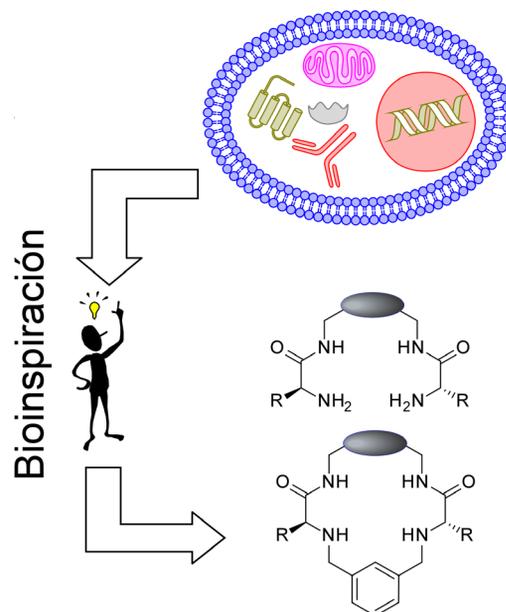


Química inspirada en la naturaleza: diseño de seudopéptidos macrocíclicos



El diseño molecular fundamentado en la imitación de las complejas estructuras y procesos que se encuentran en la naturaleza se conoce como **Química bioinspirada** o **Química biomimética**. Una de las aproximaciones utilizadas en esta disciplina es la preparación de **compuestos seudopeptídicos macrocíclicos** a partir de aminoácidos naturales y componentes abióticos. En la naturaleza existen proteínas con propiedades muy específicas y diversas. El uso de la información codificada en las cadenas laterales de los aminoácidos es un factor clave que, a su vez, puede utilizarse con ventaja para el diseño de seudopéptidos con propiedades específicas bien definidas. Por tanto, una selección apropiada de los componentes estructurales, naturales y no naturales, permite el diseño estructural adecuado para obtener la funcionalidad deseada.

Vicente Martí-Centelles, M. Isabel Burguete, Santiago V. Luis*

El estudio de las complejas estructuras químicas presentes en la naturaleza ha sido muy importante, no sólo en las diversas ramas de la Química, sino también en medicina y biología.¹ En este sentido, la Química biomimética o Química bioinspirada tiene como objetivo imitar a la naturaleza desde dos perspectivas diferentes: la imitación de la estructura química de las moléculas o la imitación de sus funciones (Figura 1).²

Una aproximación a la Química biomimética es la preparación de receptores moleculares específicos que son estudiados profundamente en el campo de la Química supramolecular. Para el diseño de estos receptores es fundamental que su estructura química tenga una geometría que permita la formación de interacciones no covalentes (enlaces de hidrógeno, fuerzas de van der Waals, interacciones π - π , etc.) entre el receptor y el sustrato, el cual debe poseer una disposición geométrica adecuada. El símil más parecido sería la complementariedad entre una llave y su cerradura (Figura 2a). Por ejemplo, el receptor diseñado por Julius Rebek (Figura 2b) tiene una geometría bien

definida que permite reconocer selectivamente diferentes diácidos y diaminas.³ La preorganización de los receptores es otro factor clave para aumentar la afinidad entre receptor y sustrato, siendo el efecto macrocíclico un factor clave.⁴ Esto es debido a que un macrociclo (como el corando o el esferando de la Figura 2c) tiene una libertad conformacional limitada y, por tanto, la formación del complejo supramolecular (receptor—sustrato) está más favorecida entrópicamente en comparación con el receptor de cadena abierta relacionado. Además, Donald Cram (quien recibió el premio Nobel de Química en 1987 por sus trabajos en este área) demostró que, al aumentar la preorganización del receptor, la constante de asociación aumenta de forma muy significativa.⁵

La generación de una estructura macrocíclica representa un protocolo simple que puede permitir la preorganización de un número elevado de grupos funcionales con la disposición apropiada.⁶ Así, muchos antibióticos y, en particular, los que son capaces de actuar por inactivación de los ribosomas bacteria-

