

SOBRE O DESENVOLVIMENTO DE BLOCOS DE CONSTRUÇÃO PARA A SÍNTESE DE INIBIDORES DA PRINCIPAL PROTEASE DO CORONAVÍRUS SARS-CoV-2 M^{pro}

Vinícius Gimenes Roqueto

Prof. Dr. Carlos Alberto Montanari

Instituto de Química de São Carlos

vini.g_roqueto@usp.br

Objetivos

Este trabalho teve como objetivos iniciais a capacitação do aluno envolvendo o levantamento bibliográfico sobre química medicinal e o treinamento laboratorial voltado tanto para as principais técnicas, quanto para a operação dos equipamentos utilizados na síntese orgânica a fim de gerar a adaptação com as atividades principais cujos objetivos foram desenvolver aminoácidos não naturais¹ pela reação de acoplamento cruzado de Negishi com organozinco², purificá-los e caracterizá-los para atuarem como blocos de construção³ de inibidores peptídicos do grupo NEQUIMED focados na SARS-Cov-2 3CL M^{pro}, visando dar autonomia na síntese ao reduzir a necessidade de importação dos blocos e de modo a aumentar a solubilidade dos inibidores garantindo, ainda, boa permeabilidade⁴.

Métodos e Procedimentos

Primeiramente, de forma computacional, foram definidos os grupos que ocupariam a posição P1 dos inibidores peptídicos para que os mesmos fossem inseridos na cadeia lateral de um aminoácido protegido, estabelecendo-se o indol e a pirazina para a síntese. Desse modo, a inserção desses grupos foi realizada em duas etapas, na qual a primeira é a síntese do precursor que consistiu em uma substituição nucleofílica partindo do reagente éster metílico de N-Boc-L-serina, iodo, imidazol e trifetilfosfina, convertendo-o no produto éster metílico de N-Boc-3-iodo-L-alanina⁵. Essa reação ocorre em DCM anidro como solvente e em banho de gelo no balão com imidazol e trifetilfosfina para a adição lenta de iodo e

posteriormente na adição por gotejamento do éster. Na qual a reação foi monitorada por placas de TLC 30% acetato de etila/hexano. Esse composto, foi purificado por cromatografia em coluna de sílica num gradiente iniciando em 10% até 24% acetato de etila/Hexano como eluente, o solvente foi rotaevaporado e o composto foi seco sob alto vácuo preparando-o para a segunda etapa que consistiu na reação de acoplamento cruzado de Negishi com organozinco⁶, envolvendo o iodeto de alquila com um brometo de heteroarila, no caso a bromopirazina e o 5-bromoindol catalisada por 5 mol% de Pd(amphos)₂Cl₂ e Zn_(s) a 37 °C durante 24 horas em DMF anidro. O monitoramento por TLC em 40% acetato de etila/hexano. Os produtos foram submetidos a uma filtração em 3 cm de celite e lavados com acetato de etila/ hexano 30% e então o bloco contendo a pirazina foi purificado em coluna de sílica de 30% a 46% acetato de etila/hexano gerando, enquanto aquele contendo o indol, em 10 a 20%.

A caracterização do produto foi feita pelo HPLC-DAD-MS utilizando metanol como eluente na coluna C18.

Resultados

Foram obtidos rendimentos baixos nas primeiras sínteses e houve uma dificuldade na purificação do aminoácido protegido methyl 3-((tert-butoxycarbonyl)amino)-3-(pyrazin-2-yl) propanoate, porém os resultados progrediram com o decorrer do projeto. A primeira síntese de N-Boc-3-iodo-L-alanina apresentou um rendimento baixo de 51,33% quando comparado com o artigo de referência e a

modificação do procedimento trouxe um novo valor de 74% de rendimento para a reação após a purificação. Já para o aminoácido citado. Após o acoplamento do cruzado do precursor com a bromopirazina, obteve-se 6 diferentes produtos na interpretação de placas TLC reveladas em UV-Vis e em ninidrina e, que após a separação em coluna de sílica, teve a caracterização por espectrometria de massas ilustrado pela Figura 1 em que é possível visualizar os picos do íon molecular e do fragmento com a ruptura do grupo protetor Boc, gerando um rendimento de 14,4%, necessitando de correções no procedimento da que resultaram num aumento para 35,7% com pureza de 96,81% como mostrado no cromatograma da Figura 2. Para o derivado do triptofano, o rendimento foi maior, chegando a 51%, seguindo o artigo base de sua síntese.

