FACULTAD DE FARMACIA

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE

TRABAJO FIN DE GRADO

TÍTULO:

¿Existen profármacos de sulfonamidas?

Autor: Alejandro Alonso Ballesteros

D.N.I.: 50229520G

Tutor: Pilar López-Alvarado Gutiérrez

Convocatoria: Febrero 2016

Índice

1. Resumen 3
2. Introducción y antecedentes 3
3. Objetivos 13
4. Metodología 14
5. Resultados y discusión 17
6. Conclusiones 19
7. Bibliografía 20

¿Existen profármacos de sulfonamidas?

1. Resumen

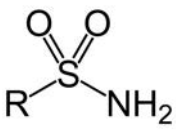
Las sulfamidas son uno de los grupos funcionales más importantes en el diseño de fármacos y están presentes en multitud de estructuras activas comercializadas (sulfasalazina, viagra, sulfamidas, antidiabéticos, diuréticos).

Entre ellas, podemos encontrar alguno de los fármacos empleados en el tratamiento de la hipertensión pulmonar como el sildenafilo o el fasudil. Sin embargo, existen escasos ejemplos de profármacos del agrupamiento sulfonamida y hasta el momento no se ha descrito el empleo de sulfinamidas con esta finalidad. La ventaja potencial de este tipo de profármacos es su mayor hidrofilia, lo que podría mejorar las propiedades farmacocinéticas. Además, cabe esperar que su bioactivación a las correspondientes sulfonamidas en las condiciones oxidativas del pulmón sea sencilla.

Es por eso que este trabajo se ha centrado en la posible existencia del agrupamiento sulfinamida como profármaco de sulfonamidas presentes en multitud de fármacos.

2. Introducción y antecedentes

Las sulfonamidas son un grupo químico muy común en muchos fármacos y que está formado por un átomo de azufre en su mayor estado de oxidación, unido a dos átomos de oxígeno y a un grupo amino.



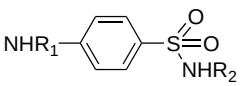
Sulfamidas

Las sulfonamidas son un buen ejemplo de agentes antibacterianos que actúan como antimetabolitos. La historia de las sulfonamidas comenzó en 1935 cuando fue descubierto que un colorante rojo llamado *prontosil rubrum* tenía propiedades antibacterianas *in vivo*. Sin embargo, no se observó dicho efecto *in vitro*. En otras palabras, el *prontosil* no podía matar bacterias que creciesen en un tubo de ensayo o medio de cultivo. Este hecho fue un misterio hasta que fue descubierto que el *prontosil* era metabolizado por las bacterias presentes en el intestino delgado de animales de experimentación para dar un producto llamado ***sulfanilamida***. Fue este compuesto el agente antibacteriano.

Por lo tanto, el *prontosil* fue uno de los primeros ejemplos de profármacos. La ***sulfanilamida*** fue sintetizada en el laboratorio y se convirtió en el primer agente antibacteriano sintético activo contra un amplio rango de infecciones. Investigaciones posteriores llevaron a una gran variedad de sulfonamidas que probaron ser efectivas contra bacterias Gram-positivas, especialmente *pneumococcos* y *meningococos*.

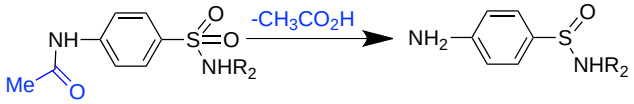
A pesar de sus indudables beneficios, las sulfonamidas han probado ser inefectivas contra bacterias como *Salmonella*, organismo responsable de las fiebres tifoideas. Otros problemas vienen dados por la manera en que son metabolizados ya que frecuentemente se obtienen productos tóxicos. Se metabolizan por acción del citocromo P450 a metabolitos oxidativos reactivos (hidroxilamina y nitrosamina), éstos son tóxicos y son capaces de alterar la función celular e iniciar una respuesta inmunológica secundaria en individuos genéticamente predispuestos (fenotipo enzimático acetilador lento). Esto llevó a que las sulfonamidas fuesen sustituidas por otros agentes antibacterianos como la penicilina.

Relación estructura-actividad



La síntesis de un gran número de análogos de sulfonamida llevó a las siguientes conclusiones:

- El grupo amino en la posición *para* es esencial para la actividad y no debe ser sustituido, siendo por tanto R_1=H. La única excepción es cuando R_1=acilo (amidas). Las amidas por sí mismas son inactivas pero pueden ser metabolizadas en el organismo para dar lugar al compuesto activo. Las amidas, por tanto, pueden ser usadas como profármacos de sulfonamidas.



- El anillo aromático y el grupo funcional sulfonamida son indispensables.
- El anillo aromático debe estar sustituido únicamente en posición *para*.
- El nitrógeno de la sulfonamida debe ser primario o secundario.
- R_2 es la única posición posible que puede variar en las sulfonamidas.

Análogos de sulfonamidas

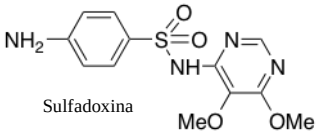
R_2 suele variar incorporando una gran variedad de heterociclos o estructuras aromáticas, que afectan a la medida en la que el fármaco se une a las proteínas plasmáticas. Esto a cambio controla los niveles sanguíneos y la vida media del fármaco. Por lo tanto, un fármaco que se une fuertemente a proteínas plasmáticas será liberado lentamente en el torrente sanguíneo y por lo tanto permanecerá mas tiempo en él. Modificando R_2 se puede variar también la solubilidad de las sulfonamidas.