* Los autores son doctores en Química y profesores o investigadores de esta área en el Departamento de Química Inorgánica y Orgánica de la Universitat Jaume I (Castellón, España). Todos cuentan con amplia experiencia investigadora y/o docente. (Correspondencia: Santiago V. Luis: luisss@qio.uji.es)

- Freire, F.; Gellman, S. H.: *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131*, 7970–7972.
- Luis, S. V.; Alfonso, I.: *Acc. Chem. Res.* **2013**, DOI: 10.1021/ar400085p.
- Rebek, J.: *Science*. **1987**, *235*, 1478–1484.
- Cabbines, D. K.; Margerum, D. W.: *J. Am. Chem. Soc.* **1969**, *91*, 6540–6541.
- Cram, D.: *Angew. Chem Int. Ed. Engl.* **1988**, *27*, 1009–1020.

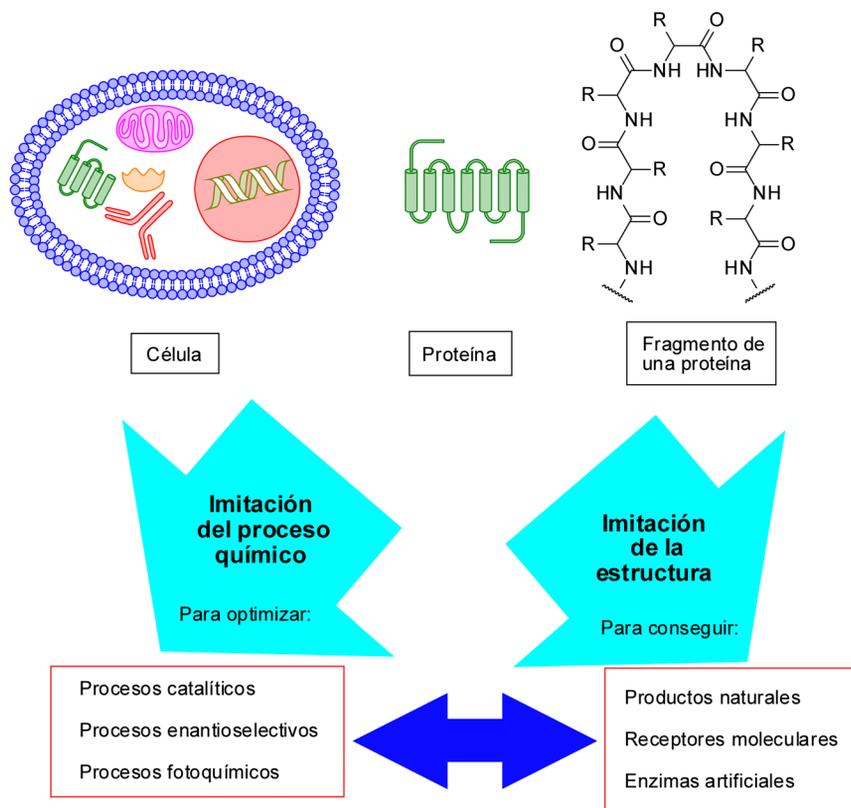


Figura 1. Ideas básicas de la Química biomimética o Química bioinspirada.

nos, contienen estructuras de macrólidos. En este sentido, se ha demostrado que los ciclopeptidos intervienen en funciones biológicas importantes, siendo el antibiótico natural vancomicina uno de los primeros ejemplos conocidos de este tipo de compuestos. Otras estructuras ciclopeptídicas importantes son la hormona oxitocina, el neuropéptido vasopresina, el antibiótico ciclosporina y la tirocidina A, o algún ciclopeptido inductor de apoptosis con propiedades antitumorales.⁷ Su estructura cíclica no sólo aumenta la actividad, sino que también mejora su estabilidad fisicoquímica, proporcionando un mecanismo que los hace resistentes a las proteasas. Por lo tanto, no es sorprendente que se haya prestado mucha atención en los últimos años a la preparación de estructuras macrocíclicas que contengan aminoácidos.^{1, 8, 9}

