

UNIVERSIDAD DE GRANADA
FACULTAD DE FARMACIA
Departamento de Química Farmacéutica y Orgánica

DISEÑO DE COMPUESTOS HEMIAMINÁLICOS CON CAPACIDAD DE INDUCIR DIFERENCIACIÓN CELULAR



UNIVERSIDAD DE GRANADA
FACULTAD DE FARMACIA
Departamento de Química Farmacéutica y Orgánica

NUEVOS PROFARMACOS DE 5-FLUOROURACILO CON ACTIVIDAD DIFERENCIADORA CELULAR

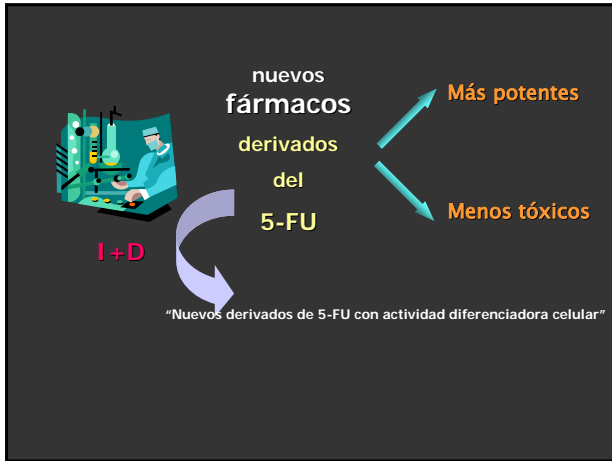


5-FLUOROURACILO

- MANIFESTACIONES CLÍNICAS DE TOXICIDAD:
- FÁRMACO DE PRIMERA ELECCIÓN

Adenocarcinomas

- a nivel digestivo: anorexia, náuseas, estomatitis, diarreas
 - ✓ del tubo digestivo: colon, páncreas y estómago
 - ✓ de mama
- a nivel sanguíneo: acción mielosupresora
 - leucopenia
 - trombocitopenia
 - anemia
- otros efectos: caída cabello
- Carcinomas de: Ovario, próstata, cuello uterino, vejiga urinaria y urinario. aumento de la pigmentación



Actividad Biológica

3-(2-hidroxiethylhetero) propilo

34

34a $Cl_{50} = 45 \mu M$ (HEp) *
34b $Cl_{50} = 18 \mu M$
* 5-FU $Cl_{50} = 90 \mu M$ (HEp)

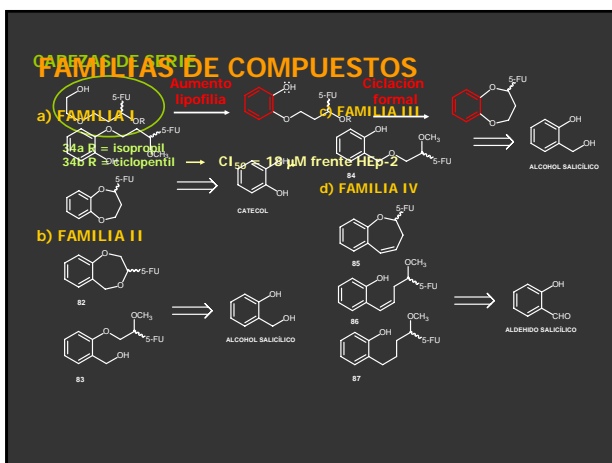
a R = Pr^t
b R = Cp

3-(2-hidroxiethylhetero) propilo

41c

$Cl_{50} = 70 \mu M$ (HT-29) *
* 5-FU $Cl_{50} = 8.75 \mu M$ (HT-29)