Es por ello que variaciones en R_2 afectan más a su farmacocinética que a su mecanismo de acción.

Aplicaciones de sulfonamidas

Antes de la aparición de la penicilina, las sulfonamidas eran los fármacos de elección en el tratamiento de elección de enfermedades infecciosas. Más adelante, las

penicilinas sustituyeron ampliamente a las sulfonamidas y durante un largo tiempo estuvieron relegadas a un segundo plano. Ha habido sin embargo, un interesante resurgir con el descubrimiento de nuevas generaciones de sulfonamidas aún mas duraderas. Un ejemplo es la sulfadoxina, que es tan estable en el organismo que solo necesita ser administrada una vez a la semana.



Sulfadoxina

Actualmente, las sulfonamidas tienen las siguientes aplicaciones en medicina:

- Tratamiento de infecciones del tracto urinario
- Colutorios
- Tratamiento de infecciones de las mucosas
- Tratamiento de infecciones intestinales

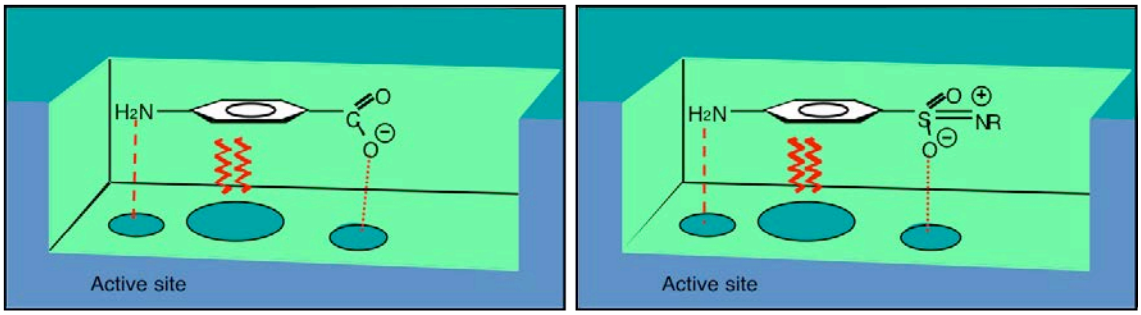
Mecanismo de acción

Las sulfonamidas actúan como inhibidores competitivos de la dihidropteroato sintasa y bloquean la biosíntesis del tetrahidrofolato en las células bacterianas. El tetrahidrofolato es importante tanto para células humanas como bacterianas, ya que es un cofactor enzimático que aporta un carbono para la síntesis las pirimidinas requeridas en la síntesis de ADN. Si la síntesis de pirimidinas y ADN son bloqueadas, la célula no puede crecer ni dividirse.

Pero hay que especificar que las sulfonamidas no matan activamente a las células bacterianas, sino que impiden que las células continúen creciendo y multiplicándose. Esto da a las defensas de nuestro cuerpo tiempo suficiente para reunir sus recursos y eliminar al microorganismo. Los agentes antibacterianos que inhiben el crecimiento celular se denominan bacteriostáticos, mientras que los que matan directamente a las bacterias, como la penicilina, se denominan bactericidas.

Debido a que las sulfonamidas dependen de un sistema inmune en buenas condiciones que termine el trabajo que ellas han empezado, no están recomendadas para pacientes con un sistema inmune debilitado. Esto incluye a personas con SIDA, y pacientes que están siendo tratados con quimioterapia o han sido trasplantados y están tomando fármacos inmunosupresores.

Las sulfonamidas ejercen su acción inhibitoria imitando al ácido *para*-aminobenzóico (PABA), uno de los sustratos utilizados de forma normal por la dihidropteroato sintasa. La molécula de sulfonamida es tan similar estructuralmente al PABA que la enzima la acepta por error en su centro activo. Una vez unida, la sulfonamida evita que el PABA se una a dicho centro activo. El resultado es que el dihidropteorato no es sintetizado.



¿Y por qué la enzima no une la sulfonamida al otro componente necesario para crear el dihidropteorato, creando un dihidropteorato pero con la estructura sulfonamida? En realidad, esto puede ocurrir pero no beneficia a la célula ya que este análogo no es aceptado por la siguiente enzima de la ruta biosintética.

Las sulfonamidas son inhibidores enzimáticos competitivos, por lo que su inhibición es reversible. Esto es demostrado por ciertos microorganismos como *staphilococcus*, *pneumococcus* y *gonococcus* los cuales pueden adquirir resistencia sintetizando más PABA. Cuanto más PABA haya en la célula, mas eficazmente puede competir con la sulfonamida para alcanzar el centro activo de la enzima. En estos casos, las dosis de sulfonamida deben ser incrementadas para lograr de nuevo ese nivel de inhibición. La resistencia a las sulfonamidas puede verse también incrementada por mutaciones que pueden modificar a la enzima haciéndola menos afín a las sulfonamidas o disminuyendo la permeabilidad de la célula a las sulfonamidas.