Síntesis de macrociclos seudopeptídicos

En la mayoría de los casos, la preparación de macrociclos está limitada por la etapa de macrociclación. Dicha etapa tiene que competir eficazmente con la dimerización intermolecular y los procesos de oligomerización. Así, el empleo de una alta dilución, que permite disminuir “matemáticamente” la importancia de las reacciones intermoleculares y, por tanto, la contribución al proceso de las reacciones de oligomerización, ha sido una herramienta tradicional en este campo. La reacción de macrociclación puede estar controlada cinética o termodinámicamente, de acuerdo con el carácter irreversible o reversible de la reacción de macrociclación. Los factores entrópicos y entálpicos pueden contribuir a lograr una disposición adecuada de la conformación que conduzca a la generación de la estructura macrocíclica deseada. Una aproximación general para realizar con éxito en una reacción de macrociclación consiste en llevar a cabo estrategias donde los precursores de cadena abierta (preparados por las rutas sintéticas apropiadas) estén preorganizados en una conformación plegada que sea capaz de acercar los dos extre-

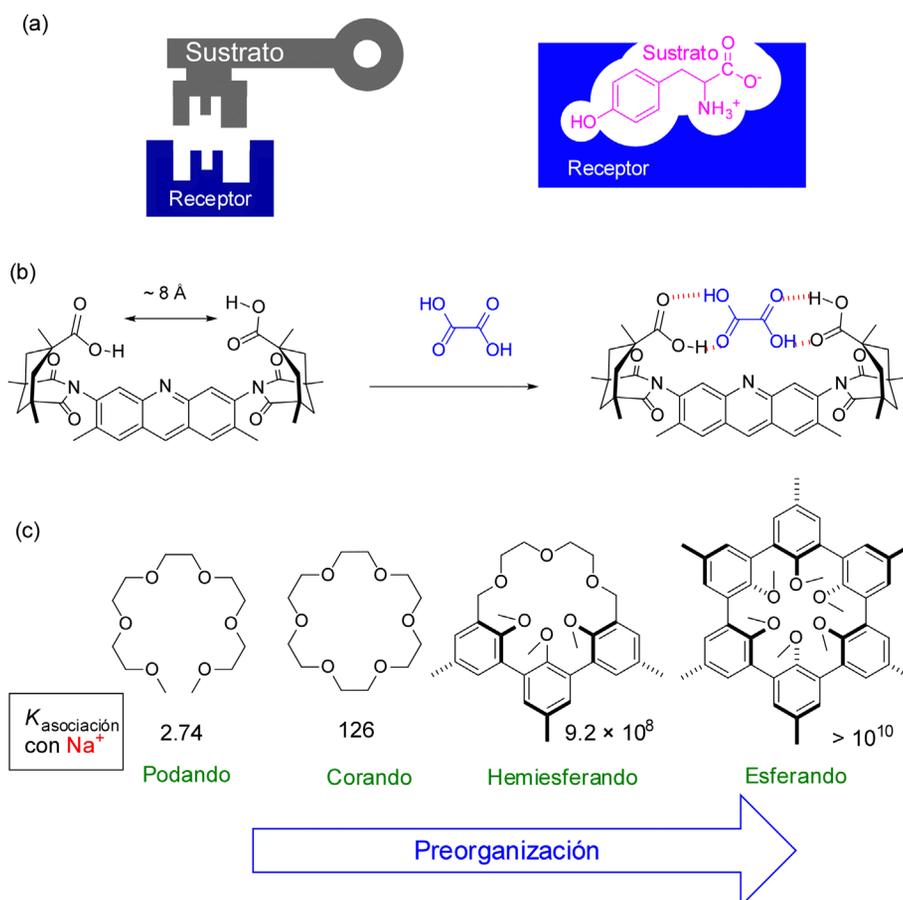


Figura 2. (a) Complementariedad entre una llave y su cerradura como fuente de inspiración para la síntesis de receptores, (b) ejemplo de receptor con una geometría adaptada para recibir al sustrato adecuado, (c) moléculas de receptores que muestran un aumento de la preorganización de izquierda a derecha; la preorganización produce un aumento de la estabilidad en el complejo final: sustrato (en este caso Na^+)—receptor.

