

Informe final publicable de proyecto Estrategias catalíticas en la síntesis de glicomiméticos. Evaluación de su actividad anti- tripanosomático y antitumoral, en la etapa temprana del descubrimiento de fármacos.

Código de proyecto ANII: FCE_1_2019_1_156376

Fecha de cierre de proyecto: 02/09/2022

GAMENARA LANGONA, Daniela (Responsable Técnico - Científico)

DIBELLO RUDOLF, Estefanía (Co-Responsable Técnico-Científico)

SEOANE MUNIZ, Gustavo (Investigador)

BOLLATI, Mariela (Investigador)

COMINI OLMEDO, Marcelo Alberto (Investigador)

MESA BRUNO, Juan Manuel (Investigador)

SCHIAPPAPIETRA SOBA, Pierina Nahir (Investigador)

UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA. FACULTAD DE QUÍMICA (Institución Proponente) \\
FACULTAD DE QUÍMICA. FUNDACIÓN PARA EL PROGRESO DE LA QUÍMICA \\
INSTITUTO PASTEUR DE MONTEVIDEO

Resumen del proyecto

El objetivo de este proyecto, fue la síntesis y evaluación biológica de glicomiméticos, que son compuestos que poseen estructuras similares a los carbohidratos. Estos carbohidratos juegan un rol importante en muchos procesos biológicos, y, debido a su similitud, los glicomiméticos pueden actuar cumpliendo, o inhibiendo este rol biológico.

El descubrimiento de fármacos es el proceso a través del cual se identifican potenciales nuevos medicamentos. Es un proceso largo que involucra disciplinas en las áreas de la química, biología y farmacología. La etapa temprana del descubrimiento de fármacos, es la investigación orientada a la búsqueda de compuestos que puedan tener una determinada actividad biológica, por ejemplo para el tratamiento de una enfermedad. A partir de que se encuentre un compuesto activo, se vuelve a trabajar en el laboratorio de química para hacer variaciones estructurales para mejorar la actividad, y/o disminuir su toxicidad.

En este marco, sintetizamos una serie de compuestos y los evaluamos contra *Trypanosoma brucei brucei* como modelo de parásito.

El trabajo de síntesis se desarrolló en el Laboratorio de Síntesis Orgánica de la Facultad de Química (UdelaR), y la evaluación biológica en el laboratorio de Biología Redox de Tripanosomas del Institut Pasteur de Montevideo.

Se evaluaron 17 de los compuestos sintetizados, obteniendo resultados alentadores, identificando uno de los compuestos nuevos con una actividad en el mismo orden que el control positivo, Nifurtimox. Este compuesto, sin embargo, mostró un bajo índice de selectividad, lo que nos motiva continuar trabajando y utilizarlo como punto de partida para obtener análogos con mejor perfil.

Los resultados del proyecto tienen un importante impacto en investigación básica, ya que se desarrollaron protocolos para la obtención eficiente de compuestos novedosos y estructuralmente complejos, y su evaluación biológica permitió encontrar un compuesto líder en la búsqueda de antiparasitarios con potencial aplicación en salud tanto humana como animal.

Ciencias Naturales y Exactas / Ciencias Químicas / Química Orgánica / Síntesis orgánica.

Palabras clave: Glicomiméticos / Organocatálisis / Descubrimiento de fármacos /

Antecedentes, problema de investigación, objetivos y justificación.

Los glicomiméticos son moléculas con estructura análoga a los carbohidratos. El desarrollo de estos compuestos fue impulsado por el avance en el entendimiento de las interacciones carbohidratos-proteínas. Las ventajas del remplazo de azúcares naturales por glicomiméticos, generalmente implica mayor estabilidad metabólica y selectividad hacia la proteína blanco.

Los carbazúcares son análogos carbocíclicos de los carbohidratos. La ausencia del grupo acetal los hace menos lábiles frente a la hidrólisis que los correspondientes azúcares, confiriéndoles una estabilidad adicional [1,2]. Esta familia de glicomiméticos posee un amplio espectro de actividades biológicas [3].

(+)-MK7607 pertenece al grupo de carbazúcares insaturados (Figura 1). Fue aislado de *Curvularia eragrostidis* D2452, y descrito como un herbicida natural [4]. Es considerado glicomimético de D-galactosa, que está involucrada en muchos procesos biológicos [5]. Su epímero 1-epi-(+)-MK7607, también ha presentado gran afinidad por las lectinas que reconocen galactosa [6]. Debido a la potente actividad de (+)-MK7607 como herbicida, se ha despertado el interés en este compuesto y sus estereoisómeros [7–9].

Figura 1. Estructuras de D-galactosa y su glicomiméticos: (+)-MK7607, (-)-MK7607, 1-epi-(+)-MK7607 y 1-epi-(-)-MK7607.

Por otro lado, los glicomiméticos en los que el átomo de oxígeno del ciclo se reemplaza por nitrógeno se denominan iminoazúcares [10]. Estos alcaloides polihidroxiados pueden interactuar con un amplio rango de enzimas involucradas en el metabolismo de carbohidratos, pudiendo interferir con muchos procesos biológicos de interés medicinal. Se ha descrito su actividad biológica como antitumorales [11], antivirales [12], inmunosupresores [13], y potenciales fármacos contra *Leishmania* [14]. El foco se ha puesto especialmente en los 1-deoxi-iminoazúcares ya que se ha demostrado que la función hemiaminal les otorga inestabilidad a los iminoazúcares [15–20].

