



UNIVERSIDAD DE SEVILLA

FACULTAD DE FARMACIA

TRABAJO FIN DE GRADO

GRADO EN FARMACIA

**UREAS DERIVADAS DE 2-AMINO-1,3-PROPANODIOL Y 1,3-DIAMINO-2-PROPANOL CON POTENCIAL ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA. SÍNTESIS Y CARACTERIZACIÓN ESTRUCTURAL**

Raquel Lorente Guarnido

Sevilla, 5 de septiembre de 2017

Departamento de Química Orgánica y Farmacéutica

Tutores: José Manuel Vega Pérez y Margarita Vega Holm

Tipología del proyecto: Experimental



## RESUMEN

---

*Acinetobacter baumannii* es un cocobacilo Gram negativo, no fermentador, aerobio estricto, catalasa positivo y oxidasa negativo. Es origen de infecciones nosocomiales en piel, torrente sanguíneo, tracto urinario y tracto respiratorio, sobre todo en la UCI. Provoca neumonía asociada a ventilación mecánica y acompañada de traqueobronquitis, así como meningitis secundaria a procedimientos neuroquirúrgicos. Es muy común que aparezca asociado a quemaduras y heridas en zonas de guerra. Su gran capacidad para desarrollar mecanismos de resistencia contra antimicrobianos hace que *Acinetobacter baumannii* sea un patógeno muy difícil de tratar. Por tanto, resulta indispensable la búsqueda de nuevas sustancias capaces de actuar frente cepas multirresistentes de este microorganismo para combatir la infección.

Este proyecto se centra en el diseño, síntesis de nuevos compuestos derivados del 2-amino-1,3-propanodiol y del 1,3-diamino-2-propanol, y su caracterización estructural, buscando obtener análogos a unos prototipos (compuesto **11** y **12**) con actividad, detectado en un proyecto anterior.

Se realizaron modificaciones en el esqueleto del prototipo mediante la modificación del esqueleto carbonado de 3-amino-1,2-propanodiol, obteniendo dos compuestos intermedios (**15** y **19**). El compuesto **15** se utilizó como precursor para obtener derivados (**16**, **17** y **18**) con estructuras susceptibles de poseer actividad biológica frente *Acinetobacter baumannii*.

Finalmente, estos compuestos se han caracterizado con el estudio de sus espectros de Masas y de Resonancia Magnética Nuclear, confirmando así la estructura propuesta.

**Palabras clave:** antimicrobianos, tratamiento, *Acinetobacter baumannii*, multirresistente, ureas

## **GLOSARIO DE ABREVIATURAS**

---

**ABC:** *Acinetobacter baumannii-calcoaceticus*.

**AMP:** Péptidos antimicrobianos.

**CI:** Ionización química.

**CMB:** Concentración mínima bactericida.

**CMI:** Concentración mínima inhibidora.

**EPOC:** Enfermedad Pulmonar Obstructiva Crónica.

**FAB:** Bombardeo de átomos rápidos.

**HRMS:** Espectrometría de masas de alta resolución.

**HSQC:** Espectros bidimensionales heteronucleares.

**LPS:** Lipopolisacaridasas.

**MALDI-TOF:** Desorción/ionización láser asistida por matriz acoplado a un detector de iones.

**MLST:** Tipificación multilocus de secuencias.

**MS:** Espectrometría de masas.

**NMR:** Espectroscopía de resonancia magnética nuclear.

**Rep-PCR:** Amplificación por PCR de elementos palindrómicos extragénicos repetitivos.

**PFGE:** Electroforesis en gel de campo pulsado.

**TLC:** Cromatografía en capa fina.

**TMS:** Tetrametilsilano.

## ÍNDICE

---

<b>1. Introducción</b>	6
<b>1.1. Historia y características generales de <i>Acinetobacter baumannii</i></b>	6
<b>1.2. Factores de virulencia, mecanismos de resistencia y tratamiento</b>	9
<b>2. Antecedentes</b>	14
<b>3. Objetivos</b>	20
<b>4. Metodología</b>	21
<b>4.1. Métodos generales</b>	21
<b>4.2. Síntesis de los precursores <b>15</b> y <b>19</b></b>	21
<b>4.2.1. Procedimiento para la obtención de la urea derivada de 2-amino-1,3-propanodiol (serinol)</b>	21
<b>4.2.2. Procedimiento para la obtención de la urea derivada de 1,3-diamino-2-propanol</b>	22
<b>4.3. Reacción de diacilación de la urea derivada de 2-amino-1,3-propanodiol</b>	22
<b>5. Resultados y discusión</b>	26
<b>5.1. Diseño de los análogos</b>	27
<b>5.1.1. Derivados del 3-amino-1,2-propanodiol</b>	28
<b>5.1.2. Derivados del 1,3-diamino-2-propanol</b>	29
<b>6. Conclusiones</b>	34
<b>7. Referencias</b>	35
<b>8. Anexos</b>	38

## 1. INTRODUCCIÓN

### 1.1. Historia y características generales de *Acinetobacter baumannii*

En 1911, el microbiólogo y botánico holandés Martinus Willem Beijerinck identificó un patógeno de una muestra del suelo, tras ser enriquecido en un medio de calcio-acetato, y lo denominó *Micrococcus calcoaceticus*. A lo largo de los años se fueron descubriendo nuevos microorganismos con características similares.

Fue en 1954 cuando Brisou y Prévot nombraron este conjunto de microorganismos dentro del género *Acinetobacter* (Global Biodiversity Information Facility, consultado en junio 2017). Los miembros del género *Acinetobacter* han sufrido una gran cantidad de cambios taxonómicos a lo largo de la historia, lo cual ha impedido su estudio adecuado. En 1971, se decidió que el género *Acinetobacter* debía componerse de una sola especie llamada *calcoaceticus*.

Posteriormente, la diferenciación de las distintas especies de *Acinetobacter* se ha realizado a través de métodos fenotípicos. En la actualidad se aceptan 33 genespecies que han sido definidas por hibridación ADN-ADN (Vanegas et al., 2014).

El género *Acinetobacter* comprende un conjunto de microorganismos cuyas características comunes son: cocabacilos Gram negativos, no fermentadores, aerobios estrictos, catalasa positivos y oxidasa negativos. Este género se enmarca en la clase Gammaproteobacteria, orden Pseudomonales, familia Moraxellaceae.



Figura 1. Microscopía electrónica de barrido de *A. baumannii*. Disponible en:  
<http://phil.cdc.gov/phil/home.asp>

El género *Acinetobacter* tiende a crecer bien en medios sólidos rutinarios, tales como agar de sangre de oveja a 37 °C. Las colonias son de 1 a 2 mm, abovedadas, mucoides y no pigmentadas (Alsan y Klompas, 2010).

El complejo *Acinetobacter baumannii-calcoaceticus* (ABC) reúne cuatro especies altamente similares que no pueden ser diferenciadas por pruebas fenotípicas: *A. baumannii*, *A. pittii*, *A. nosocomialis* y *A. calcoaceticus*. El diagnóstico de este patógeno se realiza mediante cultivo, pero sólo a nivel de género. Para la identificación de las especies es necesario utilizar técnicas genómicas. Se han desarrollado varios métodos, entre los cuales podemos destacar:

- Rep-PCR: técnica basada en la reacción en cadena de la polimerasa que utiliza cebadores que hibridan con secuencias de ADN repetidas. Es una técnica sencilla, rápida y de bajo coste, y los patrones de banda de los resultados son sencillos para *A. baumannii* (Fernández, 2004).
- Desorción/ionización láser asistida por matriz acoplado a un detector de iones (MALDI-TOF). Mediante espectrometría de masas permite obtener un espectro propio de un organismo determinado, y así identificarlo a nivel de especie (Legarraga et al, 2013).
- Electroforesis en gel de campo pulsado (PFGE).

Se han desarrollado muchos otros métodos con aplicación en la identificación de microorganismos: ribotipificación, análisis de restricción del ADN ribosomal, tipificación multilocus de secuencias (MLST), análisis de secuencias de genes específicos para *Acinetobacter baumannii*, etc. (Lee et al, 2017).

Dentro del género *Acinetobacter* podemos destacar *Acinetobacter baumannii*, un patógeno importante en clínica porque es origen de infecciones nosocomiales en piel, torrente sanguíneo, tracto urinario y tracto respiratorio, sobre todo en la UCI. Provoca neumonía asociada a ventilación mecánica y acompañada de traqueobronquitis, así como meningitis secundaria a procedimientos neuroquirúrgicos. En pacientes con sonda vesical puede provocar infección urinaria, así como infección de piel y partes blandas en heridas traumáticas (muy común en conflictos bélicos), quirúrgicas o en quemaduras. Puede provocar peritonitis en diálisis peritoneal e infección de catéter venoso.

Es muy frecuente que aparezcan brotes epidémicos en los meses cálidos (Mensa et al., 2016). Sin embargo, puede aparecer también como colonizador en la comunidad, sobre todo en climas tropicales (Vanegas et al., 2014).

Miembros de la familia del género *Acinetobacter* han emergido como patógenos oportunistas, sobre todo nosocomiales, debido a la rápida evolución de los mecanismos de resistencia antimicrobianos. Existen varios mecanismos implicados en la resistencia a distintos grupos de antimicrobianos, lo que convierte *A. baumannii* en una bacteria multirresistente (Hart et al., 2010).

Existen varios factores de riesgo para el desarrollo de una infección por *A. baumannii*:

- Período prolongado de estancia hospitalaria.
- Estancia en Unidad de Cuidados Intensivos (UCI).
- Recibo de ventilación mecánica.
- Exposición previa a agentes antimicrobianos, especialmente colistina y carbapenemos.
- Cirugía reciente.
- Procedimientos invasivos.
- Enfermedad grave de base: cáncer, enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), insuficiencia cardíaca e insuficiencia renal (Manchanda et al, 2010).

Es muy importante, por tanto, implantar medidas y procedimientos con el fin de evitar la infección, puesto que la profilaxis es el mejor tratamiento posible.

Tabla 1. Medidas profilácticas en el ámbito hospitalario frente *A. baumannii* (Manchanda et al, 2010)

<b>Medidas de control de infecciones</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Higiene correcta del personal y de los pacientes.</li> <li>• Limpieza del entorno y protocolos de desinfección en el área hospitalaria.</li> <li>• Vigilancia estrecha de los síntomas en pacientes en UCI.</li> <li>• Programa de administración antimicrobiana: Implementación y monitorización.</li> <li>• Programas de educación sobre políticas y procedimientos en el control de infecciones.</li> </ul>



## 1.2. Factores de virulencia, mecanismos de resistencia y tratamiento

Esta especie desarrolla un gran número de factores de virulencia que han sido identificados por análisis fenotípicos y genómicos, tales como: porinas, fosfolipasas, proteasas, lipopolisacaridasas (LPS), polisacáridos capsulares, sistema de adquisición de metales (Kröger et al., 2017) y sistemas de secreción de proteínas (Lee et al, 2017).

Tabla 2. Biología de *Acinetobacter baumannii*: factores de virulencia y patogénesis, resistencia antimicrobiana y opciones de tratamiento

<b>Biología de <i>Acinetobacter baumannii</i></b>		
<b>Factores de virulencia y patogénesis</b>	<b>Resistencia antimicrobiana</b>	<b>Opciones de tratamiento</b>
Porinas	$\beta$ -lactamasas	Carbapenemos + inhibidores de $\beta$ -lactamasas
Fosfolipasas	Bombas de expulsión	Minociclina/Tigeciclina
Proteasas	Defectos de permeabilidad	Polimixinas
Lipopolisacaridasas	Enzimas modificadores de aminoglucósidos	Otros antibióticos
Polisacáridos capsulares	Alteración del lugar objetivo del fármaco	Otras terapias
Sistema de adquisición de metales	Otros	
Sistemas de secreción de proteínas		

Este patógeno se ha englobado recientemente en un grupo de microorganismos denominado “ESKAPE”, los cuales están resurgiendo debido al uso indiscriminado de antibióticos y a la producción de cepas de resistencia: *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterococcus faecium* y *Staphylococcus aureus* (Huggins et al, 2016).