mos reactivos del precursor de cadena abierta favoreciendo la macrociclación y evitando las reacciones intermoleculares de oligomerización u otras reacciones de macrociclación no deseadas (Figura 3).^{10, 11}

Una segunda aproximación biomimética es el uso de plantillas específicas que permiten favorecer la macrociclación. Las técnicas asistidas por plantillas utilizan principalmente cationes metálicos, aniones y moléculas orgánicas. El desarrollo de plantillas y metodologías eficientes sigue siendo un campo de investigación poco desarrollado, aunque en los últimos años el número de publicaciones ha aumentado perceptiblemente.^{12, 13, 14} Existen dos tipos de plantillas según el carácter irreversible o reversible de la reacción de macrociclación (Figura 4): (a) Plantillas cinéticas: la plantilla trabaja en condiciones irreversibles estabilizando el estado de transición; (b) Plantillas termodinámicas: la plantilla se une a uno de los productos de la reacción,

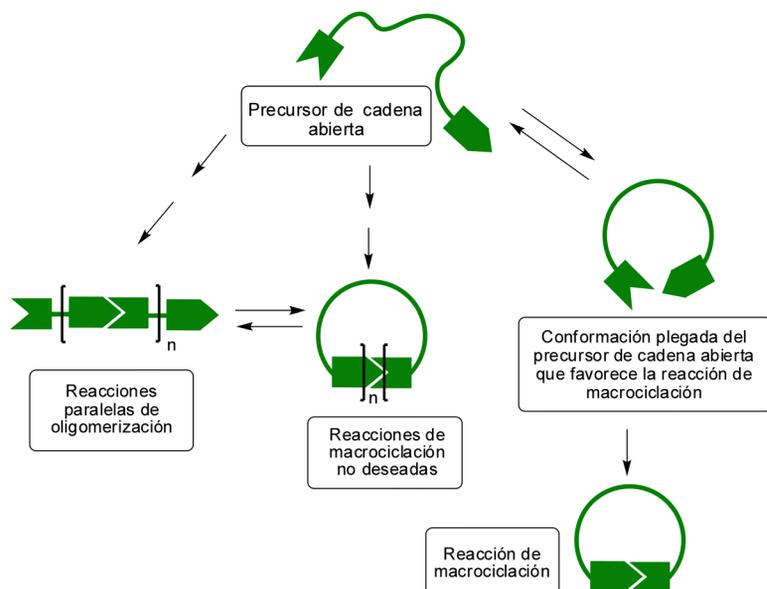


Figura 3. Reacción de macrociclación deseada, reacciones paralelas de oligomerización y otras reacciones de macrociclación no deseadas.

