

UNIVERSIDAD DE LAS AMÉRICAS PUEBLA

Escuela de ciencias

Departamento de ciencias químico-biológicas

UDLAP®

**“Síntesis selectiva del donador glicosídico de tricloroacetimidato a partir de la 2,3,4, 6-
tetra-O-bencil-D-galactopiranososa”**

**Tesis que, para completar los requisitos del programa de honores presenta el
estudiante**

Esteban Tovar López

Licenciado en Bioquímica Clínica

Id 158917

Director de tesis: Dra. Cecilia Anaya Berríos

Co-director de Tesis: M.C. Mildred María López Vázquez

UNIVERSIDAD DE LAS AMÉRICAS PUEBLA

Escuela de ciencias

Departamento de Ciencias Químico-Biológicas

UDLAP®

**“Síntesis selectiva del donador glicosídico de tricloroacetimidato a partir de la 2,3,4, 6-
tetra-O-bencil-D-galactopiranososa”**

**Tesis que, para completar los requisitos del Programa de Honores presenta el
estudiante**

Esteban Tovar López

Lic. en Bioquímica Clínica

JURADO DEL EXAMEN PROFESIONAL

Director: Dra. Cecilia Anaya Berríos

Santa Catarina Mártir, Puebla, a 14 de mayo del 2022

Hoja de firmas

Tesis que, para completar los requisitos del Programa de Honores presenta el
estudiante Esteban Tovar López con Id 158917

Directora de Tesis

Dra. Cecilia Anaya Berríos

Presidente de Tesis

Dr. Eugenio Sánchez Arreola

Secretaria de Tesis

Dra. Gabriela Huelgas Saavedra

El presente trabajo de investigación se realizó gracias a:

El apoyo económico recibido por

CONACYT

Proyecto No. 286620

Becario de Licenciatura: 30622

Las facilidades prestadas en el laboratorio CI-104 de Síntesis Orgánica del Departamento de Ciencias Químico-Biológicas de la Universidad de las Américas Puebla.

RESUMEN

La síntesis de sacáridos es una tarea de gran complejidad en la actualidad debido a la gran reactividad de los múltiples grupos hidroxilos presentes en los sacáridos y a la formación de un par de diastereoisómeros en cada glicosilación promovida sintéticamente. Entre las diversas estrategias para efectuar glicosilaciones selectivas, el uso de donadores de glicosil tricloroacetimidato (TCA) ha evidenciado promover buenas selectividades y rendimientos. Se adoptaron dos metodologías utilizando 1,8-diazabicyclo[5.4.0]undeca-7-eno (DBU) y K_2CO_3 para la síntesis de los TCA, respectivamente. Se encuentra que el uso de DBU provee los TCA α principalmente (30:1, α : β) con hasta un 65 % de conversión, mientras que el uso de K_2CO_3 provee los TCA β (1:15) con hasta una conversión del 82 %. Se propone que el producto α es favorecido sobre el β por el efecto anomérico, mientras que el producto β es favorecido sobre el producto α por efectos estereo-electrónicos del alcóxido β y por la capacidad reducida del K_2CO_3 de revertir la reacción de formación de los TCA.

ABSTRACT

Saccharide synthesis it's a task of great complexity due to the high reactivity of the multiple hydroxyl groups present in saccharides and that in every glycosylation reaction synthetically performed a pair of diastereoisomers is formed. Among the many strategies to perform selective glycosylations the use of glycosyl trichloroacetimidate donors (TCA) have shown to promote good selectivities and yields. Two methodologies using 1,8-diazabicyclo[5.4.0]undec-7-ene (DBU) and K_2CO_3 were respectively adopted for the synthesis of TCA. It's found that DBU mainly provided the α TCA (30:1, α : β) with up to 65 % conversion, while K_2CO_3 provided the β TCA (1:15) with up to 82 % conversion. It's

proposed that α product is favored over β product because of the anomeric effect, while the β product is favored over the α product because of the β alkoxide stereoelectronic effects and the reduced ability of K_2CO_3 to reverse the formation reaction of TCA.

AGRADECIMIENTOS

Principalmente agradezco a Dios por permitirme estudiar en una universidad tan prestigiosa como la UDLAP. Consecuentemente agradezco a mis papás, por su apoyo absoluto e incondicional en todos los aspectos y etapas de mi vida. Sin ellos, el presente trabajo no hubiese sido posible.

También agradezco profundamente a la Dra. Cecilia Anaya Berrios por permitirme ser parte de su grupo de investigación y haberme incluido en la realización de este proyecto. Agradezco infinitamente su fortaleza, valentía y liderazgo que nos permitieron recuperar el campus de la UDLAP. Asimismo, le expreso mi eterna gratitud a la Mtra. Mildred María López Vázquez por haberme guiado con tanta paciencia y tolerancia en todas las etapas de esta investigación. Sin ella no habría sección de resultados. Igualmente agradezco a la Dra. Gabriela Huelgas Saavedra, por haberme introducido a su laboratorio y apoyado en todos los trámites y comunicados. Les agradezco todos los consejos y retroalimentación hechos en este trabajo. Finalmente, agradezco a todos mis profesores de Ciencias Químico-Biológicas por haberme guiado y enseñado tanto a lo largo de mi carrera.

ÍNDICE

Índice de esquemas

Lista de abreviaturas

1. CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN	1
2. CAPÍTULO II. HIPÓTESIS, JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS	3
2.1 Hipótesis	3
2.2 Objetivos	4
2.2.1 Objetivos generales	4
2.2.2 Objetivos específicos	4
3. CAPÍTULO III. ANTECEDENTES	5
3.1 El enlace glicosídico.....	6
3.2 Glicosilación química: mecanismo de reacción	7
3.3 Donadores de glicosil tricloroacetimidato.....	13
3.3.1 Glicosilos de tricloroacetimidato en glicosilaciones selectivas.....	18
4. CAPÍTULO IV. METODOLOGÍA.....	20
4.1 Generalidades	20
4.2 Síntesis de 2,3,4,6-tetra- <i>O</i> -bencil- α - <i>D</i> -galactopiranosil tricloroacetimidato (2 α).....	21
4.3 Síntesis de 2,3,4,6-tetra- <i>O</i> -bencil- α - <i>D</i> -galactopiranosil tricloroacetimidato (2 β).....	22
5. CAPÍTULO V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	22
5.1 Síntesis de 2,3,4,6-tetra- <i>O</i> -bencil- α - <i>D</i> -galactopiranosil tricloroacetimidato (2 α).....	23
5.2 Síntesis de 2,3,4,6-tetra- <i>O</i> -bencil- α - <i>D</i> -galactopiranosil tricloroacetimidato (2 β).....	26
5.3 Consideraciones finales: nucleofilicidad del alcóxido anomérico y efectos estereo- electrónicos.....	29
6. CAPÍTULO VI. CONCLUSIONES	31
7. CAPÍTULO VII. INFLUENCIA DE LOS DISOLVENTES Y ADITIVOS EN LA REACCIÓN DE GLICOSIDACIÓN	33
7.1 Influencia de disolventes y aditivos en catalizadores basados en ácidos de Brønsted... 33	
7.2 Influencia de disolventes y aditivos en catalizadores basados en tioureas	36
7.3 Influencia de disolventes y aditivos en catalizadores organoborados.....	41
7.4 Influencia de disolventes y aditivos en otros organocatalizadores emergentes	49
BIBLIOGRAFÍA.....	51
ANEXOS	57

ÍNDICE DE ESQUEMAS

Esquema 1. Propuesta general para la síntesis del donador glicosídico de tricloroacetimidato.	5
Esquema 2. Mecanismo de reacción generalizado de una reacción de glicosilación química.	12
Esquema 3. Mecanismo de reacción de la formación de los TCA.....	13
Esquema 4. Primera síntesis de TCA reportada.	14
Esquema 5. Anomerización y retroreacción de los tricloroacetimidatos.	15
Esquema 6. Síntesis de los TCA catalizada por DBU.....	17
Esquema 7. Síntesis de los TCA por carbonato de potasio.....	18

LISTA DE ABREVIATURAS

1. AG-H: Aceptor de glicosilo.
2. CIP: Iones de contacto.
3. CN⁻: Contraion.
4. DBU: 1,8-diazabicyclo[5.4.0]undeca-7-eno.
5. DG: Donador de glicosilo.
6. DGa: Donador de glicosilo activado.
7. LG: Grupo saliente.
8. OBn: Grupos bencilos.
9. OBz: Grupos benzoilos.
10. OXO⁺: Ion de oxocarbenio.
11. P: Promotor.
12. PGV: Participación de grupos vecinales.
13. PH: Puente hidrógeno.
14. SSIP: Iones separados por disolvente.
15. TCA: Donadores de glicosil tricloroacetimidato.

1. CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN

Los carbohidratos son las biomoléculas más abundantes en la tierra y tienen una amplia variedad de funciones. Entre ellas se puede destacar que son la principal fuente de energía de organismos no fotosintéticos; sirven como elementos estructurales, conectores, lubricantes y protectores de distintos organismos; son esenciales en el reconocimiento, adhesión y señalización celular; y cuando se unen covalentemente a otras biomoléculas (glicoconjugados) asimismo sirven como señalizadores y guías de transporte. En este sentido, el tamaño y constitución química de los carbohidratos, así como su entorno determinará la función de esta biomolécula²². Dado lo anterior, los carbohidratos han sido altamente demandados para el diseño de fármacos (tales como inmunomoduladores), de marcadores biológicos de diagnóstico, blancos diana terapéuticos, vacunas, y en el entendimiento de patogénesis, comunicación y reconocimiento celular. Por esto, se ha prestado especial atención al desarrollo de la glicobiología, pues se necesita suplir la gran demanda de carbohidratos.

Generalmente, para efectuar una glicosilación, un donador de glicosilo debe ser añadido a un aceptor de glicosilo. Pero para esto, su grupo saliente debe ser primeramente activado con un promotor en cantidades estequiométricas o catalíticas. Para esto último, se han utilizado enfoques enzimáticos. No obstante, las enzimas utilizadas en la química de carbohidratos (glicosidasas, glicotransferasas o glicosintetasas) sufren constantemente de promiscuidad de sustrato, se limitan a la síntesis de carbohidratos disponibles biológicamente, son aún complejas de producir, caras y emplean metodologías laboriosas⁴². Por otro lado, la obtención de carbohidratos a partir de sistemas biológicos no es viable, pues los producen en mezclas

heterogéneas, y de nuevo, se limitan a los carbohidratos biológicamente disponibles, por lo que la síntesis orgánica es la mejor alternativa para acceder a carbohidratos puros y bien definidos¹.

Teniendo en consideración todo lo anterior y en seguimiento a la alta demanda de carbohidratos tanto en el sector de investigación como en el industrial, desde que Emil Fisherⁱ y Arthur Michaelⁱⁱ realizaron las primeras glicosilaciones químicas, las cuales se caracterizaron por ser catalizadas por ácido, incontables investigaciones se han realizado para mejorar los métodos para la formación de enlaces glicosídicos, una de las reacciones centrales en la química de carbohidratos^{10, 11, 21}.

En este contexto, la primera glicosilación controlada fue reportada por Koenings y Knorr, en la cual se utilizaba típicamente un glicosilo de bromuro o cloruro y sales de metales pesados como catalizadores. Sin embargo, solo en las últimas 3 a 4 décadas han surgido metodologías que abordan efectivamente la síntesis de oligosacáridos, y solo unas cuantas han trascendido para su uso general. Por lo anterior, con el fin de efectuar reacciones de glicosilación altamente selectivas y de gran rendimiento, actualmente se siguen diseñado muchas estrategias y metodologías, las cuales atienden uno o varios de los diversos los factores que afectan el resultado de una glicosilación química^{23, 43}.

No obstante, se ha observado que la constitución química del grupo saliente del donador de glicosilo tiene gran influencia en el resultado de las reacciones de glicosilación. En este

ⁱ Referida como glicosilación de Fisher desde el año de su reportaje en 1893. En esta, se sintetizaron glicósidos de alquilo a partir de hemiacetales.

ⁱⁱ Sintetizó glicósidos de arilo a partir de glicosilos de haluro.

sentido, los glicosilos de tricloroacetimidato han sido los donadores de glicosilo de elección en activaciones catalíticas ya que exhiben en su mayoría buenos rendimientos y control anomérico. En general, son los donadores de mayor fiabilidad y aplicación en condiciones sutiles pues su síntesis es sencilla y tienen una buena reactividad. Su síntesis fue primeramente reportada por Michel y Schmidt en 1980 y a partir de esta se han adoptado distintas estrategias para su preparación³⁵.

2. CAPÍTULO II. HIPÓTESIS, JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS

2.1 Hipótesis

A lo largo de los últimos años se han desarrollado diferentes estrategias sintéticas para el control de la configuración del carbono anomérico α/β , a través del manejo de condiciones de la reacción de glicosidación y del uso de distintos activadores. Los donadores de tricloroacetimidato, han sido ampliamente usados en la reacción de glicosidación desde hace más de una década. En este trabajo, nos propusimos investigar condiciones de reacción óptimas para la síntesis de donadores de glicosil tricloroacetimidato, buscando obtener los donadores de glicosil tricloroacetimidato en altas selectividades. Fomentando a la par principios de química verde, procedimientos sencillos y bajos costos de operación en comparación con otras estrategias aplicadas a la síntesis de glicósidos.

Justificación

Los sacáridos tienen diversas e importantes funciones biológicas por lo que su demanda en el mercado ha incrementado. Han sido empleados como nuevos marcadores biológicos, dianas terapéuticas, y para el entendimiento de diversas patologías y procesos celulares, entre

muchos otros. Por lo anterior, es fundamental contar con la cantidad suficiente de sacáridos bien definidos para continuar con su investigación y producción a gran escala.

Sin embargo, la síntesis química de sacáridos representa un gran reto en la actualidad pues es de gran complejidad. Por lo que, en la última década se han diseñado numerosas estrategias y metodologías atendiendo uno o varios factores que controlan el resultado de una glicosilación. En este sentido, la constitución química del grupo saliente del donador de glicosilo, el cual se ubica en el carbono anomérico, tiene gran influencia en el rendimiento y resultado estereoquímico de las reacciones de glicosilación.

Por otro lado, los TCA han sido los donadores de elección en condiciones sutiles de reacción, pues su preparación es sencilla, tienen una reactividad adecuada y son de gran fiabilidad pues en la mayoría de los casos exhiben buenos rendimientos y selectividad anomérica.

Es por ello por lo que nos planteamos los siguientes objetivos.

2.2 Objetivos

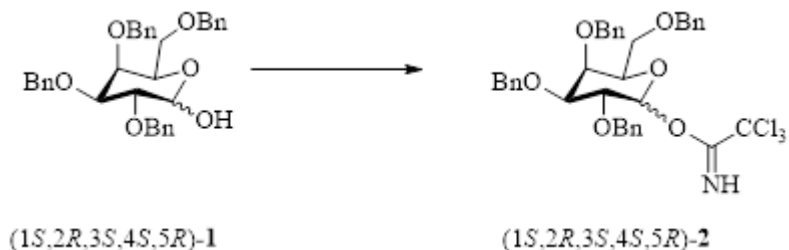
2.2.1 Objetivos generales

- Investigar condiciones de reacción óptimas para la síntesis de donadores de glicosil tricloroacetimidato.

2.2.2 Objetivos específicos

- Sintetizar, purificar, identificar y medir la estereoselectividad de la reacción de glicosidación, en la obtención del donador glicosídico de tricloroacetimidato

(1*S*,2*R*,3*S*,4*S*,5*R*)-**2** a partir de la 2,3,4,6-*tetra-O*-bencil-*D*-galactopiranososa (1*S*,2*R*,3*S*,4*S*,5*R*)-**1**.



Esquema 1. Propuesta general para la síntesis del donador glicosídico de tricloroacetimidato.

3. CAPÍTULO III. ANTECEDENTES

La síntesis de oligosacáridos es desafiante y representa un gran reto para los químicos actualmente, pues en cada glicosilación se conlleva a la formación de un par de diastereoisómeros, lo que reduce drásticamente el rendimiento de la mayoría de las glicosilaciones y obliga a realizar purificaciones laboriosas. De manera general, los distintos tipos de isómeros y anómeros, aunado a los múltiples grupos hidroxilos altamente reactivos presentes en los sacáridos, confiere gran complejidad al control quimio, regio y estereoselectivo del producto, reduciendo drásticamente el rendimiento y la economía química e incrementando el costo de producción. En contraste, otras biomoléculas como las proteínas, ácidos nucleicos y lípidos tienen estructuras con menor variedad y más rutas sintéticas generales que los carbohidratos, lo cual ha conducido a la implementación exitosa de plataformas automáticas para la síntesis rápida y eficiente de estas biomoléculas. Esto último no ha podido ser alcanzado para los carbohidratos³. De hecho, en comparación con otras áreas, se podría decir que la glicobiología está en sus etapas infantiles.

