

ESTRATEGIAS SINTÉTICAS EN LA DIVERSIFICACIÓN DE CUMARINAS MEDIANTE REACCIONES DE CICLOADICIÓN DE AZIDAS Y ALQUINOS CATALIZADA POR Cu (I) (CuAAC)

Chrystyan Iván Bustos Gómez ^{a,*}, David Cruz Cruz ^a, Clarisa Villegas Gómez ^a

^a Departamento de Química, División de Ciencias Naturales y Exactas, Universidad de Guanajuato. Noria
Alta S/N, CP 36050. Guanajuato, Gto., México.

ci.bustos@ugto.mx

Resumen

Las cumarinas son compuestos heterocíclicos formados por un núcleo de benzo- α -pirona, ampliamente utilizados en la industria farmacéutica por sus aplicaciones como agentes anticoagulantes y antiinflamatorios. Por su parte, los 1,2,3-triazoles constituyen sistemas aromáticos que contienen 3 átomos de nitrógeno en su estructura, y resultan de gran interés debido a sus diversas propiedades farmacológicas, entre ellas actividades como antimicrobianos y anticancerígenos, lo que los convierte en blancos atractivos para su síntesis.

El objetivo del presente proyecto es realizar la síntesis y diversificación de análogos de núcleos de cumarinas con 1,2,3 triazoles mediante reacciones de cicloadición entre azidas y alquinos catalizadas con Cu (I).

Palabras clave: Cumarinas; 1,2,3-triazoles; alquinos; azidas; química click.

SYNTHETIC STRATEGIES FOR COUMARIN DIVERSIFICATION VIA Cu (I)-CATALYZED AZIDE-ALKYNE CYCLOADDITION (CUAAC)

Abstract

Coumarins are heterocyclic compounds based on a benzo- α -pyrone core, widely used in the pharmaceutical industry for their applications as anticoagulant and anti-inflammatory agents. In turn, 1,2,3-triazoles are aromatic systems containing three nitrogen atoms in their structure and are of great interest due to their diverse pharmacological properties, including antimicrobial and anticancer activities, making them attractive targets for synthesis.

The aim of the present project is the synthesis and diversification of coumarin analogues bearing 1,2,3-triazole cores through copper(I)-catalyzed cycloaddition reactions between azides and alkynes.

Keywords: Coumarins; 1,2,3-triazoles; alkynes; azides; click chemistry.

1. Introducción

Actualmente en el área de la química farmacéutica existe un gran interés por el diseño de moléculas complejas con la capacidad de regular o modificar procesos biológicos en los organismos, por esta razón los químicos sintéticos se han dado a la tarea de crear bibliotecas de compuestos con metodologías eficientes de síntesis para la evaluación de estos compuestos frente a diferentes enfermedades y patologías con una actividad bioquímica potente y específica (Welsch y col., 2010). A estas moléculas complejas de composición y agrupación geométrica preservada y con la capacidad de servir como ligandos de una amplia gama de receptores se les define como "Estructuras Privilegiadas"; cabe mencionar que tales estructuras pueden ser inspiradas y proporcionadas por la naturaleza en forma de productos naturales o creadas *de novo* con el fin de crear nuevos principios activos (Evans y col., 1988).

La síntesis de estructuras privilegiadas es una tarea ardua que requiere crear una gran cantidad de estructuras complejas y diversas, que adicionalmente puedan interaccionar con diversos blancos biológicos mediante uniones específicas a receptores generando un efecto

terapéutico y a su vez con un mínimo de reacciones adversas (Reymond y col, 2012). Para dar cumplimiento a esta labor se desarrolló una estrategia sintética denominada "Síntesis Dirigida a la Diversidad" (DOS, por sus siglas en inglés) esta metodología pretende sintetizar de forma eficiente y divergente una colección de análogos moleculares, mismos que pueden ser evaluadas en base a su estabilidad, grado de complejidad o relevancia biológica, generando así bibliotecas de compuestos que maximicen la exploración del espacio químico desconocido (Prieto y col., 2018) (Kim y col., 2016).

1.1 Cumarinas como estructuras privilegiadas, características y propiedades.

Las cumarinas son compuestos heterocíclicos con un núcleo de benzo- α -pirona (Figura 1), mismos que se encuentran presentes en microorganismos, hongos y plantas como parte de los metabolitos secundarios; estos son sintetizados por la vía del ácido shikímico a través del metabolismo de aminoácidos aromáticos como fenilalanina (Annunziata y col., 2020).