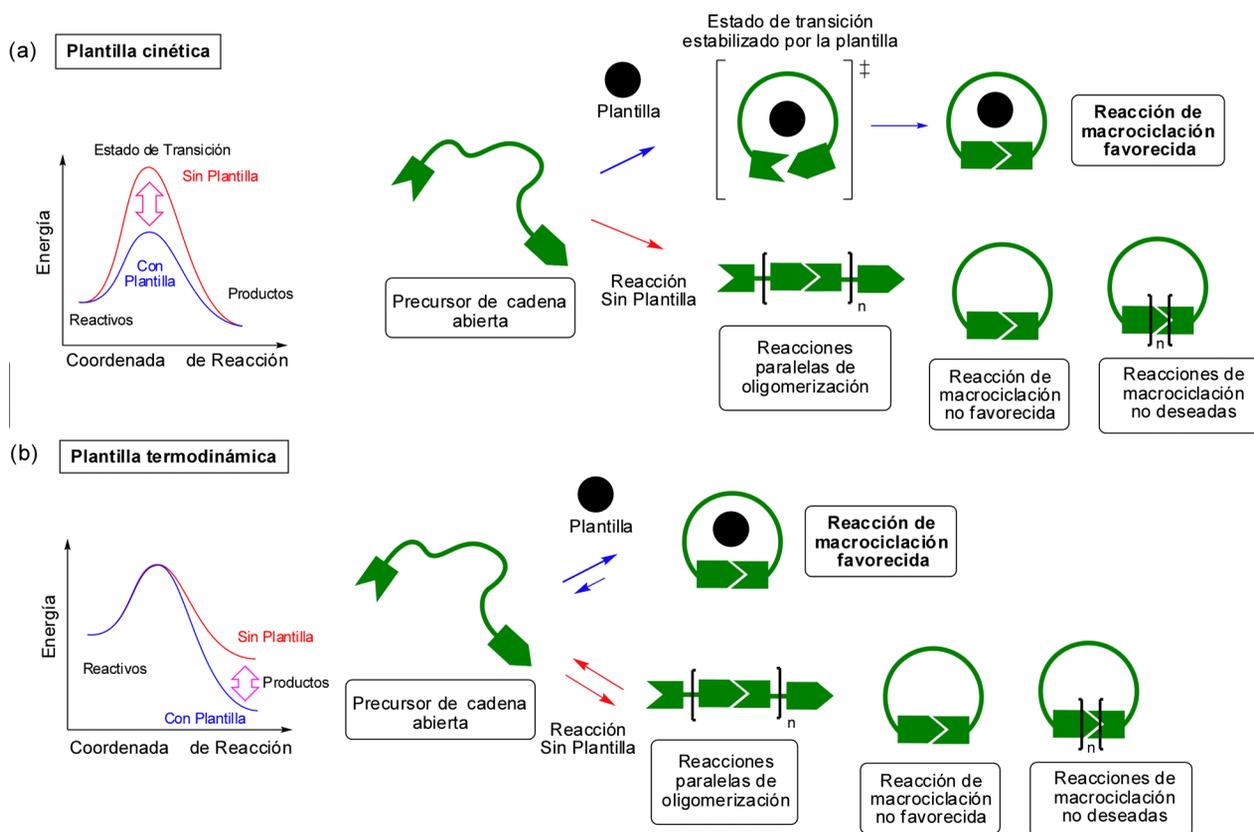


Figura 4. Efecto sobre el perfil de reacción de: (a) una plantilla cinética, o (b) termodinámica.

6. Parker, D. "Macrocyclic Synthesis: A Practical Approach", Oxford University Press: Oxford, 1996.
 7. Kohli, R. y col.: *Nature* **2002**, *418*, 658–661.
 8. Diederich, F. y col.: "Modern Supramolecular Chemistry: Strategies for Macrocyclic Synthesis", Wiley-VCH: Weinheim, 2008.
 9. Dietrich, B. y col.: "Macrocyclic Chemistry", Wiley: New York, 1993.
 10. Becerril, J. y col. *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 6677–6686.

11. Bru, M. y col. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, *45*, 6155–6159.
 12. Cram, D. J. y Cram, J. M. "Container Molecules and Their Guests", The Royal Society of Chemistry: Cambridge, 1994.
 13. Vögtle, F.; Weber, E. "Host - Guest Complex Chemistry Macrocycles. Synthesis, Structures, Applications", Springer-Verlag: Berlin, 1985.
 14. Gale, P.; Gunnlaugsson, T.: *Chem. Soc. Rev.* **2010**, *39*, 3595–3596. ("Preface: Supramolecular chemistry of anionic species themed issue")