INDUCE DIFERENCIACIÓN CELULAR



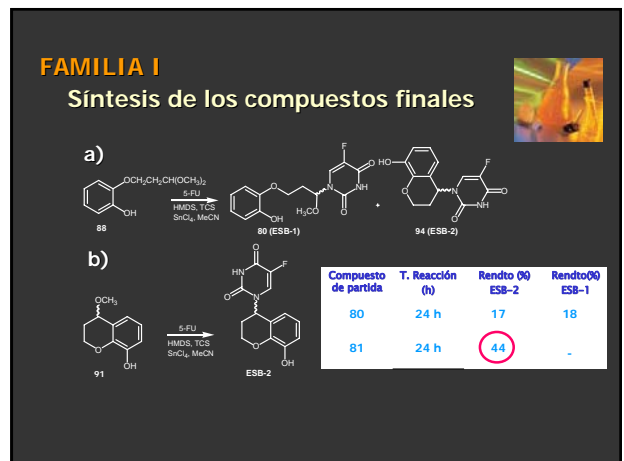
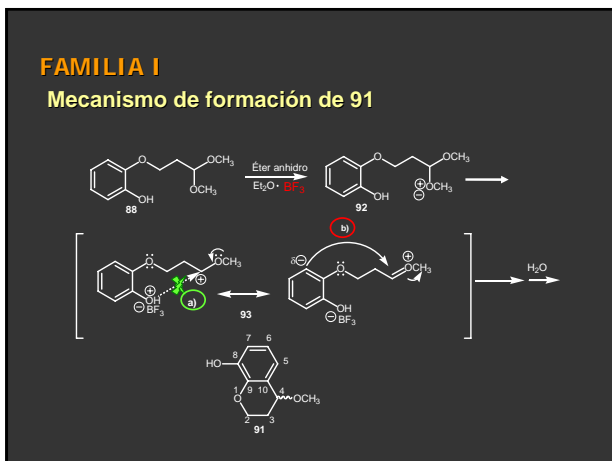
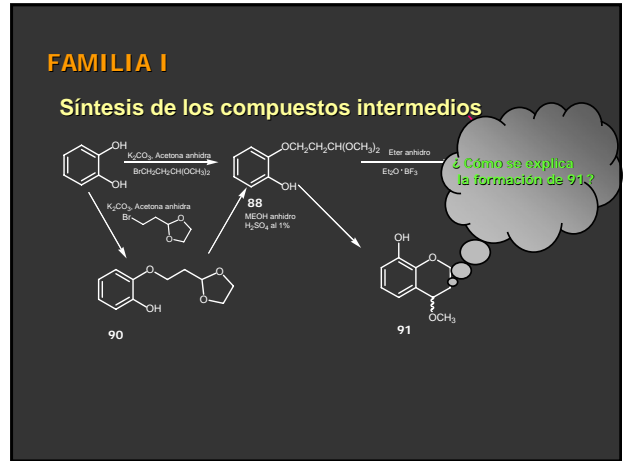
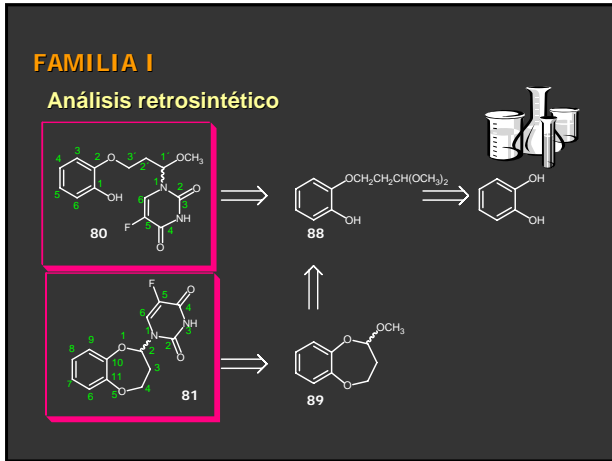
FAMILIA I:

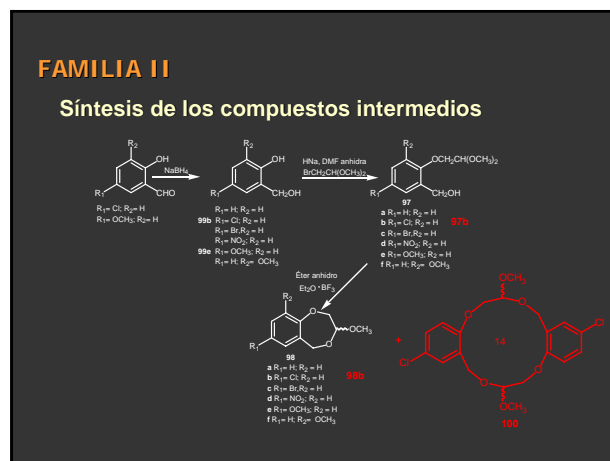
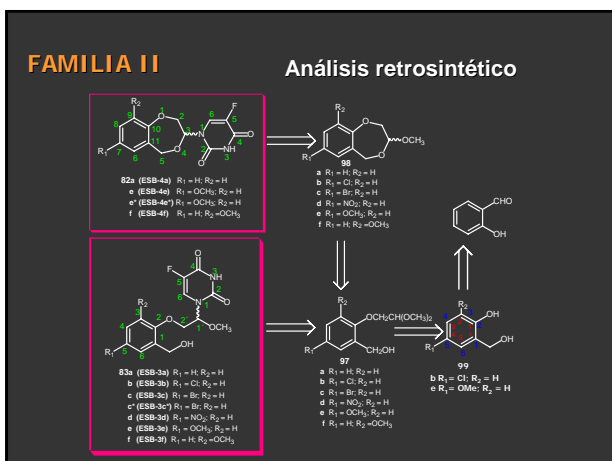
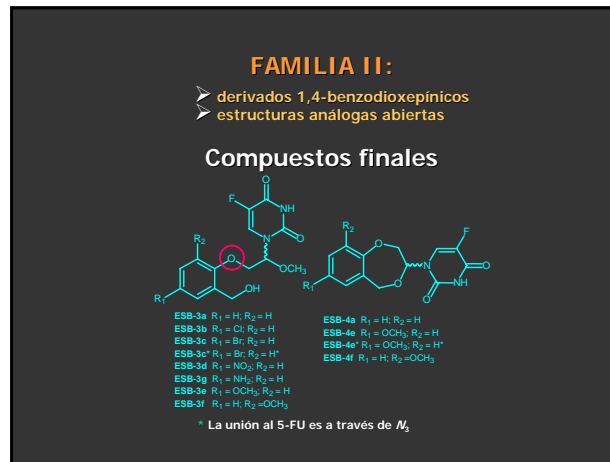
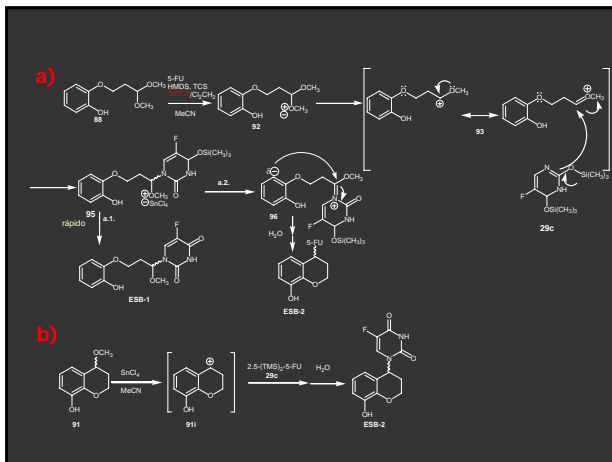
- > 1-[3-(2-hidroxifenoxi)-1-metoxipropil]-5-fluorouracilo
- > 1-(8-hidroxicroman-4-il)-5-fluorouracilo

Compuestos finales

80

81





FAMILIA II

- naturaleza
- posición

R_1 y R_2 \rightarrow regioselectividad
 \checkmark rendimiento

C_5 R_1 \bullet electronegativo: O Δ -hemiaminales acíclicos
 \bullet electrón donante: ambos tipos relación 1:1

C_3 R_2 \bullet electrón donante: hemiaminal acíclico

Reacción de condensación

Comp. partida	R_1	R_2	Reacción (h)	ESB-4	acíclico ESB-3	estructuras
97a	H	H	24	7	-	101,102*
97b	Cl	H	24	-	17	
97c	Br	H	24	-	4 (8*)	
97d	NO_2	H	24	-	35	
97e	OCH_3	H	24	26 (1*)	27	
97f	H	OCH_3	24	-	37	

* Debido a que en esta reacción se obtienen resultados distintos, se obtienen dos productos posteriormente.
 • Todos los rendimientos se refieren a los análogos acíclicos ESB-3 y cíclicos ESB-4, en los que la unión al 5-FU es a través de M_1 , excepto en los compuestos ESB-4a y ESB-3a, en los que la unión es a través de M_2 , cuyos rendimientos aparecen entre paréntesis.