Uno o varios factores pueden dictar el rendimiento y el producto estereoquímico de las reacciones de glicosilación, por lo que frecuentemente es necesario sobrellevar cribados laboriosos con cada factor para optimizar o lograr una glicosilación química selectiva³⁶. Esto ha conllevado, en parte, a la falta de unificación en las estrategias químicas para la síntesis de sacáridos, apuntando a la necesidad de ganar mayor claridad sobre el mecanismo de esta reacción^{20, 25}. Entre los factores que hasta ahora se ha evidenciado que tienen un rol en las glicosilaciones selectivas se encuentran:

1. La mutrorrotación y efecto anomérico del donador de glicosilo y del aceptor de glicosilo^{4, 10}.
2. La influencia de grupos protectores y funcionales del donador de glicosilo y del aceptor de glicosilo⁴.
3. El tipo de promotor empleado: enzimas, catalizadores y reactivos estequiométricos⁴.
4. La interacción entre el grupo saliente y el promotor puede formar un grupo saliente completamente diferente que pudiera ser ahora sujeto al efecto anomérico⁴.
5. La influencia de disolventes y aditivos⁴.
6. La influencia del tiempo, concentraciones y temperatura de reacción^{4, 10, 36}.

3.1 El enlace glicosídico

Se le llama enlace glicosídico a la asociación covalente que permite unir a un par de monosacáridos. Cuando se asocian varios monosacáridos forman oligosacáridos y cuando se asocian aún más monosacáridos se obtienen polisacáridos. Por cada par de monosacáridos

unidos hay un enlace glicosídico que se forma cuando un grupo hidroxilo de uno de los monosacáridos ataca como nucleófilo al carbocatión generado del carbono anomérico del otro monosacárido. Lo anterior representa la formación de un acetal a partir de un hemiacetal. Los sacáridos son un tipo especial de los acetales. Es decir, el enlace *O*-glicosídico es un enlace del tipo de los acetales que resulta en la formación de un glicósido β , α o un equilibrio entre ellos²². La reacción conlleva a la formación de agua como subproducto y puede revertirse a su constitución inicial al ser sujeta a hidrólisis. Incluso aunque esto último es frecuentemente favorable termodinámicamente, la hidrólisis de los glicósidos es una reacción muy lenta a menos que estén presentes enzimas hidrolíticas específicas⁹.

De esta manera, la posición del grupo hidroxilo que funge como nucleófilo y el tipo de configuración anomérica que resulte del enlace glicosídico les da gran diversidad numérica y funcional a los sacáridos. Por ejemplo, la celulosa es un polisacárido de configuración β en las posiciones 1,4 y es extremadamente resistente y permite dar soporte estructural; mientras que la amilasa es otro polisacárido con las mismas posiciones de enlace, pero con configuración α que le da gran flexibilidad y es utilizado principalmente como fuente de energía⁹.

3.2 Glicosilación química: mecanismo de reacción

Adoptar un enfoque mecánico de la eficiencia y estereoselectividad de las glicosilaciones químicas representa una piedra angular para el diseño y mejora de estrategias de glicosilación selectiva nuevas o actuales⁴. Aunque se ha realizado gran progreso en la síntesis química de oligosacáridos y se han logrado construir sacáridos de gran tamaño y complejidad a través de los años, aún no se tiene claridad del mecanismo de reacción subyacente a la unión

covalente entre monosacáridos ni del grado real de los efectos de las diversas variables que influyen en esta⁴. No obstante, se conoce que la mayoría de las reacciones de glicosilación tienen características tanto de una S_N2 y S_N1 , por lo que actualmente es aceptado por la comunidad científica que el mecanismo exacto por el cual se forma un enlace glicosídico se encuentra en un espectro continuo de mecanismos que abarca desde una S_N1 hasta una S_N2 ⁴.⁷. Una clara distinción entre una S_N2 y S_N1 en una reacción de glicosilación resulta compleja, pues muchas consideraciones y factores deben ser tomados en cuenta⁴².

De manera general y bajo esta secuencia lógica, una glicosilación química consta de un donador de glicosiloⁱⁱⁱ (DG), un promotor (P) estequiométrico, enzimático o catalítico electrófilico y un aceptor de glicosilo^{iv} (AG-H). Asimismo, para efectuar una glicosilación, el DG debe ser activado por el P para permitir formar un buen grupo saliente (LG) a partir del grupo hidroxilo del carbono anomérico y entonces permitir el ataque nucleofílico del AG-H para formar un glicósido. La activación del DG resulta en la ionización del C1 (la formación del carbocatión) y la consecuente formación de: un catión de oxocarbenio, pues los sustituyentes electronegativos del DG (entre ellos el oxígeno) tienen efectos electrónicos (de estabilización o desestabilización) sobre el carbocatión; y un anión independiente, representado por el LG o una molécula de disolvente, el contraion²⁹. Estos últimos 2 componentes son conocidos como el donador de glicosilo activado (DGa). Después, el nucleófilo ataca al DGa para formar el producto glicosídico⁴². En otras palabras, una reacción

ⁱⁱⁱ Donador de glicosilo: sacárido que recibirá el ataque nucleofílico en el C1 o anomérico.

^{iv} Aceptor de glicosilo: sacárido que realiza el ataque nucleofílico al donador de glicosilo.

de glicosilación involucra el desplazamiento del LG del carbono anomérico del DGa (el ahora electrófilo) por un AG-H (nucleófilo) en la presencia de un P^{29,42}.

Entrando a detalle, un factor determinante que dicta qué tanto carácter de S_N1 o (y) S_N2 tiene una glicosilación química es por el tipo de asociación mayoritaria que tengan los iones formados a la salida del grupo saliente, si esta transición llegara a producirse. Esto es, el ion oxocarbenio (OXO+) y el contraion (CN⁻)¹. Estos iones han sido ampliamente confirmados mediante estudios computacionales teóricos de mecánica cuántica^{12-14, 29, 38-41} y recientemente observados por RMN en condiciones supercríticas²⁰.

Dentro de este marco, este par de iones pueden tener 2 tipos de asociación:

- Iones de contacto (CIP): par de iones de asociación cercana en el que no hay moléculas de disolvente entre ellos. Por lo tanto, el CN⁻ tiene influencia en el resultado estereoquímico de la glicosilación¹.
- Iones separados por disolvente (SSIP): par de iones de asociación distante en el que hay moléculas de disolvente entre ellos. Por lo tanto, el CN⁻ no tiene influencia en el resultado estereoquímico de la glicosilación¹.

Así, una glicosilación química tendrá características de una S_N1 a medida que se formen los iones de oxocarbenio y contraiones respectivos; y tendrá aún un mayor carácter de S_N1 cuando estos tengan una asociación del tipo SSIP. Por su contraparte, cuando la asociación predominante entre iones sea del tipo CIP, la glicosilación química tenderá a seguir un comportamiento de una S_N2. En estos casos, cuando se involucra la formación de iones

intermediarios, la velocidad de reacción es determinada por la velocidad en que se formen estos y su estabilidad⁵.

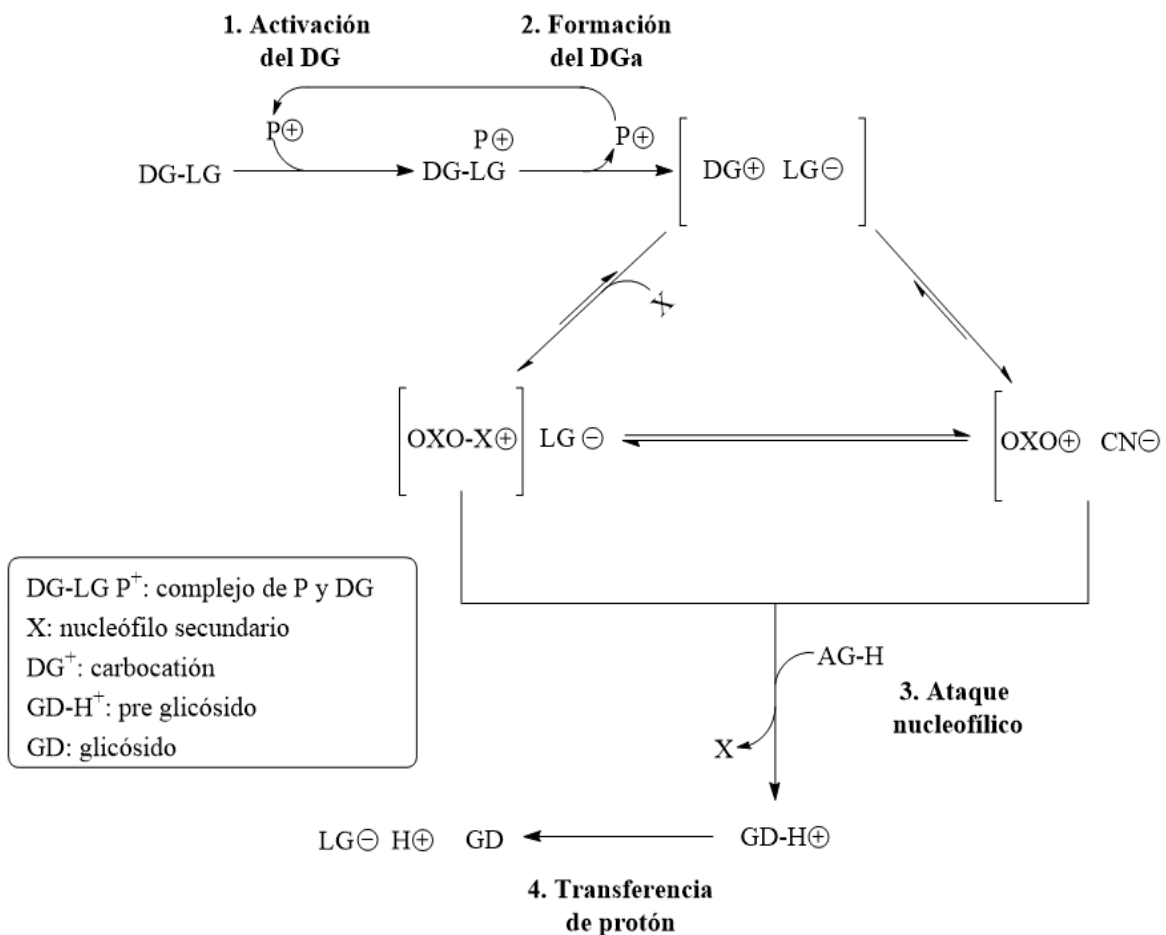
Por otro lado, cuando se forma el OXO⁺ y se trata de una piranosa, se espera que la conformación cambie para acomodar de la mejor manera la carga generada. Por lo que la piranosa adopta una conformación en la cual las interacciones de los orbitales entre el par de electrones desapareados del O del anillo y el orbital p vacío del C1 se maximicen. Estas conformaciones incluyen aquellas en las cuales el C5, O5, C1 y C2 sean coplanares con respecto de sí, por lo que el OXO⁺ podrá tener las conformaciones $B_{2,5}$, $^{2,5}B$, 3H_4 , 4H_3 y algunas variantes de mayor energía como E_3 , 3E , 4E , y E_4 ⁸.

Sin embargo, debido a las condiciones de reacción y a las diversas estrategias reportadas que hacen uso de distintos tipos de promotores y nucleófilos para la síntesis química selectiva de glicósidos, en muchas ocasiones los intermediarios iónicos tienen tiempos de vida muy limitados o no alcanzan simplemente a formarse. En estos casos, el DGa está presente como especies covalentes intermediarias iónicas y cuando el AG-H ataca como nucleófilo (generalmente con uno de sus grupos hidroxilos no protegidos), la glicosilación química procede por una S_N2, controlando por lo tanto el resultado estereoquímico de la reacción, pues esta estaría en completa función de la configuración del electrófilo de la posición anomérica^{1, 17, 25, 36}.

En suma, una glicosilación típica frecuentemente favorece una S_N1 y consta de 4 pasos distintos cuando no hay participación de grupos vecinales (PGV):

1. Activación del DG, se forma un complejo entre el P y el DG. El rol del P es asistir la salida del LG y guiar el ataque nucleofílico del AG-H^{1, 16}.
2. Formación del DGa, representado por especies covalentes o iones intermediarios (OXO⁺ y CN⁻), siendo el primer ion intermediario altamente estabilizado por resonancia. Dada la hibridación sp² del OXO⁺, la conformación frecuentemente se adopta a una de media silla que permite el acceso del nucleófilo por ambos planos anoméricos^{1, 16}.
3. Ataque nucleofílico por el AG-H. Cuanto más carácter de una S_N1 se tenga, se formarán ambos anómeros^{1, 16}.
4. Transferencia de protón para generar el glicósido^{1, 16}.

Asimismo, mientras era asumido que las glicosilaciones que procedían vía formación de iones intermediarios evidenciaban pobres estereoselectividades, es ahora claro que las asociaciones entre los iones es un eje clave para el control estereoselectivo de las reacciones de glicosilación¹.

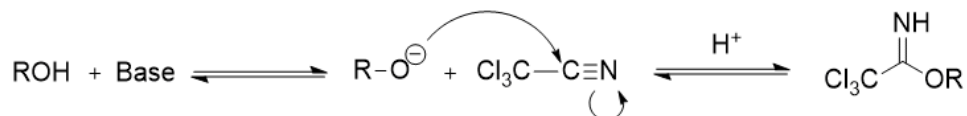


Esquema 2. Mecanismo de reacción generalizado de una reacción de glicosilación química. Se considera a un catalizador sin la influencia de grupos vecinales, incluyendo un DG, un P y un AG-H de manera arbitraria. Dependiendo del P, este puede formar un complejo con el DG de manera covalente o por medio de fuerzas débiles. La salida del LG genera un carbocatión que por resonancia genera el catión oxocarbenio. Si las condiciones de reacción no favorecen la formación de iones intermediarios, un nucleófilo secundario (disolvente o aditivo) puede generar un covalente intermediario iónico. Por su contraparte, el contraión CN⁻ representa al LG⁻ o a un anión arbitrario presente en el medio. El resultado estereoquímico ni la vía de S_N son mostrados.

3.3 Donadores de glicosil tricloroacetimidato

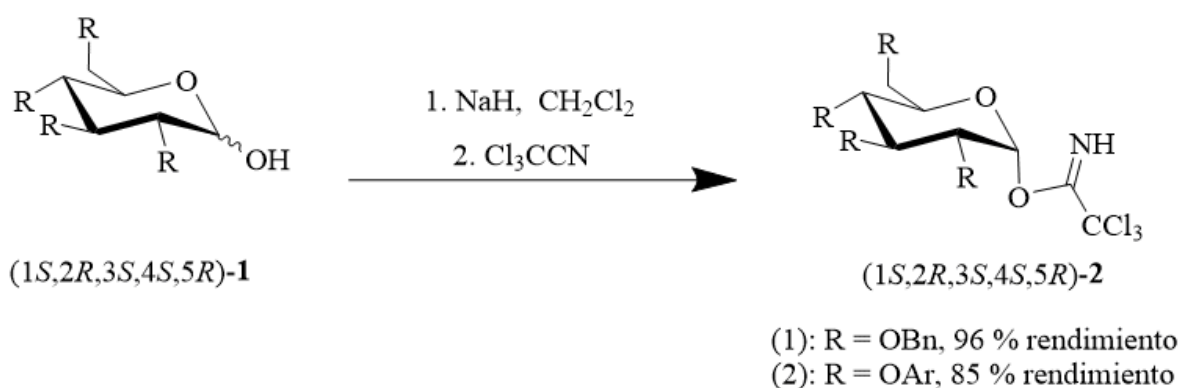
De las diversas estrategias sintéticas desarrolladas a la fecha, las síntesis de glicósidos basadas en imidatos de glicosilo son probablemente las más populares. Esto, debido a que usualmente solo se requieren de cantidades catalíticas del P para efectuar glicosilaciones selectivas y eficientes en comparación otros tipos de donadores de glicosilo, que generalmente necesitan cantidades equimolares del P, lo cual conduce a otras desventajas de distintas índoles¹⁰.

En 1976, el grupo de investigación de Sinay reportó la primera síntesis de imidatos de glicosilo a partir de haluros de glicosilo. Pronto, se utilizaron estos glicosilos como DG, proveyendo así un método alternativo para la síntesis de sacáridos sin el uso de sales de metales pesados como promotores. En su lugar, estas glicosilaciones fueron activadas por ácido tosílico (TsOH). No obstante, debido a los prolongados tiempos de preparación de los imidatos de Sinay y su baja reactividad en comparación con otros donadores de glicosilo, los *N*-metil acetimidatos no ganaron mucha popularidad. Aunado a esto, se conocía que los nitrilos con sustituyentes electroattractores sobrellevan adiciones directas y reversibles con alcoholes para formar imidatos, lo cual en conjunto inspiró el desarrollo de los glicosilos de tricloroacetimidato (TCA)²⁶.



Esquema 3. Mecanismo de reacción de la formación de los TCA.

