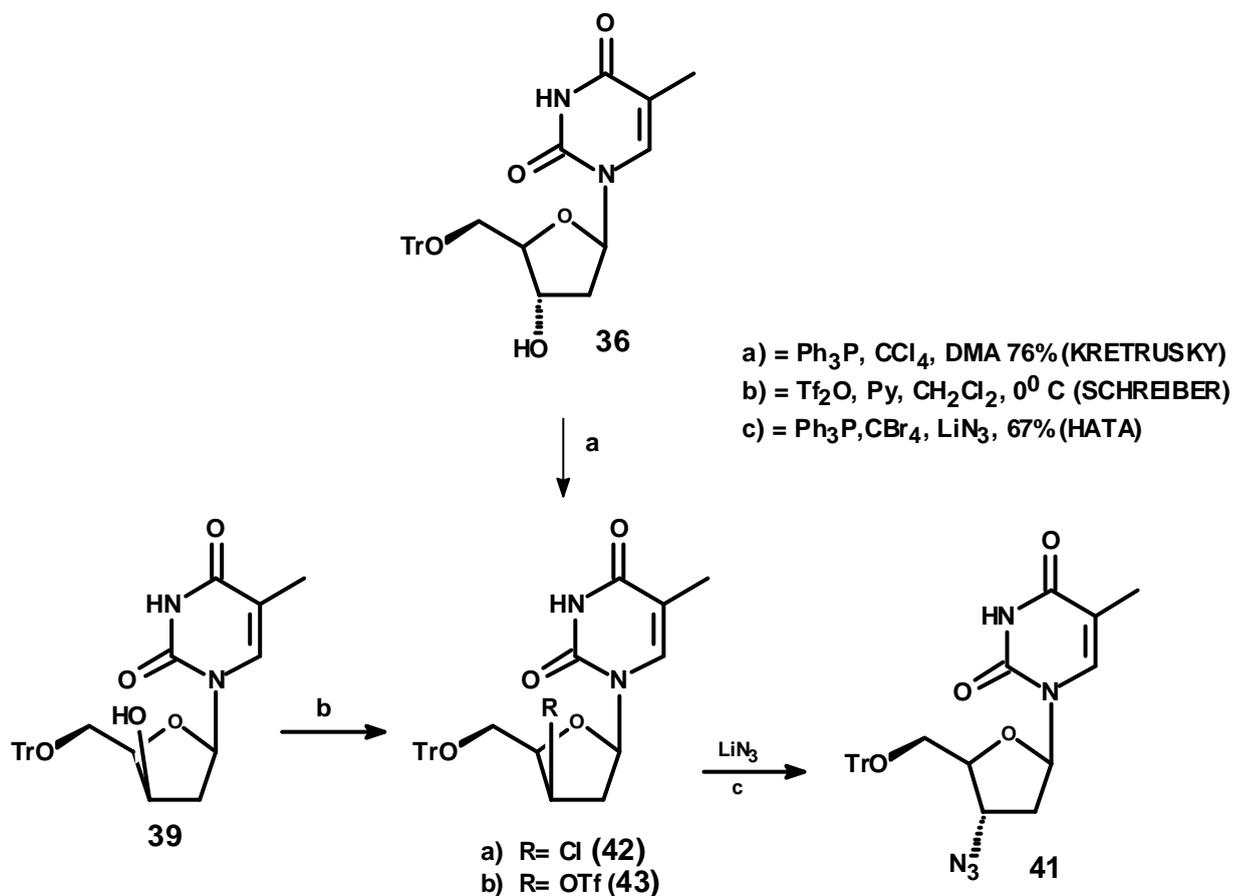
A seqüência reacional de HORWITZ et al, 1964, constitui a primeira via industrial de preparação do AZT, comercializado pelo laboratório BW.

Com o passar dos anos, essa síntese foi substituída por outros cientistas por apresentar melhores rendimentos e obter novos análogos de timidina.

Assim, de acordo com KRENITSKY et al, 1983, transformou-se o grupo hidroxila na posição C-3' de **35** por um cloreto **37** em presença do sistema trifenílfosfina/tetracloro de carbono em dimetilamina com um rendimento 76%.

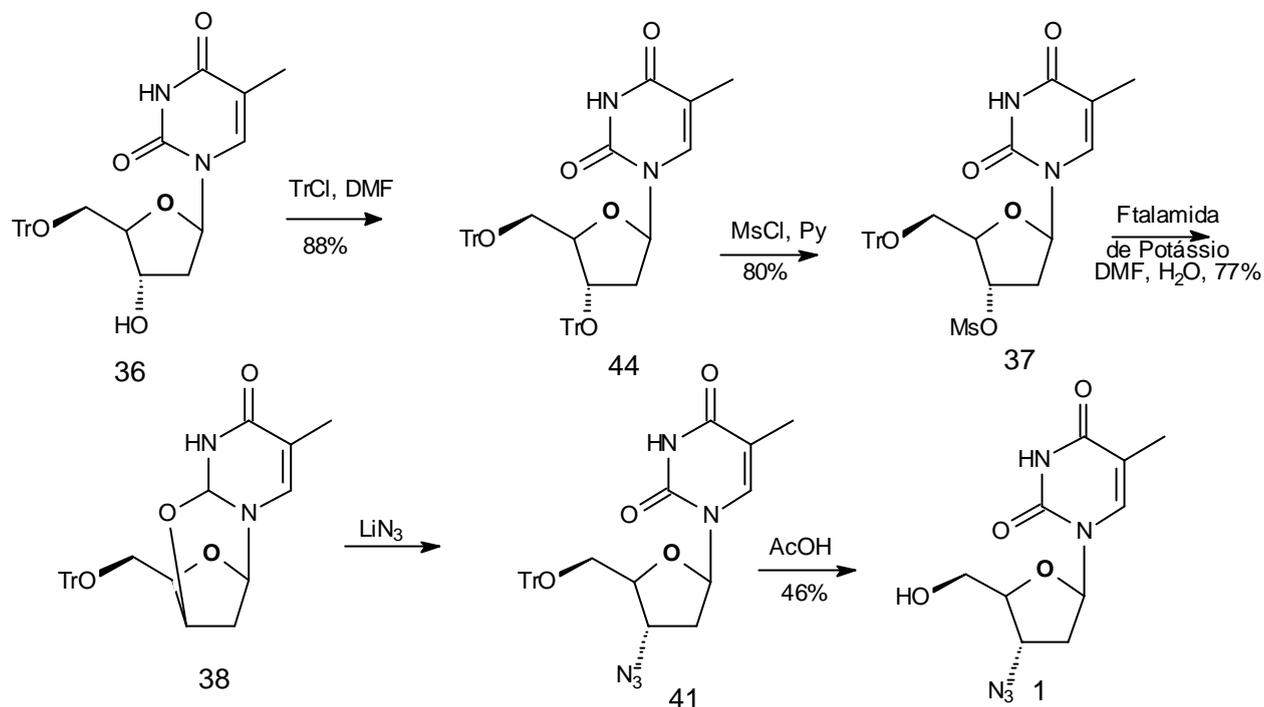
SCHREIBER & IKEMOTO, 1988, sintetizou o trifalato **44** instável a partir do álcool **42**. A grande reatividade do composto **44** permite o acesso a uma grande variedade de análogos da 2',3' - didesoxi timidina por uma substituição de nucleófilos menos reativos que o íon azido.

Enfim, HATA et al, 1980, substitui a hidroxila em C - 3' de **36** pelo íon azido em uma etapa, segundo as condições da reação de ARBUZOV (Esquema 13, pág.46).



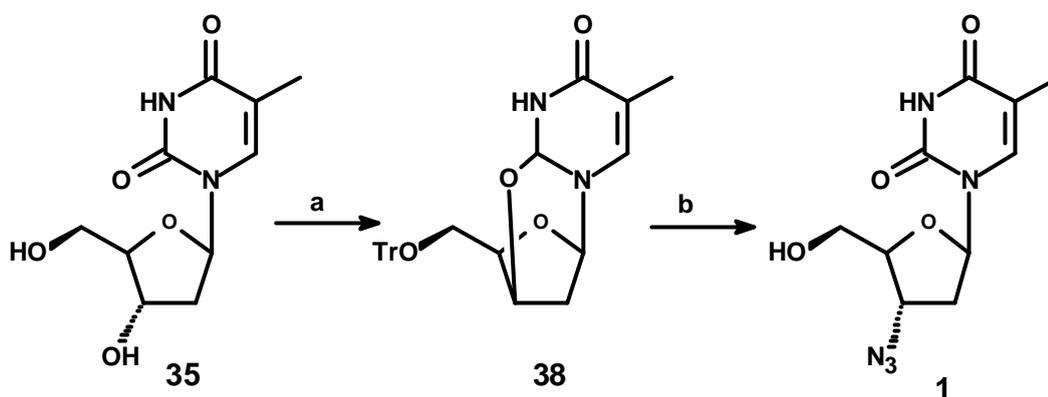
Esquema 13 – Síntese de Hata.

No início dos anos 70, GLINSKI et al, 1973, desenvolveram uma síntese do AZT **1** a partir do intermediário anidronucleosídeo **45**. Neste caso, o anidronucleosídeo **45** é isolado e a função iminoéter, tendo a função de grupo abandonador, ativando assim, a posição C - 3' através de substituições nucleofílicas. Em condições anidras o composto **41** é obtido pelo íon azido para conduzir ao AZT após desproteção em meio ácido do álcool na posição C - 5' (Esquema 14, pág.47).



Esquema 14 – Síntese de Glinski

Numerosas variantes deste esquema de síntese do AZT foram propostas na literatura. Em 1969, um esquema reacional em duas etapas do AZT foi proposto por KOWOLLIK et al, (Esquema 15, pág. 48), onde o AZT **1** é formado diretamente a partir da timidina **35** e do 2-cloro-1,1,2-trifluoroetilenodiamina (NET) a temperatura 70⁰C, sem proteção prévia do álcool na posição C-5'.



I - a = Cl - CHF₂CF₂ - (NET), DMF, 70°C, 75%; b = LiN₃, DMF, 55%, Rendimento global: 41% (KOWOLLIK, et al, 1969)

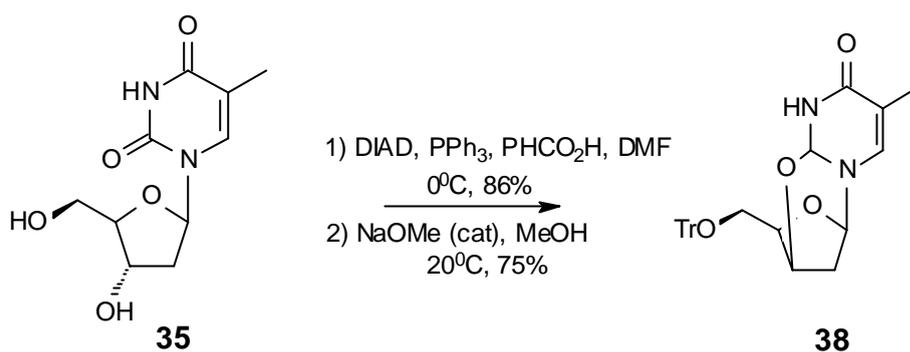
II - a = Cl - CHF₂CF₂ - (NET), DMF, 70°C, 40%; b = LiN₃, DMF, 55%, Rendimento global: 22% (GLINSKI et al, 1973),

III - a = Cl - CHF₂CF₂ - (NET), DMF, 70°C, 53%; b = LiN₃, DMF, 66%, Rendimento global: 41% (IMAZAWA),

IV - a = (PhO)₂SO, DMA, Metilimidazol, 156°C, 65%; b = LiN₃, DMA, 123°C, 3 h, 71%, Rendimento global: 46% (REESE & GRIFFIN, 1963).

ESQUEMA 15 – Síntese de Kowollik.

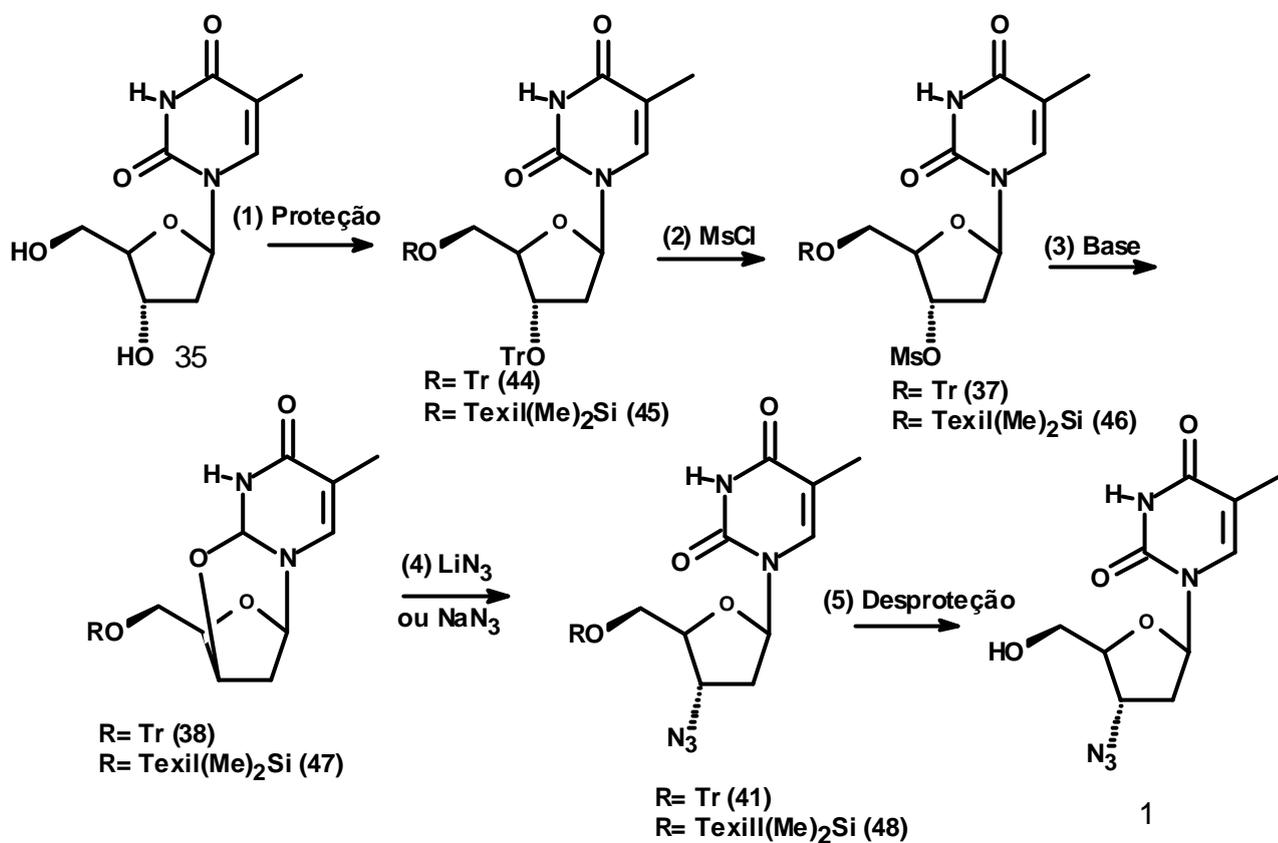
Simultaneamente, KRENITSKY et al, 1983, realizou a ciclização em uma etapa (Esquema 16, pág. 49). Esta ciclização não permite normalmente acessar a uma ciclização 2',3' somente em condições do álcool primário na posição C-5' ser mais reativo e conduzir a ciclização 2,5. Este problema foi contornado realizando de fato a reação de Mitsunobu em duas etapas: anteriormente o álcool na posição C-5' foi esterificado após ciclização 2,3' intramolecular provocada pela junção suplementar da trifenilfosfina e do DIAD. Após a desproteção da função éster, o anidronucleosídeo é obtido com um rendimento global de 65%. As condições apresentam a dupla vantagem de ser suave e permitir isolar somente o produto esperado.



Esquema 16 – Síntese de Czernecki

GRIERSON & MONNERET, 1997, melhoraram a síntese proposta por Glinski et al graças a duas modificações (Esquema 17, pág. 50) o grupo tritila foi substituído por texil dimetil silil possuindo duas vantagens, de ser mais lábil e ter menor solubilidade. A utilização de uma base impedida e pouco nucleofílica como o DBU permitiu efetuar a formação de anidronucleosídeo **49** com rendimento de 90%.

Deste modo, o AZT foi sintetizado em cinco etapas com um rendimento global de 60%.



GLINSKI
 1 = TrCl, DMF, 88%
 2 = MsCl, Py, 80%
 3 = Ftalimideto de potássio, DMF, H₂O,
 77%
 4 = LiN₃, DMF, 71%
 5 = AcOH, 46%

GRIERSON e MONNERET
 1 = Texil(Me)₂, 85%
 2 = MsCl, Py, 95%
 3 = DBU, THF, H₂O, 98%
 4 = NaN₃, DMF, 85%
 5 = Dowex .50 wxz (H¹), 90%

Rendimento global: 60%

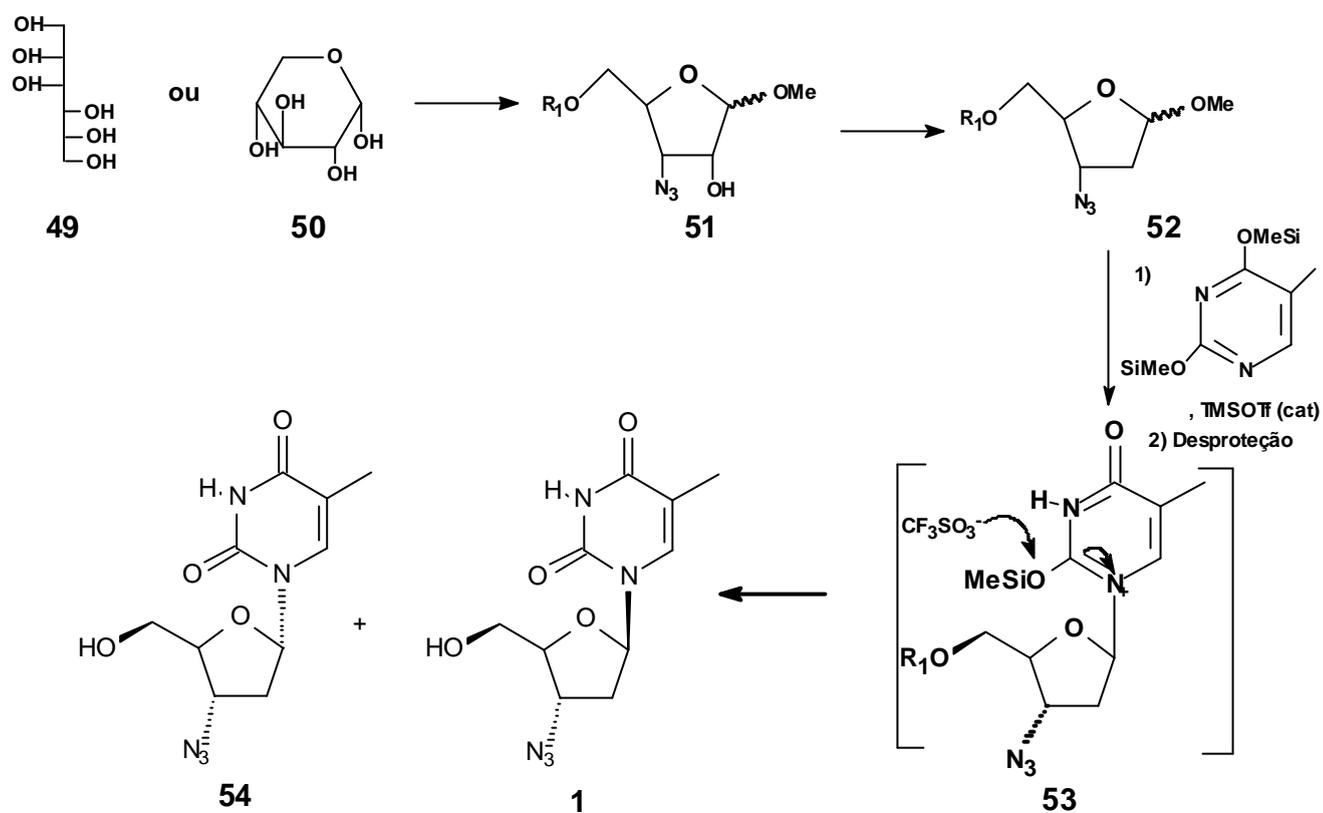
ESQUEMA 17 – Síntese de Grierson & Monneret

- Síntese a partir de carboidratos

Contando com a importância do AZT para quimioterapia, novas vias de síntese desse composto foram pesquisadas a partir de materiais de partida mais facilmente disponíveis e mais baratos que a timidina **35**. Dentro desta ótica, numerosas sínteses do AZT pela condensação da timidina sililada com um derivado 3' - azido - 2',3' - didesoxi - pentafuranose **55** foram publicadas nos últimos anos (acoplamento de Vorbruggen).

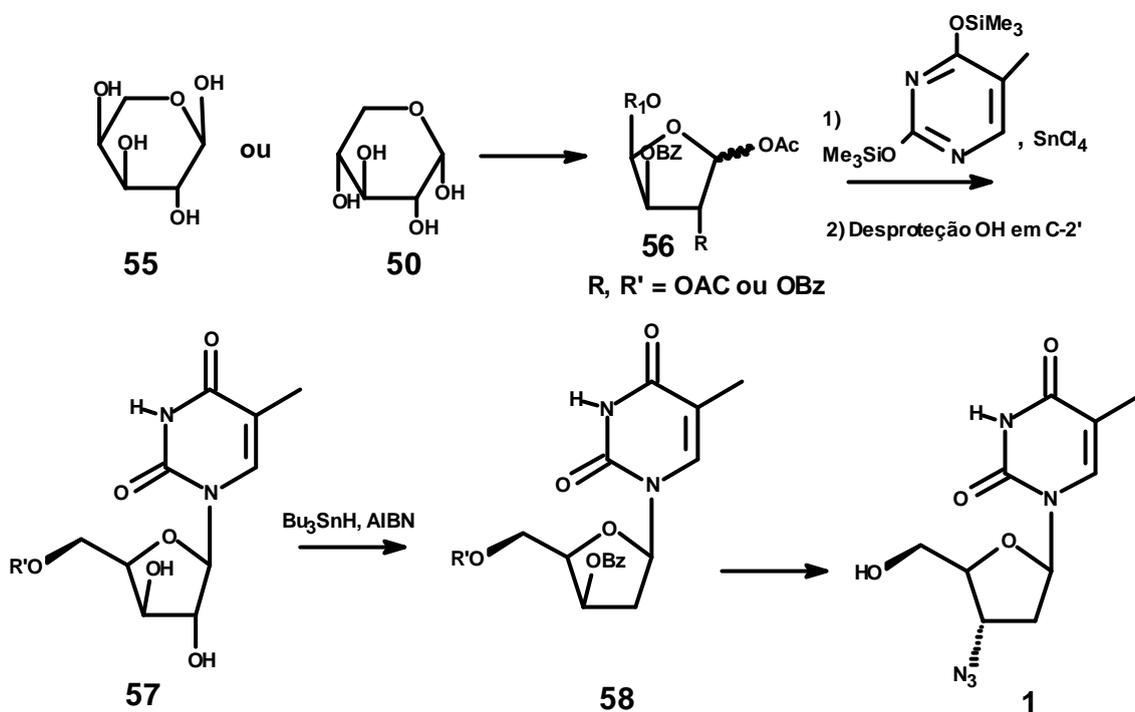
O derivado **57** pode ser preparado a partir de compostos glicídicos disponíveis: FLEET et al, 1988, DYATKINA & AZHAYEV 1984 realizaram a síntese a partir da xilose **52** e CHU et al, 1988, a partir do D-manitol **53** (Esquema 18, pág. 52).

Nota-se que todas estas sínteses utilizam uma desidroxilação radicalar na posição C - 2' do açúcar **53** para formar a 3 - azido - 2 - desoxipentose **54** em presença de Bu_3SnH , AIBN e refluxo de tolueno por 3 horas. Dependendo, esta estratégia é limitada por uma mistura racêmica resultante do acoplamento com a timina sililada **56** e o 2 - desoxi açúcar **53** (Esquema 19, pág. 53).



Esquema 18 – Síntese AZT a partir de 2–desoxipentose.

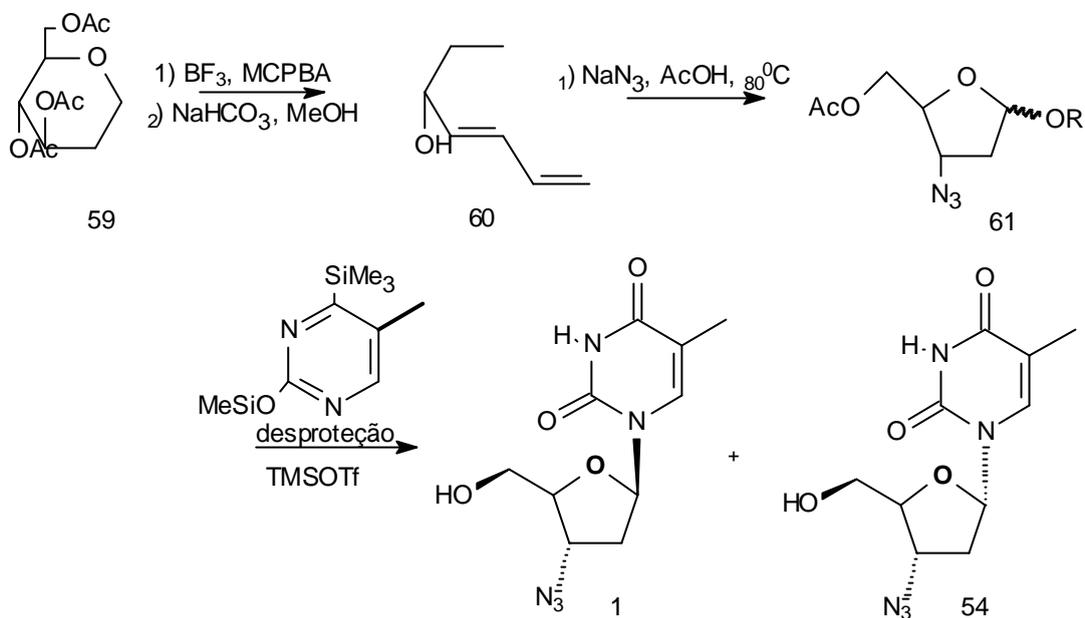
Outras sínteses do AZT foram realizadas, a partir do derivado **52** de configuração xilose.



ESQUEMA 19 - Síntese do AZT a partir do glicol comercial.

