



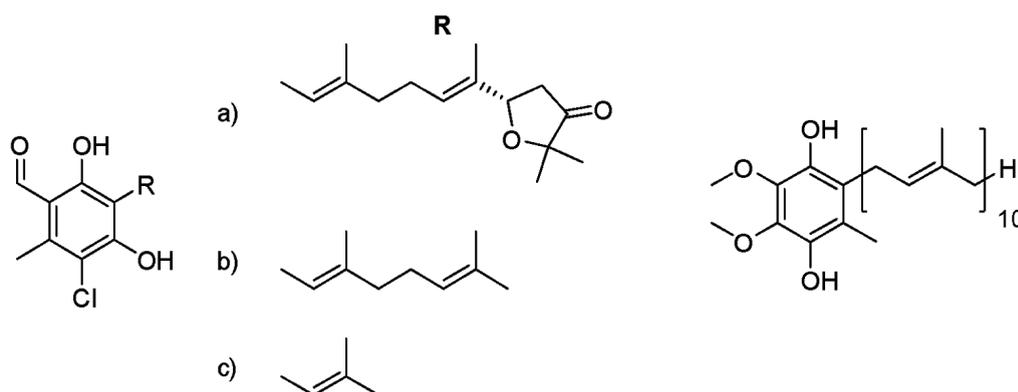
## Preparação de inibidores da AOX baseados na estrutura dos produtos naturais Coletoclorina B e D

Aluno: Gabriel Schaffer Andreotti Zamboni

Orientador: Paulo César Muniz de Lacerda Miranda

Em alguns protistas, fungos, plantas e animais está presente uma enzima que atua fornecendo uma via alternativa à cadeia respiratória principal, conhecida como Oxidase Alternativa (AOX). Esta enzima atua anteriormente ao complexo III e é capaz de redirecionar o fluxo de elétrons diretamente ao oxigênio, promovendo simultaneamente a oxidação de seu substrato, o ubiquinol. Desta forma, a AOX pode desempenhar diversas funções, como a manutenção da homeostase do organismo, termogênese e resistência a stress oxidativo, em particular, àquele causado por inibidores da via principal de respiração celular, como o cianeto. Assim, é de grande importância para diversos patógenos, como o *Trypanosoma brucei*, causador da doença do sono em humanos, e o *Monilophthora pernicioso*, agente etiológico da Vassoura-de-Bruca em cacauzeiros [1-3].

As coletoclorinas B e D, estruturalmente similares ao ubiquinol, foram identificadas como inibidores competitivos da AOX, assim como a ascofuranona. Assim, estudou-se rotas sintéticas capazes de produzir eficientemente estes compostos e seus análogos, a fim de gerar inibidores com propriedades físico-químicas e farmacológicas adequadas para aplicação tecnológica [3, 4].



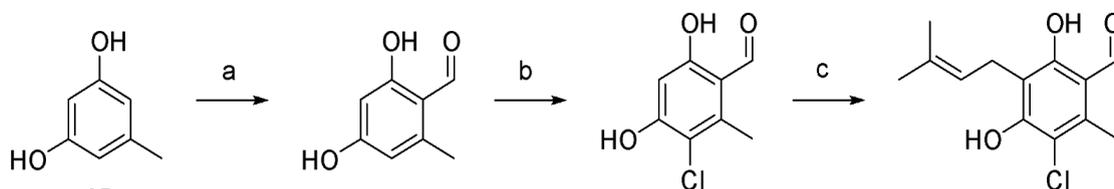
**Figura 1.** À esquerda estrutura da ascofuranona (a), coletoclorina D (b) e B e à direita, do ubiquinol

Joullié e colaboradores propuseram uma rota sintética para a síntese de coletoclorinas partindo do orcinol, na qual realiza-se a acilação do fenol, seguida de sua cloração e da introdução do grupo alquil desejado. O baixo rendimento da alquilação e a presença de etapas adicionais de proteção dos grupos fenólicos, que se faz necessária de modo a evitar O-alquilação, e desproteção, que pode ocorrer em somente uma hidroxila, são fatores que desencorajam a utilização desta rota [5-8].