Posteriormente se describieron los sp²-iminoazúcares, en los que el átomo de nitrógeno, en lugar de ser tipo-amina, es tipo-amida (sp²). Estos compuestos han mostrado una discriminación sin precedentes entre isoenzimas glicosidasas. El uso de esta clase de glicomiméticos está siendo estudiado para el tratamiento de diversas enfermedades como Gaucher [21], Fabry [22,23], así como en la búsqueda de actividad anti-leishmania [24].

La mayoría de los trabajos publicados se centran en los D-iminoazúcares debido a su mayor disponibilidad. Sin embargo, recientemente se han descrito interesantes actividades de L-iminoazúcares, a veces superiores a las de sus enantiómeros, lo que ha puesto el foco en ellos como candidatos a fármacos [25,26].

Históricamente, la catálisis enantioselectiva ha sido dominada por el uso de metales de transición y enzimas. Sin embargo, a partir del año 2000 el concepto de organocatálisis (catálisis mediada por moléculas orgánicas pequeñas) se instaló como el tercer pilar de la catálisis enantioselectiva [27–30]. Los primeros antecedentes en la utilización de estos catalizadores datan de 1971, con los trabajos de Eder y de Hajos [31,32]. En el año 2000, con las publicaciones de List [33] y MacMillan [34], el concepto de organocatálisis quedó establecido y desplegó todo su potencial sintético. Entre los primeros 10 años, se describieron más de 1500 trabajos, aplicados a más de 130 tipos de reacciones diferentes [28]. Se ha descrito su utilización en la síntesis de diversos productos bioactivos [35,36] y productos naturales [37,38].

La organocatálisis presenta ventajas con respecto al uso de catalizadores metálicos, ya que éstos suelen ser caros y tóxicos. En cambio, los organocatalizadores (generalmente aminoácidos, carbohidratos o sus derivados), suelen ser estables, se encuentran disponibles en fuentes naturales haciéndolos accesibles, generalmente no son tóxicos y son amigables con el medio ambiente.

Dentro de las reacciones organocatalizadas para la formación de enlaces C-C, las reacciones aldólica y de Mannich han sido muy estudiadas, y el uso de este tipo de estrategias ha sido utilizado en la síntesis de diferentes productos naturales [37,38].

Cuando se utiliza prolina como organocatalizador en reacciones aldólicas, el ataque más favorable se da cuando la enamina anti ataca la cara re del aldehído. En cambio, en la reacción de Mannich, el ataque más favorable de la enamina anti es sobre la cara si de la imina. Esto se debe a la minimización del impedimento estérico generado por el sustituyente de la imina, que se dispone en anti con respecto al sustituyente R, y que no existe en el caso de la reacción aldólica (Figura 2). Por lo tanto, en la reacción de Mannich, los dos nuevos centros estereogénicos se forman en relación sin, y en las reacciones aldólicas se obtienen en relación anti.

Figura 2. Estados de transición en las reacciones de Mannich y aldólica, catalizadas por L-prolina.

La utilización de aminoácidos primarios como organocatalizadores también ha demostrado ser exitosa en reacciones aldólicas [39,40,49–51,41–48] y de Mannich [46,48,59,60,51–58]. Se ha descrito que, al combinar aminoácidos primarios con hidroxiacetona como nucleófilo, se invierten las estereoselectividades de los productos obtenidos al usar prolina como catalizador. En la reacción de Mannich los dos nuevos centros estereogénicos se forman en relación anti, y en las reacciones aldólicas en relación sin. Estudios teóricos demostraron que, al usar prolina, el grupo hidroxilo en la enamina desestabiliza por impedimento estérico a la enamina Z, favoreciendo el producto con la enamina E. En cambio, al usar un aminoácido primario, la enamina Z se ve favorecida por la formación de un enlace de hidrógeno entre el NH y el OH (Figura 3). Esto explica las selectividades opuestas entre las reacciones catalizadas por prolina y las que usan aminoácidos primarios.

Figura 3. Estereoquímica de los productos obtenidos en reacciones de Mannich y aldólica, al usar hidroxiacetona como nucleófilo y aminoácidos primarios o secundarios como organocatalizadores.

Esta posibilidad de obtener diferente estereoquímica en los productos al cambiar el organocatalizador se presenta como una ventaja para su uso en “síntesis orientada a la diversidad estructural (DOS, de su sigla en Inglés)”.

La dihidroxilación enzimática de arenos es una herramienta de amplio uso en síntesis enantioselectiva, debido al potencial sintético de sus productos (cis-ciclohexadienodiolos homoquirales), los que se han usado en la preparación de diferentes compuestos [61–64]. Recientemente nuestro grupo ha optimizado este proceso utilizando un microorganismo recombinante de *Escherichia coli* JM109 (pDTG601) [65]. Los cis-ciclohexadienodiolos obtenidos son muy interesantes debido a su alta funcionalización, y a la facilidad y bajo costo de su preparación en forma homoquiral. Estos metabolitos presentan una función dieno y una función diol, que pueden ser utilizadas ortogonalmente para obtener una gran variedad de derivados. Nuestro laboratorio es el único en América Latina que trabaja con ellos, y cuenta con amplia experiencia en su manipulación, habiendo realizado diversos aportes al conocimiento de los mismos y a su potencial sintético.

Nuestra propuesta se centró principalmente en la síntesis de glicomiméticos (carbazúcares e iminoazúcares) desde dos abordajes diferentes. Por un lado, se trabajó en la profundización en el uso de estrategias organocatalíticas desarrolladas con anterioridad por nuestro grupo [66,67] para la preparación de este tipo de compuestos, con foco en reacciones aldólicas y de Mannich, como pasos clave en las rutas sintéticas hacia los productos propuestos.