Em 1991, PEDERSEN et al, descreveram uma síntese curta do AZT a partir do glicol comercial **62** (Esquema 20, pág. 54). A originalidade desta síntese provem essencialmente da maneira como é formado a 3 - azido - 2 - desoxipiranosose **64**. A hidrólise do glicol **62** pelo ácido metacoloro perbenzóico em presença de BF_3 , permitindo gerar um aldeído α, β insaturado que é desformilado para obter **63**.

A adição de Michael do ácido hidrazóico sobre **63** foi acompanhada posteriormente de acetilação. A acetilação do grupamento hidroxila conduz ao açúcar **64** sob a forma de uma mistura anomérica. Como nas outras sínteses de AZT a partir de 2- desoxi açúcares, este método é limitado pela obtenção de dois enantiômeros (1:1) de AZT durante o acoplamento final.



ESQUEMA 20 - Síntese do AZT a partir da desoxipentose.

Conclusão

A síntese do AZT a partir da 3 – azido – 3’ – desoxifuranose oferece a vantagem de utilizar produtos mais baratos e disponíveis em grande quantidade. O estudo da melhoria desta via suscitou um grande interesse explicando o grande número de permissões para artigos pagos, a título indicativo, a última síntese de AZT foi patenteada por S. Hideyck e O. Kenji e procede pela formação estereosseletiva da ligação glicosídica a partir de desoxipentose **65** em presença de NBS (Esquema 20).

Todas as sínteses do AZT, a partir de açúcares tem em comum dois resultados negativos principais:

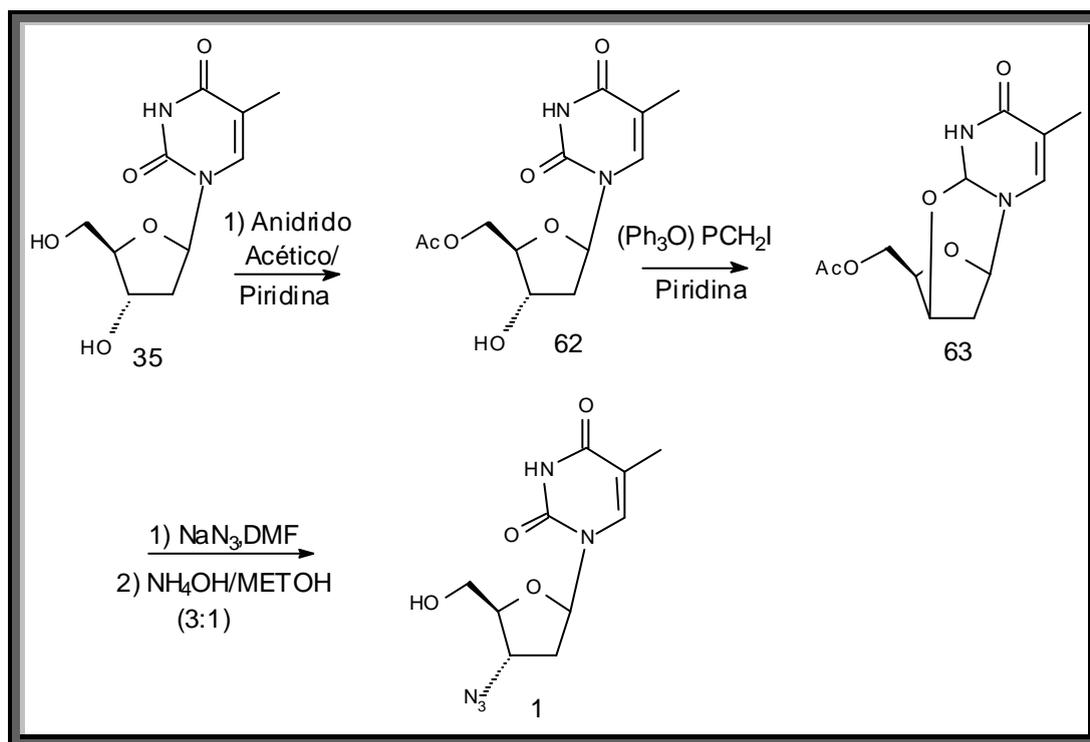
- Um número de etapas importantes (7 etapas);

- Um rendimento global fraco (entre 10 e 20%).

Planejamento e Esquema Sintético da Síntese da Zidovudina **1**.

Por outro lado, a síntese do AZT a partir da timidina **35** oferece a vantagem de ser mais curta (2 a 6 etapas) e de possuir bons rendimentos (60%).

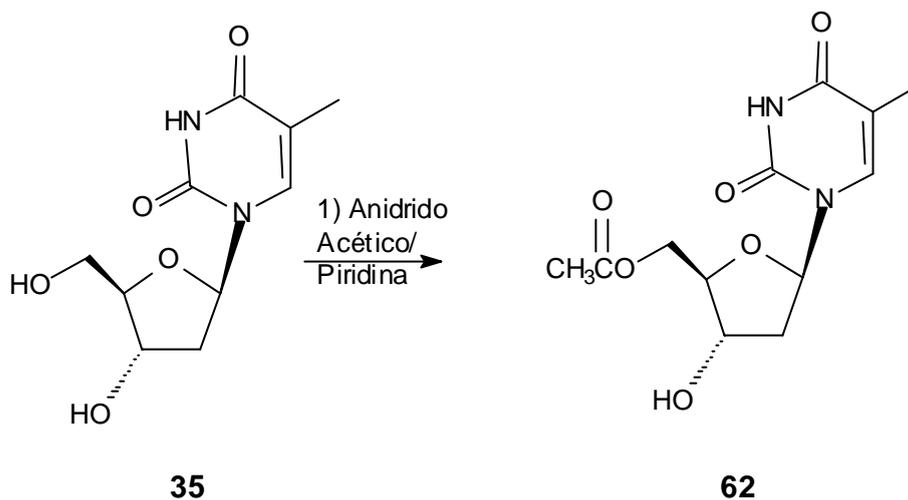
Partindo da timidina através da reação com anidrido acético em piridina, obteve-se a 5 – acetil timidina com vistas à síntese da zidovudina **1**. Esta seria submetida a reação com iodeto de metil trifenoxifosfônio em piridina para obtenção do O² - 3' - cicl nucleosídeo . Este seria submetido à reação com azida de sódio em DMF para obtenção, após desproteção do grupamento acetato em C-5', da zidovudina **1**, em um procedimento experimental inédito (Esquema 21).



Esquema 21 – Nova rota de Síntese do AZT

4.2.1 – Discussão e Resultados da síntese do AZT.

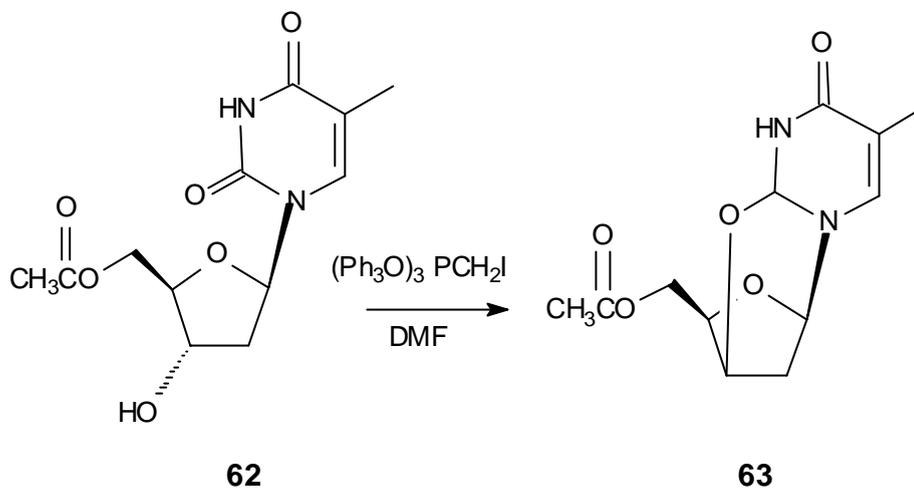
4.2.1.1 - Síntese da 5' - acetil - 5' - desoxi - timidina (62) (Esquema 22).



Esquema 22

A aplicação do conceito de proteção seletiva foi descrita por Gaffney e cols, 1982, com vista à síntese de nucleosídeos análogos da timidina. Optou-se assim por utilizar condições idênticas às descritas. Assim, a timidina foi primeiramente tratada com anidrido acético e piridina para a proteção do grupo hidroxila em C – 5'. A mistura reacional foi agitada por 3 horas em um recipiente contendo banho de gelo e acompanhada por CCDS até o desaparecimento do material de partida. O solvente foi evaporado a pressão reduzida e o produto foi purificado por cromatografia de camada delgada, tendo acetato de etila puro como eluente. Obteve-se 75% de rendimento do produto acetilado. Este foi confirmado pelo seu espectro de RMN ^1H que apresentou sinal a δ 2,17 referente ao grupo metil do acetato. (Fig. 15, pág. 107).

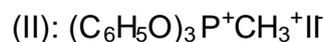
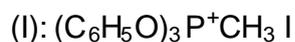
4.2.1.2 - Síntese da 2,3' - ciclo - 3' - desoxi - timidina (**63**) (Esquema 23).



Esquema 23

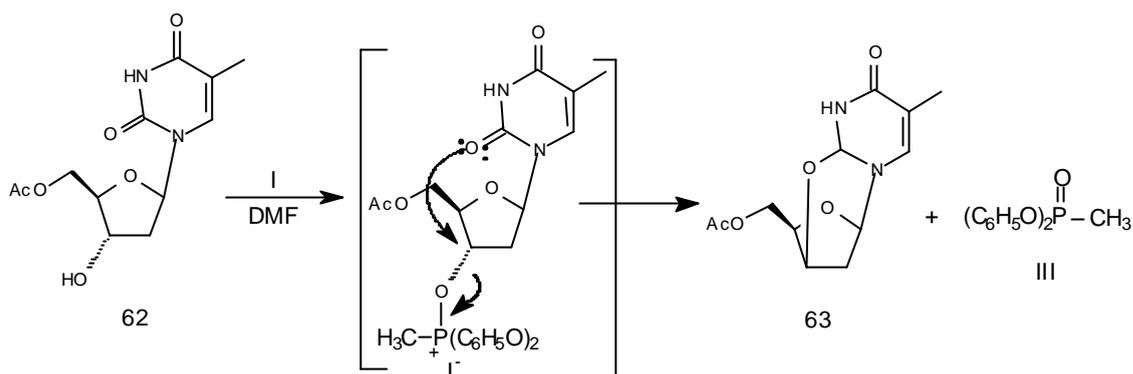
O derivado acetilado foi transformado no seu correspondente ciclonucleosídeo através de reação com o iodeto de metiltrifenoxifosfônio, usado proveitosamente para halogenação de álcoois primários e secundários.

Um eficiente método de halogenação de álcoois primários e secundários, em uma única etapa vem sendo empregado com o uso de haletos de fosfônio. Os reagentes mais utilizados desta classe são: iodeto de metil trifenoxifosfônio (I) (MOFFAT & VERHEYDEM, 1970) e o iodeto de iodotrifenoxifosfônio (II). Estes compostos são cristalinos e podem ser preparados através da reação de trifenilfosfito com iodeto de metila e com iodo, respectivamente



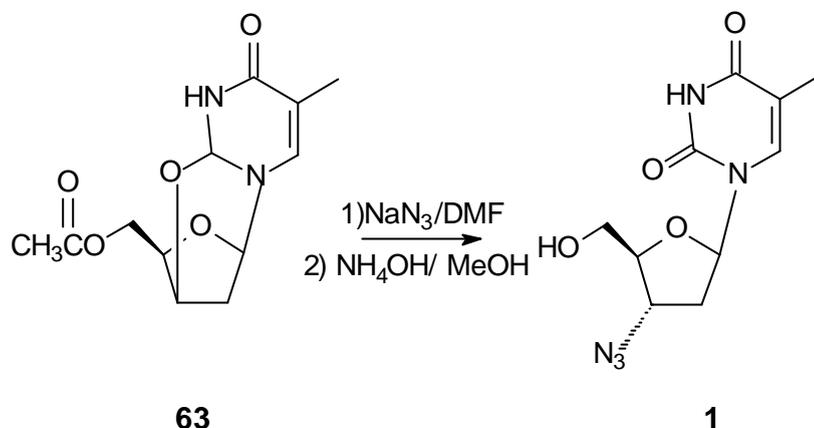
A reação de (I) com álcoois ocorre via ataque nucleofílico do álcool no fósforo com liberação de fenol e formação de desoxi-fosfônio (III). Finalmente ocorre o ataque do íon iodeto, com formação do haleto de alquila e do fosfonato de difenoximetila.

Entretanto, as reações de (I) com compostos derivados de nucleosídeos constituintes das bases purínicas e pirimidínicas, sem proteção dos grupos amins conduzem aos correspondentes O^2 - 3' - cicl nucleosídeos **63**. Os produtos se formam em decorrência de um ataque nucleofílico entre as moléculas da base sobre o açúcar, como no esquema abaixo. Esta ciclização é favorecida, pois leva a formação de um anel de seis membros.



O tratamento do nucleosídeo **62** com (I) em DMF, conduziu, após purificação por processos cromatográficos ao composto **63** com 75% de rendimento. Seu espectro de RMN-¹H apresentando sinal a δ 2,41-2,55 (multiplete) atribuído a H-2', anteriormente um duplo tripleto a δ 2,39, que sugere a formação do O – nucleosídeo nesta posição (**Fig. 16, pág. 108**).

4.2.1.3 - Síntese do 3' - azido - 3' - desoxi - timidina (AZT) (**1**) (Esquema 24).



Esquema 24

O O² - 3' - ciclonucleosídeo **63** foi submetido a reação de substituição nucleofílica na posição C3', com inversão de configuração utilizando azida de sódio em DMF (Esquema 24). A reação foi acompanhada por CCDS, tendo como eluente acetato de etila 100%, e após 4 horas foi evaporada.

O produto foi submetido a desproteção do grupamento protetor em C-5' utilizando hidróxido de amônio e metanol (3:1) à temperatura ambiente por 4 horas. O produto após purificação ofereceu um rendimento de 60%. Sua estrutura foi confirmada por apresentar sinal de RMN¹H a duplo duplete a δ 4,35 referente a H-3' (Fig. 17, pág. 109) e RMN-¹³C (Fig. 18, pág. 110).

4.2.2 - Conclusão da síntese do AZT

A síntese do AZT a partir da timidina oferece a vantagem do número reduzido de etapas e da obtenção do produto com a estereoquímica desejada. O intermediário chave na síntese do AZT, o O - ciclonucleosídeo, tem despertado um interesse crescente entre os químicos em razão principalmente de sua utilidade nos processos de síntese orgânica, onde ele pode servir como

intermediário na síntese de substâncias biologicamente ativas, ou ainda, permitir o acesso a nucleosídeos modificados, quer sobre a base, quer sobre a furanose (ou seja, o carboidrato). Desta forma o AZT foi sintetizado em três etapas com um rendimento geral de 58%.

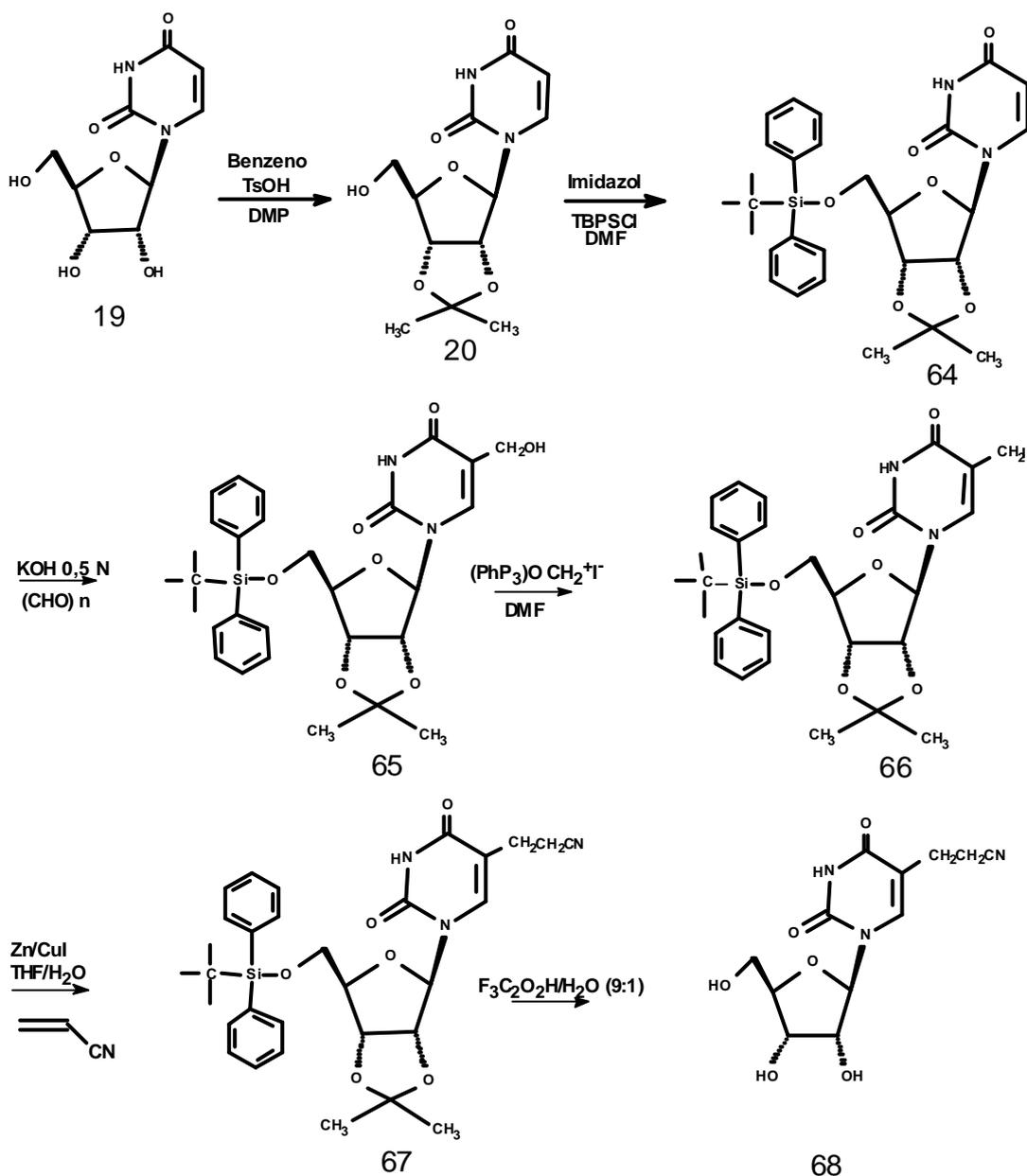
4.3 - Estratégias de síntese dos análogos cíclicos do AZT (68) e (70), modificados respectivamente na porção base Parte (a), e porção carboidrato Parte (b), via reações radicalares.

Na segunda parte desta dissertação decidiu-se preparar os análogos de AZT **68** e **70** com o objetivo de que fosse investigada a viabilidade de obtenção de uma molécula, de características semelhantes ao AZT e que apresentasse igualmente as propriedades antivirais, sendo que, com menor possibilidade de toxicidade. A estratégia baseou-se na reação de adição envolvendo um radical derivado de nucleosídeo sobre uma olefina eletrodeficiente. A escolha de reações radicalares para a síntese de tais moléculas baseou-se no fato de que as reações iônicas não conduzem resultados satisfatórios quando se pretende aumentar a cadeia lateral de nucleosídeos, quer seja na porção açúcar, quer seja sobre a base nitrogenada.

4.3.1 - Planejamento e Esquema Sintético – Parte (a)

A proposta de síntese do análogo de **(68)** será mostrada no Esquema 25 (pá.62). O primeiro passo para se obter o produto **(68)** a partir da uridina envolveu seis etapas. O material de partida **(19)** será protegido nas posições C-2' e C'-3 nos grupos OH primeiramente, levando ao intermediário **(20)**. Este nucleosídeo será protegido na posição C-5', do grupamento OH, para se obter o composto **(64)**. Este produto sofrerá uma reação de hidroximetilação sobre a base pirimídica, para fornecer o composto **(65)**. Este composto poderá ser submetido a uma reação de halogenação na base pirimídica pelo iodo para resultar no intermediário **(66)**. Este será então submetido a uma reação radicalar, com uma nova

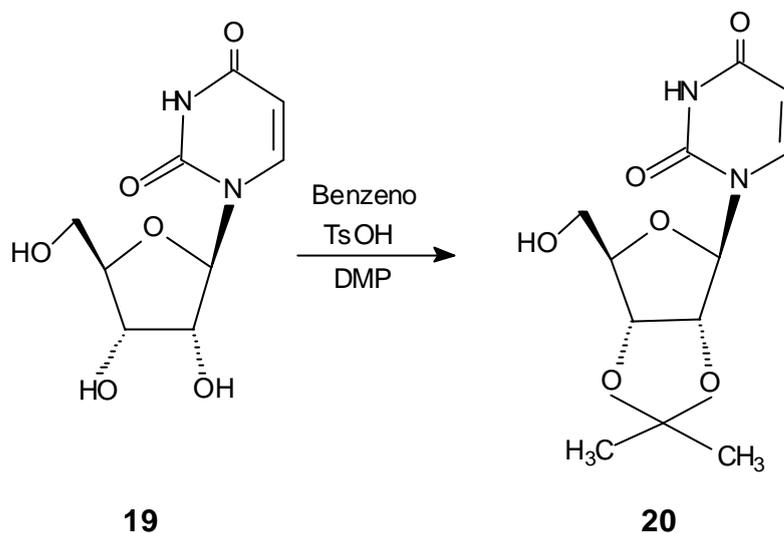
substituição por uma olefina eletrodeficiente para resultar em **(67)**. Este último será por fim desprotegido nas posições C-2', C'-3 e C-5' em meio fortemente ácido para fornecer **(68)**.



Esquema 25 - Esquema de Síntese de Análogos Cíclicos do AZT - Parte (a)

4.3.2 – Discussão e Resultados – Parte (a)

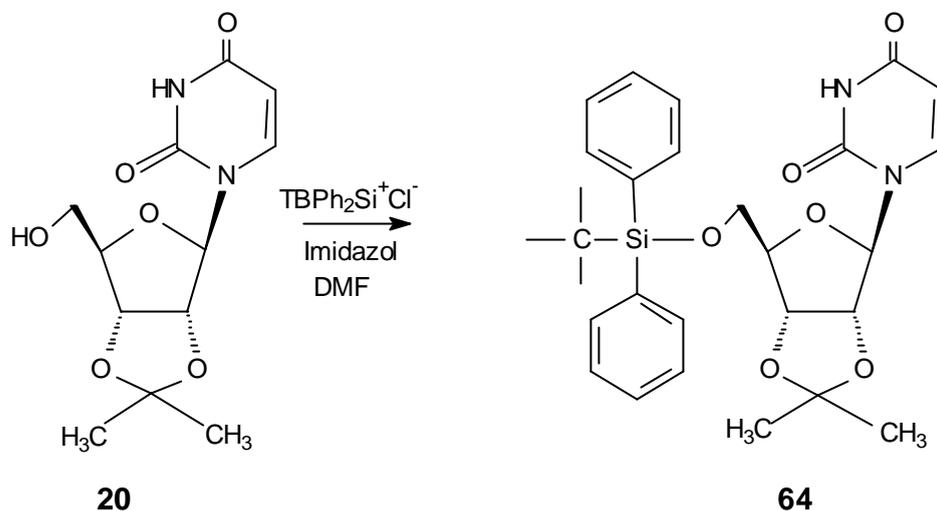
4.3.2.1 - Síntese da 2',3' - O - isopropilideno - 2',3' - didesoxi uridina (**20**) (Esquema 26).



Esquema 26

Iniciamos nosso estudo de síntese dos análogos acíclicos de AZT preparando **20**, através da adição de 2,2- dimetoxi propano (1,1 eq) e ácido para - toluenosulfônico em quantidades catalíticas utilizando o benzeno como solvente à temperatura de refluxo por 4 horas. A reação foi acompanhada por cromatografia em camada delgada de sílica (CCDS) e após purificação o rendimento da reação foi de 75%, o que nos levou a considerar a hipótese de que a pequena solubilidade da uridina no meio reacional dificultou o rendimento quantitativo do nucleosídeo protegido. O produto foi confirmado por seu espectro de RMN-¹H, que apresentou sinais a δ 1,61 e 1,36, referentes a dois singletos dos prótons metílicos dos grupos isopropilideno (**Fig. 09, pág. 101**).

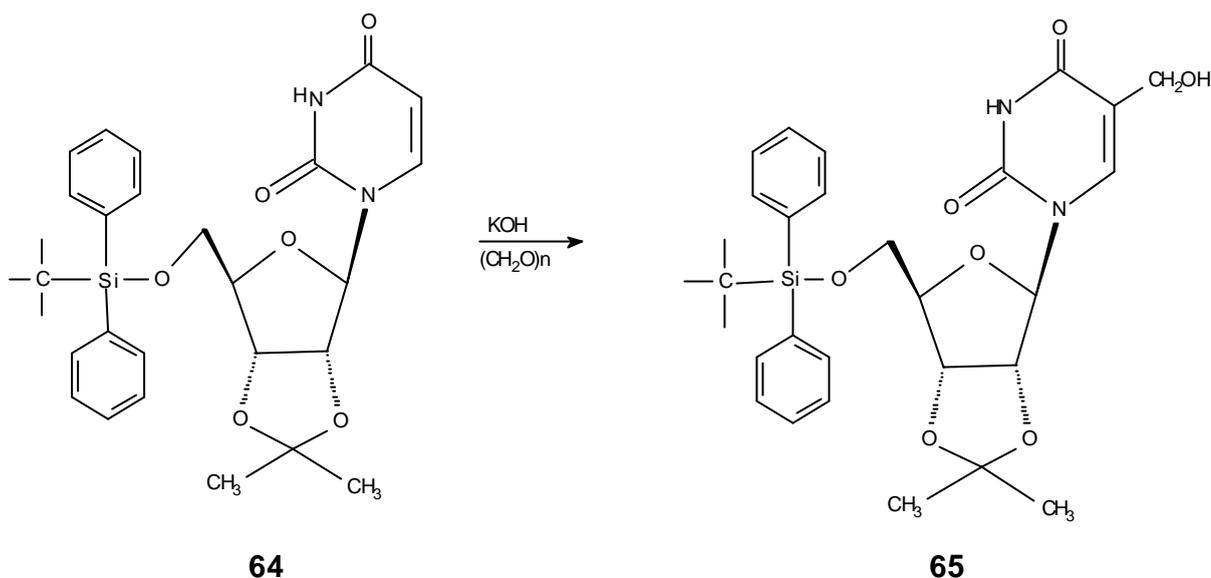
4.3.2.2 - Síntese da 5' - O - tert-butildifenilsilil - 5' - desoxi - 2',3' - O - isopropilideno - 2',3' - didesoxi uridina (**64**) (**Esquema 27**).



