

UNIVERSIDAD DE GRANADA

DEPARTAMENTO DE QUÍMICA ORGÁNICA



**LA QUÍMICA DEL SELENIO APLICADA A
SISTEMAS MULTIVALENTES DE AZÚCARES
Y CICLODEXTRINAS**

MÁSTER EN BIOTECNOLOGÍA

Trabajo Fin de Máster

LAURA PÉREZ GARRIDO

Curso 2019/2020

LA QUÍMICA DEL SELENIO APLICADA A SISTEMAS MULTIVALENTES DE AZÚCARES Y CICLODEXTRINAS

Autora:

Laura Pérez Garrido

Tutores:

Mariano Ortega Muñoz

F. Javier López Jaramillo

FQM 208 “Glicoquímica y Bioconjugación”

Departamento de Química Orgánica de la Universidad de Granada

Fdo:

Laura Pérez Garrido



Mariano Ortega Muñoz



F. Javier López Jaramillo



ÍNDICE

| | |
|---|-----------|
| RESUMEN | 1 |
| PLAN DE TRABAJO | 3 |
| | |
| 1. INTRODUCCIÓN..... | 5 |
| 2. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS DEL TRABAJO | 15 |
| 2.1. HIPÓTESIS | 15 |
| 2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS | 16 |
| 3. MATERIAL Y MÉTODOS | 17 |
| 3.1. MATERIAL..... | 17 |
| 3.2. MÉTODOS GENERALES | 17 |
| 4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN..... | 31 |
| 5. CONCLUSIONES | 45 |
| | |
| BIBLIOGRAFÍA..... | 47 |
| ANEXOS | 51 |

RESUMEN

El selenio es un oligoelemento esencial en mamíferos que desempeña un papel muy importante en la salud humana. Se ha demostrado que un desequilibrio nutricional de este elemento puede causar numerosas enfermedades, tanto si existe una deficiencia como una alta dosis debido a su toxicidad.

El descubrimiento de distintas selenoproteínas con importante actividad biológica y el papel fundamental que desempeña el átomo de selenio en sus centros activos, así como su involucración en numerosos procesos biológicos como son la prevención del cáncer, la regulación redox, etc. ha desencadenado un gran interés por la incorporación de este elemento en pequeñas moléculas orgánicas. Aunque se han sintetizado compuestos muy interesantes como es el caso de Ebselen (un agente antiinflamatorio con potente actividad biológica), la falta de solubilidad de estas moléculas en medios acuosos lleva a plantear una posible alternativa como es la síntesis de derivados selenados de azúcares para obtener compuestos orgánicos que contienen selenio y que además son solubles en un medio fisiológico.

La química de carbohidratos ha adquirido gran importancia en los últimos años, tanto su síntesis como el reconocimiento proteína-carbohidrato, y el ejemplo actual de mayor relevancia lo encontramos en la infección de las células humanas por parte del virus SARS-CoV2, en la que juega un papel clave la interacción entre la glicoproteína transmembrana S (Spike) del virus, la cual posee al menos 44 residuos glicosilados, y el receptor humano ACE-2.

A lo largo de los años se han sintetizado numerosos selenoglicósidos con atractivas propiedades biológicas, destacando la investigación sobre el enlace diseleniuro para la síntesis de profármacos contra el cáncer, gracias a su capacidad de reducirse en ambientes antioxidantes como los que presentan las células cancerosas.

En este trabajo se ha llevado a cabo la síntesis de distintos selenoazúcares con funciones complementarias *alquino* y *azida*, y se ha evaluado su compatibilidad en la reacción más destacable de la metodología “Click Chemistry”, para obtener sistemas multivalentes de azúcares que contienen selenio, que además de no ser hidrolizables por enzimas presentan las propiedades descritas para los compuestos orgánicos con selenio.

Por otro lado, la ampliación de la química del selenio a ciclodextrinas se planteó como un objetivo de gran interés debido a las atractivas propiedades que presentan estos oligosacáridos cíclicos, destacando la capacidad de encapsular moléculas mediante la formación de complejos de inclusión. De esta forma, se realizó la síntesis de distintos derivados selenados de ciclodextrinas de forma eficiente y posteriormente se usaron en la obtención de polímeros de ciclodextrinas mediante puentes diseleniuro, para evaluar en un futuro tanto su capacidad de encapsulamiento como la capacidad de reducirse en un ambiente antioxidante liberando la molécula ocluida.

Por último, cabe destacar el medicamento Bidrion, cuyo principio activo *Sugammadex* está basado en un derivado sulfurado de γ -ciclodextrina capaz de encapsular los relajantes musculares vecuronio y rocuronio, revirtiendo el efecto de relajación de forma inmediata. En este trabajo se ha llevado a cabo la introducción de selenio en γ -ciclodextrina con el fin de obtener en un futuro un análogo de *Sugammadex* con selenio.

- **Palabras clave:** selenio, selenoazúcares, ciclodextrinas, “Click Chemistry”.

PLAN DE TRABAJO

Este trabajo se ha desarrollado durante el Curso 2019/2020.

Cronograma:

| CONSECUCIÓN DE LOS OBJETIVOS | | OCT | NOV | DIC | ENE | FEB | MAR |
|--|---|------------|------------|------------|------------|------------|------------|
| 1. Obtención de sistemas multivalentes de azúcares conteniendo Se. | 1.1. Obtención de selenopropargilazúcares. | ■ | | | | | |
| | 1.2. Obtención de 2-azidoetilselenoazúcares. | | | ■ | | | |
| | 1.3. Obtención de sistemas multivalentes mediante “Click Chemistry”. | | | | | ■ | |
| 2. Obtención de polímeros de ciclodextrinas mediante puentes diseleniuro. | 2.1. Introducción de Se en ciclodextrinas con KSeCN. | | | ■ | | | |
| | 2.2. Obtención de polímeros de CDs mediante enlaces Se-Se. | | | | | ■ | |
| | 2.3. Obtención de un análogo de <i>Sugammadex</i> con Se. | | | | | | ■ |

1. INTRODUCCIÓN Y ANTECEDENTES

El **selenio (Se)** es un oligoelemento esencial en mamíferos, descubierto en 1817 por el químico Jöns Jacob Berzelius, que ha demostrado desempeñar un papel fundamental en la salud humana, ya que un desequilibrio nutricional de este elemento puede derivar en importantes problemas de salud. Un déficit está asociado a numerosas enfermedades desde hipotiroidismo, debilitación del sistema inmunológico, infertilidad masculina, un aumento en la incidencia de diversos cánceres (Harvey et al., 2020), e incluso enfermedades cardiovasculares tales como la enfermedad de Keshan, una cardiomiopatía progresiva que afecta a la región noreste de China y que puede derivar en la muerte de los afectados (Zhang, 2019). Paralelamente, la elevada toxicidad que presenta el selenio puede provocar serios efectos tóxicos si se suministra una alta dosis, tales como pérdida de cabello y uñas, halitosis, trastornos en el sistema nervioso y la piel e incluso parálisis (Rayman, 2012).

En vista de su importancia, el metabolismo y la biotransformación de este elemento se han convertido a lo largo de los años en objeto de estudio de gran interés. Así, en 1970 se detecta por primera vez la presencia de selenio en enzimas como glutatiónperoxidasa (GPx), que tienen la función de prevenir ciertos riesgos celulares frente a especies reactivas oxigenadas (ROS), tales como radicales hidroxilo o superóxidos de oxígeno. Actualmente hay descritas 25 selenoproteínas que contienen selenocisteína en su centro activo (Rayman, 2012), y cuyo modo de acción está directamente relacionado con el átomo de selenio que presentan. En las proteínas, el selenio se encuentra fundamentalmente en forma de selenocisteína y selenometionina, pero su metabolismo y su función están solo parcialmente entendidos (Boutureira et al., 2012):

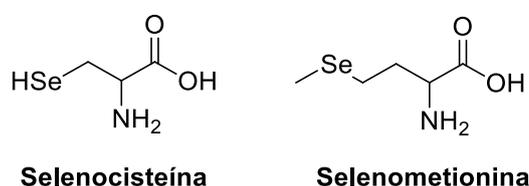


Figura 1.1. Estructuras químicas selenocisteína y selenometionina.

Kobayashi et al. (2002) identificaron por primera vez el principal metabolito de selenio excretado en la orina de ratas, un selenoazúcar (1 en *Figura 1.2*), y posteriormente se ha comprobado su excreción en la orina humana, junto a dos compuestos relacionados que también están presentes en menor cantidad respectivamente (2,3 en *Figura 1.2*).

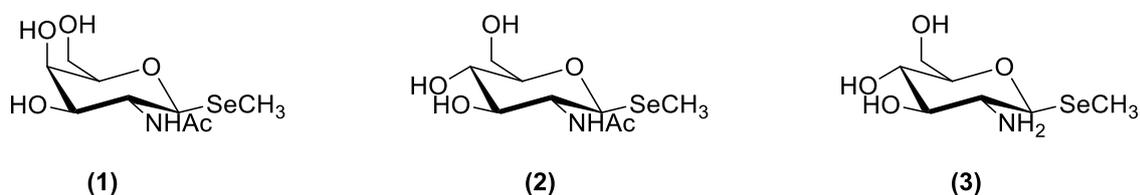


Figura 1.2. Selenoazúcares detectados en orina.

Además, se ha demostrado que el selenio está involucrado en una serie de importantes procesos biológicos que van desde la prevención del cáncer, a la regulación redox, el envejecimiento o la inmunología en la reproducción masculina (Ursini et al., 1999).

Considerando la gran importancia del selenio en numerosos procesos biológicos, se ha incrementado a lo largo del tiempo el interés por la incorporación de este elemento en pequeñas moléculas orgánicas, enfocando su estudio fundamentalmente a la toxicología y farmacología. Las primeras terapias para incrementar los niveles de selenio en el organismo estaban limitadas a suplementos alimenticios basados en selenometionina y selenito sódico (Storkey et al., 2011). Con el tiempo se han desarrollado numerosos compuestos orgánicos sintéticos que contienen selenio, y uno de los ejemplos más relevantes es el Ebselen, un agente antiinflamatorio no esteroideo con potente actividad antioxidante y actividad mimética de la acción catalítica de la enzima glutathionperoxidasa (en la *Figura 1.3* se representa el mecanismo propuesto por Satheeshkumar & Mugesh (2011)). Cabe destacar que están siendo investigadas sus aplicaciones clínicas en eventos de isquemia-reperusión, ictus, pérdidas de audición y más recientemente en trastornos bipolares como sustituto del litio (Singh et al., 2013).

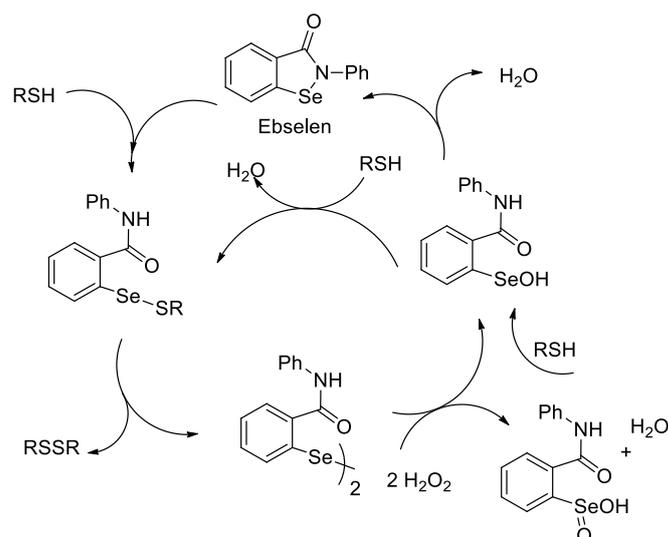


Figura 1.3: Mecanismo de la actividad mimética de GPx de Ebselen (Satheeshkumar & Mugesh, 2011).

Asimismo, se han descrito numerosos compuestos orgánicos de selenio con diversos grupos funcionales, incluidos selenocianatos, selenoureas, selenoésteres, nanopartículas de selenio, seleniuros y diseleniuros que presentan una potente actividad anticancerosa a través de mecanismos como la modificación de proteínas o la detención del crecimiento celular (Jariwalla et al., 2008). Recientemente se han sintetizado una serie de fármacos antiinflamatorios no esteroideos derivados del selenio, y se ha evaluado su actividad en la reducción del estrés oxidativo a través de la eliminación de radicales libres (Nie et al., 2020). Además, se ha probado la eficiencia de distintos selenocianatos y diseleniuros frente a células cancerosas que han resultado ser activos (Nie et al., 2020), y paralelamente como agentes frente a la leishmaniasis, enfermedades que afectan al hombre y otros mamíferos en las regiones tropicales y subtropicales del mundo (Plano et al., 2011). De manera análoga se han descrito nanopartículas de hidroxiapatita dopadas con selenio que muestran una alta selectividad anticancerígena, reduciendo la proliferación de las células cancerosas en presencia de células madre en los cánceres de próstata y mama (Barbanente et al., 2020).

No obstante, uno de los principales problemas de los compuestos sintetizados que contienen selenio es su escasa solubilidad en medios acuosos, y por esta razón se plantea la obtención de azúcares que contengan selenio como una propuesta viable para obtener derivados selenados con interesantes propiedades biológicas y que además sean solubles en un ambiente fisiológico.

Dentro de la **Química de Carbohidratos** la obtención de “pseudoglicósidos” se ha convertido en un objetivo de gran interés en los últimos años, destacando entre ellos los tioglicósidos, ya que presentan un enlace interglicosídico no hidrolizable por enzimas lo cual les permite actuar como inhibidores de estas enzimas (Kawai et al., 2005). La glicosilación de muchas proteínas y su reconocimiento proteína-carbohidrato juegan un papel fundamental en innumerables procesos biológicos, por lo que el desarrollo de inhibidores de estos procesos de reconocimiento puede llevar al desarrollo de potenciales fármacos. El último ejemplo de la importancia de este patrón de glicosilación lo constituyen la glicoproteína transmembrana S (Spike) del virus SARS-CoV2, que posee al menos 44 residuos glicosilados, y cuya interacción con el receptor ACE-2 (también una glicoproteína) se sabe que juega un papel clave en la infección de las células humanas por parte del virus (Wrapp et al., 2020)

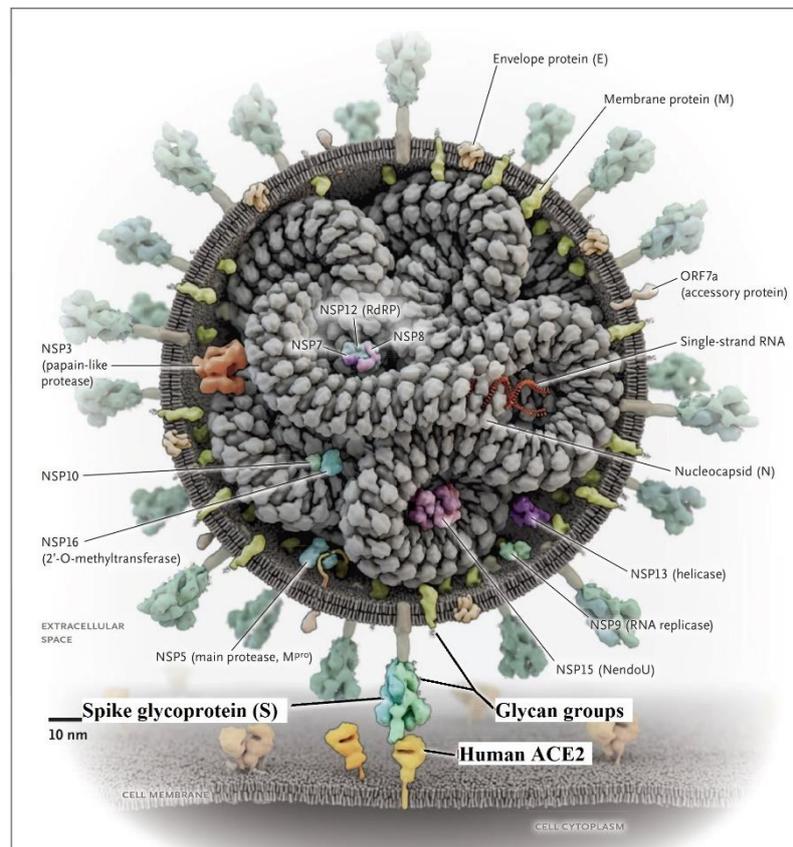


Figura 1.4: Interacción entre la glicoproteína Spike (S) del virus SARS-CoV2 y el receptor humano ACE2.

