

Empleo de la probabilidad DP4+ en la asignación de configuración relativa y absoluta de compuestos orgánicos complejos

Zanardi, María Marta[†]; Sarotti, Ariel Marcelo[‡].

[†]Facultad de Química e Ingeniería del Rosario, Pontificia Universidad Católica Argentina, Av. Pellegrini 3314, (S2002QEO) Rosario, Argentina.

[‡] Instituto de Química Rosario (CONICET), Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas, Universidad Nacional de Rosario, Suipacha 531, Rosario 2000, Argentina

Resumen.

Actualmente la Resonancia Magnética Nuclear constituye una de las herramientas más poderosas para la elucidación estructural de nuevas moléculas orgánicas complejas. A pesar de los enormes avances en la disciplina la determinación de la estructura tridimensional de nuevos compuestos de modo exclusivamente experimental es muchas veces extremadamente difícil o imposible; lo que conlleva frecuentemente a la publicación de estructuras erróneas. La química computacional, ha contribuido enormemente a prevenir estas situaciones, mediante la construcción de distintas herramientas de correlación de datos experimentales con cálculos cuánticos, las cuales permiten reforzar la confianza en la asignación estereoquímica de nuevos productos tanto naturales como sintéticos. Entre ellas se destaca la probabilidad que hemos desarrollado denominada DP4+. Este sofisticado enfoque presentó una performance muy superior a su predecesor DP4 mediante la variación en el nivel de teoría empleado y la inclusión de datos no escalados. A fin de demostrar la utilidad de la mencionada herramienta nos propusimos evaluar su performance en dos casos. En primer lugar se evaluó en la determinación de la configuración relativa de espiroepóxidos y epóxidos terminales (compuestos que son prácticamente imposibles de determinar de modo experimental por RMN). Luego se empleó para determinar la configuración absoluta de diferentes tipos de compuestos a través de una estrategia de derivatización quiral y posterior análisis por DP4+.

Palabras Clave: Química computacional, RMN, Asignación estereoquímica, DP4+.

Abstract.

Currently, Nuclear Magnetic Resonance is one of the most powerful tools for the structural elucidation of new complex organic molecules. Despite the enormous advances in the discipline, the determination of the three-dimensional structure of new compounds exclusively in experimental way is often extremely difficult or impossible; which frequently leads to the publication of erroneous structures. Computational chemistry has contributed greatly to prevent these situations, through the construction of different tools for correlating experimental data with quantum calculations, which increase the confidence in the stereochemical assignment of new natural and synthetic products. Among them, the probability we have developed named DP4+ is highlighted. This sophisticated approach presented a superior performance respect to its predecessor DP4 through variation in the level of theory employed and the inclusion of non-scaled data. In order to demonstrate the usefulness of the mentioned tool, we set out to evaluate its performance in two cases. First, it was evaluated in the determination of the relative configuration of spiroepoxides and terminal epoxides (which are practically impossible to determine in an experimental way by NMR). Then it was employed in determining the absolute configuration of different types of compounds through a chiral derivatization strategy and subsequent DP4+ analysis.

Keyword: Computational chemistry, NMR, Stereochemical Assignment, DP4+.

Introducción

Con el advenimiento de la Mecánica Cuántica la ciencia química dejó de ser considerada como un campo experimental alejado de consideraciones matemáticas. De este modo surgió la química computacional como una disciplina con la capacidad de integrar áreas comúnmente separadas como la química, la física, la biología y la ciencia de la computación; permitiendo la investigación del comportamiento de la materia a nivel molecular mediante un sistema de ordenadores, con el potencial de ser una teoría predictiva.

El modelado molecular aplicado a la química orgánica permite establecer puntos de partida para trabajos sintéticos, determinar estructuras moleculares y mecanismos de reacción, estudiar especies muy reactivas que no pueden ser aisladas, interpretar y predecir datos experimentales, así como identificar correlaciones entre estructuras químicas y sus propiedades. La capacidad de realizar predicciones espectroscópicas de compuestos orgánicos, resulta sumamente importante para la elucidación estructural de nuevas moléculas complejas; una etapa fundamental (y muchas veces crítica) en el descubrimiento de nuevos compuestos activos, ya que su estructura tridimensional se encuentra fuertemente ligada con sus propiedades químicas, físicas y biológicas. En los últimos años hemos realizado importantes avances en el empleo de cálculos de Resonancia Magnética Nuclear (RMN) en combinación con redes neuronales y métodos estadísticos para validación estructural¹ y asignación estereoquímica² respectivamente, Figura 1.

¹- Zanardi, M. M.; Sarotti, A. M. *J. Org. Chem.* **2015**, *80*, 9371.

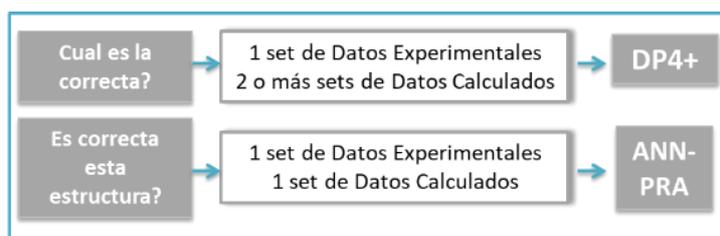


Figura 1: Representación esquemática de las herramientas desarrolladas para elucidación estructural

Para validación estructural, es decir determinar si la estructura propuesta es correcta o no, desarrollamos un método rápido, sencillo y confiable, que mediante la utilización de cálculos de RMN bidimensionales combinado con reconocimiento de patrones vía redes neuronales artificiales (ANN-PRA, *Artificial Neural Network-Pattern Recognition Analysis*), permite comparar único *set* de datos experimentales con un *set* de datos calculados.¹

Otro importante avance realizado en esta línea de investigación fue el desarrollo de una probabilidad DP4 mejorada, empleando 24 niveles de teoría, la cual hemos denominado DP4+.² Ésta permite correlacionar dos o más estructuras candidatas a un sólo *set* de datos experimentales asignando a cada una su probabilidad (*i* tiene más chance que *j* de ser la estructura correcta). DP4+ mostró un incremento notable en su performance respecto a la formulación original debido fundamentalmente al nivel de teoría empleado en los cálculos y la introducción de datos no escalados.²

Brevemente, la asignación estereoquímica realizada tiene su origen en la distribución estadística de errores entre los datos experimentales y calculados para los distintos estereoisómeros, *e* (definidos como $\delta_{calc} - \delta_{exp}$). La probabilidad DP4+ se sustenta sobre la base que los errores escalados ($\delta_s - \delta_{exp}$) son variables aleatorias normalmente distribuidas (en realidad, ajustan mejor a una distribución *t*), y que cuando se emplean δ no escalados hay una distribución *t* para núcleos sp^2 y otra para sp^3 (Figura 2).