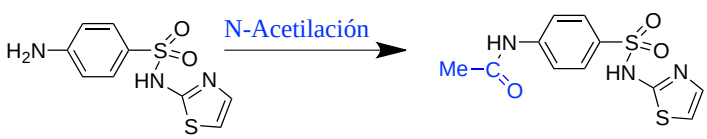
El tetrahidrofolato es claramente necesario para la supervivencia de las células bacterianas, pero también es vital para la supervivencia de las células humanas, así que ¿por qué las sulfonamidas no son tóxicas para los humanos? La respuesta reside en el hecho de que las células humanas sintetizan tetrahidrofolato de una manera diferente en la que no esta incluida la dihidropteorato sintasa. En las células humanas, el tetrahidrofolato es sintetizado a partir del ácido fólico que se obtiene a partir de la dieta. Dicho ácido fólico es incluido en las células a través de proteínas transportadoras. Y aquí surge otra pregunta: si las células humanas pueden adquirir el ácido fólico de la dieta, ¿por qué las bacterias que infectan a los humanos no pueden hacer lo mismo y luego transformarlo en tetrahidrofolato? El hecho es que las bacterias son incapaces de adquirir el ácido fólico ya que no tienen las proteínas de transporte necesarias para incluirlo en sus células.

En resumen, el éxito de las sulfonamidas se debe a dos diferencias metabólicas entre las células de mamíferos y las células bacterianas:

- Las bacterias tienen una enzima susceptible que no está presente en las células de mamíferos.
- Las bacterias carecen de proteínas de transporte que les permitirían adquirir el ácido fólico del exterior de la célula.

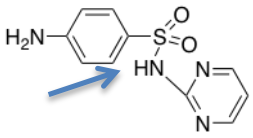
Análogos de sulfamidas con toxicidad reducida

El grupo amino primario de las sulfamidas es acetilado en el cuerpo y las amidas resultantes tienen solubilidad reducida lo cual puede llevar a efectos tóxicos. Por ejemplo, el metabolito formado a partir de sulfatiazol es poco soluble y puede resultar fatal si bloquea los túbulos renales.



Es interesante destacar que ciertas poblaciones son más susceptibles a este hecho que otras. Los japoneses y los chinos metabolizan el sulfatiazol más rápidamente que los americanos, y son por tanto más susceptibles a sus efectos tóxicos.

Fue descubierto que el problema de la solubilidad se podía superar sustituyendo el anillo de tiazol por un anillo de pirimidina para dar lugar a la sulfadiazina.

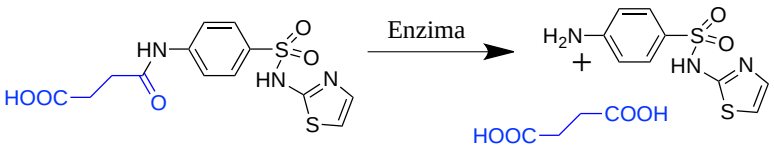


La razón por la que la mejora la solubilidad reside en la acidez del protón del grupo amino de la sulfonamida. En el sulfatiazol, este protón no es muy ácido (tiene un alto PK_a). Es por eso que el sulfatiazol y su metabolito están mayoritariamente no ioniozados a pH plasmático. Cambiando el anillo de tiazol por una pirimidina más aceptora de electrones, se incrementa la acidez del protón del grupo amino estabilizando el anión resultante. Por lo tanto, la sulfadiazina y su metabolito están significativamente ionizados a pH plasmático siendo entonces más solubles y menos tóxicos.

Se ha descubierto también que la sulfadiazina era más efectiva que el sulfatiazol y pronto fue sustituido por ella. La crema de sulfadiazina de plata es usada todavía de forma tópica para prevenir infecciones en quemaduras, aunque en este caso se cree que principalmente son realmente los iones de la plata los que dan lugar al efecto antibacteriano.

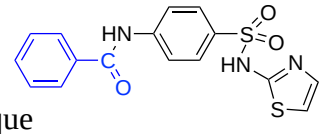
Tratamiento de infecciones intestinales

Las sulfonamidas han sido particularmente útiles contra infecciones intestinales y pueden ser dirigidas a su lugar de acción mediante el uso de profármacos. Por ejemplo, el succinil sulfatiazol es un profármaco del sulfatiazol. El radical succinilo contiene un grupo ácido, lo que significa que el profármaco es ionizado en las condiciones ligeramente alcalinas del intestino. Como resultado de esto, no es absorbido hacia el torrente sanguíneo y queda retenido en el intestino. Una hidrólisis enzimática lenta del grupo succinilo libera luego el sulfatiazol activo donde es necesitado.



Ácido succínico

Una sustitución por un grupo benzoilo en el nitrógeno de la anilina ha dado también buenos profármacos que son pobremente absorbidos a través de las paredes intestinales porque son muy hidrofóbicos. Por lo tanto, pueden ser usados de la misma manera.

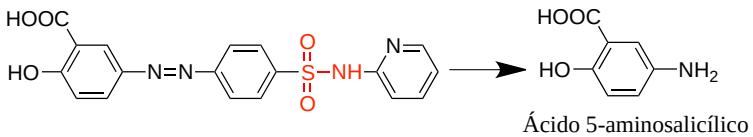


Otros fármacos con agrupamiento sulfonamida

Sulfasalazina

La flora anaerobia del colon produce azorreductasas, lo que permite utilizar azocompuestos como profármacos de bioactivación selectiva; estos profármacos deben ser hidrófilos para evitar su absorción en zonas anteriores del intestino.

