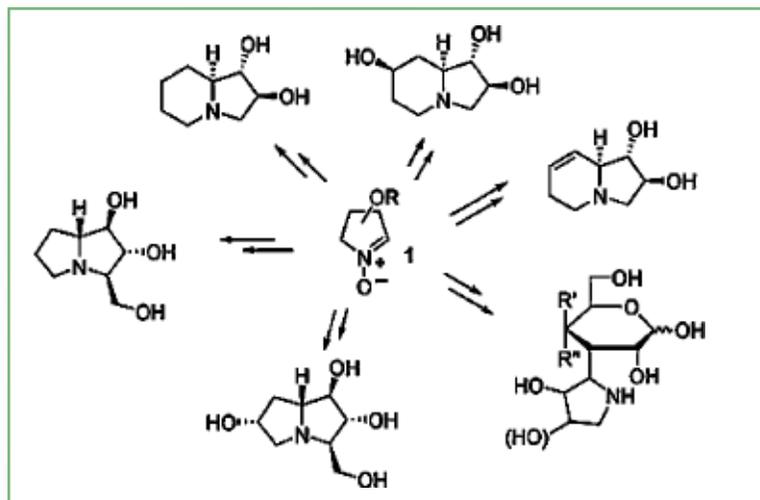


*Francesca Cardona
Dipartimento di Chimica Organica "Ugo Schiff"
Laboratorio di Progettazione, Sintesi e Studio
di Eterocicli Biologicamente Attivi (HeteroBioLab)
e Consorzio INSTM
Università di Firenze, Polo Scientifico
francesca.cardona@unifi.it*

MIMETICI DI ZUCCHERI INIBITORI DI GLICOSIDASI



Gli imminozuccheri sono composti di elevato interesse biologico.
Nell'articolo sono descritte alcune strategie che permettono la sintesi totale
 di questo tipo di composti usando i nitroni 1 come intermedi chiave, e lo studio di nuove
 metodologie catalitiche per l'ossidazione di composti azotati a nitroni.

L'interesse crescente della ricerca verso i mimetici di zuccheri, o glicomimetici, (*sugar mimics* o *glycomimetics*) è dovuto al fatto che i carboidrati svolgono in natura un ruolo fondamentale in una vasta serie di processi di riconoscimento molecolare [1, 2]. In questi processi generalmente è coinvolto un glicocongiugato (un monosaccaride o un polisaccaride legato covalentemente a una porzione proteica oppure lipidica), ad esempio una glicoproteina o un glicopeptide, situato a livello della membrana cellulare. Le glicoproteine sono responsabili di una serie di eventi fisiologici e patologici come la risposta immunitaria, l'adesione

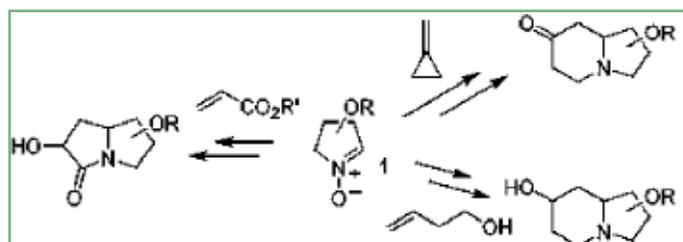
microbica, l'infezione batterica e l'accrescimento delle metastasi tumorali [3]. Per bloccare (a scopo terapeutico) l'attività di una glicoproteina, occorre un glicomimetico che possa inibirne la biosintesi. Poiché le glicosidasi sono enzimi chiave nel meccanismo di formazione delle glicoproteine di membrana, gli inibitori delle glicosidasi hanno potenziale applicazione come farmaci e agenti terapeutici nel trattamento di numerose patologie, come le infezioni virali e batteriche o come antitumorali [4].