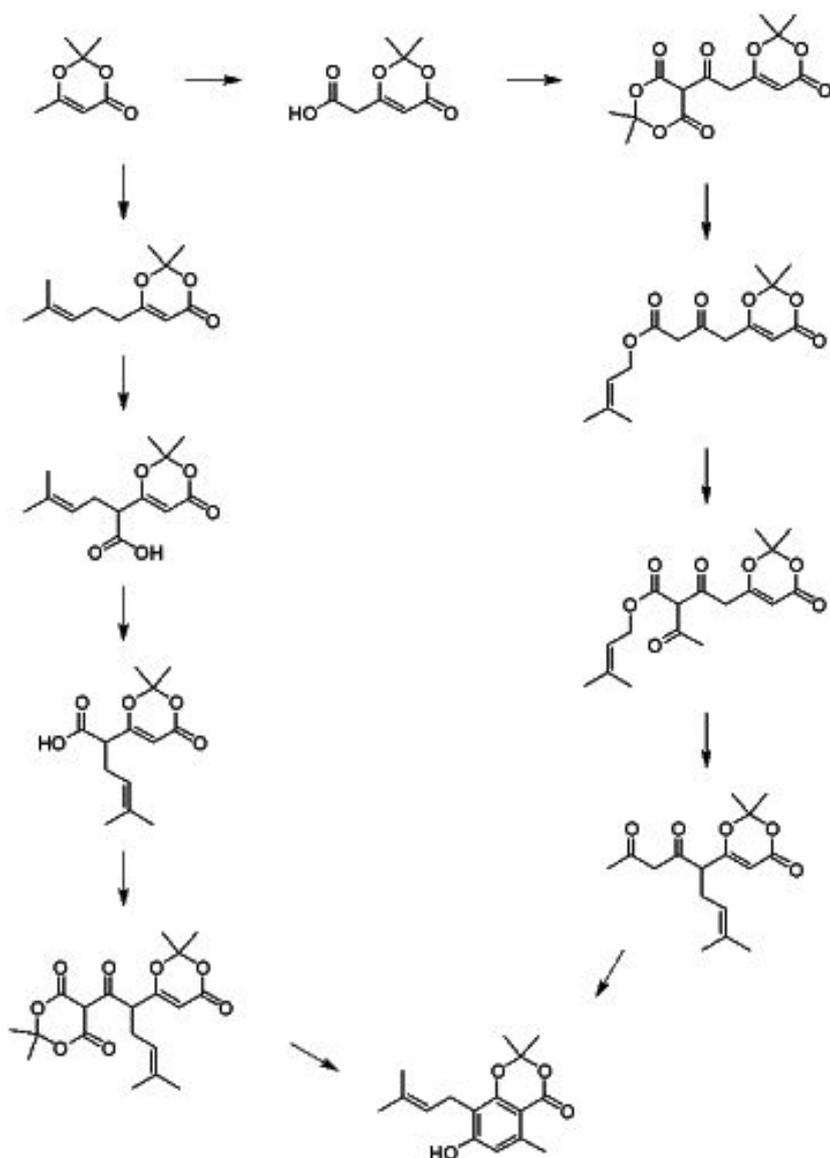
Estudou-se, então, abordagens biomiméticas para a síntese de compostos resorcilados. A biossíntese de derivados do ácido resorcílico é realizada pela condensação intramolecular por reação de aldol de um derivado do ácido 3,5,7-tricetoacético [9]. Chen e colaboradores

demonstraram reações muito semelhantes na síntese do 2,4-diidróxi-6-metil benzoato de etila a partir da autocondensação do acetoacetato de etila [10]. Já Barrett e colaboradores desenvolveram um importante método para a produção de compostos resorcilados através da utilização de uma dioxinona como material de partida. A dioxinona mascara uma carbonila da policetona a ser ciclizada e permite sua funcionalização [11-13].