Las cumarinas poseen una estructura versátil lo que permite realizar modificaciones a su estructura para generar análogos los cuales pueden ser evaluados como potenciales tratamientos de diversas enfermedades; actualmente existe una cantidad considerable de compuestos a base de cumarinas utilizadas en la industria farmacéutica como principios activos, tales como; anticoagulantes, antiinflamatorios, antidiabéticos, antimicrobianos, anticonvulsivos, y neuroprotectores (Srikrishna y col., 2016). Adicionalmente estas estructuras privilegiadas presentan ventajas como baja toxicidad en sistemas biológicos, una alta biodisponibilidad y buena solubilidad en diferentes sistemas (Hoult y col, 1996).

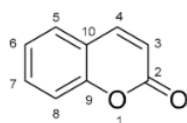


Figura 1. Nucleo de cumarina (2H-1-benzopirán-2-ona).

Una de las principales actividades biológicas de las cumarinas, es la actividad antioxidante, las cumarinas tienen la propiedad de evitar el estrés oxidativo al disminuir la concentración de radicales libres y especies reactivas de oxígeno, carbono, nitrógeno o azufre; estos compuestos son elementos presentes en

patologías como inflamación crónica, cáncer o trastornos neurodegenerativos, generando daño celular como disfunción mitocondrial o desequilibrio iónico somático (Traykova y col., 2005); en diferentes estudios se ha demostrado que las polihidroxi cumarinas o cumarinas fenólicas tienen la propiedad de disminuir la concentración de especies reactivas por su capacidad de donar electrones o átomos de hidrógeno favoreciendo la estabilización de los radicales libres, otro mecanismo antioxidante estudiado de las cumarinas, es a través de la modulación del sistema antioxidante endógeno, induciendo la síntesis de las enzimas superóxido dismutasa y glutatión peroxidasa responsables de proteger las células frente al daño causado por las especies reactivas de oxígeno (Carvajal C., 2019).

Finalmente, el metabolismo de las cumarinas se lleva a cabo en los microsomas hepáticos por el sistema enzimático citocromo P450 ligada a la mono-oxigenasa generando una reacción de fase I de hidroxilación de la cumarina y posteriormente a reacciones de conjugación de fase II lo que facilita su eliminación (Egan y col., 1990).

1.2 Triazoles, características y propiedades.

Los triazoles son compuestos cíclicos aromáticos básicos, conformados por 3 heteroátomos de nitrógeno, con fórmula $C_2H_3N_3$ y pueden presentarse en sus 2 formas isoméricas: 1,2,3-triazol o triazol vecinal y 1,2,4-triazol o triazol simétrico (Figura 2); Estos núcleos de triazoles presentan diversas propiedades farmacológicas tales como, antimicrobianos, anticancerígenos, analgésicos y antiinflamatorios (Akri y col., 2007).

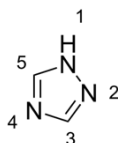


Figura 2. Formas isoméricas de los triazoles, triazol vecinal (izquierda); triazol simétrico(derecha).

Los triazoles tienen la capacidad de formar puentes de hidrogeno lo que favorece su unión y especificidad a receptores celulares, aumentando con esto su solubilidad y su espectro de actividad; así mismo, esto provoca que los compuestos sean más estables ante la degradación metabólica (Akri y col., 2007).

Las infecciones fúngicas son causadas por organismos heterótrofos que colonizan el

tejido epitelial generando infecciones sistémicas. Los principios activos con núcleos de triazol son comúnmente de uso clínico para el tratamiento de infecciones fúngicas invasivas comunes tales como, *Candida* spp, *Aspergillus* spp y *Fusarium* spp (Edmond y col., 1999).

Actualmente, los principios activos como fluconazol o el itraconazol son los más utilizados, estos en su estructura presentan uno o más núcleos de triazol y actúan como inhibidores de la enzima 14 α -desmetilasa dependiente del citocromo P450, enzima responsable del proceso de desmetilación del lanosterol inhibiendo su conversión a ergosterol componente indispensable para la síntesis de la pared celular. El proceso farmacodinámico se basa en la unión del nitrógeno básico del anillo triazólico al átomo de hierro del complejo hemo del citocromo P450 impidiendo su unión con el sustrato, esto produce la acumulación de esteroides en la célula e induciendo cambios en la permeabilidad de la membrana (Groll y col., 1998).