*Acinetobacter baumannii* se ha convertido en uno de los microorganismos más difíciles de tratar debido a su extraordinaria capacidad de adquisición de mecanismos de resistencia. Para poder diseñar compuestos que sean capaces de inhibir esta bacteria, es necesario conocer los mecanismos por los que se hace resistente a los fármacos actuales.

#### Mecanismos intrínsecos

- a. Presencia de cefalosporinasa tipo AmpC no inducible denominada ADC: es un mecanismo intrínseco de *A. baumannii*, y está relacionado con la resistencia frente  $\beta$ -lactámicos. Más del 50% de bacterias poseen una hiperproducción de ADC; al sobreexpresarse, provoca resistencia a cefalotina, piperacilina, cefotaxima, ceftazidima y aztreonam, sin afectar carbapenémicos ni cefepim.
- b. Presencia de la oxacilinasasa OXA-51, capaz de hidrolizar débilmente penicilinas y carbapenémicos (Vanegas et al, 2014).

#### Mecanismos extrínsecos

- a.  $\beta$ -Lactamasas: Mecanismo de resistencia enzimático. Las  $\beta$ -lactamasas son capaces de inactivar las  $\beta$ -lactamas. Se agrupan en 4 clases: A, B, C y D.
  - Clase A: hidrolizan penicilinas y cefalosporinas de forma mucho más efectiva que carbapenemos.
  - Clase B o metalo- $\beta$ -lactamasas, porque requieren zinc u otro metal pesado para la catálisis: hidrolizan todos los antibióticos  $\beta$ -lactámicos, a excepción de los monobactámicos.
  - Clase C: resistentes a cefamicinas, penicilinas, cefalosporinas y combinaciones de inhibidores de  $\beta$ -lactamas. Es inducida por una exposición prolongada a antimicrobianos.
  - Clase D: conocidas también como oxacilinasas (OXAs). Es uno de los mecanismos de mayor resistencia frente a carbapenemos. Existen varios tipos de OXAs en *A. baumannii*, siendo los subgrupos OXA-23, OXA-24, OXA-51 y OXA-58 los que presentan una mayor incidencia.
- b. Bombas de expulsión: existen varios tipos, según la cual la resistencia será frente un antibiótico u otro. Las más comunes provocan resistencia frente imipenem, aminoglicósidos y tigeciclina.
- c. Defectos de permeabilidad: las porinas forman canales que permiten el transporte de moléculas a través de la membrana externa. Una reducción en la

expresión de porinas se relaciona con resistencia a carbapenemos, imipenem y colistina.

- d. Enzimas modificadoras de aminoglicósidos: es el mecanismo más importante por el que *A. baumannii* adquiere resistencia frente a aminoglicósidos. Pueden ser acetiltransferasas, adeniltransferasas y fosfotransferasas.
- e. Alteración del lugar objetivo del fármaco: provoca resistencia frente imipenem, quinolonas, tetraciclina, trimetoprim, aminoglicósidos y colistina (Lee et al, 2017).

El tratamiento habitual consiste en imipenem (1), asociado a sulbactam (2) o amikacina (3). El tratamiento debe hacerse en base al antibiograma (Mensa et al, 2016).

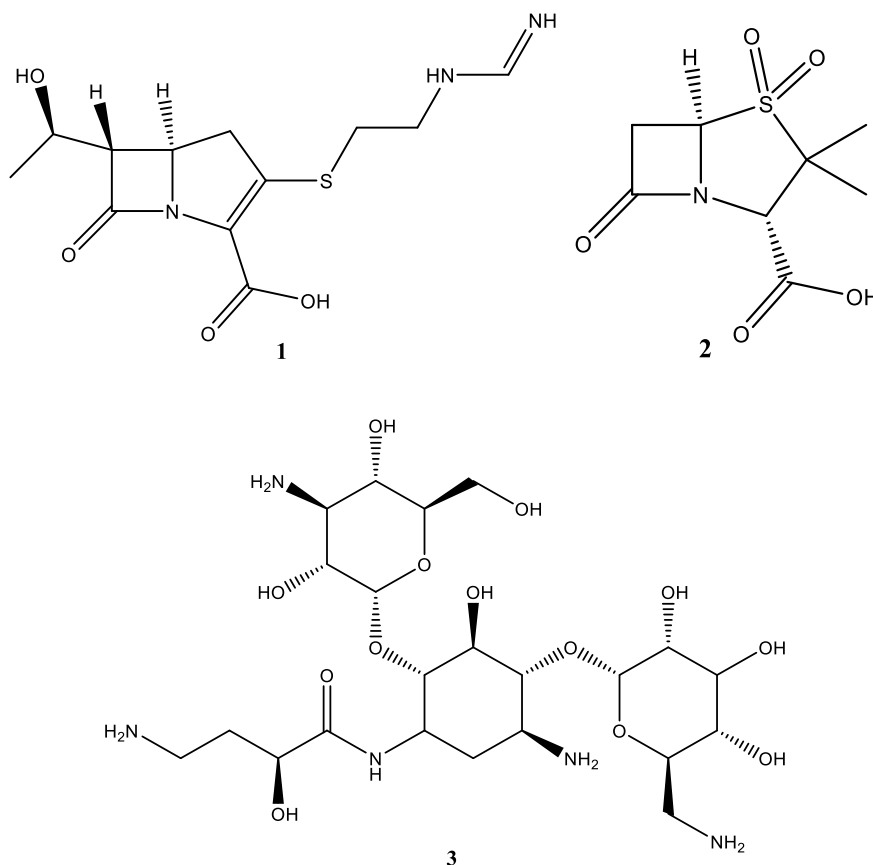
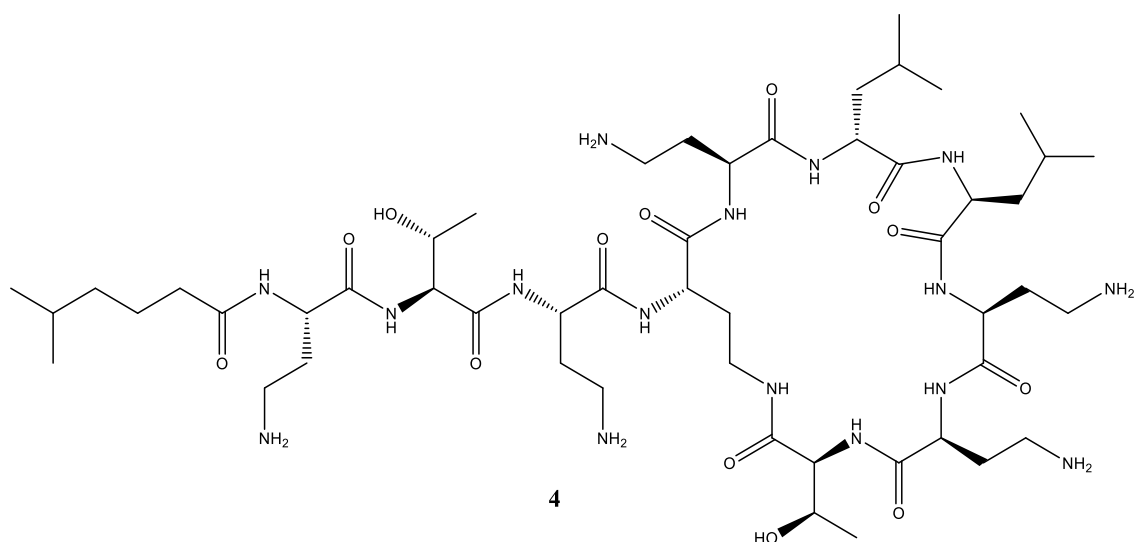


Figura 2. Estructura de imipenem (1), sulbactam (2) y amikacina (3)

En el caso de neumonía nosocomial, el tratamiento empírico consiste en imipenem (1) o meropenem, más colistina (4) o tigeciclina, junto con amikacina o tobramicina (Corbella y Trapiello, 2017).



**Figura 3.** Estructura de colistina (4)

Tabla 3. Susceptibilidad de *A. baumannii* presente en pacientes con quemaduras frente varios antibióticos mediante método de Kirby-Bauer o difusión en agar (Shoja et al, 2017)

Antibióticos	Resistente (%)	Intermedio (%)	Sensible (%)
Aztreonam	100	–	–
Ciprofloxacino	97.5	–	2.5
Meropenem	92.5	–	2.5
Ceftazidina	92.5	–	7.5
Cefepima	92.5	–	7.5
Piperacilina	92.5	–	7.5
Piperacilina/Tazobactam	92.5	–	7.5
Ceftriaxona	92.5	–	7.5
Rifampicina	92.5	–	7.5
Tobramicina	87.5	–	12.5
Gentamicina	85	2.5	12.5
Amikacina	80	7.5	12.5
Imipenem	67.5	–	32.5
Tetraciclina	57.5	12.5	30
Ampicilina sulbactam	17.5	10	72.5
Polimixina	0	–	100
Colistina	0	–	100

Frente *A. baumannii* multirresistente se ha usado la colistina (4), el último escalón terapéutico frente el patógeno, ya que, a pesar de ser sensible para el microorganismo, tiene muchos efectos secundarios importantes, incluyendo nefrotoxicidad (Huggins et al, 2016).

A veces se asocia la colistina a tigeciclina, con el objetivo de producir un efecto sinérgico, aunque los últimos estudios evidencian que no existe tal efecto cuando se usan de forma simultánea ambos fármacos (Kaya et al, 2017).

Sin embargo, en los últimos años se ha desarrollado resistencia a colistina, con mecanismos no bien conocidos. Existen estudios que evidencian que existe una pérdida en la producción de lipopolisacáridos por mutaciones en los genes *lpxA*, *lpxC* o *lpxD* (Moffat et al, 2010) y/o pérdida del sistema *PmrAB* de dos componentes (Cai et al, 2012), convirtiendo *A. baumannii* en una bacteria panresistente, es decir, una bacteria resistente a todos los antibióticos existentes en la actualidad.

La investigación farmacéutica en busca de fármacos que actúen contra microorganismos ha decrecido mucho en los últimos años: desde 1970 sólo se han comercializado dos grupos de antibióticos (oxazolidinonas y lipopéptidos), con actividad frente a Gram +. Esta circunstancia, sumada al aumento alarmante de la resistencia a antimicrobianos de los principales patógenos, tiene como consecuencia el ascenso en la morbimortalidad hospitalaria provocada por estos patógenos multirresistentes (Pérez, 2010) (Projan Shlaes, 2010).

Debido a que las opciones terapéuticas son limitadas para la infección por *A. baumannii* multirresistente, el desarrollo o descubrimiento de nuevas terapias, así como potenciar el conocimiento sobre las estrategias para prevenir estas infecciones, sobre todo en ámbitos hospitalarios, se convierte en un reto indispensable actualmente.

## 2. ANTECEDENTES

Una alternativa a los tratamientos clásicos es el uso de la terapia combinada. Algunos estudios están encaminados en la búsqueda de análogos con potencial efecto sinérgico con algunos antibióticos usados en la erradicación del patógeno.

Un ejemplo sería el uso de un derivado de la pleuromutilina junto con la doxiciclina (Figura 4). Ha demostrado un efecto sinérgico muy potente con unos datos de CMI y de CMB muy prometedores (1,56  $\mu\text{g/mL}$  y 3,13  $\mu\text{g/mL}$ , respectivamente) *en A. baumannii* multirresistente, así como una  $\text{ED}_{50}$  menor de 2,0 mg/kg con la administración de una única dosis en un modelo de ratón (Siricilla et al, 2017).