El trabajo en esta línea se basó en el concepto de “síntesis orientada a la diversidad estructural (DOS, de su sigla en Inglés)” [68,69], permitiendo, a partir de variaciones en las etapas iniciales de la secuencia sintética, obtener una gran diversidad estructural, insumo fundamental para la realización de ensayos de actividad biológica.

En nuestro grupo de trabajo también existe el antecedente de la síntesis de la piperidina hidroxilada X, que presenta el nitrógeno del ciclo protegido con un grupo tosilo. Los experimentos de difracción de rayos X realizados sobre este tipo de compuestos permitieron confirmar el carácter sp² de este nitrógeno [70]. La evaluación biológica preliminar del compuesto X sobre *T. brucei* ha mostrado una interesante actividad, que no presenta su análogo oxigenado Y (Resultados no publicados, Figura 4).

Figura 4. Estructura de los compuestos X e Y y modelo de las estructuras propuestas.

Una de las propuestas de este proyecto fue la obtención, utilizando una estrategia de DOS, de una familia de sp²-iminoazúcares, en que el nitrógeno del ciclo estuviera protegido. El grupo tosilo, además de otorgarle un carácter sp² al átomo de nitrógeno, presenta la ventaja de enmascarar la función hemiaminal, la cual se ha dicho anteriormente le otorga inestabilidad a los iminoazúcar. En el transcurso del trabajo, también se ensayaron otras protecciones, y se terminó utilizando de preferencia el grupo p-metoxibencilo como protector. Se planteó sintetizar aza-glicomiméticos de configuración L-, por un lado, debido a que esta serie configuracional ha sido menos explorada, pero por otro, debido a la analogía con el compuesto X (Figura 4). Para lograr esta diversidad estructural la estrategia de síntesis implicó el uso de metodologías organocatalíticas que nos permitieran obtener una diversidad estereoquímica importante al variar el organocatalizador empleado.

Como se mencionó anteriormente la propuesta sintética se basó en la posibilidad de obtener diversidad estructural combinando el uso de aminoácidos con amins primarias o secundarias como organocatalizadores.

Por otro lado, se planteó un abordaje biocatalítico, en que el paso clave fue la dihidroxilación microbiana de arenos biocatalizada por una cepa recombinante de *E. coli* JM109 (pDTG601), para la síntesis de dos carbazúcares de importancia biológica (-)-MK7607 y 1-epi-(-)-MK7607 [4,7,8,71] y de aza-D-ribosa, intermedio clave en la síntesis de nucleósidos con reconocida actividad antiviral y antitumoral [72–74].

Además, a través de la caracterización biológica de los compuestos empleando diferentes modelos pato-fisiológicos, se pretendió otorgar valor agregado a los productos de síntesis (muchos de ellos originales y no caracterizados a la fecha) previéndose la identificación de diversas moléculas con potencial farmacológico contra diferentes enfermedades transmisibles y no transmisibles.

La contribución de esta propuesta, en cuanto a creación de conocimiento, fue, por un lado, en el área de investigación básica en síntesis orgánica estereoselectiva, utilizando estrategias tanto organo- como biocatalíticas. El desarrollo del conocimiento en esta área es de suma importancia, ya que el aporte al enriquecimiento de esta disciplina básica es fundamental como insumo para el diseño de nuevos compuestos bioactivos. Adicionalmente, optimizar procesos para la preparación de los distintos objetivos sintéticos de modo de hacerlos simples y eficientes, nos acercó a la posibilidad de producción nacional de compuestos bioactivos y/o de alto valor agregado. Por otro lado, el conocimiento generado en el área de descubrimiento de fármacos, explorando bibliotecas con potencial actividad biológica, nos permitió encontrar un nuevo compuestos "HIT" para su posterior optimización, en la búsqueda de compuestos líderes como fármacos potenciales. En particular, la búsqueda de nuevos fármacos anti-tripanosomatidos, nos permitirá acercar nuestro aporte en la resolución de problemas de importancia tanto a nivel nacional como internacional.

Debido a que el proceso del descubrimiento de fármacos (Drug Discovery) involucra diversas disciplinas, entre las que se incluyen biología, química y farmacología, se trabajó desde una perspectiva interdisciplinaria, en colaboración con grupos del Institut Pasteur de Montevideo (Unidad de Biología Celular y Laboratorio de Biología Redox de Tripanosomas). La presente propuesta contribuyó al fortalecimiento de esta colaboración ya que se plantearon de manera complementaria objetivos químicos y biológicos.

Como resultados significativos de este proyecto, se generaron rutas sintéticas eficientes para obtener los iminoazúcares y carbazúcares objetivo, y se realizó una evaluación biológica de los mismos como antiparasitarios, buscando compuestos que sean cabezas de serie, a partir de los cuales obtener compuestos activos.

Adicionalmente, el trabajo planteado persiguió el objetivo de formar recursos humanos con capacitación multidisciplinaria en el área de la química sintética y la evaluación biológica de compuestos por técnicas de última generación.

Metodología/Diseño del estudio

Para obtener los cuatro iminoazúcares miméticos de L-pentosas se propuso la estrategia que se muestra en el Esquema 1. El primer paso implicó una reacción de Mannich entre la imina B y 1,3-dihidroxiacetona protegida (A). Se planteó obtener el producto de adición sin (C) o anti (D) a través del uso de diferentes organocatalizadores. A partir de C y D se planteó usar diferentes agentes reductores para obtener los cuatro estereoisómeros posibles. En primera instancia se utilizaron agentes reductores no selectivos como NaBH₄, para determinar si existía una selectividad dirigida por el sustrato, pero también se planteó el uso de agentes reductores estereoselectivos como Selectride, BINAP, LAH entre otros. La última etapa sería la desprotección y oxidación del hidroxilo primario.