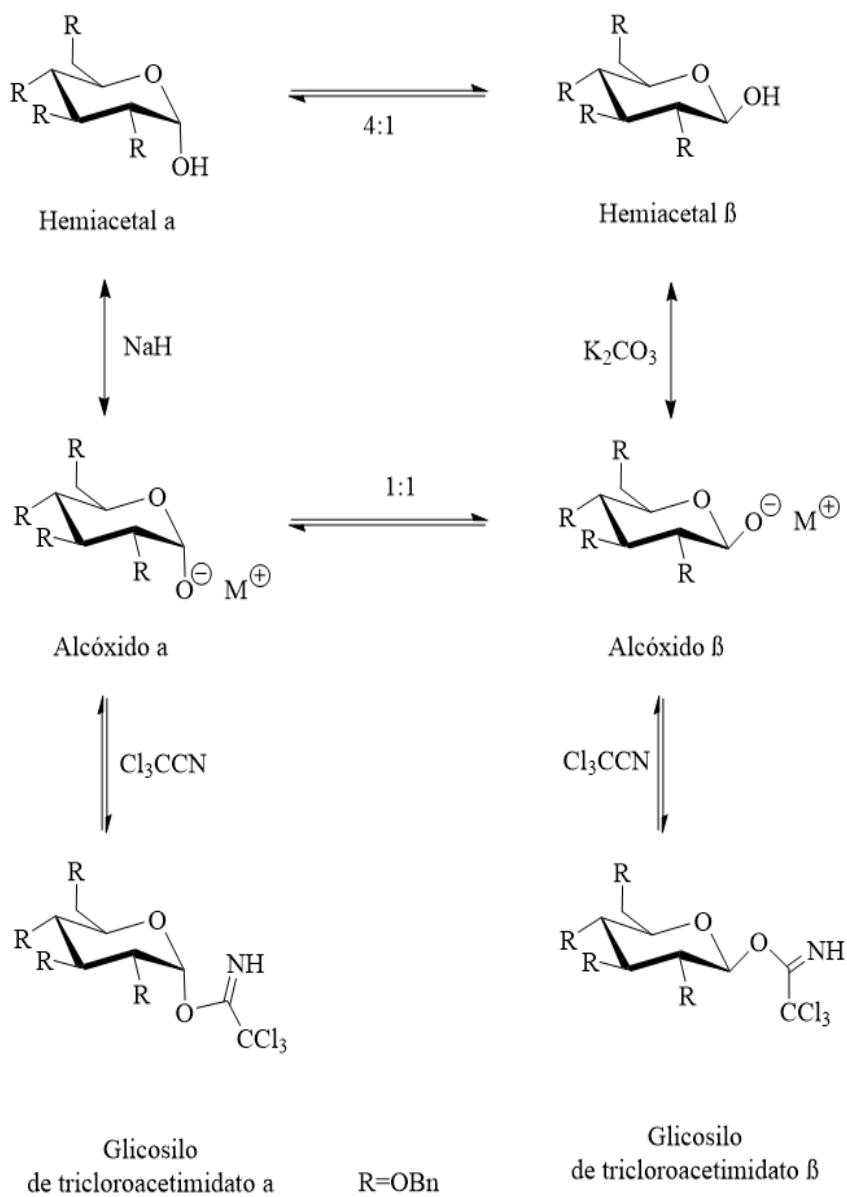
Fue en 1980 cuando Schmidt y Michel introdujeron los TCA, los cuales con el tiempo se convirtieron en uno de los donadores de glicosilo más ampliamente usados en la química de carbohidratos, razón por la cual surge el concepto de “glicosilación de Schmidt”³³. En este primer reporte, demostraron que la reacción entre nitrilos y alcoholes podía ser aplicada con hemiacetales cíclicos, en este caso, una glicopiranososa desprotegida en el C1, y protegida con grupos bencilos (1) y arilos (2) (Ver esquema 4)³³.



Esquema 4. Primera síntesis de TCA reportada³³.

En este contexto, 4 años más tarde, en 1984, Schmidt y Michel decidieron ahora explorar las razones por las cuales se obtenía el glicosilo de tricloroacetimidato β con K₂CO₃ sobre el glicósido de tricloroacetimidato α con NaH o viceversa. En su investigación, encontraron que la reacción de formación de los TCA era reversible y que las diferencias de reactividad de los alcóxidos de glicosilo α y β y las diferencias de estabilidad de los TCA α y β, permitirían su síntesis de manera selectiva. Asimismo, encontraron que el producto cinéticamente preferido con el tiempo, y bajo la presencia de un catalizador alcalino (NaH), se anomerizaba al producto termodinámicamente preferido, el donador de tricloroacetimidado α. También, debido a que una cantidad considerable del hemiacetal se reformó, y la seguida formación

del alcóxido α de manera lenta, confirma que el donador de tricloroacetimidato α no es el cinéticamente favorecido, sino el termodinámico (Esquema 5)³⁴.



Esquema 5. Anomerización y retroreacción de los tricloroacetimidatos^{31, 34}.

Los TCA ganaron gran popularidad en la química de carbohidratos debido a que exhiben propiedades sobresalientes en términos de facilidad de síntesis, estabilidad^v, reactividad y en aplicaciones generales. Por lo que cuando son empleados en reacciones de glicosilación, usualmente resultan en glicósidos con altos rendimientos y estereocontrol anomérico. En este sentido, la estereoquímica anomérica resultante deriva de la PGV, de la influencia de disolventes, aditivos y otros factores cinéticos; de efectos termodinámicos y de la configuración del glicosilo de tricloroacetimidato cuando se opera bajo una S_N2¹⁰.

Otras características sobresalientes de los TCA sobre otros tipos de DG incluyen:

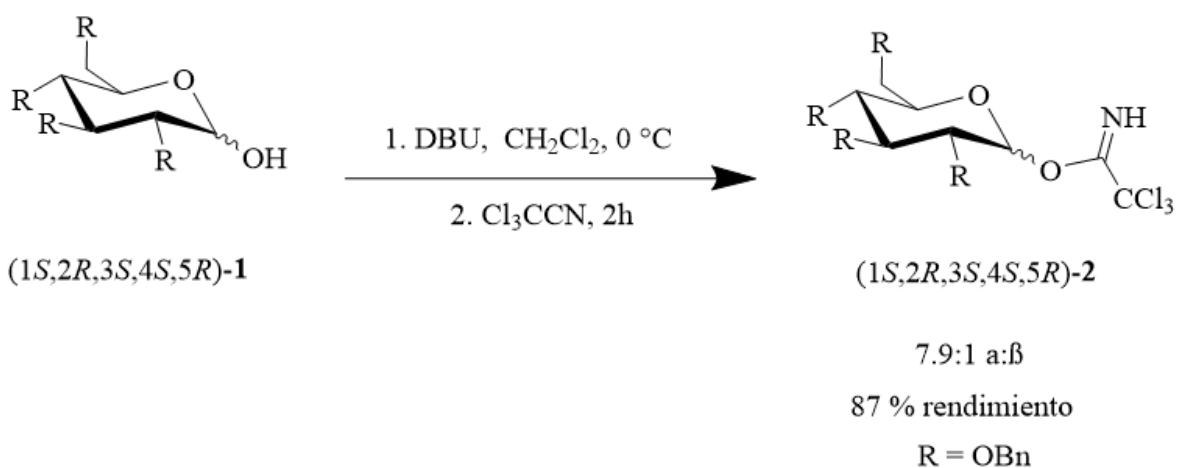
- Cuando abandonan el glicosilo como LG, no se consume ni se genera acidez, por lo que esta solo es determinada por la cantidad de promotor³⁵.
- El agua generada de la glicosilación se une al tricloroacetonitrilo, por lo que no se requieren agentes secantes adicionales³⁵.
- Se puede eliminar fácilmente la tricloroacetamida (LG) de la mezcla de reacción y transformarse de nuevo en tricloroacetonitrilo, por lo que el método es rentable y fomenta la química verde³⁵.
- Tanto la síntesis de los TCA ni en la glicosilación selectiva con estos como DG se forman sales³⁵.

Por otro lado, los TCA son mejormente activados bajo condiciones ácidas fuertes, por lo que comúnmente se emplean TMSOTf y BF₃·OEt₂ como catalizadores (promotores) para las glicosilaciones de Schmidt. Sin embargo, también se han reportado condiciones más sutiles

^v Por ejemplo, los TCA α pueden ser almacenados a 5 °C mientras que los donadores de bromuro α deben ser almacenados a - 80 °C y se descomponen en poco tiempo.

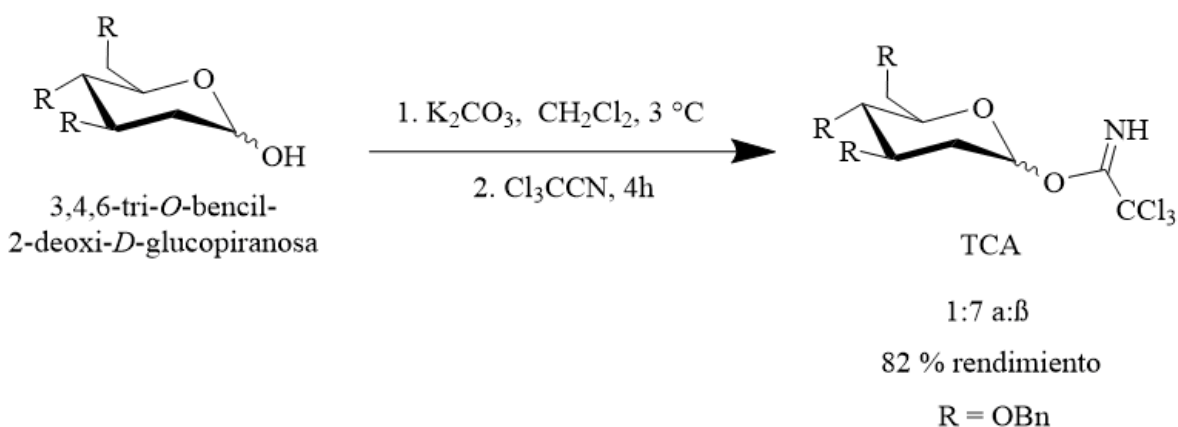
y eficientes, tales como el uso de AgOTf como promotor³⁷. Incluso, se reportó una glicosilación de Schmidt activada sin el uso de ácidos fuertes de Lewis, pues en su lugar se utilizó una nueva estrategia, el calentamiento preciso por microondas¹⁸. Asimismo, también se ha evitado el uso de ácidos fuertes mediante el uso de líquidos iónicos^{24, 27}.

Aunque son diversas las metodologías que emplean DBU como catalizador alcalino para la preparación de TCA, de acuerdo con Cox y colaboradores (2010), se parte de la 2,3,4, 6-*tetra-O*-bencil-*D*-galactopiranososa (1*S*,2*R*,3*S*,4*S*,5*R*)-**1** (1.00 g, 1.85 mmol) comercialmente disponible y se disuelve en diclorometano (20 mL) recién destilado en atmósfera de argón a 0 °C. Posteriormente se añade el DBU (0.114 mL, 0.74 mmol) seguido del tricloroacetnitrilo (0.946 mL, 9.248 mmol) y se deja reaccionar por 2 h. Finalmente, el crudo de reacción es concentrado al vacío y se purifi el producto (1*S*,2*R*,3*S*,4*S*,5*R*)-**2** por cromatografía de columna obteniendo un rendimiento del 87% en una proporción 7.9:1 α:β (Esquema 6).



Esquema 6. Síntesis de los donadores de tricloroacetimidato utilizando DBU como catalizador⁶.

Bennett y colaboradores en el 2014, describen la obtención del donador **2** β -mayoritario. En esta metodología describen que 3,4,6-*tri-O*-bencil-2-deoxi-*D*-glucopiranososa comercialmente disponible se disuelve en diclorometano y se coloca en baño de hielo. A la mezcla resultante se le añade carbonato de potasio seco y finalmente se le adiciona el tricloroacetnitrilo, dejando reaccionar por 4 h en agitación. Aquí describen que el crudo de reacción se concentra al vacío y los TCA se aíslan por cromatografía de columna, obteniendo un rendimiento del 82% en una proporción 1:7 α : β (Esquema 7).



Esquema 7. Síntesis de los glicosil tricloroacetimidato utilizando carbonato de potasio como catalizador.

3.3.1 Glicosilos de tricloroacetimidato en glicosilaciones selectivas

Por otro lado, el uso de *O*-glicosil tricloroacetimidatos ha demostrado ser muy eficiente en la síntesis de oligosacáridos y glucósidos complejos. En 2010, Cox y colaboradores, sometieron una mezcla de tricloroacetimidatos (7.9:1 α : β) como donadores de glicosilo en una reacción de glicosilación utilizando por primera vez un ácido de Brønsted como catalizador, como resultado de este estudio obtuvieron distintos β -glucósidos. La mezcla anomérica que utilizan para la glicosilación se obtuvo a través de la reacción entre 2,3,4,6-

tetra-*O*-bencil- α/β -*D*-galactopiranososa y tricloroacetoniitrilo utilizando DBU como base, en esta reacción reportan el producto como un aceite amarillo con 87% de rendimiento.

En 2014, Bennett y colaboradores, llevan a cabo una glicosilación utilizando ácidos de Brønsted como catalizadores, sin embargo, resalta en este estudio la distinción en los donadores de glicosilo. Para ello parten de dos diferentes mezclas anoméricas, una donde el anómero mayoritario fuera α , a través de reacción entre 3,4,6-tri-*O*-bencil-2-desoxiglucopiranososa y tricloroacetoniitrilo utilizando NaH como base ($\alpha:\beta = 25:1$) y la otra donde el anómero mayoritario fuera β , utilizando carbonato de potasio como base en la reacción entre la glucopiranososa y el tricloroacetoniitrilo ($\beta:\alpha = 7:1$).

Por otra parte, en 2010, Bucher y Gilmour, emplean 2,3,4,6-tetra-*O*-bencil-*D*-glucopiranosil tricloroacetimidato como materia prima para glicosilaciones con trimetilsilil trifluorometanosulfonato (TMSOTf). En este estudio reportan la obtención del donador de glicosilo utilizando DBU como base y obteniendo la mezcla anomérica en 92% de rendimiento y una proporción $\alpha/\beta = 5.8:1$.

Finalmente, de manera general se han señalado las siguientes observaciones en cuanto a los TCA en reacciones de glicosilación selectivas:

- La inversión de la configuración anomérica de los TCA es favorecida a temperaturas bajas y promotores como el TsOH y catalogados como ácidos de Brønsted no favorecen los productos β ^{23, 31}.
- Las glicosilaciones a menor temperatura y con mayores concentraciones favorecen los glicósidos ecuatoriales²³.

- Los ácidos de Lewis como promotores en conjunto con disolventes no polares favorecen una S_N2^{23} .
- La constitución del LG de tricloroacetimidato es la de un nucleófilo, por lo que al usar un AG-H poco reactivo, se pueden obtener TCA como productos secundarios sin capacidad de DG²³.

Con base con los antecedentes mencionados nos propusimos investigar condiciones de reacción óptimas para la síntesis de donadores de glicosil tricloroacetimidato, buscando obtener los donadores de glicosil tricloroacetimidato en altas selectividades.

4. CAPÍTULO IV. METODOLOGÍA

4.1 Generalidades

Para la realización de este trabajo de investigación se hizo uso de reactivos de marca Aldrich. El desarrollo de las reacciones, así como los productos obtenidos, fueron seguidos con cromatografía de placa fina en gel de sílice, usando como eluyentes acetato de etilo (AcOEt), diclorometano (CH_2Cl_2) y *n*-hexano (*n*-Hex), en diversas proporciones. Para la revelación de las placas, se usó luz ultravioleta de 254 nm, vapores de yodo o solución de molibdato (PMA) precedida por aplicación de calor. Los disolventes como *n*-Hex, AcOEt se purificaron por destilación. La separación y purificación de los productos se realizó por cromatografía en columna, empleando una fase estacionaria de gel de sílice 60 o gel de sílice basificado según la nucleofilicidad del compuesto a separarse y diferentes mezclas de disolventes como eluyentes.

Respecto a los espectros de Resonancia Magnética Nuclear de 1H y ^{13}C , estos se obtuvieron utilizando un equipo marca Varian de 400 MHz en el caso de 1H y de 125 MHz para el caso

de ^{13}C . Se usó cloroformo deuterado (CDCl_3) como disolvente y tetrametilsilano (TMS) como referencia interna. Los desplazamientos químicos (δ) se encuentran en partes por millón (ppm). La multiplicidad de las señales se abrevió de la siguiente manera: señal simple (s), doble (d), triple (t), cuádruple (c) y múltiple (m).

4.2 Síntesis de 2,3,4,6-tetra-*O*-bencil- α -*D*-galactopiranosil tricloroacetimidato

(2a)

En un matraz a temperatura ambiente, previamente secado bajo flama directa y provisto de atmósfera de nitrógeno, agitador magnético y malla molecular, se adicionó 2,3,4,6-tetra-*O*-bencil-*D*-galactopiranososa (0.050 g, 1 eq) y se disolvió con CH_2Cl_2 recién destilado. Dependiendo de las condiciones que se deseaban explorar, el matraz de reacción se colocó directamente sobre una parrilla de agitación (t.a.), bajo baño de hielo (0 °C) o en ultraenfriador (-10 °C, -15 °C). A continuación, se adicionó DBU (1.38 μL , 0.1 eq) y se agitó durante 10 minutos. Finalmente se adicionaron los equivalentes correspondientes de tricloroacetnitrilo y la mezcla de reacción se mantuvo en agitación por el tiempo descrito. El crudo de reacción se filtró para eliminar la malla molecular y se evaporó el disolvente bajo presión reducida. La mezcla de productos se obtuvo como líquido incoloro que posteriormente se analizó mediante ^1H RMN.

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) 8.62 (1H, s, NH- β), 8.52 (2.6H, s, NH- α), 7.35-7.21 (92H, m), 6.52(2.6H, d, $J= 3.5$ Hz, H-C1 α), 5.75 (1H, d, $J= 8.0$ Hz, H-C1 β), 4.98-4.56 (30H, m), 4.42 (10H, q, $J= 11.6$ Hz), 4.24 (2.6H, dd, $J= 3.29, 10.05$ Hz), 4.16 (2.6H, t, $J= 6.7\text{Hz}$), 4.05-3.95(8.6H, m), 3.67-3.48 (11.6H, m)⁶.