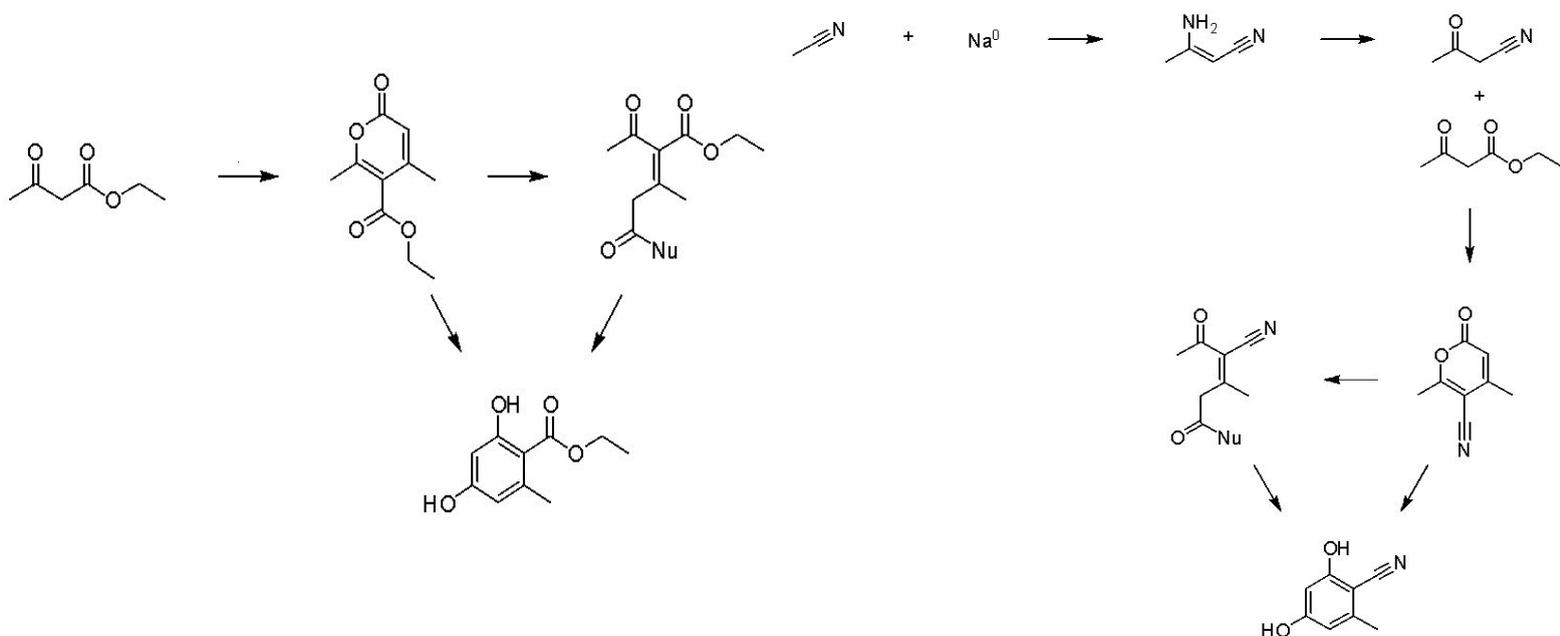
Assim, foram duas propostas duas estratégias sintéticas para a produção das coletoclorinas B e D: uma partindo de policetídeos ramificados provenientes da abertura do anel de 2-pironas (ou da isomerização destas) e outra a partir de policetídeos lineares derivados da dioxinona.



**Figura 2.** Rota sintética clássica para a obtenção da coletoclorina D aplicada por Joullié. a -  $\text{Zn}(\text{CN})_2$ ,  $\text{Et}_2\text{O}$ ,  $\text{HCl}$ ; b -  $\text{SO}_2\text{Cl}_2$ ,  $\text{Et}_2\text{O}$ ,  $0^\circ\text{C}$ ; c - Brometo de Prenila,  $\text{KOH}$ ,  $\text{H}_2\text{O}$ .