La maggior parte degli inibitori delle glicosidasi è costituita da mimetici di zuccheri appartenenti alla classe degli imminozuccheri, cioè ad eterocicli azotati poliossidrila-

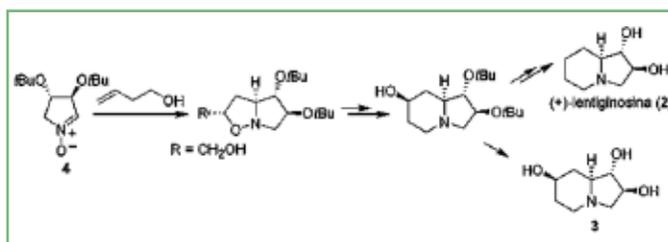
ti: alcaloidi piperidinici, pirrolidinici, pirrolizidinici, indolizidinici e nortropanici, recentemente isolati in numero considerevole (più di un centinaio) da piante e microrganismi [5]. Dato che spesso l'isolamento da fonte naturale è poco efficiente in termini di resa, c'è l'estremo bisogno di sviluppare nuovi metodi di sintesi di questi composti. Inoltre, è importante che il metodo sintetico permetta l'ottenimento di analoghi strutturali non naturali, che aprono la strada a studi di relazione struttura-attività.

La strategia sintetica messa a punto per la sintesi di questi composti prevede l'utilizzo di nitroni ciclici enantiopuri 1 ottenuti da composti del "pool chirale" a basso costo quali gli acidi malici e tartarici. Il passaggio chiave è la cicloaddizione 1,3-dipolare di questi nitroni a dipolarofili di vario tipo,

Alla dott. Francesca Cardona è stata conferita la medaglia "Giacomo Ciamician" 2006 dalla Divisione di Chimica organica della SCI.



Schema 1



Schema 2

seguita da opportuna elaborazione degli addotti (Schema 1).

Questa metodologia si è dimostrata efficace e versatile (controllo della regioselettività, della configurazione relativa e assoluta dei nuovi centri stereogenici, introduzione di vari gruppi funzionali) per l'ottenimento di un'ampia serie di composti [6]. Con questa strategia sintetica sono state messe a punto le sintesi della (+)-lentiginosina (2) (Schema 2), alcaloide diossidrilato a struttura indolizidinica e inibitore selettivo dell'amiloglicosidasi, e di alcuni analoghi pirrolidinici poliossidrilati, di cui è stata valutata anche l'attività biologica come inibitori di glicosidasi [7]. Sono stati inoltre sintetizzati analoghi strutturali della lentiginosina a

struttura indolizidinica triossidrilata [8]. In particolare, il triolo 3 è risultato inibitore dell'amiloglicosidasi, anche se meno attivo rispetto alla lentiginosina.

Uno studio di dinamica molecolare effettuato sulla lentiginosina all'interno della cavità enzimatica ha inoltre permesso di razionalizzare l'elevata attività biologica [9], individuando la disposizione ottimale all'interno del sito attivo dell'enzima, che permette alla molecola di instaurare dei forti legami a idrogeno con i residui amminoacidici chiave per l'attività biologica. In Figura 1 è mostrata la lentiginosina (LENT1) all'interno della cavità enzimatica, prima (in blu) e dopo (in rosso) la dinamica molecolare. In Fig. 2 è mostrata l'orientazione trovata con la dinamica molecolare per la lentiginosina (in

di un altro inibitore dello stesso enzima, la deossinojirimicina (in blu). La nuova disposizione della lentiginosina all'interno della cavità enzimatica, che si ottiene dalla dinamica molecolare, permette l'instaurarsi di forti legami a idrogeno con l'Asp 55 e l'Arg 54, che studi di mutazione genetica hanno dimostrato essere i residui amminoacidici chiave per la bioattività.