Tamiflu, uno de los medicamentos antivirales más conocidos, está dirigido a inhibir la enzima que escinde el ácido siálico en la superficie de las células humanas, lo que interfiere con la capacidad del virus para infectar al huésped y constituye otro ejemplo de la búsqueda de inhibidores de las interacciones proteína-carbohidrato donde los selenoazúcares que proponemos podrían tener un interés destacable. Las interacciones proteína-carbohidrato son muy débiles, hecho que la naturaleza ha soslayado con la multivalencia (exposición de muchas unidades de azúcares para incrementar la interacción) y con lo que se ha denominado efecto “cluster” glicosídico (incremento de la interacción mayor a la suma de las unidades de carbohidrato que lo constituyen por separado). Por ello, cuando se trata de generar inhibidores basados en azúcares de forma sintética debemos imitar lo que sucede en las superficies de proteínas, virus, bacterias etc. y sintetizar sistemas multivalentes de azúcares.

La introducción de selenio en azúcares se ha realizado hasta ahora siguiendo varias estrategias, desde intermedios de síntesis en reacciones de glicosilación (Jiaang et al., 2000), o la obtención de selenoglicósidos con atractivas propiedades biológicas. Así, se han sintetizado 5-selenopiranosas (Storkey et al., 2011) o 5-selenoxylofuranosidos (Braga et al., 2010) y evaluado su actividad antioxidante aprovechando su alta solubilidad en agua. Otra estrategia ha consistido en la obtención de diseleniuros de azúcares vía selenourea para evaluar su actividad frente a tripanosoma Africano, demostrándose que altera la homeostasis redox y el consumo de glucosa produciendo su muerte (Franco et al., 2017).

Las células han adaptado de forma evolutiva distintos mecanismos antioxidantes para mantener un nivel adecuado de especies oxigenadas reactivas (ROS) en el organismo, siendo los más importantes en células mamíferas los sistemas de glutatión y tioredoxina. Es conocido que las células cancerosas son capaces de albergar un nivel muy elevado de ROS con respecto a sus homólogas benignas, y en consecuencia existe una mayor regulación de moléculas antioxidantes para mantener la homeostasis redox en este entorno. Este entorno redox anormal es un punto de partida en el estudio de terapias anticancerígenas mediadas por el ROS, basadas en matar a las células cancerosas mediante un aumento en la producción de ROS, o bien una inhibición de antioxidantes celulares.

Esta estrategia permite estudiar la posibilidad de desarrollar profármacos, es decir formas inactivas de medicamentos que sean selectivamente activadas en un entorno determinado, en este caso un ambiente reductor. Entre los profármacos investigados, el uso de unidades disulfuro se ha explotado ya que las células cancerosas tienen gran capacidad de reducir el enlace disulfuro gracias al elevado nivel de moléculas antioxidantes como son la tioredoxina

(Trx), la tioredoxina reductasa (TrxR) y el glutatión reducido (GSH). Recientemente, (Li et al., 2020) han planteado el enlace diseleniuro como alternativa en la síntesis de profármacos contra el cáncer.

Las **ciclodextrinas (CDs)** son una familia de oligosacáridos que han adquirido gran interés a lo largo de los años. Se trata de unos compuestos sintéticos formados por un número discreto de moléculas de glucosa unidas a través de enlaces glicosídicos α -1,4 que resultan en una estructura rígida de forma troncocónica con una cavidad interior.

Fueron obtenidas por primera vez en 1890 en Francia, por el químico y farmacéutico Antoine Villiers, durante sus experimentos de degradación y reducción de diversos hidratos de carbono tras observar que el almidón presente en la fécula de patata puede fermentar dando lugar principalmente a dextrinas (Szejtli, 1998). Posteriormente, se ha descrito la obtención de estas moléculas como resultado de la degradación enzimática del almidón mediante la reacción de transglicosilación intramolecular por la enzima ciclodextrina glucanotransferasa (CGTasa) (Gould & Scott, 2005).

Actualmente pertenecen a la familia de moléculas hospedadoras desarrolladas por Pedersen, Lehn y Crann (Premio Nobel de Química 1987) gracias a su capacidad de ocluir moléculas en el interior de su estructura supramolecular en forma de jaula, en la que la cavidad hidrofóbica que presentan permite llevar a cabo reacciones químicas que implican interacciones intermoleculares en las que no se forman enlaces covalentes entre las moléculas, iones o radicales que interactúan con ellas (Del Valle, 2004).

La capacidad de las ciclodextrinas para formar complejos de inclusión las convierte en anfitriones moleculares muy versátiles que pueden modificar y/o mejorar significativamente las propiedades físicas, químicas o características biológicas de la molécula huésped (Santoyo-González, 2017). Es por esta razón, junto a los insignificantes efectos citotóxicos que presentan, que estas moléculas poseen un amplio campo de aplicación en el sector de la industria desde alimentación, transporte de fármacos, cosmética, sector textil, así como protección del medio ambiente, fermentación y catálisis (Hedges, 1998).

Las ciclodextrinas pueden clasificarse en tres categorías en función del número de subunidades de glucosa que contengan en su estructura, y son denominadas CDs de primera generación: son la α -ciclodextrina (α -CD), β -ciclodextrina (β -CD) y γ -ciclodextrina (γ -CD) (ver *Figura 1.5*)

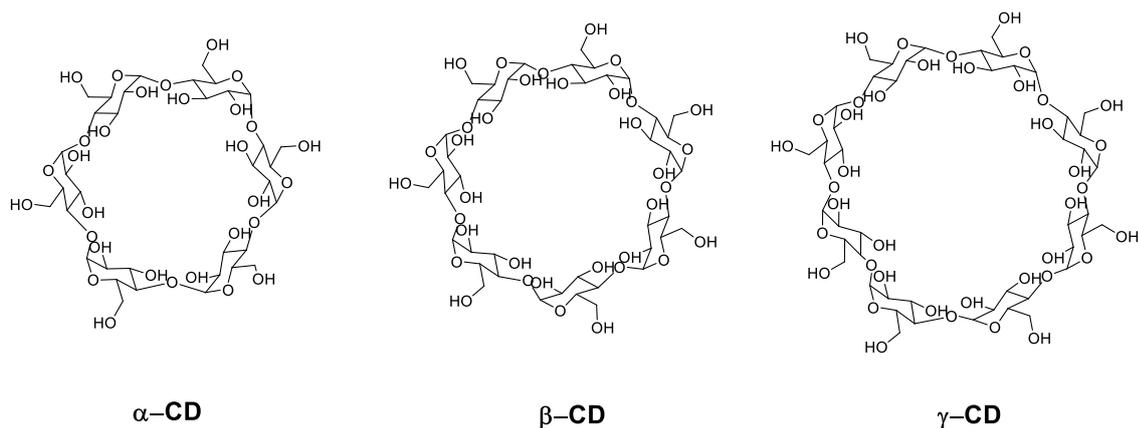


Figura 1.5: Estructura de ciclodextrinas nativas.

Además de las ciclodextrinas nativas, se han sintetizado numerosos derivados de CDs a lo largo de su investigación, con el objetivo de mejorar ciertas propiedades como la solubilidad, el tamaño de la cavidad hidrofóbica, la estabilidad frente a la luz o al oxígeno, o controlar con mayor facilidad la actividad química de las moléculas huésped albergadas en su interior. Estos derivados son conocidos como ciclodextrinas de segunda generación y suelen obtenerse mediante reacciones de sustitución de los grupos hidroxilos primarios y secundarios.

Las numerosas ventajas que presentan estos complejos de inclusión, entre ellas, la posibilidad de solubilizar en agua sustratos insolubles, aporta una gran versatilidad en el uso de CDs en numerosos campos de aplicación. Gracias al encapsulamiento molecular, medicamentos poco solubles, fragancias volátiles, pesticidas tóxicos, etc. pueden ser retenidos y posteriormente liberados cuando sea necesario.

Un ejemplo muy relevante de ello es el del medicamento Bidrion, que consiste en una solución inyectable cuyo principio activo llamado Sugammadex es capaz de revertir el efecto de los relajantes musculares rocuronio y vecuronio.

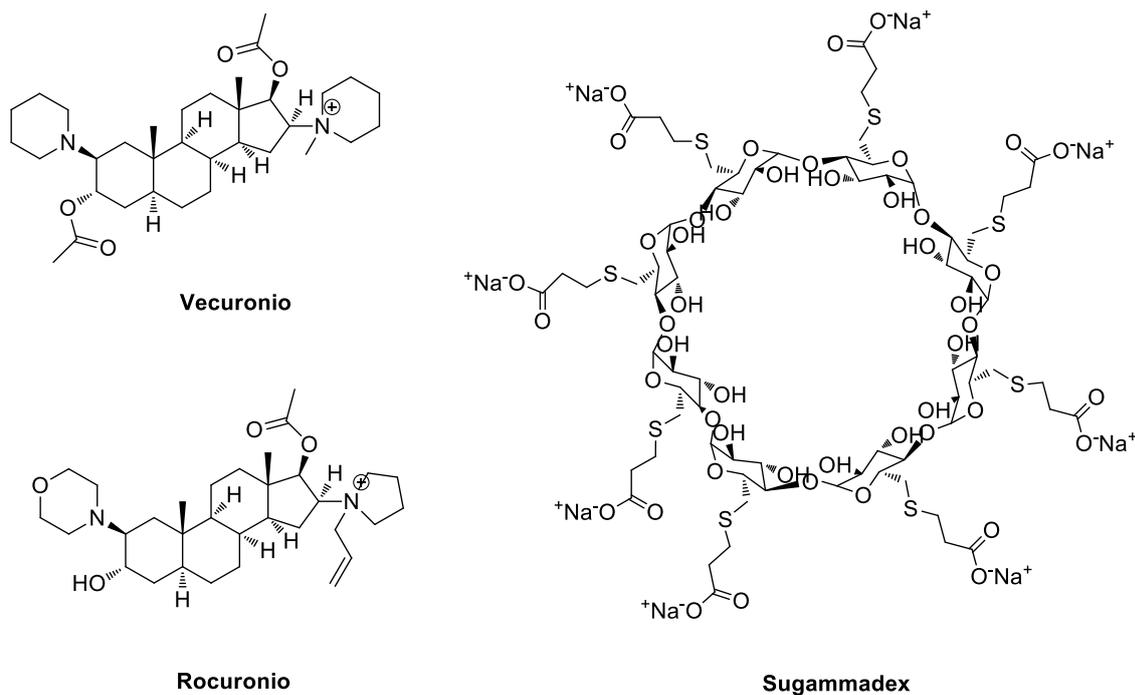


Figura 1.6: Estructuras químicas de Sugammadex, vecuronio y rocuronio.

El principio activo está basado en un derivado de γ -CD que presenta 8 cadenas laterales funcionalizadas con ocho grupos carboxilatos en la cara primaria, de manera que estos grupos interaccionan con el grupo nitrogenado cargado positivamente del rocuronio y vecuronio aumentando así la capacidad de encapsulamiento. El complejo de inclusión que se forma resulta inactivo y se elimina a través de la orina. De esta forma, el tiempo de recuperación del paciente queda reducido a escasos 3 minutos, frente al periodo de hasta 49 minutos necesarios en ausencia de CDs. Por esta razón, este ejemplo está considerado como una de las mayores innovaciones farmacológicas en anestesia en los últimos 20 años (Santoyo-González, 2017).

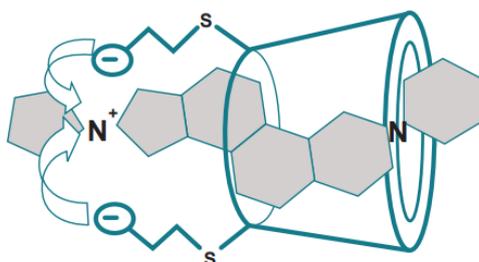
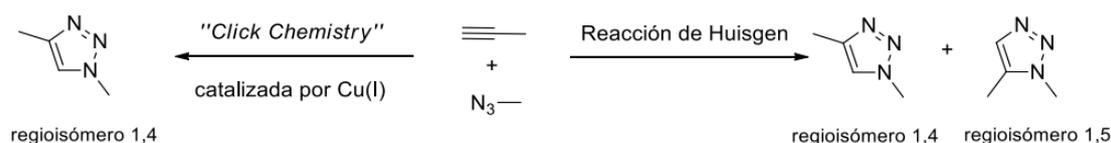


Figura 1.7: Complejo de inclusión entre Sugammadex y rocuronio.

En la obtención de derivados de ciclodextrinas, las reacciones más empleadas se basan en la aminación, esterificación o eterificación de los grupos hidroxilo (Del Valle, 2004). Sin embargo, también se han obtenido derivados selenados de ciclodextrinas que han resultado ser muy interesantes. Se han sintetizado dímeros de ciclodextrinas mediante puentes Se-Se que presentan actividad mimética de la glutationperoxidasa (Liu et al., 2000), demostrando una mayor actividad con respecto al compuesto Ebselen descrito anteriormente, y se ha comprobado que las cavidades hidrofóbicas de las CD juegan un papel importante gracias a su capacidad de unión con el sustrato (Liu et al., 1998). Esto demuestra de nuevo la versatilidad de las ciclodextrinas, que también pueden actuar como modelos de enzimas y receptores moleculares gracias a su capacidad de encapsular ciertas moléculas en su cavidad hidrofóbica (Breslow, 1998).

Por último, cabe destacar la metodología usada en este TFM, basada en el concepto "**Click Chemistry**" (Kolb et al., 2001) que aparece en año 2001 introducido por el Premio Nobel en Química K. Barry Sharpless, y que se ha convertido en una de las estrategias sintéticas más versátiles dentro de la química contemporánea. El concepto engloba un grupo de reacciones químicas que permita unir dos moléculas, con altos rendimientos, reactivos y disolventes inocuos, conduciendo a productos únicos de forma estereoespecífica y con procesos sencillos de purificación. La Cicloadición 1,3-dipolar entre azidas y alquinos terminales catalizada por Cu(I), es la reacción más importante dentro de este concepto, e incluso se utiliza el término "Click Chemistry" para referirse a esta reacción. En el año 2002, los grupos de Meldal (Tornøe et al., 2002) y Sharpless (Rostovtsev et al., 2002) describieron simultáneamente que el empleo de una cantidad catalítica de Cu(I) reduce considerablemente los tiempos de reacción, y además conduce de forma regioespecífica a la obtención de 1,2,3-triazoles 1,4-disustituidos con excelentes rendimientos en la reacción de Huisgen conocida desde los años 70 pero que conduce a mezcla de regioisómeros cuando se realiza sin catálisis (*Esquema 1.8*).



Esquema 1.8 Cicloadiciones 1,3-dipolares de alquinos y azidas, catalizada y sin catalizar.

Como fuente de Cu (I) para la catálisis de estas reacciones se han utilizado diferentes estrategias: si la reacción tiene lugar en medio acuoso, la técnica clásica consiste en la reducción *in situ* de sales de Cu(II), como $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ y ascorbato sódico (Rostovtsev et al., 2002) como agente reductor. Otra estrategia para llevar a cabo la reacción en un medio orgánico es el uso de complejos de Cu (I), como por ejemplo $(\text{EtO})_3\text{P} \cdot \text{CuI}$ (Pérez-Balderas et al., 2003).

La versatilidad de la “Click Chemistry” permite encontrar aplicación en numerosos campos científicos, desde polímeros (Van Dijk et al., 2009) y ciencias de materiales (Lutz, 2007), superficies sólidas (Devaraj & Collman, 2007), bioconjugación (Lutz & Zarafshani, 2008), diseño de fármacos (Kolb & Sharpless, 2003) y química médica (Tron et al., 2008).

2. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS DEL TRABAJO

2.1. HIPÓTESIS

Basándonos en los antecedentes expuestos en la introducción, la hipótesis de partida de este trabajo se fundamenta en la posibilidad de desarrollar sistemas multivalentes de azúcares que contengan selenio. Estos compuestos podrían actuar como inhibidores de enzimas y además podrían evaluarse actividades que poseen las moléculas orgánicas que contienen selenio, como actividad antiparasitaria, antitumoral y antioxidante con la ventaja adicional que presentan los azúcares de ser solubles en agua. Para desarrollar este tipo de compuestos se propone utilizar la metodología “Click Chemistry”, y sería necesario disponer de selenoazúcares con las funciones adecuadas para esta estrategia: azida y alquino.