Esquema 27

Através da proteção da isopropilideno uridina **20** com o grupo TBPSCI é possível obter-se bons resultados, o que prepara o nucleosídeo para a etapa posterior que é submetido à reação de hidroximetilação em condições básicas. O TBPSCI foi adicionado a isopropilideno uridina em DMF e imidazol à temperatura ambiente e acompanhado por CCDS por 48 horas, conduzindo a um rendimento de 70 % após a purificação. A confirmação do composto obtido foi feita a partir de seu espectro de RMN-¹H onde observa-se o sinal a δ 1,98 referente ao grupos metílicos do tert-butil e a δ 7,32 a 7,21 referentes aos 5 hidrogênios do grupo fenila (**Fig. 19, pág. 112**).

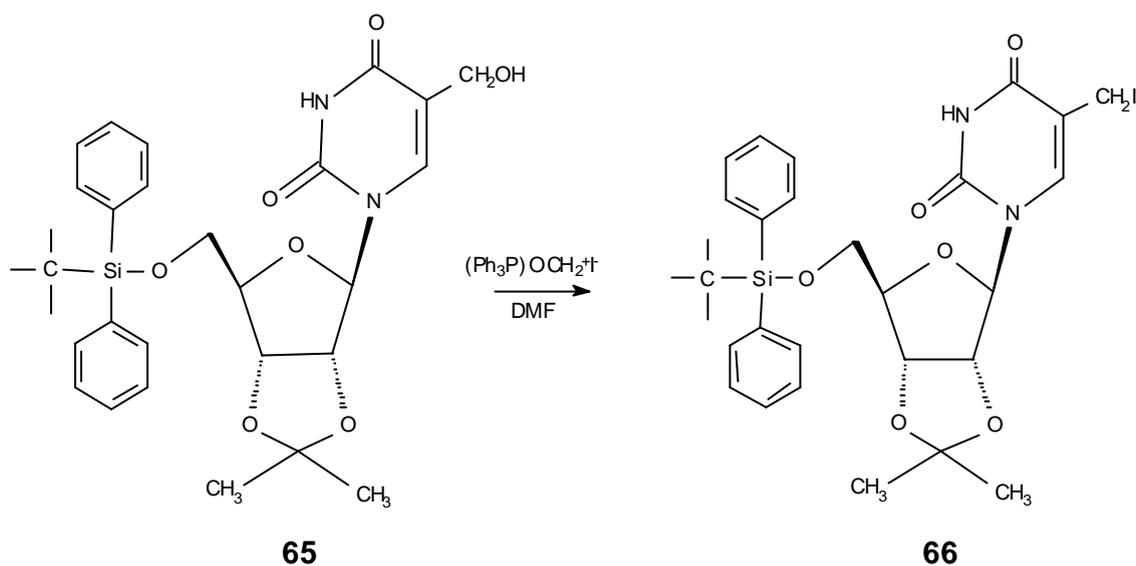
4.3.2.3 - Síntese 5 - hidroximetil - 5' - O - tert-butil difenilsilil - 5' - desoxi - 2',3' - O - isopropilideno - 2',3' - didesoxi - uridina (**65**) (**Esquema 28**).



Esquema 28

A hidroximetilação da base para formação de análogos do AZT seguiu os procedimentos descritos por SCHEIT e cols, 1960, utilizando paraformaldeído (1eq.) e solução de hidróxido de potássio à temperatura de 50^oC, com agitação por 24 horas, conduzindo ao composto **65**, com 52% de rendimento após purificação. A estrutura do produto obtida foi confirmada por seu espectro de RMN-¹H onde se observam sinais de um duplo duplete centrado a δ 3,90 e δ 3,80 referentes ao grupo metilênico na base pirimídica e um sinal a δ 3,35 referente ao grupo OH (**Fig. 20, pág. 113**).

4.3.2.4 - Síntese do 5 - iodometil - 5' - O - tert-butildifenilsilil - 5' - desoxi - 2',3' - O - isopropilideno - 2',3' - didesoxi- uridina (**66**) (**Esquema 29**).

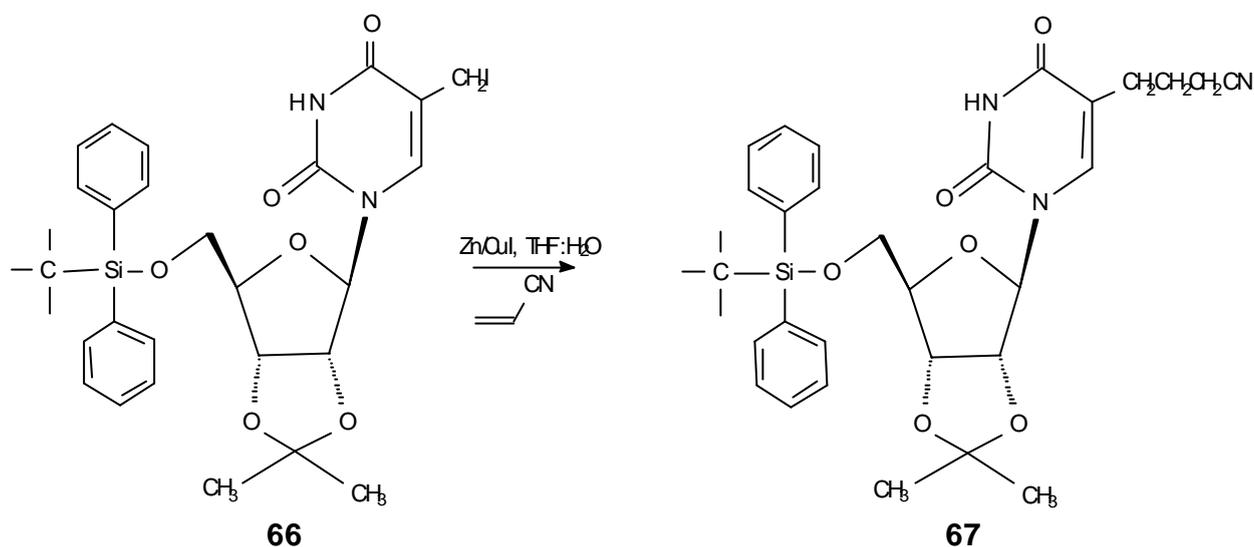


Esquema 29

Conforme foi descrito anteriormente, a utilização do iodeto de metil trifenilfosfônio (MOFFATT & VERHEYDEM, 1970) é um método muito eficiente para halogenação de álcoois primários e secundários. A iodação do composto **65** foi efetuada na presença de iodo de metil trifenilfosfônio em DMF, por um período de 4 horas a temperatura ambiente, com um rendimento de 65%.

O produto obtido foi confirmado por seu espectro de RMN - ^1H onde se observa-se um duplo duplete a δ 3,50 referente ao grupo metilênico vizinho ao iodo (**Fig. 21, pág. 114**).

4.3.2.5 - Síntese do 5 – ciano propil – O – tert-butil difenil silil – 5' – desoxi – 2',3' – O – isopropilideno – 2',3' – didesoxi uridina (**67**) (**Esquema 30**).



Esquema 30

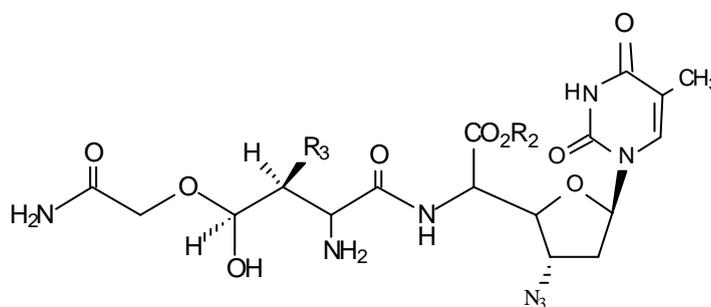
A reação radicalar de acoplamento carbono-carbono, descrita por LUCHE et al, 1988, consiste na alquilação de uma variedade de olefinas eletrodeficientes em presença do par bimetálico Zn/CuI, proporcionando a síntese de vários compostos de interesse, difíceis de obtenção por mecanismo puramente iônico. Deste modo, a acrilonitrila tem sido utilizada como armadilha para o radical que se forma na reação de alquilação de **66**.

O iodo derivado **66** em solução de THF foi adicionado a uma mistura composta pelo par bimetálico Zn/CuI em THF/H₂O e acrilonitrila. A reação foi agitada em um “vibromixer” (agitador mecânico) por 6 horas e acompanhada por CCDS. O produto foi purificado por filtração em celite, seguido de análise em cromatografia, obtendo-se **67** com 50% de rendimento. A análise de seu espectro de RMN-H confirma a estrutura do produto **67** sob presença de um multiplete entre δ 2,48 e δ 2,36 (m) referentes aos grupamentos metilênicos vizinhos a nitrila, respectivamente (**Fig. 22, pág. 115**).

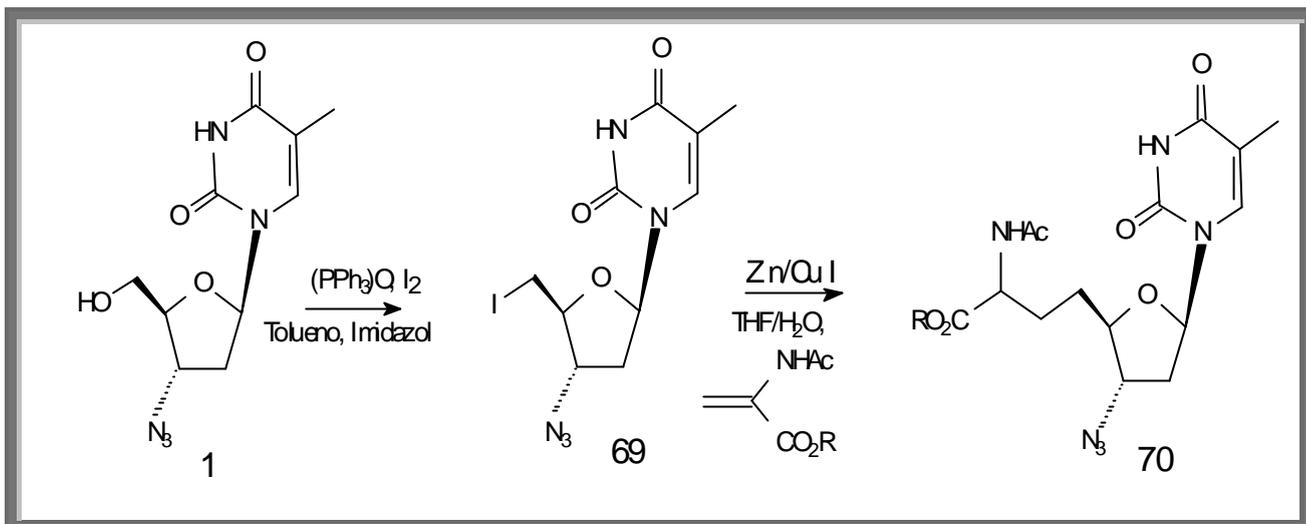
4.3.3 - Planejamento e Esquema Sintético – Parte (b)

Partindo-se da zidovudina **1** através de uma reação com o iodeto de metil-trifenoxifosfônio em piridina poderia ser obtido o 5' - iodo - 5' - desoxi - 3' - azido - 3' - desoxi - timidina **69**, que seria submetido a reação radicalar do tipo SH-2', ou seja, de substituição homolítica bimolecular, através do acoplamento Zn/CuI, em presença do acetamido acrilato de metila (olefina eletrodeficiente), segundo procedimento descrito por LUCHE et al, 1988, que conduziria, ao análogo de zidovudina **1** com a cadeia lateral alongada **70**.

Compostos com estrutura química semelhantes já foram mencionadas na literatura científica e são classificados como *polioxinas*. As *polioxinas* foram isoladas a partir de meios de cultura de *Streptomyces cavari*, apresentando uma atividade marcante e seletiva contra fungos fitopatogênicos. Elas agem inibindo a quitina sintetase, provavelmente imitando o substrato natural, uridina difosfato N-acetil glicosamida.



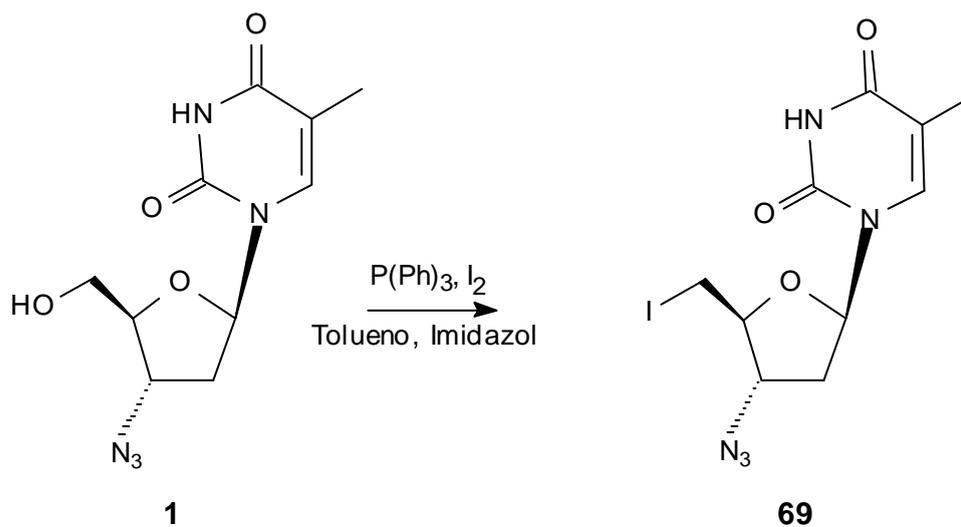
POLIOXIMAS



Esquema 31 - Estratégia de Síntese dos Análogos Cíclicos do AZT - Parte (b)

4.3.4 - Discussão e Resultados – Parte (b)

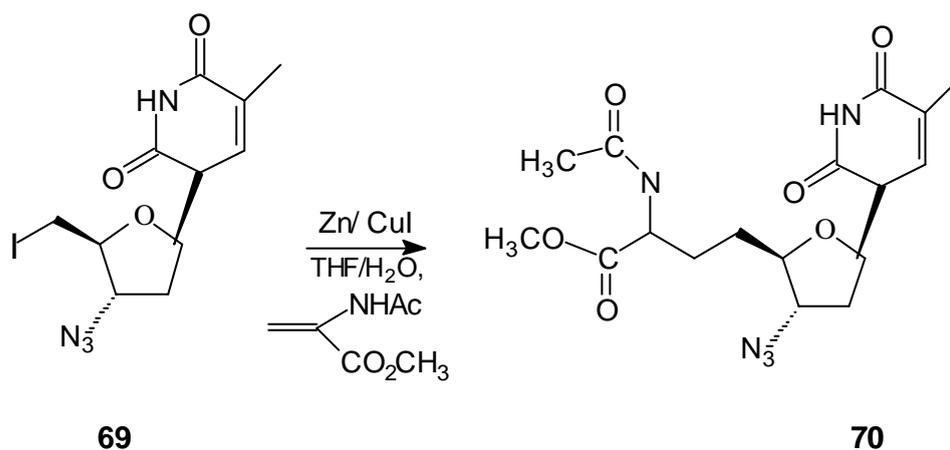
4.3.4.1- Síntese da 5' - iodo - 5' - desoxi - 3' - azido - 3' - desoxi - timidina (**69**) (Esquema 32).



Esquema 32

Um eficiente método de halogenação de álcoois primários descritos por GAREGG & SAMUELSSON, 1980, através da utilização de tri-iodo imidazol e trifenilfosfina sob refluxo de tolueno, onde o iodeto desejado **69** foi obtido a partir da zidovudina **1** (espectro 17, pág.X) com um rendimento de 70%. A formação deste composto foi confirmada através de seu espectro RMN – ^1H que mostrou o desaparecimento do sinal do próton hidroxílico a δ 3,30 e o aparecimento de um sinal sob forma de multiplete a δ 2,51 a 2,40 referente aos prótons metilênicos H-5' α e H-5' β (**Fig. 23, pág. 116**).

4.3.4.2 - Síntese do 7' - (R,S) - (N - acetamido) - metoxicarbonil - 3' azido - 3', 5' - didesoxi - timidina (**70**) (**Esquema 33**).



Esquema 33

A reação de acoplamento C-C, descrita por LUCHE et al, 1988, consiste na alquilação de uma variedade de olefinas eletrodeficientes. Essas reações ocorrem quando uma suspensão de Zn/CuI, em solução etanol-água é ultrassonorizada a 38 KHz. As condições descritas pelos autores sugerem que essas reações parecem seguir um mecanismo puramente iônico, via uma espécie organometálica intermediária. Entretanto, vários argumentos em favor de uma trajetória radicalar

tem sido descritos por ERDMANN et al, 1992. A etapa inicial consiste na transferência de um elétron, pela redução do par de elétrons da ligação C – X, produzindo um radical na etapa subsequente a fixação de um elétron na superfície do metal por uma olefina apropriada para dar após redução do intermediário, o produto da reação.

FOURREY et al, 1992, observaram que a catálise por ondas ultrassônicas poderia ser substituída por agitação mecânica, com resultados satisfatoriamente reprodutíveis. O estudo das reações radiculares, promovidas com uso da acrilonitrila e o acetamido acrilato de metila e nucleosídeos, proporcionou a síntese de análogos do AZT com alongamento da cadeia lateral.

Dois métodos, em geral, são utilizados para a adição dos reagentes nas condensações radiculares, utilizando –se o par Zn/CuI.

MÉTODO A

Ao par bimetálico Zn/CuI, sob agitação vigorosa com um vibromixer (agitador mecânico de tubos de ensaio) e sob atmosfera de argônio, adiciona-se THF/H₂O (8:2). A esta mistura junta-se uma solução do derivado iodado (1 eq.) e uma olefina (5 eq.), em THF por um período de sessenta minutos. A reação é acompanhada por CCDS e, ao final de seis horas, a mistura é filtrada em celite, e extraída fase orgânica com acetato de etila, adicionando posteriormente sulfato de sódio anidro para secagem da fase orgânica e evaporou-se a securo. Purificou-se por cromatografia em coluna de camada delgada em acetato e hexano (2:8).

MÉTODO B

Ao par bimetálico Zn/CuI, sob agitação vigorosa com um vibromixer e sob atmosfera de argônio, adiciona-se THF/H₂O (8:2). A esta mistura junta-se uma solução de olefina (3eq.), em THF e a mistura reagente é deixada reagir sob agitação por cinco minutos. Logo após, é adicionado o derivado iodado (1eq.) pelo

período de sessenta minutos. A reação é acompanhada por CCDS e, ao final de seis horas, elaborada pelos métodos habituais discutidos no item A.

O radical formado a partir do derivado iodado da zidovudina **1**, na reação radicalar do tipo SH-2', utilizando o par bimetálico Zn/CuI, foi preparado utilizando-se dois métodos diferentes (Esquema 33, pág. 69).

O método A levou a baixos rendimentos do produto de adição (rendimento de 10%), pois grande parte do iodeto conduziu a formação da ciclotimidina com 70% de rendimento. Isto se deve ao fato de que a reação intramolecular é favorável frente ao produto de adição devido ao excesso de radical iodo formado de uma única vez. O surgimento de produtos derivados de uma polimerização é observado ao final da reação, através do aparecimento de colóide insolúvel.

No método B, empregando-se as mesmas condições descritas na pág. 70, relatadas para reações radicalares, agregando-se, porém, pequena alteração no procedimento, com o emprego de 5 equivalentes da olefina e BHT para evitar a polimerização.

O derivado iodado **69** foi submetido à reação em presença do par bimetálico Zn/CuI, e acetamido acrilato de metila, formando-se o produto de adição **70 (R,S)** e de ciclização com rendimento de 46% e 22%, respectivamente.

O produto **70 (R,S)** teve sua estrutura confirmada através de seu espectro de RMN-H que apresentou, dentre outros, sinais na região a δ 3,30 referente ao prótons singlete, indicativo da presença de prótons metílicos do grupamento éster e o sinal a δ 1,87 referente ao grupo protetor do hidrogênio do aminoácido (**Fig. 24, pág. 117**).

4.3.5 - Conclusão

Os trabalhos descritos na tentativa de síntese dos análogos cíclicos do AZT foram divididos em duas partes.

Na primeira parte, os trabalhos descritos possibilitaram a obtenção de uma nova via de síntese do AZT **1** com rendimento satisfatório.

A utilização da timidina **35** como material de partida e proteção em C-5' do grupamento hidroxila e posterior formação do C-3' - O² - ciclonucleosídeo utilizando o iodeto de metil trifenilfosfônio, conhecido como reagente de Rydon, procedimento descrito por MOFFATT & VERHEYDEM, 1970, possibilitou após reação de substituição nucleofílica com azida de sódio, a obtenção do AZT protegido com reduzido número de etapas.

Na segunda parte do segundo capítulo desta dissertação, de síntese de análogos cíclicos do AZT, tratou-se do estudo de reações radicalares sobre nucleosídeos com objetivo de alongar a cadeia lateral de nucleosídeos na porção carboidrato e base pirimídica. A utilização de reações radicalares em nucleosídeos e moléculas altamente polifuncionalizadas com pequeno número de átomos de carbonos, mostrou-se proveitosa frente às condições iônicas que geralmente conduz a formação de produtos indesejáveis, permitindo a homologação em derivados nucleosídicos por via radicalar. Obtivemos algumas substâncias inéditas dentre elas: **(68)** e **(70)**.

4.4 - Planejamento e Esquema de Síntese das Prodrogas

A última parte desta tese consistiu na obtenção de prodrogas do AZT. O raciocínio por trás do conceito prodroga foi desenvolver um agente que, uma vez no sistema biológico, deve ser biotransformado na forma ativa próxima à droga,

por reação de hidrólise da prodroga na porção éster, revertendo à droga ativa. A reação principal para obtenção das prodrogas do tipo ésteres carbonil, consiste na reação de um ácido carboxílico (saturado/insaturado) para promover a esterificação na posição C-5' do nucleosídeo AZT em presença de DCC (1eq.) e DMAP (1eq.) tendo DMF como solvente reacional.

Muitas drogas têm sido quimicamente modificadas para melhorar alguma propriedade indesejável. O tratamento com AZT resultou em melhoria nas funções imunológicas e outras anormalidades em pacientes portadores da AIDS. Portanto, os dois maiores problemas associados com o tratamento do AZT são (AGRAWL & BANDARA, 1995):

- a) Meia – vida relativamente curta no plasma sanguíneo de aproximadamente uma hora, necessitando de administração freqüente da droga para manter o nível terapêutico.
- b) Uma pequena concentração de AZT parece penetrar no cérebro, penetrando no fluido cerebrospinal (CSF).

Para eliminar estes problemas de rápida eliminação e diminuir a permeabilidade do AZT através da barreira sanguínea do cérebro, tem-se desenvolvido as prodrogas, aproximadas estruturalmente, do AZT.

As primeiras Prodrogas do AZT sintetizadas foram modificadas pela esterificação da hidroxila na posição 5', devido à lipofobicidade dos ésteres e do bloqueio que fazem na estrutura do AZT, impedindo uma rápida eliminação deste no plasma.

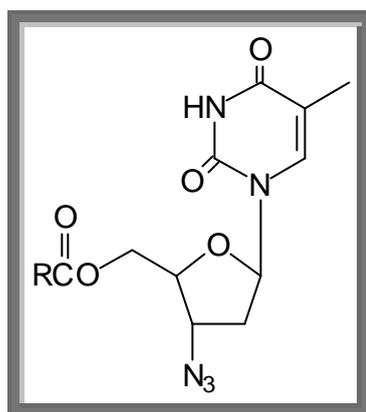


Figura 6 – Ésteres 5' – O – carbonil

As prodrogas que contêm ácido carboxílico ou álcool podem ser preparados geralmente pela conversão do éster. Este é o tipo mais estudado de prodroga, devido a facilidade com que o éster pode ser hidrolisado para dar a droga ativa. A hidrólise é normalmente acompanhada por enzimas esterase presentes no plasma ou outros tecidos capazes de hidrolisar uma grande variedade de ligações éster. Existem vários tipos de enzimas esterase que as prodrogas podem utilizar, como por exemplo, a éster hidrolase, a lipase, a colesterol esterase, a acetilcolinesterase, a carboxipeptidase, a colinesterase.

Em adição a esses agentes, a microflora intestinal produz uma variedade de enzimas capazes de hidrolisar ésteres. Esta hidrólise pode ser também química. A porção alcoólica ou carboxílica pode ser escolhida para conseguir uma larga escala de propriedades lipofílicas ou hidrofílicas para a droga dependendo de onde é desejada. A manipulação das propriedades estéricas e eletrônicas dessas porções seguem à razão e extensão da hidrólise a ser controlada. Esta pode ser uma importante consideração quando é crucial que a droga ativa seja revelada no ponto correto neste movimento através do sistema biológico.

Quando é desejado diminuir a solubilidade do meio, um álcool não polar ou ácido carboxílico é escolhido como porção da prodroga. Por diminuição da hidrofílicidade do composto, um número de benefícios pode ser obtido, inclusive o

aumento da absorção, do aumento da dissolução no meio aquoso do estômago, e prolongação da duração da ação.

A porção lipofílica da prodroga a ser utilizada nesta pesquisa é denominada bixina, principal constituinte químico ativo descrito no urucum.

A bixina, até o momento parece existir exclusivamente em *Bixa orellana*, porém a isobixina, forma isomérica da bixina, já foi isolada provavelmente como artefato de *Aristolochia cymbifera* Mart. (Aristolochiaceae) embora em teor muito baixo.

Possui atividade biológica sendo utilizada como substituinte de corantes sintéticos (anilinas), que possui restrição em alimentos, por causa do risco de provável atividade cancerígena devido à sua toxicidade, os corantes vegetais vêm sendo preferidos. Destes, o urucum, por ser o menos odorizante e seu pigmento menos alterável pelo calor, assume um lugar de destaque na indústria de alimentos. Este uso é aprovado legalmente nos Estados Unidos e em outros países. A aceitação oficializada do urucume, portanto, logo assim, do urucum, teve apoio no extenso uso em culinária em vários países latino-americanos e especialmente por não haver na literatura qualquer indicação de toxicidade da bixina e seus derivados.

O teor da bixina é citado na literatura como sendo de 1,375%, podendo chegar até 5,15% dependendo da seleção da planta. O de matéria corante, representado principalmente por bixina varia mais comumente entre 1,2 e 2,3 %, sendo também citado em valores mais elevados (4 ,5%) (Souza et al, 2004).

