



INCORPORAÇÃO DE TRICICLO[6.2.1.0^{2,7}]UNDECA-4,9-DIENO-3,6-DIOL COMO UMA UNIDADE DE RESTRIÇÃO CONFORMACIONAL DE ANÁLOGOS PEPTÍDICOS*

Sandra V. Da SILVA^a; Mariane AXT; Valentim E. U. COSTA; Adriana R. POHLMANN

Departamento de Química Orgânica – Instituto de Química – UFRGS. E-mail: pohlmann@iq.ufrgs.br

^a Bolsista de Iniciação Científica FAPERGS

RESUMO: O objetivo deste trabalho é a obtenção de um derivado peptídico incorporado da unidade tricyclo[6.2.1.0^{2,7}]undeca-4,9-dieno-3,6-diol, obtida a partir da reação de Diels-Alder do ciclopentadieno e da *p*-benzoquinona, seguida de redução. A condensação em solução do tripeptídeo (Gly-L-AlaGly) com o diol produz um derivado capaz de assumir uma conformação de folheto β paralelo.

UNITERMOS: peptídeos, pseudopeptídeos, compostos policíclicos, condensação peptídica, tricyclo[6.2.1.0^{2,7}]undeca-4,9-dieno-3,6-diol.

ABSTRACT: *TRICYCLO[6.2.1.0^{2,7}]UNDECA-4,9-DIENE-3,6-DIOL INCORPORATED IN CONFORMATIONAL CONSTRAINED PEPTIDES ANALOGUES.* The aim of this work is the synthesis of a peptide analog incorporating the unit tricyclo[6.2.1.0^{2,7}]undeca-4,9-diene-3,6-diol, which was obtained from the Diels-Alder reaction of cyclopentadiene and *p*-benzoquinone, followed by a reduction reaction. The tripeptide (Gly-L-AlaGly) condensed with the diol gives a derivative able to assume a parallel β -sheet conformation.

KEYWORDS: peptides, pseudopeptides, peptide synthesis, polycyclic compounds, tricyclo-[6.2.1.0^{2,7}]undeca-4,9-diene-3,6-diol.

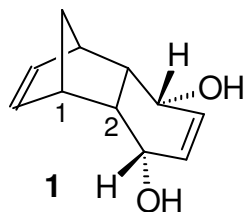
INTRODUÇÃO

Proteínas e peptídeos, formados por cadeias de aminoácidos, são componentes essenciais na natureza. Os peptídeos atuam como hormônios, neurotransmissores e/ou moduladores, apresentando, pois, diversidade de atividades biológicas e numerosas propriedades terapêuticas^{1,2}. Estas, porém, são limitadas essencialmente por baixa biodisponibilidade oral e sensibilidade às peptidases, devido basicamente a flexibilidade estrutural apresentada pelos peptídeos naturais, gerando, assim, uma gama complexa de diferentes conformações¹⁻⁵. Diversos estudos têm comprovado a importância da formação de estruturas secundárias (dobras γ e β , folhetos β e hélices α , entre outras) como importante chave na relação entre sítios ativos de enzimas e proteases assim como reconhecimento

molecular²⁻⁸. Dessa forma, a diminuição do número de conformações pode conferir um aumento da atividade farmacológica e/ou seletividade a um determinado receptor³, podendo ser obtida através da incorporação de unidades que funcionem como restritores conformacionais. O primeiro passo na busca de análogos peptídicos ou de pseudopeptídeos é a síntese de unidades de restrição conformacional e sua incorporação em cadeias peptídicas. Neste sentido, diversos métodos de síntese de neuropeptídeos e inibidores de enzimas, incorporados de restritores do tipo lactâmicos, são descritos na literatura⁹. Além disso, unidades de norbonenos¹⁰ e adamantanos¹¹ têm sido recentemente utilizados na preparação de derivados pseudopeptídicos, observando-se a indução preferencial de dobras γ e de folhetos β .