En el diseño de la metodología para introducir selenio en azúcares se ha pensado en la posibilidad de introducir selenio en las ciclodextrinas debido a la importancia que estos oligosacáridos presentan en la industria farmacéutica. En este caso, la hipótesis consiste en la posibilidad de sintetizar polímeros de diferentes ciclodextrinas basados en enlaces diseleniuro, con la capacidad intrínseca de las ciclodextrinas de encapsular moléculas como fármacos. Estos polímeros en presencia de reductores descompondrían por el carácter dinámico del enlace diseleniuro, liberando ciclodextrinas con el fármaco ocluido en ambientes reductores como en los entornos de células cancerosas, lo que supondría una liberación selectiva de un fármaco. Para conseguir este tipo de polímeros es necesario obtener ciclodextrinas con todas sus moléculas de glucosa funcionalizadas con selenio y conseguir la formación de los enlaces diseleniuro para la polimerización. Adicionalmente, en el caso de la γ -CD podríamos sintetizar un análogo de *Sugammadex* en el que en lugar de azufre (como el fármaco comercial) contenga selenio para evaluar la capacidad de secuestrar anestésicos con las propiedades biológicas adicionales que le pueda proporcionar la presencia de 8 átomos de selenio.

2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

Los objetivos específicos para desarrollar la hipótesis de partida son los siguientes:

- 1. Obtención de sistemas multivalentes de azúcares conteniendo Se:**
 - 1.1. Síntesis de selenopropargilazúcares de forma eficiente.**
 - 1.2. Evaluación de distintas estrategias para la obtención de 2-azidoetilselenoazúcares.**
 - 1.3. Obtención y caracterización de sistemas multivalentes utilizando la metodología “Click Chemistry”.**

- 2. Obtención de polímeros de ciclodextrinas mediante puentes diseleniuro:**
 - 2.1. Introducción de selenio en la estructura de ciclodextrinas utilizando KSeCN.**
 - 2.2. Síntesis de polímeros de ciclodextrinas mediante enlaces Se-Se y evaluación de su actividad.**
 - 2.3. Obtención y evaluación de un análogo de *Sugammadex* con Se.**

3. MATERIAL Y MÉTODOS

3.1. MATERIAL

Los reactivos empleados fueron adquiridos en Sigma-Aldrich y Alfa Aesar.

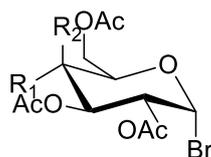
La cromatografía en capa fina (TLC) se realizó sobre hojas de aluminio con sílica gel 60 F254 (Merck), empleando para el revelado una disolución de ácido sulfúrico al 10%. La purificación de los productos obtenidos se llevó a cabo mediante cromatografía flash en columna, utilizando sílica gel (Merck, 0,040- 0,063 mm, 230-400 mesh, ASTM).

Los espectros de RMN DE ^1H , ^{13}C y ^{77}Se se realizaron a temperatura ambiente en un aparato BRUKER Nanobay Avance III HD (400 MHz). Los desplazamientos químicos de los espectros de RMN de ^1H y ^{13}C se expresan en ppm, utilizando como referencia la señal residual del disolvente no deuterado ($\delta = 7.26$ ppm, $\delta = 77.0$ ppm respectivamente para CDCl_3). Los desplazamientos químicos de los espectros de RMN de ^{77}Se se expresan en ppm tomando como referencia externa difenildiseleniuro $\delta = 463$ ppm. Los valores de las constantes de acoplamiento se dan en Hz. Las multiplicidades de cada señal vienen dadas por las siguientes abreviaturas: s = singlete, d = doblete, dd = doble doblete, t = triplete, dt = doble triplete, q = cuartete, p = pentete, m = multiplete.

La cromatografía y los espectros de masas de alta resolución han sido realizados en un espectrómetro Waters Synapt G2 con ionización por electrospray (ESI) y analizador de tiempo de vuelo (TOF).

3.2. MÉTODOS GENERALES:

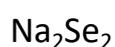
3.2.1. Obtención de 1-bromo-per-O-acetil- α -azúcares:



| | R₁ | R₂ |
|----------------|----------------------|----------------------|
| 1 (Glu) | OAc | H |
| 2 (Gal) | H | OAc |

Se disuelve el correspondiente azúcar per-O-acetilado (1g, 2,56 mmol) en 15 mL de CH₂Cl₂, se añade 10 mL de disolución de HBr en AcOH al 33% y se deja reaccionar durante 24 horas. Posteriormente, la mezcla se vierte sobre 100 mL de disolución saturada de NaHCO₃, se agita vigorosamente y se añade NaHCO₃ sólido hasta completa neutralización. Se extrae en CH₂Cl₂ (3 x 40 mL) y se lava con H₂O (3 x 30 mL). Finalmente, se seca con Na₂SO₄ anhidro, se filtra y se evapora, obteniendo el producto como un sirupo.

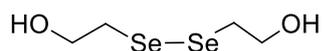
3.2.2. Obtención de diseleniuro sódico (Compuesto 3):



3

Bajo atmósfera inerte de argón, se suspende selenio (395 mg, 5 mmol) en 3 mL de H₂O, y se añade NaBH₄ (378 mg, 10 mmol). Se deja reaccionar durante 20 minutos y se añade de nuevo selenio (395 mg, 5 mmol). Se deja reaccionar durante 10 minutos más, la formación de la sal conlleva la aparición de un color rojo intenso característico.

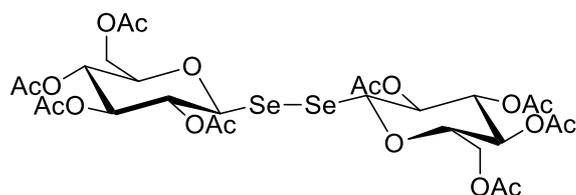
3.2.3. Síntesis del compuesto 4:



4

Se disuelve 2-bromoetanol (1420 μ L, 20 mmol) en THF y se añade la sal de diseleniuro sódico (2,04 g, 10 mmol) previamente preparada mediante el procedimiento descrito (3.2.2). Se deja reaccionar durante 24 horas, se extrae en AcOEt (3 x 40 mL), se evapora el producto se obtiene como un sirupo (2,15 g, 87%). ¹H NMR (400 MHz, Chloroform-*d*) δ 3.92 (td, J = 5.9, 2.1 Hz, 1H), 3.11 (t, J = 6.1 Hz, 1H), 2.67 (s, 1H). ¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃) δ 61.90, 32.71.

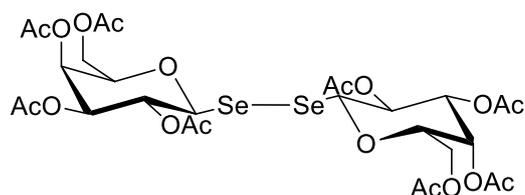
3.2.4. Síntesis del compuesto 5:



5

En primer lugar, se lleva a cabo la bromación de per-O-acetil-D-glucosa (2 g, 5,13 mmol) mediante el procedimiento descrito (3.2.1), y una vez procesada se disuelve en THF. Paralelamente, se prepara la sal de diseleniuro sódico partiendo de selenio (405 mg, 5,13 mmol) y NaBH₄ (194 mg, 5,13 mmol) mediante el procedimiento descrito (3.2.2), y se adiciona sobre la disolución anterior. Se deja reaccionar durante 24 horas, se extrae en CH₂Cl₂, se evapora el disolvente y se purifica mediante cromatografía en columna (AcOEt:Hexano 1:1). El producto se obtiene como un sirupo y en configuración β exclusivamente, pero mezcla de diseleniuro y selenoéter (1,34 g, 67%). **EM-AR** (ESI+) (diseleniuro): calculada para C₂₈H₄₂NO₁₈Se₂ [M+NH₄]⁺ 840.0732 encontrada 840.0744. **EM-AR** (ESI+) (selenoéter): calculada para C₂₈H₄₂NO₁₈Se [M+NH₄]⁺ 760.1567 encontrada 760.1576.

3.2.5. Síntesis del compuesto 6:

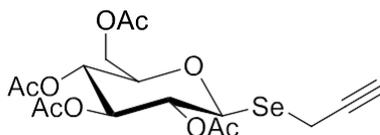


6

En primer lugar, se lleva a cabo la bromación de per-O-acetil-D-galactosa (1 g, 2,56 mmol) mediante el procedimiento descrito (3.2.1), y una vez procesada se disuelve en THF. Paralelamente, se prepara la sal de diseleniuro sódico partiendo de selenio (203 mg, 2,56 mmol) y NaBH₄ (97 mg, 2,56 mmol) mediante el procedimiento descrito (3.2.2), y se adiciona sobre la disolución anterior. Se deja reaccionar durante 24 horas, se extrae en CH₂Cl₂, se evapora el disolvente y se purifica mediante cromatografía en columna

(AcOEt:Hexano 1:1). El producto se obtiene como un sirupo y en configuración β exclusivamente y en configuración β exclusivamente, pero mezcla de diseleniuro y selenoéter (460 mg, 46%). **EM-AR** (ESI+) (diseleniuro): calculada para $C_{28}H_{42}NO_{18}Se_2$ $[M+NH_4]^+$ 840.0732 encontrada 840.0754. **EM-AR** (ESI+) (selenoéter): calculada para $C_{28}H_{42}NO_{18}Se$ $[M+NH_4]^+$ 760.1567 encontrada 760.1564.

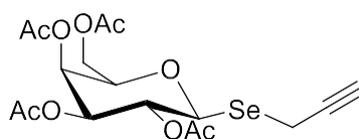
3.2.6. Síntesis del compuesto 7:



7

Bajo atmósfera inerte de argón, se disuelve el compuesto **5** (300 mg, 0,37 mmol) en metanol anhidro, se añade bromuro de propargilo (236 μ L, 2,19 mmol) y seguidamente se añade una disolución de NaBH₄ (21 mg, 0,55 mmol) en la mínima cantidad de MeOH anhidro. Se deja reaccionar durante 24 horas y se adiciona una gota de ácido acético glacial. Se evapora el disolvente, se extrae en CH₂Cl₂ y se lava con H₂O. Se seca con Na₂SO₄ anhidro, se filtra y se evapora, y finalmente se purifica mediante cromatografía en columna (AcOEt:Hexano 1:1). El producto se obtiene como un sólido blanco (295 mg, 90%). ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 5.16 (t, J = 9.2 Hz, 1H, H3), 5.04 (dd, J = 10.1, 7.4 Hz, 1H, H2) 5.02 (t, J = 8.7 Hz, 1H, H4), 4.92 (d, J = 10.2 Hz, 1H), 4.16 (dd, J = 12.4, 4.9 Hz, 1H, H6), 4.06 (dd, J = 12.4, 2.3 Hz, 1H, H6'), 3.65 (ddd, J = 10.1, 4.9, 2.3 Hz, 1H, H5), 3.39 (dd, J = 15.3, 2.7 Hz, 1H, CH₂Se), 3.20 (dd, J = 15.3, 2.7 Hz, 1H, CH₂Se), 2.23 (t, J = 2.7 Hz, 1H, C≡CH), 1.99 (s, 3H), 1.97 (s, 3H), 1.94 (s, 3H), 1.92 (s, 3H) (4 CH₃CO). ¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃) δ 170.48, 170.02, 169.45, 169.30(4 CH₃CO), 79.79(C≡CH), 77.11(C1), 76.97(C5), 73.59(C3), 71.98(C≡CH), 70.58(C2), 68.20(C4), 61.92(C6), 20.67, 20.64, 20.54, 20.51 (4 CH₃CO), 7.24 (CH₂Se). **EM-AR** (ESI+): calculada para C₁₇H₂₆NO₉Se $[M+NH_4]^+$ 468.0772 encontrada 468.0771.

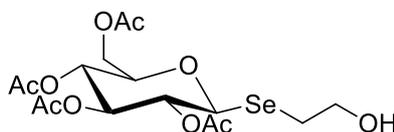
3.2.7. Síntesis del compuesto 8:



8

Bajo atmósfera inerte de argón, se disuelve el compuesto **6** (380 mg, 0,46 mmol) en metanol anhidro, se añade bromuro de propargilo (300 μ L, 2,78 mmol) y seguidamente se añade una disolución de NaBH₄ (26 mg, 0,69 mmol) en la mínima cantidad de MeOH anhidro. Se deja reaccionar durante 24 horas y se adiciona una gota de ácido acético glacial. Se evapora el disolvente, se extrae en CH₂Cl₂ y se lava con H₂O. Se seca con Na₂SO₄ anhidro, se filtra y se evapora, y finalmente se purifica mediante cromatografía en columna (AcOEt:Hexano 1:1). El producto se obtiene como un sólido blanco (295 mg, 90%). ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 5.16 (t, *J* = 9.2 Hz, 1H, H3), 5.04 (dd, *J* = 10.1, 7.4 Hz, 1H, H2) 5.02 (t, *J* = 8.7 Hz, 1H, H4), 4.92 (d, *J* = 10.2 Hz, 1H), 4.16 (dd, *J* = 12.4, 4.9 Hz, 1H, H6), 4.06 (dd, *J* = 12.4, 2.3 Hz, 1H, H6'), 3.65 (ddd, *J* = 10.1, 4.9, 2.3 Hz, 1H, H5), 3.39 (dd, *J* = 15.3, 2.7 Hz, 1H, CH₂Se), 3.20 (dd, *J* = 15.3, 2.7 Hz, 1H, CH₂Se), 2.23 (t, *J* = 2.7 Hz, 1H, C \equiv CH), 1.99 (s, 3H), 1.97 (s, 3H), 1.94 (s, 3H), 1.92 (s, 3H) (4 CH₃CO). ¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃) δ 170.48, 170.02, 169.45, 169.30(4 CH₃CO), 79.79(C \equiv CH), 77.11(C1), 76.97(C5), 73.59(C3), 71.98(C \equiv CH), 70.58(C2), 68.20(C4), 61.92(C6), 20.67, 20.64, 20.54, 20.51 (4 CH₃CO), 7.24 (CH₂Se). **EM-AR** (ESI⁺): calculada para C₁₇H₂₆NO₉Se [M+NH₄]⁺ 468.0772 encontrada 468.0771.

3.2.8. Síntesis del compuesto 9:

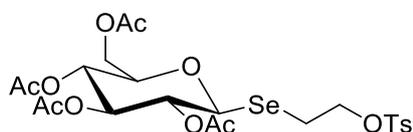


9

Bajo atmósfera inerte de argón, se disuelven el compuesto **1** (1 g, 2,43 mmol) y el compuesto **4** (603 mg, 2,43 mmol) en una mezcla de CH₃CN y DMF (10:1), y seguidamente se añade NaBH₄ (184,1 mg, 4,86 mmol). Se deja reaccionar durante 12 horas, se adicionan dos gotas de AcOH glacial, se evapora el disolvente y finalmente se purifica mediante cromatografía

en columna (AcOEt:Hexano, 2:1), obteniendo el producto como una espuma sólida (1,05 g, 95%). $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, Chloroform-*d*) δ 5.14 (t, $J = 9.3$ Hz, 1H), 5.02 (td, $J = 9.9, 4.2$ Hz, 2H), 4.74 (d, $J = 10.2$ Hz, 1H), 4.14 (dd, $J = 12.4, 4.9$ Hz, 1H), 4.09 (dd, $J = 12.4, 2.6$ Hz, 1H), 3.79 (q, $J = 4.9$ Hz, 2H), 3.69 (ddd, $J = 10.0, 4.9, 2.5$ Hz, 1H), 2.96 (dt, $J = 13.3, 5.7$ Hz, 1H), 2.87 (s, 1H), 2.78 (dt, $J = 13.3, 6.0$ Hz, 1H), 2.03 (s, 3H), 1.99 (s, 3H), 1.96 (s, 3H), 1.94 (s, 3H). $^{13}\text{C NMR}$ (101 MHz, CDCl_3) δ 170.61, 170.04, 169.41, 169.33, 77.49, 76.88, 73.50, 70.45, 68.08, 65.74, 62.30, 61.89, 27.99, 20.69, 20.60, 20.52, 20.49, 15.18. $^{77}\text{Se NMR}$ (76 MHz, CDCl_3) δ 270.78.