As características químicas e físicas da Bixina estão descritas na Tabela 03 e sua fórmula estrutural estão representadas na Figura 07 (pág. 76).

Tabela 03 – Fórmulas estruturais da bixina, Fórmulas Moleculares (FM), Pesos Moleculares (PM) e Pontos de Fusões (PF).

BIXINA	FM	PM	PF
BIXINA (Z-4-Bixina)(71)	$C_{25}H_{30}O_{34}$	394	189,5-190,5 ⁰ C

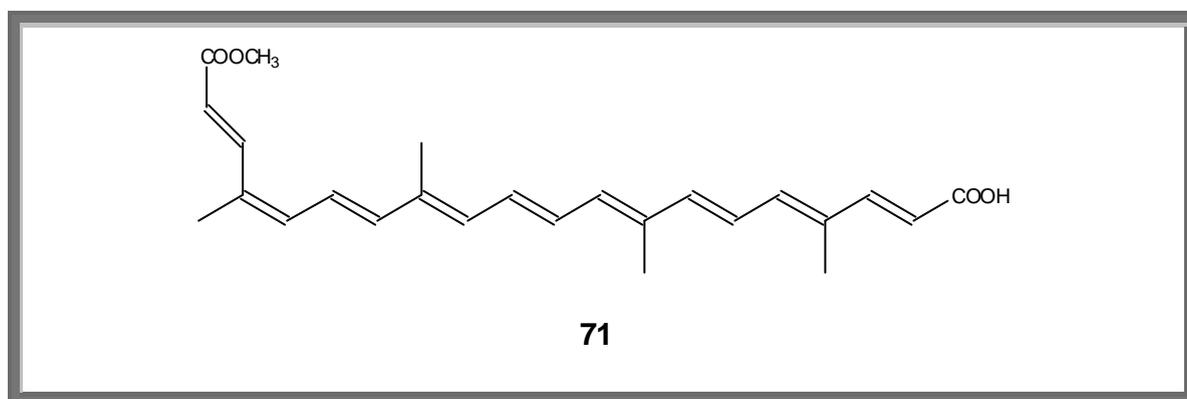


FIGURA 7 - Fórmula estrutural da Bixina

Uma das substâncias que trabalhamos também é o ácido oleico, que é um ácido graxo monoinsaturado, principal constituinte do azeite de oliva, utilizado na gastronomia, também presente em diversos óleos comerciais, chegando a 80% da composição do azeite. Este ácido, também denominado ácido cis-9-ottadecenoico, em estado puro para análise possui uma densidade de 0,891 g/cm³ a 25°C (www.ufpa.br/ccen/fisica/gfma/materiais.html : 25/10/2004). É um C₁₈ e possui a seguinte estrutura:

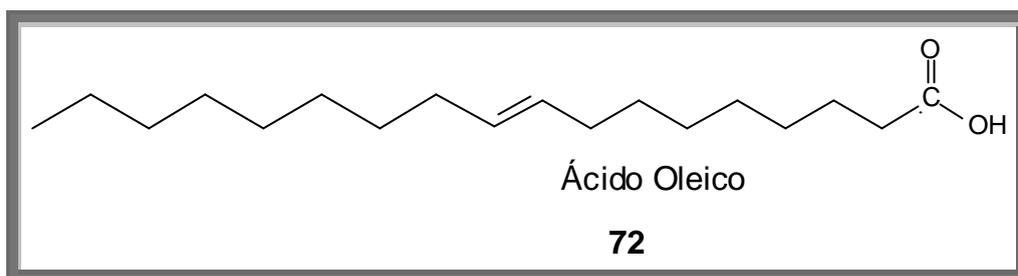
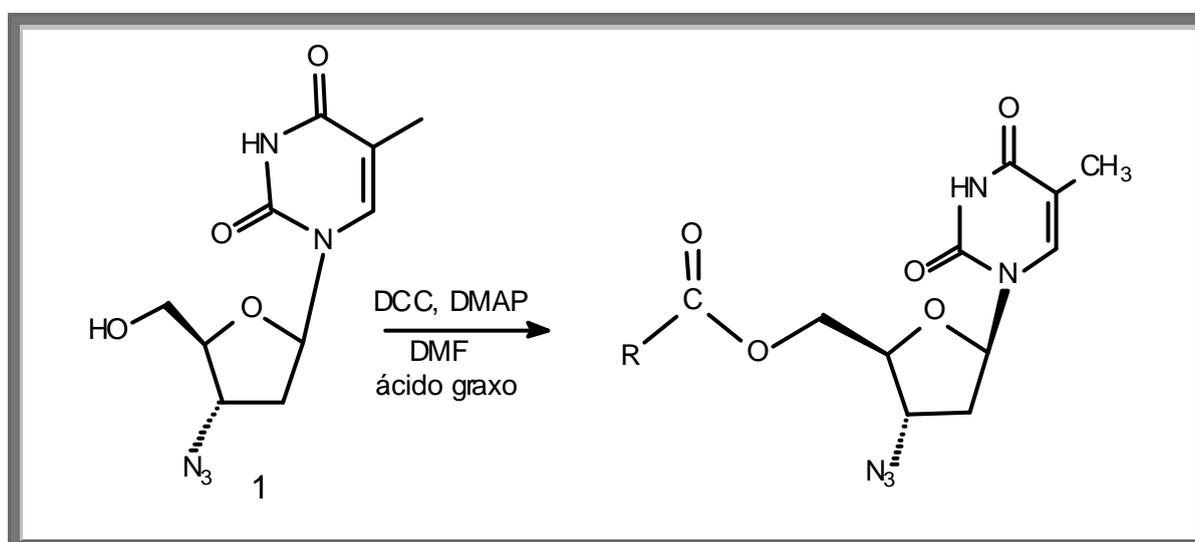


FIGURA 8- Fórmula estrutural do Ácido Oleico

A síntese de prodrogas a partir do AZT envolverá um mecanismo simples de uma única etapa.

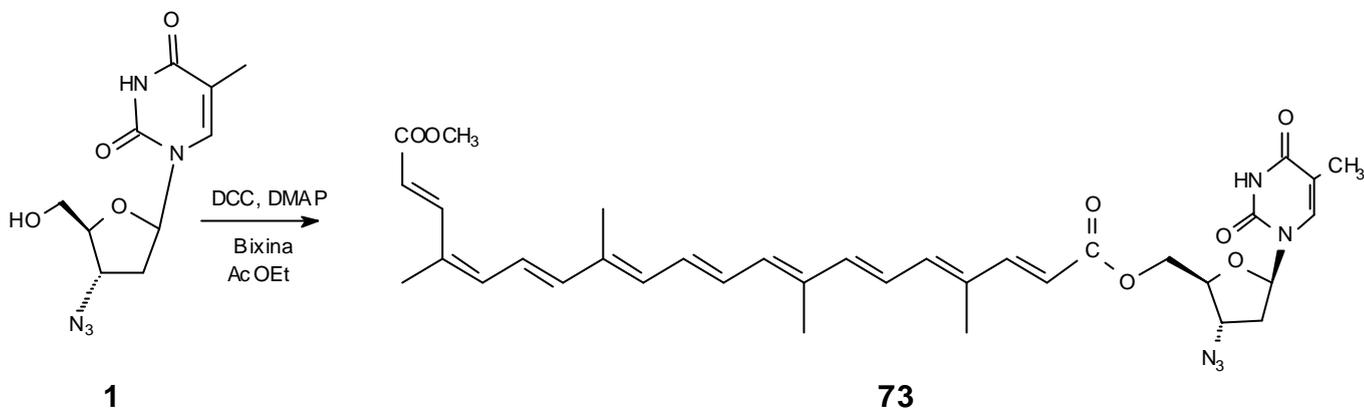


Esquema 34 - Esquema de Síntese de prodrogas a partir de Ésteres 5' - O - carbonil

4.4.1 – Resultados e Discussão.

Partindo-se do composto **(1)**, sob reações anidras, este sofrerá adição de uma cadeia lateral pela bixina na posição C-5', para fornecer o produto final.

4.4.2.1 - Síntese da Prodroga AZT com a Bixina(73) (Esquema 35).



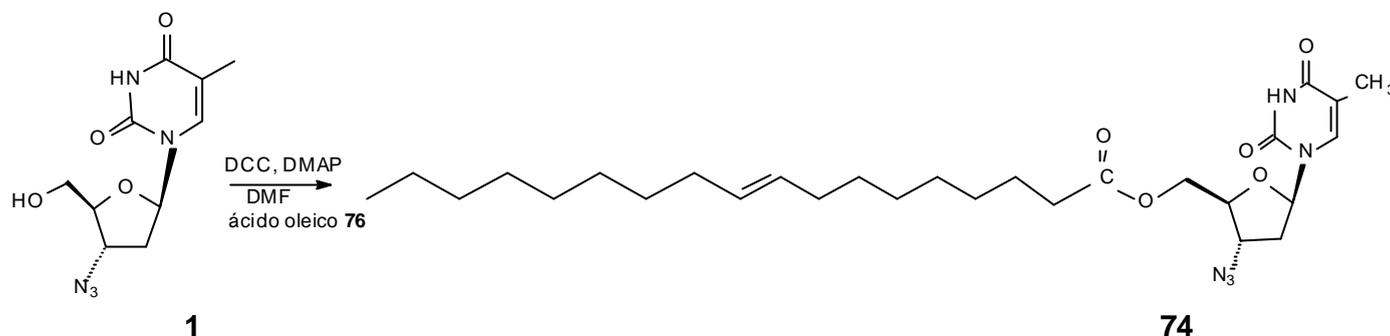
Esquema 35

A zidovudina, em presença da bixina, DCC e DMAP, tendo DMF como solvente, foi agitada por 6 horas à temperatura ambiente.

A reação conforme procedimento descrito por AGRAWL et al, 1995, foi acompanhada por CCDS por 72 horas e o produto formado após purificação teve rendimento de 65%.

O produto obtido foi confirmado por RMN-¹H devido a presença de um multipletto a 2,49 e 2,39 referente aos grupos metilênicos em C-5' anteriormente a 3,80_(Fig. 25, pág. 118).

4.4.2.2 - Síntese da prodroga AZT com ácido oléico (**74**) (Esquema 36).



Esquema 36

Conforme procedimento análogo descrito para síntese da prodroga AZT com bixina, **77** foi sintetizado com rendimento de 68% (Esquema 36) Este foi confirmado por RMN-H devido a presença de um duplo duplete a 4,60 referente ao grupo metilênico em C-5, o qual anteriormente observado a δ 3,90 conforme demonstrado no espectro da pág. 109. (Fig. 26, pág. 119).

4.4.2 - Conclusão

Os trabalhos descritos neste capítulo demonstraram ser possível desenvolver uma eficiente síntese de prodrogas do AZT através da adição de uma cadeia lateral pela bixina e pelo ácido oleico, permitindo obtenção de compostos mais lipofílicos proporcionando maior porcentagem de droga ativa no plasma, diminuindo assim, o número de doses diárias a fim de combater um grande problema enfrentado por seus usuários (pacientes com HIV) que é a adesão ao tratamento. Obtivemos neste capítulo, duas substâncias inéditas: (**73**) e (**74**).

5 – Parte experimental

5.1 – Materiais e Métodos

Os espectros de RMN de ^1H e ^{13}C foram feitos em aparelho Jeol (400 MHz para ^1H e 100 MHz para ^{13}C) e determinados em solvente deuterado contendo ca. de 1% de tetrametilsilano (TMS) como referência interna. Os deslocamentos químicos (δ) estão relatados em partes por milhão (ppm) em relação ao TMS e as constantes de acoplamento (J) em Hertz (Hz). Os padrões de multiplicidade são as seguintes: s, singlete; d, dubleto; dd, duplo dubleto; t, tripleto; q, quarteto; m, multiplete.

Para as análises de cromatografia em coluna foi utilizado sílica gel 60 (70-230 Mesh) da Merck. As cromatografias em camada fina foram realizadas utilizando placas comerciais do tipo 60-F₂₅₄ sobre sílica da Merck. As detecções foram feitas por exposição à luz ultravioleta (254-265), reveladas com vapores de iodo ou com vanilina sulfúrica.

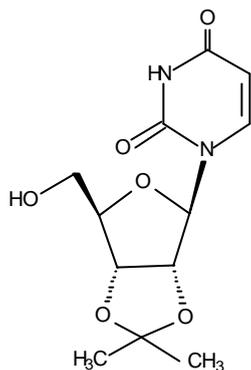
Os solventes e reagentes comerciais foram secos e purificados antes do uso conforme métodos usuais.

As fases orgânicas após extração foram secas com sulfato de magnésio e, ou sulfato de sódio, antes da evaporação do solvente.

5.2 – Experimentos

5.2.1 - 1º Capítulo - Síntese de Análogos Acíclicos do AZT.

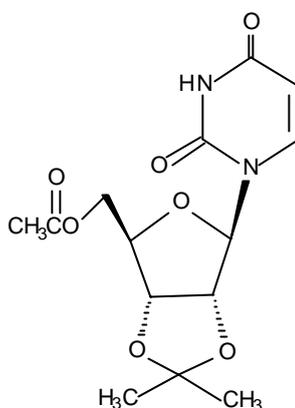
5.2.1.1 - Síntese da 2',3' - isopropilideno uridina (**20**).



A uma solução de uridina (0,2g; 0,819 mmol) em benzeno (4,0 ml; 0,045 mmol) contida num balão volumétrico de 125 mL adicionou-se o 2,2-dimetoxipropano (DMP) (0,1 ml; 0,814 mmol) e o ácido p-tolueno sulfônico monoidratado (36 mg; 0,013 mmol), deixando em refluxo por duas horas através do condensador de refluxo, montado previamente e sob agitação magnética. Neutralizou-se a reação com 30 mL de solução saturada de bicarbonato de sódio. A reação foi acompanhada por CCDS até o desaparecimento do material de partida. A solução foi transferida para um funil de decantação de 250 mL e então, obteve-se a fase orgânica por extração, tratando-a posteriormente com sulfato de magnésio. O produto foi seco à pressão reduzida e então purificado em cromatografia de camada delgada de sílica utilizando como eluentes os solventes hexano/acetato de etila (9:1), com rendimento de 75 % (0,17 g), e sua análise confere com os dados espectrais descritos por WATANABE e cols, 1990.

RMN-¹H: 8,46 (sl, 1H, N³); 5,75 (d, 1H, H-1'); 5,00 (dd, 1H, H-2'); 4,30 (t, 1H, H-3'); 3,9 (dt, 1H, H-4'); 1,61 e 1,36 (s, 2CH₃ isop.).

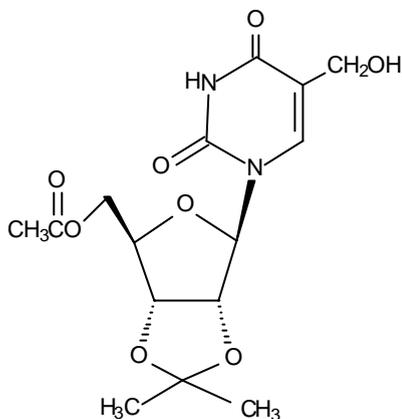
5.2.1.2 - Síntese da 5' - acetil - 2',3' -O - isopropilideno uridina (**21**).



A uma solução de 2',3' – isopropilideno uridina (1,08 g; 3,798 mmol) em piridina (6,0 mL) contida num balão volumétrico de 100 mL, adicionou-se anidrido acético (0,5 mL) à 0^o C sob agitação magnética. A reação permaneceu por 3 horas à temperatura ambiente. A reação foi acompanhada por CCDS até confirmação do desaparecimento do material de partida. O produto foi seco à temperatura ambiente e posteriormente purificado em cromatografia de camada delgada de sílica com os eluentes: hexano/acetato de etila (8:2), fornecendo (0,96 g), com 78% de rendimento.

RMN - ¹H: 8,68 (sl, 1H, NH); 5,75 (d, 1H, H1'); 5,00 (dd, 1H, H2'); 4,30 (t, 1H, H-3'); 3,92 (m, 1H, H-4'); 2,17 (s, 3H, OAc); 1,58 e 1,37 (s, 2CH₃, isop).

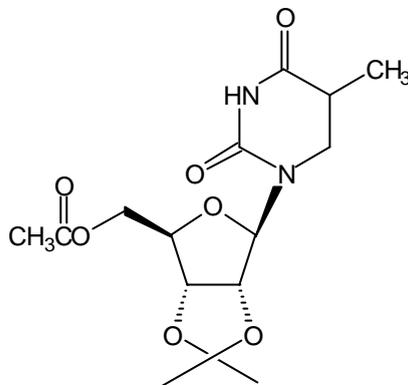
5.2.1.3 - Síntese da 5 - hidroximetil - 5' - acetil - 2',3' - O - isopropilideno uridina (22).



A reação ocorreu com 5'-acetil-2',3' – isopropilideno uridina (0,100 g; 2,84 mmol), solução de KOH 0,5 mol/L (75 mL) e paraformaldeído (1,860 g) sob agitação magnética e à 50 ° C durante 24 horas em um balão volumétrico de 250 mL. A solução foi transferida para um funil de decantação de 200 mL com auxílio de água destilada (15 mL). Fez-se extração da fase orgânica utilizando metanol (15 mL). Tratou-se a fase orgânica com sulfato de magnésio e secou-se à temperatura ambiente para fornecer o composto hidroximetilado. O produto foi purificado em cromatografia em camada delgada em sílica utilizando o solvente acetato de etila. O rendimento da reação foi de 55%.

RMN –¹H: 7,14 (s, 1H, H-6); 5,58 (d, 1H, H-1'); 5,03 (dd, 1H, H-2'); 3,91(m, 1H, 4'); 3,20 (bl, 1H, OH); 2,00 (s, 3H, CH₃CO); 1,63 e 1,58 (s, 6H, 2 CH₃ isop.).

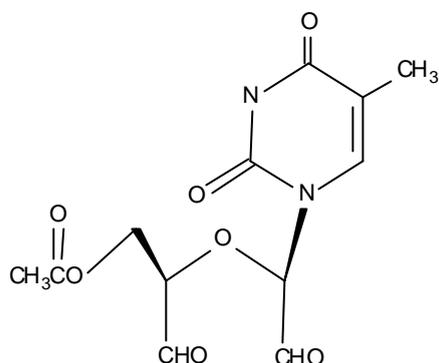
5.2.1.4 - Síntese da 5- metil - 5' - acetil - uridina (**23**).



Em um balão volumétrico de 200 mL equipado com septo de borracha, adicionou-se **22** (115mg; 0,406 mmol), ácido acético gálcial (4,2 ml; 0,0429 mmol), 3,0 mL de ácido clorídrico e óxido de platina (19,16 mg; 0,0844 mmol) sob agitação. Fechou-se o balão com o septo e parafilme, adicionando H_2 por meio de uma seringa, em contato com a solução. A mistura foi agitada por 24 horas à temperatura ambiente. Ao término da reação os resíduos de óxido de platina foram retirados da solução através de filtração com celite. A solução foi seca a temperatura ambiente, e transferida para um funil de decantação de 250 mL com auxílio do solvente acetato de etila (30 mL), adicionou-se 30 mL de água destilada extraíndo a fase orgânica, e secando- a posteriormente à pressão reduzida. O produto foi purificado em cromatografia em camada delgada em sílica utilizando o solvente acetato de etila. O rendimento da reação foi de 75%.

RMN – 1H : 7,75 (s, 1H, H6); 5,30 (d, 1H, H-2'); 4,98 (m, 1H, H-2'); 3,92 (m, 1H, H-4'); 1,95 (s, 3H, CH_3); 1,60- e 1,35 (s, 6H, CH_3 isop.).

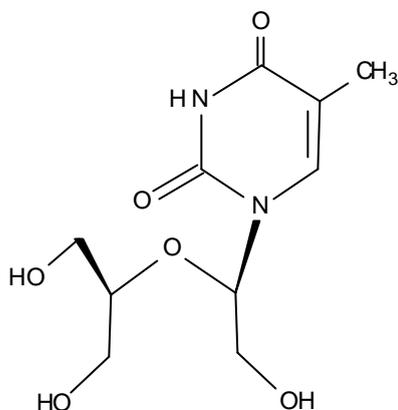
5.2.1.5 – Clivagem oxidativa da 5' -acetil - 5 - metil - uridina (**24**).



Em um balão volumétrico de 150 mL adicionou-se 5' -acetil - 5 - metil - uridina (0,5 g; 195 mmol) e meta periodato de sódio em solução 1,0 N (20 mL). A reação foi deixada sob agitação por 6 horas e acompanhada por CCDS até o desaparecimento do material de partida. A mistura reacional foi tratada com resina amberlite IRA 120 em uma coluna de de 2 mL Dowex - 1 -acetato foi ambientada em um becker contendo solução 0,1 N de HCl (150 mL), para troca dos íons periodato. A resina foi tranferindo-a para uma coluna de 25 cm de altura, preenchendo somente até $\frac{3}{4}$ da altura. Mediu-se o pH da solução e adicionou-se 200 mL de água destilada até neutralização da solução e 40 mL de solução NH_4Cl para remoção do íon iodato na coluna. Extraiu-se posteriormente a solução com 60 mL de acetato de etila. A fase orgânica foi evaporada até seca e purificada em cromatografia em coluna de sílica utilizando os solventes acetato de etila/metanol (9:1) como eluentes. O produto após purificação forneceu o dialdeído (0,3 g; 54% de rendimento).

RMN- ^1H : 9,21 (s, 1H, CHO); 9,24 (s, 1H, CHO); 3,44 (m, 2H H-5' α ,H5' β).

5.2.1.6 – Síntese da 2' - hidroxí - 2', 3' - seco - timidina (**26**).



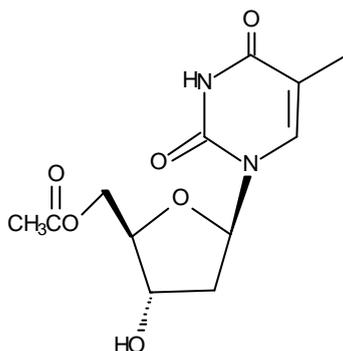
A uma suspensão composta de cloreto de lítio (0,3 g; 8,2 mmol), boroidreto de sódio (0,3 g; 8,2 mmol) em 2,5 mL de THF anidro, adicionou-se o composto **24** (0,3 g; 8,2 mmol) e 2,5 mL de metanol com agitação por 3 horas à temperatura ambiente. Evaporou-se os solventes e lavou-se o resíduo com uma solução saturada de cloreto amônio (5,0 mL). A fase orgânica é lavada com uma solução saturada de cloreto de sódio (5,0 mL) e seca com sulfato de magnésio. Destilou-se os solventes e purificou-se o produto por cromatografia em sílica-gel (acetato de etila/metanol, 2:1), obtendo-se 0,18 g de **25**, com 40% de rendimento.

RMN - ^1H : 6,05 (s, 1H, H-1'); 4,42 (dd, 1H, H-1'); 4,15 (m, 1H, OH^{5'}); 4,00 (d, 1H, OH^{2'}); 3,83 (d, 1H, OH^{3'}); 2,55 (m, 6H, H-5', H-3', H-2'); 1,92 (s, 3H, CH₃).

5.2.2 – Síntese dos análogos cíclicos do AZT.

5.2.2.1 –Nova Rota de Síntese para o AZT.

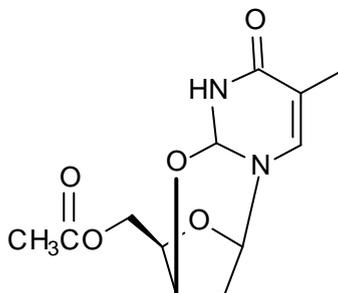
5.2.2.1.1 - Síntese da 5' - acetil - timidina (**62**).



A uma solução de timidina **35** (0,5 g; 1,93 mmol) em piridina (3 mL) adicionou-se anidrido acético (0,25 mL) em um balão volumétrico, à 0° C sob agitação, por um período de 3 horas. A reação foi acompanhada por CCDS até desaparecimento do material de partida. O produto foi seco à temperatura ambiente e posteriormente purificado em cromatografia de camada delgada em sílica com os eluentes: acetato de etila/hexano (8:2), fornecendo (0,46 g) de **65** com um rendimento de 80%.

RMN ¹H: 7,79 (s, 1H, H 6); 6,16 (t, 1H, H-1'); 4,35 (q, 1H, H-3'); 3,91 (m, 1H, H-4'); 2,38 (m, 2H, H-2'); 2,17 (s, 3H, OAc); 1,87 (s, 3H, CH₃).

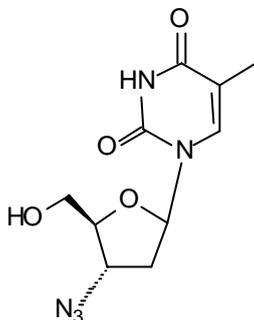
5.2.2.2 - Síntese da 2, 3' - ciclo - 3' - desoxi - timidina (**63**).



A uma solução de 5' – acetil – timidina (0,28 g; 1,0 mmol); DMF (2,0 mL), adicionou-se o iodeto de metiltrifenoxyfosfônio (0,90 g; 2,0 mmol) em um balão volumétrico de 100 mL. A reação foi deixada sob agitação à temperatura ambiente por um período de 4 horas, sendo acompanhada por CCDS (eluente acetato de etila 100%). Adicionou-se metanol ao produto reacional para eliminação do reagente em excesso. Evaporou-se o material a securo e purificou-se por cromatografia de camada delgada em sílica, com o eluente acetato de etila. O rendimento de **63** após purificação foi de 75% (0,19 g).

RMN ¹H: CDCl₃; 7,62 (s, 1H, H-6); 4,41 (m, 1H, H-4'); 3,85 (m, 2H, H-5' a, H-5' b); 2,55-2,41 (m, 1H, H-2'); 2,04 (s, 3H, OAc); 1,93 (s, 3H, CH₃).

5.2.2.3 - Síntese do AZT (3' - azido - 3' - didesoxi - timidina) (1).



A uma solução da 2, 3'-ciclo - 3' - desoxi - timidina (0,5 g; 0,56 mmol) em DMF anidro, adicionou-se NaN_3 (0,10; 1,68) e DMAP em quantidade catalítica, sob agitação à temperatura ambiente. A reação ocorreu por um período de 4 horas, sendo acompanhada por cromatografia em camada delgada em sílica utilizando como eluentes acetato de etila/hexano (8:2). O produto foi evaporado a securo e purificado por cromatografia, fornecendo 78% de rendimento. O produto obtido foi evaporado a securo e submetido a desproteção do grupamento acetil em C-5' na presença de hidróxido de amônio e metanol a temperatura ambiente por 4 horas. O produto foi acompanhado por CCDS (eluente acetato de etila/hexano, 9:1), com sua purificação obteve-se rendimento de 60% (0,09 g) .