Esquema 1. Estrategia organocatalítica para la síntesis de iminoazúcares miméticos de L-pentofuranosas.

Otro objetivo de nuestro trabajo, fue la síntesis organocatalítica de iminoazúcares miméticos de L-hexopiranosas, que se describe en el Esquema 2. El primer paso implicaría una reacción de Mannich entre un alfa-oxiacetaldehído (E) y la imina B, obtenida por la reacción entre glioxalato de etilo y una amida protegida. Basándonos en los antecedentes descritos, se planteó la utilización de un aminoácido secundario como organocatalizador para obtener el producto de adición sin (G) y un aminoácido primario como organocatalizador para obtener el producto de adición anti (H). El siguiente paso sería la adición aldólica organocatalizada de estos productos (G y H) con otro mol del alfa-oxiacetaldehído E. Se propuso variar el organocatalizador (amina primaria – amina secundaria) y también usar distintos enantiómeros de estos organocatalizadores para obtener los ocho iminoazúcares que se muestran en el Esquema 2, con las configuraciones L-ido, L-gal, L-gulo, L-talo, L-altro, L-glu, L-allo y L-mano. La ciclación intramolecular de estos productos daría lugar a las estructuras propuestas miméticas de piranosas.

Esquema 2. Estrategia organocatalítica para la síntesis de iminoazúcares miméticos de L-hexopiranosas.

El siguiente objetivo de esta propuesta fue la síntesis de los carbazúcares de importancia biológica: (-)-MK7607 y 1-epi-(-)-MK7607, y de aza-D-ribosa. Para la preparación de estos compuestos se partiría de dos diferentes cis-ciclohexadienodiolos: uno derivado de acetato de bencílico, y otro del bromobenceno, ambos obtenidos por dihidroxilación enzimática de los correspondientes arenos con la cepa recombinante *E. coli* JM109 (pDTG601) [65].

Para la síntesis de (-)-MK7607, se propuso partir del cis-ciclohexadienodiol obtenido a partir del acetato de bencilo (Esquema 3). La primera etapa sería la protección como acetónido del grupo diol, que se llevaría a cabo con dimetoxipropano (DMP) y ácido p-toluenosulfónico (p-TsOH) como catalizador, utilizando acetona como disolvente. La siguiente etapa sería una dihidroxilación regio- y estereoselectiva con OsO₄ y NMO (N-óxido de N-metilmorfolina), que se daría por la cara opuesta al grupo acetónido, debido al impedimento estérico de este, y sobre el doble enlace distal (menos sustituido), debido a lo voluminoso del sustituyente en el doble enlace proximal. La etapa final, sería la desprotección de todos los grupos hidroxilo. La síntesis de 1-epi-(-)-MK7607 fue diseñada a partir del mismo material de partida que para su isómero (-)-MK7607, y la primera etapa fue también la reacción de protección del grupo diol como acetónido (Esquema 3). El paso siguiente sería una epoxidación con ácido m-cloroperbenzoico en el doble enlace distal, que, al estar protegida la función diol con un grupo voluminoso como el acetónido, forzosamente se formaría por la cara opuesta a la del diol. La apertura regioselectiva del epóxido y posterior desprotección de todos los grupos hidroxilo, llevaría a 1-epi-(-)-MK7607.

Esquema 3. Estrategia quimioenzimática para la obtención de los carbazúcares (-)-MK7607 y 1-epi-(-)-MK7607.

Para la síntesis de aza-D-ribosa se partiría del cis-ciclohexadieno diol obtenido por dihidroxilación de bromo benceno con *E. coli* JM109 (pDTG601), y la primera etapa sería la protección de la función diol como acetónido (Esquema 4). Seguidamente, la epoxidación con ácido m-cloroperbenzoico generaría el epóxido en el doble enlace distal, y por el lado opuesto al acetónido. El siguiente paso sería la apertura regioselectiva del epóxido y posterior reacción tricloroacetronitrilo que luego se deshalogenaría con hidruro de tributilestaño, y se daría el rearrreglo de Overman,[119] que es un rearrreglo de Claisen en alcoholes alílicos, formando la correspondiente tricloroacetamida a través de un intermedio imidato. Los siguientes pasos son la ozonólisis reductiva, y posterior ruptura oxidativa, y luego la desprotección de los grupos hidroxilo, que daría lugar a la aza-D-ribosa.

Esquema 4. Estrategia quimioenzimática para la obtención del iminoazúcar aza-D-ribosa.

Resultados, análisis y discusión

En el marco de la síntesis de análogos de L-pentofuranosas, se optimizó la reacción de Mannich entre 1 y 2 (Esquema 5). Luego de evaluar diferentes condiciones, se optimizó la reacción obteniéndose la cetona 3 con un 78% de rendimiento, y un exceso enantiomérico del 98% determinado por HPLC con fase estacionaria quiral.

Esquema 5. Reacción de Mannich entre 1 y 2.

A continuación, se optimizó la reducción diastereoselectiva de 3 para obtener los productos 4 y 5 en forma estereoselectiva (Esquema 6).

Esquema 6. Reducción estereoselectiva de 3.