* Trabalho premiado com o segundo lugar no 21 Concurso Acadêmico de Pesquisa Científica do Diretório Acadêmico da Faculdade de Farmácia da UFRGS, 2000.

O objetivo do presente trabalho é a obtenção de um derivado peptídico incorporado da unidade triciclo[6.2.1.0^{2,7}]undeca-4,9-dieno-3,6-diol **1**, através do emprego de metodologias de síntese em solução.



RESULTADOS E DISCUSSÃO

O triciclo[6.2.1.0^{2,7}]undeca-4,9-dieno-3,6-diol **1** foi obtido em três etapas a partir da hidroquinona¹² com um rendimento global de 60 % (esquema 1). Através da oxidação catalítica da hidroquinona, utilizando-se pentóxido de vanádio e clorato de potássio em ácido sulfúrico, obtém-se *p*-benzoquinona com um rendimento de 80 %. Em seguida, realizou-se uma reação de Diels-Alder de *p*-benzoquinona e ciclopentadieno em solução de metanol, obtendo-se a diona **2** (85 %), a qual foi reduzida com o sistema cloreto de cério-boroidreto de sódio em metanol, fornecendo o diol **1** (78 %).

As transformações foram analisadas através de espectroscopia no infravermelho e de ressonância magnética nuclear (RMN) de ¹H e de ¹³C. Nos espectros de RMN do ¹H dos produtos **1** e **2**, respectivamente, verificam-se os sinais característicos dos hidrogênios das posições 2 e 7 com deslocamento químico a 3,00 ppm e 3,50 ppm.

Nos espectros de RMN do ¹³C (*Attached Proton Test*, APT), observam-se os sinais com deslocamento químico a 199,5 ppm, característicos de carbono quaternário carbonílico (**2**), e 66,0 ppm, característicos de carbono terciário α -hidroxila (**1**).

A preparação do tripeptídeo, a ser condensado com o diol **1**, é realizada seguindo-se estratégia clássica de condensação peptídica em solução (esquema 2). A *N*-*t*-butoxicarbonilglicina (BOCGly) é condensada com L-alaninato de metila (L-AlaOMe), ativando-se a função ácido carboxílico com diciclohexilcarbodiimida (DCC), em presença de *N,N*-dimetilaminopiridina (DMAP) como catalisador, e trietilamina como base.

O dipeptídeo correspondente **3** (74 %) é, então, desprotegido em C-terminal, através da hidrólise alcalina da função éster, fornecendo o ácido correspondente **4** (75 %). Este é condensado com GlyOEt nas mesmas condições anteriormente descritas, produzindo o tripeptídeo BOCGly-L-AlaGlyOEt **5** (70 %).

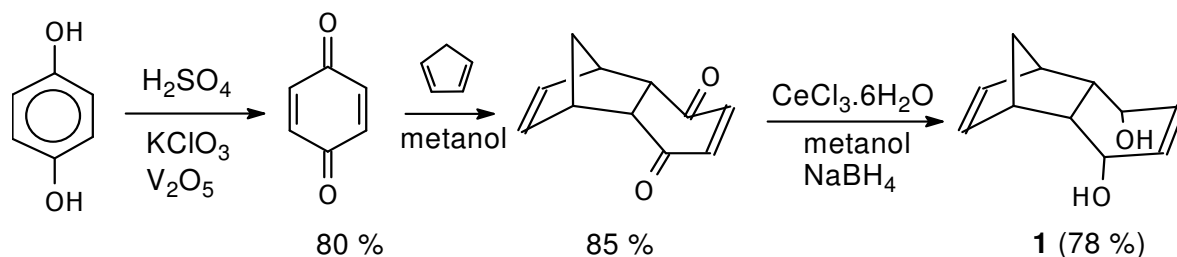
Uma vez sintetizado, o tripeptídeo **5** foi desprotegido na porção C-terminal através da hidrólise alcalina da função éster (esquema 3), fornecendo o ácido correspondente **6** (75 %). O espectro de RMN do ¹H do produto **6** mostra os sinais característicos dos hidrogênios NH-amida em 7,45 ppm e 7,20 ppm, correspondentes aos resíduos da glicina e da alanina respectivamente.