**Figura 3.** Rotas sintéticas propostas para a produção de policetídeos lineares como precursores da unidade orcílca.



**Figura 4.** Rotas sintéticas propostas para a síntese de policetídeos ramificados como percussores da unidade orcilica.

Previamente, observou-se a formação da 4,6-dimetil-5-carbóxi-etil-2-pirona a partir da reação de adição de Michael do acetoacetato de etila reagindo com o 3-tosilcrotonato de etila. É possível realizar sua isomerização ao resorcilato correspondente em meio altamente básico, com rendimento de cerca de 20%.

Recentemente, estudou-se a substituição do grupo carbóxi-til por um grupo ciano. Para isso, inicialmente foi preparada a 3-iminobutanitrila com a adição sódio metálico sobre a acetonitrila, a 0°C por 4h [14], a qual é utilizada sem necessidade de purificação prévia para produzir a 1-cianoacetona, através de sua hidrólise em HCl 6 M, a 80°C por 3h [15]. Através da reação da 1-cianoacetona com acetoacetato de etila, utilizando de ácido acético, em refluxo de tolueno por 5h em um aparelho de Dean-Stark, obteve-se a 4,6-dimetil-2-oxo-2H-piran-5-carbonitrila [16]. A abertura do ciclo a abertura do ciclo resulta no 4-ciano-3-metil-5-oxo-3-hexenoato de etila e é realizada utilizando EtONa/EtOH, com a temperatura subindo de -78°C até temperatura ambiente, overnight. O resorcilato resultante da ciclização deste composto não foi obtido, apesar do emprego de diversas combinações de bases e nucleófilos.

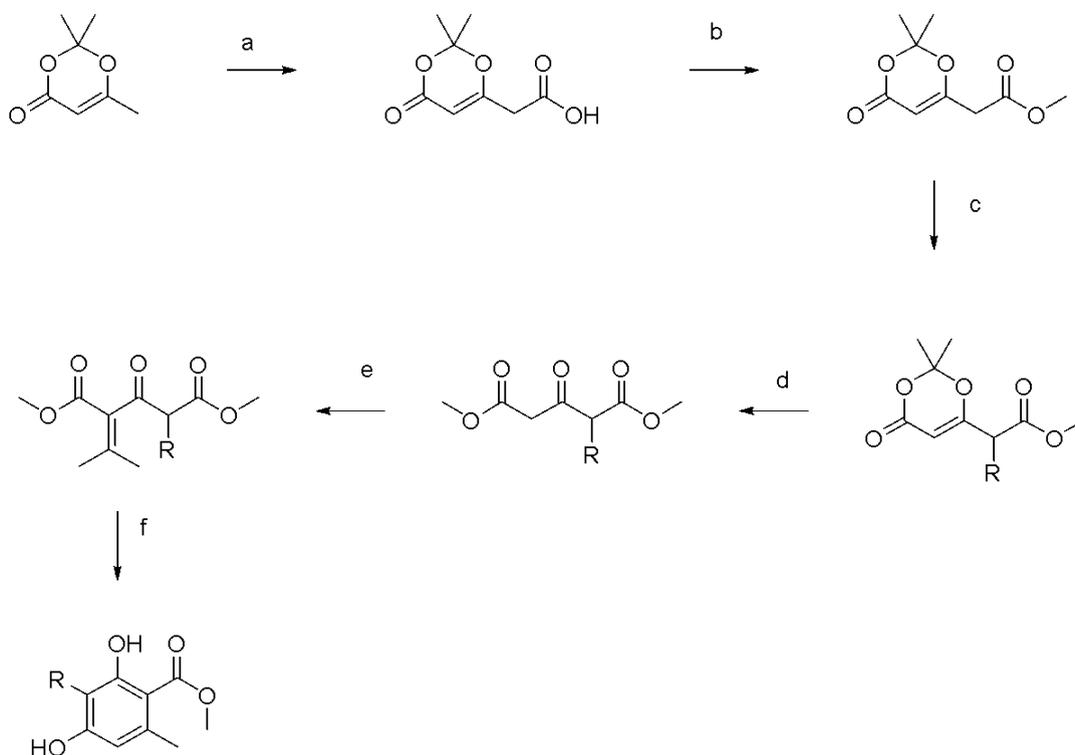
Simultaneamente, estudou-se a rota sintética partindo da dioxinona. Inicialmente, utiliza-se CO<sub>2</sub> de modo a se realizar a carboxilação da 2,2,6-trimetil-4H-1,3-dioxin-4-ona, após sua desprotonação com LDA, em THF e um gradiente de temperatura de -78 °C a 0 °C por 1h. A dioxinona carboxilada é reagida com o ácido de Meldrum, utilizando DCC e DMAP para ativação/catálise, em DCM por 18h. Em seguida, o produto da reação é diretamente utilizado para uma reação de esterificação com o prenol, em tolueno a 55°C por 4h. Então, realiza-se a acetilação do composto obtido utilizando cloreto de acila e cloreto de magnésio, em DCM por 1h. A etapa seguinte constituiria na transferência do grupo prenila