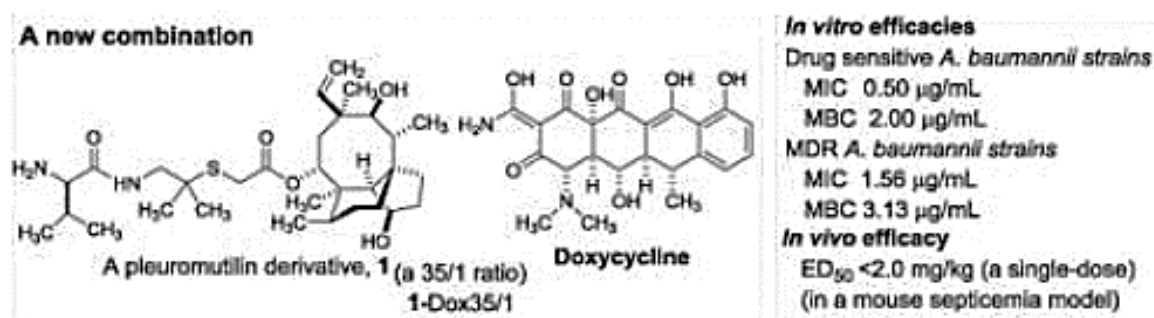


Figura 4. Derivado de pleuromutilina junto con doxiciclina

Las polimixinas son fármacos nefrotóxicos, lo cual exige un gran control y vigilancia durante su uso. Por ello, muchos estudios se han enfocado en modificar sus estructuras para disminuir esa toxicidad y, además, conseguir derivados con una mayor actividad antimicrobiana.

Uno de estos estudios se enfocó en eliminar dos residuos de aminoácidos hidrofílicos, consiguiendo un derivado más hidrofóbico que obtuvo una CMI de 2  $\mu\text{g/mL}$  para *A. baumannii* ATCC 19606. Es necesario evaluar su toxicidad, pero es un potencial candidato para seguir desarrollando antibióticos (Vaara, 2013).

Existen unos péptidos antimicrobianos (AMP) que se encuentran de manera natural en muchos organismos: insectos, bacterias, animales y plantas. Tienen una alta actividad antimicrobiana y bajo riesgo de producir resistencias, así que son grandes potenciales en la búsqueda de nuevos antibióticos.

Uno de estos péptidos es lycosin-I, que se obtiene del veneno de la araña *Lycosa singoriensis*. Actúa alterando la permeabilización de la membrana bacteriana. Se evaluó la actividad *in vitro* de este péptido frente varias cepas multirresistentes de

*Acinetobacter baumannii*, y se obtuvo una CMI menor que en el caso de antibióticos clásicos (Wang et al, 2014).

Péptidos procedentes del plasma de *Alligator mississippiensis*, una especie de cocodrilo, han demostrado tener actividad antimicrobiana contra diversos microorganismos Gram negativos. En concreto, Apo5 y Apo6, dos fragmentos de la apolipoproteína C-1 han demostrado actividad frente *Acinetobacter baumannii* multirresistente. Estos péptidos actúan despolarizando la membrana bacteriana. Actualmente se están investigando variaciones sintéticas como potenciales candidatos para ser sometidos a ensayos *in vitro* y en fase preclínica (Barksdale et al, 2016).

Un péptido formado por 11 D-aminoácidos, denominado BP100 (**5**), ha mostrado actividad frente *A. baumannii* resistente a colistina. Este péptido y sus 18 derivados se sintetizaron mediante el método de síntesis de péptidos en fase sólida y se evaluaron *in vitro* frente varios microorganismos, así como también se evaluó la actividad hemolítica.

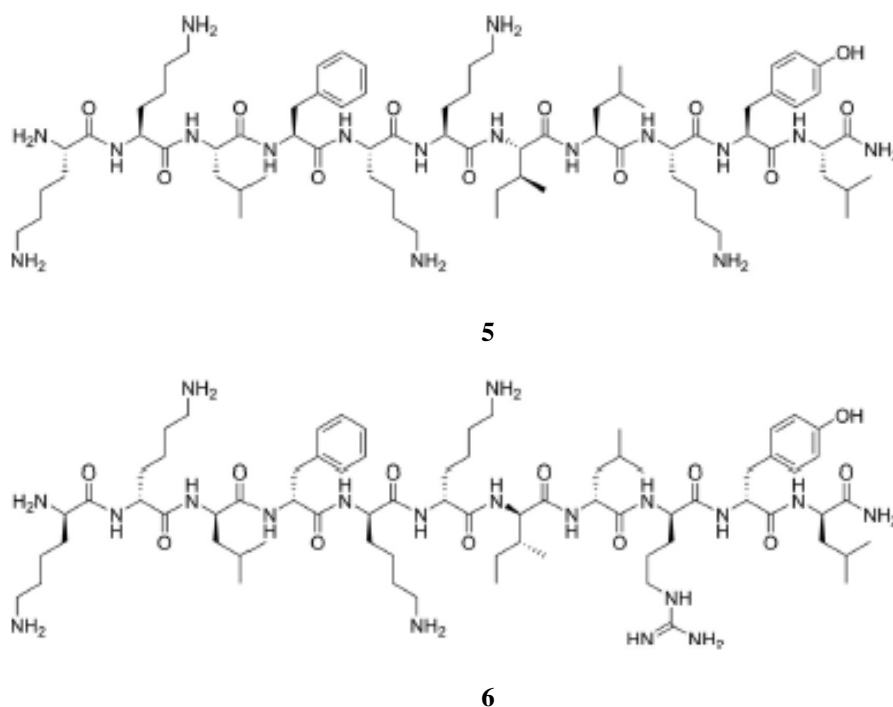


Figura 5. Estructura de péptido BP100 (**5**) y su análogo BP214 (**6**)

De todos ellos, la estructura **6** fue la que obtuvo mejores datos de CMI (4  $\mu\text{g/mL}$  frente *A. baumannii* ATCC BAA-1605) y de actividad hemolítica.

Este péptido ofrece ventajas estructurales en comparación con la colistina. Al ser lineal, este péptido ofrece una mayor flexibilidad para unirse a los lipopolisacáridos, ya que puede modificar su conformación. Esto resulta en una mayor actividad antimicrobiana.

Debido a su pequeño tamaño, a la simpleza de su síntesis, y a la estabilidad proteolítica teórica que posee (el péptido está formado por únicamente D-aminoácidos) es potencialmente adecuado para la administración vía oral y, por tanto, es un buen candidato para el potencial desarrollo e investigación de nuevos antibióticos (Oddo et al, 2016).

Se han estudiado derivados de 1,2,3-tiazolidin-3-tionas (de estructura general **7**, Figura 6) como potenciales antibióticos de estrecho espectro frente *A. baumannii*.

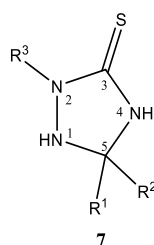


Figura 6. Estructura general de 1,2,3-tiazolidin-3-tionas

Se obtuvo una batería de 30 compuestos análogos a la estructura **7**. Para el desarrollo de los mismos, se efectuaron modificaciones en N-1, N-2 y C-5, así como alquilaciones en el átomo de azufre en el C-3. En todos estos compuestos se midió su CMI y, de todos ellos, los compuestos **8**, **9** y **10** fueron los que obtuvieron la CMI más bajas para todas las cepas de *A. baumannii* multirresistente estudiadas.

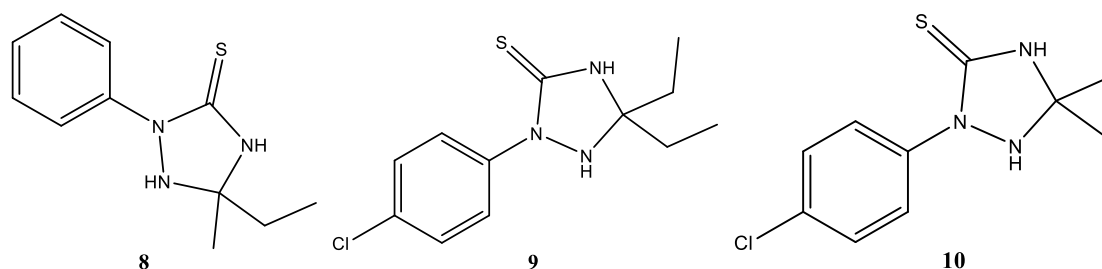


Figura 7. Estructura de análogos de **7**



Tabla 4. CMI ( $\mu\text{g/mL}$ ) para los compuestos 8, 9 y 10 frente cepas de *A. baumannii* multirresistente

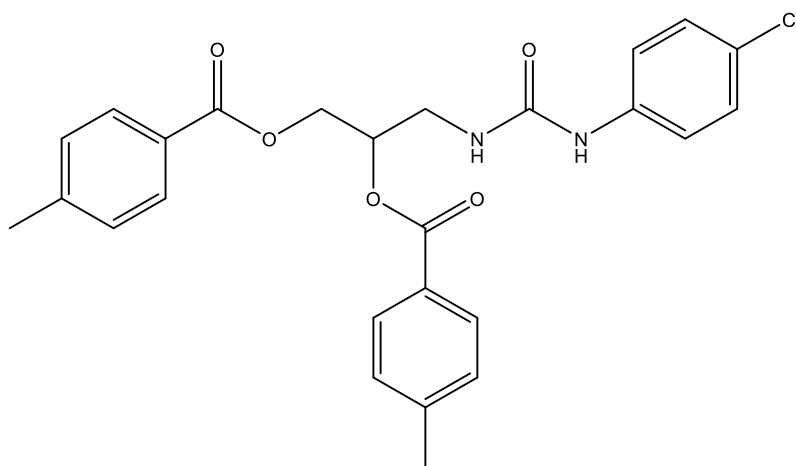
Compuesto	AB-4878	AB-3785	AB-3806	AB-4957	BAA-1605	AB-3638
<b>8</b>	8	4	4	8	8	4
<b>9</b>	4	4	4	4	4	4
<b>10</b>	2	1	1	2	2	1

Las posteriores modificaciones que se hicieron del compuesto **10**, así como la medida *in vitro* e *in vivo* en especies de *Galleria mellonella* infectadas por la cepa AB5075, sugieren una potencial actividad de este compuesto, y se están dirigiendo estudios a desarrollar modificaciones estructurales que mejoren la actividad antimicrobiana (Huggins et al, 2016) (Corey et al, 2017).

En la actualidad se están desarrollando numerosos estudios en búsqueda de nuevos compuestos con potencial actividad frente *A. baumannii* multirresistente. Sin embargo, es necesario seguir investigando nuevas estructuras que mejoren la actividad bacteriana y sean capaces de actuar en cepas multirresistentes.

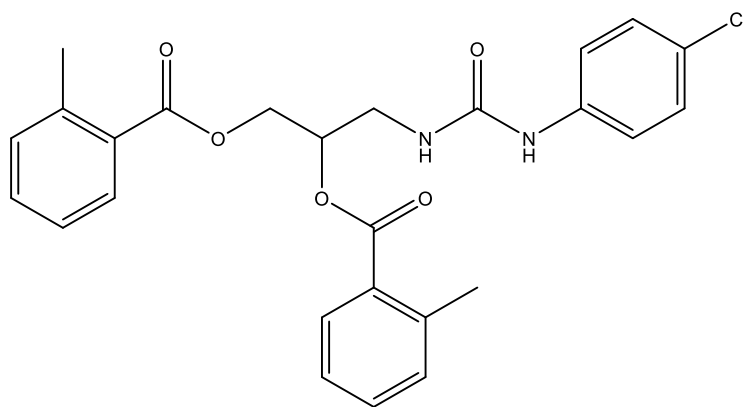
En este contexto se enmarca el presente Trabajo Fin de Grado, que continúa la línea de investigación del Departamento de Química Orgánica y Farmacéutica, en colaboración con el Instituto de Biomedicina de Sevilla (grupo de la Dra. M<sup>a</sup> Eugenia Pachón Ibáñez), centrada en la búsqueda de nuevos compuestos potencialmente activos frente a *Acinetobacter baumannii*.