O sinal com deslocamento químico em 5,60 ppm corresponde ao hidrogênio NH-carbamato do resíduo da glicina (N-terminal), em 4,55 ppm observa-se o sinal relativo ao hidrogênio C α do resíduo da alanina, os sinais em 3,95 ppm e 3,75 ppm correspondem aos hidrogênios CH₂ dos resíduos de glicina e sobrepostos em 1,35 ppm observa-se 12 hidrogênios que correspondem às metilas do grupo protetor (3 x CH₃; BOC) e à metila da posição C α do resíduo alanina.

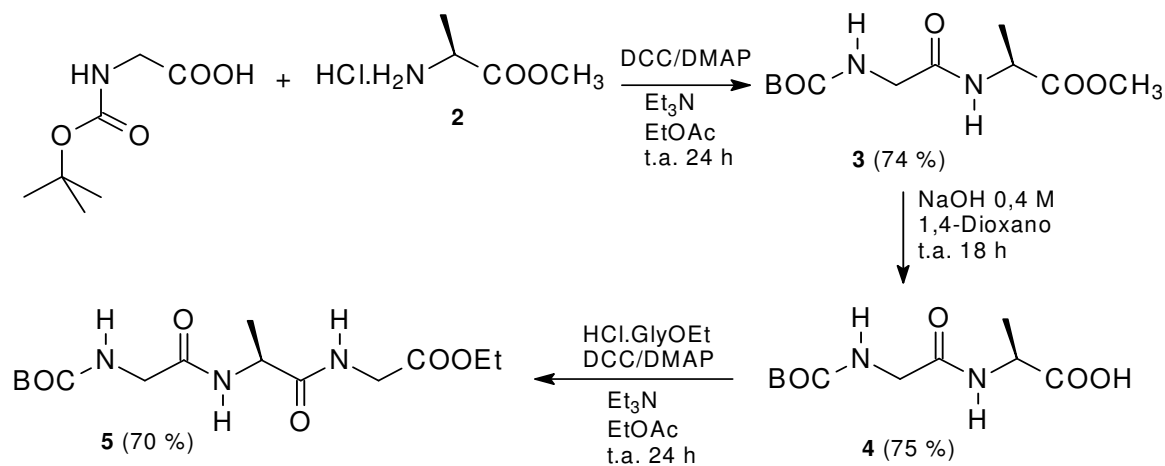
Para a obtenção do derivado **7**, a condensação do tripeptídeo **6** com o diol **1** foi realizada utilizando-se o mesmo agente de ativação (DCC) com catálise de DMAP como descrito acima. A formação da ligação éster foi verificada através do espectro de RMN do ¹³C (APT), onde, entre outros, o sinal a 174 ppm corresponde ao carbono quaternário das funções éster, os sinais a 171 ppm e 170 ppm são referentes ao carbono quaternário das funções amida e os sinais a 157 ppm, a 81 ppm e a 29 ppm determinam os carbonos quaternários e as metilas dos grupos protetores (CO-carbamato e *t*-butila). Característicos do anel tricíclico, observam-se também os sinais a 136 ppm, 133 ppm, 128 ppm e 126 ppm relativos às ligações duplas olefínicas; e os sinais a 72 ppm e 67 ppm referentes ao carbono terciário (CH-O) das posições 3 e 6.