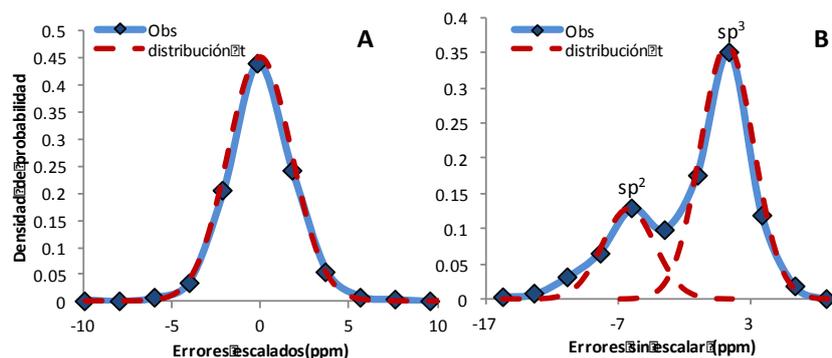


Figura 2: Distribución de errores escalados y no escalados

Luego, la probabilidad asociada al *i*-ésimo error puede calcularse conociendo los parámetros [μ, σ, ν] que definen dichas distribuciones. La probabilidad global correspondiente a cada isómero se construye multiplicando todas las probabilidades individuales, y empleando el Teorema de Bayes, se asigna un valor porcentual a cada candidato (Eq. 1).²

$$\begin{aligned}
 & \text{DP4+} \\
 & P(i) = P(i)_s \cdot P(i)_u \quad \text{Eq. 1} \\
 & \uparrow \text{sDP4+} \\
 & P(i)_s = \frac{\prod_{k=1}^N (1 - T^v_s(\delta^j_{s,k} - \delta_{exp,k})/\sigma_s)}{\sum_{j=1}^m \left[\prod_{k=1}^N (1 - T^v_s(\delta^j_{s,k} - \delta_{exp,k})/\sigma_s) \right]} \\
 & \uparrow \text{uDP4+} \\
 & P(i)_u = \frac{\prod_{k=1}^N (1 - T^v_u(\delta^j_{u,k} - \delta_{exp,k}) - \mu_u)/\sigma_u)}{\sum_{j=1}^m \left[\prod_{k=1}^N (1 - T^v_u(\delta^j_{u,k} - \delta_{exp,k}) - \mu_u)/\sigma_u \right]} \\
 & T^v, \sigma, \mu, \text{ y } \delta_s \text{ calculados sobre geometrías B3LYP/6-31G*}
 \end{aligned}$$

Según el nivel de teoría empleado para el cálculo de los tensores magnéticos los parámetros estadísticos se ven

² -Grimblat, N.; Zanardi, M. M.; Sarotti, A. M. *J. Org. Chem.* **2015**, *80*, 12526.

afectados y de este modo varía la capacidad predictiva de DP4+. Para demostrar su gran capacidad en la asignación estereoquímica se decidió evaluar su performance en casos muy desafiantes, empleando el nivel de teoría que mejores resultados arrojó durante la etapa de validación del desarrollo. De los 24 niveles analizados para DP4+, se decidió emplear la optimización de la geometría a nivel B3LYP/6-31G* y el cálculo de RMN a nivel PCM/mPW1PW91/6-31+G** empleando cloroformo como solvente.

Se tomaron como objeto de estudio moléculas muy complejas de asignar experimentalmente y para las cuales la probabilidad DP4 original fallaba, como es el caso de los espiroepóxidos y epóxidos terminales. En la Figura 3 se muestran los resultados comparativos de espiroepóxidos exponiendo la inexactitud que presentaba DP4 original en estos casos y como estos errores fueron subsanados por la nueva probabilidad DP4+.³

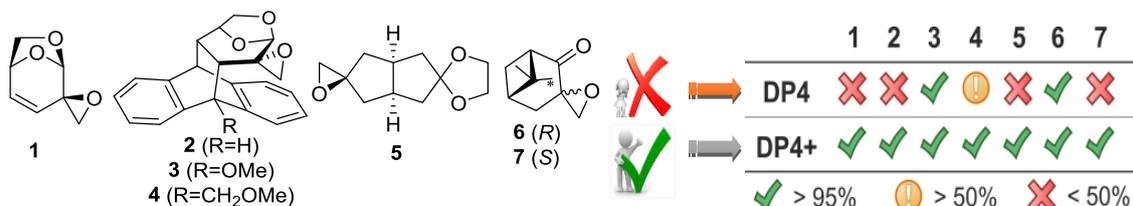


Figura 3. Siete ejemplos de espiroepóxidos usados en la evaluación de la probabilidad DP4+ vs DP4 original.

Típicamente la asignación estereoquímica de moléculas quirales por RMN se realiza mediante experimentos de NOE (*Nuclear Overhauser Effect*). Estos consisten en la transferencia de la polarización de espín nuclear de una población de espines a otra, vía relajación nuclear cruzada. A diferencia del acoplamiento espín-espín, el cual ocurre a través de enlaces químicos, el NOE ocurre a través del espacio. De este modo, átomos próximos en el espacio pueden dar una señal, mientras que el acoplamiento de espín solo es observado cuando los átomos están conectados por 2-3 enlaces químicos. Las distancias interatómicas derivadas del NOE a menudo ayudan a confirmar la estructura tridimensional de una molécula. Sin embargo, en numerosas ocasiones estos típicos experimentos empleados para determinar configuraciones relativas de compuestos orgánicos llevan a resultados ambiguos donde no hay diferencias en los resultados que pudieran obtenerse para distintos diastereoisómeros, como es el caso de los epóxidos de la Figura 4, donde las distancias interatómicas para ambos isómeros son las mismas. De este modo, surge la necesidad de contar con metodologías alternativas confiables para realizar asignación estereoquímica de compuestos quirales.

