

# NUEVOS DERIVADOS SEMISINTÉTICOS DE FILIFOLINOL EN C3 Y C5 COMO INHIBIDORES DEL COMPLEMENTO HUMANO POR LA VÍA CLÁSICA

Andrea V. Coscia,<sup>a</sup> María A. Operto,<sup>b,a</sup> René Torres,<sup>c</sup> Teodoro S. Kaufman,<sup>a,b</sup> Enrique L. Larghi<sup>a</sup>

<sup>a</sup> Instituto de Química Rosario (IQUIR, CONICET-UNR), Unidad Química Orgánica, Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas-UNRosario, Suipacha 531, S2002LRK Rosario, República Argentina.

<sup>b</sup> Área de Análisis de Medicamentos, Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas-UNRosario, Suipacha 531, S2002LRK Rosario, República Argentina.

<sup>c</sup> Departamento de Ciencias del Ambiente, Facultad de Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile, Avenida Bernardo O'Higgins 3363, Santiago, Chile.

Correo electrónico: larghi@iquir-conicet.gov.ar

## Introducción

La búsqueda de nuevos compuestos activos basados en la deconvolución de estructuras más complejas y de difícil acceso, es una herramienta versátil para el desarrollo de sustancias con perfil farmacológico incrementado, respecto al compuesto que sirvió de inspiración. Varios ejemplos paradigmáticos han surgido de esta hipótesis. Dentro de este marco, y encaminados a la generación de alternativas para el tratamiento de enfermedades originadas por la disfunción del Sistema del Complemento, nuestra atención ha recaído sobre un compuesto de origen natural (Filifolinol, **1**) reminiscente al conocido benzosesquiterpeno K-76 (**2**) y su derivado más soluble K-76 COOH (**3**), aislado de *Stachybotrys complementi* nov. sp. K-76 por Miyazaki y col. tras una búsqueda intensiva de nuevos anticomplementarios.<sup>1</sup>

## Metodología

**Síntesis química:** En este trabajo se realizaron modificaciones químicas del producto natural quiral Filifolinol, aislado en abundancia del exudado de las partes aéreas de *Heliotropium filifolium* Miers (Boraginaceae).<sup>2</sup> Resultados anteriores del grupo de investigación han convalidado esta hipótesis, preparándose sustancias modificadas en diversas posiciones del esqueleto carbonado de **1**, cuya bioactividad ha superado al compuesto modelo de este estudio, K-76 COOH.<sup>3</sup>

**Actividad biológica:** Para determinar la inhibición del Complemento humano, se utilizó el método de Weisman modificado.<sup>4</sup> Este análisis fue realizado con un pool de suero humano normal fresco como fuente de Complemento, que fue diluido 1/50. El Complemento fue titulado contra una suspensión 0,85 % de eritrocitos de carnero sensibilizados (ECS). El pool de sueros original fue diluido de acuerdo con su título con buffer de Meyer diluido (BMD). Los compuestos se ensayaron como sales sódicas, leyendo la absorbancia de los eritrocitos hemolizados a 410 nm, contra un blanco procesado en la misma manera pero desprovisto de Complemento. Los datos de respuesta de inhibición del complemento fueron calculados de acuerdo a la fórmula: Hemólisis (%*Y*) = 100 x (A<sub>muestra</sub> - A<sub>blanco</sub>) / (A<sub>100</sub> - A<sub>blanco</sub>) donde A<sub>muestra</sub>, A<sub>100</sub> y A<sub>blanco</sub> son las absorbancias de la muestra, del control de 100% de hemólisis y del blanco respectivamente. El porcentaje de hemólisis fue representado gráficamente frente a la concentración de los inhibidores, y los valores de IC<sub>50</sub> fueron obtenidos por interpolación. Las curvas fueron rectificadas representando gráficamente log [Y/(100-Y)] vs. log [Inhibidor].