El siguiente paso en la ruta planteada consistió en la desprotección del grupo acetónido en 4. El uso de condiciones clásicas (CuCl₂, Dowex, PPTS) no arrojó buenos resultados, por lo que se utilizó una solución de I₂ en MeOH a 50°C, obteniendo una mezcla 1:1 de 6 y 7 con un 86% de rendimiento. En todos los casos fue inevitable la formación de 7, producto de la ciclación intramolecular de 6 (Esquema 7).

Esquema 7. Reacción de desprotección del grupo acetónico en 4.

Debido a la intrínseca inestabilidad de la función hemiaminal, y a los resultados poco satisfactorios obtenidos al intentar oxidar del grupo hidroxilo primario en 4, se decidió realizar la síntesis de los análogos reducidos (Esquema 8). Para esto, se hizo reaccionar la mezcla de 6 y 7 con TsCl (cloruro de tosilo) en piridina, obteniendo una mezcla de los productos 8 (29%) y 9 (22%), siendo 9 el producto de ciclación intramolecular de 8 por desplazamiento del tosilato por el grupo amino. A su vez, el tosilato 8 pudo convertirse en 9 con un 43 % de rendimiento, utilizando K₂CO₃ como base y NaI como catalizador nucleofílico. Por último, se realizó la apertura del biciclo 9 para obtener el iminoazúcar reducido 10, con un 73% de rendimiento, utilizando NaCN como catalizador.

Esquema 8. Síntesis del iminoazúcar 10.

Por otro lado, se trabajó en la síntesis del iminoazúcar diasterómero de 10 a partir de 5. Se siguió la misma estrategia, desprotegiendo el grupo acetónido en condiciones de I₂ y MeOH. Afortunadamente, en este caso se obtuvo un único producto, el triol 11, con un 51% de rendimiento. A continuación, se hizo reaccionar 11, en condiciones de mesilación, obteniéndose el iminoazúcar 12 por desplazamiento del mesilato por el grupo amino, con un 81% de rendimiento en base a recuperación de material de partida (Esquema 9). Una vez obtenido el iminoazúcar 12, se sintetizaron los derivados protegidos y reducidos que se muestran en el Esquema 10.

Esquema 9. Síntesis del iminoazúcar 12 a partir de 5.

Esquema 10. Síntesis de derivados reducidos y protegidos de 12.

En lo que refiere a la síntesis de los productos anti de la reacción de Mannich, se obtuvo el compuesto 17 con un 95 % de ee, y se debe continuar trabajando en la optimización de la reacción, en procura de mejorar su rendimiento. (Esquema 11).

Esquema 11. Reacción de Mannich para la obtención de iminoazúcares y derivados de configuración relativa anti.

En el marco de una colaboración con el Laboratorio de Biología Redox de Tripanosomas, en el Institut Pasteur de Montevideo, se evaluó la actividad biológica de los iminoazúcares obtenidos, así como de sus intermedios de reacción. Los resultados se muestran en la Tabla 1.

Tabla 1: Evaluación biológica frente a *T. brucei brucei* de los compuestos obtenidos.

Para nuestra satisfacción, el iminoazúcar 10 fue capaz de reducir la viabilidad celular con un EC₅₀ de 3.8 ± 1.0 μM. Sin embargo, también mostró toxicidad frente a macrófagos, lo que nos motiva a continuar la búsqueda de análogos con mayor selectividad. Los resultados referentes a la síntesis y evaluación biológica de los iminoazúcares miméticos de L-lixo y L-xilopentofuranosas fueron recientemente publicados en Eur. J. Org. Chem. 34, e202200636, 2022).

También se trabajó sobre la síntesis de los iminoazúcares miméticos de L-hexopiranosas. Como primera etapa, se llevó a cabo el estudio de la reacción de Mannich organocatalizada que se muestra en el esquema 12. Esta reacción ya fue descrita por Ibrahim (Tetrahedron Lett., 2005, 46, 2845-2847), pero no se detallan las condiciones, por lo que debió ser optimizada.

Esquema 12. Reacción de Mannich organocatalizada.

Como punto de partida se utilizó L-prolina (30% mol) como organocatalizador, y se variaron los disolventes, tiempos de reacción y temperatura, pero no se pudo obtener un buen rendimiento. Estudiando los resultados obtenidos, se sospechó que el aldehído podría estar polimerizando en el medio de reacción, por lo que se decidió agregar un 1 a 2 % de hidroquinona como estabilizante. Estas condiciones permitieron obtener el producto con rendimientos aceptables de 35 a 50% y una mezcla de diastereómeros con relación syn:anti de 5:1 luego de su purificación por cromatografía en columna. Antes de continuar con la ruta sintética hacia los miméticos de L-hexopiranosas, se procedió a determinar la estereoquímica de los nuevos centros quirales formados. Se continuó trabajando sobre esta ruta, pero sin obtenerse los resultados buscados, por lo que es necesario seguir trabajando en la misma.

Respecto a la ruta planteada para la síntesis de (-)-MK7607, este pudo obtenerse en tres pasos de síntesis con un 37% de rendimiento global (Esquema 13). Luego de varias pruebas se escogió como grupo protector el acetato y luego se trabajó sobre la optimización de la reacción de dihidroxilación para que diera mayoritariamente sobre el doble enlace menos sustituido. Se estudió la influencia del aumento de la cantidad de NMO en la reacción, obteniéndose los productos en una relación 1.3:1 (21:22), siendo mayoritario el compuesto dihidroxilado en el doble enlace menos sustituido. También se estudió el efecto del disolvente y se exploró el uso de N-óxido de trietilamina en lugar de NMO. Finalmente, las mejores condiciones encontradas fueron CH₂Cl₂ como disolvente con un equivalente de agua, 2.5 eq de NMO y OsO₄ en cantidades catalíticas, y se obtuvo una relación de productos 1.6:1 (21:22).