Dos de estos profármacos son la sulfasalazina, diseñada inicialmente como un antibacteriano de acción intestinal porque libera la sulfamida correspondiente, y la olsalazina. Ambos liberan el ácido 5-aminosalicílico y se emplean para el tratamiento de alteraciones inflamatorias del colon como la colitis ulcerosa. Se han diseñado también profármacos soportados sobre polímeros, que garantizan mejor la ausencia de absorción intestinal.



Sulfasalazina

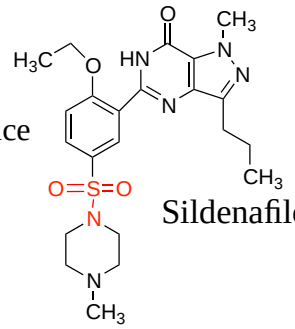
Ácido 5-aminosalicílico
(especie activa)

Sildenafilo

El adenosilmonofosfato cíclico (AMPc) y el guanosilmonofosfato cíclico (GMPc) son “segundos mensajeros” en la transmisión de la respuesta que producen los fármacos al actuar sobre sus receptores. En su formación y degradación participan

enzimas como la adenilciclasa y la guanilciclasa (que los producen) y las fosfodiesterasas (que catalizan la hidrólisis de la función diéster fosfato para dar 5'-AMP y 5'-GMP), respectivamente.

En los últimos años, ha alcanzado gran popularidad un análogo de la xantina inhibidor de la FDE V, específica de los cuerpos cavernosos, el sildenafilo, comercializado por Pfizer con el nombre de Viagra®. Esta isoenzima hidroliza selectivamente el GMPc. Su inhibición produce la liberación de óxido nítrico que activa a su vez a la guanilciclasa. Ambos procesos elevan los niveles de GMPc, lo que produce la relajación del músculo liso y aumento del flujo sanguíneo del pene, restaurando la función eréctil.



Sildenafilo

Inhibidores de la anhidrasa carbónica

Tras la utilización clínica de las primeras sulfonamidas bacterianas, se observaron en algunas de ellas efectos diuréticos. Más adelante, se descubrió que dichos efectos se debían a la inhibición de la anhidrasa carbónica. Ésta es una metaloenzima en la que el catión Zn^{2+} actúa sobre el agua como ácido de Lewis, liberando un protón que se adiciona al CO_2.

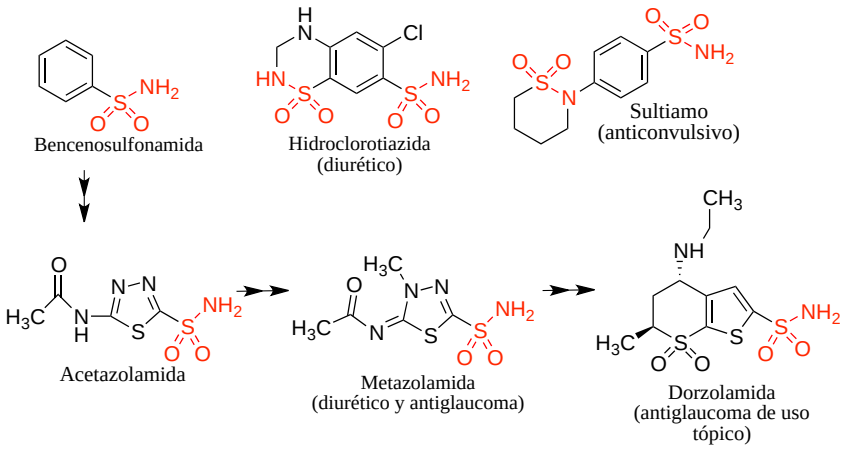
Las sulfonamidas activas, que tienen que tener el nitrógeno amídico sin sustituir, llegan al sitio activo de la enzima, quelan el cinc y desplazan el agua como ligando.

Las que se utilizan como diuréticos, como la hidroclorotiazida, acetazolamida y metazolamida, suelen acompañarse con otros diuréticos que actúan sobre otras dianas como los inhibidores de canales de sodio o cloruro (Ej: amilorida).

Otros fármacos, tienen también como mecanismo de acción la inhibición de la anhidrasa carbónica pero tienen otras actividades terapéuticas: el sultiamo se utiliza como anticonvulsivo por un proceso no muy bien conocido, mientras que la metazolamida se ha utilizado también desde hace años por vía sistémica para aliviar los síntomas de glaucoma.

La enzima anhidrasa carbónica se encuentra en la membrana de las células que separan el humor acuoso de la sangre, y allí el bicarbonato se vierte al humor vítreo con el subsiguiente paso de agua, lo que aumenta la presión sobre el iris y el nervio óptico.

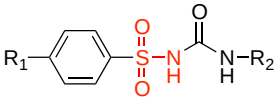
Estudios para potenciar la lipofilia y el modelado molecular, han permitido la comercialización en los últimos años del primer inhibidor de anhidrasa carbónica útil en el glaucoma de uso tópico, la dorzolamida.