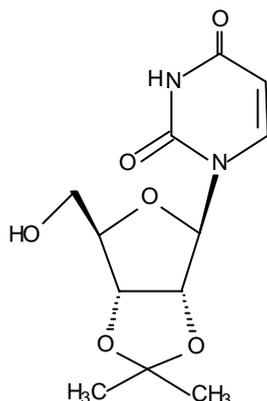
RMN ^1H : 7,79 (s, 1H, H-6); 6,16 (t, 1H, H-1'); 4,35 (q, 1-H, H3'); 3,89 e 3,81 (2 dd, 2-H, H-5' a, H-5' B); 1,87 (s, 3-H, CH_3).

RMN ^{13}C : 166 (C-2) ; 152 (C-4); 138 (C-6); 111,6 (C-5); 86 (C-1'); 62,4 (C-4'); 61,6 (C-5'); 38,2 (C-2'); 30,7 (C-3'); 12,4 (CH_3).

5.2.3 - Síntese dos análogos cíclicos do AZT (68) e (70), modificados respectivamente na porção base Parte (a), e porção carboidrato Parte (b), via reações radicalares.

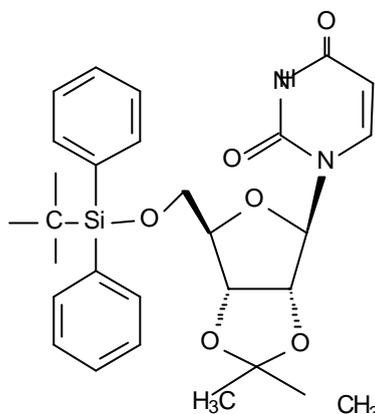
5.2.3.1 - Parte (a)

5.2.3.1.1 - Síntese da 2',3' – isopropilideno uridina (**20**).



A uma solução de uridina (0,1g; 0,409 mmol) em 2,0 ml de benzeno adicionou-se o 2,2-dimetoxipropano (0,05 ml; 0,407 mmol) e o ácido para-tolueno sulfônico monohidratado (0,018 g; 0,013 mmol) em um balão volumétrico de 200 mL, deixando em refluxo por 4 horas através do condensador de refluxo, montado previamente e sob agitação magnética. Neutralizou-se a reação com 30 mL de solução saturada de bicarbonato de sódio. A reação foi acompanhada por CCDS até o desaparecimento do material de partida. A solução foi transferida para um funil de decantação de 250 mL e, então, obteve-se a fase orgânica por extração, tratando-a posteriormente com sulfato de magnésio. O produto foi seco à pressão reduzida e então purificado em cromatografia de camada delgada com os eluentes hexano/ acetato de etila (9:1) e obtido com rendimento de 75% (76 mg).

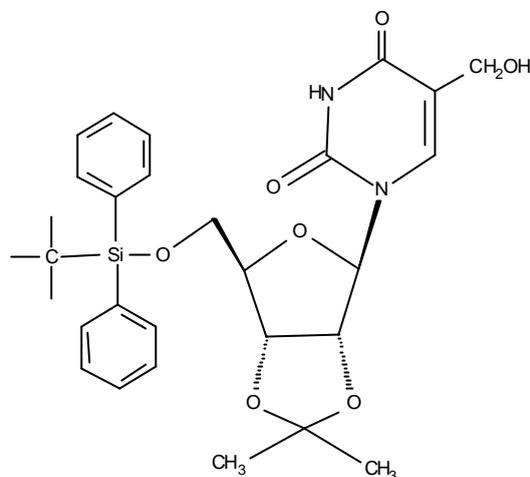
5.2.3.1.2 - Síntese da 5'-tert-butildifenilsilil-2',3' – isopropilideno uridina (**64**).



Em uma solução de 2',3' – isopropilideno uridina (0,1 g; 0,352 mmol) em DMF 5,0 mL, adicionaram-se imidazol (0,04 g; 0,554 mmol) e TBPSCI (0,12 mL; 0,44 mmol) aum balão volumétrico de 200 mL. A reação ocorreu em temperatura ambiente por 48 horas. Verificou-se a formação do produto por CCDS em acetato de etila/hexano (8:2). A reação foi acompanhada por CCDS até o desaparecimento do material de partida. A solução foi transferida para um funil de decantação de 250 mL e, então, obteve-se a fase orgânica por extração, tratando-a posteriormente com sulfato de magnésio. O produto foi seco à pressão reduzida e então purificado por cromatografia de camada delgada com os eluentes hexano e acetato de etila. O rendimento foi de 70%.

RMN-¹H: 7,32 (d, 2H, H-3 e H-6, C₆H₅); 7,21 (dt, 3H, H-3,H-4,H-5, C₆H₅); 4,16 (m, 1H, H-4'); 3,71 (m, 2H, H-5'α,H5'β); 1,98 (s, 9H, 3 CH₃ terc-butil).

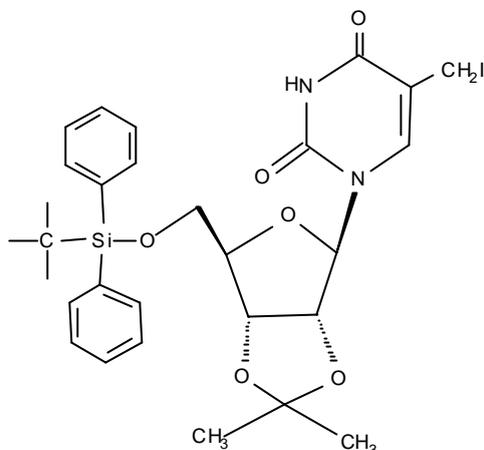
5.2.3.1.3 - Síntese da 2-hidroximetil-5'-tert-butildifenilsilil-2',3' - isopropilideno uridina (**65**).



A reação ocorreu em um balão volumétrico de 200 mL com 5'-tert-butildifenilsilil - 2',3' - isopropilideno uridina (0,1g; 0,179 mmol) em solução de KOH 0,5 N (16 mL) e paraformaldeído (0,387 g). A reação ocorreu por 24 horas, à 50⁰ C. Extraíu-se a fase orgânica da solução com acetato de etila (30 mL) através de um funil de decantação de 250 mL e posteriormente tratada com sulfato de sódio e seca à pressão reduzida. O produto foi purificado em CCDS com acetato de etila e hexano e obtido com rendimento de 52%.

RMN-¹H: 7,75 (s, 1H, OH); 5,75 (d, 1H, H-1'); 5,00 (dd, 1H, H-2'); 3,92 (d, 1H, H-4'); 3,85 (dd, 1H, H-4'); 3,35 (b, 1H, OH); 1,57 e 1,37 (s, 6H, 2 CH₃ isop.); 1,24 (s, 9H, terc-butil).

5.2.3.1.4 - Síntese da 2 - iodometil - 5' - tert - butildifenilsilil - 2',3' - isopropilideno uridina (**66**).

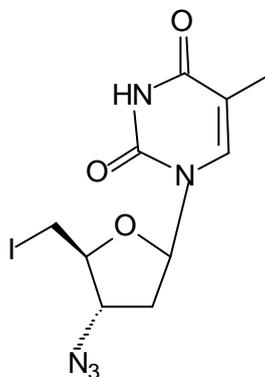


Adicionou-se 4,0 mL de DMF e (2,1 g; 4,65 mmol) de $(\text{PhP}_3)\text{OCH}_2\text{I}$ em (0,182 g; 0,32 mmol) ao 2-hidroximetil-5'-tert-butildifenilsilil - 2',3' - isopropilideno uridina contidos num balão volumétrico de 200 mL. A reação ocorreu por 3 horas sob temperatura ambiente e acompanhada por CCDS em acetato de etila/hexano (7:3). Transferiu-se a solução para um funil de decantação de 250 mL , extraindo-se a fase orgânica com auxílio do solvente acetato de etila (60 mL). Secou-se o produto à pressão reduzida, purificou-se o produto em cromatografia em coluna de camada delgada de sílica, utilizando os solventes acetato de etila e hexano como eluentes. O rendimento foi de 65%.

RMN- ^1H : 7,28 (d, 2H, H-3 e H-6 – C_6H_5); 7,20 (dt, 3H, H-3, H-4, H-5 – C_6H_5); 4,15 (m, 1H, H-4'); 3,92 (m, 2H, H5' α ,H5' β); 3,50 (dd, 2H, CH_2I); 1,60 e 1,39 (s, 6H, 2 CH_3 isop); 1,39 (s, 9H, 3 CH_3 terc-butil).

5.2.3.2 - Parte (b):

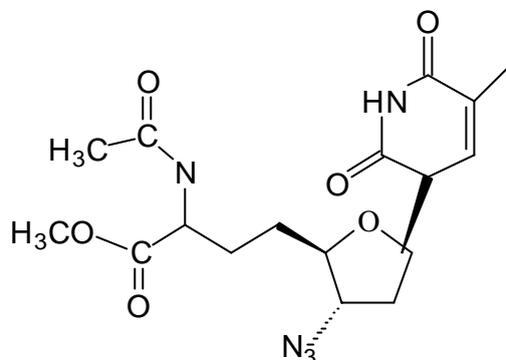
5.2.3.2.1 - Síntese do 5'-iodo- azidotimidina (**69**).



A uma solução de **1** (0,600 g; 2,25 mmol) AZT em 20 mL de tolueno, contidos num balão volumétrico de 200 mL, adicionou-se I_2 (s) (1,0 g; 3,94 mmol), imidazol (1,0 g; 13,87 mmol) e trifetilfosfina (1,0 g; 3,81 mmol). A mistura foi aquecida sob refluxo durante doze horas a 120^o C. Adicionou-se mais 1,0 g de iodo e o refluxo permaneceu por mais 10 minutos a agitação. Transferiu-se a solução para um funil de decantação com auxílio de 20 mL de acetona e uma solução de cloreto de sódio saturada (45 mL). Tratou-se a fase orgânica com sulfato de sódio e evaporou-se o solvente sob pressão reduzida. Purificou-se o produto em coluna de camada delgada com acetato de etila e hexano, obtendo-se um rendimento de 70 %.

RMN-¹H: 7,56 (s, 1H, H-4); 6,18 (s, 1H, H-1'); 4,29 (q, 1H, H-3'); 3,86 (q, 1H, H-4'); 2,51- 2,40 (m, 2H, H-5' α ,H-5' β); 1,90 (s, 3H, CH₃).

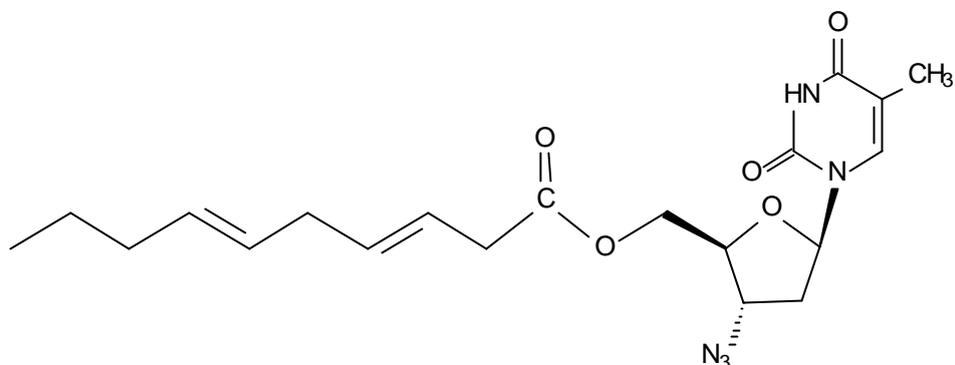
5.2.3.2.2 - Síntese do 7' - (R,S)N-acetilcarbonilamino - 3' - azidotimidina (**70**).



A uma mistura composta de Zn em pó (0,1 g; 1,53 mmol), iodeto de cobre (0,1 g; 0,53 mmol) em 1,0 mL de THF contidos em um balão volumétrico de 200 mL, adicionou-se do 5'-iodo-azidotimidina (0,1 g; 0,26 mmol) e agitou-se em um vibromixer por 10 minutos. Adicionou-se uma solução de 0,5 mL metil acrilato (0,1 g; 0,698 mmol) em THF/H₂O (8:2) por um período de quarenta minutos. Após 6 horas de agitação, confirmou-se o produto por CCDS com os eluentes acetato/hexano (6:4). Transferiu-se a reação para um funil de decantação de 250 mL utilizando como eluente acetato de etila (60 mL) com auxílio de solução saturada de cloreto de sódio (30 mL). Secou-se a fase orgânica sob pressão reduzida, obtendo-se o produto com rendimento de 65%.

RMN-¹H: CDCl₃; 7,80 (s, 1H, H-6); 6,16 (t, 1H, H-1'); 4,36 (q, 1H, H-3'); 4,88 (t, 1H, H-7'); 3,80 (q, 1H, H-4'); 3,30 (s, 3H, COAc); 2,51 (m, 2H, H-2'_α, H-2'_β); 2,38 (m, 2H, H-5'_α, H-5'_β); 1,87 (s, 3H, CH₃); 1,27 (m, 2H, H-6' a, H-6' β).

5.2.4.2 - Síntese da azidotimidina com o ácido oléico (75).



Sob condições anidras colocou-se uma mistura de **1** (0,20 g; 0,749mmol), ácido oleico (0,276 g; 0,092 mmol), DMAP (0.092 g; 0,807 mmol), DCC (0,1854g;) e acetato de etila (10 mL) em um balão volumétrico de 200 mL em condições anidras e então vedando o recipiente hermeticamente, colocando posteriormente sob agitação e à temperatura ambiente por 72 horas. Confirmou-se o produto por CCDS com os eluentes acetato/hexano (7:3). Transferiu-se a reação para um funil de decantação de 250 mL utilizando como eluente acetato de etila (60 mL). Secou-se a fase orgânica à temperatura ambiente. Purificou-se o produto com placa preparativa analítica (HTLC), utilizando como eluentes acetato de etila e metanol, obtendo-se o produto com rendimento de 65%.

RMN-¹H: 7,26 (s, 1H, H-4); 6,19 (t, 1H, H-1'); 4,60 (dd, 2H, H-5'); 4,11 (q, 1H, H-3'); 2,39 (m, 2H, H-2' α, H-2' β); 1,89 (s, 3H, CH₃ Base); 0,89 (t, 3H, CH₃).

6 - Conclusão

Os trabalhos descritos neste projeto demonstraram que a síntese regioseletiva de análogos acíclicos do AZT é promissora e de grande interesse biológico, pois as substâncias (**27 a e b**; **30 a e b**; e **34 a e b**), propostas na síntese são inéditas e deverão ser submetidas ao teste de atividade biológica antiviral (HIV-1, Herpes, HBV e citomegalovirus) *in vitro*.

O estudo de análogos com aumento da cadeia lateral do AZT, através da reação de acoplamento radicalar entre uma olefina eletrodeficiente e um derivado iodado de nucleosídeo para obtenção de análogos com modificações estruturais quer seja na base, quer seja no açúcar contribuirão para um estudo da correlação estrutura-atividade das novas drogas e do sítio de ação frente às enzimas virais, além do estudo das condições de reações radicalares, com o par bimetálico Zn/CuI em nucleosídeos.

O início dos trabalhos com prodrogas permitirá o estudo e avaliação de inovações na estratégia para ataque seletivo do agente etiológico viral, através de análogos mais lipossolúveis para a membrana que permitiram avaliar sua atividade anti-HIV-1. Estes análogos acoplados a uma cadeia lateral de ácidos graxos insaturados podem representar novas estratégias para o tratamento da AIDS, melhorando a adesão ao tratamento, que é o assunto mais polêmico da atualidade relativo a terapia com antiretrovirais.

A realização da síntese do AZT por uma nova rota obteve sucesso, onde se procurou desenvolver a idéia de uma rota com menor número de etapas e maior rendimento para a obtenção do AZT, o que representa uma vantagem para a área dos estudos de Síntese Orgânica.

No transcurso deste trabalho foi possível a síntese de 18 substâncias, das quais cinco são inéditas.

7 - ESPECTROS

FIGURA 9 - Espectro de RMN - ^1H (400 MHz, CDCl_3) de 20.

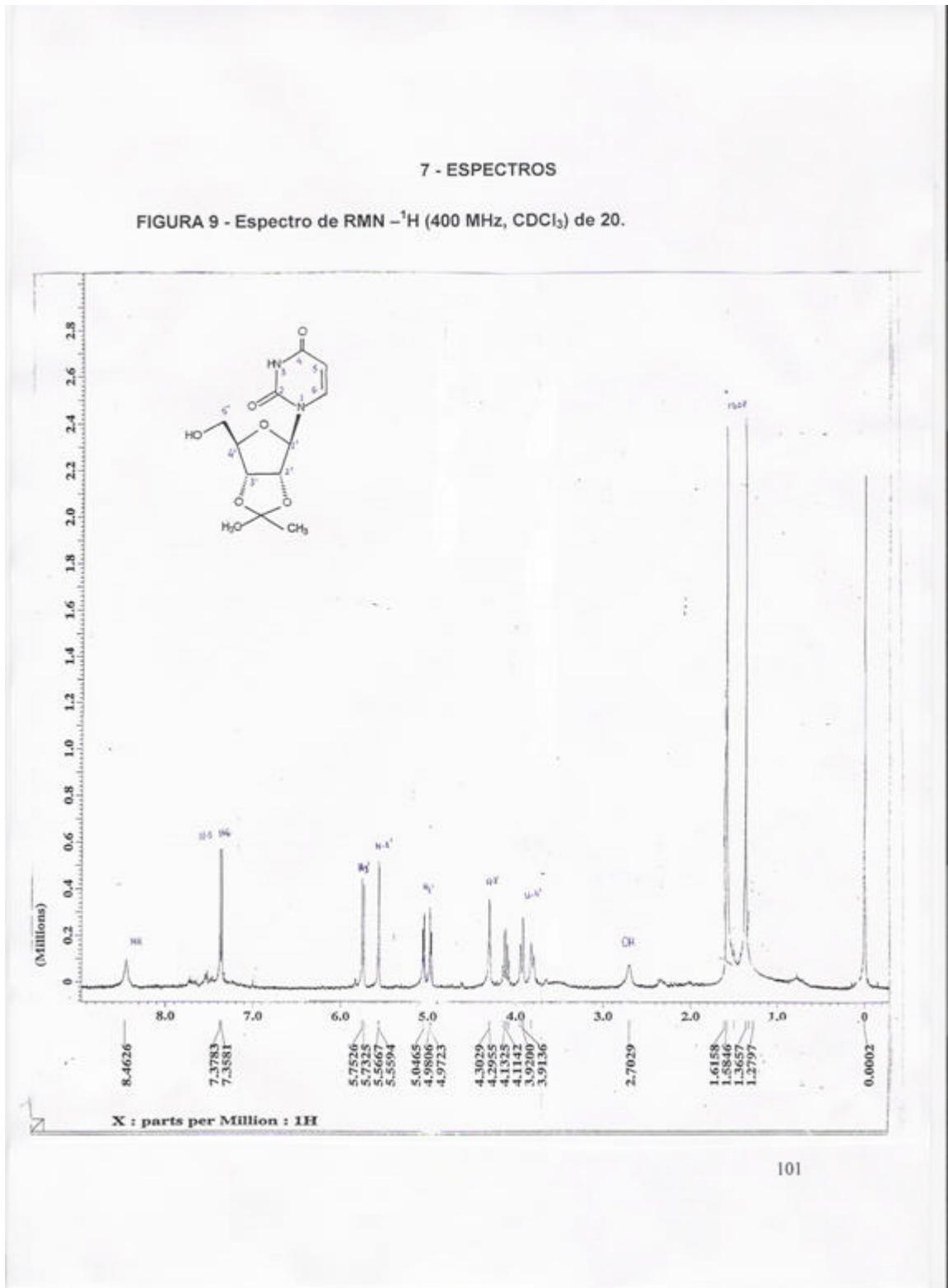


FIGURA 10 - Espectro de RMN -¹H (400 MHz, CDCl₃) de 21.

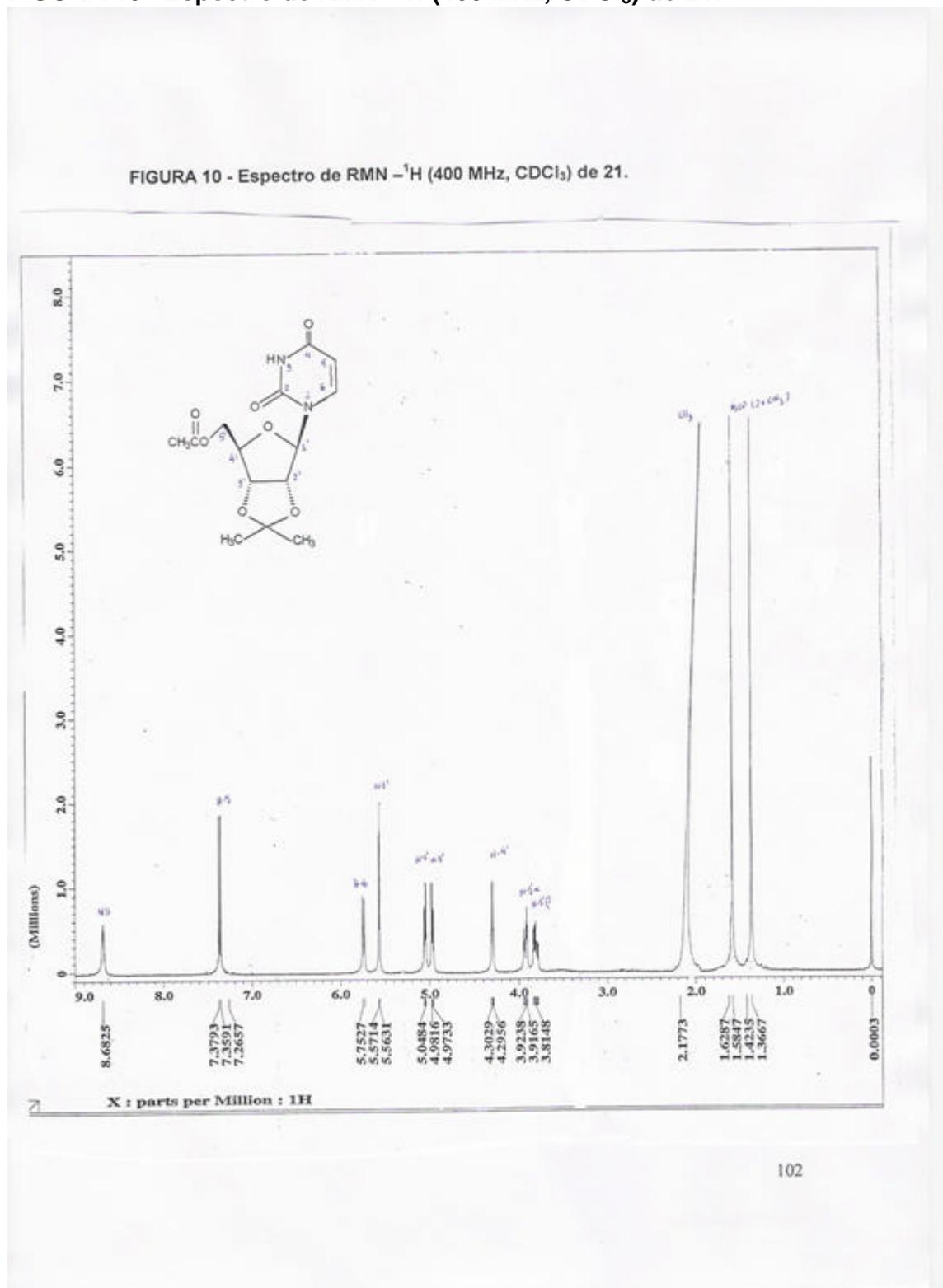


FIGURA 11 - Espectro de RMN -¹H (400 MHz, CDCl₃) de 22.

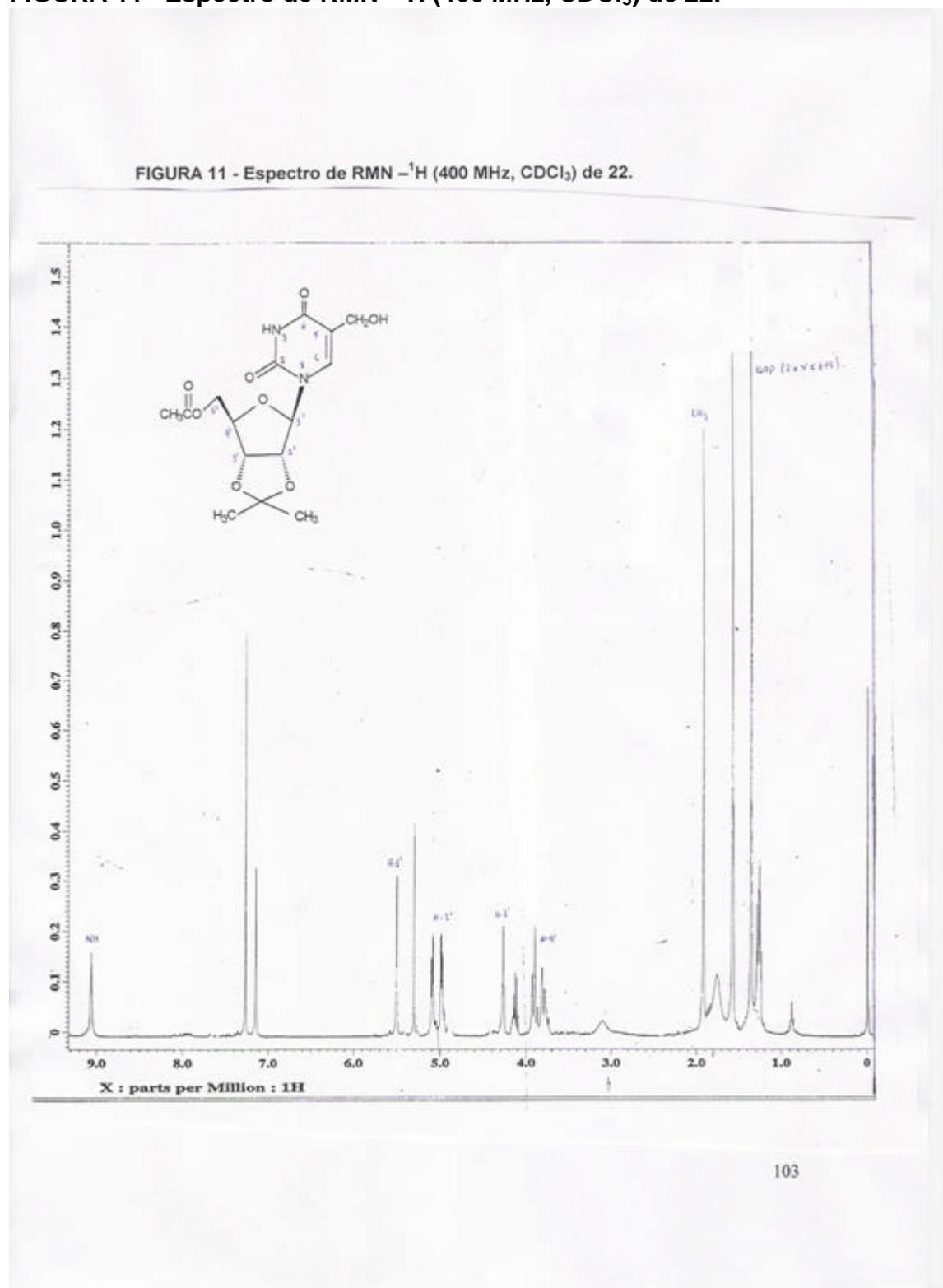


FIGURA 12 - Espectro de RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) de 23.