PARTE EXPERIMENTAL

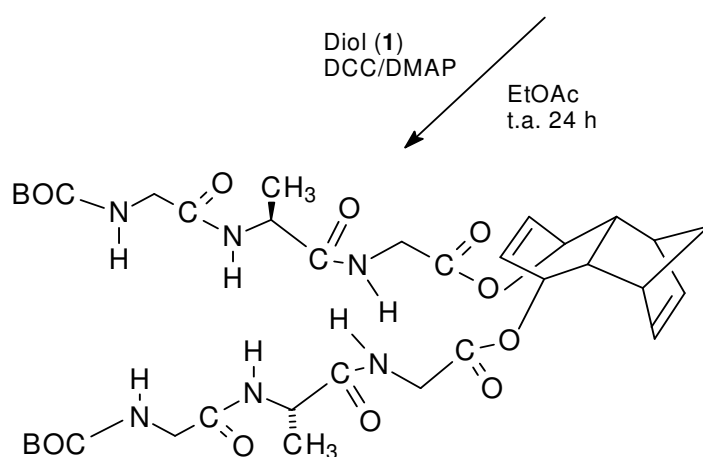
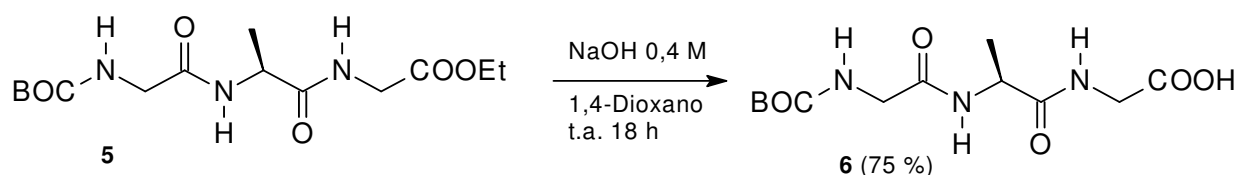
Em todas as etapas de condensação utilizou-se acetato de etila seco e destilado sob cloreto de cálcio anidro.



Esquema 1



Esquema 2



Esquema 3

As reações foram monitoradas através de cromatografia em camada delgada. Os produtos, após purificação através de cromatografia *flash* em coluna (gel de sílica 60, 70-230 mesh), foram analisados por técnicas espectroscópicas de RMN e IV.

***p*-Benzoquinona**

Em erlenmeyer de 250 mL, à temperatura ambiente e agitação constante, foram adicionadas 10,000 g (91,00 mmols) de hidroquinona comercial e de uma solução contendo 2 mL de H₂SO₄ e 91 mL de H₂O. Deixaram-se alguns minutos sob agitação, então se adicionaram 6,000 g (52,00 mmols) de KClO₃ e 0,100 g (0,55 mmols) de V₂O₅. Após 1 hora, obteve-se uma suspensão que foi então filtrada e o precipitado corresponde, a *p*-benzoquinona, foi obtido com 80 % de rendimento.

***endo*-Triciclo[6.2.1.0^{2,7}]undeca-4,9-dieno-3,6-diona 2**

Em um béquer de 200 mL, sob agitação constante e temperatura ambiente, adicionaram-se 10,000 g (93,00 mmols) de *p*-benzoquinona em 21 mL de metanol. A suspensão foi resfriada em banho de gelo, para adição de uma solução contendo 8 mL (119,00 mmol) de ciclopentadieno recentemente destilado e 15 mL de metanol. Após 1 hora a suspensão foi filtrada e a diona **2** foi obtida com 85 % de rendimento.

Infravermelho (KBr) cm⁻¹: 1659, 1631.

RMN do ¹H (CDCl₃): δ (ppm) 6,52 (s, 2 x 1H); 6,05 (sl, 2 x 1H); 3,52 (sl, 2 x 1H); 3,20 (sl, 2 x 1H); 1,55 e 1,40 (2d, sist. AB, 2H).

endo-Triciclo[6.2.1.0^{2,7}]undeca-4,9-dieno-3,6-diol 1

Em um balão monotubulado de 100 mL de capacidade, sob agitação constante, adicionaram-se 1,080 g (6,00 mmols) de **2** em 15 mL de metanol. Deixou-se agitando em banho de gelo por 10 minutos. Após adicionaram-se 0,846 g (2,27 mmols) de cloreto de cério, deixando sob agitação por alguns minutos. Aos poucos se acrescentaram 1,070 g (28,00 mmols) de boroidreto de sódio. Deixou-se a reação sob agitação por 2 horas. O término se deu com a adição de 20 mL de água. A fase aquosa foi extraída com acetato de etila (3 x 20 mL). A fase orgânica foi secada, filtrada e evaporada. O diol **1** foi obtido com 78 % de rendimento.