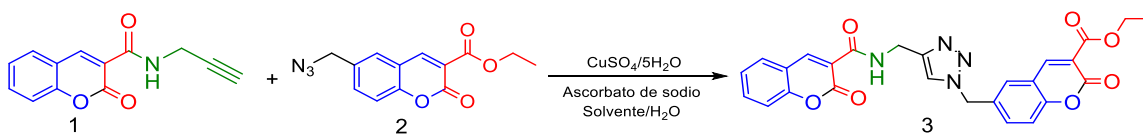
1.3 síntesis de triazoles: Cicloadición de azidas y alquinos catalizada por *cu* (I)

La síntesis de triazoles a partir de azidas y alquinos no catalizada fue descrita por primera vez en 1893 por Huisgen a través de reacciones de cicloadición 1,3 dipolar; sin embargo, esta reacción tiene el inconveniente de producir una mezcla de regioisómeros 1,4 y 1,5 disustituídos (Huisgen R. 1963). Posteriormente, en 2002 Fokin, Sharpless y de Meldal, describieron la reacción de cicloadición de azida/alquino catalizada por CuI (CuAAC) el cual cumple con el concepto de "química click" el cual busca unir bloques moleculares a través de reacciones selectivas, tolerantes a medios acuosos, con alto rendimiento y con mínima creación de subproductos, bajo este concepto es posible la creación de núcleos de triazoles 1,4-di sustituídos catalizados con especies de cobre (I) de diferentes fuentes, con gran tolerancia

a diferentes grupos funcionales y disolventes (Liang y Astruc. 2011).

2. Metodología

Con base en lo anterior, se procedió experimentalmente con el objetivo de realizar la síntesis y diversificación de análogos de núcleos de cumarinas, principalmente en las posiciones C-3 y C-6 con 1,2,3 triazoles mediante reacciones de cicloadición entre derivados de azidas y alquinos catalizada por Cu(I) (CuAAC). El primer análogo de cumarina es: 2-oxo-*N*-(prop-2-in-1-il)-2*H*cromen-3-carboxamida (**1**); el segundo análogo de núcleo de cumarina es el etil 6-(azidometil)-2-oxo-2*H*-cromen-3-carboxilato (**2**). De esta forma se pretende acceder a una importante biblioteca de compuestos con diversidad estructural, funcional y de actividad biológica (Esquema 1)



Esquema 1. Planteamiento general del proyecto.

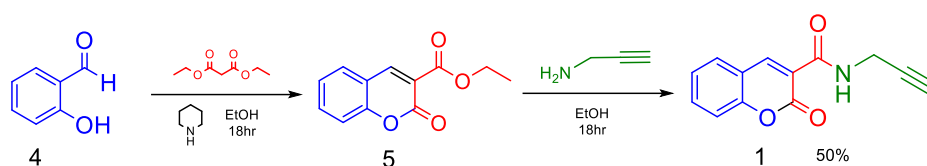
2.1. síntesis de materiales de partida

Se realizó la síntesis del primer material de partida, correspondiente a la 2-oxo-*N*-(prop-

2-in-1-il)-2*H* cromen-3-carboxamida o 3-propargil-cumarina (**1**); a través de una reacción de condensación de Knoevenagel

usando como reactivos salicilaldehído y malonato de dietilo (**4**), utilizando piperidina como base orgánica catalítica, en etanol como solvente y a reflujo por 18 hr (Velasco y col., 2022); seguido de una transesterificación entre el hidroxilo y residuo de éster formando así el núcleo de cumarina de éster (**5**);

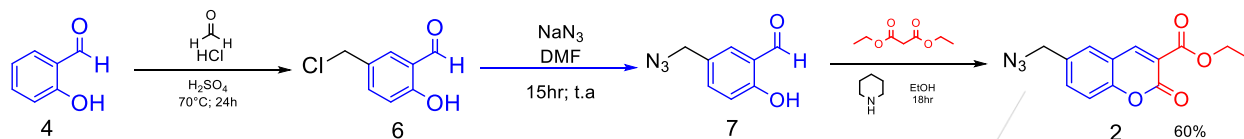
posteriormente se realizó una sustitución nucleofílica en el carbonilo del éster con propargil-amina y etanol en reflujo. Este compuesto presentó rendimientos moderados del 50% y su estructura fue confirmada por medio de resonancia magnética nuclear ^1H -RMN y ^{13}C -RMN (Esquema 2).