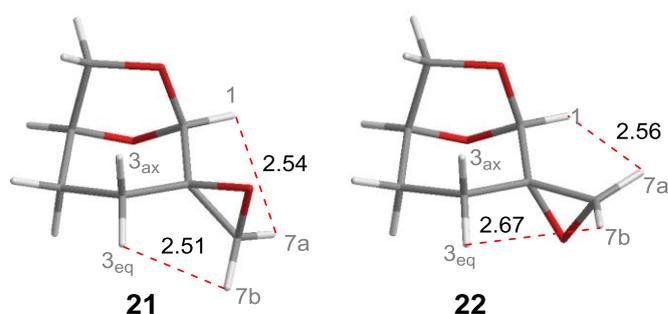


Figura 4. geometrías optimizadas a B3LYP/6-31G* para dos epóxidos diastereoisoméricos, indicando las distancias seleccionadas (en Å) de los núcleos involucrados en los experimentos NOE, mostrando que ambos isómeros dan lugar a iguales resultados.

Alternativamente cuando la configuración relativa de los compuestos no puede ser asignada sobre la base de experimentos de RMN, debe recurrirse a la cristalización y resolución de la estructura mediante difracción de rayos X, con la limitación que no todas las sustancias pueden ser adecuadamente cristalizadas.

Con el objetivo de determinar si DP4+ podía ser aplicada como una metodología general en casos de este tipo, se evaluó su performance en varios ejemplos de espiroepóxidos y epóxidos terminales con una amplia diversidad en complejidad molecular y libertad conformacional. Luego de una exhaustiva búsqueda bibliográfica, se modelaron más de 30 compuestos conteniendo estas funcionalidades y los respectivos epímeros en el centro estereogénico correspondiente al anillo oxirano. Los compuestos y sus resultados se muestran en la Figura 5.

³ -Zanardi, M. M.; Suarez, A. G.; Sarotti, A. M. *J. Org. Chem.* **2017**, *82*, 1873.

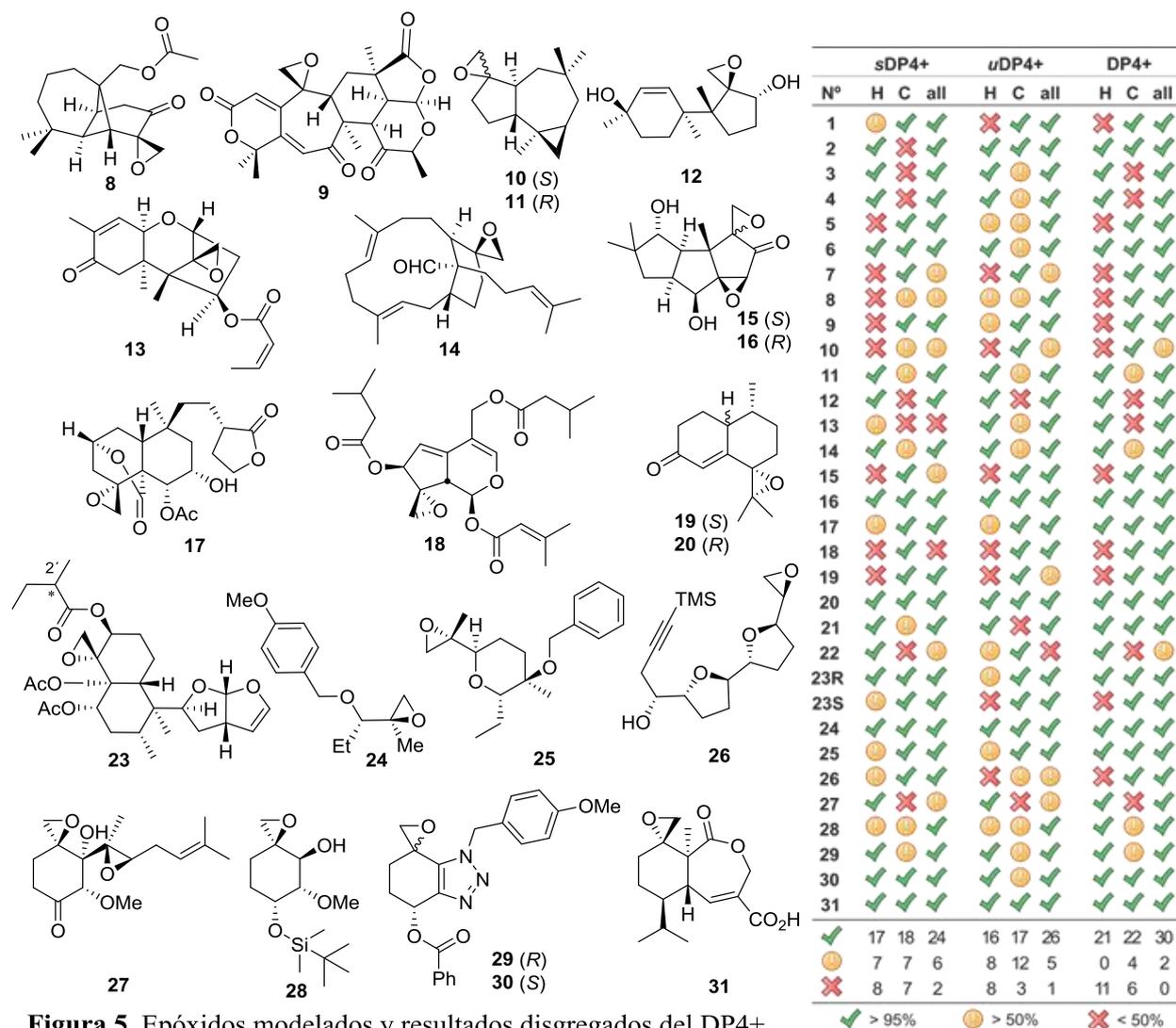


Figura 5. Epóxidos modelados y resultados disgregados del DP4+.