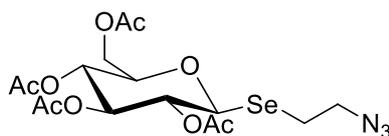
3.2.9. Síntesis del compuesto 10:



10

Se disuelve el compuesto **9** (1,05 g, 2,31 mmol) en CH_2Cl_2 , se añade TsCl (1101 mg, 5,77 mmol) y seguidamente Et_3N (945 μL , 6,92 mmol). Se deja reaccionar durante 3 horas, se extrae en CH_2Cl_2 (3 x 30 mL) y se lava consecutivamente con: NaHCO_3 (sat) (3x10 mL), HCl (5 %) (2x15mL), y finalmente con H_2O (1 x 20 mL). La fase orgánica se seca con Na_2SO_4 , se filtra y se evapora el disolvente hasta obtener el producto como una espuma sólida (1,32 g, 94%). $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, Chloroform-*d*) δ 7.88 – 7.79 (m, 3H), 7.35 (d, $J = 8.2$ Hz, 3H), 5.16 (t, $J = 9.3$ Hz, 1H), 5.08 – 4.96 (m, 2H), 4.76 (d, $J = 10.2$ Hz, 1H), 4.12 (qd, $J = 12.4, 3.7$ Hz, 2H), 3.79 (t, $J = 5.9$ Hz, 2H), 3.71 (ddd, $J = 10.1, 5.0, 2.5$ Hz, 1H), 3.28 (s, 2H), 2.96 (dt, $J = 13.3, 5.8$ Hz, 1H), 2.78 (dt, $J = 13.3, 6.0$ Hz, 1H), 2.42 (s, 3H), 2.02 (s, 3H), 1.99 (s, 3H), 1.96 (s, 3H), 1.94 (s, 3H). $^{13}\text{C NMR}$ (101 MHz, CDCl_3) δ 170.51, 169.92, 169.35, 169.27, 146.82, 141.43, 130.18, 126.88, 77.44, 76.78, 73.44, 70.42, 68.04, 62.26, 61.85, 27.84, 21.67, 20.62, 20.52, 20.44, 20.43.

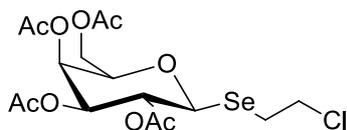
3.2.10. Síntesis del compuesto 11:



11

Se disuelve el compuesto **10** (1,32 g, 2,17 mmol) en DMF, se añade NaN_3 (702 mg, 10,8 mmol), se calienta a 70°C y se deja reaccionar durante 16 horas. Posteriormente, se extrae el producto en una mezcla de éter/tolueno 1:1 (3 x 40 mL) y se lava con H_2O (2 x 30 mL). La fase orgánica se seca con Na_2SO_4 , se filtra y se evapora el disolvente hasta obtener el producto como una espuma sólida (419 mg, 39%).

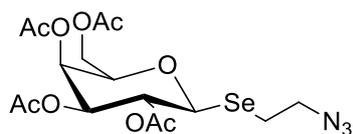
3.2.11. Síntesis del compuesto 12:



12

En primer lugar, se disuelve el compuesto **6** (580 mg, 0,71 mmol) en MeOH anhidro bajo atmósfera inerte de argón. Se añade 1-bromo-2-cloroetano (587 μL , 7,07 mmol) y seguidamente NaBH_4 (80 mg, 2,13 mmol). Se deja reaccionar durante 24 horas, se extrae en AcOEt (3 x 30 mL), se lava con H_2O (2 x 30 mL), se seca con Na_2SO_4 anhidro, se filtra y se evapora el disolvente. Finalmente se purifica mediante cromatografía en columna (AcOEt:Hexano, 1:1). El producto se obtiene como una espuma sólida (114 mg, 17%). $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, Chloroform-*d*) δ 5.43 (dd, $J = 3.4, 1.1$ Hz, 1H), 5.27 (t, $J = 10.0$ Hz, 1H), 5.02 (dd, $J = 9.9, 3.3$ Hz, 1H), 4.79 (d, $J = 10.0$ Hz, 1H), 4.10 (dd, $J = 6.4, 3.5$ Hz, 2H), 3.93 (ddd, $J = 7.1, 5.8, 1.2$ Hz, 1H), 3.85 – 3.72 (m, 2H), 3.14 (ddd, $J = 12.8, 10.4, 6.3$ Hz, 1H), 2.96 (ddd, $J = 12.8, 10.3, 6.5$ Hz, 1H), 2.15 (s, 3H), 2.04 (s, 6H), 1.96 (s, 3H). $^{13}\text{C NMR}$ (101 MHz, CDCl_3) δ 170.42, 170.13, 169.98, 169.64, 78.45, 75.74, 71.53, 67.88, 67.39, 61.74, 43.59, 25.27, 20.84, 20.69, 20.60. $^{77}\text{Se NMR}$ (76 MHz, CDCl_3) δ 313.00.

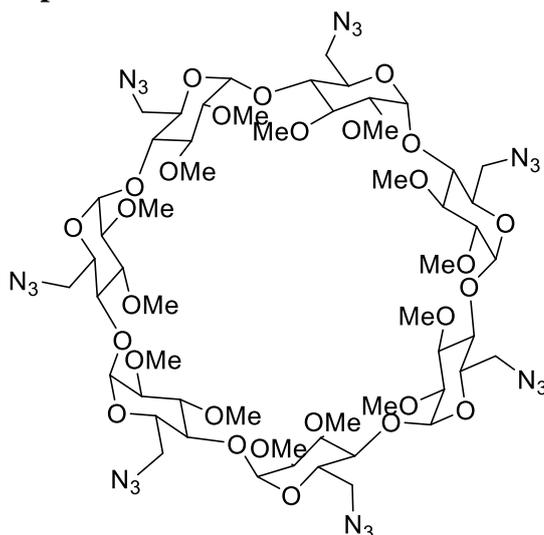
3.2.12. Síntesis del compuesto 13:



13

Se disuelve el compuesto **12** (114 mg, 0,24 mmol) en DMF, se añade NaN₃ (78 mg, 1,2 mmol), se calienta a 70°C y se deja reaccionar durante 16 horas. Posteriormente, se extrae el producto en una mezcla de éter/tolueno 1:1 (3 x 30 mL) y se lava con H₂O (2 x 20 mL). La fase orgánica se seca con Na₂SO₄, se filtra y se evapora el disolvente. Finalmente, se purifica mediante cromatografía en columna (AcOEt:Hexano, 1:1), obteniendo el producto como una espuma sólida (86,5 mg, 75%). ¹H NMR (400 MHz, Chloroform-*d*) δ 5.41 (d, *J* = 3.3 Hz, 1H), 5.25 (t, *J* = 10.0 Hz, 1H), 5.00 (dd, *J* = 10.0, 3.3 Hz, 1H), 4.76 (d, *J* = 10.0 Hz, 1H), 4.18 – 4.02 (m, 2H), 3.95 – 3.88 (m, 1H), 3.62 – 3.53 (m, 2H), 2.96 (dt, *J* = 12.8, 7.2 Hz, 1H), 2.79 (dt, *J* = 12.8, 7.3 Hz, 1H), 2.12 (s, 3H), 2.03 (s, 3H), 2.01 (s, 3H), 1.95 (s, 3H). ¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃) δ 170.39, 170.16, 170.01, 169.70, 78.06, 75.74, 71.56, 67.79, 67.39, 61.60, 51.94, 21.92, 20.87, 20.69, 20.61. ⁷⁷Se NMR (76 MHz, CDCl₃) δ 289.46.

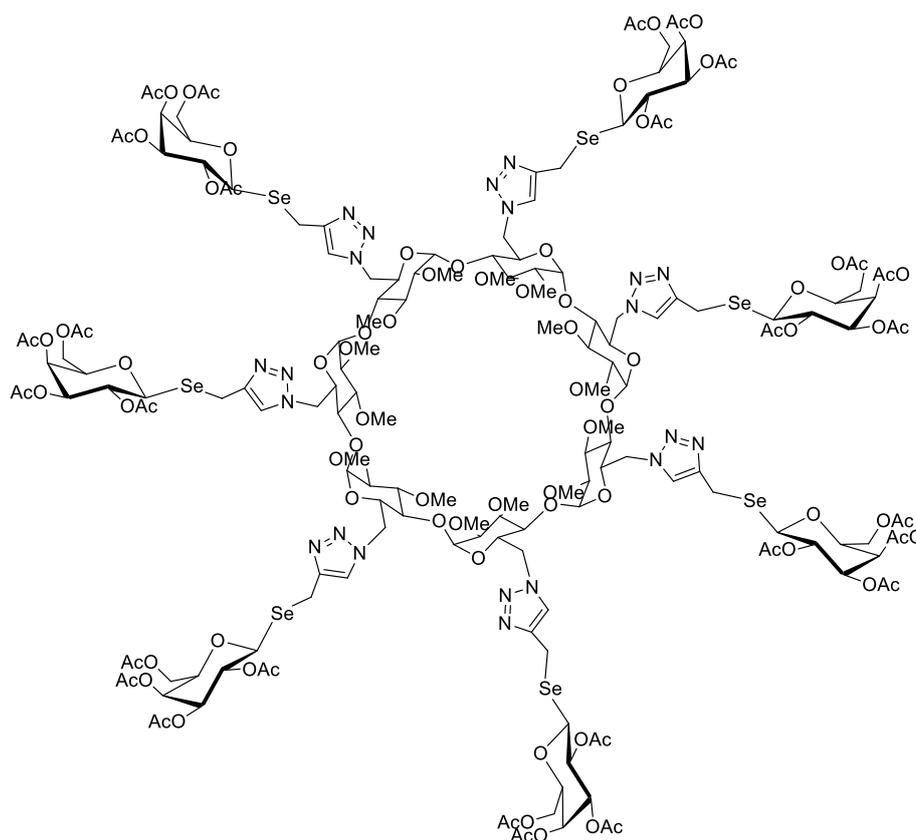
3.2.13. Síntesis del compuesto 14:



14

En primer lugar, se disuelve heptakis-(2,3-di-O-metil)-(6-desoxi-6-bromo)- β -ciclodextrina (1,13 g, 0,68 mmol) en 20 mL de DMF. Se añade NaN_3 (926 mg, 14,2 mmol), se calienta a 75°C y se deja reaccionar durante 24 horas. Se deja enfriar a temperatura ambiente, se añade la mezcla gota a gota sobre 200 mL de H_2O . Se filtra a vacío y se lava con éter dietílico hasta sequedad. Se redisuelve en CH_3Cl , se seca con Na_2SO_4 anhidro, se filtra y se evapora el disolvente. Finalmente, se purifica mediante cromatografía en columna (AcOEt), obteniendo el producto final como un sólido (700 mg, 74%). $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, Chloroform-*d*) δ 5.04 (d, $J = 3.7$ Hz, 1H), 3.75 (ddd, $J = 9.1, 5.4, 2.1$ Hz, 1H), 3.67 (dd, $J = 13.3, 2.2$ Hz, 1H), 3.58 (s, 3H), 3.53 (dd, $J = 13.3, 5.4$ Hz, 1H), 3.47 (s, 3H), 3.46 – 3.37 (m, 2H), 3.13 (dd, $J = 9.2, 3.6$ Hz, 1H). $^{13}\text{C NMR}$ (101 MHz, CDCl_3) δ 170.94, 98.54, 81.49, 81.45, 80.84, 70.84, 61.36, 60.24, 58.73, 51.69, 20.90, 14.10.

3.2.14. Síntesis del compuesto 15:

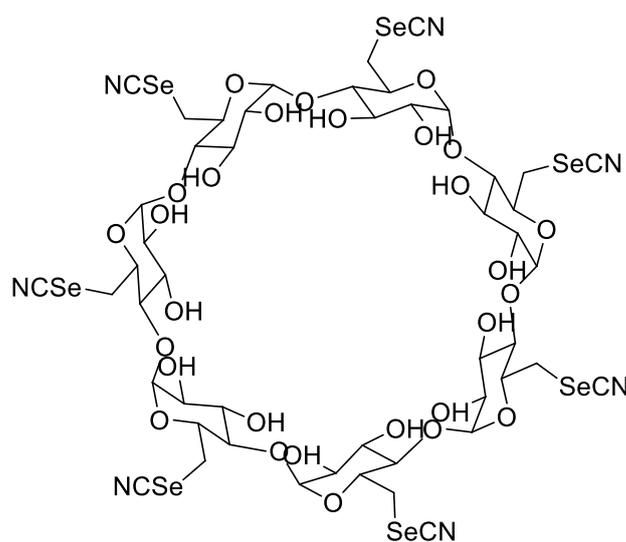


15

Se disuelven los compuestos **8** (200 mg, 0,44 mmol) y **14** (81 mg, 0,06 mmol) en tolueno, se añade seguidamente el catalizador $(\text{EtO})_3\text{P}\cdot\text{CuI}$ (16 mg, 0,04 mmol) y se calienta a reflujo durante 1 hora y se sigue la reacción mediante TLC. Posteriormente se deja enfriar a

temperatura ambiente, se evapora el disolvente y se purifica mediante cromatografía en columna (AcOEt:MeOH, 9:1), obteniendo el producto final como un sólido (110 mg, 40%). $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, Chloroform-*d*) δ 5.44 (t, $J = 4.4$ Hz, 2H), 5.26 (t, $J = 10.0$ Hz, 1H), 5.02 (dd, $J = 9.9, 3.4$ Hz, 1H), 4.82 (d, $J = 10.1$ Hz, 1H), 4.74 – 4.48 (m, 2H), 4.20 (d, $J = 9.7$ Hz, 1H), 4.16 – 3.83 (m, 4H), 3.60 (s, 3H), 3.55 (t, $J = 9.2$ Hz, 1H), 3.44 (s, 3H), 3.19 (t, $J = 9.1$ Hz, 1H), 3.01 (dd, $J = 9.9, 3.6$ Hz, 1H), 2.13 (s, 3H), 1.99 (s, 3H), 1.99 (s, 3H), 1.94 (s, 3H). $^{13}\text{C NMR}$ (101 MHz, CDCl_3) δ 170.36, 170.26, 169.98, 169.81, 144.60, 124.91, 98.05, 81.69, 81.35, 80.16, 78.20, 75.53, 71.59, 69.59, 68.07, 67.38, 61.59, 61.08, 60.46, 58.96, 50.72, 21.13, 20.93, 20.81, 20.67, 15.55, 14.28. $^{77}\text{Se NMR}$ (76 MHz, CDCl_3) δ 351.80.

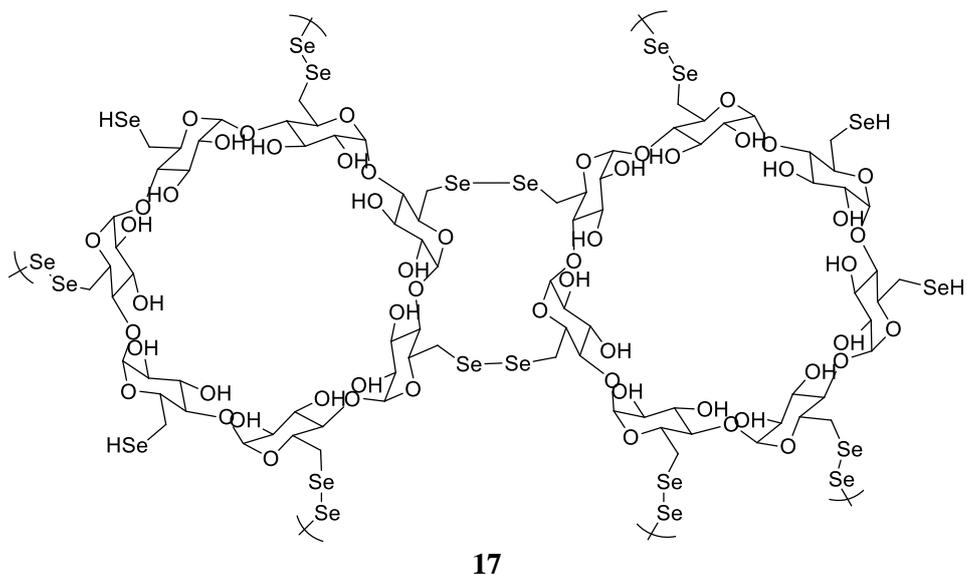
3.2.15. Síntesis del compuesto 16:



16

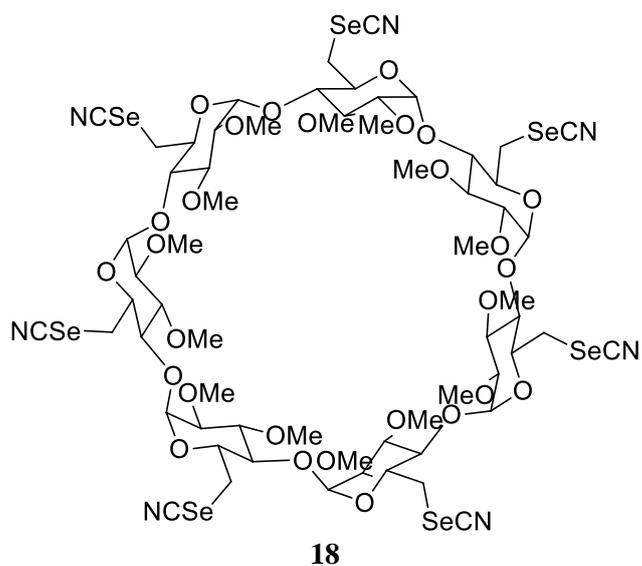
Bajo atmósfera inerte de argón, se disuelven heptakis-(6-desoxi-6-yodo)- β -ciclodextrina (1,10 g, 0,58 mmol) y KSeCN (1 g, 6,94 mmol) en 10 mL de DMF anhidro. Se calienta a 75°C y se deja reaccionar durante 16 horas. Posteriormente, se deja enfriar a temperatura ambiente, y la mezcla se añade gota a gota sobre 100 mL de H_2O para precipitar el producto. Se filtra a vacío y se lava con éter dietílico hasta sequedad, y se obtiene el compuesto como un sólido blanco (902 mg, 88%). $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ 5.00 (d, $J = 3.5$ Hz, 1H), 3.72 (d, $J = 11.8$ Hz, 1H), 3.63 (t, $J = 9.2$ Hz, 1H), 3.49 – 3.21 (m, 3H). $^{13}\text{C NMR}$ (101 MHz, DMSO) δ 104.32, 102.09, 85.48, 72.53, 72.07, 70.86, 31.42.