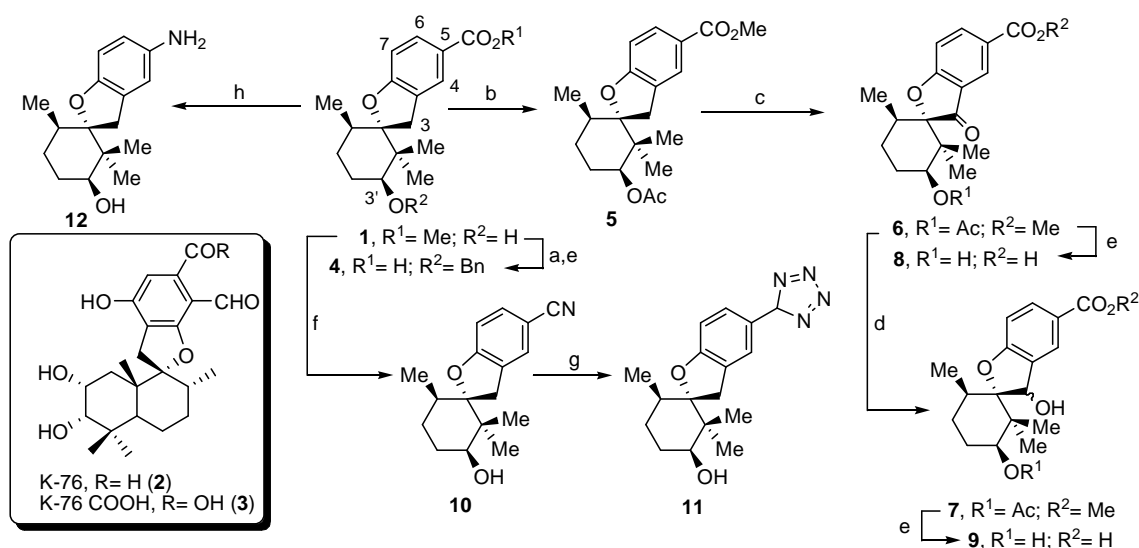
## Resultados

Los compuestos obtenidos en este estudio son nuevos derivados semisintéticos de Filifolinol en las posiciones 3 y 5 del esqueleto carbonado. Previendo su potencial administración oral, todos los productos finales fueron ácidos carboxílicos, tetrazoles y aminas, todos ellos vehiculizados en el medio de bio-análisis como sus correspondientes sales sódicas o cloruro de anilonio.

La obtención de los derivados en C3 comenzó con la preparación de 3'-acetilfilifolinol (**5**), que fue oxidado selectivamente hacia la cetona **6** con ácido periódico/anhídrido crómico. Por su parte, **6** se redujo en condiciones clásicas ( $\text{NaBH}_4$ , MeOH) para dar los correspondientes carbinolos **7**, como mezcla epimérica equimolar.

La preparación del tetrazol **11**, se realizó por intermedio de la ciclación [3+2] del cianoderivado **10** (obtenido por reducción directa de **1** con  $\text{LiAlH}_4$ , seguida de oximidación/deshidratación) con  $\text{NaN}_3$  mediada por  $\text{ZnBr}_2$ .

La anilina **12**, cuya preparación requirió la protección del carbinol en 3' como O-bencil derivado, se obtuvo por medio del reordenamiento de Curtius del correspondiente ácido **4**. Las rutas sintéticas discutidas se muestran en el Esquema.



**Esquema. Reactivos y Condiciones:** a)  $\text{NaH}$ , DMF, BnBr, TA, 3h (80 %). b)  $\text{Ac}_2\text{O}$ , Pi, DMAP,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , TA, 18h (82 %). c)  $\text{HIO}_4$ ,  $\text{CrO}_3$ , MeCN, TA, 24h (62 %). d)  $\text{NaBH}_4$ , EtOH, 0 °C, 24h (82 %). e) LiOH 15%, THF, 60 °C, 16h (75-84 %). f) 1.  $\text{LiAlH}_4$ , THF/ $\text{Et}_2\text{O}$ , 0 °C, 3h (95 %); 2.  $\text{I}_2$ ,  $\text{NH}_3$ , MO, 2h. g)  $\text{NaN}_3$ ,  $\text{ZnBr}_2$ , MO (64 %). h) 1.  $(\text{PhO})_2\text{P}(\text{O})\text{N}_3$ , EtOH, TEA, THF,  $\Delta$ , 5h (64 %); 2.  $\text{H}_2$ , Pd/C 10%, MeOH (cuant.).

## Conclusiones

Las modificaciones estructurales realizadas sobre Filifolinol generaron derivados que inhibieron el Complemento por la vía clásica en el rango milimolar.

Teniendo en cuenta los resultados obtenidos, es probable que al conjugarlos con modificaciones previas realizadas en C3', C4, C6 y C7, se puedan sintetizar nuevos derivados con actividad inhibitoria optimizada.

## Agradecimientos

Los autores agradecen a CONICET, ANPCyT y UNR por los subsidios recibidos. AVC agradece la beca UNR a la investigación.

## Referencias Selectas

---

1. Miyazaki, W.; Tamoka, H.; Shinohara, M.; Kaise, H.; Izawa, T.; Nakano, Y.; Kinoshita, T.; Hong, K.; Inoue, K. *Microbiol. Immunol.* **1980**, *24*, 1091.
2. Torres, R.; Villarroel, L.; Urzúa, A.; Delle Monache, F.; Delle Monache, G. y Gacs-Baitz, E. *Phytochemistry* **1994**, *36*, 249.
3. (a) "Compuestos Inhibidores del Complemento, sus Sales y Derivados Farmacéuticamente Aceptables, Procedimientos para su Preparación y Composiciones Farmacéuticas que los Comprenden". E. L. Larghi, M. A. Operto, R. Torres y T. S. Kaufman. N° de presentación: 20120101056. Presentada el 28/03/**2012**. Titulares: CONICET y UNR; (b) Larghi, E. L.; Kaufman, T. S. *Arkivoc.* *vii*, 49-102, **2011**; (c) Larghi, E. L.; Operto, M. A.; Coscia, A. V.; Torres, R.; Kaufman, T. S. XVIII SINAQO, Carlos Paz (Córdoba) Argentina, **2011**; (d) Larghi, E. L.; Operto, M. A.; Coscia, A. V.; Torres, R.; Kaufman, T. S. 14<sup>th</sup> BMOS, Brasilia (DF) Brazil, **2011**; (e) Larghi, E.L.; Torres M. R.; Operto, M. A.; Kaufman, T. S. *Bioorg. & Med. Chem. Lett.* **2009**, *19*, 6172.
4. Weisman, H. F.; Batow, T.; Leppo, M. K.; Marsh, H. C.; Carson, G. R.; Concino, M. F.; Boyle, M. P.; Roux, K. H.; Weisfeldt, M. L.; Fearon, D. T. *Science* **1990**, *249*, 146.