Actualmente se está evaluando una colección de compuestos derivados del 3-amino-1,2-propanodiol preparados como análogos de los compuestos **11** y **12** con actividad probada frente a *Acinetobacter baumannii*. La tabla 5 recoge los valores de CMI de estos compuestos frente a 3 cepas de *Acinetobacter baumannii* (Molina, 2016).



11

Figura 8. Estructura de N-(4-Clorofenil)-N'-[2,3-di-(4-metilbenzoiloxi)propil]urea



12

Figura 9. Estructura de N-(4-Clorofenil)-N'-[2,3-di-(2-metilbenzoiloxi)propil]urea

Tabla 5. CMI ( $\mu\text{M}$ ) frente 3 cepas de *Acinetobacter baumannii*

Compuestos	<i>Acinetobacter baumannii</i>		
	Ab 21R	Ab 22P	Ab 24
11	3,12	-	-
12	1,56	3,12	-

Estos compuestos presentan el esqueleto central, 3-amino-1,2-propanodiol, con una función urea sobre el nitrógeno, y los dos hidroxilos esterificados como ésteres aromáticos. La colección de compuestos derivados de ellos que se está evaluando, mantienen esos rasgos estructurales residiendo la diversidad estructural en los diferentes sustituyentes presentes tanto en el anillo aromático de la urea ( $R^1$ ) como en los de los ésteres ( $R^2$ ) (Figura 10).

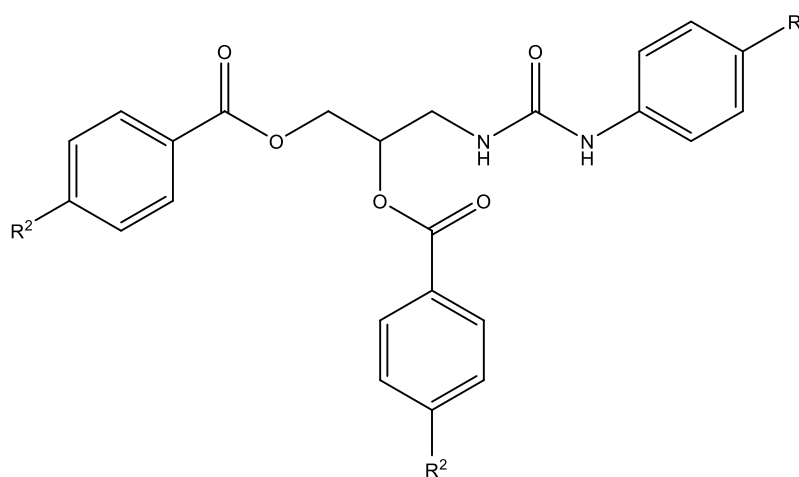


Figura 10. Estructura general de los compuestos diseñados como análogos a **11** y **12**

Esta estructura es el esqueleto general empleado como prototipo en este Trabajo de Fin de Grado para, mediante la introducción de modificaciones en el mismo, diseñar nuevos compuestos relacionados estructuralmente de manera que puedan mantener e incluso optimizar la actividad biológica detectada en **11** y **12**.

### 3. OBJETIVOS

El presente Trabajo Fin de Grado tiene como propósito seguir el desarrollo de la línea de investigación del Departamento de Química Orgánica y Farmacéutica de la Facultad de Farmacia de la Universidad de Sevilla, centrada en la búsqueda y preparación de nuevos compuestos con potencial actividad biológica frente *Acinetobacter baumannii*. El objetivo final es iniciar la síntesis de una batería de compuestos, diferentes, pero estructuralmente relacionados con potencial acción antibacteriana frente esta enterobacteria.

Para alcanzar este objetivo se plantearon varios objetivos parciales consecutivos:

- 1) **Diseño de nuevos compuestos.** Plantear, en base a la estructura de los prototipos con probada actividad, **11** y **12**, compuestos potencialmente activos frente *A. baumannii*.
- 2) **Síntesis de los nuevos compuestos diseñados.** Emplear una metodología sintética sencilla y corta que produzca un elevado rendimiento y que facilite obtener en el menor número de pasos posible una pequeña colección de compuestos análogos.
- 3) **Análisis estructural de los nuevos compuestos.** Los nuevos compuestos obtenidos serán sometidos a los estudios pertinentes que permitan confirmar la estructura propuesta teórica. En concreto, se realizarán sus espectros de Masas y de Resonancia Magnética Nuclear. Para alcanzar este objetivo se contará con la colaboración de los Servicios de Espectrometría de Masas y de Resonancia Magnética Nuclear, respectivamente, del CITIUS de la Universidad de Sevilla.
- 4) **Determinación del análisis elemental de los nuevos compuestos.** Para valorar el grado de pureza de los mismos. Para ello se cuenta con la colaboración del Servicio de Microanálisis de la Universidad de Sevilla.

## 4. METODOLOGÍA

### 4.1. Métodos generales

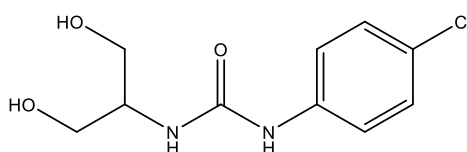
Todos los reactivos, disolventes y materiales de partida fueron obtenidos a partir de proveedores comerciales y usados directamente sin previa purificación. Las evaporaciones fueron realizadas a presión reducida en rotavapor. Las reacciones fueron monitorizadas por cromatografía en capa fina (TLC) en soportes de aluminio Kieselgel 60 F254 y detector UV para su visualización. La cromatografía en columna fue realizada en Silica Gel 60. Los rendimientos obtenidos proceden de los productos purificados. Los puntos de fusión fueron medidos en un aparato Stuart Melting Point SMP 10 y están sin corregir. Los espectros de masas (MS) fueron registrados en un espectrómetro de masas Micromass AUTOSPECQ mediante las técnicas de ionización química (CI) a 150 eV y bombardeo de átomos rápidos (FAB) usando una matriz de tioglicerol. Los espectros de masas de alta resolución (HRMS) se registraron con una resolución de 10.000. Los espectros de resonancia magnética nuclear (NMR) fueron realizados a 25°C en un espectrómetro Bruker AV500 a 500 MHz para  $^1\text{H}$  y 125 MHz para  $^{13}\text{C}$ . Los desplazamientos químicos están expresados en ppm en la escala relativa al tetrametilsilano (TMS). El experimento HSQC fue realizado con objeto de asignar las señales en el espectro de NMR.

### 4.2. Síntesis de los precursores 15 y 19

#### 4.2.1. Procedimiento para la obtención de la urea derivada de 2-amino-1,3-propanodiol (serinol)

A una disolución de 2-amino-1,3-propanodiol (3 mmol) en diclorometano seco (19 mL) se adiciona gota a gota una disolución de 4-clorofenil isocianato (3,6 mmol) en metanol (1 mL), precipitando inmediatamente el producto buscado como un sólido blanco que se aísla por filtración a vacío.

##### 4.2.1.1. 2-Amino-(*N*-4-clorofenilaminocarbonil)-1,3-propanodiol (15)



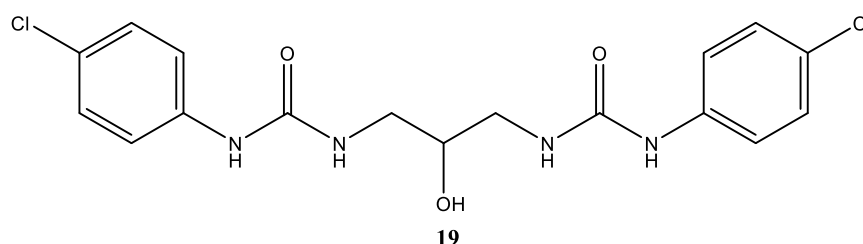
15

El producto fue obtenido como un sólido blanco cromatográficamente puro (606 mg, 83% rendimiento); P.F. 181-184 °C.  $^1\text{H}$  NMR (500 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ )  $\delta$  8,75 (s, 1H), 7,41 (d,  $J = 8,9$  Hz, 2H), 7,26 (d,  $J = 8,7$  Hz, 2H), 6,07 (d,  $J = 7,8$  Hz, 1H), 4,71 (t,  $J = 5,2$  Hz, 2H), 3,65-3,59 (m, 1H), 3,53-3,49 (m, 2H), 3,45-3,40 (m, 2H).  $^{13}\text{C}$  NMR (125 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ )  $\delta$  154,7, 139,5, 128,5, 124,3 118,9, 60,1, 52,4. HRMS ( $m/z$ ): calcd. para  $\text{C}_{10}\text{H}_{13}\text{ClN}_2\text{O}_3\text{Na}$  267,0507  $[\text{M}+\text{Na}]^+$ ; encontrado 267,0508. Anal. Calcd para  $\text{C}_{10}\text{H}_{13}\text{ClN}_2\text{O}_3$ : C, 49,09; H, 5,36; N, 11,45. Encontrado: C, 49,47; H, 5,38; N, 11,40.

#### 4.2.2. Procedimiento para la obtención de la urea derivada de 1,3-diamino-2-propanol

A una disolución de 1,3-diamino-2-propanol (3 mmol) en diclorometano seco (19 mL) se adiciona gota a gota una disolución de 4-clorofenil isocianato (7,2 mmol) en metanol (1 mL), apareciendo inmediatamente un precipitado blanco que se aísla por filtración a vacío.

##### 4.2.2.1. *N,N'*-Bis(4-clorofenilaminocarbonil)-1,3-diamino-2-propanol (19)



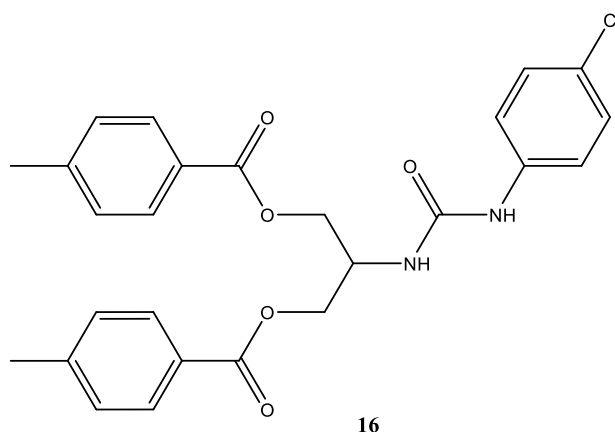
El producto fue obtenido como un sólido blanco cromatográficamente puro (820 mg; 69% rendimiento); P.F. 228-230 °C.  $^1\text{H}$  NMR (500 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ )  $\delta$  8,7 8 (s, 2H), 7,43 (d,  $J = 9,3$  Hz, 4H), 7,27 (d,  $J = 9,6$  Hz, 4H), 6,24 (t,  $J = 5,9$  Hz, 2H), 5,13 (d,  $J = 4,8$  Hz, 1H), 3,63-3,55 (m, 1H), 3,20-3,06 (m, 4H).  $^{13}\text{C}$  NMR (125 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ )  $\delta$  155,3, 139,5, 128,4, 124,3 119,0, 69,0, 42,8. HRMS ( $m/z$ ): calcd. para  $\text{C}_{17}\text{H}_{18}\text{N}_4\text{O}_3\text{Cl}_2\text{Na}$  419,0648  $[\text{M}+\text{Na}]^+$ ; encontrado 419,0640. Anal. Calcd para  $\text{C}_{17}\text{H}_{18}\text{Cl}_2\text{N}_4\text{O}_3$ : C, 51,40; H, 4,57; N, 14,10. Encontrado: C, 51,74; H, 4,44; N, 14,04.