I nitroni possono essere utilizzati non solo sfruttandone la reattività come 1,3-dipoli in reazioni di cicloaddizione, ma anche come reagenti elettrofili in addizioni di reagenti organometallici. Applicando questa metodologia al nitrone 4 derivante dall'acido tartarico e utilizzando reazioni catalizzate da metalli di transizione tra cui una reazione chiave di ring closing metathesis (RCM), è stata recentemente realizzata una nuova e più conveniente sintesi della (+)-lentiginosina (2) e di alcuni suoi analoghi strutturali

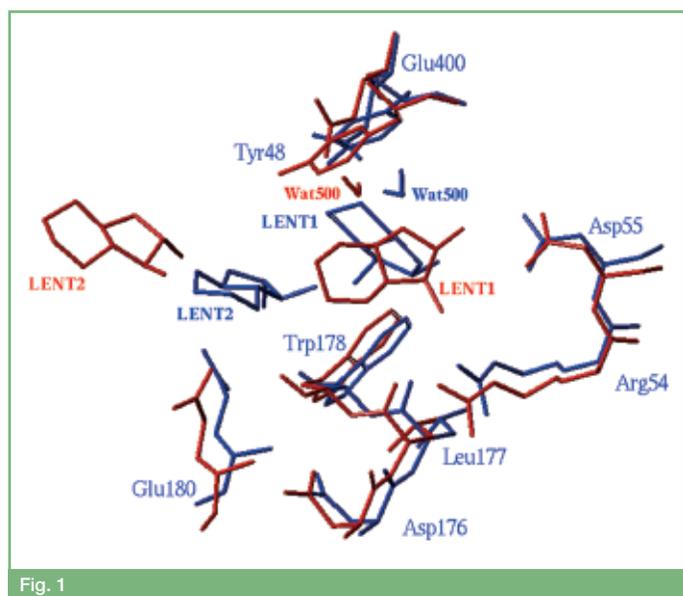
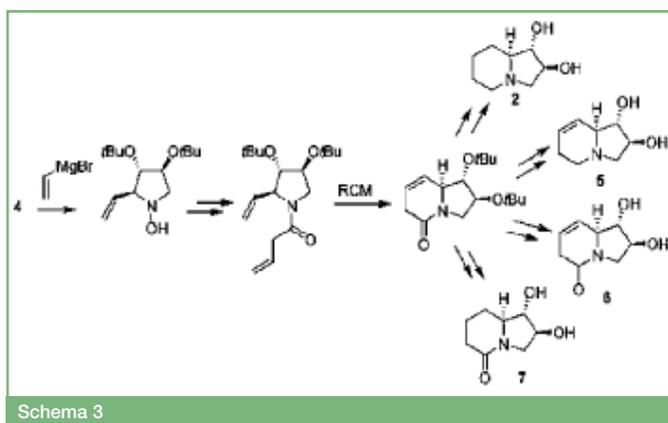


Fig. 1



Schema 3

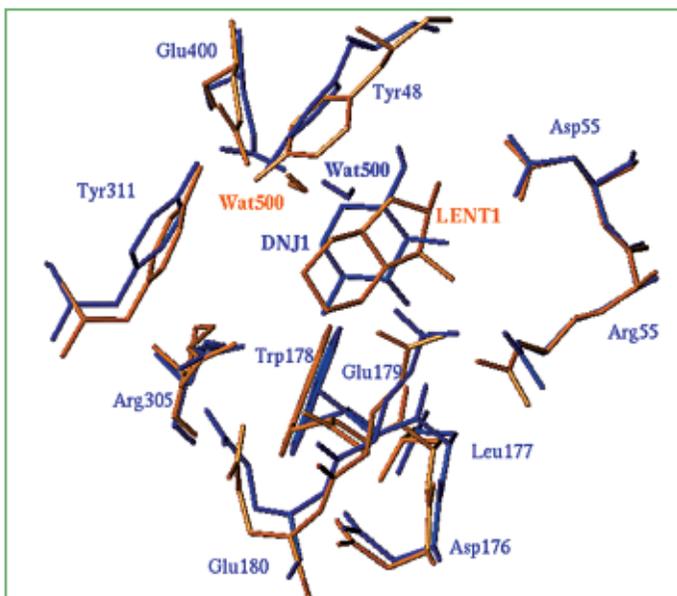


Fig. 2

(composti 5-7), di cui è stata valutata l'attività biologica (Schema 3) [10]. Per la 7,8-deidrolentiginosina 5 è stata determinata un'interessante attività come inibitore dell'amiloglucosidasi, anche se minore rispetto a quella trovata per la lentiginosina.