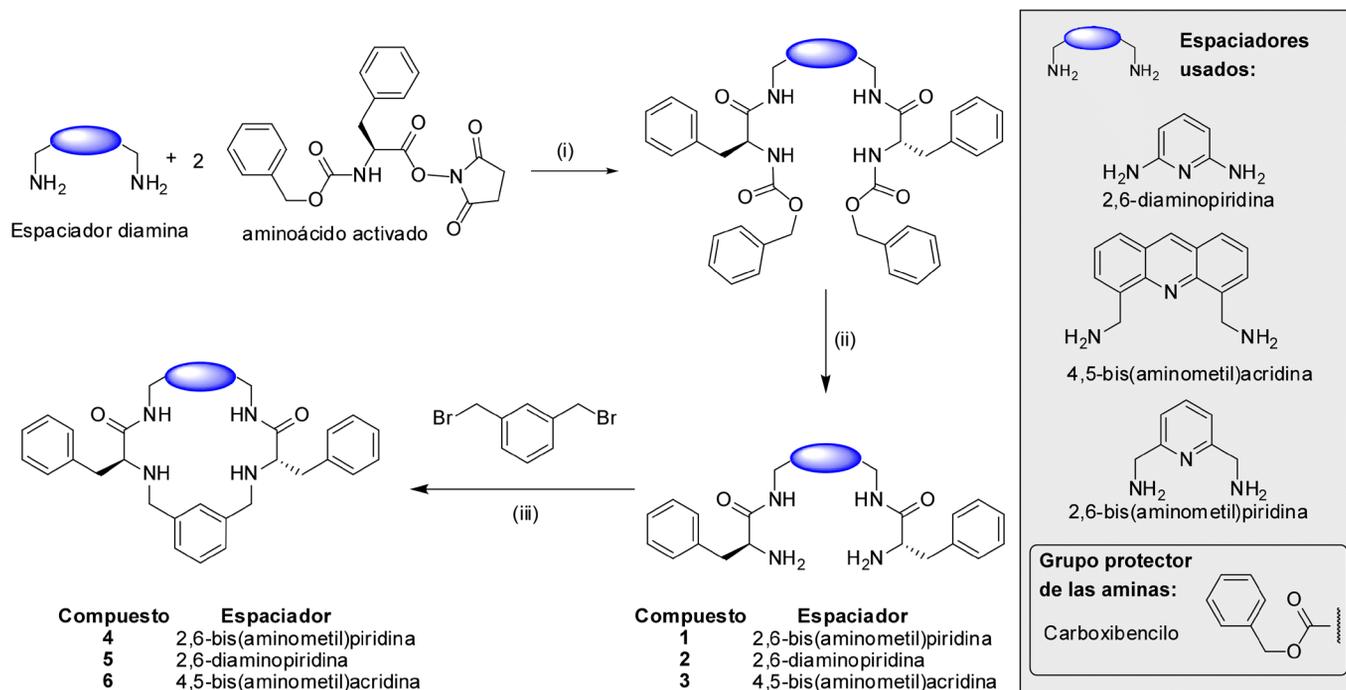


Figura 5. Ruta sintética usada para la preparación de macrociclos pseudopeptídicos. Las condiciones de cada reacción fueron: (i) 1,2-dimetoxietano, temperatura ambiente; (ii) HBr /AcOH 33%, temperatura ambiente y después NaOH aq.; (iii) bromuro de tetrabutilamonio, *N,N*-diisopropiletilamina, acetonitrilo.

desplazando el equilibrio hacia la formación de ese producto. En algunos casos, las plantillas termodinámicas también pueden actuar estabilizando el correspondiente estado de transición.

En las investigaciones realizadas por los autores del presente manuscrito¹⁵⁻¹⁷ se muestra, por medio de cálculos computacionales, cómo las plantillas cinéticas aniónicas son capaces de estabilizar mejor el estado de transición para la etapa de macrociclación que el estado de transición de las etapas de oligomerización. Por tanto, estos cálculos constituyen una herramienta útil para la optimización de reacciones de macrociclación y, además, han permitido predecir la plantilla óptima para la preparación de estos sistemas.