Infravermelho (KBr) cm^{-1} : 3325, 1624.

RMN do ^1H (CD_3OD): δ (ppm) 5,70 (sl, 2 x 1H); 5,20 (s, 2 x 1H); 4,75 (sl, 2 x 1H); 4,35 (d, $J = 7,01$ Hz, 2 x 1H); 2,96 (m, 2 x 1H); 2,75 (m, 2 x 1H); 1,24 (sl, 2H)

RMN do ^{13}C (CD_3OD): δ (ppm) 137 (CH); 131 (CH); 68 (CH); 49 (sobreposto ao solvente, CH_2); 46 (CH) e 44 (CH).

N-t-butóxi-carbonilglicil-L-alaninato de metila 3

Em balão de fundo redondo, tritubulado, sob atmosfera inerte, adicionaram-se 0,890 g (5,08 mmols) do ácido (BOCGly), 0,785 g (5,11 mmols) do cloridrato da amina (HCl.L-AlaOMe) e 0,032 g (0,26 mmols) de DMAP em solução de acetato de etila (30 mL). Deixou-se sob agitação durante 10 minutos à temperatura ambiente. Acrescentaram-se 2,0 mL (15,24 mmols) de Et_3N . Então colocou-se banho de gelo resfriando a 0°C . Em seguida, acrescentaram-se 1,030 g (5,00 mmols) de DCC e deixou-se em agitação por mais 15 minutos. Após, retirou-se o banho de gelo e deixou-se reagir por 24 horas à temperatura ambiente. A mistura reacional foi filtrada e o filtrado foi evaporado. O bruto da reação é uma mistura do produto **3** e diciclohexiluréia. Após cromatografia em coluna, eluída com um gradiente de acetato de etila e ciclohexano, o dipeptídeo **3** foi obtido com 74 % de rendimento.

N-t-butóxi-carbonilglicil-L-alanilglicinato de metila 5

Para a obtenção do N-t-butóxi-carbonilglicil-L-alanina **4** utilizou-se balão de fundo redondo, monotubulado, à temperatura ambiente, sob agitação constante onde se adicionaram 0,950 g (3,65 mmols) do produto **3** em uma mistura de 35 mL de NaOH 0,4 M e 35 mL de 1,4-dioxano, deixando-se o meio reacional em agitação por 18 horas à temperatura ambiente. Após o término da reação, o meio é acidificado à pH 1 com HCl 1M, saturado com NaCl e extraído com acetato de etila (3 x 30 mL). O ácido **4** foi obtido com 75% de rendimento.

Em seguida, utilizando balão de fundo redondo, tritubulado, à temperatura ambiente e

sob agitação constante, procedendo como descrito na obtenção do produto **3**, misturam-se 0,700 g (2,84 mmols) de **4**, 0,400 g (3,18 mmols) de HCl.GlyOMe, 0,032 g (0,260 mmols) de DMAP, 1,30 mL (8,65 mmols) de Et_3N e 0,577 g (2,80 mmols) de DCC. Após reação, o produto bruto foi purificado através de cromatografia em coluna eluída com um gradiente de acetato de etila e ciclohexano, fornecendo o tripeptídeo **5** com 70 % de rendimento.