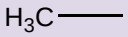
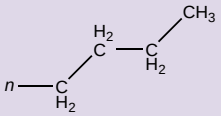
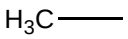
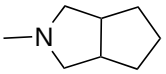
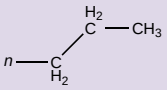
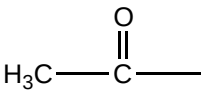
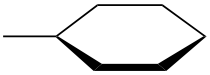
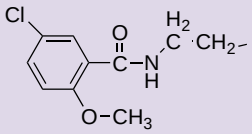
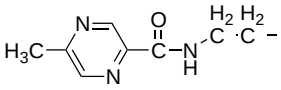
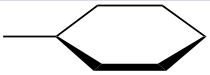


Antidiabéticos orales

La insulina es una hormona que controla muchas de las transformaciones de la gluconeogénesis y su déficit es la causa de la diabetes, caracterizada por altos niveles de glucosa en sangre. Aunque el tratamiento de reemplazo, mediante la administración de insulina, es lo habitual, muchos pacientes que son capaces de producirla son tratados por vía oral con sulfonilureas hipoglucemiantes, como la tolbutamida, la clorpropamida, la glipizida y la glibenclamida o gliburida, que surgieron históricamente de la observación de efectos hipoglucémicos en pacientes con fiebres tifoideas tratados con sulfamidas.

Estos fármacos, tras interactuar con su receptor, que es un componente o está asociado a los canales de K^+ dependientes de ATP, producen su bloqueo. Al producirse una retención intracelular de K^+, se produce la despolarización. Este cambio de potencial de membrana activa los canales de Ca^{2+} dependientes de voltaje, y el aumento de Ca^{2+} intracelular estimula la liberación de insulina en las células β del páncreas. En consecuencia, se bloquean dichos canales y se produce el mismo efecto que cuando aumenta el ATP intracelular en estas células.



Nombre	R_1	R_2
Tolbutamida		
Glicazida		
Clorpropamida		
Acetohexamida		
Glibenclamida (gliburida)		
Glipizida		

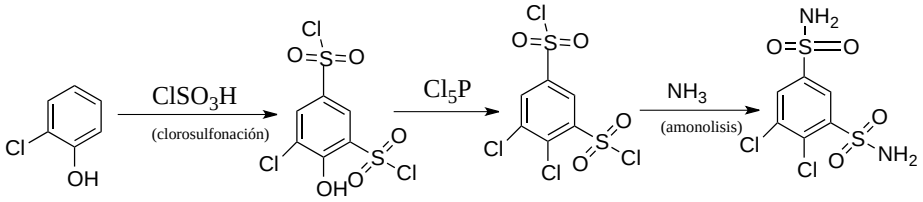
3. Objetivos

- En vista de la amplia presencia del agrupamiento sulfonamida en fármacos con múltiples actividades terapéuticas, me he planteado la pregunta de si podrían prepararse profármacos directamente sobre el agrupamiento sulfonamida, ya que en muchos fármacos es el único grupo funcional que está presente.
- Para ello he decidido estudiar como se lleva a cabo la síntesis general de sulfonamidas y su aplicación a los fármacos de los que he hablado en la introducción y me he planteado si sería viable la preparación de profármacos con estructura de sulfinamida. Se estudiará, por tanto también, la síntesis de compuestos con este agrupamiento.

4. Metodología

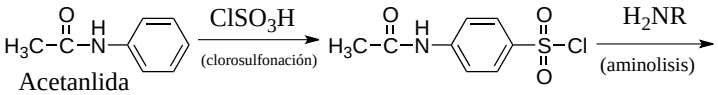
a) Síntesis de sulfonamidas

Las sulfonamidas suelen prepararse por clorosulfonación de anillos bencénicos con ácido clorosulfónico, seguida de amonolisis. Así el diurético diclorfenamida se prepara a partir de *o*-clorofenol. Éste se somete a clorosulfonación, halogenación y posterior amonolisis.

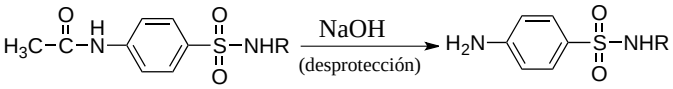


Diclorfenamida

La estrategia general para la preparación de sulfonamidas antibacterianas derivadas del ácido 4-amino-bencenosulfónico es semejante (a partir del cloruro del ácido 4-acetamidobencenosulfónico, que se obtiene por reacción del ácido clorosulfónico y acetanilida).