FAMILIA III

R_1 y $R_2 = H$ \uparrow rendimiento Δ -hemiaminal cíclico
 \uparrow influyen de forma análoga

C_7 R_1 \bullet electronegativo: O Δ -hemiaminales acíclicos
 \bullet electrón donante: ambos tipos relación 1:1

Tiempos largos

C_9 R_2 \bullet electrón donante

Δ -hemiaminal cíclico
hemiaminal cíclico

Reacción de condensación

Comp. Partida	R_1	R_2	Reacción (h)	ESB-4	hemiaminal acíclico ESB-3	Rendim. (%)
98a	H	H	24	43*	-	-
98b	Cl	H	24	-	77 (17)	
98c	Br	H	24	-	33 (4)	
98d	NO_2	H	24	-	1.5 (35)	
98e	OCH_3	H	24	27 (26)	21 (27)	
98e	OCH_3	H	144 (6 días)	38*	-	-
98f	H	OCH_3	24	15.5 (-)	-	1

* La reacción para el compuesto 98a se ha estudiado en otras condiciones de reacción y tiempos de reacción de ácido de Lewis aumentando el tiempo.
 • Tiempo de reacción 144 h. El resto de las reacciones se han llevado a cabo en 24 h. Entre paréntesis se indican los rendimientos obtenidos a partir de 97.

Influencia de otros factores en la reacción de condensación

a) 24 h \rightarrow ESB-4a, ESB-3a

b) 24 h \rightarrow ESB-4a, ESB-5

TIEMPO \rightarrow Tipo de estructura
 Tiempos cortos \rightarrow hemiaminal abierto ESB-3a
 \uparrow Tiempo \rightarrow Hemiaminal cíclico ESB-4a

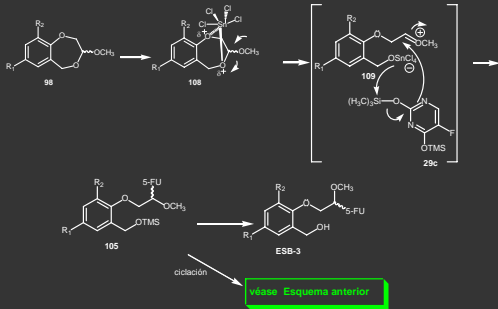
ÁCIDO DE LEWIS \rightarrow Rendimiento
 Tetracloruro de Estano \uparrow Rendimiento

Comp. Partida	Ácido de Lewis	T. Reacción (h)	Rendim. (%) ESB-3	Rendim. (%) ESB-4	Rendim. (%) ESB-5	Rendim. (%) ESB-6
98a	$SnCl_4/Cl_2CH_2$	4 h	15	4	-	-
98a	$SnCl_4/Cl_2CH_2$	24 h	-	43	-	-
98a	$BF_3 \cdot ETD$	24 h	-	36	-	-
97a	$SnCl_4/Cl_2CH_2$	24 h	-	7	3	2

1. Mecanismo de reacción cuando el producto partida es 97: participación de grupo vecino.

The diagram illustrates the mechanism of the condensation reaction starting from compound 97. It shows the reaction with $HMDs$, TCS , and $SnCl_4/Cl_2CH_2$ in CH_2Cl_2 solvent. The mechanism involves the formation of a hemiaminal intermediate (104) which can cyclize to form either the cyclic hemiaminal ESB-4 (105) or the acyclic hemiaminal ESB-3 (106). The final product 107 is also shown, which is a substituted hemiaminal.