Studiando l'addizione di reagenti organometallici a nitroni, è stata messa a punto una metodologia iterativa di addizione-ossidazione-addizione su nitroni ciclici chirali ossidrilati che permette di ottenere idrossipirrolidine disostituite in posizione α,α e α,α' in modo altamente stereoselettivo. La strategia messa a punto ha permesso la sintesi totale di un alcaloide pirrolidinico naturale tetrasostituito, la (-)-codonopsinina, e di un precursore aminoacidico a configurazione controllata [11].

La sintesi di un nuovo nitrone ciclico triossidrilato enantiopuro 8 mediante due metodologie sintetiche alternative, utilizzando l'L-xilosio oppure il D-arabinosio come prodotti di partenza, ha permesso di accedere

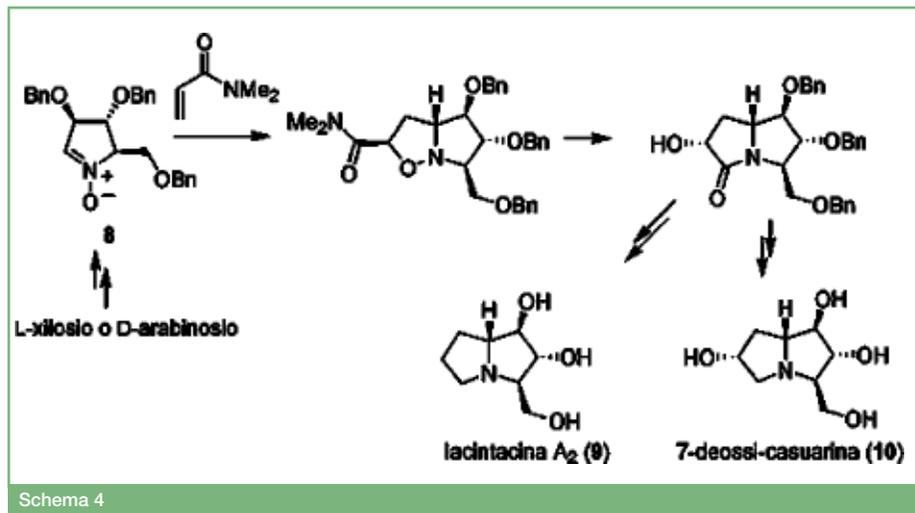
a pirrolizidine naturali altamente ossidrilate della classe delle alexine/casuarine come la lacintacina A₂ (alcaloide naturale recentemente estratto da bulbi di *Muscari armenicum*) (9) e della 7-deossicasuarina (10), analogo non naturale (Schema 4) [12].

Gli immino-C-disaccaridi sono una classe di composti molto interessante

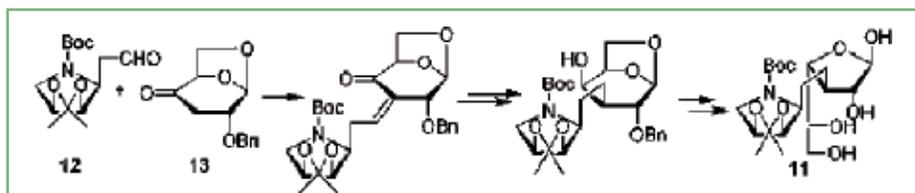
condensazione aldolica di aldeidi derivate da imminozuccheri 12 a chetoni derivanti dall'isolevoglucofenone del tipo 13 [14]. L'isolevoglucofenone e i suoi derivati sono composti biciclici derivati del glucosio che garantiscono un'elevata stereoselettività nelle reazioni in cui intervengono, grazie alla struttura rigida creata dal ponte 1,6-anidro (Schema 5).

