



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO FACULTAD DE QUÍMICA

OBTENCIÓN Y USOS DEL AMINOÁCIDO NO
PROTEINOGENICO VINILGLICINA.

TRABAJO MONOGRÁFICO DE ACTUALIZACIÓN

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
QUÍMICO DE ALIMENTOS

PRESENTA:
AZARÍAS ÁLVAREZ HERNÁNDEZ

ASESOR:
DR. JOSÉ ALFREDO VÁZQUEZ MARTÍNEZ



CIUDAD UNIVERSITARIA, CIUDAD DE MÉXICO 2022



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

JURADO ASIGNADO.

PRESIDENTE: Prof. VÁZQUEZ MARTÍNEZ JOSÉ ALFREDO
VOCAL: Prof. SIMÓN HERNÁNDEZ ORTEGA
SECRETARIO: Prof. MENES ARZATE MARTHA
1ER SUPLENTE Prof. SOLORZANO MALDONADO KATIA
2DO SUPLENTE Prof. ORDOÑEZ HERNÁNDEZ JAVIER

SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA:

Laboratorio L-201, Edificio B, Facultad de Química.

ASESOR DEL TEMA:

Dr. José Alfredo Vázquez Martínez. _____
Firma

SUSTENTANTE:

Azarías Álvarez Hernández. _____
Firma

Agradecimientos.

Primeramente, gracias a Dios por prestarme la vida y por permitirme llegar hasta este momento a pesar de las adversidades, además de poner en mi camino a cada una de las personas de esta lista, quienes me ayudaron a conseguir mi meta de convertirme en Químico de Alimentos.

A mis padres Aurelia y Camilo por todo su amor y paciencia, por su invaluable esfuerzo y por todo el apoyo brindado a lo largo de mi formación académica. Este fue un trabajo que realizamos en equipo y quiero que reconozcan que todo lo conseguido hasta el día de hoy es un logro tan suyo como mío. También agradezco a María de la Luz por todo su cariño, por estar siempre pendiente de mí y de mi progreso académico, por cada uno de sus consejos y por todo su apoyo incondicional en los momentos más críticos de mi carrera y de mi vida.

A mis hermanas Martha y Ana Claudia y a mis hermanos David y Gabriel, por todo su cariño y apoyo incondicional desde mi primer día en la Facultad de Química, sin ustedes nada de esto hubiera sido posible.

Al Dr. José Alfredo Vázquez Martínez por darme la oportunidad de aprender en su laboratorio. Gracias por su paciencia, sus lecciones y recomendaciones. Por todo el tiempo que invirtió en mí.

A todos los miembros del honorable jurado que me apoyó con la revisión de este material, por su tiempo invertido, además de todas sus observaciones y correcciones.

A mi *dream team* Bárbara Ávila, Kassandra Ortiz y Bernardino Brito por su entrañable y valiosísima amistad y por la oportunidad de aprender a lado de los mejores Q.A. de la Generación Centenario. A mis amigas Vania Bermúdez, Blanca I. Sánchez, Margarita Mendoza, Xanaht Ramírez, Jessica Flores, Varsovia Rivera, Gabriela Abud, Arantxa Valencia, Itzamna López, Rebeca A. Sosa, Mariana Montiel y a mis amigos Draco Martínez, Miguel García, Carlos Beltrán, Francisco Franco, Philos Hernández, Noel Celis y Francisco Valencia, gracias por su amistad sincera y por ser mis cómplices en esta gran aventura.

A mis maestros José Alejandro Enríquez y Joan Gamboa por sus consejos y por enseñarme acerca del arte de la mecánica de bicicletas, oficio del cual me sustenté a lo largo de mi carrera. Asimismo, agradezco a la familia Enríquez y a todos mis amigos de *Talleres Olimpic*, en especial a Daniel Herrera, Guillermo García, Enrique Lizárraga y Erick Ramos, quienes siempre estuvieron pendientes de mi progreso en la escuela y me alentaron en todo momento a no desistir hasta convertirme en un profesional de la Química.

Dedicatoria.

Con mucho amor para mis sobrinitos *Esmeralda Gemalli* y *Asher Zabdiel*. Deseo que nunca pierdan esa curiosidad tan distintiva que poseen ahora que son pequeños, para que cuando sean mayores la sigan alimentando, si así lo desean, a través de carrera científica, como lo hizo su tío. Los amo mucho.

Para *Gabriel*, amado hermano. Gracias por todas esas charlas en las que me enseñaste acerca del origen de la ciencia y por no permitir que olvidara lo que la mayoría de los científicos abandonamos en nuestra búsqueda de conocimiento. La semilla cayó en tierra fértil y tus palabras no solo expandieron mi perspectiva, también me orientaron en el camino que escogí. Tu abrupta partida marcó profundamente mi corazón, pero a pesar de que no estés más en este plano terrenal me gustaría contarte que al final lo conseguí, Titán.

Instruye al niño en su carrera: aun cuando fuere viejo, no se apartará de ella.

Proverbios 22:6

RVA

Contenido

Introducción.....	1
Objetivos.....	2
Objetivo general.....	2
Objetivos particulares.....	2
Generalidades de la vinilglicina.....	3
Propiedades fisicoquímicas y registros internacionales.....	4
Caracterización por Resonancia Magnética Nuclear (RMN) y Espectrometría de Masas (MS).....	5
Fuentes naturales de vinilglicina y actividad biológica.....	6
Primer aislamiento de vinilglicina.....	6
Aislamiento de derivados de vinilglicina β -sustituidos.....	7
Aislamiento de derivados de vinilglicina γ -sustituidos.....	8
Aislamiento de derivados de vinilglicina β,γ -sustituidos.....	11
Síntesis química.....	13
Primera síntesis de vinilglicina.....	13
Síntesis basada en bloques de construcción quirales.....	14
Resolución enzimática.....	20
Síntesis empleando auxiliares quirales.....	22
Catálisis asimétrica.....	23
Usos de la vinilglicina.....	25
Vinilglicina como bloque de construcción quiral.....	25
Obtención de β -hidroxiornitina.....	25
Obtención de epóxidos.....	26
Obtención de α -aminoácidos no proteinogénicos.....	27
Obtención de fármacos.....	29
Vinilglicina como inhibidor enzimático.....	31
Enzimas dependientes del cofactor piridoxal-5'-fosfato.....	32
L-vinilglicina como inhibidor de las enzimas dependientes de PLP.....	36
Vinilglicina como herbicida.....	41
Rhizobitoxina.....	42
L-fosfinotricina.....	43
Vinilglicina como fitorregulador químico.....	44
Conclusiones.....	46

Índice de esquemas.

Esquema 1. Primera síntesis de vinilglicina a partir de 2-bromobut-3-enoato de etilo.	13
Esquema 2. Síntesis de L-vinilglicina a través de pirólisis de sulfóxido.	15
Esquema 3. Síntesis de L-vinilglicina con base en reacciones de foto-fragmentación.	16
Esquema 4. Síntesis de L-vinilglicina mediante una eliminación <i>syn</i> de selenóxido.	17
Esquema 5. Síntesis de L-vinilglicina a través reacciones de descarboxilación oxidativa.	18
Esquema 6. Síntesis de L-vinilglicina por la vía radicalaria.	19
Esquema 7. Síntesis de L-vinilglicina mediada por compuestos organometálicos.	20
Esquema 8. Obtención de (<i>S</i>) y (<i>R</i>)-vinilglicina homoquirales por resolución con papaína.	21
Esquema 9. Síntesis D-vinilglicina empleando el reactivo de Schöllkopf.	23
Esquema 10. Síntesis de L-vinilglicina mediada por el complejo catalítico Ni(0)-BIPHEP.	24
Esquema 11. Síntesis de <i>syn</i> - y <i>anti</i> - β -hidroxiornitina empleando L-vinilglicina como <i>quirón</i>	26
Esquema 12. Síntesis de ácido-2'- <i>epi</i> -disticónico mediada por L-vinilglicina como <i>quirón</i>	27
Esquema 13. Uso de L-vinilglicina en reacciones de Heck.	27
Esquema 14. Síntesis de mitomicina empleando D-vinilglicina como <i>quirón</i>	30
Esquema 15. Síntesis de acivicin a partir de L-vinilglicina.	31
Esquema 16. Reactividad del grupo aldehído de P5P para la obtención de iminas.	34
Esquema 17. Mecanismo de β -adición en PLP, poco probable.	38
Esquema 18. Catálisis de KAT empleando vinilglicina como sustrato.	39
Esquema 19. L-vinilglicina como sustrato de ACC sintasa.	40
Esquema 20. Mecanismo de inhibición de enzimas P5P-dependientes a través de <i>vinilglicina</i>	41
Esquema 21. Síntesis de L-fosfinotricina empleando L-vinilglicina como <i>quirón</i>	44
Esquema 22. Formación del aducto AVG-P5P cetimina.	45

Índice de Figuras.

Figura 1. Vinilglicina. (VG).....	1
Figura 2. Estructuras de (<i>R</i>)- y (<i>S</i>)-vinilglicina.....	3
Figura 3. Derivados de vinilglicina sustituidos en C- β	8
Figura 4. Derivados de vinilglicina sustituidos en la posición γ	11
Figura 5. Derivados de vinilglicina β,γ -sustituidos.	12
Figura 6. Vitámeros de la vitamina B ₆	33
Figura 7. Influencia del núcleo de piridina en la catálisis mediada por P5P.	35
Figura 8. Herbicidas tradicionales probados vs. rhizobitoxina.....	43

Índice de Tablas.

Tabla 1. Propiedades físicas y químicas, nombres y números de registro de la DL-vinilglicina.	4
Tabla 2: Desplazamientos químicos (RMN ¹ H y ¹³ C) y fragmentos representativos (EM) para la vinilglicina. ..	5
Tabla 3. Sustituyentes triflatos de arilo/vinilos empleados para la obtención de vinil aminoácidos a través de la síntesis de Heck.....	28

Introducción.

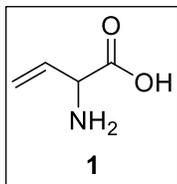


Figura 1. Vinilglicina. (VG).

El ácido 2-aminobut-3-enoico, mejor conocido como *vinilglicina* (VG, **1**), es el más simple y estudiado de la gama de aminoácidos conocidos como α -vinil aminoácidos. Debido a la presencia de un centro estereogénico en la posición C- α , este compuesto puede existir en las configuraciones *R* y *S*. Como ejemplos de su

actividad biológica, se sabe que la L-VG aparece como intermediario en la obtención de α -cetobutirato catalizada por la enzima cistationina- γ -sintasa. Asimismo, se ha comprobado que la VG y sus derivados inhiben la actividad de enzimas dependientes del cofactor fosfato de piridoxal (vitamina B₆), que hasta el día de hoy suman más de 160.

A nivel industrial, la VG tiene aplicaciones en el sector agrícola y de tecnología de alimentos, entre las que destacan su uso como herbicida, fungicida e incluso, como fitorregulador químico para el control de la madurez y senescencia de frutos climatéricos. En el sector farmacéutico, la vinilglicina posee aplicaciones como precursor en la obtención de algunos fármacos como *acivicin* o *mitosens*, mientras que, en química sintética, se emplea como bloque de construcción quiral para la obtención de derivados de α -aminoácidos a través de protocolos de síntesis diastereoselectivos.

Curiosamente, la VG y algunos de sus derivados han sido aislados de diversas fuentes naturales, en su mayoría hongos y bacterias. En la búsqueda de protocolos para la obtención de VG de forma enantiopura, se han diseñado rutas de síntesis abordadas desde diferentes enfoques: la *síntesis asimétrica* que emplea moléculas quirales como bloques de construcción, la *resolución enzimática* que usa enzimas como la papaína, la síntesis enantioselectiva empleando *auxiliares quirales* como el reactivo de Schöllkopf, o la *catálisis asimétrica* basada en catalizadores organometálicos como el complejo Ni(0)-BIPHEP.

La diversidad de funciones que desempeña la VG en sistemas biológicos, junto con la versatilidad de sus aplicaciones a nivel industrial, justifican un estudio profundo acerca del origen natural y los métodos de síntesis que permiten su obtención, además de explorar las aplicaciones más novedosas para el aprovechamiento de este valioso compuesto.

Objetivos.

Objetivo general.

- Investigar y organizar la literatura química relacionada con el origen natural, métodos de síntesis y aplicaciones del aminoácido no proteinogénico vinilglicina.

Objetivos particulares.

- Definir las propiedades fisicoquímicas que permiten la caracterización de la vinilglicina.
- Identificar las fuentes naturales de las que se puede extraer vinilglicina.
- Explorar la actividad biológica que desempeña el aminoácido no proteinogénico vinilglicina.
- Investigar los métodos de síntesis que permiten la obtención de vinilglicina, ya sea en forma de racemato o de manera enantiopura.
- Documentar las aplicaciones que se han desarrollado para el aprovechamiento de la vinilglicina.

Generalidades de la vinilglicina.

El ácido *2-aminobut-3-enoico* (**1**) mejor conocido como vinilglicina (VG), es un α -aminoácido no proteínogénico homólogo a la glicina, que gracias a la presencia de un grupo vinilo en su cadena lateral posee un centro estereogénico que da origen a los enantiómeros (*R*) y (*S*) (Figura 2). La vinilglicina es el α -vinil aminoácido más simple y probablemente el más estudiado de esta categoría de aminoácidos y a pesar de su origen natural, también es posible acceder a él a través de una amplia gama de métodos de síntesis, algunos de ellos incluso estereoselectivos.¹

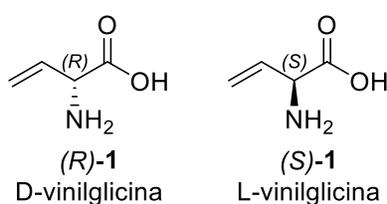


Figura 2. Estructuras de (*R*)- y (*S*)-vinilglicina.

¹ Berkowitz, D. B.; Charette, B. D.; Karukurichi, K. R.; McFadden, J. M. α -Vinylic Amino Acids: Occurrence, Asymmetric Synthesis, and Biochemical Mechanisms. *Tetrahedron Asymmetry* **2006**, *17* (6), 869–882.

Propiedades fisicoquímicas y registros internacionales.

En la Tabla 1 se muestran algunas de las propiedades fisicoquímicas del aminoácido DL-vinilglicina que han sido reportadas en la literatura,² acompañadas de algunos sinónimos e identificadores químicos con los que puede hallarse información en diferentes bases de datos acerca del ácido-2-aminobut-3-enóico.^{2,3,4}

Tabla 1. Propiedades físicas y químicas, nombres y números de registro de la DL-vinilglicina.

Propiedades físicas y químicas	
Fórmula empírica	C ₄ H ₇ NO ₂
Masa molecular	101.10 g·mol ⁻¹
Temperatura de ebullición (760 Torr)	218-220 °C
Densidad (20 °C, 760 Torr)	1.144±0.06 g·cm ⁻³
Solubilidad (pH 7, 25 °C)	63.0 g·L ⁻¹
pK _a (medio ácido, 25 °C)	1.99±0.10
pK _a (medio alcalino, 25 °C)	9.10±0.13
Almacenamiento	Sellado al vacío de 2-8 °C
Sinónimos	
ácido-2-amino-3-butenóico	
DL-vinilglicina	
vinilglicina	
Números de registro	
CAS: 56512-51-7	
NSC: 293168	
FDA UNII: LGD04MMJ5E	
InChIKey: RQVLGLPAZTUBKX-UHFFFAOYSA-N	

² American Chemical Society. CAS Registry Number 56512-51-7

<https://scifinder.cas.org/scifinder/view/scifinder/scifinderExplore.jsf>.

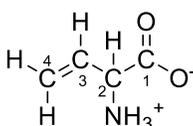
³ National Library of Medicine. RN: 56512-51-7 <https://chem.nlm.nih.gov/chemidplus/rn/56512-51-7>.

⁴ National Center for Biotechnology Information. 2-Amino-3-butenóico acid <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/99963>.

Caracterización por Resonancia Magnética Nuclear (RMN) y Espectrometría de Masas (MS).

La Tabla 2 contiene el resumen de las señales detectadas en un espectro de RMN ^1H y ^{13}C para la caracterización de una muestra experimental de DL-vinilglicina.⁵ De igual manera, se presentan algunas de las señales más definidas, en orden decreciente de abundancia, para los fragmentos ionizados de vinilglicina obtenidos a través de Espectrometría de Masas (EM).⁶

Tabla 2: Desplazamientos químicos (RMN ^1H y ^{13}C) y fragmentos representativos (EM) para la vinilglicina.



Resonancia Magnética Nuclear		
C número	δ_{C} (ppm)	δ_{H} (ppm)
1	173.63	
2	57.84	4.21
3	130.95	5.91
4	122.14	5.42
Espectrometría de masas		
Fragmento	m/z	abundancia relativa
$[\text{H}_2\text{C}=\text{CHC}(\text{NH}_2)\text{H}]^+$	56	1.00
$[\text{O}=\text{C}]^+$	28	0.53
$[\text{H}_2\text{N}-\text{CH}]^+$	29	0.13
$[\text{HO}-\text{CH}]^+$	30	0.13
$[\text{H}_2\text{C}=\text{CC}(\text{NH})\text{H}]^+$	54	0.13

⁵ Hallinan, K. O.; Crout, D. H. G.; Errington, W. Simple Synthesis of L- and D-Vinylglycine (2-Aminobut-3-Enoic Acid) and Related Amino Acids. *J. Chem. Soc. Perkin Trans.* **1994**, No. 24, 3537–3543.

⁶ John Wiley & Sons Inc. SpectraBase Compound ID=3ReonijXEuC
<https://spectrabase.com/compound/3ReonijXEuC#7a5LjT2KzwN>

Fuentes naturales de vinilglicina y actividad biológica.

Primer aislamiento de vinilglicina.

Este α -aminoácido β,γ -insaturado fue aislado por primera vez de una fuente natural en la década de los 70, cuando se logró su extracción del carpóforo de *Rhodophyllus nidorosus*. La recuperación del racemato se realizó empleando resinas de intercambio iónico y recristalización con el par de disolventes EtOH-H₂O.⁷

Para descubrir la identidad del compuesto aislado, se le practicaron diversas pruebas propias de la época. En primera instancia se confirmó la presencia del grupo amino mediante HPLC con el método de Larsen-Kjaer; posteriormente, se comprobó la presencia del enlace doble con base en las pruebas de instauración con bromo y permanganato de potasio. A través de análisis elemental se determinó que la fórmula empírica del compuesto aislado correspondía a C₄H₇NO₂, reafirmando la presencia de un enlace doble. La muestra también se analizó empleando IR, y se encontraron señales características para los hidrógenos del grupo vinilo en 1412, 1290, 990 y 918 cm⁻¹, además de la señal en 1650 cm⁻¹, característica del estiramiento del enlace C=C. La suma de estas evidencias proporcionó los fundamentos para proponer la fórmula HO₂CCH(NH₂)CHCH₂, que correspondía a la de un nuevo compuesto que no había sido aislado antes de ninguna fuente natural: *vinilglicina*.