2. Mecanismo de reacción cuando el producto partida es 98



3. Mecanismo formación de ESB-6 y estudio de su analogía a los polímeros dendrímeros cíclicos y al éter corona.

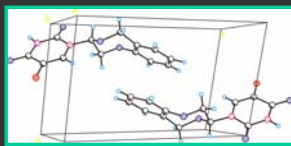
- 1) Estructura novedosa transportadora de 5-FU \rightarrow prototipo estructuras nuevas
Lipofilia superior a la del 5-FU:
 $\log P_{CDR} = -0.89$ (5-FU)
 $\log P_{CDR} = 2.18$ (ESB-6)
- 2) Por cada mol se liberan dos moléculas de 5-FU \rightarrow mayor actividad

IMPORTANCIA ESB-6

Determinación estructural de ESB-4a:

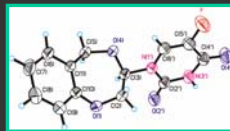
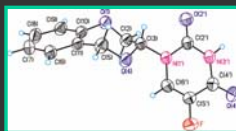
a) cristalografía de Rayos X

Celula unitaria del racémico (elipsoides de desplazamiento a nivel del 50 %).



Conformación en el estado cristalino.

Cristal visto de frente.

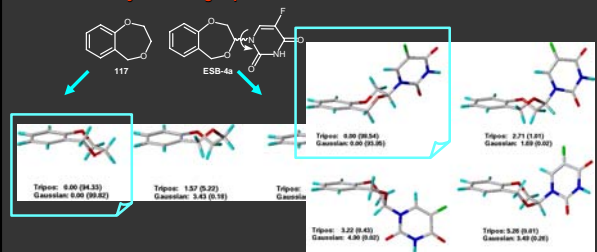


Determinación estructural de ESB-4a:

b) análisis conformacional

- ✓ identificación posibles conformaciones del anillo base 117

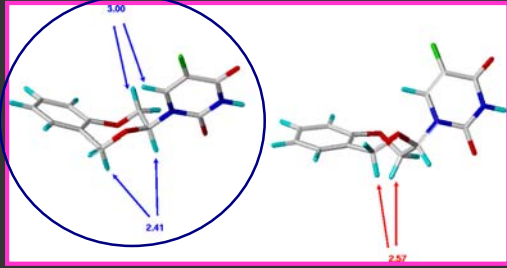
DOS ETAPAS: ✓ sobre conformaciones de 117 se añade el 5-FU y se investigan posibles rotámeros alrededor del enlace C-N exocíclico



Determinación estructural de ESB-4a:

b) análisis conformacional

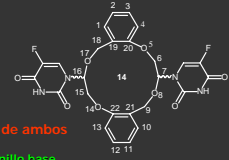
Efecto NOE de ¹H-RMN del compuesto ESB-4a



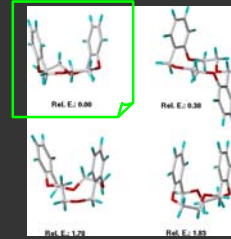
Análisis conformacional ESB-6

DOS ETAPAS:
 ✓ estudio del anillo base
 sin los dos restos de 5 fluorouracilo

✓ Con dos fragmentos de 5-FU se origina isómeros *cis* y *trans*
 se abordó el análisis conformacional de ambos



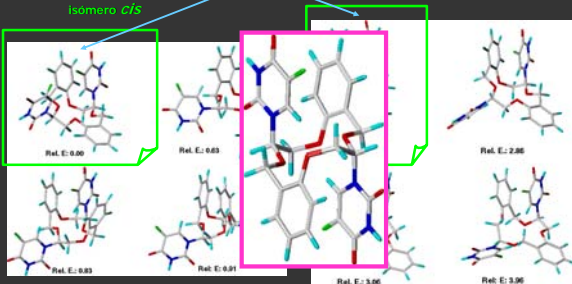
conformaciones más estables anillo base



Análisis conformacional ESB-6

INTERACCIONES

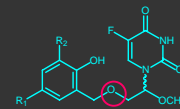
conformaciones más estables isómero *cis* conformaciones más estables isómero *trans*