utilizando o  $\text{Pd}(\text{dba})_2$ , porém a fosfina utilizada no procedimento de Barrett não estava disponível e a utilização de outras fosfinas como substitutas não rendeu resultados.

Assim, buscou-se contornar a necessidade da transferência da prenila alquilando a dioxinona logo no início da rota sintética, de modo a permitir futuras derivatizações. Esta reação foi realizada com 1-bromo-3-metil-2-buteno e LDA, em THF a  $-78^\circ\text{C}$ , overnight. Entretanto, não foi possível realizar a carboxilação da dioxinona alquilada, possivelmente pelo maior impedimento estérico gerado pelo grupo alquil.

O diceteno foi proposto como um possível agente alquilante e foi preparado pela adição de trietilamina em  $\text{AcCl}$ , em  $\text{Et}_2\text{O}$  a  $0^\circ\text{C}$ , overnight. A reação do diceteno com a dioxinona, porém, não resultou no produto desejado.

Apesar de não ter sido possível obter as coletoclorinas B e D, diversos intermediários reacionais foram preparados e caracterizados. A realização das etapas restantes das rotas sintéticas propostas para a preparação das coletoclorinas e seus derivados são perspectivas do projeto. Além disso, outra rota sintética partindo da dioxinona foi proposta, na qual a carboxilação é realizada anteriormente a alquilação.



**Figura 6.** Síntese alternativa proposta para a produção de resorcilatos partindo da dioxinona. a - LDA, THF,  $-78^\circ\text{C}$ ,  $\text{CO}_2$ , b - MeI,  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ , c- 1-bromo-3-metil-2-buteno e LDA em THF a  $-78^\circ\text{C}$ , overnight, d - MeONa, MeOH, e - Acetona, f - meio básico

