

Preparação de inibidores da AOX baseados nas estruturas dos produtos naturais coletoclorina B & D – parte II

Palavras-Chave: inibidor enzimático, síntese orgânica total, Oxidase Alternativa.

Autores:

Gustavo de Paiva Ramalho (IC), DQO – IQ

Prof. Dr. Paulo Miranda (orientador), DQO – IQ

MSc. Gilberto Gaspar Duarte Ortin, DQO – IQ

INTRODUÇÃO:

As coletoclorinas (figura 1) são metabólitos secundários pertencentes à classe dos meroterpenoides, produzidos por fungos como *Colletotrichum nicotianae* e *Nectria galligena*.^[1,2] Esses compostos apresentam um núcleo aromático hexassubstituído derivado do resorcinol, uma unidade terpênica e um carbono altamente oxidado, como um aldeído ou ácido carboxílico.^[3] Sua importância reside na capacidade de inibir a enzima oxidase alternativa (AOX), uma proteína que atua em condições de estresse oxidativo.^[4] Alguns organismos dos reinos Protista e Fungi possuem a AOX, que lhes confere resistência quando a cadeia respiratória principal é inibida. Entre os patógenos humanos que possuem essa enzima estão *Trypanosoma brucei* (causador da doença do sono), *Paracoccidioides brasiliensis*, *Cryptosporidium parvum*, *Blastocystis hominis* e *Candida albicans*.^[5]

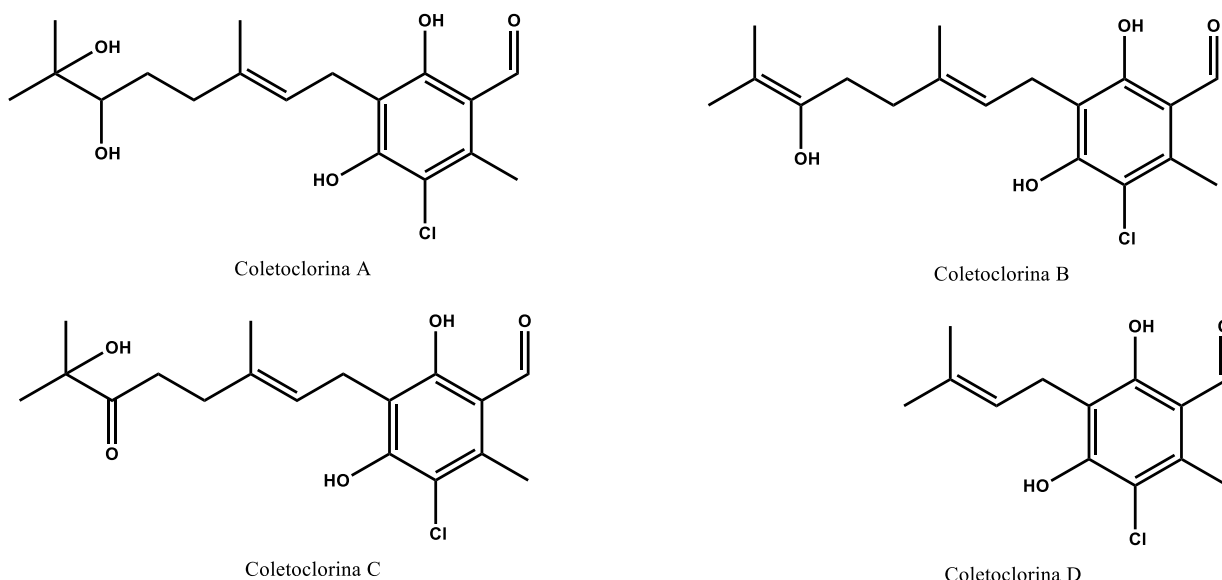


Figura 1 – Coletoclorinas de A a D.