Tramite cicloaddizioni di nitroni a derivati di zuccheri, è stato possibile accedere alla sintesi di una nuova classe di potenziali inibitori di glicosidasi a struttura pseudo disaccaridica. I nitroni enantiopuri poliossidrilati derivati dagli acidi tartarici e malici sono stati fatti reagire con glicali della serie D (es. il triacetil glucale 14) e della serie L (es. il diacetil ramnale 15), e gli addotti sono stati elaborati per ottenere composti a struttura pseudo immino-C-disaccaridica [15]. Queste reazioni di cicloaddizione hanno mostrato un'elevata doppia induzione asimmetrica, che ha permesso la parziale risoluzione cinetica del nitrone racemo 16, e la messa a punto di un esperimento di risoluzione cinetica parallela del nitrone stesso, ponendo nello stesso ambiente di

per le loro potenzialità come nuovi inibitori più selettivi delle glicosidasi, in quanto contengono non solo l'informazione della parte glicosidica che si libera nel processo di idrolisi ma anche quella dell'aglicone [13]. La sintesi di una nuova classe di immino-C-disaccaridi 11 è stata realizzata sfruttando come passaggio chiave di reazione la



Schema 4



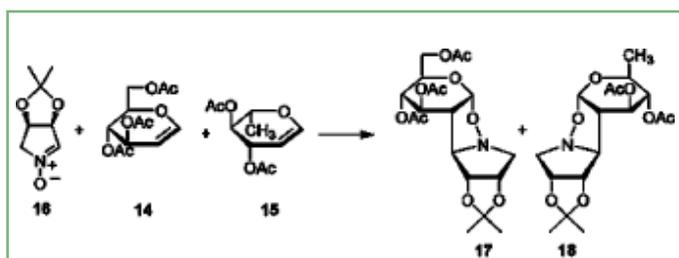
Schema 5

reazione entrambi i dipolarofili 14 e 15 aventi opposta selettività (Schema 6). Così facendo, entrambi gli enantiomeri del nitrone racemo reagiscono ognuno col proprio dipolarofilo favorito ("matched") con velocità comparabili, garantendo che in ciascun momento della reazione siano verificate le condizioni di massima selettività. La risoluzione cinetica parallela quindi permette di accedere contemporaneamente agli addotti maggioritari 17 e 18 con ottima selettività, eliminando la formazione degli addotti minoritari [16, 17].

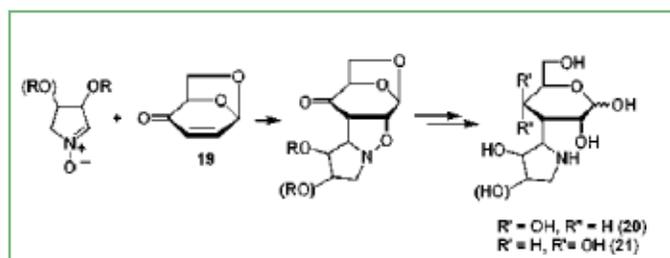
Più recentemente, sono state effettuate cicloaddizioni 1,3-dipolari di nitroni ciclici poliossidrilati all'isolevoglucosenone 19, composto biciclico derivato del glucosio. Tramite opportuna elaborazione degli

addotti, che si ottengono con regioselettività e stereoselettività totali, si può accedere facilmente a una nuova classe di pseudo immino disaccaridi della serie del D-gulosio 20 e del D-allosio 21 (Schema 7). La reazione di cicloaddizione mostra un'elevata doppia induzione asimmetrica che ha permesso di risolvere cineticamente (almeno in modo parziale) il nitrone racemo 16 [18]. L'interesse verso i nitroni come intermedi sintetici chiave per la sintesi di una vasta serie di composti di interesse biologico ci ha spinto a mettere a punto nuove metodologie sintetiche per il loro ottenimento sfruttando reazioni di ossidazione di composti azotati, utilizzando metodologie il più possibile ecocompatibili, con catalisi di derivati metallici e procedimenti sintetici