## REFERÊNCIAS

- [1] Moore A. L., Shiba T., Young L., Harada S., Kita K., Ito K. Unraveling the Heater: New Insights into the Structure of the Alternative Oxidase. *Annu. Rev. Plant Biol.* 2013., 64, 637–663.
- [2] Menzies KS, Tulloch LB, Florence GJ, Smith TK, Discovery of trypanocidal coumarins with dual inhibition of both the glycerol kinase and alternative oxidase of *Trypanosoma brucei brucei*, *Parasitology*, 2016 145(2), 175-183. DOI: <https://doi.org/10.1096/fj.201901342R>
- [3] Meinhardt, L. W.; Rincones, J.; Bailey, B. A.; Aime, M. C.; Griffith, G. W.; Zhang, D.; Pereira, G. A. *Moniliophthora perniciosa*, the causal agent of witches' broom disease of cacao: what's new from this old foe?. *Mol. Plant Pathol.* 2008, 9, 577.
- [4] Moore, A., Young, L., May, B., Antifungal Composition, patente n° WO 2015110820 A1, 2015.
- [5] Safaryn J. E., Chiarello I., Chen K.-M., e Joullié M. M., A Convenient Synthesis Of (±)-Ascochlorin, *Tetrahedron* 1986 42 (10), 2635-2642. [https://doi.org/10.1016/S0040-4020\(01\)90548-4](https://doi.org/10.1016/S0040-4020(01)90548-4)
- [6] Guthrie A. E., Semple J. E. e Joullié M. M., Synthetic Studies of Fungal Metabolites: Ascofuranone and Colletochlorin D, *J. Org. Chem.* 1982 47 (12), 2369-2376. DOI: <https://doi.org/10.1021/jo00133a027>
- [7] Chen K-M. and Joullié M. M., Synthesis Of Colletochlorin D, *Tetrahedron Letters* 1982 2 (44), 4567-4568. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0040-4039\(00\)85655-5](https://doi.org/10.1016/S0040-4039(00)85655-5)
- [8] Chen K-M, Semple J. E. e Joullié M. M., Total Syntheses of Fungal Metabolites and Functionalized Furanones, *J. Org. Chem.* 1985, 50 (21), 3997-4005. DOI: <https://doi.org/10.1021/jo00221a009>
- [9] Major, Sarah Margaret. NOVEL STRATEGIES FOR THE CONSTRUCTION OF MACROCYCLIC RESORCYLATE NATURAL PRODUCTS. Tese. Imperial College, Londres, 2007.
- [10] Chen, W. -Z.; Fan, L. L.; Xiao, H. -T.; Zhou, Y.; Xiao, W.; Wang, J. T. e Tang, L. *Chin. Chem. Lett.* 2014, 25, 749.
- [11] Barrett, A. G. M.; Morris, T. M.; Barton, D. H. R. Convenient syntheses of alkyl  $\beta$ -resorcylate derivatives, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1*, 1980, 2272-2277. DOI: <https://doi.org/10.1039/P19800002272>
- [12] Cookson, R.; Barrett, T. N. e Barrett, A. G. M.  $\beta$ -Keto-dioxinones and  $\beta,\delta$ -Diketo-dioxinones in Biomimetic Resorcyate Total Synthesis. *Acc. Chem. Res.* 2015, 48, 628.
- [13] Navarro I., Jean-François Basset J.F., Hebbe S., Major S. M., Werner T., Howsham C., Brackow J., e Barrett A. G. M., Biomimetic Synthesis of Resorcyate Natural Products Utilizing Late Stage Aromatization: Concise Total Syntheses of the Marine Antifungal Agents 15G256t and 15G256B. *J. Am. Chem. Soc.* 2008, 130, 10293–10298. DOI: <https://doi.org/10.1021/ja803445u>
- [14] Yoshihara, Hiroshi; Ikeda, Yoichi; Masaki, Shinzaburo. Preparation of 3-iminobutyronitrile. JP 1991-56432. 1991. Depósito: 20 de março de 1991. Concessão: 15 de outubro de 1992.
- [15] Boris V. Lichitsky, Andrey N. Komogortsev, Arkady A. Dudinov, Mikhail M. Krayushkin, Evgenii N. Khodot, Alexander V. Samet, Eugenia A. Silyanova, Leonid D. Konyushkin, Alexei S. Karpov, Delphine Gorses, Thomas Radimerski, Marina N. Semenova, Alex S. Kiselyov, and Victor V. Semenov. Benzimidazolyl-pyrazolo[3,4-b]pyridinones, Selective Inhibitors of MOLT-4 Leukemia Cell Growth and Sea Urchin Embryo Spiculogenesis: Target Quest. *ACS Combinatorial Science*, 2019, 21 (12), 805-816.
- [16] Dawadi, Prativa B.S. e Lugtenburg, Johan. Preparation of 5-Cyano-4,6-dimethyl-2H-pyran-2-one and 3-Cyano-5-methoxy-4-methyl-5H-furan-2-one via a One-Pot, Domino-Knoevenagel Process. *Synthetic Communications*, 40: 2539–2546, 2010.