#### 4.3. Reacción de diacilación de la urea derivada de 2-amino-1,3-propanodiol

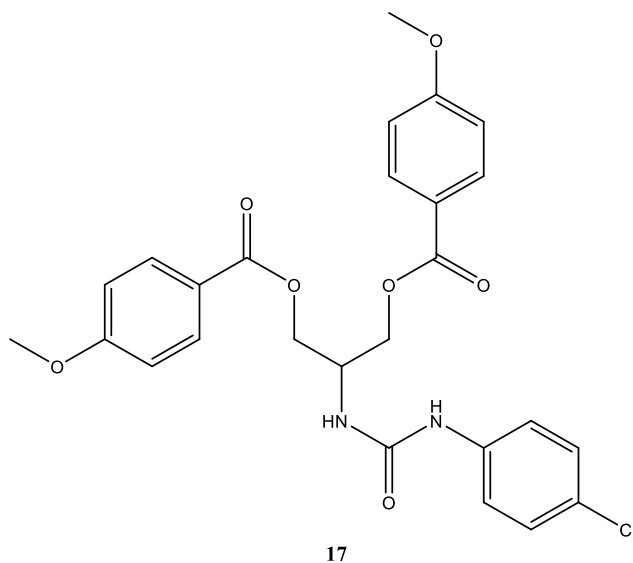
A una disolución de **15** (0,45 mmol) y 4-diaminopiridina (1,13 mmol) en diclorometano seco (22 mL) se le añade gota a gota el correspondiente cloruro de acilo (1 mmol) disuelto en diclorometano (3 mL). La reacción se deja progresar a temperatura ambiente

y se procesa cuando la cromatografía en capa fina indica que todo el producto de partida ha reaccionado. Tras comprobar mediante cromatografía en capa fina que la reacción ha finalizado, se lava con disolución con HCl 10% (15 mL x2), con NaHCO<sub>3</sub> al 10% (15 mL x2), y con disolución saturada de NaCl. La fase orgánica obtenida, se seca con Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro, y se evapora a sequedad. El producto se purifica por cromatografía en columna, utilizando los correspondientes eluyentes para cada compuesto.

#### 4.3.1. 2-Amino-(*N*-4-clorofenilaminocarbonil)-1,3-di-*O*-(4-metilbenzoil)-1,3-propanodiol (16)

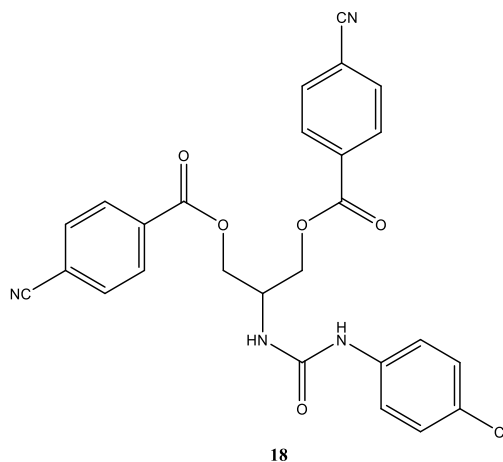


Se obtuvo el producto como un sólido mediante cromatografía en columna empleando diclorometano-metanol (80:1) como eluyente (141 mg; 65% rendimiento); P.F. 176-178 °C. <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 8,76 (s, 1H), 7,90 (d, *J* = 8,0 Hz, 4H), 7,43 (d, *J* = 8,8 Hz, 2H), 7,31 (d, *J* = 8,0 Hz, 4H), 7,28 (d, *J* = 8,8 Hz, 2H), 6,61 (d, *J* = 8,2 Hz, 1H), 4,54-4,40 (m, 5H), 2,38 (s, 6H). <sup>13</sup>C NMR (125 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 165,6, 154,7, 143,8, 139,1, 129,3, 129,2, 128,5, 124,8 119,3, 64,0, 47,2, 21,1. HRMS (*m/z*): calcd. para C<sub>26</sub>H<sub>25</sub>ClN<sub>2</sub>O<sub>5</sub>Na 503,1344 [M+Na]<sup>+</sup>; encontrado 503,1350. Anal. Calcd para C<sub>26</sub>H<sub>25</sub>ClN<sub>2</sub>O<sub>5</sub>: C, 64,93; H, 5,24; N, 5,82. Encontrado: C, 64,99; H, 5,15; N, 5,42

**4.3.2. 2-Amino-(N-4-clorofenilaminocarbonil)-1,3-di-O-(4-metoxibenzoil)-1,3-propanodiol (17)**

Se obtuvo el producto como un sólido mediante cromatografía en columna empleando diclorometano-metanol (60:1) como eluyente (223 mg; 97% rendimiento); P.F. 164-166 °C.  $^1\text{H}$  NMR (500 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ )  $\delta$  8,76 (s, 1H), 7,96 (d,  $J = 8,8$  Hz, 4H), 7,43 (d,  $J = 8,9$  Hz, 2H), 7,28 (d,  $J = 8,6$  Hz, 2H), 7,03 (d,  $J = 8,8$  Hz, 4H), 6,59 (d,  $J = 8,4$  Hz, 1H), 4,52-4,37 (m, 4H), 4,11-4,07 (m, 1H), 3,84 (s, 6H).  $^{13}\text{C}$  NMR (125 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ )  $\delta$  165,2, 163,3, 154,7, 139,1, 131,4, 131,2, 128,5, 124,8, 121,6, 114,0, 63,8, 55,5, 48,6, 47,3. HRMS ( $m/z$ ): calcd. para  $\text{C}_{26}\text{H}_{25}\text{ClN}_2\text{O}_7\text{Na}$  535,1242  $[\text{M}+\text{Na}]^+$ ; encontrado 535,1238. Anal. Calcd para  $\text{C}_{26}\text{H}_{25}\text{ClN}_2\text{O}_7$ : C, 60,88; H, 4,91; N, 5,46. Encontrado: C, 61,10; H, 4,87; N, 5,23.



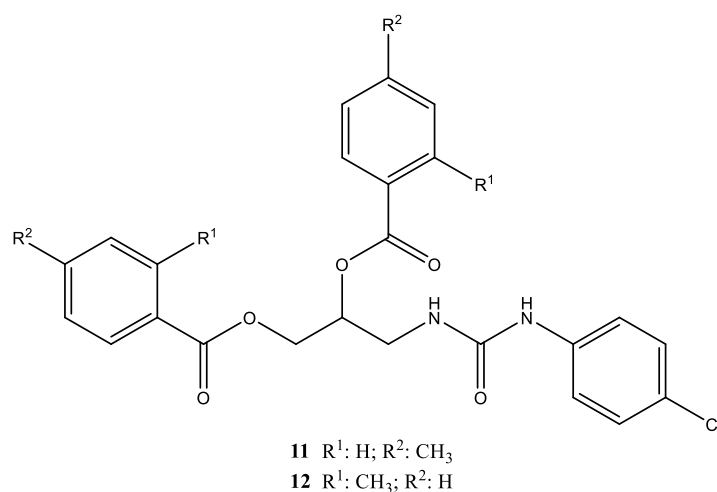
**4.3.3. 2-Amino-(*N*-4-clorofenilaminocarbonil)-1,3-di-*O*-(4-cianobenzoil)-1,3-propanodiol (18)**

Se obtuvo el producto como un sólido mediante cromatografía en columna empleando hexano-acetato de etilo (1:1) como eluyente (204 mg; 90% rendimiento); P.F. 212-215 °C.  $^1\text{H}$  NMR (500 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ )  $\delta$  8,74 (s, 1H), 8,14 (d,  $J = 8,5$  Hz, 4H), 8,0 (d,  $J = 8,5$  Hz, 4H), 7,41 (d,  $J = 8,7$  Hz, 2H), 7,28 (d,  $J = 8,7$  Hz, 2H), 6,67 (d,  $J = 7,2$  Hz, 1H), 4,60-4,47 (m, 4H), 4,12-4,06 (m, 1H).  $^{13}\text{C}$  NMR (125 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ )  $\delta$  164,3, 154,9, 139,0, 133,3, 132,7, 129,9, 128,5, 119,3, 118,0, 115,6, 64,8, 48,6, 47,1. HRMS ( $m/z$ ): calcd. para  $\text{C}_{26}\text{H}_{19}\text{ClN}_4\text{O}_5\text{Na}$  525,0936  $[\text{M}+\text{Na}]^+$ ; encontrado 525,0931. Anal. Calcd para  $\text{C}_{26}\text{H}_{19}\text{ClN}_4\text{O}_5$ : C, 62,10; H, 3,81; N, 11,14. Encontrado: C, 61,94; H, 3,93; N, 11,27.

## 5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Este Trabajo de Fin de Grado se ha centrado en diseñar análogos a los compuestos **11** y **12** escogidos como prototipos mediante la introducción de modificaciones en su estructura general e intentando mantener rasgos estructurales que puedan estar implicados en la actividad biológica. Como se ha mencionado anteriormente, se encuadra en una línea de investigación del Departamento de Química Orgánica y Farmacéutica de la Universidad de Sevilla dirigida a la obtención de nuevos compuestos activos, sencillos y con estructuras diferentes, contra *Acinetobacter baumannii*.

La estructura general de los prototipos es:



En este compuesto existen 3 puntos de posible variabilidad estructural a la hora de diseñar análogos (Figura 11):

- La función éster carboxílico sobre los dos hidroxilos de la cadena de aminoglicerol.
- El esqueleto central derivado de 3-amino-1,2-propanodiol.
- La función urea sobre el nitrógeno.

Además de poder introducir más variabilidad según la naturaleza del sustituyente en el anillo aromático de la función éster (R<sup>1</sup>, R<sup>2</sup>) así como su posición, *orto* o *para*.

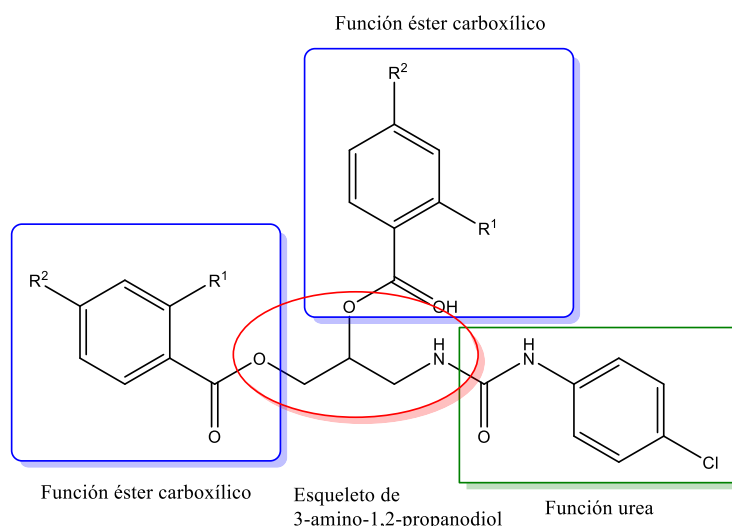
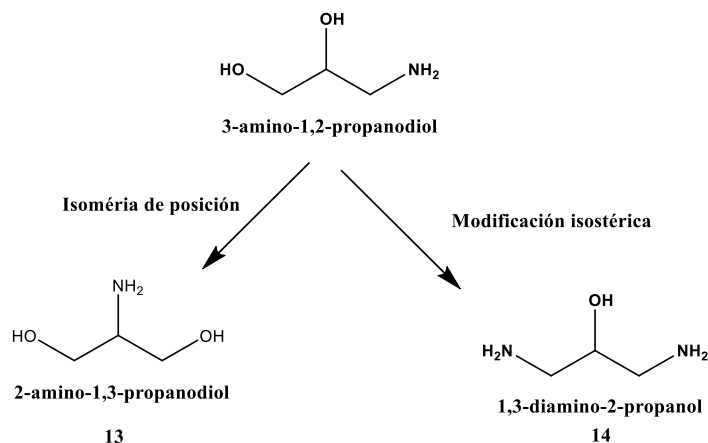


Figura 11. Puntos de variabilidad estructural en el prototipo

### 5.1. Diseño de los análogos

- a) Con objeto de diseñar nuevas familias de análogos, lo primero que se hizo fue escoger el punto de variabilidad en el prototipo para introducir las modificaciones estructurales. Esta aproximación se ha centrado en reemplazar el esqueleto central de 3-amino-1,2-propanodiol por otros esqueletos también de 3 átomos de carbono, el 2-amino-1,3-propanodiol, **13**, (isómero de posición) o el 1,3-diamino-2-propanol (modificación isostérica), **14**.