4.3 Síntesis de 2,3,4,6-tetra-*O*-bencil- α -*D*-galactopiranosil tricloroacetimidato (2 β)

En un matraz a temperatura ambiente previamente secado bajo flama directa y provisto de atmósfera de nitrógeno, agitador magnético y malla molecular, se adicionó 2,3,4,6-tetra-*O*-bencil-*D*-galactopiranososa (0.050 g, 1 eq) y se disolvió con CH₂Cl₂ recién destilado. Se adicionó K₂CO₃ recién secado (0.060 g) a la mezcla de reacción, después de 10 minutos en agitación se adiciona tricloroacetnitrilo (23 μ L, 2.5 eq). Dependiendo de las condiciones bajo las que se estudiara la reacción se mantuvo el baño de hielo (0 °C) o se agitó la reacción a temperatura ambiente. Una vez transcurrido el tiempo de reacción, la mezcla se filtró para eliminar la malla molecular, se lavó con hexano/CH₂Cl₂ y se concentró al vacío. El crudo de reacción se analiza mediante ¹H RMN.

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) 8.62 (5H, s, NH- β), 8.52 (1H, s, NH- α), 7.37-7.20 (146H, m), 6.53(1H, d, *J*= 3.5 Hz, H-C1 α), 5.76 (5H, d, *J*= 8.0 Hz, H-C1 β), 5.0-4.87 (14H, m), 4.83-4.69 (25H, m), 4.62 (6.5H, d, *J*= 11.6 Hz), 4.48-4.37 (15H, m), 4.24 (2H, dd, *J*= 10.0, 3.6), 4.16 (2H, t, *J*= 6.5), 4.12-3.96 (10H, m), 3.78-3.53 (28H, m)⁶.

5. CAPÍTULO V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En este trabajo se propuso obtener los donadores de glicosilo **2 α** y **2 β** en la mayor proporción anomérica posible, para ello se partió de la mezcla racémica de 2,3,4,6-tetra-*O*-bencil-*D*-galactopiranososa **1**, esta mezcla se confirmó mediante un análisis de ¹H RMN del reactivo comercialmente disponible. En el espectro de RMN de ¹H se observa en 5.28 ppm una señal que corresponde al protón anomérico de la galactopiranososa, sin embargo, la multiplicidad no

se observa bien definida, lo que nos lleva a pensar que son dos señales en la misma región, ya que se esperaba una señal doble que integrara para un protón, así pues, explorando el espectro en regiones de frecuencia más altas, se encontraron señales duplicadas. Por ejemplo, en 4.04 ppm y 4.02 ppm se observan dos señales dobles con la misma constante de acoplamiento ($J= 3.6$ Hz), la primera de ellas integrando para 1 protón y la segunda para 1.4 protones, lo que nos demuestra una proporción anomérica de 1:1.4 de la materia prima y con lo que se puede hablar de una mezcla racémica.

5.1 Síntesis de 2,3,4,6-tetra-*O*-bencil- α -*D*-galactopiranosil tricloroacetimidato (2 α)

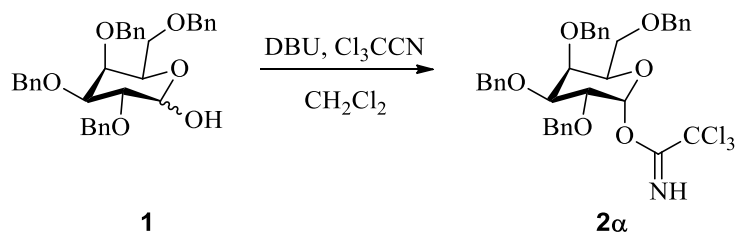
Con la certeza de tener la mezcla racémica de galactopiranososa **1**, la primera reacción para obtener el α -donador de tricloroacetimidato se llevó a cabo siguiendo la metodología de Bucher y Gilmour⁵, para ello se adicionaron 0.1 equivalentes de DBU a una solución con 10 equivalentes de tricloroacetonitrilo y 1 equivalente de galactopiranososa **1** en CH₂Cl₂ recién destilado a temperatura ambiente. Después de dos horas en agitación, el espectro ¹H RMN del crudo de reacción mostró la desaparición de la señal en 5.28 ppm, lo que nos indica una conversión completa de la materia prima, además se observa una señal simple en 8.62 ppm y una señal simple en 8.51 ppm, estas dos últimas señales son características del protón unido al nitrógeno del tricloroacetimidato que corresponden al anómero β y α , respectivamente. Al analizar estas dos señales se observa que el producto **2** es una mezcla anomérica de 1.7:1 α : β , evidenciando con ello una ligera preferencia hacia el anómero α . Con el objetivo de mejorar la α selectividad utilizando esta base (DBU) se efectuó el siguiente experimento disminuyendo la temperatura de reacción a 0 °C y en la búsqueda para obtener un crudo de

reacción sin impurezas se redujeron a la mitad los equivalentes utilizados de tricloroacetitrilo^{6, 19}. Después de dos horas de reacción siguiendo la reacción por cromatografía se observó materia prima por lo que se decidió dejar reaccionar por un total de 4 horas (Tabla 1, entrada 2). Al analizar el crudo de reacción mediante espectro de ¹H RMN, se observó una disminución en la conversión (70%) respecto a la reacción anterior, pero un incremento en la mezcla anomérica a 13:1 α : β . Teniendo en cuenta estos resultados, se procedió a disminuir la temperatura para determinar el efecto en la estereoselectividad y se llevó a cabo a -15 °C (Tabla 1, entrada 3), sin embargo se observó apenas un ligero incremento en la proporción anomérica (15:1), pero se observó una disminución en la conversión (44%).

En las dos reacciones previas se observó la formación de productos anoméricos apenas con la mitad de equivalentes de acetitrilo de lo que señala la literatura⁵, así pues, basándonos en los experimentos del grupo de Li¹⁹ para la obtención de donadores de glicosilo, se disminuyeron nuevamente a la mitad los equivalentes de tricloroacetitrilo (Tabla 1, entrada 4), al monitorear por cromatografía de placa fina la reacción durante 4 horas se observó materia prima, decidiendo mantener la reacción durante dos horas más, al analizar el crudo de reacción por RMN de ¹H se observa un aumento importante en la α -selectividad (47:1), sin embargo la conversión se vio negativamente afectada consiguiendo apenas un 39%. Se efectuó la reacción con 1.5 equivalentes de tricloroacetitrilo (Tabla 1, entrada 5), obteniendo una mayor proporción anomérica (30:1) y un aumento en la conversión (65%) respecto a la entrada 4. Estos últimos resultados nos llevan a concluir que la reacción de formación de α -donadores de glicosil tricloroacetimidato utilizando DBU como base puede

llevarse a cabo con apenas con un ligero exceso de tricloroacetnitrilo consiguiendo una buena proporción anomérica.

Tabla 1. Optimización de condiciones de reacción para la obtención de 2,3,4,6-tetra-*O*-bencil- α -*D*-galactopiranosiltricloroacetimidato (**2**) utilizando DBU como base.



Entrada ^[a]	Cl ₃ CCN (eq.)	T (°C)	t (h)	Conversión (%)	α : β
1	10	t.a.	2	100	1.7:1
2	5	0	4	70	13:1
3	5	-15	4	44	15:1
4	2.5	0	6	39	47:1
5	1.5	-10	4	65	30:1

[a] Condiciones de reacción constantes: **1** (1 equivalente), DBU (0.1 equivalentes). El diclorometano es previamente tratado con Ca₂H como agente desecante y destilado previo a su utilización.

De antemano se conoce que la adición de tricloroacetnitrilo al hidroxilo anomérico catalizada por DBU como base, forma en general una mezcla anomérica de TCA con preferencia al producto α por su mayor estabilidad anomérica. Inicialmente, la alta proporción β de la entrada 1 podría deberse al exceso de tricloroacetnitrilo (10 equivalentes), factor que favorece el producto cinético. No obstante, al reducir más la temperatura, como en las entradas 3 y 5, se esperaría una mayor selectividad β , pero se

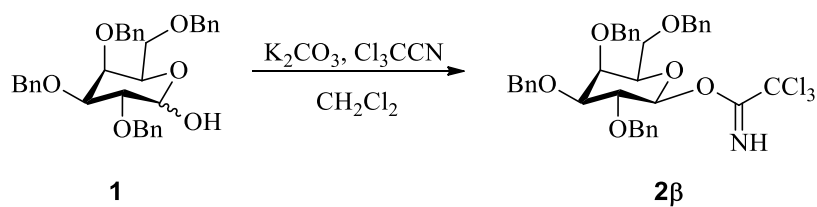
observa lo contrario. En este sentido, la reducción de la presencia de tricloroacetoniitrilo (a 5 y 1.5 equivalentes respectivamente) en el ambiente aunado al incremento en el tiempo de reacción (4 horas en comparación de 2) explicarían la selectividad α . Para este fin, resulta conveniente traer a memoria que la reacción de formación de TCA es reversible: el glicosilo de tricloroacetimidato β lentamente se anomeriza mediante catálisis alcalina, formando consecuentemente el glicosilo de tricloroacetimidato α por retroreacción y anomerización del alcóxido (Ver esquema 2). Finalmente, todo lo anterior cae en concordancia con las entradas 2 y 4: la reducción en concentración de tricloroacetoniitrilo (5 y 2.5 equivalentes respectivamente) aunado con una temperatura no tan elevada y el incremento de tiempo (4 y 6 horas respectivamente) resulta hasta en una α selectividad 47:1, más en un rendimiento pobre.

5.2 Síntesis de 2,3,4,6-tetra-*O*-bencil- α -*D*-galactopiranosil tricloroacetimidato (2 β)

Para la obtención, aislamiento y caracterización del β -donador de glicosiltricloroacetimidato **2 β** , se llevó a cabo la reacción según la metodología de Liu y colaboradores¹⁹, utilizando carbonato de potasio (K_2CO_3 , 115% wt). Para ello, a una solución de galactopiranososa **1** (1 equivalente) en diclorometano recién destilado, se adicionó la base y posteriormente 2.5 equivalentes de tricloroacetoniitrilo. Luego de 4 horas en agitación a 0 °C el espectro de 1H RMN del crudo de reacción mostró una proporción anomérica de 1:15 α : β obtenida a través de las señales del tricloroacetimidato (8.62 ppm para β y 8.51 ppm para α) y una conversión de 76% (Tabla 2, entrada 1). Al disminuir en una hora el tiempo de reacción se obtuvo una buena proporción anomérica de 1:45 α : β , sin embargo, la conversión cayó drásticamente

hasta apenas ser del 17% (Tabla 2, entrada 5). Para probar la influencia del tiempo de reacción, se sometió a temperatura ambiente durante 21 horas, obteniendo la proporción anomérica β favorecida en 1:15, sin embargo, solo se logró una conversión de 12% (Tabla 2, entrada 3), al aumentar aún más el tiempo de reacción a temperatura ambiente, no se mejoraron los resultados, en los cuales se obtuvo una proporción anomérica 1:9 α : β y apenas una conversión de 30%, además se observaron impurezas no identificadas en la región 0.5-2.5 ppm en el espectro de ^1H de RMN al efectuar la reacción temperatura ambiente. Finalmente, al llevar a cabo la reacción a 0 °C pero aumentando en 10 veces el tiempo de la entrada 1, se obtuvo una conversión de 94% pero solo una proporción 1:5 α : β en la mezcla anomérica (Tabla 2, entrada 5), esto nos lleva a concluir que las condiciones óptimas para obtener el β -donador de tricloroacetimidato son a 0 °C, y basándonos en la tabla 2, entrada 1, aumentar el tiempo de reacción a cinco o seis horas para aumentar la conversión, además es importante asegurar un ambiente anhidro en el matraz de reacción y la presencia de malla molecular.

Tabla 2. Optimización de condiciones de reacción para la obtención 2,3,4,6-tetra-*O*-bencil- β -*D*-galactopiranosil tricloroacetimidato (**2 β**)



Entrada ^[a]	Cl ₃ CCN (eq.)	T (°C)	t (h)	Conversión (%)	α : β
1	2.5	0	4	76	1:14.5
2	2.5	0	3	17	1:45

3	2.5	t.a.	21	12	1:15
4	2.5	t.a.	70	30	1:9
5	2.5	t.a.	44	94	1:5

[a] Condiciones de reacción constantes: **1** (1 equivalente), Cl₃CCN (2.5 equivalentes). El diclorometano es previamente tratado con Ca₂H como agente desecante y destilado previo a su utilización.

Cabe mencionar que, en los primeros experimentos, después de obtener el crudo de reacción y analizarlo por RMN, éste se sometía a cromatografía por columna de gel de sílice como fase estacionaria y con diferentes proporciones de disolventes (n-hexano/acetato de etilo) como fue reportado por Ikeuchi y colaboradores¹⁵ quienes reportaron que al purificar por cromatografía en columna utilizando gel de sílice como fase estacionaria el producto se descompone. Por otro lado, mediante purificación con gel de sílice funcionalizada con 3-aminopropil se obtienen buenos resultados como lo reporta Liu y colaboradores¹⁹.

Por otro lado, se conoce que el K₂CO₃, una base más débil que el DBU, favorece los productos β. En todos los resultados, incluso a pesar de las altas temperaturas y los largos tiempos de reacción, el catalizador permite obtener selectividades β moderadas a altas (1:5-1:45) con un buen rendimiento (76 %). La entrada 1, al tener una temperatura y tiempo moderado permite en conjunto obtener el mejor resultado. Por otra parte, las entradas 3, 4 y 5 evidencian los efectos de aumentar la temperatura y tiempos de reacción en las selectividades y conversión. En la entrada 2 por otro lado, el tiempo de reacción no es suficiente para obtener una alta conversión.

Consideraciones finales: nucleofilicidad del alcóxido anomérico y efectos estereoelectrónicos

La formación del producto β , el cinéticamente favorecido, es resultado de 2 fenómenos: la nucleofilicidad incrementada del alcóxido β sobre el alcóxido α y la incapacidad del catalizador alcalino de revertir la reacción de formación de los TCA^{31, 34}.

Se propone que la nucleofilicidad incrementada se debe por las interacciones dipolo-dipolo desfavorables o la repulsión entre el par de electrones desapareados del orbital p del O del anillo y el par de electrones desapareados del alcóxido en el anómero β . Lo anterior, conlleva a la repulsión de los orbitales libres, que en suma aumenta y facilita la accesibilidad de los electrones a los electrófilos. Este efecto es más puntual y de mayor impacto en glucopiranosas, galactopiranosas y manopiranosas^{31, 34}.

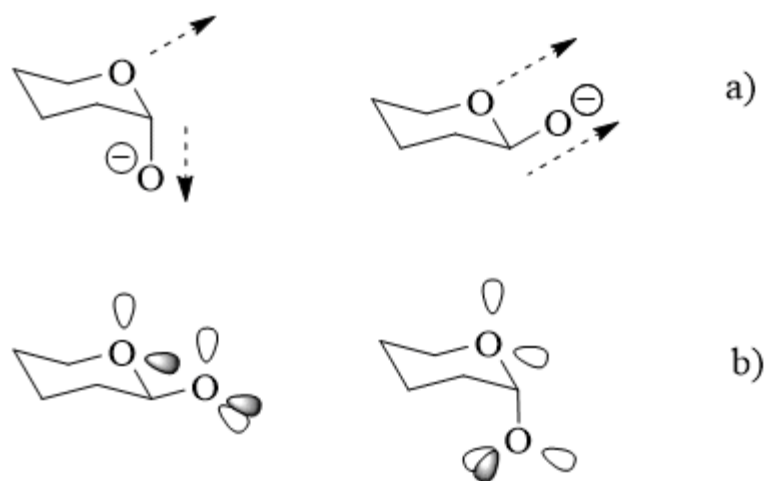


Figura 1. La nucleofilicidad incrementada del alcóxido β . Esta resulta por: a) la interacciones dipolo-dipolo desfavorables, b) la repulsión entre pares de electrones desapareados.

Asimismo, se pone en concordancia que la elevada nucleofilicidad del alcóxido β resulta de efectos estereoelectrónicos al observar una alta reactividad del alcóxido β (y consecuente formación del acetimidato β) comparada con la del α con el uso de carbonato de potasio como base³¹.

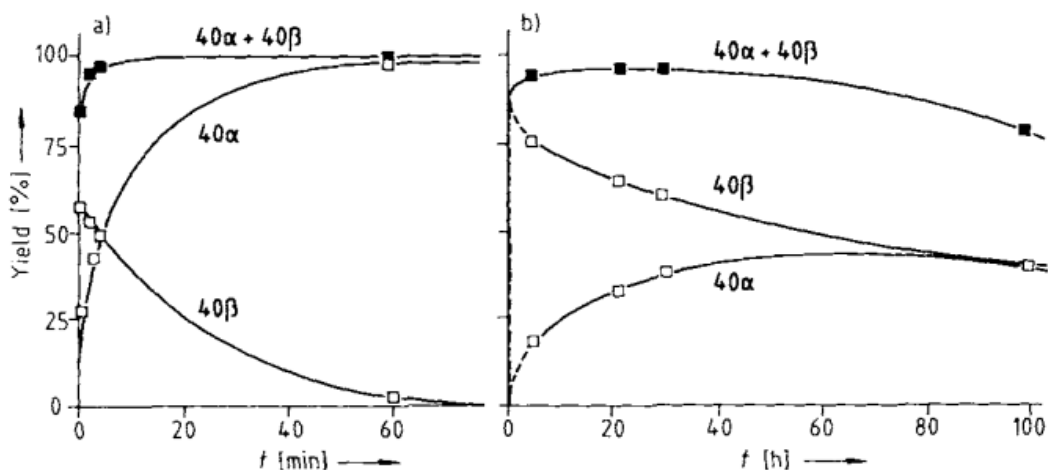


Figura 2. Curso de la reacción catalizada por una base en la formación del tricloroacetimidato de glucopiranososa (40) α y β con a) NaH, b) carbonato de potasio como base. Se evidencia la rápida formación del producto β con carbonato de potasio, permitiendo su aislamiento hasta en un 78 % de rendimiento. También, solo participa en retroreacción hasta en un 45 % del producto β en comparación con el NaH que reduce el rendimiento del producto β hasta 0 % ³¹.