La ruta sintética para la preparación de macrociclos desarrollada en nuestros estudios se describe en la Figura 5. Los pseudopéptidos se obtienen por reacción de la diamina correspondiente con el aminoácido activado y, seguidamente, se elimina el grupo protector carboxibencilo. El rendimiento global de estas dos etapas está en el rango 85–95%. Los macrociclos se obtienen por reacción entre una bis(amino amida) (compuestos **1–3**) y 1,3-bis(bromometil)benceno en presencia del catalizador adecuado (cloruro o bromuro de tetrabutilamonio). La presencia de aniones en el medio de reacción afecta a las reacciones de macrociclación de pseudopéptidos. En este sentido, los estudios cinéticos llevados a cabo muestran que la presencia de los aniones afecta tanto al rendimiento como a la velocidad de la reacción y, por tanto, la selección del anión adecuado permite obtener excelentes resultados para la preparación de la estructura macrocíclica correspondiente. Para los diferentes compuestos descritos en la Figura 5, los rendimientos obtenidos después del correspondiente proceso de purificación en la

reacción de ciclación son: (compuesto **4**) 87%; (compuesto **5**) 31% (usando cloruro de tetrabutilamonio, usando bromuro de tetrabutilamonio no se pudo aislar el macrociclo); (compuesto **6**) 56%.^{15,16}

Estos resultados experimentales se han podido analizar mediante el desarrollo de modelos cinéticos apropiados y, además, se han realizado estudios computacionales que han permitido racionalizar el proceso de macrociclación.¹⁵⁻¹⁶ Los estados de transición obtenidos muestran la existencia de factores de estabilización proporcionados por la interacción del anión considerado con el compuesto pseudopeptídico de cadena abierta. Así, por ejemplo, el anión óptimo es Br⁻ cuando el espaciador central deriva de 2,6-bis(aminometil)piridina (compuesto **1**), ya que es capaz de actuar como una plantilla aproximando los dos extremos del intermedio de cadena abierta mediante el establecimiento de enlaces de hidrógeno entre las dos subunidades de aminoácido presentes en el intermedio de reacción. Para el compuesto con espaciador 2,6-diaminopiridina (compuesto **2**), sin embargo, los cálculos predicen que el anión Cl⁻ debe actuar de manera más eficiente que el Br⁻, tal y como se observa experimentalmente. El empleo eficiente de plantillas termodinámicas para la formación de macrociclos de mayor tamaño y de cajas pseudopeptídicas también ha sido estudiado en detalle en nuestro grupo.²

15. Martí-Centelles, V. y col.: *Chem. Eur. J.* **2012**, *18*, 2409–2422.

16. Martí-Centelles, V. y col.: *J. Org. Chem.* **2012**, *77*, 490–500.

17. Martí-Centelles, V. y col.: *Sci. World J.* **2012**, article ID: 748251, 14 páginas.

18. Moragues, M. y col.: *Chem. Soc. Rev.* **2011**, *40*, 2593–2643.

19. Dhalluin, C. y col.: *Nature* **1999**, *399*, 491–496.

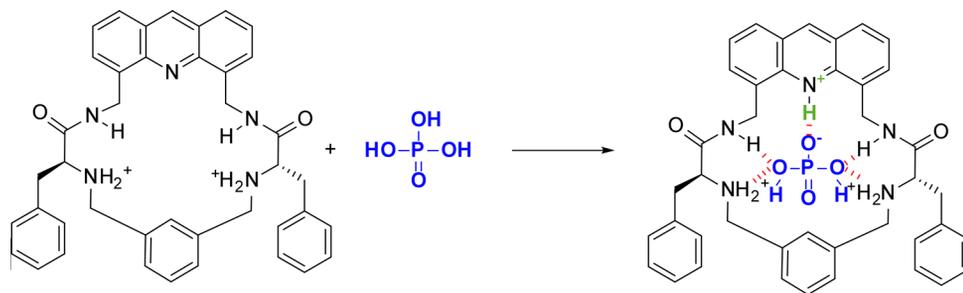


Figura 6. Reconocimiento selectivo de H_2PO_4^- usando el macrociclo **6** de la figura 5.