A AOX mantém a homeostase celular, permitindo que a transferência de elétrons seja diretamente para o oxigênio quando a cadeia respiratória principal está inibida, como por cianeto ou outros agentes.^[4] Essa via alternativa não contribui significativamente para a produção de ATP, mas garante a sobrevivência do microrganismo pela mitigação dos efeitos da resposta ROS no hospedeiro em função da infecção.^[5] No contexto fitopatológico e agrícola, a AOX está presente no patógeno do cacauero *Moniliophthora perniciosa*,

fungo causador da vassoura-de-bruxa.^[4] Não existem, atualmente, métodos de tratar esta praga agrícola, sendo necessário o corte e sacrifício da planta quando infectada resultando em problemas na produção de cacau podendo acarretar em grandes problemas econômicos aos lavradores de cacau.^[4]

O desenvolvimento de rotas sintéticas das coletoclorinas é uma estratégia promissora para combater tanto patógenos humanos quanto agrícolas, que possuem a AOX.^[6] A coletoclorina D, por exemplo, demonstra atividade inibitória em concentrações nanomolares contra a AOX do *Trypanosoma brucei*.^[5] Além disso, a síntese de derivados não naturais desses compostos pode melhorar sua eficácia e seletividade, oferecendo soluções para doenças negligenciadas e pragas agrícolas.^[2]

METODOLOGIA:

A síntese das coletoclorinas se iniciam com a dioxinona, a qual é halogenada, acilada, alquilada e posteriormente passa por uma reação de acoplamento Suzuki e a partir do produto da reação de Suzuki pretende-se ciclar, halogenar e reduzir gerando o produto de interesse.

A halogenação foi feita com iodo e com bromo, na posição vinílica da dioxinona (figura 2). A iodação foi realizada utilizando 1 equivalente de dioxinona, 4 equivalentes de iodo molecular, piridina em concentrações catalíticas e DMF como solvente. A reação ocorreu à temperatura ambiente, sob agitação constante e proteção da luz por três dias. Após a reação, o excesso de iodo foi reduzido com tiosulfato de sódio, e o produto foi extraído com acetato de etila, lavado com água, seco com Na₂SO₄ e purificado por cromatografia em coluna. A bromação empregou 1 equivalente de dioxinona, 1,3 equivalentes de *N*-bromosuccinimida (NBS) e ácido acético como solvente. A reação ocorreu à temperatura ambiente, sob agitação e proteção da luz por 12 horas. O produto foi isolado por extração com acetato de etila, secagem com Na₂SO₄ e purificação por cromatografia em coluna. Em uma abordagem alternativa, utilizou-se 3 equivalentes de NBS e AIBN como iniciador radicalar em benzeno a 80°C por 4 horas, resultando em rendimentos satisfatórios.

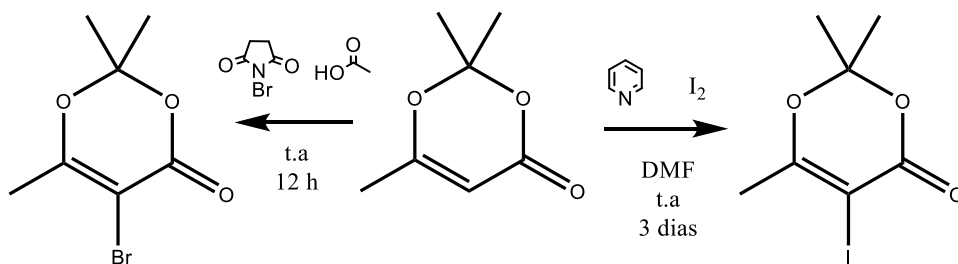


Figura 2 – halogenações da dioxinona.

A reação de carboxilação (figura 3) utilizou 1 equivalente de dioxinona em THF anidro a -78°C, com 1,2 equivalentes de LDA. Após 45–60 minutos, borbulhou-se CO₂ por 30 minutos. O produto foi isolado por acidificação (pH 1) e extração com acetato de etila.

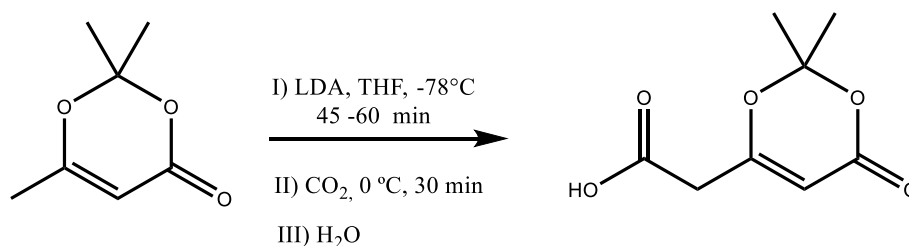


Figura 3 - Carboxilação da dioxinona empregando o protocolo de Barrett.

