

AVANCES EN LA SÍNTESIS DE HIDRATOS DE CARBONO PARA EL DESARROLLO DE VACUNAS Y TEST DE DIAGNÓSTICO PARA LEISHMANIASIS

C. Touloumdjian⁽¹⁾, L. Tallone⁽¹⁾, E. Elhalem^(1, 2), M.J. Comin^(1, 2), L. Gandolfi Donadío^(1, 2)

ctouloumdjian@inti.gov.ar

⁽¹⁾ Dto. Ingredientes Activos y Biorrefinería-SOLyS-GODTel-INTI.

⁽²⁾ Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET).

Palabras Clave: Hidratos de carbono; Leishmaniasis; Síntesis Orgánica; Vacunas.

INTRODUCCIÓN

Las leishmaniasis son un grupo de enfermedades causadas por el tripanosomátido *Leishmania*. Están calificadas por la OMS como “enfermedades desatendidas” con alcance global e incidencia predominante en los países más pobres. La falta de interés de la industria farmacéutica por avanzar en la lucha contra la enfermedad exige que desde el Estado se promueva la investigación en pos de controlar su propagación.

En Argentina, la leishmaniasis tegumentaria americana (LTA) es endémica.[1] Los tratamientos de la enfermedad son costosos, y presentan problemas de toxicidad y desarrollo de resistencia, por lo que es indispensable la investigación en nuevas quimioterapias y vacunas para erradicar la enfermedad. Asimismo, se requieren tests de diagnóstico sensibles, específicos y asequibles que permitan el diagnóstico temprano y atención eficaz de los casos.[2]

Este proyecto tiene como objetivo general identificar un antígeno sacarídico presente en los glicanos de superficie del parásito con potencial para el desarrollo de vacunas y/o tests de diagnóstico contra la enfermedad. Contar con una librería de oligosacáridos de este tipo permitirá evaluar la inmunogenicidad de estas estructuras mediante un *screening* contra sueros de pacientes infectados. La mínima unidad estructural capaz de ser reconocida por el sistema inmune del hospedador se seleccionará para avanzar en estudios *in vivo*.

OBJETIVOS

Sintetizar los compuestos **1-4** (Fig. 1) que forman parte de la estructura interna de glicanos antigénicos de superficie de *Leishmania*. Se incorporará un grupo amino en el extremo para unir los azúcares sintetizados a superficies adecuadas para su estudio.

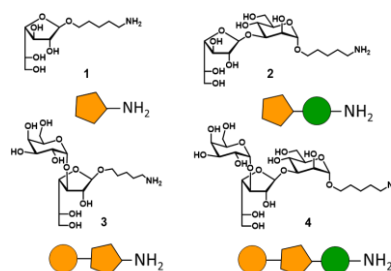


Figura 1: galactofuranósidos 1-4 objetos de síntesis.

En TecnoINTI 2017, se presentaron los resultados de la síntesis de los compuestos **1** y **2**. En esta edición, nos enfocaremos en el progreso realizado en la obtención de **3** y **4**.

DESARROLLO

La síntesis de hidratos de carbono es compleja ya que la posición y estereoquímica de los enlaces entre monómeros da lugar a una gran variabilidad estructural.

Para lograr estructuras bien definidas, se debe aplicar una estrategia sintética: utilizar *bloques constructores* (monosacáridos) con grupos OH debidamente protegidos, y adoptar un método de glicosidación compatible con los mismos. Estas condiciones permitirán unir los monómeros de manera regio y estereoselectiva (en la posición y orientación espacial deseadas).

Para la obtención de **3** y **4** se sintetizaron los *bloques constructores* **5** y **6**, precursores del disacárido Galp- α -(1-3)-Galf y de la unidad de Manp (Fig. 2), siguiendo métodos descriptos.[3,4] Por otro lado, se sintetizó el compuesto **7**[5] para introducir el *linker* (Fig. 2).

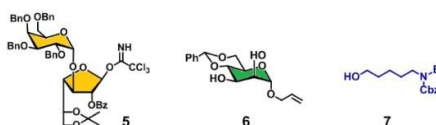


Figura 2: precursores de los compuestos **3** y **4**.

El método del tricloroacetimidato se seleccionó como estrategia de glicosidación por su compatibilidad con los grupos protectores elegidos y con la unión galactofuranósida presente en los precursores.

La estrategia de síntesis utilizada se describe en las Figuras 3 y 4.

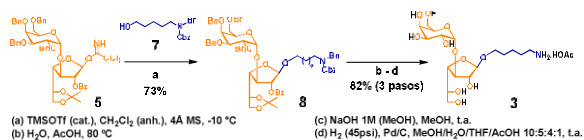


Figura 3. Ruta sintética de obtención de 3.