- b) Estos productos comerciales y baratos son los productos de partida empleados para la obtención de los derivados portadores de la función urea sobre el nitrógeno, similar al prototipo.
- c) Para la urea derivada del compuesto **13**, los dos hidroxilos se funcionalizan como éster aromáticos, de forma análoga al prototipo. Con objeto de poder evaluar qué propiedades electrónicas del sustituyente sobre el anillo aromático

del éster contribuyen más a la actividad, se prepararon tres derivados, portadores de grupos *p*-metilo (igual que en el prototipo), *p*-metoxilo y *p*-ciano. Los dos primeros con carácter electrón donador y el último electrón atrayente.

- d) En el caso del producto **14**, la diurea derivada, el único hidroxilo presente se esterificaría de forma similar a lo descrito en el apartado c).

### 5.1.1. Derivados del 3-amino-1,2-propanodiol

La Figura 12 muestra las estructuras generales de los compuestos finales que forman a partir de este precursor, así como el análisis retrosintético planteado para la preparación de los nuevos compuestos.

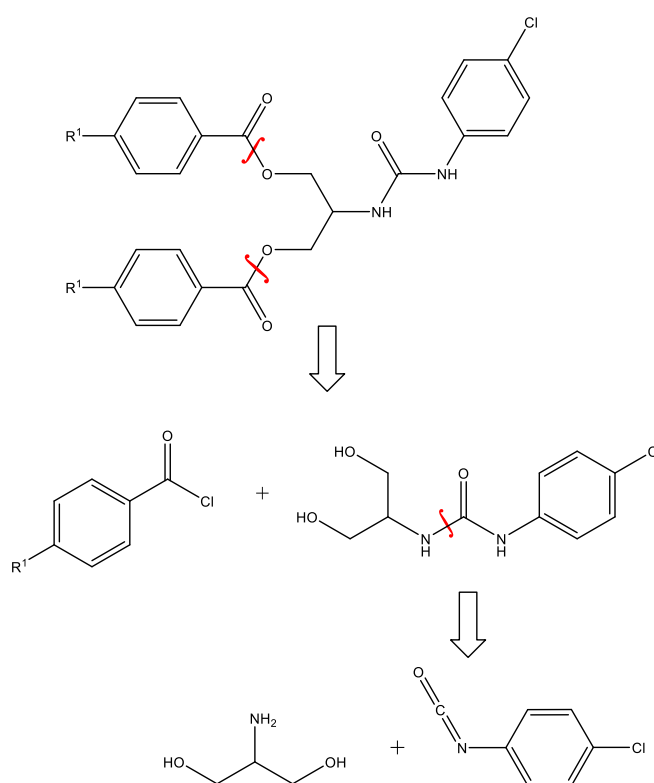
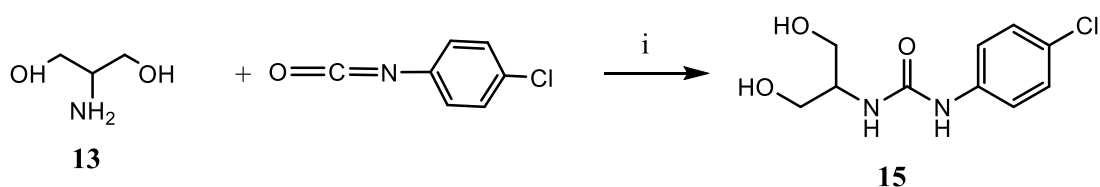


Figura 12. Estructura general de los nuevos compuestos y análisis retrosintético

La obtención de los nuevos derivados se llevó a cabo mediante una metodología sintética corta constituida por reacciones químicas sencillas que transcurren con elevado rendimiento.

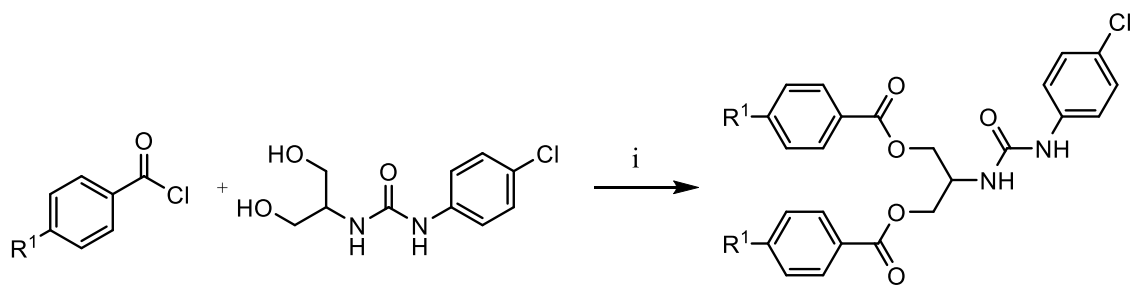
A partir del producto de partida comercial 2-amino-1,3-propanodiol **13**, se sintetizó el compuesto **15** por reacción con 4-clorofenilisocianato (Esquema 1).



i = 4-clorofenil isocianato (1,2 eq),  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , 25°C

Esquema 1.

El compuesto **15** se empleó como precursor para la síntesis de los compuestos finales presentados en la Figura 12. Se realizó la reacción de diacilación de los grupos hidroxilo empleando 2,2 equivalentes de cloruro de acilo y 4-dimetilaminopiridina como base. Se han sintetizado los compuestos **16**, **17** y **18**. Todos ellos poseen el sustituyente en el anillo aromático de la función éster en posición *para* (Esquema 2).



i = reactivo (2,2 eq), 4-DAMP (2,5),  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , 25 °C

**16** R<sup>1</sup>: CH<sub>3</sub>  
**17** R<sup>1</sup>: OCH<sub>3</sub>  
**18** R<sup>1</sup>: CN

Esquema 2.

Los compuestos **16** y **17** poseen sustituyentes electrón donadores (metilo y metoxilo, respectivamente), mientras que el compuesto **18** posee un sustituyente electrón atrayente (ciano).

### 5.1.2. Derivados del 1,3-diamino-2-propanol

La Figura 13 muestra las estructuras generales de los compuestos finales que se obtendrían a partir de este precursor, así como el análisis retrosintético planteado para la preparación de los nuevos compuestos.

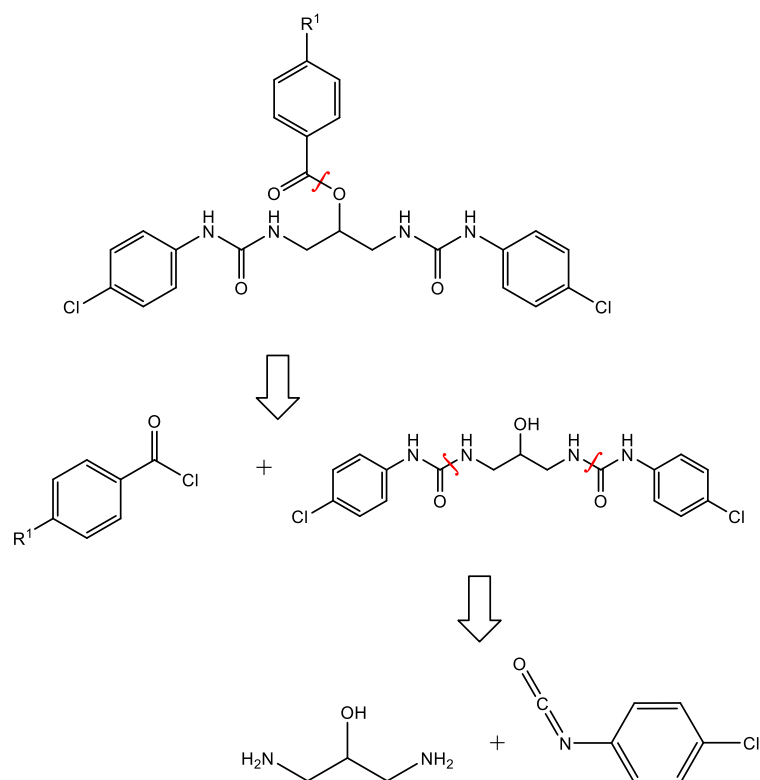
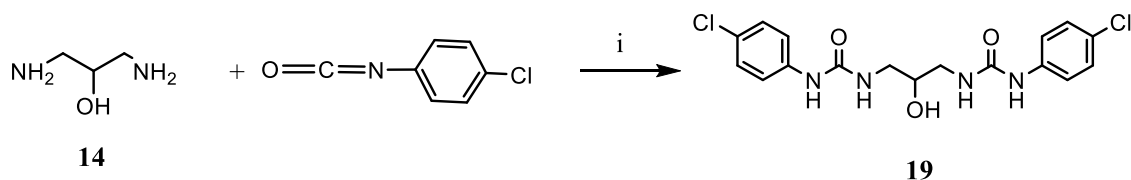


Figura 13. Segunda familia. Estructura general y análisis retrosintético

A partir del producto de partida comercial 1,3-diamino-2-propanol, **14**, se sintetizó el compuesto **19** por reacción con 4-clorofenilisocianato (Esquema 3).



i= 4-clorofenil isocianato (2,4 eq),  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ,  $25^\circ\text{C}$

Esquema 3.

Los datos obtenidos de los espectros de  $^1\text{H-NMR}$  y  $^{13}\text{C-NMR}$  permiten confirmar la estructura de todos los productos.

En las Tablas 6 y 7 se presentan los datos de desplazamiento químico ( $\delta$ ) en ppm de las señales más características de  $^1\text{H-RMN}$  y  $^{13}\text{C-RMN}$  respectivamente de los compuestos **15-18**.

En los espectros de  $^1\text{H-NMR}$  de los compuestos **15-18** además de las señales de los dos protones de la función urea presentes en todos los compuestos en torno a 8,7 y 6,6 ppm, se aprecian los protones de los anillos aromáticos en el rango de 7-8 ppm. El precursor

**15** presenta dos dobletes para 2 protones cada uno de ellos, característico de un anillo aromático *p*-disustituido, mientras que los compuestos **16-18** presentan cada uno de ellos cuatro dobletes, dos de ellos con integral para dos protones y otros dos para cuatro, siendo estos últimos debidos a los anillos aromáticos de los dos grupos ésteres. En el precursor se aprecia la señal debida a los protones de los dos hidroxilos a 4,71 ppm, que no aparece en los productos diacilados. Las señales de los protones de los grupos metino y metilenos presentes en todos los compuestos, aparecen en el precursor a 3,65-3,59 ppm (metino) y a 3,53-3,49 ppm y 3,45-3,40 ppm (los dos metilenos). Estas señales en los productos diacilados están todas desplazadas a campo más bajo, más desapantalladas, siendo mayor este efecto en las señales de los metilenos (en torno a 4,5 ppm) que aparecen ahora con mayor desplazamiento químico que la señal del metino (en torno a 4,1 ppm). Los compuestos **16** y **17** presentan las señales de los grupos en *para* en los anillos aromáticos de los ésteres, 2,38 ppm (CH<sub>3</sub>) para **16** y 3,84 ppm (OCH<sub>3</sub>) para **17**. Ambas singuletes con integral para 6 protones. Tabla 6.