Después de haber confirmado la presencia de VG en la muestra, se le practicaron análisis para determinar su pureza. Se compararon espectros de IR y RMN de vinilglicina natural y sintética, los cuales resultaron ser prácticamente idénticos y posteriormente se sometió a la muestra a una serie de recristalizaciones sucesivas con el par de disolventes EtOH-H₂O, determinando la rotación óptica del extracto purificado en cada evento. Se descubrió que el compuesto original poseía un ligero exceso del 5% del enantiómero (*S*) y que gracias a los procesos de purificación se consiguió enriquecerlo hasta conseguir 60% de *exceso enantiomérico* (ee) del antípodo (*S*)-1.⁷

⁷ Dardenne, G.; Casimir, J.; Marlier, M.; Larsen, P. O. Acide 2(R)-Amino-3-Butenoique (Vinylglycine) Dans Les Carpophores de *Rhodophyllus Nidorosus*. *Phytochemistry* **1974**, *13* (9), 1897–1900.

El desarrollo de esta investigación reforzó en su momento, la hipótesis que sostenía que “hongos, insectos y anélidos eran capaces de sintetizar D-aminoácidos”⁸ y que se confirmaría años más tarde con el desarrollo de investigaciones posteriores.

Aislamiento de derivados de vinilglicina β -sustituidos.

En los reportes hallados en la literatura también se describen algunos derivados de VG sustituidos en la posición C- β que han sido aislados de diversos hongos; tal es el caso de la L-3,4-dideshidrovalina ((S)-**2**)⁹ aislada de la *fomopsina A* (Figura 3), un péptido lineal de seis miembros con actividad de micotoxina, aislada de *Phomopsis leptostromiformis*.¹⁰ Esta micotoxina es responsable del desarrollo de la *lupinosis*, un padecimiento que ataca al ganado ovino y que puede manifestarse ya sea como un síndrome de disfunción hepática crónica o en los casos más graves como enfermedad hepática aguda, que tiene como consecuencia la muerte del ganado.¹¹

Otro ejemplo de VG β -sustituida hallado en la naturaleza es la β -metilen-L-norvalina ((S)-**3**) aislada de los esporóforos de *Lactarius helvus*¹² y los pétalos de *Philadelphus coronarius* (Figura 3).¹³ La función biológica que este compuesto desempeña no se tiene completamente clara, pero se sabe que análogos de isoleucina pueden ser fácilmente asimilados por la maquinaria nativa biosintética de algunos microorganismos, como es el caso de *Escherichia coli* BL21 starTM (DE3).¹⁴ Esta es una característica que se explota ampliamente en bioingeniería, para la obtención de péptidos de diseño ya que por lo regular,

⁸ Bentley, R. *Molecular Asymmetry in Biology*; Academic Press: New York, 1969.

⁹ Yoganathan, S.; Vederas, J. Nonprotein L-Amino Acids. In *Comprehensive Natural Products II: Chemistry and Biology*; ELSEVIER, 2010; p 16.

¹⁰ Culvenor, C. C. J.; Edgar, J. A.; Mackay, M. F.; P. Gorst-Allman, C.; F.O. Marasas, W.; S. Steyn, P.; Vleggaar, R.; L. Wessels, P. Structure Elucidation and Absolute Configuration of Phomopsin a, a Hexapeptide Mycotoxin Produced by *Phomopsis Leptostromiformis*. *Tetrahedron* **1989**, *45* (8), 2351–2372. [https://doi.org/10.1016/S0040-4020\(01\)83436-0](https://doi.org/10.1016/S0040-4020(01)83436-0).

¹¹ Department of Primary Industries and Regional Development's Agriculture and Food. Lupinosis in sheep <https://www.agric.wa.gov.au/livestock-biosecurity/lupinosis-sheep#:~:text=Lupinosis-,Lupinosis is a liver disease mainly caused by the consumption,a chronic liver dysfunction syndrome>.

¹² Levenberg, B. Isolation and Characterization of β -Methylene-L-(+)-Norvaline from *Lactarius Helvus**. *J. Biol. Chem.* **1968**, *243* (22), 6009–6013.

¹³ Campos, L.; Marlier, M.; Dardenne, G.; Casimir, J. γ -Glutamylpeptides from *Philadelphus Coronarius*. *Phytochemistry* **1983**, *22* (11), 2507–2508.

¹⁴ Liutkus, M.; Fraser, S. A.; Caron, K.; Stigers, D. J.; Easton, C. J. Peptide Synthesis through Cell-Free Expression of Fusion Proteins Incorporating Modified Amino Acids as Latent Cleavage Sites for Peptide Release. *ChemBioChem* **2016**, *17* (10), 908–912. <https://doi.org/10.1002/cbic.201600091>.

después de sintetizar un péptido, en el último paso se requiere que una enzima hidrolasa reconozca una secuencia específica para que pueda “cortar” un enlace peptídico y libere al péptido sintetizado de su respectiva proteína “portadora” (*carrier* en inglés); sin embargo, al incorporar homólogos de aminoácido a un péptido sintetizado, se genera un punto de corte latente que puede ser activado por simple calentamiento o presencia de iones.

La β -metilen-L-norleucina ((*S*)-**4**) es un derivado de VG que ha sido detectado, pero no cuantificado en hongos, como la seta comestible *Amanita vaginata* (Figura 3).¹⁵ A pesar de que no se conoce la función biológica que desempeña, se cree que este vinil aminoácido puede tener un uso potencial como un biomarcador para monitorear el consumo de este tipo de alimentos.¹⁶ Se sabe además, que especies análogas a L-metionina son capaces de inhibir la actividad de la enzima L-metionina S-adenosiltransferasa (EC 2.5.1.6), por lo que el derivado la β -metilen-L-norleucina es un potencial inhibidor de la biogénesis de S-adenosil-L-metionina (SAM),¹⁷ sustrato involucrado en rutas metabólicas relacionadas con procesos de transmetilación, trans-sulfuración y aminopropilación.¹⁸

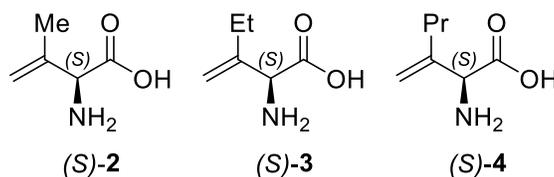


Figura 3. Derivados de vinilglicina sustituidos en C- β .

Aislamiento de derivados de vinilglicina γ -sustituidos.

Se ha reportado la presencia de derivados de VG sustituidos en C- γ en fuentes naturales, como es el caso de la 4*E*-metoxivinilglicina (MVG, (*S*)-**5**) aislada de *Pseudomonas aeruginosa* ATCC-7700 (Figura 4). Este derivado de vinilglicina ha demostrado tener

¹⁵ Vervier, R.; Casimir, J. Isolement et Caracterisation d'un Nouvel Acide Aminé, La β -Méthylène-L-(+)-Norleucine, Dans Les Carpophores d'*amanita Vaginata* Var. Fulva. *Phytochemistry* **1970**, 9 (9), 2059–2060.

¹⁶ Wishart, D.; Feunang, Y.; Marcu, A.; Guo, A.; Liang, K.; Vázquez-Fresno, R.; Sajed, T.; Johnson, D. HMDB 4.0 — The Human Metabolome Database for 2018 <https://hmdb.ca/metabolites/HMDB0030410>.

¹⁷ Coulter, A. W.; Lombardini, J. B.; Talalay, P. Structural and Conformational Analogues of L-Methionine as Inhibitors of the Enzymatic Synthesis of S-Adenosyl-L-Methionine. *Mol. Pharmacol.* **1974**, 10 (2), 293–304.

¹⁸ Caspi, R.; Billington, R.; Keseler, I.; Kothari, A.; Krummenacker, M.; Midford, P.; Ong, W.; Paley, S.; Subhraveti, P.; Karp, P. The MetaCyc database of metabolic pathways and enzymes - a 2019 update. <https://biocyc.org/compound?orgid=META&id=S-ADENOSYLMETHIONINE#>.

múltiples propiedades de inhibidor, entre ellas destaca la obtención de medios de cultivo selectivos, ya que se ha probado que su incorporación impide el desarrollo de *Bacillus* sp.¹⁹

También se ha demostrado su actividad como inhibidor de las enzimas ácido δ -aminolevulínico sintasa y deshidratasa (EC 2.1.1.37 y EC 4.2.1.24), encargadas de la catálisis de dos de las reacciones involucradas en la ruta biosintética del grupo hemo;²⁰ la obtención del ácido aminolevulínico (ALA) a partir de succinil-CoA y glicina y la condensación asimétrica seguida de la ciclación de dos moléculas de ALA para la obtención de porfobilinógeno (PBG).²¹

Otra actividad inhibitoria que se ha estudiado recientemente y que involucra al derivado de VG (*S*)-**5** se enfoca en el mecanismo de germinación de semillas de *Arabidopsis*, el modelo vegetal por excelencia que ha intentado cultivarse incluso en la cara oculta de la luna.²² Se encontró evidencia genética de que este compuesto es responsable de la interrupción de la respuesta fisiológica que desencadena la germinación de semillas dependientes de proteínas DELLA, como en el caso de *Arabidopsis thaliana*, debido a que promueve la acumulación del factor de represión de la germinación ABI5 de manera independiente a la señalización inducida por la fitohormona ácido giberélico, protegiendo así a las plántulas contra el daño debido a condiciones adversas.²³

El isómero *E* de la 4-(2'-aminoetoxy)vinilglicina (AVG, (*S*)-**6**) es otro derivado de VG γ -sustituido (Figura 4) que puede ser bio-sintetizado por *Streptomyces* sp. Al igual que

¹⁹ Scannell, J. P.; Pruess, D. L.; Demny, T. C.; Sello, L. H.; Williams, T.; Stempel, A. Antimetabolites Produced by Microorganisms. V1) L-2-Amino-4-Methoxy-Trans-3-Butenoic Acid. *J. Antibiot. (Tokyo)*. **1972**, 25 (2), 122–127.

²⁰ Dashman, T.; Kamm, J. J. Inhibition of δ -Aminolevulinic Acid Synthetase and δ -Aminolevulinic Acid Dehydrase by L-2-Amino-4-Methoxy-Trans-3-Butenoic Acid in the Rat. *Life Sci*. **1979**, 24 (2), 185–192. [https://doi.org/10.1016/0024-3205\(79\)90129-2](https://doi.org/10.1016/0024-3205(79)90129-2).

²¹ Artimo, P.; Jonnalagedda, M.; Arnold, K.; Baratin, D.; Csardi, G.; De Castro, E.; Duvaud, S.; Flegel, V.; Fortier, A.; Gasteiger, E.; Grosdidier, A.; Hernandez, C.; Ioannidis, V.; Kuznetsov, D.; Liechti, R.; Moretti, S.; Mostaguir, K.; Redaschi, N.; Rossier, G.; Xenarios, I.; Stockinger, H. ExPASy: SIB Bioinformatics Resource Portal. *Nucleic Acids Res*. **2012**, 40 (W1). <https://doi.org/10.1093/nar/gks400>.

²² UNAM-Dirección General de Divulgación de la Ciencia (DGDC). Chang'e-4 o El Descubrimiento de La Cara Oculta de La Luna. *La ciencia en el mundo*. 2019.

²³ Chahtane, H.; Füller, T. N.; Allard, P. M.; Marcourt, L.; Queiroz, E. F.; Shanmugabalaji, V.; Falquet, J.; Wolfender, J. L.; Lopez-Molina, L. The Plant Pathogen *Pseudomonas Aeruginosa* Triggers a DELLA-Dependent Seed Germination Arrest in *Arabidopsis*. *Elife* **2018**, 7. <https://doi.org/10.7554/eLife.37082>.

su homólogo MVG, esta sustancia posee numerosas aplicaciones como inhibidor, ya que se sabe que es capaz de impedir el desarrollo de *Streptomyces cellulosae* en medio mínimo.²⁴

También se ha demostrado que AVG es capaz de inhibir la actividad de enzimas como cistationina γ -liasa (EC 4.4.1.1), enzima clave en el metabolismo de cisteína,²⁵ o la previamente destacada y ampliamente examinada 1-aminociclopropano-1-carboxilato sintasa (ACC sintasa, EC 4.4.1.14), enzima crítica en la biosíntesis de etileno.^{26,27,28} Ya que este compuesto se encuentra estrechamente relacionado con el cultivo de productos agrícolas, se ha difundido ampliamente su uso como herbicida, por lo que se ha establecido un límite máximo de 0.08 ppm de AVG residual en *Pyrus communis* y *Malus domestica*.²⁹

La rhizobitoxina ((*S*)-7) es un análogo de VG γ -sustituido producido por *Rhizobium japonicum* (Figura 4) que es capaz de inhibir el desarrollo de *Salmonella typhimurium* ya que esta especie química bloquea la actividad de la enzima cistationina- β -liasa (EC 4.4.1.8), lo que induce una deficiencia de metionina debido a que queda interrumpida la ruta de reconversión de L-homocisteína a L-metionina.³⁰ *Burkholderia andropogonis* es otro microorganismo capaz de sintetizar este derivado de VG y se ha demostrado que, al igual que la AVG, la rhizobitoxina es capaz de interrumpir la síntesis de etileno debido al bloqueo de la actividad enzimática de ACC sintasa.³¹

²⁴ Pruess, D.; Scannell, J.; Kellett, M.; Ax, H. Antimetabolites Produced by Microorganisms. 1-2-Amino-4-(2-Aminoethoxy)-Trans-3-Butenoic Acid. *J. Antibiot. (Tokyo)*. **1974**, 27 (4), 229–233.

²⁵ Asimakopoulou, A.; Panopoulos, P.; Chasapis, C. T.; Coletta, C.; Zhou, Z.; Cirino, G.; Giannis, A.; Szabo, C.; Spyroulias, G. A.; Papapetropoulos, A. Selectivity of Commonly Used Pharmacological Inhibitors for Cystathionine β Synthase (CBS) and Cystathionine γ Lyase (CSE). *Br. J. Pharmacol.* **2013**, 169 (4), 922–932. <https://doi.org/10.1111/bph.12171>.

²⁶ Heidstra, R.; Yang, W. C.; Yalcin, Y.; Peck, S.; Emons, A. M.; Van Kammen, A.; Bisseling, T. Ethylene Provides Positional Information on Cortical Cell Division but Is Not Involved in Nod Factor-Induced Root Hair Tip Growth in Rhizobium-Legume Interaction. *Development* **1997**, 124 (9), 1781–1787.

²⁷ Shi, Y. H.; Zhu, S. W.; Mao, X. Z.; Feng, J. X.; Qin, Y. M.; Zhang, L.; Cheng, J.; Wei, L. P.; Wang, Z. Y.; Zhu, Y. X. Transcriptome Profiling, Molecular Biological, and Physiological Studies Reveal a Major Role for Ethylene in Cotton Fiber Cell Elongation. *Plant Cell* **2006**, 18 (3), 651–664. <https://doi.org/10.1105/tpc.105.040303>.

²⁸ Gianinetti, A.; Laarhoven, L. J. J.; Persijn, S. T.; Harren, F. J. M.; Petruzzelli, L. Ethylene Production Is Associated with Germination but Not Seed Dormancy in Red Rice. *Ann. Bot.* **2007**, 99 (4), 735–745. <https://doi.org/10.1093/aob/mcm008>.

²⁹ Environmental Protection Agency (EPA). FR-2001-07-12. *Fed. Regist.* **2001**, 66 (134), 36481–36484.

³⁰ Owens, L.; Guggenheim, S.; Hilton, J. Rhizobium-Synthesized Phytotoxin: An Inhibitor of β -Cystathionase in *Salmonella Typhimurium*. *Biochim. Biophys. Acta* **1968**, 158 (2), 219–225.

³¹ Maimaiti, J.; Zhang, Y.; Yang, J.; Cen, Y. P.; Layzell, D. B.; Peoples, M.; Dong, Z. Isolation and Characterization of Hydrogen-Oxidizing Bacteria Induced Following Exposure of Soil to Hydrogen Gas and

La rhizobitoxina también ha sido estudiada como alternativa para la protección de cultivos contra la enfermedad conocida como *pudrición carbonosa*, que afecta a variedades de leguminosas como: frijol, soya, garbanzo y cacahuete. Esta enfermedad se desarrolla debido a que el hongo *Macrophomina phaseolina* se desarrolla hasta lograr la infestación de las raíces de las plántulas en desarrollo. Para probar el efecto protector de la rhizobitoxina, se inocularon semillas de legumbres con *Rhizobium* sp. y se encontró que este derivado de VG es capaz de inhibir completamente el desarrollo de *M. phaseolina* cuando se encuentra en concentraciones $\geq 0.5 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$.^{32,33}

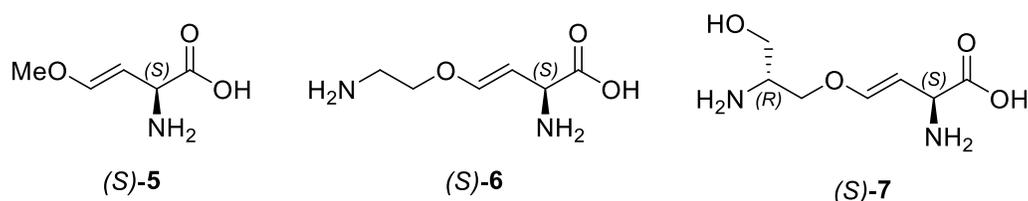


Figura 4. Derivados de vinilglicina sustituidos en la posición γ .

Aislamiento de derivados de vinilglicina β,γ -sustituidos.

Homólogos de VG β,γ -sustituidos como el par de vinil aminoácidos L-ácido-2-amino-3-(hidroximetil)pent-3-enóico y L-ácido-2-amino-3-formilpent-3-enóico ((S)-**8** y (S)-**9**, Figura 5), han sido aislados del hongo *Bankera fuligineoalba*. Debido a la analogía estructural que (S)-**8** mantiene con L-homoserina, se probó la capacidad de este vinil aminoácido como inhibidor de la enzima homoserina deshidrogenasa (EC 1.1.1.3) proveniente de *Rhodospirillum rubrum*, demostrando que es capaz de inactivarla en un amplio rango de concentraciones.³⁴

Their Impact on Plant Growth. *Environ. Microbiol.* **2007**, 9 (2), 435–444. <https://doi.org/10.1111/j.1462-2920.2006.01155.x>.