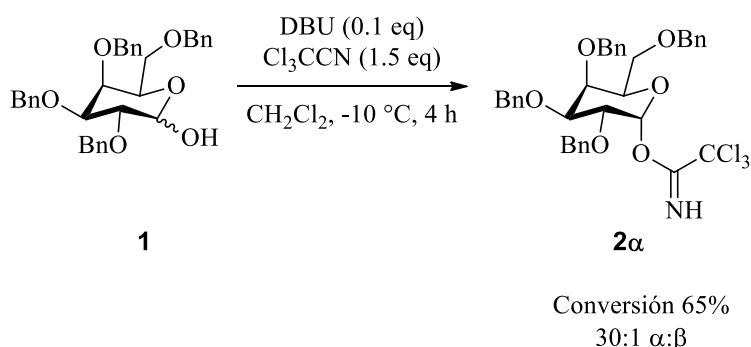
6. CAPÍTULO VI. CONCLUSIONES

La síntesis de sacáridos es un gran reto, en comparación con otras biomoléculas. Por lo que la automatización de su síntesis no se ha logrado, y se continúa en la búsqueda de protocolos para la construcción de sacáridos. Lo anterior, debido a que en cada glicosilación no enzimática se obtiene un par de diastereoisómeros, y varía dependiendo de la protección química de los múltiples grupos hidroxilo presentes en un sacárido.

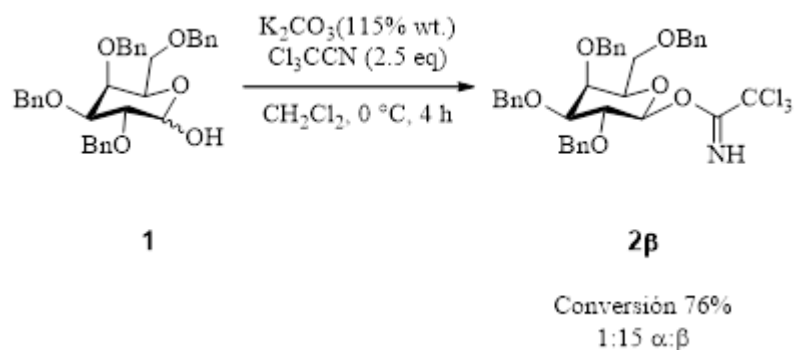
En este marco, en busca de mejorar e impulsar el desarrollo de protocolos de glicosilaciones selectivas a través de promotores, se decidió adaptar dos estrategias para sintetizar donadores de glicosil tricloroacetimidato. Pues se conoce con anterioridad que la constitución química

del donador de glicosilo influye en gran manera en el resultado de una glicosilación selectiva. Así, se modificaron las metodologías previamente mencionadas en tiempos, temperatura y concentraciones de la reacción para sintetizar el donador de glicosil tricloroacetimidato (1*S*,2*R*,3*S*,4*S*,5*R*)-**2**.

1. Se sintetizaron ambos anómeros del donador de glicosilo (1*S*,2*R*,3*S*,4*S*,5*R*)-**2** variando tiempos y temperatura de reacción. Al utilizar DBU como base se obtuvo el anómero α en mayor proporción, las condiciones óptimas para ello fueron a -10 °C durante 4 horas. La proporción anomérica que derivó de esta reacción fue de 30:1.



2. Por otra parte, al utilizar K_2CO_3 como base, modificando tiempo y temperatura de reacción, se obtiene el anómero mayoritario β en proporciones 1:15 α : β con una conversión de 76 %.



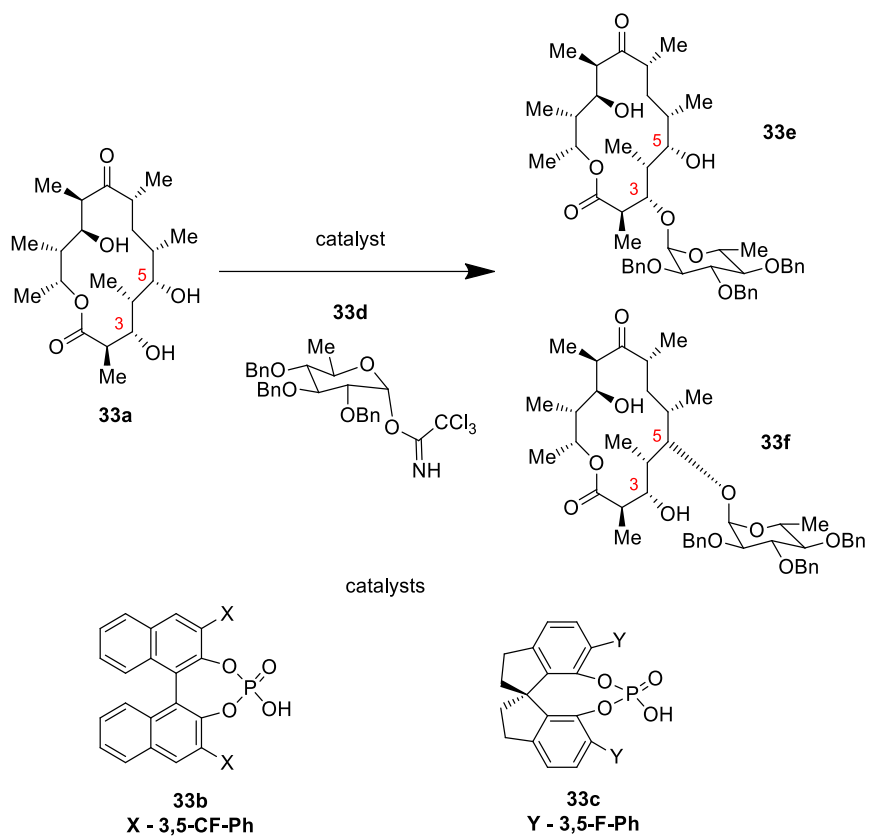
3. Además, se realizó una revisión bibliográfica con la que se escribió la sección “Influencia de disolventes y aditivos en glicosilaciones estereoselectivas” de un artículo de revisión. (Ver capítulo VII).
4. También, se realizó un póster de investigación sobre la influencia de disolventes y aditivos en glicosilaciones selectivas, el cual fue seleccionado para presentarse en la clausura del Seminario del Programa de Honores (Ver Anexos).

7. CAPÍTULO VII. INFLUENCIA DE LOS DISOLVENTES Y ADITIVOS EN LA REACCIÓN DE GLICOSIDACIÓN

7.1 Influencia de disolventes y aditivos en catalizadores basados en ácidos de Brønsted

Inspirados por el trabajo de Miller y colaboradores^{27, 28} aunado con el gran desafío y necesidad actual de lograr glicosilaciones selectivas de polioles naturales complejos, Tay y copartícipes centraron su atención en ácidos quirales como catalizadores que pudieran emular la Eritronolida micarosiltransferasa (eryBV) para controlar selectivamente el sitio de glicosidación de polioles complejos²⁹. Específicamente, proporcionaron el primer acercamiento no enzimático para funcionalizar con alta selectividad diferentes receptores de glicosilo tanto en las posiciones C5 y C4 de los donantes de glicosilo (macrolactonas de 14 miembros de alta importancia médica) 6-deoxi-eritronolida-B **33a** y la oleandomicina. En este sentido, el glicosilo **33a** es un precursor biogénico de las eritromicinas A y B, antibióticos macrólidos de 14 miembros, que deben ser glicosilados en la posición C3 y en

la posición C5 para permitir la oxigenación esencial en la posición C12 que provee la actividad antibiótica. Las condiciones de reacción de optimización y selectividad se llevaron a cabo en el donador de glicosilo desprotegido **33a** y el aceptor de glicosilo **33d**. El catalizador desarrollado a partir de BINOL (*S*)-**33b** arrojó los mejores resultados para la formación del glucósido α -C5 **33f** en un disolvente apolar (Tabla 1, entrada 3), más una inversión en la configuración del catalizador, (*R*)-**33b**, junto con el uso de un disolvente medianamente polar proporcionó una selectividad 1:1 C5:C3 (Tabla 1, entrada 1 vs. 2). Considerando lo último y que los catalizadores basados en BINOL tienen un esqueleto sutilmente más flexible, el grupo de investigación decidió explorar catalizadores basados en SPINOL que tuvieran un patrón de sustitución similar al anillo fenilo del catalizador (*R*)-**33b** para fomentar la glicosidación en la posición C3. En relación con esto, el catalizador (*S*)-**33c** promovió efectivamente la formación selectiva del glucósido **33e** cuando la reacción fue conducida en diclorometano (Tabla 1, entrada 7 vs. 4-6). Finalmente, de manera peculiar el catalizador enantiomérico (*R*)-**33c** con el uso de tolueno resultó en la formación del glucósido C5 **33d** (Tabla 1, entrada 8).



Entrada	Catalizador (20 mol%)	Disolvente (M)	t (h)	Rendimiento (%) (33e:33f)
1	(R)-33b	DCM (0.05)	26	50 (1:1)
2	(R)-33b	PhMe (0.20)	31	82 (35:65)
3	(S)-33b	PhMe (0.20)	30	98 (1:99)
4	(S)-33c	PhMe (0.10)	48	54 (6:4)
5	(S)-33c	PhCF ₃ (0.10)	64	83 (63:37)
6	(S)-33c	DCM (0.10)	64	57 (71:29)
7	(S)-33c ^[b]	DCM (0.10)	72	82 (73:27)

Tabla 1. Estudios de optimización de la glicosidación de **33a** catalizada por ácido fosfórico quiral

[a] Condiciones de reacción: 33a (1 equivalente), 33d (1.2 equivalentes) a temperatura ambiente. Las reacciones se corrieron a una escala de 0.02 mmol. [b] (S)-33c (30 mol %).

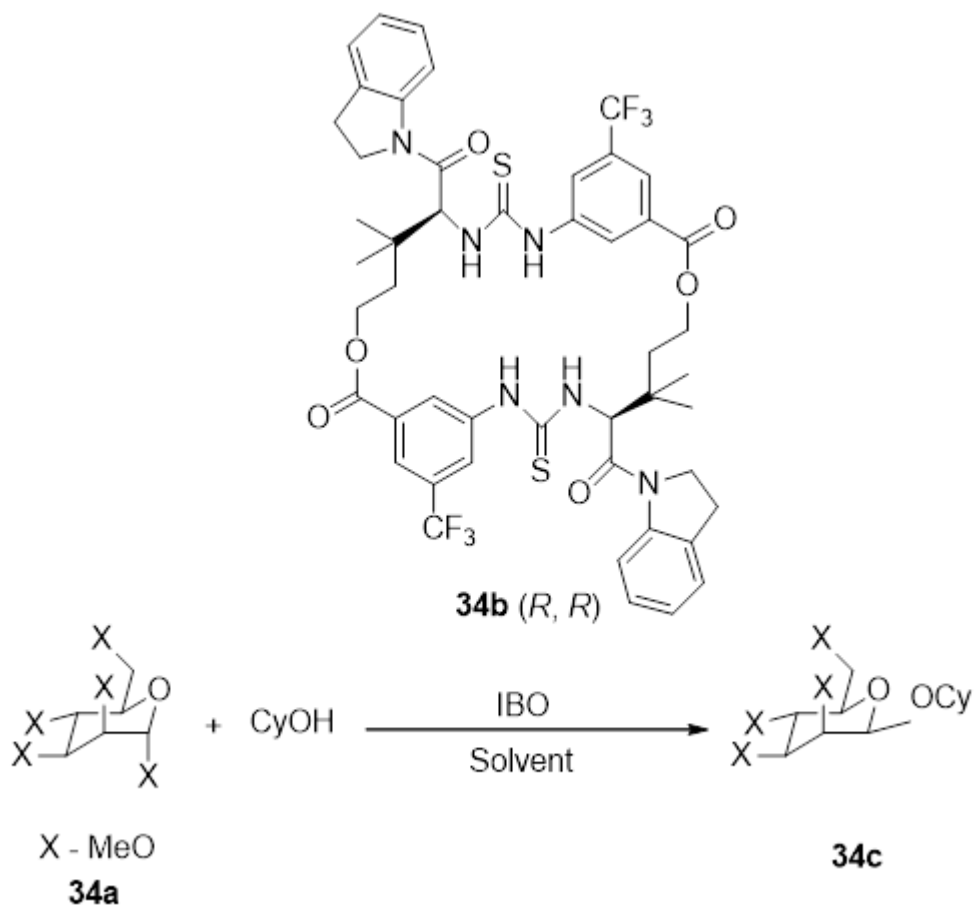
7.2 Influencia de disolventes y aditivos en catalizadores basados en tioureas

En 2017, Jacobsen y colegas cribaron una serie de tioureas y ureas monoméricas quirales como catalizadores potenciales para la síntesis de *trans*-1,2-, *cis*-1,2- y 2-deoxi- β -glucósidos a partir de cloruros de glicosilo²⁷. Sin embargo, solo los catalizadores que contaban con dos grupos tiourea enlazados resultaron en una metodología eficiente y selectiva para la construcción de enlaces β glicosídicos. En cuanto a la optimización de disolventes, estudiada con el donador de glicosilo **34a** y ciclohexanol (CyOH) como receptor, se encontró que el *o*-diclorobenceno (*o*-DCB) dio el mejor resultado en general (Tabla 2, entrada 8 vs. 1-7).

Después, con el fin de retirar el HCl generado como derivado de la reacción y optimizar aún más las condiciones, se evaluaron aditivos alcalinos, evidenciando al óxido de isobutileno (IBO) como el eliminador de ácido más eficiente (Tabla 3, entrada 2 vs. 1, 3-8).

Tabla 2. Influencia de disolventes en la glicosidación catalizada por bis-tiourea macrocíclica

34b



Entrada	Disolvente	Rendimiento (%) (α/β) ^[b]
1	DMF	6 (59:41)
2	THF	12 (41:59)
3	DCM	38 (14:86)
4	Et ₂ O	43 (9:91)
5	TBME ^[c]	40 (9:91)
6	CPME ^[d]	46 (7:93)
7	PhMe	63 (5:95)
8	<i>o</i> -DCB	89 (4:96)

[a] Condiciones de reacción: **34a** (1 equivalente), CyOH (2 equivalentes), catalizador **34b** (5 mol%), IBO (1.1 equivalentes) y disolvente (0.1 M) a temperatura ambiente por 6 h. [b] Las selectividades anoméricas fueron determinadas por RMN y HPLC del crudo de reacción.[c] TBME (Metil *ter*-butil éter). [d] CPME (Ciclopentil metil éter).

Tabla 3. Influencia de aditivos alcalinos en la glicosidación catalizada por bis-tiourea macrocíclica **34b** ^[a]

Entrada	Aditivo	Rendimiento (%) (α/β) ^[b]
1	Ninguno	7 (7:93)
2	IBO	53 (5:95)
3	NaHCO ₃	38 (5:95)
4	K ₂ CO ₃	40 (5:95)
5	Et ₃ N	3 (22:78)
6	Piridina	2 (25:75)
7	Na ₂ HPO ₄	42 (5:95)
8	Molecular sieves, 4A	43 (5:95)

[a] Condiciones de reacción: 34a (1 equivalente), CyOH (2 equivalentes), catalizador 34b (5 mol %), aditivo (2 equivalentes) y *o*-DCB (0.5 M) a temperatura ambiente por 3 h. [b] Selectividades anoméricas determinadas por RMN y HPLC del crudo de reacción.

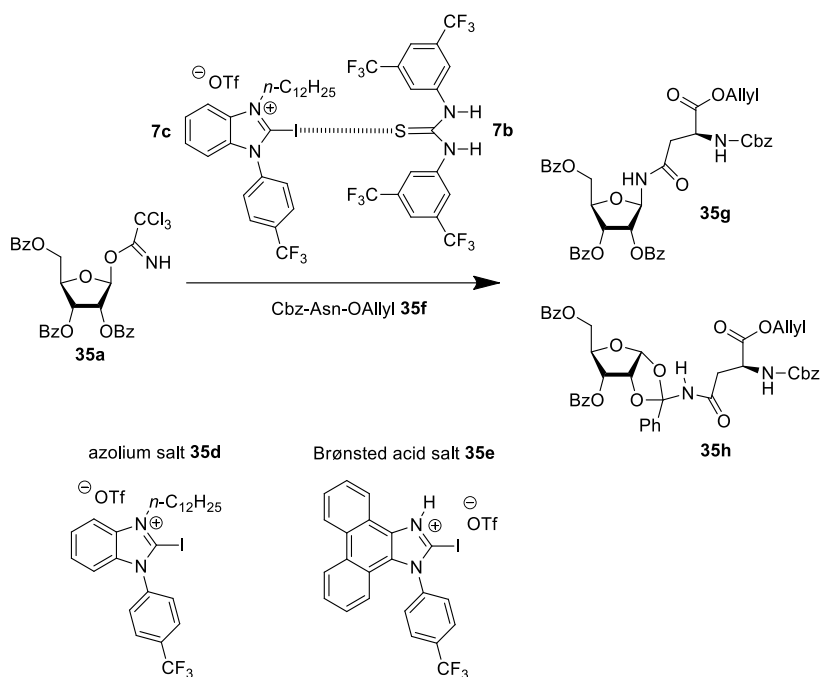
Teniendo en mente los reportes limitados de métodos catalíticos para la síntesis de *N*-glucósidos y aún más sus extensas aplicaciones en farmacología y biología, así como la gamma de amidas que pueden incorporarse exitosamente, el grupo de investigación de Takemoto dirigió su atención a realizar *N*-glicosidaciones directas de amidas catalizadas por la tiourea de Schreiner **35b** junto con un donador de halógeno (XB) **35c** como catálisis cooperativa³¹.