Bis-(N-t-butóxi-carbonilglicil-L-alanilglicinato de triciclo[6.2.1.0^{2,7}]undeca-4,9-dien-3,6-diila 7

Para a obtenção do N-t-butóxi-carbonilglicil-L-alanilglicina **6** procedeu-se como descrito para a hidrólise de **3** (obtenção de **5**), adicionaram-se 0,600 g (1,81 mmols) do produto **5** em uma mistura de 25 mL de NaOH 0,4 M e 25 mL de 1,4-dioxano.

O ácido **6** foi obtido com 75 % de rendimento. RMN do ^1H (CDCl_3): δ (ppm) 7,44 (m, 1H); 7,22 (d, $J = 7,0$ Hz, 1H); 5,61 (sl, 1H); 4,54 (m, 1H); 3,93 (dd, $J = 5,6$ Hz e 5,6 Hz, 1H); 3,75 (m, 2H); 1,38 (s, 12H)

A condensação de **6** com o diol **1** foi realizada como descrito na obtenção do dipeptídeo **3**, omitindo-se a base. Em um balão foram misturados 0,100 g (0,56 mmols) do diol **1**, 0,372 g (1,24 mmols) do ácido **6**, 0,029 g (0,24 mmols) de DMAP e 0,258 g (1,25 mmols) de DCC. Após reação, o produto bruto foi purificado através de cromatografia em coluna, fornecendo o depsi-peptídeo **7** com 79 % de rendimento.

Infravermelho (KBr) cm^{-1} : 3466-3252, 1729-1658, 1535, 1237, 1164.

RMN do ^{13}C (CDCl_3): δ (ppm) 173 (CO-éster); 170 (CO-amida); 169 (CO-amida); 157 (CO-carbamato); 135 (CH); 132 (CH); 128 (CH); 126 (CH); 80 (C_q -BOC); 71 (CH-O); 67 (CH-O); 49 (CH); 48 (CH_2); 46 (CH); 45 (CH); 42 (CH); 39 (CH); 38 (CH); 28 (3 x CH_3 -BOC); 18 (2 x CH_3).

CONCLUSÃO

O produto **7** foi obtido com rendimento global de 22 % a partir dos aminoácidos BOCgly e L-AlaOMe. A análise conformacional deste novo derivado está em andamento e será objeto de comunicação posterior.

REFERÊNCIAS

1. LISKAMP, R. M. J.; *Rec. Trav. Chim. Pays-Bas*, v.113, n.1, p.1-19, 1994.
2. GANTE, J.; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, v.33, n.17, p.1699-1720, 1994.
3. FAIRLIE, D.P.; ABBENANTE, G.; MARCH, D.R. *Curr. Med. Chem.*, v.2, n.2, p.654-686, 1995.
4. MARSHALL, G.R. *Tetrahedron*, v.49, n.17, p.3547-3558, 1993.

5. ROSE, G.D.; GIERASCH, L.M.; SMITH, J.A.; *Adv. Protein Chem.*, v.37, p.1-109, 1985.
6. KESSLER, H. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, v.21, n.7, p.512-523, 1982.
7. HRUBY, V.J. *Life Sci.*, v.31, n.3, p.189-199, 1982.
8. HRUBY, V.J.; AL-OBEIDI, F.; KAZMIERSKI, W. *BioChem. J.*, v.268, n.2, p.249-262, 1990.
9. POHLMANN, A.R.; QUIRION, J.-C.; GUILLAUME, D.; HUSSON, H.-P. *Química Nova.*, v.22, n.6, p.828-837, 1999.
10. NORTH, M. HIBBS, D.E.; HURSTHOUSE, M.B.; JONES, I.G.; JONES, W.; MALIK, K.M.A *J. Org. Chem.*, v.63, n.5, p.1496-1504, 1998.
11. RANGANATHAN, D. HARIDAS, V.; KURUR, S.; NAGARAG, R.; BIKSHAPATHY, E.; KUNWAR, A.C.; SARMA, A.V.S.; VAIRAMANI, M. *J. Org. Chem.*, v.65, n.2, p.365-374, 2000.
12. MORISSO, F.D.P.; *Síntese e enriquecimento enantiomérico via catálise enzimática de derivados do sistema triciclo[6.2.1.0^{2,7}] undeca-4,9-dieno-3,6-diona*. Porto Alegre: Instituto de Química, UFRGS, 1998. Dissertação de Mestrado