Esquema 13. Síntesis de (-)-MK7607.

Respecto a la obtención de 1-epi-(-)-MK7607 se preparó en cuatro pasos, con un 10% de rendimiento global (Esquema 14). Se debieron estudiar diferentes grupos protectores para dirigir la reacción de epoxidación hacia el doble enlace menos sustituido y hacia la cara opuesta respecto a la de los grupos hidroxilo.

Esquema 14. Síntesis de 1-epi-(-)-MK7607.

Se eligió proteger como acetónido la función diol en 19 para disminuir la cantidad de productos obtenidos en la reacción de epoxidación. Está descrito que el grupo acetónido es capaz de dirigir la reacción de epoxidación, pudiéndose obtener sólo el epóxido por la cara opuesta a este grupo. Además, como se había visto en pruebas anteriores, el acetato fue el grupo protector que permitió obtener como producto mayoritario el epóxido sobre el doble enlace menos sustituido. Se llevó a cabo la epoxidación en condiciones clásicas de m-CPBA en CH₂Cl₂, y como producto se obtuvo una mezcla del epóxido formado en el doble enlace menos sustituido y en el más sustituido, en una relación 1:0,5 (26:27). La mezcla obtenida fue imposible de separar por columna cromatográfica, por lo tanto se decidió seguir trabajando con ella en el siguiente paso de apertura de los epóxidos. En este caso los productos sí se lograron separar.

A pesar de no haber estado incluida en la propuesta original, debido a la experiencia ganada en la química de este tipo de carbazúcares, se decidió comenzar a explorar la síntesis de 2-epi-(-)-MK7607 (Esquema 15). Para esto se planteó realizar la epoxidación del doble enlace sobre el compuesto 19, ya que al tener los grupos hidroxilo libres, estos dirigirían la epoxidación por la misma cara. Se pudieron optimizar las condiciones de reacción para obtener el compuesto 28 como mayoritario en una relación 2.4:1 (28:29). Actualmente se está trabajando en los dos últimos pasos de síntesis hacia 2-epi-(-)-MK7607.

Esquema 15. Síntesis de 2-epi-(-)-MK7607.

Sobre la síntesis de la aza-D-ribosa, otra molécula objetivo de este trabajo, se comenzó a trabajar de acuerdo a lo propuesto inicialmente (Esquema 16).

Esquema 16. Ruta sintética para la síntesis de aza-D-ribosa.

Se probaron dos condiciones sobre la reacción de Overman para obtener el compuesto 35, variando el disolvente, y agregando K₂CO₃. Los disolventes utilizados fueron xileno y clorobenceno. Todavía no ha sido posible optimizar esta reacción, por lo que se continuará trabajando sobre esta ruta.

Conclusiones y recomendaciones

En lo que refiere a la parte de síntesis propuesta en el proyecto, se diseñó y optimizó una ruta sintética concisa y eficiente, para la preparación de iminoazúcares miméticos de L-pentofuranosas, de configuraciones L-lixo y L-xilo y derivados protegidos y reducidos (Resultados publicados: Eur. J. Org. Chem. 34, e202200636, 2022). Para la obtención de los correspondientes iminoazúcares de configuraciones L-ribo y L-ara, se encontró una estrategia eficiente, que debe aún optimizarse.

En cuanto a la obtención de los iminoazúcares miméticos de L-hexopiranosas, la ruta propuesta ofreció dificultades que no nos permitieron avanzar en esa línea, pero para la que hemos diseñado una estrategia alternativa, con la que comenzaremos a trabajar próximamente.

Los carbazúcares (-)-MK7607 y 1-epi-(-)-MK7607 fueron obtenidos en pocos pasos y con buenos rendimientos, y adicionalmente se trabajó en la síntesis de 2-epi-(-)-MK7, habiendo llegado a intermedios avanzados. Se continuará trabajando obtener el producto final.

En cuanto a la síntesis de aza-D-ribosa, se lograron intermedios avanzados hacia el producto final, restando aún completar los últimos pasos de la ruta sintética.

La evaluación biológica de todos los productos finales obtenidos, así como de los intermedios de reacción, se llevó a cabo contra *Tripanosoma brucei brucei*, encontrando en uno de los compuestos actividad relevante, sobre el que se continuará trabajando en la búsqueda de derivados más activos y menos tóxicos (Resultados publicados: Eur. J. Org. Chem. 34, e202200636, 2022)