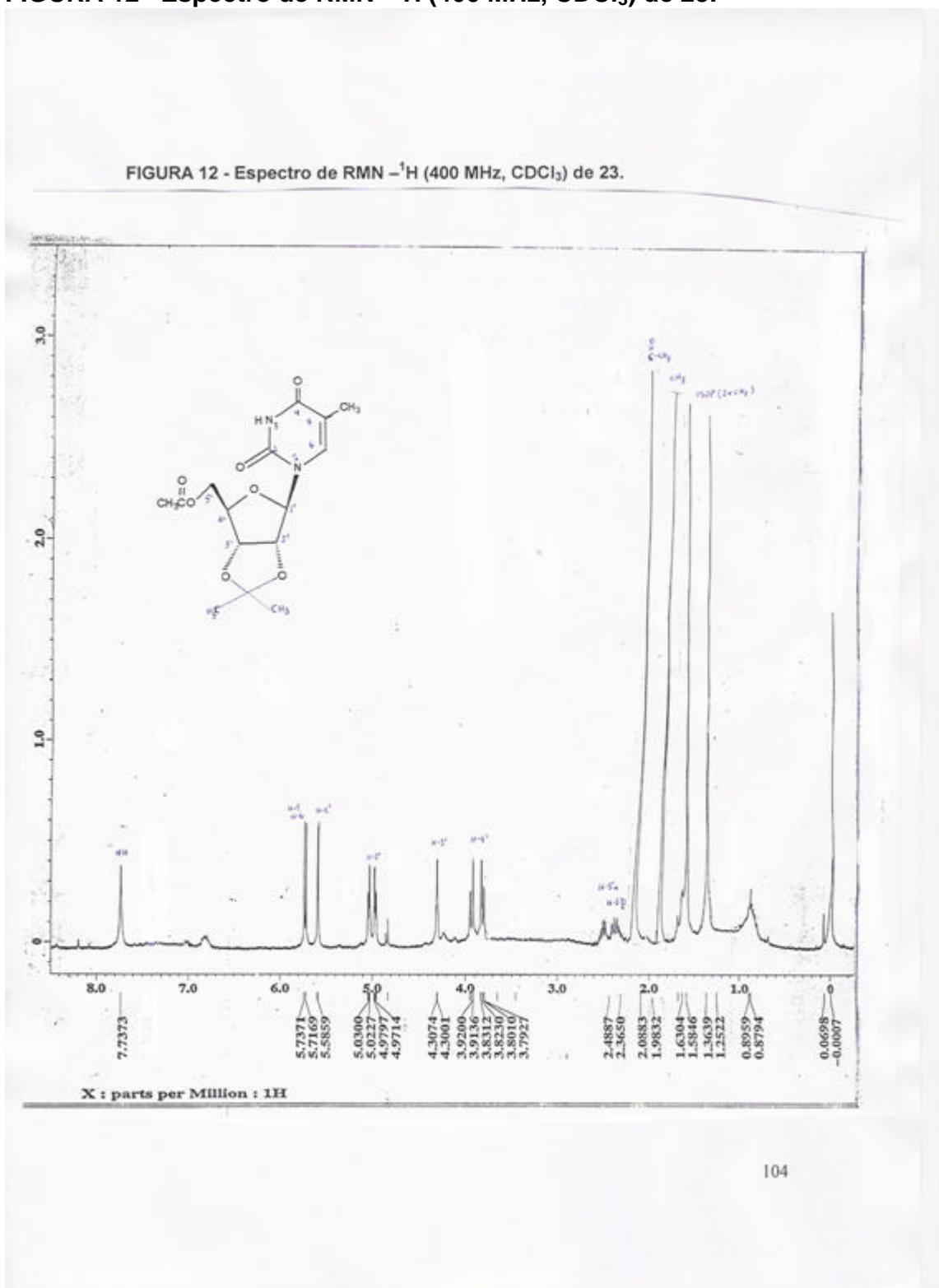


FIGURA 13 - Espectro de RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) de 24.

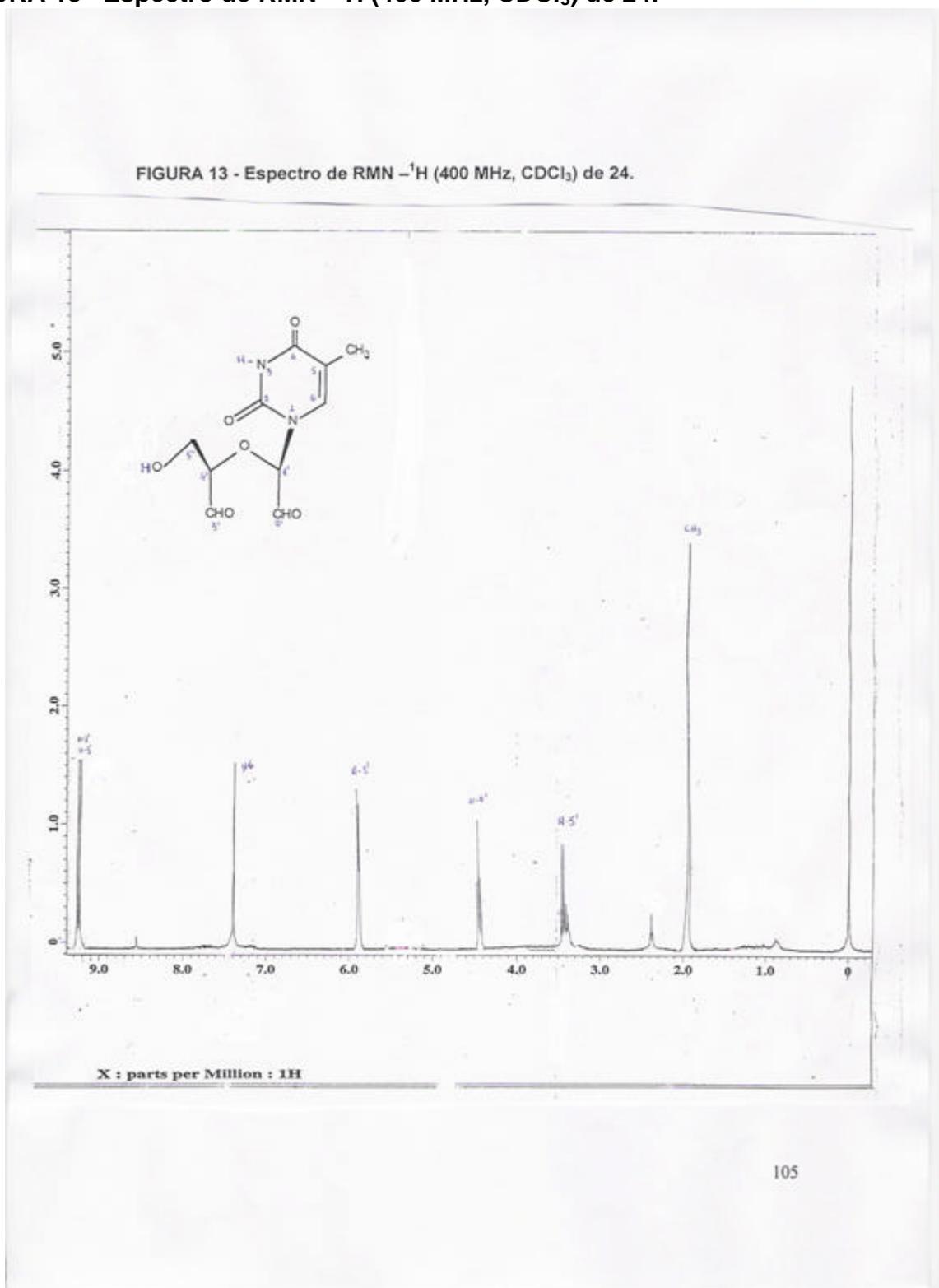


FIGURA 14 - Espectro de RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) de 25.

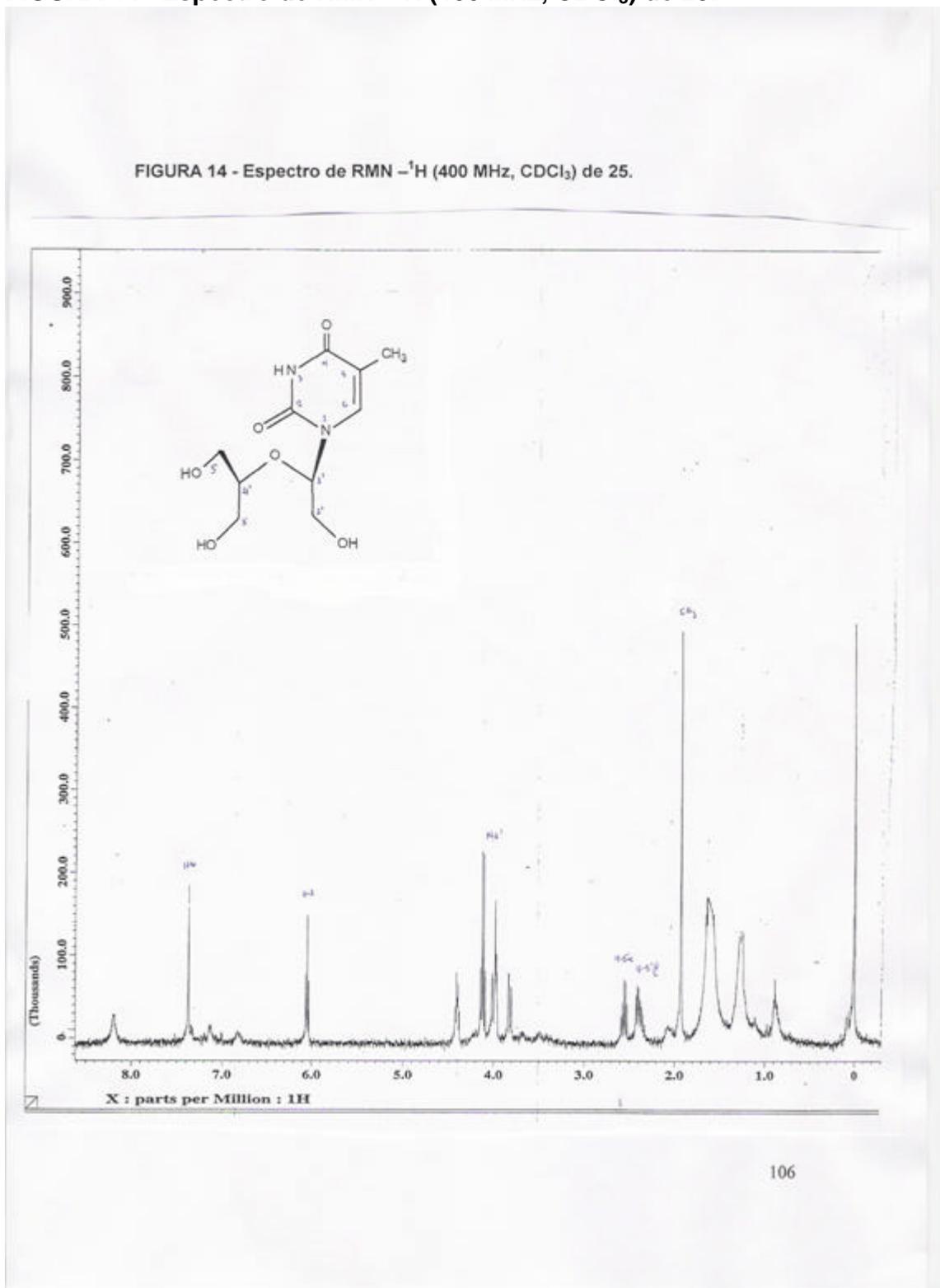


FIGURA 15 - Espectro de RMN ^{-1}H (400 MHz, CDCl_3) de 65.

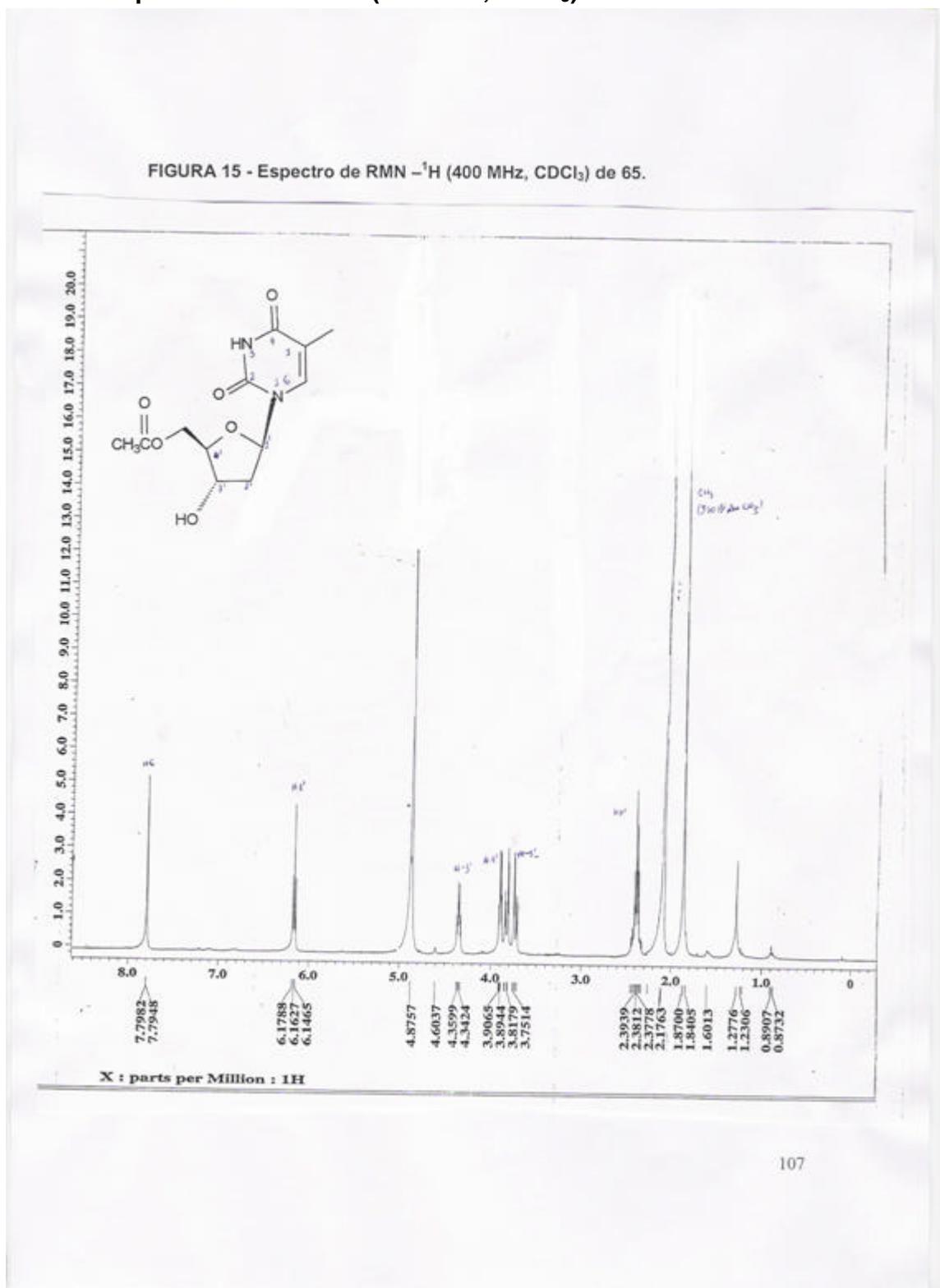


FIGURA 16 - Espectro de RMN -¹H (400 MHz, CDCl₃) de 66.

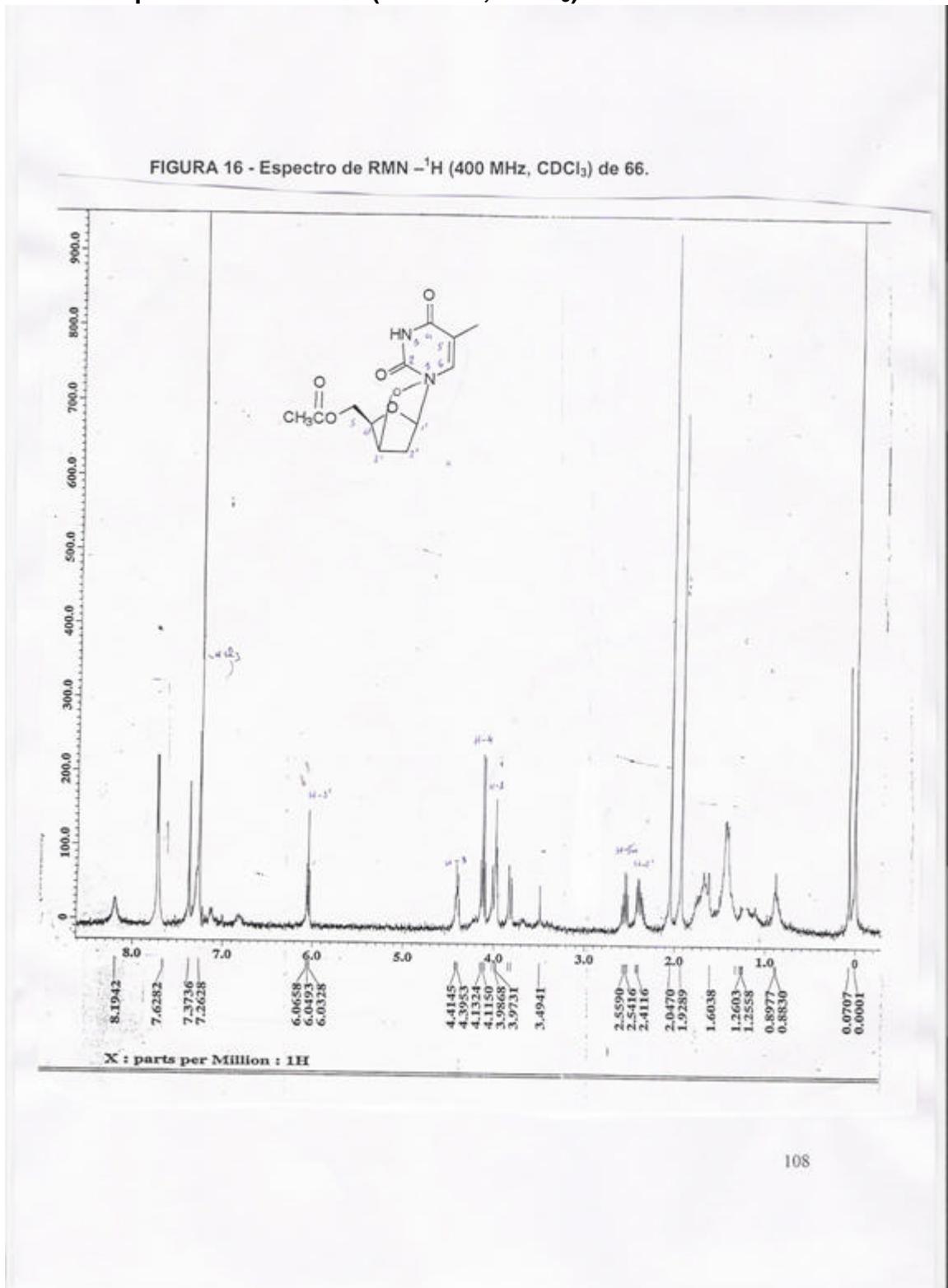


FIGURA 17 - Espectro de RMN -¹H (400 MHz, MeOD) de 1.

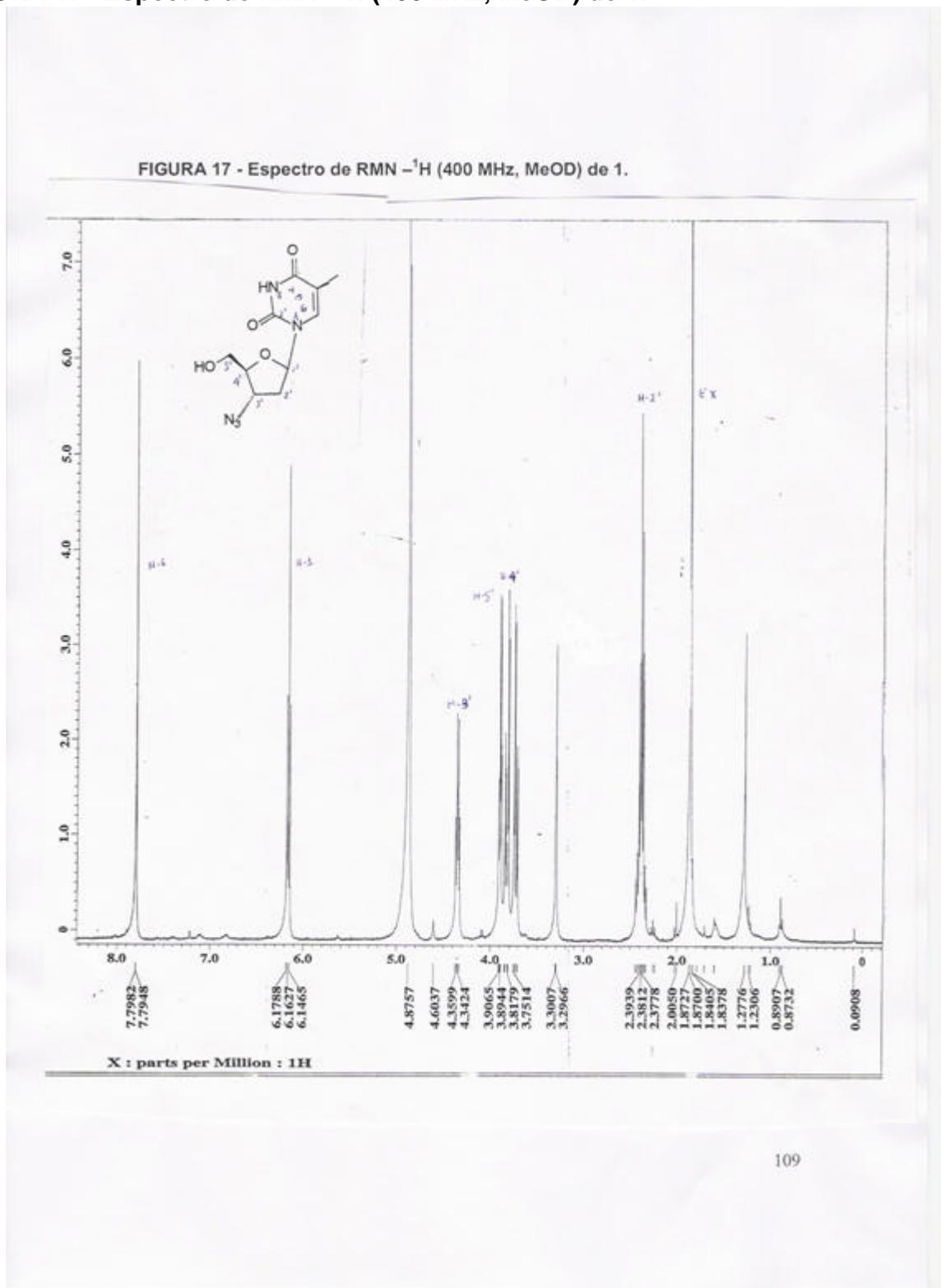


FIGURA 18 - Espectro de RMN ^{13}C (400 MHz, MeOD) de 1.

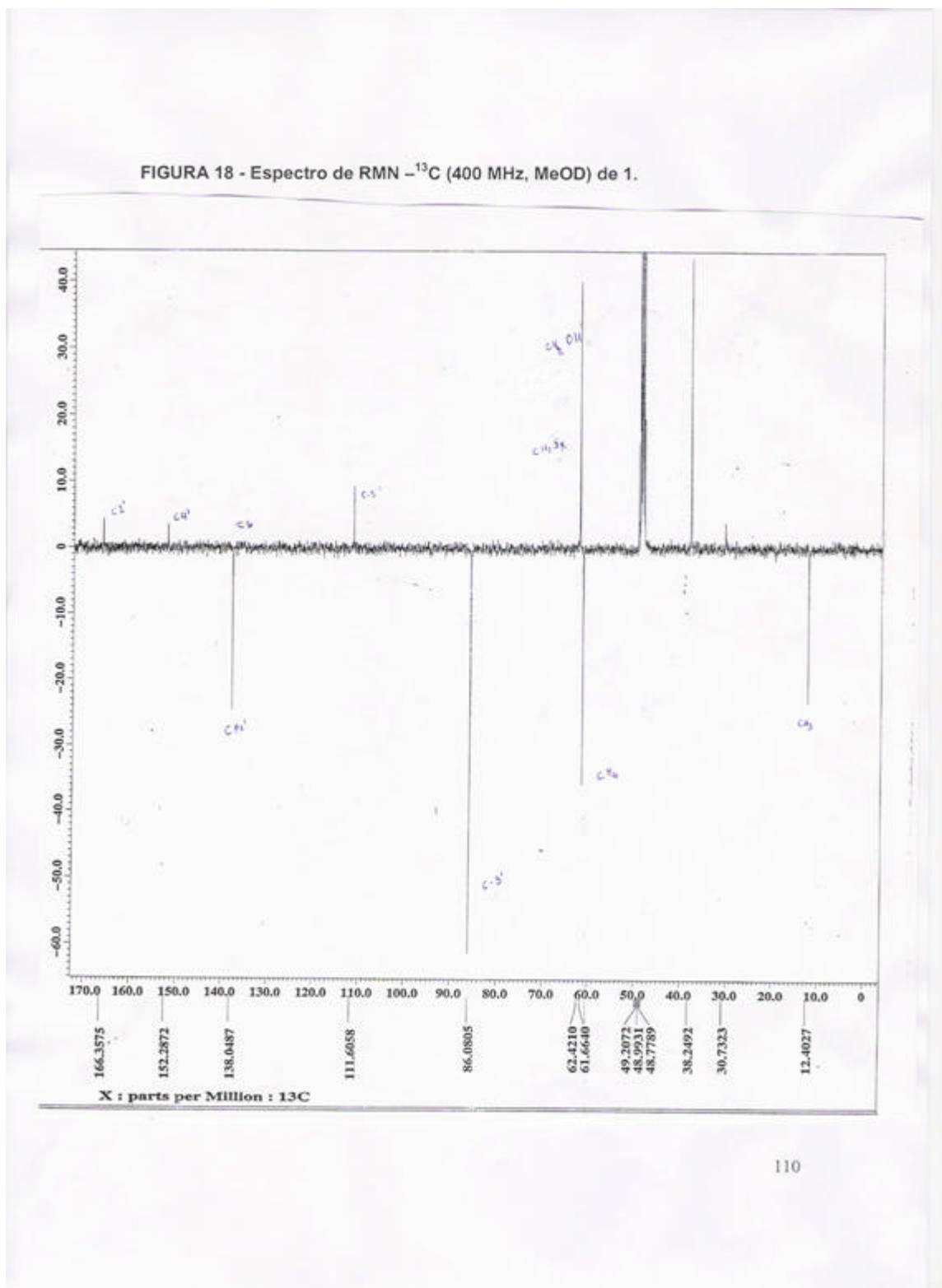


FIGURA 19 - Espectro de RMN ^1H (400 MHz, MeOD) de 67.