Hipotetizaron que, un ácido de Lewis medio, tal como la sal 2-iodasolio **35c**, podría proveer la acidez suficiente para incrementar la capacidad donante de puentes de hidrógeno del catalizador **35b** para que el donador de glicosilo **35a** pudiera ser activado con una amplia tolerancia de grupos funcionales. Los estudios iniciales realizados en el donador de glicosilo **35a** y la asparagina protegida **35f**, mostraron que el catalizador **35b** o cocatalizador **35c** no podían sobrellevar por sí solos la reacción (Tabla 4, entrada 1-2) y un incremento en la formación del *N*-glucósido **35g** y su producto intermediario *N*-acilortoamida **35j** se indujo cuando se incluyeron ácidos de Brønsted (Tabla 4, entrada 3-4). Suscitado por lo último, la combinación de **35b** con **35c** proporcionó **35h** como producto mayoritario (Tabla 4, entrada 5). Además, cuando la sal de azolio **35d** se utilizó como cocatalizador (Tabla 4, entrada 6) la reacción se restringió, sugiriendo que la formación del puente de halógeno entre el átomo de sulfuro del catalizador **35b** y el cocatalizador **35c** es esencial. A continuación, fue investigada la influencia de disolventes (Tabla 4, entrada 7-9), pero dada la solubilidad general de amidas

en DCM y que no se observaron cambios significantes con otros disolventes, se escogió al DCM como el disolvente óptimo.

Adicionalmente, Takemoto y colaboradores investigaron si periodos de reacción más largos con las condiciones de reacción optimizadas podrían impulsar el rearreglo de **35g** a **35h**, pero en su lugar encontraron que la sal del ácido de Brønsted **35e** permitía esta última conversión³¹. A la luz de esto, **35e** fue empleado como catalizador con las condiciones de reacción optimizadas y fomentó exitosamente y sin aditivos o cocatalizadores añadidos la *N*-glicosidación directa. Finalmente, y en conjunto, reportaron que ambos métodos catalíticos toleraron una gama amplia de amidas y donadores de glicosilo y demostraron ser particularmente útiles para la industria farmacéutica.

Tabla 4. *N*-glicosilaciones catalizadas por **35b** con aditivos



Entrada	Condición ^[a]	Disolvente	Rendimiento (%)	
			35f	(%) 35g
1	35b	DCM	0	0
2	35c	DCM	0	0
3	35b + TfOH	DCM	26	0
4	TMSOTf	DCM	25	0
5	35b + 35c	DCM	8	63
6	35b + 35d	DCM	0	0
7	35b + 35c	THF	3	64
8	35b + 35c	PhMe	15	66
9	35b + 35c	ACN	4	53

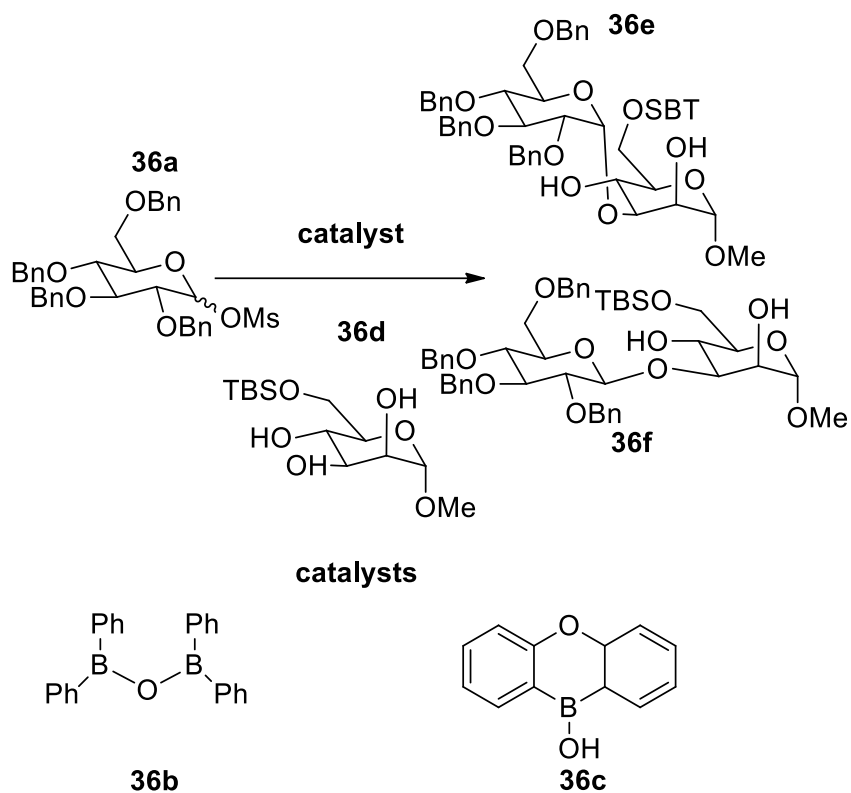
[a] Condiciones de reacción: **35a** (1.2 equivalentes), **35f** (1 equivalente) y MS 4A activado (50 mg) en DCM (1.0 mL) agitado a temperatura ambiente por 10 minutos. Después, el catalizador o aditivo (10 mol % cada uno) en disolvente (1.0 mL) fue agregado a la última mezcla a temperatura ambiente y agitado por 24 h.

7.3 Influencia de disolventes y aditivos en catalizadores organoborados

Entre 2011 y 2014, el grupo de investigación de Taylor evidenció la regioselectividad y la β -selectividad preferencial de glicosidaciones utilizando ácido borónico como catalizador^{1, 32}. Sin embargo, todavía hacía falta desarrollar metodologías que abarcaran tanto regioselectividad como estereoselectividad que utilizaran donadores de glicosilo fácilmente accesibles y toleraran un amplio espectro de grupos funcionales. Mas recientemente, Taylor y colaboradores reportaron altos niveles de selectividad 1,2-*trans* obtenida a partir de los fácilmente accesibles metanosulfonatos de glicosilo bajo la catálisis de ácido borónico y la ausencia de NGP³³. La influencia de los disolventes fue inicialmente evaluada, mostrando

que el DCM daba los mejores resultados generales (Tabla 5, entrada 1 vs. 2-5). Después, para favorecer aún más la reacción de los sulfonatos de glicosilo, investigaron la influencia de aditivos alcalinos amínicos, encontrando que las aminas más voluminosas estéricamente exhibían mejores rendimientos y estereoselectividad (Tabla 6, entrada 3 vs. 1-2). Adicionalmente, se reveló que el catalizador **36c** podía ser reducido hasta 8 % mol sin afectar el resultado de la glicosidación y que, en la ausencia del catalizador, la estereoselectividad se veía principalmente perjudicada (Tabla 6, entrada 4-5).

Tabla 5. Influencia de disolventes en las glicosilaciones catalizadas por ácido difenilborónico **36b**^[a]



Entrada	Disolvente	Rendimiento (%) ^[b] (α/β) ^[c]
1	DCM	57 (1:6.1)
2	ACN	43 (1:4.1)
3	PhMe	75 (1:3.1)
4	THF	47 (1:4.5)
5	Et ₂ O	46 (1:6.6)

[a] Condiciones de reacción: *i*Pr₂NEt, Ms₂O (1.2 equivalentes), **36a** (1 equivalente), **36d** (1,5 equivalentes), **36b** (0.1 equivalentes). [b] Rendimiento determinado por HPLC del crudo de reacción. [c] Selectividades anoméricas determinadas por HPLC del crudo de reacción.

Tabla 6. Influencia de aditivos alcalinos amínicos en las glicosidaciones catalizadas por **36c**

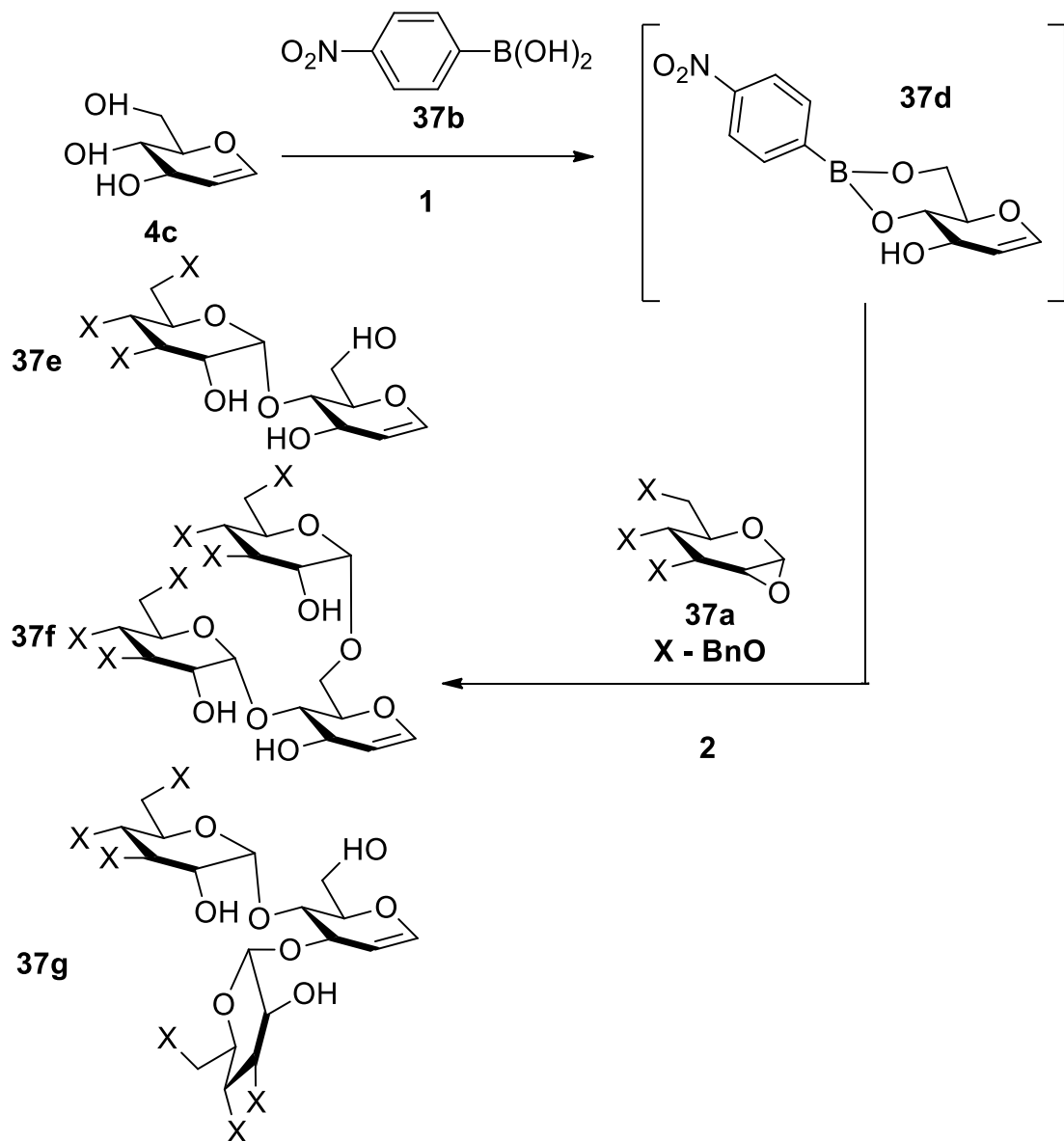
Entrada	Base 2	Receptor 36d (equiv)	Catalizador 36c (equiv)	Rendimiento (%) ^[a] (α/β) ^[b]
1	<i>i</i> Pr ₂ NEt	1.5	0.2	83 (1:6.1)
2	Et ₃ N	1.5	0.2	76 (1:2.4)
3	PMP ^[c]	1.5	0.2	88 (1:8.7)
4	PMP	1.2	0.1	85 (1:8.4)
5	PMP	1.2	None	71 (2:1)
6	PMP	0.08	0.08	80 (1:10)

[a] La cantidad de **36a** fue determinada por HPLC del crudo de reacción. **[b]** Selectividades anoméricas determinadas por HPLC del crudo de reacción. **[c]** PMP denota 1,2,2,6,6-pentametilpiperidina.

Por su parte, se han desarrollado numerosas estrategias para la síntesis de glucósidos 1,2-*cis* y se le ha dado especial atención a aquellas que regulan simultáneamente la regio y

estereoselectividad sin emplear ningún grupo protector. En 2018, bajo las condiciones previamente reportadas en una glicosidación estereoselectiva 1,2-*cis*- α catalizada por ácido borónico, el mismo grupo de investigación reportó el primer enfoque de una glicosidación 1,2-*cis* altamente regio y estereoselectiva con donadores 1,2-anhidro y aceptores desprotegidos mediante el uso de ácido *p*-nitrofenilborónico como catalizador y agua como aditivo³⁴. Los resultados iniciales evidenciaron una baja reactividad hacia la formación del glucósido α (1,4) **37e** y en cambio se indujo una sobrerreacción hacia la formación de los trisacáridos **37f** y **37g** (Tabla 7, entrada 1). Con base en estos resultados, el grupo de investigación sugirió que el complejo de éster borónico, formado por la glicosidación de **37a** y el éster borónico derivado del aceptor de glicosilo **37d**, activaba otro donador de glicosilo independiente **37a** y consecuentemente la glicosidación α -estereoselectiva secuencial para formar los trisacáridos **37f** y **37g**. Con el fin de anteponerse a esta sobrerreacción, hipotetizaron que la adición de agua podría hidrolizar velozmente el complejo de éster borónico y por lo tanto inhibir la formación de los trisacáridos. Al sobrellevarse, la reacción procedió más rápido y el glucósido **37e** se obtuvo eficientemente sin la formación adicional de ningún trisacárido (Tabla 7, entrada 2-3). Asimismo, esta metodología resultó también ser efectiva utilizando varios aceptores de glicosilo desprotegidos y para la glicosidación de glucósidos naturales desprotegidos.