Referencias bibliográficas

- [1] S. Ogawa, in *Carbohydr. Mimics Concepts Methods* (Ed.: Y. Chapleur), Wiley-VCH Verlag GmbH, Weinheim, Germany, 2005, pp. 87–106.
- [2] A. Berecibar, C. Grandjean, A. Siriwardena, *Chem. Rev.* 1999, 99, 779–844.
- [3] S. Roscales, J. Plumet, *Int. J. Carbohydr. Chem.* 2016, 2016, 1–42.
- [4] N. Yoshikawa, N. Chiba, Patent, 0630600 (Japan).
- [5] P. R. Krishna, R. R. Kadiyala, *Tetrahedron Lett.* 2010, 51, 2586–2588.
- [6] C. Lim, D. J. Baek, D. Kim, S. W. Youn, S. Kim, *Org. Lett.* 2009, 11, 2583–2586.
- [7] S. Mondal, K. M. Sureshan, *J. Org. Chem.* 2016, 81, 11635–11645.
- [8] J. Sardinha, A. P. Rauter, M. Sollogoub, *Tetrahedron Lett.* 2008, 49, 5548–5550.
- [9] C. Song, S. Jiang, G. Singh, *Synlett* 2001, 2001, 1983–1985.
- [10] N. Asano, in *Carbohydrate Chemistry: The State Art and Challenges in Drug Development*. (Ed.: L. Cipolla), Imperial College Press, London, UK, 2015, pp. 279–301.
- [11] T. Wrodnigg, A. Steiner, B. Ueberbacher, *Anticancer. Agents Med. Chem.* 2008, 8, 77–85.
- [12] B. E. Tyrrell, A. C. Sayce, K. L. Warfield, J. L. Miller, N. Zitzmann, *Crit. Rev. Microbiol.* 2017, 43, 521–545.
- [13] M. Liu, S. Wang, Y. D. Zhou, T. Xiang, H. Dong, K. Yang, X. L. Zhang, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2012, 22, 564–570.
- [14] D. Ruhela, P. Chatterjee, R. A. Vishwakarma, *Org. Biomol. Chem.* 2005, 3, 1043–1048.
- [15] K. I. Kondo, H. Adachi, E. Shitara, F. Kojima, Y. Nishimura, *Bioorg. Med. Chem.* 2001, 9, 1091–1095.
- [16] A. H. Viuff, L. M. Besenbacher, A. Kamori, M. T. Jensen, M. Kilian, A. Kato, H. H. Jensen, *Org. Biomol. Chem.* 2015, 13, 9637–9658.
- [17] V. Kumar, N. G. Ramesh, *Tetrahedron* 2006, 62, 1877–1885.
- [18] A. Soler, X. Garrabou, K. Hernández, M. L. Gutiérrez, E. Busto, J. Bujons, T. Parella, J. Joglar, P. Clapés, *Adv. Synth. Catal.* 2014, 356, 3007–3024.
- [19] A. Kaddour, S. Toumieux, A. Wadouachi, *Synlett* 2017, 28, 2174–2178.
- [20] M. Y. Kawamura, A. G. Talero, J. V. Santiago, E. Garambel-Vilca, I. G. Rosset, A. C. B. Burtoloso, *J. Org. Chem.* 2016, 81, 10569–10575.
- [21] T. Mena-Barragán, M. I. García-Moreno, A. Sevšek, T. Okazaki, E. Nanba, K. Higaki, N. I. Martin, R. J. Pieters, J. M. García Fernández, C. O. Mellet, *Molecules* 2018, 23, 1–18.
- [22] I. Sylte, R. Dawadi, N. Malla, S. von Hofsten, T. M. Nguyen, A. I. Solli, E. Berg, O. A. Adekoya, G. Svineng, J. O. Winberg, *PLoS One* 2018, 13, DOI 10.1371/journal.pone.0200237.
- [23] E. M. Sánchez-Fernández, R. Rísquez-Cuadro, C. Ortiz Mellet, J. M. García Fernández, P. M. Nieto, J. Angulo, *Chem. Eur. J.* 2012, 18, 8527–8539.
- [24] E. M. Sánchez-Fernández, V. Gómez-Pérez, R. García-Hernández, J. M. García Fernández, G. B. Plata, J. M. Padrón, C. Ortiz Mellet, S. Castanys, F. Gamarro, *RSC Adv.* 2015, 5, 21812–21822.
- [25] D. D'Alonzo, A. Guaragna, G. Palumbo, *Curr. Med. Chem.* 2009, 16, 473–505.
- [26] M. De Fenza, D. D'Alonzo, A. Esposito, S. Munari, N. Loberto, A. Santangelo, I. Lampronti, A. Tamanini, A. Rossi, S. Ranucci, I. De Fino, A. Bragonzi, M. Aureli, R. Bassi, M. Tironi, G. Lippi, R. Gambari, G. Cabrini, G. Palumbo, M. C. Dececchi, A. Guaragna, *Eur. J. Med. Chem.* 2019, 175, 63–71.
- [27] E. N. Jacobsen, D. W. C. MacMillan, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 2010, 107, 20618–20619.
- [28] D. W. C. MacMillan, *Nature* 2008, 455, 304–308.
- [29] S. C. Pan, B. List, in *Organocatalysis* (Eds.: M. T. Reetz, S. Jaroch, H. Weinmann), Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg, 2008, pp. 1–43.
- [30] J. Seayad, B. List, *Org. Biomol. Chem.* 2005, 3, 719–724.
- [31] B. U. Eder, G. Sauer, R. Wiechert, *Angew. Chem. Int. Ed.* 1971, 10, 496–497.
- [32] Z. G. Hajos, D. R. Parrish, *J. Org. Chem.* 1974, 39, 1615–1621.
- [33] B. List, *J. Am. Chem. Soc.* 2000, 122, 9336–9337.
- [34] K. A. Ahrendt, C. J. Borths, D. W. C. MacMillan, *J. Am. Chem. Soc.* 2000, 122, 4243–4244.
- [35] J. Alemán, S. Cabrera, *Chem. Soc. Rev.* 2013, 42, 774–793.
- [36] T. Ooi, *ACS Catal.* 2015, 5, 8980–8988.
- [37] E. Dibello, D. Gamnara, G. Seoane, *Curr. Organocatal.* 2015, 2, 124–149.