Aplicaciones en reconocimiento molecular

Los receptores fluorescentes tienen importantes aplicaciones en distintas áreas de la química como la supramolecular, sintética, bioorgánica, médica y biológica.¹⁸ Procesos tales como la unión de proteínas a ligandos específicos o el reconocimiento molecular del ADN se pueden estudiar con la ayuda de sistemas fluorescentes apropiados.¹⁹ El reconocimiento de ácidos es un campo interesante que ha sido ampliamente investigado. Sin embargo, en la mayoría de los casos, el proceso de reconocimiento se basa en la interacción entre los protones generados en la disociación del ácido y el receptor molecular, dando lugar a una interacción directa e inespecífica entre el receptor y la base conjugada correspondiente. En estos casos, las interacciones coulombicas son predominantes y, por tanto, las selectividades son muy bajas. Por lo general, el reconocimiento es más intenso en las especies con mayor carga. Un concepto central para el desarrollo de estos sensores es la generación de estructuras tridimensionales multifuncionales bien definidas, lo que permite reconocer de forma selectiva moléculas pequeñas e iones.

En nuestros estudios se ha aprovechado la versatilidad de los compuestos pseudopeptídicos para diseñar receptores fluorescentes con una geometría adecuada. Así, los pseudopeptidos presentan variables estructurales que pueden ser moduladas para obtener una buena complementariedad con el sustrato. Los grupos amino se pueden protonar y, junto a los grupos amida, pueden interactuar fuertemente con aniones. Si se utiliza un espaciador de acridina, esta subunidad tiene propiedades fluorescentes, y se puede protonar añadiendo un punto de interacción y proporcionando un aumento en la intensidad de emisión de fluorescencia por la formación del fluoróforo acridinio. Finalmente, la estructura macrocíclica (compuesto **6**) puede proporcionar una estructura con una preorganización adecuada que puede dar lugar a un reconocimiento más selec-

tivo con respecto al compuesto de cadena abierta **3**.

Se pudo determinar que los receptores pseudopeptídicos **3** y **6** (Figura 5) forman complejos supramoleculares selectivamente con H_2PO_4^- , frente a otros aniones tales como HSO_4^- , CH_3COO^- , CF_3COO^- , Cl^- y Br^- .¹⁶ El compuesto macrocíclico **6** es más selectivo hacia H_2PO_4^- que el compuesto de cadena abierta **3**. Las diferencias observadas entre **3** y **6** parecen estar asociadas con una mayor preorganización de la estructura macrocíclica **6**. En estas condiciones, se puede obtener un sistema de detección selectiva de H_2PO_4^- a través de medidas de fluorescencia. Los resultados obtenidos revelan que ambos ligandos muestran, cuando están triprotonados, una gran complementariedad con el anión H_2PO_4^- , siendo capaces de proporcionar una interacción más fuerte que con HSO_4^- u otros aniones. El mecanismo de reconocimiento molecular está asociado a la conversión de la unidad de acridina del receptor en el fluoróforo acridinio fuertemente fluorescente que se estabiliza por la formación de un enlace de hidrógeno con H_2PO_4^- , Figura 6.

Conclusiones

El diseño bioinspirado de pseudopeptidos macrocíclicos, preparados mediante la introducción de elementos de preorganización estructural o de plantillas cinéticas o termodinámicas, permite introducir los elementos estructurales adecuados para el reconocimiento selectivo de aniones. En este sentido, la metodología desarrollada facilita el diseño de nuevos compuestos macrocíclicos con grupos funcionales diversos para nuevas aplicaciones como el reconocimiento de especies de interés biológico y medioambiental como aniones y cationes inorgánicos, aminoácidos, péptidos, etc. Si se tiene en cuenta los resultados obtenidos, los receptores pseudopeptídicos derivados de acridina y compuestos relacionados se podrían emplear como receptores en medios biológicos, o como marcadores celulares ya que, al contener fragmentos derivados de aminoácidos, su biocompatibilidad es elevada.

Bibliografía esencial

Luis, S. V. y Alfonso, I. "Bioinspired Chemistry Based on Minimalistic Pseudopeptides", *Acc. Chem. Res.* **2013**, DOI: 10.1021/ar400085p. (☞)

Rebek, J. "Model Studies in Molecular Recognition", *Science* **1987**, 235, 1478–1484. (☞)

Cram, D. "The Design of Molecular Hosts, Guests, and Their Complexes (Nobel Lecture)", *Angew. Chem Int. Ed. Engl.* **1988**, 27, 1009–1020. (☞)