

SINTESIS DE C-CINAMOIL GLICOSIDOS Y ESTUDIO DE SU ACTIVIDAD INHIBITORIA FRENTE A LAS ANHIDRASAS CARBONICAS

Leonardo E. Riafrecha, Oscar M. Rodríguez, Helberth J. Llantén Martínez y Pedro A. Colinas.

LADECOR, Departamento de Química, Facultad de Ciencias Exactas, Universidad Nacional de La Plata. 47 y 115 (1900) La Plata, Buenos Aires, Argentina. Email: pcolinas@quimica.unlp.edu.ar

Introducción

Las anhidrasas carbónicas forman una familia de metaloenzimas de Zn que catalizan la hidratación reversible del dióxido de carbono.¹ Las anhidrasas carbónicas (ACs) constituyen un excelente ejemplo de evolución convergente, y además de las α -ACs presentes en los mamíferos hay cuatro familias no relacionadas (β -, γ -, δ - y ϵ -CA).² Las β -CAs fueron recientemente caracterizadas en un gran número de patógenos humanos tales como : *Candida albicans*, *Candida glabrata*, *Cryptococcus neoformans*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Helicobacter pylori*, *Mycobacterium tuberculosis*, etc.³

La inhibición de las isozimas de la anhidrasa carbónica tiene aplicaciones en el desarrollo de drogas antiglaucoma, anticonvulsivas y antitumorales; pero recientemente se ha descrito su aplicación como agentes antifúngicos y antibacteriales mediante un nuevo mecanismo de acción. Entre los diversos inhibidores de la anhidrasa carbónica se destacan los fenoles, los cuales no se unen directamente al Zn (II) del sitio activo sino que interactúan con una molécula de agua unida al Zn a través de un enlace por puente de hidrógeno. Dada que esta interacción con la anhidrasa carbónica es completamente diferente a las encontradas con los inhibidores tradicionales (sulfonamidas, sulfamidas y sulfamatos) los fenoles se constituyen en moléculas altamente interesantes para el diseño de nuevos inhibidores de la anhidrasa carbónica.

El acoplamiento de carbohidratos a los farmacóforos adecuados, ha probado ser altamente útil en el desarrollo de inhibidores selectivos de las diferentes formas de las isozimas de la anhidrasa carbónica.⁴ Un problema que presentan los carbohidratos para su uso en el diseño de compuestos biológicamente activos, es la labilidad del enlace glicosídico. Recientemente, se ha desarrollado una gran variedad de miméticos de carbohidratos (glicomiméticos) que son estables a la degradación enzimática.

En el presente trabajo planteamos el diseño de C-cinamoilglicósidos (Figura 1), en los cuales el carbohidrato se encuentra unido al fenol (farmacóforo de la anhidrasa carbónica) a través de una cadena carbonada y el análisis de su actividad frente a las 12 isozimas de la anhidrasa carbónica presentes en mamíferos y 6 isozimas presentes en patógenos. Los C-cinamoilglicósidos derivados de β -C-glicosilcetonas han demostrado poseer actividad inhibitoria frente a la α -glucosidasa⁵ y ser efectivos como agentes antibacteriales.⁶

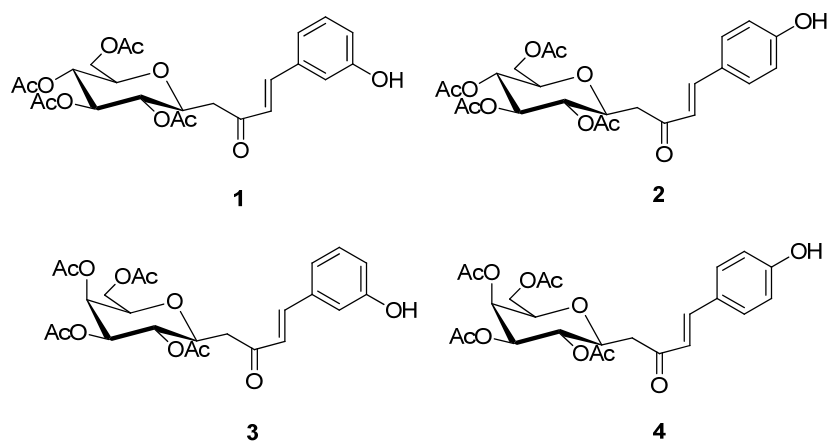
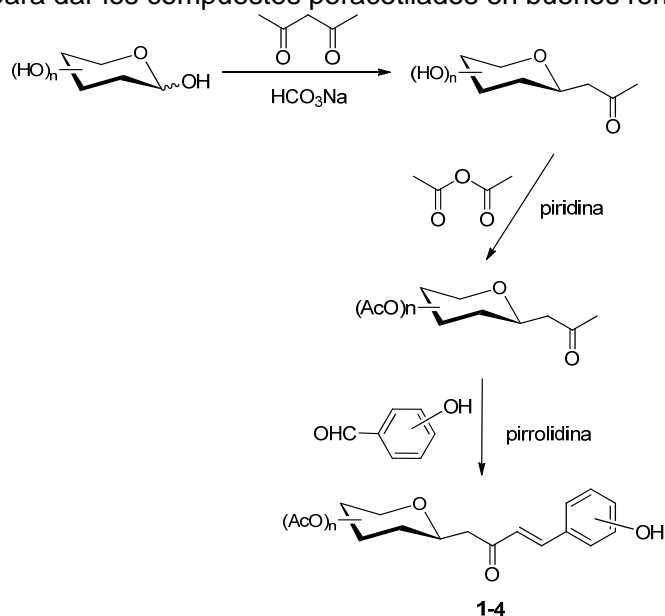