FAMILIA III:

derivados del 1-[2-(2-hidroxibenciloxi)-1-metoxietil]-5-fluorouracilo

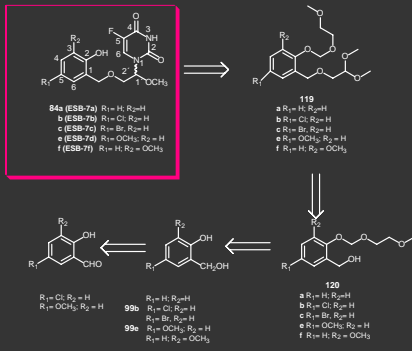
Compuestos finales



ESB-7a R₁ = H, R₂ = H
 ESB-7b R₁ = Cl, R₂ = H
 ESB-7c R₁ = Br, R₂ = H
 ESB-7e R₁ = OCH₃, R₂ = H
 ESB-7f R₁ = H, R₂ = OCH₃

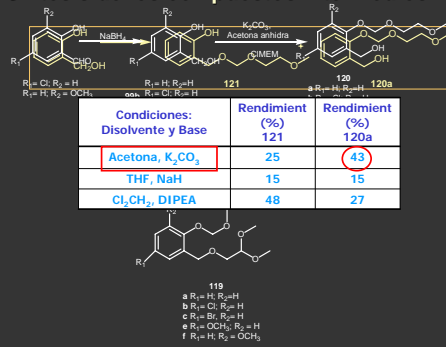
FAMILIA III

Análisis retrosintético

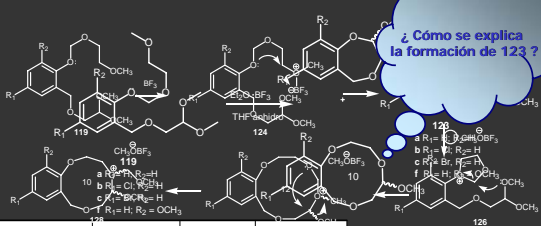


FAMILIA III

Síntesis de los compuestos intermedios

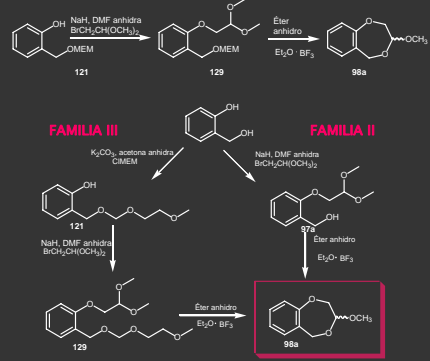


FAMILIA III Síntesis de los compuestos intermedios



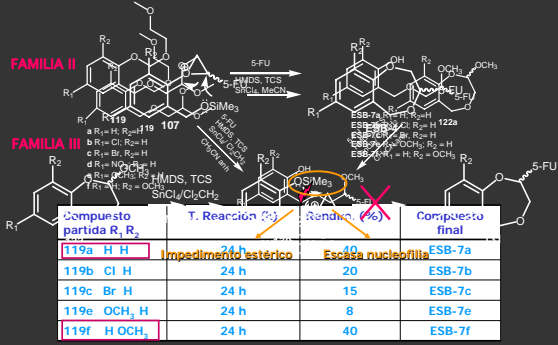
Comp. Partida 119 R ₁ , R ₂	Ácido de Lewis	Rendto. (%) 122	Rendto. (%) 123
a H, H	Et ₃ O ⁺ BF ₃	36	6
b Cl, H	Et ₃ O ⁺ BF ₃	40	17
c Br, H	Et ₃ O ⁺ BF ₃	22	13
d H, OCH ₃	Et ₃ O ⁺ BF ₃	65	10

FAMILIA III



FAMILIA III

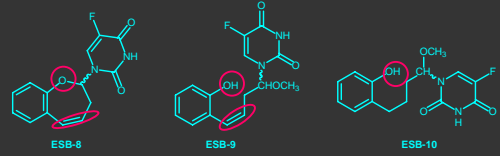
Síntesis de los compuestos finales



FAMILIA IV:

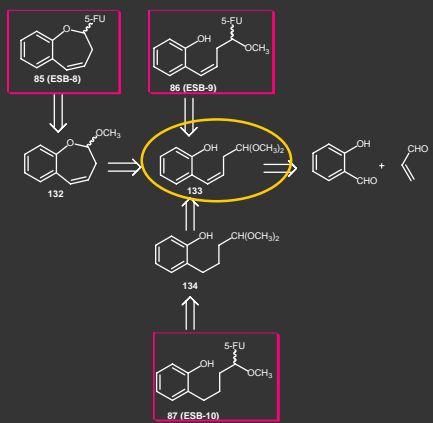
- 1-(2,3-dihidrobenzoxepin-2-ii)-5-fluorouracilo
- 1-[4-(2-hidroxifenil)-1-metoxibuten-3-ii]-5-fluorouracilo
- 1-[4-(2-hidroxifenil)-1-metoxibutil]-5-fluorouracilo

Compuestos finales



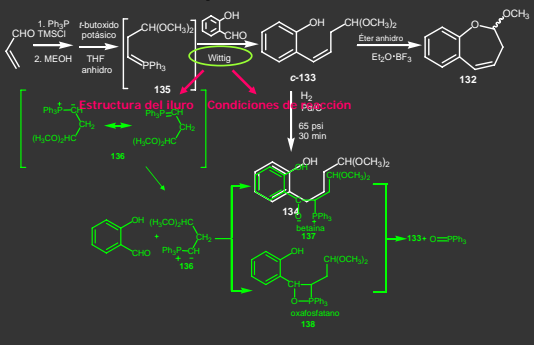
FAMILIA IV

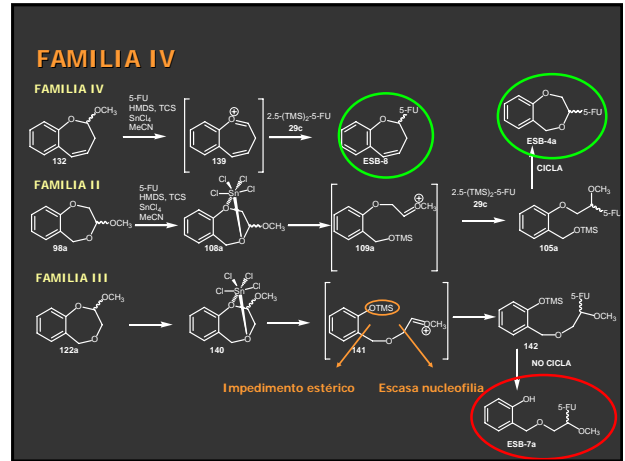
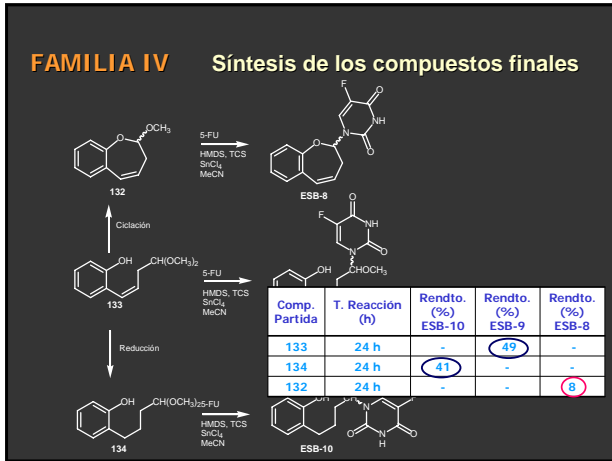
Análisis retrosintético



FAMILIA IV

Síntesis de los compuestos intermedios





Pruebas biológicas

- ✓ Evaluación de la capacidad antiproliferativa frente línea celular de cáncer de mama MCF-7
- ✓ Efecto sobre el ciclo celular y la apoptosis

- Dr. Juan Antonio Marchal
- Inés Suarez
- Dra. Antonia Aránega (Facultad de Medicina de la Universidad de Granada)