O ácido carboxílico da dioxinona foi esterificado via Steglich (figura 4), usando metanol anidro, DCC e DMAP em THF, a temperatura ambiente por 12h. O produto foi filtrado e purificado por cromatografia em coluna.

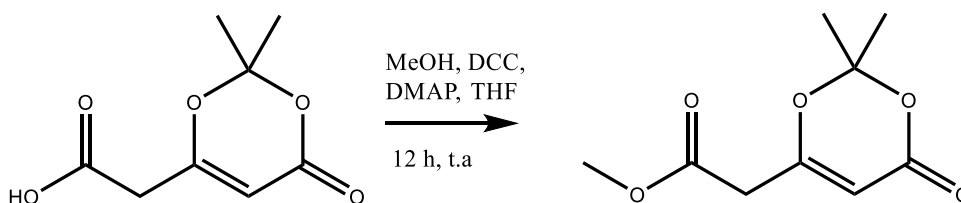


Figura 4 - Esterificação da dioxinona carboxilada pelo protocolo de Steglich (preparo da metoxycarbonil dioxinona)

A metoxycarbonil dioxinona pode ser iodada (figura 5) seguindo o mesmo procedimento executado para a dioxinona.

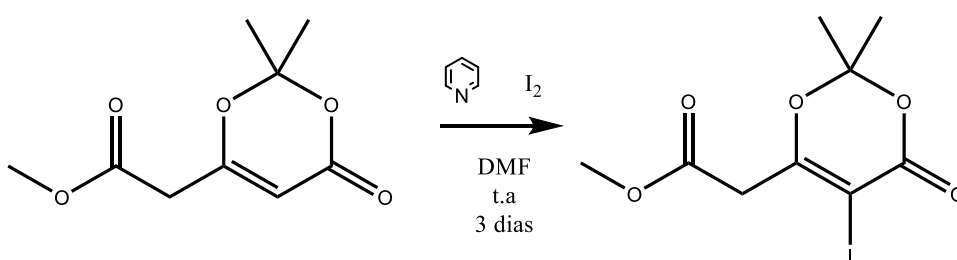


Figura 5 - iodação da metoxycarbonil dioxinona.

A partir deste produto pretende-se realizar uma acilação no carbono α -carbonílico, seguida de uma reação de acoplamento Suzuki utilizando como substrato borotriolato, o qual é preparado de triisopropil borato, o qual é dissolvido em THF e reagido com um reagente de Grignard por 5 horas à temperatura ambiente. Após a adição de dioxano, que precipita sais de magnésio (filtrados e descartados), o filtrado é adicionado ao ácido fosfórico e ao triol dissolvidos em dioxano por mais 5 horas. Finalmente, adiciona-se carbonato de potássio e a reação prossegue *overnight*, sendo o produto purificado por recristalização para obtenção do composto boronado.

A reação de acoplamento Suzuki se inicia com a adição oxidativa do paládio ao haleto orgânico, formando um intermediário de paládio(II), seguido pela transmetalção com o composto boronado, que transfere o grupo orgânico para o paládio. A etapa final envolve a eliminação redutiva, formando a nova ligação carbono-carbono e regenerando o catalisador de paládio(0).

Após a otimização da reação de acoplamento Suzuki, pretende-se ciclar utilizando uma base fraca, halogenar e concluir a síntese com uma redução como descreve a figura 6.