Figura 1. C-glicósidos peracetilados (1-4)

Resultados

Se sintetizaron una nueva serie de C-cinamoilglicósidos (figura 1) según la metodología que se describe en el Esquema 1. La 1-(β -D-glucopiranosil)-propan-2-ona fue preparada por una condensación de Knoevenagel con 2,4-pentanodiona en presencia de carbonato de sodio, empleando agua como solvente.⁷ En el caso de la galactosa, se ha encontrado que las condiciones anteriores daban origen a una mezcla de varios compuestos difíciles de separar. Por tanto, la β -C-galactosil cetona fue sintetizada utilizando la misma reacción pero empleando bicarbonato de sodio.⁸ Las C-glicosil cetonas crudas fueron acetiladas y luego purificadas para dar los compuestos peracetilados en buenos rendimientos.



Esquema 1. Preparación de C-glicósidos 1-4

Los C-cinamoilglicósidos fueron preparados por condensación aldólica de β -C-glucosil y β -C-galactosil cetonas con diferentes aldehídos aromáticos con función fenólica,

realizando la reacción a temperatura ambiente en presencia de pirrolidina como catalizador (Tabla 1).⁵ Se encontró que los tiempos de reacción dependen fuertemente de la posición del oxhidrilo en el anillo aromático.

Las mezclas de reacción fueron purificadas por cromatografía flash y/o recristalización para obtener los C-cinamoilglicósidos puros **1-4**.

Tabla 1. Síntesis de C-cinamoilglicósidos

Cetona	Benzaldehído	Tiempo reacción (hs.)	Producto	Rend. (%)
C-glucosil	2-hidroxi	28	-	-
	3-hidroxi	1.5	1	68
		24 ^b		NR ^a
	4-hidroxi	48	2	44
3,4-dihidroxi	24	-	-	
C-galactosil	2-hidroxi	28	-	-
	3-hidroxi	4	3	62
		24 ^b		NR ^a
	4-hidroxi	48	4	40
3,4-dihidroxi	24	-	-	

a) No se observa formación de productos

b) Reacción utilizando trietilamina como catalizador.

En la Tabla 2 se presentan los resultados de los ensayos de inhibición de los C-glicósidos **1-4** y el fenol frente a las isozimas de la α -AC catalíticamente activas presentes en mamíferos y las β -ACs presentes en *M. tuberculosis* (Rv1284, Rv3273 y Rv358), *C. albicans* (NCe103), *C. glabrata* (Nce103) y *C. neoformans* (Can2); presentándose los resultados en la tabla 2.

Tabla 2. Inhibición de las isozimas de la anhidrasa carbónica con los C-cinamoilglicósidos 1-4 y fenol.

Isozima	K_i (μ M)				
	1	2	3	4	Fenol
hAC I	8.5	5.7	5.1	9.3	10.2
hAC II	7.0	3.9	7.1	5.5	5.5
hAC III	>100	>100	>100	>100	2.7
hAC IV	5.6	4.9	7.8	6.7	9.5
hAC VA	9.8	8.4	9.5	9.3	218
hAC VB	6.0	4.0	6.9	5.2	543
hAC VI	8.8	6.2	7.7	7.9	208
hAC VII	9.5	6.3	7.1	5.8	710
hAC IX	5.2	5.9	3.3	2.9	8.8
hAC XII	6.7	6.2	3.9	4.2	9.2
hAC XIII	5.1	4.9	7.2	6.7	697
hAC XIV	5.9	5.6	4.6	2.3	11.5
Can2	56.3	4.1	45.2	0.89	25.9
CaNce103	71.2	1.6	46.8	0.35	17.3
CgNce103	21.2	0.19	14.7	0.15	ND
Rv1284	2.1	2.9	3.8	4.15	64.0
Rv3273	19.0	13.1	15.6	12.0	79.0
Rv3588	0.64	0.35	0.87	1.15	ND

Conclusiones

Se han sintetizado una serie de C-cinamoilglicósidos que incorporan una función fenólica y se ha estudiado su actividad inhibitoria frente a las α -AC presentes en mamíferos y las β -AC de diversos patógenos. Puede observarse que, en general, el acoplamiento de un carbohidrato a la función fenólica, mejora la actividad frente a la anhidrasa carbónica. Los C-glicósidos han mostrado ser buenos inhibidores de las AC presentes en patógenos. En este sentido el compuesto **4**, debido a su potencia como inhibidor, muestra todas las características óptimas para constituirse en un potencial antifúngico.

Referencias

- 1 Supuran, C. T. *Nat. Rev. Drug Discovery* **2008**, 7, 168-181.
- 2 Supuran, C. T. *Future Med. Chem.* **2011**, 3, 1165.
- 3 Nishimori, I.; Minakuchi, T.; Maresca, A.; Carta, F.; Scozzafava, A.; Supuran, C. T. *Curr. Pharm. Design* **2010**, 16, 3300.
- 4 P. A. Colinas, *Curr. Org. Chem.* **2012**, 16, 1670.
- 5 Bisht, S. S.; Pandey, J.; Sharma, A.; Tripathi, R. P. *Carbohydr. Res.* **2008**, 343, 1399.
- 6 Mugunthan, G.; Ramakrishna, K.; Sriram, D.; Yogeewari, P.; Kartha, K. P. R. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2011**, 21, 3947.
- 7 Wang, J.; Li, Q.; Ge, Z.; Li R. *Tetrahedron* **2012**, 68, 1315.
- 8 Bragnier, N.; Scherrmann, M.-C. *Synthesis* **2005**, 814.