- [38] M. Waser, *Asymmetric Organocatalysis in Natural Products Synthesis*, Springer-Verlag, Vienne, Austria, 2012.
- [39] A. Bassan, W. Zou, E. Reyes, F. Himo, A. Córdova, *Angew. Chem. Int. Ed.* 2005, 44, 7028–7032.
- [40] A. Córdova, W. Zou, I. Ibrahim, E. Reyes, M. Engqvist, W.-W. Liao, *Chem. Commun.* 2005, 3586–3588.
- [41] A. H. Henseler, C. Ayats, M. A. Pericàs, *Adv. Synth. Catal.* 2014, 356, 1795–1802.
- [42] J. Jiang, L. He, S. W. Luo, L. F. Cun, L. Z. Gong, *Chem. Commun.* 2007, 736–738.
- [43] Z. Jiang, H. Yang, X. Han, J. Luo, M. W. Wong, Y. Lu, *Org. Biomol. Chem.* 2010, 8, 1368–1377.
- [44] S. S. Khan, J. Shah, J. Liebscher, *Tetrahedron* 2010, 66, 5082–5088.
- [45] S. S. V. Ramasastry, K. Albertshofer, N. Utsumi, F. Tanaka, C. F. Barbas, *Angew. Chem. Int. Ed.* 2007, 46, 5572–5575.
- [46] S. S. V. Ramasastry, H. Zhang, F. Tanaka, C. F. Barbas, *J. Am. Chem. Soc.* 2007, 129, 288–289.
- [47] N. Utsumi, M. Lmai, F. Tanaka, S. S. V. Ramasastry, C. F. Barbas, *Org. Lett.* 2007, 9, 3445–3448.
- [48] C. Wu, X. Fu, S. Li, *Tetrahedron: Asymmetry* 2011, 22, 1063–1073.
- [49] C. Wu, X. Fu, S. Li, *Eur. J. Org. Chem.* 2011, 1291–1299.
- [50] C. Wu, X. Long, S. Li, X. Fu, *Tetrahedron: Asymmetry* 2012, 23, 315–328.
- [51] L. W. Xu, Y. Lu, *Org. Biomol. Chem.* 2008, 6, 2047–2053.
- [52] L. Cheng, X. Han, H. Huang, M. W. Wong, Y. Lu, *Chem. Commun.* 2007, 4143–4145.
- [53] P. Dziejczak, I. Ibrahim, A. Córdova, *Tetrahedron Lett.* 2008, 49, 803–807.
- [54] P. Dziejczak, A. Córdova, *Tetrahedron: Asymmetry* 2007, 18, 1033–1037.
- [55] A. Fu, H. Li, H. Si, S. Yuan, Y. Duan, *Tetrahedron: Asymmetry* 2008, 19, 2285–2292.
- [56] I. Ibrahim, W. Zou, M. Engqvist, Y. Xu, A. Córdova, *Chem. Eur. J.* 2005, 11, 7024–7029.
- [57] T. C. Nugent, A. Sadiq, A. Bibi, T. Heine, L. L. Zeonjuk, N. Vankova, B. S. Bassil, *Chem. Eur. J.* 2012, 18, 4088–4098.
- [58] Y. C. Teo, J. J. Lau, M. C. Wu, *Tetrahedron: Asymmetry* 2008, 19, 186–190.
- [59] C. Wu, X. Fu, X. Ma, S. Li, C. Li, *Tetrahedron Lett.* 2010, 51, 5775–5777.
- [60] F. F. Yong, Y. C. Teo, *Synth. Commun.* 2011, 41, 1293–1300.
- [61] D. R. Boyd, T. D. H. Bugg, *Org. Biomol. Chem.* 2006, 4, 181–192.
- [62] D. T. Gibson, R. E. Parales, *Curr. Opin. Biotechnol.* 2000, 11, 236–243.
- [63] T. Hudlicky, J. W. Reed, *Synlett* 2009, 0685–0703.
- [64] D. Gaménara, G. A. Seoane, P. Saenz-Méndez, de María, *Redox Biocatalysis: Fundamentals and Applications*, John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, N.J., 2012.
- [65] M. A. Vila, M. Broveto, D. Gaménara, P. Bracco, G. Zinola, G. Seoane, S. Rodríguez, I. Carrera, *J. Mol. Catal. B: Enzym.* 2013, 96, 14–20.
- [66] E. Dibello, D. Gaménara, G. A. Seoane, *Synthesis* 2017, 49, 1087–1092.
- [67] E. Dibello, L. Suescun, G. A. Seoane, D. Gaménara, *Tetrahedron: Asymmetry* 2017, 28, 344–348.
- [68] W. R. J. D. Galloway, A. Isidro-Llobet, D. R. Spring, *Nat. Commun.* 2010, 1, DOI 10.1038/ncomms1081.
- [69] S. Yi, B. V. Varun, Y. Choi, S. B. Park, *Front. Chem.* 2018, 6, 1–8.
- [70] P. A. Vadola, I. Carrera, D. Sames, *J. Org. Chem.* 2012, 77, 6689–6702.
- [71] G. Y. Song, R. W. Sidwell, F. Sch, *J. Med. Chem.* 2001, 44, 3985–3993.
- [72] K. Okamoto, T. Shoji, M. Tsutsui, N. Shida, K. Chiba, *Chem. Eur. J.* 2018, 24, 17902–17905.
- [73] G. Romeo, U. Chiacchio, A. Corsaro, P. Merino, *Chem. Rev.* 2010, 110, 3337–3370.
- [74] D. Hernández, A. Boto, *Eur. J. Org. Chem.* 2014, 2014, 2201–2220.

Licenciamiento

Reconocimiento-NoComercial-SinObraDerivada 4.0 Internacional. (CC BY-NC-ND)