Esquema 2. Síntesis de 2-oxo-N-(prop-2-in-1-il)-2H-cromen-3-carboxamida

Para la síntesis del material de partida correspondiente al etil 6-(azidometil)-2-oxo-2H-cromen-3-carboxilato o 6-azido-cumarina (**2**); como primer paso, se realizó una halo-alquilación aromática del salicilaldehído con paraformaldehído, ácido clorhídrico y ácido sulfúrico como catalizador a 70°C , sintetizando así el 5-cloro-metilsalicilaldehído (**6**), posteriormente a través de una reacción $\text{S}_{\text{N}}2$, se realizó una

reacción de azidación mediante azida de sodio (NaN_3) en N,N-dimetilformamida como disolvente, sintetizando así el 5-azido-metil-salicilaldehído (**7**); finalmente se realizó la síntesis del núcleo de cumarina con una condensación Knoevenagel para así obtener el material de partida (**2**), el producto fue verificado por resonancia magnética nuclear ^1H -RMN y ^{13}C -RMN. (**Esquema 3**).



Esquema 3. Síntesis de etil 6-(azidometil)-2-oxo-2H-cromen-3-carboxilato (**2**)

2.2. Cicloadición de azidas y alquinos catalizada por Cu (I) (CuAAC): Síntesis del núcleo de triazol

Posterior a la síntesis de los materiales de partida correspondiente a los derivados de 6-azido-cumarina y 3-alquini-cumarina se prosiguió con la reacción de cicloadición catalizada por ascorbato de sodio como agente reductor, sulfato de cobre (II) como fuente de Cu y una mezcla de solventes organicos/agua (1:1) como disolventes, la

reacción se llevó a temperatura ambiente hasta la obtención del compuesto derivado de triazol-bis-cumarina (etil-2-oxo-6-((4-((2-oxo-2H-cromen-3-carboxamido)metil)-1H-1,2,3-triazol-1-il)metil)-2H-cromen-3-carboxilato) (**3**) con un rendimiento del 55%; Asimismo, se realizaron variaciones en las condiciones de reacción como los equivalentes de los materiales de partida, naturaleza de los solventes y tiempo de reacción (Tabla 1).

Tabla 1. Condiciones de síntesis del compuesto triazol-bis-cumarina

Entrada	Solvente	Temperatura	Tiempo	Catalizador	Rendimiento
1	Metanol/agua	t.a	5hr	10 mol%	-
2	Metanol/agua	t.a	18hr	10 mol%	14%
3	Metanol/agua	t.a	18hr	50 mol%	50.2%
4	Metanol/agua	t.a	18hr	40 mol%	50%
5	Acetona	t.a	18hr	40 mol%	50.7%
6	Cloroformo	t.a	18hr	40 mol%	33.92%

El producto obtenido fue verificado por RMN ¹H el cual muestra la señal característica del protón en la región aromática correspondiente del triazol 1,4 sustituido como singulete en 8.1 ppm; otra señal característica del compuesto es la señal del protón de la amida

en 9.12 ppm; otras señales características son la de los protones vinílicos de las cumarinas que se encuentran en 8.88ppm y 8.75 ppm respectivamente; adicionalmente es posible observar las 8 señales en la región aromática entre 8.11 y 7.46 ppm (Figura 2).