³² Chakraborty, U.; Purkayastha, R. P. Role of Rhizobitoxine in Protecting Soybean Roots from *Macrophomina Phaseolina* Infection. *Can. J. Microbiol.* **1984**, 30 (3), 285–289. <https://doi.org/10.1139/m84-043>.

³³ Torrealba, J. A.; Pineda, J.; Ulacio, D.; Escalante, H.; Hernández, A. La Pudrición Carbonosa (*Macrophomina Phaseolina*) En Soya y Su Manejo Mediante Aplicaciones de *Trichoderma* Spp. y *Rhizobium* Sp. *Bioagro* **2015**, 27 (3), 159–166.

³⁴ Doyle, R. R.; Levenberg, B. Identification of Two New β -Unsaturated Amino Acids in the Mushroom, *Bankera Fuligineoalba*. *Biochemistry* **1968**, 7 (7), 2457–2462.

El análogo clorado de glutamato (*R*)-ácido-4-amino-3-cloropent-2-enóico ((*R*)-**10**, Figura 5), es un derivado de VG β,γ -sustituido aislado de *Streptomyces viridogenes*, que presenta actividad antimicrobiana contra *Micrococcus letus*.³⁵

A través de la reacción de condensación entre (*R*)-**10** y valina, se obtiene el quimioterapéutico FR-900148³⁶ (Figura 5, L-Val-(*R*)-**10**). Este fármaco de amplio espectro ha demostrado su capacidad para interferir con la síntesis de la pared celular de microorganismos como *Bacillus subtilis*, *Sarcina lutea*, *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus fecalis*, *Corynebacterium diphtheriae*, *Escherichia coli*, *Salmonella thypi*, *Salmonella paratyphi*, *Shigella flexneri*, *Pseudomonas aeruginosa*, entre otros.

El valor agregado de FR-900148 reside en el hecho de que, a pesar de que su estructura química incorpora al átomo de cloro heredado de (*R*)-**10**, este quimioterapéutico presentó baja toxicidad para animales de laboratorio durante el desarrollo de bioensayos.³⁷

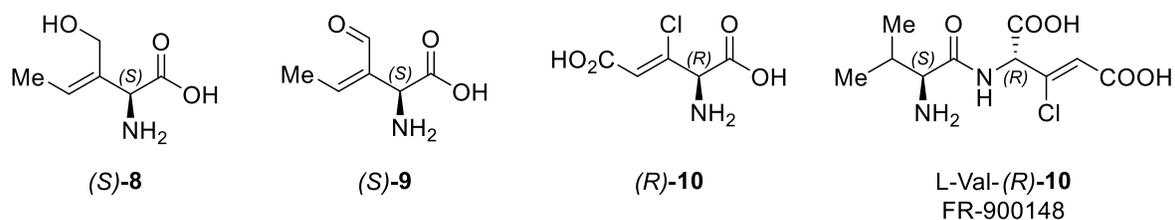


Figura 5. Derivados de vinilglicina β,γ -sustituidos.

³⁵ Chaiet, L.; Arison, B. H.; Monaghan, R. L.; Springer, J. P.; Smith, J. L.; Zimmerman, S. B. [R-(Z)]-4-Amino-3-Chloro-2-Pentenedioic Acid, a New Antibiotic Fermentation, Isolation and Characterization. *J. Antibiot. (Tokyo)*. **1984**, 37 (3), 207–210.

³⁶ *Dictionary of Antibiotics and Related Substances: with CD-ROM*, 2nd ed.; Bycroft, B. W., Payne, D. J., Eds.; CRC Press, 2013. <https://doi.org/10.1201/9781482282153>.

³⁷ Kuroda, Y.; Okuhara, M.; Goto, T.; Yamashita, M.; Iguchi, E.; Kohsaka, M.; Aoki, H.; Imanaka, H. FR-900148, A New Antibiotic. I. Taxonomy, Fermentation, Isolation and Characterization. *J. Antibiot. (Tokyo)*. **1980**, 33 (3), 259–266. <https://doi.org/10.7164/antibiotics.33.259>.

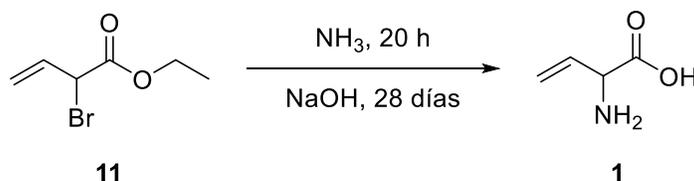
Síntesis química.

Existen reportes de métodos de síntesis en los que se ha logrado preparar con éxito a uno o ambos enantiómeros de vinilglicina. A pesar de que algunos de ellos son adaptaciones de métodos clásicos para la *síntesis de aminoácidos quirales*, vale la pena examinarlos, debido a que se trata de síntesis específicas dirigidas a la obtención del compuesto que motiva este trabajo de investigación.

Primera síntesis de vinilglicina.

Durante mucho tiempo, la relativa “inestabilidad” de la vinilglicina frente al tratamiento con calor, ácido o álcali, representó un problema para lograr su obtención con rendimientos aceptables y en adición, los protocolos con los que se conseguía la síntesis en cantidades representativas, se sufrían pérdidas significativas debido al trabajo de purificación. Este inconveniente quedó superado en 1974, año en el que además de su primer aislamiento de una fuente natural, también se reportó por primera vez su síntesis a través de dos métodos diferentes.³⁸

La primera estrategia de síntesis se basó en una adaptación del método de Strecker para la obtención de α -aminoácidos con la que, empleando acroleína como sustrato, se consiguió la síntesis de DL-vinilglicina con un rendimiento discreto del 1.1%. La segunda síntesis se llevó a cabo a través de la aminación y saponificación en frío del 2-bromobut-3-enoato de etilo (Esquema 1). A pesar de laboriosidad que implicaba el desarrollo de este método, se consiguió un rendimiento del 6.6%, convirtiéndolo en su momento, en la estrategia de síntesis más robusta para la obtención de DL-vinilglicina.³⁸



Esquema 1. Primera síntesis de vinilglicina a partir de 2-bromobut-3-enoato de etilo.

³⁸ Friis, P.; Helboe, P.; Larsen, P. O. Synthesis and Resolution of Vinylglycine, a β,γ -Unsaturated α -Amino Acid. *Acta Chem. Scand.* **1974**, 28 (B), 317–321. <https://doi.org/10.3891/acta.chem.scand.28b-0317>.

Debido a la inestabilidad del compuesto recuperado, su resolución a través de métodos químicos resultó complicada. Una alternativa explorada fue la resolución a través de métodos enzimáticos, en una primera aproximación se empleó a la enzima L-aminoácido oxidasa (EC 1.4.3.2, LAAO), consiguiendo una resolución modesta con un exceso enantiomérico (*ee*) <25% del antípodo D. Con el objetivo de mejorar la resolución, un segundo intento se realizó sometiendo a la DL-vinilglicina a la acción de la levadura (*Saccharomyces cerevisiae*) durante el proceso de fermentación de sucrosa, logrando el aislamiento del enantiómero D del vinil aminoácido con *ee* >90%, $[\alpha]_D$ de -93.8 (*c* 1.5, H₂O), T_f 216-218 °C.

A través del análisis por espectrofotometría-UV se detectaron las señales características a 210 y 190 nm asociadas con los grupos carboxilato y vinilo de la vinilglicina, y por medio de RMN, se detectaron las resonancias en 4.29 (CHCO₂⁻), 5.97 (CH=CH), 5.48 (CH=CHH (*cis*)) y 5.48 (CH=CHH (*trans*)) ppm, que integran para cada uno de los protones del compuesto vinílico.

A pesar de que estas estrategias de síntesis requerían de mucho tiempo, recursos y pasos de purificación, constituyeron el parteaguas necesario para el desarrollo de nuevas metodologías más sofisticadas que permitieron el acceso a rutas estereoespecíficas y con mejores rendimientos, como las que se discuten a continuación.

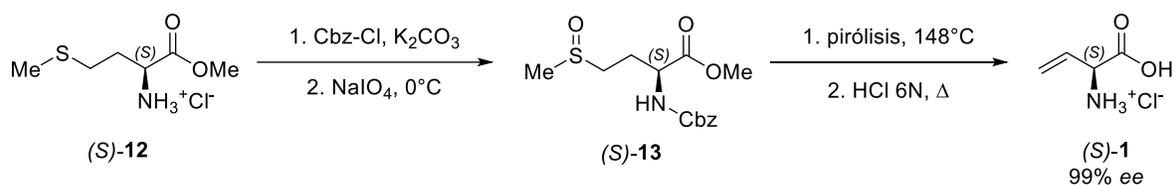
Síntesis basada en bloques de construcción quirales.

El término *quirón* (*chiron*, en inglés) es la contracción de las palabras anglosajonas *chiral* y *synthon*, y hace referencia a una *unidad estructural* o *bloque de construcción* quiral, de alta pureza enantiomérica, que se encuentra relacionado en *forma*, *estructura* o *estereoquímica* con posibles operaciones sintéticas que conduzcan a la obtención de una molécula objetivo, y que generalmente son pequeños derivados de aminoácidos, carbohidratos, hidroxiácidos, terpenos y algunas lactonas.^{39,40}

³⁹ Hanessian, S. The Enterprise of Synthesis: From Concept to Practice. *Journal of Organic Chemistry*. American Chemical Society August 17, **2012**, pp 6657–6688. <https://doi.org/10.1021/jo300902m>.

⁴⁰ Corey, E. J. General Methods for the Construction of Complex Molecules. *Pure Appl. Chem.* **1967**, *14* (1), 19–38. <https://doi.org/10.1351/pac196714010019>.

Bajo este enfoque de síntesis, se desarrolló la primera metodología para la obtención de L-vinilglicina empleando L-metionina como *quirón* (Esquema 2). La reacción entre el *quirón* y 2,2-dimetoxipropano (DMP) en medio ácido, permitió la recuperación del clorhidrato de metiléster (*S*)-**12** de manera cuantitativa. El tratamiento de (*S*)-**12** con cloroformiato de bencilo bajo las *condiciones de Schotten-Baumann* (NaHCO₃/H₂O-EtOH) para conseguir la protección del grupo α -amino con Cbz, seguida de la oxidación con metaperyodato de sodio genera como producto de reacción el sulfóxido (*S*)-**13**. Finalmente, la pirólisis del producto (*S*)-**13** bajo las *condiciones de Kugelrohr* (148 °C, 3 mmHg), seguida de la hidrólisis ácida con HCl 6N, permite aislar el clorhidrato de L-vinilglicina con 99% *ee* y un rendimiento de síntesis del 90%.⁴¹

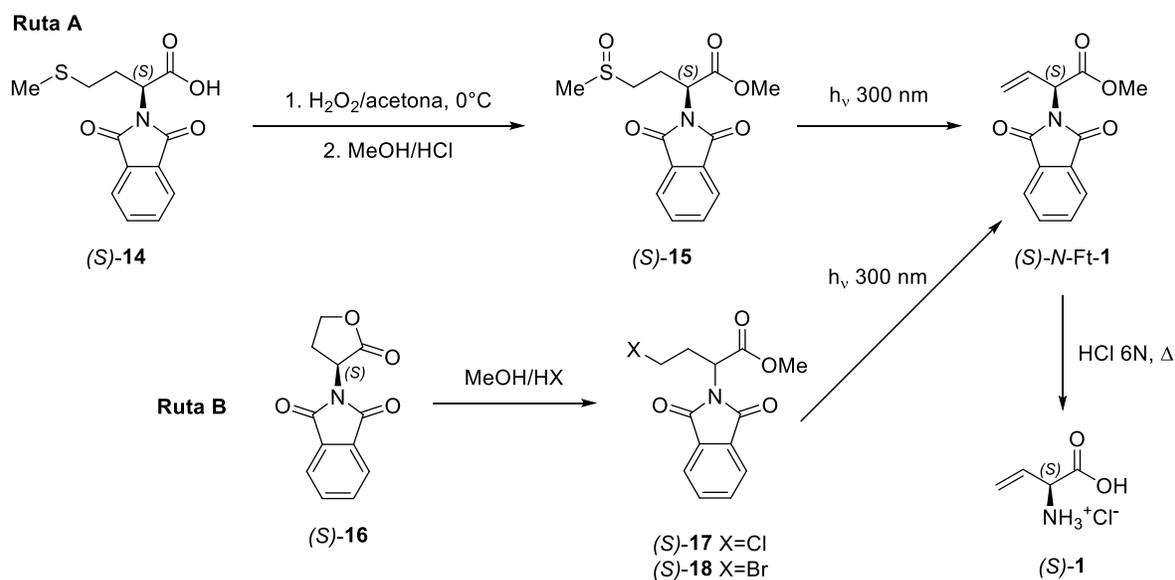


Esquema 2. Síntesis de L-vinilglicina a través de pirólisis de sulfóxido.

La síntesis de L-vinilglicina empleando *quirones* y técnicas de foto-fragmentación se encuentra reportada en la literatura química. A través de la condensación vía microondas entre anhídrido ftálico y L-metionina, se obtiene como producto de síntesis homoquiral la (*S*)-ftaloilmetionina (*S*)-**14**. La oxidación de (*S*)-**14** con H₂O₂/acetona, seguida de la reacción de esterificación con MeOH en medio ácido, conduce al aislamiento del sulfóxido (*S*)-**15** y como último paso, la irradiación a 300 nm empleando acetonitrilo como disolvente, hace posible la recuperación del derivado de vinilglicina (*S*)-*N*-Ft-**1** con un rendimiento de síntesis de 90%. La reacción de desprotección del grupo amino se lleva a cabo a través de pirólisis ácida, lo que permite el aislamiento del clorhidrato de L-vinilglicina con un rendimiento de síntesis de 85% y un *ee* >95% (Esquema 3, Ruta A). Desafortunadamente, este protocolo no es lo suficientemente robusto para obtener el producto de interés cuando el sustrato se encuentra en una concentración >10 mmol·L⁻¹, debido a las reacciones fotoquímicas secundarias que ocurren en la cadena lateral. El rendimiento limitado por la baja

⁴¹ Afzali-Ardakani, A.; Rapoport, H. L-Vinylglycine. *J. Org. Chem.* **1980**, *45* (24), 4817–4820.

concentración del sustrato impuesto sobre la Ruta A, puede superarse fácilmente si se sustituyen el *quirón* alifático por derivados halogenados de *N*-ftaloil-L-homoserina lactona, obtenidos a través de hidrólisis ácida con el haloácido correspondiente, usando MeOH como disolvente (Esquema 3, Ruta B). Los *quirones* (*S*)-**17** y (*S*)-**18** demostraron ser especies más estables bajo condiciones de irradiación prolongada, permitiendo la obtención del producto de interés (*S*)-*N*-Ft-**1** a mayor escala, con un rendimiento de síntesis general del ~70%.⁴²



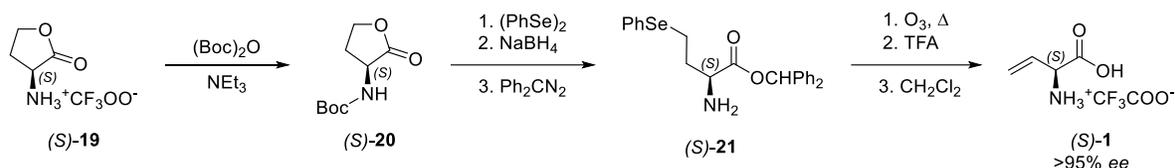
Esquema 3. Síntesis de L-vinilglicina con base en reacciones de foto-fragmentación.

Se cuenta con el reporte de un método práctico y económico para lograr la síntesis de una sal de L-vinilglicina empleando L-homoserina lactona como *quirón* (Esquema 4). Como primer paso de la ruta de síntesis, se lleva a cabo la reacción de protección con Boc de la lactona de L-homoserina (*S*)-**19** para lograr la recuperación del *quirón* protegido (*S*)-**20**. Posteriormente, (*S*)-**20** se transforma en el fenilselenolato correspondiente en presencia de borohidruro de sodio y difenil diselenuro, al que consecutivamente se le da tratamiento con difenildiazometano, lo que permite el aislamiento del fenilselenuro (*S*)-**21**.

Finalmente, la pirólisis en condiciones oxidantes a través del tratamiento con ozono libera al selenóxido y permite el establecimiento del enlace doble entre los carbonos β - γ del

⁴² Griesbeck, A. G.; Hirt, J. A Photochemical Route to Vinylglycine and a Vinylglycine Dipeptide. *Liebigs Ann.* **1995**, *1995* (11), 1957–1961.

vinil aminoácido protegido, al que posteriormente se le da tratamiento con ácido trifluoroacético usando cloruro de metileno como disolvente, para generar como producto de síntesis el trifluoroacetato de L-vinilglicina (*S*)-**1** con un rendimiento general de 72% y un exceso enantiomérico $\geq 95\%$.⁴³



Esquema 4. Síntesis de L-vinilglicina mediante una eliminación *syn* de selenóxido.

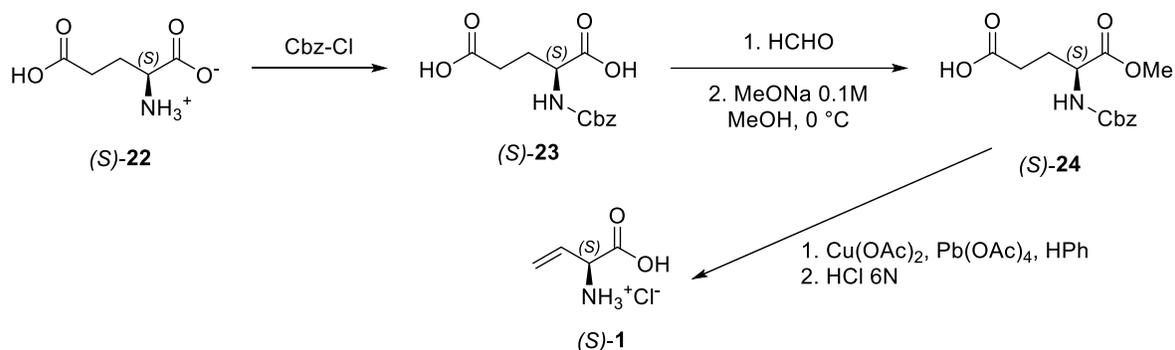
Un método sencillo y económico para la obtención de L-vinilglicina se encuentra reportado en la literatura y emplea L-ácido glutámico como *quirón*, un precursor de fácil acceso (Esquema 5). En la primera etapa de la ruta sintética se lleva a cabo la reacción de protección del grupo amino del L-glutamato (*S*)-**22** con Cbz, para obtener el *quirón* protegido (*S*)-**23**. El tratamiento de este último compuesto con formaldehído permite formar la oxazolidinona correspondiente, la cual se trata *in situ* con metóxido de sodio y metanol como disolvente a 0 °C, para obtener el precursor (*S*)-**24**. El tratamiento de (*S*)-**24** con acetato de cobre II como catalizador, en atmósfera de argón y empleando benceno como disolvente, prepara el medio para que la reacción de descarboxilación oxidativa tenga lugar sobre el carbono γ de (*S*)-**24**, tras la adición de acetato de plomo IV.