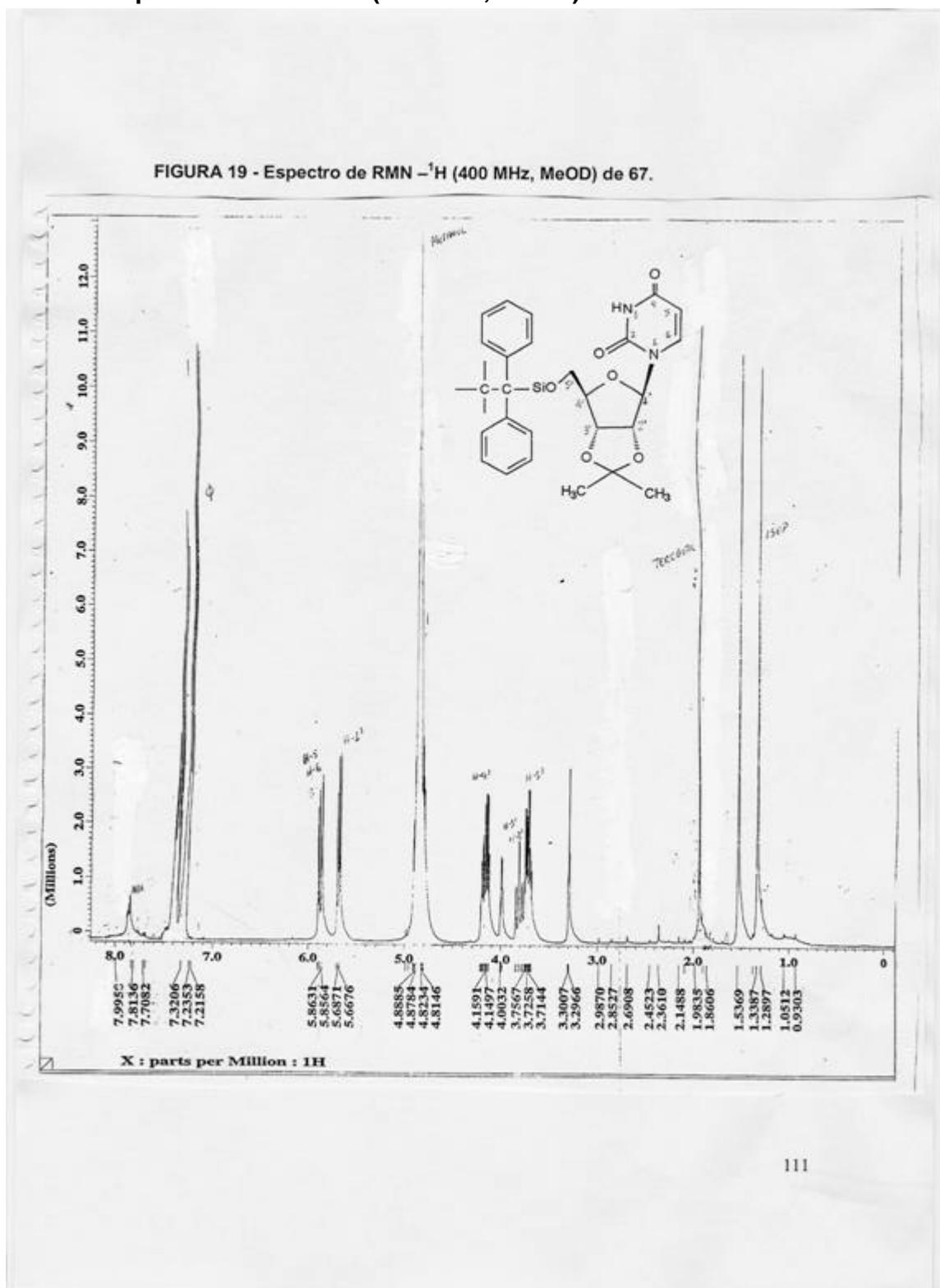
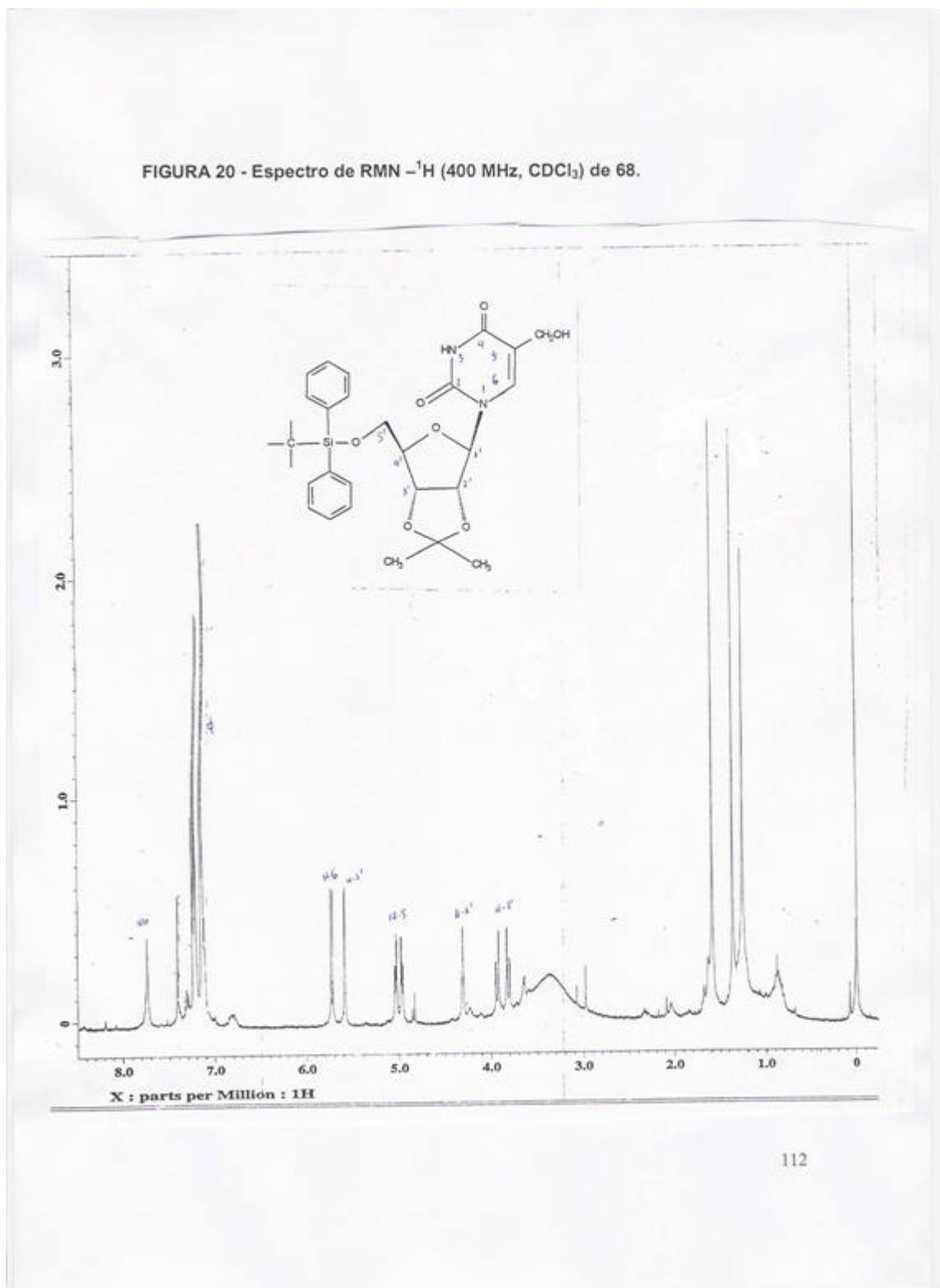


FIGURA 20 - Espectro de RMN ^{-1}H (400 MHz, CDCl_3) de 68.



112

FIGURA 21 - Espectro de RMN ^{-1}H (400 MHz, CDCl_3) de 69.

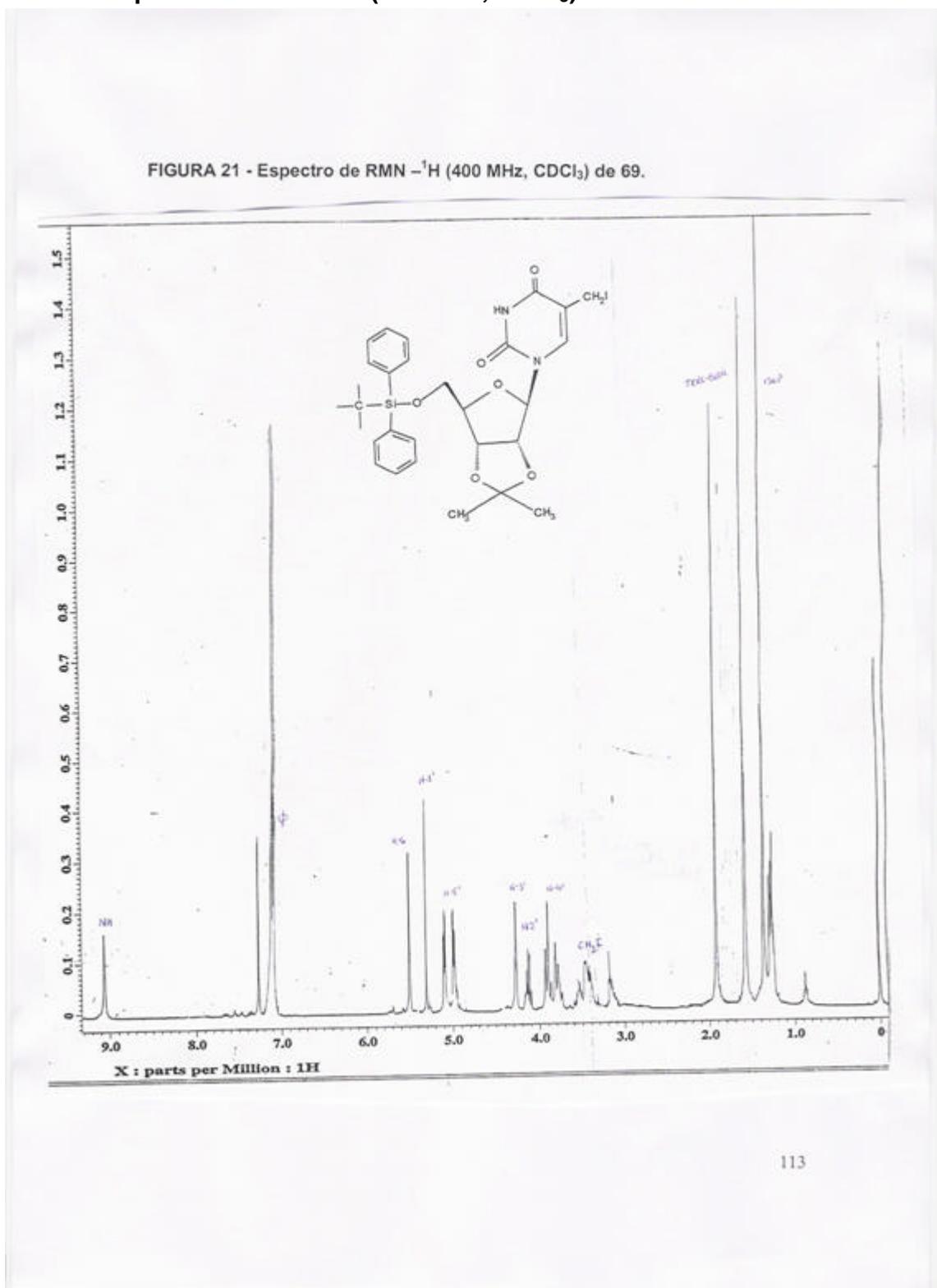


FIGURA 22 - Espectro de RMN ^{-1}H (400 MHz, CDCl_3) de 70.

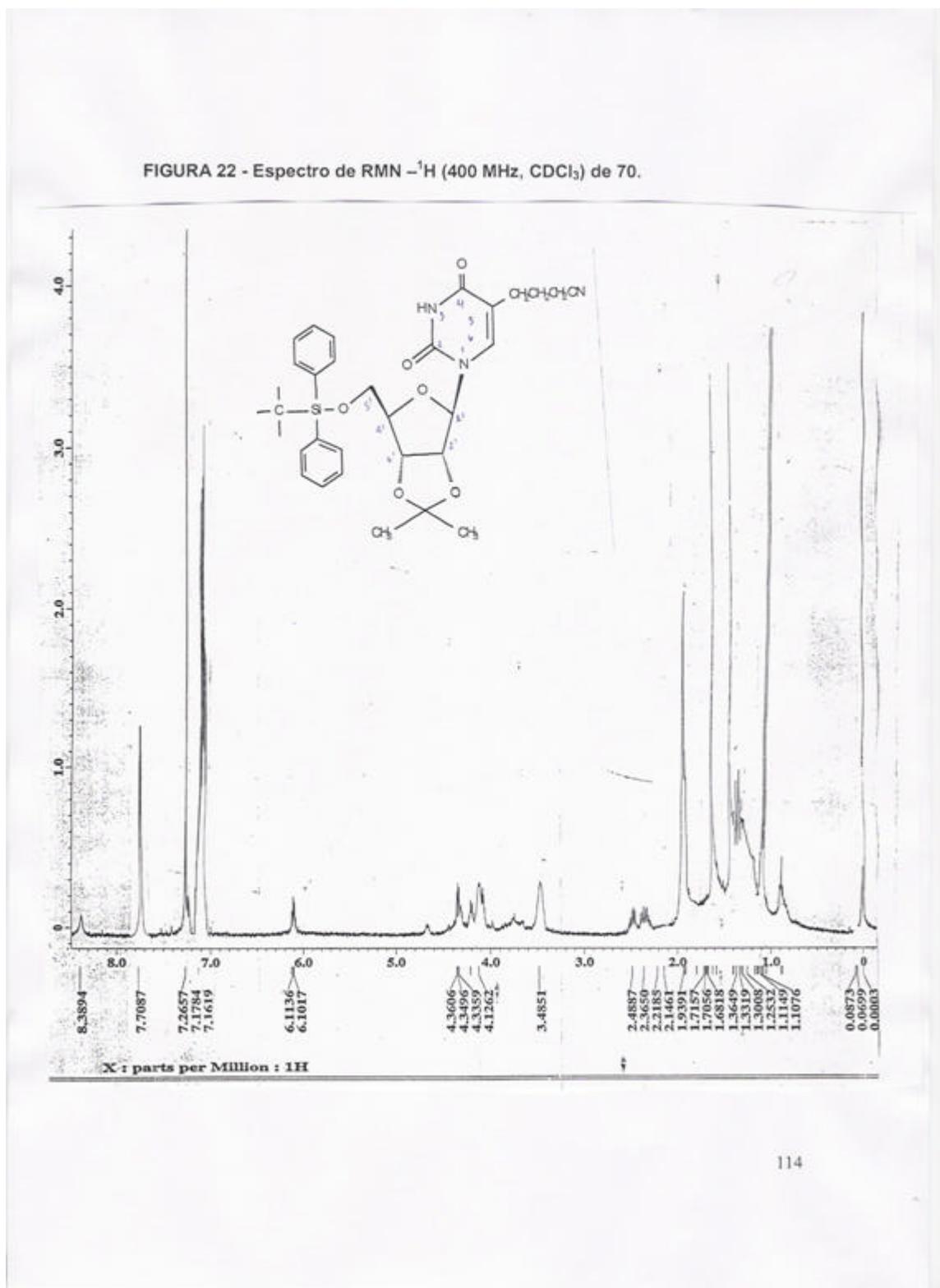


FIGURA 23 - Espectro de RMN -¹H (400 MHz, CDCl₃) de 72.

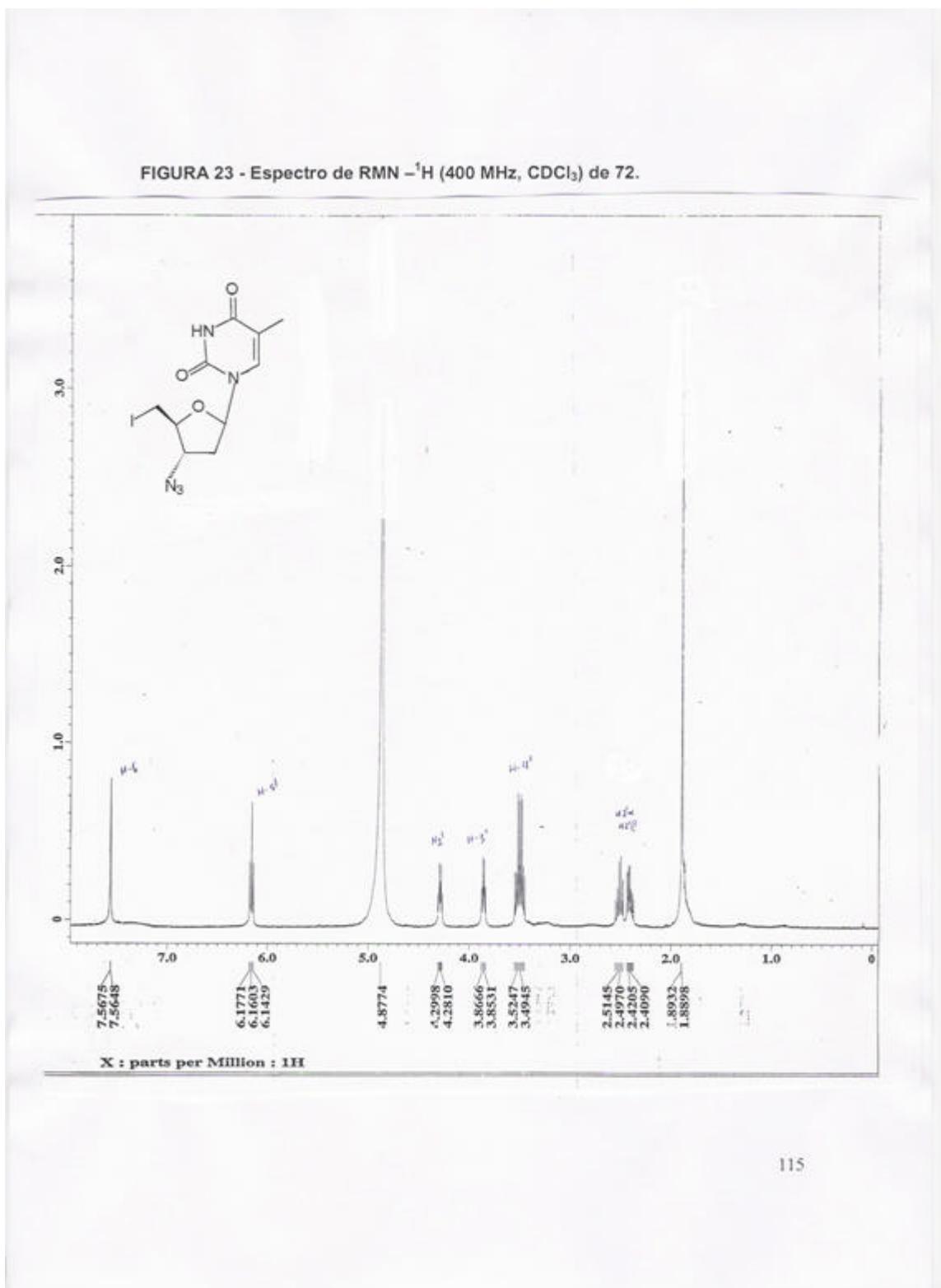


FIGURA 24 - Espectro de RMN ^{-1}H (400 MHz, CDCl_3) de 73.

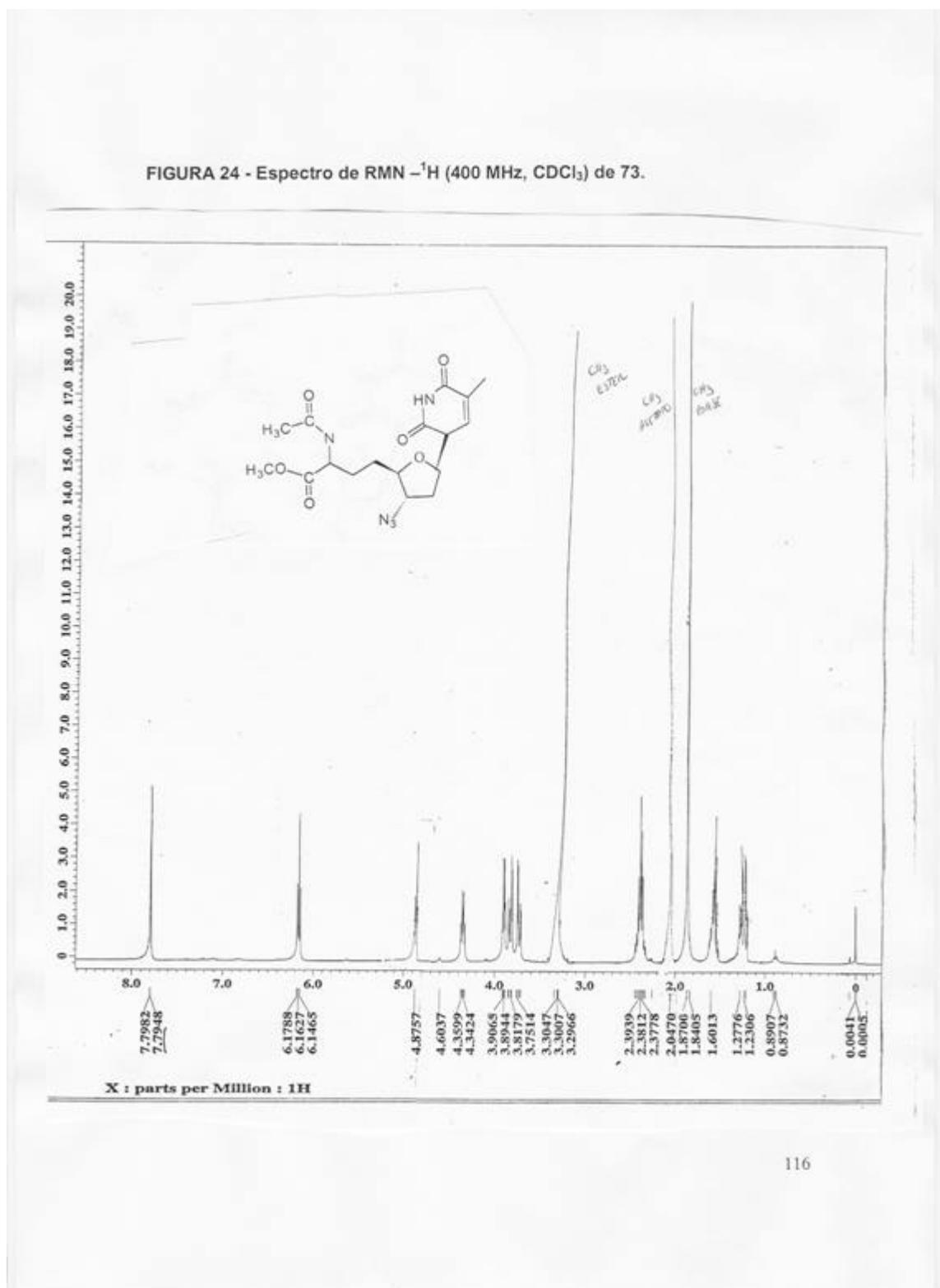


FIGURA 25 - Espectro de RMN ^{-1}H (400 MHz, CDCl_3) de 75.