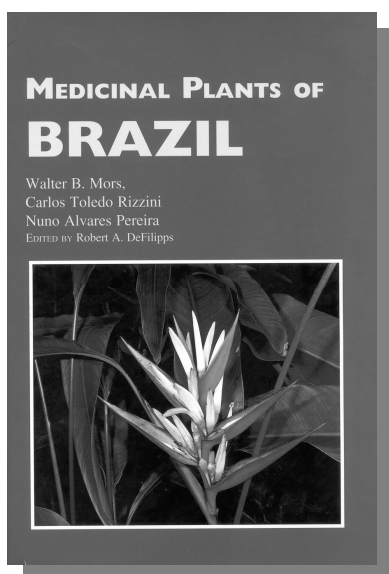
AGRADECIMENTOS:

PROPESQ/UFRGS, FAPERGS, CAPES e CNPq.

Endereço para correspondência:

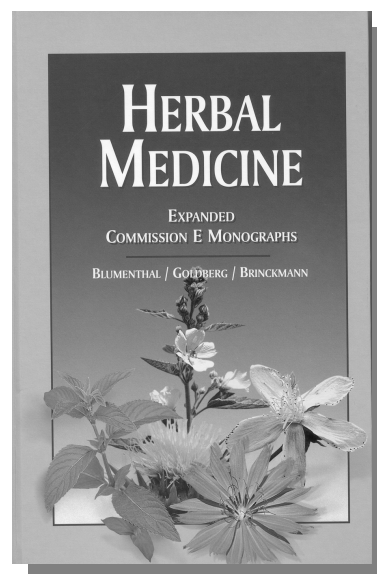
Profª Dr. Adriana R. Pohlmann
Departamento de Química Orgânica
Instituto de Química – UFRGS.
Av. Bento Gonçalves, 9500 – Agronomia
91501-970 Porto Alegre RS
E-mail: pohlmann@iq.ufrgs.br

Recebido em: 18.6.2001**Aceito em:** 25.6.2001**Revisão final:** 3.7.2001



MORS, W.B.; RIZZINI, C.T.; PEREIRA, N.A.
***Medicinal Plants of Brazil.* Algonac (Mich.):**
Reference Publications, 2000. 501p.
(DEFILIPPS, R.A. (ed) Medicinal Plants of
the World, 6). ISBN 0-917256-42-5.

O livro faz parte da série sobre plantas medicinais do mundo, dedicada, em cada volume, a um país ou região do planeta. Neste volume são apresentados dados sobre o uso e composição química de cerca de 1500 espécies vegetais, suportados por referências bibliográficas. Os autores são pesquisadores de renome nas áreas de química de produtos naturais, taxonomia e farmacologia. Uma obra deste porte estava faltando para os interessados em conhecer melhor a flora brasileira.



BLUMENTHAL, M.; GOLDBERG, A.;
BRINCKMANN, J. (ed) *Herbal Medicine.*
***Expanded Comission E Monographs.* Newton**
(MA): Integrative Medicine Communications,
2000. 519p. (editado pelo American Botanical
Council). ISBN 1-877-426-6633. [também em
versão eletrônica de disco compacto (CD)]

A obra apresenta as monografias das plantas medicinais avaliadas pela Comissão E da Alemanha e pela Organização Mundial da Saúde, contendo informações referenciadas sobre os aspectos necessários para a utilização destes vegetais. Possui também informações adicionais sobre o mercado de plantas medicinais na Europa e nos Estados Unidos. A versão eletrônica permite uma procura fácil e rápida, proporcionada por conexões textuais inteligentes.