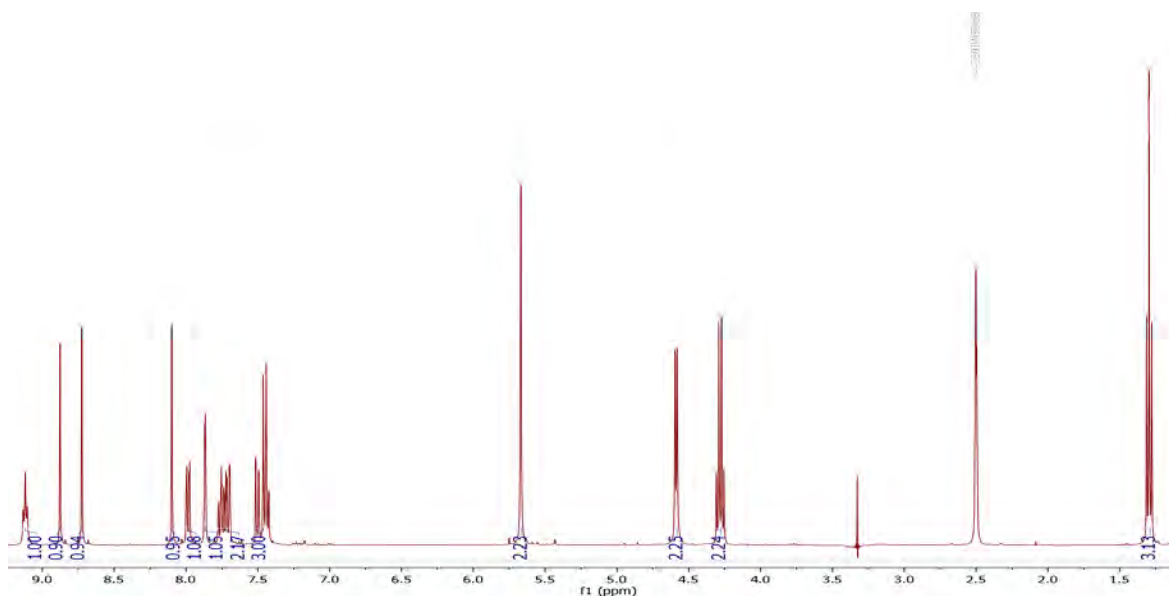


Figura 2. Espectro ^1H -RMN (DMSO- d_6 , 400 MHz) del compuesto triazol.

3. Conclusiones

Las condiciones de reacción empleadas para la síntesis del núcleo de triazol resultaron adecuadas para la obtención del derivado de triazol bis-cumarina, con un rendimiento del 55%. Como perspectiva del proyecto, se plantea realizar modificaciones en dichas condiciones con el fin de incrementar tanto el porcentaje de rendimiento como la eficiencia en el aprovechamiento de los materiales de partida, adicionalmente se pretende realizar pruebas de evaluación de actividad biológica como anticancerígeno y antimicótico.

La química click, propuesta por Sharpless se ha consolidado como una herramienta revolucionaria en la síntesis orgánica y en la

química medicinal, ya que permite acceder a estructuras privilegiadas con alta regioselectividad, bajo condiciones suaves de reacción, a bajas temperaturas y en medios acuosos.

Referencias bibliográficas

- Akri, K. E., Bougrin, K., Balzarini, J., Faraj, A., Benhida, R. Bioorg. (2007). Efficient synthesis and in vitro cytostatic activity of 4-substituted triazolyl-nucleosides. *Med. Chem. Lett*, 17, 6656–6659.
<https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2007.08.077>
- Annunziata F., Pinna C., Dallavalle S., Tamborini L., Pinto A. (2020). An Overview

- 1 of Coumarin as a Versatile and Readily
- 2 Accessible Scaffold with Broad-Ranging
- 3 Biological Activities. *International Journal*
- 4 *of Molecular Sciencies*, 21(13), 4618.
- 5 <https://doi.org/10.3390/ijms21134618>
- 6 Barot, K.P., Jain, S.V., Kremer, L., Singh, S.,
- 7 Ghate, M.D. (2015). Recent advances and
- 8 therapeutic journey of coumarins: Current
- 9 status and perspectives. *Med. Chem. Res.*, 24,
- 10 2771–2798. [https://doi.org/10.1007/s00044-](https://doi.org/10.1007/s00044-015-1350-8)
- 11 [015-1350-8](https://doi.org/10.1007/s00044-015-1350-8)
- 12 Carvajal C. (2019). Reactive oxygen species:
- 13 training, function and oxidative stress. *Rev.*
- 14 *Med. Leg. CR.*, 36(1), 91-100.
- 15 Dismukes, W. E. (2006). Antifungal Therapy:
- 16 Lessons Learned over the Past 27 Years. *Clin.*
- 17 *Infect. Dis.*, 42(9), 1289–1296.
- 18 <https://doi.org/10.1086/503043>
- 19 Edmond, M. B., Wallace, S. E., McClish, D.
- 20 K., Pfaller, M. A., Jones, R. N., Wenzel, R. P.
- 21 (1999). Nosocomial Bloodstream Infections
- 22 in United States Hospitals: A Three-Year
- 23 Analysis. *Clin. Infect. Dis.*, 29, 239–244.
- 24 <https://doi.org/10.1086/520192>
- 25 Egan, D., O'kenedy, R., Moran, E., Cox, D.,
- 26 Prosser, E., Thornes, R. (1990). The
- 27 pharmacology, metabolism, analysis and
- 28 applications of coumarin and coumarin-
- 29 related compounds. *Drug Metab. Rev.*, 22,
- 30 503–529.
- 31 <https://doi.org/10.3109/03602539008991449>
- 32 Evans B.E., Rittle K.E., Bock M.G., DiPardo
- 33 R.M., Freidinger R.M., Whitter W.L.,
- 34 Lundell G.F., Veber D.F., Anderson P.S.,
- 35 Chang, R.S., Lotti, V.J., Cerino, D.J., Chen,
- 36 T.B., Kunkel, K.A., Springer, J.P., Hirshfield,
- 37 J. (1988). Methods for drug discovery:
- 38 development of potent selective, orally
- 39 effective cholecystokinin antagonists.
- 40 *JMedChem*, 31, 2235-2246.
- 41 <https://doi.org/10.1021/jm00120a002>
- 42 Groll, A. H., Piscitelli, S. C., Walsh, T. J.
- 43 (1998). Clinical Pharmacology of Systemic
- 44 Antifungal Agents: A Comprehensive
- 45 Review of Agents in Clinical Use, Current
- 46 Investigational Compounds, and Putative
- 47 Targets for Antifungal Drug Development.
- 48 *Adv. Pharmacol.*, 44, 343–500.
- 49 [https://doi.org/10.1016/S1054-](https://doi.org/10.1016/S1054-3589(08)60129-5)
- 50 [3589\(08\)60129-5](https://doi.org/10.1016/S1054-3589(08)60129-5)
- 51 Hoult, J.R.S., Payá, M. (1996).
- 52 Pharmacological and biochemical actions of
- 53 simple coumarins: Natural products with
- 54 therapeutic potential. *Gen. Pharmacol.*, 27,
- 55 713–722. [https://doi.org/10.1016/0306-](https://doi.org/10.1016/0306-3623(95)02112-4)
- 56 [3623\(95\)02112-4](https://doi.org/10.1016/0306-3623(95)02112-4)