Posterior al establecimiento del enlace doble, se recupera como producto de síntesis el metiléster de *N*-Cbz-L-vinilglicina, al que se le da tratamiento con HCl 6N para permitir el aislamiento del clorhidrato de L-vinilglicina (*S*)-**1**, con un rendimiento de síntesis general del 82%.⁴⁴ Aunque el exceso enantiomérico del producto de síntesis no se encuentra reportado, los valores de rotación óptica ($[\alpha]_{\text{D}} +78.2$ (H₂O, *c* 0.5)) y temperatura de fusión

⁴³ Berkowitz, D. B.; Smith, M. K. A Convenient Synthesis of L- α -Vinylglycine from L-Homoserine Lactone. *Synthesis (Stuttg)*. **1996**, No. 1, 39–41.

⁴⁴ Hanessian, S.; Sahoo, S. P. A Novel and Efficient Synthesis of L-Vinylglycine. *Tetrahedron Lett*. **1984**, 25 (14), 1425–1428.

(171-173 °C) coinciden con los mismos parámetros fisicoquímicos reportados previamente por Afzali-Ardakani⁴⁰ y Griesbeck⁴¹, por lo que se asume un *ee* de por lo menos el 95%.



Esquema 5. Síntesis de L-vinilglicina a través reacciones de descarboxilación oxidativa.

Otra estrategia de síntesis que emplea L-ácido glutámico como *quirón*, se encuentra documentada en la literatura química y se basa en química de radicales libres para lograr la obtención de L-vinilglicina (Esquema 6).⁴⁵

Para conseguirlo, se llevan a cabo el par de reacciones de condensación ilustradas en las primeras etapas del Esquema 5, para la recuperación del *quirón* protegido (S)-24. Posterior a ello, se prepara el medio de reacción disolviendo (S)-24 en THF bajo atmósfera de N₂, acompañado de la mezcla 1:1 de clorofornio de isobutilo y *N*-metilmorfolina como catalizador. Después del acondicionamiento previo se adiciona cuidadosamente el precursor 1-hidroxipiridina-2-selenona, y se mantiene en agitación vigorosa durante una hora a -15 °C, lo que permite la recuperación del éster precursor (S)-25.

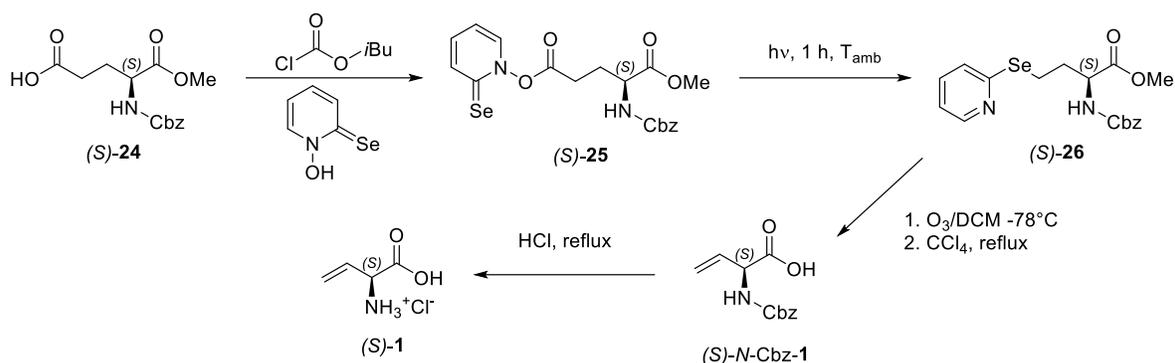
Para conseguir la descarboxilación oxidativa por la vía fotoquímica, se irradia el producto (S)-25 con lámparas de tungsteno con 100 W de potencia a temperatura ambiente durante una hora, lo que permite la formación del γ -piridilselenido (S)-26. Finalmente, la pirólisis oxidativa del producto (S)-26 permite la introducción del grupo α -vinilo en el

⁴⁰ Afzali-Ardakani, A.; Rapoport, H. L-Vinylglycine. *J. Org. Chem.* **1980**, *45* (24), 4817–4820.

⁴¹ Griesbeck, A. G.; Hirt, J. A Photochemical Route to Vinylglycine and a Vinylglycine Dipeptide. *Liebigs Ann.* **1995**, *1995* (11), 1957–1961.

⁴⁵ Barton, D. H. R.; Crich, D.; Hervé, Y.; Potier, P.; Thierry, J. The Free Radical Chemistry of Carboxylic Esters of 2-Selenopyridine-N-Oxide: A Convenient Synthesis of (L)-Vinylglycine. *Tetrahedron* **1985**, *41* (19), 4347–4357.

compuesto de interés, para conseguirlo, (*S*)-**26** se disuelve en diclorometano, se satura con ozono y se mantiene en agitación vigorosa durante 15 minutos a $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. El producto de reacción corresponde a la L-vinilglicina protegida con Cbz, que fácilmente puede ser transformada en el clorhidrato de L-vinilglicina ((*S*)-**1**) con la adición de HCl 6N. Siguiendo esta metodología es posible la recuperación de L-vinilglicina homoquiral, posterior a su recristalización en acetona, con un rendimiento del 91%.⁴⁵



Esquema 6. Síntesis de L-vinilglicina por la vía radicalaria.

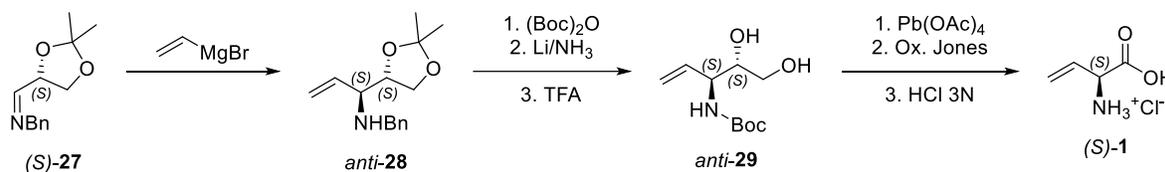
También se ha reportado un método de síntesis para la obtención de L-vinilglicina en el que se toma como sustrato de partida D-gliceraldehído, un *quirón* verdaderamente accesible en cuanto a abundancia se refiere (Esquema 7).⁴⁶

A partir del precursor 2,3-*O*-isopropilideno-D-gliceraldehído, se prepara la bencilimina quirral (*S*)-**27**, cuyo centro estereogénico se usa para inducir quiralidad en el carbono adyacente de la posición α . Gracias al tratamiento con el reactivo de Grignard *bromuro de vinilmagnesio*, se favorece la reacción de adición altamente diastereoselectiva que permite la introducción del grupo vinilo en el carbono α de (*S*)-**27**, lo que a su vez tiene como consecuencia la formación del diastéromero homoquiral *anti*-**28**.

La recuperación del precursor *anti*-**29** se lleva a cabo a través de tres reacciones consecutivas (protección, eliminación e hidrólisis). La reacción de protección se encuentra mediada por la condensación entre Boc_2O y el producto *anti*-**28**; posteriormente, el

tratamiento con litio/amoniaco permite la hidrólisis del grupo protector *N*-bencilo en un medio controlado para no comprometer la integridad estereoquímica del grupo amino. Finalmente, la adición de ácido trifluoroacético conduce a la hidrólisis del acetaldehído, lo que permite la recuperación del precursor 1,2-diol *anti*-**29**.

El tratamiento para conseguir la ruptura oxidativa de *anti*-**29** también se realiza en dos etapas, la primera de ellas emplea $\text{Pb}(\text{OAc})_4$ como agente oxidante para dar paso a la formación del aldehído correspondiente, al que se le da tratamiento en crudo con el *reactivo de Jones* ($\text{Na}_2\text{Cr}_2\text{O}_7/\text{H}_2\text{SO}_4$) para permitir la formación del antípodo *S* de *N*-Boc-vinilglicina. La recuperación del producto de interés (*S*)-**1** se lleva a cabo mediante la adición de HCl 3N, para hidrolizar al grupo protector y obtener el clorhidrato de L-vinilglicina enantiopuro, con un rendimiento de síntesis general de 45%.⁴⁶



Esquema 7. Síntesis de L-vinilglicina mediada por compuestos organometálicos.

Resolución enzimática.

Los métodos enzimáticos que permiten la obtención de α -aminoácidos se han desarrollado ampliamente a lo largo del tiempo, tanto a escala laboratorio como a nivel industrial. Las transformaciones mediadas por enzimas pueden agruparse en dos bloques principales: la *resolución enzimática* de derivados de aminoácido racémicos y las *reacciones asimétricas* para la formación de enlaces.⁴⁷ Un ejemplo que ilustra a la perfección el uso de enzimas para la resolución de mezclas racémicas reporta el uso de *papaína* para resolver el racemato de DL-vinilglicina en un proceso de tres etapas (Esquema 8).⁵

⁵ Hallinan, K. O.; Crout, D. H. G.; Errington, W. Simple Synthesis of L- and D-Vinylglycine (2-Aminobut-3-Enoic Acid) and Related Amino Acids. *J. Chem. Soc. Perkin Trans.* **1994**, No. 24, 3537–3543.

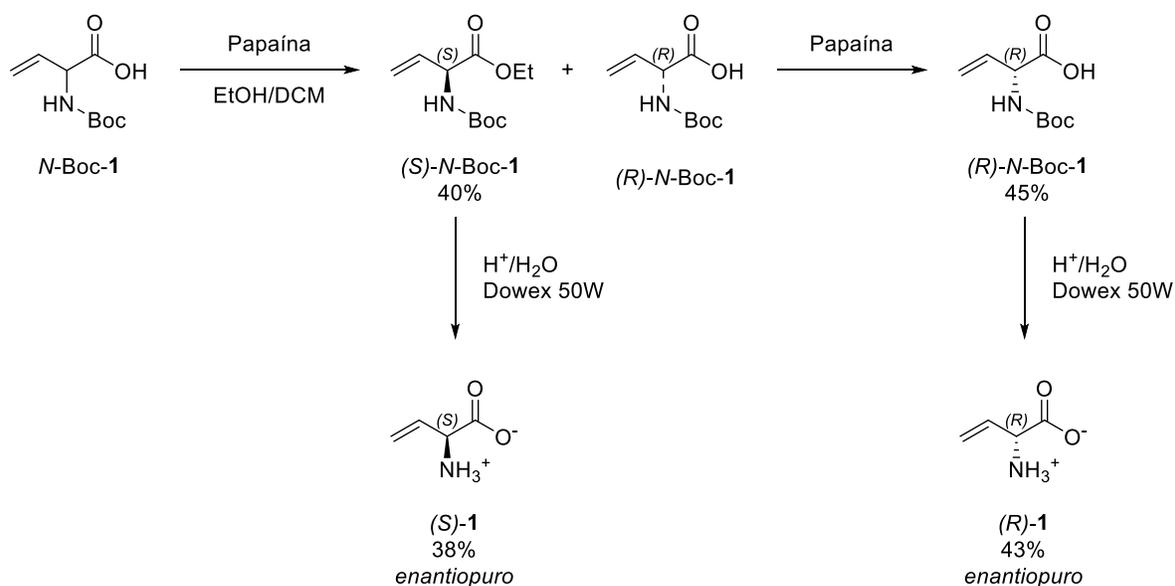
⁴⁶ Badorrey, R.; Cativiela, C.; Díaz-de-Villegas, M. D.; Gálvez, J. A. A Convenient Synthesis of L- α -Vinylglycine from D-Mannitol. *Synthesis (Stuttg.)* **1997**, 1997 (7), 747–749.

⁴⁷ Carreira, E. M.; Kvaerno, L. Amino Acids. In *Classics in stereoselective synthesis*; Wiley-VCH: Federal Republic of Germany, 2009; pp 315–321.

En la primera etapa de la ruta, una mezcla de *papaína*, L-cisteína, EDTA tetrasódico y el racemato, se disuelven en buffer de fosfatos pH 4.2 y se incuban a 37 °C durante 48 h. Se realiza el trabajo de reacción filtrando sobre celita y se lava el sobrenadante con AcOEt/H₂O 1:1, se separan las fases y la acuosa se acidifica hasta pH 1 para ser extraída nuevamente con AcOEt. Las fases orgánicas se mezclan, secan y concentran a presión reducida y el residuo se purifica por cromatografía flash, eluyendo con éter/AcOEt 9:1 para recuperar al isómero (*S*)-*N*-Boc-1 con un rendimiento del 80%.

En la segunda etapa, se recupera al enantiómero (*R*) de la fracción acuosa derivada de la segunda extracción del crudo, se añade sulfato ácido de potasio para llevar a pH 2 y se extrae nuevamente con AcOEt, la fracción orgánica se seca y concentra *in vacuo* y al residuo recuperado se le da un segundo tratamiento con *papaína* para eliminar trazas del enantiómero (*S*), permitiendo la recuperación del isómero (*R*)-*N*-Boc-1 con un rendimiento de 90%.

La tercera y última etapa consiste en la hidrólisis del grupo protector Boc en medio ácido empleando una columna Dowex 50W-X8 equipada con resina de intercambio iónico, lo que permite la recuperación de los compuestos *homoquirales* (*S*)-1 y (*R*)-1. Con esta metodología se logra resolver el racemato con un *rendimiento general* del 81%, lo que representa una recuperación *individual* del 76% del enantiómero L y 86% del antípodo D, ambos en forma enantiopura.



Esquema 8. Obtención de (*S*) y (*R*)-vinilglicina homoquirales por resolución con *papaína*.

Síntesis empleando auxiliares quirales.

La *alquilación diastereoselectiva de enolatos de glicina incorporando auxiliares quirales* es una de las técnicas que se ha desarrollado como alternativa para la síntesis asimétrica de aminoácidos quirales. Entre la amplia gama de auxiliares quirales que se han sintetizado para este propósito, destaca el *reactivo de Schöllkopf*, un equivalente de glicina que puede ser preparado fácilmente a través de la reacción de condensación entre valina y glicina. Para conseguir la síntesis de un producto con alto exceso enantiomérico por esta vía, se requiere de una reacción de *O*-alquilación altamente diastereoselectiva, y se ha demostrado que esto es posible gracias al ataque con agentes alquilantes posterior a la abstracción de un protón con *n*-BuLi, aprovechando el impedimento estérico que el residuo isopropilo de la valina establece en el centro estereogénico de la pirazina (*S*)-**30**.⁴⁶

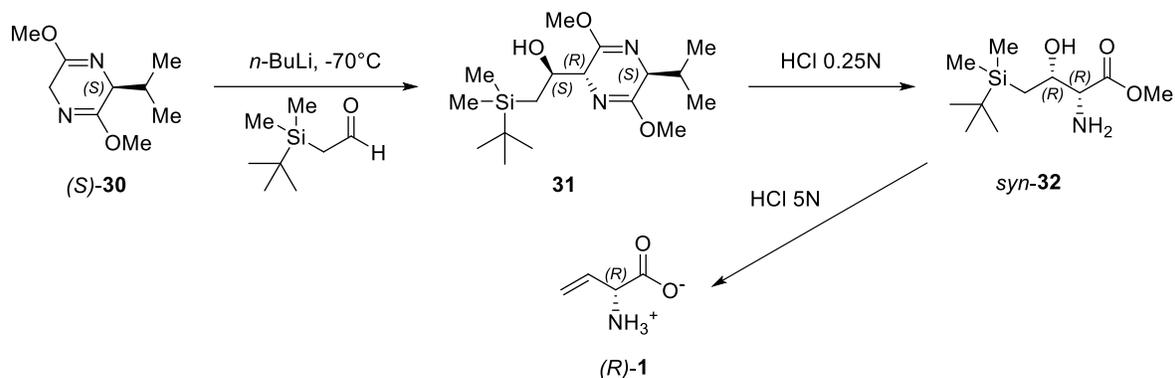
En la literatura química se encuentra reportada una ruta de síntesis basada en el *reactivo de Schöllkopf* para lograr la síntesis de D-vinilglicina (Esquema 9). En la primera etapa de la ruta sintética, se hace reaccionar *n*-BuLi con la pirazina (*S*)-**30** a -70 °C, para conseguir la abstracción de uno de los protones de la posición *trans* con respecto al isopropilo de la valina, y así recuperar la bislactima litiada que es susceptible al ataque del agente alquilante 2-(*tert*-butildimetilsilil)acetaldehído, permitiendo la formación de la bislactima *O*-sustituida **31**.

El tratamiento del producto **31** con dos equivalentes de HCl 0.25N a temperatura ambiente hidroliza al reactivo de Schöllkopf, lo que permite la liberación del metiléster de L-valina y el precursor α -amino- β -hidroxi sililéster *syn*-**32**. Los productos de reacción se separan por cromatografía y el éster *syn*-**32** se convierte en D-vinilglicina mediante reflujo con HCl 5N, con un rendimiento de 62% y un valor $[\alpha]_{20}^D = -81.1$.⁴⁸ Tomando como referencia el valor de -93.8 reportado para el isómero (*R*) de vinilglicina,³⁷ podemos suponer que esta síntesis entrega un producto con un exceso enantiomérico ~86.5%.

³⁷ Friis, P.; Helboe, P.; Larsen, P. O. Synthesis and Resolution of Vinylglycine, a β,γ -Unsaturated α -Amino Acid. *Acta Chem. Scand.* **1974**, 28 (B), 317–321. <https://doi.org/10.3891/acta.chem.scand.28b-0317>.

⁴⁶ Carreira, E. M.; Kvaerno, L. Amino Acids. In *Classics in stereoselective synthesis*; Wiley-VCH: Federal Republic of Germany, **2009**; pp 315–321.