Los excelentes niveles de clasificación correcta logrados se interpretaron sobre la base de una compensación constructiva de los errores observados cuando se utilizan tanto los desplazamientos de ^1H y de ^{13}C escalados como los no escalados. Por lo tanto, para reforzar la confianza en la asignación, se concluyó que ambos tipos de datos deben ser empleados en el procedimiento de cálculo de DP4+. Utilizada correctamente, la metodología DP4+ surge como una alternativa poderosa y simple para asignar la configuración relativa de epóxidos desafiantes a partir de los cuales la información de RMN experimental proporciona resultados ambiguos.

Los ejemplos considerados fueron correctamente asignados con muy buenos resultados, sin embargo, tienen dos ventajas que permiten a DP4+ dar una buena respuesta, por un lado son moléculas de baja flexibilidad en torno al centro estereogénico que se desea asignar, y por otro sus espectros de RMN fueron adquiridos empleando cloroformo deuterado (solvente en el cual se realizaron los cálculos de los tensores magnéticos al nivel de teoría óptimo). En este escenario nos enfrentamos a dos desafíos evaluar la performance de DP4+ en moléculas más flexibles y su comportamiento en sistemas altamente polares (como poli alcoholes) cuyos espectros deben ser registrados en solventes próticos deuterados.

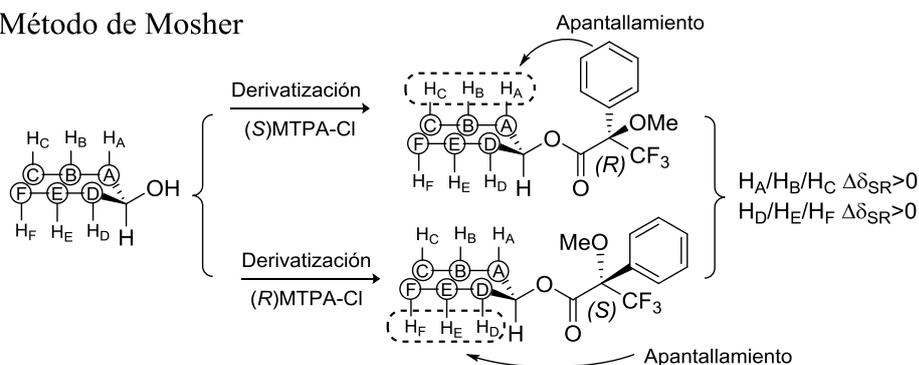
Con el objetivo de abordar el primer tópico, se intentó continuar con el proceso de asistencia a la elucidación estructural, ya que una vez establecidas las configuraciones relativas de todos los estereocentros presentes en una molécula el siguiente paso es establecer la configuración absoluta (CA). Esta determinación es muy importante debido a que ambos enantiómeros de compuestos bioactivos pueden tener propiedades biológicas sustancialmente diferentes, debido a que sus blancos de acción son, en general, proteínas o enzimas intrínsecamente quirales. De ahí, la creciente necesidad de obtener productos químicos enantioméricamente puros, lo cual llevó a un extenso desarrollo en áreas como la síntesis asimétrica y otros procesos para los cuales la disponibilidad de métodos confiables y simples de determinación de la pureza enantiomérica y de la configuración absoluta es de suma importancia.

Debido a lo desafiante de determinar la CA, actualmente, hay varios métodos disponibles para realizarlo, incluidos análisis de cristalografía de rayos X, espectroscopia quirópática, síntesis química y análisis de RMN. Curiosamente, todos ellos adolecen de imprecisiones que pueden conducir a una asignación errónea, por lo que la determinación de CA pequeñas moléculas sigue siendo un área ferviente de investigación.

Entre los diferentes enfoques basados en la espectroscopia de RMN, aquellos que involucran el empleo de agentes de derivatización quiral (CDA-por sus siglas en inglés *Chiral Derivatizing Agent*) son quizás los más populares.⁴ Se han descrito una amplia variedad de métodos, y en todos los casos, la estrategia implica la formación de un enlace covalente entre el CDA y el sustrato. Las ventajas de estas metodologías son varias: en primer lugar el equipamiento necesario para llevar a cabo la determinación se emplea de forma rutinaria en los laboratorios de síntesis orgánica; sólo requiere una pequeña cantidad de muestra y los experimentos son llevados a cabo en solución por lo cual es aplicable tanto para compuestos sólidos como líquidos.

Uno de los métodos más conocidos de este tipo es el desarrollado por Mosher (Figura 6).⁴ Este consiste en la derivatización de alcoholes con ácidos carboxílicos quirales (como el ácido α -metoxi- α -trifluorometil- α -fenilacético-MTPA); obteniendo los ésteres diastereoisoméricos cuyas diferencias en los espectros de RMN son características para cada configuración. Los derivatizantes tienen un mecanismo predecible que causa la protección diferencial producida por un grupo aromático responsable de la discriminación entre las dos configuraciones. Luego es necesario analizar y comprender qué conformación adoptan preferencialmente los derivados.⁵ Estos modelos tienden a funcionar muy bien para alcoholes secundarios y algunas aminas, y en menor magnitud, para alcoholes primarios β -quirales.

Figura 6: Método de Mosher



Alternativamente al reactivo empleado por Mosher se han descrito diversos agentes de derivatización quiral según el tipo de funcionalidad presente en el compuesto a analizar.⁶ Comúnmente, se efectúan dos derivatizaciones empleando los enantiómeros (*R*) y (*S*) del reactivo quiral, se registran ambos espectros y luego se calculan los $\Delta\delta$ de los núcleos del sustrato que rodean el centro estereogénico derivatizado (valores $\Delta\delta_{RS}$). Dependiendo de la magnitud y el signo de los valores $\Delta\delta_{RS}$ para los diferentes grupos sustituyentes del sustrato, la CA puede determinarse siguiendo un modelo conformacional dado, que depende de la naturaleza del sustrato y del CDA utilizado (Figura 7).

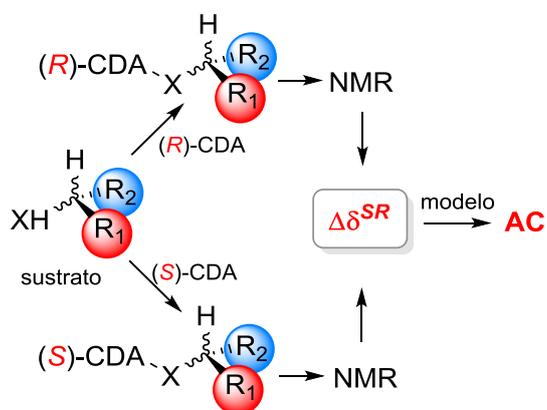


Figura 7. Representación esquemática de la determinación de la CA por RMN siguiendo un enfoque de doble derivatización.