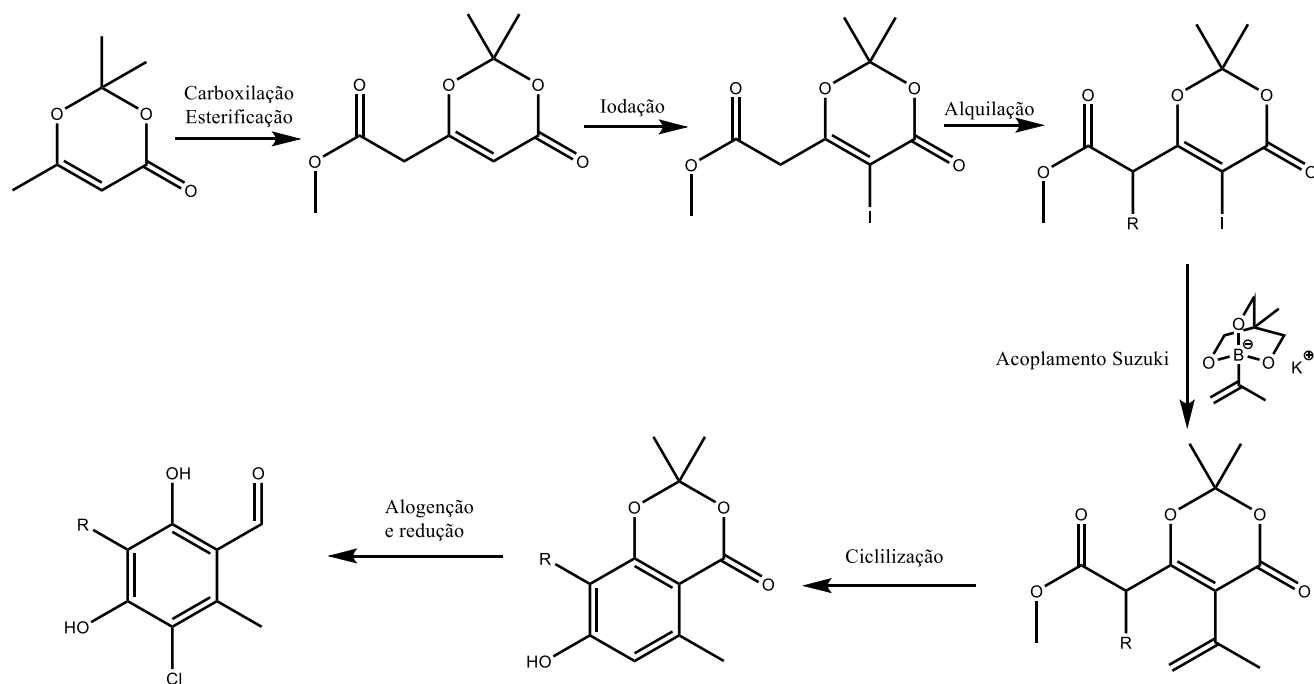


Figura 6 - Esquema sintético.

A reação de acoplamento Suzuki se encontra em etapa de otimização, ela não foi feita com o borotriolato, até o presente momento. A etapa de otimização também envolve a solução de outro problema desta síntese, quando a dioxinona está acilada a reação não ocorre, contudo se a dioxinona está sem o grupo acila a reação de acoplamento Suzuki ocorre. Portanto esta etapa reacional está em investigação e otimização.

CONCLUSÕES:

As reações de halogenação e de carboxilação são todas otimizadas e satisfatórias. A purificação do sal de boro para realizar a reação de Suzuki mostra-se não trivial, mas promissora. A reação de acoplamento Suzuki, até o momento é a parte mais complexa do projeto sendo ela, possivelmente, a grande limitadora do avanço das sínteses das coletoclorinas e de seus derivados sintéticos.

BIBLIOGRAFIA

- [1] KOSUGE, Y.; SUZUKI, A.; TAMURA, S. *Agricultural and Biological Chemistry*, v. 38, p. 1265-1267, **1974**.
- [2] MASI, M.; CIMMINO, A.; BOARI, A, et al. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 65, p. 1124-1130, **2017**.
- [3] GARCÍA-PAJÓN, C. M.; COLLADO, I. G. *Natural Product Reports*, v. 20, p. 426-431, **2003**.
- [4] BARSOTTINI, M. R. O.; PIRES, B. A.; VIEIRA, M. L, et al. *Pest Management Science*, v. 75, p. 1295-1303, **2019**.
- [5] COSTA, P. C. S.; BARSOTTINI, M. R. O.; VIEIRA, M. L. L, et al. *Journal of Molecular Structure*, v. 1208, p. 127903, **2020**.
- [6] RAN, H.; LI, S. M. *Natural Product Reports*, v. 38, p. 240-263, **2021**.