- 1 Huisgen R. (1963). 1,3-Dipolar
2 Cycloadditions. Past and Future. *Angew.*
3 *Chem., Int. Ed. Engl.*, 2, 565.
4 <https://doi.org/10.1002/anie.196305651>
- 5 Kim, J.. Jung, J.. Koo, J.. Cho, W.. Lee, W.
6 S.. Kim, C.. Park, W.. Park, S. B. (2016).
7 Diversity-oriented synthetic strategy for
8 developing a chemical modulator of protein–
9 protein interaction. *Nat. Commun.*, 7, 13196.
10 <https://doi.org/10.1038/ncomms13196>
- 11 Liang L, Astruc D. (2011). The copper(I)-
12 catalyzed alkyne-azide cycloaddition
13 (CuAAC) “click” reaction and its
14 applications. *Coor Chem Rev.*, 255. 2933–
15 2945
- 16 Prieto-Martinez F., Medina-Franco J. (2018)
17 Diseño De fármacos asistido por
18 computadora: cuando la informática, la
19 química y el arte se encuentran. *Rev. Esp.*
20 *Cienc. Quím. Biol.*, 21(2), 124-134, 2018.
21 <https://doi.org/10.22201/fesz.23958723e.201>
22 [8.2.6](#)
- 23 Reymond, J-L., Awale, M. (2012). Exploring
24 Chemical Space for Drug Discovery Using
25 the Chemical Universe Database. *ACS Chem.*
26 *Neurosci.*, 3(9), 649.
27 <https://doi.org/10.1021/cn3000422>
- 28 Srikrishna, D., Godugu, C., Dubey, P.K.
29 (2016). A Review on Pharmacological
30 Properties of Coumarins. *Mini Rev. Med.*
31 *Chem.*, 16, 18.
32 <https://doi.org/10.2174/13895575166661608>
33 [01094919](#)
- 34 Traykova, M., Kostova, I. (2005). Coumarin
35 derivatives and oxidative stress. *Int. J.*
36 *Pharm.*, 1, 29–32.
- 37 Velasco M., Romero-Ceronio, N., Torralba,
38 R., Hernández Abreu, O., Vilchis-Reyes, M.
39 A., Alarcón-Matus, E., Ramos Rivera, E. M.,
40 Aparicio, D. M., Jiménez, J., Aguilar García,
41 E., Cruz Cruz, D., Villegas Gómez, C.,
42 Alvarado, C. (2022). Piperidine-Iodine as
43 efficient dual catalyst for the one-pot, three-
44 component synthesis of coumarin-3-
45 carboxamides. *Molecules*, 27, 4659.
46 <https://doi.org/10.3390/molecules27144659>
- 47 Welsch Matthew E., Snyder Scott A.,
48 Stockwell Brent R. (2010). Privileged
49 scaffolds for library design and drug
50 discovery. *Current Opinion in Chemical*
51 *Biology*, 14(3), 347–361.
52 <https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2010.02.018>