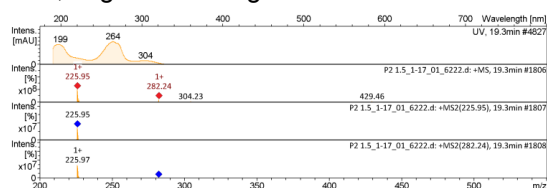


Figura 1: Espectro de massas atestando a presença do aminoácido não natural.

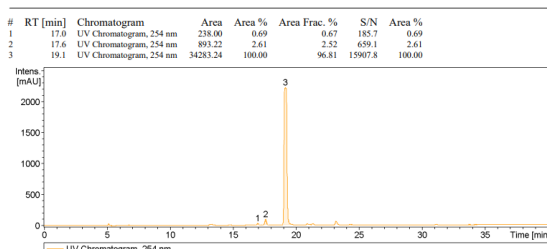


Figura 2: Cromatograma determinando a pureza do produto.

Conclusões

Com os dados gerados neste trabalho e pela interpretação dos espectros, é possível inferir que foi definido um ótimo método para a purificação do principal aminoácido não natural deste projeto com 96,81% de pureza, mesmo com a formação de outros cinco subprodutos identificados. Ademais, é perceptível que o rendimento da reação é considerado baixo pela formação de muitos subprodutos em quantidades que podem ser diminuídas por

alterações no procedimento como a variação dos equivalentes de zinco e volume de solvente no processo de catálise heterogênea aumentando o rendimento da reação mais do que o dobro.

Agradecimentos

Expresso meus agradecimentos ao Prof. Dr. Carlos Alberto Montanari pela oportunidade de realizar este trabalho. Agradeço também ao Wellington Falcão de Souza pela capacitação no laboratório e, principalmente, ao CNPq pelo financiamento do projeto e pelos pareceres nos relatórios.

Referências

- (1) Blaskovich, M. A. T. Unusual Amino Acids in Medicinal Chemistry. *J. Med. Chem.* **2016**, *59* (24), 10807–10836. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.6b00319>.
- (2) Dachwitz, S.; Scharowski, B.; Sewald, N. Negishi Cross-Coupling Provides Alkylated Tryptophans and Tryptophan Regioisomers. *Chem. – Eur. J.* **2021**, *27* (72), 18043–18046. <https://doi.org/10.1002/chem.202103353>.
- (3) Wang, Y.; Haight, I.; Gupta, R.; Vasudevan, A. What Is in Our Kit? An Analysis of Building Blocks Used in Medicinal Chemistry Parallel Libraries. *J. Med. Chem.* **2021**, *64* (23), 17115–17122. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.1c01139>.
- (4) Savjani, K. T.; Gajjar, A. K.; Savjani, J. K. Drug Solubility: Importance and Enhancement Techniques. *ISRN Pharm.* **2012**, *2012*, 195727. <https://doi.org/10.5402/2012/195727>.
- (5) Atmuri, N. Preparation of N-(Boc)-Allylglycine Methyl Ester Using a Zinc-Mediated, Palladium-Catalyzed Cross-Coupling Reaction. *Org. Synth.* **2015**, *92*, 103–116. <https://doi.org/10.1522/orgsyn.092.0103>.
- (6) Sagar, S.; Patra, S. R.; Bhunia, S. Chapter 2 - Recent Advance in Nanoparticle Catalysts for C–C Cross-Coupling Reaction. In *Nanoparticles in Green Organic Synthesis*; Bhunia, S., Kumar, B., Singh, P., Oraon, R., Kim, K.-H., Eds.; Advances in Green and Sustainable Chemistry; Elsevier, 2023; pp 41–73. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-95921-6.00019-6>.