⁴⁸ Schöllkopf, U.; Nozulak, J.; Groth, U. Asymmetric Synthesis via Heterocyclic Intermediates-XXII: Enantioselective Synthesis of α -Alkenyl Glycine Methyl Esters and α -Alkenyl Glycines (β,γ -Unsaturated Amino Acids). *Tetrahedron* **1984**, 40 (8), 1409–1417.



Esquema 9. Síntesis D-vinilglicina empleando el reactivo de Schöllkopf.

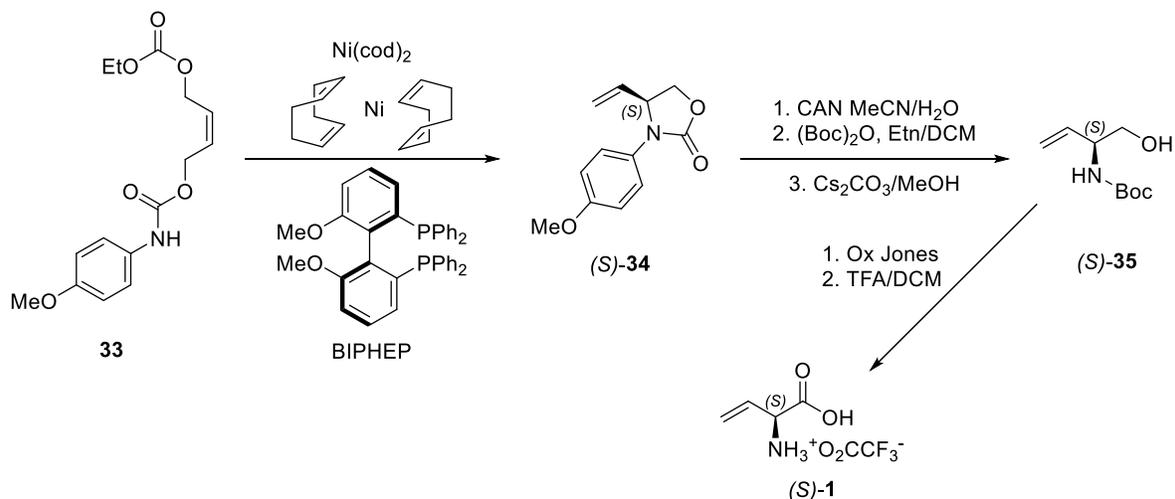
Catálisis asimétrica.

Se ha documentado el primer método catalítico de aminación alílica mediado por Ni(0) para la obtención de L-vinilglicina (Esquema 10). Como primer paso en esta estrategia de síntesis se disuelve el PMP-carbamato **33** en tolueno, mientras que, de manera simultánea, el ligante bidentado BIPHEP y el catalizador Ni(cod)₂ son disueltos en THF recién destilado bajo atmósfera de argón, para permitir la formación del complejo catalizador Ni(0)-BIPHEP. Una vez que el complejo se ha formado, se mezcla con el precursor **33** y una cantidad equimolar de LiHMDS. Después de 6 h, se detiene la reacción con NH₄Cl y se extrae con éter para recuperar como producto de síntesis la viniloxazolidona quiral (S)-**34** con un rendimiento del 88% y 75% *ee*.

Afortunadamente, se puede incrementar el exceso del antípodo L en el producto de síntesis si se lleva a cabo una recristalización por par de disolventes en la mezcla éter-hexano con trazas de DCM, lo que permite la recuperación de un producto refinado con 97% *ee*. La tercera recristalización empleando el mismo sistema de disolventes permite el enriquecimiento del producto de síntesis por encima del 99% *ee* del enantiómero L.

Posterior al trabajo de refinamiento, el tratamiento del *quirón* (S)-**34** con nitrato de amonio y cerio (IV) (CAN) permite la hidrólisis del grupo protector *p*-metoxifenilo (PMP), liberando al grupo amino para la reacción de condensación con el grupo Boc, previa a la hidrólisis de la viniloxazolidinona con Cs₂CO₃ que conduce a la recuperación del Boc-vinilglicinol (S)-**35**. Para conseguir la síntesis del trifluoracetato de L-vinilglicina se requiere

oxidar el producto (*S*)-**35** empleando $\text{Na}_2\text{Cr}_2\text{O}_7/\text{H}_2\text{SO}_4$ (reactivo de Jones). Finalmente, se lleva a cabo la hidrólisis del grupo protector Boc con exceso de ácido trifluoroacético, lo que permite recuperar la sal (*S*)-**1** con rendimiento del 85%.⁴⁹



Esquema 10. Síntesis de L-vinilglicina mediada por el complejo catalítico Ni(0)-BIPHEP.

⁴⁹ Berkowitz, D. B.; Maiti, G. Following an ISES Lead: The First Examples of Asymmetric Ni(0)-Mediated Allylic Amination. *Org. Lett.* **2004**, 6 (16), 2661–2664.

Usos de la vinilglicina.

Las aplicaciones que se le pueden dar a la vinilglicina y sus derivados constituyen un abanico muy amplio de posibilidades, pero la mayoría de ellas se sustentan en dos características fundamentales: el uso de vinilglicina como inhibidor enzimático o como bloque de construcción quiral. A continuación, analizaremos algunos ejemplos de rutas de síntesis asimétricas basadas en vinilglicina.

Vinilglicina como bloque de construcción quiral.

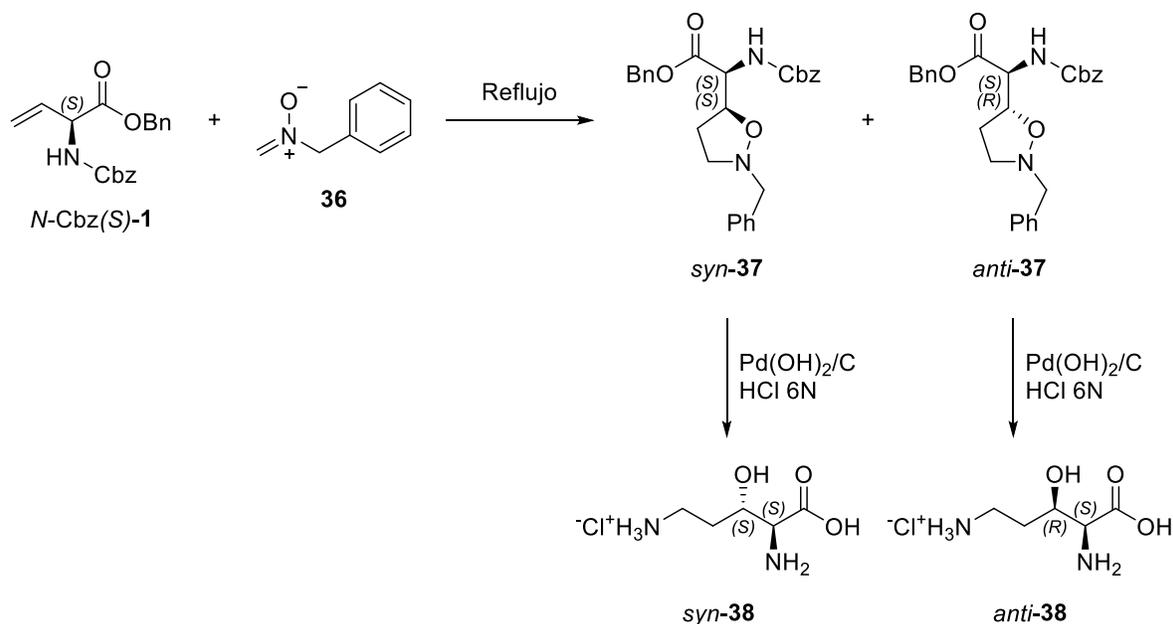
Así como su obtención requiere de aminoácidos enantioméricamente puros como sustratos de partida, la vinilglicina también puede emplearse como *quirón* para la obtención de derivados de aminoácidos *con alta pureza enantiomérica* debido a que, por sus características estructurales, la vinilglicina ofrece un centro estereogénico en C- α , y un enlace doble “adicional” que puede ser aprovechado en diversos protocolos de sustitución.

Obtención de β -hidroxiornitina.

La obtención de ornitina en sus conformeros *syn* y *anti*, es posible a través de la reacción de cicloadición regioselectiva entre el *quirón* *N*-Cbz-L-VG y la *N*-bencilnitrona recién preparada (Esquema 11). Empleando benceno como disolvente se les hace reaccionar bajo condiciones de reflujo a temperatura ambiente para permitir la recuperación de los productos de cicloadición regioselectiva *syn*-**37** y *anti*-**37**, en proporciones 2:3.

Los ésteres de bencilo precursores de los diastéromeros de ornitina pueden ser separados a través de cromatografía *flash* en el sistema benceno/éter etílico 9:1 y una vez separadas, las L-oxazolidinas recuperadas se disuelven en presencia del catalizador de Pearlman [Pd(OH)₂/C] y HCl 6N para conseguir las síntesis de los respectivos clorhidratos *syn*- y *anti*-L-3-hidroxiornitina a través de la reacción de hidrogenólisis correspondiente, con un rendimiento combinado superior al 80% y >99% *ee*.⁵⁰

⁵⁰ Krol, W. J.; Mao, S. shan; Steele, D. L.; Townsend, C. A. Stereochemical Correlation of Proclavaminc Acid and Syntheses of Erythro- and Threo-L- β -Hydroxyornithine from an Improved Vinylglycine Synthone. *J. Org. Chem.* **1991**, 56 (2), 728–731. <https://doi.org/10.1021/jo00002a045>.



Esquema 11. Síntesis de *syn*- y *anti*-β-hidroxiornitina empleando L-vinilglicina como *quirón*.

Obtención de epóxidos.

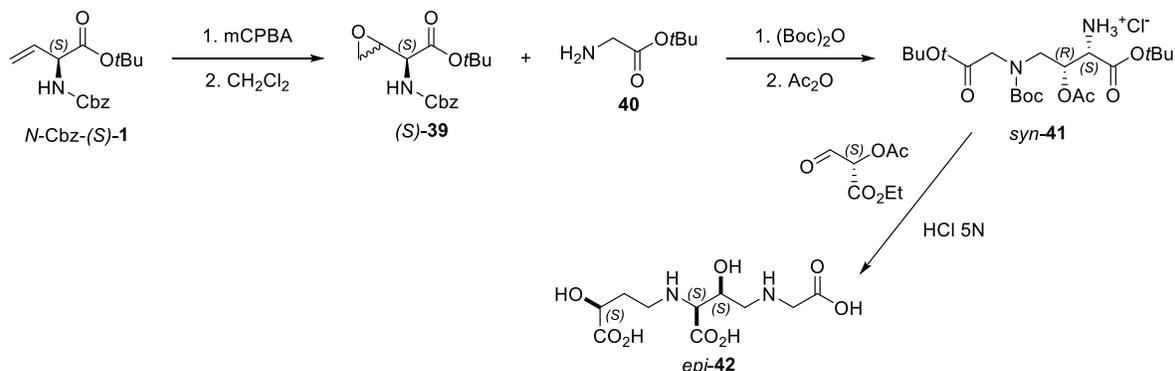
La reacción de oxidación para la preparación de la 1,2-epoxiglicina (*S*)-**39** empleando ácido *m*-cloroperbenzoico (*m*CPBA) y L-vinilglicina como *quirón* ha sido ampliamente estudiada por diversos autores,^{51,52} y uno de los ejemplos que vale la pena analizar es protocolo de obtención del γ-aminoácido quelante ácido *disticónico*, cuyo sustrato inicial es el epóxido (*S*)-**39** obtenido con un *e.r.* = 4.7/1 *anti/syn* (Esquema 12).

Después de la obtención del epóxido, se le hace reaccionar con el glicinato de *tert*-butilo **40**, lo que permite la síntesis de un *tert*-butil éster precursor sobre el que se llevan a cabo reacciones consecutivas de condensación entre sus sustituyentes γ-amino y β-hidroxi y los grupos protectores Boc y Ac respectivamente, para conducir a la obtención del precursor de aminoácido protegido *syn*-**41**, al que después de someterlo a la reacción de aminación

⁵¹ Fukuchi, N.; Isogai, A.; Nakayama, J.; Takayama, S.; Yamashita, S.; Suyama, K.; Takemoto, J. Y.; Suzuki, A. Structure and Stereochemistry of Three Phytotoxins, Syringomycin, Syringotoxin and Syringostatin, Produced by *Pseudomonas Syringae* Pv. *Syringae*. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1* **1992**, No. 9, 1149–1157. <https://doi.org/10.1039/p19920001149>.

⁵² Meffre, P.; Vo-Quang, L.; Vo-Quang, Y.; Le Goffic, F. Unusual α-Aminoacids from Vinylglycine. *Tetrahedron Lett.* **1990**, 31 (16), 2291–2294. [https://doi.org/10.1016/0040-4039\(90\)80209-5](https://doi.org/10.1016/0040-4039(90)80209-5).

reductiva con (*S*)-2-acetoxi-4-oxobutanoato de etilo, seguida de una hidrólisis ácida con HCl 5N, permite la recuperación del quelante ácido-2'-*epi*-disticónico con un rendimiento de síntesis del 40%.⁵³

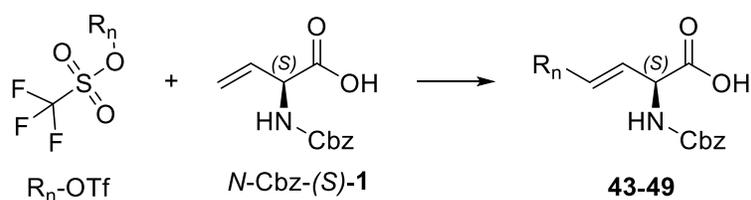


Esquema 12. Síntesis de ácido-2'-*epi*-disticónico mediada por L-vinilglicina como *quirón*.

Obtención de α -aminoácidos no proteínogénicos.

A través de la reacción de Heck es posible la preparación de α -vinil aminoácidos tomando como sustratos triflatos de vinilo/arilo y VG, en presencia de una base y un catalizador de Pd para dar paso a la formación de un nuevo enlace C-C en la posición C- γ .

Se tiene documentada la síntesis regioselectiva y estereocontrolada de diversos vinil aminoácidos en los que se emplea *N*-Cbz-L-VG como fuente de carbono sp², y triflatos de vinilo/arilo con distintos grados de complejidad, para conseguir el aislamiento del producto de acoplamiento *trans*, con rendimientos aceptables, bajo el siguiente protocolo general (Esquema 13):

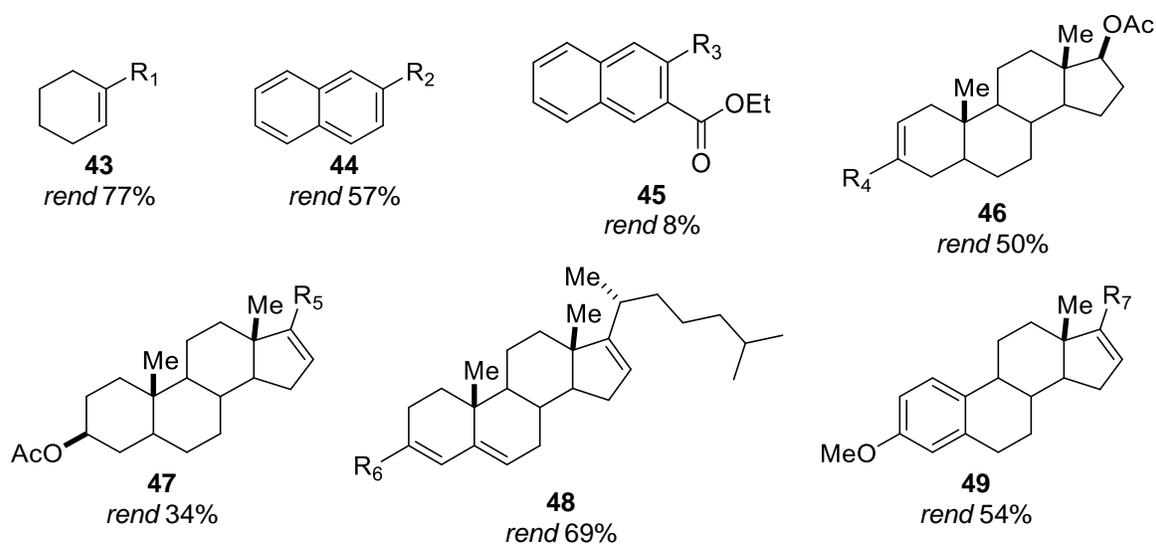


Esquema 13. Uso de L-vinilglicina en reacciones de Heck.

⁵³ Tashiro, T.; Fushiya, S.; Nozoe, S. Synthesis of 2'-Epi-Distichonic Acid A, an Iron-Chelating Amino Acid Derivative. *Chem. Pharm. Bull.* **1988**, *36* (3), 893–901. <https://doi.org/10.1248/cpb.36.893>.

Empleando dimetilformamida como disolvente, se prepara el catalizador acetato de paladio (0.1eq) con tris(*o*-tolilo)fosfina (0.2eq) como ligante para evitar su descomposición; se adicionan 5.0 eq de la base CaCO₃ por 1.0 eq de cloruro de tetra-*n*-butilamonio, y se hacen reaccionar entre 1.1-2.0 eq de *N*-Cbz-L-VG con 1.0 eq del triflato correspondiente (R_n-OTf, Tabla 3), aplicando calentamiento. La reacción se monitorea a través de cromatografía en capa fina y se detiene con la adición de ácido cuando se observa la desaparición de sustratos y la formación de un precipitado negro, que corresponde al catalizador. Después del trabajo de extracción y purificación en columna de gel de sílice, es posible la recuperación de alguno de los vinil aminoácidos *trans*-sustituídos que se muestran en la Tabla 3.⁵⁴

Tabla 3. Sustituyentes triflatos de arilo/vinilos empleados para la obtención de vinil aminoácidos a través de la síntesis de Heck.



⁵⁴ Crisp, G. T.; Glink, P. T. Palladium-Catalyzed Heck Couplings of L-Vinylglycine Derivatives with Vinyl and Aryl Halides and Triflates. *Tetrahedron* **1992**, *48* (17), 3541–3556. [https://doi.org/10.1016/S0040-4020\(01\)88492-1](https://doi.org/10.1016/S0040-4020(01)88492-1).

Obtención de fármacos.

Mitomicina.

