

Desenvolvimento de Aminoácidos Não Naturais Baseados no Heterociclo Piridazina como Grupos Substituintes para Inibidores da Principal Enzima Protease do Coronavírus SARS-CoV-2

André Yoshio Mori

Prof. Dr. Carlos Alberto Montanari

Instituto de Química de São Carlos

andremori@usp.br

Objetivos

O presente trabalho teve como objetivo a síntese de aminoácidos não naturais, com a inserção de anéis aromáticos nitrogenados no lugar da hidroxila do aminoácido serina. Esse processo foi realizado por meio da reação de acoplamento de Negishi, sendo antecedido pelo preparo da Iodo-alanina.

Os compostos sintetizados foram purificados e caracterizados por espectro de massas e RMN e serão utilizados pelo grupo para a síntese de di- e tri-peptidilnitrilas que podem atuar como inibidores da principal protease dos vírus tipo SARS-CoV-2. O uso dessas moléculas é justificado para se tentar solucionar o problema da solubilidade dos peptídeos já sintetizados anteriormente no laboratório.

Métodos e Procedimentos

A síntese dos aminoácidos não naturais feita pelo grupo se inicia com a síntese da N-Boc-3-iodo-L-alanina partindo do aminoácido serina, protegido pelo grupo Boc e por esterificação, mas com a hidroxila livre. Essa reação ocorre a 0 °C e protegida da luz com um balão envolvido de papel alumínio, começando pela adição de trifetilfosfina e imidazol em diclorometano anidro, nesse meio reacional, é adicionado Iodo lentamente. Após todo o Iodo ter reagido, é acrescentado o aminoácido por gotejamento e após todo o

aminoácido estiver sendo colocado, espera-se 1 hora para a reação, que então é monitorada por Cromatografia de camada delgada até os reagentes serem consumidos ^[1]. Com o produto desta reação, é realizada uma filtração em sílica gel e com uma mistura de 50% acetato de etila e 50% de hexano, o filtrado é levado ao rotaevaporador e o composto seco é armazenado na geladeira para o uso na próxima reação.

Seguindo com a síntese dos aminoácidos, é realizada a reação de acoplamento de Negishi utilizando um heterocíclico nitrogenado e com o bromo como um substituinte do anel. Para a reação, primeiro foi adicionado a N-Boc-3-iodo-L-alanina e o zinco metálico e deixado sob agitação no solvente DMF anidro por 15 minutos para a formação de um organozinco ^[2]. Então foi adicionado o heterociclo e um catalisador de paládio, no caso Pd(Amphos)₂Cl₂^[3,4], o sistema foi deixado sob atmosfera inerte e em temperaturas entre 40 e 50 °C por 24 horas. Após esse período, a reação foi monitorada por cromatografia de camada delgada e quando o heterociclo deixa de aparecer, a reação é dada como concluída. Para a purificação, foram realizadas 2 filtrações, uma em celite e outra em sílica gel, com acetato de etil; o filtrado é lavado com *brine* e carbonato de sódio e, por fim, é realizado uma cromatografia em coluna *flash*.

Para a caracterização, foi utilizado um sistema HPLC-DAD-MS com as colunas CHIRALPAK

IB/IC, além das amostras terem sido enviadas para uma análise de RMN H.

Resultados

Na primeira parte da síntese, a N-Boc-3-iodo-L-alanina foi obtida com um rendimento de 80%, semelhante ao descrito no artigo de referência. A partir desse precursor, foram sintetizados três aminoácidos ao final do projeto: 2-amino-3-(piridazin-4-il)propanoico, 2-amino-3-(piridin-4-il)propionico e 2-amino-3-fenilpropanoico. Os rendimentos obtidos para esses aminoácidos variaram entre 20% e 40%, com exceção do aminoácido contendo o anel heterocíclico de piridazina, cujo rendimento foi ainda menor, em torno de 2%, sendo o mais difícil de sintetizar.

O produto de todas as reações resultou em um óleo amarelado, indicando a presença de algumas impurezas. No entanto, o aminoácido contendo indol formou um sólido branco. As imagens 1 e 2 mostram exemplos dos espectros de massas e RMN obtidos para o composto com pirazina.

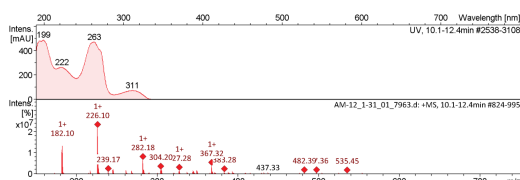


Imagem 1. Espectro de massas do produto sintetizado da reação de acoplamento de Negishi com 5-Bromo-Piridazina.

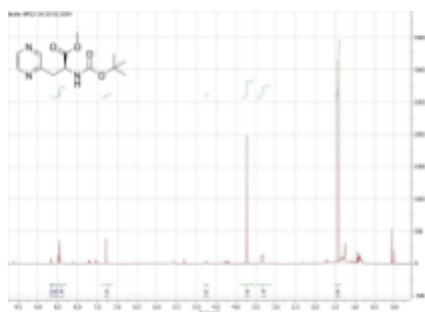


Imagem 2. RMN do produto sintetizado da reação de acoplamento de Negishi com 5-Bromo-Piridazina.

Conclusões

A partir do procedimento realizado no projeto, foi possível sintetizar os aminoácidos não naturais propostos, embora o rendimento das reações sejam baixos, ainda é possível utilizar os compostos para a produção de novos inibidores no grupo. Vale ressaltar que ainda se deve encontrar algum meio de aumentar o rendimento das reações, principalmente para o aminoácido 2-amino-3-(piridazin-4-il)propanoico que o aluno apresentou dificuldades na síntese.

Agradecimentos

Agradeço aos integrantes do grupo de pesquisa pelo auxílio na realização deste trabalho, com enfoque ao professor Carlos Montanari pela oportunidade da realização desta pesquisa. Também agradeço ao CNPq pelo financiamento do trabalho realizado.

Referências

- (1) ATMURI, N. Preparation of N-(Boc)-Allylglycine Methyl Ester Using a Zinc-mediated, Palladium-catalyzed Cross-coupling Reaction. *Organic Syntheses*, v. 92, p. 103–116, 2015.
- (2) CORREIA, C. R. D. O Prêmio Nobel de Química de 2010, Acoplamentos Cruzados e o BMOS - 14. *Revista Processos Químicos*, v. 5, n. 9, p. 79–87, 3 jan. 2011.
- (3) AMIN, S. A. et al. Protease targeted COVID-19 drug discovery: What we have learned from the past SARS-CoV inhibitors? *European Journal of Medicinal Chemistry*, v. 215, p. 113294, abr. 2021.
- (4) DACHWITZ, S.; SCHARKOWSKI, B.; SEWALD, N. Negishi Cross-Coupling Provides Alkylated Tryptophans and Tryptophan Regioisomers. *Chem. Eur. J.*, v. 27, n. 72, p. 18043 - 18046, 23 dez. 2021.