⁴ -A.; Mosher, H. S. *J. Org. Chem.* **1973**, *38*, 2143-2147.

⁵ -Wenzel, T. J. and Chisholm, C. D. *Chirality* **2011**, *23*, 190-214.

⁶ -(a) Seco, J. M.; Quinoá, E.; Riguera, R. *Chem. Rev.* **2004**, *104*, 17-118. (b) Seco, J. M.; Quinoá, E.; Riguera, R. *Chem. Rev.* **2012**, *112*, 4603-4641.

Experimentalmente, es necesario: en primer lugar determinar el CDA más adecuado para el tipo de funcionalización que contiene el compuesto; adicionalmente se deben realizar dos reacciones (una con cada enantiómero del CDA) o alternativamente por simple derivatización modificando el equilibrio conformacional mediante temperatura o formación de complejos con metales, con la consecuente disminución de sensibilidad lo cual reduce sustancialmente el nivel de confianza en la asignación. Finalmente se requiere también de un buen modelado molecular para analizar las posibles conformaciones de ambos distereoisómeros y la correlación con la teoría de análisis correspondiente al CDA empleado. La principal desventaja del método radica en que sólo permite determinar la configuración del estereocentro más próximo a la derivatización, requiriendo un análisis muy profundo de las configuraciones relativas de los otros centros que pudiera tener la molécula. Además, los valores de $\Delta\delta$ son muy pequeños, y si a eso se agrega un exhaustivo análisis de las conformaciones que justifiquen esas diferencias, esto puede producir ciertas ambigüedades que podrían conducir a resultados erróneos por una mala interpretación.

Dada la gran capacidad de DP4+ en la asignación estereoquímica de compuestos con múltiples estereocentros en un solo paso, nos propusimos emplearlo para poder establecer la configuración absoluta de un compuesto determinando cuál de los dos diastereoisómeros se obtiene al derivatizarlo con un reactivo quiral. De este modo, podría establecerse la configuración absoluta de manera más simple mediante una única derivatización y sin requerir de un análisis minucioso plausible de malas interpretaciones. El principal desafío en este caso estaría dado por la libertad conformacional que se presenta en el entorno cercano al centro sujeto a derivatización. En los estudios previos (epóxidos por ejemplo) había una importante restricción en el entorno del carbono que diferenciaba los distereoisómeros. En estos casos por el contrario la derivatización conlleva la ganancia de libertad conformacional en torno al núcleo derivatizado.

Como alternativa a los análisis clásicos de los métodos tipo Mosher, propusimos una novedosa estrategia que consiste en resolver la CA más probable de los compuestos quirales mediante experimentos de simple derivatización, acoplados a cálculos cuánticos de los δ de RMN y el análisis de DP4+.

La metodología general consistió en hacer reaccionar algún grupo reactivo de la molécula (por ejemplo, OH, NH, COOH, etc) cuya configuración se desea determinar con un reactivo quiral, adquiriendo así un nuevo espectro de RMN que dependerá de la configuración del diastereoisómero obtenido. Luego se modelaron los dos posibles productos diastereoisoméricos manteniendo la configuración del CDA y variando la estructura proveniente del compuesto incógnita modelando ambos posibles enantiómeros. Sobre cada uno de los compuestos se efectuó una búsqueda conformacional a nivel de mecánica molecular, mediante un método de búsqueda sistemático en el cual se obtienen todas las posibles conformaciones dentro de las 10 Kcal de la más estable. Luego se optimizaron todas las conformaciones a nivel B3LYP/6-31G*, una vez removidos los duplicados se efectuó sobre las mismas los cálculos de RMN a nivel mPW1PW91/6-31+G** (PCM, Cloroformo). De este modo, se obtuvieron los tensores magnéticos ponderados según la distribución de Boltzman (hasta 2 Kcal de la conformación más estable). Con los datos experimentales y los tensores para ambos distereoisómeros se llevaron a cabo los cálculos de probabilidad empleando DP4+, permitiendo así determinar con una única derivatización la configuración de la molécula objetivo (Figura 8).

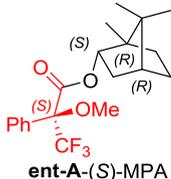
Datos de RMN exp. de:	Datos de RMN calculados para:	DP4+	Configuración más probable
 <p>A-(S)-MPA</p>	<p>A-(S)-MPA</p> <p>A-(R)-MPA</p> <p>ent-A-(S)-MPA</p>	<p>>99.9%</p> <p><0.1%</p>	<p>1(S),2(R),4(R)</p>
 <p>ent-A-(S)-MPA</p>	<p>1-(S)-MPA</p> <p>A-(R)-MPA</p> <p>ent-A-(S)-MPA</p>	<p><0.1%</p> <p>>99.9%</p>	<p>1(R),2(S),4(S)</p>

Figura 8. Representación esquemática del uso de DP4+ en la determinación de la configuración absoluta

Se seleccionó un conjunto de derivados de CDA de alcoholes secundarios y primarios, aminas primarias y secundarias, ácidos carboxílicos y cianhidrinas terciarias de diversa complejidad estructural y libertad conformacional. Respecto a la naturaleza del CDA, nuestra selección cubrió los más populares, incluyendo MTPA, MPA, MA, Ac-MA, 9-AMA y MBC (Figura 9).⁵

