



**UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES**  
Facultad de Ciencias Exactas y Naturales  
Departamento de Química Orgánica

***Síntesis de un pentasacárido constituyente de mucinas  
del core 2 de Trypanosoma cruzi y derivados***

Tesis presentada para optar al título de  
Doctor de la Universidad de Buenos Aires  
en el área de Química Orgánica

**Carmen Rosa Cori Calizaya**

Director de Tesis  
**Dra. Carola Gallo**

Consejero de Estudios  
**Dra. Carla Marino**

Lugar de Trabajo  
**Departamento de Química Orgánica, FCEyN-UBA  
CIHIDECAR-CONICET**

Buenos Aires, 15 de diciembre de 2022

Los oligosacáridos con unión  $\alpha$ -O-glicosídica (via  $\alpha$ -GlcNAc) a las proteínas conocidas como mucinas en *T. cruzi* cumplen un importante rol en el proceso de infección. Estas mucinas cubren densamente la superficie del parásito y su estructura depende del estadio y de la cepa. En la ampolla rectal del insecto vector *Triatoma infestans*, los parásitos en estadio epimastigote se adhieren y se diferencian a trypomastigotes metacíclicos, altamente infectivos para el hospedador mamífero. En nuestro laboratorio se ha encarado la síntesis química de todos los oligosacáridos derivados del core 2 de las mucinas, que contienen Galf. En este trabajo de Tesis se sintetizó, por primera vez, el pentasacárido  $\beta$ -D-Galp-(1 $\rightarrow$ 3)- $\beta$ -D-Galp-(1 $\rightarrow$ 6)-[ $\beta$ -D-Galf-(1 $\rightarrow$ 2)- $\beta$ -D-Galf-(1 $\rightarrow$ 4)]- $\alpha$ -D-GlcNAc (**I**), completando la síntesis de esta familia de compuestos. La síntesis del **I** se realizó por una estrategia convergente [3+2] mediante dos donores distintos. El método del tricloroacetimidato rindió un pentasacárido precursor impurificado con un derivado del sintón  $\beta$ -D-Galp-(1 $\rightarrow$ 3)- $\beta$ -D-Galp, difícil de separar. En cambio, el disacárido donador tioglicósido dió un pentasacárido derivado puro y con excelente rendimiento. Sin embargo, la construcción del enlace  $\beta$ -D-Galp-(1 $\rightarrow$ 3)-D-Galp de dicho donador fue muy difícil y requirió un estudio exhaustivo de glicosidación. Además, se sintetizó **I** por una estrategia secuencial [3+1+1] que, si bien rindió un tetrasacárido novedoso con buen rendimiento, la introducción de la última unidad de Galp en la posición O-3 fue difícil. La obtención del pentasacárido alditol permitió confirmar la estructura obtenida de las mucinas por  $\beta$ -eliminación reductiva.

Se evaluó el efecto de oligosacáridos constituyentes de mucinas sintetizados por nuestro grupo como  $\alpha$ -bencil glicósidos, incluidos aquellos recientemente sintetizados en esta tesis. De los oligosacáridos evaluados, únicamente aquellos que contienen la unidad de trisacárido  $\beta$ -D-Galp(1 $\rightarrow$ 6)-[ $\beta$ -D-Galf(1 $\rightarrow$ 4)]-D-GlcNAc $\alpha$ -OBn (**II**) inhibieron la adhesión de epimastigotes a la cutícula interna del recto de *T. infestans*, por lo que estarían involucrados en la diferenciación a tripomastigotes metacíclicos.

Con el fin de evaluar la importancia de la configuración anomérica de la unidad de GlcNAc en la adhesión, se sintetizó el bencil  $\beta$ -glicósido de **II**. A diferencia de la síntesis del análogo  $\alpha$ , la obtención del glicósido  $\beta$  **III** se logró únicamente por una estrategia que consistió en la glicosidación de la posición 4-OH secundaria seguida de la posición 6-OH primaria. Este compuesto inhibió la adhesión de epimastigotes a la cutícula interna del recto, por lo que la configuración anomérica no es determinante de dicho efecto, proveyendo de un mayor conocimiento del receptor involucrado.

---

*Palabras claves:* oligosacáridos, *Trypanosoma cruzi*, mucinas, epimastigotes, glicosidación, tioglicósido, tricloroacetimidato, estrategias

## Synthesis of a pentasaccharide constituent of *Trypanosoma cruzi* core 2 mucins and derivatives

---

The mucin-like glycoproteins are major components in the surface of *Trypanosoma cruzi* and play an important role in the infection process. The oligosaccharides in the mucins are  $\alpha$ -O-linked to the protein *via* GlcNAc and its composition is characteristic of each differentiation stage and strain. In the internal cuticle of the rectal ampoule of the insect vector *Triatoma infestans*, parasites in the epimastigote stage are attached and differentiate into highly infective metacyclic trypomastigotes.

In our laboratory, the synthesis of the oligosaccharides of the core 2 family containing D-Galp has been performed. In this *Thesis*, the pentasaccharide  $\beta$ -D-Galp-(1 $\rightarrow$ 3)- $\beta$ -D-Galp-(1 $\rightarrow$ 6)-[ $\beta$ -D-Galf-(1 $\rightarrow$ 2)- $\beta$ -D-Galf-(1 $\rightarrow$ 4)]- $\alpha$ -D-GlcNAc (**I**) was synthesized for the first time by a [3+2] convergent strategy using two different donors: trichloroacetimidate method led to a pentasaccharide I precursor impurified with a synthon  $\beta$ -D-Galp-(1 $\rightarrow$ 3)- $\beta$ -D-Galp derivative difficult to isolate. In contrast, the thioglycoside disaccharide donor gave a pure pentasaccharide derivative with excellent yield. However, the construction of the  $\beta$ -D-Galp-(1 $\rightarrow$ 3)-D-Galp linkage was very difficult, and it required an exhaustive glycosylation study. Pentasaccharide I was also obtained by a sequential strategy [3+1+1] which included the synthesis of a novel tetrasaccharide with excellent yield, but further introduction of last Galp unit in O-3, resulted in moderate yield. The chemical synthesis of pentasaccharide alditol allowed the confirmation of the structure obtained by reductive  $\beta$ -elimination from mucins of Tulahuen strain.

*Ex vivo* binding assays in the presence of chemically synthesized oligosaccharides as  $\alpha$ -benzyl glycosides, including those synthesized in this *Thesis* were performed. Among them, the oligosaccharides containing the trisaccharide structure  $\beta$ -D-Galp(1 $\rightarrow$ 6)-[ $\beta$ -D-Galf(1 $\rightarrow$ 4)]-D-GlcNAc $\alpha$ -OBn (**II**) inhibited the adhesion of epimastigotes to the hindgut inner lining of *T. infestans*, a critical step leading to their differentiation into mammal-infective metacyclic forms.

The  $\beta$ -benzyl glycoside of **II** was synthesized with the aim of studying the influence of the anomeric configuration of the GlcNAc unit in the adhesion process. Unlike the synthesis of trisaccharide  $\alpha$ -analogue, the  $\beta$ -glycoside **III** was exclusively obtained by the introduction of the Galp unit on secondary OH-4 followed by the Galf unit on primary OH-6. Trisaccharide **III** inhibited the adhesion of epimastigotes to the inner lining hindgut, showing that the anomeric configuration is not relevant in the adhesion process providing more information about the receptor involved.

---

**Keywords:** oligosaccharides; *Trypanosoma cruzi*; epimastigotes; mucins; glycosylation; thioglycoside; trichloroacetimidate; strategies