semplici e applicabili su larga scala. Prevalentemente, lo studio di nuovi metodi di ossidazione per ottenere nitroni si è focalizzato sul catalizzatore metiltriossorenio (MTO), commercialmente disponibile, utilizzato come ossidante catalitico nell'e-ossidazione di alcheni (e di molti altri gruppi funzionali quali alchini, areni, solfuri e fosfine) in coppia con H_2O_2 , con cui dà luogo alle specie metallo-perosso cataliticamente attive, come ossidante stechiometrico [19]. Un'importante alternativa all'utilizzo di H_2O_2 acquosa è rappresentata dall'impiego di UHP, addotto urea- H_2O_2 . L'utilizzo di tale ossidante stechiometrico, oltre che semplificare e rendere più sicura la procedura operativa, permette di condurre l'ossidazione in solventi non acquosi. Nel nostro gruppo di ricerca, il sistema MTO/UHP è stato efficacemente applicato non solo per l'ossidazione di composti azotati, ma anche per la reazione di ossidazione-addizione nucleofila a glicali 22 per ottenere i corrispondenti glicosilfosfati 23 in presenza di dibutil fosfato e di opportuni leganti organici che aumentano la selettività della



Schema 6

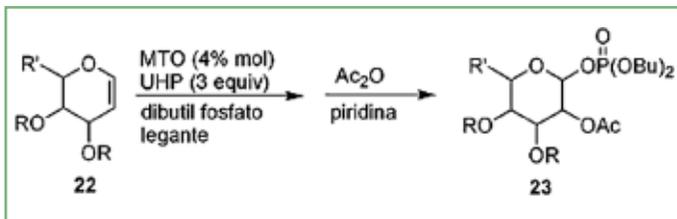


Schema 7

Sugar Mimics as Glycosidases Inhibitors

ABSTRACT

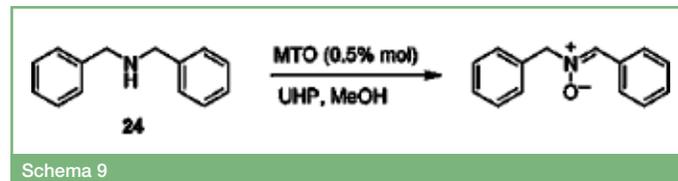
Glycosidases inhibitors have a great potential as therapeutic agents and drugs in the treatment of several pathologies. We report an overview of our results on the total syntheses of indolizidine and pyrrolizidine alkaloids and their analogues using nitrones 1 as the key intermediates. Some recent results on new catalytic methodologies for the synthesis of nitrones through oxidation of nitrogen containing compounds will be also presented.



Schema 8

reazione (Schema 8) [20].

Per quanto riguarda l'ossidazione di composti azotati a nitroni, i primi studi sono stati fatti sulle ammine secondarie. Il sistema MTO/UHP è stato applicato per l'ottenimento di nitroni a partire da ammine secondarie con ottimi risultati, verificando anche l'applicabilità su larga scala, al fine di rendere questa reazione appetibile da un punto di vista industriale. È stato possibile, su un substrato modello quale la dibenzilammina (24), effettuare l'ossidazione su 10 g e minimizzare la quantità di catalizzatore fino allo 0,5% attraverso l'aggiunta di piccole porzioni di catalizzatore durante il corso della reazione (Schema 9) [21].



Schema 9

È stata anche studiata l'ossidazione

delle idrossilammine *N,N*-disostituite ai corrispondenti nitroni con acqua ossigenata, impiegando dei catalizzatori in cui il metiltriossorenio è supportato su matrici polivinilpiridiniche oppure incapsulato in polimeri polistirenici, in confronto con le corrispondenti ossidazioni in fase omogenea. Anche con l'ossidazione in fase eterogenea si sono ottenute conversioni complete dei substrati e rese quantitative dei prodotti, con l'uso di condizioni ecocompatibili. I catalizzatori eterogenei si sono rivelati stabili nelle condizioni di reazione ed è stato possibile il loro riciclo per almeno 5 volte senza apprezzabile diminuzione di attività [22].