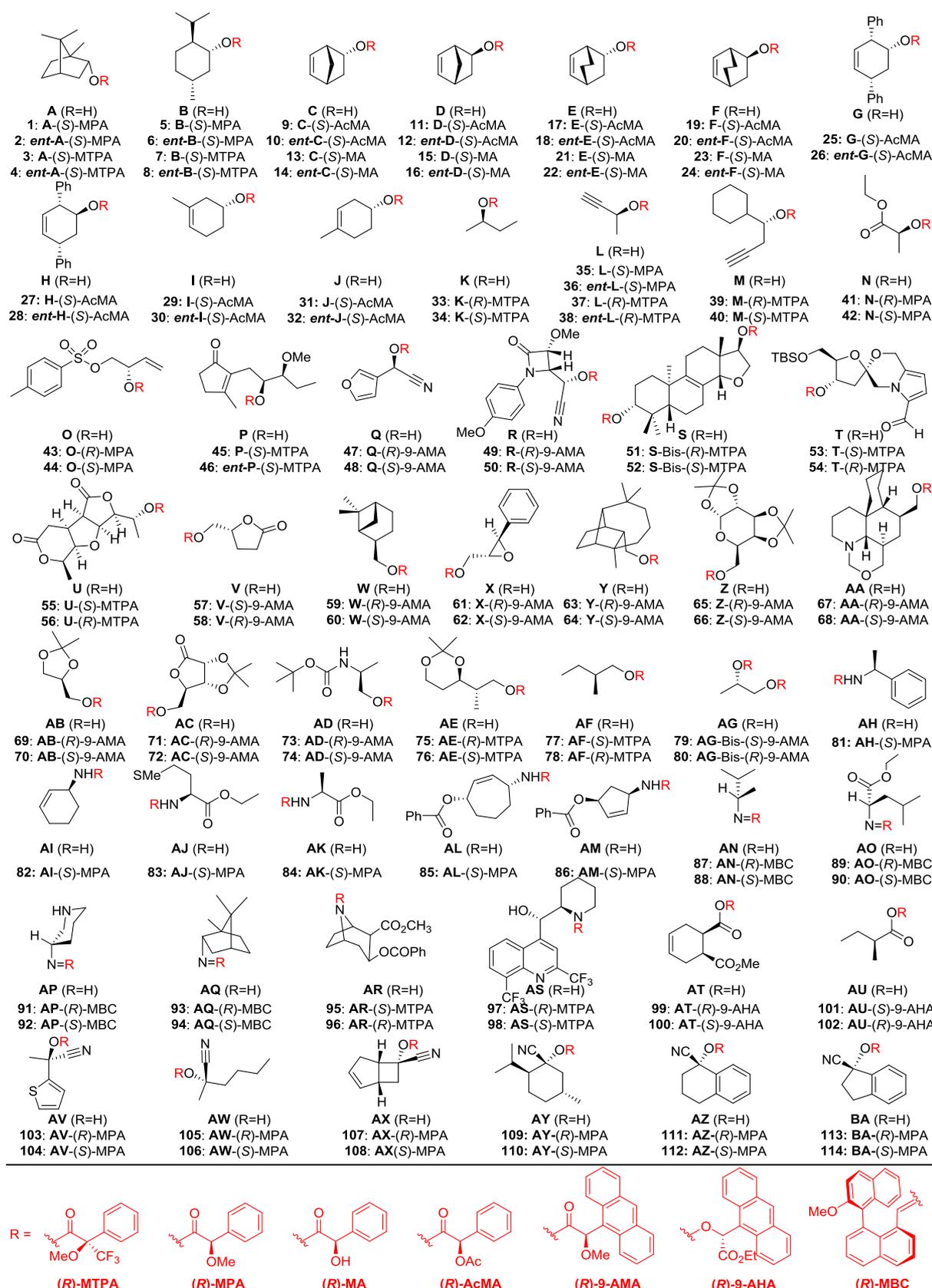
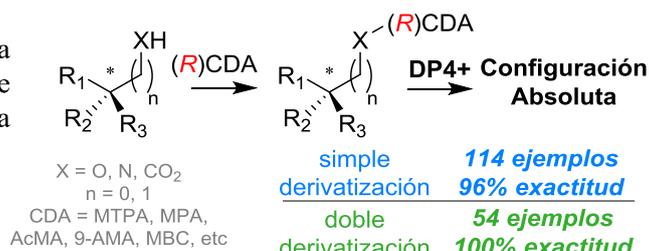


Figura 9. Estructuras de los compuestos evaluados 1-114.

Se modelaron 114 ejemplos, y se logró establecer correctamente la configuración absoluta de los sustratos en el 96% de los casos (Figura 10).

Figura 10. Metodología empleada la determinación de la CA y resultados obtenidos para ambos métodos DP4+ y DIP.



En un intento por incrementar el grado de confianza del uso de cálculos cuánticos para determinación de CA, se construyó una nueva probabilidad integrada DP4+ (DIP) para fortalecer el análisis cuando se dispone de los datos de RMN para ambos diastereoisómeros posibles. En el escenario más típico de una derivatización doble, los dos resultados independientes de DP4+ se pueden combinar en una sola probabilidad DIP (Figura 11).

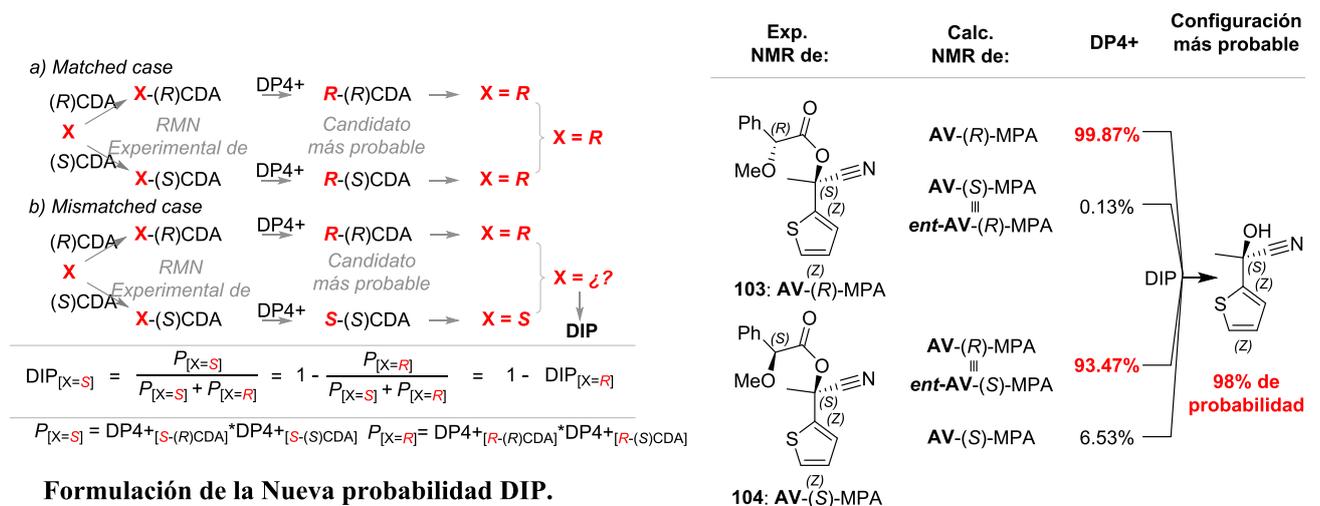


Figura 11. Representación esquemática del empleo de DP4+ en la determinación de la configuración absoluta a través de un enfoque de doble derivatización.