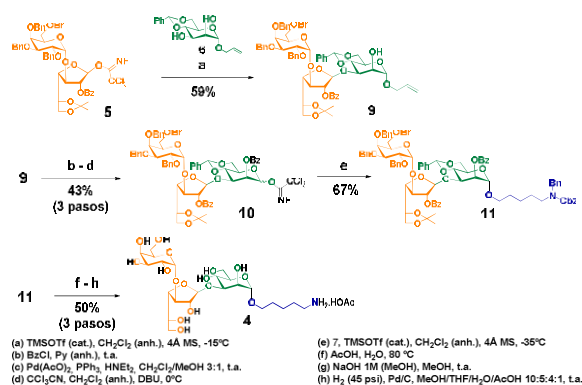


Figura 4: esquema sintético de obtención de 4.

RESULTADOS

Síntesis del galactofuranósido 3:

El primer paso en esta síntesis consistió en la formación del enlace glicosídico entre el precursor del disacárido Galp- α -(1-3)-Gal f **5** y el *linker* protegido **7** utilizando trimetilsilil triflato (TMSOTf) como catalizador para dar el glicósido **8** con muy buen rendimiento (Fig. 3). El espectro de RMN (Resonancia Magnética Nuclear) del producto **8** confirmó la formación del enlace con configuración β por asistencia animérica del grupo éster en C-2. La desprotección de **8** rindió el compuesto **3**, que fue identificado por RMN como el compuesto deseado (Fig. 5).

Síntesis del galactofuranósido 4:

Para generar el enlace glicosídico Gal f- β -(1-3)-Man p, se llevó a cabo la glicosidación del precursor **5** con un exceso del manósido **6** (Fig. 4), rindiendo el trisacárido **9**. La regioselectividad de la reacción a favor del enlace β -(1-3) se confirmó por acetilación y posterior análisis por RMN del producto obtenido. La mayor reactividad del OH-3 del manósido **6** se debe a efectos estéricos.

Por desprotección de la posición anomérica en el extremo reductor y posterior tratamiento con tricloroacetimidato en medio básico se obtuvo el imidato **10**, que se utilizó como donador de

glicosilo en la reacción con **7** para dar el intermediario **11**. Experimentos de RMN 1D y 2D confirmaron la incorporación del *linker* y configuración α del nuevo enlace formado. Finalmente, la desprotección de la molécula rindió un producto que fue identificado por RMN como el compuesto **4** (Fig. 6).

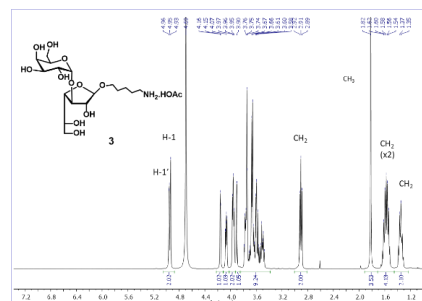


Figura 5: Espectro RMN ¹H (400 MHz, D₂O) de 3.

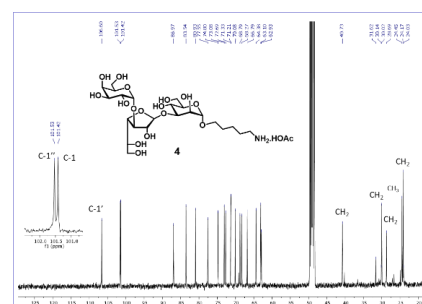


Figura 6: Espectro RMN ¹³C (400 MHz, MeOD) de 4.

DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

Se sintetizaron por primera vez los glicósidos **3** y **4**, ampliando la librería de oligosacáridos constitutivos de glicanos superficiales de *Leishmania* disponibles. Los glicósidos sintéticos se conjugarán a la proteína BSA y se contrastarán contra sueros infectados para evaluar su inmunogenicidad.

Índice TRL: 4

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo es parte del trabajo de Tesis Doctoral de la Lic. Touloumdjian a presentarse en el Departamento de Qca. Orgánica, FCEyN-UBA y recibió financiación externa a través del PICT 2017-2569 (FONCYT, Agencia I+D+i).

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] García Bustos MF, González-Prieto G, Ramos F, Mora MC, Hashiguchi Y, Parodi C, et al. Acta Trop. 2016; 154: 125–132.
- [2] URL: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/leishmaniasis>, Jun 2022.
- [3] Gandolfi-donadio L, Gallo-rodriguez C, Lederkremer RM De. J Org Chem. 2002; 67: 4430–4435.
- [4] Zhang J, Ma Z, Kong F. Carbohydr Res. 2003; 338: 1711–1718.
- [5] Castelli R, Overkleeft HS, van der Marel GA, Codée JDC. Org Lett. 2013; 15: 2270–2273.