3.2.16. Síntesis del compuesto 17:



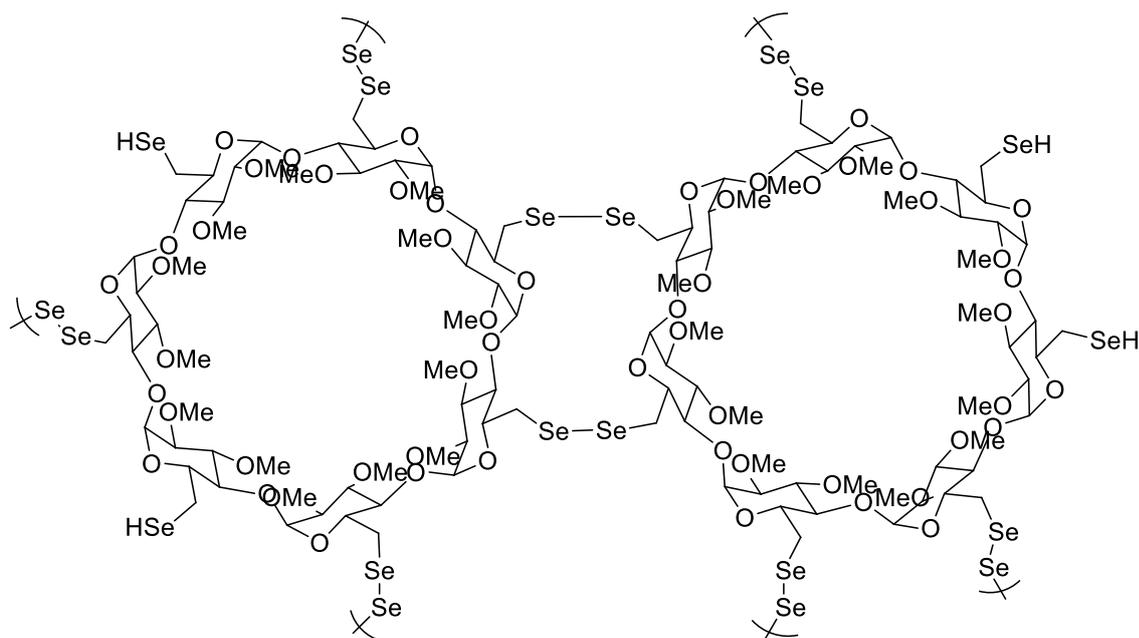
Bajo atmósfera inerte de argón, se suspende el compuesto **16** (200 mg, 0,11 mmol) en una mezcla de CH₃CN:H₂O 3:1. Seguidamente se añade NaBH₄ (36,3 mg, 0,96 mmol), desaparece la turbidez y aparece un precipitado, y se deja reaccionar durante 1 hora. Posteriormente, se evapora el CH₃CN, se acidula con HCl (aq) y se deja en agitación durante 16 horas más. Finalmente se filtra y se obtiene el producto como un sólido amarillento (110 mg, 64%).

3.2.17. Síntesis del compuesto 18:



Bajo atmósfera inerte de argón, se disuelven heptakis-(2,3-di-O-metil)-(6-desoxi-6-bromo)- β -ciclodextrina (1,13 g, 0,68 mmol) y KSeCN (1,17 g, 8,14 mmol) en 20 mL de DMF anhidro. Se calienta a 75°C y se deja reaccionar durante 16 horas. Posteriormente, se deja enfriar a temperatura ambiente, y la mezcla se añade gota a gota sobre 100 mL de H₂O para precipitar el producto. Se filtra a vacío y se lava con éter dietílico hasta sequedad. Se redissuelve en CH₃Cl, se seca con Na₂SO₄ anhidro, se filtra y se evapora el disolvente. Finalmente, se purifica mediante cromatografía en columna (AcOEt), obteniendo el producto final como un sólido (800 mg, 64%). ¹H NMR (400 MHz, Chloroform-*d*) δ 5.32 – 4.97 (bs, 1H), 4.19-4.06 (bs, 1H), 3.99 – 3.77 (bs, 1H), 3.75 – 3.63 (bs, 3H), 3.60 – 3.46 (bs, 4H), 3.48 – 3.30 (m, 2H), 3.18 (bs, 1H) ¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃) δ 102.74, 99.59, 84.32, 81.70, 81.00, 70.14, 61.77, 60.51, 59.15, 32.52. ⁷⁷Se NMR (76 MHz, CDCl₃) δ 166.35.

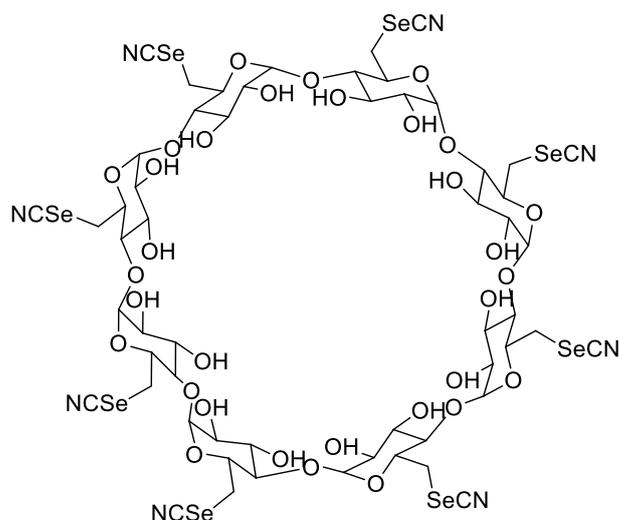
3.2.18. Síntesis del compuesto 19:



19

En primer lugar, se disuelve el compuesto **18** (183 mg, 0,10 mmol) en una mezcla de EtOH/H₂O 9:1. Seguidamente se añade NaBH₄ (26,5 mg, 0,7 mmol), desaparece la turbidez y aparece un precipitado, y se deja reaccionar durante 1 hora. Posteriormente, se evapora el CH₃CN, se acidula con HCl (aq) y se deja en agitación durante 16 horas más. Finalmente se filtra y se obtiene el producto como un sólido amarillento (102 mg, 62%).

3.2.19. Síntesis del compuesto 20:



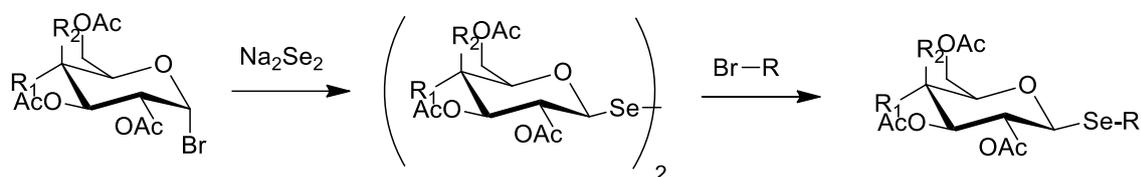
20

Bajo atmósfera inerte de argón, se disuelven octakis-(6-desoxi-6-yodo)- γ -ciclodextrina (300 mg, 0,137 mmol) y KSeCN (238 mg, 1,65 mmol) en 5 mL de DMF anhidro. Se calienta a 75°C y se deja reaccionar durante 16 horas. Posteriormente, se deja enfriar a temperatura ambiente, y la mezcla se añade gota a gota sobre 100 mL de H₂O para precipitar el producto. Se filtra a vacío y se lava con éter dietílico hasta sequedad, y se obtiene el compuesto como un sólido blanco (217 mg, 79%). ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 5.03 (d, *J* = 3.8 Hz, 1H), 3.75 (d, *J* = 11.7 Hz, 0H), 3.59 (t, *J* = 9.1 Hz, 1H), 3.49 – 3.20 (m, 1H).

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los primeros esfuerzos de este trabajo se centraron en la optimización de la ruta sintética para la obtención de selenopropargilazúcares, previamente desarrollada durante el Trabajo Fin de Grado. El interés de estos compuestos, como se destaca en la introducción es múltiple, por un lado la introducción de selenio en el carbono anomérico de distintos azúcares permite obtener derivados selenados solubles en un medio fisiológico, aportando una solución a la falta de solubilidad típica de los compuestos orgánicos que contienen selenio. Además, presentan un enlace interglucosídico no hidrolizable por enzimas, lo que permite estudiar la posibilidad de actuar como inhibidores de estas enzimas. Por último, estos compuestos pueden ser utilizados en la síntesis de sistemas multivalentes de azúcares que contienen selenio en su estructura mediante la metodología conocida como “Click Chemistry”.

La estrategia utilizada para la obtención de estos compuestos se basa, de forma esquemática, en la previa formación del diseleniuro de azúcar, que posteriormente se reduce en presencia del correspondiente electrófilo para dar lugar al compuesto final.



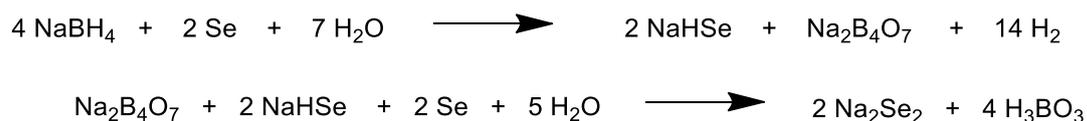
Esquema 4.1. Esquema general formación selenoazúcares.

| | R ₁ | R ₂ |
|----------|----------------|----------------|
| Gluco- | OAc | H |
| Galacto- | H | OAc |

Tabla 4.1. Sustituyentes correspondientes al Esquema 4.1.

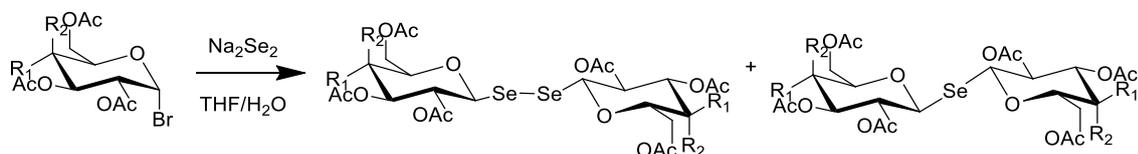
El primer paso que se propuso para la obtención de los productos de interés es la síntesis de diseleniuro sódico (Na₂Se₂), reactivo fundamental en nuestra estrategia y que, hasta donde conocemos, no ha sido usado previamente para la introducción de selenio en la posición anomérica de azúcares. Este reactivo se prepara *in situ* cada vez que es necesario su uso y se hace siguiendo el procedimiento descrito (Klayman & Griffin, 1973).

En este trabajo se consigue optimizar la síntesis de la sal mediante la utilización de una cantidad pequeña de disolvente y realizando la adición de selenio elemental en dos etapas. Siguiendo el mismo procedimiento: 0.5 eq de Se^0 y 1 eq de NaBH_4 , en la mínima cantidad de H_2O , reaccionan durante 10 minutos formando el intermedio NaHSe . Una segunda adición de 0.5 eq de Se^0 reaccionan con este intermedio dando lugar a la formación completa de la sal de Na_2Se_2 como se puede observar en el *Esquema 4.2*.



Esquema 4.2. Formación de Na_2Se_2

A la disolución obtenida de Na_2Se_2 en H_2O , se adiciona lentamente el bromoazúcar correspondiente disuelto previamente en THF, y se deja reaccionar durante aproximadamente 24 horas para dar lugar al correspondiente diseleniuro de azúcar. El *Esquema 4.3* corresponde a la reacción llevada a cabo en este estudio, con β -D-glucosa peracetilada y β -D-galactosa peracetilada. A pesar de purificar lo que aparentemente era un solo producto en cada reacción, los espectros de RMN obtenidos eran muy complejos e indicaban la presencia de productos indeseados. Los análisis mediante cromatografía HPLC y espectrometría de masas indicaron que los productos se obtienen como una mezcla de diseleniuro y selenoéter (ver *Figura 4.1*).



Esquema 4.3. Formación de diseleniuro de azúcar.

| | \mathbf{R}_1 | \mathbf{R}_2 |
|--------------|----------------|----------------|
| Comp 5 (Glu) | OAc | H |
| Comp 6 (Gal) | H | OAc |

Tabla 4.2. Sustituyentes correspondientes al Esquema 4.3.

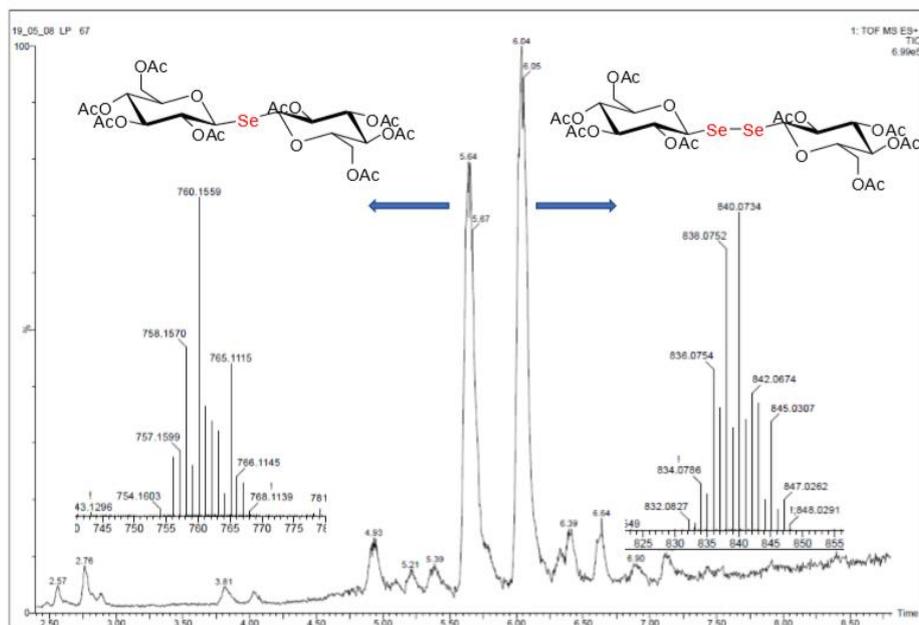
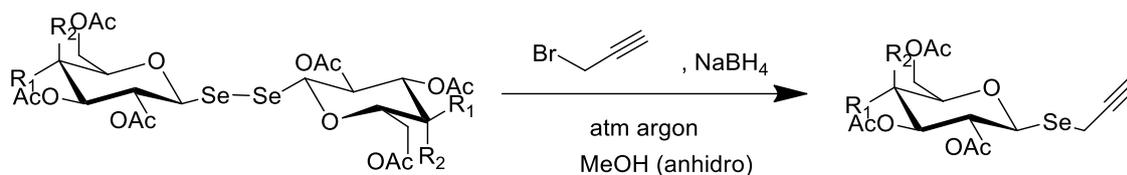


Figura 4.1. EM-AR del compuesto 5 (mezcla diseleniuro y selenoéter).