Cuando se calcularon las probabilidades DIP para los 54 pares de diastereoisómeros bajo estudio, fue muy satisfactorio observar que la configuración absoluta del sustrato se reprodujo correctamente en todos los casos, con valores de DIP que van desde 61% a > 99.9%. Además, en el 96% de los casos, la asignación se realizó con alta certeza (DIP > 80%), lo que indica la fortaleza del método cuando se sigue un enfoque de doble derivatización.

Finalmente, para demostrar la utilidad de nuestra metodología en la determinación de la configuración absoluta de productos naturales utilizando cálculos cuánticos de desplazamientos químicos de RMN, se presentarán y debatirán dos casos de estudio recientes y controversiales como fueron la (+)-*erythro*-mefloquina y la angiopterlactona B.⁷

1. (+)-*erythro*-mefloquina

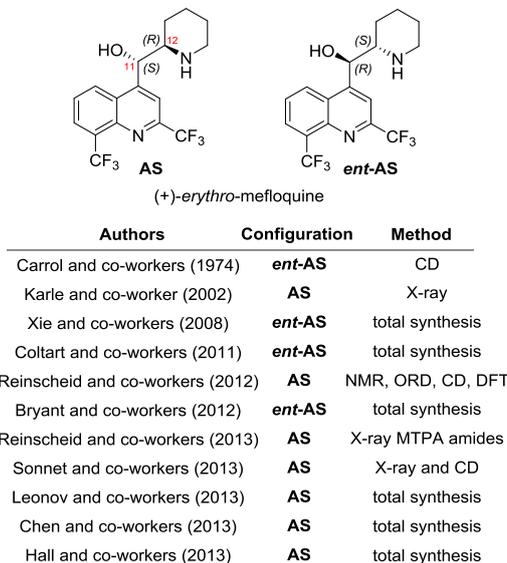
La síntesis total de un producto natural es sin duda la prueba definitiva de su identidad estructural y configuracional. Sin embargo, en algunos casos, la determinación de la configuración absoluta puede ser más compleja, como en el caso de (+)-*erythro*-mefloquina (compuesto AS, Figura 12)

Brevemente, Roche desarrolló la *rac-erythro*-mefloquina (conocida comercialmente con el nombre Lariam) en la década de 1970 empleada como agente antipalúdico. Uno de los principales problemas asociados con este medicamento es el efecto adverso neuropsiquiátrico generado por el enantiómero levorrotatorio. Dadas las fuertes diferencias exhibidas por los dos enantiómeros en términos de actividades farmacéuticas, varios investigadores intentaron determinar la configuración absoluta de la (+)-*erythro*-mefloquina (principio activo). Los resultados fueron, sin embargo, ambiguos y controvertidos. Carroll y col. primero sugirieron la configuración (11*R*, 12*S*) para el isómero dextrorrotatorio basado en dicroísmo circular (CD) y reglas empíricas (*ent-AS*, Figura 12), mientras que Karle estableció la misma configuración

⁷- Zanardi, M. M.; Biglione, F. A.; Sarotti, A. M. *J. Org. Chem.* **2018**, *83*, 11839.

para el isómero levorrotatorio utilizando una señal anómala de la difracción de rayos X de un mono cristal. La primera síntesis total de (+)-*eritro*-mefloquina por Xie y col. en 2008 apoyó la asignación de Carroll, pero un estudio más reciente de Griesinger, Reinscheid y col. mediante combinación de técnicas de RMN, ORD, CD y DFT sugirió que Karle tenía razón. Sin embargo, dos síntesis totales adicionales devolvieron la disputa al proponer la configuración (11*R*, 12*S*) para (+)-*eritro*-mefloquina. Para terminar con esta situación desconcertante, Reinscheid, Dittrich, Griesinger y sus colegas determinaron la configuración (11*S*, 12*R*) para el isómero (+) mediante análisis de rayos X de las amidas de MTPA resultantes de los dos enantiómeros de *eritro*-mefloquina. Pocos meses después, Sonnet y sus compañeros de trabajo llegaron a la misma conclusión por cristalografía de rayos X, espectroscopía de CD y modelado molecular.

Figura 12. Evolución temporal de la asignación de la CA de la (+)-*eritro*-mefloquina



Para entender cómo nuestra metodología podría haber sido útil en la resolución de este conflicto de 40 años, calculamos los δ de RMN de las dos amidas (*R*) y (*S*)-MTPA de (11*S*, 12*R*)-*eritro*-mefloquina (compuestos **97** y **98**, Figura 9). Para nuestro deleite, al correlacionarlos con los datos experimentales de RMN recopilados para el derivado (*R*)-MTPA, el isómero **97** (AS-(*R*)-MTPA) fue identificado como el más probable por cálculos de DP4+ (> 99.9%, Figura 13), lo que permite establecer la configuración 11*S*, 12*R* para el isómero dextrorrotatorio. La misma conclusión se logró al usar los δ experimentales de la amida (+)-*eritro*-mefloquina-(*S*)-MTPA, con el isómero **98** clasificado correctamente en alta confianza (98.5%). Por lo tanto, DP4+ podría predecir la configuración correcta de la *eritro*-mefloquina utilizando un enfoque de derivación simple, preparando los dos diastereoisómeros de MTPA. Naturalmente, utilizando los \square de RMN de las dos derivadas (derivación doble), los cálculos DIP predicen correctamente la configuración 11*S*, 12*R* en alta probabilidad (> 99.9%).