Conclusioni

Gli imminozuccheri sono composti di elevato interesse biologico. Nel corso dei nostri studi abbiamo riportato alcune metodologie sintetiche che permettono la sintesi totale di questo tipo di composti, sfruttando i nitroni come intermedi chiave. Le strategie sintetiche utilizzate prevedono essenzialmente reazioni di cicloaddizione 1,3-dipolare o di addizione di reagenti organometallici ai nitroni. Infine, abbiamo riportato i nostri risultati più recenti sullo sviluppo di nuove metodologie catalitiche per ottenere i nitroni stessi tramite l'ossidazione di composti azotati, ed in particolare di ammine secondarie e di idrossilammine *N,N*-disostituite e di immine.

Bibliografia

- [1] Carbohydrate Mimics: Concept and Methods, Y. Chapleur (Ed.), Wiley-VCH Verlag, Weinheim 1998; b) T.K. Lindhorst, Essential of carbohydrate chemistry and biochemistry, Wiley-VCH, 2000.
- [2] C.R. Bertozzi, L.L. Kiessling, *Science*, 2001, **291**, 2357.
- [3] A. Varki, *Glycobiology*, 1993, **3**, 97; b) Y.C. Lee, R.T. Lee, *Acc. Chem. Res.*, 1995, **28**, 321; c) R.A. Dwek, *Chem. Rev.*, 1996, **96**, 683.
- [4] N. Asano, *Glycobiology*, 2003, **13**, 93R.
- [5] A. Watson *et al.*, *Phytochemistry*, 2001, **56**, 265.
- [6] A. Brandi *et al.*, *Curr. Trends in Org. Synth.*, 1999, 213.
- [7] A. Goti, F. Cardona, A. Brandi, *Synlett*, 1996, 761; b) F. Cardona *et al.*, *J. Carbohydr. Chem.*, 2000, **19**, 585.
- [8] A. Goti *et al.*, *Tetrahedron: Asymmetry*, 1996, **7**, 1659.
- [9] F. Cardona *et al.*, *J. Mol. Model.*, 1997, **3**, 249.
- [10] F. Cardona, *et al.*, *J. Org. Chem.*, 2005, **70**, 6552.
- [11] A. Goti *et al.*, *Org. Lett.*, 2003, **5**, 4235.
- [12] F. Cardona *et al.*, *Tetrahedron Lett.*, 2003, **44**, 2315.
- [13] Per una review vedi: I. Robina, P. Vogel, *Synthesis*, 2005, **5**, 675.
- [14] F. Cardona *et al.*, *J. Carbohydr. Chem.*, 2000, **19**, 555; b) C. Marquis *et al.*, *Heterocycles*, 2002, **56**, 181.
- [15] F. Cardona *et al.*, *Tetrahedron Lett.*, 1997, **38**, 8097; b) F. Cardona *et al.*, *J. Org. Chem.*, 1998, **63**, 7311.
- [16] F. Cardona *et al.*, *Eur. J. Org. Chem.*, 1999, 1319.
- [17] Per una review, vedi: F. Cardona *et al.*, *Eur. J. Org. Chem.*, 2001, 2999.
- [18] F. Cardona *et al.*, *Org. Lett.*, 2003, **5**, 1475.
- [19] Per un highlight sull'MTO vedi: G. Soldaini, *Synlett*, 2004, 1849.
- [20] G. Soldaini *et al.*, *Tetrahedron Lett.*, 2003, **44**, 5589; b) G. Soldaini *et al.*, *Org. Lett.*, 2005, **7**, 725; c) A. Goti *et al.*, *Adv. Synth. Catal.*, 2006, **348**, 476.
- [21] A. Goti *et al.*, *Org. Synth.*, 2005, **81**, 204.
- [22] R. Saladino *et al.*, *Adv. Synth. Catal.*, 2004, **346**, 639.