Tabla 6. Señales de <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) más características para los compuestos **15-18**

Entry	Comp	NH	Ph	NH	O-H	CH <sub>2</sub> (O)	CH <sub>2</sub> (O)	CH	CH <sub>3</sub> /OCH <sub>3</sub>
1	<b>15</b>	8,75	7,41, 7,26	6,57	4,71	3,53-3,49	3,45-3,40	3,65-3,59	-
2	<b>16</b>	8,76	7,90, 7,31, 7,43, 7,26	6,61	-		4,54-4,50 (5H)		2,38 (CH <sub>3</sub> )
3	<b>17</b>	8,76	7,96, 7,43, 7,28, 7,03	6,59	-	4,52-4,37 (4H)		4,11-4,07	3,84(OCH <sub>3</sub> )

Entry	Comp	NH	Ph	NH	O-H	CH <sub>2</sub> (O)	CH <sub>2</sub> (O)	CH	CH <sub>3</sub> /OCH <sub>3</sub>
4	18	8,70	8,14, 8,00, 7,41, 7,28	6,61	-	4,60-4,47 (4H)		4,12-4,06	-

En los espectros de carbono destacamos las señales del carbonilo del grupo urea en torno a 155 ppm en todos los compuestos, y en derivados diacilados se aprecian además las de los carbonilos de los dos grupos ésteres en torno a 165 ppm. El carbono del metino aparece en el precursor **15** a 60,1 ppm mientras que en los productos finales **16-18** es en torno a 64 ppm. Los carbonos de los dos grupos metileno, en el precursor se detectan en una sola señal a 52 ppm y en los diacilados en torno 47-48 ppm. Los carbonos de los grupos metilo en los anillos aromáticos de los ésteres en **16** se aprecian a 21 ppm y los de los dos grupos metoxilo en **17** a 55,5 ppm. Tabla 7

Tabla 7. Señales de <sup>13</sup>C NMR (125 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) más características para los compuestos **15-18**

Entry	Comp	C=O (urea)	CO (éster)	CH(OH)	CH <sub>2</sub> (OH)	CH <sub>2</sub> (OH)	OCH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>
1	15	154,7	-	60,1	52,4		-	-
2	16	154,7	165,6	64,0	47,2		-	21,1
3	17	154,7	165,2, 163,3	63,8	48,6	47,3	-	55,5
4	18	154,9	163,4	64,8	48,6	47,1	-	-

Los compuestos finales planteados para ambas familias (y sintetizados para la primera) difieren de los prototipos (**11** y **12**) en su esqueleto carbonado. En ambos casos se trata de una cadena de tres átomos de carbono con grupos hidroxilo y amina que nos permitan introducir las mismas funciones orgánicas que están presentes en los prototipos, urea y ésteres. Si bien al escoger los precursores hemos conseguido una modificación adicional, ahora estereoquímica: no existen estereocentros en los



compuestos finales preparados, a diferencia de los prototipos, que se trataban de racémicos. En caso de ser compuestos activos esto podría resultar ventajoso, en un futuro, dado que para moléculas bioactivas quirales aunque ambos enantiómeros resultaran idénticos desde el punto de vista de la actividad buscada, se hace necesario probar y estudiar ambos enantiómeros por separado para detectar diferencias entre ellos desde el punto de vista de efectos adversos, perfil farmacocinético o tóxico. Ello supone un enorme esfuerzo adicional al proceso de diseño y preparación de nuevos compuestos, el derivado de la necesidad de una síntesis estereoselectiva. La quiralidad no es un requisito exigible para tener compuestos activos.

La siguiente etapa del proyecto, consistiría en obtener los derivados esterificados de la segunda familia, que serían los productos finales y determinar la actividad biológica frente *Acinetobacter baumannii* de los compuestos sintetizados, tanto los finales como los precursores, con objeto de poder determinar si las modificaciones realizadas con respecto a los compuestos predecesores (**11** y **12**) mejoran o empeoran los valores de CMI y CMB frente la bacteria. Además, con los datos de actividad, intentar ver qué tipo de grupo, electrón donador o electrón atrayente mejora la actividad.

## 6. CONCLUSIONES

Como parte de la línea de investigación que se lleva a cabo en el Dpto. de Química Orgánica y Farmacéutica de la Universidad de Sevilla dirigida a la síntesis de nuevos compuestos con actividad antibacteriana se ha realizado:

- 1) El diseño de compuestos derivados de 2-amino-1,3-propanodiol y 1,3-diamino-2-propanol potencialmente activos frente *Acinetobacter baumannii*, planteadas sus estructuras a partir de los prototipos seleccionados previamente, por mostrar actividad antibacteriana.
- 2) La síntesis de los nuevos compuestos diseñados empleando una metodología sintética sencilla que transcurre con altos rendimientos. Se han obtenido 2 productos intermedios y 3 productos finales.
- 3) El análisis estructural de los nuevos compuestos, confirmando así la estructura propuesta. En concreto, se han realizado sus espectros de Masas y de Resonancia Magnética Nuclear  $^1\text{H}$ -RMN y  $^{13}\text{C}$ -RMN. Para la realización de estos estudios se ha contado con la colaboración de los Servicios de Espectrometría de Masas y de Resonancia Magnética Nuclear del CITIUS de la Universidad de Sevilla.
- 4) La pureza de los productos finales se evaluó mediante la determinación de su análisis elemental (C, H y N). Se confirmó una pureza > 95% por combustión.

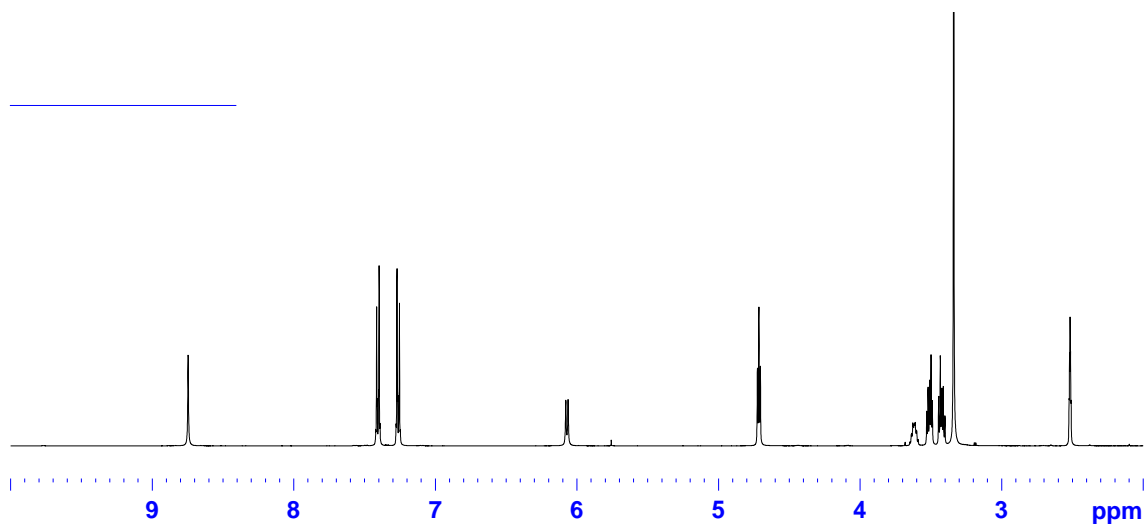
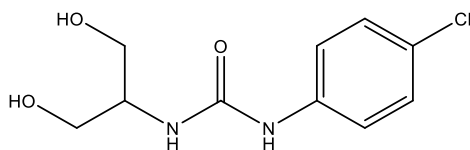
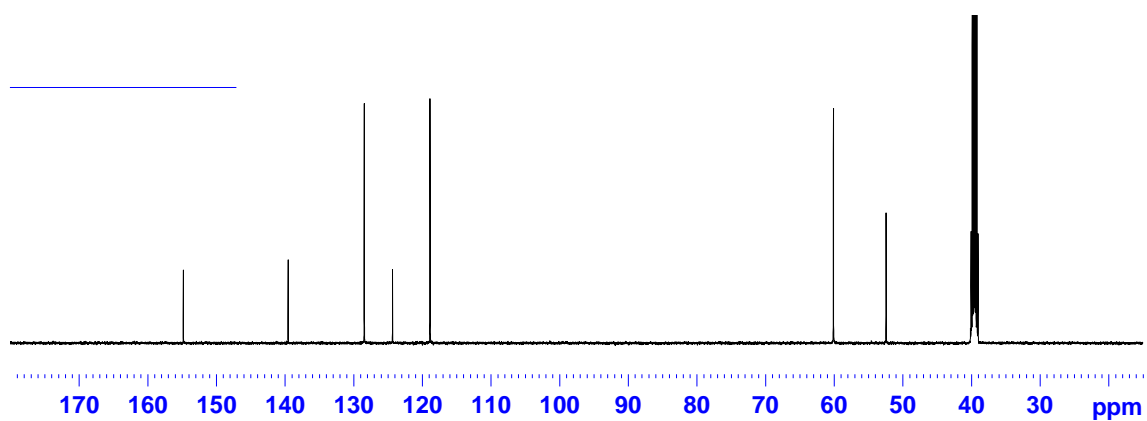
## 7. REFERENCIAS

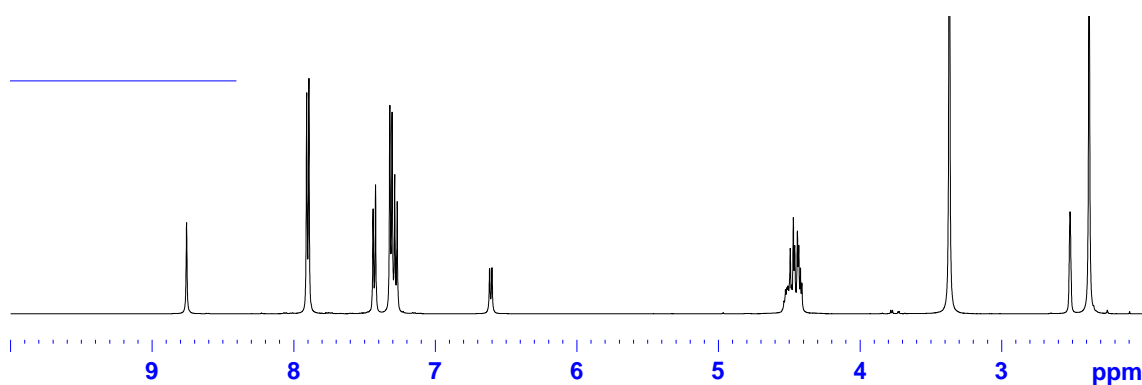
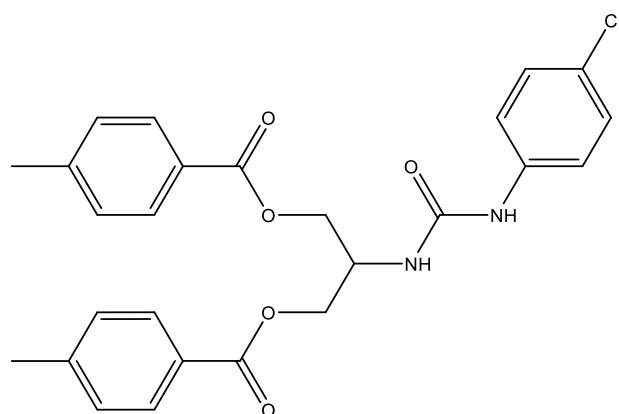
1. Alsan M, Klompas M. *Acinetobacter baumannii*. An emerging and important pathogen. *J Clin Outcomes Manag*. 2010; 17(8): 363–9.
2. Barksdale S, Hrifko E, Chung E, Van Hoek M. Peptides from American alligator plasma are antimicrobial against multi-drug resistant bacterial pathogens including *Acinetobacter baumannii*. *BMC Microbiology*. 2016; 16(189):
3. Cai Y, Chai D, Wang R, Liang B, Bai N. Colistin resistance of *Acinetobacter baumannii*: Clinical reports, mechanisms and antimicrobial strategies. *J. Antimicrob. Chemother*. 2012; 67(7):1607–15.
4. Corbella L, Trapiello F. Infecciones nosocomiales. En: Fernández M, coordinador. *Manual de Diagnóstico y Terapéutica Médica*. 8ª ed. Madrid: Hospital Universitario 12 de octubre; 2017. p. 832-9.
5. Corey BW, Thompson MG, Hittle LE, Jacobs AC, Asafo-Adiei EA, Huggins WM et al. 1,2,3-Triazolidine-3-thiones have specific activity against *Acinetobacter baumannii* among common nosocomial pathogens. *ACS Infect Dis*. 2017; 3(1): 62-71.
6. Fernández Cuenca F. Aplicaciones de las técnicas de PCR a la epidemiología molecular de las enfermedades infecciosas. En: Almirante B, editor. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*. 7ª ed. Barcelona: Elsevier; 2004. p. 355-60.
7. Global Biodiversity Information Facility. Free and open Access to Biodiversity Data [en línea]. [Consultado en junio 2017]. Disponible en: <http://www.gbif.org/>
8. Hart Casares M, Espinosa Rivera F, Halley Posada MC, Martínez Batista ML, Montes de Oca Méndez Z. Resistencia a antibióticos en cepas de *Acinetobacter baumannii* aisladas de enero a marzo del 2010 en el Hospital Clínicoquirúrgico "Hermanos Ameijeiras". *Rev cubana med*. 2010; 49 (3): 218-27.
9. Huggins WM, Minrovic BM, Corey BW, Jacobs AC, Melander RJ, Sommer RD et al. 1,2,4-Triazolidine-3-thiones as Narrow Spectrum Antibiotics against Multidrug-Resistant *Acinetobacter baumannii*. *ACS Med. Chem. Lett*. 2016; 8(1): 27-31.
10. Kaya IA, Guner MD, Akca G, Tuncbilek S, Alhan A, Tekeli E. Evaluation of the synergistic effect of a combination of colistin and tigecycline against

- multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*. Pak J Med Sci. 2017; 33(2): 393-7.
11. Kröger C, C. Kary S, Schauer Km D.S. Cameron A. Genetic regulation of virulence antibiotic resistance in *Acinetobacter baumannii*. Genes. 2017; 8 (12): 1-19.
  12. Lee C-R, Lee JH, Park M, Park KS, Bae IK, Kim YB et al. Biology of *Acinetobacter baumannii*: Pathogenesis, Antibiotic Resistance Mechanisms, and Prospective Treatment Options. Front. Cell. Infect. Microbiol. 2017; 7(55): 1-35.
  13. Legarraga P, Moraga M, Lam M, Geoffroy E, Zumarán C, García P. Impact of mass spectrometry by MALDI-TOF MS for the rapid identification of aerobic and anaerobic bacteria of clinical importance. Rev. Chilena. Infectol. 2013; 30(2): 140-6.
  14. Manchanda V, Sanchaita S, Singh N. Multidrug Resistant *Acinetobacter*. J Glob Infect Dis. 2010; 2(3): 291-304.
  15. Mensa J, Gatell JM, García-Sánchez JE, Letang E, López-Suñé E, Marco F. Guía de terapéutica antimicrobiana. 26ª ed. Barcelona: Antares; 2016.
  16. Moffatt J, Harper M, Harrison P, Hale JDF, Vinogradov E, Seemann T et al. Colistin resistance in *Acinetobacter baumannii* Is mediated by complete loss of lipopolysaccharide production. Antimicrob Agents Chemother. 2010; 54(12): 4971-77.
  17. Molina Ríos G. Nuevos compuestos derivados del 3-amino-1,2-propanodiol con actividad contra *Acinetobacter baumannii* resistente a colistina. Diseño, síntesis y evaluación *in vitro*. Departamento de Química Orgánica y Farmacéutica, Facultad de Farmacia, Universidad de Sevilla. 2016.
  18. Oddo A, Thomsen TT, Kjelstrup S, Gorey C, Franzyk H, Frimodt-Møller N et al. An amphipatic undecapeptide with all D-amino acids shows promising activity against colistin-resistant strains of *Acinetobacter baumannii* and a dual mode of action. Antimicrob Agents Chemother. 2016; 60(1): 592-99.
  19. Projan SJ, Shlaes DM. Antibacterial drug discovery: is it all downhill from here? Clin Microbiol Infect. 2004; 10(4): 18–22.
  20. Shoja S, Moosavian M, Rostami S, Farahani A, Peymani A, Ahmadi K et al. Dissemination of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* in patients with burn injuries. J Chin Med Assoc. 2017; 80(4): 245-52.

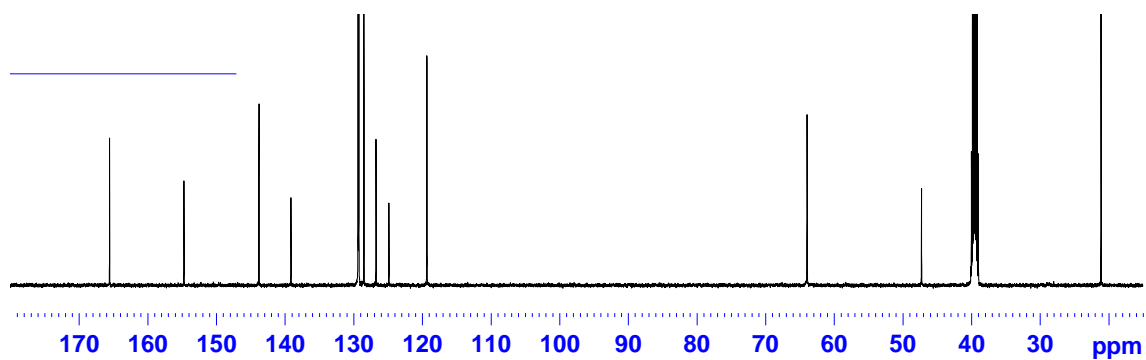
21. Siricilla S, Mitachi K, Yang J, Eslamimehr S, Lemieux MR, Meibohm B et al. A new combination of a pleuromutilin derivative and doxycycline for treatment of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*. J Med Chem. 2017; 60(7): 2869-78.
22. The Cochrane Library [en línea]. [Consultado en junio de 2017]. Disponible en <http://www.bibliotecacochrane.com/clibplus/>
23. Vaara M. Novel derivatives of polymyxins. J Antimicrob Chemother. 2013; 68 (6): 1213-19.
24. Vanegas Múñera JM, Roncancio Villamil G, Jiménez Quiceno JN. *Acinetobacter baumannii*: Clinical importance, resistance mechanisms and diagnosis. Rev CES Med 2014; 28(2): 233-46.
25. Wang L, Wang YJ, Liu YY, Li H, Guo LX, Liu ZH et al. *In Vitro* potential of Lycosin-I as an alternative antimicrobial drug for treatment of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* infections. Antimicrob Agents Chemother. 2014; 58(11): 6999-7002.

## 8. ANEXOS

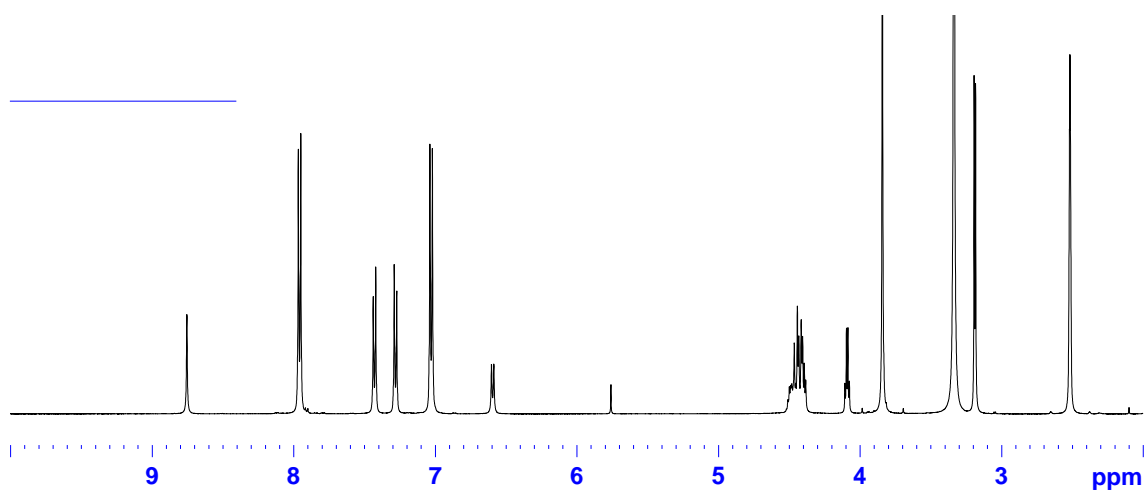
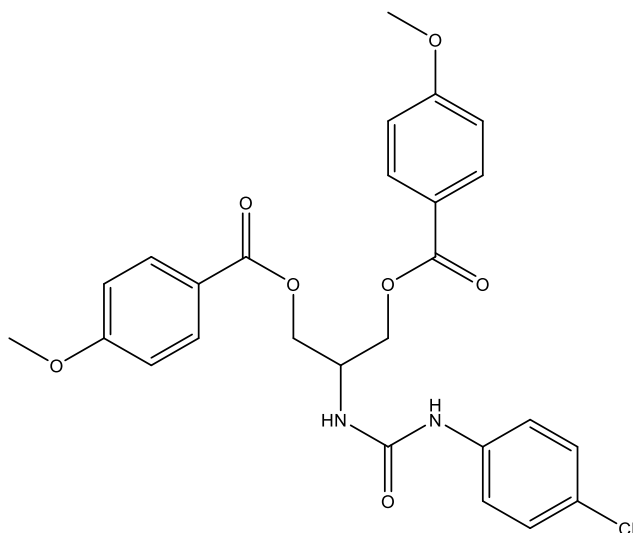
Espectro de  $^1\text{H}$ -NMR de 2-Amino-(*N*-4-clorofenilaminocarbonyl)-1,3-propanodiol (**15**)Espectro de  $^{13}\text{C}$ -NMR de 2-Amino-(*N*-4-clorofenilaminocarbonyl)-1,3-propanodiol (**15**)



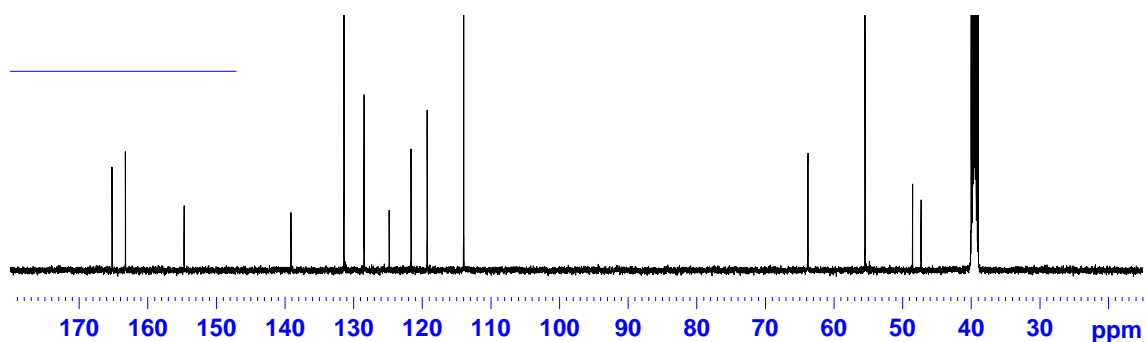
Espectro de  $^1\text{H-NMR}$  de 2-Amino-(*N*-4-clorofenilaminocarbonil)-1,3-di-*O*-(4-metilbenzoil)-1,3-propanodiol (**16**)



Espectro de  $^{13}\text{C-NMR}$  de 2-Amino-(*N*-4-clorofenilaminocarbonil)-1,3-di-*O*-(4-metilbenzoil)-1,3-propanodiol (**16**)



Espectro de  $^1\text{H-NMR}$  2-Amino-(*N*-4-clorofenilaminocarbonyl)-1,3-di-*O*-(4-metoxibenzoil)-1,3-propanodiol (**17**)



Espectro de  $^{13}\text{C-NMR}$  de 2-Amino-(*N*-4-clorofenilaminocarbonyl)-1,3-di-*O*-(4-metoxibenzoil)-1,3-propanodiol (**17**)