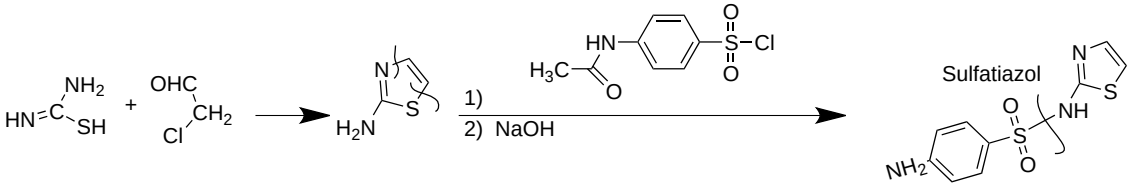


Acetanlida

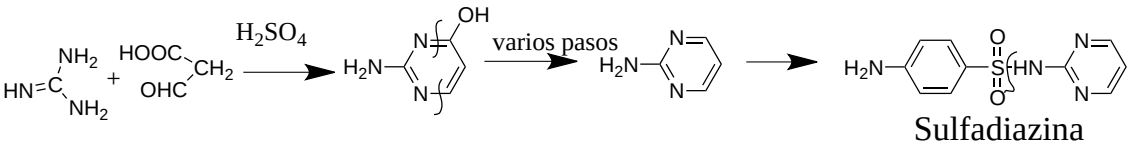


Sulfonamida

Desde el punto de vista sintético, el problema suele residir en la preparación de la amina, generalmente heterocíclica, que se utiliza en la aminolisis. Así en la síntesis de sulfatiazol, la amina se obtiene por reacción de tiourea y cloroacetaldehído.



La síntesis de sulfadiazina por reacción de guanidina y ácido 3-oxopropanoico o dietilacetal de 3-metoxiacroleína.



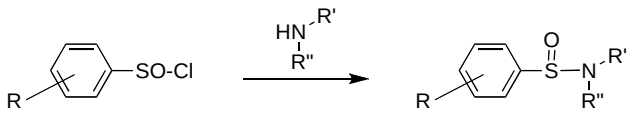
Sulfadiazina

b) Síntesis de sulfinamidas

En todos los fármacos expuestos en la introducción, las modificaciones realizadas sobre ellos para la preparación de profármacos se llevaban a cabo sobre otros grupos funcionales presentes en la estructura diferentes al grupo sulfonamida, debido a que existía dicha posibilidad. Pero, ¿y si nos topamos con un fármaco cuyo único grupo funcional sea una sulfonamida?

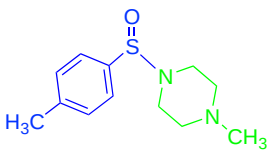
La sulfonamida presenta un nivel de oxidación máximo, por lo que se puede plantear la preparación de estructuras más reducidas como una sulfinamida que se active por oxidación selectiva en zonas con altas presiones de oxígeno.

Es por eso que de forma experimental se ha propuesto estudiar la viabilidad de la síntesis de sulfinamidas. Estos compuestos se pueden preparar de manera análoga a las sulfonamidas por tratamiento del cloruro de sulfinilo y una amina[1].

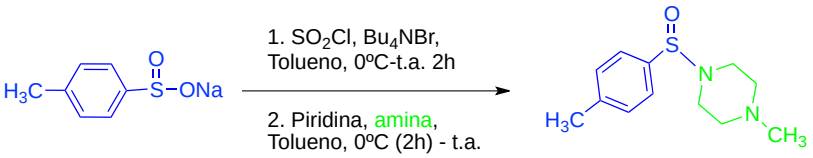


c) Parte experimental

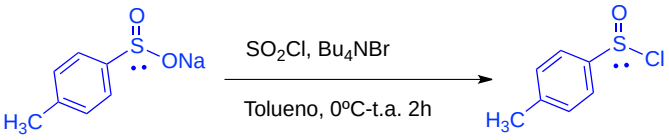
He elegido la siguiente sulfinamida como modelo para su preparación en el laboratorio:



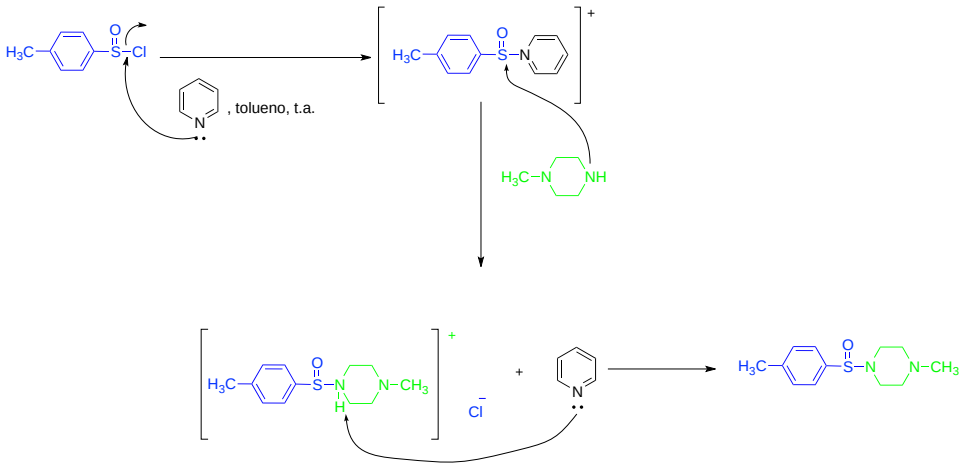
Su esquema general de síntesis es el siguiente:



La preparación de arilsulfinamidas se realiza en dos pasos. En primer lugar se hace reaccionar el sulfinato de sodio comercial con cloruro de tionilo con el fin de obtener el cloruro del ácido arilsulfínico correspondiente.