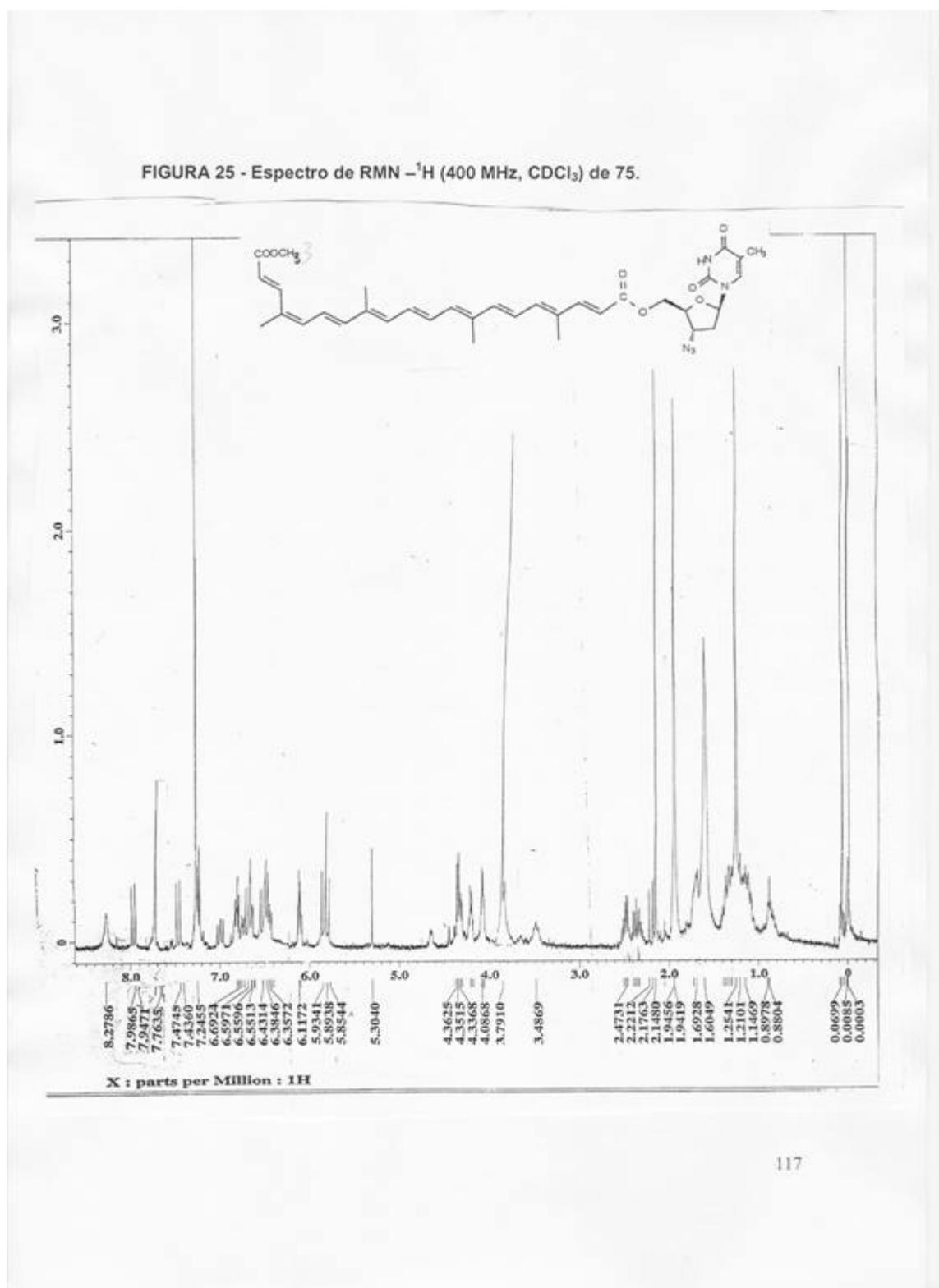
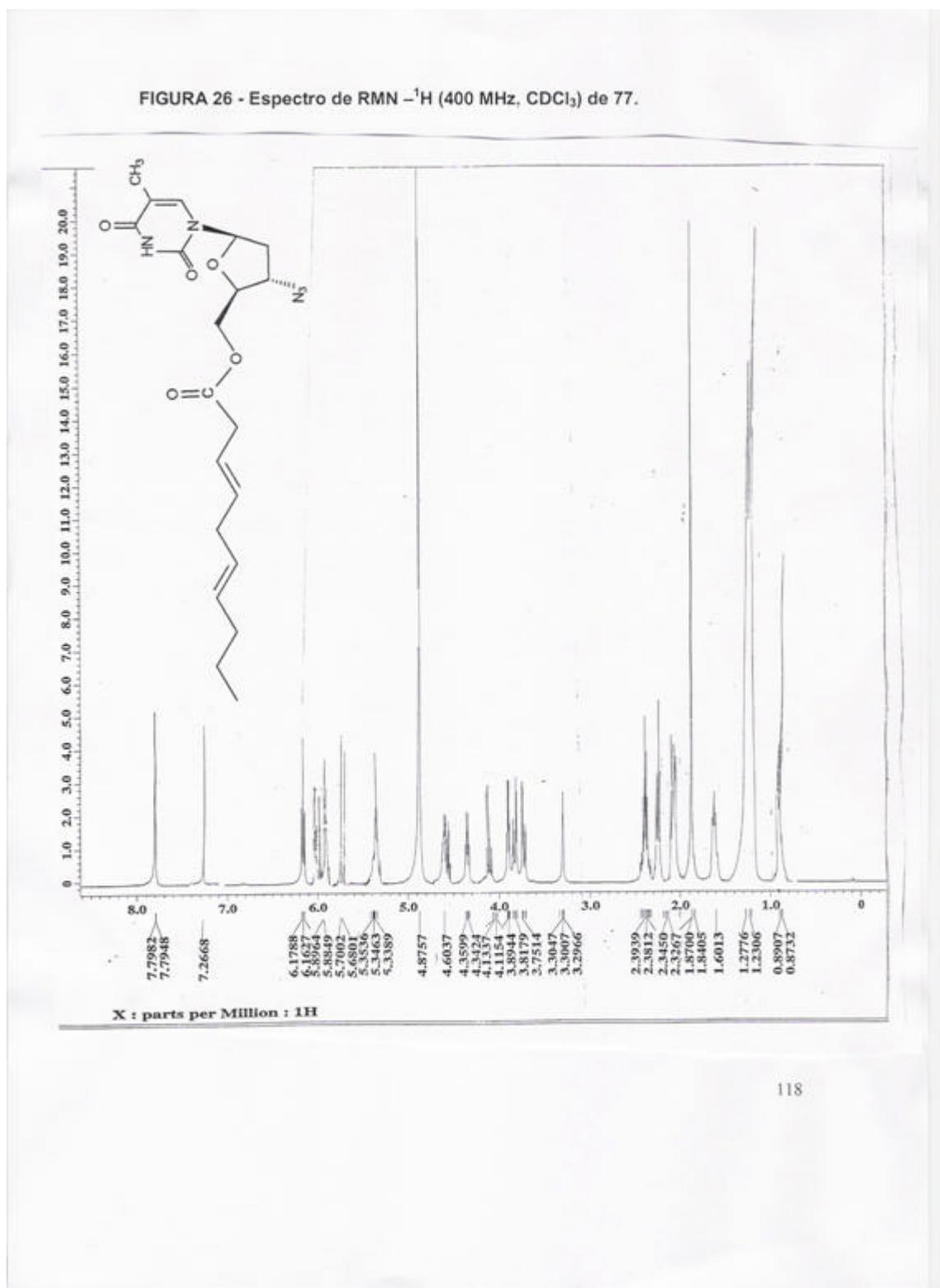


FIGURA 26 - Espectro de RMN ^{-1}H (400 MHz, CDCl_3) de 77.



8 - BIBLIOGRAFIA

AGRAWAL, C. K.; BANDARA, N. C.; Medicinal Chemistry; 1995.

ALBERTS, B.; BRAY, D.; LEWIS, M.R.; ROBERTS, K.; EATSON, J. D.; Biologia Molecular da célula, 3^a ed., Porto Alegre, Artes Médicas, **1997**.

ALLINGER, N.L.; CAVA, M. P.; JONGH, D. C. (1976) Quimica orgânica, 2.ed., Rio de Janeiro, LTC, v.1, p.961.

AMATO, V.N.; MEDEIROS, E.A.S.; KALLAS, E.G.; LEVI, G.C.; BALDY, J.L.S.; MEDEIROS, R.S.S. (1996) Aids na prática médica. São Paulo: Sarvier, p.1-6, 8, 22, 129-132.

AYMARD, G.; LEGRAND, M.; TRICHEREAU, N.; DIQUET, B. (2000) Determination of twelve antiretroviral agents in human plasma sample using reversed-phase high-performance liquid chromatography. *J. Chromatogr., B: Biomed. Sci. Appl.*, Amsterdam, v.744, n.2, p.227- 240.

BALINT, G.A. (2001) Antiretroviral therapeutic possibilities for human immunodeficiency virus/ acquired immunodeficiency syndrome. *Pharmacol. Therap.*, Amsterdam, v.89, p.17-27.

BARTON, D.H.K.; MAC. COMBIE, S.W.J., (1975) A new method for the deoxygenation of secondary alcohols,. *J.Chem. Soc., Perkin Trans I*, 1574- 1585

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Políticas de Saúde. Coordenação Nacional de DST e AIDS. Terapia anti-retroviral e saúde pública: um balanço da experiência brasileira. Brasília: Ministério da Saúde (1999), 32p.

BRONKER, M.E.; DOWEGAN, S.E.; KARNEY, W.W.; MAYERS, D.L. (1990) An updated therapeutic review: zidovudine. *Navy Med.*, Washington, v.81, n.1, p.26-28.

Center for Disease Control (1982) Epidemiologic aspects of the current outbreak of Kaposi's sarcoma and opportunistic infections, *The New England Journal of Medicine*, v. 306(4): 248-52.

CHEQUER, P.; SUDO, E.; VITÓRIA, M.A.A.; CUNHA, C.; VELOSO, G. V. Impacto da terapia anti-retroviral. Disponível em: <<http://>> Acesso em: 02 de mar. de 2001.

CHIN, J.; REMENYI, M.; MORRISON, F.; BULATORO, R.; *World Health Stat.*, 45, p. 200, 1992. The global epidemiology of the HIV/AIDS pandemic and its projected demographic impact in Africa. 1992;45(2-3):220-7.

CHU, C.K.; BEACH, J.W.; OLLAS, G.V., An Efficient Total Synthesis of 3'-Azido-3'-deoxythymidine (AZT) and 3'-Azido-2',3'-dideoxyuridine (AZDDU, CS-87) From D-Mannitol, *Tetrahedron Letters*, 29, 5349, 1988.

CREAGH-KIRK, T.; DOI, P.; ANDREWS, E. NUSINOFF-LEHRMAN, S.; TILSON, H.; HOTH, D.; BARRY, D.W. Survival experience among patients with AIDS receiving zidovudine: follow-up of patients in a compassionate plea program. (1988) *Journal American Medicine Association*, Chicago, v.260, n.20, p.3009-3015.

CULLEN, B.R. (1991) Regulations of HIV-1 gene expression. *FASEB J.*, Bethesda, v.5, p.2361-2368.

CZERNECKI, S.; LE DIGUARHER, T.; (1991) Synthesis of 1-(3'-Azido-2',3'-dideoxy- α -L-threo-pentofuranosyl) thymine as a potential anti-HIV agent, *Synthesis*, 683.

DST/Aids: Disponível em: <<http://www.aids.gov.br/final/dados/aids.htm>> e <http://www.aids.gov.br/final/dados/hiv.htm> , acesso em 01/11/2004.

DE CLERCQ, E.; La Recherche, Amsterdam, 23, 289, 1992.

DEF 2000/2001: dicionário de especialidades farmacêuticas. 29.ed. Rio de Janeiro: Publicações Científicas, 2000. p.858, 1066.

DYATKINA, N.B.; AZHA YEV, A.V.; (1984) Aminonucleosides and Their Derivatives. A New Synthesis of 1-O-Methyl-3-azido-2,3-dideoxy-D-ribofuranose, *Synthesis*, 961 - 963.

ERDMANN, P.; SCHAFER, J., SPRINGER, R., GIESE, B.; (1992) 1,2-Stereoinduction in Radicals and Anion: A Comparison between hydrogen abstraction and protonation; *Helv. Chim. Acta.* v.75, p.638-644.

FRIEDMAN-KIEN, A.E. (1981) Disseminated Kaposi sarcoma syndrome in young homosexual men. *J. Am. Acad. Dermatol.*, Saint Louis, v.5, p.468.

FISCHL, M.A.; RICHMAN, D.D.; GRIECO, M.H.; GOTTLIEB, M.S.; VOLBERDING, P.A.; LASKIN, O.L.; LEEDOM, J.M.; GROOPMAN, J.E.; MILDVAN, D.; SCHOOLEY, R.T. (1987) The efficacy of azidothymidine (AZT) in the treatment of patients with AIDS and AIDS-related complex: a double blind, placebo controlled trial. *The New England Journal of Medicine*, Boston, v.317, p.185-191.

FLEET, G.W.; SOU, J.C.; DROWE, A.E. (1988). Inhibition of HIV replication by amino-sugar derivatives; *Tetrahedron Letters*, 44, 625.

FOURREY, J.L.; GERO, M.R.; BLANCHARD, P.; DA SILVA, A.D.; MACHADO, A.S.; Zinc-Copper Couple Promoted C-Branching in the Carbohydrate Series, *Tetrahedron Letters*, 33, 52, 8069, 1992.

FRIEDMAN, S.M.; MONROE, J.M.; FRIEDMANKIEN, A.E.; LAUBENSTEIN, L.J.; MARMOR, M.; SAFAI, B.; DRITZ, S.K.; CRISPI, S.J.; FANNIN, S.L.; ORKWIS, J.P.; KELTER, A.; RUSHING, W.R.; THACKER, S.B.; CURRAN, J.W. (1983) National case control study of Kaposi's sarcoma and *Pneumocystis carinii* pneumonia in homosexual men. Part 1: Epidemiologic results. *Ann. Intern. Med.*, Philadelphia, v.99, n.2, p.145-151.

GAFFNEY, B.L.; TI, G.S.; JONES, R.A. (1982) Transient Protection: Efficient One-Flask Synthesis of Protected Deoxynucleosides, *J. Am. Chem. Soc.*, 104, 1316-1319.

GALLO, R.C. SALAHUDDIN, S.Z.; POPOVIC, M.; SHEARER, G.M.; et al; (1984) Frequent detection and isolation of cytopathic retroviruses (HTVV-III) from patients with AIDS and at risk for AIDS, *Science*, 244, p. 500-503,

GAREGG, J.; SAMUELSON, B.; Novel reagent system for converting a Hydroxi-group into an Iodo group in Carbohydrates with inversion of configuration, *J. Chem. Soc. Perkin I*, 2866, 1980.

GLINSKI, R.P.; KHAN, M.S.; KALAMAS, R.L.; SPORN, M.B. (1973) Phosphorylated 3'-amino-3'-deoxythymidine and 5'-amino-5'-deoxythymidine and derivatives, *J. Org. Chem.*, 38, 4299-4305.

GOODMAN, L.S.; GILMAN, A.; HARDMAN, J.G. (1996) Goodman & Gilman: As bases farmacológicas da terapêutica. 9.ed. New York: McGraw- Hill Interamericana, p.886, 888-889

GOTTLIEB, M.S.; SCHROFF, R.; SCHANKER, H.M.; WEISMAN, J.D.; FAN, P.T.; WOLF, R.A.; SAXON, A. (1981) *Pneumocystis carinii* pneumonia and mucosal candidiasis in previously healthy homosexual men: evidence of a new acquired cellular immunodeficiency. *N. Engl. J. Med.*, Boston, v.305, p.1425-1431.

GRAHAM, N.M.; ZEGER, S.L.; PARK, L.P.; VERMUND, S.H.; DETELS, R.; RINALDO, C.R.; PHAIR, J.P. (1992) The effects on survival of early treatment of human immunodeficiency virus infection. *N. Engl. J. Med.*, Boston, v.326, p.1037-1042.

GRIERSON, D.S.; MONNERET, C.; ADAMS, D.; R. PEREZ, C.; MAILLARD, M.; FLORENT, J.C.; EVERS, M.; HÉNIN, Y.; LITVAK, S.; LITVAK, L.; (1997) Preparation and Anti-HIV Activity of N-3-Substituted Thymidine Nucleoside Analogs; *J. Med. Chem.*; (10) p. 1550 – 1558.

HARPER, P.J.; HAMPTON, A.; SASAKI, T (1972) Substrate Properties of Cycloadenosines with Adenosine Aminohydrolase as Evidence for the Conformation of Enzyme-Bound Adenosine, *Biochemistry*, v.11, p.4736.

HATA, T.; YAMAMOTO, I.; SEKINE, M. (1980) The reaction of alcohols with a $\text{NaN}_3/\text{PPh}_3/\text{CBr}_4$ system has been known to give the corresponding azide derivatives via the SN_2 reaction pathway, *Journal Chemical Society, Perkin Trans. 1*, p. 306.

HENRY, K.; CHINNOCK, B.J.; QUINN, R.P.; FLETCHER, C.V.; MIRANDA, P.; BALFOUR Jr., H.H. (1988) Concurrent zidovudine levels in semen and serum determined by radioimmunoassay in patients with AIDS or AIDS-related complex. *The Journal of American Medical Association*, Chicago, v.259, n.20, p.3023-3026.

HO, D.D.; POMERANTZ, R.J.; KAPLAN, J.C. (1987) Pathogenesis of infections with human immunodeficiency virus. *N. Engl. J. Med.*, Boston, v.31, p.278-286.

HORWITZ, J.P.; CHUA, J.; NOEL, (1964) M. Nucleosides. 5. Monomesylates of 1-(2-deoxy-beta-D-lyxo-furanosyl)-thymidine. *J. Org. Chem.*, Columbus, v.29, n.7, p.2076-2078.

IMAZAWA, M.; ECKSTEIN, F.J.; *Journal Organic Chemistry*, 43, 15, 3044 – 3048, 1978.

JAFFE, H.W.; CHOI, K.W.; THOMAS, P.A.; HAVERKOS, H.W.; AUERBACH, D.M.; GUINAN, M.E.; ROGERS, M.F.; SPIRA, T.J.; DARROW, W.W.; KRAMER, M.A.; POLI, G.; PANTALEO, G.; FAUCI, A. S. (1993) Immunopathogenesis of human immunodeficiency virus infection. *Clinical Infectious Diseases*, Chicago, v.17 suppl 1, p.224-229.

JOHNSON, R.; CHENOWETH, D.J.; (1989), *Journal Biological Chemistry*, 260, 7161-7164.

JOINT UNITED NATIONS PROGRAMME ON HIV/AIDS; WORLD HEALTH ORGANIZATION (UNAIDS/WHO). Aids epidemic update. Disponível em: <<http://www.who.org>> Acesso em: 20 fev. 2001.

JOINT UNITED NATIONS PROGRAMME ON HIV/AIDS; WORLD HEALTH ORGANIZATION (UNAIDS/WHO). (2002) Epidemiological fact sheets on HIV/AIDS and sexually transmitted infections: Brazil. Disponível em <<http://www.who.org>> Acesso em 12 nov. 2002.

KLECKER, R.W.; COLLINS, J.M.; YARCHOAN, R.; THOMAS, R.; JENKIS, J.F.; BRODER, S.; MYERS, C.E. (1987) Plasma and cerebrospinal fluid pharmacokinetics of 3-azido-3-deoxythymidine: a novel pyrimidine analogue with potential application for the treatment of patients with AIDS and related diseases. *Clinical Pharmacology and Therapeutics*, Saint Louis, v.41, n.1, p.407-412.

KOPP, E.B.; MIGLIETTA, J.J.; SHRUTKOWSKI, A.G.; SHIH, C.; GROB, P.M.; SKOOG, M.T. (1991) Steady state kinetics and inhibition of HIV-a reverse transcriptase by a non-nucleoside dipyridodiazepinone, BIRG-587, using a

heteropolymeric template. *Nucleic Acids Research*, Oxford, v.19, n.11, p.3035-3039.

KOWOLLIK, G; GAERTNER, K.; LANGEN, P. (1969) Eine einfache methode zur direkten darstellung von α .3'-cyclo-2'-desoxy-nucleosiden, *Tetrahedron Letters*, 3863-3865 (10).

KRENITSKY, A.T.; FREEMAN, A.G.; SHAVER, S. R.; BEACHAM, L.M.; HURLBERT, S.; COHN, N.K.; ELWELL, L.P.; SELWAYI, J.W. (1983) 3'-Amino-2',3'-dideoxyridonucleosides of Some Pyrimidines: Synthesis and Biological Activities, *Journal Medicinal Chemistry.*, 891-895.

KUSTER, H.; VOGT, M.; JOSS, B.; NADAI, V.; LUTHY, R. (1991) A method for the quantification oh intracelular zidovudine nucleotides. *Journal Infectious Diseases*, Chicago, 164, n. 4, p. 773-776.

LARDER, B.A.; DARBY, G.; RICHMANN, D.D. (1989) HIV with reduced sensitivity to zidovudine (AZT) isolated during prolonged therapy. *Science*. Washington, v.243, p.1731-1734.

LANGTRY, H.D.; CAMPOLFRICHARDS, D.M. (1989) Zidovudine: a review of its pharmacodynamic and pharmacokinetic properties and therapeutic efficacy. *Drugs*, Auckland, v.37, n.4, p.408-450.

LIN, T. S.; SCHINAZI, R. F.; PRUSOFF, W. H.; (1987) Potent and selective in vitro activity of 3'-deoxythymidin-2'-ene (3'-deoxy-2',3'-didehydrothymidine) against human immunodeficiency virus, *Biochemistry Pharmacology*, 36, 2713.

LUCHE, J. L.; ALLAVENA, C.; PETRIER, C.; DUPUY, C. (1988) Ultrasound in organic synthesis 17 mechanistic aspects of the conjugate additions to α -enones in aqueous media, *Tetrahedron letters*; v.29; p.5373 – 5374.

MADHOK, R.; FORBES, C.D.; EVATT, B.L., (1987) eds. Blood, blood products and AIDS. London: Chapman and Hall. p.3-88 (The Johns Hopkins series in contemporary medicine and public health).

MARK, H.; BEERS, M.D.; ROBERT BERKOW, M.D. The Merck manual of diagnosis and therapy. 17.ed. Section 13, Chapter 163. Disponível em: <<http://www.merck.com>.> Acesso em: 2 mar. 2001.

MARKOWITZ, M. (1996) Inibidores da protease: O que eles são, como funcionam, quando usá-los, International Association of Physicians in AIDS Care (IAPAC), Disponível em: <http://www.iapac.org>. Acesso em: 4 fev. 2002.

MARTINDALE, W.H.; REYNOLDS, J.E.F., (1996) The extra pharmacopeia. 31.ed.- London: *Royal Pharmaceutical Society*, p.2739

McLEOD, G.X.; HAMMER, S.M. , (1992) Zidovudine: five years later. *Annals of Internal Medicine*, Philadelphia, v.117, p.487.

MERCK index. (1996) 12.ed. Withehouse Station,. p.3148, 5365, 8958, 10242, 10252.

MITSUYA, H.; YARCHOAN, R.; BRODER, S. (1990) Molecular targets for AIDS therapy. *Science*, Washington, v.249, p.1533.

MOFFATT, J.G.; VERHEYDEM, J.; (1970) Halo sugar nucleosides. I. Iodination of the primary hydroxyl groups of nucleosides with methyltriphenoxyphosphonium iodide *Journal Organic Chemistry*, 35, 7, 2319-2326.

MOORE, R.D.; HIDALGO, J.; SUGLAND, B.W.; CHAISSON, R.E. (1991) Zidovudine and the natural history of the acquired immunodeficiency syndrome. *N. Engl. J. Med.*, Boston, v.324, p.1412-1416.

NEENAM, J.P.; OPITZ, S. M.; COOKE, C. L. (1996) Adenosine dialdehyde analogs I: Regioselective synthesis of adenosine monoaldehydes *Bioorganic & Medicine Chemistry Letters.*; n.6, v.12, p.1381-1386.

Organização Mundial da Saúde (2004) *Recomendações para Terapia Anti-Retroviral em adultos e adolescentes infectados pelo HIV 2004.*

ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD (1998) Modelo OMS de información sobre prescripción de medicamentos: medicamentos utilizados en las enfermedades de transmisión sexual y la infección por el VIH. Ginebra: OMS, p.33-40.

OSTERTAG, W.; ROESLER, G.; KRIEG, C.J.; KIND, J.; COLE, T.; CROZIER, T.; GAEDICKE, G.; STEINHEIDER, G.; KLIGE, N.; DUBE, S. (1974) Introduction of endogenous virus and of thymidine kinase by bromodeoxyuridine in cell cultures transformed by friend virus. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, U. S. A., Washington, v.71, n.12, p.4980-4985.

POLI, G.; PANTALEO, G.; FAUCI, A. S. (1993) Immunopathogenesis of human immunodeficiency virus infection. *Clinical Infectious Diseases.*, Chicago, v.17 suppl 1, p.224-229.

REESE, C.B. & GRIFFIN, B.E. (1963) *Biochem. Biophys. Acta*, 68, 185-192.

SANDSTROM, E.; OBERG, B. (1993a) Antiviral therapy in human immunodeficiency virus infections. Part I. *Drugs*, Auckland, v.45, p.488-508.

SANDSTROM, E.; OBERG, B. (1993b) Antiviral therapy in human immunodeficiency virus infections. Part II. *Drugs*, Auckland, v.45, p.637-653.

SCHREIBER, S.; IKEMOTO, N.; (1988) Synthesis of chemically reactive analogues of AZT and their biological evaluation against HIV, *Tetrahedron Letters*, 29, 3211-3214.

SOUZA, de M.V.N.; ALMEIDA, M.V. (2003) *Química Nova*, vol. 26; nº 3; p. 366-372.

SOUZA, M.P., MATOS, M.E.O., MATOS, F.J.A., MACHADO, M.I.L., CRAVEIRO, A.A.; (2004) *Constituintes químicos ativos e propriedades biológicas de plantas medicinais brasileiras*, EDITORA UFC, 2^A EDIÇÃO. p.422-424.

SPENCE, R.A.; KATI, W.M.; ANDERSON, K.S.; JOHSON, K.A. (1995) Mechanism of inhibition of HIV-1 reverse transcriptase by nonnucleoside inhibitors. *Science*, Washington, v.267, p.988.

STARNES, M.C.; CHENG, Y.C. (1989) Human immunodeficiency virus reverse transcriptase-associated RNase H activity. *Journal Biological Chemistry*, Bethesda, v.264, n.12, p.7073-7077.

TAN, X.; BOUDINOT, D. Simultaneous determination of zidovudine and its monophosphate in mouse plasma and peripheral red blood cells by high performance liquid chromatography. (2000) *Journal of chromatography. B, Biomedical sciences and applications*, Amsterdam, v.740, n.2, p.281-287.

TERAPIA ANTIRETROVIRAL E SAÚDE PÚBLICA: UM BALANÇO DA EXPERIÊNCIA BRASILEIRA. Coordenação Nacional de DST e AIDS. Brasília: Ministério da Saúde, p. 10, (1999).

TRINH, M. C.; FLORENT, J. C.; GRIERSON, D. S.; MONNERET, C.; (1994) Synthesis and Antiviral Study of Acyclic Analogs of 3-Azido, 3-Amino, and 3-Fluoro-3'-deoxythymidine, and of HEPT analogs, *Synthesis*, 939-943.

WATANABE, A.K. & WARSHAW, J.A. (1990) 2'-Azido-2',3'-dideoxypyrimidine Nucleosides. Synthesis and Antiviral Activity against Human Immunodeficiency virus, *Journal Medicine Chemistry*, 33, 1663-1666.

WILSON & GISVOLD'S, (1988) *Textbook of organic medicinal and farmaceutical chemistry*, Editora Lippincott Williams & Wilkins, p. 5, 90, 125-137.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO/ UNAIDS - Joint United Nations Programs on HIV/AIDS), disponível em: <<http://www.who.int/3by5/en/Progressreport.pdf>> ; acesso em 01/11/2004.

YARCHOAN, R. MITSUYA, H.; MYERS, C.E.; BRODER, S. (1989) Clinical pharmacology of 3'-azido-2',3'-dideoxythymidine (zidovudine) and related dideoxynucleosides. *N. Engl. J. Med.*, Boston, v. 321, p. 726-738.