Grupo I

CÓDIGO	ESTRUCTURA	Cl ₅₀ (μM)	CICLO CELULAR			APOPTOSIS (24 h)(48h)	
			G ₀ /G ₁	S	G ₂ /M	apoptosis temprana	apoptosis tardía
Control			68.39				
5-FU	<chem>Cc1c[nH]c1</chem>	2.75	58.07			52.81	
Florafur	<chem>Cc1c[nH]c1</chem>	3	45.62			58.06	
143	<chem>Cc1c[nH]c1</chem>	23	50.39			53.92	
ESB-8	<chem>Cc1c[nH]c1</chem>	14	86.14			33, 51.37	
ESB-2	<chem>Cc1c[nH]c1</chem>	69	68.61	21.79		15.96, 10.9	54.33, 35.49
ESB-4a	<chem>Cc1c[nH]c1</chem>	7	74.41	9.82	15.77	13.45, 9.5	8.45, 12.17
ESB-4f	<chem>Cc1c[nH]c1</chem>	22			10.08	7.33, 13.68	40.08, 46.73
ESB-4e	<chem>Cc1c[nH]c1</chem>	4.5			13.15	21.67, 14.57	1.5, 3.5
ESB-4h	<chem>Cc1c[nH]c1</chem>	5			11.38	19.08, 13	5.30, 5.22
ESB-6	<chem>Cc1c[nH]c1</chem>	5.5			5.13	46.24, 22	14.37, 19.05

Inducen apoptosis

lipofilia

Cl₅₀ en benzodioxepinos

Profármacos

FARMACOS

Grupo II

CÓDIGO	Cl ₅₀ (μM)	CICLO CELULAR		
		G ₀ /G ₁	S	G ₂ /M
Control		68.39		12.04
5-FU	2.75	58.07		2.1
Florafur	3	45.62		0
ESB-3c	16	51.37	38	0.66
ESB-3b				28.99
ESB-3f			39	1.59
ESB-3d	5.4	46.92	50.24	2.84
ESB-3g	21	67.32	23.28	9.40
ESB-3a	18.5	67.18	28.16	4.67
ESB-5	13	71.39	15.91	12.7

Acumulan las células en G₂/M

FARMACO PROFARMACO

Grupo electro-atrayente fues

Profármaco

Grupo III

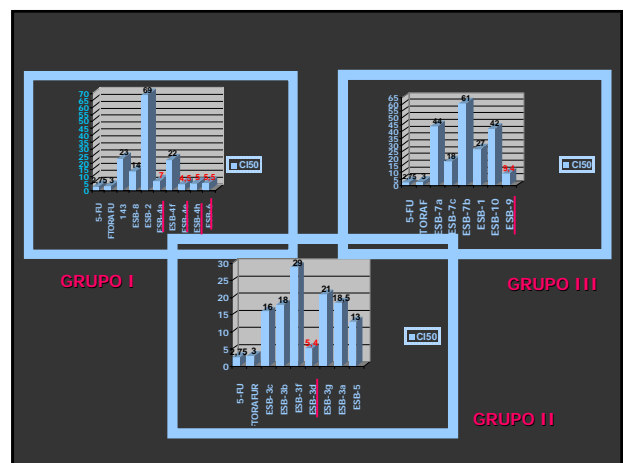
CÓDIGO	Cl ₅₀ (μM)	CELULAR	
		S	G ₂ /M
Control		9.57	12.04
5-FU	2.75	39.38	2.1
Florafur	3	54.38	0
ESB-7a		25.39	10.10
ESB-7c	18	72.45	9.38
ESB-7b	61	72.15	7.33
ESB-1		29.67	6.62
ESB-10		33.71	0
ESB-9	9.4	55.76	42.33

Profármacos

FARMACOS

Cbio isostérico

ACTIVIDAD



FARMACOS Y ESB-3

ESB-3b y ESB-3c (Grupo II)

PROFARMACO

5-FU y ftorafur

ESB-3 PROFARMACOS Grupo I

The diagram illustrates the cell cycle with phases G1, S, and G2. A 'Célula hija nueva' (new daughter cell) is formed at the end of the cycle. A 'STOP' sign is placed at the G1/S transition, and a 'GO' sign is placed at the G2/S transition. Chemical structures of 5-FU and its prodrug 5-FU-OAc are shown. A starburst graphic contains the text 'FARMACOS Y ESB-3'.