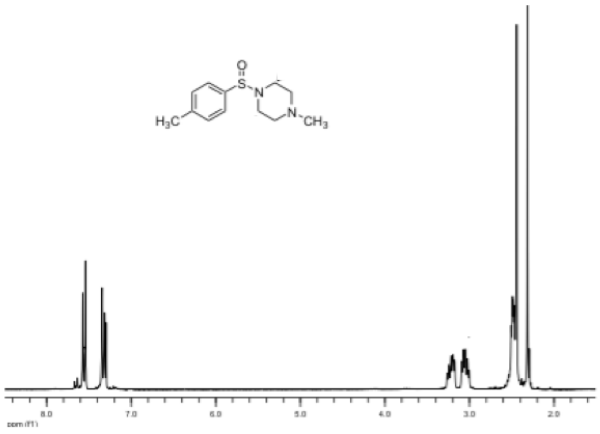


En una segunda etapa se produce el acoplamiento con la piperazina:

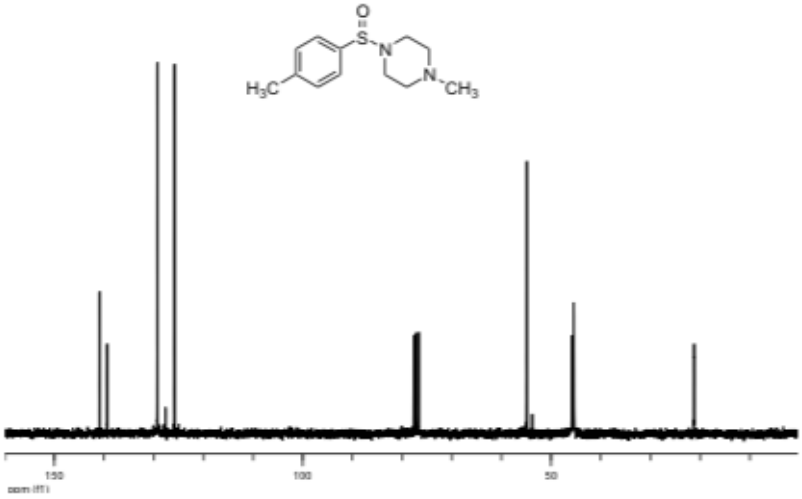


5. Resultados y discusión

A continuación se muestran los espectros de 1H-RMN y 13C-RMN del compuesto propuesto:



Espectro ^{1}H-RMN del compuesto *p*-toluensulfinil-*N*-metilpiperazina en $CDCl_3$ (300MHz, 298K)

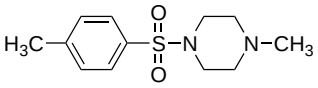


Espectro ^{13}C-RMN del compuesto *p*-toluensulfinil-*N*-metilpiperazina en $CDCl_3$ (300MHz, 298K)

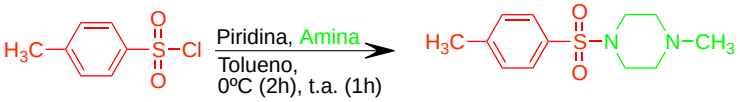
Al llegar a este punto, me preocupó si el compuesto que había preparado no se me hubiese oxidado durante los procesos sintéticos de manipulación. Por este

motivo, decidí preparar su análogo con estructura de sulfonamida para poder comparar sus datos espectroscópicos y confirmar que tenía el compuesto reducido.

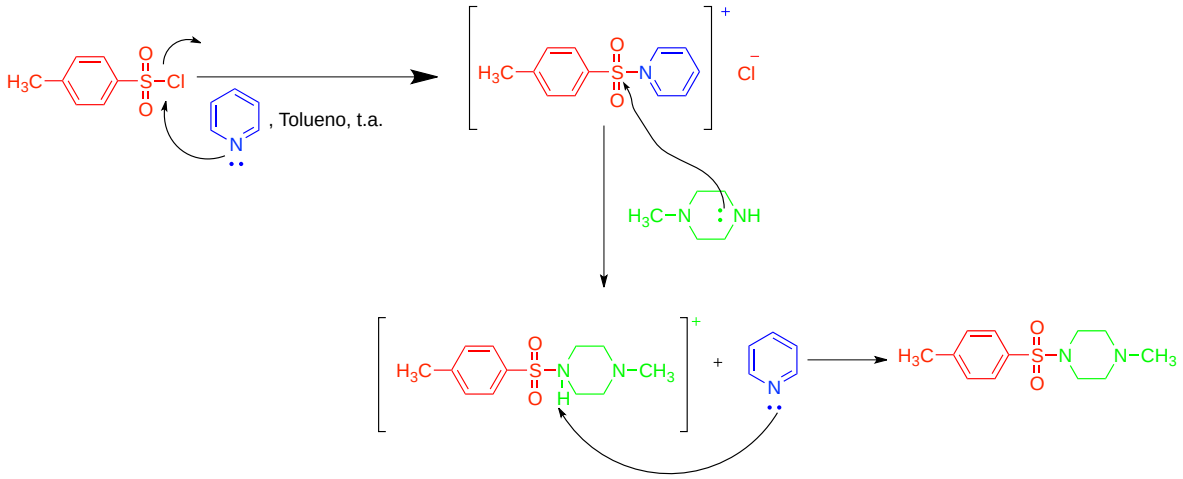
Preparé experimentalmente la arilsulfonamida de la piperazina:



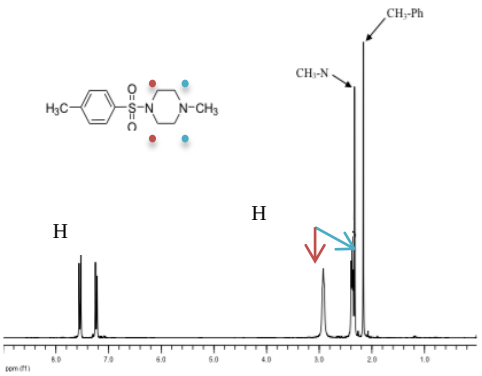
Su esquema de reacción sería análogo al planteado para la sulfinamida:



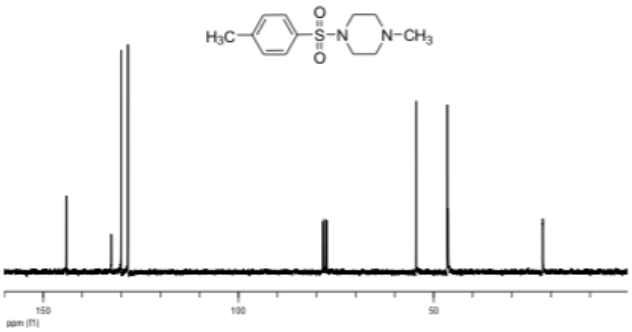
Así como la segunda etapa del proceso:



A continuación se muestran los espectros de 1H-RMN y 13C-RMN del análogo oxidado:

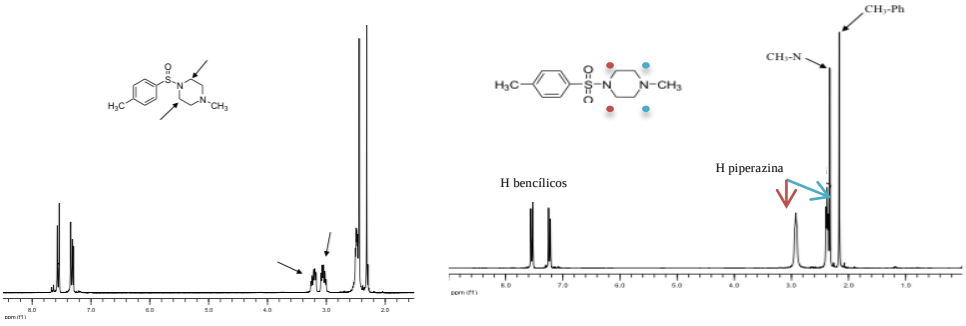


Espectro ^{1}H-RMN del compuesto *p*-toluensulfonil-*N*-metilpiperazina en $CDCl_3$ (300MHz, 298K)



Espectro ^{13}C-RMN del compuesto *p*-toluensulfonil-*N*-metilpiperazina en $CDCl_3$ (300MHz, 298K)

Al comparar los espectros de ^{1}H-RMN de ambos compuestos se puede observar que la sulfinamida contiene protones diastereotópicos indicados por las flechas debido a la presencia del grupo sulfinamida que confiere entornos diferentes a los protones que se sitúan en posiciones axiales y ecuatoriales en la piperazina. Estos protones son totalmente equivalentes en el compuesto oxidado ya que el agrupamiento sulfona presenta dos oxígenos. Al encontrarse uno a cada lado del plano del anillo de la piperazina hace que durante el equilibrio conformacional, los protones de la posición 2 sean equivalenes entre sí.



6. Conclusiones

A lo largo de este trabajo se ha puesto de manifiesto la presencia del grupo sulfonamida en multitud de fármacos que tienen una gran variedad de acciones farmacológicas. Históricamente las sulfamidas bacterianas fueron las primeras en tener este agrupamiento y es por eso por lo que han ocupado un lugar principal en el trabajo. Es reseñable el hecho que de todos los profármacos nombrados tienen la modificación en sitios diferentes al agrupamiento sulfonamida, y es aquí donde surgió la pregunta de

si podría modificarse el agrupamiento sulfonamida para hacer un profármaco en caso de que el fármaco original no tuviese otro sitio en el que hacer la modificación. De este modo se propusieron las reacciones experimentales realizadas con el único objetivo de confirmar la viabilidad de preparar profármacos de estas estructuras.

He observado que la síntesis de sulfinamidas es comparable en rendimientos y laboriosidad a la de sulfonamidas y que la estabilidad del compuesto reducido permite su manipulación y almacenamiento. Estas dos características me llevan a pensar que sí sería posible plantear la preparación de profármacos de sulfonamidas a partir de sulfinamidas.

Estaría pendiente el estudio de su activación por oxidación en el organismo, que ya sería una investigación fuera del campo de mi Trabajo de Fin de Grado.

7. Bibliografía

- [1] D. Crich, A. Banerjee, W. Li y Q. Yao. *J. Carbohjdr. Chem.* **2005**, *24*, 415-424.
- Graham L. Patrick. *An introduction to Medical Chemistry*. Third edition. United States, New york: Oxford; **2005**.
- C. Avendaño. *Introducción a la Química Farmacéutica*. Segunda edición. Madrid: McGRAW-HILL, INTERAMERICANA; **2001**.