

Desenvolvimento e Caracterização de Aminoácidos Não Naturais para a Construção de Inibidores Peptidomiméticos Virais da Mpro do SARS-CoV-2

Paulo da Conceição Matui

Orientador e Colaboradores

Prof. Dr. Carlos Alberto Montanari; Me. Luis Fernando Barbosa; Dr. Saulo Passos

Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo
paulo.cmatui@usp.br

Objetivos

O objetivo deste projeto de Iniciação em Desenvolvimento Tecnológico é o desenvolvimento e caracterização de novos aminoácidos não naturais (NNAAs), baseados em heterociclos nitrogenados, destinados ao uso como Building Blocks no design e na otimização de inibidores covalentes reversíveis da Mpro do SARS-CoV-2.

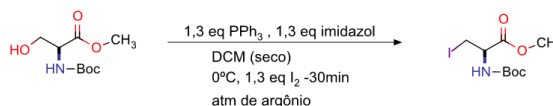
Métodos e Procedimentos

A síntese dos NNAAs foi realizada principalmente por acoplamentos cruzados de Negishi (C–C) e Buchwald–Hartwig (C–N), ambos catalisados por complexos de paládio, escolhidos pela necessidade de adequação às diferentes funções reativas das cadeias laterais. Para reduzir custos, também foram exploradas rotas sem metais de transição, como reações de substituição nucleofílica bimolecular (SN2) em derivados citosínicos, com e sem ativação prévia da amina primária.

No acoplamento de Buchwald–Hartwig, a amina citosínica atuou como nucleófilo frente ao carbono lateral da iodo-alanina, por meio de um mecanismo clássico de ativação oxidativa, formação de intermediário amido-paládio e eliminação redutiva, permitindo a inserção seletiva de heterociclos nitrogenados e maior diversidade eletrônica e estérica dos Building Blocks.

A caracterização dos compostos foi feita por HPLC-MS e HPLC-DAD (pureza e homogeneidade), além de RMN de ¹H e ¹³C (confirmação estrutural). Ensaios in silico de ancoragem molecular indicaram interações promissoras com a Mpro, sugerindo boa afinidade e mecanismos potenciais de inibição.

Primeira etapa:



Segunda etapa:

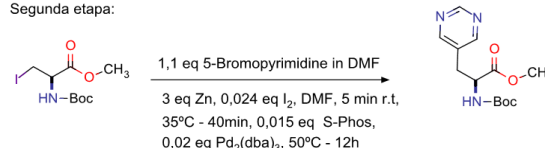


Figura 1. Esquema linear do mecanismo de reação do acoplamento cruzado de Negishi.

Resultados

Até o momento, foram sintetizados seis building blocks heterocíclicos (pirimidina, piridazina, pirazina, indol, citosina e benzimidazol, vide Figura 2), que apresentaram potenciais inibitórios relevantes em ensaios preliminares de Molecular Docking. Esses resultados reforçam a viabilidade dos NNAAs como blocos construtores de inibidores peptidomiméticos e apontam para futuras

investigações de suas propriedades farmacocinéticas^{1,2,3}.

O derivado de indol foi obtido por acoplamento de Negishi, com alta pureza (96,3%) e identidade confirmada por HPLC-MS e RMN, enquanto o derivado de pirimidina apresentou impurezas e aguarda análises adicionais. A síntese do NNAA-citosina, via NaH, não forneceu resultados estruturais confiáveis, mas segue como alvo promissor, porém, não mais por essa rota. Dessa forma, foi aplicada acoplamento de Buchwald-Hartwig, o qual se mostrou bastante promissor na obtenção deste produto. Ainda aguardando resultados de análise; já os derivados de piridazina mostraram limitações, sendo que um não foi confirmado por HPLC-MS e outro, com adição de TMSCl, ainda carece atingir pureza para caracterização. O NNAA-benzimidazol foi feito por acoplamento de Negishi com adição de TMSCl, obtendo fortes indícios de formação do produto com alto rendimento. Ainda aguardando resultados de análise.

Complementarmente, foi explorada a reação de Ugi para dipeptídeos, que apresentou baixa formação de subprodutos (83,4% do produto) e indícios de seletividade estereoisomérica. Esses resultados demonstram a viabilidade e os desafios na obtenção de NNAAs como building blocks estratégicos para futuros inibidores antivirais.

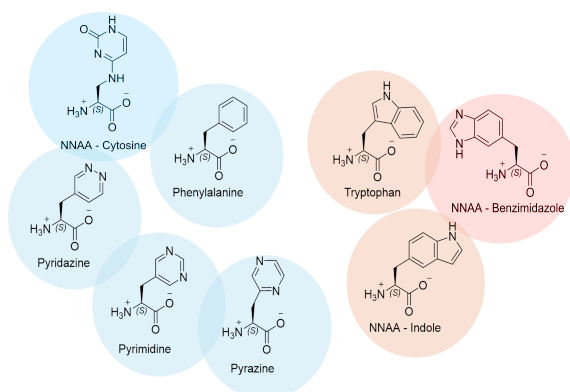


Figura 2: Esquema comparativo entre os NNAAs desenvolvidos, derivados de Fenilalanina e Triptofano.

Conclusões

Os resultados preliminares confirmam a viabilidade das rotas sintéticas e a obtenção de NNAAs com potencial para inibidores peptidomiméticos da Mpro. A combinação de acoplamentos cruzados e rotas nucleofílicas mais econômicas ampliou a eficiência e a diversidade estrutural. As próximas etapas incluem a síntese de novos derivados, avaliação de suas propriedades químicas e biológicas e aplicação no design de inibidores covalentes reversíveis, consolidando os NNAAs como ferramentas estratégicas para o avanço da química medicinal e do desenvolvimento de terapias antivirais seguras e eficazes.

Os autores declaram não haver conflito de interesses.

Referências

1. BLASKOVICH, M. A. T. Unusual Amino Acids in Medicinal Chemistry. *Journal of Medicinal Chemistry*, v. 59, n. 24, p. 10807–10836, 22 dez. 2016.
2. FROKJAER, S.; OTZEN, D. E. Protein drug stability: a formulation challenge. *Nature Reviews Drug Discovery*, v. 4, n. 4, p. 298–306, abr. 2005.
3. ROCHO, F. R. et al. Differential specificity of SARS-CoV -2 main protease variants on peptide versus protein-based substrates. *The FEBS Journal*, v. 291, n. 1, p. 61–69, jan. 2024.
4. ZHOU, J.; FU, G. C. Palladium-Catalyzed Negishi Cross-Coupling Reactions of Unactivated Alkyl Iodides, Bromides, Chlorides, and Tosylates. *Journal of the American Chemical Society*, v. 125, n. 41, p. 12527–12530, 1 out. 2003.