En una búsqueda por optimizar esta ruta sintética se llevaron a cabo una serie de estrategias para minimizar la formación de selenoéter y obtener únicamente el diseleniuro, pero por falta de tiempo no fue posible hallar las condiciones exactas de forma que esto ocurriera, y siempre se ha obtenido la mezcla de ambos productos que, debido a su semejante polaridad, no puede ser separada mediante cromatografía en columna.

Afortunadamente esta mezcla de productos no impide la siguiente etapa de síntesis y una vez obtenidos los diseleniuros de azúcar, el siguiente paso consiste en la reducción con NaBH_4 en presencia del electrófilo, bromuro de propargilo, utilizando como disolvente metanol anhidro. Existían antecedentes en bibliografía (Perin et al., 2013) para reacciones similares usando como disolvente polietilenglicol 400 (PEG 400), en nuestro caso la reacción tuvo lugar satisfactoriamente en metanol. Como resultado de la reacción se obtienen los correspondientes selenopropargilazúcares según se puede ver en el *Esquema 4.4*. El seguimiento de la reacción por capa fina indica la aparición de un nuevo producto, el selenopropargilazúcar, y uno de los productos de partida sin reaccionar, el selenoéter (especie no reducible por NaBH_4), ambos claramente diferenciados por polaridad lo que permite purificar y aislar cada uno mediante cromatografía en columna.

Esto permite la caracterización del selenoéter mediante RMN, cuyo espectro de ^{77}Se (ver *Figura 4.2*) confirma los datos obtenidos anteriormente en EM-AR.



Esquema 4.4. Formación de selenopropargilazúcares.

| | R₁ | R₂ |
|--------------|----------------------|----------------------|
| Comp 7 (Glu) | OAc | H |
| Comp 8 (Gal) | H | OAc |

Tabla 4.3. Sustituyentes correspondientes al Esquema 4.4.

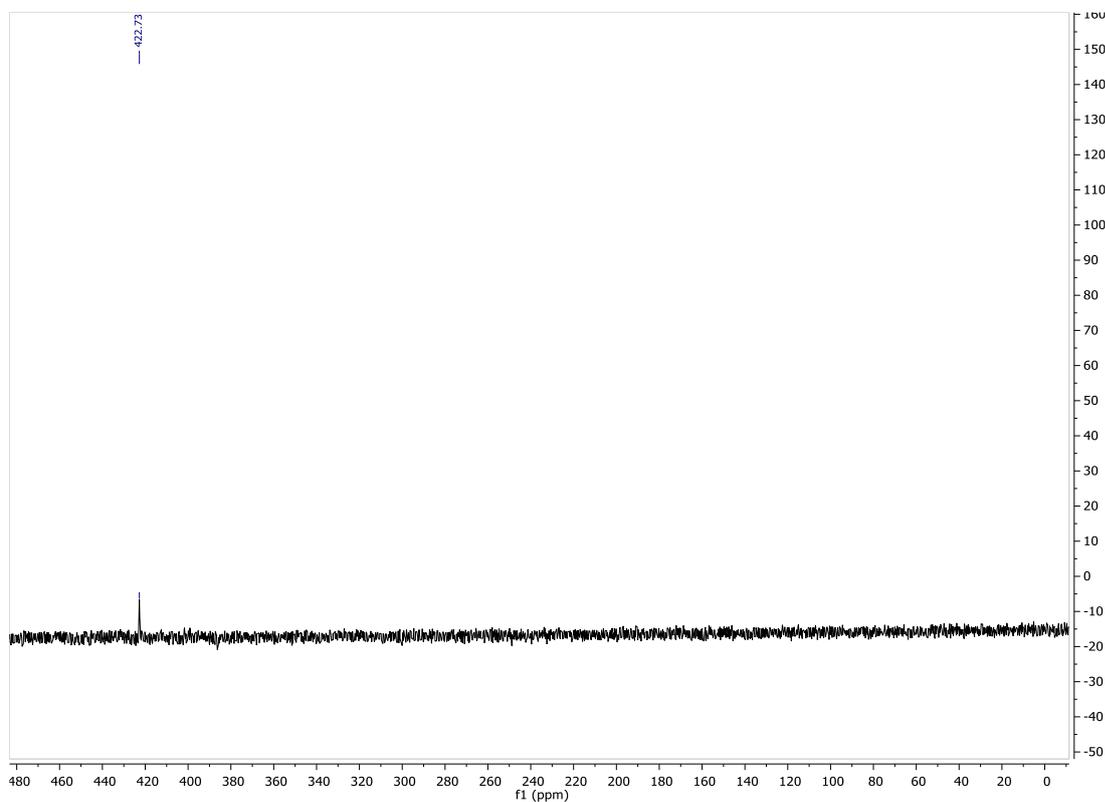
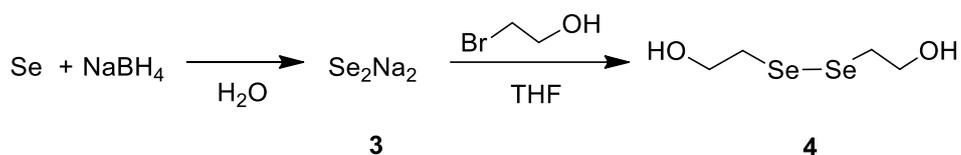


Figura 4.2. Espectro ⁷⁷Se RMN selenoéter de glucosa.

El siguiente objetivo que se plantea en este trabajo es la obtención de 2-azidoetilselenoazúcares. El interés de estos compuestos radica en la obtención de selenoazúcares que presentan adicionalmente la función azido, que es complementaria al alquino, para evaluar su utilidad en la síntesis de sistemas divalentes y multivalentes de azúcares conteniendo selenio en su estructura según la metodología “Click Chemistry”.

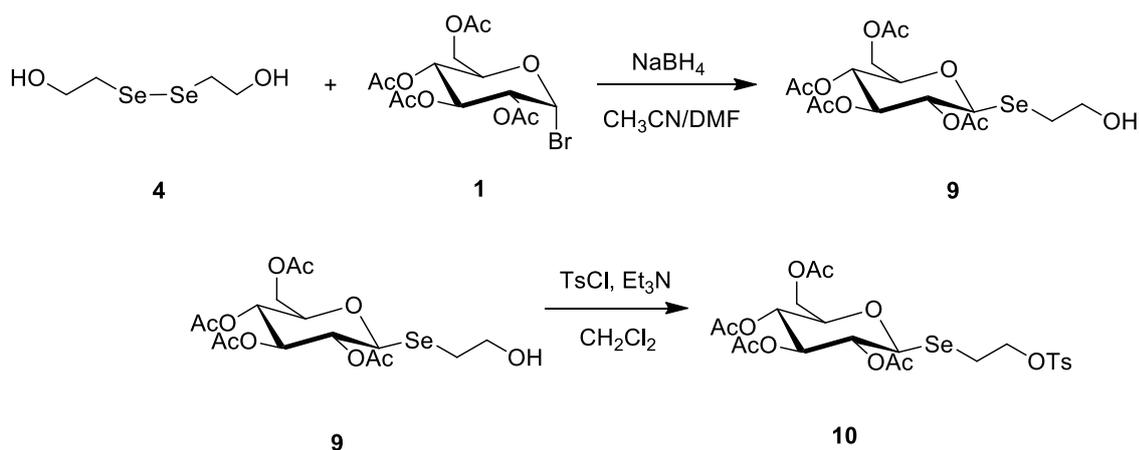
Para llevar a cabo la síntesis de estos compuestos, se han estudiado dos rutas sintéticas diferentes: en la primera, se sintetiza un diseleniuro a partir de 2-bromoetanol y esta especie es la que incorpora el selenio al carbono anomérico, mientras que la segunda se basa en la formación del diseleniuro de azúcar como se hizo en los selenopropargilazúcares y su posterior reacción con un electrófilo sobre el que obtener la función azida.

Siguiendo la metodología descrita para la obtención de diseleniuros (mediante la formación del intermedio Na_2Se_2), el primer paso consiste en la formación de 2-hidroxiethylseleniuro (compuesto **4**).



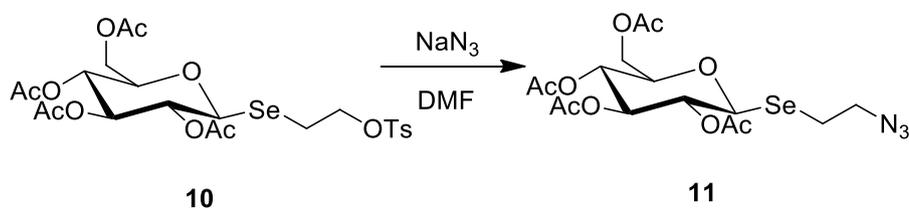
Esquema 4.5. Síntesis de 2-hidroxiethylseleniuro.

Posteriormente, se reduce con NaBH_4 en presencia de 1-bromo-per-O-acetil- α -D-glucosa en una mezcla de CH_3CN y DMF. El intermedio hidroxilado se obtiene de forma exitosa y con un rendimiento óptimo (95%), por lo que seguidamente se lleva a cabo la tosilación de este compuesto en CH_2Cl_2 y en presencia de Et_3N , para obtener en dicha posición un mejor grupo saliente tosilato, también con un rendimiento óptimo (94%).



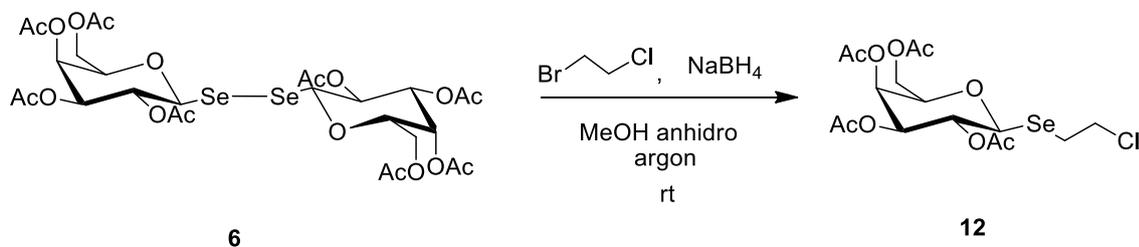
Esquema 4.6. Síntesis de los intermedios 2-hidroxiethylselenoglucosa y 2-tosilethylselenoglucosa.

Por último, tiene lugar la reacción de sustitución nucleofílica con azida sódica para dar lugar a la 2-azidoetil-selenoglucosa deseada (compuesto **11**), tal y como se puede observar en el *Esquema 4.7*. Cabe destacar que el rendimiento de esta última etapa fue menor del que cabría esperar (39%), debido a una complicación en la purificación del compuesto.



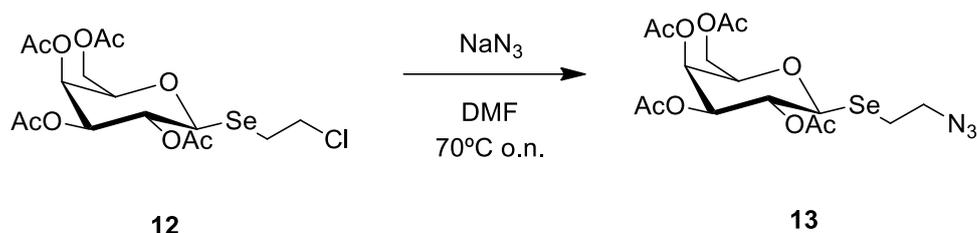
Esquema 4.7. Obtención de 2-azidoetil-selenoglucosa.

Alternativamente, se plantea una segunda ruta más corta que la anterior, de nuevo basada en la metodología descrita para la formación de selenopropargilazúcares, en este caso con un nuevo electrófilo: 1-bromo-2-cloroetano. La reacción se llevó a cabo mediante la reducción del diseleniuro de la galactosa con NaBH_4 en presencia de un exceso de electrófilo (para evitar la formación del disacárido), utilizando metanol anhidro como disolvente.



Esquema 4.8. Síntesis del intermedio 2-cloroetil-selenogalactosa.

El rendimiento de esta reacción fue mucho menor del esperado (17%), posiblemente por problemas en la purificación del compuesto, pero se consiguió aislar y caracterizar mediante RMN, lo cual nos permitió llevar a cabo la última etapa y dar lugar al producto de interés 2-azidoetil-selenogalactosa (compuesto **13**), obteniendo un buen rendimiento (75%).

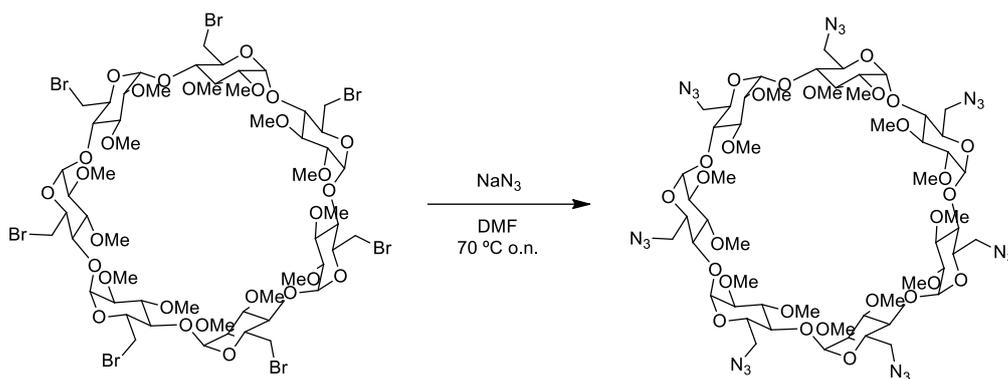


Esquema 4.9. Obtención de 2-azidoetilselenogalactosa.

En vista de los resultados obtenidos y debido a la escasez de tiempo (dadas las circunstancias de Covid-19) se concluye que la síntesis de estos compuestos es viable, pero aún no se puede descartar de forma clara ninguna estrategia frente a otra, sino que ambas son susceptibles de ser estudiadas más ampliamente en un futuro, y esto nos permitirá evaluar correctamente cuál de ellas es la vía óptima para la obtención de 2-azidoetilselenoazúcares.

El siguiente objetivo dentro del estudio de los selenoglicósidos trata de evaluar su compatibilidad en la reacción más destacable dentro la metodología “Click Chemistry”, que es la cicloadición 1,3 dipolar entre un alquino y una azida catalizada por Cu(I) (Rostovtsev et al., 2002). Para ello, un primer planteamiento proponía llevar a cabo un estudio de la reacción utilizando como compuestos de partida los productos sintetizados hasta ahora: selenopropargilazúcares y 2-azidoetilselenoazúcares, para dar lugar a sistemas divalentes de azúcares conteniendo selenio en su estructura, pero esta reacción no fue posible llevarla a cabo debido a las circunstancias de Covid-19.

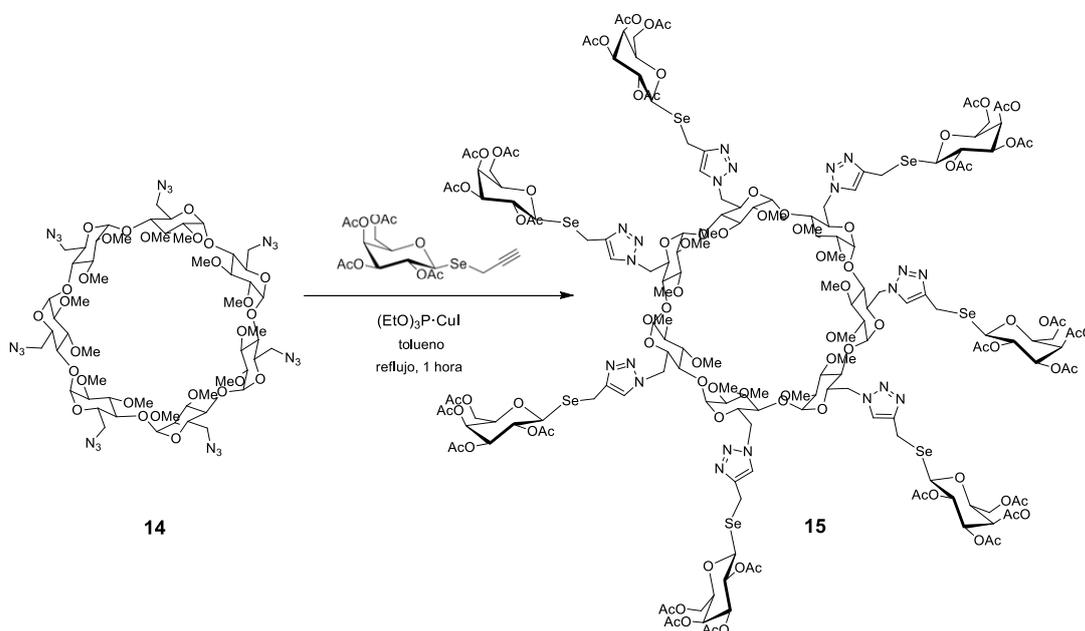
Sin embargo, una segunda estrategia planteada dentro de esta metodología que sí se realizó de forma eficiente fue la reacción entre selenopropargilgalactosa y un derivado de β -ciclodextrina, con el fin de obtener un sistema multivalente de ciclodextrinas y azúcares que además contienen selenio en su estructura. La estrategia consiste en funcionalizar la heptakis-(6-desoxi-6-bromo)- β -ciclodextrina con NaN_3 para obtener el derivado per-6-azido (compuesto **14**).