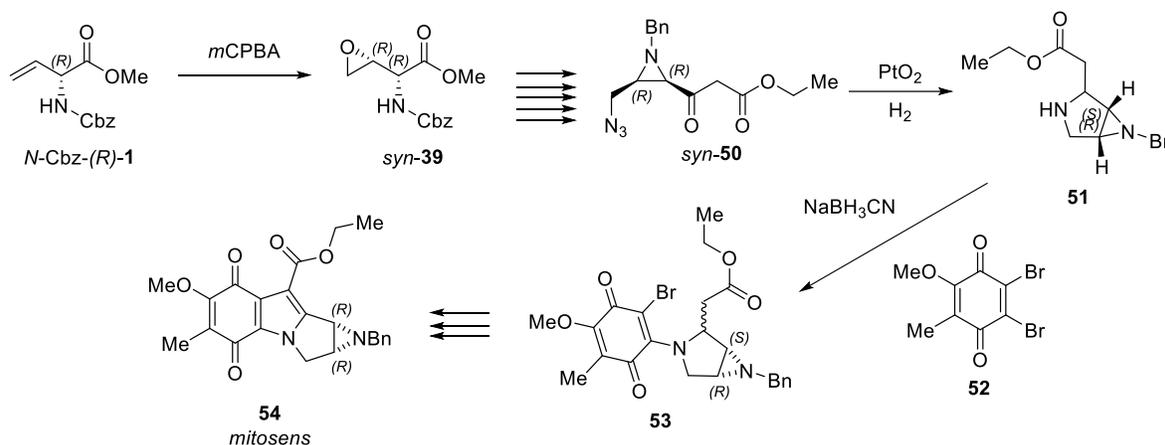
Este es un fármaco que posee actividad antitumoral y antimicrobiana, y se usa en combinación con otros medicamentos para el tratamiento de diversos tipos de cáncer en órganos como el estómago, páncreas, recto, pulmón y vejiga.⁵⁵ Gracias a que las células cancerosas son más propensas a omitir errores durante el proceso de duplicación debido a que su tasa de replicación es generalmente más alta que la de células sanas y a que la mitomicina tiene la capacidad de inhibir la síntesis de DNA a través de entrecruzamientos en el material genético, es posible la interrupción de la replicación celular y eventualmente la muerte celular de las células cancerosas.⁵⁶

La obtención de este fármaco a través de síntesis orgánica (Esquema 14), está mediada por la formación del intermediario aziridinopirrolidina **51** a partir de D-vinilglicina. Las mismas condiciones de la reacción de epoxidación mostradas en el Esquema 12, se aplican sobre el enantiómero D de vinilglicina protegida con el grupo Cbz para conseguir el producto **39** con *e.r.* = 1/4 *anti/syn*, el cual se purifica mediante cromatografía de líquidos de presión media (MPLC en inglés) para separar el diasterómero *syn*-**39**, sobre el que se desarrolla la ruta para la obtención de la mitomicina **54**. Después de la formación del intermediario azida *syn*-**50**, se reduce con PtO₂/H₂ para conseguir la síntesis de la aziridinopirrolidina precursora **51**, que en último paso de la ruta de síntesis se reduce con cianoborohidruro de sodio y se lleva a cabo la reacción de aminación con la dibromoquinona **52**, lo que permite la recuperación del núcleo de mitomicina **53** que termina de ciclarse después de las reacciones de oxidación fotoquímica y catálisis sobre paladio para lograr la formación del derivado de mitosens (**54**) con un rendimiento de 58%.⁵⁷

⁵⁵ U.S. National Library of Medicine. Mitomycin <https://medlineplus.gov/druginfo/meds/a682415.html> (accessed Mar 30, 2021).

⁵⁶ OncoLink Team; University of Pennsylvania. OncoLink Rx <Mitomycin (Mutamycin, Mitomycin-C)> <https://www.oncolink.org/tratamiento-del-cancer/oncolink-rx/mitomycin-mutamycin-mitomycin-c>.

⁵⁷ Shaw, K. J.; Luly, J. R.; Rapoport, H. Routes to Mitomycins. Chiroselective Synthesis of Aziridinomitosenes. *J. Org. Chem.* **1985**, *50* (23), 4515–4523.



Esquema 14. Síntesis de mitomicina empleando D-vinilglicina como *quirón*.

Acivicin.

Se trata de un poderoso antimetabolito (*antimetabolite* en inglés) antagonista de la glutamina, que tiene un efecto inhibitorio sobre la enzima glutamina aminotransferasa (EC 2.3.2.2), por lo que es capaz de interrumpir la biosíntesis de purinas y pirimidinas en líneas celulares dependientes del metabolismo de glutamina.⁵⁸

La contundente actividad que este fármaco presenta contra varios de tipos de cáncer se ha documentado ampliamente. Desafortunadamente, con el desarrollo de otros trabajos de investigación se descubrió que además de su potente actividad quimioterapéutica, *acivicin* también presenta alta nefrotoxicidad en humanos, acompañada de sintomatología como pesadillas, letargia, confusión, disfasia, alucinaciones y ataxia,⁵⁹ por lo que no hubo progreso más allá de ensayos clínicos de fase I.⁶⁰

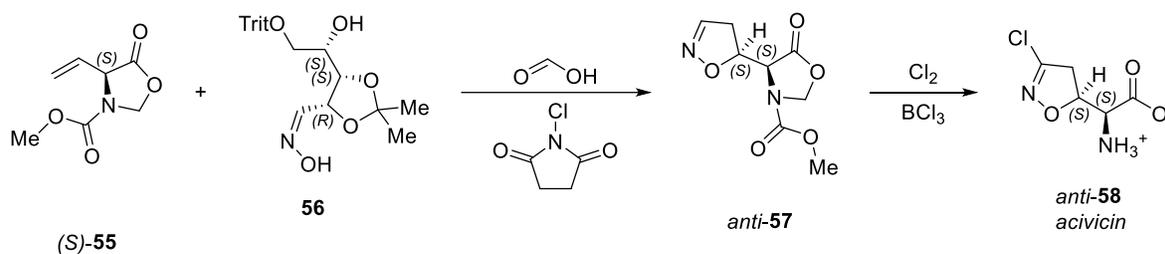
Parte de las investigaciones desarrolladas en torno a este potente fármaco antitumoral, antimicrobiano y agente antineoplásico, eran los métodos para su obtención. Varias alternativas fueron exploradas además de su clásica producción a través de la vía fermentativa

⁵⁸ Nacional Cancer Institute; U.S. Department of Health and Human Services. acivicin <https://www.cancer.gov/publications/dictionaries/cancer-drug/def/acivicin>.

⁵⁹ Maroun, J. A.; Stewart, D. J.; Verma, S.; Evans, W. K.; Eisenhauer, E. Phase I Study of Acivicin and Cisplatin in Non-Small-Cell Lung Cancer. A National Cancer Institute of Canada Study. *Am. J. Clin. Oncol.* **1990**, *13* (5), 401–404. <https://doi.org/10.1097/00000421-199010000-00007>.

⁶⁰ Oliveira de Souza, J.; Dawson, A.; Hunter, W. N. An Improved Model of the Trypanosoma Brucei CTP Synthetase Glutaminase Domain–Acivicin Complex. *ChemMedChem* **2017**, *12* (8), 577–579. <https://doi.org/10.1002/cmdc.201700118>.

por *Streptomyces sviveus*.⁶¹ Una de esas alternativas fue la síntesis orgánica empleando como *quirón* la oxazolidinona preparada a partir de L-vinilglicina ((*S*)-**55**), a la que se le hace reaccionar en condiciones de reflujo con la oxima derivada de D-ribose **56** para permitir la reacción de cicloadición, hidrólisis ácida y oxidación mediada por *N*-clorosuccinimida que da origen al precursor isoxazolina **57**, con un *e.r.* >19/1 *anti/syn*. La cloración del C₃ y subsecuente desprotección del grupo amino del precursor *anti*-**57**, permite la recuperación de *acivicin* con un rendimiento de síntesis general de 39% y propiedades ópticas idénticas a las del compuesto natural (Esquema 15).⁶²



Esquema 15. Síntesis de acivicin a partir de L-vinilglicina.

Vinilglicina como inhibidor enzimático.

La L-vinilglicina pertenece al grupo de inhibidores enzimáticos conocidos como “*Inhibidores basados en el mecanismo*” (MBIs en inglés). A este conjunto de inactivadores enzimáticos también se les conoce como “*caballos de Troya*” o “*inhibidores suicidas*”, debido a que los MBIs son esencialmente inertes hasta que se encuentran dentro del dominio catalítico de la enzima diana, en donde expresan su función de inhibidor llevando a cabo una reacción *pseudocatalítica* que resulta en la síntesis de un intermediario reactivo (regularmente un centro electrofílico) que es susceptible a sufrir el ataque de un nucleófilo enzimático, dando paso a la síntesis del complejo enzima-inhibidor-sustrato a través de una

⁶¹ Hastings, J.; Owen, G.; Dekker, A.; Ennis, M.; Kale, N.; Muthukrishnan, V.; Turner, S.; Swainston, N.; Mendes, P.; Steinbeck, C. ChEBI in 2016: Improved Services and an Expanding Collection of Metabolites. *Nucleic Acids Res.* **2016**, *44* (D1), D1214–D1219. <https://doi.org/10.1093/nar/gkv1031>.

⁶² Mzengeza, S.; Yang, C. M.; Whitney, R. A. A Total Synthesis of Acivicin. *J. Am. Chem. Soc.* **1987**, *109* (1), 276–277. <https://doi.org/10.1021/ja00235a044>.

reacción no reversible que da origen a un nuevo enlace covalente, neutralizando así a la enzima objetivo.⁶³

Por otro lado, los α -aminoácidos que poseen olefinas en sus cadenas laterales son ampliamente conocidos por inhibir a las enzimas dependientes del cofactor piridoxal-5'-fosfato.⁴⁵ Dentro de este conjunto de aminoácidos se encuentra la vinilglicina y tomando en cuenta el amplio rango de reacciones bioquímicas en las que el cofactor se encuentra involucrado,⁴³ así como el conveniente tamaño de la cadena lateral de la vinilglicina,¹ resulta interesante explorar su uso como inhibidor alternativo de las enzimas piridoxalfosfato-dependientes.

A pesar de que el piridoxal-5'-fosfato no es un tema principal en este trabajo de investigación, vale la pena profundizar un poco acerca de la química que rodea a la actividad de la coenzima, ya que gran parte de los usos y aplicaciones que la vinilglicina posee como inhibidor enzimático, se basan en dos hechos fundamentales: la reactividad del cofactor, y en el hecho de que se encuentra involucrado en por lo menos 160 reacciones enzimáticas diferentes, lo que representa un *poco más del 4% de toda la actividad catalítica celular* conocida hasta hoy,^{64,65} por lo que a continuación se analizan puntos clave de la química del cofactor fosfato de piridoxal.

Enzimas dependientes del cofactor piridoxal-5'-fosfato.

La vitamina B₆ posee cuatro vitámeros (Figura 6): piridoxina (PN, **59**), piridoxal (PL, **60**), piridoxamina (PM, **61**) y fosfato de piridoxal (P5P o PLP, **62**). Este último corresponde a la forma activa de la vitamina y se encuentra involucrado como coenzima en una amplia variedad de reacciones enzimáticas relacionadas con la *síntesis*, *degradación* e

¹ Berkowitz, D. B.; Charette, B. D.; Karukurichi, K. R.; McFadden, J. M. α -Vinyl Amino Acids: Occurrence, Asymmetric Synthesis, and Biochemical Mechanisms. *Tetrahedron Asymmetry* **2006**, *17* (6), 869–882.

⁴⁵ Badorrey, R.; Cativiela, C.; Díaz-de-Villegas, M. D.; Gálvez, J. A. A Convenient Synthesis of L- α -Vinylglycine from D-Mannitol. *Synthesis (Stuttg)*. **1997**, *1997* (7), 747–749.

⁴³ Hanessian, S.; Sahoo, S. P. A Novel and Efficient Synthesis of L-Vinylglycine. *Tetrahedron Lett.* **1984**, *25* (14), 1425–1428.

⁶³ Long, M. J. C.; Aye, Y. Privileged Electrophile Sensors: A Resource for Covalent Drug Development. *Cell Chemical Biology*. Elsevier Ltd July 20, **2017**, pp 787–800. <https://doi.org/10.1016/j.chembiol.2017.05.023>.

⁶⁴ Kennedy, D. O. B Vitamins and the Brain: Mechanisms, Dose and Efficacy — A Review. *Nutrients* **2016**, *8* (2), 4.

⁶⁵ di Salvo, M. L.; Budisa, N.; Contestabile, R. PLP-Dependent Enzymes: A Powerful Tool for Metabolic Synthesis Of. In *Beilstein Bozen Symposium on Molecular Engineering and Control*; 2013; pp 27–66.

interconversión de aminoácidos, catalizadas por enzimas oxidorreductasas, transferasas, hidrolasas, liasas e isomerasas.

Como ejemplo de algunas vías metabólicas en las que el P5P toma parte como cofactor tenemos: el metabolismo de glucosa, lípidos y aminoácidos, la síntesis del grupo hemo y procesos relacionados con la producción de nucleótidos y neurotransmisores como dopamina, norepinefrina, serotonina, GABA, así como taurina, esfingolípidos y poliaminas.⁶⁶

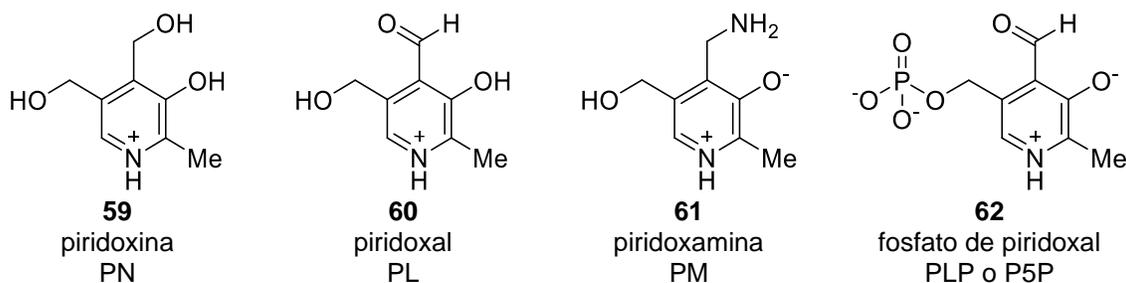


Figura 6. Vitámeros de la vitamina B₆.

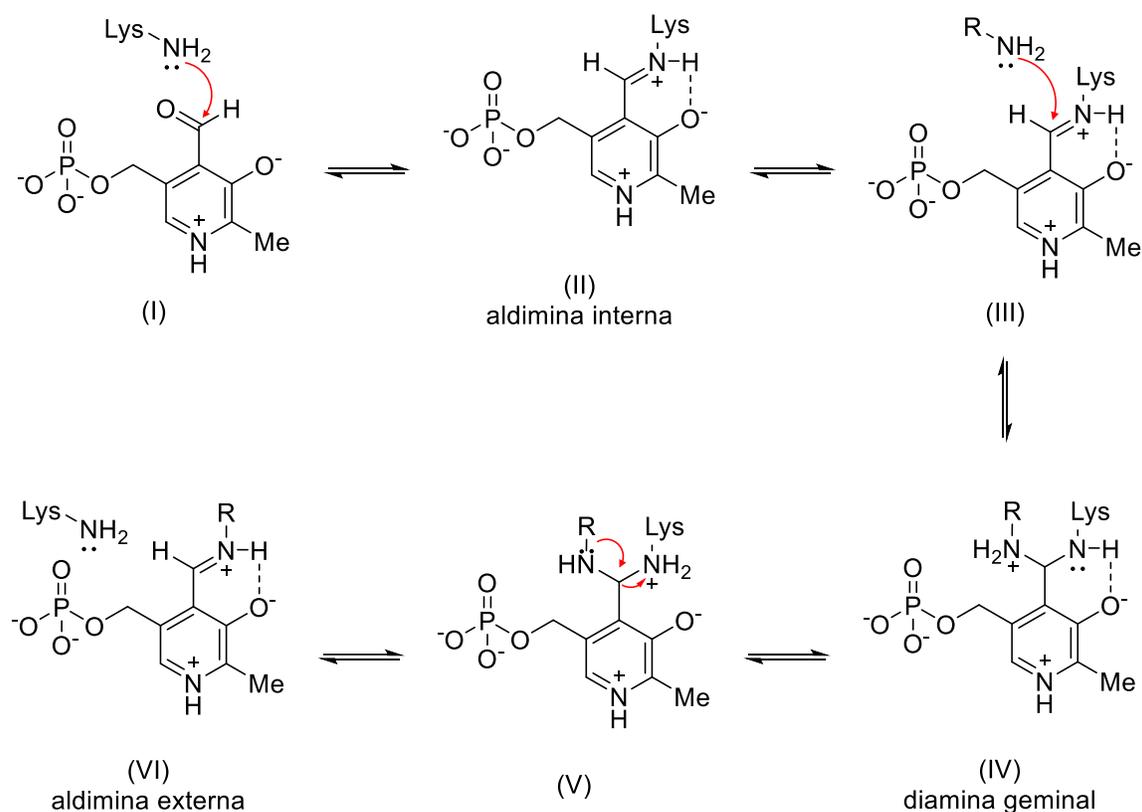
Como consecuencia de la importancia metabólica que las enzimas dependientes de P5P poseen, se han estudiado ampliamente sus mecanismos de acción durante los últimos 50 años, para entender estructuras, función, y reacciones sustrato específicas, con el objetivo de explotar su versatilidad catalítica para la obtención de compuestos de interés biotecnológico.

Química y reactividad del cofactor P5P.

El cofactor P5P es semejante en estructura al benzaldehído, sin embargo, la presencia de los grupos -OH y N (en las posiciones *orto* y *para*, respectivamente) afectan a la reactividad del grupo carbonilo, debido principalmente, al estado protonado del anillo de piridina. Gracias a estas características estructurales, las catálisis mediadas por P5P son posibles, ya que el grupo aldehído tiene la capacidad de *reaccionar con aminas primarias* y así dar paso a la formación de iminas, mientras que el anillo de piridina es capaz de *estabilizar* con relativa facilidad a los *carbaniones* derivados de las rupturas heterolíticas de los enlaces.

⁶⁶ Dakshinamurti, K.; Dakshinamurti, S.; Czubyrt, M. P. Vitamin B6: Effects of Deficiency, and Metabolic and Therapeutic Functions. In *Handbook of Famine, Starvation, and Nutrient Deprivation*; Springer International Publishing: Cham, **2017**; pp 1–23. https://doi.org/10.1007/978-3-319-40007-5_81-1.