Tabla 7. Influencia de agua como aditivo en las glicosilaciones catalizadas por ácido *p*-nitrofenilborónico **37b** ^[a]

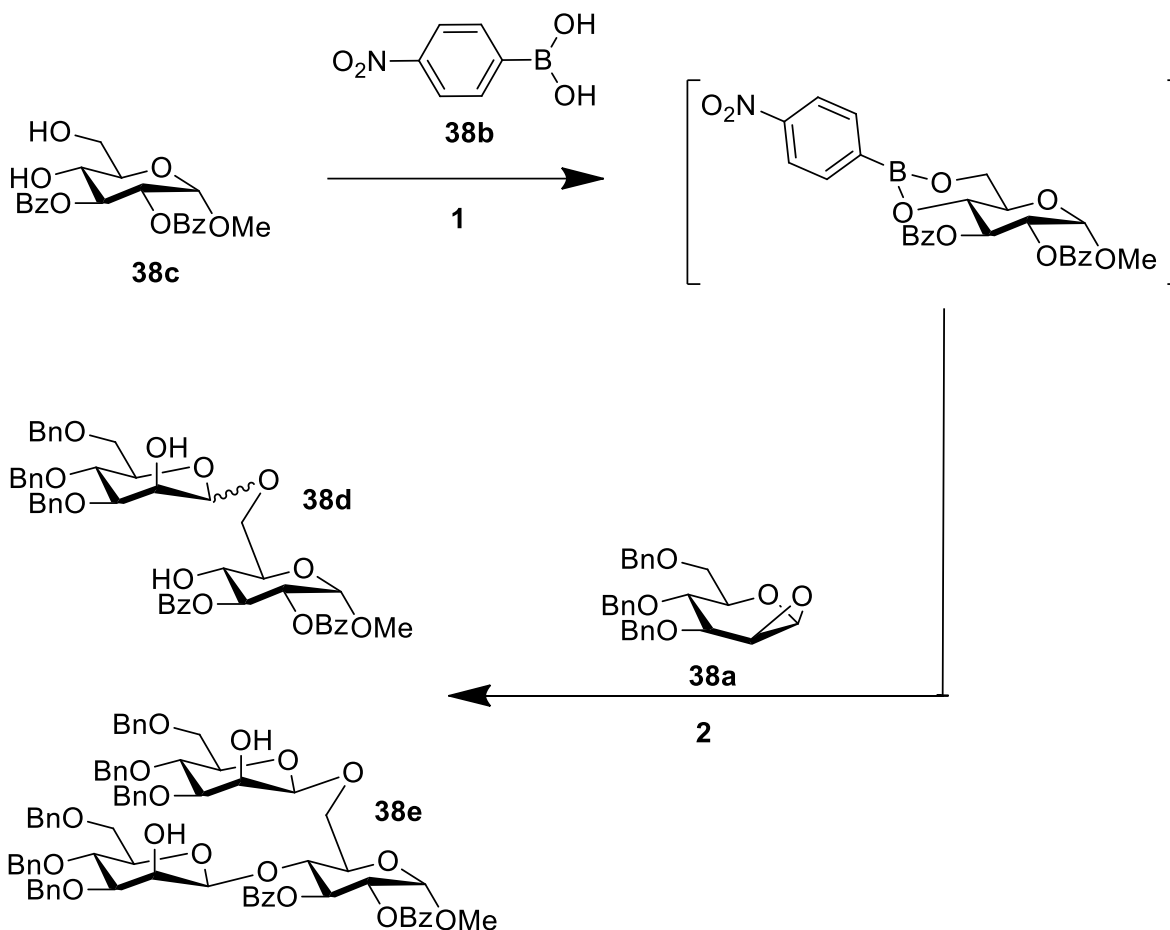


Entrada	H ₂ O (equivalentes)	Rendimiento (%) del glucósido α (1,4) 37e
---------	---------------------------------	---

1	0	49 ^[b]
2	5	92 ^[c]
3	10	85 ^[c]

[a] Condiciones de reacción: 1: **37c** (1 equivalente) y **37b** (0.2 equivalentes) a reflujo en tolueno por 3 h. La mezcla resultante fue añadida a una solución de **37a** (3 equivalentes) en acetonitrilo agitada a 0 °C por 20 h. [b] Trisacáridos **37f** y **37g** producidos en 8% y 15% respectivamente. [c] No se detectó la formación de trisacáridos. En este mismo marco y en trabajos previos de ellos, el grupo de Toshima y Takahashi presentó en 2017 una nueva metodología regio y estereoselectiva para la síntesis de 1,2-*cis*- β -manósidos al utilizar ácido borónico **38b** como catalizador³⁵. Las glicosilaciones corrieron satisfactoriamente en condiciones suaves con altos rendimientos y sin aditivos añadidos para proporcionar el β -manósido **38d**, utilizando nuevamente donadores 1,2-anhidro **38a** y un diol **38c** como receptor de glicosilo. Después de examinar la influencia de los sustituyentes del catalizador y optimizar la temperatura de reacción, fue investigada la influencia de los disolventes, encontrado al acetonitrilo como el disolvente que mayor rendimiento y selectividad proporcionó (Tabla 8, entrada 1 vs. 2-4). Cabe mencionar que de la misma manera en que el grupo de Tanaka reportó una sobrerreacción, se indujo en pequeñas cantidades la formación del trisacárido **38e**, pero en cambio, se corrigió principalmente con el ajuste de temperatura. Finalmente, el método toleró un amplio espectro de receptores de glicosilo 1,3-diol y *cis*-1,2,diol y fue aplicada con éxito para la síntesis de una unidad de tetrasacárido de LPS.

Tabla 8. Influencia de disolventes en las glicosilaciones catalizadas por ácido borónico **38b**^[a]



Entrada	Disolvente	Rendimiento (%) (α/β)
1	ACN	90 (β)
2	THF	81 (6:94)
3	DCM	46 (57:43)
4	PhMe	56 (48:52)

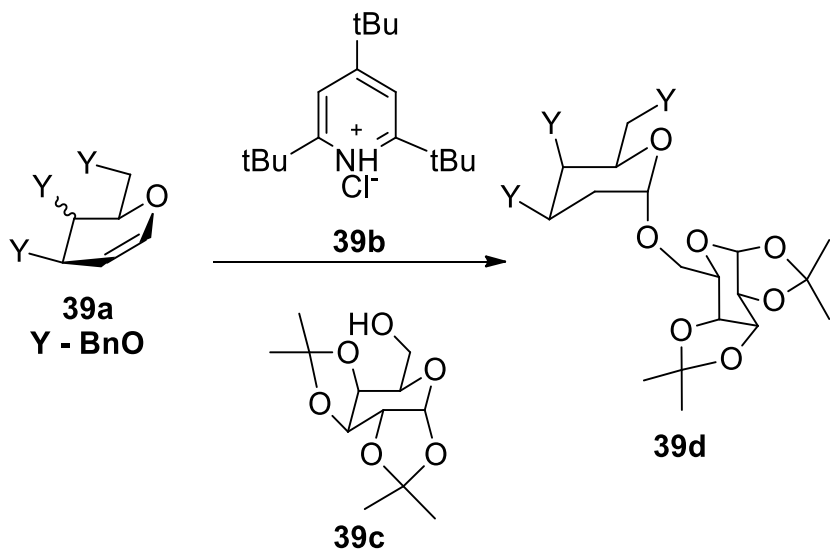
[a] Condiciones de reacción: 1) **38c** (1 equivalente) y **38b** (0.2 equivalentes) en tolueno a reflujo por 3 h. 2) **38a** (3 equivalentes) en el disolvente correspondiente a -20 °C por 6 h.

7.4 Influencia de disolventes y aditivos en otros organocatalizadores emergentes

Inspirados en el uso frecuente de piridinas y pirimidinas voluminosas como secuestradores de ácido en glicosidaciones³⁶ y en varias reacciones, así como el reporte de una inversión estereoquímica en una glicosidación que incorporó a la 2,4,6-tri-*tert*-butilpiridina (TTBPy)³⁷, Gosh y colaboradores investigaron si las sales de TTBPy podrían promover glicosilaciones estereoselectivas con diversos glicales para la síntesis de deoxihexosas³⁸. Las glicosidaciones resultaron en altos rendimientos y estereoselectividad a una concentración del catalizador **39b** del 10 mol% e incluso a concentraciones de 1.1 equivalentes del aceptor de glicosilo **39c**. La influencia de disolventes fue estudiada al usar el donador tri-OBn-galactal **39a**, mostrando que los disolventes clorados débiles polares dieron los mejores rendimientos y una estereoespecificidad α completa (Tabla 9, entrada 1-2 vs. 3-5). Empleando esta metodología y glicales adicionalmente optimizados como donadores, se logró una síntesis eficiente de glucósidos 2-desoxi y 2,6-didesoxi con alta estereoselectividad.

Tabla 9. Influencia de disolventes en las glicosilaciones catalizadas por la sal de TTBPpy **39b**

[a]



Entrada	Disolvente	Rendimiento (%) (α/β) ^[b]
1	DCM	75 (α)
2	DCE	79 (α)
3	PhMe	44 (α)
4	ACN	40 (α)
5	<i>m</i> -xyl	41 (α)
6	PhH	25 (α)
7	THF	67 (α)

[a] Condiciones de reacción: **39a** (0.12 mmol), **39c** (0.13 mmol) y **39b** (20 mol %) por 24 h a 40 °C. [b]

Selectividades anoméricas determinadas por RMN del crudo de reacción.

BIBLIOGRAFÍA

1. Bennett, C. S. (2017). *Selective Glycosylations Synthetic Methods and Catalysts*. Weinheim: WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA.
2. Bennett, C. S., Liu, D., Sarrafpour, S., Guo, W., & Goulart, B. (2014). Matched/Mismatched Interactions in Chiral Brønsted Acid-Catalyzed Glycosylation Reactions with 2-Deoxy-Sugar Trichloroacetimidate Donors. *Journal of Carbohydrate Chemistry*, 33, págs. 423-434. doi:10.1080/07328303.2014.927882
3. Blaszczyk, S. A., Homan, T., & Tang, W. (1 de enero de 2018). Recent advances in site-selective functionalization of carbohydrates mediated by. *Carbohydrate RESEARCH*(471), 64-77.
4. Bohé, L., & Crich, D. (2014). Synthesis of Glycosides. En P. Knochel, *Comprehensive Organic Synthesis* (págs. 1-33). Italia: Elsevier.
5. Bucher, C.; Gilmour, R., (2010). Fluorine-Directed Glycosylation. *Angewandte Chemie International Edition*, 49 (46), 8724-8728.
6. Cox, D. J., Smith, M. D., & Fairbanks, A. J. (2010). Glycosylation Catalyzed by a Chiral Brønsted Acid. *Organic Letters*, 12(7), págs. 1452-1455. doi:10.1021/ol1001895
7. Crich, D. (2010). Mechanism of a Chemical Glycosylation Reaction. *Accounts of Chemical Research*, 1144-1153.
8. Cumpstey, I. (2012). On a so-called “kinetic anomeric effect” in chemical glycosylation. *Organic & Biomolecular Chemistry*, 10, págs. 2503-2508. doi:On a so-called “kinetic anomeric effect” in chemical glycosylation

9. Da Poian, A. T., & Castanho, M. A. (2021). *Integrative Human Biochemistry*. Switzerland: Springer Nature.
10. Demchenko, A. (2008). *Handbook of Chemical Glycosylation: Advances in Stereoselectivity and Therapeutic Relevance*. Weinheim: Wiley-VCH .
11. Fischer, E. (1893). Ueber die Glucoside der Alkohole. *Chemische Berichte*, 26(3), págs. 2400-2412. doi:<https://doi.org/10.1002/cber.18930260327>
12. Hosoya, T., Kosma, P., & Rosenau, T. (2015). Contact ion pairs and solvent-separated ion pairs from d-mannopyranosyl and d-glucopyranosyl triflates. *Carbohydrate Research*, 401, págs. 127-131. doi:<https://doi.org/10.1016/j.carres.2014.10.013>
13. Hosoya, T., Kosma, P., & Rosenau, T. (2015). Theoretical study on the effects of a 4,6-O-diacetal protecting group on the stability of ion pairs from D-mannopyranosyl and D-glucopyranosyl triflates. *Carbohydrate Research*, 411, págs. 64-59. doi:[10.1016/j.carres.2015.03.010](https://doi.org/10.1016/j.carres.2015.03.010)
14. Hosoya, T., Takano, T., Kosma, P., & Rosenau, T. (2014). Theoretical Foundation for the Presence of Oxacarbenium Ions in Chemical Glycoside Synthesis. *The Journal of Organic Chemistry*, 79(17), págs. 7889-7894. doi:<https://doi.org/10.1021/jo501012s>
15. Ikeuchi, K.; Murasawa, K.; Yamada, H., A. (2019). Simple Method for the Preparation of Stainless and Highly Pure Trichloroacetimidates. *Synlett* , 30.
16. Kafle, A., Liu, J., & Cui, L. (2016). Controlling the stereoselectivity of glycosylation via solvent effects. *Canadian Journal of Chemistry*, 94, págs. 894-901. doi:<https://doi.org/10.1139/cjc-2016-0417>

17. Khanam, A., Tiwari, A., & Kumar, P. M. (2020). Chiral auxiliaries: Usefulness in stereoselective glycosylation reactions and their synthetic applications. *Carbohydrate*
18. Larsen, K., Worm-Leonhard, K., Olsen, P., Hoel, A., & Jensen, K. J. (2005). Reconsidering glycosylations at high temperature: precise microwave heating. *Organic & Biomolecular Chemistry*, 3(21), págs. 3966-3970. doi:<https://doi.org/10.1039/B511266D>
19. Liu, D.; Sarrafpour, S.; Guo, W.; Goulart, B.; Bennett, C. S. (2014). Matched/Mismatched Interactions in Chiral Brønsted Acid-Catalyzed Glycosylation Reactions with 2-Deoxy-Sugar Trichloroacetimidate Donors. *Journal of Carbohydrate Chemistry*, 33 (7-8), 423-434.
20. Martin, A., Arda, A., Martin-Mingot, A., Probst, N., Sinaÿ, P., Jiménez-Barbero, J., . . . Blériot, Y. (2016). Catching elusive glycosyl cations in a condensed phase with HF/SbF₅ superacid. *Nature Chemistry*, 8, págs. 186-196. Obtenido de <https://www.nature.com/articles/nchem.2399>
21. Micheal, A. (1879). On the Synthesis of Helicin and Phenolglucoside. *American Chemical Journal*, 1, págs. 305-312.
22. Nelson, D. L., & Cox, M. M. (2008). *LEHNINGER PRINCIPLES OF BIOCHEMISTRY*. New York: W.H. FREEMAN AND COMPANY.
23. Nielsen, M., & Pedersen, M. (2018). Catalytic Glycosylations in Oligosaccharide Synthesis. *Chemical Reviews*, 118, págs. 8285-8358. doi:10.1021/acs.chemrev.8b00144
24. Pakulski, Z. (2003). Glycosylation in Ionic Liquids. *Synthesis*, 13, págs. 2074-2078. doi:10.1055/s-2003-41446

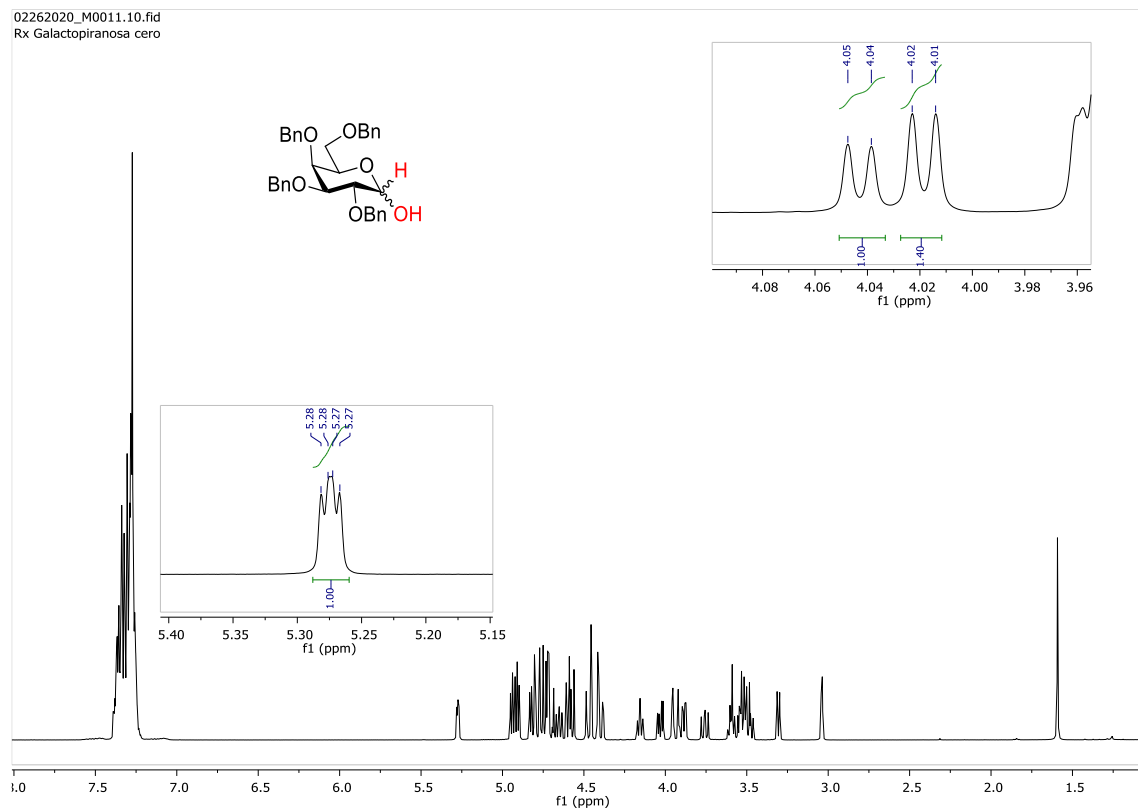
25. Park, Y., Harper, K. C., Khul, N., Kwan, E. E., Liu, R. Y., & Jacobsen, E. N. (2017). Macrocyclic bis-thioureas catalyze stereospecific glycosylation reactions. *Organic Chemistry*, 355, págs. 162-166.
26. Patai, S., & Rappoport, Z. (1991). *The chemistry of amidines and imidates*. Jerusalem: John Wiley & Sons.
27. Rencurosi, A., Lay, L., Russo, G., Caneva, E., & Poletti, L. (2005). Glycosylation with Trichloroacetimidates in Ionic Liquids: Influence of the Reaction Medium on the Stereochemical Outcome. *The Journal of Organic Chemistry*, 70(19), págs. 7765-7768. doi:<https://doi.org/10.1021/jo050704x>
28. Sanay, P., & Pougny, J.-R. (1976). Reaction d'imidates de glucopyranosyle avec l'acetonitrile. Applications synthétiques. *Tetrahedron Letters*, 17(45), págs. 4073-4076. doi:[https://doi.org/10.1016/S0040-4039\(00\)92578-4](https://doi.org/10.1016/S0040-4039(00)92578-4)
29. Satoh, H., Hansen, H. S., Manabe, S., Gunsteren, W. F., & Hüneberg, P. H. (2010). Theoretical Investigation of Solvent Effects on Glycosylation Reactions: Stereoselectivity Controlled by Preferential Conformations of the Intermediate Oxacarbenium-Counterion Complex. *Journal of Chemical Theory and Computation*, 6(6), págs. 1793-1797. doi:<https://doi.org/10.1021/ct1001347>
30. Schmelzer, U.; Zhang, Z.; Schmidt, R. R., (2007). Dichloro-cyanoacetimidates as Glycosyl Donors. *Journal of Carbohydrate Chemistry*, 26 (4), 223-238.
31. Schmidt, R. R. (1986). *Angewandte Chemie*, 25(56), 212-235.
32. Schmidt, R. R. (1994). *ANOMERIC-OXYGEN ACTIVATION FOR GLYCOSIDE SYNTHESIS: THE TRICHLOROACETIMIDATE METHOD*. Konstanz: Academic Press.