14

Esquema 4.10. Síntesis de heptakis-(2,3-di-O-metil)-(6-desoxi-6-azido)-β-ciclodextrina .

Posteriormente, ésta reacciona con un equivalente de selenopropargilazúcar por especie reactiva, en presencia del catalizador $(EtO)_3P \cdot CuI$ a reflujo de tolueno durante 1 hora, dando lugar finalmente al sistema multivalente correspondiente (compuesto 15).



Esquema 4.11. Síntesis del sistema multivalente mediante “Click Chemistry”.

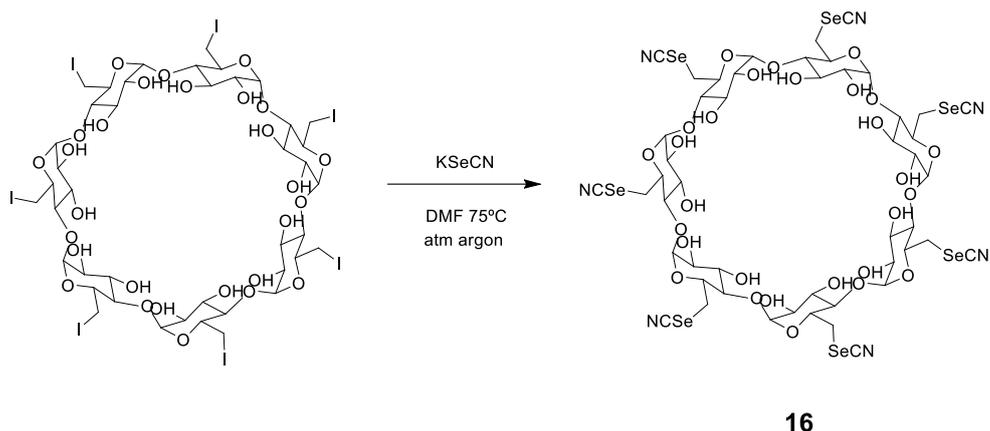
Esta síntesis abre un amplio camino de posibilidades en la obtención de sistemas multivalentes que combinan azúcares y ciclodextrinas y que además contienen selenio en su estructura. Además, el interés *per se* que poseen las ciclodextrinas las convierte en un nuevo

objeto de estudio dentro de este trabajo con el fin de ampliar la química del selenio hacia estos sistemas cíclicos más complejos, y lograr la obtención de derivados selenados de ciclodextrinas que, tal y como se ha descrito anteriormente en bibliografía, se ha comprobado que presentan gran interés por varios motivos. En primer lugar, la propiedad intrínseca de las ciclodextrinas de ocluir ciertas moléculas de carácter apolar en el interior de su estructura, como pueden ser fármacos, junto con su capacidad de solubilizarse en medios acuosos las convierte en moléculas muy versátiles y con mucho interés científico e industrial, especialmente en el transporte de fármacos.

Además de estas propiedades propias de las ciclodextrinas, se ha comprobado la importancia en la introducción de selenio en la estructura de estos oligosacáridos cíclicos ya que permitiría llevar a cabo la polimerización de ciclodextrinas mediante puentes diseleniuro para obtener polímeros reversibles en ambientes reductores, gracias al carácter dinámico del enlace diseleniuro. El desarrollo de estos compuestos puede ser importante en el estudio de polímeros que encapsulen fármacos y los liberen en ciertos ambientes: es conocido que algunas células tumorales generan un exceso de glutatión reducido, de forma que en este ambiente reductor dichos polímeros pueden ser reducidos y liberar el fármaco ocluido, ampliando así el estudio sobre el transporte dirigido de fármacos, tal y como se ha descrito para algunos profármacos (Li et al., 2020).

Teniendo esto presente, se plantea la primera estrategia basada en la obtención de polímeros compuestos por derivados selenados de β -ciclodextrinas. Para ello, se utilizaron dos derivados de β -ciclodextrina diferentes, siguiendo una metodología similar en ambas:

La primera reacción tiene lugar a partir de heptakis-(6-desoxi-6-yodo)- β -ciclodextrina y selenocianato potásico KSeCN en DMF a 75°C para dar lugar al derivado selenado (Compuesto **16**). En un primer momento, el producto obtenido se intentó purificar mediante precipitación de la mezcla sobre acetona, ya que esta técnica es muy común en el procesado de ciclodextrinas debido a su insolubilidad en este disolvente. Sin embargo, este derivado resultó ser soluble, por lo que se estudió la posibilidad de ser precipitado en otros disolventes y se comprobó su insolubilidad tanto en H₂O como en metanol. Finalmente, la precipitación se llevó a cabo sobre H₂O, favoreciendo adicionalmente que el posible KSeCN en exceso quedara solubilizado y se eliminara tras filtrar el producto a vacío.



Esquema 4.12. Síntesis del intermedio heptakis-(6-desoxi-6-selenocianato)-β-ciclodextrina

El espectro de ^{13}C RMN (Figura 4.3) nos permite comprobar el desplazamiento químico característico de un carbono unido a selenio (aproximadamente 31 ppm) para el carbono 6 de las siete unidades de glucosa de la β-ciclodextrina. Asimismo, podemos observar a 105 ppm el carbono correspondiente al nitrilo unido a selenio.

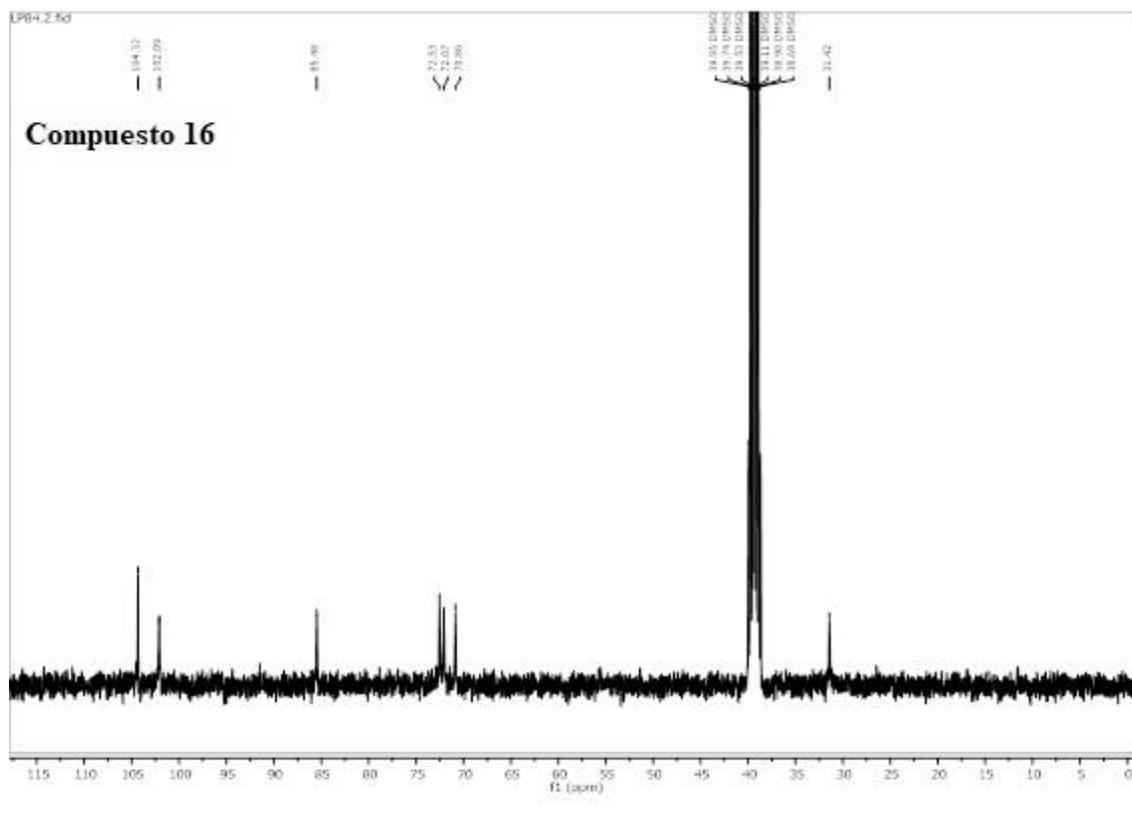
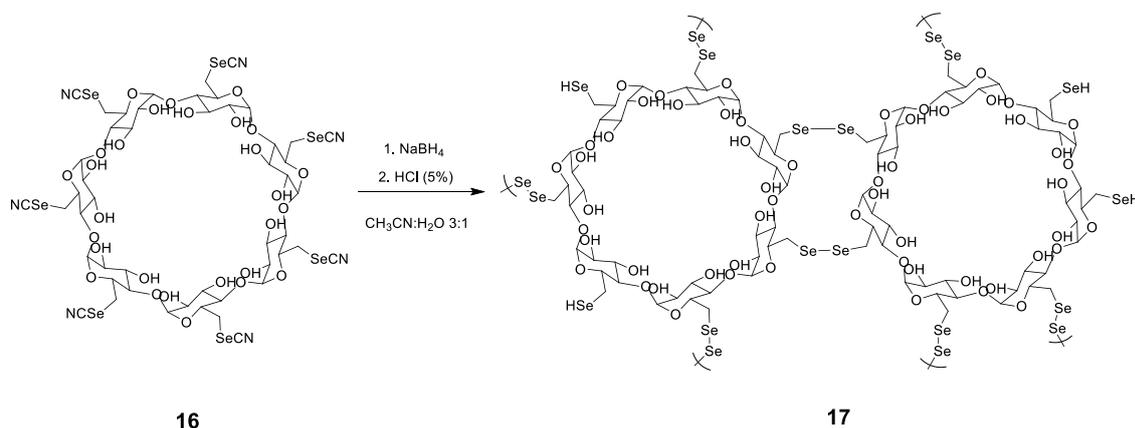


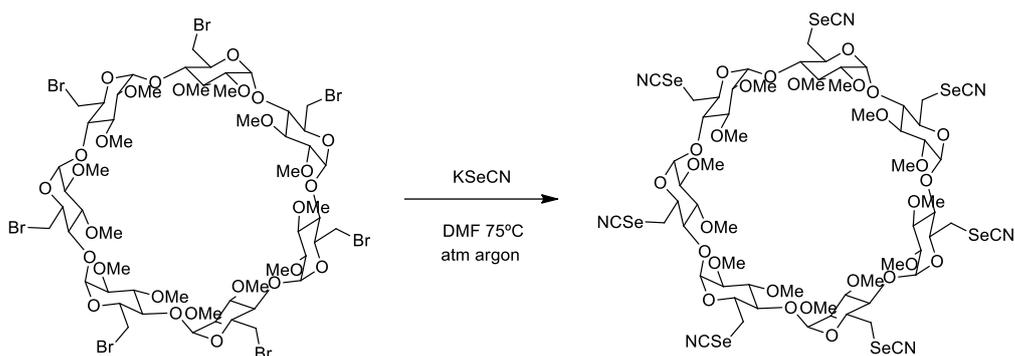
Figura 4.3. Espectro ^{13}C RMN del compuesto 16.

El sólido filtrado se disuelve en una mezcla de $\text{CH}_3\text{CN}:\text{H}_2\text{O}$ 3:1 y se hace reaccionar con un exceso de NaBH_4 (aproximadamente dos equivalentes frente a uno por especie reactiva de ciclodextrina) durante 1 hora de forma que conseguimos la descomposición del selenocianato formándose el intermedio seleniuro sódico ($\text{R-Se}^- \text{Na}^+$). Seguidamente se añade a la mezcla una disolución de HCl (5%) para formar el selenol (R-Se-H), y éste se oxida a diseleniuro tras un tiempo reaccionando en agitación y a temperatura ambiente con el oxígeno del aire disuelto en agua, formando finalmente el polímero deseado que es recuperado por filtración. Como tratamos de representar en la figura la mayor parte de los átomos de selenio de la molécula estarán formando parte de enlaces diseleniuro, pero una pequeña parte quedarán en forma de selenol y es posible que estos polímeros presenten actividad biomimética de glutatión peroxidasa que sería deseable evaluar.



Esquema 4.13. Síntesis del polímero de heptakis-(6-desoxi-6-seleno)- β -ciclodextrina.

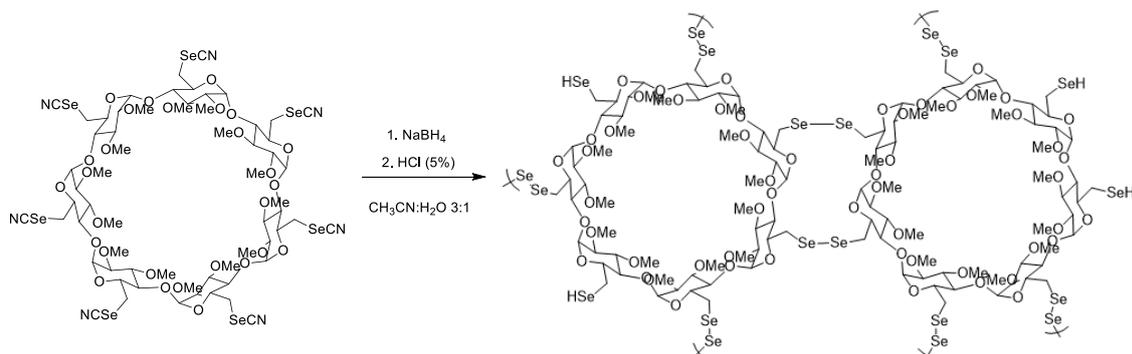
La segunda síntesis de polímeros con ciclodextrinas se realizó a partir de heptakis-(2,3-di-O-metil)-(6-desoxi-6-bromo)- β -ciclodextrina siguiendo la metodología anterior. La introducción de selenio mediante la reacción de sustitución nucleofílica con KSeCN en DMF a 75°C da lugar al compuesto **18**:



18

Esquema 4.14. Síntesis del intermedio heptakis-(2,3-di-O-metil)-(6-desoxi-6-selenocianato)- β -ciclodextrina.

Una vez obtenido y precipitado sobre H_2O , se lleva a cabo la segunda reacción en las mismas condiciones que en el caso anterior: el producto reacciona en primer lugar con un exceso de $NaBH_4$ durante 1 hora, posteriormente se añade una disolución de HCl (5%) y finalmente se oxida dando lugar al compuesto **19**.



18

19

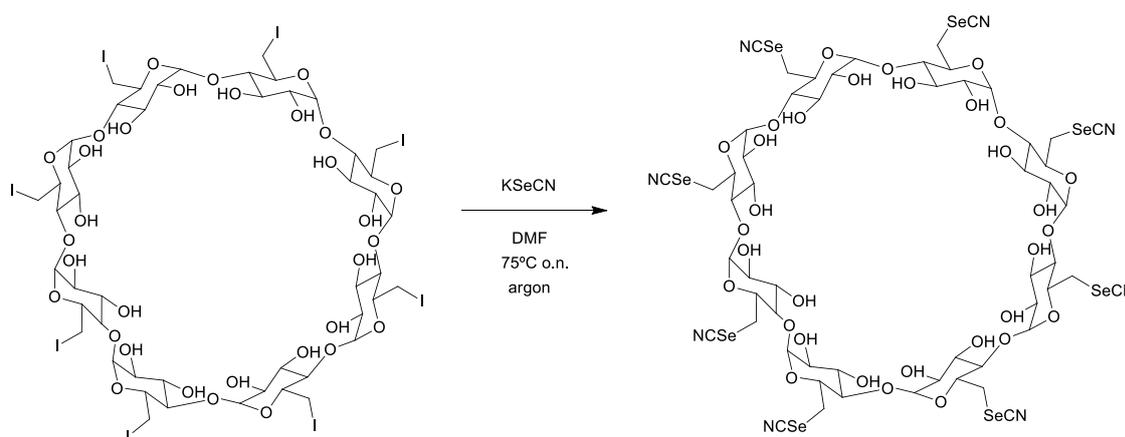
Esquema 4.15. Síntesis del polímero de heptakis-(2,3-di-O-metil)-(6-desoxi-6-seleno)- β -ciclodextrina.