Es característico del cofactor P5P formar dos tipos diferentes de iminas durante sus procesos catalíticos: la *aldimina interna* (II) que se forma con la cadena lateral de un residuo de lisina en el dominio catalítico de la enzima catalizadora y la *aldimina externa* (VI) que resulta de la reacción con otros aminoácidos y compuestos estrechamente relacionados. En ambos casos, P5P sufre una reacción de transaldiminación reversible con aminas primarias en las que el producto de reacción es una *diamina geminal* (IV) y que tras la reacción de formación de la aldimina interna y externa, permite la unión de los sustratos y la liberación de los productos (Esquema 16).



Esquema 16. Reactividad del grupo aldehído de P5P para la obtención de iminas.

Como se mencionó anteriormente, uno de los factores que explica la eficiencia con la que P5P cataliza reacciones enzimáticas es el núcleo heterocíclico de la vitamina B₆. El carácter electrofílico del C4 se incrementa debido a la *polarización* que establece el N con carga (+) del anillo de la piridina, mientras que el anión fenóxido (-) que se forma en el C3 *estabiliza el estado protonado de la imina* recién formada a través de resonancia y por enlace

de hidrógeno, lo que de manera indirecta también contribuye a la amplificación del carácter electrofílico de C4 (i). Estas dos características en conjunto le dan a P5P la capacidad de actuar como “*acervo de electrones*” (*electron sink* en inglés), por lo que con base en la aldimina externa (ii), el cofactor es capaz de formar *intermediarios quinoides* (iii) que facilitan la estabilización de la carga neta negativa que se deriva de la ruptura heterolítica de uno de los enlaces del C α del sustrato, además, cabe resaltar que a partir de esta estructura, es posible la diversificación de los tipos de reacciones enzimáticas que P5P puede catalizar como cofactor (Figura 7).

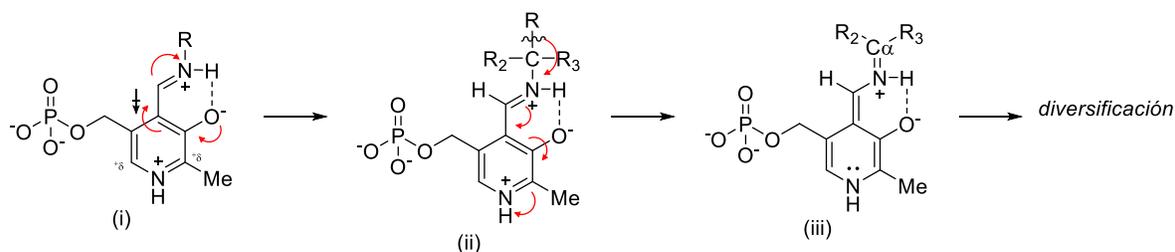


Figura 7. Influencia del núcleo de piridina en la catálisis mediada por P5P.

Mecanismo de reacción.

Sintetizando lo anteriormente expuesto en una idea concreta, todas las reacciones que emplean P5P como cofactor comparten algunos arreglos mecanísticos que permiten la obtención de productos propios de cada catálisis. En un esquema general, la catálisis inicia con la obtención del complejo P5P-enzima aldimina interna que subsecuentemente se convierte en el complejo P5P-sustrato aldimina externa (Esquema 16, II y VI). Posteriormente, la ruptura de alguno de los enlaces del C α del sustrato, tiene como consecuencia la formación de diferentes intermediarios quinoides (Figura 7, iii) promotores de la diversificación de precursores, que después de una serie de reacciones consecutivas conducen a la obtención de un producto de síntesis aldimina o cetimina, que tras la correspondiente reacción de transaldiminación o hidrólisis permite la liberación de productos específicos de la catálisis y P5P.

Promiscuidad enzimática.

Se tiene la creencia errónea de que las enzimas son especies que generalmente llevan a cabo reacciones altamente específicas con sustratos perfectamente definidos, cuando en realidad, son propensas a “cometer errores” y catalizar reacciones alternativas con diferentes sustratos análogos. A esta característica le conoce como “*promiscuidad catalítica*” y es una cualidad que las enzimas P5P-dependientes poseen.

La promiscuidad catalítica se explota ampliamente en la rama de biotecnología ya que, gracias a ella es posible la obtención de compuestos no naturales a través de catálisis enzimática y como se comentó anteriormente, la amplia gama de síntesis enzimáticas en las que P5P participa como cofactor, permite que todo el subconjunto de enzimas dependientes de P5P puedan ser consideradas como una alternativa de *catalizadores promiscuos*.

El uso de la vinilglicina como inhibidor enzimático se basa en la promiscuidad catalítica de las enzimas P5P-dependientes. De manera general, si el sustrato análogo de la catálisis es L-vinilglicina, se forma la respectiva aldimina externa, que después de la extracción del protón del C- α , da paso a la formación del intermediario quinoide y que posterior al equilibrio permite la reacción de β -eliminación y recuperación de un intermediario *aminoacrilato* que por su naturaleza reactiva, es muy susceptible al ataque nucleofílico del par de electrones libres del residuo de lisina que la enzima P5P-dependiente posee en su centro catalítico. Esta transformación conduce a la inactivación de la enzima, debido a la formación de un complejo de tres miembros de alta estabilidad enzima–L-vinilglicina–P5P a través de un enlace covalente.

L-vinilglicina como inhibidor de las enzimas dependientes de PLP.

Una vez establecidos los fundamentos sobre los que se basa la actividad de inhibidor que la L-vinilglicina tiene sobre las enzimas PLP-dependientes, se analizarán algunos ejemplos muy representativos de las industrias de alimentos y farmacia.

Vinilglicina como inhibidor de la enzima aspartato aminotransferasa.

Uno de los primeros estudios acerca del efecto inhibitorio que la vinilglicina tiene sobre las enzimas dependientes de PLP, fue el realizado en la aspartato aminotransferasa citoplásmica de corazón de cerdo (EC 2.6.1.1, AspAT), en el que después de incubar a 37 °C

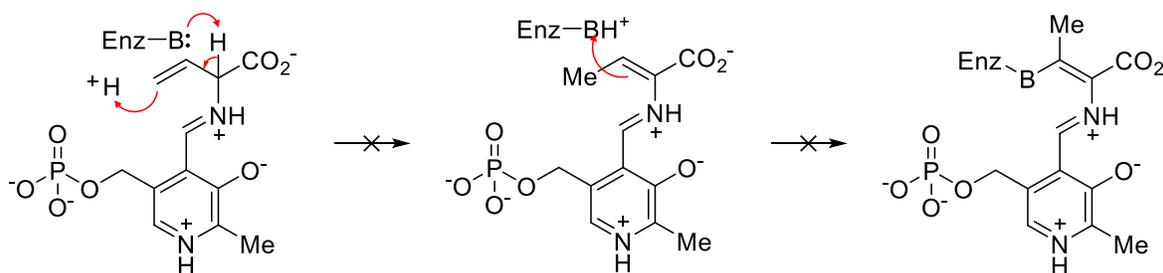
durante 180 minutos, y posteriormente haber dializado sin observar el restablecimiento de la actividad enzimática, se comprobó el efecto de inhibición no reversible que el vinil aminoácido tenía sobre la enzima.

Curiosamente, y de acuerdo con cronología con la que se fueron descubriendo las condiciones de reacción bajo las cuales la vinilglicina expresa su actividad inhibitoria, para la realización de este trabajo experimental fue necesario realizar pruebas con PM y PLP y se descubrió que solo a través de la forma activa de la vitamina B6 se podía conseguir la inactivación de la enzima. La conclusión de este hallazgo se fortalecería aún más con el desarrollo de investigaciones posteriores.

A través de esta investigación no solo se comprobó la actividad inhibitoria de la vinilglicina, sino que también se propusieron los primeros fundamentos que sustentan actualmente su mecanismo de inhibición sobre las enzimas dependientes de P5P, debido a que se encontró que para que la DL-vinilglicina actuara como inhibidor de AspAT, requería de una “transformación” previa a la reacción de inactivación enzimática, y que hoy en día sabemos que corresponde a la formación del intermediario *cetimina*.

Con base en los resultados obtenidos, se propusieron un par de posibles mecanismos de reacción a través de los cuales se conseguía la inhibición de AspAT. El primero de ellos (Esquema 17) fue descartado en la discusión debido a que sugiere una vía antinatural de adición en C- β que mecanísticamente es posible, pero que no se vio reflejado en los estudios de espectrofotometría. El segundo mecanismo de inhibición fue más acertado, ya que a través de una reacción de adición de Michael, era posible la abstracción del protón del C- α , seguida del ataque nucleofílico por parte de la enzima sobre el C- γ del grupo aceptor, para permitir la formación de un enlace covalente entre el C- γ y “un residuo de aminoácido” en el sitio catalítico que inactiva a AspAT.⁶⁷ Años más tarde, a través del estudio de inhibición de ACC sintasa con vinilglicina, se confirmaría que el grupo aceptor corresponde a complejo cetimina, y que el “residuo de aminoácido” es generalmente una lisina en el dominio catalítico de la enzima, tal como se representa en el Esquema 20.

⁶⁷ Rando, R. R. Irreversible Inhibition of Aspartate Aminotransferase by 2-Amino-3-Butenoic Acid. *Biochemistry* **1974**, 13 (19), 3859–3863.



Esquema 17. Mecanismo de β -adición en PLP, poco probable.

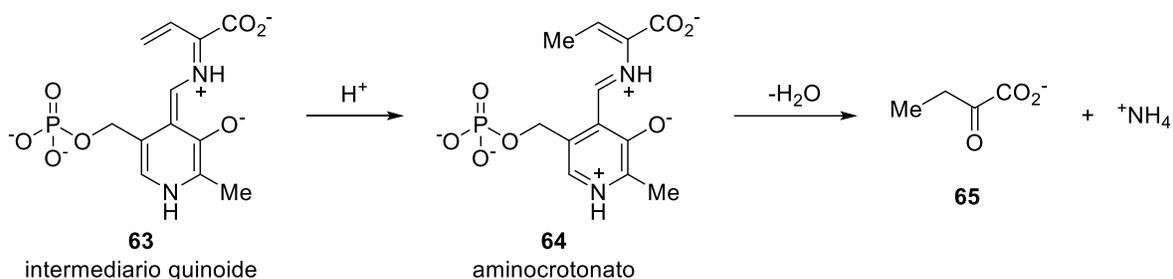
L-vinilglicina como inhibidor de la enzima quinurenina aminotransferasa.

La quinurenina-2-oxoglutarato aminotransferasa (EC 2.6.1.7, KAT) es la enzima encargada de catalizar la reacción de transaminación que permite la síntesis de L-glutamato a partir de L-quinurenina en el metabolismo de triptófano. Para estudiar los efectos que tiene la L-vinilglicina sobre esta enzima, la KAT obtenida de *Hansenula schneegii* IFO 0135 fue purificada y tratada con PLP, para posteriormente monitorear la variación en la actividad enzimática asociada con la adición del vinil aminoácido, empleando técnicas de espectrofotometría.

Se encontró un decremento en la actividad transaminasa de KAT que era dependiente del tiempo y tras mantener el medio de reacción en diálisis sin observar el restablecimiento de la actividad catalítica, se determinó que se trataba de un caso de inactivación suicida mediada por L-vinilglicina. Además, si se toman en consideración las constantes de Michaelis que describen las reacciones de desaminación e inhibición, se puede asumir que ambas reacciones ocurren a partir de la formación de un precursor en común.

Con esta investigación se descubrió el primer ejemplo de enzima PLP dependiente que se inactiva de manera irreversible durante un proceso catalítico, ya que 1 de cada 90 ciclos de desaminación de L-vinilglicina tenía como resultado la inactivación no reversible de KAT. Para explicar este mecanismo de inhibición tan particular se propuso que el intermediario quinoide L-vinilglicina-P5P era el punto de partida para ambas reacciones, siendo que por la vía catalítica se establecía un equilibrio tautomérico que permite la formación del intermediario aminocrotonato-P5P y que después de la respectiva reacción de hidrólisis libera amonio y α -cetobutirato (Esquema 18), mientras que por la vía inhibitoria (y

de la misma manera que sus homólogos ACC sintasa y AspAT, (Esquema 20), el intermediario quinoide sufre la reacción de γ -adición que permite la formación de un enlace covalente entre “*cierto residuo de aminoácido*” en el dominio catalítico de la enzima (el grupo ϵ -amino de un residuo de Lys) y el C- γ del inhibidor, lo que tiene como resultado la inactivación no reversible de KAT.⁶⁸



Esquema 18. Catálisis de KAT empleando vinilglicina como sustrato.

L-vinilglicina como inhibidor de la enzima ACC sintasa.

La enzima 1-aminociclopropano-1-carboxilato sintasa (ACC sintasa, EC 4.4.1.14) es tal vez el ejemplo más representativo y mejor estudiado de enzima P5P-dependiente inhibida a través de L-vinilglicina. ACC sintasa es la enzima encargada de catalizar la obtención del 1-aminociclopropano-1-carboxilato (ACC) a partir de la (*S*)-adenosil-L-metionina (SAM) para la obtención de *etileno*, la fitohormona por excelencia, encargada de regular la madurez y senescencia de frutos climatéricos, así como la recuperación de daños postcosecha.

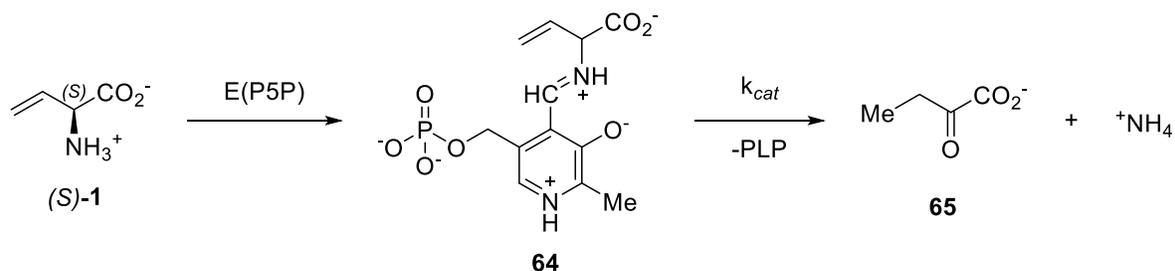
En un primer intento para abordar este problema de estudio, se indujo la sobre expresión de la enzima en una cepa mutante de *Pichia pastoris* de la que se logró recuperar ACC sintasa con una pureza >95%. Posteriormente, para estudiar la cinética de la reacción de inactivación, se incubaron ACC sintasa y L-vinilglicina en buffer de fosfatos a 25 °C y se monitoreó el flujo de la reacción a través de espectrofotometría.

Como resultado de este análisis, se demostró que cinéticamente la reacción de conversión de L-vinilglicina en α -cetobutirato y amonio, se encuentra favorecida sobre la

⁶⁸ Asada, Y.; Tanizawa, K.; Yonaha, K.; Soda, K. Deamination and γ -Addition Reactions of Vinylglycine Catalyzed by Yeast Kynurenine Aminotransferase, and Suicidal Inactivation of the Enzyme During Its Processing. *Agric. Biol. Chem.* **1988**, 52 (11), 2873–2878.

reacción de inhibición, cuya ocurrencia se limitó a tan solo 1 de cada 500 ciclos catalíticos (Esquema 19) y además se descubrió que la obtención de α -cetobutirato a partir de vinilglicina representa el 0.17% comparado con la catálisis a partir del sustrato natural SAM. En un experimento paralelo en el que se optimizaron las condiciones para favorecer la cinética de la reacción de inhibición, se incubaron ACC sintasa y 640 equivalentes de L-vinilglicina y después de 2 h, con un valor de $A_{m\acute{a}x}$ de 432 nm y un $k_{\lambda} \sim 7000 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$, se observó la total inhibición de la enzima. Resultado de este trabajo de investigación se propusieron un par de mecanismos de inhibición, en el que la variante era el sitio del ataque nucleofílico del residuo Lys₂₇₃ de ACC sintasa, ya que en la cetimina externa las posiciones β y γ se mantienen latentes para dar paso a la formación del aducto aldimina-inactivada.⁶⁹

Años más tarde, estudiando la inactivación de la enzima proveniente de *Malus domestica* mediante difracción de rayos X, se determinó la estructura cristalina del aducto inactivado con una resolución de 2.25 Å, y se observó que la L-vinilglicina aldimina externa se encontraba enlazada covalentemente de su C- γ al grupo ϵ -amino del residuo Lys₂₇₃ del sitio catalítico de ACC sintasa, tal como se había predicho años atrás.⁷⁰ Con base en la estructura cristalina del complejo enzima-inhibidor, se propuso que el mecanismo de inhibición seguía la química de la reacción de adición de Michael (Esquema 20).



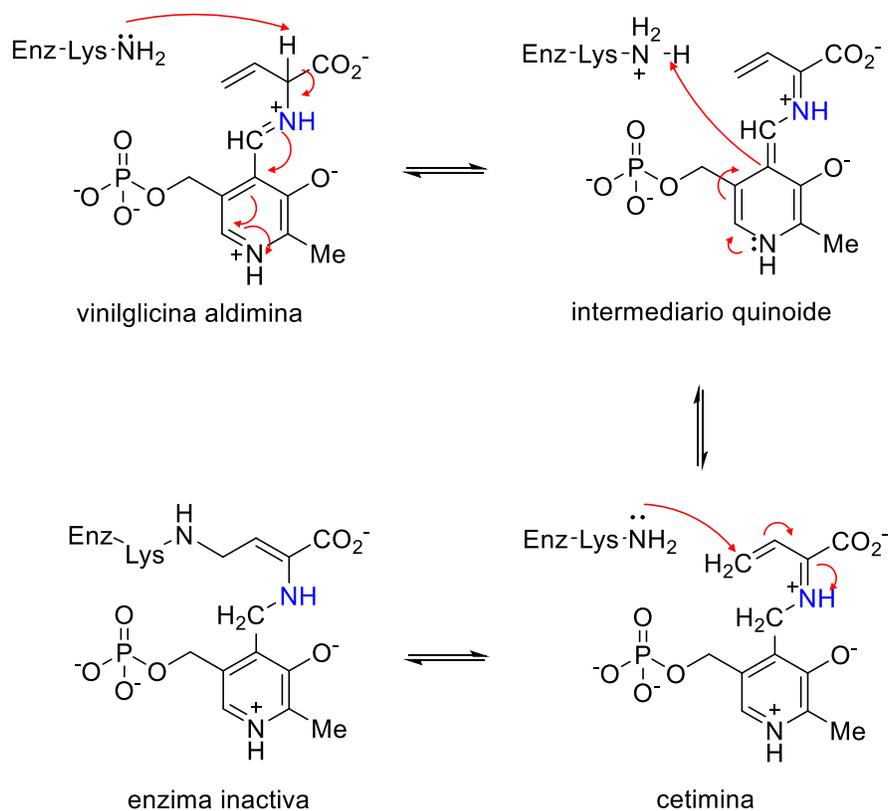
Esquema 19. L-vinilglicina como sustrato de ACC sintasa.