33. Schmidt, R. R., & Michel, J. (1980). Facile Synthesis of α - and β -O-Glycosyl Imidates; Preparation of Glycosides and Disaccharides. *Angewandte Chemie International*, 19(9), págs. 731-732.
34. Schmidt, R. R., & Michel, J. (1984). DIRECT O-GLYCOSYL TRICHLOROACETIMIDATE FORMATION. NUCLEOPHILICITY OF THE ANOMERIC OXYGEN ATOM. *Tetrahedron Letters*, 25(8), págs. 821-824.
35. Schmidt, R. R., & Zhu, X. (2008). Glycosyl Trichloroacetimidates. En B. Fraser-Reid, K. Tatsuta, & J. Thiem, *Glycoscience* (págs. 451-524). Berlin: Springer.
36. Wang, H.-Y., Blaszyk, S. A., Xiao, G., & Tang, W. (2017). Chiral reagents in glycosylation and modification. *Chemical Society Reviews*, 47(3), págs. 681-701. doi:DOI
37. Wei, G., Gu, G., & Du, Y. (2003). Silver Triflate. A Mild Alternative Catalyst for Glycosylation Conditions Using Trichloroacetimidates as Glycosyl Donors. *Journal of Carbohydrate Chemistry*, 22(6), págs. 385-393.
38. Whitfield, D. M. (2007). DFT studies of the role of C-2–O-2 bond rotation in neighboring-group glycosylation reactions. *Carbohydrate Research*, 342(10), págs. 1291-1304. doi:<https://doi.org/10.1016/j.carres.2007.03.030>
39. Whitfield, D. M. (2009). Chapter 4 Computational Studies of the Role of Glycopyranosyl Oxacarbenium Ions in Glycobiology and Glycochemistry. En D. Horton, *Advances in Carbohydrate Chemistry and Biochemistry* (Vol. 62, págs. 83-159). Ottawa: Elsevier. doi:[https://doi.org/10.1016/S0065-2318\(09\)00008-0](https://doi.org/10.1016/S0065-2318(09)00008-0)
40. Whitfield, D. M. (2012). Plausible transition states for glycosylation reactions. *Carbohydrate Research*, 356, págs. 180-190. doi:<https://doi.org/10.1016/j.carres.2012.03.040>

41. Whitfield, D. M. (2015). In a glycosylation reaction how does a hydroxylic nucleophile find the activated anomeric carbon? *Carbohydrate Research*, 403(11), págs. 69-89.
doi:<https://doi.org/10.1016/j.carres.2014.05.021>
42. Williams, R., & Galan, C. M. (2017). Recent Advances in Organocatalytic Glycosylations. *European Journal of Organic Chemistry*, 6247-6264.
43. Ye, X.-S., Xiong, D.-C., Wu, X., & Sun, L. (2016). Stereoselective Koenigs–Knorr Glycosylation Catalyzed by Urea. *Angewandte Chemie*, 128, págs. 8173-8173.
doi:<https://doi.org/10.1002/anie.201600142>

ANEXOS

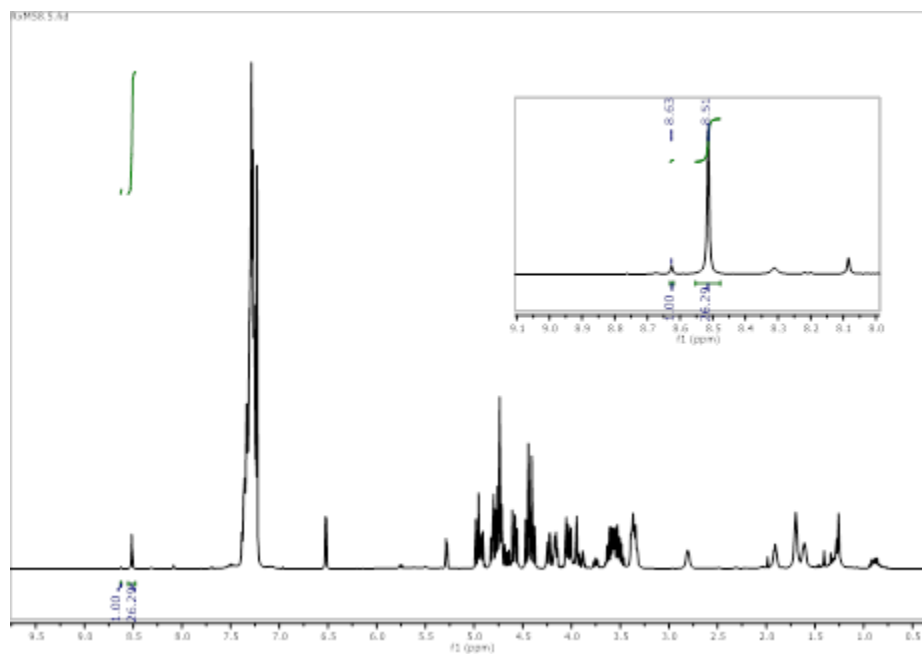
Espectro de ^1H RMN de 2,3,4,6-tetra-*O*-bencil-*D*-galactopiranososa (**1**)



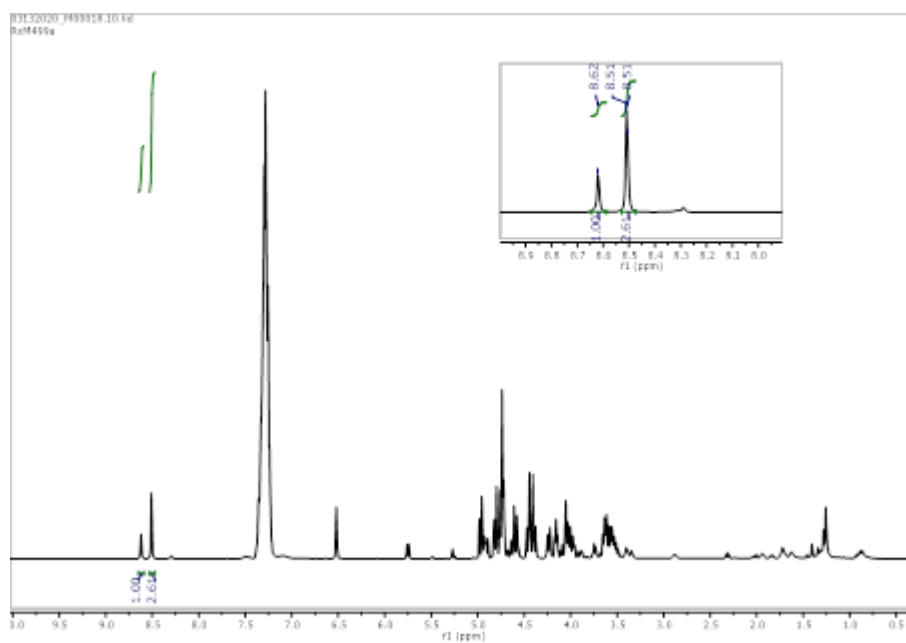
Espectros de ^1H RMN de 2,3,4,6-tetra-*O*-bencil- α -*D*-galactopiranosil tricloroacetimidato

(2a)

5. Proporción α : β 26:1

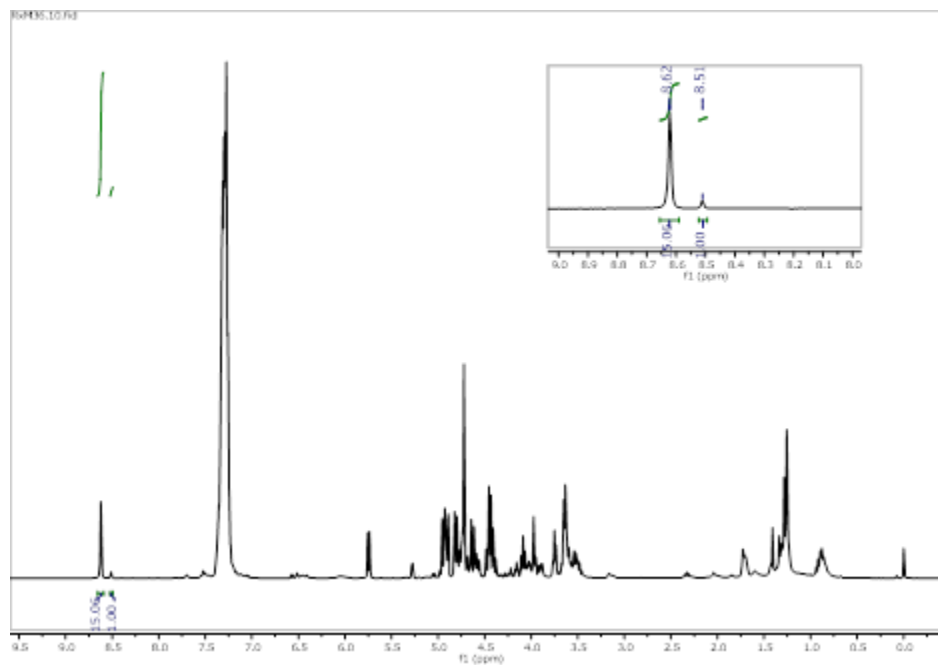


1. Proporción α : β 2.6:1

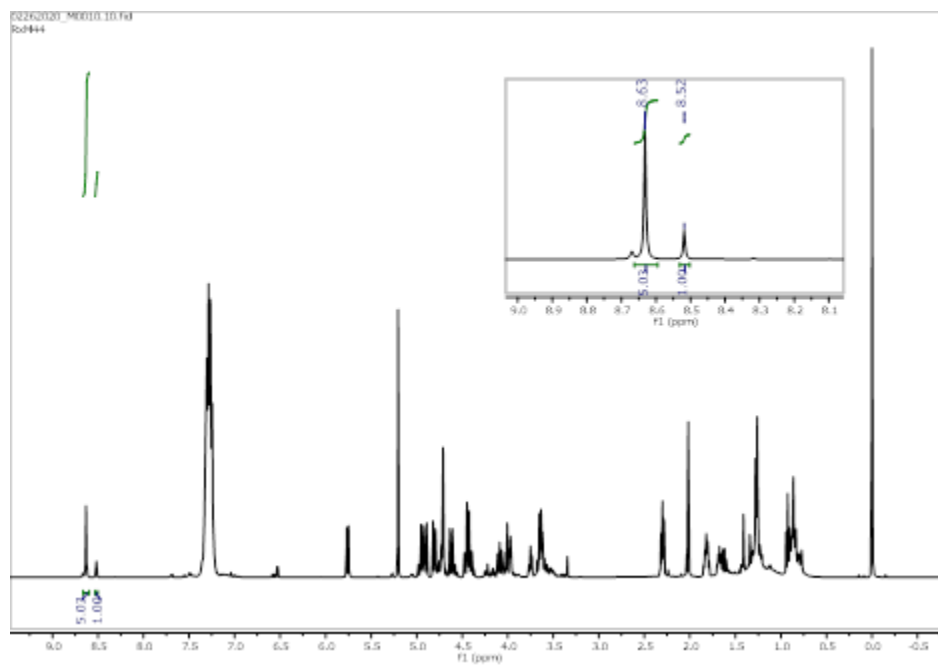


Espectro de ^1H RMN de 2,3,4,6-tetra-*O*-bencil- β -*D*-galactopiranosil tricloroacetimidato (**2 β**)

1. Proporción α : β 1:15.3



2. Proporción α : β 1:5



INFLUENCIA DE DISOLVENTES Y ADITIVOS EN GLICOSIDACIONES ESTEREOSELECTIVAS

Esteban Tovar López - esteban.tovarlz@udlap.mx

Cecilia Anaya Berrios - cecilia.anaya@udlap.mx ; Gabriela Huelgas Saavedra - gabriela.huelgas@udlap.mx ; Mildred María López Vázquez - mildred.lopezvz@udlap.mx

Departamento de Ciencias Químico Biológicas, Universidad de las Américas Puebla

Resumen

La presente revisión atiende un tema de gran relevancia en la química de carbohidratos, los efectos de los disolventes en las reacciones de glicosidación estereoselectivas, que es uno de los factores más influyentes y menos comprendidos en la formación de enlaces glicosídicos. Comprender lo último, permitirá optimizar más las recientes técnicas organocatalíticas y así poder seguir construyendo sacáridos bien definidos, puros y nuevos que posibiliten su investigación. De este modo, la revisión bibliográfica electrónica arroja 2 hipótesis centrales que describen el rol de los disolventes en las glicosidaciones.

Introducción

Los sacáridos son las biomoléculas más abundantes en la tierra y la gran mayoría está implicada en procesos biológicos. Por esto, han sido objeto de estudio para el desarrollo de nuevos marcadores biológicos, dianas terapéuticas, y para el entendimiento de diversas patologías y procesos celulares, entre otros. Por lo anterior, es fundamental contar con la cantidad suficiente de sacáridos bien definidos para continuar con su investigación (4).

Fuera de las estrategias enzimáticas, que actualmente resultan costosas y complejas de realizar, controlar la química, regio y estereoselectividad de las reacciones de glicosidación resulta aún un gran reto. Por otro lado, las estrategias organocatalíticas han demostrado poder promover glicosidaciones altamente selectivas a bajos precios y mediante protocolos sencillos que hacen uso de los principios de la química verde (1).

Dentro de este marco, es conocido que la velocidad, rendimiento y selectividad de las reacciones de glicosidación promovidas por organocatalizadores es influenciada por la temperatura, tiempos de reacción, humedad, y especialmente por la naturaleza y composición de los disolventes empleados (2)(3)(5).

Por ello, en la presente revisión se tratan las principales hipótesis que explican el rol de los disolventes en las glicosidaciones estereoselectivas para consecuentemente contar con un marco de referencia en el uso de disolventes concernientes a esta reacción en el laboratorio.

Metodología

- Se realizó una búsqueda electrónica exhaustiva crítica de artículos científicos de revistas relevantes en organocatálisis: *Angewandte Chemie International Edition*, *American Chemical Society*, *Canadian Journal of Chemistry*, *Carbohydrate Research*, *Journal of the Chemical Communications*, *Journal of Chemical Theory and Computation*, *Nature Chemistry*, *Organic Letters* and *Science*. Asimismo, se realizó una revisión de libros propios de glicosidaciones selectivas.
- Criterios de elegibilidad:
 - Publicaciones del 2010 en adelante.
 - Palabras clave: glycosylation, stereoselective, solvent effect.

- Herramientas utilizadas: Microsoft Office y ChemDraw Professional 17.0.

Conclusiones

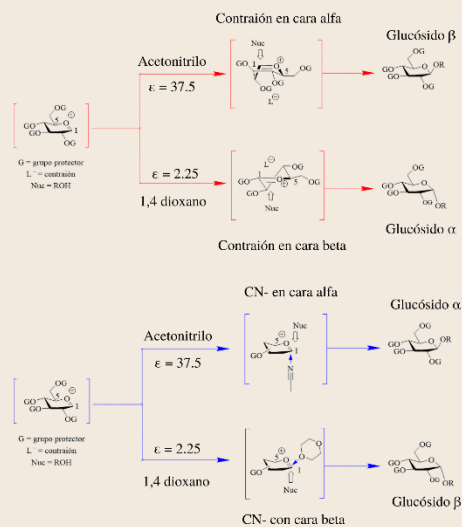
Se han señalado las 2 hipótesis dilucidadas hasta ahora sobre los efectos estereoselectivos de los disolventes en las reacciones de glicosidación: la *coordinación de disolventes* y la *distribución de conformémeros y contraiones*. La primera plantea la protección química de una de las caras del carbono anomérico y representa un claro ejemplo del efecto nitrilo, mientras que la última plantea una protección estérica aunada a repulsión por cargas (2)(3). Asimismo, no ha sido descartada la influencia de los disolventes en el equilibrio entre especies enlazantes y pares de iones (5). De la misma manera, aunque han sido investigado los efectos de los disolventes, también se deben considerar muchos otros factores que influyen en la glicosidación. Finalmente, a medida que se tenga una comprensión más clara de los mecanismos en la reacción de glicosidación, se podrá profundizar más en los efectos de los disolventes a fin de optimizar más las técnicas organocatalíticas y poder construir nuevos sacáridos.

Resultados

Distribución de conformémeros y contraiones



Coordinación de disolventes



Referencias

- Błaszczak, S., "Recent advances in site-selective functionalization of carbohydrates mediated by organocatalysts", *Carbohydrate Research*, Vol. 471, No. 1, 2018.
- Kofke, A., "Controlling the stereoselectivity of glycosylation via solvent effects", *Canadian Journal of Chemistry*, Vol. 11, No. 94, 2016.
- Saitoh, H., "Theoretical Investigation of Solvent Effects on Glycosylation Reactions: Stereoselectivity Controlled by Preferential Conformations of the Intermediate Oxocarbenium-Counterion Complex", *Journal of Chemical Theory and Computation*, Vol. 6, No. 6, 2010.
- Tomita, S., "Diboron-Catalyzed Regio- and 1,2-cis-*o*-Stereoselective Glycosylation of *trans*-1,2-Diols", *The Journal of Organic Chemistry*, Vol. 24, No. 8, 2020.
- Tony, K., "Solvent Effect on Glycosylation", *Wiley-VCH: Weinheim*, 2017.

Figura 3. Poster de investigación escogido para ser presentado en la clausura del Programa de Honores.