Queda demostrada mediante esta estrategia la viabilidad de la síntesis de polímeros de ciclodextrinas a través de enlaces diseleniuro. Una vez obtenidos, el siguiente experimento que queríamos realizar consistía en evaluar su capacidad de encapsulamiento mediante la formación de complejos de inclusión y, posteriormente, la capacidad de reducirse en ciertos ambientes liberando al medio el compuesto ocluido. Esto se quería realizar ocluyendo un compuesto fácilmente cuantificable espectrofotométricamente como la fenoltaleína y

provocando su liberación al medio a medida que se adicionaba glutatión reducido o β -mercaptoetanol (es decir en un ambiente reductor), lamentablemente este experimento solo pudo ser diseñado pero no realizado.

Alternativamente, se puede observar la versatilidad de las ciclodextrinas en otro ejemplo muy relevante como es el *Sugammadex*, descrito anteriormente en bibliografía (Santoyo-González, 2017). Este principio activo basado en un derivado sulfurado de γ -CD es capaz de revertir el efecto de los relajantes musculares rocuronio y vecuronio, quedando ocluidos en el interior de su cavidad hidrofóbica formando un complejo de inclusión que posteriormente es eliminado a través de la orina.

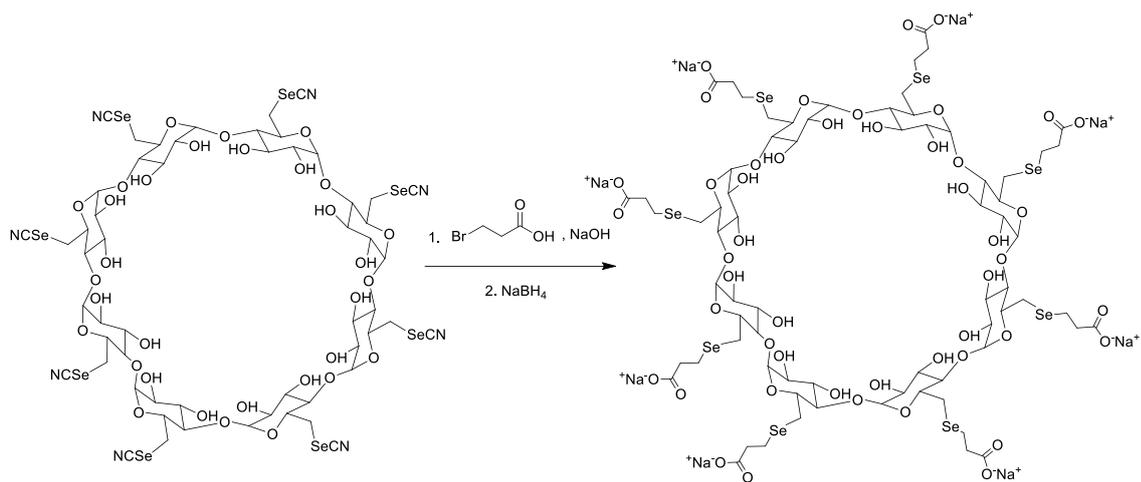
En este caso se plantea la síntesis basada en la obtención de octakis-(6-desoxi-6-selenocianato)- γ -ciclodextrina, con el fin de ser estudiada como molécula de partida en la obtención de un análogo del principio activo *Sugammadex*. La reacción se llevó a cabo en condiciones anhidras, haciendo reaccionar octakis-(6-desoxi-6-yodo)- γ -ciclodextrina con KSeCN en DMF a 75°C (ver *Esquema 4.16*).



20

Esquema 4.16. Síntesis de octakis-(6-desoxi-6-selenocianato)- γ -ciclodextrina.

Al igual que en los ejemplos anteriores, la reacción se precipitó vertiendo el crudo sobre agua y se filtró, obteniéndose un buen rendimiento 70%. La estrategia diseñada para sintetizar el análogo de *Sugammadex* consiste en realizar la descomposición de los grupos selenocianato en presencia del electrófilo adecuado, en este caso ácido 3-bromopropiónico como se observa en el *Esquema 4.17*.



Esquema 4.17. Esquema de síntesis de Sugammadex planteada.

Este experimento no se pudo realizar, pero nos llevará a un análogo de *Sugammadex* que contendrá 8 átomos de selenio.

5. CONCLUSIONES

En este trabajo se han desarrollado distintas estrategias de síntesis para la obtención de derivados selenados de azúcares de gran interés. La introducción de selenio en el carbono anomérico de distintos azúcares nos ha permitido, en primer lugar, obtener y caracterizar de forma eficiente selenopropargilazúcares.

Así mismo, se ha comprobado la viabilidad de la obtención de 2-azidoetil-selenoazúcares mediante dos estrategias distintas, ambas desarrolladas de forma exitosa, pero debido a Covid-19 no se han podido reproducir los resultados para concluir cuál es la ruta óptima para la obtención de estos compuestos.

Una vez obtenidos los selenoazúcares con las funciones complementarias *azido* y *alquino*, queda pendiente la utilización de estos compuestos en la 1,3 cicloadición catalizada por Cu(I) de la metodología “Click Chemistry” para formar sistemas divalentes de azúcares conteniendo selenio.

Esta metodología sí se ha llevado a cabo utilizando selenopropargilglucosa y un derivado de β -ciclodextrina como productos de partida, formando de manera eficiente un sistema multivalente que combina ciclodextrinas y azúcares y que además contiene selenio en su estructura. Esto demuestra la compatibilidad de los compuestos que contienen selenio con la metodología “Click Chemistry”.

Por otro lado, se han sintetizado distintos derivados de ciclodextrinas que contienen selenio con varios fines: la obtención de polímeros de ciclodextrinas mediante puentes diseleniuro se ha realizado con éxito, y quedan pendientes de ser evaluados tanto su capacidad de encapsulamiento como su capacidad de reducirse en un ambiente adecuado liberando la molécula ocluida en su interior. Paralelamente, la síntesis de un per-6-Se- γ -CD tuvo lugar con éxito, de forma que próximamente pueda ser utilizada como molécula de partida para la obtención de un análogo selenado de *Sugammadex*, con el fin de evaluar su actividad frente al comercial.

BIBLIOGRAFÍA

- Barbanente, A., Nadar, R. A., Degli Esposti, L., Palazzo, B., Iafisco, M., van den Beucken, J. J., ... & Margiotta, N. (2020). Platinum-loaded, selenium-doped hydroxyapatite nanoparticles selectively reduce proliferation of prostate and breast cancer cells co-cultured in the presence of stem cells. *Journal of Materials Chemistry B*, 8(14), 2792-2804.
- Boutureira, O., Bernardes, G. J., Fernández-González, M., Anthony, D. C., & Davis, B. G. (2012). Selenenylsulfide-Linked Homogeneous Glycopeptides and Glycoproteins: Synthesis of Human “Hepatic Se Metabolite A”. *Angewandte Chemie International Edition*, 51(6), 1432-1436.
- Braga, H. C., Stefani, H. A., Paixão, M. W., Santos, F. W., & Lüdtkke, D. S. (2010). Synthesis of 5'-seleno-xylofuranosides. *Tetrahedron*, 66(19), 3441-3446.
- Breslow, R. (1998). Studies in biomimetic chemistry. *Pure and applied chemistry*, 70(2), 267-270.
- Del Valle, E. M. (2004). Cyclodextrins and their uses: a review. *Process biochemistry*, 39(9), 1033-1046.
- Devaraj, N. K., & Collman, J. P. (2007). Copper catalyzed azide-alkyne cycloadditions on solid surfaces: applications and future directions. *QSAR & Combinatorial Science*, 26(11-12), 1253-1260.
- Franco, J., Sardi, F., Szilágyi, L., Kövér, K. E., Fehér, K., & Comini, M. A. (2017). Diglycosyl diselenides alter redox homeostasis and glucose consumption of infective African trypanosomes. *International Journal for Parasitology: Drugs and Drug Resistance*, 7(3), 303-313.
- Gould, S., & Scott, R. C. (2005). 2-Hydroxypropyl- β -cyclodextrin (HP- β -CD): a toxicology review. *Food and Chemical Toxicology*, 43(10), 1451-1459.
- Harvey, M. A., Erskine, P. D., Harris, H. H., Brown, G. K., Pilon-Smits, E. A., Casey, L. W., ... & van der Ent, A. (2020). Distribution and chemical form of selenium in *Neptunia amplexicaulis* from Central Queensland, Australia. *Metallomics*, 12(4), 514-527.
- Hedges, A. R. (1998). Industrial applications of cyclodextrins. *Chemical reviews*, 98(5), 2035-2044.

- Jariwalla, R. J., Gangapurkar, B., & Nakamura, D. (2008). Differential sensitivity of various human tumour-derived cell types to apoptosis by organic derivatives of selenium. *British journal of nutrition*, 101(2), 182-189.
- Jiaang, W. T., Chang, M. Y., Tseng, P. H., & Chen, S. T. (2000). A concise synthesis of the O-glycosylated amino acid building block; using phenyl selenoglycoside as a glycosyl donor. *Tetrahedron Letters*, 41(17), 3127-3130.
- Kawai, Y., Ando, H., Ozeki, H., Koketsu, M., & Ishihara, H. (2005). A facile method for β -selenoglycoside synthesis using β -p-methylbenzoyl selenoglycoside as the selenating unit. *Organic Letters*, 7(21), 4653-4656.
- Klayman, D. L., & Griffin, T. S. (1973). Reaction of selenium with sodium borohydride in protic solvents. A facile method for the introduction of selenium into organic molecules. *Journal of the American Chemical Society*, 95(1), 197-199.
- Kobayashi, Y., Ogra, Y., Ishiwata, K., Takayama, H., Aimi, N., & Suzuki, K. T. (2002). Selenosugars are key and urinary metabolites for selenium excretion within the required to low-toxic range. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 99(25), 15932-15936.
- Kolb, H. C., Finn, M. G., & Sharpless, K. B. (2001). Click chemistry: diverse chemical function from a few good reactions. *Angewandte Chemie International Edition*, 40(11), 2004-2021.
- Kolb, H. C., & Sharpless, K. B. (2003). The growing impact of click chemistry on drug discovery. *Drug discovery today*, 8(24), 1128-1137.
- Li, X., Hou, Y., Zhao, J., Li, J., Wang, S., & Fang, J. (2020). Combination of chemotherapy and oxidative stress to enhance cancer cell apoptosis. *Chemical Science*, 11(12), 3215-3222.
- Liu, J. Q., Gao, S. J., Luo, G. M., Yan, G. L., & Shen, J. C. (1998). Artificial imitation of glutathione peroxidase with 6-selenium-bridged β -cyclodextrin. *Biochemical and biophysical research communications*, 247(2), 397-400.
- Liu, J. Q., Luo, G. M., Ren, X. J., Mu, Y., Bai, Y., & Shen, J. C. (2000). A bis-cyclodextrin diselenide with glutathione peroxidase-like activity. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Protein Structure and Molecular Enzymology*, 1481(2), 222-228.
- Lutz, J. F. (2007). 1, 3-Dipolar cycloadditions of azides and alkynes: a universal ligation tool in polymer and materials science. *Angewandte Chemie International Edition*, 46(7), 1018-1025.

- Lutz, J. F., & Zarafshani, Z. (2008). Efficient construction of therapeutics, bioconjugates, biomaterials and bioactive surfaces using azide–alkyne “click” chemistry. *Advanced drug delivery reviews*, 60(9), 958-970.
- Nie, Y., Zhong, M., Li, S., Li, X., Zhang, Y., Zhang, Y., & He, X. (2020). Synthesis and Potential Anticancer Activity of Some Novel Selenocyanates and Diselenides. *Chemistry & Biodiversity*, 17(5), e1900603.
- Pérez-Balderas, F., Ortega-Munoz, M., Morales-Sanfrutos, J., Hernández-Mateo, F., Calvo-Flores, F. G., Calvo-Asín, J. A., ... & Santoyo-González, F. (2003). Multivalent neoglycoconjugates by regiospecific cycloaddition of alkynes and azides using organic-soluble copper catalysts. *Organic letters*, 5(11), 1951-1954.
- Perin, G., Borges, E. L., Rosa, P. C., Carvalho, P. N., & Lenardão, E. J. (2013). Simple cleavage of diorganyl diselenides with NaBH₄/PEG-400 and direct Michael addition to electron-deficient alkenes. *Tetrahedron Letters*, 54(13), 1718-1721.
- Plano, D., Baquedano, Y., Moreno-Mateos, D., Font, M., Jiménez-Ruiz, A., Palop, J. A., & Sanmartín, C. (2011). Selenocyanates and diselenides: a new class of potent antileishmanial agents. *European journal of medicinal chemistry*, 46(8), 3315-3323.
- Rayman, M. P. (2012). Selenium and human health. *The Lancet*, 379(9822), 1256-1268.
- Rostovtsev, V. V., Green, L. G., Fokin, V. V., & Sharpless, K. B. (2002). A stepwise Huisgen cycloaddition process: copper (I)-catalyzed regioselective “ligation” of azides and terminal alkynes. *Angewandte Chemie*, 114(14), 2708-2711.
- Santoyo-González, F. (2017). Cyclodextrinas: hospedadores moleculares para el mundo contemporáneo.
- Satheeshkumar, K., & Mugesh, G. (2011). Synthesis and antioxidant activity of peptide-based selen analogues. *Chemistry—A European Journal*, 17(17), 4849-4857.
- Singh, N., Halliday, A. C., Thomas, J. M., Kuznetsova, O. V., Baldwin, R., Woon, E. C., ... & Churchill, G. C. (2013). A safe lithium mimetic for bipolar disorder. *Nature communications*, 4(1), 1-7.
- Storkey, C., Davies, M. J., White, J. M., & Schiesser, C. H. (2011). Synthesis and antioxidant capacity of 5-selenopyranose derivatives. *Chemical Communications*, 47(34), 9693-9695.
- Szejtli, J. (1998). Introduction and general overview of cyclodextrin chemistry. *Chemical reviews*, 98(5), 1743-1754.

- Tornøe, C. W., Christensen, C., & Meldal, M. (2002). Peptidotriazoles on solid phase:[1, 2, 3]-triazoles by regiospecific copper (I)-catalyzed 1, 3-dipolar cycloadditions of terminal alkynes to azides. *The Journal of organic chemistry*, 67(9), 3057-3064.
- Tron, G. C., Pirali, T., Billington, R. A., Canonico, P. L., Sorba, G., & Genazzani, A. A. (2008). Click chemistry reactions in medicinal chemistry: Applications of the 1, 3-dipolar cycloaddition between azides and alkynes. *Medicinal research reviews*, 28(2), 278-308.
- Ursini, F., Heim, S., Kiess, M., Maiorino, M., Roveri, A., Wissing, J., & Flohé, L. (1999). Dual function of the selenoprotein PHGPx during sperm maturation. *Science*, 285(5432), 1393-1396.
- Van Dijk, M., Rijkers, D. T., Liskamp, R. M., van Nostrum, C. F., & Hennink, W. E. (2009). Synthesis and applications of biomedical and pharmaceutical polymers via click chemistry methodologies. *Bioconjugate chemistry*, 20(11), 2001-2016.
- Wrapp, D., Wang, N., Corbett, K. S., Goldsmith, J. A., Hsieh, C. L., Abiona, O., ... & McLellan, J. S. (2020). Cryo-EM structure of the 2019-nCoV spike in the prefusion conformation. *Science*, 367(6483), 1260-1263.
- Zhang, X. (2019). In My Element: Selenium. *Chemistry—A European Journal*, 25(11), 2649-2650.

ANEXOS