Experimental NMR from	Calculated NMR from	DP4+	Most likely configuration
(+)- <i>erythro</i> -mefloquine (<i>R</i>)-MTPA	AS-(<i>R</i>)-MTPA	>99.9%	AS (11 <i>S</i> ,12 <i>R</i>)
	AS-(<i>S</i>)-MTPA	<0.1%	
	<i>ent</i> -AS-(<i>R</i>)-MTPA		
(+)- <i>erythro</i> -mefloquine (<i>S</i>)-MTPA	AS-(<i>R</i>)-MTPA	1.5%	AS (11 <i>S</i> ,12 <i>R</i>)
	<i>ent</i> -AS-(<i>S</i>)-MTPA		
	AS-(<i>S</i>)-MTPA	98.5%	

Figura 13. DP4+ in the assignment of the absolute configuration of (+)-*erythro*-mefloquine

2- (+)-angiopterlactona B

Este complejo metabolito de bis-lactona fue aislado del rizoma de *Angiopteris caudatififormis* por Zou y col. en 2009. La estructura planar y la configuración relativa se determinaron mediante extensos estudios de RMN y Masa, y verificados por análisis de cristalografía de rayos X. Mediante métodos de Dicroísmo circular, los autores sugirieron las configuraciones 4*R* y 3'*R*, mientras que la configuración en C-6' se resolvió como *S* por el método Mosher modificado.

Por lo tanto, la configuración absoluta de (+)-angiopterlactona B se asignó como $4R,5S,6S,2'R,3'R,4'S,6'S$ (compuesto *ent*-U, Figura 14). Sin embargo, en 2017, Lawrence y colaboradores lograron la primera síntesis total de la estructura propuesta de (+)-angiopterlactona B y observaron que la muestra sintética mostraba un signo opuesto en la rotación óptica ($[\alpha]_D = -25$) que el reportado para el natural producto ($[\alpha]_D = +22$), lo que sugirió la necesidad de una revisión de la estructura originalmente propuesta. Pocos meses después, Bhattacharya y sus colegas llegaron independientemente a la misma conclusión a través de la síntesis de los dos enantiómeros de la angiopterlactona B, lo que demuestra que el isómero dextrorrotatorio natural tiene la configuración $4S,5R,6R,2'S,3'S,4'R,6'R$ (compuesto U, Figura 14).

Para mostrar el poder de nuestras herramientas computacionales en determinación de configuraciones relativas y absolutas de productos naturales, realizamos la reasignación *in silico* de (+)-angiopterlactona B. De acuerdo con nuestro trabajo computacional, al correlacionar los datos de RMN del producto natural con los δ calculados para los 64 diastereoisómeros posibles, DP4+ identificó la configuración relativa correcta en alta probabilidad (Figura 14). Luego, para determinar a qué enantiómero corresponde la (+)-angiopterlactona B, calculamos los δ de RMN de los dos posibles ésteres de MPTA. Sin embargo, después de un análisis detallado de la información proporcionada por el equipo de aislamiento, en nuestra opinión, los autores no consideraron el cambio en la asignación Cahn-Ingold-Prelog al preparar los ésteres de MPTA a partir de los cloruros de ácido correspondientes. De hecho, al correlacionar el desplazamientos de RMN calculados para **55** (U-(S)-MPTA, equivalente a *ent*-U-(R)-MPTA) y **56** (U-(R)-MPTA, equivalente a *ent*-U-(S)-MPTA) con los δ experimentales del éster (R)-MPTA de (+)-angiopterlactona B (que según nuestra hipótesis se informaron originalmente para el derivado (S)-MPTA), DP4+ sugiere que **56** es el más probable (69%). Dado que la configuración del MPTA es R, entonces el producto natural debe ser U. Siguiendo un razonamiento similar, cuando se usan los δ de RMN del éster (S)-MPTA (originalmente informado para el éster (R)-MPTA), la estructura **55** sería el candidato más probable por DP4+ (72%), lo que refuerza la asignación anterior. Combinando los dos resultados DP4+ utilizando nuestra probabilidad DIP, la configuración absoluta de la (+)-angiopterlactona B natural se puede definir como $4S,5R,6R,2'S,3'S,4'R,6'R$, en excelente concordancia con la evidencia sintética. Es cierto que, sin tener acceso a una muestra auténtica del producto natural, el análisis anterior solo representa una explicación sólida de los orígenes de la asignación incorrecta.

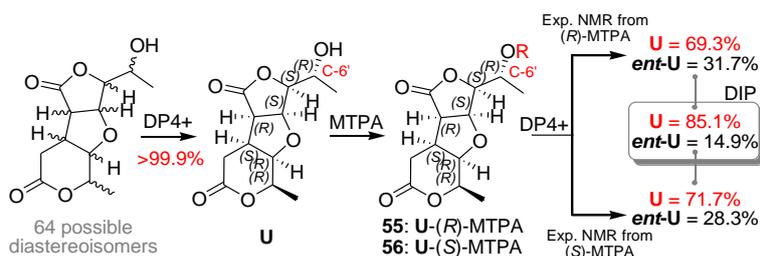


Figura 14. DP4+ in the assignment of the relative and absolute configuration of (+)-angiopterlactone B

CONCLUSION

Se determinó la capacidad de DP4+ para la asignación de la configuración de epóxidos en una amplia familia de compuestos estructuralmente variados, demostrándose que en todos los casos bajo estudio los resultados fueron excelentes. De este modo DP4+ constituye un método sumamente confiable para la determinación estructural de este tipo de moléculas.

Se evaluó exhaustivamente la capacidad de clasificación de DP4+ en 114 ejemplos de derivados de CDA que presentan una amplia diversidad de motivos estructurales y estereoquímicos. El rendimiento del método varió de muy bueno a excelente, dependiendo de la naturaleza del CDA y el sustrato, lo que permite una asignación segura de la configuración absoluta más probable de alcoholes y aminas siguiendo un enfoque de simple derivatización. Además, en el escenario más típico de una derivatización doble, los dos resultados DP4+ independientes se pueden combinar en una sola probabilidad DIP, que identifica correctamente la CA de los 54 pares diastereoisoméricos en estudio

Sobre la base de estos resultados, sugerimos que DP4+ surge como una herramienta poderosa y simple para determinar la configuración absoluta más probable de las moléculas orgánicas, que podría usarse en combinación con otras técnicas para reforzar los resultados obtenidos.