Después de haber estudiado algunos de los casos más representativos de la actividad inhibitoria de la vinilglicina, podemos afirmar que la inactivación enzimática es consecuencia

⁶⁹ Feng, L.; Kirsch, J. F. L-Vinylglycine Is an Alternative Substrate as Well as a Mechanism-Based Inhibitor of 1-Aminocyclopropane-1-Carboxylate Synthase. *Biochemistry* **2000**, *39* (10), 2436–2444. <https://doi.org/10.1021/bi9922704>.

⁷⁰ Capitani, G.; Tschopp, M.; Eliot, A. C.; Kirsch, J. F.; Grütter, M. G. Structure of ACC Synthase Inactivated by the Mechanism-Based Inhibitor L-Vinylglycine. *FEBS Lett.* **2005**, *579* (11), 2458–2462.

de un rearrreglo del inhibidor que genera un grupo aceptor de Michael tipo imina β,γ -insaturada, que subsecuentemente reacciona con un residuo de lisina (por lo regular) en el dominio catalítico de la enzima P5P-dependiente y a través de la reacción de γ -adición, forma un nuevo enlace covalente que tiene como consecuencia la inactivación de la enzima en cuestión, por lo que podemos proponer el siguiente mecanismo general de inactivación mediada por vinilglicina.⁷¹



Esquema 20. Mecanismo de inhibición de enzimas P5P-dependientes a través de *vinilglicina*.

Vinilglicina como herbicida.

Entre los aminoácidos no proteínogénicos, aquellos que poseen olefinas en sus cadenas laterales, como es el caso de la vinilglicina, han encontrado importantes aplicaciones

⁷¹ Eliot, A. C.; Kirsch, J. F. Pyridoxal Phosphate Enzymes: Mechanistic, Structural, and Evolutionary Considerations. *Annual Review of Biochemistry*. Annu Rev Biochem 2004, pp 383–415. <https://doi.org/10.1146/annurev.biochem.73.011303.074021>.

en la industria de agroquímicos como *herbicidas* y *fungicidas* para la protección de cultivos, debido, principalmente, al extenso número de procesos de inhibición enzimática en los que estos compuestos se encuentran involucrados.⁴⁵

Rhizobitoxina.

Como se describió anteriormente, la rhizobitoxina es un derivado de vinilglicina sintetizado por la bacteria *Rhizobium japonicum*, con propiedades fitotóxicas comprobadas y que se ha empleado como un herbicida *post-emergente* de amplio espectro con efecto sobre pastos de temporada y maleza, para la protección de semillas y plántulas como amaranto, maíz, algodón, soya, sorgo, colza (canola).⁷²

En comparación con otros herbicidas, la rhizobitoxina representa una alternativa como pesticida amigable con el ambiente, ya que se degrada fácilmente antes de 3 días y, además, se considera no tóxico para animales. Generalmente, para conseguir el efecto fitotóxico, se requiere que la rhizobitoxina se encuentre disuelta en la mezcla surfactante etanol-agua-glicerina (50:50:1) con una concentración ~500 ppm.

La eficiencia de la rhizobitoxina como herbicida *post-emergente* contra *pastos de temporada* ha sido probada frente a otros pesticidas tradicionales altamente nocivos, como el *amitrol* y *metflurazona* (Figura 8). Comparada con amitrol, la rhizobitoxina ha demostrado una efectividad moderadamente superior retardando el crecimiento de los pastos, pero comparada con metflurazona, el efecto fitotóxico es cómodamente superior, ya que este herbicida apenas es capaz de generar clorosis ligera en las hojas más jóvenes de los pastos, sin afectar su desarrollo. En adición, los pastos tratados con amitrol y metflurazona iniciaron su recuperación ~3 semanas después de su aplicación, por lo que la rhizobitoxina constituye la solución definitiva para la protección de cultivos contra este tipo de maleza.⁷³

⁴⁵ Badorrey, R.; Cativiela, C.; Díaz-de-Villegas, M. D.; Gálvez, J. A. A Convenient Synthesis of L- α -Vinylglycine from D-Mannitol. *Synthesis (Stuttg)*. **1997**, 1997 (7), 747–749.

⁷² Owens, L. Rhizobitoxine as a post-emergent herbicide. 36742862, June 27, **1972**.

⁷³ Owens, L. D. Herbicidal Potential of Rhizobitoxine. *Weed Sci*. **1973**, 21 (1), 63–66. <https://doi.org/10.1017/s0043174500031714>.

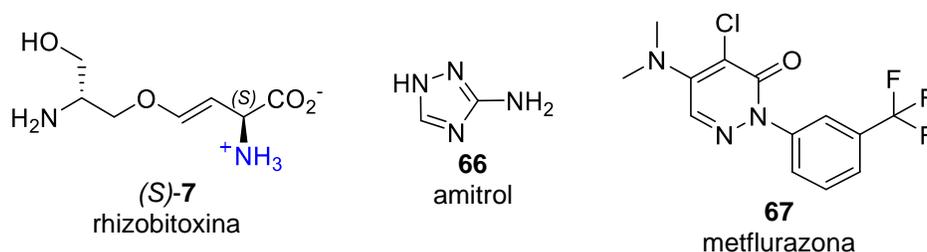


Figura 8. Herbicidas tradicionales probados vs. rhizobitoxina.

Al igual que la L-vinilglicina y otros vinil aminoácidos β,γ -insaturados, la actividad herbicida de la rhizobitoxina se encuentra estrechamente relacionada con su interacción con una enzima PLP-dependiente, ya que con base en la analogía estructural que la rhizobitoxina guarda con la cistationina, es capaz de inhibir de manera irreversible a la enzima cistationina β -liasa, encargada de catalizar la reacción de conversión de cistationina en homoserina, el precursor inmediato para la obtención de metionina. A través de esta vía, la rhizobitoxina también es capaz de reducir la tasa de desarrollo de microorganismos dependientes de este metabolito y al igual que sus isómeros estructurales, posee la capacidad de inhibir la biosíntesis de etileno y de actuar como disruptor en el metabolismo de aminoácidos.⁷⁴

L-fosfinotricina.

El herbicida de amplio espectro *L-fosfinotricina* ((S)-**71**) es un ejemplo de vinilglicina empleado como bloque de construcción quiral⁴¹ para la obtención vía adición regioselectiva, de un poderoso herbicida y antimicrobiano que actúa a través de la inhibición de glutamina sintetasa (EC 6.3.1.2), enzima responsable de la asimilación de amonio y la regulación de nitrógeno en tejidos vegetales.⁷⁵

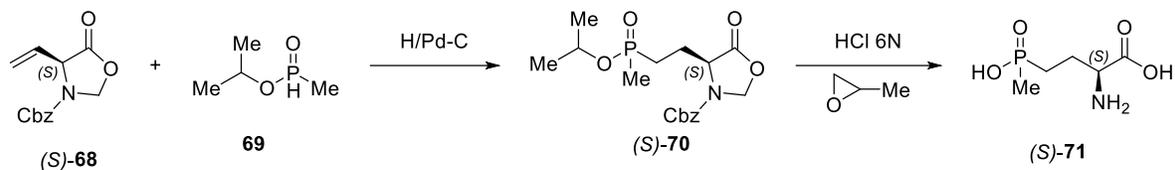
La adición regioselectiva de isobutilmetilfosfonato **69** sobre la recién preparada Cbz-vinil-oxazolidinona derivada de L-vinilglicina ((S)-**68**) permite la recuperación del precursor

⁴¹ Griesbeck, A. G.; Hirt, J. A Photochemical Route to Vinylglycine and a Vinylglycine Dipeptide. *Liebigs Ann.* **1995**, 1995 (11), 1957–1961.

⁷⁴ Hoagland, R. E.; Cutler, S. J. Plant and Microbial Compounds as Herbicides. In *Allelopathy in Ecological Agriculture and Forestry*; Springer Netherlands, **2000**; pp 73–99. https://doi.org/10.1007/978-94-011-4173-4_6.

⁷⁵ Pérez-Pérez, J. L.; Rodríguez, L. G.; Veitía, N.; Bermúdez-Carabaloso, I.; López, R. C.; Rodríguez, D. T. Determinación de La Concentración Mínima Letal de Glufosinato de Amonio Para Seleccionar Embriones Somáticos Transformados de Soya Cultivar INCASoy-27. *Cultiv. Trop.* **2015**, 36 (3), 58–63.

protegido (*S*)-**70**, el cual es hidrolizado en medio ácido con HCl 6N, y posteriormente tratado con óxido de propileno para permitir la recuperación del herbicida virtualmente puro L-fosfinitricina ((*S*)-**71**) con un *ee* de 99.4% (Esquema 21).⁷⁶



Esquema 21. Síntesis de L-fosfinitricina empleando L-vinilglicina como *quirón*.

Vinilglicina como fitorregulador químico.

El etileno es la fitohormona obtenida durante el ciclo de Yang que se encarga de regular números aspectos relacionados con el desarrollo de los tejidos vegetales y cuya biosíntesis depende del precursor 1-aminociclopropano-1-carboxilato (ACC). A través de la reacción de α,γ -eliminación sobre metil-tioadenosina (MTA) se obtiene S-adenosil-L-metionina (SAM), que actúa como sustrato inmediato de la enzima PLP-dependiente ACC sintasa, encargada de transformar SAM en ACC.

La biosíntesis de ACC es el paso más importante y determinante en la tasa de producción de etileno, por lo que su mecanismo de inhibición ha impulsado numerosas investigaciones en la búsqueda de inhibidores de ACC sintasa capaces de retardar la maduración de frutos climatéricos como *Malus domestica*, *Lycopersicon esculentum*, *Physalis ixocarpa*, entre otros. Este es un tema de estudio que se ha mantenido vigente durante mucho tiempo, debido a las implicaciones comerciales que giran en torno a la biosíntesis de este compuesto biológicamente activo.⁷⁷

El vinil aminoácido L-aminoetoxivinilglicina (L-AVG) es reconocido como uno de los más potentes inhibidores de ACC sintasa,⁷⁸ con una tasa de inhibición comprobada de

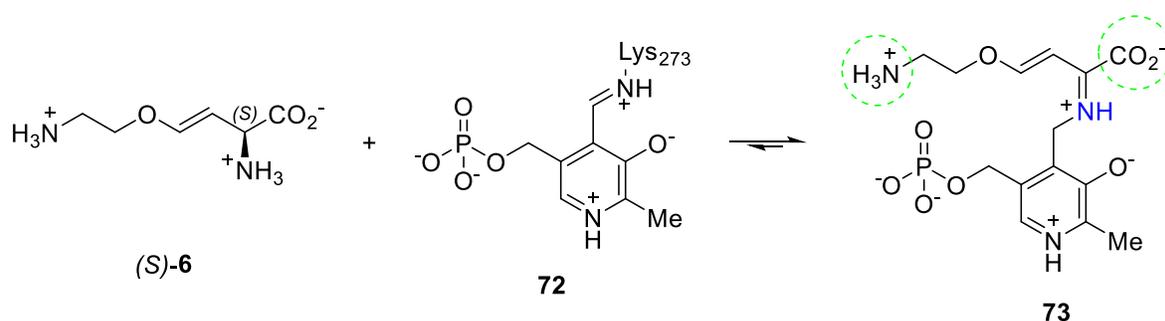
⁷⁶ Zeiss, H. J. Enantioselective Synthesis of L-Phosphinotricin from L-Methionine and L-Glutamic Acid via L-Vinylglycine. *Tetrahedron* **1992**, *48* (38), 8263–8270. [https://doi.org/10.1016/S0040-4020\(01\)80494-4](https://doi.org/10.1016/S0040-4020(01)80494-4).

⁷⁷ Yang, S. F.; Hoffman, N. E. Ethylene Biosynthesis and Its Regulation in Higher Plants. *Annu. Rev. Plant Physiol.* **1984**, *35* (1), 155–189. <https://doi.org/10.1146/annurev.pp.35.060184.001103>.

⁷⁸ Ickelson, I.; Apelbaum, A. Antifungal Antibiotics and Siba Inhibit 1-Aminocyclopropane-1-Carboxylic Acid Synthase Activity. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **1983**, *113* (2), 586–591. [https://doi.org/10.1016/0006-291X\(83\)91766-7](https://doi.org/10.1016/0006-291X(83)91766-7).

$1.1 \times 10^5 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$. La AVG es un derivado de vinilglicina que ha sido estudiado ampliamente para el desarrollo de aplicaciones en el campo de la agricultura, esencialmente para la conservación de frutos climatéricos y almacenamiento postcosecha.

A través de estudios de cristalografía de alta resolución, se ha demostrado que la formación del aducto P5P-AVG corresponde a una cetimina que tiene como resultado la inhibición de ACC sintasa (Esquema 22), pero curiosamente y a diferencia que el compuesto origen L-VG, este efecto no se debe a la formación de un nuevo enlace covalente, sino a una densa red de interacciones no covalentes que son las responsables de la afinidad de la enzima por el inhibidor, en especial la interacción de cargas que se desarrolla entre el grupo amino de la cadena lateral de AVG y el residuo Lys-273 de ACC sintasa y la posible formación de un enlace de hidrógeno entre el grupo carboxilato de AVG y el residuo Tyr-19.⁷⁹



Esquema 22. Formación del aducto AVG-P5P cetimina.

⁷⁹ Capitani, G.; McCarthy, D. L.; Gut, H.; Grü Tter ‡, M. G.; Kirsch, J. F. Apple 1-Aminocyclopropane-1-Carboxylate Synthase in Complex with the Inhibitor L-Aminoethoxyvinylglycine. Evidence for a ketimine intermediate*. *J. Biol. Chem.* **2002**, 277 (51), 49735–49742. <https://doi.org/10.1074/jbc.M208427200>.

Conclusiones.

Con el desarrollo de este trabajo de investigación se lograron puntualizar las propiedades fisicoquímicas más características de la DL-VG. Además, se reportó información valiosa acerca de su determinación a través de técnicas más sofisticadas como RMN ^1H , ^{13}C y EM, lo que constituye una alternativa más apropiada para conseguir la correcta identificación de este compuesto a través de sus señales más características.

Con base en la investigación realizada, se halló que el único aislamiento documentado del racemato de VG se realizó a partir de los carpóforos del hongo *Rhodophyllus nidorosus*. No obstante, numerosos compuestos β , γ y β - γ sustituidos han sido aislados de diversos hongos y bacterias, siendo estos últimos, los compuestos con la actividad biológica más destacada.

En este sentido y como parte del presente trabajo de investigación bibliográfica, se indagó acerca del papel que juega la VG como metabolito y se encontró que este compuesto aparece como *sustrato e intermediario mecanístico* de numerosos procesos enzimáticos mediados por enzimas dependientes del cofactor PLP y que derivan en la obtención de α -cetobutirato y amonio, pero debido a la curiosa propiedad de sustrato-inhibidor que este metabolito posee, cada cierto número de ciclos catalíticos culmina en la inactivación de la enzima en cuestión.

Con respecto a la obtención de VG, se abordó este tópico desde numerosos enfoques que hacen posible el acceso a uno o ambos enantiómeros de la vinilglicina con alta pureza óptica, siendo el más robusto (y más costoso) de los métodos, la resolución enzimática empleando papaína (\$19 327/g péptido), capaz de conseguir la separación y refinamiento de ambos antípodos hasta su forma enantiopura con un rendimiento general del 81%. Así mismo, se encontró que la síntesis asimétrica mediante la adición altamente diastereoselectiva de bromuro de vinilmagnesio (\$233.57/mL) sobre el acetónido derivado de L-gliceraldehído (\$2 091.54/g) hace posible la obtención de (*S*)-VG enantiopura con un rendimiento del 45%.

Si se relaciona el aspecto económico con el rendimiento y pureza alcanzados en la síntesis, la mejor de las estrategias corresponde al método de obtención por la vía radicalaria partiendo de L-ácido glutámico (\$1.18/g) y *N*-óxido de 2-bromopiridina (\$379.20/mL).

Siguiendo esta estrategia de síntesis es posible la obtención de L-VG *homoquiral* con un rendimiento del 91%.

A través del trabajo de investigación realizado, fue posible generar una clasificación general para los usos y aplicaciones de la vinilglicina, agrupándolos en dos conjuntos principales; su uso como *quirón* o como inhibidor enzimático.

Dentro del primer conjunto, vale la pena resaltar la obtención del herbicida L-fosfinotricina, que es un claro ejemplo de síntesis regioselectiva en el que el uso de L-VG permite la recuperación de un producto *homoquiral* virtualmente puro, mientras que el uso de vinilglicina como inhibidor de las enzimas dependientes del cofactor PLP puede suceder siguiendo alguno de dos mecanismos diferentes: la inactivación suicida a través de la formación del complejo P5P-VG-Enzima o la condensación entre P5P y un derivado de vinilglicina, capaz de desarrollar interacciones débiles o iónicas con la enzima objetivo gracias a las características de su cadena lateral, tal como sucede en el mecanismo de inactivación de ACC sintasa con AVG, que tiene lugar a través de las interacciones desarrolladas entre los grupos con carga $R-NH_3^+$ y $R-CO_2^-$ y los residuos Glu-47 y Tyr-19 respectivamente. Este caso en particular es de especial interés para la industria agrícola y de conservación de alimentos, ya que la eficiencia inhibitoria de AVG sobre ACC sintasa promueve su uso como fitoregulator químico para controlar la madurez y senescencia, así como la recuperación de daños mecánicos postcosecha de frutos climatéricos como *Lycopersicum esculentum*, fruto del cual México es el exportador número uno a nivel mundial y cuya industria está valuada en alrededor de 1 583 MDD.

Debido a que se requieren precursores enantioméricamente puros para llevar a cabo adecuadamente cualquiera de las aplicaciones analizadas en este trabajo documental, es muy conveniente que se sigan desarrollando y refinando métodos de síntesis estereocontrolados orientados a la obtención de alguno de los enantiómeros de vinilglicina. También vale la pena seguir explorando protocolos de inhibición de enzimas dependientes de P5P mediadas por vinilglicina y sus derivados, debido a que deben existir otros miembros de esta extensa familia de vinil aminoácidos que presenten actividad de inhibidor enzimático y que aún no han sido descubiertos.